

TADEUSZ TUSZYŃSKI, TOMASZ TARKO, MAŁGORZATA KUN

## LOTNE ZWIĄZKI SZEŚCIOWĘGŁOWE W NAPOJACH ALKOHOLOWYCH

### Streszczenie

Alkohol heksylowy i jego pochodne (związki  $C_6$ ) przyczyniają się do ostrego, trawiastego smaku oraz zapachu napojów alkoholowych. Prekursorem komponentów  $C_6$  jest kwas linolowy i linolenowy, które występują w zielonych częściach roślin, niedojrzałych owocach, warzywach i zbożach. Biokonwersja tych kwasów do odpowiednich aldehydów i alkoholi odbywa się przy udziale enzymów (lipooksygenaza, oksydoreduktaza alkoholowa i liaza aldehydowa), które zawarte są w surowcach roślinnych i mikroorganizmach.

W celu zmniejszenia zawartości związków  $C_6$  w napojach alkoholowych należy eliminować z przerobu surowce niedojrzałe, zielone części roślin oraz ograniczyć napowietrzenie w czasie ich rozdrabniania. Dodatek  $SO_2$  oraz kwasu askorbinowego wpływa hamująco na tworzenie heksanolu podczas obróbki owoców, ich maceracji oraz fermentacji.

### Wstęp

Rozwój technik analitycznych doprowadził do wykrycia wielu nowych, niezidentyfikowanych dotychczas składników żywności, wśród których są także związki niepożądane lub toksyczne. Dlatego między innymi organizacje międzynarodowe (FAO/WHO) zalecają szerokie programy monitorowania zanieczyszczeń żywności. W wyniku monitoringu, w niektórych surowcach i produktach spożywczych, stwierdzono obecność aflatoksyn, azotanów, azotynów, cyjanków, pestycydów, nitrozoamin, karbaminianów i innych komponentów toksycznych lub szkodliwych dla zdrowia konsumentów. Wykryto również liczne związki sześciowęglowe, głównie w moszczach, winach, destylatach owocowych i wódkach, wpływające zazwyczaj negatywnie na cechy sensoryczne tych produktów. Stosowane obecnie techniki i technologie (obróbki fizyczne, chemiczne, enzymatyczne i mikrobiologiczne) pozwalają na kontrolowane modyfikacje składu chemicznego i cech sensorycznych produktów spożywczych, w kierunku optymalnym dla ich jakości, stabilności i cech prozdrowotnych [30].

Związki smakowo-aromatyczne przechodzą do napojów w zasadniczej ilości z surowców stosowanych do produkcji i dalej są tworzone oraz modyfikowane podczas poszczególnych etapów procesu technologicznego. Chemiczna i techniczna literatura zawiera liczne wykazy składników aromatu napojów alkoholowych, począwszy od związków jednowęglowych, aż do wielowęglowych i heterozwiązków [10, 11, 38]. Wszystkie komponenty z grupy alkoholi, estrów, aldehydów i ketonów, acetalii, kwasów organicznych i innych związków mają istotny wpływ na smak, zapach i stabilność końcowego produktu [3, 29, 36, 39]. Sześciowęglowe składniki napojów alkoholowych występują zazwyczaj w bardzo małych stężeniach, jednak w sposób istotny determinują ich jakość. Niektóre z nich wpływają wprawdzie dodatnio na aromat (np. octan heksylu, 2-fenyletanol i alkohol benzylový), ale w większości związki C<sub>6</sub> (głównie heksanol i heksanal) są odpowiedzialne za ostry, gorzki, piekący i trawiasty posmak napojów [3, 5, 36]. Tanner [33] wykazał, że już 1 mg heksanolu w 1 dm<sup>3</sup> wódki zmienia całkowicie cechy sensoryczne i eliminuje taki produkt z konsumpcji.

Alkohol heksylowy i jego pochodne przechodzą do finalnego produktu przeważnie z surowców (zielone części roślin, niedojrzałe owoce), ale tworzą się także podczas procesów fermentacji, destylacji i dojrzewania napojów. W celu ograniczenia zawartości heksanolu w napojach alkoholowych należy przede wszystkim eliminować prekursorzy tego związku (kwas linolowy i linolenowy). Tworzenie składników C<sub>6</sub> następuje już w czasie rozdrabniania owoców [23]. Schreier i in. [26] wykazali, że niszczenie struktur komórkowych owoców oraz różnorodne obróbki moszczów i win prowadzą do powstawania głównie sześciowęglowych alkoholi i aldehydów. Dotychczasowe badania [8, 27, 33, 36] potwierdzają między innymi dodatnią korelację pomiędzy kulturami drożdży obecnymi w procesie fermentacji i zawartością lotnych składników aromatycznych w fermentowanych moszczach, winach i destylatach owocowych.

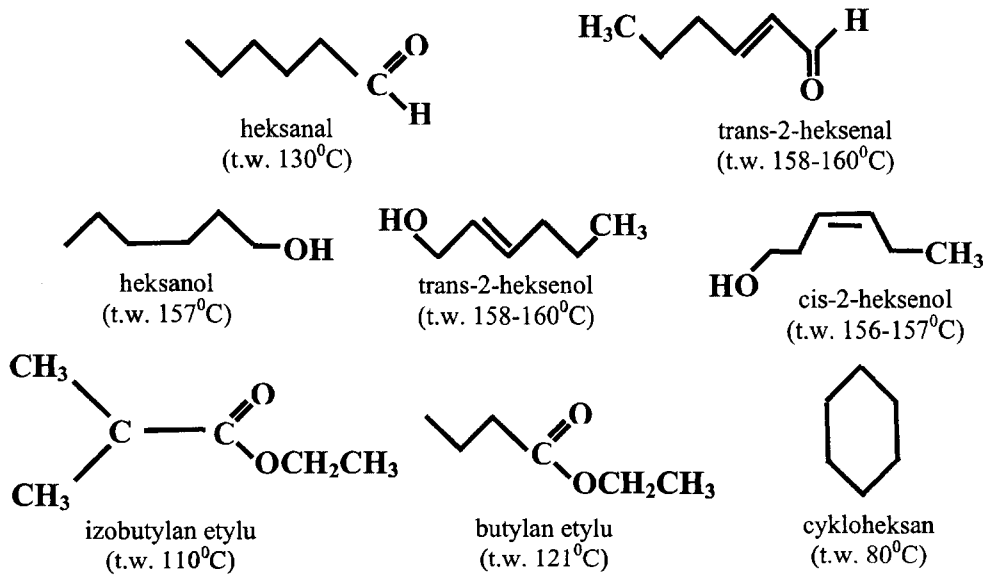
Pomimo licznych prac nad tworzeniem komponentów aromatycznych napojów alkoholowych, wiele zagadnień z tego zakresu jest dalej niewyjaśnionych. Szczególnie trudne są do rozpoznania różne drogi przemian biochemicznych przy udziale mikroorganizmów oraz korelacje między składem chemicznym i cechami sensorycznymi napojów.

### Występowanie i charakterystyka związków C<sub>6</sub>

Do najbardziej charakterystycznych związków sześciowęglowych należą aldehydy (heksanal i trans-2-heksenal) oraz odpowiadające im alkohole : heksanol, trans-2-heksenol i cis-2-heksenol [10, 15]. Na rys. 1 przedstawiono typowe komponenty C<sub>6</sub>, które mogą występować w napojach alkoholowych.

Stevens i in. [31] zajmowali się badaniami lotnych składników wyekstrahowanych z winogron *Vitis vinifera*. Wśród związków sześciowęglowych dominował heksanol, ale występował również cis-2-heksenol i trans-2-heksenol. Zidentyfikowano

także w niewielkich ilościach cis-2-heksenal oraz trans-2-heksenal i heksanal. Kwan i Kowalski [16] wykazali, iż kluczowymi składnikami niektórych win są dwa naturalne związki: heksanol i cykloheksan. Udział alkoholu heksylowego w moszczach, winach i destylatach owocowych jest z reguły największy, w stosunku do innych związków sześciowęglowych.



Rys. 1. Komponenty C<sub>6</sub> występujące w napojach alkoholowych.  
 Fig. 1. C<sub>6</sub> compounds found in alcoholic beverages.

Tabela 1

Progi zapachowe wybranych składników aromatycznych win [11, 23].  
 Odour threshold of selected aromatic components of wine [11, 23].

Składnik / Component	Wartość progowa / Threshold value [mg/dm <sup>3</sup> ]
Heksanal	0,005
Izobutylian etylu	0,015
Trans - 2 - heksenal	0,017
Butylan etylu	0,02
Cis - 3 - heksenol	0,4
Kwas heksylowy	3
Heksanol	8
2-fenylloetanol	10

Tabela 2

Zawartość alkoholu heksylowego w niektórych napojach alkoholowych [1, 12, 24].  
Hexyl alcohol content in some alcoholic beverages [1, 12, 24].

Napoje alkoholowe / Alcoholic beverages	Zawartość heksanolu / Content of hexanol [mg/dm <sup>3</sup> ]
Gin	<1
Wódka	<1
Rum	2-3
Whisky	3-9
Brandy	22
Tequila (destylat z agawy)	33
Kirschwasser (destylat z wiśni)	52
Destylat z jabłek	107
Wino czerwone wytrawne	1,5-7,8
Wino białe wytrawne	1,3-3,9
Porto	3,5-12
Muscat	2,7-10
Piwo	0,05-33

Alkohol heksylowy jest gęstą cieczą o intensywnym, trawiastym zapachu i smaku (temp. wrzenia 157°C i temp. zapłonu 60°C). Pozostałe związki sześciowęglowe wykazują podobne właściwości sensoryczne, są wyczuwalne w niskich stężeniach i negatywnie wpływają na jakość napojów alkoholowych.

Guth [11] i Poll [23] oznaczyli progi wyczuwalności zapachu niektórych związków aromatycznych występujących w napojach alkoholowych, głównie w winach (tab. 1). Uwzględniony w tabeli 2-fenylloetanol nie należy wprowadzić do związków sześciowęglowych, jednak występuje najczęściej razem z alkoholem heksylowym oraz benzylovym ( $C_6H_5CH_2OH$ , temp. wrzenia 250°C) i jako charakterystyczny składnik wielu napojów fermentowanych jest oznaczany i opisywany łącznie ze składnikami  $C_6$ .

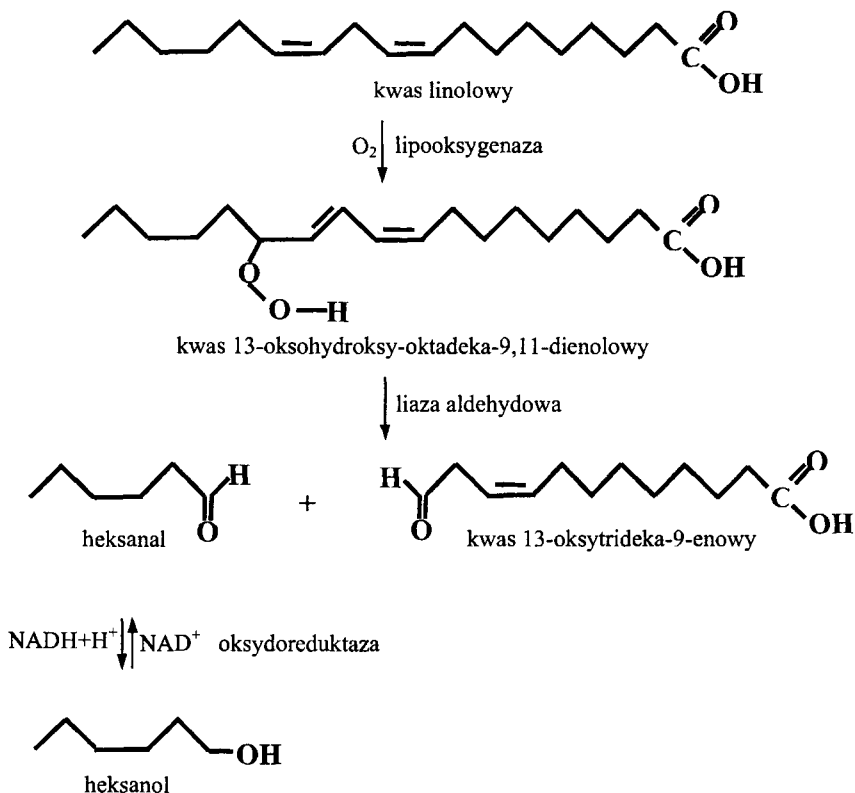
Alkohol heksylowy oddziałuje bardzo negatywnie na napoje poprzez ostry i piekący smak, pomimo stosunkowo wysokiego progu wyczuwalności zapachowej. Z kolei heksanal wpływa niekorzystnie na zapach już w bardzo małych stężeniach progowych ( $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ ). Guth [11] stwierdził, iż w niektórych winach zawartości butylanu i izobutylanu etylu były około 50 razy wyższe od progu ich wyczuwalności. Sponholz i in. [28] oznaczyli w karaibskim rumie całą gamę kwasów tłuszczowych ( $C_6 - C_{10}$ ) i ich pochodnych odpowiedzialnych za smak i zapach, między innymi heksanol i kwas heksylowy. Autorzy stwierdzili, iż niska zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i kwasu 2-metylopropionowego oraz wysoki poziom składników  $C_6 - C_{10}$

świadczy o dobrej jakości i szlachetności rumu. Inne badania [37] wykazały, że o jakości destylatów z przefermentowanych gruszek Bera Williama decydował głównie skład jakościowy i ilościowy wolnych kwasów tłuszczowych oraz ich estrów. Natomiast podwyższona ilość alkoholu fuzlowych i heksanolu wpływały negatywnie na cechy sensoryczne tych destylatów. Barnett i Einsmann [1] oznaczyli stosunkowo wysoką zawartość heksanolu w niektórych destylatach z jabłek (apple brandy), wiśni (kirschwasser) oraz agawy (tequila).

Zamieszczone w tabeli 2 wyniki wykazują, że stosunkowo duże ilości heksanolu mogą zawierać oprócz destylatów z jabłek, wiśni i agawy, także wina czerwone, koniak oraz piwo. Zróżnicowane zawartości alkoholu heksylowego są głównie uwarunkowane odmiennymi technikami produkcji win czerwonych i innych specjalnych (porto, muscat) oraz procesami destylacji (destylaty i wódki), podczas których może zwiększać się stężenie związków  $C_6$  w tzw. frakcji właściwej (głównej).

### Prekursory i reakcje powstawania związków $C_6$

Zdaniem Fronza i in. [7] pierwsze badania na temat występowania wolnego, bądź zestryfikowanego heksanolu w roślinach wiązały się z początkiem rozwoju fitochemii. Dotychczas rozpoznanymi prekursorami alkoholu heksylowego są kwasy: linolowy i linolenowy, które występują w zielonych częściach roślin oraz słabo dojrzałych owocach, warzywach i zbożach [10]. Do rozkładu tych kwasów tłuszczowych przyczyniają się niektóre mikroorganizmy oraz enzymy zawarte w roślinach: lipooksygenaza (EC 1.13.11.12), oksydoreduktaza alkoholowa (EC 1.1.1.1) i liaza aldehydowa (EC 4.1.2). Największą ich aktywność zaobserwowano podczas rozdrabniania winogron, kiedy kontakt między enzymami i substratami jest bardzo intensywny [10, 34, 36]. Heksanol powstaje na skutek redukcji heksanolu, na drodze defragmentacji kwasu linolowego poprzez kwas 13-oksohydroksylinolowy. Podobnie tworzy się cis-3-heksenol i trans-2-heksenol z kwasu linolenowego. Wszystkie trzy powyższe związki (alkohole), oraz odpowiadające im aldehydy powstają stosunkowo szybko, gdy uszkodzona tkanka roślin narażona jest na utlenianie [7]. Dodatek od 1 do 6 g części zielonych (liście, ogonki) na 1 kg fermentującej miazgi owoców, powodował istotny wzrost zawartości heksanolu w destylacie ( $90\text{--}180\text{ mg/dm}^3$ ) [36]. Podczas destylacji korekcyjnej, zawartość tego składnika w spirytusach wiśniowych obniżała się o ponad 50%, w stosunku do ilości początkowej [36]. Reakcje tworzenia alkoholu heksylowego z kwasu linolowego i linolenowego przedstawiają rysunki 2 i 3 [7, 21].

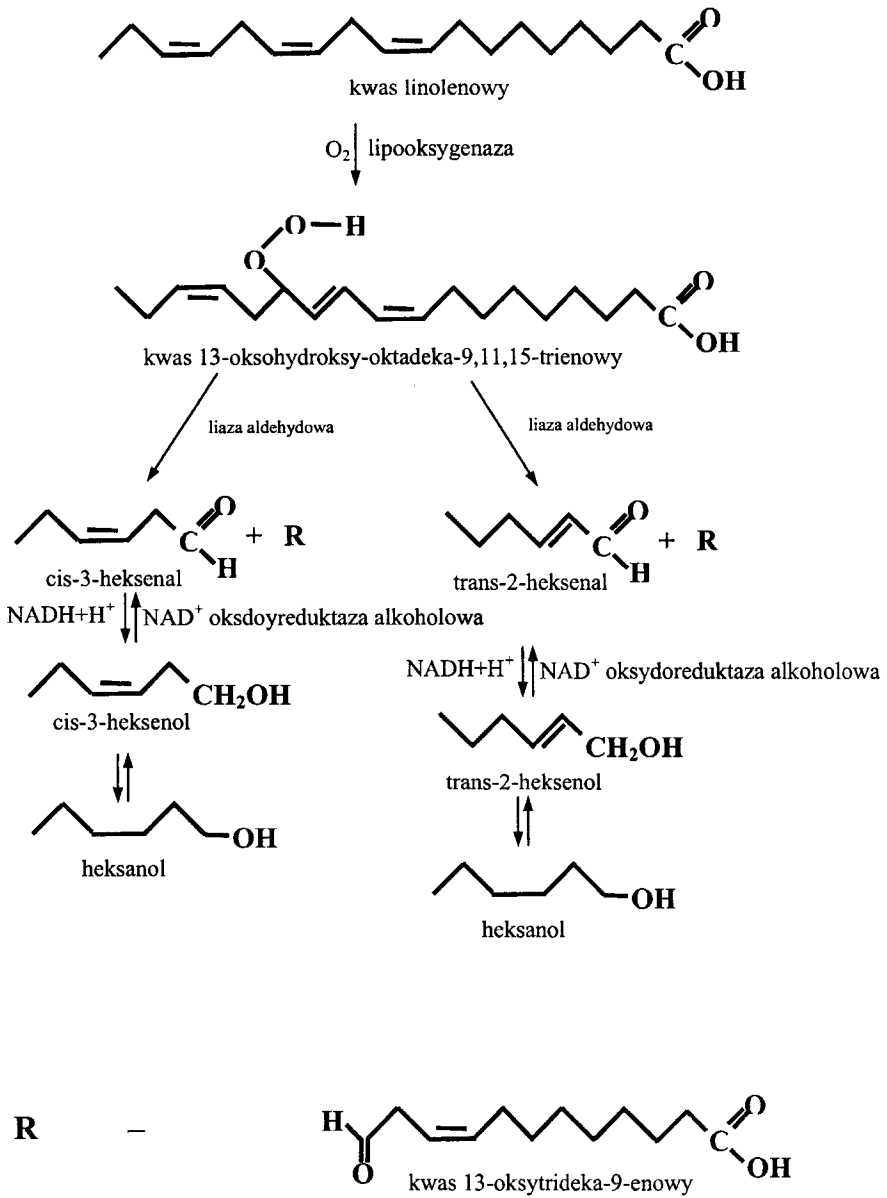


Rys. 2. Reakcja tworzenia alkoholu heksylowego z kwasu linolowego.

Fig. 2. Synthesis of hexanol from linoleic acid.

Na ilość powstałego heksanolu oprócz zawartości prekursorów w surowcach stosowanych do fermentacji (kwas linolowy i linolenowy) mają także wpływ inne czynniki. Należy do nich między innymi stopień oksydacji moszczu podczas rozdrabniania owoców, czas jego kontaktu ze skórkami oraz pH i temperatura procesu [34].

Owoce winogron nie są jedynym źródłem związków sześciowęglowych. Heksanal i trans-2-heksenal, stanowią od 40 do 60% związków  $C_6$  występujących w truskawkach [14]. Teule i Crouzet [35] wykazali istnienie aldehydów, estrów i alkoholi sześciowęglowych w jabłkach. Inne prace wskazują na obecność komponentów  $C_6$  w owocach, moszczach, winach oraz wódkach z brzoskwiń [32] i gruszek [37]. Występowanie heksanolu i 3-heksanolu, stwierdzono w miodzie eukaliptusowym i lawendowym [2]. Istnienie związków  $C_6$  wykazano również w bananach, pomarańczach, kiwi i wiśniach [9, 17, 18, 22], ale największe ich ilości znajdują się w czarnej herbacie [25].



Rys. 3. Reakcja tworzenia alkoholu heksylowego z kwasu linolenowego.

Fig. 3. Synthesis of hexanol from linolenic acid.

## Wpływ procesów technologicznych na zawartość związków sześciowęglowych w napojach alkoholowych

Związki sześciowęglowe mogą występować w owocach, warzywach i innych surowcach pochodzenia roślinnego. Ich zawartość znacznie się zmienia w czasie procesów technologicznych, szczególnie w trakcie pierwszych 30 h fermentacji (tab. 3).

Tabela 3

Zmiany zawartości związków sześciowęglowych podczas winifikacji [10].

Changes in C<sub>6</sub> compounds [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ] content during winification [10].

Związek / Compound	Czas winifikacji / Time of winification [h]					
	0	2	4	8	16	30
Heksanal	30,5	12,6	29,2	16,4	22,7	10,0
Trans-2-heksenal	56,2	11,7	11,9	7,4	15,3	12,0
Heksanol	57,0	130,7	375,5	413,8	588,4	1881,0
Trans-2-heksenol	140,7	376,0	807,2	738,5	640,0	73,8
Cis-2-heksenol	15,4	27,1	50,9	51,5	44,4	47,6

Jak można zauważyć, na początku procesu zawartość trans-2-heksenalu była wyższa od heksanalu. Maksymalną ilość tych aldehydów stwierdzono w czasie pierwszych czterech godzin winifikacji, następnie obserwowano zmniejszenie się ich zawartości, co było spowodowane redukcją tych związków do odpowiednich alkoholi. Trans-2-heksenol był głównym alkoholem na początku procesu, a jego maksymalną koncentrację wykazano po 4h od rozdrobnienia owoców. Następnie ilość tego związku zmniejszała się w miarę redukcji podwójnego wiązania i transformacji do heksanolu, który po 30h fermentacji pozostał jedynym komponentem w stosunkowo dużej koncentracji (1881  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ). Wykazano ponadto, iż przemiany kwasu linolowego i linolenowego w związki sześciowęglowe przebiegają na drodze enzymatycznej i mogą być zahamowane poprzez dodatek składników inhibitujących reakcje ich powstawania [10]. Badania przeprowadzono z udziałem kwasu trichlorooctowego [TCA] jako inhibitora enzymów. Na podstawie uzyskanych wyników (tabela 4) stwierdzono, że dodany inhibitor zapobiegał tworzeniu się wszystkich związków C<sub>6</sub>, co jednocześnie potwierdziło enzymatyczny charakter powyższych przemian [10].

Harraiz i in. [13] interesowali się wpływem SO<sub>2</sub> na tworzenie związków C<sub>6</sub> i nie stwierdzili żadnych różnic w zawartości tych składników w moszczach sulfitowanych i niesulfitowanych. Inni autorzy [10] analizowali wpływ bezwodnika kwasu siarkawego (100 mg SO<sub>2</sub>/kg moszczu) na ilość związków sześciowęglowych w winach i wykazali zmiany ich stężeń w wyniku sulfitacji (tab. 5).



Tabela 4

Wpływ kwasu trichlorooctowego na tworzenie związków sześciowęglowych [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ].  
Influence of trichloroacetic acid on the synthesis of  $\text{C}_6$  compounds [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ].

Związek / Compound	Zawartość / Content	
	Kontrola	Z dodatkiem TCA
Heksanal	30,5	4,0
Trans-2-heksenal	56,1	0,0
Heksanol	57	4,2
Trans-2-heksenol	140,7	14
Cis-3-heksenol	15,4	0,0

Tabela 5

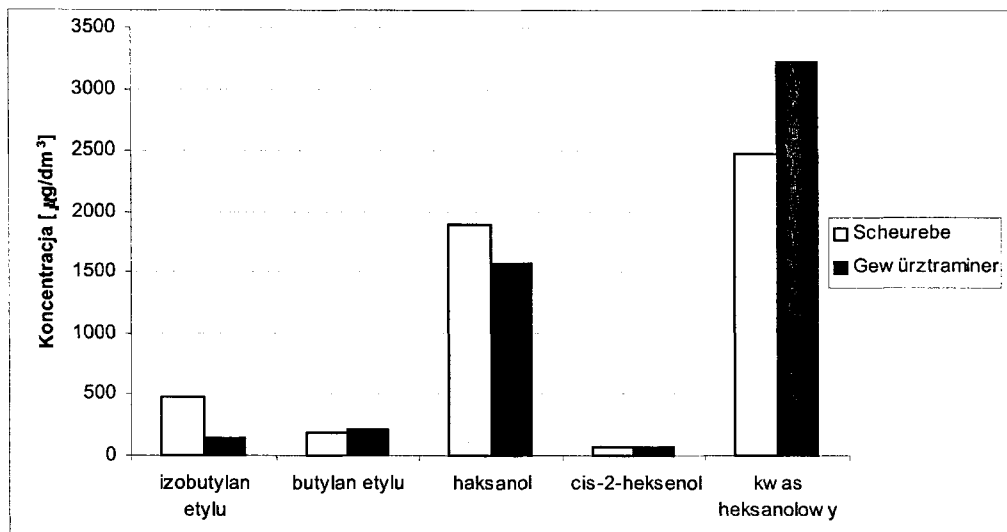
Powstawanie związków sześciowęglowych [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] w sulfitowanym moszczu [10].  
Synthesis of  $\text{C}_6$  compounds [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] in sulfitated must [10].

Związek / Compound	Czas przetrzymywania z $\text{SO}_2$ / Sulfitation time [h]							
	0	2	4	8	16	30	50	130
Heksanal	13,6	14,2	11,9	14,1	15,1	20,4	0,0	0,0
Trans-2-heksenal	116,4	65,6	34,5	31,4	15,4	38,9	0,0	0,0
Heksanol	41,8	120,5	171,1	246,6	242,0	928,0	1823,3	1466,0
Trans-2-heksenol	107,6	445,0	665,3	890,4	748,0	580,0	11,4	15,7
Cis-2-heksenol	9,7	43,3	53,2	67,1	54,1	51,7	75,2	67,0

Zawartość  $\text{SO}_2$  tylko nieznacznie wpływała na koncentrację heksanal, powstały jednak większe ilości trans-2-heksenal i trans-2-heksenol w porównaniu z kontrolą (próba niesulfitowana, tabela 3) zarówno na początku winifikacji, jak i po 30 h. Można także zauważyć, że tworzenie alkoholu heksylowego w moszczach sulfitowanych przebiega znacznie wolniej (tab. 3 i tab. 5). Fakt wolniejszego tworzenia się związków  $\text{C}_6$  w obecności  $\text{SO}_2$  można tłumaczyć inhibitującymi właściwościami w stosunku do enzymów oraz jego wiązaniem z grupami karbonyłowymi. Reakcje wiązania aldehydów są jednak odwracalne i mogą być ponownie stopniowo uwalniane [10]. Oprócz  $\text{SO}_2$  hamująco na powstawanie tych związków wpływają: kwas askorbinowy, metanol, cyjamid potasowy, rtęciowy i inne [3, 10, 29].

Niewielki wpływ na zawartość składników  $\text{C}_6$  w moszczach, winach i destylatach miały także rasy drożdży użyte w procesie technologicznym. Do fermentacji nastawów zastosowano różne rodzaje i gatunki drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora uvarum*) i stwierdzono, że zawartość niektórych związków

C<sub>6</sub> (heksanolu, cis-3-heksenolu, trans-3-heksenolu, octanu heksylu) była podobna we wszystkich odfermentowanych próbach [8]. Wykazano natomiast, iż zawartość substancji aromatycznych jest uzależniona głównie od gatunku i odmiany użytych owoców, ze względu na ich zróżnicowaną aktywność enzymatyczną oraz obecność macierzystych inhibitorów [10,34]. Badania Gutha [11] wykazały różne ilości niektórych związków C<sub>6</sub> w dwóch gatunkach win niemieckich (Scheurebe i Gewürztraminer) wyprodukowanych z różnych szczepów winogron (rys. 4).



Rys. 4. Zawartość związków sześciowęglowych w dwóch różnych winach [11].

Fig. 4. Content of sixcarbon compounds in two different wines [11].

Powyższe spostrzeżenia potwierdziły badania Rankine i Poccocka [24], którzy zajmowali się analizą wpływu odmian winogron i ras drożdży na ilość tworzącego się alkoholu heksylowego. Autorzy wykorzystali w doświadczeniach trzy rasy winogron (Pedro, Tokay i Ugri Blanc) oraz dwa gatunki drożdży (*Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces fructuum*) i stwierdzili, iż rasa drożdży nie ma istotnego wpływu na zawartość heksanolu w winach. Ilość tego alkoholu była uzależniona głównie od gatunku użytych winogron, stosunkowo dużą jego zawartość wykazano w winie z odmiany Tokay.

Inne doświadczenia wykazały zwiększoną zawartość heksanolu (z 1503 µg/dm<sup>3</sup> do 2672 µg/dm<sup>3</sup>) i kwasu heksylowego (z 2709 µg/dm<sup>3</sup> do 3140 µg/dm<sup>3</sup>) w winach otrzymanych poprzez fermentację w miazdze [3]. Zawartość wszystkich analizowanych składników aromatycznych, w wyniku kontaktu ze skórkami, uległa zwiększeniu, a poziom alkoholu heksylowego wzrósł dwukrotnie. Rankine i Poccock [24] dowiedli

ponadto, iż homogenizacja owoców ze skórkami powoduje podwyższenie zawartości heksanolu w badanych próbkach o ok. 70%, w odniesieniu do próby kontrolnej (moszcz po oddzieleniu skórek). Autorzy stwierdzili także, że wzrost temperatury fermentacji z 15 do 35°C oraz pH (z 3 do 4), nie mają większego wpływu na zawartość w winach alkoholu heksylowego i innych związków sześciowęglowych [24].

Zebrane wyniki analiz pozwalają stwierdzić, że na końcową koncentrację aromatycznych związków sześciowęglowych w napojach alkoholowych mają zasadniczy wpływ następujące czynniki: gatunek i odmiana owoców, rok ich zbioru, stopień dojrzałości oraz techniki i technologie otrzymywania moszczów, win i destylatów.

### Identyfikacja i oznaczanie

Oznaczanie związków sześciowęglowych w napojach alkoholowych polega w zasadzie na ich koncentracji poprzez ekstrakcję lub destylację, ewentualnie jeszcze dodatkowym oczyszczeniu i zagęszczeniu roztworu oraz pomiarze metodą chromatografii gazowej, w połączeniu ze spektrometrem masowym.

Jedną z pierwszych metod oznaczania i identyfikacji niektórych związków  $C_6$  opierała się na ekstrakowaniu badanych próbek chlorkiem metylenu, po uprzednim ich oczyszczeniu chlorkiem sodu [24]. Badany roztwór (100 cm<sup>3</sup>) był zagęszczany w 40°C do 2 cm<sup>3</sup>, a następnie przeprowadzano analizę chromatograficzną – chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Jako wzorzec wewnętrzny zastosowano difenyl-2-propanol. Marais, van Wyk i Rapp [19] oraz Tuszyński [37] wykorzystali do ekstrakcji heksanolu mieszaninę dwóch związków: pentanu i dichlorometanu w stosunku objętościowym 2:1. Wypełnienie kolumny stanowił Carbowax 20M, a wzorcem wewnętrznym był 3-dekanol. Analizę wykonywano w programowanej temperaturze: 10 min. w 60°C, następnie wzrost do 190°C z szybkością 1°C/min i termostatowanie w 190°C przez 30 min. Podobne rozpuszczalniki użyte były do ekstrakcji przez Moret'a i in. [20], ale jako wzorzec wewnętrzny zastosowano 1-heptanol. Odzysk alkoholu heksylowego z użyciem pentanu i dichlorometanu kształtował się w granicach od 83 do 90% [37]. Zastosowanie innych rozpuszczalników (freon 11, eter dietylowy, CS<sub>2</sub>) wyraźnie zmniejszyło ilość wyekstrahowanego heksanolu [16, 34, 39].

Stosowane techniki przygotowania próbek były dość pracochłonne i stosunkowo kosztowne. Dlatego wprowadzono różne udoskonalenia metod, głównie poprzez zażęzanie roztworów na kolumnach ekstrakcyjnych [38]. Jako wypełnienie kolumn do ekstrakcji zastosowano Poropak Q, a zaadsorbowane związki wymywano za pomocą trzech różnych rozpuszczalników: dichlorometanu, eteru etylowego i pentanu. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż najlepszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji komponentów  $C_6$  jest dichlorometan (odzysk niektórych składników był bliski 100%). Najmniej przydatnym związkiem do ekstrakcji okazał się pentan (odzysk do kilku procent). Oznaczenia ilościowe wykonywano na chromatografii gazowej z

kolumną kapilarną DB-WAX (60 m × 0,25 mm). W innej pracy [3] jako wypełnienie kolumny ekstrakcyjnej zastosowano Amberlite XAD-2, a do wyflukiwania komponentów C<sub>6</sub> użyto mieszaniny pentanu i dichlorometanu oraz octanu etylu i metanolu. Pierwszy ekstrahent odwadniano następnie bezwodnym siarczanem sodu, a drugi odparowywano pod obniżonym ciśnieniem i pozostałość rozpuszczano w 0,2 cm<sup>3</sup> buforu cytrynianowo - fosforanowego (0,2 M, pH 5,0). Identyfikacja i oznaczanie ilościowe przeprowadzano na chromatografii gazowej z detektorem wychwytu elektronów (temperatura programowana od 60°C do 245°C), a jako wzorzec wewnętrzny użyto 4-nonanol (30 µg na 100 cm<sup>3</sup> wina).

Zhou i in. [39] porównali dwie metody ekstrakcji związków C<sub>6</sub> w systemie ciecz - ciecz oraz z wykorzystaniem kolumn ekstrakcyjnych wypełnionych Amberlitem XAD-2. Jako rozpuszczalnika w obu przypadkach użyto freonu 11 (trichlorofluorometan), a wzorzec wewnętrzny stanowił roztwór 0,19% kwasu winowego w 11,5% alkoholu o pH 3,1. Ustalono, iż obie metody charakteryzują się stosunkowo wysokim odzyskiem analizowanych substancji (powyżej 90%). Wyższą wydajność oznaczanych alkoholi C<sub>6</sub> uzyskano dzięki ekstrakcji z użyciem Amberlitu XAD-2, natomiast pełniejszy odzysk estrów stwierdzono po ekstrakcji ciecz - ciecz, jednak metoda ta jest bardziej pracochłonna. Jeszcze inną ciekawą technikę analityczną zaproponowali Jares i in. [5], którzy schładzali próbkę do minus 120°C, w taki sposób, że lotne składniki znajdowały się nad wymrożoną cieczą. Opary pobierano techniką „headspace” i podawano bezpośrednio na kolumnę chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo - jonizacyjny lub detektorem wychwytu elektronów i spektrometrem masowym. Metoda ta charakteryzuje się bardzo dużą prostotą i szybkością wykonania, jednak nadaje się jedynie do analizowania bardziej lotnych składników aromatu. Komponenty C<sub>6</sub> charakteryzują się wystarczająco niską temperaturą wrzenia i nadają się do oznaczenia proponowaną techniką.

Reasumując można stwierdzić, że z uwagi na stosunkowo niską koncentrację związków C<sub>6</sub> w napojach alkoholowych ich oznaczanie jest dość pracochłonne. W pierwszym etapie należy przeprowadzić odpowiednią izolację badanych składników i ich zatężanie, następnie identyfikację i oznaczanie ilościowe z użyciem chromatografu gazowego lub HPLC.

## Podsumowanie

Związki sześciowęglowe, głównie alkohol heksylowy i jego pochodne, charakteryzują się stosunkowo niskimi progami wyczuwalności, wpływają niekorzystnie na smak i zapach napojów, przyczyniając się między innymi do ostrego, piekącego i trawiastego ich posmaku. Prekursorami komponentów C<sub>6</sub> są kwasy: linolowy i linolenoowy, które występują w zielonych częściach roślin, niedojrzałych owocach, warzywach i zbożach. Biokonwersja tych kwasów do odpowiednich aldehydów i alkoholi (zwią-

ków C<sub>6</sub>) odbywa się głównie przy udziale enzymów: lipooksygenazy, oksydoreduktazy alkoholowej i liazy aldehydowej, które zawarte są w surowcach pochodzenia roślinnego oraz mikroorganizmach.

W celu zmniejszenia zawartości heksanolu i komponentów pochodnych w napojach alkoholowych należy eliminować z przerobu surowce niedojrzałe oraz ich zanieczyszczenia, głównie zielone części roślin. Podczas procesów technologicznych powinno się maksymalnie ograniczyć napowietrzanie surowców w trakcie ich rozdrabniania. Dodatek SO<sub>2</sub>, kwasu askorbinowego i innych inhibitorów enzymów wpływa hamująco na tworzenie heksanolu w czasie przygotowania i obróbki owoców, maceracji miążgi oraz fermentacji moszczów.

W napojach destylowanych można dodatkowo ograniczyć zawartość heksanolu poprzez odpowiednią destylację korekcyjną z odbiorem frakcji pogonowych lub rektyfikację.

## LITERATURA

- [1] Barnett J.H., Einsmann J.R.: Occurrence and distribution of 2-butanol, 1-butanol, 1-pentanol and 1-hexanol in distilled alcoholic beverages. *J. Official Analytic. Chem.*, **60** (2), 1977, 297-301.
- [2] Bouseta A., Scheirman V., Collin S.: Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honeys. *J. Food Sci.*, **61** (4), 1996, 683-687 i 694.
- [3] Cabaroglu T., Canbas A., Baumes R., Bayonuve C., Lepoutre J.P., Gunata Z.: Aroma composition of white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Emir as affected by skin contact. *J. Food Sci.*, **62** (4), 1997, 680-683.
- [4] Cabaroglu T., Guanata A. Z., Canbas A.: A study on aroma compounds of Muscat of Barnova wine. *Gida.*, **22** (2), 1997, 137-145.
- [5] Garcia-Jares C., Garcia-Martinez S., Cela-Torrijos R.: Analysis of some highly volatile compounds of wine by means of purge and cold trapping injector capillary gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1995, 764-768.
- [6] Flath R. A., Black D. R., Guadagni D. G., McFadden W. H, Schulta T. H.: Identification and organoleptic evolution of compounds in delicious apple essence. *J. Agric. Food Chem.*, **15** (1), 1967.
- [7] Fronza G., Fuganti C., Zucchi G.: Natural abundance <sup>2</sup>H nuclear magnetic resonance study of the origin of n-hexanol. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1996, 887-891.
- [8] Gil J. V., Mateo J.J., Jimenez M., Pastor A., Huerta T.: Aroma compounds in wine as influenced by Apiculate yeast. *J. Food Sci.*, **61** (6), 1996, 1247-1249 i 1266.
- [9] Girard B., Kopp T. G.: Physiochemical characteristics of selected sweet cherry cultivars, **46** (2), 1998, 471-476.
- [10] Gomez E., Martinez A., Leancina J.: Influence of SO<sub>2</sub> and yeast development on the evolution of C<sub>6</sub> compounds during the first hours of vinification. *Ital. J. Food Sci.*, **3**, 1993, 263-268.
- [11] Guth H.: Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 3027-3032.
- [12] Hardwick W.A.: Handbook of brewing, Marcel Dekker, New York, 1995.

- [13] Harraiz T. i in.: Changes in the composition of alcohols and aldehydes of C<sub>6</sub> chain length during the alcoholic fermentation of the grape must. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1990, 969.
- [14] Ingham K. E., Linforth R. S. T., Taylor A. J.: The effect of eating on aroma release from strawberries. *Food Chem.*, **54** (3), 1995, 283-288.
- [15] Katalog Merck, 1998, 698-699.
- [16] Kwan W. O., Kowalski B. R.: Pattern recognition analysis of gas chromatographic data. Geographic classification of wines *Vitis vinifera* cv. Piont Noir from France and United States. *J. Agric. Food Chem.*, **28** (2), 1980, 356-359.
- [17] Kyong S. K., Bernreuther A.: Enantioselective analysis of chired flavour compounds from banana by multidimensional gas chromatography/mass spectrometry. *Food and Biotechnol.*, **4** (4), 1995, 244-248.
- [18] Lay-Keow N., Hupe M.: Analysis of sterols: a novel approach for detecting juices of pineapple, passionfruit, orange and grapefruit in compounded beverages. *J. Sci. Food Agric.*, **76** (4), 1998, 617-627.
- [19] Marais J., van Wyk C.J., Rapp A.: Effect of storage time, temperature and region on the levels of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene and other volatiles, and on quality of Weisser Riesling wines. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **13** (1), 1992, 33-44.
- [20] Moret I., Scaproni G., Cescon P.: Chemometric characterization and classification of five venetian white wines. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1994, 1143-1153.
- [21] Morton J. D., Macleod A. J.: Food flavours most the flavours of beverages. Elsevier Sci. Publis. B. V. 1986.
- [22] Paterson U. J., MacRae E. A., Young H.: Relationships between sensory properties and chemical composition of kiwifruit. *J. Sci. Food Agric.*, **57** (2), 1991, 235-251.
- [23] Poll L.: The effect of pulp holding time on the volatile components in apple juice (with and without pectolytic enzyme treatment). *Lebensm. Wissen. Technol.*, **21** (2), 1998, 87-91.
- [24] Rankine B.C., Pocock K.F.: β-Phenethanol and n-hexanol in wines: Influence of yeast strain, grape variety and other factors; and taste thresholds. Sonderdruck aus der Zeitschrift „VITIS”, **8**, 1969, 23-37.
- [25] Saijo R., Takeo T.: Volatile and non volatile forms of aroma compounds in tea leaves and their changes due to injury. *Agric. Biolog. Chem.*, **37** (6), 1973, 1367-1373.
- [26] Schreier P., Drawert F., Junker A.: Identification of volatile constituents from grapes. *J. Agric. Food Chem.*, **24** (2), 1976.
- [27] Soumalainen H.: Yeast and its effect on the flavour of alcoholic beverage. *J. Inst. Brew.*, **2**, 1971, 164-177.
- [28] Sponholz W.R., Dittrich H.H., Bausch N.: Volatile fatty acid in caribbean rums and blends. *Deut. Lebensm. Rundschau*, **86** (3), 1990, 80-81.
- [29] Stashenko H., Macku C., Shibamoto T.: Monitoring udalile chemicals formed from must during yeast fermentation. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1992, 2257-2258.
- [30] Stefan A., Pawliszyn J.: Analysis of flavor volatiles using headspace solid phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1996, 2187-2193.
- [31] Stevens K., Flath R., Lee A., Stern D.: Volatiles from grapes; compression of grenache juice and grenache rose wine. *J. Agric. Food Chem.*, **17** (5), 1969, 1102-1106.
- [32] Sumitani H., Suekane S., Nakatani A., Tatsuka K.: Changes in composition of volatile compounds in high pressure treated peach. *J. Agric. Food Chem.*, **42** (3), 1994, 785-790.
- [33] Tanner H.: Die gewinnung einwandfreier Destillate in der Obstbrennerei II. Die Kleinbrennerei., **3**, 1972, 29-30.

- [34] Tarko T. Chromatograficzne metody oznaczania karbaminianu etylu i alkoholu heksylowego w wódkach i destylatach owocowych. Praca magisterska. AR Kraków, 1998.
- [35] Teule S., Crouzet T.: Aroma modification during drying of apple puree. *Sci. Alim.*, **14** (5), 1994, 655-662.
- [36] Tuszyński T., Bachman B.: Cherry distillates II. Chemical and sensory assessment of distillates obtained from fermented cherries. *Acta Alimentaria Polonica.*, **40**, 1981, 169-179.
- [37] Tuszyński T.: Chemical and sensory assessment of fermented pear distillates. *Acta Alimentaria Polonica*, **13**, 1987, 57-66.
- [38] Wada K., Shibamoto T.: Isolation and identification of volatile compounds from wine using solid phase extraction, gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 4362-4366.
- [39] Zhou Y., Riesen R., Gilpin Ch. S.: Comparison of Amberlite XAD-2/Freon 11 extraction with liquid/liquid extraction for the determination of wine flavor components. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1996, 818-822.

## SIXCARBON COMPOUNDS IN ALCOHOLIC BEVERAGES

### S u m m a r y

Hexyl alcohol and its derivatives ( $C_6$  compounds) contribute to acute grassy taste and flavour of alcoholic beverages. Precursors of  $C_6$  compounds are linoleic and linolenic acids that are present in green parts of plants, unripened fruits, vegetables and cereals. Bioconversion of these acids into aldehydes and alcohols is catalysed by the enzymes (lipoxygenase, alcohol dehydrogenase and aldehyde lyase) which are present in raw plant material and microorganisms.

In order to reduce the content of  $C_6$  compounds in alcoholic beverage, the use of unripened raw materials, green plant tissue and excessive aeration during grinding should be eliminated from processing. Addition of  $SO_2$  and ascorbic acid inhibits formation of hexanol during processing of fruits and their fermenta-

