

M. CUPÁKOVÁ

V mojej predchádzajúcej práci [1] sa všeobecne diskutovalo o pojme chuti a vône. Pozornosť sa venovala výskytu a biosyntéze aromatických látok. V tomto článku by som sa chcela zamerať na analýzu aromatických látok, pretože pokrok v analytickej chémii, najmä aplikácia kvalitatívne nových metód na analýzu aromatických látok podporuje nový smer v chémii požívatín. Ide o veľmi zložitý proces, ktorý pozostáva z niekoľkých stupňov, a to: izolácia, zahusťovanie, stanovenie a identifikácia aromatických látok. Na hodnotenie arómy môžeme použiť okrem zložitejších aj veľmi jednoduché metódy, ako sú:

*Oxidačné metódy*, ktoré sú založené na ľahkej prchavosti a oxidovateľnosti aromatických látok. Stanovuje sa súhrnná oxidačná mohutnosť arómy vyjadrená oxidačným, príp. aromatickým číslom. Tieto metódy sú nenáročné na aparatúru a uplatňujú sa pri rýchlych orientačných analýzach aromatických látok potravín [2].

*Titračné kolorimetrické a zrážacie metódy*, ktorými možno z vodných roztokov aromatických látok stanoviť jednotlivé typy aromatických zložiek. Ako príklad možno uviesť stanovenie mastných kyselín titračne alebo fotometricky po prevedení na hydroxamáty. Získané výsledky sa prepočítajú na kyselinu octovú [3, 4].

Karbonylové zlúčeniny sa vyzrážajú s 2,4-dinitrofenylhydrazínom a stanovia sa vážkovo alebo po rozpustení kolorimetricky [5, 6].

Chromatografické metódy sa čoraz viac používajú na detailné štúdium aromatických látok. Na delenie týchto látok sa pre svoju nenáročnosť uplatnila papierová a stĺpcová chromatografia. Prchavé látky sa musia previesť na neprechavé deriváty a potom sa môžu deliť na chromatografickom papieri alebo na stĺpci kremeliny, kysličníka kremičitého a pod. [2]. Schormüller a Grosch [7] predložili schému delenia derivátov neutrálnych karbonylov papierovou, stĺpcovou a plynovou chromatografiou. Chromatografia na tenkých vrstvách, ktorá sa často používa, spája výhody stĺpcovej a papierovej chromatografie. V súčasnosti sa na stanovenie aromatických látok čoraz viac používa plynová chromatografia.

## Metódy izolácie a zahusťovania aromatických látok

Destilácia je jednou z metód, ktoré sa používajú na izoláciu väčšiny prechavých látok potravín. Ostatné metódy, ako extrakcia, adsorpcia a pod. sa často aplikujú v prvých stupňoch izolácie. Z destilačných metód sa najčastejšie používa jednoduchá destilácia pri atmosferickom tlaku alebo za vákua. Najviac používanou metódou je vákuová destilácia a izolácia.

Tieto metódy sa používajú na získanie prechavých látok z roztokov, olejov a vysokovriacich rozpúšťadiel [8—10].

Destilácia s vodnou parou sa najviac používa na získanie vyššievriacich zlúčenín, ktoré môžu prechať s vodnou parou pri atmosferickom tlaku alebo za vákua.

Ak sledovaný roztok nie je veľmi zriedený, extrakcia s organickými rozpúšťadlami môže byť priama. Pre niektoré zmesi sa môže použiť kontinuálna extrakcia, ako je napr. kontinuálna extrakcia s pentánom, ktorá sa často používa na extrahovanie organických látok z vodných roztokov, ktoré obsahujú porovnateľné množstvá alkoholu. Na extrahovanie aromatických látok zo zriedených vodných roztokov sa niekedy používa parafínový olej. Jeho výhodami sú inertnosť, nerozpustnosť vo vode, nízka cena, neprechavosť. Ďalej sa uvádzajú dve konkrétne metódy izolácie, ktoré sa často používajú.

Ako koncentračná metóda sa používa adsorpcia na tuhých adsorbentoch, prípadne impregnovaných plynovochromatografických nosičoch [11, 12]. Z adsorbentov sa najčastejšie používa aktívne uhlie, pretože nie je deaktivované vodou a má veľkú adsorpčnú kapacitu. Na aktívnom uhlí boli úspešne zahustené prechavé látky z vodných roztokov hrachu [13]; cibule [14]. Adsorpcia organických látok na aktívnom uhlí sa znižuje s rozpúšťadlami v takomto poradí: voda, etanol, estery, acetón, chloroform [15]. V ostatnom čase sa čoraz viac uplatňujú priečne vetvené polystyrénové živice [16]. Ak je základným materiálom esenciálny olej, máme takto aromatický koncentrát, z ktorého separácia a identifikácia čistejších frakcií sa môže dosiahnuť adsorpčnou chromatografiou [8].

Zahusťovanie výmrazom je ďalšou metódou, ktorá sa používa na odstránenie vody zo zriedených vodných roztokov aromatických destilátov. Táto metóda poskytuje mierne podmienky, čím sa vyhneme tvorbe artefaktov a deštrukcii labilného materiálu teplom. Pri tejto metóde sú jednotlivé dávky roztoku umiestnené v nádobke prikrytej fóliou alebo filmom a neprestajne sa miešajú pri teplote pod bodom mrazenia a za vákua. Upravená teplota a zmiešavací pomer sú kritické, pretože rýchle zmrazenie zapríčiňuje vylučovanie organických látok z ľadovej fázy. Farkaš a Hrivňák [17] použili pri analýze nealkoholických nápojov metódu založenú na vymrazení zložiek arómy nad nápojom do kapilárnej predkolóny a nasledujúcej analýze týchto zložiek na kapilárnej chromatografickej kolóne. Možnosť kvantitatívneho stanovenia aromatických látok touto metódou bola overená pri stanovení niektorých prechavých zložiek v mlieku a mliečnych výrobkoch [18]. Pre produkty s nízkym obsahom vody, ako sú oleje a dehydratované potravinové produkty sa techniky izolácie väčšinou zakladajú na vysokovákuovej a molekulárnej destilácii.

Zahusťovanie zónovým tavením je ďalšou koncentračnou metódou, ktorá sa spomína v niekoľkých článkoch. Podobne ako pri zahusťovaní výmrazom i pri tejto metóde sú straty a termálna degradácia prechavých látok znížené [8].

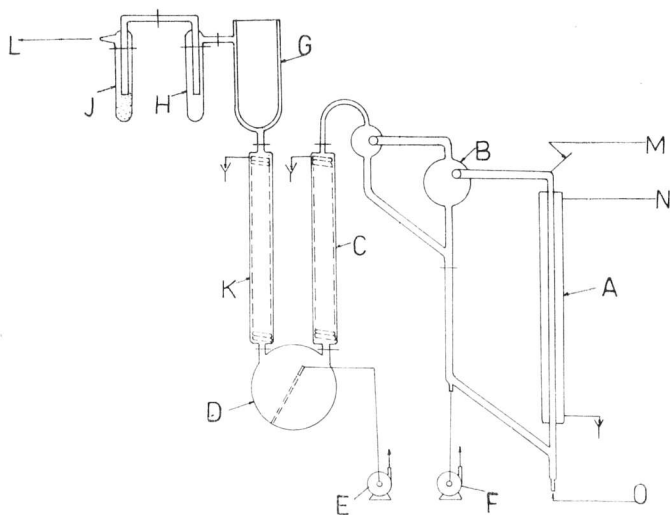
Na izoláciu prchavých látok z lipidov sa použila aj destilácia s inertným plynom na oddeľovanie prchavých zložiek. Pretože pri týchto metódach sa nezískali kvantitatívne reprodukovateľné výsledky, je to najpoužiteľnejší spôsob izolácie destilácie za vysokého vákua [19, 20]. Zlúčeniny s nízkymi molekulovými váhami s počtom uhlíkov  $C_1$ — $C_8$ , ktoré sa získali destiláciou, sa strácali, čo spôsobovalo ich vyparenie pred analýzou, alebo neboli celkom skonden-  
denzované v chladenej predlohe. So zvyšovaním molekulovej váhy sa získali nižšie výsledky v dôsledku zvýšenia rozpustnosti lipidov a zníženia tlaku pary [7]. Metylketóny s počtom uhlíkov  $C_3$ — $C_8$  sa získali v 78—99 % výťažkoch z masla po osemhodinovej extrakcii pri teplote 45 °C. Pri metylketónoch s počtom uhlíkov  $C_9$ — $C_{12}$  sa získali znížené výťažky [21]. Pri destilácii maslového tuku za vysokého vákua sa dosiahlo menej ako 50 % výťažku metylketónov nad  $C_8$  alebo alkoholov nad  $C_5$ . Keď po destilácii nasledovala molekulárna destilácia, získali sa vyššie výťažky [8]. Nawar a spol. [22] uviedli veľmi dobré výťažky alkánov a alkenov, ktoré sa získali z obilného oleja pri použití aparátúry na princípe podľa de Bruyana a Schogtha [23]. Uhlíkovodíky s počtom uhlíkov  $C_5$ — $C_{10}$  sa izolovali z obilninového oleja pri tlaku  $10^{-3}$  Torr a pri teplote 70 °C. Uhlíkovodíky od  $C_{11}$  do  $C_{22}$  sa získali destiláciou pri tlaku  $10^{-3}$  Torr a teplote 80 °C. Z objemovo veľkých destilátov sa aromatické látky extrahujú objemovo organickými rozpúšťadlami. Namiesto destilácie s vodnou parou možno použiť destiláciu v prúde  $CO_2$  [24].

Weurman [15] uvádza veľa techník používaných na izoláciu aromatických látok. Sú tu zahrnuté niektoré druhy destilácie, ktoré sa používajú na získanie prchavých látok z vodných roztokov. Na podklade rozsiahleho štúdia literatúry [25] sa vybrali postupy izolácie aromatických látok, ktoré možno univerzálnejšie použiť v aplikácii na rozličný materiál. V prvej metóde [16] sa uvádza tento postup izolácie aromatických látok:

Na prečerpávanie náplne (vzorky), t. j. suspenzie roztoku a destilátu sa používajú pumpy E a F. Vzorka sa rozmeliť na prášok a rozpustí vo vode vo Waring-Blenderovom zariadení. Suspenzia sa zavedie na dno trubice A obalenej parným plášťom. Zmes emulzie a pary prechádza oddeľovačom B, kam sa tekutina vracia a recirkuluje. Pumpou F sa konštantne prečerpáva určitá (premenlivá) časť vzorky (kvapalina). Para prechádza do kondenzátora, kde sa v zberači D väčšia časť destilátu kondenzuje, z ktorého sa konštantne čerpá pomocou pumpy F. Kondenzácia pary nastáva v refluxnom kondenzátore K a nakoniec G, v ktorom je teplota 0 °C. Nízkovriace látky sa zachytávajú v časti H pri teplote —70 a —100 °C. Prevádzkové tlaky sú zvyčajne 30 až 50 mm Hg a výsledný vzostup teploty je do 40 °C. Rýchlosť destilácie je asi 3 l destilátu za hodinu pri tlaku 40 mm Hg. Pumpa F je upravená tak, aby dodala 3 l vzorky za hodinu (50 % dest. vody). Toto množstvo možno zvýšiť na 12 l za hodinu (20 % dest. vody). Takto sa oddestiluje 20 % vody zo zmesi a denne sa môže spracovať 100 l zmesi alebo roztoku v laboratórnych podmienkach.

— Obr. 1 znázorňuje aparátúru.

Ďalšou metódou sa získali aromatické látky citlivé na teplo. Pri tomto postupe náplň Wurvac-kolóny vrie za vákua pri teplote 38 °C. Tieto podmienky sú miernejšie ako za atmosférického tlaku. Hlavným problémom, ktorý sa vyskytuje pri zhromažďovaní esencií za vákua, je strata aromatických zložiek v nekonden-  
denzovaných plynch, ktoré odchádzajú z náplne (vzorky) cez malé vzduchové štrbiny [26].



Obr. 1. Prístroj na izoláciu aromatických látok. A — trubička obalená parným plášťom, B — oddeľovač, C — chladič, D — zberač frakcií, E, F — pumpy, G — refluxný kondenzátor, H — predloha nízkovriacej látky, K — refluxný kondenzátor, L — vákuum, M — teplomer, N — para, O — vzorka.

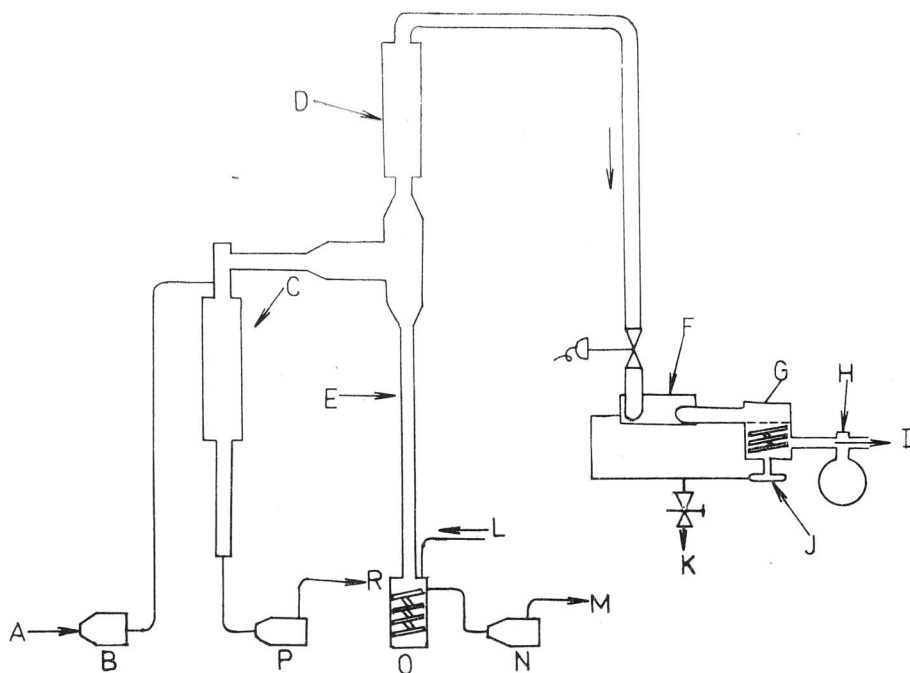
Obr. 2 znázorňuje aparaturu, ktorá sa používa pri tejto metóde. Vzorka sa vedie k výparníku rýchlosťou 50—100 kg/hod. Pary idú do oddeľovača kolóny a oddelená šťava do chladiča a potom do zberača. Charakteristickým znakom tohto postupu je spôsob, akým sa odstraňujú prechavé látky z oddeľovacej kolóny. Adsorbované prechavé látky z nekondenzovaných plynov opúšťajú vákuovú pumpu. Prechavé látky idú odtiaľ do spodného variča, kde sa znova získavajú pomocou nekondenzovaných plynov. Prúd dusíka odvedie tieto aromatické látky z kondenzátora do vákuovej pumpy, ktorá stlačí plyn na atmosférický tlak a premieša ho s vodným izolátorom. Voda nepretržite cirkuluje čerpadlom, aby adsorbovala pary a cez chladič, aby sa udržala teplota asi 2,5 °C.

V získaných destilátoch sa zvyčajne po zahutnení aromatické látky stanovujú plynovou chromatografiou a hmotnostnou spektrometriou.

## Metódy stanovenia aromatických látok

Na stanovenie aromatických látok sa stále viac používa plynová chromatografia, ktorá býva často spojená s „head space“ metódou na izoláciu prechavých látok alebo aromatických koncentrátov. „Head space“ analýza má vo svojom použití niektoré výhody, a to:

- požaduje sa relatívne malé množstvo vzorky,
- pomerne jednoduchá je príprava vzorky,
- zlúčeniny v „head space“ sú prítomné v koncentráciách zodpovedajúcich skutočnej aróme.



Obr. 2. Prístroj na získanie aromatických látok citlivých na teplo. A — náplň, B — napájacia pumpa, C — odparovač, D — kondenzátor, E — oddeľovacia kolóna, F — vákuová pumpa, G — chladič, H — predloha chladená suchým ľadom, I — odplyňovanie, J — cirkulačná pumpa, K — získavanie aromatických látok, L — prúd dusíka, M — odpad, N — spodný varič, P — oddeľovacia pumpa, R — získavanie oddelenej chladenej šťavy.

Jednou z nevýhod je, že potláča prístupnú analytickú citlivosť k limitnej citlivosti. Rýchlu a reprodukovateľnú metódu na zachytávanie a analýzu „head space“ aromatických látok uviedol Gill a Noble [27]. Z pulp paradajok a šťavy rekonštituovanej z pretleku sa izolovalo 5 zlúčenín, ktoré sa kvantitatívne stanovili a identifikovali chromatografiou plyn—kvapalina a hmotnostnou spektroskopiou. Prehľady o aplikácii plynovej chromatografie uviedli Teranishi [28] a Kovacs [29]. Na delenie komplexných zmesí, ktoré sa predbežne frakcionovali sú potrebné kolóny a rozličné stacionárne a pohyblivé fázy s určitým rozsahom polarity a selektivity. Výsledky delenia plynovou chromatografiou za rovnakých podmienok závisia od rozdielov medzi parciálnymi koeficientmi zlúčenín, ktoré sú separované, a od výkonnosti kolóny. Zlúčeniny, ktoré nie sú dobre rozpustné v jednej fáze, musia byť oddeliteľné v inej fáze odlišnej polarity [8].

### Metódy identifikácie aromatických látok

Na identifikáciu aromatických látok sa používajú viaceré metódy, ku ktorým patria najmä spektrálne metódy, ako infračervená spektroskopia, Rama-

nova spektroskopia a hmotnostná spektroskopia. Infračervená spektroskopia je metóda, ktorá sa používa na dôkaz skupín, ako sú  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ , dvojité väzby a pod. Ramanova metóda je doplnujúcou metódou k infračervenej spektroskopii. Pásky, ktoré sú neviditeľné v infračervenej oblasti, objavujú sa v Ramanových spektrách. Táto metóda sa používa na dôkaz tetrasubstituovaných, dvojitých, trojitých väzieb, a väzieb uhlík—síra a síra—síra a pod. Hmotnostná spektrometria je najfrekvencovanejšou metódou, ktorá sa používa v oblasti organickej chémie a pri štúdiu štruktúry zlúčenín. Sledujú sa rozdiely medzi izomérmi, najmä alifatických dvojitých väzieb, epiméry a iné. Výhodou hmotnostnej spektrometrie je, že požadované množstvo látky na získanie spektra je v tom istom rozsahu ako množstvo látky, ktoré sa požaduje pri stanovení plynovou chromatografiou. Veľmi často sa používa spojenie plynového chromatografu a hmotnostného spektrometra [8].

Cieľom tohto článku bolo poukázať na rozdielne spôsoby analýzy aromatických látok s využitím rozdielnych metód izolácie, ako aj najnovších metód ich stanovenia a identifikácie.

## Súhrn

V článku sa stručne spomínajú najzávažnejšie metódy izolácie, zahusťovania, stanovenia a identifikácie aromatických látok. Opisujú sa metódy izolácie aromatických látok uplatňujúce sa v laboratórnych podmienkach a aj spôsoby zahusťovania zónovým tavením a vymrazovaním. Z vyhodnocovacích metód sa venovala pozornosť infračervenej spektroskopii, Ramanovej spektroskopii, plynovej chromatografii a hmotnostnej spektrometrii.

## Literatúra

1. CUPÁKOVÁ, M.: Príspevok k štúdiu aromatických látok potravín. Bulletin VÚP, 1976, č. 3.
2. PRÍBELA, A.: Aromatické látky ovocia a zeleniny. (Písomná práca k aspirantskému minimu.) CHTF SVŠT, Bratislava 1963.
3. MEHLITZ, A. — MATZIK, B.: Ind. Obst- und Gemüseverwertung, 42, 1957, s. 359.
4. BRUNNER, H. — SENN, G.: Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau, 67, 1958, s. 8.
5. DIMICK, K. P. — MAKOWER, B.: Food Technol., 10, 1956, s. 73.
6. PRÍBELA, A.: Zborník 2. vedeckej konferencie CHTF SVŠT. Bratislava, STS 1960, s. 231.
7. SCHORMÜLLER, J. — GROSCH, W.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch., 118, 1962, s. 386.
8. TERANISHI, R. I.: Flavour Research. New York, Marcel Dekker Inc. 1971.
9. LEA, C. H. — SWOBODA, P. A.: Sci. Food Agric., 13, 1962, s. 148.
10. LEA, C. H. — SWOBODA, P. A.: Sci. Food Agric., 45, 1967, s. 1104.
11. NOVÁK, J. a spol.: Anal. Chem., 37, 1965, s. 660.
12. KAISER, R. E., Chem. Anal., 45, 1973, s. 965.
13. RALIS, J. W. a spol.: J. Food Sci., 30, 1965, s. 228.
14. CARSON, J. F. — WENG, F. J. Agric. Food. Chem., 2, 1969, s. 140.
15. WEURMAN, C.: J. Agric. Food Chem., 17, 1969, s. 370.
16. NAIPAWER, R. E. a spol.: Flavour Ind., 2, 1971, s. 465.
17. FARKAŠ, J. — HRIVNÁK, J.: Kvas. Prům., 22, 1976, s. 63.
18. PALO, V.: osobné oznámenie.
19. CHANG, S. S.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 38, 1961, s. 669.

20. PATTON, S. — THARP, B. W.: *J. Dairy Sci.*, **42**, 1959, s. 49.
21. FORSS, D. A. — HOLLOWAY, G. L.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **44**, 1967, s. 572.
22. NAWAR, W. W. a spol.: *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 1959, s. 645.
23. DE BRUYN, J. — SCHOGT, J. C. M.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **38**, 1961, s. 40.
24. HONKANEN, E. — KARVONEN, P.: *Acta chem. scand.*, **20**, 1966, s. 2626.
25. CUPÁKOVÁ, M.: *Aromatické látky zeleniny*. (Pisomná práca k aspirantskému minimu.) ČHTF SVŠT, Bratislava 1975.
26. GILL, T. A. — NOBLE, A. C.: *Canad. Inst. Food Sci.*, **7**, 1974, s. 72.
27. HUCKLE, M. T.: *Chem. Ind.*, **83**, 1966, s. 1490.
28. TERANISHI, R. a spol.: *Amer. Soc. Brewing. Chem. Proc.*, **52**, 1960.
29. KOVACS, A. S.: *Süsswaren*, **9**, 1965, s. 59, 132.

## Изолирование, определение, идентификация ароматических веществ

### Выводы

В статье вкратце приводятся самые значительные методы изолирования, определения и идентификации ароматических веществ. Описаны методы изолирования ароматических веществ, применяемые в лабораторных и также способы загустевания зонной плавкой и вымораживанием. Из методов оценки уделялось внимание инфракрасной спектроскопии, спектроскопии Рамана, газовой хроматографии и массовой спектрометрии.

## Isolation, determination, identification of aromatic substances

### Summary

In the study the most relevant methods of aromatic substances isolation, thickening, determination and identification are briefly mentioned. The isolation methods of aromatic matters in laboratory conditions and also thickening methods with zone melting and freezing are described. From evaluating methods attention to infrared spectroscopy, Raman spectroscopy, gas chromatography and mass spectrometry was paid.