

TÈCNiques D'EXTRACCIÓ DELS COMPONENTS VOLÀTILS DELS ALIMENTS

JOSEP M^a GUADAYOL, TERESA BAQUERÓ
UPC. Departament d'Enginyeria Química.
EUETIT. Colom, 1. 08022 Terrassa

Si en el número anterior hem parlat del components orgànics volàtils (VOC) com a substàncies que aporten característiques determinades als aliments, en aquest treball volem indicar quines són algunes de les tècniques emprades per aconseguir separar aquest VOC de la matriu que els conté, que pot ser sòlida o bé líquida (en moltes ocasions, l'estat físic no és fàcil de definir). Es tracta, molt sovint, de variacions sobre tècniques de laboratori analític que permeten els objectius indicats abans, a les quals s'afegeix una mica d'imaginació. No hem d'oblidar que el contingut d'aquests components és molt petit en la majoria de casos i que l'objectiu final és arribar a introduir aquests VOC en un sistema cromatogràfic equipat amb un detector d'espectrometria de masses que ens permeti determinar-los i quantificar-los. No es pretén fer un treball exhaustiu de les tècniques més emprades, sinó només donar una visió general que permeti situar al lector dins d'aquest àmbit.

INTRODUCCIÓ

Si considerem les característiques que presenten els components responsables del flavor —sensació molt complexa composta primàriament d'olor i gust i completada per sensacions tàctils i quinesèsiques— de certes substàncies, destaquen, fonamentalment, les següents: la volatilitat, la solubilitat en una gran majoria de dissolvents orgànics i la baixa o nul·la solubilitat en aigua. Els mètodes que permeten conèixer els responsables del flavor es basen en alguna de les característiques anteriors o en una combinació de més d'una d'elles.

La principal dificultat, com ja sabem, és la petita quantitat de volàtils presents als aliments. Com a exemple, la taula 1 presenta dades relatives a la concentració dels components que intervenen en l'aroma de de-

terminats aliments. Quan les quantitats són iguals o inferiors a 1 ppb, s'han de tractar gran quantitats d'aliment per tal d'obtenir la quantitat suficient per a la seva anàlisi.

TAULA 1
Concentració dels VOC en alguns aliments

Producte	Concentració (ppm)
Banana	més de 15
Maduixa	entre 2 i 10
Raïm	més de 100
Tomàquet	entre 3 i 5
Cacao	més de 100
Carn de vaca	més de 30
Pa	entre 8 i 10

La majoria de les tècniques de separació es basen en les següents característiques fisicoquímiques dels components volàtils orgànics: volatilitat elevada, solubilitat en una gran majoria de dissolvents orgànics i baixa o nul·la solubilitat en aigua.

El flavor dels aliments conté entre 25 i 300 (o més) compostos volàtils diferents, amb un ampli interval de punts d'ebullició. Com que molts VOC són sensibles a la calor i reaccionen fàcilment, cal prendre precaucions per aïllar-los i concentrar-los. A més, la matriu que conté els VOC conté compostos que poden generar nous volàtils, situació que s'ha d'evitar, ja que podria conduir a conclusions errònies. Això també és vàlid

per als contaminants introduïts durant l'anàlisi, els continguts als dissolvents, etc.

Un punt que sempre hem de tenir en compte és que, segons la tècnica aplicada, la naturalesa i la quantitat de components volàtils obtinguts pot variar; és per això que en qualsevol estudi de la composició dels VOC d'un aliment hem de tenir sempre present el sistema emprat per obtenir-los.

Selecció i tractament previ de les mostres

Moltes vegades, s'ha de sotmetre el producte que es vol analitzar a un tractament anterior a l'aïllament dels VOC de la matriu

no volàtil. Aquest tractament previ pot consistir en una o varies operacions com la centrifugació, la filtració, l'expressió, etc. En totes aquestes operacions és important evitar la formació d'artefactes (per reaccions químiques o bioquímiques).

S'ha de ser molt acurat amb qualsevol dels sistemes emprats per manipular les mostres, ja que la introducció de contaminants es pot

produir amb molta facilitat. En qualsevol cas, és convenient realitzar blancs que permetin conèixer si s'introdueixen contaminants procedents dels dissolvents, antiescumants, etc.

Segons la tècnica aplicada per a l'extracció, la naturalesa i la quantitat de components volàtils obtinguts pot variar; és per això que sempre s'ha d'indicar el mètode emprat.

Aïllament de volàtils

Els volàtils presents a la fase vapor que emana d'un aliment són els responsables de l'olor que es percep; raó per la qual la investigació es realitza, preferentment, analitzant aquesta fase vapor, encara que de vegades aquesta fase no conté suficient material per a l'anàlisi. Per a molts compostos, el nas humà és més sensible que el millor detector analític disponible actualment; per tant, és preferible aïllar els productes volàtils del mateix aliment en lloc d'aïllar-los de la fase vapor. Cal assenyalar que les concentracions relatives dels VOC a la fase vapor no són les mateixes que a l'aliment.

Fonamentalment, hi ha dues classes de mètodes per aïllar els VOC directament dels productes alimentaris: el primer, es basa en la volatilitat dels VOC i inclou diverses tècniques de destil·lació, desplaçament de l'equilibri, etc. per separar la fracció volàtil de l'aliment; el segon, es basa en un coeficient de distribució favorable dels VOC entre un extractant i l'aliment.

Selecció del mètode de separació

L'elecció d'un mètode de separació determinat (5) pot basar-se en els criteris següents:

- Volatilitats i punts d'ebullició dels VOC (molt important si s'usa un dissolvent, ja que convé molta diferència entre els punts d'ebullició dels VOC i del dissolvent quan es procedeix a la concentració).
- Polaritat dels VOC per tal d'escollir un dissolvent determinat.
- Estabilitat dels VOC a temperatures elevades. Cal aplicar temperatures baixes si hi ha VOC termolàbils.
- Concentració dels VOC a l'aliment i quantitat que se'n necessita.

S'ha de ser molt acurat amb qualsevol dels sistemes emprats per manipular les mostres, ja que la introducció dels contaminants es pot produir amb molta facilitat.

Sovint s'usa més d'un mètode per a l'aïllament dels VOC d'un aliment, i la comparació entre els mètodes emprats permet comprovar-ne la diferència de comportament.

- e) Anàlisi quantitatiu o qualitatiu (o ambdues).
- f) Distribució dels VOC al producte.
- g) Estat físic de l'aliment —que dividim en tres grups: sòlid, líquid o aquós i greixos o olis, encara que ja s'ha dit que no sempre les fronteres són prou definides— i composició global.

Sovint s'usa més d'un mètode per a l'aïllament dels VOC d'un aliment, i la comparació entre els mètodes emprats en permet comprovar la diferència de comportament.

MÈTODES DE SEPARACIÓ DE VOLÀTILS

Destil·lació

En els mètodes de destil·lació se separen els components volàtils de l'aliment dels no volàtils. Aquest fet presenta l'avantatge, respecte a l'extracció, d'assegurar que no hi haurà cap component no volàtil que interfereixi en l'anàlisi per cromatografia de gasos.

Destil·lació per arrossegament de vapor

La destil·lació amb vapor d'aigua es pot realitzar a pressió atmosfèrica o a pressió reduïda; en aquest últim cas, la quantitat de components de punt d'ebullició elevat disminueix i la formació d'artefactes es minimitza ja que no es sotmet la mostra a temperatures tan altes.

Aquest sistema de destil·lació amb vapor a pressió atmosfèrica serveix freqüentment

per obtenir olis essencials de plantes i espècies, i també de greixos i olis.

Destil·lació a pressió reduïda

Disminueix molt la temperatura de treball, amb la qual cosa la mostra s'altera el menys possible. La pèrdua de volàtils s'evita

amb trampes criogèniques col·locades adequadament, tot i que calen sistemes de refrigeració molt més potents.

Extracció

Les extraccions es duen a terme amb dissolvents de baix punt d'ebullició, per poder eliminar-los mitjançant la destil·lació, encara que si els VOC interessants són de punt d'ebullició molt baix necessiten dissolvents amb punts d'ebullició molt baixos, com el clorur d'etil, el pentà, etc.

Extracció directa

És una tècnica molt simple que consisteix en la separació de la fracció aromàtica de l'aliment amb un dissolvent adequat. Pot realitzar-se de forma manual o amb extractors líquid-líquid. Una dificultat és la possibilitat de formació d'emulsions entre el dissolvent i l'aliment.

El dissolvent utilitzat ha de ser el més selectiu possible i tenir un poder d'extracció elevat per obtenir la major quantitat possible de components de l'aroma.

Destil·lació-extracció simultànies (SDE)

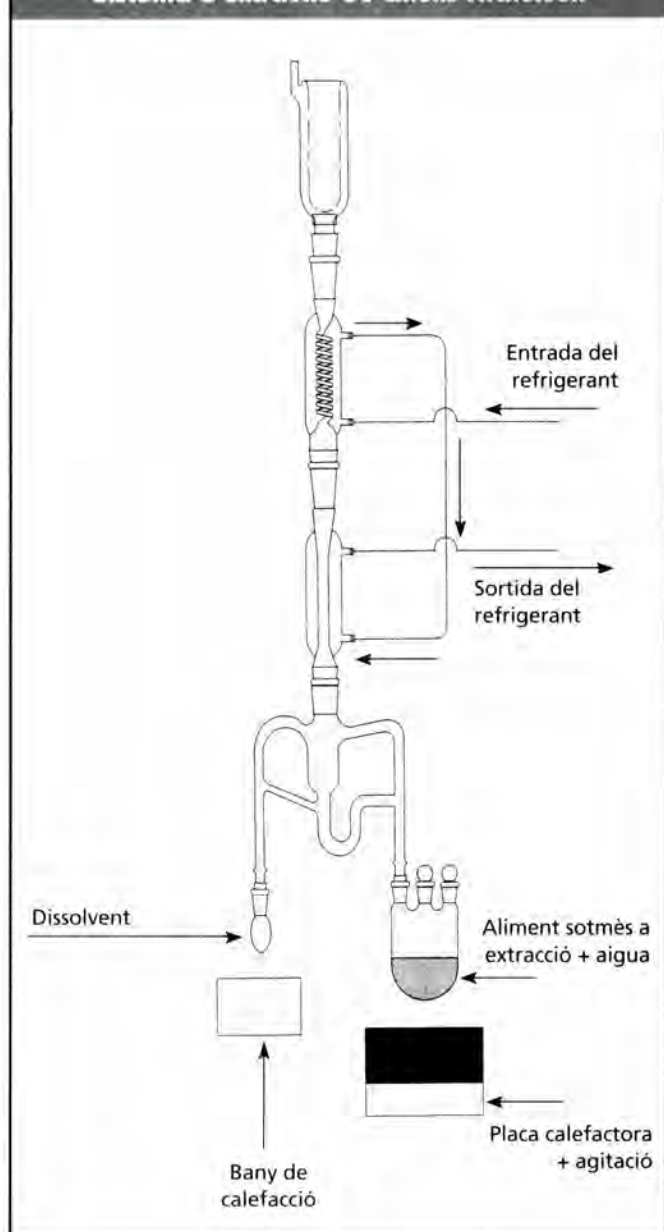
Freqüentment s'usa l'aparell dissenyat fa més de trenta anys per Likens i Nickerson (4 i 6) (figura 1) per a la separació de volàtils alimentaris. En un matràs es col·loca la mostra amb una quantitat molt superior d'aigua i en un altre, de capacitat molt més reduïda, el dissolvent extractor, que acostuma a ser un dissolvent orgànic polar o no polar però amb un punt d'ebullició baix (pentà, hexà, diclorometà...). Els dos recipients s'escalfen de forma independent i a temperatures diferents, condensat a la part central de l'aparell, secció en forma d'U, i formant dues fases immiscibles: una orgànica i una altra inorgànica. La destil·lació del vapor d'aigua arrossega els components volàtils de la mostra, que en condensar són dissolts per la fase orgànica. El disseny del sistema per-

El mètode de destil·lació amb arrossegament de vapor permet extreure els olis essencials de les plantes amb facilitat i rapidesa.

El mètode de destil·lació extracció simultànies aprofita els avantatges de la destil·lació i de l'extracció, i evita l'extracció de components poc volàtils.

met que l'aigua i el dissolvent retornin al matràs corresponent; d'aquesta manera, els volàtils es concentren en el dissolvent orgànic. Aquest disseny serà, per tant, lleugerament diferent segons es treballi amb dissolvents més o menys densos que l'aigua.

FIGURA 1
Sistema d'extracció de Likens-Nickerson



L'aparell de Likens-Nickerson treballa generalment a pressió atmosfèrica. Això implica que la mostra arriba a temperatures elevades i per tant que es poden formar artefactes; per aquest motiu cal descartar en alguns casos aquesta tècnica, que obté resultats molt bons en una gran majoria de situacions.

Extracció supercrítica

Es tracta d'una tècnica relativament recent (3 i 8) que experimenta noves aplicacions a l'extracció dels VOC de certs aliments. Aprofita les propietats que presenta el diòxid de carboni en el domini supercrític ($P_c > 73,8$ bar i $T_c > 31,3$ °C): viscositat comparable a la d'un gas, coeficient de difusió intermedi entre el gas i el líquid, massa volumètrica en funció de la pressió, pel que està més pròxima a la d'un líquid si la pressió és elevada, polaritat propera a la del pentà, però, en augmentar la pressió, pot arribar a semblar-se a la del clorur de metilè.

El principi de l'extracció és molt senzill: el gas pot comprimir-se fins a una densitat propera a la d'un líquid en condicions supercrítiques, el fluid que s'obté posseeix les propietats físiques del seu estat gasós i les propietats químiques del seu estat líquid. El poder dissolvent d'un fluid supercrític es pot augmentar si s'augmenta la seva relació massa/volum. Es comprimeix i s'escalfa a una pressió i temperatura que es trien en funció del tipus d'extracció que es desitja dur a terme. A continuació, travessa el recipient que conté la substància que es vol extreure. Si se'l duu a una pressió inferior a la crítica perd les seves propietats com a dissolvent, cosa que permet recuperar el solut.

L'extracció supercrítica aprofita les propietats que presenta el diòxid de carboni en el domini supercrític.

Per a l'extracció de substàncies volàtils no són necessàries grans pressions. S'ha comprovat que 60 bar i 40 °C són suficients per a l'obtenció d'un producte comparable a un oli essencial; si s'arriba a 300 bar s'obté un producte comparable a una oleoresina.

Es pot millorar la polaritat del diòxid de carboni si se li afegeix un dissolvent polar (etanol o aigua) que millori el rendiment de l'extracció de compostos polars, sense haver d'augmentar la pressió de forma excessiva.

Altres mètodes de separació

Volem esmentar aquí altres mètodes de separació de VOC no classificables dins els apartats anteriors, sense que això vulgui significar que se n'hagi fet una recopilació exhaustiva, com ja hem dit abans.

Headspace estàtic

Consisteix a col·locar una mostra de l'aliment del qual es volen obtenir els components volàtils a l'interior d'un vial que es tanca hermèticament i es manté en unes condicions de temperatura determinades prèviament (2); quan s'arriba a l'equilibri, s'extreu una mostra del vapor que es troba per sobre de l'aliment i se n'analitzen els components. Es pot considerar el mètode més senzill i ràpid d'obtenir una mostra amb un cert contingut de volàtils. En aquest mètode es poden analitzar solucions líquides, sòlids homogenis i materials no homogenis. Tot i que la mostra és molt representativa dels seus components, aquest hi són en quantitats molt petites. Els factors que influeixen en la composició quantitativa dels VOC a l'espai de cap són els següents: la pressió de vapor del component en qüestió, el medi en què es troba el component volàtil i la seva solubilitat, i la presència de sals o de sucres en el medi en què es troben els volàtils.

Es tracta d'una tècnica amb molts avantatges, entre els quals es poden enumerar els següents: no hi ha introducció de substàncies estranyes que puguin ser aportades pels dissolvents ni per impureses d'ells, es redueixen al màxim els problemes produïts per reaccions químiques o enzimàtiques i s'elimina la possible pèrdua de components amb volatilitats molt altes.

Microextracció en fase sòlida (SPME)

Aquesta és una tècnica de desenvolupament molt recent, que consisteix a adsorbir directament els components volàtils que emanen de la mostra sobre una fibra de sílice fosa recoberta per una fase estacionària adient. Quan s'insereix al recipient de la mostra i per sobre d'ella, hi ha una partició dels components volàtils sobre la fase estacionària. A continuació, s'injecta en un sistema cromatogràfic on es produeix la desorció dels analits. Globalment presenta molts avantatges, com ara una gran facilitat de manipulació, el cost reduït i que no hi ha consum

de dissolvent, cosa que elimina els problemes que comporta la seva utilització.

Headspace dinàmic

En essència consisteix en l'acció d'un gas inert, amb flux controlat, que arrossega els VOC de la mostra (1, 2 i 7) mantinguda a una temperatura determinada, fins a una trampa (de material adsorbent o criogènic) que els reté, seguida d'una desorció dels mateixos, per passar a continuació a l'anàlisi cromatogràfica.

Es diferencien dos tipus de *headspace* dinàmic:

- Headspace* dinàmic pròpiament dit. Consisteix a arrossegar els VOC que emana la mostra, que està agitada mecànicament i a una temperatura constant, mitjançant la circulació de gas inert (normalment nitrogen) sobre la seva superfície.
- Purge and trap*. El gas s'introdueix en el si de la mostra, agitada i a temperatura constant, i arrossega els VOC des de l'interior de la matriu que els conté.

Hi ha diferents factors que afecten el procés, tals com el diàmetre i la longitud de les trampes, el tipus d'adsorbent, la grandària de partícula i la superfície específica que té, la forma i la grandària del recipient utilitzat per a l'operació, la concentració inicial i l'estructura química dels analits en la mostra. No obstant, les tres variables fonamentals que controlen el procés són: la temperatura a la qual es sotmet la mostra, el temps d'extracció fins que es considera acabada l'operació i el flux del gas que realitza l'arrossegament.

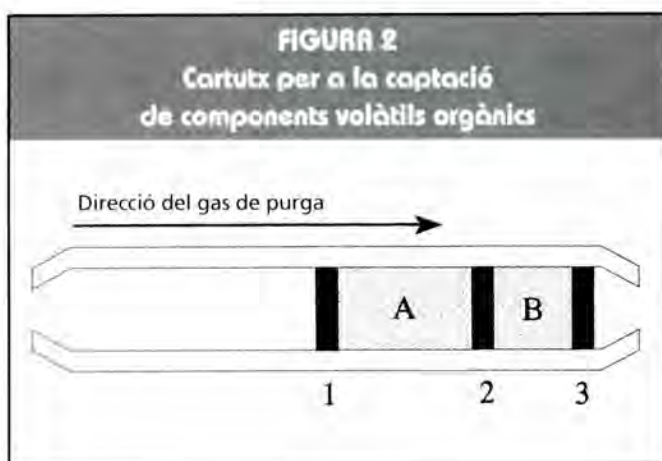
Les dues últimes variables es fixen prèviament; cal tenir en compte que valors massa petits poden generar un arrossegament defectuós, mentre que valors massa elevats originen una pèrdua de VOC.

La temperatura ve condicionada pel tipus de compostos que es vol analitzar, ja que si es treballa a temperatures considerades baixes (60-70 °C) els VOC obtinguts corresponen als realment presents a la mostra en el moment de l'anàlisi, amb quantitats molt petites, cosa que fa que l'anàlisi sigui molt delicada. Si s'usen temperatures més elevades, aproximadament fins a 160 °C, poden aparèixer compostos volàtils procedents de la degradació tèrmica d'alguns precursors; en aquest cas, les quantitats recuperades són

La tècnica SPME és una tècnica de desenvolupament molt recent que presenta molts avantatges, com ara una gran facilitat de manipulació, un cost reduït i que no hi ha consum de dissolvent.

més importants i l'anàlisi es pot dur a terme amb més facilitat.

Les trampes adsorbents estan formades per un tub de vidre ple de material adsorbent (figura 2); d'aquesta manera, en passar gas inert a través de la trampa, els VOC queden retinguts. S'han usat molts materials per aconseguir atrapar els compostos volàtils, des de carbó fins a materials polimèrics que presenten gran porositat (Tenax, Porapak, Chromosorb, etc.). S'utilitzen uns o altres en funció de la concentració d'analits en la mostra i de la selectivitat que presenta cada material.



Per recuperar els VOC cal efectuar la desorció mitjançant dissolvents o tèrmicament. En ambdós casos hi ha problemes de recuperació, en el primer perquè pot ser que la desorció no sigui completa o, si els vol desplaçar completament l'equilibri, que els VOC quedin molt diluïts, i en el segon, perquè la temperatura pot ser perjudicial per a certs compostos.

DADES DE RECUPERACIÓ

No volem acabar sense indicar que l'anàlisi quantitativa implica un coneixement de la recuperació dels components volàtils, ja que canvia per a substàncies diferents; per això s'addicionen a l'aliment quantitats dels compostos volàtils objecte d'estudi; tot i que cal

Les dades de recuperació són fonamentals per fer un estudi quantitatiu acurat.

dir que d'aquesta manera es cometen errors, perquè els VOC afegits no es localitzen als mateixos llocs que ocupen de forma natural.

D'altra banda, s'ha de tenir en compte que les dades de recuperació per a un aliment poden no ser vàlides per a un altre producte, fins i tot de la mateixa família, de composició diferent.

BIBLIOGRAFIA

- COLE, A.; WOOLFEWENDEN, E. «Gas Extraction Techniques for Sample Preparation in Gas Chromatography». *LC-GC Int.* 3 (1992) p. 8-15.
- GUADAYOL, J.M.; BAQUERÓ, T.; CAIXACH, J. «Aplicación de las técnicas de espacio de cabeza a la extracción de los compuestos orgánicos volátiles de la oleoresina de pimentón». *Grasas y aceites* 48 (1997) p. 1-5.
- GUINAMANT, J.L. «L'extraction en phase supercritique (SFE)». *Analisis Magazine* 20 (1992) M36-M38.
- LIKENS, S.T.; NICKERSON, G.B. «Detection of Certain Hop Oil Constituents in Brewing Products». *Am. Soc. Brew. Chem. Prod.* (1964) p. 5-13.
- MAARSE, H.; VISSCHER, C.A., Eds. *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Països Baixos: TNO-CIVO Food Analysis Institute, Zeist, 1991.
- NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. «Gas Chromatographic Evidence for the Occurrence of Hop Oil Components in Beer». *Journal of Chromatography* 21 (1966) p. 1-5.
- NÚÑEZ, A.J.; GONZÁLEZ, L.F.; JANAK, J. «Pre-concentration of Headspace Organic Analysis by Gas Chromatography». *J. Chromatographic Science* 300 (1984) p. 127-162.
- RICHARD, H.; LOO, A.; GIAMPAOLI, P. «L'extraction des plantes aromatiques per le dioxyde de carbone». *Analisis Magazine* 20 (1992) M39-M42.