

## Látky vonné a chuťové

### Charakteristické vlastnosti

#### Vonné látky

- nízkomolekulární látky  
 $M_r < 300$
- málo rozpustné ve vodě
- většinou nepolární nebo středně polární
- těkavé (kapalné i tuhé) nebo plynné při lab. teplotě (důležité vlastnosti: teplota varu, tlak nasycených par)

#### Chuťové látky

- nízkomolekulární látky i látky o střední  $M_r$
- polární i nepolární látky
- organické i anorganické sloučeniny
- kyseliny, zásady i látky bez acidobazických vlastností

### Vonné a chuťové látky z hlediska původu

- **primární** – vyskytují se přirozeně v sensoricky aktivní formě
- **sekundární** – vznikají z přirozeně přítomných prekurzorů enzymovými reakcemi např. při dozrávání plodin nebo fermentaci nebo neenzymovými reakcemi při zpracování surovin, tepelné úpravě apod.
- **aditivní** látky upravující vůni a chuť
  - přírodně identické aromatické látky
  - náhradní sladidla
  - okyselující látky...

## Směsi přírodních látek

- **silice (etherické oleje)** – směsi vonných látek izolované z rostlinných materiálů zpravidla destilací s vodní párou – obsahují těkavé látky (monotereny, seskviterpenové uhlovodíky, aldehydy, ketony, ethery, fenoly...)
- **oleoresiny** – výtažky vonných a chuťových látek a dalších složek koření a bylin připravené extrakcí těkavými nepolárními rozpouštědly a následným odpařením rozpouštědla
- **pryskyřice** – netěkavé složky extraktů – obsahují seskviterpeny a vyšší terpeny, vosky...

## Pojmy senzoričké analýzy

- **podněťový práh** – nejnižší postřehnutelná koncentrace
- **práh rozpoznání** – nejnižší koncentrace látky, při které lze rozeznat charakter vůně nebo chuti

### Příklady hodnot podněťového prahu látek ve vodném roztoku

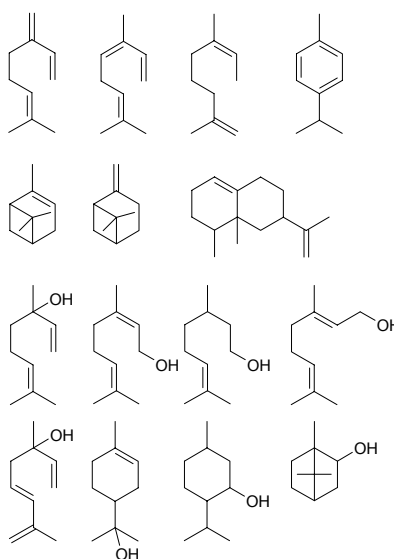
Látka	mg/l
ethanol	100
malinový keton	0,01
linalool	0,006
isobutyraldehyd	0,001
methanthiol	0,00002
2-isobutyl-3-methoxypyrazin	0,000002

## Oblasti využití analýzy vonných a chuťových látek

- potravinářství
  - výzkum vztahu mezi senzoricou jakostí a obsahem vonných a chuťových látek
  - vývoj nových výrobků
  - autenticita potravin a nápojů
- kosmetický a voňavkářský průmysl
- biologické vědy
  - chemická komunikace mezi organismy

## Vybrané skupiny vonných látek

- **terpenové uhlovodíky**  
**myrcen** (estragon, jalovec, šalvěj, pomeranč), **ocimen** (šalvěj), **limonen** (citrusy, máta), **p-cymen** (jalovec, koriandr oregano),  **$\alpha$ -pinen** (estragon, jalovec, máta, pomeranč, oregano, tymián, vavřík) a  **$\beta$ -pinen** ( $\alpha$ + $\beta$ : pepř, muškát, koriandr...), **valencen** (pomeranč)
- **terpenové alkoholy**  
**linalool** (bazalka, koriandr, skořice, tymián), **nerol**, **citronellol**, **geraniol**, (ovoce), **hotrienol** (víno),  **$\alpha$ -terpineol** (majoránka, kardamon, badyán, jalovec), **menthol** (máta), **borneol** (šalvěj, muškát, jalovec, kardamon...)



## Vonné látky (2)

- **terpenové aldehydy**

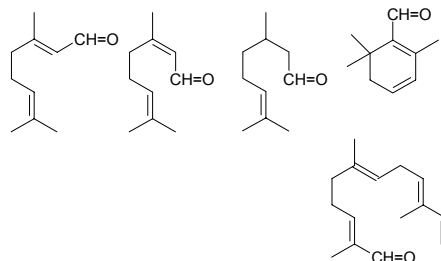
**citral *a* – geranial**

**citral *b* – neral**

**citronellal** (citrusové plody)

**safranal** (šafrán)

**$\alpha$ -sinensal** (pomeranče)



- **terpenové ketony**

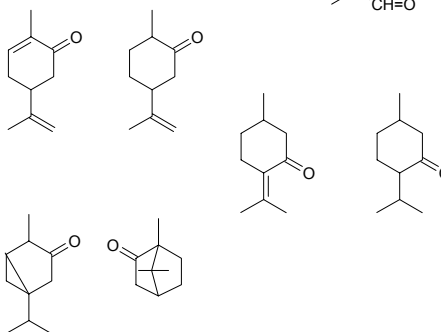
**karvon** (kmín, kopr),

**dihydrokarvon** (kmín, máta),

**pulegon, menthon** (máta),

**thujon** (šalvěj, pelyněk),

**kafr** (kafrovník, skořice, šalvěj, rozmarýna...)



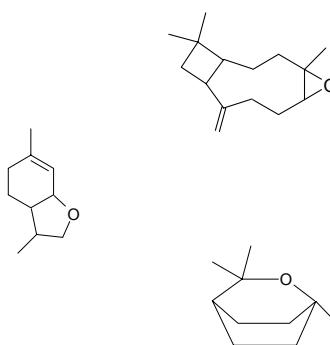
## Vonné látky (3)

- **terpenové ethery a epoxidy**

**epoxykaryofyllen**

**dillether – kmínový ether**  
(kmín, kopr)

**1,8-cineol** (eukalyptus)



## Vonné látky (4)

- **alkoholy**

*methanol*, *ethanol*, *alkoholy přiboudliny* (1-propanol, 1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol)...

*3-hexen-1-ol* (tráva, zelenina), *1-okten-3-ol*, *1,5-oktadien-3-ol* (houby),

*benzylalkohol* (destiláty), *glycerol*, *butandioly*...

- **alifatické aldehydy**

*formaldehyd* = methanal, *acetaldehyd* = ethanal

*vyšší alkanaly* (např. hexanal), *alkenaly* (3-hexenal, 4-heptenal, 6-nonenal),

*malonaldehyd* – produkty žluknutí tuků

*methional* (3-methylthiopropenal) – produkt Streckerovy degradace

methioninu (vařené brambory)

*2,6-nonadienal* (okurky)

- **alifatické ketony**

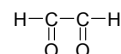
*aceton* = propanon, *vyšší methylketony* (2-heptanon ve skořici, badyánu),

*1-penten-3-on* (rybí pach), *6-undekanon* (ovocná vůně)

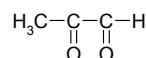
## Vonné látky (5)

- **dikarbonylové sloučeniny**

*glyoxal* = ethandial

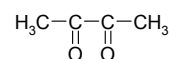


*methylglyoxal* = 2-oxopropanal



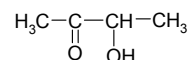
*biacetyl* = 2,3-butandion

aroma másla



- **hydroxykarbonylové sloučeniny**

*acetoin* = 3-hydroxy-2-butanon



## Vonné látky (6)

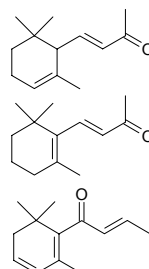
- **alicyklické ketony**

**$\alpha$ -jonon** (maliny, čaj, mrkev, vanilka)

**$\beta$ -jonon** (maliny, borůvky, rajčata, čaj)

**$\beta$ -damascenon** (med, jablka, čaj, káva, víno, pivo)

– tyto látky vznikají degradací karotenoidů



- **alifatické karboxylové kyseliny**

**mravenčí kys.**, **octová kys.**, **propionová kys. máselná** (butanová), **valerová** (pentanová), **isovalerová kys.** (velmi nepříjemný pach), **kapronová** (hexanová), **kaprylová** (oktanová), **kaprinová** (dekanová) – mýdlový pach

## Vonné látky (7)

- **estery**

estery alifatických kyselin (**acetáty**, **bytyráty**...)  
s běžnými alkoholy (MeOH, EtOH, iBuOH, iAmOH...) – zpravidla ovocná vůně

**isoamylacetát** (isopentylacetát) – banány

**amylacetát**, **ethyl-2,4-dekadienoát** – hrušky

**butylacetát** – ananas

acetáty monoterpenických alkoholů

(**geranylacetát**, **nerylacetát**) – aroma citrusů

estery aromatických kyselin:

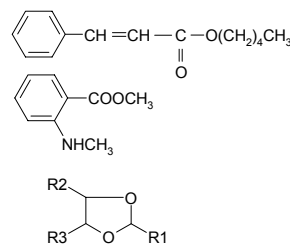
**amylcinnamát** – kakaová vůně

**methyl-N-methylantranilát** – mandarinka

- **acetály**

**1,1-diethoxyethan** (diethylacetál acetaldehydu)

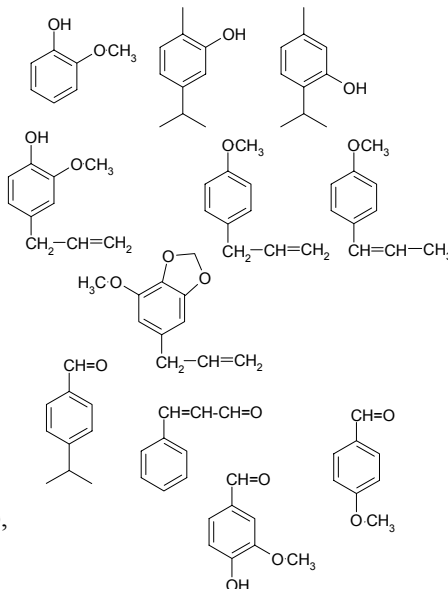
cyklické acetály – **1,3-dioxolany** – v alkoholických nápojích (vznik reakcí acetaldehydu s glycerolem, 1,2-propandiolem nebo 2,3-butandiolem)



## Vonné látky (8)

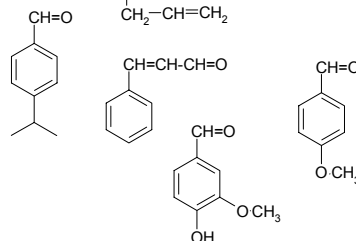
- fenoly a fenolethery**

**guajakol** (kouřová sladká vůně, výskyt: káva, mléko...), **karvakrol** a **thymol** (tymián, oregano), **eugenol** (hřebíček, nové koření, bazalka, banán), **estragol** (bazalka, estragon, anýz), **anethol** (anýz, fenykl, badyán), **myristicin** (mrkev, petržel, celer)



- aromatické aldehydy**

**benzaldehyd** (peckovité ovoce a destiláty), **kuminaldehyd**, **cinnamaldehyd** (skořice), **anisaldehyd** (anýz, badyán, vanilka), **vanilin** (vanilka)



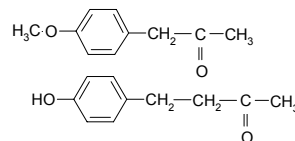
## Vonné látky (9)

- aromatické ketony**

**acetofenon** (fenylmethylketon)

**anisketon** (fenykl, badyán)

**malinový keton** (maliny)



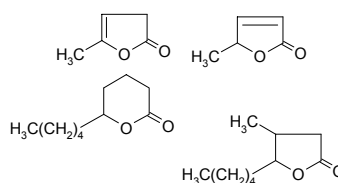
- laktony**

**angelikalaktony** ( $\alpha$  a  $\beta$ )- bylinná vůně

$\gamma$ - a  $\delta$ -laktony C6-C10 – ovocná vůně

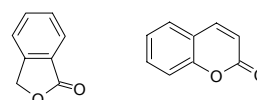
**$\delta$ -dekalakton** (5-dekanolid) – broskvová vůně, výskyt: maliny, kokosový ořech

**koňakový lakton** (3-methyl-4-oktanolid)



**ftalidy** – vonné látky celeru, libečku, petržele, kopru, koriandru

**kumariny** (kumarin – vůně sena)



## Vonné látky (10)

- **sírné sloučeniny**

*sulfan*, thioley

**3-methyl-2-butenthiol** (pražená káva)

**p-meth-1-en-8-thiol** (grapefruit)

sulfidy, disulfidy, trisulfidy :

**dimethyldisulfid**, **dimethyltrisulfid** – aroma

brukvovitých zelenin, masa, česneku

**diallyldisulfid** – česnek

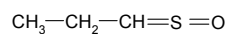
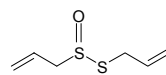
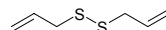
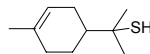
thiosulfináty:

**allicin** (česnek..., vzniká enzymovým

rozkladem aminokyseliny *allinu*,

tj. S-allyl-cysteinsulfoxidu)

**thiopropanal-S-oxid** (cibule)



## Vonné látky (11)

- **amoniak a aminy**

amoniak a primární alifatické aminy C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>

– produkty degradace aminokyselin, výskyt: maso, sýry...

sekundární a terciární aminy:

**dimethylamin**, **trimethylamin** – spolu s amoniakem a methylaminem

součást aromatu ryb

- **amidy**

**methylformamid**, **methylacetamid** – pivo

- **laktamy**

**γ-butyrolaktam** (2-pyrrolidon)

**δ-valerolaktam** (2-piperidon)

**ε-kaprolaktam** (2-perhydroazepinon)

a jejich N-methyl deriváty jsou složky  
aromatu mořských koryšů a měkkýšů





## Vonné látky (12)

- **deriváty furanu**

**isomaltol**

**3-furanony** – karamelové aroma

**norfuraneol** (R= H) – karamel, čekanka, masový vývar,

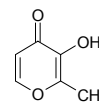
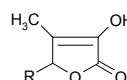
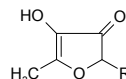
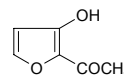
**furaneol** (R= CH<sub>3</sub>) – jahody, ananas, mandle, masový vývar...

**homofuraneol** (R= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) – sójová omáčka

**2-furanony** (γ-laktony):

**sotolon** (R= CH<sub>3</sub>) – sherry, libeček, maso, chléb, pražená káva

**abhexon** (R= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) – hydrolyzáty bílkovin



- **deriváty pyranu**

**maltol** – karamelové aroma

## Vonné látky (13)

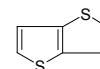
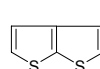
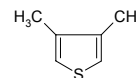
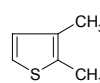
- **deriváty thiofenu**

výskyt např. v aromatu masa, pražené kávy, pražených ořechů, cibule...

**2,3-dimethylthiofen** a **3,4-dimethylthiofen**

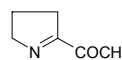
– v aromatu smažené cibule

**thienothiofeny** – pražená káva



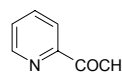
- **deriváty pyrrolu**

**2-acetyl-1-pyrrolin** – aroma chlebové kůrky



- **deriváty pyridinu**

**2-acetylpyridin** – aroma chleba, pražené kukuřice...



## Vonné látky (14)

- **deriváty pyrazinu**

ve všech pečených a pražených výrobcích (oříšky, káva...)

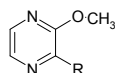
*2-ethyl-3,5-dimethylpyrazin*  
*2,3-diethyl-5-methylpyrazin*  
*2,6-dimethyl-3-vinylpyrazin*  
*2-ethyl-6-methyl-3-vinylpyrazin*



} v pražené kávě

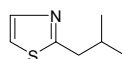
- **alkymethoxypyraziny**

(R= iPr nebo iBu) – v aromatu různých druhů zeleniny, vína



- **deriváty thiazolu**

*2-acetylthiazol*  
a *2,4-dimethyl-5-vinylthiazol*  
– oříšková a pražná vůně  
*2-isobutylthiazol* – aroma rajčat



## Chut'ové látky

### Sladké látky

- cukry, cukerné alkoholy, glycerol
- některé peptidy a bílkoviny
- dihydrochalkony
- diterpenové a triterpenové glykosidy (steviosid, glycyrrhizin)...
- syntetické látky (sacharin, cyklamáty, aspartam, sukralosa...)

### Slané látky

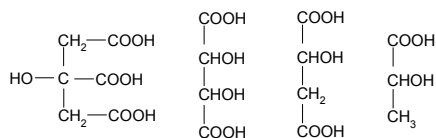
- chlorid sodný
- náhražky chloridu sodného:  
KCl – slabší slaná (a sladká) chuť, převažuje hořká chuť  
KBr, KI, MgCl<sub>2</sub> – hořká chuť

## Kyselé látky

*octová kyselina*  
*propionová kyselina* (sýry) } těkavé kyseliny  
*šřavelová (oxalová) kys.* (špenát, čaj...)

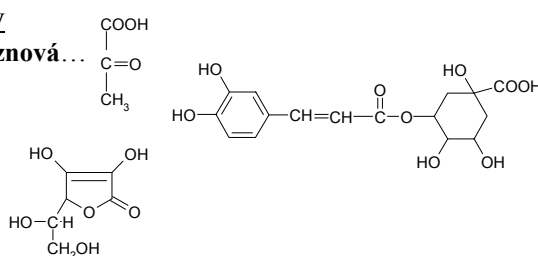
### hydroxykaboxylové kyseliny

**citronová, vinná,  
jablečná, mléčná**



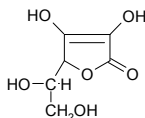
### další karboxylové kyseliny

**malonová, jantarová, pyrohroznová...  
chlorogenová**



### laktony ketokyselin

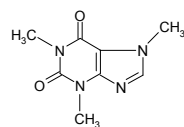
**askorbová kyselina**



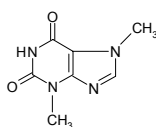
## Hořké látky

- některé aminokyseliny (Leu, Trp) a peptidy
- aminy, amidy, dusíkaté heterocykly včetně alkaloidů
- sinapiny (cholin-estery fenolových kyselin – řepka olejná)
- iso- $\alpha$ -kyseliny (pivo)
- flavonoidy
- triterpenoidy (např. kukurbitaciny)
- polycylické laktony a jejich glykosidy

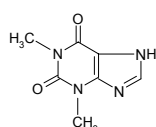
### Alkaloidy



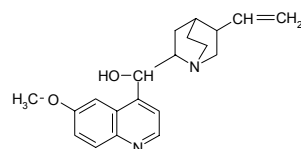
kofein



theobromin



theofylin

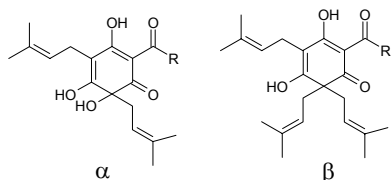


chinin

## Hořké látky (2)

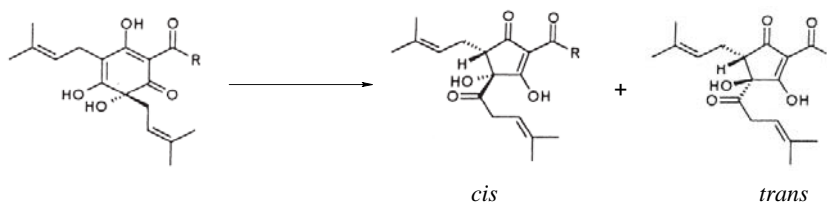
### Prenylované deriváty floroglucinolu a jejich isomery

chmel – prekursori hořkých látek:  
tzv.  $\alpha$ - a  $\beta$ - hořké kyseliny



R	$\alpha$	$\beta$
iBu	humulon	lupulon
iPr	kohumulon	kolupulon
sek Bu	adhumulon	adlupulon
iAm	prehumulon	prelupulon
Et	posthumulon	postlupulon

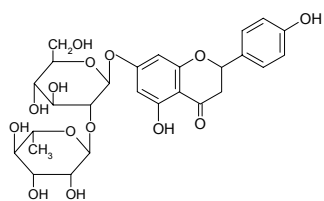
iso- $\alpha$ -hořké kyseliny (*cis* a *trans* formy) – vznik při vaření mladiny:



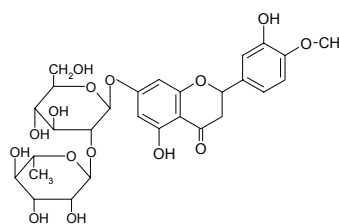
## Hořké látky (3)

### Flavonoidy

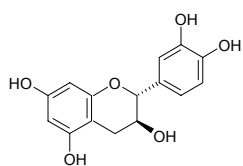
Glykosidy flavanonů – citrusové plody



naringin (grapefruit)



neohesperidin (hořké pomeranče)



Flavanoly (katechiny) – zelený čaj

(+)-katechin

## **Trpké látky**

- hydrolyzovatelné třísloviny
  - gallotanniny – sloučeniny gallové nebo m-digallové kyseliny s cukry – např. pentagalloylglukosa
  - ellagotanniny – složitější sloučeniny hexahydroxybifenyl-dikarboxylové kyseliny, glukosy a gallové kyseliny
- kondenzované třísloviny – proanthokyanidiny: oligomerní flavonoidy

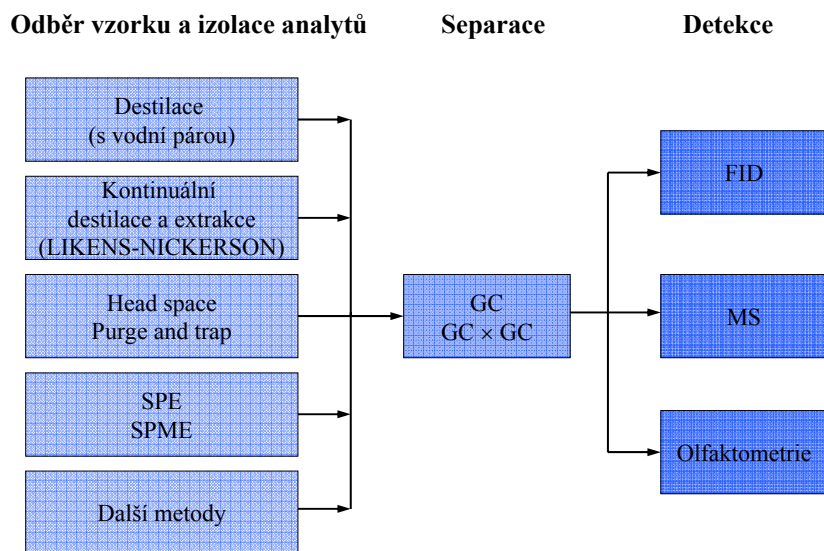
## ***Analýza těkavých (vonných) látek***

- aroma produktu určuje více těkavých složek – jejich struktura a koncentrace
- obsah důležitých složek aromatu může být stopový (látky s mimořádně nízkým podnětovým prahem)

### **Přístup k analýze vonných látek**

1. analýza všech (nebo alespoň většiny) těkavých složek: jejich izolace, separace, detekce a identifikace podle chemických a senzorických kritérií – použití plynové chromatografie
2. stanovení jednotlivých sloučenin (např. aldehydů, těkavých kyselin...), jejichž přítomnost ve vzorku předpokládáme předem, konvenčními metodami (titrace, spektrofotometrie...)

## Schéma multikomponentní analýzy těkavých látek

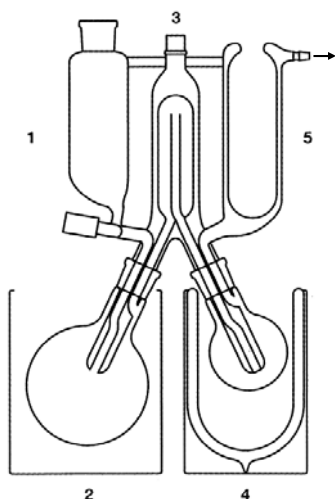


### Metody odběru, izolace a zakoncentrování těkavých látek pro GC analýzu

#### Destilace s vodní párou

- destilát: roztok nebo emulze těkavých látek ve vodě obvykle následuje zakoncentrování (extrakce kapalina-kapalina, SPE, SPME)
- výhoda: jednoduché provedení
- nevýhody:
  - neúplný výtěžek
  - degradace (např. oxidace) některých vonných látek během destilace (relativně vysoká teplota)

## Extrakce a následná vakuová destilace



sekvenční postup:

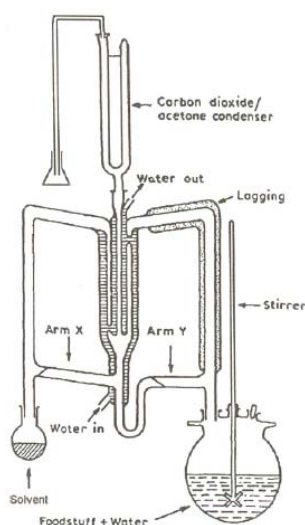
- extrakce rozpouštědlem (diethylether, aceton, ethanol...)  
– izoluje těkavé i netěkavé látky
- vakuová destilace extraktu

Nevýhoda: nižší výtěžek těkavých látek za přítomnosti tuku

Aparatura:

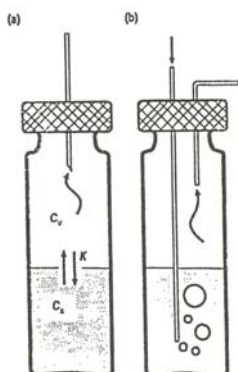
- 1 – přikapávací nálevka pro vzorek
- 2 – vodní lázeň (35-40 °C)
- 3 – hlava
- 4 – chlazená sběrná baňka
- 5 – chladič (kapalný dusík) a připojení na vývěvu

## Kontinuální destilace a extrakce



Modifikovaný LIKENS-NICKERSONŮV extraktor: těkavé látky destilují spolu s vodou a přicházejí do kontaktu a parami nepolárního těkavého rozpouštědla (pentan), kondenzát se rozděljuje na dvě fáze, horní vrstva (extrakt) se shromažďuje v baňce s rozpouštědlem; úniku těkavých látek zabraňuje prstový chladič naplněný směsí suchého ledu a acetonu.

## Head space

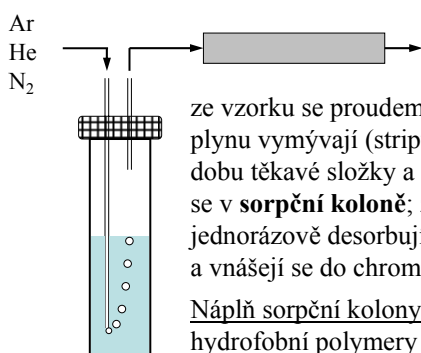


- a – statická varianta: odběr plynné fáze z horního prostoru (head space) lahvičky po ustavení fázové rovnováhy
- b – dynamická varianta: aktivní probublávání inertním plynem (extrakce plynem, stripování) – obvykle následuje zachycení (purge and trap)

Nevýhody statické varianty:

- důležité stopové složky aromatu nemusejí být odebrány v dostatečném množství
- problematická kvantifikace

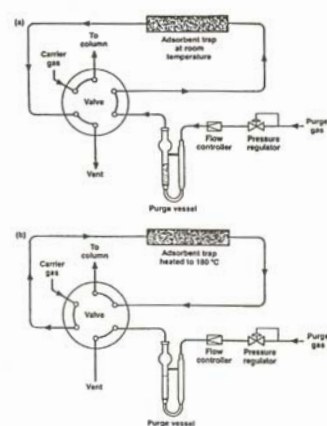
## Purge and trap



ze vzorku se proudem inertního plynu vymývají (stripují) určitou dobu těkavé složky a zachycují se v **sorpční koloně**; z ní se pak jednorázově desorbují zahřevem a vnášejí se do chrom. kolony.

Náplň sorpční kolony:  
hydrofobní polymery (Tenax, Porapak), aktivní uhlí.

Alternativní způsob záchytu:  
**kryofokusace** (vymrazení v trubici tvaru U chlazené kapalným dusíkem)



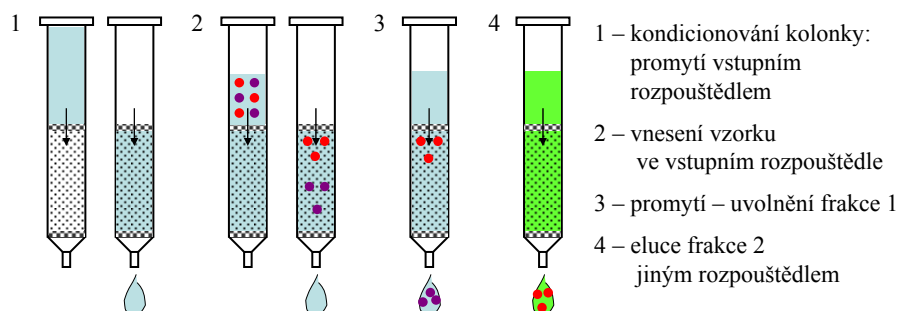
Uspořádání systému  
nahore: fáze stripování a sorpce  
dole: desorpce a nástřik



## SPE

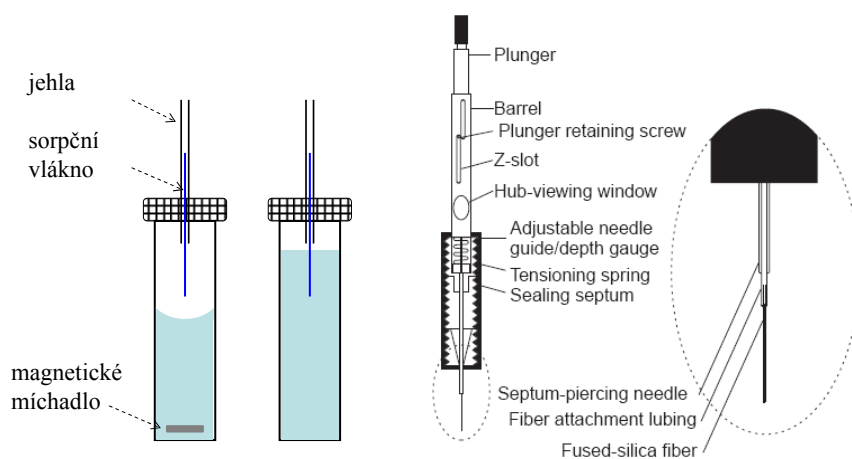
= *solid-phase extraction*

je metoda izolace a zakoncentrování látek obsažených v primárním extraktu nebo destilátu; spočívá v zachycení analytu na kolonce se sorbentem (např. silikagel, SiC<sub>18</sub>, iontoměnič), promytí a eluci jiným rozpouštědlem



## SPME

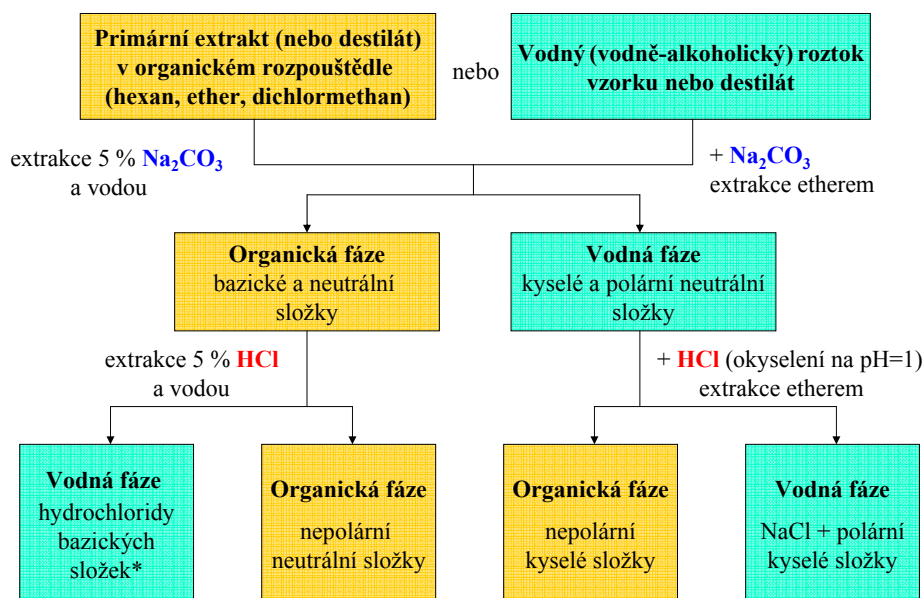
= *solid-phase microextraction*



Po sorpci se vlákno se zachycenými analyty vloží do nástřikového zařízení plynového chromatografu a analyty se termicky desorbují a injektují do kolony.

## Další metody izolace a frakcionace (pro těkavé i netěkavé látky)

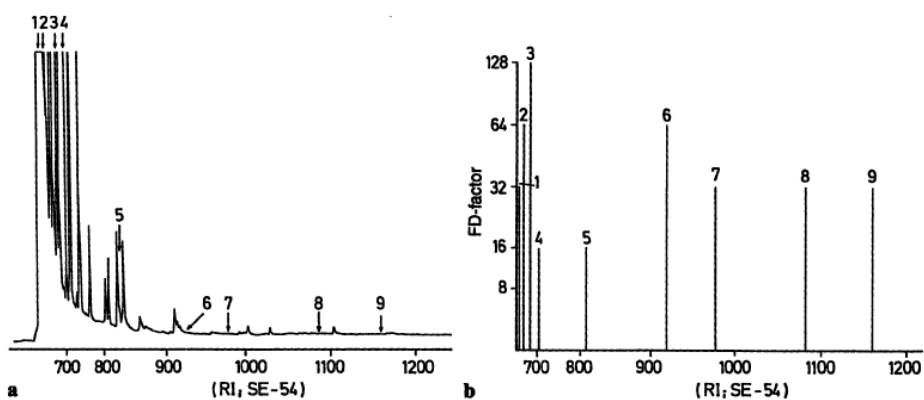
- SFE (= *supercritical fluid extraction*) – extrakce nadkritickou tekutinou (obvykle CO<sub>2</sub>)
- ASE (= *accelerated solvent extraction*) – extrakce tuhého vzorku rozpouštědlem za zvýšeného tlaku a teploty
- MASE (= *microwave-assisted solvent extraction*) – extrakce tuhého vzorku rozpouštědlem při současném mikrovlnném ohřevu
- extrakční izolace a frakcionace podle acidobazických vlastností složek (viz schéma na další straně)



\* Poznámka: další purifikace bazické frakce je možná po zalkalizování extrakcí do organické fáze

## Využití GC v analýze vonných látek

- separace s vysokým rozlišením (kapilární kolony)
- konvenční detekce
  - FID, MS
  - FPD, AED (např. sloučeniny síry)
- identifikace
  - retenční indexy (KOVATSOVY indexy)  
 $I_x = 100 z + 100 (\log V_{N_x} - \log V_{N_z}) / (\log V_{N(z+1)} - \log V_{N_z})$
  - MS
- určení sensorické relevance složek
  - olfaktometrická detekce
  - AEDA (= *aroma extract dilution analysis*)  
záznam: FD-chromatogram (FD faktor vs. retenční index)  
FD (= *flavour dilution*) faktor =  $2^n$   
 $n$  je počet ředících stupňů při ředění 1+1, při kterém je sloučenina ještě postřehnutelná



Head-space GC analýza vonných látek chlebové kůrky:

a – záznam detektoru vs. retenční index

b – FD-chromatogram

(1): isobutyraldehyd, (2): biacetyl, (3): 3-methylbutanal, (4): 2,3-pentandion,

(5): kyselina máselná, (6): 2-acetyl-1-pyrrolin, (7): 1-okten-3-on,

(8): 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazin, (9): *trans*-2-nonenal

## **Stanovení jednotlivých látek a jejich skupin**

### **Alkoholy**

#### **Methanol**

- toxická látka
- vznik v ovoci hydrolýzou esterových vazeb pektinů
- běžné přítomen v ovocných destilátech

#### **Stanovení methanolu**

- GC spolu s ostatními alkoholy
- spektrofotometrie po oxidaci na formaldehyd  
a reakci s chromotropovou nebo fuchsinsířčitou kyselinou

#### **Ethanol**

- stanovení na základě měření hustoty (densitometrie)
- GC
- titrační stanovení po oxidaci dichromanem
- enzymová spektrofotometrická metoda

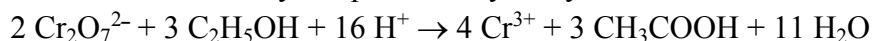
#### **Stanovení ethanolu měřením hustoty**

1. přímé měření hustoměrem (lihoměrem) v destilátech  
- orientační rychlé měření
2. pyknometrické stanovení: ze vzorku (pivo, bíno, lihovina) se ethanol vydestiluje do odměrné baňky (ze 100 ml vzorku se jímá asi 80 ml destilátu, OB se doplní vodou po značku). Pomocí pyknometru se stanoví hustota zředěného destilátu: přesným vážením pyknometru se vzorkem, prázdného suchého pyknometru a pyknometru naplněného vodou se vypočte hustota vzorku; z hustoty se podle tabulek určí obsah ethanolu v objemových %

## Titrační stanovení ethanolu

Použití: pro vzorky s malým obsahem ethanolu (ovocné výrobky)

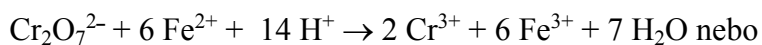
Princip: ethanol se ze vzorku vydestiluje, v destilátu se oxiduje dichromanem draselným v prostředí kyseliny sírové:



nadbytek dichromanu se stanoví buď

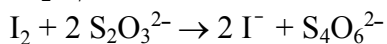
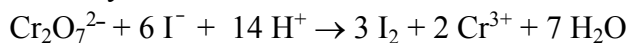
– titrací odměrným roztokem síranu železnato-amonného

na indikátor ferroin:

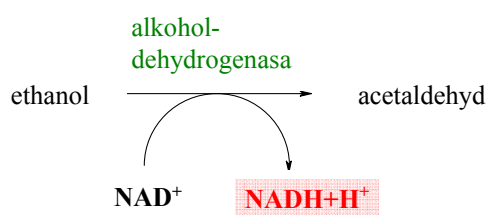


– titrací jodu uvolněného reakcí jodidu draselného s dichromanem

odměrným roztokem thiosíranu sodného:



## Enzymové spektrofotometrické stanovení ethanolu



měří ze  $A_{340}$  (absorpce redukováného kofaktoru)

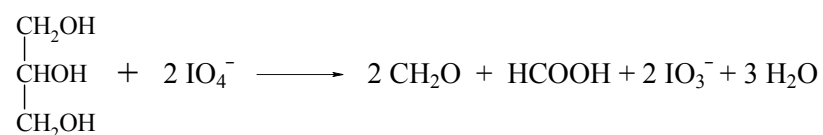
## Alkoholy přiboudliny

- 2-propanol (iPrOH), 2-methyl-1-propanol (iBuOH), 2-butanol, (sek. BuOH), 2-pentanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol (iAmOH)
- spektrofotometrické stanovení po reakci s *p*-dimethylamino-benzaldehydem:
  - reakcí alkoholů přiboudliny s činidlem v prostředí kyseliny sírové vzniká červené zbarvení
  - ke kalibraci se používá směs isobutylalkoholu a isoamylalkoholu (1:4)
- GC stanovení společně s MeOH, EtOH

## Glycerol

### Titrační stanovení

glycerol (a jiné polyhydroxysloučeniny včetně cukrů) se ve vodném roztoku (pH=8,1) štěpí jodistanem sodným na formaldehyd a mravenčí kyselinu, která se stanoví titrací roztokem hydroxidu:



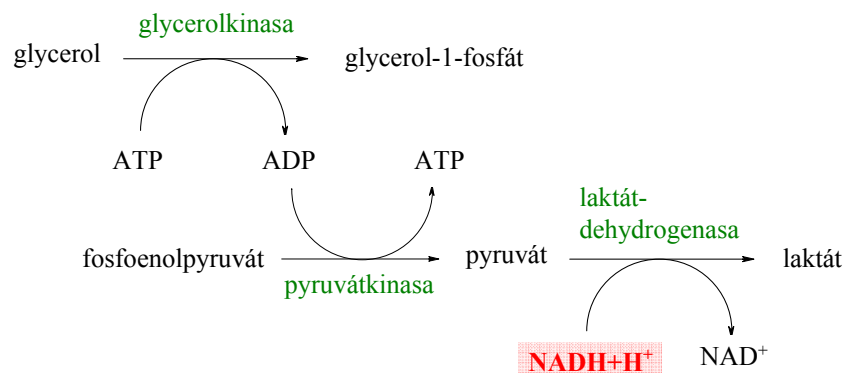
### Vázkové stanovení

Použití: analýza vína

Podstata: cukry a další složky vína se přidavkem EtOH a Ca(OH)<sub>2</sub> vysrážejí. Z filtrátu se etherem vysrážejí další látky, zbytek po oddestilování etheru a ethanolu je glycerol, který se zváží.

## Glycerol

### Enzymové spektrofotometrické stanovení

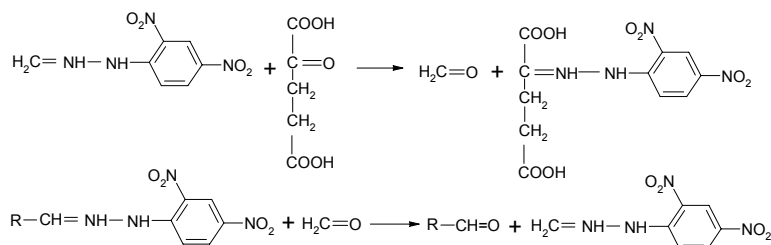


Spektrofotometricky ( $\lambda=340$  nm) se měří úbytek NADH+ H<sup>+</sup> vyvolaný sledem reakcí.

## Aldehydy a ketony

### Selektivní izolace karbonylových sloučenin

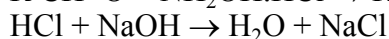
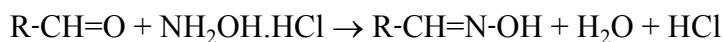
Těkavé aldehydy a ketony oddělené ze vzorku stripováním inertním plynem se zachytí v roztoku 2,4-dinitrofenylhydrazinu. Karbonylové sloučeniny lze z 2,4-dinitrofenylhydrazonů regenerovat reakcí s kys. levulovou (4-oxopentanovou) nebo s formaldehydem generovaným rozkladem 2,4-dinitrofenylhydrazonu formaldehydu kyselinou 2-oxoglutarovou:



Možný je i záchyt fenylhydrazonů v sorpční koloně.

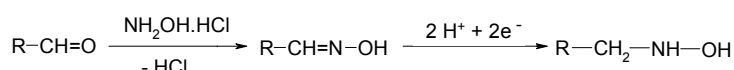
## Obecné metody stanovení aldehydů

- titrační oximační metoda:



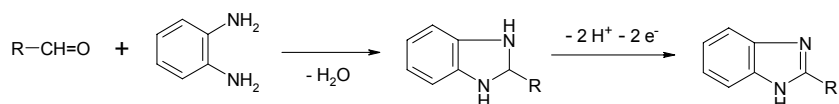
- polarografická oximační metoda:

oximy aldehydů se snadno redukují na RKE



použití: např. polarografické stanovení (ethyl)vanilinu

- polarografické stanovení po kondenzaci s *o*-fenylendiaminem:  
produkt kondenzace je oxidován na RKE na derivát benzimidazolu



## Obecné metody stanovení aldehydů

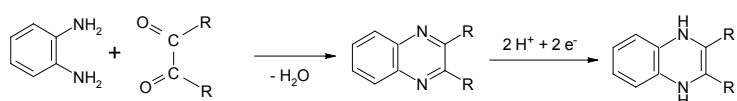
- spektrofotometrické stanovení:

převedení na 2,4-dinitrofenylhydrazony a měření absorbance v UV oblasti (277 nm) nebo viditelné oblasti (420-440 nm); jednotlivé 2,4-dinitrofenylhydrazony aldehydů lze předem rozdělit tenkovrstvou chromatografií

## Obecné metody stanovení $\alpha$ -dikarbonylových sloučenin

kondenzací s *o*-fenylendiaminem vznikají deriváty chinoxalinu, které lze stanovit

- spektrofotometricky měřením v UV oblasti (335 nm)
- polarograficky na základě redukce na 1,4-dihydrochinoxaliny:

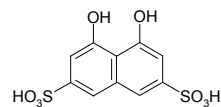




## Formaldehyd

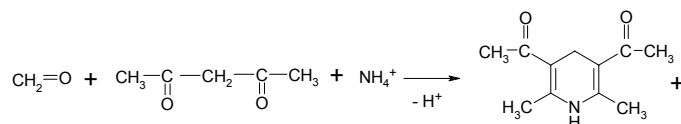
### Spektrofotometrické stanovení s kyselinou chromotropovou

formaldehyd poskytuje s činidlem v prostředí kyseliny sírové purpurové zbarvení - měří se  $A_{570}$ . Metoda je selektivní. Ostatní aldehydy poskytují žluté produkty.



### Spektrofotometrické stanovení po konverzi na diacetyldihydrolutidin

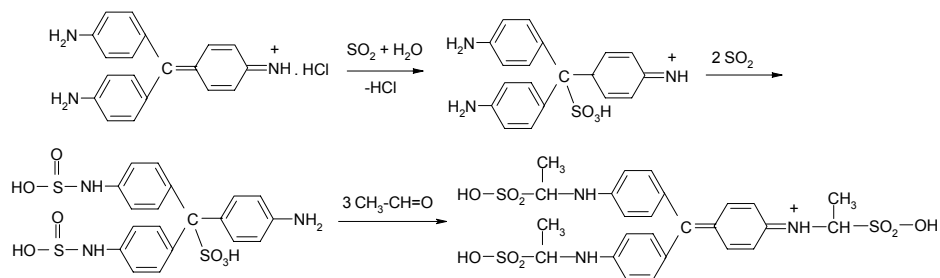
formaldehyd kondenzuje s acetylacetonem (2,4-pentandionem) za přítomnosti amonných iontů za vzniku 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidinu; měří se absorbance produktu při 415 nm:



## Acetaldehyd

- spektrofotometrie (nespecifická metoda)
- jodometrie (nespecifická metoda pro sumu aldehydů, jejichž obsah se vyjadřuje obsahem acetaldehydu)
- enzymové stanovení
- GC

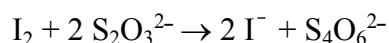
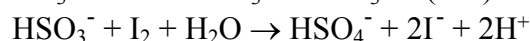
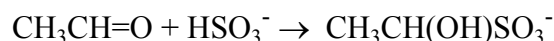
### Spektrofotometrické stanovení s kyselinou fuchsinsířičitou



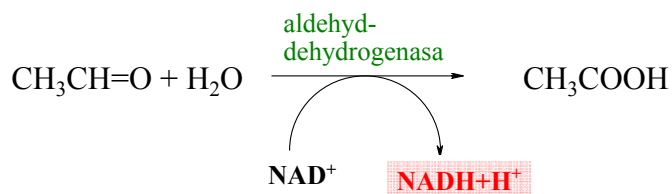
barevný produkt – měření  $A_{550}$

### Jodometrické stanovení acetaldehydu (těkavých aldehydů)

Acetaldehyd se oddělí ze vzorku destilací a jímá se do roztoku hydrogensířičitanu sodného – vzniká acetaldehydbisulfít; přebytek hydrogensířičitanu se oxiduje jodem a zbytkové množství jodu se určí titrací thiosíranem:

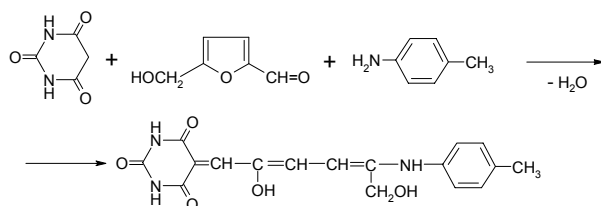


### Enzymové spektrofotometrické stanovení acetaldehydu



### Furfural a 5-hydroxymethylfurfural

- **spektrofotometrie:** furfural poskytuje s *m*-fenylendianinem fialové zbarvení; měří se  $A_{560}$ ; stanovení je specifické
- **spektrofotometrie:** furfural a 5-hydroxymethylfurfural poskytují s *p*-dimethylaminoanilinem červené zbarvení; měří se  $A_{495}$ ; stanovení není specifické: cinnamaldehyd dává červenofialové zbarvení, citral červené, krotonaldehyd a benzaldehyd oranžové a vanilin žluté
- **spektrofotometrie:** 5-hydroxymethylfurfural kondenzuje s kyselinou barbiturovou a *p*-toluidinem na barevný produkt:



- **GC:** furfural přímo, 5-hydroxymethylfurfural po silylaci

## Aceton

### Jodometrické stanovení

Stanovení je založeno na jodoformové reakci (obecně haloformové, neboli LIEBENOVĚ reakci). Aceton poskytuje s jodem a alkalickým hydroxidem jodoform a alkalický octan:



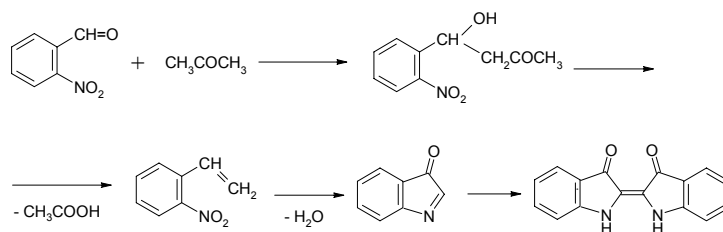
Po okyselení reakční směsi množství se nespotřebovaného jodu určí titrací thiosíranem sodným.

Stanovení není specifické. Jodoformovou reakci dávají i vyšší methylketony (produktem je pak sůl vyšší karboxylové kyseliny), acetaldehyd a ethanol.

## Aceton

### Spektrofotometrické stanovení

Aceton, ostatní methylketony a acetaldehyd lze reakcí s *o*-nitrobenzaldehydem převést na indigo (modré barvivo):

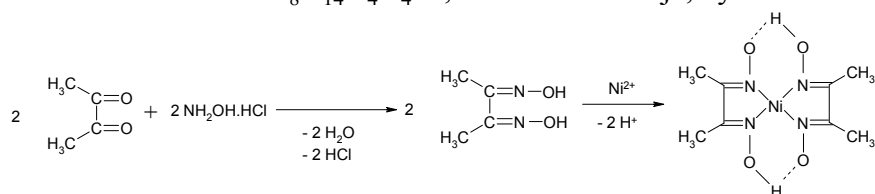


## Biacetyl a acetoin

Pro stanovení sumy biacetylu (2,3-butandionu) a acetoinu (3-hydroxy-2-butanonu) se acetoin předem oxiduje na biacetyl chloridem železitým. Bez předběžné oxidace se následujícími postupy stanoví pouze biacetyl.

### Vázkové stanovení

Reakcí biacetylu s hydroxylaminem vzniká dioxim, který poskytuje s nikelnatými ionty v alkalickém prostředí červenou sraženinu nikelnatého chelátu  $C_8H_{14}O_4N_4Ni$ , která se odfiltruje, vysuší a zvaží.



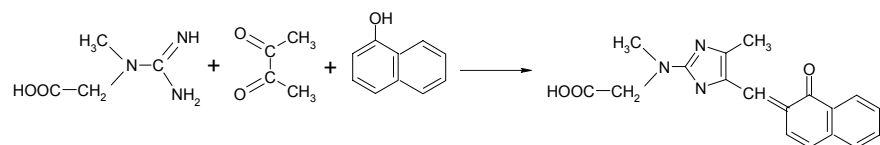
## Biacetyl a acetoin

### Polarografické stanovení

Biacetyl poskytuje kondenzaci s *o*-fenylendiaminem dimethylchinoxalin, který se snadno redukuje na rtuťové kapkové elektrodě.

### Spektrofotometrické stanovení

- založené na vzniku nikelnatého komplexu dioximu (viz vázkové stanovení) – z malého množství analytu vzniká červeně zbarvený roztok komplexu
- reakce s kreatinem a 1-naftolem – barevný produkt:



## **Karboxylové kyseliny**

### **Titrační stanovení celkových kyselin**

Použití: ovoce a zelenina a výrobky z nich.

Podstata: titrace vodného extraktu odměrným roztokem 0,1M NaOH.

Možnosti indikace:

- vizuální indikace – titrace na fenolftalein
- potenciometrická indikace – měří se pH titrované směsi, titrace se ukončí při pH=8,1

Vyjádření výsledku – jako obsah dominantní kyseliny v daném materiálu:

- jablečná kyselina – jablka, hrušky, meruňky, třešně, broskve, švestky, banány, artyčoky, květák, mrkev, cibule
- vinná kyselina – hrozny
- šťavelová kyselina – špenát
- citronová kyselina – ostatní

### **Titrační stanovení těkavých kyselin**

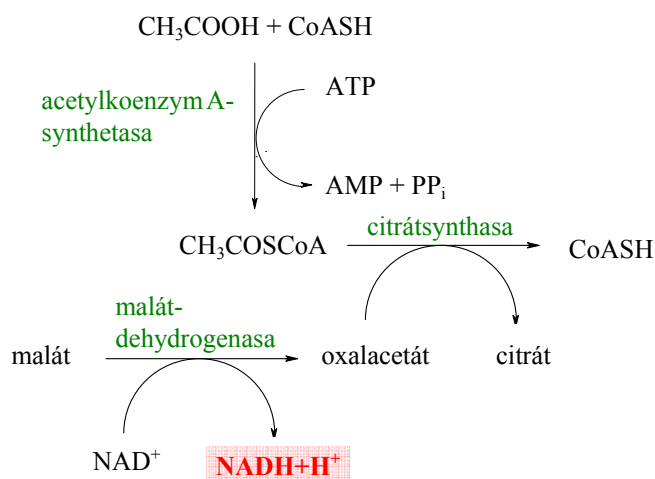
- těkavé kyseliny se izolují destilací s vodní párou
- destilát se titruje 0,1M NaOH na fft nebo potenciometricky
- výsledek se vyjádří jako obsah octové kyseliny

### **Separční metody stanovení karboxylových kyselin**

- HPLC – dělení kyselin na iontoměničích nebo na reverzní fázi, detekce refraktometrická nebo konduktometrická
- GC trimethylsilyl derivátů kyselin
- kapilární isotachoforesa

## Octová kyselina

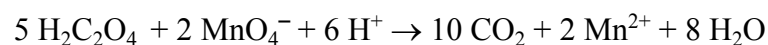
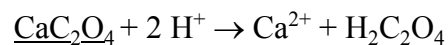
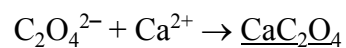
### Enzymové spektrofometrické stanovení



## Šťavelová (oxalová) kyselina

### Manganometrické stanovení

Šťavelová kyselina se ze vzorku extrahuje roztokem HCl. Po deproteinaci se z amoniakálního prostředí vysráží chloridem vápenatým šťavelan vápenatý. Šťavelan se odfiltruje a po promytí se rozpustí ve zředěné H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Uvolněná šťavelová kyselina se pak ztitruje manganistanem:



## Vinná kyselina

### Titrační stanovení

Aplikace: analýza vína, hroznů a moštu

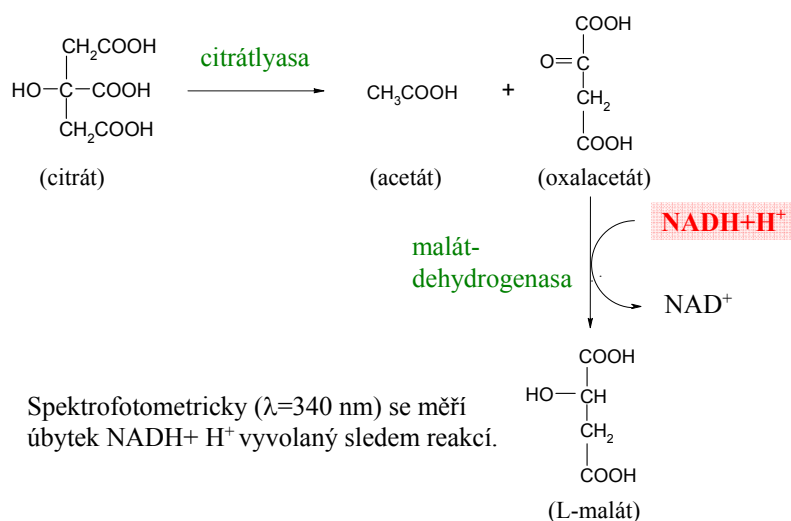
Princip: hydrogenvinan draselný je málo rozpustný v ethanolu; přidavkem KCl a ethanolu se dosáhne vyloučení hydrogenvinanu draselného, po odfiltrování se hydrogensůl rozpustí v horké vodě a stanoví titrací hydroxidem na fenolftalein.

Při analýze ovoce se nejprve z primárního extraktu vysrážejí vícesytné karboxylové kyseliny ve formě olovnatých solí.

Při následné reakci se sulfanem (sirovodíkem) vzniká nerozpustný sulfid olovnatý a regenerují se původní kyseliny. Z roztoku kyselin se pak vysráží vinná kyselina draselnými ionty jako hydrogensůl.

## Citronová kyselina

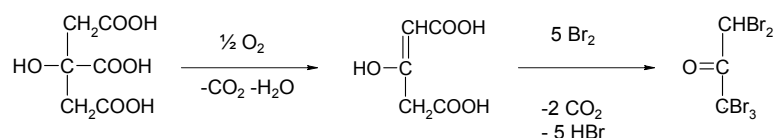
### Enzymové spektrofotometrické stanovení



## Citronová kyselina

### Vážkové stanovení

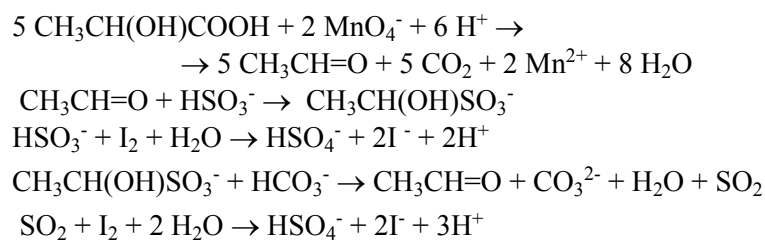
citronová kyselina se izoluje srážením olovnaté soli a regenerací sirovodíkem; pak se oxiduje manganistanem draselným na enol-formu 3-oxoglutarové kyseliny, která se reakcí s bromem (generovaným z bromidu manganistanem) převádí na krystalický pentabromaceton, který se váží:



## Mléčná kyselina

### Jodometrické stanovení

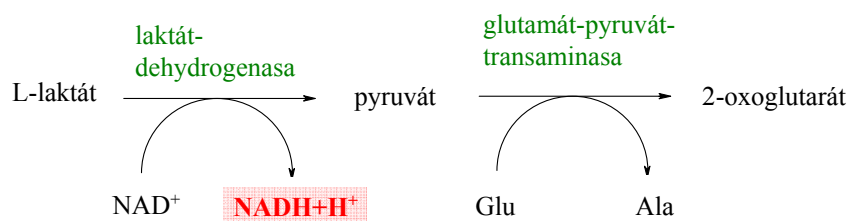
Manganistanem draselným v kyselém prostředí se mléčná kyselina převede na acetaldehyd. Acetaldehyd se z reakční směsi oddělí destilací a jímá se do roztoku hydrogensířičitanu sodného. Přebytek hydrogensířičitanu se zoxiduje jodovým roztokem (indikace škrobem). Vzniklý acetaldehydbisulfid se rozloží hydrogenuhličitanem sodným a uvolněný oxid siřičitý se stanoví titrací jodem:





## Mléčná kyselina

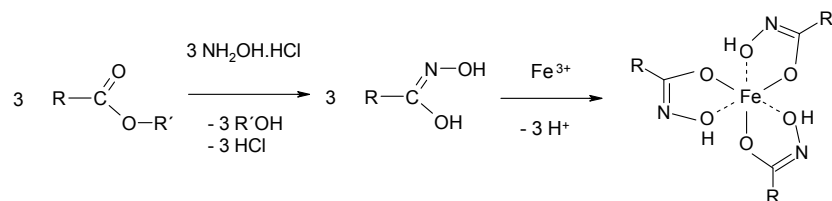
### Enzymové spektrofotometrické stanovení



## Estery karboxylových kyselin

### Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu esterů

Estery se reakcí s hydroxylaminem převedou na hydroxamové kyseliny, které s ionty  $\text{Fe}^{3+}$  tvoří červené až fialové komplexy; měří se  $A_{530}$



## **Třísloviny**

### **Manganometrické stanovení**

- neselektivní stanovení látek oxidovatelných manganistanem v nápojích (víno, čajový extrakt)
- dvojitá titrace vzorku roztokem 0,01M  $\text{KMnO}_4$  (titrace v porcelánové misce s indigokarminem jako indikátorem):
  - titrace původního vzorku
  - titrace vzorku po adsorpci tříslovin na polyamid nebo kožní prášek (12-20 hodin)výsledek se určí z rozdílu spotřeb násobením empirickým faktorem.

### **Stanovení tříslovin srážením sloučenin kovů**

Třísloviny se srážejí roztokem octanu měďnatého nebo chloridu cínatého, stanovuje se buď obsah kovu ve sraženině nebo zbytkové množství kovových iontů v roztoku. Z hmotnosti vysráženého kovu se vypočte hmotnost tříslovin násobením empirickým faktorem.

### **Spektrofotometrické stanovení tříslovin**

Použití: analýza chmele, piva

Princip: vznik barevných komplexů se železitými ionty, měří se  $A_{600}$ .