

## Využitie spektrofotometrie pri hodnotení arómy jablák

ALEXANDER PRÍBELA

**Súhrn.** Pri objektivizácii senzorického hodnotenia koncentrátov aromatických látok jablák sa využila UV spektrofotometria. Vzorky vykazujú dve maximá pri 228 a 280 nm, pričom absorpcia pri prvom maxime je asi 50-násobne vyššia ako pri druhom maxime. Absorpcia pri 228 nm odpovedá nenasýtenému *trans*-2-hexenal a *trans*-2-hexenolu. Medzi absorbanciou a týmito zlúčeninami sa zistila vysoká korelácia,  $r=0,987$ . Pomerne vysoká korelácia je aj medzi intenzitou vône a sumou absorbancií pri 228 a 280 nm ( $r=0,870$ ), čo umožňuje nahradiť zmyslové hodnotenie objektívnym.

Pri zahusťovaní jablčných štiav odparovaním vody za podtlaku dochádza k stratám aromatických zložiek, čím sa hotový výrobok ochudobňuje o veľmi cenné, zmyslovo aktívne zložky. Preto sa aromatické látky zachytávajú, koncentrujú a skladajú ako koncentrát aromatických látok, ktorý potom slúži na rearomatizáciu ovocných štiav a iných výrobkov. Nespotrebovaný koncentrát aromatických látok je veľmi cenná prírodná aróma, ktorú možno použiť aj v iných odvetviach potravinárskeho priemyslu, napr. v pekárskom, cukrovinárskom a tukovom priemysle, v kozmetike a pod.

Na hodnotenie koncentrátov jablkovej arómy sa doteraz nevypracovala vhodná objektívna metóda. Súvisí to s tým, že počet komponentov jablkovej arómy je veľmi vysoký (doteraz sa zistilo asi 160 zlúčenín) a ich koncentrácia veľmi rozdielna, od stôp po desiatky mg. kg<sup>-1</sup>. Preto sa hľadajú jednoduchšie metódy, ktoré by umožnili objektívne kvantifikovať charakteristické zložky, alebo funkčné skupiny rovnakých alebo blízkych zlúčenín. Názory na to, ktoré zložky sú charakteristické pre arómu jablák sú rozdielne. Kieser a Pollard [1] označili za základné zložky arómy C<sub>3</sub> a C<sub>6</sub> alkoholy a ich estery. White [2] ako prvý zistil v jablčnom koncentráte arómy nenasýtený aldehyd 2-hexenal. Podľa Kocha a Schillera [3] *trans*-2-hexenal je základnou zložkou jablčnej arómy. Power a Chesnut [4] pokladajú za najdôležitejšie zložky acetaldehyd a amylester kyseliny mravčej, kaprónovej a kaprylovej a predpokladajú, že druhovo a odrodovo špecifické zvláštnosti jablák zapríčínujú rozdielne kvantitatívne zastúpenie týchto zložiek v aróme.

Určitý pokrok v tejto problematike sa dosiahol až vtedy, keď sa korelovali závislosti obsahu jednotlivých chemických individuí s ich organoleptickými vlastnos-

fami. Otázkami týchto vzťahov sa zaoberali Flatha a spol. [5], ktorí dospeli k záveru, že látky hexanol, *trans*-2-hexenal a 2-metylmaslan etylový najlepšie zodpovedajú pojmu jablková aróma. Oba aldehydy pripomínajú vôňu zelených jablák a estery majú charakter vône zrelých jablák.

Senzorické hodnotenie jablák Golden Delicious Jacoba a spol. [6], viedlo k identifikácii ďalšej zložky, ktorá sa svojimi senzorickými vlastnosťami kvalifikovala medzi látky zúčastňujúce sa na tvorbe typickej jablkovej arómy — ide o 2-metylmaslan hexylový. Jej prítomnosť sa potvrdila aj v odrode Jonatan [7]. Predmetom ďalšieho výskumu bol vývoj metódy vhodnej na charakterizáciu jablčných štiav a ich kvality. Jepsen [8] vychádzal pri hľadaní korelácií medzi výsledkami senzorického hodnotenia arómy a výsledkami plynovej chromatografie z overenej hypotézy, že rozdiely v aróme rozličných jablčných štiav (sledovali sa šťavy 15 odrôd jablák) sú prevažne kvantitatívneho charakteru.

V predložennom príspevku sme sa pokúsili objasniť vzťah medzi vysokou absorbanciou koncentrátov jablkových aróm v UV-oblasti a  $\alpha$ ,  $\beta$  nenasýtenými zlúčeninami ako aj celkovej karbonylovými zlúčeninami.

### Experimentálna časť

V experimentálnej časti sme použili priemyselné koncentráty jablkovej arómy vyrábané konzervárenským priemyslom v ČSR.

**Karbonylové zlúčeniny** sme stanovili fotometricky po vyzrážaní s 2,4-dinitrofenylhydrazínom. Príslušné hydrazóny a osazóny sme po rozpustení v zmesi chloroform-etanol (1:1) merali pri 360 nm, resp. po ich alkalickú úpravu pri 435 nm, [9] a vyjadrili ako acetaldehyd v  $\text{mg.l}^{-1}$  vzorky. Použil sa prístroj Spekol 10, C. Zeiss, Jena, NDR.

**UV—spektrá.** V koncentrátoch aromatických látok jablák sme zmerali spektrá v UV—oblasti od 200 do 400 nm na dvojlúčovom registračnom spektrofotometri Specord UV VIS, C. Zeiss, Jena, NDR. Vzorky sme merali bez zriedenia v 1,0 ml kyvetách a zriedené 1:5 v 0,1 ml kyvetách. Ako porovnávací roztok sme použili 10 % vodný roztok etanolu pre UV. Absorbancia sa odčítala pri maximách 228 a 280 nm.

**Identifikácia aromatických zložiek.** Jednotlivé zložky arómy sme identifikovali hmotnostnou spektrometriou v spojení s plynovou chromatografiou — prístroj Varian GC/MS MAT 111.

Podmienky na plynovom chromatografe: 1,5 m kolóna z nehrdzavejúcej ocele vnútorného priemeru 2 mm, naplnená 15 % Carbowaxu 20 M na Chromatone NAW DCMCS zrnitosti 0,12—0,15 mm. Nosný plyn hélium 15  $\text{ml. min}^{-1}$ , ionizačný detektor. Teplotný program 50—200 °C, gradient 20 °C.  $\text{min}^{-1}$ . Teplota injekčného bloku 210 °C.

Podmienky na hmotnostnom spektrometri: Teplota odlučovača hélia 190 °C, teplota spojovacej kapiláry 180 °C, energia ionizujúcich elektrónov 80 eV, ionizujúci prúd 270  $\mu$ A, teplota iónového zdroja 200 °C. Hmotnostné spektrá sa snímali na vrcholoch elučných vln.

**Senzorické hodnotenie.** Intenzita vône sa sledovala zmyslove zriedovacím testom. Zisťovali sa prahové koncentrácie skúmaných aróm, ktoré sa vyjadrili stupňom zriedenia. Členmi hodnotiteľskej komisie boli zamestnanci a študenti 4. a 5. ročníka odboru Konzervácie potravín a technológie mäsa, ktorých sme preskúšali na citlivosť vnímania a rozoznávania štandardných zmesí voňavých látok. Získané výsledky sa štatisticky spracovali a korelovali s analytickými údajmi.

**Štatistické hodnotenie.** Pri štatistickom hodnotení analytických a senzorických meraní sme použili korelačný koeficient a regresnú analýzu [9].

Vzťah pre odhad výberového korelačného koeficientu ( $r$ ):

$$r = \frac{n S_{xy} - (S_x) \cdot (S_y)}{(n S_x^2 - S_x^2) \cdot (n S_y^2 - S_y^2)^{1/2}},$$

kde  $n$  je počet meraní,  $S_x$ ,  $S_y$  súčet hodnôt členov súborov ( $x$ ,  $y$ ),  $S_x^2$ ,  $S_y^2$  súčet štvorcov hodnôt členov súborov ( $x$ ,  $y$ ),  $S_x^2$ ,  $S_y^2$  súčet štvorcov hodnôt členov súborov ( $x$ ,  $y$ ) a  $S^2x$ ,  $S^2y$  kvadrát súčtov hodnôt členov súborov ( $x$ ,  $y$ ).

Vzťah na výpočet regresnej priamky:

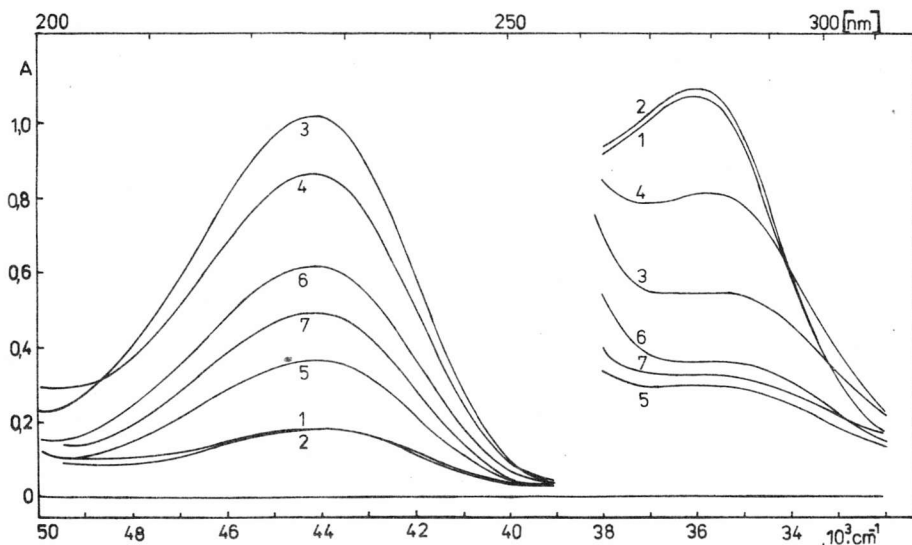
$$\begin{aligned} y &= a + bx \\ b &= \frac{A}{B}, \quad A = n S(xy) - S_x \cdot S_y, \\ &\quad B = n S_x^2 - S_x^2, \end{aligned}$$

kde  $b$  je smernica priamky  $a = y - bx$ . Hodnota  $a$  je posun regresnej priamky.

### Výsledky a diskusia

Zmeraním spektier v UV-oblasti sme zistili, že všetky vzorky vykazujú dve maximá. Pri 228 nm je mohutná absorpcia, ktorá je asi 50-násobne vyššia ako pri 280 nm. Preto bolo potrebné vzorky koncentrátov jablčnej arómy zriediť päťnásobne a použiť kyvetu hrúbky 0,1 cm. Pri 280 nm sa merala vzorka priamo (bez riedenia) v 1 ml kyvete. Záznam spektier v UV-oblasti je na obrázku 1.

Z obrázku 1 vidieť, že sú značné rozdiely medzi absorbanciou jednotlivých vzoriek, pričom spravidla vzorky s vysokou absorbanciou pri 228 nm majú nízku absorbanciu pri 280 nm, a naopak.



Obr. 1. UV-spektrá vzoriek koncentráту aromatických látok jabĺk.

Ak sa spočítali prosté absorbancie namerané pri 228 a 280 nm, dostali sme sumu, ktorá bola v relácii s obsahom karbonylových zlúčenín zistených fotometricky — ako to vyplýva z tabuľky 1.

Vypočítaná korelácia medzi sumou absorbancií zistených z UV-spektier a obsahom karbonylových zlúčenín ukazuje pomerne úzku závislosť uvedených veličín, pretože korelačný koeficient je relatívne vysoký ( $r = 0,813$ ).

Tabuľka 1. Korelačná závislosť karbonylových látok stanovených plynovou chromatografiou a fotometricky

Vzorka	Výška pík v mm (acetaldehyd a <i>trans</i> -2-hexenal)	Obsah karbonylov [mg, l <sup>-1</sup> ]	Štatistická charakteristika
1	8,40	452	$a = -53,587$ $b = 60,429$ $r = 0,975$ $t = 48,4$
2	8,35	434	
3	25,30	1286	
4	24,60	1638	
5	5,90	333	
6	14,00	780	
7	6,95	352	

Detailným štúdiom aromatických látok jabĺk plynovou chromatografiou spojenou s hmotnostnou spektrometriou sme zistili prítomnosť asi 20 zložiek (alkoholy, estery, karbonylové zlúčeniny). Zaujímavé zložky, ktoré sme identifikovali, sú dve

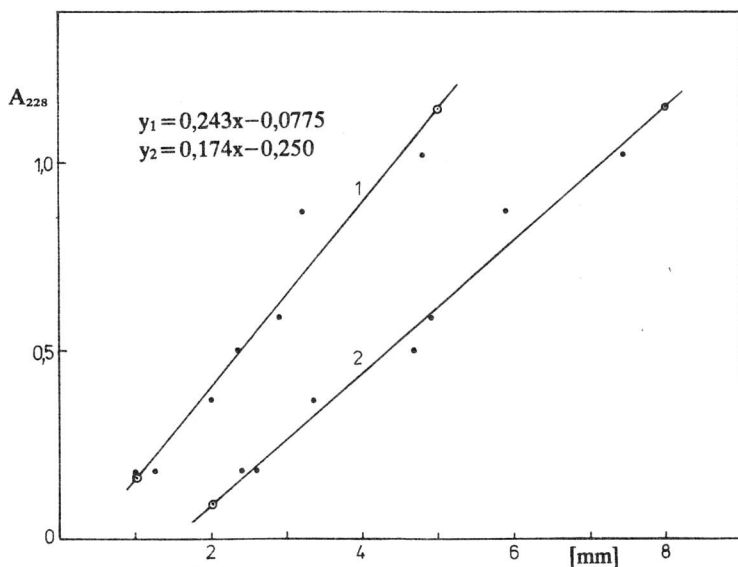
nenасыtené zlúčeniny — *trans*-2-hexenal a *trans*-2-hexenol. Z karbonylových zlúčenín vo väčšom množstve sa vyskytoval ešte acetaldehyd. Ostatné karbonyly sa buď neoddelili ako samostatné píky, buď ich koncentrácia bola príliš malá.

Ak sme porovnali sumu acetaldehydu a *trans*-2-hexenal so sumou karbonylových zlúčenín stanovených fotometricky, dostali sme veľmi vysokú hodnotu korelačného koeficientu ( $r=0,975$ ) (tab. 1). Veľmi zaujímavá je závislosť absorpcie pri 228 nm a obsahom *trans*-2-hexenal. Korelačný koeficient je vysoký,  $r=0,969$ . Ešte užšia je závislosť sumy *trans*-2-hexenal a z neho vzniknutého *trans*-2-hexenolu a absorpciou pri 228 nm, kde  $r$  je až 0,987. Regresné priamky študovaných veličín sú na obrázku 2.

Z uvedeného je zrejmé, že vysoká absorpcia pri 228 nm je spôsobená najmä dvojitou väzbou *trans*-2-hexenal a *trans*-2-hexenolu v  $\alpha$  a  $\beta$  polohe. Naproti tomu absorpcia pri 280 nm je typická pre CO skupiny, ktoré v koncentrátoch jablkovej arómy reprezentujú okrem karbonylových látok ešte estery. Pri 280 nm je absorpcia asi 50-krát nižšia ako pri 228 nm a preto pomerne málo ovplyvňujú celkovú hodnotu absorpcií pri oboch vlnových dĺžkach.

Ďalej sme zistili zaujímavú závislosť aj medzi senzorickým hodnotením intenzity vône jablkových aróm a absorpciou v UV-oblasti. Korelačný koeficient je relatívne vysoký,  $r=0,870$  (tab. 2).

Z uvedených výsledkov možno predpokladať, že na objektívne hodnotenie kvality a najmä intenzity vône koncentrátov aromatických látok jablák je vhodná metóda



Obr. 2. Závislosť *trans*-2-hexenal a *trans*-2-hexenolu od absorpcie v UV-oblasti. 1 — *trans*-2-hexenal (výšky píkovo v mm), 2 — suma *trans*-2-hexenal a *trans*-2-hexenolu (výšky píkovo v mm).

Tabuľka 2. Závislosť absorbancie v UV-oblasti a intenzitou vône

Vzorka	$A_{228} + A_{280}$	Senzorické hodnoty (prahová koncentrácia vône)
1	1,24	2472
2	1,26	2500
3	1,55	4307
4	1,67	4833
5	0,66	1627
6	0,94	3259
7	0,82	1766
$r=0,869$		

merania absorbancií v UV-oblasti. Výhodou tohto spôsobu hodnotenia je jednoduchosť a rýchla analýza bez akejkoľvek úpravy vzorky. Čas analýzy je asi 5 min. Chyba merania absorbancie pri analýzach je malá,  $\pm 2\%$ . Na základe tohto kritéria možno nahradiť zdĺhavé senzorické, prípadne detailné analytické hodnotenie a vylúčiť tak vplyv subjektívnych faktorov, čo je zvlášť výhodné pre rutinné kontrolné sledovanie akosti týchto produktov.

Podakovanie: Merania hmotnostných spektier urobil Ing. Š. Holotík, CSc., Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Bratislava, za čo mu autor ďakuje.

## Literatúra

1. KIESER, M. E.—POLLARD, A.: Int. Fruchtsaft Union, Ber. Wiss.-Techn. Komul., 4, 1962, s. 249.
2. WHITE, J. W.: Food Res., 15, 1950, S. 68.
3. KOCH, J.—SCHILLER, H.: Z. Lebensm.-Untersuch.-Forsch., 125, 1964, s. 364.
4. POWER, F. B.—CHESNUT, V. K.: J. Amer. Chem. Soc., 42, 1920, s. 1304.
5. FLATH, R. A. et. al.: Agric. Food Chem., 15, 1967, s. 29.
6. JACOB, M. A.—HIPPLER, R.—LÜTHI, H. R.: Mitt. Geb. Lebensm. Hyg. Co., 3, 1969, s. 223.
7. SCHREIER, P.—DRAWERT, F.—MICK, V.: Lebensm.-Wiss. Technol., 11, 1978, s. 116.
8. JEPSEN, O. M.: Flüssiges Obst., 45, 1978, s. 420.
9. PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v potravinách. Bratislava, Alfa 1978.

## Использование Уф-спектрофотометрии при оценке аромата яблок

### Резюме

Для объективизации сенсорной оценки концентратов ароматических веществ яблок была использована Уф-спектрофотометрия. Образцы дают два максимума при 228 нм и 280 нм, причем абсорбция при первом максимуме примерно в 50 раз выше, чем при втором. Абсорбция при 228 нм соответствует ненасыщенному *транс*-2-гексеналу и *транс*-2-гексенолы, между которыми была обнаружена высокая корреляция ( $r=0,987$ ). Сравнительно высокая корреляция наблюдается и между интенсивностью запаха и суммой абсорбции при 228 и 280 нм ( $r=0,870$ ), что позволяет заменить сенсорную оценку объективной.

## Ultraviolet spectrophotometry utilization in an evaluation of apple aromas

### Summary

In materialization of the sensoric evaluation of apple aroma concentrates the UV spectrophotometry has been used. Samples showed two maxima at 228 and 280 nm; absorption at the first maximum was about 50 times higher than at the second one. Absorption at 228 nm corresponded to the unsaturated *trans*-2-hexenal and *trans*-2-hexenol. Between the absorption and compounds mentioned a high correlation ( $r=0.987$ ) has been observed. Relatively high was also the correlation between flavour intensity and absorbance sum at 228 and 280 nm ( $r=0.870$ ); this allowing the sensoric evaluation to be replaced by objective one.