

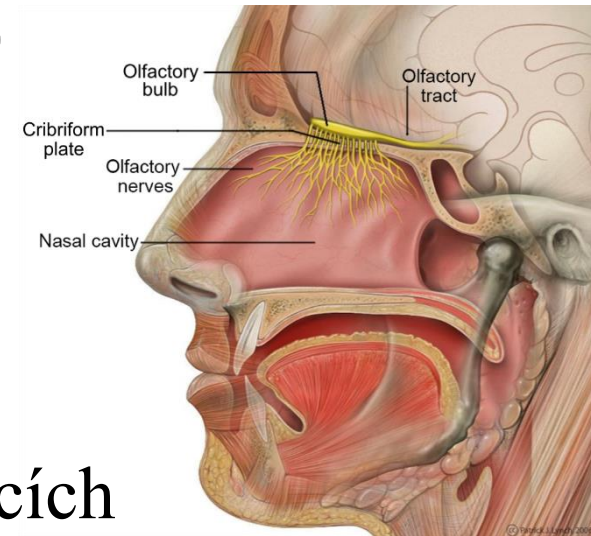


Využití olfaktometrie pro včasnou detekci vad mlékařenských výrobků

Mariana Hanková, Helena Čížková

Workshop v rámci projektu QK1710156, 01. 10. 2020

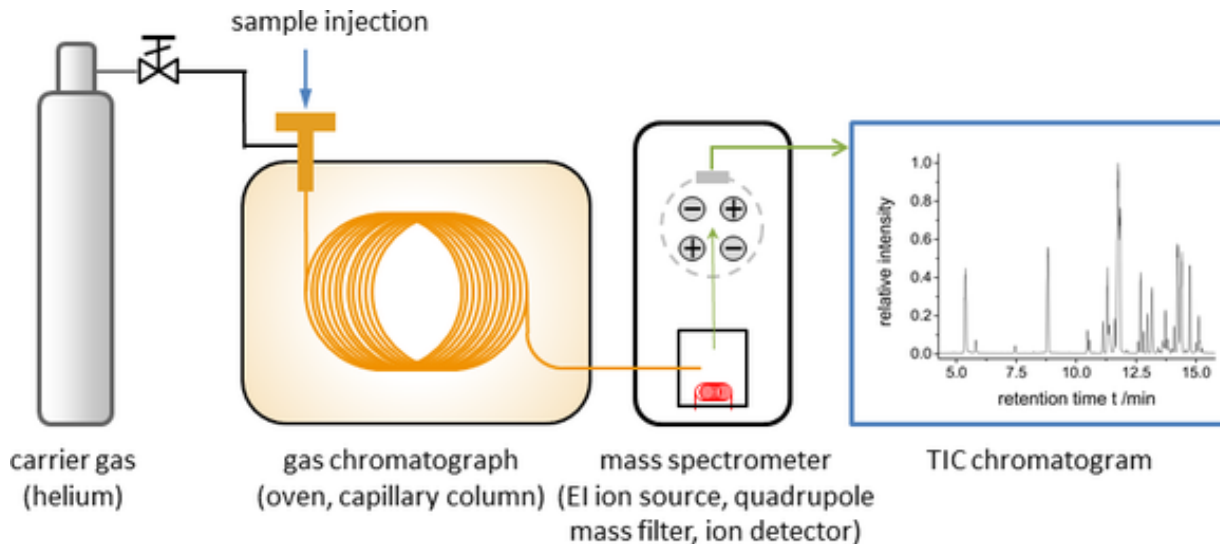
Aroma a Pach (vůně a zápach)



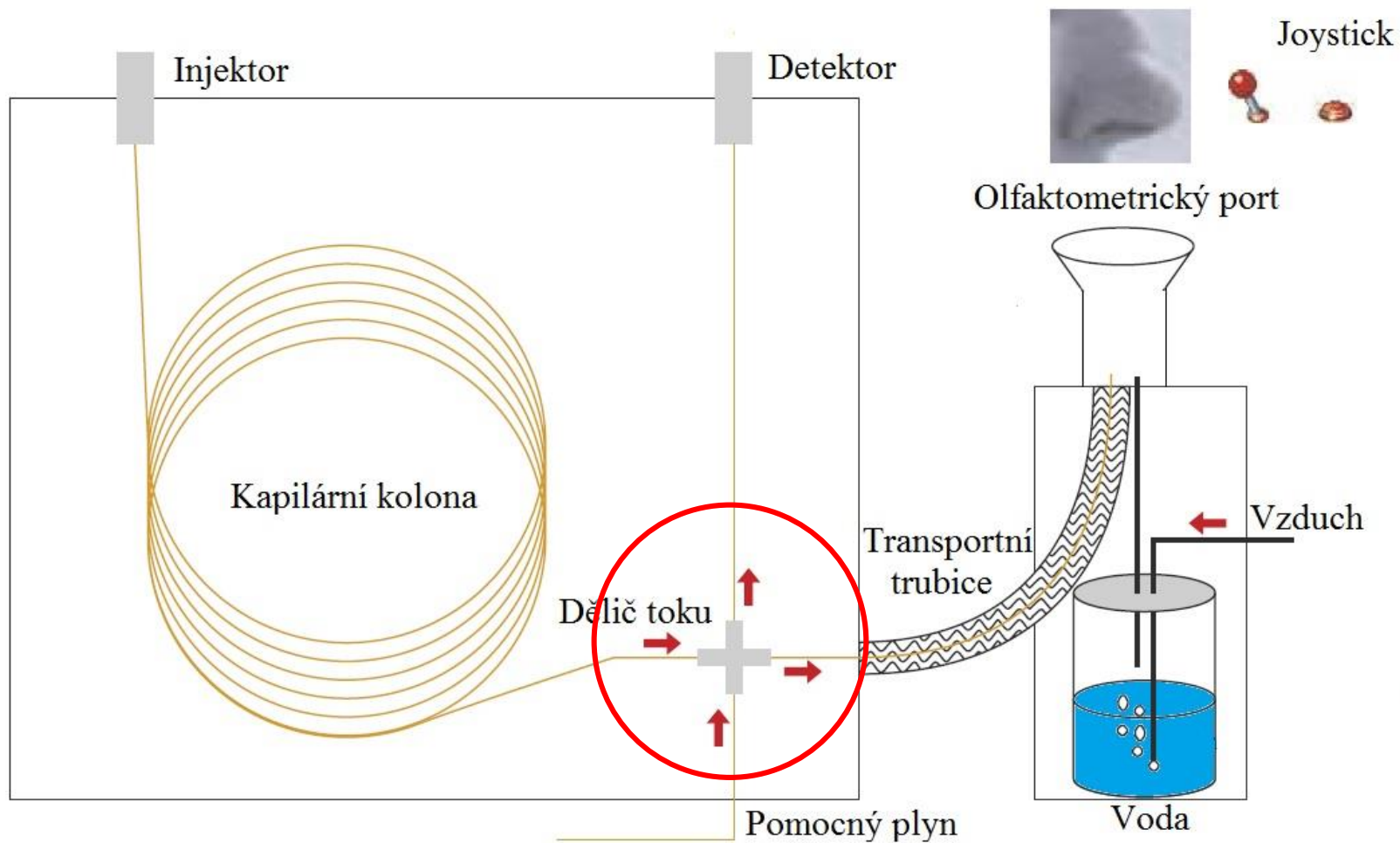
- Směs lehkých a malých molekul – těkavých látek v různých koncentracích
- Rozpuštěny v nosním epitelu → stimulují elektrickou reakci čichových nervů → signál přenesen do mozku → zde pachy rozpoznávány díky paměťovému efektu - vysoká subjektivita vnímání pachu
- Detekce nosem až 10^{-17} g¹

GC-MS

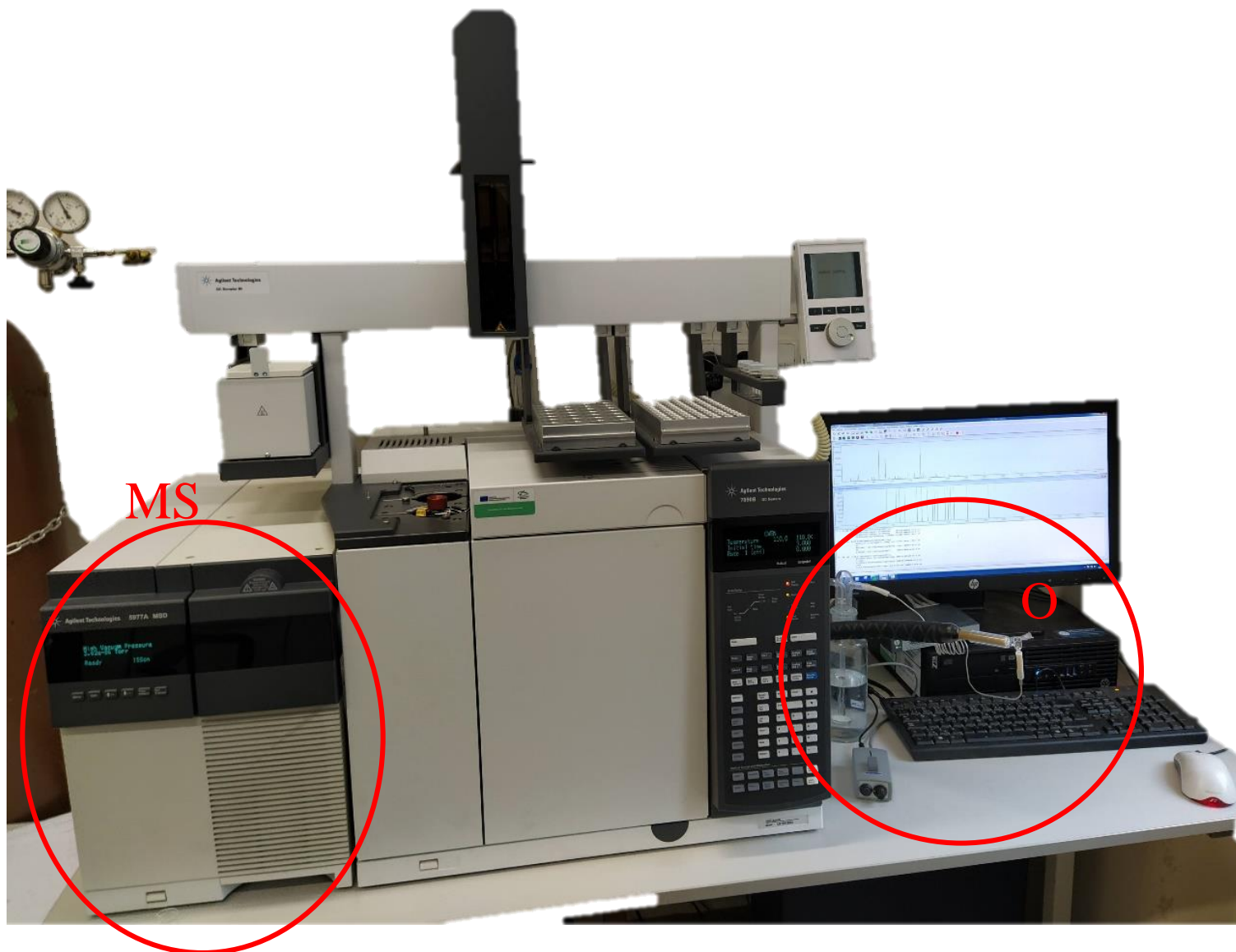
- Neposkytuje informaci o senzorické aktivitě látky
- Detekce max 10^{-13} g l^{-1}
- Velký pík (vysoká koncentrace) \neq silný zápach – nelineární závislost



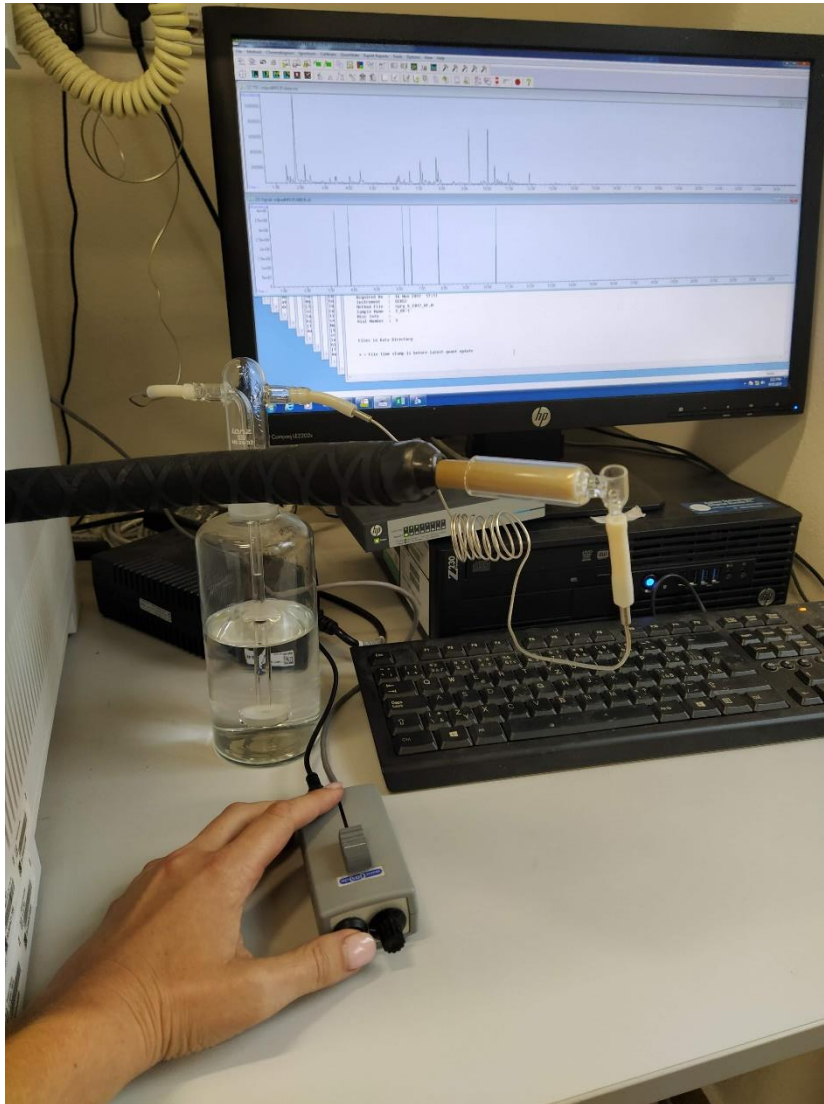
Řešením GC-MS/O



GC-MS/O



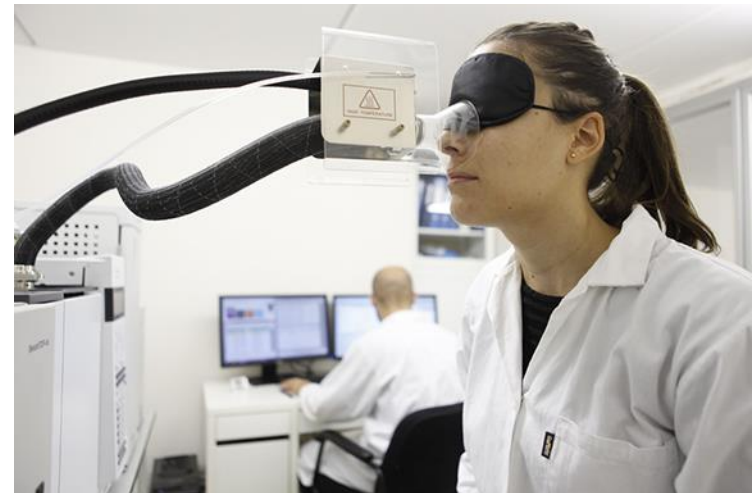
GC-MS/O – Olfaktometrický port



- Zvlhčování vzduchu proti vysychání sliznice
- Záznam tlačítkem a slovní popis (intenzity a charakteru pachu)

Trénování a testování hodnotitelů

- Pro větší objektivitu
- Přiřazení charakteru, srovnání dle intenzity, určení prahu vnímání vůně
- Pomocí standardních sloučenin ve formě
 - Infuzovaných papírků
 - Čichacích fixů
 - Testování přímo na olfaktometrickém detektoru

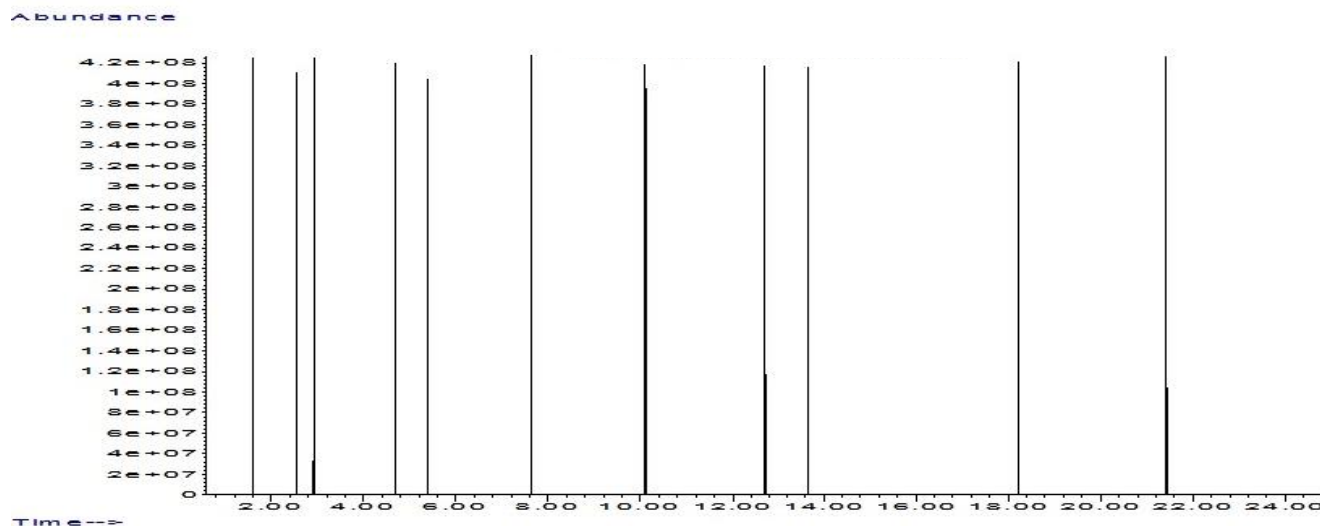
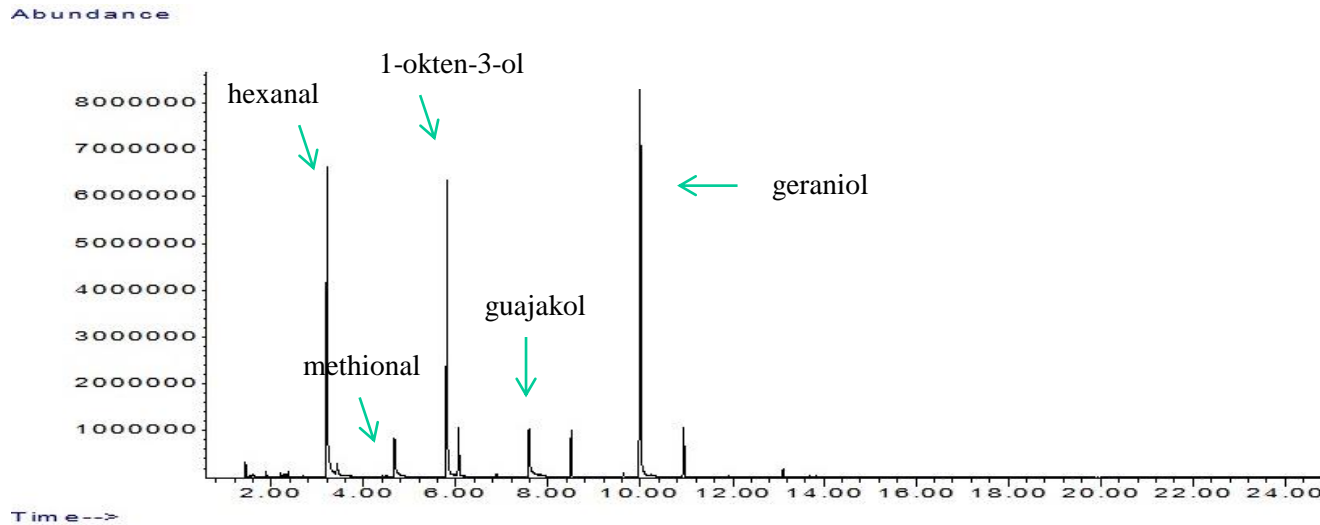


<https://www.odournet.com/wp-content/gallery/sensory-odour-testing/4.jpg>

Př. Testování na směsi standardů – GC-MS/O

Retenční čas	Látka	Hodnotitel A	Hodnotitel B	Hodnotitel C	Hodnotitel D	Literatura
3,2	hexanal	rajče	tráva	-	-	čerstvá, zelená, travnatá, listnatá
		2	2	-	-	
4,7	methional	staré brambory	zapařená	zápach	bramborová	šňouchané brambory, grilované maso, plíseň
		3	3	3	2	
5,8	1-okten-3-ol	houby	zkažená ryba	-	-	zemitá, mastná houbová
		2	2	-	-	
7,6	o-guajakol	gumová	nepříjemná	puch/olivy	uzené maso	fenolická, medicínální, uzená
		3	2	2	3	
10,0	geraniol	modelína	svěží ovocná	nakyslý zápach	květinová	květinová, růžová
		2	1	2	2	

Př. Testování na směsi standardů – GC-MS/O



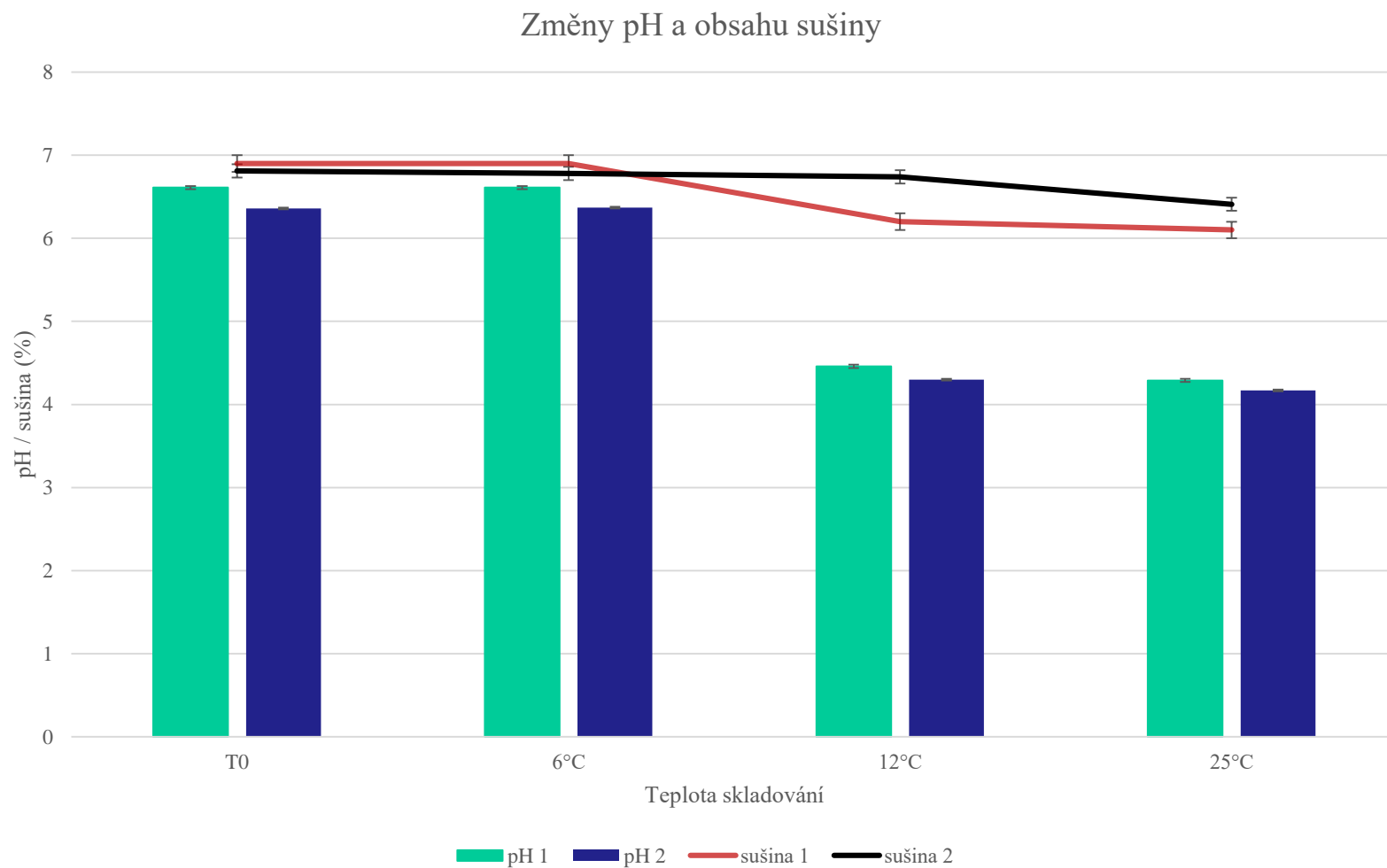
Látky se neprodávají jako čisté (100%) → viditelné i jiné píky

■ Případová studie - kažení syrovátky

- Úkol: poznáme kažení dřív pomocí GC-MS/O?
- Metodika: porovnání pH, obsahu sušiny a počtu kvasinek, plísní a koliformních bakterií s GC-MS/O
- Vzorky: čerstvé sladké syrovátky skladované 7 dní v 6, 12 a 25 °C
- 3 hodnotitelé

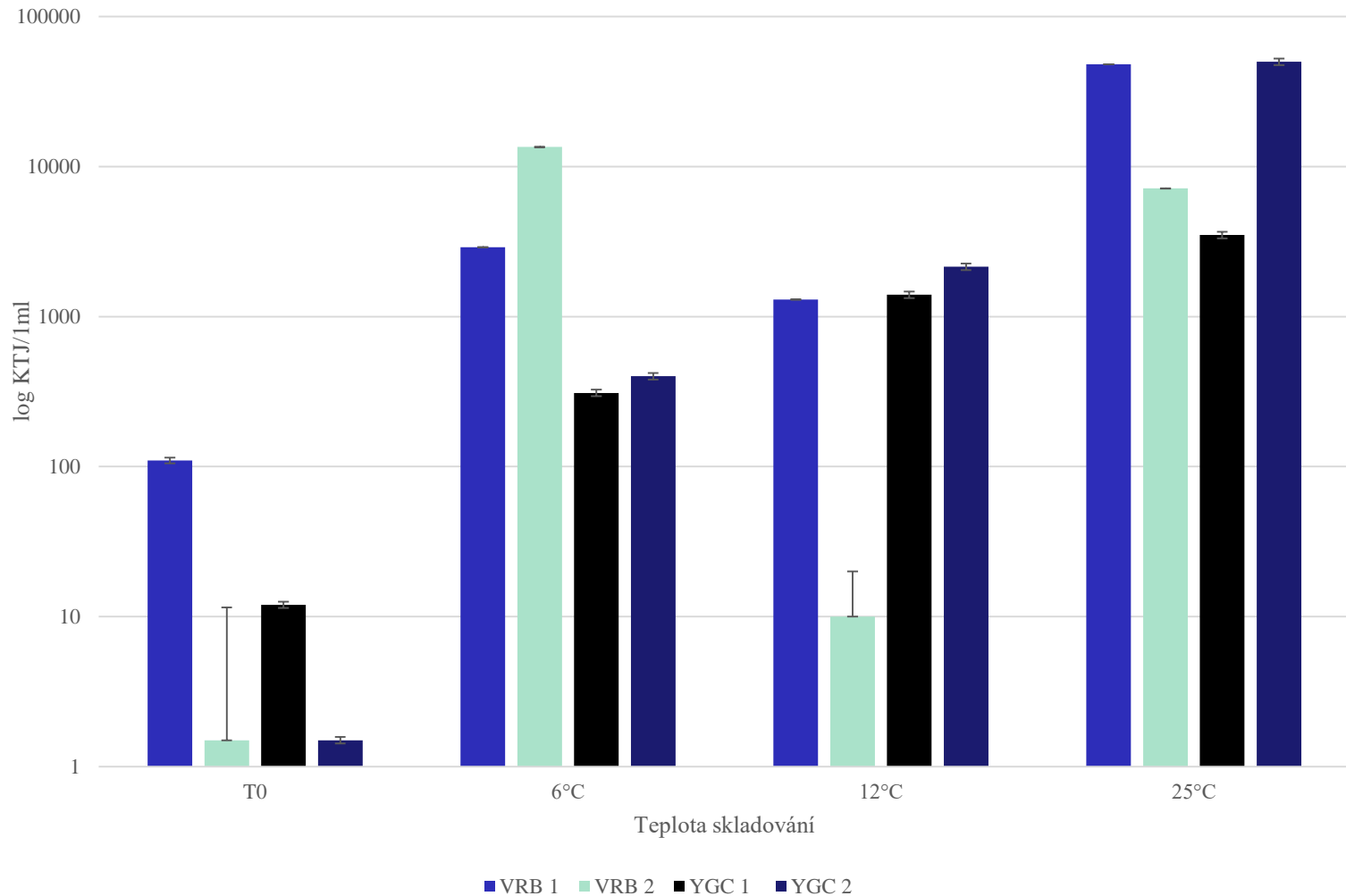


Obsah sušiny a pH



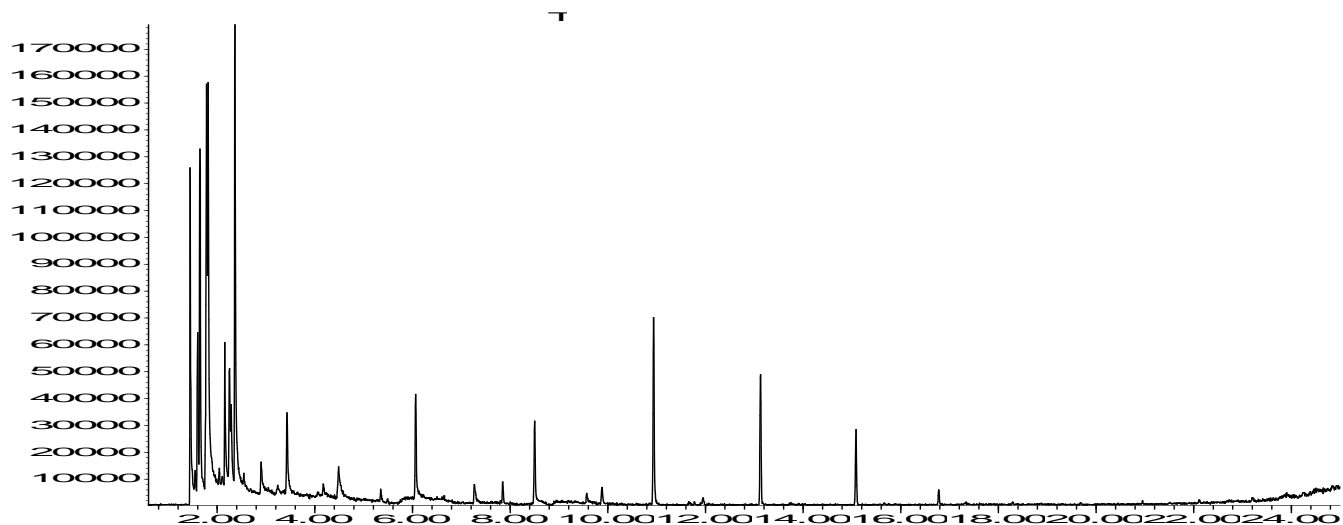
Mikrobiologické rozbory

Nárůst koliformních bakterií, kvasinek a plísní



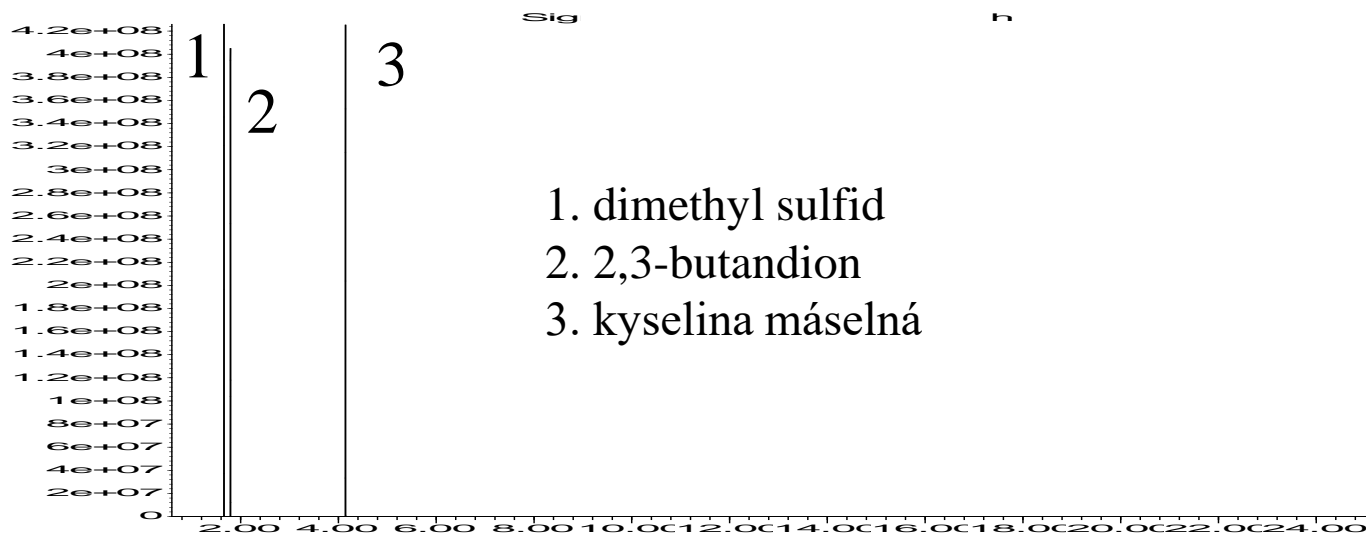
Vzorek uchováván při 25°C

Abundance




Time→

Abundance



Time→



Případová studie - kažení syrovátky

- Závěr: Mikrobiologie byla rychlejší při našem počtu hodnotitelů
- Potřeba tréninku a většího panelu

■ Případová studie – pařený sýr



- Úkol: Které látky jsou zodpovědné za vůni sýra?
- Metodika: trénování 12 hodnotitelů pomocí čichacích fixů a analýza GC-MS/O
- Vzorky: pařený sýr analyzován vždy v době jeho minimální trvanlivosti (4 dny)

Testování hodnotitelů

- Čichací fixy



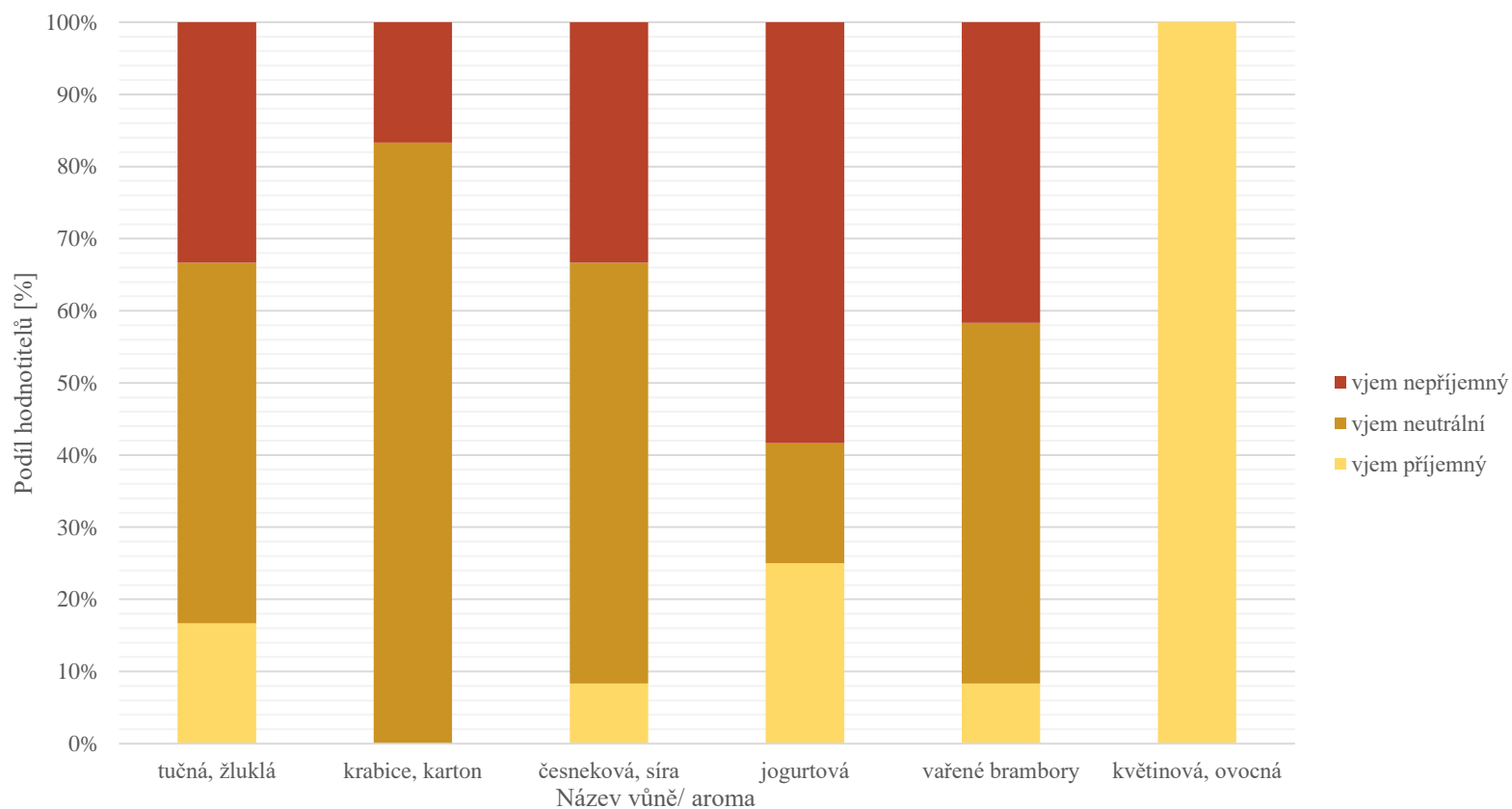
parfémovaný fix	chemická sloučenina	vůně/aroma
1	(E,E)-nona-2,4-dienal	tučná, žluklá
2	non-2-enal	krabice, karton
3	dimethyldisulfid	česneková, síra
4	3-hydroxybutan-2-on (acetoin)	jogurtová
5	methional	vařené brambory
6	δ -dekalakton	květinová, ovocná

https://www.olfasense.com/wp-content/uploads/2019/06/mg_4041.jpg

https://www.olfasense.com/wp-content/uploads/2019/06/mg_3697-1024x683.jpg

Testování hodnotitelů

- Příjemnost je vnímána různě



Testování hodnotitelů

- ✓ -hodnotitel dovedl aroma správně slovně identifikovat
- -hodnotitel správně aromatu přiřadil jeho popis z možností
- ✗ -hodnotitel aromatu nesprávně přiřadil popis/ u hodnotitele nebyl vyvolán počitek

		Vzorek					
		1	2	3	4	5	6
Hodnotitel	1	—	—	✓	✓	—	✓
	2	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	3	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	4	✓	✓	—	—	✗	—
	5	—	✓	✓	✓	✓	—
	6	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	7	—	—	—	✓	✓	✓
	8	✗	✗	✓	—	✗	✓
	9	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	10	✓	—	✓	✗	—	✓
	11	—	✓	✓	—	—	✓
	12	—	—	✓	✓	—	✓

Hodnotitelé 2,3,5,6,9 vybráni pro olfaktometrii

■ Případová studie – pařený sýr

- NIF = poměr počtu hodnotitelů, kteří podnět zachytili a celkového počtu hodnotitelů (0-nikdo až 1-všichni)

Retenční čas	Název sloučeniny	NIF	Charakteristika aroma
2,18	butan-2,3-dion	0,8	mléčné, jogurt
2,76	kyselina octová	1	Sladkokyselé
5,12	kyselina butanová	1	žluklá, máslo
7,07	heptan-2-on	0,6	ovocná
7,43	neznámá látka (methional?)	0,8	vařené brambory
8,4	benzaldehyd	0,4	ostré
8,87	kyselina hexanová	0,8	tučný sýr
9,87	benzenacetaldehyd	0,6	trávnové
10,62	nonan-2-on	0,8	sladké, mléčné

Neznámá látka – nebyla spolehlivě identifikovaná na chromatogramu (nos citlivější než detektor), identifikovaná pomocí popsané vůně a retenčního indexu → methional

■ Případová studie – pařený sýr

Závěr: aroma pařených sýrů tvoří zejména **organické kyseliny**: kyselina octová, kyselina butanová a kyselina hexanová, dodávající sýru sladkokyselý mléčný nádech

Dále karbonylové sloučeniny: butan-2,3-dion – mléčné aroma, heptan-2-on – aroma ovocné a nonan-2-on – sladké, mléčné aroma

Navíc identifikováno trávové aroma (benzenacetaldehydu) a aroma vařených brambor (methional), které by GC-MS sám nezaznamenal

■ Případová studie – jahodový protein

- Úkol: Kontrola správného nastavení doby trvanlivosti
- Metodika: mikrobiologický rozbor, stanovení peroxidového čísla, GC-MS/O
- Vzorky: čerstvý a starší výrobek WPC 90 příchut' jahoda, WPI 90 bez příchutě jako pozadí



■ Případová studie – jahodový protein

- Výsledky mikrobiologických rozborů, peroxidové číslo a senzoričné hodnocení

Vzorek	CPM (KTJ/g)	Plísňe a kvasinky (KTJ/g)	Peroxidové číslo (mili kv. akt. O ₂ /kg)	Senzoričné hodnocení – rozdílová zkouška	Hodnocení senzoričného profilu
1	$6,2 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^1$	< 0,5	rozdíl mezi vzorky v chuti a vůni byl průkazný	Vzorek 2 byl popsán jako více sladký, s pachutím po stevii, světlejší, s odlišnou pěnivostí a hladší strukturou, aroma se hodnotitelům zdálo více umělé a zatuchlé
2	$8,2 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^1$	< 0,5		

Případová studie – jahodový protein

Relativní zastoupení sensoricky aktivních látek testovaných vzorků

T _r	Identifikace látek/vzorek	Starý	Čerstvý	Blank
min		%	%	%
5,2	hexanal	29	12	42
5,3	ethylbutanoát	31	27	0
6,3	2-hexenal	4	4	0
6,3	3-methylbutanoát	3	7	0
7,3	heptanal	5	1	3
8,6	dimethyltrisulfid	0	0	3
9,1	ethylhexanoát	24	42	1
9,1	oktanal	2	1	2
9,6	2-ethylhexanol	1	1	44
10,1	4-methoxy-2,5-dimethyl-3-furanon	1	1	0
10,8	nonanal	1	3	5

majoritní vůně identifikované při olfaktometrickém jsou vyznačeny červeně

■ Případová studie – jahodový protein



- Závěr: mikrobiální i chemická stabilita dobrá, nepřítomnost těkavých indikátorů rozkladu tuků (kyselina máselná, 2,4-dekadienal, 2,6-nonadienal, 2-nonenal) a indikátorů rozkladu bílkovin (dimethyldisulfid a dimethyltrisulfid, methional) svědčí o akceptovatelné čerstvosti obou vzorků.

Závěrem

- Citlivá metoda, instrumentálně nezastupitelná
- Pro minimalizaci odchylek mezi jednotlivými hodnoceními je nutné zajistit: (1) výběr proškolených a na analyzované látky dostatečně citlivých hodnotitelů
- (2) konstantní podmínky analýzy pro všechny hodnotitele (mj. stejné pořadí vzorků, stejná škála pro hodnocení intenzity)
- (3) přiměřená délka trvání analýzy (max. 30 min, při delších analýzách je možnost rozdělit analýzu mezi dva hodnotitele, kteří se po dané době vystřídají)
- (4) laboratoř, kde je umístěn GC-O musí být prostá cizích vůní a zvuků a musí splňovat podmínky pro celkovou fyzickou a psychickou pohodu hodnotitelů (konstantní teplota, osvětlení)

Literatura a další informace

- 1) Britz, T.J., C Van Schalkwyk, and Y-T Hung. 2006. “Treatment of Dairy Processing Wastewaters.” In *Waste Treatment in the Food Processing Industry*, Taylor and Francis Group, 1–28.
- Curioni, P. M. G., & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959–984. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00124-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00124-3)
- Šístková, I., Haubeltová, A., Pohůnek, V., & Čížková, H. (2017). *Identifikace senzoricky aktivních látek minerálních vod s citronovou příchutí pomocí plynové chromatografie s olfaktometrickým detektorem*. 111, 343–348.
- Brattoli, M., Cisternino, E., Rosario Dambruoso, P., de Gennaro, G., Giungato, P., Mazzone, A., ... Tutino, M. (2013, December). Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds. *Sensors (Switzerland)*, Vol. 13, pp. 16759–16800. <https://doi.org/10.3390/s131216759>
- Vene, K., Seisonen, S., Koppel, K., Leitner, E., & Paalme, T. (2013). A Method for GC–Olfactometry Panel Training. *Chemosensory Perception*, 6(4), 179–189. <https://doi.org/10.1007/s12078-013-9156-x>

Děkuji



Uskutečněno za finanční podpory projektu QK1710156 (MZe/NAZV)

Kontakty:

Ing. Mariana Hanková

doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Ústav konzervace potravin, FPBT, VŠCHT Praha

e-mail: mariana.hankova@vscht.cz

e-mail: helena.cizkova@vscht.cz