

## Karbonylové zlúčeniny v mliečnom tuku a jeho frakciách

### The carbonyl compounds in milk fat and in its fractions

M. CUPÁKOVÁ — V. PALO

**Abstract:** The aim of the work was a study of the carbonyl compounds representation in milk fat and in its fractions made from sweet cream winter butter. Carbonyl compounds were isolated by means of steam distillation under a reduced pressure and analyzed by the gas chromatography method. In the samples the different representation of methanal, ethanal, propanal, propanone, 2-butanone, butanal, 2,3-butanedione and isovaleraldehyde was found.

Aromatické látky, ktoré sú v mliečnom tuku, tvoria heterogénnu zmes zlúčenín [1, 2]. Podrobne sa študovala najmä skupina voľných mastných kyselín, karbonylových zlúčenín a laktónov [3–5]. Niektoré práce sa zamerali na štúdium prekursorov týchto látok a mechanizmus ich tvorby. Množstvo aromatických látok v mliečnom tuku je rozdielne a riadi sa podľa pôvodu tuku, jeho výroby, spracovania a skladovania. Je známe, že celkové množstvo voľných mastných kyselín, ako aj ich kvalitatívne zastúpenie v smotane závisí od kontaminácie proteolytickými a psychrofilnými baktériami i od dĺžky skladovania [6]. Pri štúdiu arómy mliečneho tuku je izolácia širokého spektra aromatických látok, vyskytujúcich sa často vo veľmi nízkych koncentráciách, veľkým problémom. Opisovali sa mnohé metódy na izoláciu stôp aromatických látok [7]. Ich cieľom bola najmä úplná izolácia prchavých zložiek, a to bez skreslenia získaných výsledkov rozličnými artefaktmi. Často používaná extrakčná metóda Wonga a Parksa [8] umožňuje izoláciu aromatických látok na stĺpci Celitu 545. Výhody tejto metódy sú v efektívnom získaní celkových prchavých látok, pričom sa extrahujú stopy tuku a vody. Je to pomerne rýchla a technicky nenáročná metóda. Inou často používanou metódou je metóda na získanie troch skupín látok. Opísali ju Kontson a spol. [9]. Podľa nej sa metylénchloridom oddeľujú zo vzorky voľné mastné kyseliny, laktóny a podiel obsahujúci neacidické zložky — aldehydy a ketóny.

Na izoláciu aromatických látok sa často používa destilácia vodnou parou za zníženého tlaku. Karbonylové zlúčeniny sa často oddeľujú od ostatných prchavých látok vo forme pomerne stabilných derivátov 2,4-dinitrofenyl-

---

RNDr., M. Cupáková, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 898 13 Bratislava.

Doc., Ing., V. Palo, CSc., CHTF SVŠT, Jánska 1, 801 00 Bratislava.

hydrazónov (2,4-DNPH). Takto možno karbonylové zlúčeniny izolovať selektívne z komplexných zmesí. Sú známe ich fyzikálne vlastnosti, ktoré umožňujú ich pomerne ľahkú identifikáciu v porovnaní s inými derivátmi.

V našej práci sme sa zamerali na štúdium karbonylových zlúčenín — skupinu látok, ktorá má značný podiel na chutnosti mliečného tuku. Tieto zložky sú v študovanom materiáli prítomné vo veľmi nízkych koncentráciách a môžu sa navzájom ovplyvňovať. Zistil sa aditívny účinok aldehydov [10]. Kvalitatívne a kvantitatívne zastúpenie karbonylových zlúčenín ovplyvňujú viaceré faktory. Pri štúdiu týchto látok v oxidovanom mliečnom tuku, ako aj v iných oxidovaných tukoch sa zistilo, že pri zníženej koncentrácii alkenalov a alk-2,4-dienalov sa zvyšuje zastúpenie alkanalov. Zdrojom oxidovaných aróm sú predovšetkým nenasýtené aldehydy. Sú známe zlúčeniny, ktoré sú nositeľmi charakteristických aróm.

Na detailnejšie štúdium sa čoraz viac používajú chromatografické metódy, z ktorých popredné miesto má plynová chromatografia. Používanie nových stacionárnych fáz, náplní do kolón s neustále sa zvyšujúcou účinnosťou a aplikácia vysokoúčinných kolón umožnili použiť ju pri štúdiu aromatických látok mliečného tuku.

## Experimentálna časť

### Použitý materiál

V práci sa ako pokusný materiál použil tuk získaný zo zimmého masla zo sladkej smotany (Milex, n. p., Bratislava) a frakcie pripravené z mliečného tuku [2, 3]. Zastúpenie karbonylových zlúčenín sa študovalo vo vzorkách mliečného tuku (MT), v tuhej a kvapalnej frakcii získanej frakcionáciou pri 25 a 15 °C.

### Izolácia a identifikácia karbonylových zlúčenín

Karbonylové zlúčeniny sa izolovali z mliečného tuku destiláciou vodnou parou za zníženého tlaku [11]. Tieto sa spracovali na príslušné 2,4-DNPH, ktoré sa vyextrahovali do chloroformu. Chloroformový extrakt 2,4-DNPH sa potom analyzoval plynovou chromatografiou, a to za týchto podmienok: Prístroj Fractovap model GB a FID, sklenená kolóna (2000 × 3 mm) plnená 1 % SE-30 na GAS Chrom P silanizovaný 100/120 mesh; nosný plyn: dusík 9,12 · 10<sup>4</sup> Pa; teplota kolóny: 190 °C; dávkovanie 2,5 μl 60 % chloroformového roztoku 2,4-DNPH karbonylových zlúčenín.

Jednotlivé karbonylové zlúčeniny sa identifikovali pomocou štandardov. Výsledky sa hodnotili percentuálnym zastúpením jednotlivých výšok chromatografických vrcholov 2,4-DNPH.

### Výsledky a diskusia

Výsledky GLC-analýzy karbonylových zlúčenín boli obdobné ako ich opísali Kalio a spol. [12]. Poukázali na možnosť priamej analýzy 2,4-DNPH plynovou chromatografiou.

Výsledky analýzy vzoriek plynovou chromatografiou, ktoré uvádzajú tabuľky 1—5 ukázali, že v mliečnom tuku zo zimného masla zo sladkej smotany, ako aj v jeho frakciách sa v rozdielnom množstve nachádzali: metanolal, etanolal, propanon, propanal, 2-butanón, butanal, 2—3-butandion, izovaleraldehyd. Touto metódou sa identifikovali zlúčeniny s kratším retazcom ako chromatografiou na tenkých vrstvách [2]. Nezistila sa prítomnosť 2-heptanonu a hexanalu. V mliečnom tuku a v kvapalnej frakcii získanej pri vyššej frakčionej teplote (25 °C) sa zistila prítomnosť 7 karbonylových zlúčenín, kým v ostatných menej. V tuhej frakcii získanej pri tej istej frakčionej teplote sa zistil izovaleraldehyd. Vo všetkých vzorkách sa nachádzali metanoal, etanoal, propanón, 2-butanón a butanal. Propanal sa zistil v mliečnom tuku a v kvapalnej frakcii získanej frakcionáciou mliečného tuku pri 15 a 25 °C; v tuhých podieloch sa nezistil. Na základe percentuálneho vyhodnotenia výšky vrcholov jednotlivých karbonylových zlúčenín možno usudzovať o zastúpení týchto látok v mliečnom tuku a jeho frakciách, kde v najväčšom množstve bol zastúpený

Tabuľka 1. Retenčné charakteristiky 2,4-dinitrofenylhydrazónov karbonylových zlúčenín a percentuálne zastúpenie výšky ich vrcholov v mliečnom tuku (MT) (X<sub>1</sub> — neidentifikovaná zlúčenina)

Vzorka	Vrchol	R <sub>t</sub> [min]		Zastúpenie výšky vrcholov [%]	Zlúčenina
		vzorka	štandard		
MT	1	2,1	2,1	42,4	metanal
	2	2,3	—	11,4	X <sub>1</sub>
	3	3,5	3,5	10,7	etanal
	4	4,6	4,6	20,2	propanon
	5	5,7	5,2	6,0	propanal
	6	6,0	6,2	5,3	2-butanon
	7	7,0	7,8	2,6	butanal
	8	8,1	8,2	1,4	2,3-butandion

Tabuľka 2. Retenčné charakteristiky 2,4-dinitrofenylhydrazónov karbonylových zlúčenín a percentuálne zastúpenie výšky ich vrcholov v tuhej frakcii získanej pri frakčionej teplote 25 °C (S<sub>25</sub>) (X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> — neidentifikované zlúč.)

Vzorka	Vrchol	R <sub>t</sub> [min]		Zastúpenie výšky vrcholov [%]	Zlúčenina
		vzorka	štandard		
S <sub>25</sub>	1	2,1	2,1	54,8	metanal
	2	2,8	—	8,9	X <sub>1</sub>
	3	3,1	—	7,0	X <sub>2</sub>
	4	4,0	3,5	17,3	etanal
	5	4,8	4,6	8,8	propanon
	6	6,2	6,2	2,2	2-butanon
	7	7,9	7,8	1,7	butanal
	8	9,7	9,8	0,7	izovaleraldehyd
	9	11,0	—	0,2	X <sub>3</sub>

Tabuľka 3. Retenčné charakteristiky 2,4-dinitrofenylhydrazónov karbonylových zlúčenín a percentuálne zastúpenie výšky ich vrcholov v kvapalnej frakcii získanej pri frakcionačnej teplote 25 °C ( $L_{15}$ ) ( $X$ , — neidentifikované zlúči.)

Vzorka	Vrchol	$R_t$ [min]		Zastúpenie výšky vrcholov [%]	Zlúčenina
		vzorka	štandard		
$L_{25}$	1	2,1	2,1	20,0	metanal
	2	3,5	3,5	15,6	etanal
	3	4,5	4,6	15,1	propanon
	4	5,4	5,2	12,3	propanal
	5	6,4	6,2	10,5	2-butanon
	6	7,1	7,8	9,7	butanal
	7	9,7	9,8	8,7	izovaleraldehyd
	8	10,6	—	8,1	$X_3$

Tabuľka 4. Retenčné charakteristiky 2,4-dinitrofenylhydrazónov karbonylových zlúčenín a percentuálne zastúpenie výšky ich vrcholov v tuhej frakcii získanej pri frakcionačnej teplote 15 °C ( $S_{15}$ ) ( $X_1$ ,  $X_4$  — neidentifikované zlúčeniny)

Vzorka	Vrchol	$R_t$ [min]		Zastúpenie výšky vrcholov [%]	Zlúčenina
		vzorka	štandard		
$S_{15}$	1	2,1	2,1	34,0	metanal
	2	3,0	—	14,8	$X_1$
	3	3,5	3,5	15,5	etanal
	4	4,6	4,6	27,3	propanon
	5	6,1	6,2	6,9	2-butanon
	6	7,5	—	1,3	$X_4$
	7	8,0	7,9	0,4	butanal

Tabuľka 5. Retenčné charakteristiky 2,4-dinitrofenylhydrazónov karbonylových zlúčenín a percentuálne zastúpenie výšky ich vrcholov v kvapalnej frakcii získanej pri frakcionačnej teplote 15 °C ( $L_{15}$ )

Vzorka	Vrchol	$R_t$ [min]		Zastúpenie výšky vrcholov [%]	Zlúčenina
		vzorka	štandard		
$L_{15}$	1	2,1	2,1	33,9	metanal
	2	3,5	3,5	22,0	etanal
	3	4,9	4,6	24,5	propanon
	4	5,7	5,2	9,8	propanal
	5	6,0	6,2	7,7	2-butanon
	6	7,9	7,8	2,1	butanal

metanal, a to v mliečnom tuku, i v tuhých podieloch získaných pri obidvoch frakcionačných teplotách. Z ďalších zlúčenín to boli propanon a etanal, ktoré mali vyššie zastúpenie výšky vrcholov. Propanon bol prítomný vo väčšom množstve v tuhom a kvapalnom podieli získanom pri teplote 15 °C. Výsledky poukázali na rozdielne zastúpenie karbonylových zlúčenín vo frakciách mliečného tuku. Izolácia a identifikácia týchto látok býva zatažená ich veľmi nízkou koncentráciou a voľbou vhodného izolačného postupu. Ako sme už spomenuli v úvode, na koncentráciu týchto látok vplýva veľa faktorov. Maslo a z neho izolovaný tuk je veľmi slabo aromatický materiál, najmä ak bolo vyrobené bez použitia mliekárenských kultúr. V masle, ktoré sa pripravilo za použitia kultúr, sú dôležité zložky arómy, ktoré vznikli fermentáciou, a to najmä etanal a diacetyl(2,3-butandion). Stabilita diacetylu závisí od prítomnosti diacetylreduktázy z maslových kultúr, kým rovnováha etanalu závisí od syntézy rodmi *Streptococcus* a jeho využitia rodmi *Leconostoc* [10]. Podľa [13] kvalitatívne zastúpenie karbonylových zlúčenín závisí od rozličných vonkajších a fyziologických faktorov, ku ktorým patrí i sezónnosť. Je známe, že koncentrácie monokarbonylových zlúčenín bývajú vyššie v zime ako v lete. Zistila sa aj vyššia korelácia medzi monokarbonylmi, metylketónmi,  $\delta$ -laktónmi a kyselinami s krátkym reťazcom (4 : 0—14 : 1).

V našej práci sme študovali iba niektoré karbonylové zlúčeniny, ktoré boli prítomné vo vyšších koncentráciách. Ako izolačná metóda sa osvedčila destilácia vodnou parou v aparátúre podľa Sieka a Lindsaya [11]. Na separáciu a identifikáciu sa použila metóda plynovej chromatografie, ktorá umožňovala priamu analýzu 2,4-DNPH karbonylových zlúčenín. Tým sa eliminovali možné straty karbonylových zlúčenín, ktoré môžu vzniknúť pri ich uvoľnení z DNPH derivátov.

Získané výsledky majú informatívny charakter. Slúžia ako podklady pre širšie štúdium podielu a funkcie karbonylových zlúčenín v chutnosti mliečného tuku.

## Súhrn

V práci sa študovala distribúcia karbonylových zlúčenín v mliečnom tuku a jeho frakciách získaných pri 25 a 15 °C. Na štúdium sa použila GLC separácia DNPH derivátov karbonylových zlúčenín, ktoré sa izolovali destiláciou vodnou parou za zníženého tlaku.

Získané výsledky poukázali na rozdielne zastúpenie karbonylových zlúčenín vo frakciách mliečného tuku zo zimného masla zo sladkej smotany.

## Literatúra

1. CUPÁKOVÁ, M. — PALO, V.: Chutnosť mliečného tuku. I. Prehľad poznatkov o chuti a vône mliečného tuku. Bull. VÚP, 19, 1980, č. 1, s. 23—27.
2. CUPÁKOVÁ, M. — PALO, V. — COPLÁKOVÁ, M.: Chutnosť mliečného tuku. II. Štúdium charakteru arómy maslového tuku a jeho frakcií. Bull. VÚP, 19, 1980, č. 2, s. 17—22.
3. CUPÁKOVÁ, M.: Záverečná správa. Bratislava, VÚP 1980.
4. BILLS, D. D. — KHATRI, L. L. — DAY, E. A.: J. Dairy Sci., 46.

5. DIMICK, P. S. — WALKER, N. J. — PATTON, S.: *J. Agr. Food Chem.*, *17*, 1969, s. 649—655.
6. PIJANOWSKI, E.: *Základy chémie a technológie mliekárstva I*. Bratislava, Príroda 1977, 499 s.
7. CHANG, S. S. a spol.: *J. Agr. Food Chem.*, *25*, 1977, s. 450—455.
8. WONG, N. P. — PARKS, O. V.: *J. Dairy Sci.*, *51*, 1968, s. 1768—1769.
9. KONTSON, A. a spol.: *J. Dairy Sci.*, *53*, 1970, s. 410—417.
10. DAY, E. A.: *Food Technol.*, *19*, . . . , s. 129—134.
11. SIEK, T. J. — LINDSAY, R. C.: *J. Dairy Sci.*, *51*, 1968, s. 1888—1895.
12. KALIO, H. — LINKO, R. — KAITARANTA, J.: *J. Chromatogr.*, *65*, 1972, s. 355—360.
13. FORSS, D. A.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, *48*, 1971, s. 702—710.

М. Цупакова — В. Пало

### Карбонильные соединения в молочном жире и его фракциях

#### Резюме

Мы занимались исследованием замещения карбонильных соединений в молочном жире и в его фракциях из зимнего масла из сливок. Карбонильные соединения были изолированы дистилляцией с водяным паром при пониженном давлении и анализированы с помощью газовой хроматографии. В образцах было определено разное замещение метаналю, этаналю, пропаналю, 2-метилацетона, бутаналю, 2,3-бутандиона и изовалеральдегида.