

## Sledovanie tvorby a premien aromatických látok pri spracovaní cesnaku

PETER HRADSKÝ—PAVEL FARKAŠ—MILAN KOVÁČ

**Súhrn.** V práci sa diskutuje o možnosti izolácie zložiek cesnakovej esencie adsorpciou na reverznom sorbente RP C18. Takto izolovanú zmes látok separuje tenkovrstvová chromatografia a identifikácia jednotlivých zlúčenín sa dosahuje pomocou plynovochromatografických meraní a kombináciou GC/MS. Možnosť sledovať hlavné zložky cesnakovej esencie sa využíva ako monitorovacia metóda pri procesoch spracovania cesnaku.

Cesnak nachádza široké uplatnenie pri priemyselnej výrobe potravín najmä pre jeho charakteristickú chuť a vôňu, ale aj konzervačné účinky, napr. pri úprave mäsa. Charakteristickú chuť a vôňu dodáva cesnaku zmes prchavých sírnych zlúčenín, ktoré sa tvoria po rozrušení jeho tkaniva enzymatickými a chemickými reakciami [1—3]. V prvom kroku sa účinkom enzýmu alinázy na arómainaktívne (+*S*)-alk(-en)yl-L-cysteínsulfoxidy, a to (+)-*S*-allyl-L-cysteínsulfoxid (tzv. aliín), (+)-*S*-metyl-L-cysteínsulfoxid a (+)-*S*-propyl-L-cysteínsulfoxid tvoria príslušné symetrické a zmiešané alk(en)yltiosulfináty. Z nich najvýznamnejší pre svoje aromatické vlastnosti a konzervačné (fytoncid) účinky je alyltiosulfinát (tzv. alicín). Alyltiosulfinát je však pomerne nestabilná zlúčenina a už pri laboratórnej teplote sa rozkladá na zmes dialylsulfidu, disulfidu a trisulfidu, ktoré sú hlavnými zložkami cesnakovej esencie [4]. Obdobným spôsobom sa rozkladajú aj ostatné prítomné alk(-en)yltiosulfináty. Pri zvýšenej teplote sa alyltiosulfinát rozkladá za vzniku izomérnych cyklických zlúčenín 2-vinyl-4*H*-1,3-ditiínu a 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiínu [4]. Údaje o kinetike rozkladu alyltiosulfinátu z rôznych prameňov sa však značne líšia [5, 6].

Keďže proces tvorby a premien sírnych zlúčenín cesnaku je pomerne zložitý dej, na ktorý významne vplyvajú podmienky, za ktorých prebieha, je aktuálna požiadavka tento dej monitorovať.

---

RNDr. Peter Hradský, RNDr. Pavel Farkaš, CSc., Ing. Milan Kováč, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

Zámerom predloženej práce bolo preto vypracovať metódu, ktorá by umožnila získať informácie o uvedenom procese.

## **Materiál a metódy**

Použitú odrodu cesnaku s pracovným označením KS sme získali zo šľachtiteľskej stanice Kráľová pri Senci a vzorku cesnakovej pasty sme zakúpili v obchodnej sieti.

### **a) Príprava cesnakovej šťavy**

Cesnakovú šťavu sme pripravili z 10 g olúpaných strúčkov cesnaku rozdrvením na ručnom kuchynskom lise a nasledujúcim zhomogenizovaním so 40 ml destilovanej vody v laboratórnom homogenizátore (typ Homogenizer 302, Mechanika Precyzjna, Poľsko). Šťava sa od vlákniiny oddelila pretláčaním cez niekoľko vrstiev gázy. Takto sa získalo asi 45 ml šťavy.

### **b) Izolácia sledovaných látok z cesnakovej šťavy extrakciou na tuhej fáze**

Na izoláciu látok nachádzajúcich sa v cesnakovej šťave sme použili izolačné kolónky Separcol naplnené modifikovaným silikagelom s označením RP C18 o hmotnosti 500 mg, ktoré vyrába a dodáva Ústav polymérov SAV.

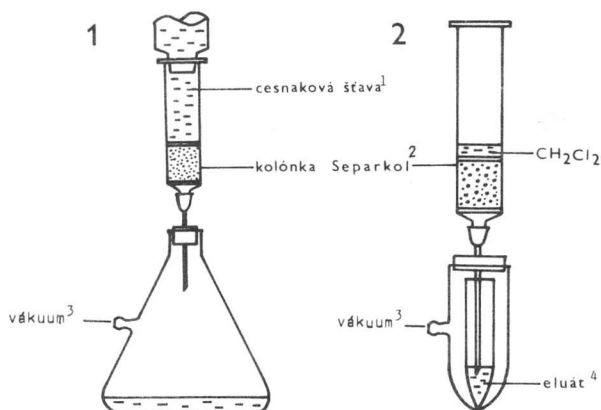
Kolónka Separcol sa pred použitím kondiciovala prepláchnutím 2 ml metanolu (Lachema, pre UV) a potom 1 ml redestilovanej vody. Cez takto pripravenú kolónku sa prefiltrovalo 5 ml cesnakovej šťavy rýchlosťou  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , a potom sa premyla 1 ml redestilovanej vody. Zostatok vody sme čiastočne odstránili krátkodobým presávaním vzduchu.

Látky zachytené na sorbente sme eluovali  $3 \times 0,2 \text{ ml}$  dichlórmétanu (E. Merck, pre chromatografiu). Eluát sme zachytili v kónicky upravenej mikroskúmavke a bez ďalšej úpravy analyzovali.

Postup izolácie znázorňuje obr. 1.

### **c) Príprava cesnakovej esencie destiláciou vodnou parou**

45 ml cesnakovej šťavy sa zriedilo destilovanou vodou na objem 250 ml, aby sa zabránilo nadmernej tvorbe peny, a destillovalo sa vodnou parou. Destilácia sa skončila, keď objem destilátu (emulzia vydestilovaných látok vo vode) dosiahol 70 ml. Z takto pripraveného destilátu sme odobrali 5 ml a sledované látky izolovali rovnako ako z cesnakovej šťavy.



Obr. 1. Izolácia sledovaných látok z cesnakovej šťavy na kolónke Separkol (1) a eluovanie zachytených látok dichlórmetánom (2).

Fig. 1. Isolation of investigated substances obtained from the garlic juice using the Separkol column (1) and the eluation of capture substances by dichloromethane (2). (¹ Garlic juice; ² Separkol column; ³ Vacuum; ⁴ Eluate.)

#### d) Izolácia sledovaných látok z cesnakovej pasty

Z cesnakovej pasty zakúpenej v maloobchode, ktorá obsahovala 50 % kuchynskej soli, sme odobrali 20 g. Toto množstvo sa homogenizovalo so 40 ml destilovanej vody a z takto pripravenej šťavy sme vzali 5 ml na izoláciu uvedeným postupom.

#### e) Separácia sledovaných látok tenkovrstvovou chromatografiou

Eluáty získané uvedeným postupom sme analyzovali metódou TLC za týchto podmienok:

Použitá platňa: E. Merck, Kiesegel 60 F<sub>254</sub>

1. vyvolanie: n-hexán + toluén (10 : 1)

2. vyvolanie: n-hexán + etylacetát (4 : 1)

Všetky uvedené rozpúšťadlá boli od fy. Lachema, pre UV.

Vyvíjacia dráha: asi 10 cm

Nanáška: 50 µl eluátu

Detekcia pod UV lampou pri  $\lambda = 254$  nm.

#### f) Identifikácia látok na TLC chromatograme

Okraje škvŕn na platni sme pod UV lampou označili a každú z nich samostatne eluovali objemom 100 µl dichlórmetánu (E. Merck, pre chromatografiu). Takto vzniknuté eluáty sme analyzovali metódou GC, resp. GC/MS za podmienok:

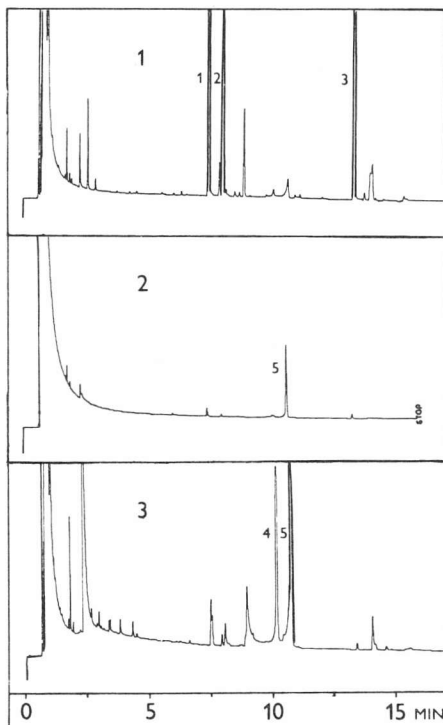
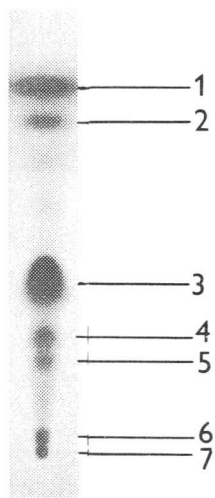
Plynový chromatograf: HP 5890 II s plameňovo-ionizačným detektorom  
Kolóna: sklená kapilárna (20 m × 0,32 mm) s fázou OV-1 imobilizovanou  $\gamma$ -žia-  
rením a hrúbkou filmu 0,6  $\mu$ m  
Teplotný program: 60 °C gradient 5 °C/min 180 °C (izotermicky 15 min)  
Teplota injektora a detektora: 250 °C  
Nástrek: 1  $\mu$ l eluátu technikou „split“ pri deliacom pomere 1 : 40  
Nosný plyn: vodík s lineárnou prietokovou rýchlosťou 35 cm/s.

Plynový chromatograf s hmotnostným detektorom: HP 5890 II-HP 5971 A  
Kolóna: HP-Ultra 1 (25 m × 0,2 mm) s fázou zosieťovaný metylsilikónový  
elastomér s hrúbkou filmu 0,33  $\mu$ m.  
Teplotný program: 60 °C gradient 5 °C/min 180 °C (izotermicky 15 min)  
Teplota injektora a detektora: 250 °C  
Teplota iónového zdroja a separátora: 180 °C  
Ionizačná energia: 70 eV (EI).

### Výsledky a diskusia

Na izoláciu sírnych zlúčenín nachádzajúcich sa v cesnakovej šťave sme použili postup založený na ich adsorpcii na reverznom sorbente uvedenej kvality. Na tomto sorbente majú tieto látky veľmi vysokú retenciu, keďže ide o izoláciu z vodného prostredia a o látky nepolárne až stredne polárne. Rozborom pretečenej šťavy cez izolačnú kolónku sa potvrdilo prakticky ich úplné zachytenie sa na kolónke. Izolácia sledovaných látok z cesnakovej šťavy na sorbente v tomto prípade nahradila všeobecne používaný postup extrakcie organickým rozpúšťadlom. Oproti extrakcii má izolácia na sorbente viacero výhod. Z nich dôležitá je možnosť izolovania látok priamo z cesnakovej šťavy. V prípade extrakcie organickými rozpúšťadlami sú problémy s tvorbou emulzií a nízkou extrahovateľnosťou, vzhľadom na čo bolo treba izolovať sledované látky destiláciou vodnou parou. Pri tomto postupe izolácie je však analyzovaný materiál vystavený účinkom tepelného pôsobenia, čo vedie k niektorým nežiadúcim zmenám vo vzorke. Ostatné výhody sú všeobecné prednosti tohto postupu, ako napr. nižšia materiálová a časová náročnosť izolačného postupu.

Na obr. 2 je chromatogram zmesi sledovaných sírnych zlúčenín nachádzajúcich sa v cesnakovej šťave, ktoré sme identifikovali na základe analýzy eluátu každej škvrny samostatne metódou GC (obr. 3), pričom sme použili elučné údaje [7], ako aj kombináciu GC/MS [8, 9]. Neidentifikované škvrny reprezentujú látky, ktoré nemožno za uvedených podmienok GC analyzovať. Ako vidieť



Obr. 2. Separácia látok izolovaných z cesnakovej šťavy na tenkej vrstve silikagélú. 1 — dialyldisulfid, alyl-(1-propenyl)disulfid, dialyltrisulfid, 2 — 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiín, 3 — alyltiosulfinát (alicín), 4—7 — neidentifikované.

Fig. 2. Separation of substances isolated from garlic juice on thin silicagel layer. 1 — dialyldisulphide, alyl-(1-propenyl)disulphide, dialyltrisulphide, 2 — 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiine, 3 — alyltiosulphinat (alicine), 4—7 — non-identified.

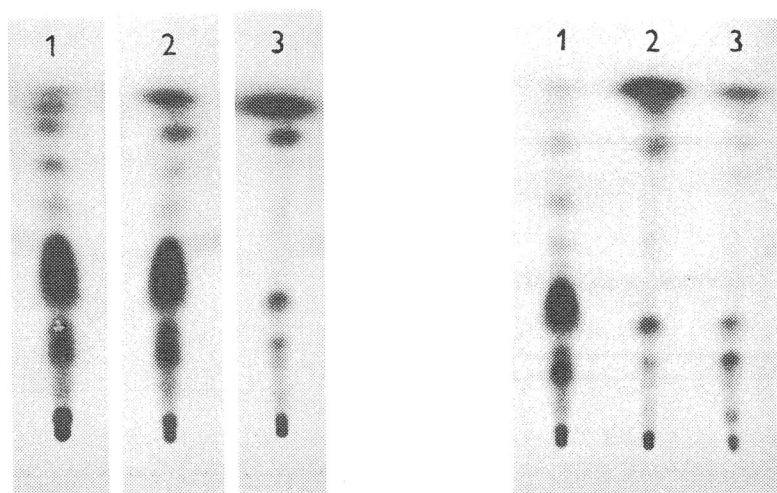
Obr. 3. GC analýza eluátov škvrn (1—3) z TLC platne (obr. 2), 1 — dialyldisulfid, 2 — alyl-(1-propenyl)disulfid, 3 — dialyltrisulfid, 4 — 2-vinyl-4*H*-1,3-ditiín, 5 — 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiín.

Fig. 3. GC analysis of eluates of spots (1—3) from TLC plate (Fig. 2). 1 — dialyldisulphide, 2 — alyl-(1-propenyl) disulphide, 3 — dialyltrisulphide, 4 — 2-vinyl-4*H*-1,3-ditiine, 5 — 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiine.

na obr. 3, škvrnu č. 1 tvoria predovšetkým dialyldisulfid, alyl-(1-propenyl)disulfid a dialyltrisulfid, ktoré sú hlavnými zložkami cesnakovej esencie. Škvrnu č. 2 tvorí 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiín, ktorý je jedným z produktov rozkladu alyltiosulfinátu [10]. Analýzou eluátu škvrny č. 3 sa našli 2-vinyl-4*H*-1,3-ditiín a 3-vinyl-4*H*-1,2-ditiín. Keďže vieme, že tieto látky sú produktmi tepelného rozkladu alyltiosulfinátu v procese GC analýzy [4], škvrnu č. 3 sme identifikovali ako alyltiosulfinát. Uvedené poznatky sme využili pri sledovaní procesov súvisiacich so spracovaním cesnaku.

Obrázok 4 znázorňuje kinetiku procesu tvorby prchavých sírnych zlúčenín v cesnakovej šťave. Tento príklad ilustruje jednak schopnosť metódy postrehnúť prebiehajúce zmeny a ukazuje priamu závislosť tvorby prchavých sírnych zlúčenín na rozpade alyltiosulfinátu. Proces rozpadu alyltiosulfinátu a s tým súvisiaca tvorba aromatických látok tvoriacich základ cesnakovej esencie je rozhodujúcim procesom, ktorý prebieha v cesnaku po jeho spracovaní.

Cesnaková esencia pre potreby potravinárskeho, ale aj farmaceutického priemyslu sa vyrába z rozdrveného cesnaku destiláciou vodnou parou. Počas destilácie je cesnaková šťava vystavená tepelnému pôsobeniu a proces rozpadu alicínu, ako aj tvorba aromatických látok je tým výrazne ovplyvnená. Tento proces prebehne počas destilácie, teda v čase podstatne kratšom ako v predošlom prípade, čo dokazujú chromatogramy na obr. 5. Ako zároveň vidieť,



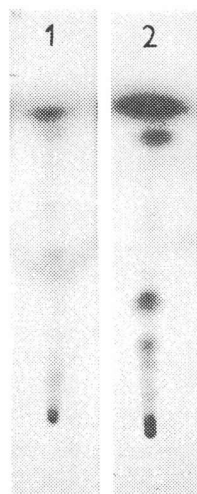
Obr. 4. Proces rozpadu alyltiosulfinátu a vznik prchavých sírnych látok cesnakovej esencie. 1 — cesnaková šťava analyzovaná 2 h po homogenizácii, 2 — cesnaková šťava analyzovaná po 36 h temperovania pri teplote 30 °C, 3 — cesnaková šťava analyzovaná po 150 h temperovania pri teplote 30 °C.

Fig. 4. Process of alyltiosulphinates decay and the formation of volatile sulphur substances of garlic essence. 1 — garlic juice analysed 2 h after homogenization, 2 — garlic juice analysed after 36 h tempering at the temperature of 30 °C, 3 — garlic juice analysed after 150 h tempering at the temperature of 30 °C.

Obr. 5. Sledovanie procesu destilácie cesnakovej šťavy vodnou parou. 1 — čerstvá cesnaková šťava pred destiláciou, 2 — destilát (emulzia prchavých sírnych látok vo vode), 3 — destilačný zvyšok po destilovaní cesnakovej šťavy vodnou parou.

Fig. 5. The study of garlic juice distillation using the steam. 1 — fresh garlic juice before the distillation, 2 — distillate (emulsion of volatile sulphur substances in water), 3 — distillation residue after garlic juice distillation with the steam.

možno na základe tohto porovnania získať aj predstavu o účinnosti destilácie a o celkovej látkovej bilancii.



Obr. 6. Porovnanie obsahu aromatických sírnych zlúčenín v cesnakovej paste (1) s množstvom týchto zlúčenín vzniknutých v ekvivalentnom množstve cesnaku (2).

Fig. 6. Comparison of contents of aromatic sulphur compounds in garlic paste (1) with the amounts of those compounds formed in equivalent quantity of fresh garlic (2).

Rozdrvením cesnaku a zmiešaním s 30 a 50 % kuchynskej soli sa vyrába tzv. cesnaková pasta [11]. Na obr. 6 sú chromatogramy sírnych zlúčenín izolovaných z cesnakovej pasty z obchodnej siete a čerstvého cesnaku. Pri porovnaní chromatogramov vidieť podstatný rozdiel v obsahu sírnych zlúčenín v paste a v šťave pripravenej z ekvivalentného množstva čerstvého cesnaku. Uvedená skutočnosť sa zhoduje s tým, že pri zakúpenej paste končila záručná doba udávaná výrobcom.

## Literatúra

1. WHITAKER, J. R.: *Advances in Food Research* 22. Academic Press, New York 1976.
2. FENWICK, G. R.—HANLEY, A. B., *CRC Critical Rev. Food Sci. Nutrition*, 22, 1985, 4, s. 273.
3. CARSON, J. F., *Food Rev. Int.*, 3, 1987, č. 1—2, s. 71.
4. BRODNITZ, M. H.—PASCALE, J. V.—Van DERSLICE, L., *J. Agric. Food Chem.*, 19, 1971, č. 2, s. 273.
5. SAGHIR, A. R.—MANN, L. K.—BERNHARD, R. A.—JACOBSEN, J. V., *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 84, 1964, s. 386.
6. TUNG-HSI YU—CHUNG-MAY WU, *J. Food Sci.*, 54, 1989, č. 4, s. 977.
7. FARKAŠ, P.—KOVÁČ, M.—VLNIEŠKOVÁ, E., In: *Zborník referátov z IX. celoštátneho sympózia Aromatické látky v požívatinách*, Banská Bystrica, 1989, s. 79.
8. SAITO, K.—MASAKAZU, H. et. al., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72, 1989, č. 6, s. 917.
9. VERNIN, G.—METZGER, J.—FRAISSES, D.—SCHARFF, C., *Planta Medica*, 1986, s. 96.

10. BLOCK, E.—AHMAD, S.—JAIN, M. K.—CRECELY, R. W.—APITZ-CASTRO, R.—CRUZ, M. R., J. Am. Chem. Soc., 106, 1984, s. 8295.  
11. ON 56 9283. Česneková pasta.

Do redakcie došlo 26. 3. 1990

### **Определение образования и изменений ароматических веществ при обработке чеснока**

#### **Резюме**

В работе дискутирована возможность изоляции компонентов эссенции чеснока адсорбцией на реверсивном сорбенте RP C18. Этим способом была изолирована смесь веществ, сепарированная тонкослойной хроматографией и идентификация отдельных веществ достигнута с помощью газохроматографических измерений и комбинированием GC/MS.

Возможность определения основных компонент эссенции чеснока использована в качестве метода мониторинга в процессах обработки чеснока.

### **The study of garlic flavouring agents, their formation and conversion during the garlic processing**

#### **Summary**

In this paper, the isolation possibility of garlic essence components using adsorption on reversed sorbent RP C18 is discussed. A mixture of substances which was isolated in mentioned way, was separated by thin-layer chromatography. The respective compounds were identified by the gas-chromatographic measurements, as well as by means of GC/MS combination. The investigation of main garlic essence components is utilized like the monitoring method in garlic processing.