

VÝSKUM A VÝVOJ NOVÝCH PROCESOV IZOLÁCIE PRCHAVÝCH AROMATICKÝCH LÁTOK Z PRÍRODNÝCH MATERIÁLOV

JUSTÍNA ČUCHOROVÁ^{a,b} a JAROSLAV BLAŠKO^a

^a Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, ^b Axxence Slovakia s.r.o.,

Mickiewiczova 9, 811 07 Bratislava, Slovensko

justina.cuchorova@axxence.sk, jaroslav.blasko@uniba.sk

Došlo 18.4.23, prijate 14.12.23.

Tento prehľad predstavuje dostupné a používané techniky na separáciu a následnú identifikáciu prchavých organických zlúčenín (VOC) z komplexných rastlinných matric. Prvá časť definuje VOC a ich využitie v potravinárskom, farmaceutickom a kozmetickom priemysle s konkrétnymi príkladmi. Nasledujúca časť sa týka najpoužívanejších techník separácie VOC z komplexných matric, pričom opísané výhody, nevýhody a porovnania sa líšia podľa ich základného princípu. Spomínajú sa klasické extrakčné, destilačné alebo adsorpčné metódy ako aj „zelené“ membránové metódy. V poslednej časti je popísaná metóda identifikácie separovaných aromatických VOC pomocou plynovej chromatografie, komplexnej plynovej chromatografie, olfaktometrie a menej známeho elektronického nosa. Prehľad poskytuje komplexné informácie o dostupných metodológiách na získanie aromatických VOC od úpravy vzorky až po analýzu a identifikáciu.

Kľúčové slová: prchavé organické látky, extrakcia, destilácia, membránové separačné procesy, plynová chromatografia, olfaktometria, E-nos

Obsah

1. Úvod
2. Prchavé organické látky
 - 2.1. Prchavé organické látky v priemysle
3. Separácia prchavých organických látok
 - 3.1. Extrakčné techniky
 - 3.2. Membránové separačné techniky
4. Izolácia prchavých organických látok
5. Analýza prchavých organických látok
6. Záver a vyhladky do budúcnosti

1. Úvod

Aromatické prchavé organické látky (VOC – volatile organic compounds) zohrávajú významnú rolu v mnohých odvetviach priemyslu. Typickú arómu, ktorá je tvorená práve aromatickými prchavými látkami možno považovať za kľúčovú pri výbere konečného produktu spotrebiteľom. Taktiež dodávajú produktom a rastlinám vzácne špecifické vlastnosti (antioxidačné, antiparazitické, antimikrobiálne) využiteľné v širokom spektre potravinárskych, farmaceutických a kozmetických výrobkov. V súčasnosti je vysoký dopyt po prírodných prchavých aromatických látkach získavaných z rastlinných materiálov. Dôležitou úlohou je vývoj metodiky na ich separáciu a následnú identifikáciu. Používané sú rôzne metódy extrakcie, najmä kvapalinová

extrakcia, extrakcia na tuhej fáze a superkritická fluidná extrakcia. Medzi ďalšie rozšírené metodiky možno zaradiť destiláciu, a tiež membránové separačné techniky ako pervaporáciu alebo rôzne druhy osmózy. Po získaní aromatických VOC je dôležitým krokom identifikácia. Medzi najviac používané metódy patrí plynová chromatografia s rôznymi typmi detekcie, kvapalinová chromatografia a olfaktometria. Cena prírodných VOC je významne vyššia ako ich chemicky syntetizovaných náhrad, a preto je prehľad dostupných techník na separáciu a identifikáciu dôležitý pre výber najvhodnejšej metódy. Je potrebné optimalizovanie procesu ich získavania s čo najvyšším výťažkom a najnižšími nákladmi.

2. Prchavé organické látky

Prchavé organické látky (VOC) sú chemické zlúčeniny s nízkou molekulovou hmotnosťou (v rozmedzí 50–200 Da), ktorých tlak nasýtených pár je 101,3 kPa pri 20 °C, a bodom varu v rozmedzí 50–250 °C. Patria sem skupiny zlúčenín, ako sú terpenoidy, sírne zlúčeniny, alkány, alkény, uhľovodíky, arómáty, alkoholy, aldehydy, kyseliny, estery, ketóny a iné¹. Môžu byť emitované ľuďmi, rastlinami, okolím, či priemyselnými procesmi. Listy rastlín sú považované za hlavný zdroj VOC emitovaných do atmosféry. V rastline sú považované za signálne molekuly, ktoré umožňujú špecifickú komunikáciu vo vnútro-

nom systéme rastliny, ako aj komunikáciu s vonkajším prostredím – chráni rastlinu pred bylinožravcami, hmyzom, parazitmi a hubami, vplyvmi prostredia, konkurujú iným rastlinám, priťahujú opeľovačov². Takisto bolo preukázané, že VOC produkované rastlinami, alebo ich symbiotickými baktériami dokážu modulovať fyziologické a hormonálne časti rastlín. Toto zabezpečuje mohutný rast koreňa, väčší počet listov či kvetov, čo vedie k bohatšej produkcii plodov³. Týmito vlastnosťami sú VOC považované za významné zlúčeniny potrebné pre rozvoj agropríemyslu, najmä ako ekologické riešenie na ochranu pred škodcami⁴. Príkladom je indol, ktorý stimuluje rast Čínskej kapusty *Brassica rapa subsp. pekinensis* a chráni rastlinu pred napadnutím hlístovcami *Nematoda*⁵. Na podporu rastu je rastlinou rajčiaku jedlého *Solanum lycopersicum* využívaný 1,3-propándiol⁶ a rastlinou divokého tabaku *Nicotiana attenuata* dimetyl-disulfid⁷.

Okrem funkcií prospešných pre samotnú rastlinu majú VOC mnoho iných významných úloh a sú tiež využívané ako aditíva vo viacerých druhoch priemyslu.

2.1. Prchavé organické látky v priemysle

Množstvo spotrebiteľov v súčasnej dobe uprednostňuje potravinárske, kozmetické a farmaceutické produkty s obsahom prírodných aromatických látok. Tieto sú schopné produktom dodať výhodné vlastnosti, ktorými môžu konkurovať syntetickým látkam. Chemické alternatívy tiež môžu častokrát spôsobovať podráždenie pokožky, vznik alergií či defektov kože⁸.

Antimalarický účinok esenciálneho oleja získaného hydrodestiláciou z čerstvých listov citrónovej trávy *Cymbopogon citratus* a bazalky *Ocimum gratissimum* bol skúmaný po dobu 4 dní *in vitro* na myšiach infikovaných parazitom rodu *Plasmodium berghei*, spôsobujúcim maláriu. Hlavné zložky esenciálneho oleja z citrónovej trávy boli tvorené aromatickými prchavými zlúčeninami. Výrazná antimalarická aktivita bola preukázaná u oboch olejov pri dávkovaní 200, 300 a 500 mg kg⁻¹ (cit.⁹).

VOC z rastlín sú považované tiež za perspektívne aditíva na zlepšenie výživovej hodnoty potravín. Vylepšenie nutričného profilu chleba bolo testované prídavkom aromatických rastlinných materiálov ako napr. zeleného čaju, paradajkového pretlaku či koriandra do receptúry, čím boli výrazne zvýšené antioxidačné a výživové hodnoty tohto produktu. Všetky prídavky boli uskutočnené v rozmedzí od 0,5 do 8 % tak, aby nebola negatívne ovplyvnená aróma chleba. Chlieb po týchto prídavkoch vykazoval navýšené antioxidačné vlastnosti takmer lineárne s množstvom pridaného rastlinného aditíva. Prídavkom rastlinného materiálu bola tiež pozmenená chuť, farba aj aróma chleba, čím sa môže stať atraktívnejším pre spotrebiteľa¹⁰.

Nie vždy sa však aromatické VOC, vyskytujúce sa priamo v rastline, dostanú až do koncového potravinárskeho produktu. V prípade ovocia kiwi *Actinidia deliciosa* bolo v čerstvo pripravenej šťave identifikovaných 15 hlavných VOC tvoriacich čerstvú, trávnatú arómu so

zelenými tónmi dotvorenú kvetinovo-ovocným podtónom. Čerstvá šťava z kiwi bola sterilizovaná dvoma spôsobmi – tepelne a bez tepelnej úpravy. Vo vzorkách po sterilizácii bola koncentrácia všetkých VOC výrazne nižšia v porovnaní s čerstvo pripravenou šťavou. Najväčší pokles VOC bol práve v tepelne sterilizovanej šťave, čo poukazuje na termickú nestabilitu aromatických VOC (cit.¹¹).

Celosvetová spotreba prchavých aromatických látok každým rokom rastie. V roku 2022 bola spotreba potravinárskych aditív (prírodných aj chemicky syntetizovaných) v hodnote 38 miliárd USD a do roku 2028 je očakávaná spotreba v hodnote 56 miliárd USD (cit.¹²). Prírodné prchavé aromatické látky sa väčšinou získavajú z častí rastlinných matric, ako sú korene, kvety, listy či plody. So zvýšeným dopytom, narastá aj dopyt po nových, ekologických a ekonomicky výhodných prostriedkoch na ich separáciu a izoláciu z rastlinných materiálov.

3. Separácia prchavých organických látok

Separácia prírodných aromatických látok sa stala v posledných rokoch dôležitou úlohou. Prírodné VOC sú v rastlinách prítomné častokrát v nízkej koncentrácii a môžu byť chemicky či termicky nestabilné. Samotná analýza VOC z komplexných matric pozostáva z viacerých krokov – odber vzorky, predúprava vzorky, detekcia a analýza údajov. Vzorkovanie a predúprava vzorky sa radia medzi najviac časovo náročné kroky. Správnym výberom metódy na tieto kroky je znížená možnosť straty významných analytov. V súčasnosti je k dispozícii celý rad extrakčných metód na zachytávanie aromatických VOC z komplexných matric a následnú analýzu. Ich princíp je založený na prchavosti, sorpčnej kapacite a rozpustnosti daných zlúčenín¹³.

3.1. Extrakčné techniky

Medzi tradične používané postupy extrakcie v systéme tuhá fáza – kvapalina sú zaradené: macerácia, digestia a perkolácia, ktorá je vykonávaná najčastejšie vo forme Soxhletovej extrakcie (klasická, ultrazvukovo/mikrovlnne urýchlená, vysokotlaková). Pri týchto metódach je však spotrebované veľké množstvo organických rozpúšťadiel, sú náročné na čas a výťažky VOC z rastlín sú neuspokojivé¹³. Preto boli vyvinuté novšie metodiky na extrakciu VOC z komplexných matric.

Metóda SPME (mikroextrakcia na tuhej fáze) patrí medzi najrozšírenejšie metodiky na úpravu vzorky a následnú analýzu VOC. Táto technika bola použitá aj pri sledovaní nákazy lista viniča škodcami. Listom viniča pri napadnutí plesňou *Plasmopara viticola* sú produkované špecifické VOC, ktoré slúžia na ochranu rastliny. Pri včasnom zistení prítomnosti týchto VOC je možné vinič pred nákazou ochrániť. List viniča bol upravený homogenizáciou s tekutým dusíkom a následne extrahovaný metódou SPME. V infikovaných listoch boli obsiahnuté špecifické VOC, zatiaľ čo v neinfikovaných listoch neboli prítom-

né¹⁴. Porovnaním metód predúpravy vzorky HS-SPME (head-space mikroextrakcia tuhú fázou z priestoru nad vzorkou), SFE (superkritická fluidná extrakcia) s použitím CO₂ a SDE (simultánna destilácia – extrakcia) pri extrakcii aromatických VOC z bôbov fazule tonka *Dipteryx odorata* boli tiež zistené rozdiely. Pri použití metódy HD-SPME na predúpravu vzorky a následnou GC analýzou bolo identifikovaných až 156 VOC, použitím SDE 77 VOC a SFE len 36 VOC. Problémom pri SDE bola hydrolýza esterov a tiež rozpustnosť niektorých kyslíkatých zlúčenín vo vode. Pri SFE dochádzalo pri použití vyšších teplôt a tlakov ku koextrakcii väčších molekúl s vysokou retenciou. Preto bola metóda SPME vyhodnotená ako najvyhovujúcejšia na extrakciu menších aromatických VOC pred GC analýzou¹⁵.

Na extrakciu SFE je možné použiť tiež freón R134a – 1,1,1,2-tetrafluóretán. Podmienky použitia freónu na extrakciu sú stanovené smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2009/32/S (cit.¹⁶). Extrakcia freónom poskytuje viaceré výhody oproti bežným extrakčným rozpúšťadlám. Freón je vysoko selektívny voči prírodným zlúčeninám najmä terpénom a ich derivátom, je chemicky odolný, získané extrakty sú vysoko čisté, má nízku viskozitu a povrchové napätie, je bez špecifickej chuti a zápachu, je ľahko odstrániteľný z extraktu vďaka jeho nízkej teplote varu (–47,6 °C) a extrakty sú získavané s vysokou účinnosťou za krátky čas pri nízkych teplotách, takže nedochádza k termickému rozkladu VOC (cit.¹⁷).

SFE freónom bola použitá na extrakciu aromatických látok z rôznych odrôd rastliny ruže. 103 jednotlivých zlúčenín bolo identifikovaných s celkovým obsahom od 89,7 % do 93,7 % v štyroch odrodách ruže. Najviac zastúpenými zlúčeninami boli 2-fenyletanol, nonadekán, nonadekén a geraniol. Metódou SFE freónom bol získaný vysokokvalitný a čistý extrakt v porovnaní so superkritickou extrakciou CO₂ a horúcou stlačenou vodou, pri ktorých dochádza k strate analytov v dôsledku použitia vysokých teplôt¹⁷.

3.2. Membránové separačné techniky

Membránové procesy sa v súčasnosti považujú za moderné, vysoko účinné separačné metódy založené na molekulárnych vlastnostiach oddeľovaných zložiek. Vo všeobecnosti je očakávané čo najlepšie oddelenie cieľového produktu od prímies matrice za čo najefektívnejších podmienok. Membrány sú charakteristické účinnosťou rozdelenia transportovaných častíc – selektivitou a množstvom pretransformovanej hmoty – permeabilitou. Selektivita býva určená najmä charakterom použitého materiálu¹⁸.

Osmóza je vo všeobecnosti označovaná za migráciu molekúl vody z hypotonického do hypertonického prostredia cez selektívne priepustnú membránu. Metóda priamej osmózy predstavuje jednoduchý a energeticky nenáročný proces s využitím prirodzenej sily osmotického tlaku. Táto metóda je široko využívaná pri príprave ovocných džúsov s mnohými výhodami, ako napríklad zachovanie čerstvej ovocnej chuti a bioaktívnych zložiek, minimálna degradá-

cia farieb, znížené zanášanie membrány, lepšia kvalita produktu bez tepelného namáhania, v porovnaní s reverznou osmózou, nanofiltráciou a ultrafiltráciou¹⁹.

Metódy osmotického odparovania (osmotic evaporation OE) a membránovej destilácie (MD) boli porovnávané z hľadiska odstránenia vody a separácie prchavých VOC citralu a etylbutyrátu z pomarančového džúsu, za účelom vytvorenia ovocného koncentráту. Ovocný koncentrát zo štiav sa považuje za výhodnejší produkt z hľadiska nákladov na dopravu a skladovanie, stabilitu produktu a väčšej mikrobiálnej rezistencie. Procesom koncentrácie by mala byť odstránená voda. Bežne sa na tento účel používa vákuové odparovanie, pri ktorom však v dôsledku vysokých teplôt dochádza k zmene aromatického profilu výsledného koncentrátu. Procesom MD bolo odseparované len polovičné množstvo vody z pomarančového džúsu, pričom transport aromatických VOC bol vyšší – pre citral 51 % a pre etylbutyrát 49 %. Pri metóde OE bol transport VOC len na úrovni 12 % pre obe zlúčeniny. Z tohto pohľadu možno OE určiť ako účinnejšiu metódu na tvorbu ovocného koncentrátu so zachovaním aromatických vlastností výsledného produktu²⁰.

Pervaporácia (PV) býva často používaná na separáciu azeotropov, organických zmesí a organicko-vodných zmesí a tiež na separáciu VOC z ovocia, ovocných štiav, kávových a alkoholických nápojov. Výhodami PV sú nízke energetické náklady, vysoká selektivita, jednoduchosť procesu a šetrnosť k životnému prostrediu²¹. Účinnosť PV bola sledovaná pri získavaní izoamyl-acetátu, etyl-acetátu, izoamylalkoholu a etylalkoholu z fermentačného média kvasiniek *Pichia fermentans* cukrovej trstiny. Bola použitá polymérna membrána PERVAP™ 4060 na báze polydimetylsiloxánu (PDMS). Procesom PV bol získaný koncentrovaný produkt zmesi významných VOC v jednom kroku. Obzvlášť vhodný bol na izoláciu izoamyl-acetátu, ktorý tvorí typickú banánovú arómu. Výsledným produktom z tmavého kultivačného média bola bezfarebná kvapalina – pervaporácia bola účinná aj na odstránenie zafarbenia matrice²². Medzi novšie typy membrán pri procese PV sa radia viacstenné uhlíkové nanotrúbice (MWCNT/PDMS), ktoré výrazne zlepšujú separačnú účinnosť pre aromatické látky. Tieto boli sledované v porovnaní s klasickými PDMS membránami v procese separácie linaloolu, β -ionónu a metyl-salicylátu z vareného čierneho čaju. Pri výrobnom procese instantného čierneho čaju sú často používané technológie využívajúce vysoké teploty, napr. sterilizácia či sušenie. Vplyvom vysokých teplôt sú prchavé VOC s nízkou teplotou varu zničené, čo výrazne vplyva na zoslabenie typickej arómy pri príprave čaju. Preto bola metóda PV s MWCNT/PDMS membránou navrhnutá na zachytávanie týchto zlúčenín pred spracovaním čaju a ich následné navrátenie do koncového produktu. Miera obnovenia linaloolu, metyl-salicylátu a β -ionónu bola 85,8 %, 90,8 % a 83,4 %, čo bolo niekoľkonásobne vyššie v porovnaní s klasickou PDMS membránou. Tento proces bol určený za vhodný pre návratnosť aromatických VOC do koncového produktu²³.

4. Izolácia prchavých organických látok

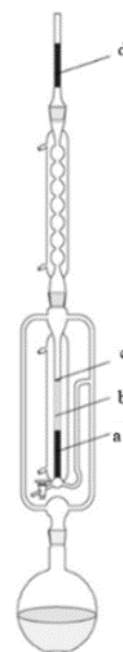
Izolačné a čistiace metódy slúžia na získavanie prchavých aromatických látok, najmä pre potreby priemyselnej výroby a ich ďalšieho použitia. Mnohé z nich však majú značné obmedzenia, často sú energeticky a časovo náročné, avšak vo väčšom meradle poskytujú stále výhodné výťažky aromatických VOC z rastlinných materiálov²⁴.

Jedným z tradičných spôsobov izolácie a čistenia aromatických VOC je destilácia, najčastejšie vykonávaná ako HD (hydrodestilácia). Táto dobre známa technika je použiteľná na veľké množstvo rastlinných matric a zabezpečuje oddelenie prchavých zložiek od neprchavých. Medzi významné limitácie tejto techniky patria nízke výťažky a tiež vysoké teploty, ktoré môžu spôsobovať rozklad termicky labilných VOC (cit.²⁴). Výťažok HD je možné zvýšiť použitím sonikácie rastlinného materiálu pred procesom. Pri narušení semien mrkvy obcej *Daucus carota* sonikáciou bol výťažok esenciálneho oleja získaného procesom HD vyšší o 33 %. Hlavnými zložkami esenciálneho oleja boli karotol, sabinen, α -pinén a daukol. Procesom sonikácie bol získaný esenciálny olej podobného kvantitatívneho aj kvalitatívneho zloženia (korelačný koeficient – 94,2 %) s rovnakými antibakteriálnymi účinkami proti niektorým druhom baktérií²⁵. Medzi ďalšie novšie metodiky na podporu účinnosti a skrátenie času klasickej HD sa radí HD podporená mikrovlnným žiarením (MAHD). Táto metóda bola testovaná napríklad pri získavaní esenciálneho oleja zo zeleru voňavého *Apium graveolens*. Medzi hlavné zložky tohto oleja sa radia limonén, *cis*- β -ocimén, γ -terpinén, karvakrol a pulegonén. Použitím MAHD bol čas destilácie skrátený z 3 h na 25 min. Výťažok z procesu HD bol 1,1 % a z procesu MAHD bol 1,4 % (w/w). Kvantitatívne a kvalitatívne zloženie oboch olejov nevykazovalo významné rozdiely²⁶.

Na obmedzenie rozkladu a straty najpolárnejších prchavých zlúčenín sa používa destilácia vodnou parou (SD). Pri tejto technike však môže dochádzať k hydrolyze VOC. Priemerný výťažok pri destilácii vodnou parou z rastlín predstavuje len 5 % (w/w). Veľké množstvo vo vode rozpustných VOC (alkoholy, ketóny, aldehydy) sa môže rozpúšťať v kondenzovanej vode. Opätovné získavanie týchto zlúčenín sa stáva významnou úlohou z ekonomického a environmentálneho hľadiska²⁷.

Ďalšou metódou na získavanie VOC je adsorpcia, ktorá sa radí medzi najpoužívanejšie techniky zachytávania VOC rozpustených vo vodnom odpade po destilácii²⁸. Metóda HD v kombinácii so statickou/dynamickou adsorpciou na deviatich druhoch makroporéznych živíc bola sledovaná za účelom získavania perilaldehydu z rastliny perily krovitej *Perilla frutescens*. Perilaldehyd sa radí medzi hlavné aromatické látky rastliny a je vo veľkej miere používaný v potravinárskom, parfumérskom a farmaceutickom priemysle. HD bola použitá ako metóda predbežnej izolácie VOC a následná adsorpcia vodného kondenzátu ako metóda na získanie produktu s vyšším obsahom tohto aldehydu. Adsorbenty SP-207 a XAD-4

(modifikovaný, pórovitý styrén-divinylbenzén) vykazovali najlepšiu adsorpčnú kapacitu. Ako elučné činidlo bol použitý etanol, nakoľko bola zamedzená tvorba emulzie voda-perilaldehyd²⁹. Metódou SD je získavaný aj gerániový esenciálny olej z rastliny pelargonie vonnej *Pelargonium graveolens*. Vo vodnej frakcii bola zistená prítomnosť významných VOC, ako geraniolu, nerolu, citranelolu, linaloolu, mentónu a izomentónu. Polymérny adsorbent INDION 1014 MN-2 (styrén-divinylbenzén) bol použitý na zachytávanie týchto VOC. Po procese adsorpcie bola zistená tiež prítomnosť významných zložiek tvoriacich arómu gerániového esenciálneho oleja – β -damascenónu, mentolu a α -terpinolu, ktoré neboli identifikované v esenciálnom oleji po SD z dôvodu nízkej koncentrácie³⁰. Metódu adsorpcie a hydrodestilácie je možné uskutočniť aj v jednom kroku zostavením vhodnej aparatúry. Porovnávaná bola metóda hydrodestilácie v spojení s adsorpciou (HDA) v jednom kroku a klasickej HD bez kroku adsorpcie na separáciu vo vode rozpustných a nerozpustných zlúčenín a tiež VOC, predovšetkým kyselín, monoterpenov a izotiokyanátov. Ako rastlinné matrice boli použité rohovník obyčajný *Cerantonia siliqua*, rozmarín lekárske *Rosmarinus officinalis* L. a roketá siata *Eruca sativa* (rukola). V prípade HDA boli VOC rozdelené do troch frakcií, čo umožňovalo dôkladnejšiu detekciu – vo vode nerozpustné zlúčeniny, vo vode rozpustné zlúčeniny boli adsorbované na uhlíkovom separátore a vysoko prchavé zlúčeniny boli adsorbované na uhlíkovom lapači v hornej



Obr. 1. Aparatúra na hydrodestiláciu v spojení s adsorpciou; a) kolóna s aktívnym uhlím, b) vodná vrstva, c) frakcia vo vode nerozpustných zlúčenín, d) zachytávač s aktívnym uhlím (upravený podľa cit.³¹)

časti aparatury na obr. 1. Adsorbované zlúčeniny boli extrahované v tej istej aparatúre dietyléterom po dobu 8 h. Metóda HDA bola u bôbov rohovníka obyčajného účinnejšia o 88,2 % na separáciu VOC ako HD, o 12 % účinnejšia u listov rozmarínu lekárskeho, u kvetov rukety siatej o 104,7 % účinnejšia a u listov rukety siatej bola účinnosť zvýšená o 27,9 % (cit.³¹).

5. Analýza prchavých organických látok

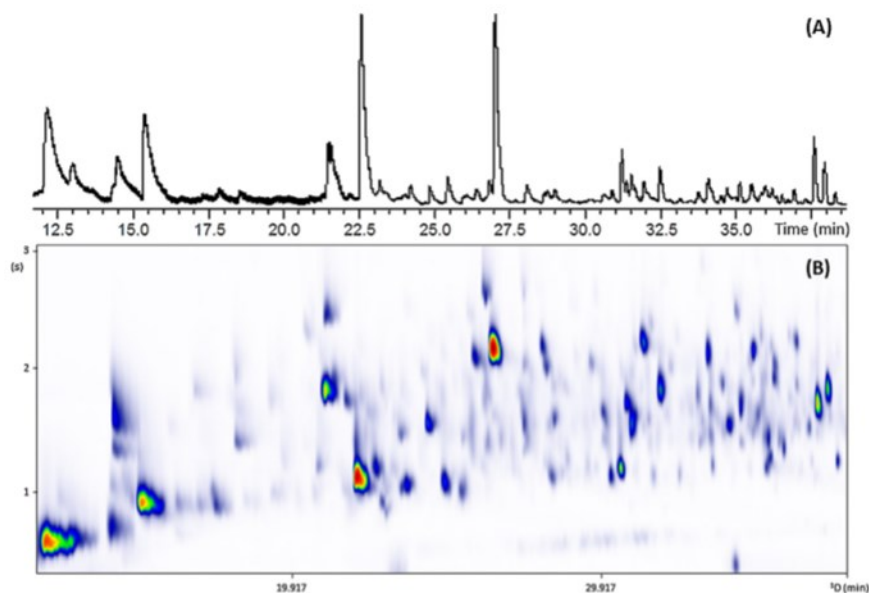
Plynovú chromatografiu možno považovať za najvhodnejšiu a najrozšírenejšiu metódu na analýzu rastlinných VOC práve z dôvodu ich prchavosti. Vývojom nových typov kolón, spôsobov detekcie, usporiadania a zavedenia vzorky je táto metóda použiteľná pre široké spektrum zlúčenín⁴.

Často používanou metódou na identifikáciu, separáciu a kvantifikáciu rastlinných VOC je plynová chromatografia s termálnou desorpciou s hmotnostným detektorom (TD-GC-MS). Táto metóda umožňuje aj separáciu veľmi podobných chemických zlúčenín a izomérov s vysokou citlivosťou vďaka počiatočnému predkoncentrovaniu vzorky. Ďalšou používanou alternatívou na priame monitorovanie rastlinných VOC v čase (on-line) je hmotnostná spektrometria v prúdovej trubici s vybranými iónmi (SIFT-MS). Táto mäkká ionizačná technika využíva chemickú ionizáciu VOC pomocou iónov H_3O^+ , NO^+ a O_2^+ . Ide o metódu s vysokou citlivosťou vhodnú tiež na priamu kvantitatívnu analýzu⁴.

Na získanie podrobnejších informácií o zložení vzorky a prekonanie limitácií jednorozmernej GC sa v súčasnosti dostáva do popredia dvojrozmerná plynová chromatografia (GC \times GC) v spojení s rôznymi typmi detekcie a predúpravy vzorky pre čo najkomplexnejšie výsledky³².

Porovnanie jedno a dvojrozmernej GC bolo sledované na vzorkách esenciálneho oleja z dvoch druhov rastliny mäty *Mentha spicata* a *Mentha piperita*. Použitá bola jednorozmerná GC v spojení s hmotnostnou spektrometriou MS s kvadrupólovým analyzátorom a dvojrozmerný systém GC \times GC s plameňovo-ionizačným FID detektorom. V esenciálnom oleji z rastliny *Mentha piperita* bolo metódou GC \times GC identifikovaných 89 VOC v porovnaní s 30 VOC pri GC. V rastline *Mentha spicata* bolo identifikovaných metódou GC \times GC 68 VOC oproti 28 VOC metódou GC. Dvojrozmerný systém bol vyhodnotený ako efektívnejší na získanie aromatického profilu z komplexnej matrice³³. Metóda GC \times GC/MS bola tiež vyhodnotená ako efektívnejšia pri analýze VOC v rastline artičoku zeleninového *Cynara scolymus* L. Pomocou 2D GC bolo identifikovaných až 130 aromatických VOC v rastline artičoku, čo predstavovalo štyrikrát viac identifikovaných VOC v porovnaní s jednorozmernou GC. Na obr. 2 sú porovnané chromatogramy z analýzy listov artičoku z jednorozmernej a dvojrozmernej GC s MS detektorom³⁴.

Rozšíreným spôsobom detekcie aromaticky aktívnych látok na hodnotenie aróm, potravín a environmentálnych vzoriek sa tiež stáva olfaktometria. Detekciu aróma-aktívnych látok zabezpečuje olfaktometer, najčastejšie



Obr. 2. Porovnanie chromatogramov z analýzy listov Artičoku jedlého; A) chromatogram z jednorozmernej plynovej chromatografie, B) chromatogram z komprehenzívnej plynovej chromatografie (upravený podľa cit.³⁴). Farebná verzia obrázku je k dispozícii na webovej stránke časopisu Chemické listy.

ľudský element – nos, táto detekcia je však veľmi individuálna a ohraničená schopnosťami ľudského faktora, pričom na detekciu vplyva veľké množstvo podnetov³⁵.

Spojením olfaktometrie s tradičnou plynovou chromatografiou (GC-O) je vytvorený vhodný nástroj na identifikáciu aróma-aktívnych látok. GC-O bola napríklad použitá ako doplnková metóda na zistenie aróma-aktívnych látok vo vzorkách vína druhu Merlot. Metódou GC-MS bolo identifikovaných 43 prchavých VOC a metódou GC × GC-MS až 142 VOC v rovnakej vzorke vína. Následne doplnkovou metódou GC-O-MS/FID (FID -flame ionization detector/plameňovo ionizačný detektor) bolo identifikovaných 38 aróma-aktívnych látok, ktoré pri klasickom 1D systéme koeluovali s inými VOC (cit.³⁶). Ľudský nos je možné nahradiť E-nosom, systémom heterogénnych elektrochemických plynových senzorov so špecifickým rozpoznávaním analytu³⁵.

E-nos spoľahlivo eliminuje individuálne faktory ľudského nosa. Na výrobu senzorov sú bežne používané oxidy kovov alebo rôzne typy vodivých polymérov. Okrem vodivých materiálov sú používané aj optické senzory, senzory povrchovo aktívnych vln, tranzistory a mikro-mechanické systémy³⁵. Ďalšia dôležitá súčasť systému E-nosa je tvorená algoritmami rozpoznávania, ktoré sú stále vo vývoji buď v samostatnom móde učenia alebo učením s dohľadom. Rozlišovací systém E-nosu bol napríklad použitý na hodnotenie kvality ryže. Procesom nesprávneho alebo príliš dlhého skladovania sa aróma ryže nepriaznivo mení. Vznikajúce aldehydy, ketóny, alkoholy a iné prchavé zlúčeniny boli detegované systémom chemických senzorov počas celého procesu skladovania ryže, čím sa stali vhodným nástrojom na kontrolu kvality tohto produktu³⁷. Pri vývoji technológie E-nosa je kladený veľký dôraz na miniaturizáciu, v súčasnosti je však použitie limitované najmä algoritmami rozpoznávania a samotnými senzormi, ktorých vývoj napreduje³⁵.

6. Záver a vyhlídky do budúcnosti

Práca predstavuje využitie aromatických látok v rôznych odvetviach priemyslu a ich dôležitosť. Keďže sú ceny prírodných VOC vyššie v porovnaní so syntetickými náhradami a dopyt neustále narastá, je nutné predkladať účinné, rýchle, jednoduché a lacné metódy na ich získavanie. V práci sú stručne zhrnuté najbežnejšie používané metódy pre získavanie prírodných aromatických látok z rastlinných materiálov so zahrnutím membránových procesov. Taktiež sú popísané niektoré novšie a účinnejšie postupy predúpravy vzorky, ako napríklad superkritická fluidná extrakcia freónom.

Práca tiež poukazuje na nutnosť využívať podporné postupy, ktorými je možné zvýšiť účinnosť zaužívaných metód, ako sú napríklad hydrodestilácia. A to použitím sonikácie rastlinného materiálu pred procesom, podporou mikrovlnným žiarením či spájaním s inými metodikami ako napríklad s adsorpciou.

Implementovanie týchto postupov do praxe však vyžaduje vyššie počítačové investície, ďalšie štúdium a optimalizáciu podmienok. Pokrok môže predstavovať najmä zavádzanie membránových separačných procesov, ktoré sú vysoko energeticky efektívne a umožňujú izoláciu VOC bez nutnosti teplotného namáhania.

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmlúv č. APVV-17-0281, APVV-18-0282 a APVV-20-0317, a vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt Zvýšenie kapacít a kompetencií Univerzity Komenského vo výskume, vývoji a inováciách, ITMS2014+: 313021BUZ3, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Zoznam skratiek a značiek

FID	plameňovo-ionizačný detektor (flame-ionization detector)
FO	priama osmóza (forward osmotic)
GC-O	plynová chromatografia v spojení s olfaktometriou
HD	hydrodestilácia
HDA	hydrodestilácia v spojení s adsorpciou
HS	priestor nad vzorkou (head space)
MAHD	hydrodestilácia podporená mikrovlnným žiarením
MD	membránová destilácia
ME	membránová elektrolyza
MF	mikrofiltrácia
MWCNT	mnohostenno uhlíkové nanorúrky
OF	olfaktometria
NF	nanofiltrácia
OE	osmotické odparovanie (osmotic evaporation)
PDMS	polydimetylsiloxán
PET	polyetyléntereftalát
PV	pervaporácia
RO	reverzná osmóza
SD	destilácia vodnou parou
SDE	simultánna destilácia – extrakcia
SFE	superkritická fluidná extrakcia
SIFT-MS	hmotnostná spektrometria v prúdevej trubici s vybranými iónmi
SPE	extrakcia na tuhej fáze
SPME	mikroextrakcia na tuhej fáze
TD-GC	plynová chromatografia s termálnou desorpciou
TF-SPME	mikroextrakcia tenkou vrstvou tuhej fázy
UF	ultrafiltrácia
VOC	prchavá organická látka

LITERATÚRA

1. Pozzer A. C., Gómez P. A., Weiss J.: *Sci. Total Environ.* 838, 156155 (2022).

2. Cordovez V., Carrion V. J., Etalo D. W., Mumm R., Zhu H., van Wezel G. P., Raaijmakers J. M.: *Front. Microbiol.* 6, 1081 (2015).
3. Poveda J.: *Appl. Soil Ecol.* 168, 104118 (2021).
4. Materić D., Bruhn D., Turner C., Morgan G., Mason N., Gauci V.: *Appl. Plant Sci.* 3, 1500044 (2015).
5. Yu S. M., Lee Y. H.: *Plant Soil* 370, 485 (2013).
6. Has T., Gu Q., Wu H., Raza W., Hanif A., Wu L., Colman M. V., Gao X.: *Front. Microbiol.* 8, 171 (2017).
7. Meldau G. D., Meldau S., Hoang H. L., Underberg S., Wünsche H., Baldwin T. I.: *Plant Cell* 25, 2731 (2013).
8. Goncalves S., Mansinhos I., Romano A., v knihe: *Oxidative Stress and Dietary Antioxidants in Neurological Diseases* (Colin R. M., Preedy R. V., ed.), kap. 11, str. 155. Elsevier Inc., Londýn 2020.
9. Tchoumboungang F., Amvam Zollo P. H., Dagne E., Mekonnen Y.: *Planta Med* 71, 20 (2005).
10. Filipčev B., v knihe: *Feed Additives* (Florou-Paneri P., Christaki E., Giannenas I., ed.), kap. 16, str. 279. Elsevier Inc., Londýn 2020.
11. Zhao Y., Wang P., Zhan P., Tian H., Lu C., Tian P.: *Food Res. Int.* 139, 109841 (2020).
12. <https://www.marketdataforecast.com/market-reports/global-food-additives-market>, stažené 18. 4. 2023.
13. Labuda J., Špánik I., Tarapčík P., Hrouzková S., Vrábek V., Benická E., Hroboňová K., Sádecká J., Beinrohr E., Liptaj T., v knihe: *Analytická chémia*, str. 81. Slovenská technická univerzita, Bratislava 2014.
14. Ricciardi V. a 11 spoluautorov: *Plant Physiol. Biochem.* 160, 294 (2021).
15. Bajer T., Surmová S., Eisner A., Ventura K., Bajerová P.: *Ind. Crop Prod.* 119, 313 (2018).
16. Smernica európskeho parlamentu a rady 2009/32/ES o aproximácii právnych predpisov členských štátov o extrakčných rozpúšťadlách používaných pri výrobe potravín a zložiek potravín. Úradný vestník Európskej únie 141/3. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:141:0003:0011:SK:PDF>
17. Dobrevá A., Nedeltcheva-Antonova D., Nenov N., Getchovska K., Antonov L.: *Molecules* 26, 4991 (2021).
18. Boyona J. M., Pawliszyn J., Dugo P., Le X. Ch., Lee H. K., Li X.-F., Lord H., v knihe: *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 2. vyd, kap. 2.22, str. 461. Elsevier, Londýn 2012.
19. Cath T. Y., Childress A. E., Elimelech M.: *J. Membr. Sci.* 281, 70 (2006).
20. Alves V. D., Coelho I. M.: *J. Food Eng.* 74, 125 (2006).
21. Maji S., Banerjee S.: *J. Membr. Sci.* 349, 145 (2010).
22. Rossi S. C., Medeiros A. B. P., Weschemfelder T. A., Scheer A. P., Soccol C. R.: *Bioproc. Biosystems Eng.* 40, 959 (2017).
23. Li J., Liao H., Sun Y., Li R., Zhu B., Zhong Z., Yao Z.: *Sep. Purif. Technol.* 259, 118101 (2021).
24. Kumar R., Tripathi Y. C., v knihe: *Training Manual on Extraction Technology of Natural Dyes & Aroma Therapy and Cultivation Value Addition of Medicinal Plants*, 1. vyd, str. 77, Dehradun 2011.
25. Smigielsky K. B., Majewska M., Kunicka-Styczynska A., Gruska R.: *J. Essent. Oil Bear. Plant* 17, 1075 (2014).
26. Moradalizadeh M., Akhgar M. R., Faghihi-Zarandi A.: *Asian J. Chem.* 25, 79 (2013).
27. Sánchez-Vioquea R., Polissiouc M., Astrakac K., de los Mozos-Pascual M., Tarantilis P., Herraiz-Penalver D., Santana-Méridas O.: *Ind. Crops Prod.* 49, 150 (2013).
28. Machale K. W., Niranjana K., Pangarkar W. G.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 69, 362 (1997).
29. Chang X., Xu H., Wang D., Feng Y., Zhan P.: *Sep. Sci. Technol.* 48, 1226 (2013).
30. Amin L. P., Pangarkar V. G., Beenackers A.: *Sep. Sci. Technol.* 36, 3639 (2001).
31. Mastelic J., Jerkovic I., Blazevic I., Radoni A., Krstulovic L.: *Talanta* 76, 885 (2008).
32. Kamatou G., Sandasi M., Tankeu S., van Vuuren S., Viljoen A.: *Rev. Bras. Pharmacogn.* 29, 351 (2019).
33. Dimandja J. M. D., Stanfill S. B., Grainger J., Patterson D. G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 23, 208 (2000).
34. Saucier C., Polidoro A. S., Santos A. L., Schneider J. K., Caramão E. B., Jacques R. A.: *Ind. Crops Prod.* 62, 507 (2014).
35. Loutfi A., Coradeschi S., Mani G. K., Shankar P., Rayappan J. B. B.: *J. Food Eng.* 144, 103 (2015).
36. Welke J. E., Nicolli K. P., Hernandez K. C., Camarão Telles Biasoto A., Zini C. A.: *Food Chem.* 370, 131004 (2022).
37. Xu J., Liu K., Zhang Ch.: *Trends Food Sci. Technol.* 109, 83 (2021).

J. Čuchorová^{a,b} and J. Blaško^a (^a Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University Bratislava, Bratislava, Slovakia, ^b Axxence Slovakia s.r.o., Bratislava, Slovakia): **Research and Development of New Processes for the Isolation of Volatile Aromatic Substances from Natural Materials**

This review presents available techniques used for the separation and subsequent identification of volatile organic compounds (VOC) from complex plant matrices. The first part defines the plant material as well as the VOC and their using in the food, pharmaceutical and cosmetic industries with specific examples. The next section relates to the most widely used techniques to separate VOCs from complex matrices, where the advantages, disadvantages and comparisons described differ according to their basic principles. Classical extraction, distillation or

adsorption methods, as well as "green" membrane procedures are mentioned. The last part describes the method of identification of separated aromatic VOCs by gas chromatography, comprehensive gas chromatography, olfactometry, and the lesser-known electronic nose. The review provides comprehensive information about available methodologies for obtaining aromatic VOCs from sample pretreatment to analyses and identification.

Keywords: volatile organic compounds, extraction, distillation, membrane separation, gas chromatography, olfactometry, E-nose

Acknowledgements

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract numbers APVV-17-0281, APVV-18-0282 and APVV-20-0317. This work was also supported by the Operation Program of Integrated Infrastructure for the project, UpScale of Comenius University Capacities and Competence in Research, Development and Innovation, ITMS2014+: 313021BUZ3, co-financed by the European Regional Development Fund.



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.