

## PRÍNOS GC-OLFAKTOMETRIE V ANALÝZE PRÍRODNÝCH ARÓM BENEFITS OF GAS CHROMATOGRAPHY - OLFACTOMETRY IN THE ANALYSIS OF NATURAL AROMAS

*Jana Sádecká*

**Abstract:** Flavour is one of the most important sensory qualities of a food. Whilst the appearance and colour of a food provide the first indicator of quality, its flavour is critical in confirming or rejection that initial impression (**Cardello 1994**). The flavour of a food is determined by a complex mix of taste, aroma, chemical response and texture (**Meilgaard et al. 1999**). Generally, the aroma of a food consists of many compounds, but only a few of which are sensory relevant. The essential step in aroma analysis is the differentiation of the more significant odorants from volatiles having low or no aroma activity. It is evident that progress in methods of instrumental analysis, such as gas chromatography (GC), has led to long lists of volatiles. Unfortunately, the sensory relevance of these volatile compounds has not been as extensively evaluated, although the use of the human nose as a sensitive detector in GC was proposed as early as sixties (**Blank 2002**). In the meantime, much has been published on food aroma, often without identifying the impact compounds. Therefore, one of the major problems in aroma research is to select those compounds that significantly contribute to the overall aroma of a food. Odours and aromas are usually composed of hundreds of compounds carried in an air stream. Since there are an estimated 1000 olfactory receptor genes influencing an individual perception of odours, making it possible for the human nose to detect very low concentrations of some of these compounds (below 0.01 parts per billion) (**Baigrie 2003**). Identifying a flavour/off-flavour can be a particularly challenging process. It is obvious just method of GC in combination with olfactometric technique (GC-O) is a valuable method for the selection of key aroma-active components from a complex mixture. So, experiments based on human sniffing of GC effluents - described as GC-O, help to detect potent odorants of volatile fractions of food matrices. Experience shows that many key aroma compounds occur in foods at very low, trace concentrations well-below the detection limits of sensitive instrumental GC detectors such as FID (flame-ionisation detector) or MSD (mass-spectrometry detector). It is due to a very different sensitivity of the human nose, which is approximately 1000 times higher than a sensitivity of the instrumental detector FID. The sensory relevance of these aroma-active compounds is due to their very low odour thresholds, which can vary within the several orders. Thus, the peak profile obtained by GC does not necessarily reflect the aroma profile of the food. The aim of this contribution is to consider recent development in food aroma analysis from the chemist's point of view.

**Keywords:** gas chromatography, olfactometry, sensory analysis, natural aroma

### ÚVOD

Prchavé senzoricke aktívne, teda chuťové a vonné látky predstavujú jeden z dominantných faktorov ovplyvňujúcich akceptovanie potraviny spotrebiteľom. Nutričná hodnota a aróma (chuť a vôňa) potravín sa tak často stávajú dvomi protichýbajúcimi stranami jednej mince: akokoľvek výživovo hodnotnú poživatinu, ale bez patričnej organoleptickej kvality, človek spravidla odmieta. Záujem seriózneho trhu s potravinami sa dnes čoraz viac presúva na produkciu vyššej kvalitatívnej úrovne: predovšetkým s minimálnym obsahom

cudzorodých látok, vysokou nutričnou hodnotou a výbornými organoleptickými vlastnosťami potravinárskych produktov. Vonné a chuťové látky, o ktorých hovoríme ako o prírodných, vznikajú dvomi rôznymi spôsobmi. Vytvárajú sa v živom prírodnom materiáli, napr. v rastlinách počas vegetácie. Mnoho aromatických látok sa však generuje až v priebehu ďalšieho spracovania prírodného materiálu. Tvorja sa pri degradácii vysokomolekulárnych látok typu bielkovín, sacharidov a lipidov a pri rôznych technologických procesoch vplyvom enzýmov, termického spracovania a pod. (Vonášek 1987). Počas uvedených procesov sa tvoria stovky rozličných organických zlúčenín v širokom koncentračnom zastúpení od mg až po pg/kg potraviny, pričom dosiaľ ich bolo v potravinách identifikovaných takmer 7000. Veľmi často majú pre arómu potravín rozhodujúci príspevok práve látky s najnižším koncentračným zastúpením. Identifikáciu aróma-aktívnych látok, t.j. látok určujúcich charakteristickú arómu jednotlivých potravinárskych komodít, je venovaná vo svete významná pozornosť výskumu.

### TECHNIKA GC-O AKO BENEFIT PRE IDENTIFIKÁCIU ARÓMA-AKTÍVNYCH LÁTOK

Plynová chromatografia-Olfaktometria (GC-O) je referenčná metóda na zistenie sensoricky významných prchavých zložiek najmä v potravinách, ale aj v iných komoditách (parfémy), kde čuch môže ovplyvniť výber produktu. GC-O technika pomáha vybrať tie zložky extraktu, ktoré determinujú vôňu a mnohokrát aj chuť extrahovaných produktov. Vzhľadom na veľmi odlišnú selektivitu ľudskeho nosa, „píkový profil“ získaný GC/FID analýzou, spravidla vôbec nereflektuje arómový profil potraviny nadobudnutý metódou GC-O.

#### Dizajn experimentálnej techniky pre GC-O

Pri metóde GC-O sa najskôr komplexná zmes prchavých látok separuje na plynovochromatickej kapilárnej kolóne a na jej konci sa efluent rozdelí pomocou tzv. deliča v pomere 1:1 medzi monitorovací detektor (zväčša FID, v poslednej dobe už aj MSD) a tzv. „sniffing port“ (Obr. 1, 2). Sniffing port slúži jednak na hodnotenie charakteru arómy, ako aj na určenie relatívnej intenzity arómy jednotlivých aróma-aktívnych zlúčenín eluujúcich z GC kolóny. Olfaktoricky zachytené sensorické vnemy je možné zaznamenávať vďaka špeciálnym softvérom vo forme olfaktogramov (olfaktorických detekčných signálov) (Obr. 3) a hodnotiace dáta je možné synchronne nahrávať ako hlasové záznamy v angličtine. Po skončení GC-olfaktometrickej analýzy sa pomocou softvéru prekryjú signály monitorovacieho GC/FID detektora a olfaktorického detekčného portu (Obr. 4). Monitorovací detektor poskytne klasický chromatogram, ktorý po porovnaní času, v ktorom hodnotiteľ zaznamenal vôňu, umožňuje identifikovať identitu vonnej látky (Obr. 4) na základe výpočtu a porovnania jej lineárneho retenčného indexu (LRI) s LRI štandardnej zlúčeniny publikovanej v databázach, na základe jej MS spektra, ako aj pomocou popisu jej arómy. Pri hodnotení vnemov zo sniffing portu je významným faktorom zvlhčovanie vzduchu. Toto sa zväčša rieši prebublávaním dusíka cez destilovanú vodu a prívodom vodných pár k sniffing portu. Zvlhčený vzduch zabraňuje vysušaniu nosového epitelu a zvyšuje intenzitu i frekvenciu vnímaných vôní (Hanaoka a i. 2000). Použitím hydroalkoholického roztoku namiesto vody je možné ďalej zvýšiť intenzitu vnemu u niektorých typov vonných látok (Pet'ka a i. 2009, 2010).

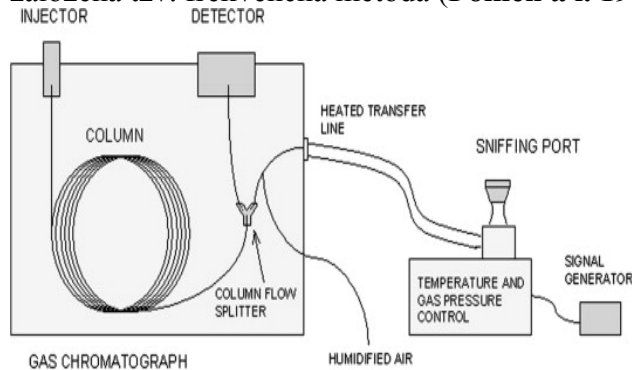
#### Metódy detekcie aróma-aktívnych látok v GC-O

V zásade sa pri detegovaní aróma-aktívnych látok používajú dva typy metód:

1. INTENZITNÉ – slúžia na odhad intenzity eluujúcich čuchovo-aktívnych prchavých látok (posteriórny odhad intenzity, OSME/FSCM, frekvenčné metódy)

2. ZRIEĎOVACIE - zisťujú prah vnemu čuchovo-aktívnych prchavých látok vo vzduchu za pomoci zried'ovania primárneho extraktu (CHARM, AEDA)

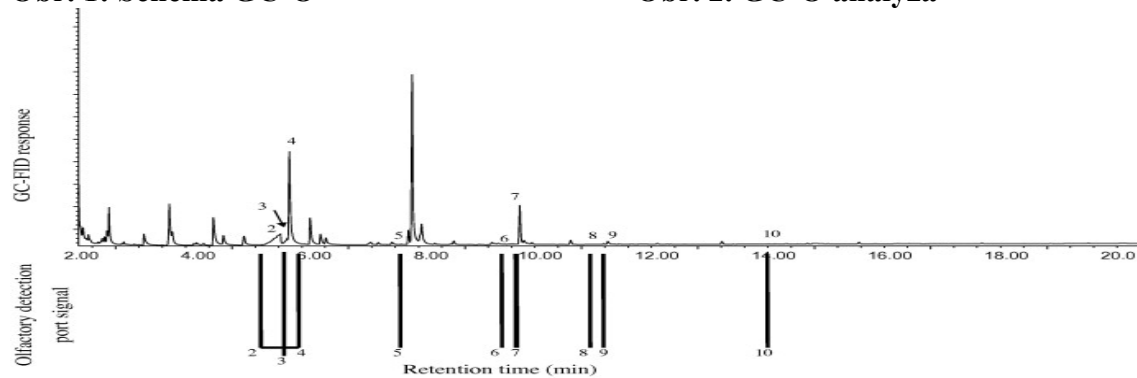
Najmä v Nemecku adaptovaný variant metódy CHARM, tzv. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) je do značnej miery využívaný aj v súčasnosti. Jeho výhodou je jednoduchosť: výsledkom AEDA je „chromatogram“ – tzv. arómagram, zostavený z čiar, ktorých výška (a teda „kvantita“) predstavuje najvyššie riedenie, pri ktorom bol ešte vnem zachytený, často ako logaritmus riediaceho pomeru. Na podobnom princípe ako CHARM je založená tzv. frekvenčná metóda (Pollien a i. 1997).



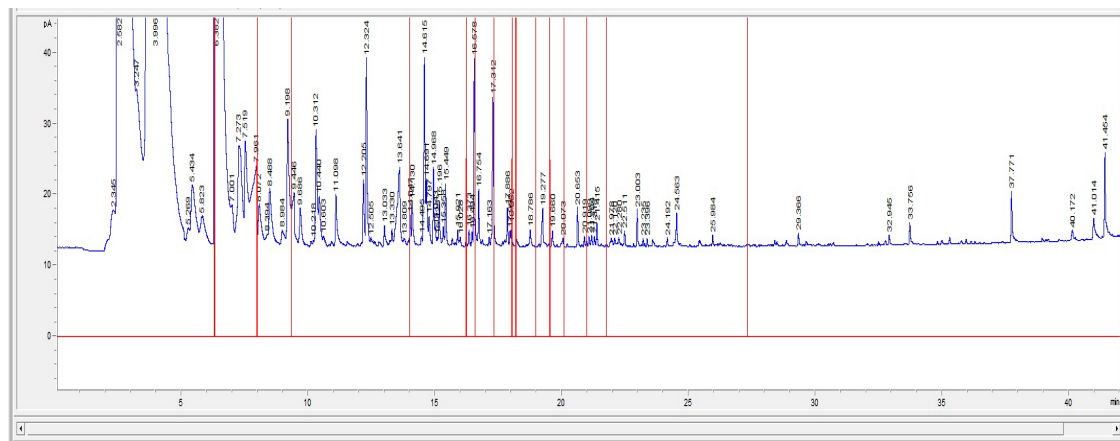
Obr. 1: Schéma GC-O



Obr. 2. GC-O analýza



Obr. 3: GC-olfaktogram zložiek prchavej frakcie - arómy brusnice európskej (kalina obyčajná *Viburnum opulus* L.). Kyseliny: 2-metyl-butánová a 3-metyl-butánová, linalol a etyl dekanoát boli hlavné odor-aktívne zlúčeniny arómy.



Obr. 4. Štandardný GC/FID chromatogram prchavých zložiek arómy 100% ovčej bryndze bio kvality, prekrytý GC-olfaktogramom (vertikály na obr.) kľúčových sensoricky aktívnych zložiek: kyselina octová+etyl acetát, 2-metylpropanol, 3-metylbutanal, 3-hydroxy-2-butanón, 3-metylbutanol+2-metylbutanol, kyselina butánová, 2,3-heptándión, kyselina

pentánová, 2,4-dimetyl-1-heptén, etyl hexanoát, 3-metylbutyl butanoát, 2-fenyletanol, 4-oktanón, kyselina oktánová a 2-fenyletyl acetát.

Na rozdiel od CHARM alebo AEDA, kde vzhľadom na potrebu zvýšeného počtu analýz (zried'ovani extraktu) vykonávajú „sniffing“ jeden až dvaja ľudia, v prípade frekvenčnej metódy „očucháva“ panel hodnotiteľov iba základný extrakt. Výstupom je počet citácií pre daný vnem (t.j. koľko hodnotiteľov zaznamenalo vnem) a intezita vnemu (odhadnutá číselná hodnota zo zvolenej škály, napr. 0-3). Ako pri CHARM metóde, aj pri frekvenčnej metóde môžu hodnotitelia merať tiež dobu vnemu.

### Prínos techniky GC-O pre zrekonštruovanie arómy

Vnímanie vóni počas GC-O sa z kvalitatívneho aj kvantitatívneho hľadiska líši od vnímania vóni napr. pri konzumácii potravín. Vôňa potravín je vnem navodený vdychovaním zmesi vonných prchavých látok, ktoré sa spontánne uvoľňujú z povrchu potraviny. Ich head-space profil nemusí nevyhnutne odrážať absolútnu koncentráciu týchto chemických látok v potravinách, ale je skôr mierou zádržnej schopnosti matrice. Chuť jedla je zvyčajne ešte zložitejšia ako vôňa potraviny, pretože retronazálne čuchové podnety interferujú s chuťou a inými vnemami v ústach (Köster 1994). Vonné prchavé látky sa pri GC-O, ak sú dobre rozdelené, dostávajú k čuchovému epitelu v čistej forme, čo veľmi uľahčuje ich rozpoznanie (Jinks a Laing 2001). Na druhej strane, množstvo zlúčeniny v sniffing porte kriticky závisí od použitej izolačnej techniky a rozdeľovacej schopnosti kolóny (Blank 2002). Aj napriek tomu, že pri GC-O získavame informácie o jednotlivých separovaných entitách (prchavých látkach), táto informácia bola v mnohých prípadoch postačujúca na úspešné zrekonštruovanie pôvodných komplexných vóni (Grosch 2001; Blank 2002).

### LITERATÚRA

- Baigrie, B. 2003. Introduction. In: Baigrie B. (ed), Taints and off-flavours in food, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, Cambridge, England.
- Blank, I. 2002. Gas Chromatography-Olfactometry in Food Aroma Analysis. In: Marsili, R. (ed.): Flavor, Fragrance, and Odor Analysis. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel: 297.
- Cardello, A. V. 1994. Consumer expectations and their role in food acceptance. In: MacFie H. and Thomson D. (eds), Measurement of Food Preferences, Blackie Academic and Professional, London.
- Frijters, J. E. R., Schifferstein H. N. J. 1997. Some notes on the study of the perceptual composition of heterogeneous mixture percepts. *Food Quality & Performance*, 5: 65-74.
- Grosch, W. 2001. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. In *Chemical Senses*, 26: 533-545.
- Hanaoka, K., Sieffermann, J. M., Giampaoli, P. 2000. Effects of the sniffing port air makeup in gas chromatography-olfactometry. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2368-2371.
- Jinks, A., Laing, D. G. 2001. The analysis of odor mixtures by humans: evidence for a configurational process. In *Physiological Behaviour*, 72: 51-63.
- Köster, E. P. 1994. Interaction of the senses in flavour perception. In: 5th Wartburg Aroma Symposium, Eisenach; Eigenverlag Universität Postdam: 15-25.
- Meilgaard, M., Civille, G. Carr, B. 1999. Sensory Evaluation Techniques, 3<sup>rd</sup> edn, CRC Press, Boca Raton.
- Pet'ka, J., Escudero, A., Sádecká, J., Kukurová, K., Ferreira, V. 2009. Amplification of Gas Chromatographic-Olfactometric Signal by Ethanol. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 981-984.
- Pet'ka, J., Sádecká, J., Escudero, A., Kukurová, K., Ferreira, V. 2010. Improvement of Sensitivity in Quantitative GC-Olfactometric Measurements. In: Proceedings of the 12th Weurman Flavour Research Symposium, July 1-4, 2008, Interlaken, Switzerland. Blank I., Wüst M., Yeretzián Ch. (eds.): Expression of Multidisciplinary Flavour Science. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, In *Winterthur*: 553-556.
- Pollien, P., Ott, A., Montignon, F., Baumgartner, M., Munoz-Box, R., Chaintreau, A. (1997): Hyphenated headspace Gas chromatography sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2630-2637.
- Vonášek, F., Trepková, E., Novotný, L. 1987. Látky vonné a chuťové. SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha: 11.

# Potravinárstvo

---

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporená projektami: ASFEU-26240220050\_*Stratégia eliminácie akrylamidu v technologickom procese výroby potravín* a APVV-0590-10\_*Rozšírenie vedeckých poznatkov o kvalite a bezpečnosti slovenskej bryndze modernými mikrobiologickými, molekulárno-biologickými a chromatografickými metódami.*

**Kontaktná adresa:** Ing. Jana Sádecká, PhD., Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava, e-mail: sadecka@vup.sk