

ZASTOSOWANIE DETEKTORA OLFAKTOMETRYCZNEGO W OCENIE JAKOŚCI ŻYWNOCİ

Waldemar Wardencki, Beata Plutowska



*Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny,
Politechnika Gdańska*

ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk
wawar@chem.pg.gda.pl



JAKOŚĆ ŻYWNOCICI

Właściwości sensoryczne

SMAKOWITOŚĆ (zapach i smak)

lotne związki

Skład chemiczny lotnych związków
(różne rodzaje, właściwości, zawartości)

ANALIZA ZAPACHU

Cenne źródło informacji o jakości żywności

Dwa podejścia

```
graph TD; A[Dwa podejścia] --> B[Klasyczna analiza sensoryczna]; A --> C[Analiza instrumentalna]; C --> D[Chromatografia gazowa z detektorem olfaktometrycznym (GC-O)];
```

Klasyczna analiza sensoryczna

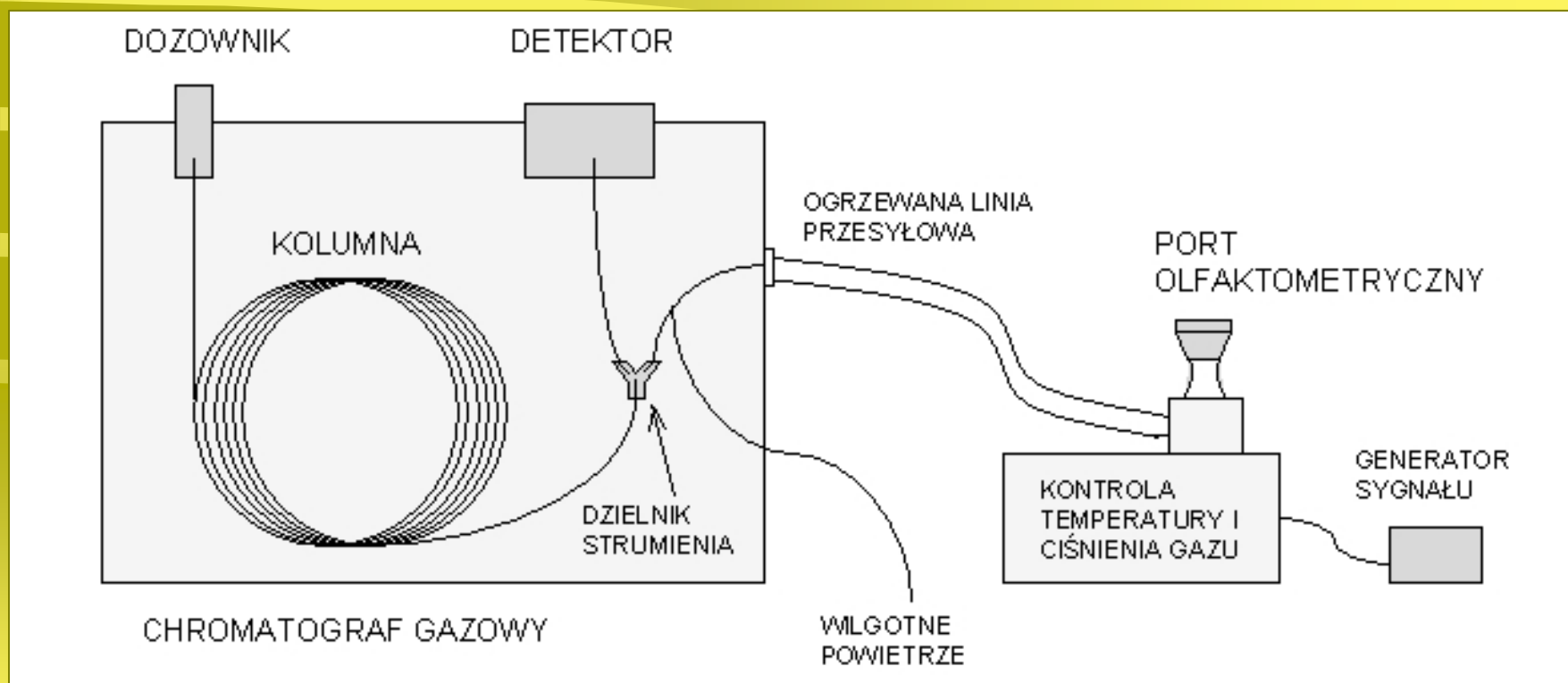
Analiza instrumentalna

Chromatografia gazowa z detektorem olfaktometrycznym (GC-O)

Możliwość skorelowania zapachu i chemicznych danych analitycznych

Ogólna charakterystyka GC-O

Oparta na możliwości oceny sensorycznej eluatu (związków aktywnych sensorycznie) z kolumny chromatograficznej



Chromatografia gazowa z detekcją olfaktometryczną



Informacje z olfaktogramu

Każdy analit eluujący z kolumny może być oceniony jakościowo i ilościowo pod względem zapachu

- ☀ czy dany związek jest aktywny sensorycznie przy danym stężeniu?
- ☀ jaki ma zapach ?
- ☀ jaka jest intensywność zapachu ?
- ☀ jaki jest czas aktywności sensorycznej (RT) ?

Wygląd olfaktogramu

Wypadkowa zastosowanej
procedury izolacji analitów i metody
oceny ilościowej

Wymagania dotyczące metody przygotowania próbki

Ekstrakt powinien być możliwie reprezentatywny

- ☀ technika izolacji powinna być zachowawcza (nie powodować żadnych jakościowych i ilościowych zmian w składzie próbki)
- ☀ technika izolacji powinna raczej odzwierciedlać uwalnianie się lotnych związków z matrycy niż umożliwiać oznaczenie całkowitej zawartości tych składników
- ☀ technika izolacji powinna spełniać wymogi zielonej chemii

Czynniki wpływające na jakość wyników

- ☀ **technika przygotowania próbki** wpływa na skład i zawartość wyizolowanych związków i wygląd olfaktogramów
- ☀ **przechowywanie próbki i ekstraktu** (zapobieganie procesom autooksydacji)
- ☀ **odpowiednie warunki analizy chromatograficznej**
 - stałe warunki analizy
 - kolejność próbek
 - taka sama skala oceny intensywności zapachu
- ☀ **warunki zewnętrzne wpływające na ocenającego**
 - środowisko wolne od obcych zapachów i hałasu
 - stała temperatura i ciśnienie



Przykłady technik przygotowania próbki

☀ EKSTRAKCJA CIECZ-CIECZ (LLE)

☀ METODY ANALIZY FAZY NADPOWIERZCHNIOWEJ (HS)

☀ MIKROEKSTRAKCJA DO FAZY STACJONARNEJ (SPME)

☀ METODY SELEKTYWNEJ ESTRAKCJI

(połączenie destylacji próżniowej i wychwytywania analitów podczas reakcji)

HS i SPME to przykłady tzw. technik bezropuszczalnikowych

(Wardencki, W., Curyło, J., Namieśnik, J., J. Biochem. Biophys. Methods, 70 (2007) 275-288)

**Ilościowe
oznaczanie związków
zapachowych metodą
GC-O**

**Metody częstości
detekcji
(detection
frequency methods)**

**Metody
rozcieńczenia
do progu
wyczuwalności
(dilution to
treshold methods)**

**Metody
bezpośredniej
intensywności
(direct intensity
methods)**

**AEDA
(Aroma Extract
Dilution Analysis)**

**CHARM
(Combined Hedonic
Aroma Response
Measurement)**

**Metody
późniejszej oceny
intensywności
(posterior
intensity methods)**

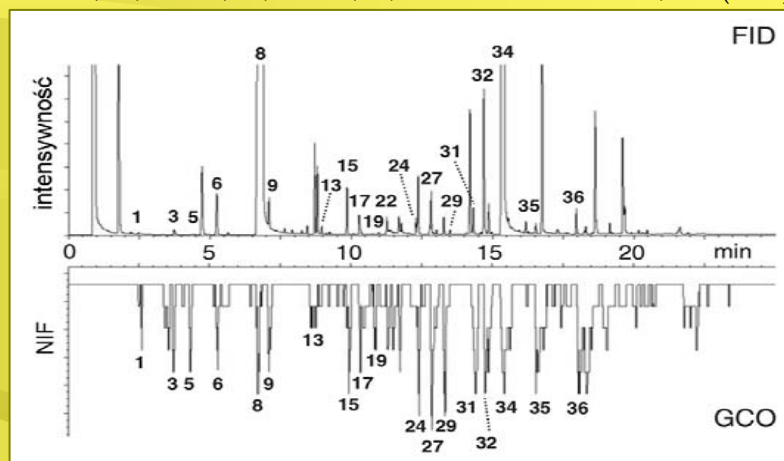
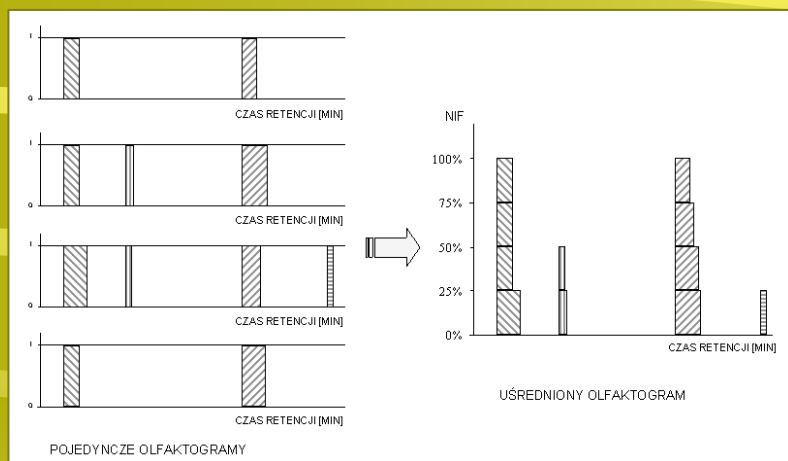
**Metody
jednoczesnej oceny
intensywności
(time-intensity
methods)**

METODY CZĘSTOŚCI DETEKCJI

Próbka jest analizowana przez co najmniej 6 osób.

Obliczany jest procent osób, które wyczuły związek zapachowy w określonym czasie retencji lub tzw. indeksy olfaktometryczne - wartości NIF (ang. Nasal Impact Frequency) lub SNIF (ang. Surface of Nasal Impact Frequency)

Komes, D., Ulrich, D., Lovric, T., *Eur. Food Res. Technol.*, 222 (2006) 1-7



Wady - wynik jest związany tylko z aktualną intensywnością zapachu odczuwanego przy danym stężeniu badanego analitu

Zalety - prostota (metoda szybka, łatwa do przeprowadzenia)

- powtarzalność

- wyniki obrazują różnice wrażliwości sensorycznej wśród oceniających

METODY ROZCIEŃCZANIA DO PROGU WYCZUWALNOŚCI

Najczęściej wykorzystywane metody w analizie zapachów żywności

Ekstrakty związków zapachowych są rozcieńczane dwu-, trzy-, pięcio- lub dziesięciokrotnie i oceniane przy użyciu detektora olfaktometrycznego

Oceniający stwierdzają przy których rozcieńczeniach badany związek jest jeszcze wyczuwalny i opisują rodzaj zapachu

Potencjał zapachowy jest wyrażany jako:

- ☀ wartości lub jednostki zapachowe (ang. aroma/odor/flavor values/units)
- ☀ jednostki aktywności zapachowej (ang. Odor Activity Values) - stosunek stężenia danej substancji w próbce do wartości progu wyczuwalności sensorycznej

Wady - długi czas analizy

- uzależnienie wyników od progu wyczuwalności sensorycznej analitów, a nie od rzeczywistej intensywności zapachu analitu w danej próbce

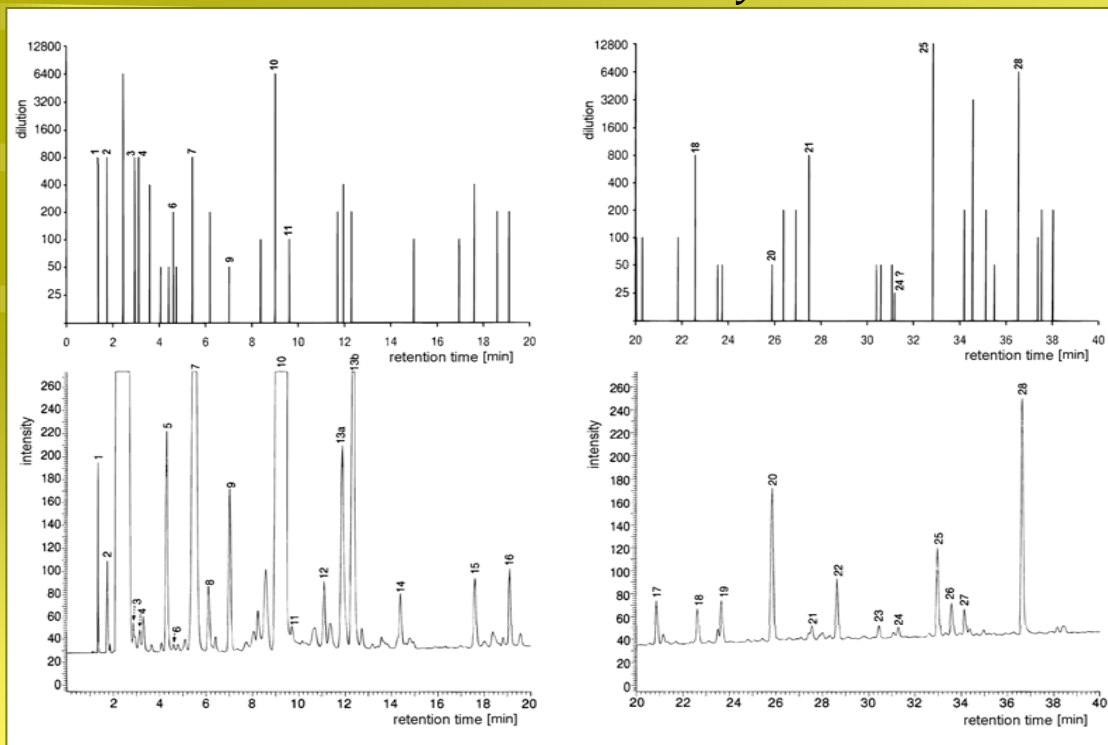
METODY ROZCIEŃCZANIA DO PROGU WYCZUWALNOŚCI

CHARM

Dodatkowo mierzony jest czas trwania wrażenia zapachowego

Metoda przydatna do oceny istotności zapachu poszczególnych związków w danej próbce

Jednostki Charm



AEDA

Najwyższe rozcieńczenie próbki, przy którym zapach jest jeszcze wyczuwalny

Współczynnik rozcieńczenia zapachu (ang. odor dilution factor FD)

Benn, S.M., Peppard, T.L. *J. Agric. Food Chem.*, 44 (1996) 557-566

METODY BEZPOŚREDNIEJ INTENSYWNOŚCI

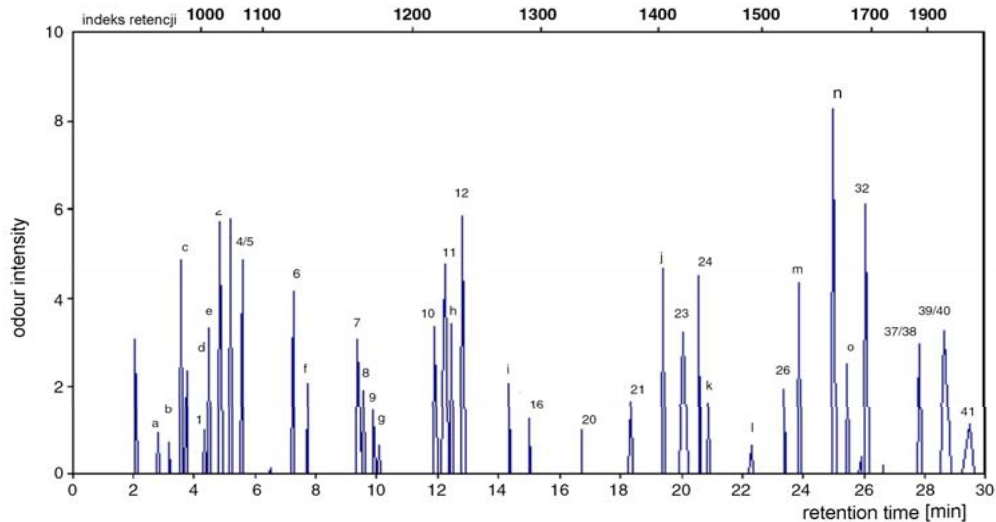
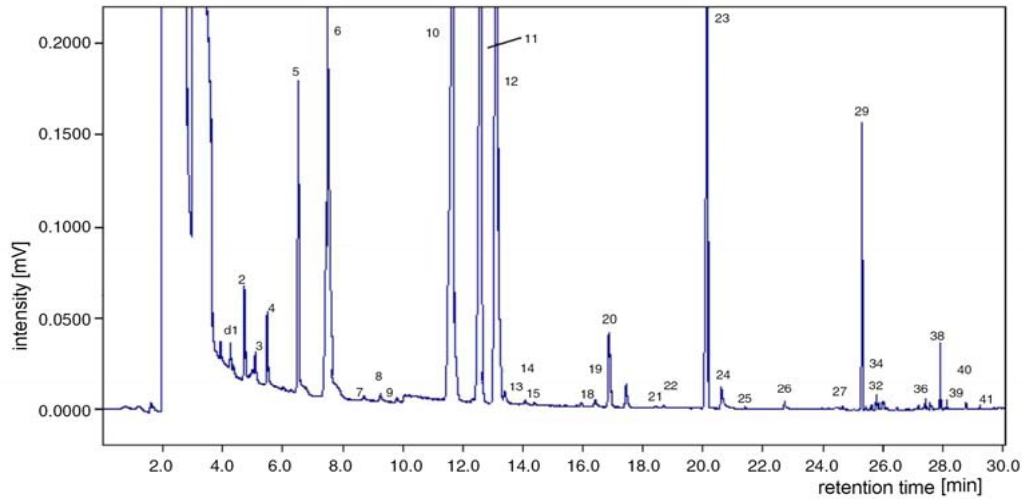
Poprzednie metody pozwalają stwierdzić jedynie obecność lub nieobecność bodźca węchowego

Metody Bezpośredniej Intensywności:

- ☀ mierzona jest intensywność bodźca oraz czas jego trwania
- ☀ realizowane na różne sposoby:
 - pomiar pojedynczy uśredniony czasowo, rejestrowany po elucji analitu (metody późniejszej oceny intensywności),
 - pomiar dynamiczny, rejestrowany w sposób ciągły (OSME, metoda rozpiętości palców)



METODY BEZPOŚREDNIEJ INTENSYWNOŚCI



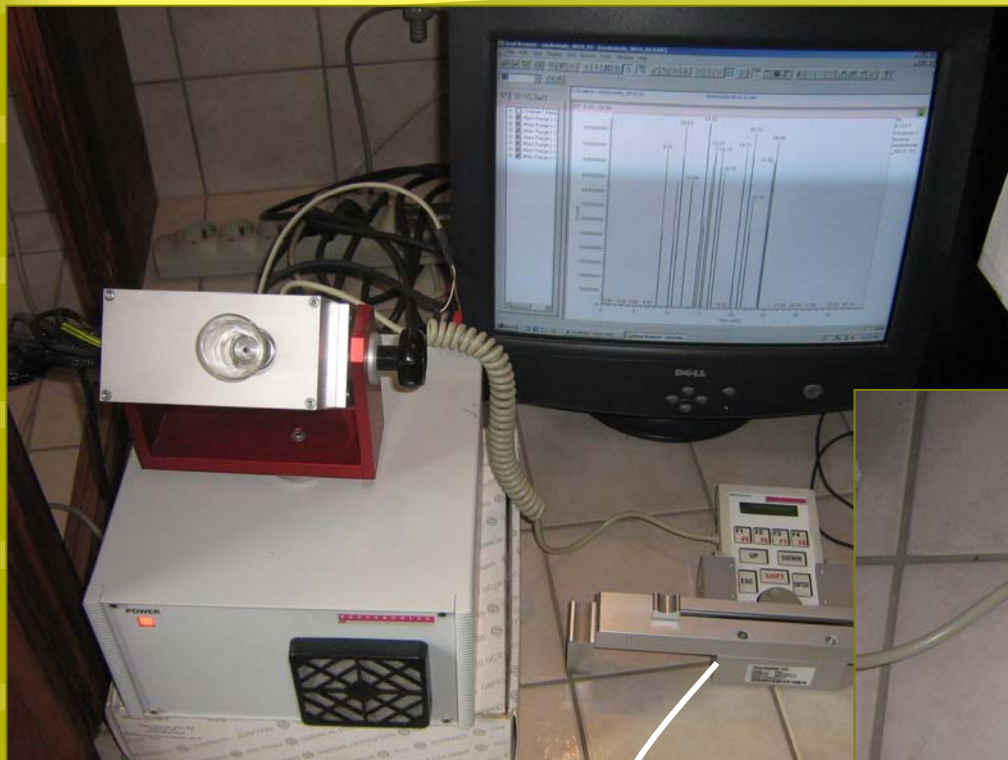
OLFAKTOGRAM

podobny do chromatogramu,
zależność intensywności
zapachu w funkcji czasu
retencji

Wysokość – intensywność
zapachu

Szerokość – czas trwania
zapachu

Metoda rozpiętości palców



Finger span



Metoda rozpiętości palców

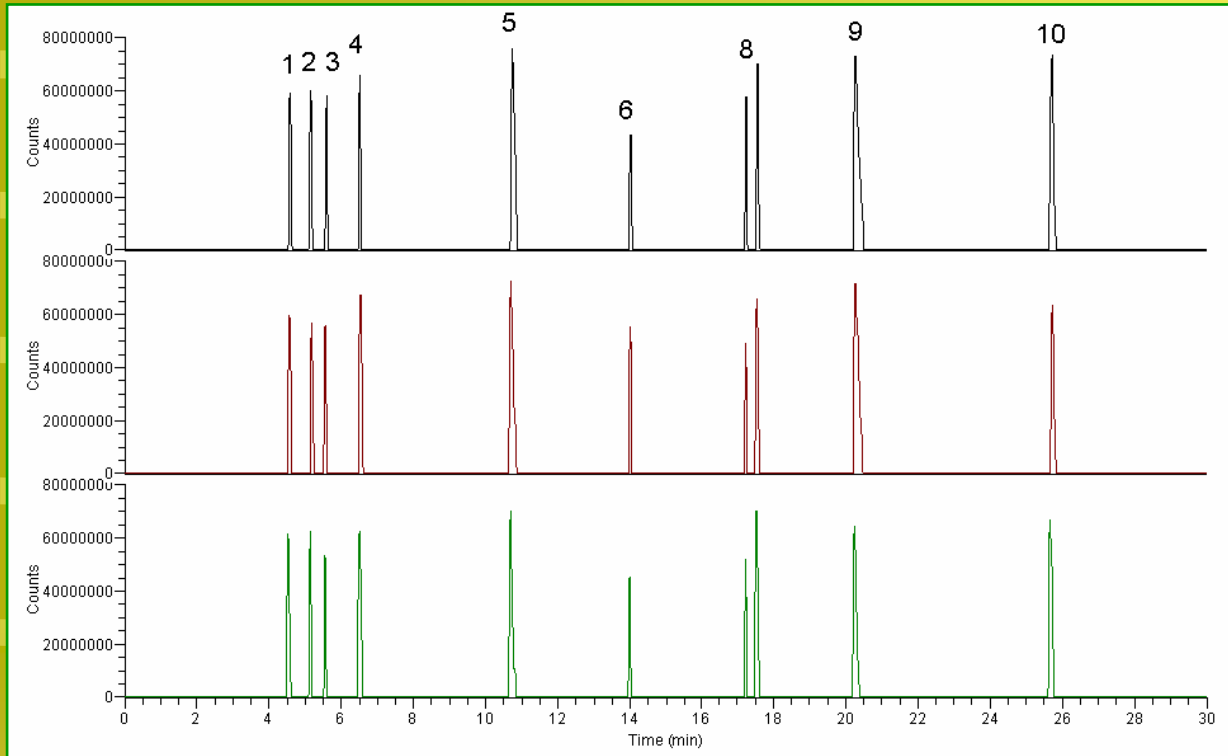
Zalety

- ✓ Prostota metody- intuicyjny sposób rejestracji olfaktogramów
- ✓ Wysokość piku odpowiada maksymalnemu natężeniu zapachu danego analitu
- ✓ Szerokość piku to czas trwania bodźca zapachowego

Wady

- ✓ Konieczność posiadania doświadczenia przez oznaczającego
- ✓ Obniżanie czułości na skutek zmęczenia
- ✓ Błędy wynikające z zapamiętywania profili zapachowych
- ✓ Najtrudniejsza do prawidłowego wykonania

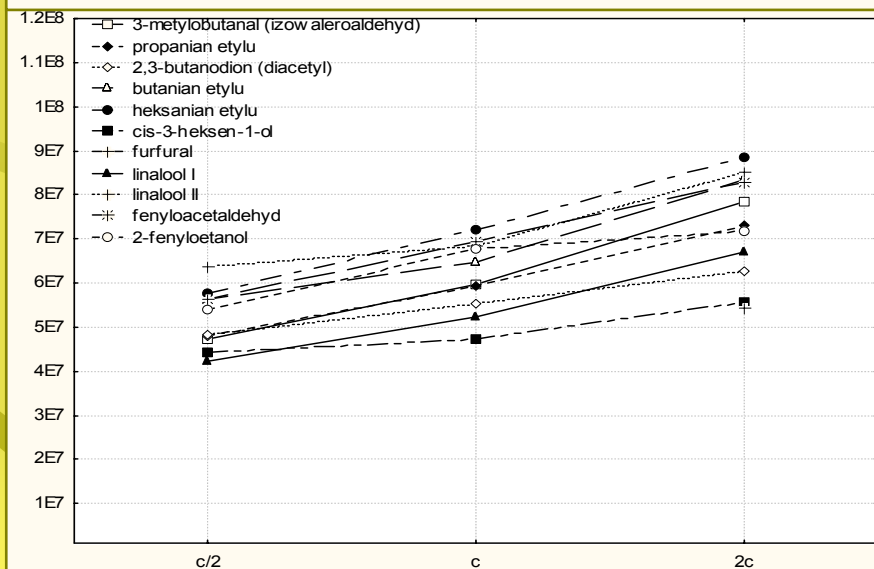
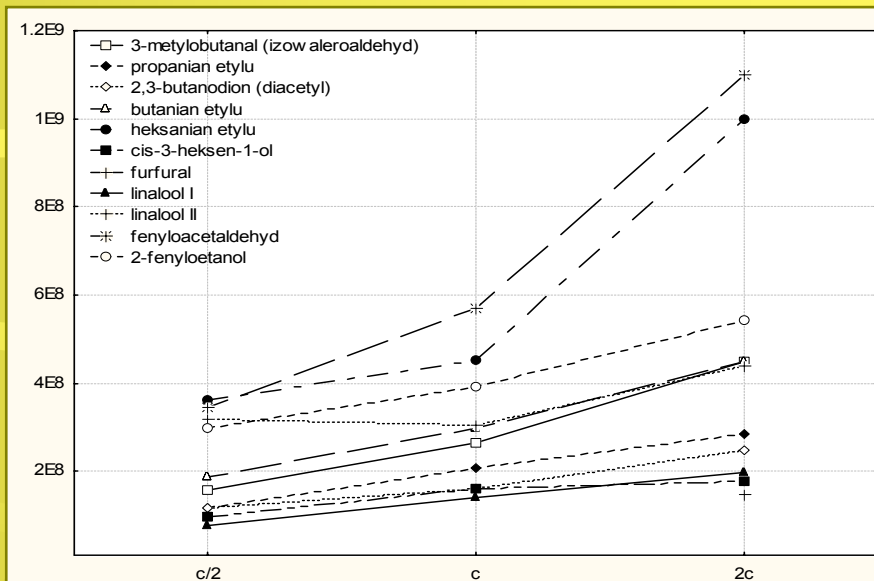
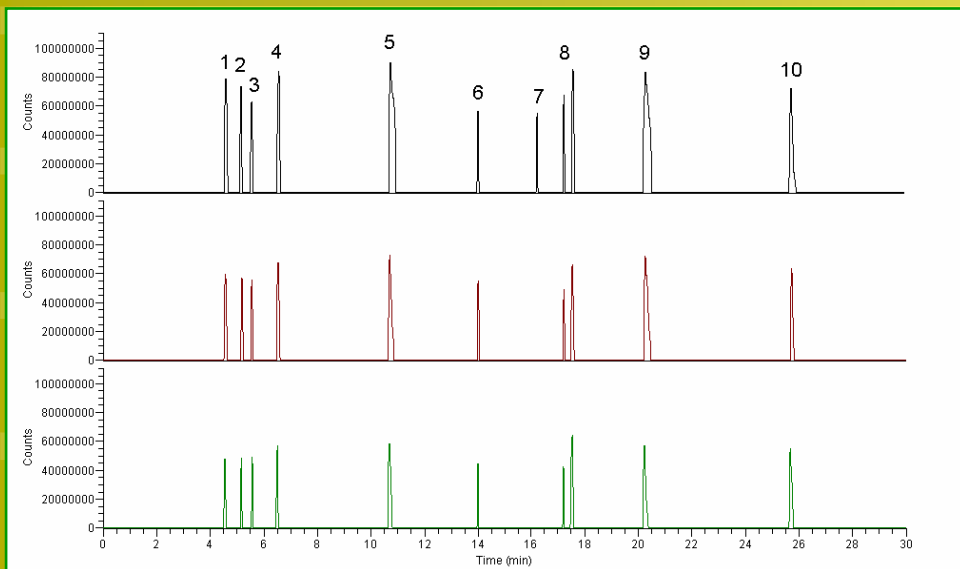
Przygotowanie oceniających – powtarzalność



Nr	Nazwa związku
1	3-metylobutanal
2	propanian etylu
3	2,3-butanodion
4	butanian etylu
5	heksanian etylu
6	<i>cis</i> -3-heksen-1-ol
7	2-furaldehyd
8	linalol
9	fenyloacetaldehyd
10	2-fenyloetanol

CV [%]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Wysokość	2.2	4.8	4.2	4.0	3.9	13.6	-	8.3/3.3	6.8	8.0
Pole powierzchni	8.2	11.1	15.4	22.7	15.3	15.5	-	12.9/15.1	28.2	16.8

Przygotowanie oceniających – zdolność do reagowania na zmiany stężenia

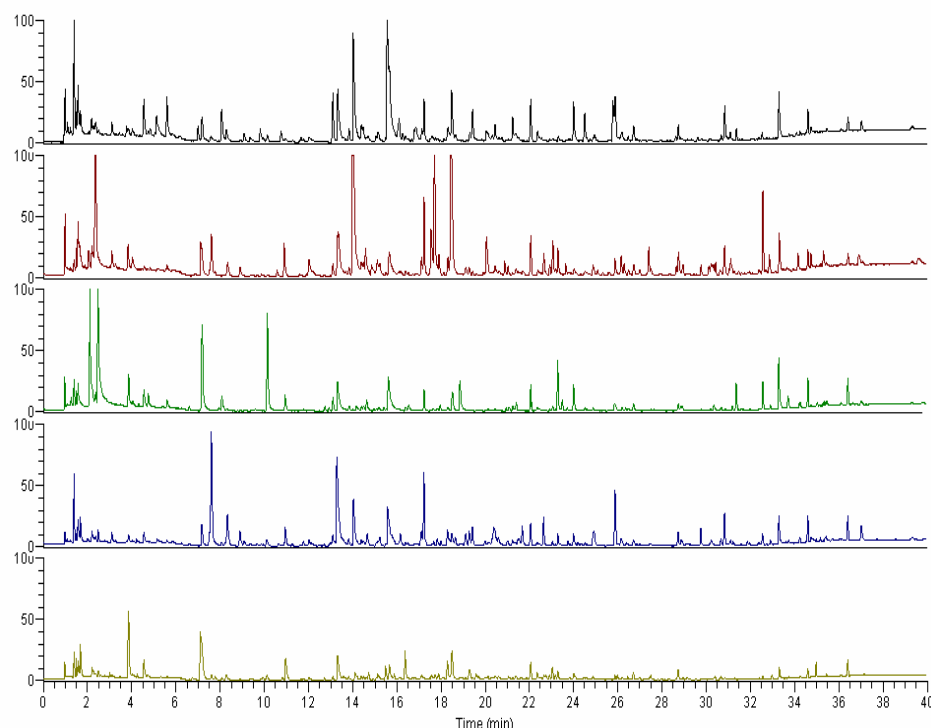
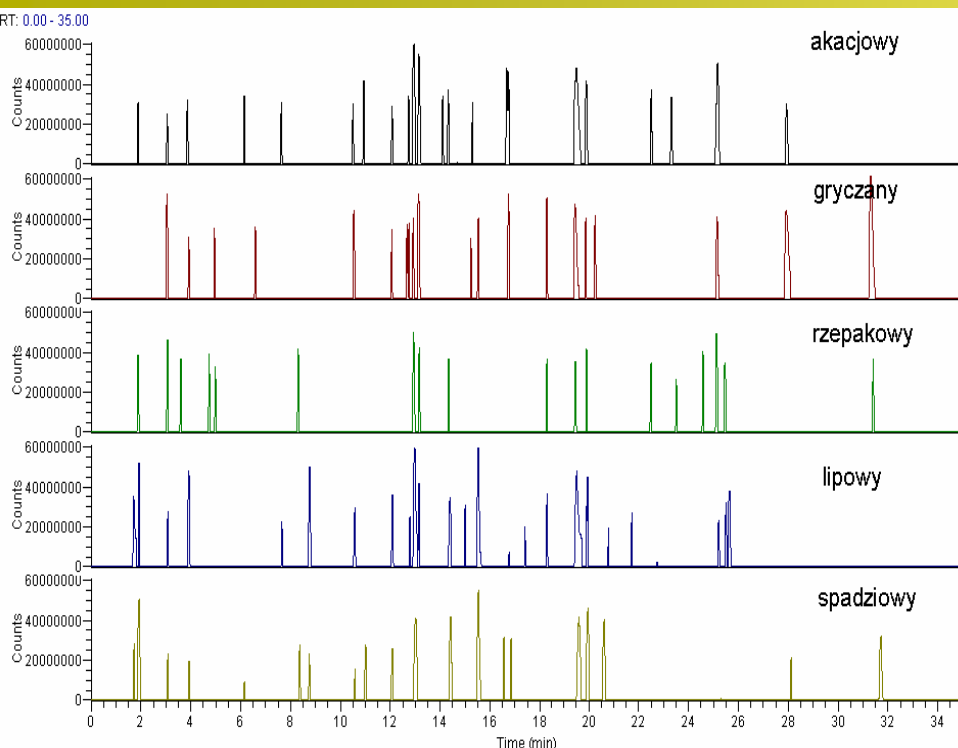


	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10	8
c/2	5 $\mu\text{l L}^{-1}$	2.5 $\mu\text{l L}^{-1}$
c	10 $\mu\text{l L}^{-1}$	5 $\mu\text{l L}^{-1}$
2c	20 $\mu\text{l L}^{-1}$	10 $\mu\text{l L}^{-1}$

Przykłady zastosowań GC z detekcją olfaktometryczną

- ☀ Identyfikacja związków zapachowych w produktach spożywczych
- ☀ Kontrola jakości surowców używanych do produkcji żywności
- ☀ Kontrola procesu produkcji żywności i napojów
- ☀ Identyfikacja związków odpowiedzialnych za smak następczy
- ☀ Rekonstrukcja zapachu produktów spożywczych

Identyfikacja związków zapachowych w miodach odmianowych



Porównanie olfaktogramów i chromatogramów próbek miodów uzyskanych metodą HS-SPME/GC-O i HS-SPME/GC-MS (metoda rozpiętości palców)

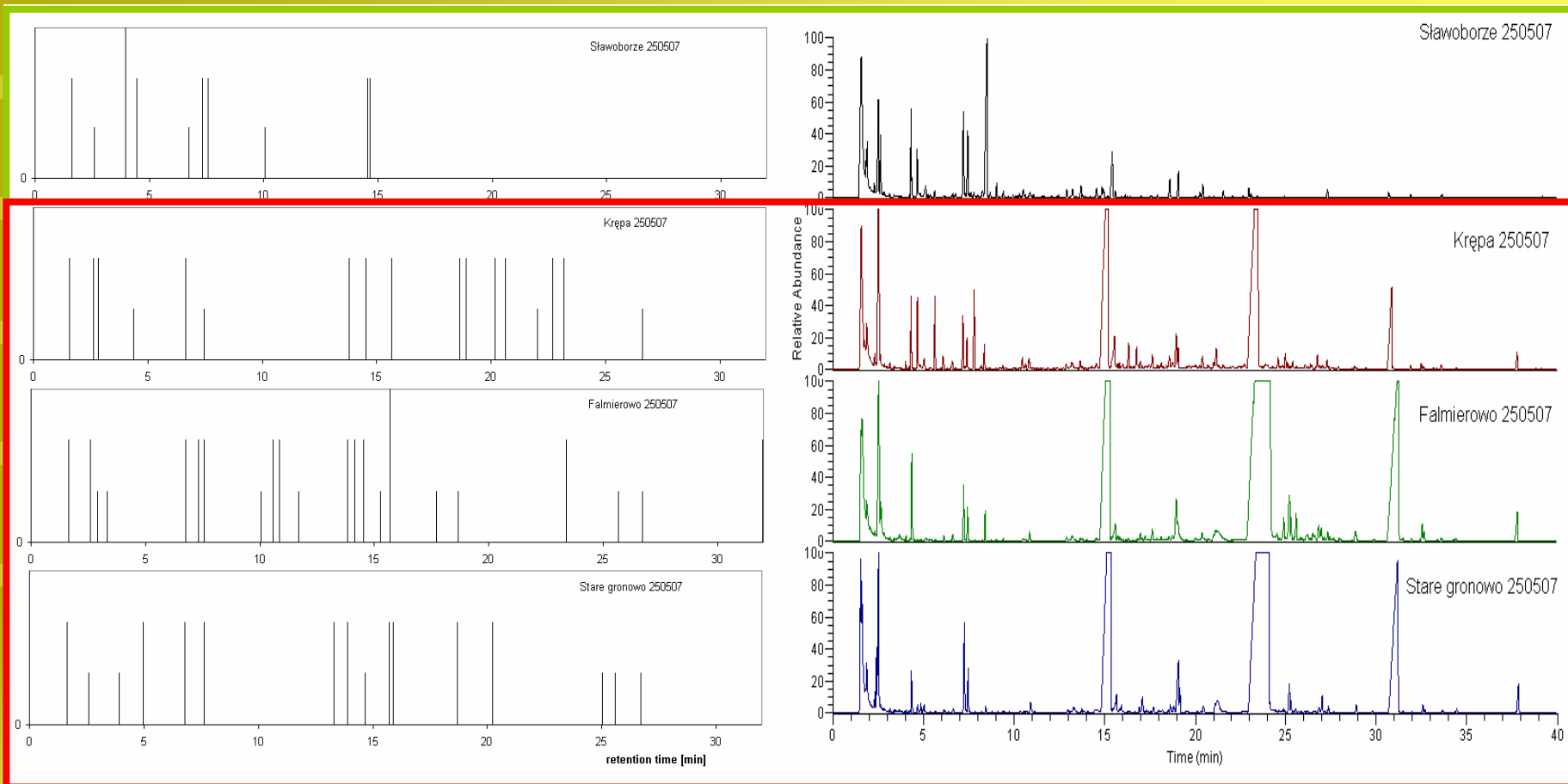
Identyfikacja związków zapachowych w miodach odmianowych

RT	Opis zapachu	Związek
1.7	! zgniłych jaj, stęchły, kwaskowy, winny, cierpki	metanotiol+acetaldehyd
1.9	! słodki, miodowy, owocowy, zjełczały	sulfid dimetylu
3.1	! słodki, przejrziałych jabłek, intensywny, serowy	2-metylobutanal+3-metylobutanal
3.6	! słodki, owocowy, truskawkowy, rozpuszczalnikowy	propanian etylu
3.9	! maślany, śmietankowy, słodkawy, waniliowy	2,3-butanodion
4.8	aldehydowy, sztuczny	3-metylopentanal
5.0	słodki, owocowy, truskawkowy, przyjemny	2-metylobutanian etylu
5.2	słodki, owocowy	3-metylobutanian etylu
5.5	gotowanych warzyw, zupy kalafiorowej	disulfid dimetylu
6.1	plastiku, gumy, kauczuku	
7.7	owocowy, landrynkowy	3-metylopentanian etylu
8.3	starego sera, słodkawy	2-metylobutanol+3-metylobutanol
8.8	! intensywny, słodki, owocowy, rozpuszczalnikowy	
10.6	! słodki, owocowy, pomarańczowy, grapefruitowy, cierpki	oktanal+acetoina
11.0	świeży, grzybowy	
11.1	! koperkowy, świeży	
12.1	! cierpki, słodkawy, chemiczny, ostry, nieprzyjemny	tlenek różany
12.7	zielony	
12.8	słodki, owocowy	
13.0	kapuśniaku, gotowanej kapusty	trisulfid dimetylu
13.1	! sztuczny, rozgrzanego plastiku, wosku, ostry, świeży, śmietankowy	nonanal

Identyfikacja związków zapachowych w miodach odmianowych

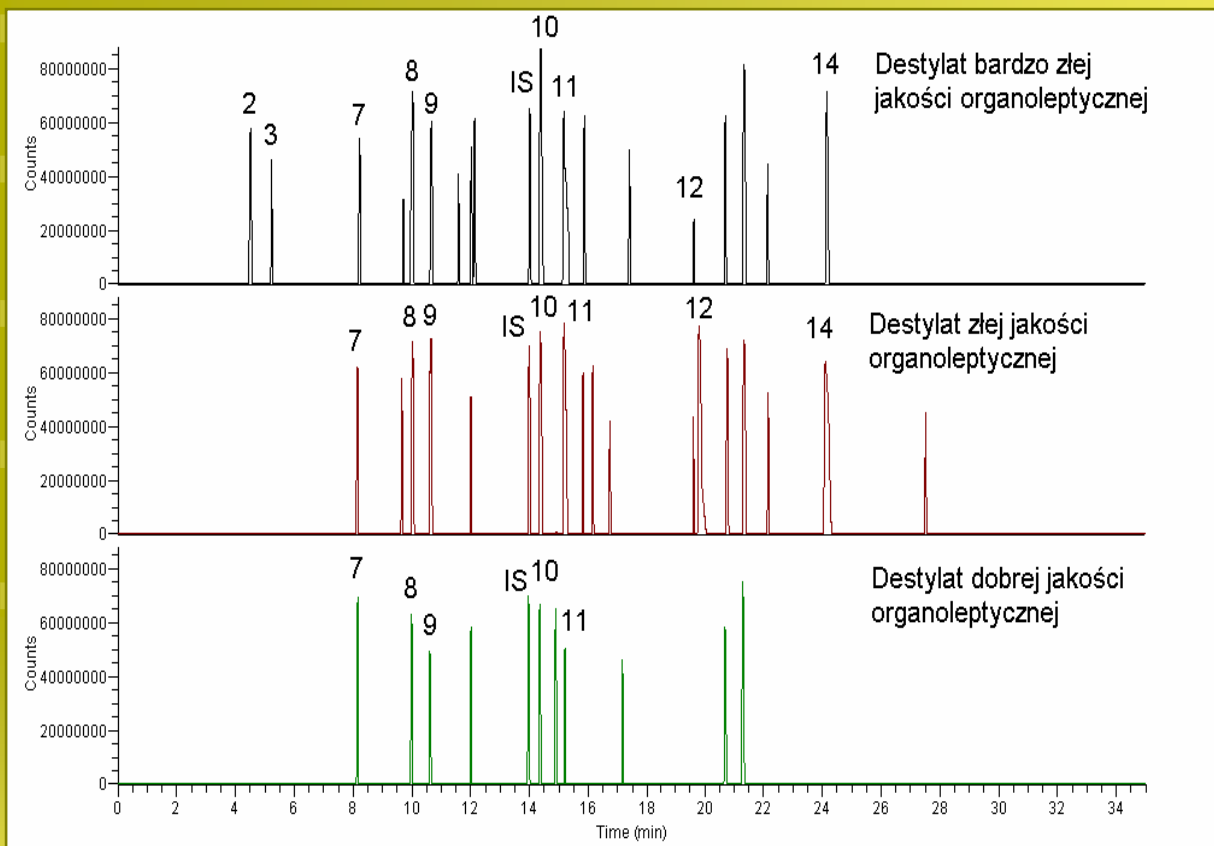
RT	Opis zapachu	Związek
14.3	świeżych grzybów	1-okten-3-ol
14.4	sztuczny, anyżowy, ostry	dimetylostyren
15.0	orzechów prażonych, ostry, sztuczny	tlenek linalolu
15.2	! słodki, owocowy, wiśniowy	furfural
15.3	! świeży, zielony, geranium	2-etyloheksanol
15.5	! słodkawy, owocowy, gumy, brezentu, plastiku	
16.8	! herbaty earl grey	lnalol
16.8	! migdałowy, marcepanowy, kleju biurowego	benzaldehyd
17.4	koperku	
18.3	herbaty earl grey, ziołowy, świeży, zielony, geranium, zielonych liść, słodki, owocowy	hotrienol
18.7	! maślany, śmietankowy	
19.6	! słodki, miodowy, wosku, przyjemny, kwiatowy, fiołków, bzu	fenyloacetaldehyd
20.0	! witaminowy, mięsa gotowanego	
20.5	! zielonych liści, geranium, świeży, zielony	
22.5	! miodowy, słodki	fenylooctan etylu
22.6	migdałowy, farbki plakatowej, sztuczny	
23.3	! ziołowy, tymiankowy, terpenowy	damascenon
24.6	! słodki, miodowy, kwiatowy	alkohol benzyłowy
25.2	! słodki, kwiatowy, różany, miodowy	2-fenyloetanol
25.6	! kwiatowy, różany	nitryl benzyłowy
28.1	! marcepanowy, słodki, kleju biurowego	p-anizaldehyd
31.4	migdałowy, tuszu, anyżowy, słodkawy, plastiku	

Identyfikacja związków zapachowych w destylatach rolniczych



Porównanie olfaktogramów i chromatogramów destylatów rolniczych dobrej jakości (pierwsza próbka) i złej jakości (pozostałe próbki) uzyskanych metodą HS-SPME/GC-O i HS-SPME/GC-MS (metoda późniejszej oceny intensywności)

Identyfikacja związków zapachowych w destylatach rolniczych



	ZWIĄZEK
1	1,1-dietoksyetan + octan etylu
2	2-metylobutanal + 3-metylobutanal
3	propanian etylu
4	octan 2-metylopropylu
5	butanian etylu
6	disulfid dimetylu
7	octan 3-metylobutyłu
8	2-metylo-1-butanol + 3-metylo-1-butanol
9	heksanian etylu
10	trisulfid dimetylu
11	oktanian etylu
12	dekanian etylu
13	dodekanian etylu
14	geosmina

Porównanie olfaktogramów destylatów rolniczych uzyskanych metodą HS-SPME/GC-O (metoda rozpiętości palców)

Kontrola produkcji spirytusów

RT	OPIS ZAPACHU
4.1	słodki, owocowy, rozpuszczalnikowy
4.57	słodkawy, aldehydowy, gorzkiego kakao
5.24	owocowy, słodki, rumu
5.82	słodkawy, plastikowy, sztuczny
6.53	owocowy, słodki
6.9	kapuśniaku, gotowanej kapusty, nieświeży
8.1	owocowy, landrynkowy
9.54	owocowy
10.12	słodki, stęchły, serowy, zjełczały, ostry
10.52	słodki, landrynkowy, owocowy
11.46	słodkawy, mdlący
11.98	słodki, kwaskowy
12.13	cytrusowy, świeży, słodki, aldehydowy
13.52	plastiku, sztuczny
14.41	gotowanej cebuli, gotowanej kapusty, padliny
14.82	plastiku, brezentu, słodkawy
15.5	liw
15.6	arzu
15.81	kapuśniaku, gotowanej kapusty

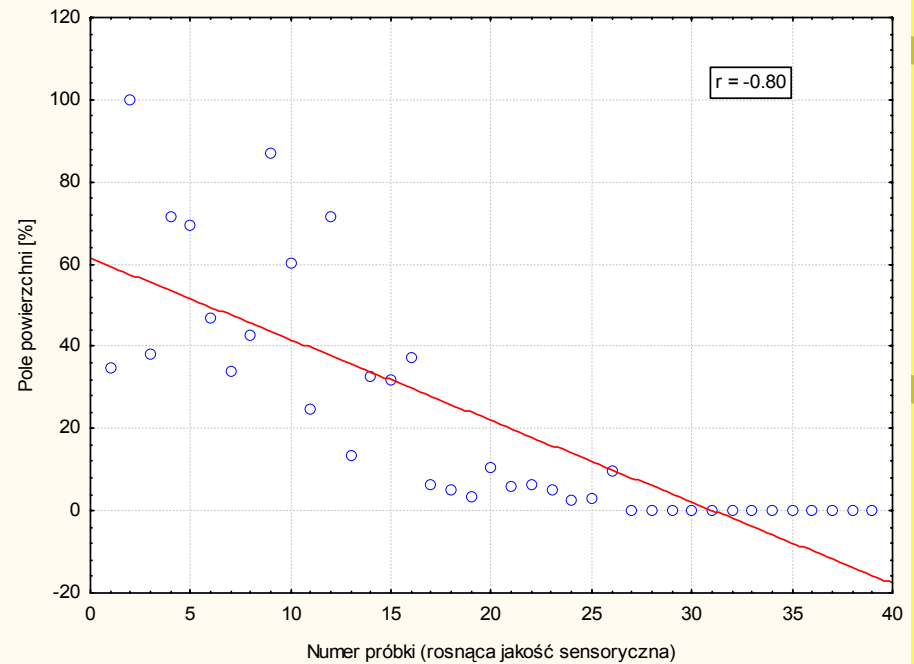
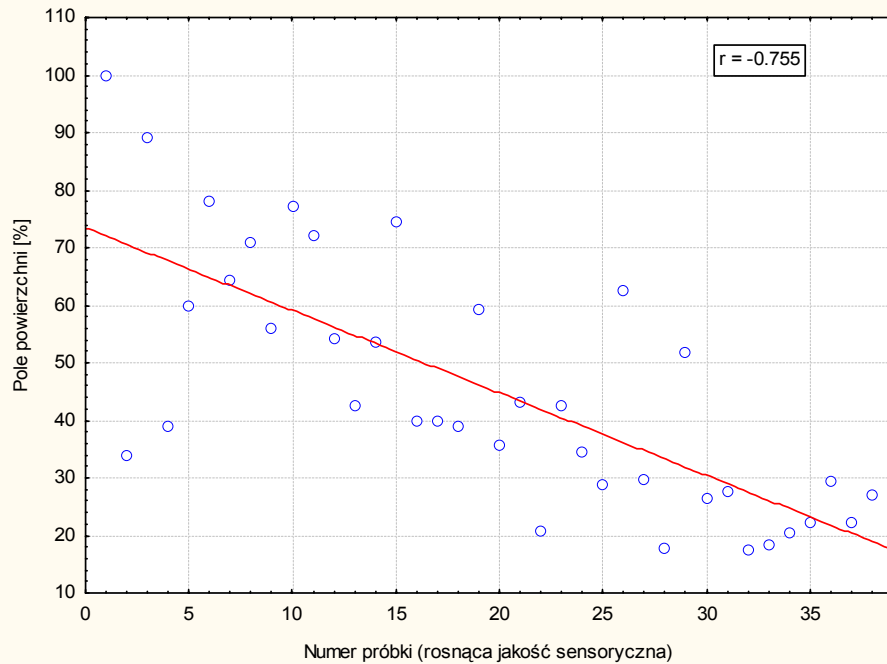
RT	OPIS ZAPACHU
16.09	spieczonej skórki od chleba, sztuczny
16.59	spieczonej skórki od chleba, cierpki
17.22	zielony, roślinny, pelargonii
17.4	stechły, padliny, przenikliwy
	gramotki
	enikliwy
20.48	zwierzęcy, mysi, nieprzyjemny
20.6	zielony, pelargonii
20.77	witaminowy, gotowanego mięsa drobiowego
21.39	pelargonii
24.05	cierpki, zielony, owocowy
24.08	ziemisty, wilgotnej piwnicy, pleśni
24.99	anyżowy, ostry
25.09	kwiatowy, świeży, śmietankowy, serka topionego
27.02	migdałowy, sztuczny

3-metylbutanol +
2-metylbutanol

trisulfid dimetylu

geosmina

Kontrola produkcji spirytusów

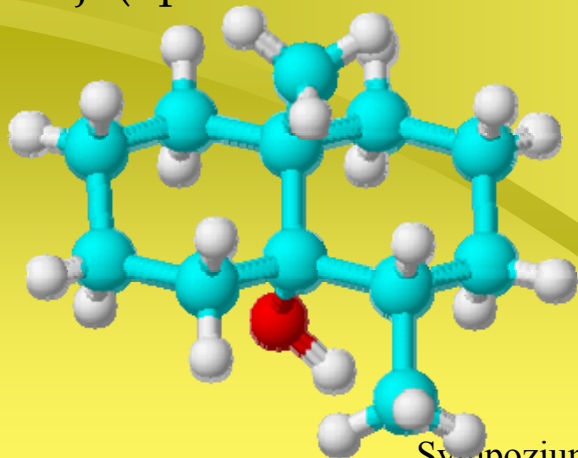


Stwierdzono istotną statystycznie zależność między jakością sensoryczną destylatu a intensywnością zapachu geosminy i trisulfidu dimetylu

Kontrola produkcji spirytusów

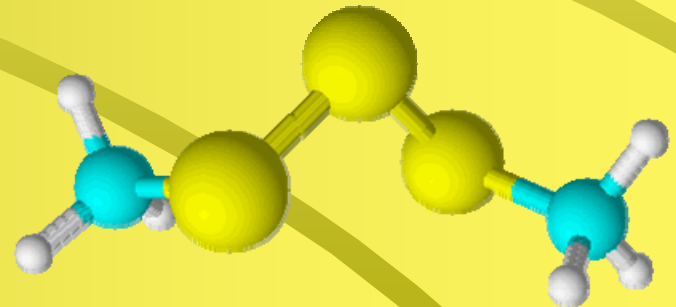
GEOSMINA

- Zapach zimisty, wilgotnej piwnicy pleśni
- Próg wyczuwalności sensorycznej: 60-65 ng L⁻¹ w 10 % w białym winie
- Stanowi prawdopodobnie metabolit produkowany przez różne niepożądane mikroorganizmy rozwijające się na surowcach, bądź w wyniku zakażeń w czasie samego procesu fermentacji (np. *Actinomycetes*)



TRISULFID DIMETYLU

- Zapach gotowanej cebuli, gnijących warzyw
- Próg wyczuwalności sensorycznej: 0.2 µg L⁻¹ w 10 % roztworze etanol : woda
- Powstaje prawdopodobnie jako produkt degradacji metioniny w czasie destylacji lub podczas procesów metabolicznych mikroorganizmów



WNIOSKI I TRENDY

- ☀ GC-O, znana od ponad 40 lat, obecnie coraz częściej wykorzystywana w analizie żywności
- ☀ Możliwość jakościowej i ilościowej oceny zapachu dzięki obecności portu olfaktometrycznego
- ☀ Badania mają najczęściej na celu ustalenie zależności pomiędzy zapachem a składem chemicznym lotnych związków w produktach spożywczych
- ☀ Wygląd olfaktogramów zależy od procedury izolacji analitów i zastosowanej metody ilościowej
- ☀ Nadal trwają prace na uzyskaniem wyższej czułości, lepszej powtarzalności i wiarygodności wyników:
 - wykorzystywanie nowych technik przygotowania próbki (bezzropuszczalnikowe i zachowawcze techniki)
 - ujednocnianie, upraszczanie i skracanie stosowanych procedur
 - jednoczesna detekcja dzięki równoległemu połączeniu kilku portów olfaktometrycznych

Dziękuję za uwagę



Katedra Chemii Analitycznej

**[http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/
Analityczna/analit.htm](http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Analityczna/analit.htm)**

**Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i
Szkolnictwa Wyższego
(grant nr N312 056 31/3446)**