

PIOTR KARPIŃSKI, MARTA ŁĄTKOWSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI,
PAULA KUŻMA, MIECZYSLAW W. OBIEDZIŃSKI

PROFIL ZWIĄZKÓW LOTNYCH EUROPEJSKICH SZYNEK SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH JAKO WSKAŹNIK ICH JAKOŚCI I AUTENTYCZNOŚCI

Streszczenie

W pracy przedstawiono analizę profili związków lotnych szynek surowo dojrzewających przy zastosowaniu techniki SPME (mikroekstrakcja do fazy stałej) w połączeniu z GC-MS (chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas) oraz technikami chemometrycznymi PCA (analiza składowych głównych) i CA (analiza skupień). Przebadano szynki pochodzące: z Hiszpanii – Serrano, z Włoch – Parma, Crudo, Mantovelle, z Polski – kumpiak podlaski i z Niemiec – Schinkenspeck.

W przebadanych szynkach zidentyfikowano 61 związków lotnych, które zakwalifikowano do następujących grup: aldehydy (14), ketony (3), alkohole (7), estry (9), alkany (6), węglowodory aromatyczne (2), kwasy (4), związki heterocykliczne (1), terpeny (11), fenole (1), inne (3). Dominującymi grupami były aldehydy i alkohole. Stwierdzono obecność alifatycznych aldehydów nasyconych (2-metylobutanalu i 3-metylobutanalu), które stanowią dobry wskaźnik procesu oksydacji, zachodzącego w szynkach surowo dojrzewających oraz produktów utleniania kwasów tłuszczowych (heksanal, oktanal).

Obróbka chemometryczna umożliwiła zróżnicowanie badanego materiału oraz rozróżnienie szynek między innymi ze względu na technologię produkcji. Po zastosowaniu analizy składowych głównych oraz analizy skupień wyodrębniono 4 grupy szynek: włoskie i hiszpańskie, szynkę polską i szynkę niemiecką. Połączenie analizy instrumentalnej z metodami chemometrycznymi może być użyteczne do określania pochodzenia produktu i jego autentyczności.

Słowa kluczowe: szynki surowo dojrzewające, SPME-GC-MS, związki lotne, chemometria

Wprowadzenie

Aromat to ważny parametr warunkujący jakość produktów mięsnych oraz ich akceptację przez konsumentów [5, 15]. Na kształtowanie się aromatu wpływa wiele

*Lek. wet. P. Karpiński, mgr inż. M. Łątkowska, mgr inż. B. Kruszewski, mgr inż. P. Kuźma, prof. dr hab. M. Obiedziński, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.
Kontakt: piotr_karpiński@sggw.pl*

czynników, m.in. surowiec, technika procesu, czas i parametry dojrzewania [15]. Okres dojrzewania, w tym czas niezbędny do rozwoju oczekiwanego aromatu, jest różny w przypadku różnych typów szynek [18]. Podczas dojrzewania temperatura i wilgotność są kontrolowane, aby zredukować ryzyko zepsucia bakteryjnego wyrobów mięsnych [14].

Świeże, surowe mięso charakteryzuje się mało intensywnym aromatem, który wzrasta po zastosowaniu obróbki termicznej, fermentacji i/lub dojrzewania. Szynki surowo dojrzewające mogą być produkowane z zastosowaniem długiego czasu dojrzewania i suszenia (powyżej 7 miesięcy) lub jako tzw. szynki mokre solankowane bądź marynowane, których proces produkcji trwa poniżej 3 miesięcy [4, 5]. Podczas procesu dojrzewania w mięsie dochodzi do wielu chemicznych i enzymatycznych przemian, które wpływają na rozwój charakterystycznego aromatu gotowych wyrobów. Są to głównie autooksydacja lipidów, proteoliza i lipoliza, a więc białka i lipidy są prekursorami znacznej części związków lotnych w szynkach surowo dojrzewających [11, 13, 15, 16]. Proteoliza powoduje wzrost ilości wolnych aminokwasów [13], a lipoliza – wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i produktów utleniania [15]. Związki lotne pochodzące z przemian aminokwasów odgrywają znaczącą rolę w kształtowaniu zapachu szynek dojrzewających [21]. Składniki te tworzą się z aminokwasów w reakcjach Streckera i Maillarda, a w ich wyniku powstają składniki heterocykliczne zawierające azot, siarkę i tlen oraz alifatyczne, zawierające metylowe rozgałęzienia w alkoholach i aldehydach [8].

Oznaczanie profili zapachowych w szynkach surowo dojrzewających przebiega zazwyczaj dwuetapowo. Pierwszy etap stanowi ekstrakcja związków lotnych. Metoda SPME jest uniwersalną techniką stosowaną w tym zakresie. Analiza za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas to drugi etap oznaczania składników lotnych [14].

Celem pracy było porównanie profili związków lotnych europejskich szynek surowo dojrzewających oraz wyznaczenie związków będących swoistymi markerami autentyczności i jakości szynek surowo dojrzewających.

Material i metody badań

Szynki surowo dojrzewające zakupiono w sklepach na terenie Polski w postaci całych produktów z oryginalnymi pieczęciami, specyficznymi dla danego kraju lub zapakowane próżniowo po 100 g. Były to szynki długo dojrzewające. Szynki Serrano z dodatkiem azotanów (SSN) pochodziły z Hiszpanii, Parma (PON), Prosciutto Mantovelle (PMN), Crudo (CSN) i Parma z dodatkiem azotanów (SPN) – z Włoch oraz wędzona, z dodatkiem azotanów Schinkenspeck (SN) – z Niemiec. Polską, tradycyjną szynkę długo dojrzewającą – kumpiak podlaski (KN) pozyskano bezpośrednio od producenta z okolic Sokółki (woj. podlaskie). Pobrane próbki szynek pakowano próżnio-

wo, a następnie zamrażano i przechowywano w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ do czasu analiz. Przed przystąpieniem do kolejnych analiz materiał badawczy rozmrażano. Wszystkie produkty przebadano w trzech powtórzeniach.

Pobierano 5 ± 1 g próbek do rozdrobnienia w młynku laboratoryjnym IKA A11 basic (Niemcy). Po rozdrobnieniu odważano po $1 \pm 0,01$ g szynki do fiolek o pojemności 10 cm^3 i zamykano aluminiowymi kapslami z przegrodą z PTFE.

Do ekstrakcji związków lotnych z szynek surowo dojrzewających zastosowano trójfazowe włókno SPME DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene /Carboxen/ Polydimethylsiloxan). Kondycjonowanie włókna prowadzono przez 45 min w temp. $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ w porcie iniektora. Włókno wprowadzano przez przegrodę do fiołki z próbką, która przez 20 min wcześniej była utrzymywana w temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ w celu ustalenia równowagi faz nad próbką. Adsorpcję związków lotnych na włóknie prowadzono przez 20 min w temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Desorpcja związków lotnych z włókna odbywała się w porcie iniektora w temp. $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 2 min [17].

Analizy chromatograficzne prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas GC-MS 2010QP (Schimadzu). Zastosowano kolumnę niepolarną typu ZB-5ms (5 % – fenyl, 95 % – dimetylopolisiloksan arylenowy) o wymiarach $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$. Dzielnik strumienia wynosił 4. Program temperatury pieca chromatograficznego był następujący: izoterma $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 10 min, następnie wzrost temperatury – $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ i izoterma przez 5 min. Prędkość przepływu gazu nośnego (helu) wynosiła $1,1\text{ cm}^3/\text{min}$. Widma masowe uzyskiwano przy napięciu 70 eV. Zbieranie danych odbywało się w trybie przemiatania w zakresie $m/z\ 40 \div 300$ [17].

W celu wyliczenia indeksów retencji związków lotnych zastosowano mieszaninę n-alkanów C7 ÷ C30 (Sigma-Aldrich). Identyfikację związków lotnych prowadzono na podstawie bibliotek widm masowych NIST 2008, WILEY oraz indeksów retencji Kovatsa dostępnych w internetowym zbiorze The Pherobase [9].

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica 10.0. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Do oceny różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya HSD. W celu zilustrowania różnic w profilach zapachowych badanych szynek, a także ze względu na ilość zidentyfikowanych związków, otrzymane dane poddano analizie statystycznej metodą składowych głównych (PCA – *Principal Components Analysis*). Opis wyników uzupełniono o analizę skupień (CA – *Cluster Analysis*).

Wyniki i dyskusja

W badanych szynkach surowo dojrzewających zidentyfikowano 61 związków lotnych. Większość zidentyfikowanych składników była wykryta również przez innych badaczy [11, 17, 20]. Zidentyfikowane związki lotne zakwalifikowano do kilku grup

chemicznych: aldehydów (14), ketonów (3), alkoholi (7), estrów (9), alkanów (6), węglowodorów aromatycznych (2), kwasów (4), związków heterocyklicznych (1), terpenów (11), fenoli (1), innych (3) – tab. 1.

Dominującą grupę związków stanowiły aldehydy (23,3 ÷ 54,7 %), które przeważały głównie w szynce niemieckiej i w szynce włoskiej (Parma). Podobne wyniki uzyskano w badaniach szynki chińskiej [7] oraz hiszpańskiej [18, 20]. Najmniej aldehydów oznaczono w polskim kumpiaku podlaskim. Aldehydy mogą powstawać w reakcji degradacji aminokwasów Streckera pod warunkiem, że wilgotność, temperatura i pH są właściwe podczas procesu dojrzewania [6, 16]. Duża zawartość n-aldehydów może być związana z poszczególnymi fazami dojrzewania szynki [6]. Pod względem biochemicznym pochodzenie liniowych, nasyconych aldehydów (heksanal, heptanal, oktanal) wynika z autooksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych (oleinowego, linolowego, linolenowego i arachidonowego), podczas gdy rozgałęzione, nasycone aldehydy mogą powstawać podczas proteolizy aminokwasów [15, 16]. Alifatyczne aldehydy nasycone są dobrymi wskaźnikami oksydacji zachodzącej w szynkach surowo dojrzewających. 2-metylobutanal i 3-metylobutanal są związane z orzechowym, serowym i słonym smakiem występującym w szynce parmeńskiej. Związki te znacząco przyczyniają się do wytworzenia walorów smakowych zarówno tej szynki, jak i szynki hiszpańskich [2]. Odpowiedzialne są również za nadanie charakterystycznego zapachu (słodki, kwiatowy, ostry) i wykazują niski próg percepcji [16].

Heksanal był głównym aldehydem alifatycznym oznaczonym w szynkach. Stanowił 22,2 % w szynce SN oraz 32,8% – w PON. Uważany jest za dobry wskaźnik stopnia oksydacji [18] i kojarzony z posmakiem pochodzącym z peroksydacji kwasów z grupy *n-6*. Oksydacja lipidów i kolejne przemiany mogą być w tym przypadku zahamowane przez nitrozozwiązki. Jest prawdopodobne, że zakaz stosowania konserwantów, oprócz chlorku sodu, prowadzi do wzrostu wytwarzania heksanal [6]. W świeżym produkcie występują 3-metylobutanal i heptanal, a ich zawartość zwiększa się w produkcie końcowym. Związki: 2-metylopropanal i 3-metylobutanal powstają z przemian aminokwasów (waliny i leucyny) w reakcjach degradacji Streckera lub w wyniku metabolizmu mikroorganizmów w mięsie [1, 15].

Drugą dominującą grupę stanowiły alkohole (4,9 ÷ 30,8 %). Gaspardo i wsp. [6] stwierdzili, że alkohole stanowią najliczniejszą grupę związków lotnych w szynce włoskiej San Daniele. Autorzy Ci sugerują, że duża zawartość alkoholi może wynikać z długości okresu dojrzewania. Alkohole, jako ważne składniki lotne mięsa, są związane z charakterystycznym zapachem tłuszczowym i uważane za produkt autooksydacji kwasu linolenowego lub innych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [6, 16]. Wśród alkoholi dominujących w badanych szynkach były: 1-pentanol, 1-heksanol, 1-octen-3-ol, 2-metylobutanol, które również były oznaczane przez innych badaczy [1, 6, 22]; 1-octen-3-ol jest związany z zapachem grzybowym [16].

Tabela 1. Zawartość związków lotnych w europejskich szynkach surowo dojrzewających
Table 1. Content of volatile compounds in European dry-cured hams

Lp.	Nazwa grupy / nazwa związku Name of group / name of compound	RI	PON	PMN	CSN	SSN	SPN	KN	SN
	Aldehydy / Aldehydes	-	54,68	43,22	35,55	37,80	39,49	23,33	45,54
1	2-metylopropanal / 2-methylpropanal	662	nw	2,15 ^a ± 0,12	nw	nw	nw	nw	nw
2	3-metylopropanal / 3-methylpropanal	647	1,97 ^b ± 0,12	2,02 ^b ± 0,14	0,91 ^c ± 0,08	3,14 ^a ± 0,30	2,29 ^b ± 0,11	1,18 ^c ± 0,07	nw
3	2-metylobutanal / 2-methylbutanal	652	nw	1,15 ^b ± 0,35	0,48 ^c ± 0,02	1,80 ^a ± 0,10	1,35 ^b ± 0,09	nw	nw
4	heksanal / hexanal	799	32,81 ^a ± 1,25	14,64 ^d ± 1,27	17,55 ^c ± 1,03	3,74 ^c ± 0,19	3,60 ^c ± 0,42	15,08 ^d ± 0,18	22,22 ^b ± 0,27
5	heptanal / heptaldehyde	901	2,34 ^b ± 0,16	2,15 ^b ± 0,55	4,18 ^a ± 0,11	2,14 ^b ± 0,16	2,20 ^b ± 0,92	1,61 ^b ± 0,09	2,22 ^b ± 0,12
6	2-heptenal / 2-heptaldehyde	958	nw	nw	0,44 ^a ± 0,15	nw	nw	0,51 ^a ± 0,14	0,47 ^a ± 0,06
7	aldehyd benzoesowy / benzaldehyde	969	0,41 ^b ± 0,18	nw	0,33 ^b ± 0,11	nw	nw	nw	1,51 ^a ± 0,15
8	oktanal / octanal	1003	9,86 ^b ± 0,96	6,09 ^{c,d} ± 1,28	4,35 ^d ± 0,64	13,59 ^a ± 0,90	12,66 ^a ± 0,19	1,20 ^b ± 0,44	8,09 ^{b,c} ± 0,17
9	fenyloctanal / phenylacetaldehyde	1041	0,59 ^b ± 0,13	nw	nw	0,70 ^b ± 0,27	0,74 ^b ± 0,21	nw	2,94 ^a ± 0,85
10	nonanal / nonanal	1104	4,56 ^d ± 0,20	9,35 ^{a,b} ± 2,58	5,42 ^{b,c,d} ± 0,49	9,10 ^{a,b,c} ± 1,74	10,96 ^a ± 2,07	3,75 ^d ± 0,16	5,11 ^{c,d} ± 0,29
11	n-decena / n-decena	1205	0,44 ^b ± 0,29	0,87 ^b ± 0,02	0,30 ^c ± 0,15	0,88 ^b ± 0,01	2,40 ^a ± 0,39	nw	0,32 ^c ± 0,02
12	decana / decana	1210	nw	nw	0,26 ^a ± 0,02	nw	nw	nw	nw
13	2-decena / 2-decena	1261	1,20 ^b ± 0,60	3,22 ^a ± 0,30	0,63 ^b ± 0,06	0,98 ^b ± 0,11	1,34 ^b ± 0,18	nw	2,66 ^a ± 0,10
14	oktadecanal / octadecanal	1816	0,51 ^b ± 0,24	1,58 ^a ± 0,23	0,71 ^b ± 0,47	1,72 ^a ± 0,14	1,94 ^a ± 0,05	nw	nw
	Ketony / Ketones	-	6,16	3,64	3,06	2,38	1,23	10,59	3,16
15	acetoina / acetone	711	nw	3,64 ^b ± 0,09	0,84 ^d ± 0,05	2,38 ^c ± 0,45	1,23 ^d ± 0,10	5,53 ^a ± 0,21	nw
16	oktano-2,3-diol / octane-2,3-diol	985	6,16 ^a ± 1,04	nw	nw	nw	nw	4,32 ^b ± 0,15	3,16 ^c ± 0,14
17	2-nonanon / 2-nonanon	1090	nw	nw	2,22 ^a ± 0,10	nw	nw	0,74 ^b ± 0,09	nw

Alkohole / Alcohols	-	6,23	30,78	20,47	8,63	4,89	12,25	11,44
18 2-metylbutan-1-ol / 2-methylbutan-1-ol	744	nw	14,14 ^a ± 1,45	2,59 ^b ± 1,02	0,76 ^b ± 0,11	nw	2,41 ^b ± 0,10	nw
19 1-pentanol / 1-pentanol	773	1,11 ^c ± 0,11	1,98 ^{a,b} ± 0,08	1,83 ^{a,b} ± 0,07	2,09 ^a ± 0,18	nw	1,77 ^b ± 0,10	0,81 ^d ± 0,10
20 1-heksanol / 1-hexanol	866	0,94 ^c ± 0,02	6,63 ^a ± 0,77	7,11 ^a ± 0,45	0,96 ^c ± 0,06	0,93 ^c ± 0,16	3,65 ^b ± 0,16	0,46 ^c ± 0,05
21 1-okten-3-ol / 1-okten-3-ol	979	3,32 ^b ± 0,20	5,55 ^a ± 0,12	6,70 ^a ± 1,45	3,49 ^b ± 0,35	2,23 ^b ± 0,10	3,29 ^b ± 0,04	2,15 ^b ± 0,16
22 2-okten-1-ol / 2-okten-1-ol	1065	nw	0,84 ^a ± 0,16	0,88 ^a ± 0,45	nw	nw	nw	nw
23 1-oktanol / 1-oktanol	1071	0,41 ^c ± 0,07	1,65 ^a ± 0,15	0,90 ^{c,d} ± 0,04	1,34 ^{a,b} ± 0,11	1,73 ^a ± 0,24	1,13 ^{b,c} ± 0,03	0,54 ^{d,e} ± 0,22
24 fenyletanol / phenylethanol	1108	0,45 ^b ± 0,12	nw	0,46 ^b ± 0,03	nw	nw	nw	7,48 ^a ± 0,49
Estry / Esters	-	22,39	5,32	16,99	13,75	11,74	8,46	4,84
25 butanian metylu / methylbutanoate	722	nw	nw	0,62 ^c ± 0,16	1,19 ^b ± 0,02	1,20 ^b ± 0,12	3,09 ^a ± 0,09	nw
26 2-metylopropanian metylu / methylpropanoate	780	1,34 ^c ± 0,09	nw	1,43 ^c ± 0,11	2,59 ^a ± 0,13	2,17 ^b ± 0,06	1,02 ^d ± 0,08	nw
27 pentanian metylu / methylpentanoate	821	1,06 ^a ± 0,05	nw	0,35 ^c ± 0,12	0,62 ^b ± 0,18	nw	nw	nw
28 butanian izopropylu / isopropylbutanoate	845	nw	nw	nw	nw	nw	2,37 ^a ± 0,07	1,33 ^b ± 0,10
29 heksanian metylu / methylhexanoate	923	17,79 ^a ± 2,45	4,35 ^{d,e} ± 0,01	11,11 ^b ± 1,02	8,15 ^{b,c} ± 0,97	7,19 ^{c,d} ± 1,67	1,98 ^e ± 0,08	3,51 ^e ± 0,17
30 heksanian etylu / ethylhexanoate	999	1,33 ^a ± 0,14	nw	nw	nw	nw	nw	nw
31 heptanian metylu / methylheptanoate	1023	0,51 ^a ± 0,04	nw	0,54 ^a ± 0,35	nw	nw	nw	nw
32 oktanian metylu / methyloctanoate	1123	0,37 ^c ± 0,02	nw	2,94 ^a ± 0,22	1,20 ^b ± 0,11	1,18 ^b ± 0,17	nw	nw
33 palmitynian metylu / methylpalmitate	1928	nw	0,97 ^a ± 0,03	nw	nw	nw	nw	nw
Alkany / Alkanes	-	6,44	4,04	4,54	19,04	18,83	6,57	5,35
34 heptan / heptane	700	nw	2,45 ^b ± 0,16	1,54 ^c ± 0,15	0,53 ^d ± 0,15	0,58 ^d ± 0,07	3,01 ^a ± 0,11	nw
35 2,2-dimetilodekan / 2,2-dimethyldecane	988	5,05 ^c ± 0,13	1,60 ^e ± 0,06	3,00 ^{d,e} ± 0,11	14,58 ^b ± 0,69	18,25 ^a ± 1,46	nw	4,33 ^{c,d} ± 0,11

36	dekan / decane	1000	0,77 ^a ± 0,19	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
37	oktan tetrametylu / tetramethyloctane	1025	0,62 ^b ± 0,07	nw	nw	2,31 ^b ± 0,10	nw	nw	nw	nw	nw	nw
38	3,6-dimetyloundekane 3,6-dimethylundecane	1035	nw	nw	nw	1,62 ^a ± 0,33	nw	nw	nw	nw	nw	nw
39	heneikoza / heneicosane	2100	nw	nw	nw	nw	nw	3,56 ^a ± 0,30	nw	nw	1,02 ^b ± 0,02	nw
	Kwasy / Acids	-	2,93	8,98	4,25	3,35	7,46	nw	nw	7,36	nw	nw
40	kwas 2-metylopropanowy methylpropaneacid	833	nw	1,90 ^b ± 0,02	1,11 ^c ± 0,13	1,00 ^c ± 0,11	nw	nw	nw	nw	3,11 ^a ± 0,22	nw
41	kwas heptanowy / heptanoic acid	1073	0,31 ^a ± 0,06	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
42	kwas oktanowy / octanoic acid	1170	1,48 ^{b,c,d} ± 0,18	3,46 ^{a,b} ± 0,75	0,86 ^{c,d} ± 0,10	1,12 ^{c,d} ± 0,12	4,17 ^a ± 1,76	nw	nw	nw	2,16 ^{a,b,c} ± 0,24	nw
43	kwas nonanowy / nonanoic acid	1265	1,15 ^c ± 0,05	3,61 ^a ± 0,42	2,29 ^{b,c} ± 0,18	1,23 ^c ± 0,19	3,28 ^{a,b} ± 1,00	nw	nw	nw	2,10 ^c ± 0,09	nw
	Węglowodory aromatyczne Aromatic hydrocarbons	-	nw	0,97	2,94	14,36	13,47	8,35	1,02	nw	nw	nw
44	styren / styrene	888	nw	0,97 ^d ± 0,14	2,28 ^c ± 0,16	14,36 ^a ± 0,85	13,47 ^a ± 0,50	7,56 ^b ± 0,09	nw	nw	nw	nw
45	p-cymen / p-cymene	1020	nw	nw	0,65 ^b ± 0,08	nw	nw	0,79 ^b ± 0,10	1,02 ^a ± 0,07	nw	nw	nw
	Terpeny / Terpenes	-	1,18	nw	2,45	0,69	2,05	24,52	19,99	nw	nw	nw
46	alfa-pinen / alpha-pinene	935	nw	nw	nw	nw	nw	2,69 ^b ± 0,11	1,84 ^a ± 0,10	nw	nw	nw
47	beta-pinen / beta-pinene	978	nw	nw	nw	nw	0,31 ^c ± 0,10	1,45 ^b ± 0,03	3,37 ^a ± 0,64	nw	nw	nw
48	felandren / phellandrene	1006	0,46 ^b ± 0,22	nw	nw	nw	nw	0,40 ^b ± 0,12	6,97 ^a ± 0,07	nw	nw	nw
49	limonen / limonene	1027	0,72 ^{c,d} ± 0,16	nw	0,52 ^d ± 0,29	nw	1,75 ^c ± 0,25	4,66 ^b ± 0,11	6,49 ^a ± 0,91	nw	nw	nw
50	linalol / linalool	1098	nw	nw	1,93 ^a ± 0,24	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
51	alfa-terpineol / alpha-terpineol	1199	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,48 ^a ± 0,08	nw	nw	nw
52	gamma-kariofilen gamma-cariophyllene	1404	nw	nw	nw	0,69 ^a ± 0,03	nw	nw	0,24 ^b ± 0,01	nw	nw	nw
53	beta-kariofilen beta-cariophyllene	1418	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,61 ^a ± 0,02	nw	nw	nw

54	beta-elemen / beta-elemen	1393	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
55	bergamoten / bergamotene	1430	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
56	farnezen / farnesene	1458	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
	Inne / Other	-	nw	nw	nw	0,54	nw	nw	nw	nw	nw	nw	1,21
57	gwajakol / guaiacol	1085	nw	nw	nw	0,54 ^b ± 0,10	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,96 ^a ± 0,05
58	2-acetylofuran / 2-acetylifuran	910	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,25 ^a ± 0,06
	Nieznane / Unknown	-	nw	nw	4,92	9,25	nw	nw	nw	1,16	7,33	nw	nw
59	nieznany / unknown	980	nw	nw	nw	3,09 ^a ± 0,12	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
60	nieznany / unknown	982	nw	nw	4,92 ^a ± 0,05	6,16 ^a ± 0,73	nw	nw	nw	1,16 ^a ± 0,10	0,37 ^a ± 0,05	nw	nw
61	nieznany / unknown	1015	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	6,96 ^a ± 0,43	nw	nw

Objaśnienia: / Explanatory notes:

RI – indeks retencji / retention index; nw- nie wykryto / not detected; PON – Parma; PMN – Prosciutto Mantovelle; CSN – Crudo; SSN – Serrano + azotany / nitrates; SPN – Parma + azotany / nitrates; KN – kumpiak podlaski; SN – Schinkenspeck. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation; n = 3

a - d – wartości średnie oznaczone w wierszach różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in lines and denoted by different letters differ statistically significantly (p < 0.05).

W tworzeniu cech sensorycznych szynek surowo dojrzewających udział mają również estry. W badanych próbkach ich poziom wynosił $4,8 \div 22,4$ % związków lotnych, a największy był w szynce Parma. Podobne zawartości estrów w szynce parmeńskiej uzyskali inni badacze [15]. Estry w szynkach tworzą się w trakcie dojrzewania, w wyniku estryfikacji różnych kwasów i alkoholi. Silnie wpływają one, szczególnie krótkołańcuchowe rozgałęzione estry, na zapach szynek, typowy dla dojrzewających produktów mięsnych [16].

Zawartość ketonów w badanych szynkach kształtowała się na poziomie $1,2 \div 10,6$ %. Są one typowymi składnikami występującymi w serach typu „blue”. Ketony nienasycone mają niski próg wyczuwalności i prawdopodobnie nadają produktom zapach tłuszczy, olejowy i metaliczny [16].

Węglowodory alifatyczne stanowiły $4,0 \div 19,0$ % analizowanych związków lotnych. Według Martina i wsp. [11], ich poziom osiąga maksimum pod koniec procesu dojrzewania. Duża zawartość węglodorów w próbce świadczy o postępującej oksydacji lipidów, która odgrywa istotną rolę przy tworzeniu liniowych i rozgałęzionych węglodorów [11, 15]. Obecność heptanu, dekanu i undekanu była opisana już wcześniej w szynce iberyjskiej i połędwicy surowo dojrzewającej. Rozgałęzione węglowodory mogą być syntetyzowane przez pleśnie jako wtórne produkty rozpadu triacylogliceroili [11, 15].

Zawartość kwasów należących do związków lotnych wynosiła w szynkach $2,9 \div 8,9$ %. Kwas 2-metylopropanowy był identyfikowany jako produkt metabolizmu walinu przez mikroorganizmy [15]. Część kwasów może pochodzić z hydrolizy triacylogliceroili i fosfolipidów, ale większość powstaje w reakcjach oksydacji lipidów. Kwasy organiczne były również identyfikowane w połędwicach i szynkach iberyjskich oraz w szynce włoskiej Toscano. Krótkołańcuchowe kwasy mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju aromatu ze względu na ich niski próg wyczuwalności, podczas gdy długołańcuchowe kwasy, takie jak oktanowy i dekanowy, mogą stanowić prekursorów innych lotnych składników [16].

Terpeny są generalnie związane z dodatkiem przypraw, szczególnie pieprzu lub z obecnością tłuszczów roślinnych w żywieniu świń [6]. Zawartość terpenów była duża w szynce polskiej i niemieckiej (odpowiednio: 24,5 i 20 %) w stosunku do pozostałych szynek ($0,7 \div 2,5$ %).

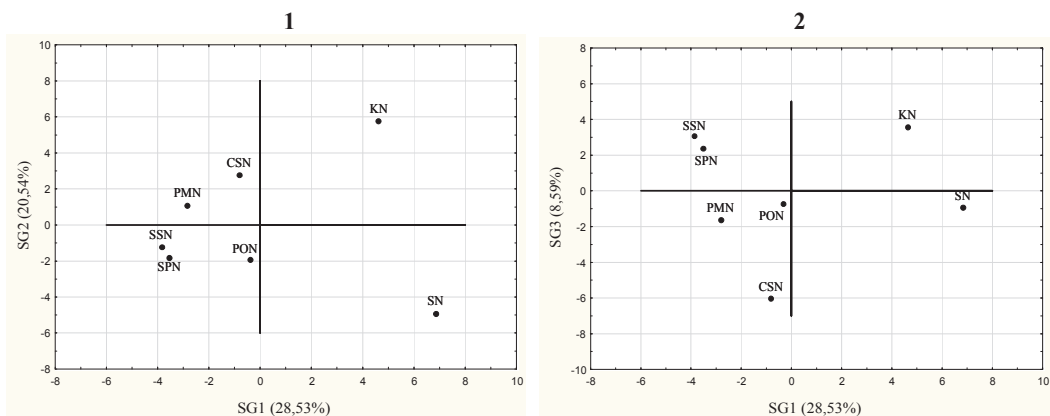
W analizie PCA do opisu doświadczenia wybrano 4 pierwsze składowe główne wyjaśniające ogółem 83,49 % całkowitej zmienności (tab. 2). Do wyliczenia składowych głównych wybrano względne powierzchnie pików wszystkich zidentyfikowanych związków lotnych. Wartości wybranych składowych głównych przedstawiono na rys. 1 - 4.

Tabela 2. Procent zmienności całkowitej wyjaśnionej przez składowe główne uzyskane w analizie PCA
 Table 2. Percent rate of total variability explained by principal components obtained in PCA analysis

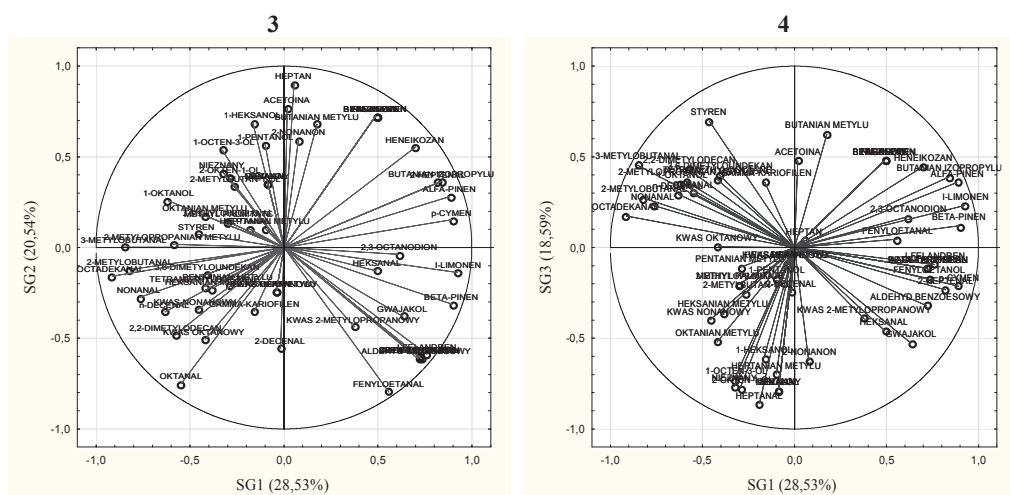
Składowa główna Principal component	% zmienności całkowitej % of total variation	Skumulowany % zmienności cumulative % of variability
1	28,52	28,52
2	20,54	49,07
3	18,59	67,66
4	15,83	83,49
5	10,65	94,14
6	5,86	100,00

Pierwsza składowa główna (SG1) wyjaśniła 28,52 % zmienności całkowitej (tab. 2). Podzieliła materiał badawczy na dwie grupy (rys. 1 i 2). Pierwsza grupa obejmowała szynki: kumpiak podlaski i Schinkenspeck, których profil zapachowy składał się odpowiednio: z 31 i 30 związków. Tylko w próbkach z pierwszej grupy zidentyfikowano niektóre substancje takie, jak: alfa-pinen, butanian izopropylu i heneikozan. Jako jedyne charakteryzowały się dużym stężeniem terpenów, jak: limonen, alfa-pinen, beta-pinen, felandren czy p-cymen. Mimo zaliczenia kumpiaka i szynki niemieckiej do jednej grupy, produkty te znacząco różniły się profilami zapachowymi pod względem jakościowym. Tylko w próbkach kumpiaka podlaskiego wykryto beta-elemen, berganoten, farnezen oraz stwierdzono dużą zawartość heptanu, acetoiny, butanianu metylu i 1-heskanolu. W przeciwieństwie do szynki polskiej, na profil zapachowy szynki Schinkenspeck składały się m.in. 2-acetylofuran, alfa-terpineol, gamma- i beta-kariofilen. Spośród wszystkich badanych szynek, to w szynce Schinkenspeck występowały w największych ilościach: fenyloetanal, fenyloetanol i gwajakol. Natomiast druga grupa składała się z pozostałych szynek pochodzenia włoskiego i hiszpańskiego (rys. 1 i 2). Ich cechą wspólną było występowanie w profilu zapachowym: 2-metylbutanal, pentanianu metylu, oktanianu metylu oraz oktadekanalu. Profile szynek z drugiej grupy składały się z 26, a nawet 39 związków.

Współczynniki korelacji pierwszej składowej głównej ze wszystkimi terpenami przyjmowały wysokie dodatnie wartości w zakresie $0,88 \div 0,99$. Równie wysokie współczynniki korelacji z SG1, lecz o ujemnych wartościach, wykazywały oktadekanal ($-0,92$) oraz 2- i 3-metylobutanal ($-0,82$ i $-0,86$). Powyższe związki najbardziej wpłynęły na klasyfikację szynek według SG1. Umiarkowane, wyłącznie dodatnie korelacje ($0,61 \div 0,73$) SG1 wystąpiły z 2-acetylofuranem, aldehydem benzoesowym, 2,3-oktanodionem, gwajakolem, fenyloetanołem i heneikozanem (rys. 4 i 5). Są to związki występujące w profilach zapachowych niektórych szynek, zazwyczaj o małym udziale. Wyjątek stanowi 2,3-oktanodion o średnim udziale 4,55 %.



Rys. 1 i 2. Wyniki analizy PCA – rzut przypadków: SG1/SG2 (1), SG1/SG3 (2)
 Fig. 1 and 2. PCA analysis results – projection of cases: SG1/SG2 (1), SG1/SG3 (2)

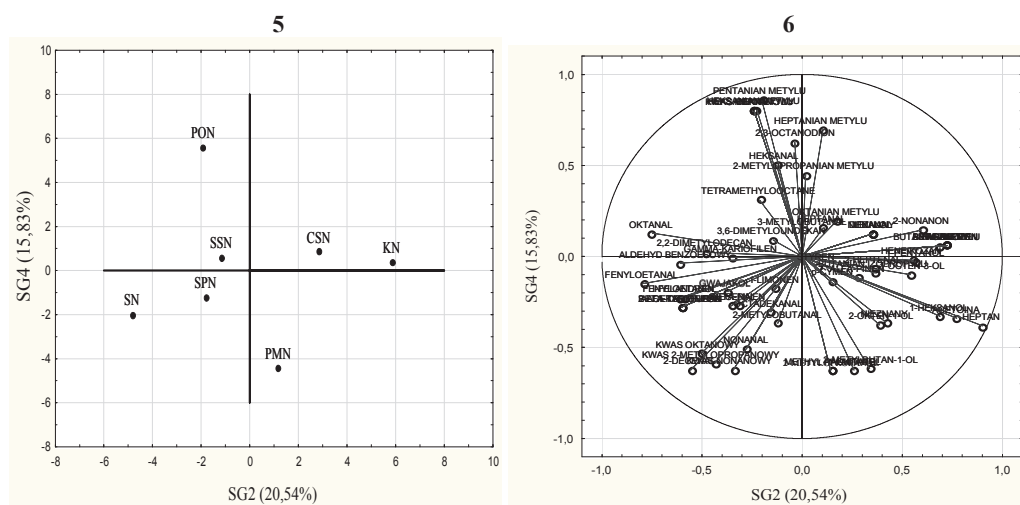


Rys. 3 i 4. Wyniki analizy PCA profili zapachowych szynek – projekcja zmiennych: SG1/SG2 (3), SG1/SG3 (4)
 Fig. 3 and 4. Results of PCA analysis of volatile profiles of ham – projection of variables: SG1/SG2 (3), SG1/SG3 (4)

Druga składowa główna (SG2) wyjaśniła 20,54 % zmienności całkowitej (tab. 2). Podzieliła materiał badawczy na szynki: Prosciutto, Crudo, kumpiak oraz Serrano, Parma, Parma z azotanami i Schinkenspeck (rys. 1 i 5). Wysoko oraz umiarkowanie ujemnie skorelowane z drugą składową związku z grupy aldehydów (aldehyd benzoesowy, fenyloetanal, oktanal; przedział -0,61 do -0,80) i fenyloetanol (-0,61) wpłynęły na zaliczenie do jednej grupy szynek różnego pochodzenia geograficznego z dodatkiem azotanów z szynką typu Parma. Natomiast wysoka dodatnia korelacja acetoiny

(0,77) i heptanu (0,90) oraz umiarkowana – alkoholi, głównie 1-pentanolu i 1-heksanolu (odpowiednio: 0,57 i 0,69), wpłynęły na zakwalifikowanie kumpiaka do wspólnej grupy z szynką Prosciutto i Crudo (rys. 3 i 6). Wobec powyższego można stwierdzić, że druga składowa główna spowodowała rozdzielenie próbek na szynki z dodatkiem azotanów i bez nich.

Trzecia składowa główna (SG3) wyjaśniła 18,59 % zmienności całkowitej (tab. 2) i pozwoliła na bardziej przejrzyste rozdzielenie materiału badawczego pod względem profilu zapachowego (rys. 2). Szynki typu Serrano, Parma z azotanami i kumpiak podlaski charakteryzowały dodatnie wartości omawianej składowej. Cechą wspólną tej grupy szynek był wysoki udział we frakcji lotnej styrenu i butanianu metyłu – odpowiednio: 11,8 i 1,83 % (wartości średnie). Szynki Parma, Crudo, Prosciutto oraz Schinkenspeck utworzyły jedną grupę pod względem wartości trzeciej składowej głównej. Dla tych próbek SG3 przyjmowała wartości ujemne. W grupie tej występowały substancje charakterystyczne tylko dla niektórych szynek, np. 2-okten-1-ol, 2-nonanon, linalol i dekanal (rys. 4). Wymienione związki wykazywały ujemne wysokie korelacje z SG3 (- 0,79).

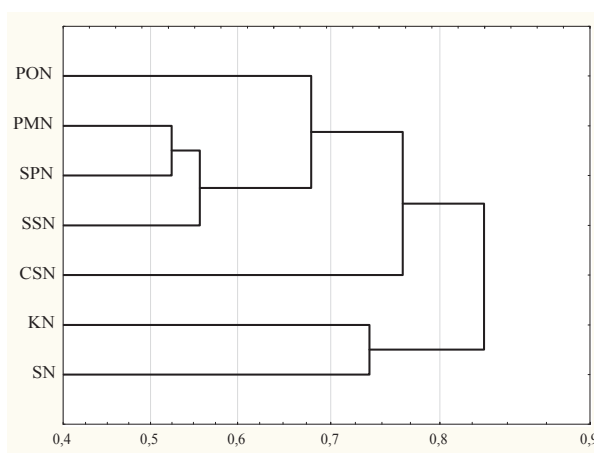


Rys. 5 i 6. Wyniki analizy PCA profili zapachowych szynek – rzut przypadków SG2/SG4 (5), projekcja zmiennych SG2/SG4 (6)

Fig. 5 and 6. Results of PCA analysis of volatile profiles of hams – projection of cases: SG2/SG4 (5), projection of variables SG2/SG4 (6)

Czwarta składowa główna wyjaśniła 15,83 % zmienności całkowitej (tab. 2). Kwasy karboksylowe: oktanowy i nonanowy, aldehydy: oktanal i nonanal wpłynęły na zaliczenie do jednej grupy szynki Prosciutto, Parma z azotanami oraz Schinkenspeck.

Ze względu na obecność estrów takich, jak: pentanian, heksanian, heptanian metylu i etylu (dodatknie wysokie korelacje $\geq 0,80$) drugą grupę utworzyły polska szynka kumpiak podlaski, włoska Parma, hiszpańskie Crudo oraz Serrano (rys. 5 i 6).



Rys. 7. Wyniki analizy skupień profili zapachowych szynek – metoda Warda (wielkość błędu – [%])

Fig. 7. Results of cluster analysis of volatile profiles of hams – Ward's method (percentage incompatibility)

Analiza skupień umożliwiła wyodrębnienie 4 grup badanych szynek, spośród siedmiu (rys. 7). Podobieństwa między grupami mają swoje odzwierciedlenie w testach PCA przedstawionych wcześniej. Na dendrogramie wyraźne jest wspólne sklasyfikowanie szynek włoskich i hiszpańskich oraz oddzielne zgrupowanie – polskiej i niemieckiej. Do pierwszej jednoelementowej grupy należała włoska szynka Parma. Drugą grupę stanowiły szynki Prosciutto i Parma z azotanami oraz Serrano. Pod względem składu związków lotnych wykazywały między sobą największe podobieństwo spośród całego materiału badawczego. Profil zapachowy szynki Crudo wpłynął na jej wyodrębnienie spośród całego materiału badawczego i na zaliczenie do trzeciej jednoelementowej grupy. Do ostatniej czwartej grupy zaliczono kumpiak podlaski i Schinkenspeck, które wykazały najmniejsze podobieństwo do szynek włoskich i hiszpańskich, co świadczy o odmiennych warunkach ich produkcji i różnym składzie chemicznym mięsa.

Wnioski

1. W szynkach surowo dojrzewających, wśród związków lotnych dominowały dwie grupy: aldehydy (wiązane z poszczególnymi fazami dojrzewania) oraz alkohole (będące swoistym wyróżnikiem długości procesu).

2. Analiza składowych głównych umożliwiła zróżnicowanie badanego materiału na 4 grupy: oryginalne szynki włoskie, szynki z dodatkiem azotanów, szynkę polską oraz szynkę niemiecką (peklowaną i wędzoną) i może stanowić narzędzie do określenia pochodzenia produktu oraz jego jakości i autentyczności.
3. Analiza profili związków lotnych w połączeniu z metodami chemometrycznymi umożliwia rozróżnienie europejskich szynek długo dojrzewających.

Literatura

- [1] Andrade M.J., Cordoba J.J., Sanchez B., Casado E.M., Rodriguez M.: Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production. *Food Chem.*, 2009, **2 (113)**, 457-463.
- [2] Andres A.I., Cava R., Ruiz J.: Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *J. Chromat. A.*, 2002, **1-2 (963)**, 83-88.
- [3] Carrapiso A.I., Martin L., Jurado A., Garcia C.: Characterisation of most odour-active compounds of bone stained dry-cured Iberian ham. *Meat Sci.*, 2010, **1 (85)**, 54-58.
- [4] Dirinck P., van Obstaele F., Vandendriessche F.: Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chem.*, 1997, **4 (59)**, 511-521.
- [5] Garcia-Esteban M., Ansorena D., Astiarian I., Ruiz J.: Study of effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, 2004, **2 (64)**, 458-466.
- [6] Gasparido B., Procida G., Toso B., Stefanon B.: Determination of volatile compounds in San Daniele ham using headspace GC-MS. *Meat Sci.*, 2008, **2 (80)**, 204-209.
- [7] Huan Y., Zhou G., Zhao G., Xu X., Peng Z.: Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing. *Meat Sci.*, 2005, **2 (71)**, 291-299.
- [8] Jurado A., Garcia C., Timon M.L., Carrapiso A.I.: Effect of ripening time and rearing system on amino acid related flavour compounds of Iberian ham. *Meat Sci.*, 2007, **3 (76)**, 585-594.
- [9] Kovats Retention Index. [online]. Dostęp w Internecie [05.11.2013]: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>.
- [10] Lammers M., Dietze K., Ternes W.: Headspace Volatiles of Dry-Cured Ham: A comparison of different manufacturing styles by SPME and GC/MS analysis. *J. Proc. Preservation*, 2011, **6 (35)**, 850-860.
- [11] Martin A., Cordoba J.J., Aranda E., Cordoba M.A.: Contribution of selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **1 (110)**, 8-18.
- [12] Marusic N., Petrovic M., Vidacek S., Petrak T., Medic H.: Characterization of traditional Istrian dry-cured ham by means of physical and chemical analyses and volatile compounds. *Meat Sci.*, 2011, **4 (88)**, 786-90.
- [13] Okoń A., Dolatowski Z.J.: Proteoliza białek w wędlinach surowo dojrzewających z udziałem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* Łock 0900. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6 (85)**, 138-151.
- [14] Otero L., Horrillo M.C., Garcia M., Sayago I., Aleixandre M., Fernandez M.J., Ares L., Gutierrez J.: Detection of Iberian ham aroma by a semiconductor multisensory system. *Meat Sci.*, 2003, **3 (65)**, 1175-1185.

- [15] Purrinos L., Bermudes R., Franco D., Carballo J., Lorenzo J.M.: Development of volatile compounds during the manufacture of dry-cured "Lacon" a Spanish traditional meat product. *J. Food Sci.*, 2011, **1** (76), C89-C97.
- [16] Pugliese C., Sirtori F., Calamai L., Franci O.: The evolution of volatile compounds profile of "Toscano" dry-cured ham during ripening as revealed by SPME-GC-MS approach. *J. Mass Spectr.*, 2010, **9** (45), 1056-1064.
- [17] Ruiz J., Cava R., Ventanas J., Jensen M.T.: Headspace solid phase microextraction for analysis of volatiles in a meat product: dry-cured Iberian ham. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **11** (46), 4688-4694.
- [18] Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andres A., Garcia C.: Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of curing process. *Meat Sci.*, 1999, **1** (52), 19-27.
- [19] Ruiz J., Ventanas J., Cava M., Timon L., Garcia C.: Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. *Food Res. Int.*, 1998, **1** (31), 53-58.
- [20] Sanchez-Pena C.M., Luna G., Garcia-Gonzalez D.L., Aparicio R.: Characterisation of French and Spanish dry-cured hams: influence of volatiles from the muscles and subcutaneous fat quantified by SPME-GC. *Meat Sci.*, 2005, **4** (69), 635-645.
- [21] Skwarek M., Dolatowski Z.J.: Wpływ bakterii probiotycznych na właściwości reologiczne szynki surowo dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3** (88), 73-82.
- [22] Węsierska E., Szoltyś M., Bączkiewicz M., Parys A., Wróblewska A.: Porównanie właściwości wybranych surowych wędlin dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6** (85), 152-166.

PROFILE OF VOLATILE COMPOUNDS IN EUROPEAN DRY-CURED HAMS AS INDICATOR OF THEIR QUALITY AND AUTHENTICITY

S u m m a r y

In the research study, the analysis is presented of profiles of volatile compounds in dry-cured hams using SPME (solid phase microextraction) together with GC-MS and chemometric techniques of PCA (principal component analysis) and CA (cluster analysis). Seven dry-cured hams from different European countries were analyzed: Serrano ham from Spain, Parma, Crudo, and Mantovelle hams from Italy, kumpiak podlaski ham from Poland, and Schinkenspeck ham from Germany.

In the hams analyzed, 61 volatile compounds were identified and classified in the following groups: aldehydes (14), ketones (3), alcohols (7), esters (9), alkanes (6), aromatic hydrocarbons (2), acids (4), heterocyclic compounds (1), terpenes (11), phenols (1) and others (3). The prevailing groups were aldehydes and alcohols. It was found that the saturated aliphatic aldehydes (2-metylobutanal and 3-metylobutanal) were present in the hams; they are a good indicator of the oxidation process ongoing in the dry-cured hams; moreover, there were found products of fatty acid oxidation (hexanal, octanal).

The chemometric treatment made it possible to diversify the material under analysis and to identify hams based, among other things, on the production technology. On the basis of the analysis of principal components and cluster analysis, 4 groups of hams were defined: Italian and Spanish, Polish ham, and German ham. The combination of instrumental analysis and chemometric methods can be useful for determining the origin of product and its authenticity.

Key words: dry-cured hams, SPME-GC-MS, volatile compounds, chemometrics 