

14

EUROPEAN MEETING  
OF MEAT RESEARCH WORKERS

BRNO, CZECHOSLOVAKIA

AUGUST 26th - 31st 1968

SECTION

В.И.КУРКО, Л.Ф.КЕЛЬМАН, А.А.КУЗНЕЦОВА

D 9

Всесоюзный научно-исследовательский институт  
мясной промышленности

РАЗДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ДЫМА  
НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ КОЛОНКАХ

Фенольные компоненты дыма представляют крайне интересный объект для исследований, связанных с решением различных вопросов копчения мясных изделий.

Результаты ранее проведенных работ свидетельствуют об исключительной роли фенольных компонентов в копчении как единственных веществ, действенно препятствующих окислительной порче копченого продукта, обладающих сильным бактерицидным действием, и, наконец, имеющих пряные оттенки запаха, что свидетельствует об их несомненном участии в возникновении специфического аромата у копченых мясных изделий /I-6/.

Для разделения сложной смеси фенолов на более узкие фракции, которые затем могут быть подвергнуты органолептической и другой оценке, применяют разнообразные химические и физические методы (разгонку под вакуумом, дробное фракционирование щелочью и др.) /7-9/.

В настоящей работе была сделана попытка использовать для указанной цели методы колоночной хроматографии.

#### Методика работы

Объектами для исследования служили фенолы, выделенные из так называемых колбасных моделей /10-12/ и конденсаторов дыма, собираемого при помощи специального устройства (рис. I).

Для разделения смеси фенолов применяли хроматографические колонки (с диаметром 10-20 мм, длиной - 400 мм) с различным наполнением (окиси алюминия, целлюлозы, це-  
лита, поровины <sup>x)</sup>) варьируя неподвижные и подвижные фазы и подготовку исследуемых смесей (предварительно со-  
четая их с диазотированной сульфаниловой кислотой (ДСК)  
или проводя разделение фенолов без сочетания с ДСК).  
Варианты примененных в работе подвижных и неподвижных фаз, а также способов подготовки фенолов к разделению приведены в табл. I.

При отборе элюаты проверяли на наличие фенолов с помощью качественной реакции с 2,6-дихлорхинонхлоридом, после чего их концентрировали, выпаривая растворитель, оценивали по запаху и хроматографировали на бумаге. Бумагу пропитывали углекислым натрием; растворителем служил метилэтилкетон - вода; фенолы предвари-

<sup>x)</sup>Адсорбент "поровина" производства ЧССР (любезно представлен для экспериментов институтом мясной промышленности в г.Брюно) готовят на основе белых глин.

тельно сочетали с ДСК.

### Результаты и их обсуждение

Оценка примененных в работе способов разделения сложных смесей фенолов дана в табл. I.

Таблица I

#### Пригодность различных способов разделения фенолов на хроматографических колонках

Адсорбент	Растворитель	Фенолы	Результат
Окись алюминия пониженной активности	Бензол, серный эфир, ацетон	В виде уксусных эфиров	Неудовлетворительный
Поровина, обработанная содой	Метилэтилкетон - вода	Производные ДСК	Неудовлетворительный
Поровина, обработанная диметилформамидом (ДМФА)	Циклогексан, насыщенный ДМФА, этилацетат	Без сочётания	Удовлетворительный
То же	Циклогексан-бутанол	То же	Удовлетворительный
Поровина, обработанная кислотой (соляной)	Циклогексан-бутанол	"-	Неудовлетворительный
Окисленная целлюлоза, обработанная содой	Метилэтилкетон - вода	Производные ДСК	Неудовлетворительный
Целлюлоза, обработанная ДМФА	Циклогексан ДМФА - этилацетат	Без сочётания	Удовлетворительный
Целлюлоза, обработанная содой	Метилэтилкетон	Производные ДСК	Удовлетворительный

Целит, пропи- танный соляной кислотой	Циклогексан, насыщенный смесью вода- бутанол	Без соче- тания	Неудовлет- ворительный
---	---	--------------------	---------------------------

Из данных таблицы видно, что применение целита (диатомовой земли), пропитанного соляной кислотой, по-видимому, более пригодно для разделения таких специфических объектов, как отходящие производственные воды, содержащие в основном одноатомные фенолы и вещества типа гидрохинона, пирокатехина и его производных /13,14/. Что же касается сложных смесей фенолов дыма, включающих разнообразные одно-, двух-, трехатомные фенолы, то использование колонок с целитом, пропитанным соляной кислотой, не дает удовлетворительного результата.

Наилучшие результаты по сравнению с другими опробованными способами были получены на колонках, наполненных поровиной либо целлюлозой; при этом лучшее разделение смеси фенолов на отдельные фракции после сочетания с ДСК наблюдалось на целлюлозном порошке, обработанном содой. Отметим, однако, что четкого отделения индивидуальных фенолов (производных ДСК) на колонке с целлюлозой, подобно тому как этого можно достичь методами бумажной хроматографии, добиться не удалось (элюаты содержали по два, три и больше компонентов). Все же и при таком разделении можно получить более четкое разделение сложной смеси фенолов путем дополнительного хроматографирования получаемых элюатов на бумаге.

Предпочтение в работе было отдано колонкам с поровиной, пропитанной диметилформамидом, поскольку данный способ позволял разделять фенолы на узкие фракции в чистом виде (без предварительного сочетания с ДСК), что в свою очередь давало возможность охарактеризовать их ароматические свойства.

Действительно, получаемые на колонке с поровиной элюаты, как это следует из табл. 2, содержат вещества, обладающие различными оттенками запахов.

Таблица 2

Характеристика элюатов фенольных фракций  
букового дыма

нр элю- тов	Реакция на Фенолы	Кол-во пятен на <u>хроматограммах</u>			Запах
		с ДСК	в ультрафио- летовых лучах	4	
I	2	3	4	5	
I-4	-	-	-		Нейтральных масел
5	+	2	-		Химический, нейт- ральных масел
6	+	7	-		С оттенком запаха Гвоздики
7	+	9	-		Смешанный запах элюатов 5 и 6
8	++	6	-		Гвоздики
9	++	6	I фиолетовое		Несколько слабее элюата 8
10	++	3	--	v	То же

I	2	3	4	5
II	++	3	I голубое	Сладковатый, цветочный оттенок
I2	++	2	--"	То же
I3	++	I	--"	--"
I4-I9	+	2	--"	С ванильным оттенком
20	-	2	-	Слабый ванильный
21-23	+	2	I фиолетовое	Очень слабый ванильный
24-26	±	3	2 фиолетовых	Слабый пряный
27-29	±	5	I светлое	Неопределенный, слегка кисловатый
30-32	+	5	2 светлых	Неопределенный, слегка кисловатый
33-36	+	3	2 слабо светлых	Пряный оттенок, приятный
37-38	+	2	-	Слабый, неопределенный
39-44	±	2	2 светлых	Неприятный, нейтральных масел
45-52	+	3	-	То же
53-56	+	4	-	Приятный, с прямым оттенком
57-60	+	4	-	С оттенком нейтральных масел
61-65	±	4	-	Более резкий, чем элюят 57-60
66-74	+	4	-	Детя

Примечания: I. ++ резко положительная реакция; + отчетливая реакция; ± слабая; - отрицательная реакция.

2. Длина заполненной части колонки - 30 см, диаметр - 10 мм, адсорбент поровина обработан диаметилформамидом, подвижная фаза - циклогексан, насыщенный диметилформамидом. По мере элюирования фенолов

циклогексан разбавляли этилацетатом, доводя количество последнего к концу разделения до 100%. Поровину перед пропитыванием диметилформамидом измельчали, просеивали через сито 0,25 мм, обрабатывали концентрированной соляной кислотой, отмывали горячей водой, затем спиртом и высушивали при 130°C 6-8 час.

Представляет интерес также то обстоятельство, что начальные и конечные элюаты, не дававшие положительной реакции на фенолы, имели оттенки запахов, свойственные нейтральным маслам. Это говорит о возможности использования такого рода колонок для дополнительной очистки фенольных фракций от неизменно сопутствующих примесей.

Хотя разделения смеси фенолов на отдельные компоненты с помощью сравнительно коротких хроматографических колонок достичь не удалось, различные элюаты включают вещества, отличающиеся как по наличию индивидуальных соединений, так и по ароматическим свойствам.

Так в аэлюатах 6-8 сосредоточиваются вещества типа гваянола, метилгваянола, эвгенола и некоторые другие соединения, окрашивающиеся под воздействием ДСК в розоватый цвет (рис.2). В элюатах 9-10 преобладают гваянол и фенол, в элюатах 12-16 - диметиловые эфиры пирогаллола (ДМЭП) и его гомологов. В последующих элюатах вновь появляются вещества, дающие с ДСК красные пятна ("К"), с малым значением коэффициента распределения, близким к таковым же для ДМЭП (элюаты 26-52), а также неидентифицированные вещества (на хроматограммах пятна "Л" и "М" лимонно-желтого

цвета с большим коэффициентом распределения). Однако хроматографирование элюатов на бумаге, обработанной ДМФА (рис.2а), показало, что вещества типа дМЭП в указанных элюатах отсутствуют (красноватые пятна "К" находятся на стартовой линии хроматограмм или вблизи от нее). На основании полученных данных и по другим признакам можно предполагать, что эти вещества относятся к типу монометиловых эфиров пирогаллола и его гомологов. В элюатах содержится различное количество фенолов и флюоресцирующих веществ (см.табл.2), причем в большинстве случаев имеет место параллелизм между положительной оценкой аромата элюата и наличием в нем веществ, флюоресцирующих в УФ-лучах, хотя в элюатах 6-8, обладающих гвоздичным запахом, флюоресцирующие вещества не обнаружены. Интересно, что элюаты 53-56, 57-60, 61-74, в которых отсутствуют флюоресцирующие вещества, а количество пятен и Rf одинаковы, имеют разные оттенки запаха, начиная с пряного и кончая неприятным - дегтя. Это свидетельствует о том, что воспринимаемый запах элюатов зависит от соотношения в них отдельных компонентов. Даные, подтверждающие эту мысль, которую еще ранее высказывал д.Тильгнер /15/, получены также Вассерманом и др. /6/.

Небезынтересно, однако отметить, что компоненты элюатов, полученные в результате разделения фенолов, извлеченных из моделей и из осадителя (рис.3), отличаются

друг от друга. Это указывает на то, что различные фенольные компоненты дыма с различной легкостью проникают через колбасную оболочку моделей, в результате чего их соотношение изменяется по сравнению с составом фенолов в дыме (или конденсате).

Интересные данные по этому вопросу, подтверждающие результаты работы, а также уточняющие факторы, от которых зависят количественные стороны этого явления, получены другими авторами /II, I2/.

По составу фенолы в элюатах распределяются в следующем порядке. В элюатах 5-9 обнаружены фенол, крезолы, метил- и этилгвайаколы, гвайкол. В последующих элюатах содержание метил- и этилгвайаколов, мета- и орто-крезолов и двух неидентифицированных соединений "г" и "д", дающих розовое окрашивание с ДСК, резко уменьшается, тогда как количество диметиловых эфиров пирогаллола и его гомологов возрастает (элюаты 9-13), причем элюат 13 содержит только эфир пирогаллола. В более поздних элюатах (21 и далее) обнаружены пирокатехин и гомологи, дающие с ДСК характерные серовато-зеленые пятна.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности данного способа разделения сложной смеси фенолов в отношении его дальнейшей отработки и улучшения.

Новый вид наполнителя колонки (порошок из поровины с частицами определенных размеров, пропитанных диметилформамидом) позволяет получать из сложной смеси фенолов

фракции фенолов со сравнительно небольшим количеством компонентов, отличающихся разными органолептическими и прочими свойствами. В сочетании с другими способами хроматографирования и исследования фенолов применение указанного способа разделения сложной смеси фенолов на колонке может принести ряд новых сведений о химической природе этой важной в копчении группы веществ.

Интересным обстоятельством является тот факт, что приятные и неприятные оттенки запаха, которыми обладают фенолы в последовательных элюатах, чередуются. Это указывает, во-первых, на наличие различных фенольных компонентов, характеризующихся сходными ароматическими свойствами. Кроме того, из этого следует, что как приятные, так и неприятные оттенки запаха исходной смеси являются результатом воздействия на органы восприятия не одного — двух каких-либо отдельных компонентов, а суммарного воздействия многих веществ, дополняющих и усиливающих друг друга.

Весьма важным подтверждением этого положения является также то, что ни один из элюатов, содержащий от одного-двух до 3-9 фенольных компонентов не мог быть охарактеризован оттенком запаха, похожим или приближающимся к аромату копчения или аромату, присущему суммарной фракции фенолов дыма. В то же время, после объединения всех полученных элюатов вместе и удаления растворителя образующаяся смесь веществ вновь обретала характерный пряный аромат.

Необходимо отметить еще присутствие в суммарной фенольной фракции веществ, не дающих сочетания с ДСК, которые могут быть обнаружены на хроматограммах с помощью ультрафиолетовых лучей. Некоторые из них, как это было установлено ранее /7/, обладают ванильным запахом и наряду с веществами кетоэнзальной природы /I/, по всей вероятности, также участвуют в образовании специфического пряного аромата всей фенольной фракции.

### ВЫВОДЫ

1. Разделение на хроматографических колонках с порошкой, обработанной диметилформамидом, разбавленным по мере отбора элюатов этилацетатом, является перспективным для разделения сложной смеси фенолов дыма.

2. Специфический пряный аромат, придаваемый копченому продукту фенольными компонентами, обусловливается совокупным воздействием на органы чувств целого ряда соединений, содержащихся в фенольной фракции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kurko W.I. "Chemiczne i fizyko-chemiczne podstawy procesu wedzenia", Warszawa, 1963.
2. Miller K., Kozlowski Z., Matuszczan E., "Roczn. Inst. Przem. Miesn.", 2, 1, 129, 1965.
3. Kurko W.I. "Gioniku sausage" (Japan, 9, 34-41, 1965).
4. Pokorný I., Klein S., Blomannova M., "Potravin Technol." Sb vysoké skoly chem.technol. Praze, 1, 1, 91, 1963.
5. Tilgner D.I., Miller K., Prominski I., Darnowska O. "Technol. mesa", Spec.Ed., 37-39, 1962.
6. Wassermann A.E. "J. Food Sci.", 6, 31, 1005, 1966.
7. Курко В.И., Кельман Л.Ф. "Труды ВНИИМПа", 20, 1967, 77-84.
8. Курко В.И., Кельман Л.Ф. "Труды ВНИИМПа", I4, 1962, 36-47.
9. Daun H., Przemysl spozywczy, 20, 7, 58-60, 1966.
10. Курко В.И., Кельман Л.Ф. "Труды ВНИИМПа", II, 1962, I06-II8.
- II. Rusz I., Klein S., "Potrav.technol.", 1, 1, 81, 1963.
12. Simon S., Rypinski A.A., Tauber F.W. "Food Technol.", 20, 11, 11, 1966.

I3. Barber L., Hollingsworth V.W. Gas  
Couns. Res. Commun., 52, 1958.

I4. Шима И., Применение хроматографических методов в аналитике фенольных вод. Сб.докладов Конференции по фенольным сточным водам, Москва-Прага, 1960.

I5. Тильгнер Д.И. О копчении продуктов методом погружения. "Мясная индустрия СССР", 6, 1959, 51-55.

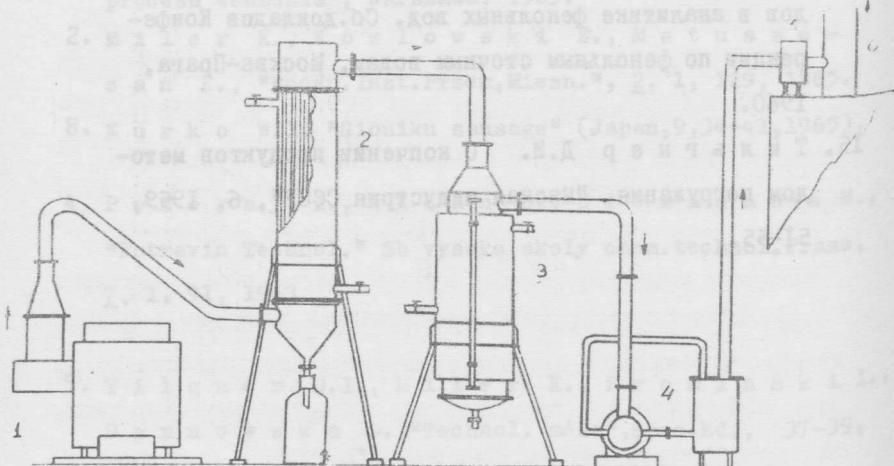


Рис. I - Установка для получения конденсата дыма:  
1 - дымогенератор; 2 - вентилятор; 3 - осадитель;  
4 - вакуум-насос; 5 - вентилятор Сирокко; 6 - вых-  
лоп неконденсирующих газов.

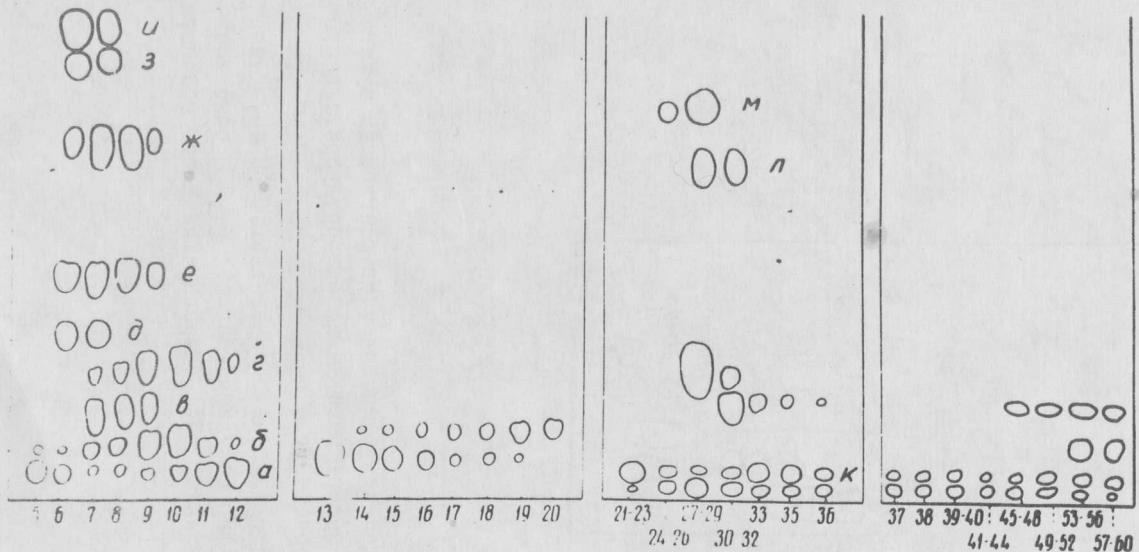


Рис. 2 - Хроматограммы элюятов фенолов:  
 а - ДМЭП - диметиловые эфиры пирогаллола и его гомологов; б - гвяжол;  
 г - карболовая кислота; е - мета- и орто-крезолы; ж - метилгвяжол; и - этил-  
 гвяжол; в, д, з - неидентифицированные соединения, дающие с ДСК розоватое  
 окрашивание, к - красное; л, м - лимонное.

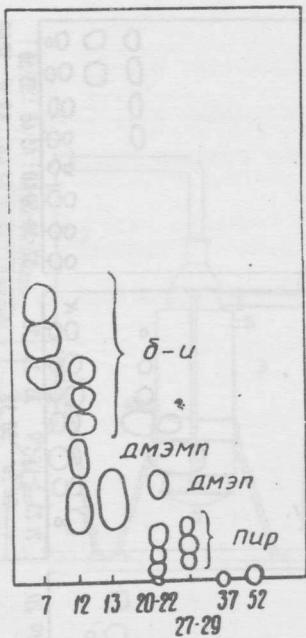


Рис. 2а - Хроматограммы элюатов фенолов на бумаге, обработанной ДМФА, без предварительного сочетания с ДСК:

дМЭП – диметиловый эфир пирогаллола; дМЭМП – диметиловый эфир метилпирогаллола; б, и – одноатомные фенолы, гваяхолы; пир – пирокатехин и его гомологи.

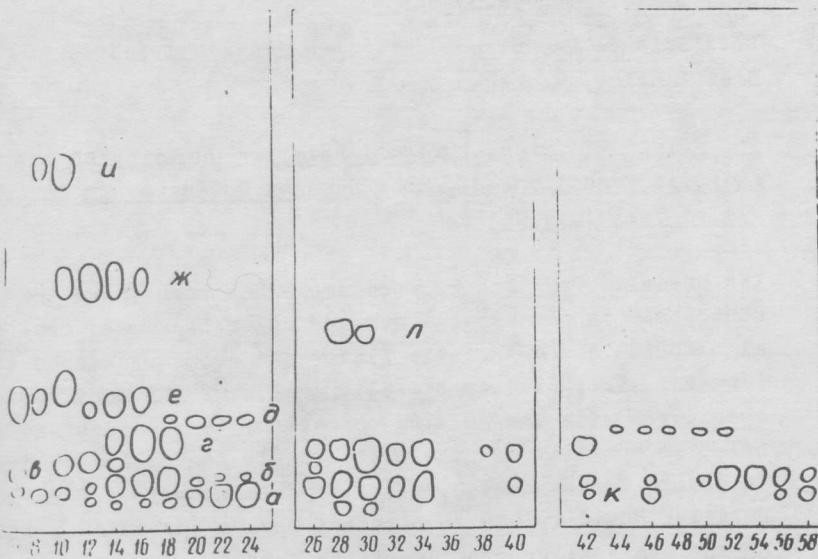


Рис. 3 - Хроматограммы фенолов конденсата дыма, содержащихся в элюатах при разделении на колонке с порошковиной, пропитанной ДМФА (способ хроматографирования и условные обозначения такие же, как на рис. 2)