

GC-MS ANALÝZY PRÍRODNÝCH BANÁNOVÝCH ARÓM

LUKÁŠ GREMEŇ^a, PETRA MORAVČÍKOVÁ^a
a PETER FODRAN^b

^a Ústav biochémie výživy a ochrany zdravia, Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b FLOP, Gercenova 33, 851 01 Bratislava
moravcikova.p@gmail.com

Došlo 15.2.06, prepracované 24.4.07, prijaté 15.6.07.

Kľúčové slová: GC/MS, banánová aróma, prírodná aróma

Úvod

Analýzam prírodnej banánovej arómy bola a stále je venovaná mimoriadna pozornosť, najmä z dôvodov výroby kvalitných potravinárskych aróm. Kvalita prvých analýz od roku 1905 (cit.¹) do roku 1961 (cit.²) bola výrazne limitovaná možnosťami klasických techník organickej chémie. Prvé chromatografické analýzy výrazne rozšírili rozsah poznatkov o zložení banánových aróm³. Ďalším veľkým pokrokom pri analýze prírodných materiálov bola kombinácia plynovej chromatografie s hmotnostnou spektroskopiou⁴. Aj napriek týmto nesporným pokrokom v analýze banánových prírodných aróm sa ani zďaleka nedá povedať, že sú známe všetky komponenty, najmä minoritné a subminoritné, s mimoriadne vysokou senzoricou výdatnosťou. V oblasti analýz stopových komponentov banánovej arómy je veľmi zaujímavá práca Bergera a spol.⁵, ktorí analyzovali celý súbor subminoritných látok v banánovej aróme, v koncentráciách 5–40 µg / 100 g. V súčasnosti sa na analýzu banánových aróm používajú rôzne metódy. Základ je vždy plynová chromatografia, pričom sa nevyklučuje okrem detekcie jednotlivých obsahových zložiek hmotnostnou spektroskopiou aj napríklad „sniffing metóda“ (olfaktorická, teda senzoricá metóda), kde ako detektor je analytik, ktorý senzoricke hodnotí jednotlivé frakcie opúšťajúce kolónu, i napriek výraznej subjektivite pri vyhodnocovaní záznamu⁶. Čo sa týka analyzovanej zmesi ide väčšinou o extrakty z ovocia, sporadicky sa využíva „head space“ metóda, kde sa analyzuje súbor zložiek ovocia odprchávaných z analyzovaného materiálu a unášaných hnacím plynom, ktorá však nedáva reprezentatívne výsledky⁷, vzhľadom k veľkému rozptylu medzi výsledkami analýz dosiahnutými „head space“ metódou a inými metódami izolácie prchavých zložiek.

Najdôležitejším faktorom pri analýze banánovej prírodnej arómy je úprava ovocia. Banán je z hľadiska sen-

zorických vlastností ovocím mimoriadne háklivým. Nie je jedno, v akom štádiu dozrievania sa materiál extrahuje, pretože prítomný enzýmový aparát v ovoci postupne hydrolyzuje glykozidicky viazané alkoholy a najmä fenoly, takže senzoricke charakter ovocia sa mení od banánovo-zeleného až po banánovo-klinčekový, čo je dôsledok uvoľňovania fenolov eugenolového typu. Samozrejme na kvalitu prírodnej banánovej arómy výrazne vplýva vzhľadom na pôdno-klimatické podmienky proveniencie a tiež aj odroda ovocia použitého na analýzu. Z tohoto dôvodu teda výrazne kolíše kvantitatívne zloženie banánových aróm. Preto napríklad výsledky dosiahnuté Tresslom⁸, ktorý udáva pomer esterov : alkoholom : karbonylom na približne 95 : 4 : 1, sú v príkrom rozpore s niektorými ďalšími analýzami. Najväčšiu odchýlku od ostatných analýz vykazuje jednoznačne Shiotova práca⁹, ktorý ako absolútne dominantnú komponentu banánovej arómy izolovanej z filipínskych plodov identifikoval pentán-2-ón, v množstve 23,3 %, čo je raritný výsledok.

Z analýz uvedených v literatúre jednoznačne vyplýva, že pre typický charakter banánovej arómy sú dôležité najmä izoamylacetátové estery, s vhodným doplnkom „zelených“ komponentov, ako sú (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-hexenal a niektoré olefinické ketóny. Tieto látky sú typické pre banánovú šupu, pre dužinu okrem už uvedených najmä substituované alylfenoly.

Experimentálna časť

Chemikálie a prístroje

Dietyléter, dichlórmetán p.a kvality (Mikrochem SR), etylalkohol jemná rafináda (SLL SR)

Destilačná kolóna 35 teoretických prepážok (Schott & Gen, Jena, BRD), plynový chromatograf HP 5890 II s detektorom MSD 5071A (oboji Hewlett-Packard, USA).

Podmienky

Pec:

Počiatočná teplota 60 °C (On), začiatok detekcie 1,00 min, maximálna teplota 325 °C, rovnovážny čas 0,50 min.

Vstup:

Mód Split, počiatočná teplota 250 °C (On), tlak 72,9 kPa (On), deliaci pomer 30 : 1, prietok nosného plynu deličom 36,4 ml min⁻¹, celkový prietok 40,7 ml min⁻¹, typ plynu: He.

Kolóna:

DB-Wax, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm; 60 °C min⁻¹, 10 °C min⁻¹ do 250 °C, typ plynu: He, 13 psi.

MSD:

m/z 29–400 dalton, záznam celého hmotnostného spektra, 1,16 sken s⁻¹.

Použitá databáza:
NIST02.L

Úprava a spracovanie vzoriek

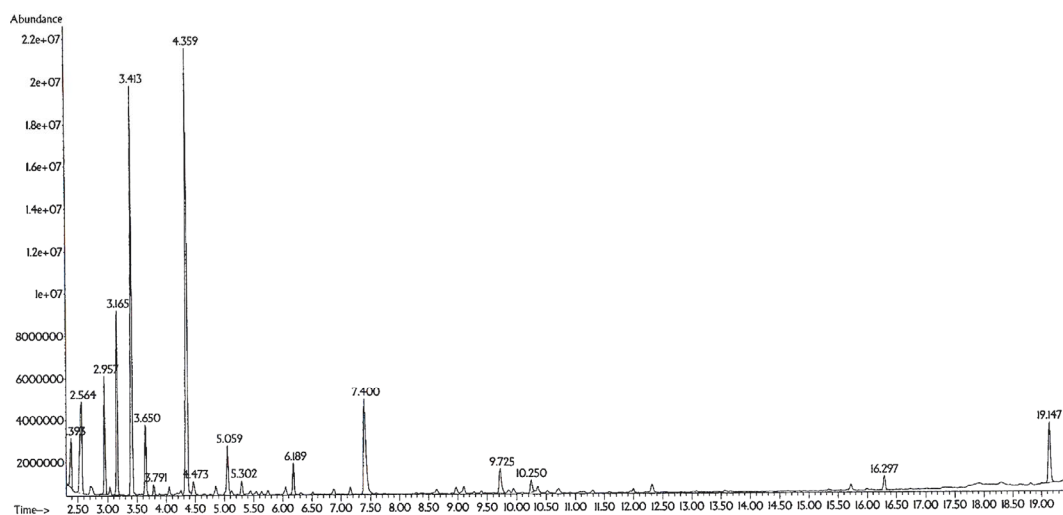
2,5 kg importovaných banánov (Guadaloupe a Martinique) sa naplákujú na cca 3 cm veľké časti a perkoluje sa 2 × 2,5 litrami dietyléteru a následne 2 × 2,5 litrami dichlórometánu. Každý perkolačný cyklus trvá 2 hodiny. Perkolačný roztok sa opatrne zahustí oddestilovaním rozpúšťadiel na destilačnej aparatúre opatrenej destilačnou kolónou. Koncentrované perkoláty sa spoja a zahustia na objem cca 50 ml. K destilačnému zvyšku sa pridá 10 ml etylalkoholu a destiluje sa ďalej tak, aby teplota na destilačnej hlave nepresiahla 42 °C. Takto sa oddestiluje dominantná časť rozpúšťadiel použitých na perkolačnú

aromatických zložiek banánov. Z takto vzniknutej suspenzie ochladením vypadnú vosky, ktoré sa odsajú na Büchnerovom lieviku, roztok sa mimoriadne opatrne odplyní, stanoví sa zvážením celkový výťažok, koncentrovaný perkolát sa zriedi etanolom na cca 10% koncentráciu a roztok sa podrobí GC-MS analýze.

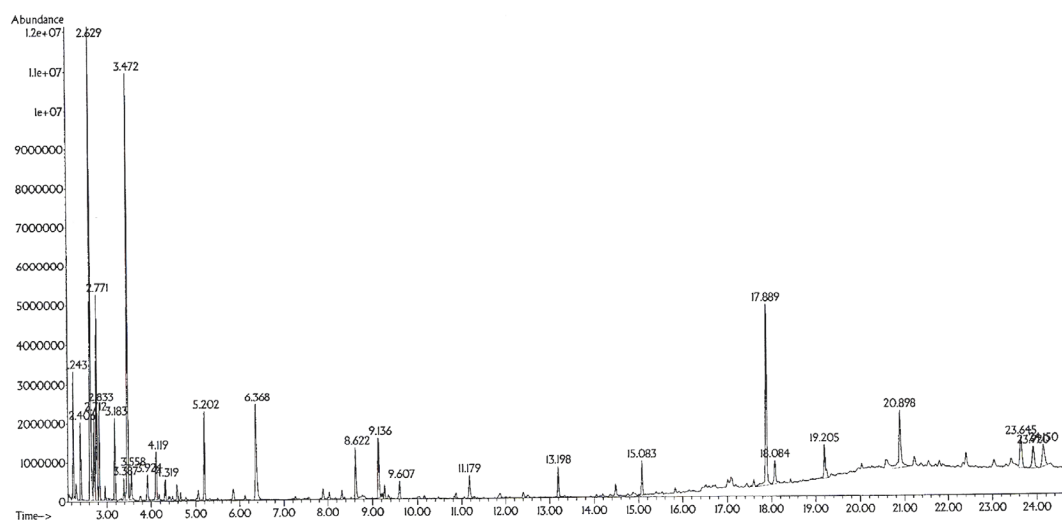
Výťažky prírodných banánových aróm v absolútnom hmotnostnom vyjadrení a v zodpovedajúcom percentuálnom vyjadrení

Import Guadaloupe: 150 mg/2,5 kg, 0,006 % (viď tabuľka I a obr. 1).

Import Martinique: 56 mg/2,5 kg, 0,00224 % (viď tabuľka II a obr. 2).



Obr. 1. GC/MS chromatogram banánového extraktu, odroda Martinique



Obr. 2. GC/MS chromatogram banánového extraktu, odroda Guadaloupe

Výsledky GC-MS analýz perkolátov dokumentujú obr. 1 a 2 a tabuľky I a II.

Diskusia a závery

Mimoriadne dôležitým faktorom pri analýze prírodných látok, najmä mnohozložkových zmesí, ako sú napr. aj prírodné arómy, je metóda izolácie. Optimálnym riešením je extrakcia, prípadne perkolácia obsahových látok do organických rozpúšťadiel. Použitie iných metód, ako je napr. destilácia s vodnou parou vo všeobecnosti nedáva dobré, ale najmä nie reprodukovateľné výsledky. Samozrejme že aj extrakcia alebo perkolácia prírodných látok je metóda chýlostivá, kde treba vhodne voliť používané rozpúšťadlá. Obyčajne sa volí kombinácia takých rozpúšťadiel, kde je zaručený maximálny výťažok obsahových látok, pričom pri koncentrácii miscely nedochádza k strhávaniu obsahových látok rozpúšťadlom. V prípade izolácie banánových prírodných aróm sa preto pristúpilo k použitiu dietyléteru a dichlórmetánu, pričom perkolácia bola realizovaná postupne, najprv dietyléterom a následne dichlórmetánom. Táto postupnosť nebola náhodná, ale cieľená, pretože sa dá predpokladať, že dietyléter vzhľadom k svojej relatívne dobrej rozpustnosti vo vode bude

Tabuľka I

Zlúčeniny identifikované GC/MS analýzou, banánový extrakt, odroda Martinique. Uvedené sú retenčné časy zlúčenín (min) a relatívne plochy pík (%)

Pík	Retenčný čas [min]	Plocha [%]	Zlúčenina
1	2,392	2,83	2-pentanón
2	2,566	7,61	2-metylpropylacetát
3	2,951	4,83	1-metylpropylacetát
4	3,165	8,30	2-metyl-1-propanol
5	3,409	19,36	3-metyl-1-butyl-acetát
6	3,653	4,49	1-butanol
7	3,795	0,60	2-metylpropylbutyrát
8	4,365	26,22	3-metyl-1-butanol
9	4,479	1,09	(E)-2-hexenal
10	5,065	3,10	3-metylbutylbutyrát
11	5,308	0,95	3-hydroxy-2-butanón
12	6,190	2,06	1-hexanol
13	7,396	9,14	kyselina octová
14	9,723	2,15	kyselina maslová
15	10,247	0,96	kyselina 3-metyl maslová
16	16,296	1,12	1,2,3-trimetoxy-5-(2-propenyl) benzén
17	19,144	5,20	3,4-dimetoxy-1-(2-propenyl) benzén

eliminovať enzýmový aparát ovocia, čo je mimoriadne dôležité najmä z hľadiska ďalšieho uvoľňovania aromatických zložiek ovocia, najmä fenolov.

Pri vyhodnocovaní analýz prírodných banánových aróm sa prišlo k viacerým prekvapujúcim zisteniam. V perkoláte z ovocia importovaného z Guadaloupe sa identifikovala zmes všetkých troch dimetylbenzénov (xylénov) v enormnom zastúpení vzhľadom na relatívne plochy pík v percentuálnom zastúpení. V tomto prípade evidentne nemôže ísť o metabolit, ale ide najskôr o penetráciu zvyšku rozpúšťadiel z ofsetovej potlače na obale. Toto zdôvodnenie sa zdá byť relevantným vzhľadom k mimoriadne nízkemu absolútnemu zastúpeniu týchto zlúčenín v perkoláte, i napriek vysokému percentuálnemu podielu v perkoláte, ktorý je pod 5 mg kg⁻¹ plodov. Zaujímavý je tiež extrémne vysoký obsah organických kyselín v arómach, ktorý v takýchto objemoch nebol identifikovaný. Pritom v aróme z Martinique je suma kyseliny octovej a kyseliny maslovej viac ako 11 % a v aróme z Guadaloupe bol identifikovaný celý súbor organických kyselín, kde dve predchádzajúce sú rozšírené o kyselinu 3-metyl maslovú (izovalérovú) a kyselinu valérovú, pričom celkový obsah kyselín je zrovnateľný s predchádzajúcim prípadom. Tento fakt môže byť spôsobený rozdielnymi pôdno-klimatickými podmienkami na jednotlivých ostrovoch. Ďalšie obsahové látky nami analyzovaných banánových aróm, ako 3-metylbutyl acetát a 3-metylbutanol vcelku korešpondujú s obsahmi hodnôt týchto látok, ktoré boli namerané inými autormi. Je dosť prekvapujúci zvýšený obsah (E)-2-hexenalu s porovnaním s analýzami publikovanými inými autormi, čo môže byť dôsledok odlišnej izolačnej techniky. Jednoznačným prínosom našej analýzy je identifikácia 3-metyl (E)-4-hexén-2-ónu v perkoláte z plodov z Guadaloupe, ktorý bol vôbec prvýkrát identifikovaný v banánovej aróme a tiež vanilínu (3-metoxy-4-hydroxy benzaldehydu) a škoricového aldehydu taktiež prvýkrát identifikované ako komponenty prírodnej banánovej arómy. Všetky tri obsahové látky sú obsiahnuté v množstvách presahujúcich 1 %, teda nemôže ísť o artefakty. Všetky tri zlúčeniny boli identifikované ako súčasť perkolátu z ovocia importovaného z Guadaloupe, teda ich prítomnosť v ovocí bude spôsobená rozdielnymi pôdno-klimatickými faktormi, pretože podľa vzhľadovej analýzy ide o ten istý typ ovocia. Skutočným problémom sa zdá byť biogénna oboch aromatických aldehydov, t.j. vanilínu a škoricového aldehydu, pretože žiaden autor neuvažuje s eventualitou existencie metabolickéj cesty vedúcej k týmto zlúčeninám. Jednoznačným príkladom je Tresslova⁹ vysoko fundovaná práca. Jediným vysvetlením môže byť odlišnosť enzymatického aparátu existujúceho prakticky výlučne v ovocí pestovaného v tejto proveniencii, pretože prítomnosť potrebných prekurzorov, kyseliny ferulovej pre vanilín a kyseliny škoricovej pre škoricový aldehyd bola dokázaná aj v iných typoch banánov¹⁰. Je treba venovať tiež pozornosť absencii nízkovrúcich zložiek v oboch prírodných arómach. Senzorickým vyhodnotením regenerovaných perkolačných rozpúšťadiel neboli identifikované ani stopy po karbonylo-

Tabuľka II

Zlúčeniny identifikované GC/MS analýzou, banánový extrakt, odroda Guadeloupe. Uvedené sú retenčné časy zlúčenín (min) a relatívne plochy pík (%)

Pík	Retenčný čas [min]	Plocha [%]	Zlúčenina
1	2,240	3,43	2-pentyl acetát
2	2,412	2,73	2-metyl-1-propanol
3	2,624	15,49	izoamyl acetát
4	2,711	3,45	1,4-dimetylbenzén
5	2,768	7,49	1,2-dimetylbenzén
6	2,840	2,51	1-butanol
7	3,181	2,58	1,3-dimetyl benzén
8	3,380	0,62	undekán
9	3,466	15,11	3-metyl-1-butanol
10	3,552	1,13	2-hexenal
11	3,921	1,04	3-metyl-4-hexén-2-ón
12	4,120	2,21	2-metyl-3-metylbutylpropionát
13	4,318	0,84	1-metoxi-2-metyl-propán
14	5,197	2,88	1-hexanol
15	6,373	4,80	kyselina octová
16	8,625	2,40	kyselina maslová
17	9,136	2,95	kyselina 3-metyl maslová (izovalérová)
18	9,607	0,88	2-metyl-3-butén-2-ol
19	11,183	1,08	kyselina valérová
20	13,204	1,39	škoricový aldehyd
21	15,076	1,54	1,2,3-trimetoxy-5-(2-propenyl)-benzén
22	17,891	8,07	2,6-dimetoxy-4-(2-propenyl)-fenol
23	18,084	1,68	vanilín (3-metoxi-4-hydroxy benzaldehyd)

vých zlúčeninách s teplotou varu pod 30 °C, prípadne nízkovrúcich esteroch, tiež test s dinitrofenylhydrazónium perchlorátom bol negatívny, z čoho sa dá jednoznačne usúdiť, vzhľadom k citlivosti testu, že najmä nízkovrúce karbonylové zlúčeniny v oboch perkolátoch chýbajú. Pri senzorickej analýze perkolátov bolo konštatované, že ide o markantný rozdiel v senzorickej kvalite aróm, pričom

prírodná banánová aróma ovocia z Guadeloupe bola vyhodnotená ako senzorickejšia, charakteristickejšia, májúca typickú príjemnú mätko zeleno-banánovú vôňu a chuť. Rozdiel je treba jednoznačne pripísať na vrub novo identifikovaným zložkám prírodnej banánovej arómy izolovanej z ovocia z Guadeloupe.

Autori ďakujú za podporu tejto práce prostredníctvom projektov APVV-20-005605 a VEGA/1/3579/06. Ďakujeme Ing. Emilovi Kolekovi za vykonanie GC/MS analýzy.

LITERATÚRA

1. Rothenbach F., Eberlein L.: Dtsch. Essigind. 9, 81 (1905).
2. Hultin H. O., Procter B. E.: Food Technol. 15, 440 (1961).
3. Issenberg P., Wick E. L.: J. Agric. Food Chem. 11, 3 (1963).
4. Isenberg P.: Food Technol. 23, 103 (1969).
5. Berger R. G., Drawert F., Kollmannsberger H.: Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 10, 120 (1986).
6. Mayr D., Märk D., Van Ruth S. M.: Eur. Food Res. Technol. 217, 291 (2003).
7. Myers M. J., Issenberg P., Wick E. L.: J. Food Sci. 34, 504 (1969).
8. Tressl R., Drawert F., Heimann W.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. 142, 249 (1970).
9. Shiota H.: J. Agric. Food Chem. 41, 2056 (1993).
10. Tressl R., Drawert F.: J. Agric. Food. Chem. 21, 560 (1973).

L. Gremeň^a, P. Moravčíková^a, and P. Fodran^b
^a*Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava,* ^b*FLOP Co., Bratislava): GC-MS Analysis of Natural Banana Flavours*

Two natural banana aromas of Caribbean origin, isolated by direct percolation, were analyzed by GC/MS. In addition to high amounts of organic acids, the Guadeloupe bananas contained vanillin, cinnamaldehyde and 3-methylhex-4-en-2-one. Quite a high content of xylene, originating probably from the solvent of the packaging offset paint, is also of interest.