

Izbirni predmet
Senzorične metode

Tuja in spremenjena aroma

Predavanja za študente II. in III. letnika
Živilstvo in prehrana

Ljubljana, 2010/11

Tuja in spremenjena aroma

1. taint

- pokvarjen, onesnažen, ponarejen, razpadajoč;
- v kontekstu z živili: vsak tuj vonj ali okus, ki je nezaželen in običajno povezan s slabšanjem kakovosti oz. kvarjenjem izdelka.

Definicija ISO, 1992: **tuj vonj ali okus tisti, ki ga zaznamo s človekovimi čutili in pride v živilo od zunaj.**

Običajno so to kontaminanti, ki jih zaznamo pri ekstremno nizkih koncentracijah, npr. ppm (10^6), ali ppb (10^9), ali celo ppt (10^{12}).

2. off-flavour: označen nezaželen vonj, okus ali aroma, ki je posledica sprememb v izdelku samem.

Je posledica kemijskega ali mikrobiološkega delovanja in s tem spremembe spojin, ki so sicer normalna sestavina živila - nastane ena ali več spojin nezaželenega vonja, okusa ali arome.

Kaj povzroča tujo aromo:

- onesnaženo okolje,
- mikrobiološko delovanje – rast MO,
- kemijsko delovanje – oksidacija maščob,
- delovanje endogenih encimov (razgradnja)

Vrste sprememb

Živila - biološki material! Vplivi: MO, encimi, kemijske spojine, skladiščenje, transport, okolje

Rezultat: sprememba senzoričnih lastnosti.

Spremembe so

- zelo hitre npr. v svežih proizvodih,
- zelo počasne - v konzerviranih živilih.
- nujne in pomembne za izboljšanje senzorične kakovosti izdelka, za razvoj značilne arome: sir, fermentirani mesni izdelki, alkoholne pijače
- nezaželjene, kadar neugodno vplivajo na kakovost živil ali povzročijo spremenjene senzorične lastnosti: izgleda, vonja, okusa, arome in teksture živila.

Preskuševalci

- **Strokovnjaki!** njihovih rezultatov ne smemo posplošiti na vse uporabnike (ne predstavljajo populacije)
- Če nas zanima ali je neka tehnološka sprememba taka, da bi jo zaznali tudi potrošniki, izberemo skupino netreniranih preskuševalcev – potrošnikov – te odgovore lahko posplošimo na celotno populacijo.
- **Izbrani, občutljivi za določen vonj!**
- Zelo velike razlike v občutljivosti!

Prag občutljivosti:

koncentracija raztopine, ki pomeni prag, se:

- za 10 % najbolj oz. najmanj občutljivih preskuševalcev razlikuje za faktor 200-krat,
- za 5 % najbolj občutljivih za 2000-krat in
- za 1 % najbolj občutljivih celo za milijonkrat.

Preskusi

Preskusi razlikovanja - najbolj primerni za ugotavljanje prisotnosti tuje in spremenjene arome.

- **triangel preskus**, (verjetnost 1/3)
- vsi preskuševalci dobijo kombinacijo z dvema vzorcema s tujo aromo (T) in en kontrolni vzorec (K): **TTK, TKT, KTT**; (KKT, KTK, TKK)
- **primerjava v parih in duo-trio preskus**
(prednost: le en vzorec s tujo aromo)

Zaščita preskuševalcev

- Posebne zahteve glede zaščite preskuševalcev pred tveganji uživanja kontaminirane hrane!
- Predvideti moramo: kdaj je požiranje dovoljeno!

Če ni ustreznih podatkov, je pri ocenjevanju tujih vonjev vsako živilo **potencialni kontaminant!**

Zaznava

Stopnja percepcije za posamezen vonj ali okus izredno variira; npr.:

limonin v pomarančnem soku zazna iz iste grupe:

- pri konc. 3 ppm okrog 50 % preskuševalcev,
- pri 0,3 ppm le okrog 5 %,
- pri 30 ppm pa ga zaznajo skoraj vsi.

V izdelku ne sme biti prisotna tuja aroma nad koncentracijo, ki jo zazna najbolj občutljiv preskuševalec.

Pozorni moramo biti, če jo zazna en sam preskuševalec!

Zanesti se moramo na prvi vtis, ker lahko dolgotrajni negativni učinek na olfaktorni ali gustatorni aparat onemogoči zaznavo.

Prag zaznave za vonj ali okus je definiran (ISO,1992): kot tista najmanjša koncentracija določene spojine, ki jo zazna 50 % preskuševalcev.

Na prag zaznavanja vpliva: kemijska zgradba spojine, koncentracija, vrsta živila, občutljivost preskuševalcev, medij, v katerem ocenjujemo

Tuja aroma - posledica mikrobiološkega delovanja

Meso in perutnina:

- *Pseudomonas* spp.: NH₃, amine, indole, skatol, H₂S.
- *Clostridium laramie*: H₂S v govejem mesu (<T 2°C).
- *Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium* spp., *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. in *Shewanella putrefaciens*: tuje vonje in arome v ohlajenem govejem in svinjskem mesu.
- *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* in *Weissella*: tuj vonj po kislem v prekajenem mesu .
- mlečno kislinske bakterije: tiramin in putrescin v suhih klobasah.

Ribe:

- *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. *Moraxella* spp. in *Shewanella*.
- *Lactobacillus sake*: v prekajenih lososih tuj vonj po žveplu.
- Aktinomicetes, cianobakterij in glive: geosmin in 2-metilisoborneol (MIB) - vonj po zemlji in zatohlem, iz mikrobioloških metabolitov v vodi in sedimentu

Mleko in drugi mlečni proizvodi:

- psihrotrofni mikrobi: *Pseudomonas fluorescens*, *P. fragi*, *P. putida* in *P. aeruginosa*: etil butirat in etil heksonat v ohlajenem mleku.
- *Bacillus cereus*, pogosto preživi pasterizacijo in raste v mleku pri 7 °C: sladkasto, nato grenko tujo aromo.
- subspecies *Lactobacillus casei*: fenolni tuji vonji v siru.
- osmotolerantna kvasovka *Hansenula anomala* (= *Pichia anomala*): tuj vonj etil acetata v keksih, polnjenih z lešnikovo kremo.

Zelenjava, sadje in sokovi:

tuji vonji kot posledica delovanja mlečnokislinskih bakterij, kvasovk in plesni.

- *Bacillus stearothermophilus*, *B. coagulans* in *Clostridium thermosaccharolyticum*: kisline, H₂S.
- Kvasovke *Candida*, *Rhodotorula* in *Trichosporon* pretvarjajo ferulično kislino v 4-vinilguaiacol.
- *Pediococcus* spp. in druge mlečnokislinske bakterije: amini, maslena in propionska kislina (v fermentiranih zelenjavnih izdelkih)
- Glive *Aspergillus*, *Fusarium* in *Penicillium*: tuje vonje v žitih.

Tuja aroma – posledica onesnaženega okolja

- Morske ribe - kerozinski tuji vonj.
- Sadje in zelenjava: ostanki pesticidov in drugih agrotehničnih kemikalij.
- v maščobah topni kontaminanti, ki se nahajajo v jezerih ali rekah, se bioakumulirajo v maščobah sladkovodnih rib in tako vstopajo v prehransko verigo.
- kemikalije, ki jih živali zaužijejo s krmo in krmili. Za ovce, ki se pasejo na beli detelji, ovsu, grašici, oljni repici ali lucerni, je značilno, da je njihovo meso intenzivne arome, po gnilih jajcih, osladno, ogabno.
- Teletina in govedina: aroma po travi je posledica δ -tetradekalakton in δ -heksdekalakton.
- Losos, polenovke: tuja aroma po petrolu, po črnem ribezu - spojine, ki vsebujejo žveplo.
- Piščanci, krmljeni z nenasičenimi maščobami (npr. iz tune), imajo izrazito "ribjo" aromo.
- Okoliški kontaminanti: kontejnerji, oz. embalažni material, ostanki črnih, barv za printerje, laki ali lepila; monomere in druge sestavine v sledovih od polietilena, polistirena, polivinil klorida, polipropilena in drugih plastik, ki se uporabljajo za pakiranje; penta- in tetra-klorofenoli, ki se uporabljajo kot lesni premazi; druge kemikalije iz palet, kartonov ali jutovinastih vreč.

Tuja aroma – posledica oksidacij

Oksidacija maščob v živilih, ki vsebujejo maščobo: tuj vonj in izgube hranil; oksidacija poteka tudi med skladiščenjem zamrznjenih živil.

Primarni produkti oksidativnih procesov: hidroperoksidi, konjugirani dieni in trieni.

Sekundarni produkti: propanol v ribjih izdelkih, heksanal v mesu služijo kot pravi pokazatelji poslabšanja arome.

Oksidacija maščob je encimska ali neencimska.

Inhibitorji oksidacije maščob - učinkoviti antioksidanti: nitrit, askorbinska kislina, fenoli ali α -tokoferol.

Tuja aroma – posledica encimskega delovanja

- Za razgradnjo maščob sta odgovorni dve skupini encimov: lipaze in lipoksigenaze.
- Endogeni encimi - občutljivi na T kuhanja
- Med 10 dnevnim skladiščenjem kalamarov pri 2,5 °C so se vsebnosti hlapnih baz, amonija in trimetilamina konstantno večale in bile v korelaciji s senzorično ocenjeno kakovostjo.
- Velikokrat je št. MO konstantno - kvar torej ni odvisen od mikrobiološke razgradnje, ampak je povezan z avtolitičnimi encimi.
- Podobno so odkrili tudi v steriliziranih in nesteril. vzorcih Atlantske polenovke razgradnjo inozin monofosfata do inozina.

Zahteve pri analizi tuje arome

- Ali je spremenjena aroma posledica komponente, ki je nastala iz sestavin živila?
- Ali je tuja aroma migrirala v izdelek od zunaj?
- Ali je tuja aroma posledica hudih napak - neravnotežja sestavin, ki sicer oblikujejo značilno aromo izdelka?

Analiza tuje arome

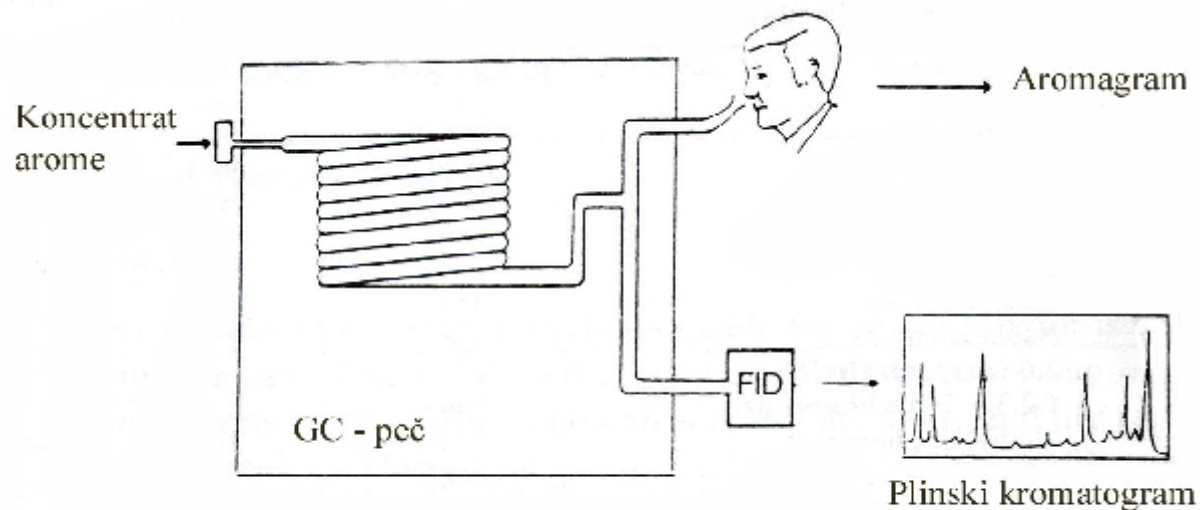
Priprava koncentratov

- **Ekstrakcija:**
 - destilacija s paro
 - z reduciranim pritiskom
 - v Soxhletovi aparaturi
- **Adsorpcija:**
 - analiza plinske faze
 - direktna adsorpcija na XAD-2 adsorbentu

Analiza tuje arome

Senzorična analiza

- Sposobnost zaznavanja tuje arome.
- Testiranje: vzorec s tujim vonjem in referenčni vzorec.
- Potrditev prisotnosti tuje arome v koncentratih.
- Določanje sestavin, ki so potencialni povzročitelji tuje arome – z **GS-vohalno (GS-sniffing) tehniko**.



- Analiza posamezne komponente: 5-10 s.
- Senzorični vtis hitro spremeniti v opis.
- Vpis v časovno opremljeno skalo.
- Ocenjevalec naj ne vidi kromatograma!
- Vohanje traja lahko največ 30 min; ali dvakrat po 6-8 min.
- Utrujenost olfaktorne organa! Zdravstveni razlogi - nosni rak – klorofenoli
- Rezultat GS-vohanja je aromagram, plinski kromatogram, z vsemi zaznanimi vonji navedenimi po času ločbe.
- GC-vohanje morata izpeljati vsaj dva ocenjevalca na eluentu referenčnega vzorca in eluentu vzorca s tujo aromo. Ustrezen pik na kromatogramu se označi kot pik, kjer se eluira komponenta nosilka tuje arome,

Kemijska analiza

- Titrimetrično določanje prostih maščobnih kislin (v homogeniziranem mleku).
- Mikrobiološki senzorji - “mikrobne” elektrode uporabljajo v FIA (20 vzorcev/uro).
- Optični senzorji - za detekcijo hlapnih sestavin (sulfidov).
- Kolorimetrični testi s tiobarbiturno kislino (TBK) (malonaldehid).
- Encimski testi (kiti) za določanje trimetilamina v ribah: hitri, občutljivi.

Hitri-terenski testi

- V ZDA so razvili metodo za določanje skupnih hlapnih spojin v morski hrani in drugih živilih.
- Razvili so stekleno detektorsko cev za določanje trimetilamina v vzorcih mleka (problem okusa po ribah).

Sodobne separacijske metode

- GC visoke ločljivosti (HRGC - high resolution gas chromatography)
- Dvodimenzionalna plinska kromatografija
- Trapping – ujetje in koncentracija plinske faze v hlajenih kapilarah
- HPLC

Identifikacija

SIM-MS - Selected-ion-monitoring mass spectrometry

- Prednosti SIM tehnike:
 - do 1000x boljša občutljivost (pikogrami)
 - boljša ponovljivost (pri kvantitativni analizi)
 - izključeni moteči piki (eluirajo skupaj na GC koloni)

Kemijske spojine

Klorofenoli in bromofenoli - povzročajo okus po dezinfekcijskem sredstvu že v koncentracijah pod 1 ppb.

Haloanizoli - vonj po zatohlem, plesnivem.

- Nastajajo z mikrobiološkim metiliranjem klorofenolov.
- Za kloroanizole, spojine iz te skupine, je znano, da je prag vonja vodnih raztopin nižji kot za katerokoli drugo komponento.
- Predvsem v živilih z veliko maščobe: kakav, čokolada; pa tudi suho sadje, vino, kava

Fenoli – pogosto se omenjajo pri oblikovanju za živila netipičnih, spremenjenih lastnih vonjev. Enostavni, z alkiinimi skupinami substituirani in tudi njihovi halogenirani derivati povzročajo vonj po karbolu.

Primer:

- 4-metil fenol (p-krezol) v ocvrtem krompirju (vonj po odplakah, po kanalizaciji); vzrok vlažna stena v skladišču
- 2-etoksifenol v čokoladnem sladoledu (vonj po dimu); mikrobiološka razgradnja vanilina
- 2-metoksifenol v vinih; razgradnja lignina

Žveplo vsebujoče spojine - številne spremembe vonja so povezane z njihovo razgradnjo. Tipični hlapni produkti so vodikov peroksid, metil merkaptani in dimetilsulfidi.

Primeri:

- metil oksid v mesu iz hladilnice (vonj po urinu); razredčilo za barvo zidu vsebovalo ksilen in pentokson
- dimetilsulfoksid v orehih, kruhu, piščancih, pivu (okus po žveplu)
- 2,4-ditiapentan - okus po česnu
- dimetiltrisulfid - vonj po čebuli

Derivat *4-merkaptio-4-metilpentan-2-on*

- Nastane z reakcijo med nenasičenimi ketoni, metil oksidom (4-metilpent-3-en-2-on) in vodikovim sulfidom in ima vonj po urinu.

Alkoholi - nekateri ciklični alkoholi z izredno nizko mejo detekcije. Z dolžino verige se povečuje intenzivnost okusa, npr. 2-trans-heksen-1-ol ima sladko vinski okus, višji C8-C12 2-alken-1-oli imajo okus po maščobi. Spojina geosmin, trans-1,10-dimetil-trans-9-dekalol, povzroča neprijeten zatohel vonj (po zemlji, npr. v mokah).

- **Ogljikovodiki** – večkrat se omenja sorbična kislina - plastičen okus, po barvi, po kerozinu.
- **Estri in etri** – spojina 2-etoksi-heksa-3,5-dien je v vinu odgovorna za nezaželen okus po pelargoniji.
- **Amini** – “okus po grozdju” skladiščenega nemastnega mleka v prahu, zatohel vonj v krompirju, vinu, okuženih zmrznjenih ribah in govejih kosih mesa.
- **Klorirani ogljikovodiki** – zatohel vonj v piščancih, posledica pranja s HCH.
- **Karbonilne spojine** - hlapne komponente aldehydov in ketonov (spremenjen vonj v rastlinskih oljih in živalskih maščobah).
- **Derivati furana** - povzročajo poslabšanje okusa v različnih oljih: 2-pentilfuran, 2-cis-pentenilfuran, 2-trans-pentenilfuran in 5-pentenilfurfural.
- **Proste maščobne kisline** – povzročajo značilno spremenjen okus živil (grenak okus v soji in sojini moki). Nastajajo pri hidrolitično lipolitičnih spremembah