

Přítomnost v potravinách

- biochemické procesy, mikrobiální činnost
- acidulanty, stabilizátory, konzervovadla

Typické senzorické vlastnosti (chuť a aroma)

- kyselá, dráždivá, ostrá, slanohořká, máslová, mléčná atd.

Typické chemické charakteristiky

- délka řetězce, lineární, cyklické a aromatické struktury
- počet karboxylových skupin a další skupiny (-OH, =O)
- nasycené a nenasycené - cis, trans izomerie
- polarita, těkavost, disociační konstanta

KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

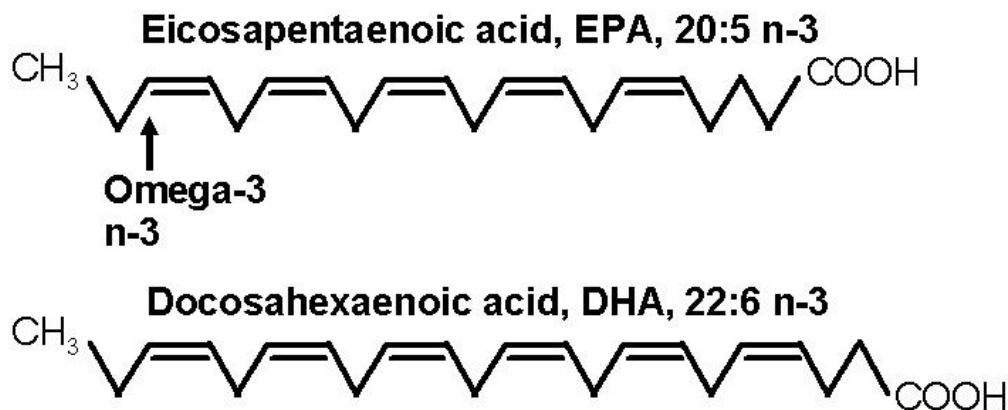
1. Alifatické nasycené monokarboxylové kyseliny (SFA)

$\text{H} - \text{COOH}$	methanová	<i>mravenčí</i>	methanoyl <i>formyl</i>	methanoát <i>formiát</i>
$\text{CH}_3 - \text{COOH}$	ethanová	<i>octová</i>	ethanoyl <i>acetyl</i>	ethanoát <i>acetát</i>
$\text{C}_2\text{H}_5 - \text{COOH}$	propanová	<i>propionová</i>	propanoyl <i>propionyl</i>	propanoát <i>propionát</i>
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_2 - \text{COOH}$	butanová	<i>máselná</i>	butanoyl <i>butyryl</i>	butanoát <i>butyrát</i>
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_3 - \text{COOH}$	pentanová	<i>valerová</i>	pentanoyl	pentanoát
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_4 - \text{COOH}$	hexanová	<i>kapronová</i>	hexanoyl	hexanoát
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_{10} - \text{COOH}$	dodekanová	<i>laurová</i>	dodekanoyl	dodekanoát
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_{14} - \text{COOH}$	hexadekanová	<i>palmitová</i>	palmitoyl	palmitoát
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16} - \text{COOH}$	oktadekanová	<i>stearová</i>	stearoyl	stearoát

KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

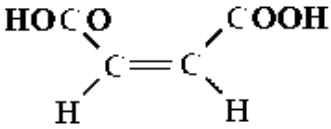
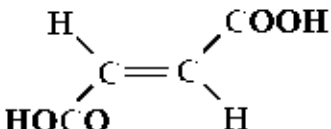
2. Alifatické nenasycené monokarboxylové kyseliny (MUFA, PUFA)

$C_{17}H_{33} - COOH$	oktadec-9-enová	<i>olejová</i>	<i>oleoyl</i>	<i>oleát</i>
$C_{17}H_{31} - COOH$	oktadeka-9,12-dienová	<i>linolová</i>	<i>linoloyl</i>	<i>linolát</i>
$C_{17}H_{29} - COOH$	oktadeka-9,12,15-trienová	<i>linolenová</i>	<i>linolenoyl</i>	<i>linolenát</i>



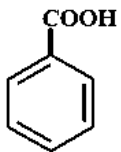
KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

3. Alifatické dikarboxylové kyseliny

HOOC - COOH	ethandiová	šťavelová	oxalyl	oxalát
			ethandioyl	ethandioát
HOOC - CH ₂ - COOH	propandiová	malonová	malonyl	malonát
			propandioyl	propandioát
HOOC - (CH ₂) ₂ - COOH	butandiová	jantarová	sukcinyl	sukcinát
			butandioyl	butandioát
HOOC - (CH ₂) ₃ - COOH	pentandiová	glutarová	glutaryl	glutarát
			pentandioyl	butandioát
HOOC - (CH ₂) ₄ - COOH	hexandiová	adipová	adipoyl	adipát
			hexandioyl	hexandioát
	(Z)-butendiová	maleinová	maleinyl	maleinát
			butendioyl	butendioát
	(E)-butendiová	fumarová	fumaroyl	fumarát
			butendioyl	butendioát

KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

4. Aromatické karboxylové kyseliny

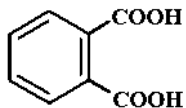


benzen-karboxylová

benzoová

benzooyl

benzoát

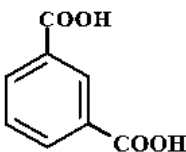


benzen-1,2-
dikarboxylová

ftalová

ftaloyl

ftalát

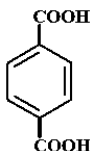


benzen-1,3-
dikarboxylová

isofталová

isofталoyl

isofталát

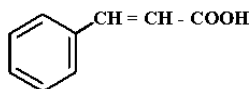


benzen-1,4-
dikarboxylová

terefталová

terefталoyl

terefталát

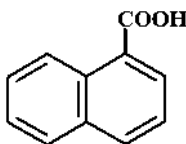


3-fenylpropenová

skořicová

3-fenylpropenoyl

3-fenylpropanoát



naftalen-1-
karboxylová

1-naftoová

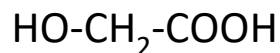
1-naftoyl

1-naftoát



KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

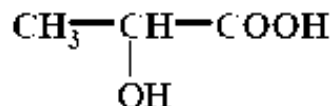
5a. Hydroxykyseliny



hydroxyethanová
hydroxyoctová

glykolová

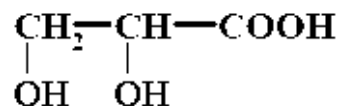
glykoloyl



2-hydroxypropanová

mléčná

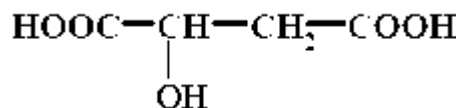
laktoyl



2,3-dihydroxypropanová

glycerová

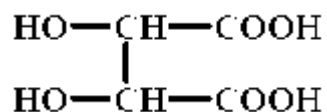
glyceroyl



2-hydroxybutandiová
hydroxyjantarová

jablečná

maloyl



2,3-dihydroxybutandiová
2,3-dihydroxyjantarová

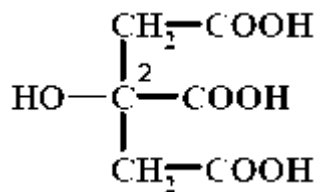
vinná

tartaroyl

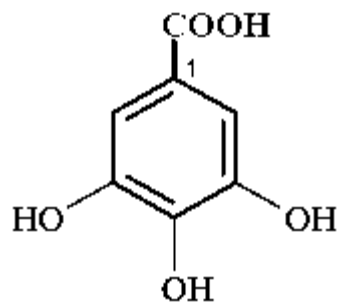


KLASIFIKACE ORGANICKÝCH KYSELIN

5b. Hydroxykyseliny

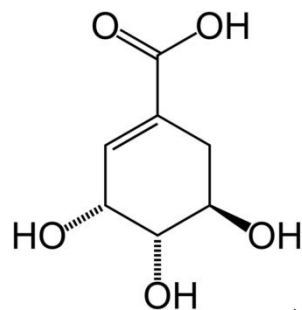


2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová *citronová*

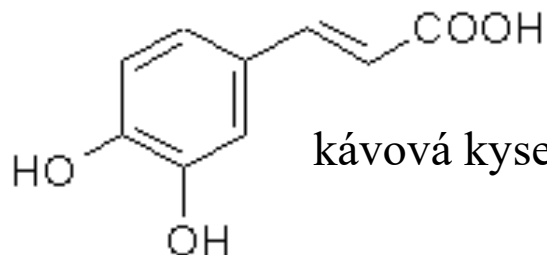


3,4,5-trihydroxybenzoová

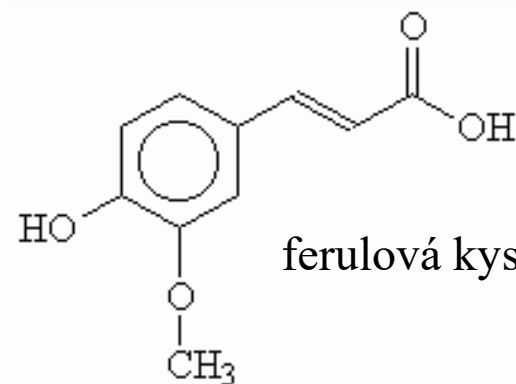
gallová galloyl



šikimová kyselina



káвовá kyselina

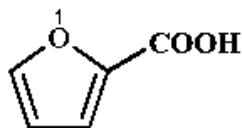


ferulová kyselina

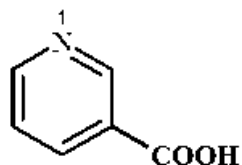
6. Oxokyseliny

OHC - COOH	oxoethanová	glyoxylová <i>oxalaldehydová</i>
CH ₃ - CO - COOH	2-oxopropanová	<i>pyrohroznová</i>

7. Heterocyklické karboxylové kyseliny



furan-2-karboxylová 2-furoová 2-furoyl 2-furoát



pyridin-3-karboxylová nikotinová nikotinoyl nikotinát

ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

Celková kyselost: titračně - roztok NaOH nebo KOH
indikace b.e. - fenolftalein nebo potenciometrická
pH 8,2 - AOAC, pH 7,0 - EU

Vyjádření: různé podle typu matrice - obvykle spotřeba titračního roztoku o příslušné koncentraci vztažená na navážku vzorku a udávaná jako obsah dominantní kyseliny

Těkavé kyseliny: destilace (příp. s vodní párou)

SPFM: přímo (UV) nebo po reakci s činidlem (UV/VID)
skupinově (nenasycené MK) nebo jednotlivě

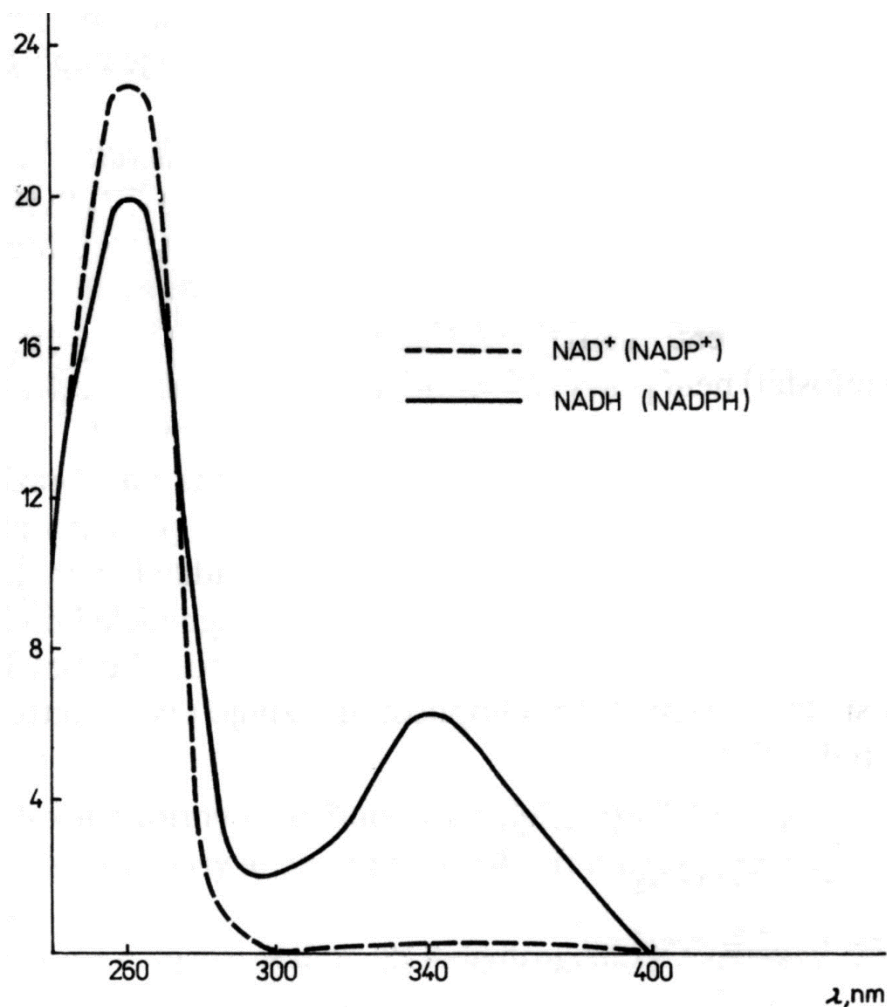
Enzymaticky: využití poměru NAD^+/NADH nebo $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$
- měření při 340 nm

Elektroanalyticky: redoxní titrace nebo polarografie (askorb. k.)
popř. kombinace s enzymovou metodou



ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

Absorpční spektra různých forem pyridinových dinukleotidů



Separační metody

1. Chromatografické: plynová chromatografie - přímá nebo po derivatizaci
kapalinová chromatografie - RP, IEC
- GC-FID/MS; LC-MS/MS
2. Elektromigrační: elektroforéza, izotachoforéza

Spektrální přímé metody

- FTIR, Ramanova s., NMR

Analýza skupinová nebo individuální

Separace bohatých směsí včetně minoritních složek

Možnost sledování profilů, forem výskytů (typy esterů), konfigurace dvoj. v.

ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

<i>Analyt, matrice</i>	<i>Izolace</i>	<i>Stanovení</i>
<i>Mléčná kyselina:</i> vína	$\text{CuSO}_4 + \text{Ca(OH)}_2$ $+ \text{H}_2\text{SO}_4$	SFPM - VID 560 nm (reakce s p- hydroxydifenylem)
mléčné výrobky	deproteinace extrakce Et_2O oxidace na CH_3CHO	SPFM - VID 570 nm (reakce s piperidinem)
<i>Citronová kyselina:</i> sýry	Extrakce horkou vodou (60-70°C) + deproteinace CCl_3COOH	SPFM - VID 428 nm (reakce s pyridinem)

ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

<i>Analyt, matrice</i>	<i>Izolace</i>	<i>Stanovení</i>
<i>Sukcinát:</i> vína, ovocné šťávy maso, zelenina, sýry	zředění a pH 8,0 odbarvení - 1% polyvinylpyrrolidon nebo aktivní uhlí Extrakce horkou vodou, odtučnění podchlazením a deproteinace HClO_4	SFPM - UV 340 nm (NADH) SFPM - UV 340 nm (NADH)
<i>Fumarová kyselina:</i> ovocné šťávy tuhé potraviny	třepání s Celitem + filtrace Extrakce MeOH + filtrace	Polarograficky Potenciál píku: -1.15V

HPLC/RID,EC,UV,MS

stacionární fáze: RP (C8, C18 silikagel), IEC (anex)

mobilní fáze: voda, organická rozpouštědla, kyseliny (H_2SO_4 , HCOOH),
kyselé pufry

Úprava vzorku (obecně jednodušší než pro GC):

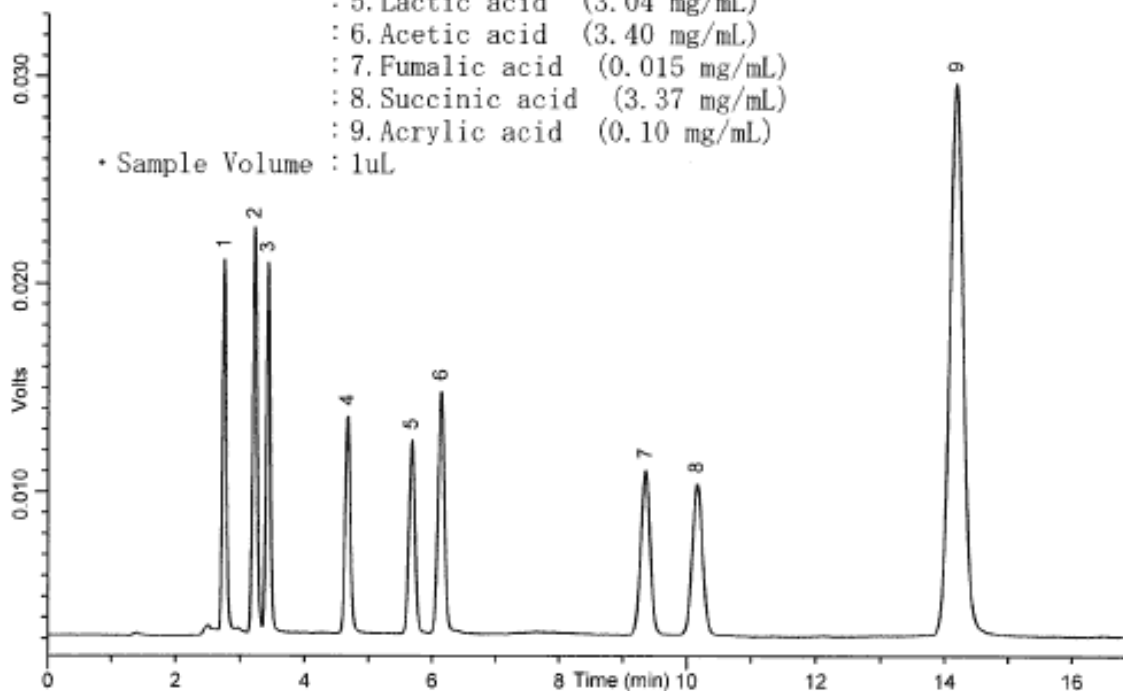
podle typu matrice:

nápoje a extrakty z nich - ředění, filtrace, čiření, odstředování

složitější matrice a extrakty z nich - kolonová chromatografie, SPE

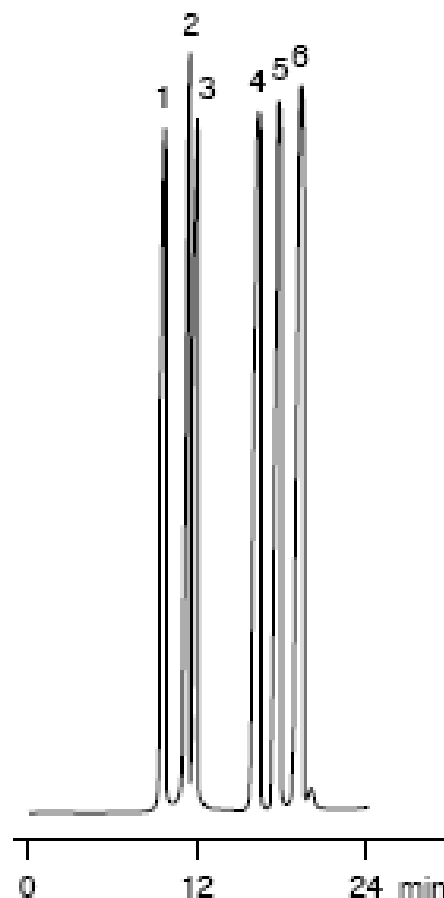
ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

- Column : Inertsil ODS-3V (250 × 4.6 mm I. D.)
- Flow rate : 1.0 mL/min
- Eluent : 0.1 M Ammonium dihydrogenphosphate + Phosphoric acid (pH 2.5)
- Oven Temp. : 40 °C
- Detector : UV 210 nm
- Samples :
 - 1. Oxalic acid (0.19 mg/mL)
 - 2. Tartaric acid (1.20 mg/mL)
 - 3. Glycollic acid (3.12 mg/mL)
 - 4. Malonic acid (1.44 mg/mL)
 - 5. Lactic acid (3.04 mg/mL)
 - 6. Acetic acid (3.40 mg/mL)
 - 7. Fumalic acid (0.015 mg/mL)
 - 8. Succinic acid (3.37 mg/mL)
 - 9. Acrylic acid (0.10 mg/mL)
- Sample Volume : 1 µL



Organic Acids

Column: Rezex ROA-Organic Acid
Dimensions: 300 x 7.8 mm
Part No.: 00H-0138-K0
Mobile Phase: 0.005 N Sulfuric Acid
Flow Rate: 0.5 mL/min
Detection: UV @ 210 nm
Temperature: 55 °C
Sample:
1. Oxalic
2. Citric
3. Tartaric
4. Succinic
5. Formic
6. Acetic



ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

CZE, ITP/EC, UV

Úprava vzorku:

podle typu matrice:

- jednoduché ředění, frakcionace, odstranění rušivých složek, filtrace, čiření, odstředování, kolonová chromatografie, SPE

Capillary: uncoated fused-silica (50 μm i.d. x 100 cm total length)

Cartridge and carousel temp: 25°C

Polarity: negative to positive

Run voltage: 25 kV

Run time: 30 min

Detector: 220 nm

Sample injection: 5 psi*sec

Purge cycles (3): 0.1 M HCl (120s), BGE (240s)

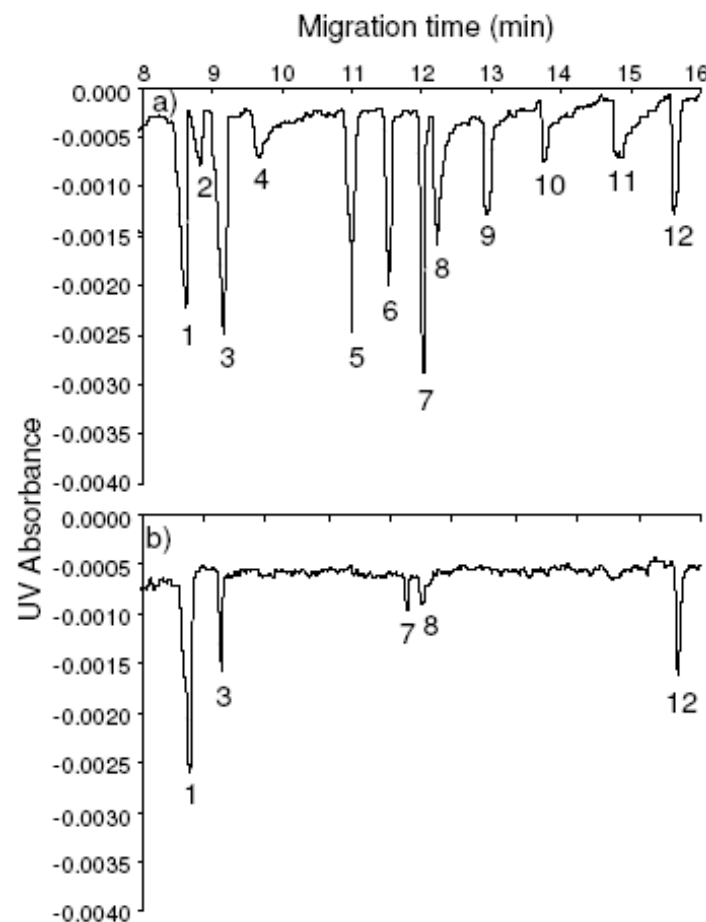
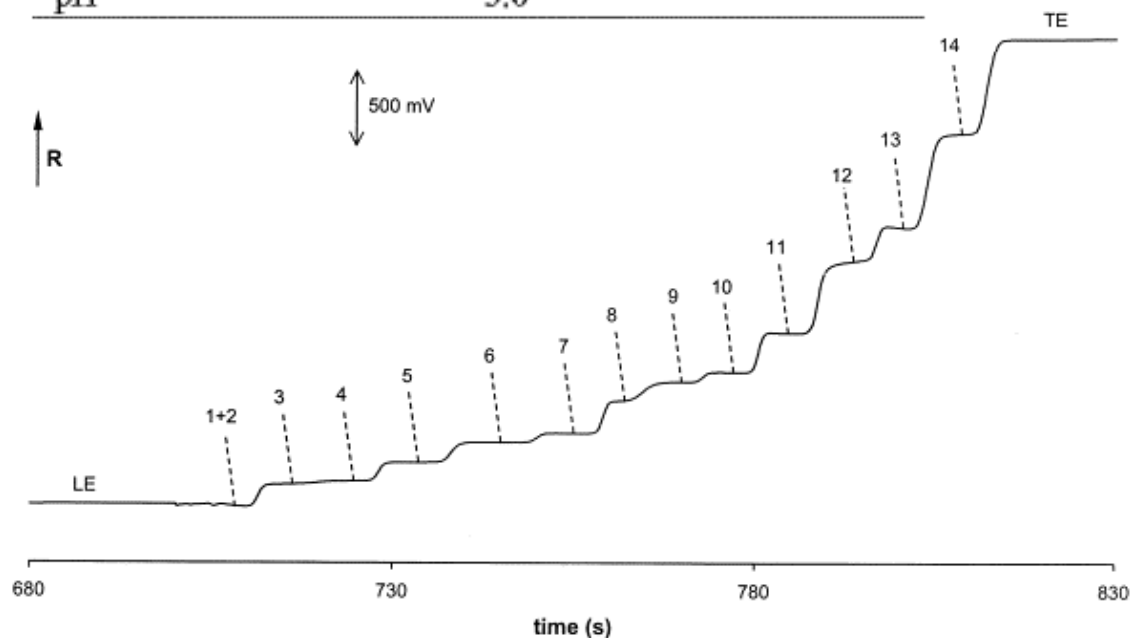


Figure 1 Inorganic anions and organic acids in (a) standard solution with each analyte at 1 mM, and (b) hot water extract of foliage from *P. pinaster*. Peaks are: 1, chloride; 2, nitrate; 3, sulphate; 4, oxalate; 5, formate; 6, tartarate; 7, malate; 8, citrate; 9, succinate; 10, pyruvate; 11, acetate; 12, phosphate. CE conditions as described in the text.

ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

Parameter	
Solvent	Water
Leading ion	Chloride
Concentration (mM)	10
Counter-ion	β -Alanine
pH	2.9
Suppressor of electroosmotic flow	Methylhydroxyethylcellulose
Concentration (% w/v)	0.1
Terminating ion	Glutamate or capronate ^a
Concentration (mM)	5.0
Counter-ion	Histidine
pH	5.0

Isotachophoretic separation of organic acids and inorganic anions present in a model mixture on the CC chip. Zone assignments: LE, leading anion (chloride); 1*, migration position of sulphate; 2, sulphite; 3, phosphate; 4, malonate; 5, tartrate; 6, citrate; 7, malate; 8, lactate; 9, gluconate; 10, aspartate; 11, succinate; 12, ascorbate; 13, acetate; 14, sorbate; TE, terminating anion (capronate). The driving current was 10 μ A. The concentrations of the analytes in the injected model sample were 12–42 mg/l. R, increasing resistance.



GC/FID,MS : stacionární fáze - těkavost, funkční skupiny

(derivatizace: BF_3/MeOH , HMDS, TMCS)

- polysiloxany, carbowax

- speciální: FFAP = polyethylenglykol-2-nitrotereftalát

Úprava vzorku:

podle typu matrice:

nápoje a extrakty z nich - ředění, filtrace, čiření, odstředování

složitější matrice a extrakty z nich - kolonová chromatografie, SPE

ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

Organic Acids

Column: DB-FFAP

30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm

J&W P/N: 122-3232

Carrier: Helium at 40 cm/sec, measured at 100°C

Oven: 100°C for 5 min

100-250°C at 10°/min

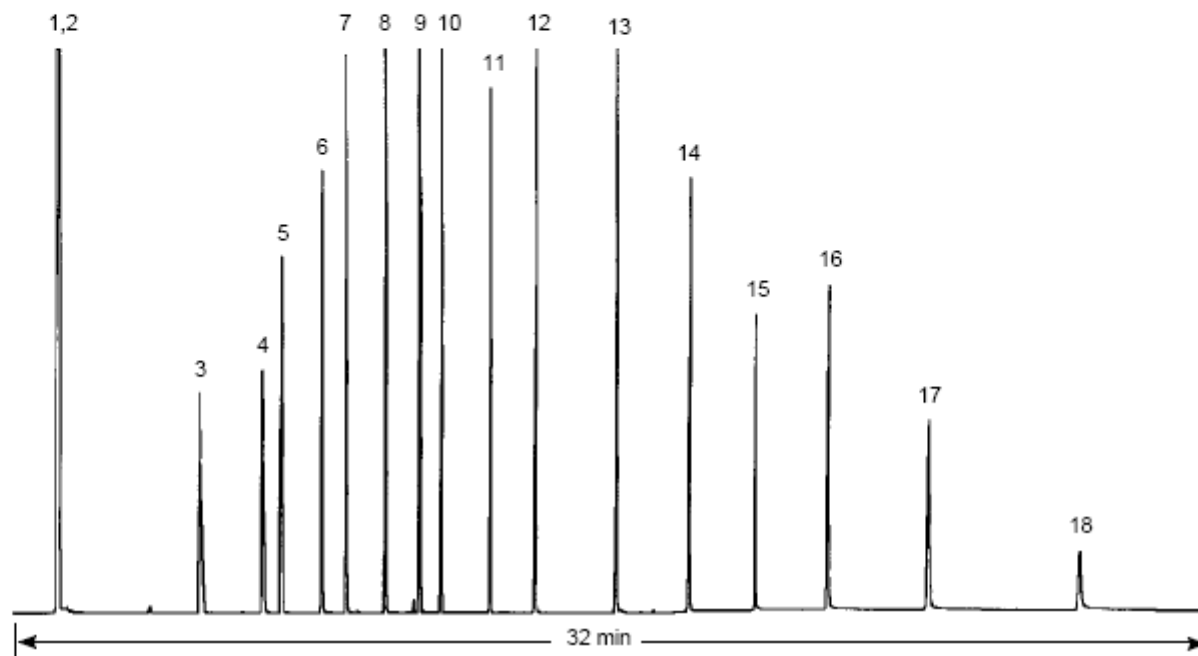
250°C for 12 min

Injector: Split 1:50, 250°C

Detector: FID, 300°C

Nitrogen makeup gas at 30 mL/min

- | | |
|----------------------------------|------------------------|
| 1. Acetone | 11. Heptanoic acid |
| 2. Formic acid | 12. Octanoic acid |
| 3. Acetic acid | 13. Decanoic acid |
| 4. Propionic acid | 14. Dodecanoic acid |
| 5. Isobutyric acid | 15. Tetradecanoic acid |
| 6. Butyric acid | 16. Hexadecanoic acid |
| 7. Isovaleric acid | 17. Octadecanoic acid |
| 8. Valeric acid (pentanoic acid) | 18. Arachidic acid |
| 9. Isocaproic acid | (eicosanoic acid) |
| 10. Caproic acid (hexanoic acid) | |



ANALÝZA ORGANICKÝCH KYSELIN

Mastné kyseliny (PUFA) - forma – typ esteru – MID-FTIR (ATR)

Typické vlnočty pásu C=O $\approx 1735 \text{ cm}^{-1}$ pro EE and 1742 cm^{-1} pro TAG

