

Analýza karbonylových zlúčenín v koncentrátoch jablkovej arómy

PAVEL VALÁŠEK — ALEXANDER PRÍBELA

Súhrn. Z rôznych vzoriek koncentrátov aromatických látok jablák sa karbonylové zlúčeniny vo forme 2,4-dinitrofenylhydrazónov rozdelili na tenkej vrstve (silikagél, sústava chlorid uhličitý—*n*-hexán—octan etylový—acetón 100 : 10 : 20 : 5) a pomocou plynovej chromatografie (1 % SE 30 na Chromosorbe W). Oddelené a vyizolované škvrny z tenkej vrstvy sa ešte rozdelili plynovou chromatografiou. Určila sa reprodukovateľnosť elučných údajov. Plynovou chromatografiou sa oddelilo 13—15 karbonylových látok, kým chromatografiou na tenkej vrstve iba 10 škvrn. Spektrofotometricky pri 360 nm sa stanovil obsah karbonylových zložiek a vyjadril ako acetaldehyd v mg.l⁻¹. Ukázalo sa, že medzi obsahom karbonylových zložiek a 2-hexenalom a hexanalom je vysoká korelácia (0,966). Medzi senzoričkou hodnotou a uvedenými aldehydmi $r = 0,938$.

Medzi významné zložky arómy jablkových štiav patria karbonylové zlúčeniny. Mnohé z nich sú senzoričky veľmi aktívne a určujú odrodový, resp. druhový charakter arómy jablák [1—3]. Vznikajú ako sekundárne látky počas zrenia plodov [4] a počas spracovania [5—9]. Po oddelení aromatických látok zo šťavy a po ich skoncentrovaní na koncentráty sa niektoré zložky označujú za nešpecifické, napr. etanal [11], iné sa pokladajú za charakteristické, napr. hexanal, *trans*-2-hexenal [12—14].

Na oddelenie karbonylových zlúčenín z koncentrátov arómy sa využívajú kondenzačné reagenty, najmä 2,4-dinitrofenylhydrazín, ktorý tvorí s monokarbonylovými zlúčeninami žltú až oranžovú zrazeninu 2,4-dinitrofenylhydrazónov, resp. s dikarbonylovými zlúčeninami osazóny [10, 15, 16]. Tieto deriváty možno stanoviť fotometricky [16, 17] alebo po rozdelení chromatografiou na tenkej vrstve [16, 18, 19], resp. plynovou chromatografiou [20—22].

V predloženej publikácii uvádzame porovnanie výsledkov dvoch techník

Ing. Pavel Valášek, doc. Ing. Alexander Príbela, DrSc., Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

rozdelenia karbonylových látok jabĺk po derivatizácii na 2,4-dinitrofenylhydrazóny, resp. osazóny, a to chromatografiou na tenkých vrstvách ako jednoduchú techniku a plynovou chromatografiou.

Experimentálna časť

Na analýzy sme použili komerčne vyrobené koncentráty aromatických látok jabĺk z konzervárni VKL Chrast, SKL Žatec a Fruta Modřice.

Izolácia a stanovenie karbonylových zlúčenín. Zo vzorky sa odpipetovalo 10 ml koncentrátov arómy a rovnaký objem roztoku 2 % 2,4-dinitrofenylhydrazínu v 35 % kyseline chloristej do kónickej zábrusovej banky. Zmes sa premiešala a nechala stáť 15 h pri 20 °C. Zrazenina hydrazónov a osazónov sa odfiltrovala na Büchnerovom lieviku cez hustý filtračný papier (červená páska) a premyla minimálnym množstvom vody do vymiznutia kyslej reakcie a vysušila pri 85 °C. Získané hydrazóny sa použili na chromatografické rozdelenie.

Pre kvantitatívne fotometrické stanovenie sa zrazenina 2,4-dinitrofenylhydrazónov odfiltrovala na téglíkoch S 4 a rozpustila v chloroforme (50 ml). Téglík sa premyl trikrát horúcim etanolom (po 10 ml). Spojené eluáty sa po ochladení doplnili po značku v 100 ml odmernej banke etanolom. Takto pripravený eluát sa zriedil 100-násobne etanolom a zmerala sa absorbancia v 1,0 cm kvete pri 360 nm na spektrofotometri Spekol 10. Z analytickej čiary $c = 2,2143 A - 0,0049$ sa vypočítal obsah karbonylových zlúčenín a vyjadril ako acetaldehyd v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ koncentrátu aromatických látok.

Chromatografia na tenkých vrstvách. Na rozdelenie karbonylových zlúčenín sa použili hotové platne Silufol (Sklárny Kavalier, závod Votice). Chromatogramy sa vyvíjali v zmesi chlorid uhličitý-n-hexán-octan etylový-acetón v pomere 100 : 20 : 10 : 5 objemových dielov. Rozdelené 2,4-dinitrofenylhydrazóny sa porovnali so štandardmi. R_F sa počítali ako relatívne hodnoty k acetaldehydu (R_{Fa}). Na preparačné účely sa použili jednak uvedené platne Silufol (25 × 25), jednak sypané vrstvy silikagélu (Kieselgel G, Merck). Rozdelené škvrny sa vybrali aj s adsorbentom a vyeluovali trikrát chloroformom a raz metanolom. Eluáty sa zahustili a použili na rozdelenie plynovou chromatografiou alebo na stanovenie spektrofotometricky.

Plynová chromatografia. Roztoky 2,4-dinitrofenylhydrazónov sa rozdeľovali plynovou chromatografiou priamo na prístroji Chrom 5. Použila sa sklenená kolóna 2500 mm dlhá, s vnútorným priemerom 3 mm. Náplň Chromosorb W (HP) 0,152–0,195 mm (80–100 mesh) so zakotvenou fázou 1 % SE 30. Nos-

ný plyn dusík, tlak $9,0 \cdot 10^4$ Pa. Programovaná teplota: 170°C izotermicky 2 min, $170\text{--}190^\circ\text{C}$ $5^\circ\text{C}/\text{min}$, 190°C izotermicky 12 min. Plameňový vodíkovo-ioni-začný detektor 250°C , prietok vodíka $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, prietok vzduchu $300 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Teplota injekčného bloku 220°C , množstvo vzorky $4 \mu\text{l}$.

Jednotlivé píky sa identifikovali pomocou štandardných roztokov 2,4-dinitro-fenylhydrazónov. Pomer jednotlivých zložiek sa vyjadril ako relatívne per-cento plochy píky.

Štatistické hodnotenie výsledkov. Na štatistické hodnotenie výsledkov sa použili metódy uvedené v [26]. Symboly: variačné rozpätie R , aritmetický priemer \bar{x} , smerodajná odchýlka s_R ($s_R = kn \cdot R$, kde kn pre $n = 4$ je $0,4857$),

$$\text{miera presnosti } M' \left(M' = \pm \frac{(2s_R) \cdot 100 \%}{\bar{x}} \right),$$

$$\text{korelačný koeficient } r = \frac{S(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{S(x - \bar{x})^2 (y - \bar{y})^2}}.$$

$$\text{Regresná priamka } y = a + bx, \quad b = \frac{A}{B}, \quad A = S(xy) - \frac{1}{n} SxSy,$$

$$B = Sx^2 - \frac{1}{n} S^2x, \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Výsledky a diskusia

Reprodukovateľnosť stanovených R_{Fa} hodnôt. Získané výsledky a ich štatistic-ké spracovanie rozdelených škvŕn 2,4-dinitrofenylhydrazónov chromatogra-fiou na tenkej vrstve a plynovou chromatografiou sú v tabuľkách 1 a 2.

Z tabuľky 1 vyplýva, že rozdelenie jednotlivých škvŕn na silufolových plat-niach je relatívne dobré a reprodukovateľnosť delenia vykazuje chybu väčši-nou do $\pm 2 \%$, iba pri škvŕnách s nízkymi R_{Fa} hodnotami je miera presnosti horšia, 4, 4,5 a 8,4 %. Možno to vysvetliť tým, že ide o relatívne hodnoty, kto-rých veľkosť závisí od \bar{x} .

Miera reprodukovateľnosti rozdelenia jednotlivých zložiek plynovou chro-matografiou sa pohybuje od 1 do 4 %, čo je v priemere lepšie ako pri chromato-grafii na tenkej vrstve. Z tabuliek 1 a 2 možno tiež vidieť, že plynovou chroma-tografiou sa oddelilo 13 až 15 zložiek, kým tenkovrstvovou chromatografiou iba 10 škvŕn. Z toho vyplýva, že plynová chromatografia je vhodná na detail-nejšie rozdelenie 2,4-dinitrofenylhydrazónov, a je tiež časovo menej náročná

(celkové rozdelenie trvá 25 min). Na prevádzkové účely však stačí aj chromatografia na silufolových platniach, ktorá je prístrojovo nenáročná a dá sa realizovať i v podnikových, resp. závodných laboratóriách. Je vhodná pre orientač-

Tabuľka 1. Hodnota R_{Fa} škvrín 2,4-dinitrofenylhydrazónov rozdelených chromatografiou na tenkej vrstve

Table 1. R_{Fa} values of 2,4-dinitrophenylhydrazones spots separated by means of thin-layer chromatography

Škvr- na ¹	Vzorka ²				Štatistické údaje ³		
	1	2	3	4	\bar{x}	$s_R \cdot 10^{-4}$	$M[\%]$
	R_{Fa}						
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
2	0,11	0,12	0,12	0,11	0,115	49	8,4
3	0,21	0,21	0,22	0,22	0,215	49	4,5
4	0,48	0,48	0,47	0,49	0,480	97	4,0
5	0,83	0,82	0,82	0,83	0,825	49	1,2
6	1,01	1,00	1,00	0,99	1,000	97	1,9
7	1,16	1,16	1,15	1,17	1,160	97	1,7
8	1,47	1,48	1,48	1,46	1,473	97	1,3
9	1,75	1,76	1,75	1,76	1,755	49	0,6
10	1,93	1,94	1,94	1,96	1,943	146	1,5

¹Spot; ²Sample; ³Statistical data.

Tabuľka 2. Hodnoty relatívnych elučných údajov R_t rozdelených 2,4-dinitrofenylhydrazónov plynovou chromatografiou

Table 2. R_t values of relative elution data on 2,4-dinitrophenylhydrazones separated by means of gas chromatography

Pík ¹	Vzorka ²				Štatistické údaje ³		
	1	2	3	4	\bar{x}	$s_R \cdot 10^{-2}$	$M'[\%]$
	R_t [min]						
1	7,17	7,08	7,17	7,00	7,11	8,26	2,1
2	7,67	7,50	7,33	7,33	7,46	16,51	4,4
3	8,00	7,83	7,87	8,00	7,92	8,26	2,1
4	8,33	8,17	8,25	8,17	8,23	7,77	1,8
5	9,17	8,92	9,00	8,83	8,98	16,51	3,7
6	9,83	8,75	9,92	9,83	9,83	8,26	1,7
7	10,33	10,00	10,17	10,33	10,21	16,03	3,1
8	13,75	13,50	13,83	+	13,69	19,50	2,8
9	15,67	14,42	15,33	15,50	15,48	16,51	2,1
10	16,83	16,67	N	+	16,75	14,18	1,7
11	18,17	17,83	17,83	17,67	17,88	24,29	2,7
12	18,67	18,50	+	18,50	18,56	10,04	1,1
13	19,67	19,50	19,70	19,67	19,64	9,71	1,0
14	20,92	21,00	20,83	—	20,92	10,04	1,0
15	23,17	23,00	22,83	—	23,00	20,09	1,7

¹Peak; ²Sample; ³Statistical data.

Tabuľka 3. Identifikácia 2,4-dinitrofenylhydrazónov
Table 3. Identification of 2,4-dinitrophenylhydrazones

Štandardná látka ¹	Chromatografia na tenkej vrstve ⁹	Plynová chromatografia ¹¹
	škvrna ¹⁰	pík ¹²
acetaldehyd ²	6	1
benzaldehyd ³	8	15
hexanal ⁴	9	9
<i>trans</i> -2-hexenal ⁵	9	11
acetón ⁶	7	2
metyletylketón ⁷	8	7
cyklohexanón ⁸	8—9	14

¹Standard substance; ²Acetaldehyde; ³Benzaldehyde; ⁴Hexanal; ⁵*trans*-2-Hexenal; ⁶Acetone; ⁷Methylethylketone; ⁸Cyclohexanone; ⁹Thin-layer chromatography; ¹⁰Spot; ¹¹Gas chromatography; ¹²Peak.

né zistenie zastúpenia jednotlivých karbonylových zlúčenín v jablkových koncentrátoch aromatických látok.

Identifikácia a kvantitatívne hodnotenie rozdelených 2,4-dinitrofenylhydrazónov. Rozdelené 2,4-dinitrofenylhydrazóny chromatografiou na tenkých vrstvách sa po elúcii znova delili plynovou chromatografiou. Z výsledkov vyplynulo, že iba dve škvrny (č. 7 a 10) boli jednotné látky, v ostatných škvrnách sa vyskytujú dve i viac zložiek. Zaujímavá je škvrna č. 1 (štart), kde sa objavilo všetkých 15 látok rozdelených plynovou chromatografiou. Možno to vysvetliť silnou adsorpciou časti nanášanej vzorky na aktívne centrá adsorbentu, z ktorých sa použitou rozpúšťadlovou zmesou neeluuje. Až silným desorpčným rozpúšťadlom (metanolom) sa vylučuje. Poradie škvŕn rozdelených chromatografiou na tenkej vrstve je značne rozdielne od poradia 2,4-dinitrofenylhydrazónov vychádzajúcich z kolóny plynového chromatografu, čo je pochopiteľné, vzhľadom na rozdielne typy chromatografických metód (adsorpčná, rozdeľovacia).

Identifikácia dôležitejších karbonylových zložiek sa vykonala pomocou R_{Fa} hodnôt, resp. elučných údajov štandardných látok (prehľad je v tab. 3).

Z výsledkov v tabuľke 3 vidieť, že plynovou chromatografiou sa 2,4-dinitrofenylhydrazóny dostatočne oddelili, kým pri chromatografii na tenkej vrstve hexanal a pravdepodobne *trans*-2-hexenal sa oddelili ako jedna škvrna. Cyklohexanón vykazoval rozťahnutú škvrnu, ktorá zasahovala od metyletylketónu až do hexanal. Ostatné zložky neboli bližšie identifikované.

Z chromatografických záznamov sa vypočítalo percento zastúpenia plôch pod jednotlivými chromatografickými vlnami vzťahované k celkovej ploche. Z týchto údajov sa zistilo množstvo jednotlivých hydrazónov, prepočítaných

Tabuľka 4. Zastúpenie karbonylových zlúčenín rozdelených chromatografiou na tenkej vrstve (ako acetaldehyd v mg.l⁻¹)
 Table 4. Representation of carbonyl compounds separated by means of thin-layer chromatography (expressed as acetaldehyde in mg l⁻¹)

Zložka ¹	Vzorka ²			
	1	2	3	4
1	14	23	12	12
2	40	20	19	6
3	14	12	13	9
4	34	16	16	9
5	71	32	66	23
6	1054	505	364	80
7	163	30	30	18
8	49	29	20	12
9	105	64	92	18
10	50	30	39	24

¹Compound; ²Sample.

Tabuľka 5. Zastúpenie karbonylových zlúčenín rozdelených plynovou chromatografiou (ako acetaldehyd v mg.l⁻¹)
 Table 5. Representation of carbonyl compounds separated by means of gas chromatography (expressed as acetaldehyde in mg l⁻¹)

Pík ¹	Vzorka ²			
	1	2	3	4
1	689,2	390,8	315,8	129,5
2	561,9	303,6	239,0	76,0
3	2,7	1,4	0,5	0,1
4	2,6	1,2	0,5	0,1
5	0,8	0,4	0,3	0,1
6	1,1	0,5	0,5	+
7	0,6	0,4	0,2	0,1
8	0,2	0,2	0,3	+
9	118,8	5,1	10,8	0,5
10	2,6	0,9	N	+
11	208,5	54,1	102,5	1,4
12	0,6	0,3	+	+
13	0,5	0,2	0,2	+
14	3,5	1,4	0,3	—
15	0,2	0,2	0,3	—

+ stopy, — chýba, N — neoddelil sa.

+ Traces, — absent, N — was not separated.

¹Peak; ²Sample.

z celko vého obsahu 2,4-dinitrofenylhydrazónov vo vzorke (vyjadrené ako acetaldehyd v mg.l⁻¹). Množstvá jednotlivých zložiek po rozdelení chromatografiou na tenkej vrstve udáva tabuľka 4 a rozdelené plynovou chromatografiou udáva tabuľka 5.

Z výsledkov v tabuľkách 4 a 5 je zrejmé, že celkový obsah karbonylových

zložiek je v jednotlivých vzorkách značne rozdielny, čo svedčí o rozdielnom stupni skoncentrovania aromatických látok, resp. menej aromatických štiav, z ktorých boli oddelené. Mimoriadne vysoký obsah karbonylových zlúčenín sa zistil vo vzorke č. 1 1594 mg.l⁻¹, vzorka č. 2, resp. 3 obsahovala 761, resp. 671 mg.l⁻¹ a najmenej vzorka č. 4, iba 212 mg.l⁻¹. V tejto vzorke sa navyše zistila prítomnosť cukrov a pektínových látok, čo svedčí o tom, že do koncentrá- tu aromatických látok sa dostala šťava. Pokiaľ ide o zastúpenie jednotlivých karbonylových zlúčenín, najväčší podiel reprezentuje acetaldehyd (40—60 %) a pík, ktorý mal rovnaké elučné údaje ako acetón (4—35 %). Z ostatných zlo- žiek sú zaujímavé najmä *trans*-2-hexenal (7—15 %) (vo vzorke č. 4 iba 0,7 %) a hexanal. Zvyšné karbonylové zlúčeniny sú zastúpené iba v malých množst- vách.

Senzoricky účinné sú predovšetkým *trans*-2-hexenal a hexanal, ktoré, ak sa korelovali s celkovým obsahom karbonylových zlúčenín pri plynovej chroma- tografii, mali korelačný koeficient vysoký ($r = 0,966$), pri chromatografii na tenkej vrstve o niečo nižší ($r = 0,880$). Rovnako vysoká korelačná závislosť je medzi obsahom sumy 2-hexenal a hexanal a senzorickou hodnotou ($r = 0,938$).

Z uvedeného vyplýva, že z obsahu karbonylových zložiek v koncentrátoch aromatických látok jablk možno usudzovať na celkovú akosť týchto produktov, ako to potvrdzujú uvedené korelačné koeficienty. Pre detailnejšie rozdelenie 2,4-dinitrofenylhydrazónov je vhodná plynová chromatografia, kým chroma- tografia na tenkej vrstve je menej účinná, avšak pre jej dostupnosť a ľahkú realizovateľnosť je vhodná na orientačné stanovenie karbonylových zlúčenín pre závodnú, resp. podnikovú kontrolu.

Literatúra

1. WHITE, J. W.: Food Res., 15, 1950, s. 68.
2. SENN, V. C.: J. Food Sci., 28, 1963, s. 531.
3. MEIGH, D. F.: J. Sci. Food Agric., 7, 1956, s. 396.
4. BÜCHI, W. — ULLMANN, F.: Schweiz. Obst- u. Weinbau, 67, 1958, s. 459.
5. DRAWERT, F. — WEYH, H.: Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 2, 1973, s. 10.
6. DRAWERT, F.: Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 5, 1976, s. 27.
7. GOTTAUF, M. — DUDEN, R.: Z. Lebensm.-Untersuch., Forsch. 128, 1965, s. 257.
8. MEHLITZ, A. — MATZIK, B.: Ind. Obst- u. Gemüseverwert., 42, 1957, s. 359.
9. BENGTTSSON, B. — BOSUND, J.: Food Technol., 18, 1964, s. 773.
10. PRÍBELA, A.: Štúdium chemického zloženia aromatických látok ovocných štiav. Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1965.
11. POWER, F. B. — CHESNUT, V. K.: J. Amer. Chem. Soc., 42, 1920, s. 1304.
12. KOCH, J. — SCHILLER, H.: Z. Lebensm.-Unters Forsch. 125, 1964, s. 364.

13. FLATH, R. A.: *Agric. Food Chem.*, **15**, 1967, s. 24.
14. HERMANN, J. — POESCHEL, W.: *Nahrung*, **19**, 1975, s. 401.
15. PRÍBELA, A.: *Chemické zloženie konzervárenských surovín*, Bratislava, ES SVŠT 1979.
16. PRÍBELA, A. — MAŠEK, F.: *Prům. Potravin*, **12**, 1961, s. 193.
17. PRÍBELA, A. — VAŠÁTKO, J.: *Biológia*, **22**, 1967, s. 96.
18. JONES, L. A.: *Anal. Chem.*, **28**, 1956, s. 191.
19. DAVÍDEK, J. a kol.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*, Praha, SNTL 1977.
20. PRÍBELA, A. a kol.: *Vypracovanie objektívneho spôsobu hodnotenia koncentrátov aromatických látok jablk. Závěrečná správa HZ 76/80 a 26/81*. Bratislava. Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1981.
21. LÁBLER, L. a kol.: *Chromatografie na tenké vrstvě*. Praha, Nakl. ČSAV 1965.
22. MEHLITZ, A. — GIESCHNER, K. — MINAS, T.: *Chem. Z.*, **87**, 1963, s. 573.
23. SOUKUP, R. J. — SCARPELLINO, R. J. — DANIELCZNIK, E.: *Anal. Chem.*, **36**, 1964, s. 2255.
24. SMITH, R. A. — DRUMMOND, I.: *Analyst*, **104**, 1979, s. 875.
25. SMAGULA, J. M. — BRAMLAGE, W. J.: *J. Food Sci.*, **42**, 1977, s. 48.
26. ECKSCHLAGER, K. — HORSÁK, I. — KODEJŠ, Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*, Praha SNTL 1980.

Анализ карбонильных соединений в концентратах яблочного аромата

Резюме

Из различных образцов концентратов ароматических веществ яблок карбонильные соединения в форме 2,4-динитрофенилгидразонов разделялись на тонком слое (силикагель, система: тетрахлорметан — n-гексан — этилацетат — ацетон, 100:10:20:5) и при помощи газовой хроматографии (1 % SE 30 на Хромосорбе W). Отделенные и отизолированные пятна с тонкого слоя еще разделялись путем газовой хроматографии. Была установлена воспроизводимость данных элюирования. Путем газовой хроматографии было отделено 13—15 карбонильных веществ, тогда как хроматография на тонком слое — лишь 10 пятен. Спектрофотометрически при 360 нм определялось содержание карбонильных составляющих, выражавшееся как ацетальдегид в мг.л⁻¹. Оказалось, что между содержанием карбонильных составляющих и 2-гексеналом и гексеналом имеется высокая корреляция ($r = 0,966$). Между сенсорным значением и приведенными альдегидами $r = 0,938$.

Analysis of carbonyl compounds in apple aroma concentrates

Summary

Using a thin layer (silica gel, composition of carbon chloride—n-hexane—ethyl acetate—acetone, 100 : 10 : 20 : 5) and gas chromatography (1 % SE 30 on Chromosorb W), carbonyl compounds having the form of 2,4-dinitrophenylhydrazones were separated from various samples of concentrates of apple aromatic substances. The reproducibility of elution data was established as well. The gas chromatography made it possible to separate 13—15 carbonyl spots, whereas in the case thin-layer chromatography it were 10 spots only. Amount of carbonyl compounds was determined spectrophotometrically at 360 nm, it was expressed as acetylaldehyde in mg l⁻¹. It was shown that there was a considerable correlation ($r = 0.966$) between the content of carbonyl compounds, 2-hexenal and hexanal. It was found that between the sensoric value and the aldehydes $r = 0.938$.