

Določanje aromatičnih spojin v jabolkih z instrumentalnimi in senzoričnimi metodami

Erika JESENKO^{1,2}, Mojca KOROŠEC¹, Tatjana KOŠMERL¹

Received July 25, 2023, accepted August 21, 2024
Delo je prispelo 25. julij 2023, sprejeto 21. avgust 2024

Določanje aromatičnih spojin v jabolkih z instrumentalnimi in senzoričnimi metodami

Izvleček: Aroma je eden izmed parametrov kakovosti sadja, ki pomembno vpliva na sprejemanje sadja pri potrošnikih. Analiza hlapnih aromatičnih spojin je bistvenega pomena za raziskovanje sort jabolk, izbiro najprimernejše sorte za komercialno trženje ter za rutinsko preverjanje kakovosti. V ta namen se uporablja več metod, ki jih lahko razdelimo na senzorične in instrumentalne. Namen tega članka je predstaviti pregled raziskav, ki so se osredotočale na analizo hlapnih aromatičnih spojin v jabolkih, ki prispevajo k njihovi aromi. Plinska kromatografija je predstavnica instrumentalne metode, med katerimi je najbolj razširjena uporaba plinske kromatografije sklopljene z masno spektrometrijo, medtem ko se za senzorično analizo najpogosteje uporabljajo metode opisne senzorične analize. Senzorična analiza s potrošniki se najpogosteje izvaja z lestvicami všečnosti, kot uporabna metoda pa se je izkazala tudi kvalitativna opisna metoda CATA. Kombinacija instrumentalnih in senzoričnih metod omogoča natančno identifikacijo hlapnih aromatičnih spojin, ki prispevajo k aromi jabolka in njegovi sprejemljivosti.

Ključne besede: hlapne aromatične spojine, aroma jabolk, instrumentalne metode, senzorične metode, določanje arome

Determination of volatile aroma compounds in apples

Abstract: Aroma is one of the most important parameters of fruit quality and has a significant impact on consumer acceptance of fruits. The analysis of volatile aroma compounds is essential for the research of apple varieties, the selection of the most suitable variety for commercial marketing, and routine quality control. Several methods have been used for this purpose, and can be divided into sensory and instrumental methods. In this review article, we present an overview of studies focused on the analysis of volatile compounds in apples that contribute to their aroma. Gas chromatography is a representative instrumental method, among which the most widespread application is gas chromatography coupled with mass spectrometry, while descriptive sensory methods are the most commonly used for sensory analysis. In sensory analysis with consumers, hedonic scales are most often used, however the qualitative descriptive CATA method has also proven to be useful. A combination of instrumental and sensory methods allows accurate identification of the volatile aroma compounds that contribute to apple aroma and its acceptance.

Key words: volatile aroma compounds, aroma of apples, instrumental methods, sensory methods, aroma determination

¹ University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology, Ljubljana, Slovenia

² Korespondenčni avtor: erika.jesenko@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Leta 2021 je bilo globalno pridelanih več kot 93 milijonov ton jabolk (*Malus domestica* Borkh.), kar jih uvršča na tretje mesto po količini največ pridelanega sadja na svetu (FAO, 2023). Vendar podatki kažejo, da poraba jabolk na prebivalca v Evropi upada zaradi spreminjajočih se preferenc potrošnikov do okusa in arome (Bossi Fedrigotti in Fischer, 2020). S prehranskega vidika je jabolko živilo z majhno vsebnostjo maščob (pod 1 %) in beljakovin (pod 1 %), medtem ko sladkorji predstavljajo približno 10 % njegove celotne mase. Prisotna so tudi mikrohranila, kot so minerali (predvsem kalij, kalcij in magnezij), vitamini (predvsem vitamin C) ter sekundarni metaboliti, kot so fenolne spojine (Di Matteo in sod., 2021).

Aroma je, poleg teksture in okusa, eden izmed pomembnejših parametrov kakovosti sadja in pomembno vpliva na sprejemanje sadja pri potrošnikih (El Hadi in sod., 2013). Hlapne spojine, ki določajo aromatični profil sadja, neposredno prispevajo k zaznavnim lastnostim vonja in okusa (Yang in sod., 2021a). Analiza hlapnih aromatičnih spojin je bistvenega pomena za raziskovanje sort jabolk, izbiro najprimernejše sorte za komercialno trženje ter za rutinsko preverjanje kakovosti. Slednje je še posebej pomembno po obiranju jabolk, saj lahko razmere med transportom in skladiščenjem pomembno vplivajo na rok uporabnosti in zaznano »svežino« končnega pridelka (Roberts in Spadafora, 2020). Zaradi vse večjih zahtev trga po zagotovitvi količin pridelka izven pridelovalne sezone in kompleksnosti dobavnih verig, vse večje količine sadja skladiščimo v hladilnicah s kontrolirano atmosfero.

Glede na dihanje plodov, lahko sadje razdelimo v dve skupini: klimakterijsko in neklimakterijsko sadje. Pri klimakterijskem sadju, katerega predstavnik je tudi jabolko, je za postopek zorenja značilen porast dihalne aktivnosti takoj po obiranju in proizvodnja etilena, ki maksimum doseže v obdobju klimakterija (Boeckx in sod., 2019, Gvozdenović, 1989). Z upočasnjevanjem pojava klimakteričnega maksimuma oziroma z zmanjševanjem dihanja, je mogoče zmanjšati intenzivnost dihanja in podaljšati življenjsko dobo plodov. Na to pa lahko v največji meri vplivamo z zniževanjem temperature in zmanjševanjem količine O_2 (Gvozdenović, 1989). Možnost aktivnega nadzora in vzdrževanje majhne vsebnosti kisika je ključna komponenta skladiščnih sistemov za upočasnitev zorenja in ohranjanje kakovosti sadja ter omogoča, da se jabolka skladišči tudi do 11 mesecev (Butkeviciute in sod., 2022). Vendar po drugi strani, majhna vsebnost kisika omejuje količino prekursorjev, pomembnih za nastanek sadnih estrov, kar vodi v izgubo sortnih arom sadja (Espino-Díaz in sod., 2016; Yang in sod., 2021a).

Za spojine, ki tvorijo aromo živila, je značilna njihova interakcija z vohalnim sistemom človeka, ki tvori posebno občutenje vonja. Hlapne spojine se vežejo na proteinske receptorje, ki so prisotni v vohalnem epiteliju nosne votline. Aktivirani receptorji (t.j. s proteinom G sklopljeni receptorji) nato sprožijo zaporedje dogodkov za pretvorbo kemičnih informacij v senzorični dražljaj. Da hlapne spojine dosežejo vohalne receptorje, morajo običajno izpolnjevati dva ključna pogoja. Prvič, imeti morajo visok parni tlak, in drugič, njihova molekulska masa ne sme biti večja od 300 daltonov (Egea in sod., 2021).

Za snovi, ki prispevajo k aromi sadja, je pomembna njihova najmanjša koncentracija, ki jo človek lahko še zazna. Prav zato le del hlapnih snovi prispeva k aromi, ki jo tudi dejansko zaznamo (Chambers in Koppel, 2013). Čeprav je bilo v jabolkih identificiranih že več kot 300 hlapnih organskih spojin, vključno z alkoholi, aldehidi, kisljinami, ketoni, terpenoidi in estri, podskupina, ki jo sestavlja običajno le 20–30 spojin, pomembno prispeva k tipični aromi jabolka. Med njimi glavnino aromatičnega profila jabolk tvorijo estri, zlasti tisti s sodim številom ogljikovih atomov, vključno s kombinacijami oetne, butanojske, in heksanojske kisline z etilnim, butilnim in heksilnim alkoholom (El Hadi in sod., 2013; Yang in sod., 2021b). 'Granny Smith' in 'Jonagold' sta dve sorti jabolk z izrazitim okusom in aromo ter značilno barvo olupka. Ti dve sorti predstavljata dve fenotipski skrajnosti pri proizvodnji in sproščanju hlapnih aromatičnih spojin pri jabolkih. Za 'Granny Smith' kot pozno zorečo sorto jabolk je značilno, da proizvaja majhne vsebnosti etilnih in propilnih estrov ter višjih alkoholov, kot je 2-metilbutanol. Za sorto 'Jonagold' pa je značilen hlapni profil z veliko heksil acetata, heksil butanoata, butil heksanoata in α -farnezena. 'Jonagold' velja za eno najbolj aromatičnih sort jabolk, medtem ko 'Granny Smith' velja za eno najmanj aromatičnih sort jabolk (Yang in sod., 2022). V jabolkih sorte 'Golden Delicious' je bilo identificiranih in kvantificiranih skupno 65 hlapnih aromatičnih spojin, med katerimi so estri in alkoholi predstavljali več kot 90 % vseh hlapnih spojin. Največji delež so predstavljali butil acetat, 2-metil¹-propanol (izobutanol) in n-butanol. V sorti 'Fuji' so najbolj prevladovali spojine 2-metil¹-butanol n-butanol in butil acetat. K aromi jabolk sorte 'Honeycrisp' pa domnevno v največji meri prispevajo spojine heksil 2-metilbutanoat, α -farnezen in (E)-2-heksenal (Liu in sod., 2021). Pri sorti 'Gala' največ k profilu arome prispevajo butil 2-metil acetat, butil acetat in heksil acetat, medtem ko so za sorto 'Pink Lady' značilni estri etil butanoat, etil 2-metilbutanoat in 2-metilbutil acetat (Yang in sod., 2021b). V preglednici 1 so za spojine, ki prispevajo največ k aromi različnih sort jabolk, predstavljeni pragi vohalnih zaznav in senzorični opisniki.

Preglednica 1: Prag vohalne zaznave in senzorični opisniki hlapnih aromatičnih spojin v jabolkih
 Table 1: Olfactory threshold and sensory descriptors for volatile aroma compounds in apples

Spojina	Prag vohalne zaznave (mg l ⁻¹)	Opisnik
(E)-2-Heksenal	0,017 ^b	po travi, po zeliščih ^b
Butil acetat	0,066 ^a	po rdečem jabolku, po banani ^a
Butil 2-metil acetat	0,011 ^a	po jabolku, sadno ^a
Butil heksanoat	0,7 ^a	travnato, po zelenem jabolku ^a
Etil 2-metilbutanoat	0,001 ^a	po jagodah, sadno ^a
Etil butanoat	0,001 ^a	po jabolku, po ananasu, sadno ^a
Heksil 2-metilbutanoat	0,022 ^a	po jabolku, po grozdju ^a
Heksil acetat	0,002 ^a	po rdečem jabolku, po hruški ^a
Heksil butanoat	0,25 ^a	po zelenem ^a
Izobutanol	5,3 ^a	sladko, plesnivo, patoč
n-Butanol	0,5 ^a	močni patoki sladko, po banani ^a
α-Farnezen	NP	po zelenem, po olju, po maščobi ^c

NP: ni podatka, ^aEspino-Díaz in sod. (2016), ^bYang in sod. (2021c), ^cYang in sod. (2021)

V zadnjih letih je opravljenih vse več raziskav, ki namenajo pozornost analizi hlapnih aromatičnih spojin, ki določajo aromo jabolka (Yang in sod., 2021a). Te tradicionalno temeljijo na senzoričnih metodah, ki merijo, analizirajo in interpretirajo reakcije na tiste značilnosti živil, ki jih zaznamo s človeškimi osnovnimi čuti (Lawless in Heymann, 2010). Uporaba senzoričnih metod je lahko včasih draga in dolgotrajna ter ne nudi vedno takojšnjih povratnih informacij. V ta namen so se razvile različne instrumentalne metode za proučevanje arome, ki podajajo informacije o posameznih spojinah, povezanih z aromo živila (Chambers in Koppel, 2013).

Namen tega članka je bil pregledati raziskave, ki vključujejo instrumentalne in senzorične metode za analizo hlapnih aromatičnih spojin ter povzeti glavne ugotovitve.

2 INSTRUMENTALNE METODE

Instrumentalne metode omogočajo proučevanje hlapnih spojin. Čeprav so si med seboj različne, pa v osnovi vse temeljijo na ločevanju, določanju in kvantifikaciji spojin iz plinske faze nad živilom ali iz same matrike živila (Sipos in sod., 2011).

Instrumentalne metode za analizo spojin, ki prispevajo k aromi živila, imajo zaradi kompleksnosti področja kar nekaj omejitev. Med njimi so (Rocha in sod., 2022):

- velika raznolikost živil in živilskih izdelkov,
- kemijska raznolikost hlapnih in polhlapnih molekul,

- variabilnost vzorca, ekstrakcijskih in analiznih metod, reagentov ...,
- pomanjkanje analitskih standardov,
- potrebe po robustni in zanesljivi obdelavi podatkov ter bioinformatiki,
- težave pri pripravi in analizi velikega števila vzorcev,
- pomanjkanje informacij o opisnikih arome in pragu vohalne zaznave,
- pomanjkanje informacij, povezanih z antagonističnimi in sinergističnimi interakcijami med molekulami ter vplivom matrike živila.

K aromatičnemu profilu jabolka najbolj prispevajo hlapni estri. Celotne arome mešanice hlapnih spojin ne moremo povezati s seštevkom značilnosti arome posameznih komponent, saj imajo hlapne spojine različne prage senzorične zaznave. Aroma ni le vsota posameznih sestavin, temveč je rezultat kompleksnih interakcij med velikim številom kemijskih spojin. Spojine, ki prispevajo k aromi jabolka, lahko medsebojno delujejo in imajo antagonistične ali sinergistične učinke. Vonj je mogoče zaznati tudi kot rezultat sinergizma različnih molekul, čeprav so njihove koncentracije pod pragom detekcije instrumentalnih metod (Niu in sod., 2019).

2.1 PRIPRAVA VZORCA IN EKSTRAKCIJA HLAJNIH SNOVI

Za natančno identifikacijo in kvantifikacijo spojin, odgovornih za aromo v matrikah živil, je pred samo instrumentalno analizo ključna priprava vzorca. Ti koraki

običajno vključujejo vzorčenje in homogenizacijo, sledi priprava, čiščenje in koncentracija ekstrakta. Vsi ti koraki morajo biti prilagojeni specifičnim lastnostim matrike živila, ki je predmet analize. Izolacija aromatičnih spojin iz živil običajno temelji na njihovi hlapnosti ali topnosti v določenem topilu. Vsaka metoda pa ima za rezultat drugačen profil arome (Egea in sod., 2021). Na primer, metode ki temeljijo na hlapnosti, bodo predvsem identificirale najbolj hlapne aromatične spojine v živilu, medtem ko bo na ekstrakcijske metode vplivala topnost aromatičnih spojin v izbranem topilu. Pri analizi živil, ki vsebujejo encime, je potrebno zagotoviti, da se sestava arome ne spremeni med samim postopkom priprave vzorca (Regueiro in sod., 2017).

Za ekstrakcijo hlapnih aromatičnih spojin iz živil so bile razvite številne metode, med njimi so: ekstrakcija tekoče-tekoče (angl. Liquid/Liquid Extraction), ekstrakcija na trdni fazi (angl. Solid-Phase Extraction, SPE), superkritična tekočinska ekstrakcija (angl. Supercritical Fluid Extraction, SFE), ekstrakcija na osnovi sorptivnega mehanizma s pomočjo mešalnih paličic (angl. Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE), ekstrakcija z destilacijo v visokem vakumu (angl. Solvent Assisted Flavour Evaporation, SAFE), mikroekstrakcija na trdnem nosilcu (angl. Solid-Phase Microextraction, SPME), toplotna desorpcijska enota (angl. Thermal Desorption Unit, TDU) in tehnika vzorčenja nadprostora (angl. Headspace, HS) (Starowicz, 2021, Werrie in sod. 2021).

2.1.1 Mikroekstrakcija na trdnem nosilcu (angl. Solid-Phase Microextraction, SPME)

Splošno sprejeto je, da je tehnika vzorčenja iz plinske faze nad živilom (angl. Headspace, HS) najučinkovitejša metoda za vzorčenje hlapnih spojin živila, saj doseže ravnovesje med parno fazo in matriko živila. Zato se v analizi živil najpogosteje uporablja HS-SPME, tudi pri vzorčenju hlapnih aromatičnih spojin v jabolkih (Starowicz, 2021).

SPME je razmeroma nova tehnika vzorčenja, pri kateri je v enem koraku mogoče doseči ekstrakcijo in koncentriranje vzorca. Osnovni princip SPME je izpostavitve trdnega nosilca (vlakna), prevlečenega z določenim materialom, matriki preiskovanega vzorca. Ko je vlakno izpostavljeno vzorcu, se analiti iz matrice vzorca porazdelijo v stacionarno fazo, dokler se ne vzpostavi ravnotežje. Prevleka na vlaknu ekstrahira spojine iz vzorca z absorpcijo (tekoči premazi) ali adsorpcijo (trdni premazi). Po predpisanim času ekstrakcije se vlakno odstrani iz matrike vzorca ter se ga neposredno vstavi v kromatografski instrument, kjer se analit z desorpcijo odstrani iz vlakna (Balasubramanian in Panigrahi, 2011; Billiard in sod., 2020).

Navedeno metodo ekstrakcije so uporabili Qin in sod. (2017) pri analizi hlapnih spojin 43 vzorcev jabolk sorte 'Fuji', z namenom primerjave vsebnosti aromatičnih spojin v jabolkih med različnimi regijami pridelave na Kitajskem. Yang in sod. (2021a) so s HS-SPME vzorčili hlapne spojine olupkov 40 različnih sort jabolk ter vzorce uporabili za identifikacijo, primerjavo in klasifikacijo aromatičnih spojin. Za vzorčenje hlapnih spojin v jabolkih so HS-SPME uporabili tudi Waghmode in sod. (2021), Yang in sod. (2021b), Contreras in sod. (2016), Pontesegger in sod. (2023) ter Yang in sod. (2022).

2.2 PLINSKA KROMATOGRAFIJA (ANGL. GAS CHROMATOGRAPHY (GC))

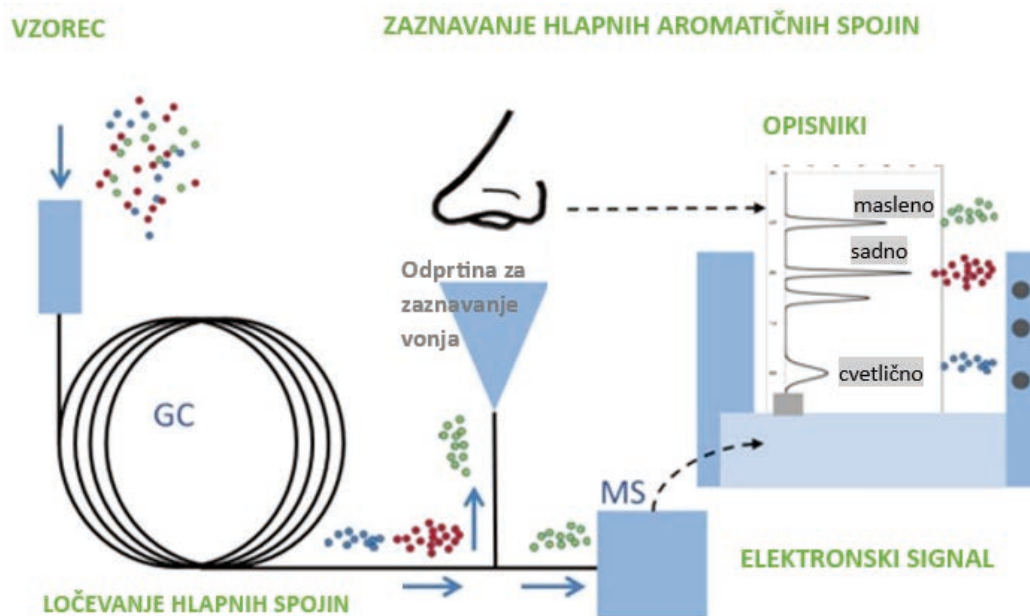
Plinska kromatografija (angl. Gas Chromatography, GC) je separacijska tehnika, pri kateri se posamezne spojine iz vzorca med seboj ločijo na podlagi različne afinitete oziroma interakcij s stacionarno in z mobilno fazo, ki je plin (Coskun, 2016; Pihlar in Prosen, 2019). Z njo je mogoče opraviti tako kvali- kot kvantitativno analizo, pri čemer so potrebne le majhne količine vzorca. Da lahko molekule učinkovito analiziramo z GC, morajo imeti dve pomembni lastnosti: biti morajo hlapne in termično stabilne. Hlapnost je odvisna od parnega tlaka in vrelišča molekul. Termostabilnost pa je pomembna zaradi izvajanja postopka pri visokih temperaturah (50–300 °C), kar lahko povzroči, da analiti spremenijo svojo sestavo (Angeli in sod., 2021; Roberts in Spadafora, 2020).

GC aparat je v osnovi sestavljen iz šestih osnovnih komponent: (Kaur in sod., 2018; Pihlar in Prosen, 2019):

- injektorja: sistem za vnos vzorca v kolono,
- nosilnega plina oziroma mobilne faze, ki prenaša vzorec po koloni,
- kolone,
- ogrevanega prostora ali pečice kjer se nahaja kolona,
- detektorja za zaznavanje analitov,
- sistema za kontrolo kromatografa, prikaz in obdelavo podatkov.

2.2.1 Detektorji

Pri instrumentalnem merjenju hlapnih spojin živil z GC sta v uporabi običajno plinska kromatografija sklopljena z masno spektrometrijo (angl. Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) in plinska kromatografija z olfaktometrijo (angl. Gas Chromatography-Olfactometry, GC-O), kjer je plinski kromatograf sklopljen z odprtino za zaznavanje vonja (slika 1). GC-MS združuje dve tehniki, in sicer plinsko kromatografijo za ločevanje hlapnih spojin v vzorcu in masno spektrometrijo za



Slika 1: Shema GC-O (Odour Observatory, 2023)

Figure 1: Schematic of GC-O (Odour Observatory, 2023)

njihovo karakterizacijo. Masni spektrometer je naprava, ki ločuje molekule ali dele molekul glede na razmerje med njihovo maso in nabojem ter nato izmeri množino posameznih ionov. Rezultat je masni spekter: množina posameznih ionov kot funkcija razmerja med maso in nabojem (m/z) ter omogoča kvalitativno in kvantitativno vrednotenje (Angeli in sod., 2021; Pihlar in Prosen, 2019). V kolikor je sistem opremljen še z vohalnim priključkom, je mogoče določanje spojin v mešanici hlapnih spojin, ki dejansko prispevajo k aromi, ki jo zaznava človek (Chambers in Koppel, 2013). Za analizo hlapnih spojin v jabolkih je v uporabi tudi plamensko ionizacijski detektor (angl. Flame Ionization Detector, FID) (Altsient in sod., 2008).

HS-SPME v kombinaciji z GS-MS so uporabili Yang in sod. (2022) za analizo hlapnih spojin v jabolkih sorte 'Granny Smith' in 'Jonagold' z namenom proučitve regulativnih mehanizmov izražanja genov, ki so povezani s sintezo hlapnih aromatičnih spojin. Enako metodo so uporabili tudi Waghmode in sod. (2021) za vrednotenje hlapnih spojin jabolk sorte 'Golden Delicious' med skladiščenjem pri nizki temperaturi. Aroma jabolk je mogoče analizirati tudi z uporabo elektronskega jezika in elektronskega nosu. Elektronski nos je analitični instrument, ki posnema človeški vohalni sistem in omogoča preprosto in hitro odkrivanje hlapnih spojin, ki izzovejo občutek vonja (Marx in sod., 2021). Zhu in sod. (2020) so elektronski jezik in elektronski nos v kombinaciji s SPME/GC-MS uporabili za analizo razlik v aromi petih različnih sort jabolk z namenom ovrednotenja kazalni-

kov kakovosti jabolk. Vonj jabolk so analizirali s prenosnim elektronskim nosom. Sistem so sestavljali enota za vzorčenje, detektorska enota z nizom desetih senzorjev plina, ki zaznajo hlapne spojine ter programska oprema za snemanje in analizo podatkov. Analizo okusa so izvedli z elektronskim jezikom, ki ga je sestavljalo sedem senzorjev: pet testnih in dva referenčna. Testni senzori so zaznali snovi, ki jih zaznamo kot kisle, slane, sladke, grenke ter trpke. Ekstrakcija hlapnih spojin so izvedli s SPME in nato analizirali z GC-MS. V petih sortah jabolk so skupno kvantificirali 45 hlapnih spojin, med katerimi so bili količinsko najbolj zastopani estri. S pomočjo analize glavnih komponent (PCA, angl. Principal Component Analysis) so ugotovili, da k aromi jabolk najbolj prispevajo spojine heksil butanoat, (E)-2-heksanal in α -farnezen. V raziskavi so prišli tudi do zaključkov, da je SPME/GC-MS v kombinaciji z elektronskim nosom in elektronskim jezikom učinkovita metoda za ocenjevanje razlik v aromi jabolk.

3 SENZORIČNA ANALIZA

Senzorična analiza je znanstvena disciplina, ki meri, analizira in interpretira reakcije na tiste značilnosti živil, ki jih zaznamo s petimi osnovnimi čuti: z vidom, okusom, vohom, sluhom in tipom oz. dotikom (Stone in Sidel, 1993). Obsega niz različnih tehnik in načinov, ki omogoča natančno merjenje človekovega odziva na hrano ter hkrati minimizira zunanje dejavnike, ki vplivajo

na preiskuševalčevo oz. potrošnikovo zaznavo (Golob in sod., 2006). V splošnem lahko senzorične metode razdelimo na analitične in afektivne preskuse. Analitične preskuse izvajajo šolani preskuševalci, ki analizirajo posamezno senzorično lastnost izdelka, medtem ko afektivne preskuse uporabljamo za ocenjevanje všečnosti ali sprejemljivosti izdelka pri potrošniku (Golob in sod., 2005).

3.1 PRESKUŠEVALCI

V senzorični analizi se senzorični preskuševalec obravnava kot instrument za merjenje senzoričnih lastnosti (Kim in sod., 2023). Senzorični preskuševalci delujejo v senzoričnem panelu, ki ga vodi vodja panela in je odgovoren za splošno spremljanje panela in usposobljenost senzoričnih preskuševalcev. Senzorično analizo lahko izvaja več vrst senzoričnih preskuševalcev: senzorični preskuševalec, izbrani senzorični preskuševalec in izvedeni senzorični preskuševalec (ekspert). V prvo skupino, med senzorične preskuševalce, uvrščamo vse, ki sodelujejo v senzoričnem ocenjevanju in so lahko »laiki« brez senzoričnega šolanja, ki imajo povprečne senzorične sposobnosti, ali ocenjevalci začetniki, ki so že sodelovali v senzoričnih testih. Izbrani preskuševalci so izbrani glede na njihovo sposobnost zaznav in izvajanja senzoričnega testa. Izvedeni senzorični preskuševalci so izbrani preskuševalci z izkazano senzorično občutljivostjo, z veliko usposobljenostjo, imajo veliko izkušenj iz senzoričnih ocenjevanj ter so sposobni dosledno in ponovljivo senzorično ocenjevati različne izdelke. Usposobljenost in sposobnosti preskuševalcev je potrebno redno preverjati (Sipos in sod., 2021). Tradicionalna opisna senzorična analiza se izvaja s senzoričnim panelom, ki ga sestavlja večje število senzoričnih preskuševalcev (Kim in sod., 2023). Raziskava Brookfield in sod. (2011) je pokazala, da je za ocenjevanje senzoričnih lastnosti jabolk primerna tudi uporaba manjšega senzoričnega panela (štirje člani), v primeru ko se raziskava osredotoča na majhno število senzoričnih lastnosti. Vendar pa obstaja več težav povezanih z usposabljanjem, s ponovljivostjo in z vzdrževanjem senzoričnega panela za opisno analizo. Usposabljanje omogoča, da se preskuševalci seznanijo z besediščem (opisniki) in ga usvojijo, da izboljšajo sposobnost razlikovanja ter izboljšajo soglasje znotraj panela (Kim in sod., 2023).

Izbira in usposabljanje preskuševalcev je odvisna od nalog, ki jih bodo imeli izbrani in strokovni senzorični preskuševalci (Sipos in sod., 2021). Odvisno od namena senzorične analize, šolanje oz. usposabljanje preskuševalcev traja od nekaj ur do nekaj mesecev. Corollaro in sod. (2012) so z namenom razvoja metode za senzorično profiliranje jabolk po skladiščenju za senzorični panel iz-

brala 13 preskuševalcev: 6 oseb moškega spola in 7 oseb ženskega spola. Glede na uspešnost na preliminarnem izboru so prvotno izbrali 28 kandidatov. Usposabljanje kandidatov je potekalo v 6 sklopih, po 1,5 h. Za ocenjevanje sposobnosti kandidatov za prepoznavanje in merjenje intenzivnosti osnovnih okusov ter več običajnih vonjav so izvedli 9 posameznih testov. Dražljaje okusa in vonja so predstavili v vodi in v komercialnih motnih raztopinah jabolčnega soka. Pri vsakem testu je kandidat za vsak pravilni odgovor dobil 1 točko, rezultati testa pa so različno ponderirali za predstavljene dražljaje. Končni rezultat je predstavljal kumulativno število doseženih točk z upoštevanjem ponderjev. Pri izboru kandidatov so upoštevali rezultate testov, pri čemer so morali kandidati pravilno prepoznati vsaj 60 % oziroma 80 % dražljajev, in pogostost udeležbe kandidata na usposabljanjih. Kim in sod. (2023) so z uporabo kombinacije metabolomske analize in senzorične ocene želeli ugotoviti povezavo med senzorično oceno in kemijsko sestavo jabolk. Senzorično oceno so izvedli s potrošniki in s panelom usposobljenih preskuševalcev.

3.2 OPISNA ANALIZA

Opisna analiza (angl. Descriptive Analysis) je ena izmed glavnih metod v senzorični analizi za opisovanje senzoričnih lastnosti izdelkov (Charles in sod., 2019). Opisne metode vključujejo usposobljene preskuševalce za kvantitativno vrednotenje senzoričnih lastnosti v vzorcu ali bolj običajno v izboru vzorcev. Preskuševalci so usposobljeni za merjenje različnih senzoričnih lastnosti ocenjevanega izdelka. Besedišče je opisno in objektivno, saj ocenjevalcev na primer ne sprašujejo ali jim je ocenjevan izdelek všeč (O'Sullivan, 2017).

Opisna analiza je uporabna za karakterizacijo izdelkov, opis in spremljanje sprememb senzoričnih lastnosti izdelkov, kot tudi razvoj novih izdelkov ali za primerjavo s konkurenčnimi. Dobljene rezultate je mogoče z uporabo statističnih tehnik, kot sta regresija in korelacija, primerjati z rezultati senzoričnih testov s potrošniki in z rezultati instrumentalnih meritev (Golob in sod., 2006; Lawless in Heymann, 2010).

3.2.1 Opisniki

Posebno pozornost pri vrednotenju senzoričnih lastnosti je potrebno nameniti njihovem poimenovanju (Chambers in Koppel, 2013). V zadnjih letih je bilo objavljenih več senzoričnih leksikonov, tudi za jabolka (Corollaro in sod., 2013). Leksikon je nabor standardiziranih opisnikov, ki jih izberejo visoko usposobljeni senzorični preskuševalci, in se uporablja za opis senzoričnih

lastnosti, prisotnih v analiziranem živilu oziroma izdelku (Suwonsichon, 2019). Za opisnik je značilno, da je jasno definiran, tako besedilno kot z navedbo referenčne snovi in, v primeru raztopine, njene koncentracije. Standardizirani opisniki so še posebej pomembni pri primerjavah rezultatih senzoričnih analiz z rezultati instrumentalnih analiz (Chambers in Koppel, 2013).

3.2.2 Označi vse, kar ustreza (angl. Check-All-That-Apply, CATA)

Ob zavedanju pomena razvoja izdelkov, ki ustrezajo preferencam potrošnikov, je bilo v zadnjih letih razvitih več metod opisne analize, ki se osredotočajo na senzorično ocenjevanje s potrošniki. Ena izmed njih je tudi metoda Označi vse, kar ustreza (angl. Check-All-That-Apply, CATA). Metoda temelji na vprašalniku, ki preskuševalcem predstavi seznam vnaprej določenih opisnikov ali besednih zvez, med katerimi so lahko tudi hedonski, funkcionalni in podobni. Preskuševalci označijo vse izraze, ki se jim zdijo primerni za opis ocenjevanega izdelka. Metoda omogoča pridobitev podobnih rezultatov tistim, ki se jih pridobi s kvalitativno opisno analizo, izvedeno z usposobljenim senzoričnim panelom (Sinesio in sod., 2021; MacKenzie in sod., 2022).

3.2.3 Ovrednoti vse, kar ustreza (angl. Rate-All-That-Apply, RATA)

Metoda CATA ne omogoča neposrednega merjenja intenzivnosti zaznanih opisov senzoričnih lastnosti, kar pa omogoča njena izpeljana različica, metoda Ovrednoti vse, kar ustreza (angl. Rate-All-That-Apply, RATA). Pri tej potrošniki intenzivnost vsakega zaznanega opisa senzorične lastnosti (opisnika) ovrednotijo s pomočjo 3- ali 5-stopenjske lestvice (Vidal in sod., 2018). Primer vprašalnika RATA s 3-stopenjsko lestvico in 15-imi opisniki za senzorično ocenjevanje jabolk prikazuje preglednica 2. Vidal in sod. (2018) so primerjali metodi CATA in RATA v sedmih raziskavah s potrošniki, med katerimi sta dve vključevali tudi jabolka. Metoda RATA se je izkazala za nekoliko bolj uporabno za razlikovanje med vzorci. Potrošniki so pri tej metodi označili več zaznanih lastnosti, kar je lahko morda posledica tega, da so vprašanja RATA vzpodbudila večje razmišljanje in pozornost. Vendar ti rezultati niso nujno boljši, saj CATA omogoča bolj spontano ocenjevanje, ki je bolj podobno situacijam naravnega prehranjevanja. Avtorji raziskave navajajo, da je izbira metode odvisna od značilnosti vzorcev in cilja raziskave. V primerih, ko so razlike med vzorci odvisne od odsotnosti ali prisotnosti opisnikov na seznamu, naj ima prednost CATA, saj je manj analitična in zato bolj

primerna naloga za potrošnike. Metoda RATA se priporoča le, če je cilj študije oceniti serijo vzorcev, ki se razlikujejo po relativni intenzivnosti izstopajočih senzoričnih lastnosti, ki so potrošnikom znane in se uporabljajo za opis večine vzorcev.

Preglednica 2: Primer vprašalnika RATA za senzorično ocenjevanje jabolk

Table 2: Example of a RATA questionnaire for the sensory evaluation of apples

Opisnik	Označi, če velja	Označi intenzivnost		
		Nizka	Srednja	Visoka
Sladko				
Kislo				
Grenko				
Trpko				
Aromatično				
Aroma po jabolku				
Nearomatično				
Sočno				
Hrustljivo				
Sveže				
Mehko				
Mokasto				
Grobo				
Trdo				
Vonj po jabolku				
Brez vonja				

3.2.4 Metoda 'Trenutno prevladujoče zaznave' (angl. Temporal Dominance of Sensations, TDS)

Potrebno se je zavedati tudi, da se med uživanjem živil v ustih odvijajo različni procesi, kot so žvečenje in izločanje sline, ki lahko privedejo do znatnih sprememb sestave živila, kar se lahko kaže tudi v drugačnem profilu arome. Zato je pri zaznavanju arome v ustih smiselno upoštevati tudi časovno enoto (Charles in sod., 2017). Metoda 'Trenutno prevladujoče zaznave' (angl. Temporal Dominance of Sensations, TDS) je senzorična metoda, ki upošteva dinamično naravo prehranjevanja in vrednoti zaznavanje sprememb senzoričnih lastnosti živil, ki se spreminjajo med samim uživanjem (Oliver in sod., 2018). Charles in sod. (2017) so TDS uporabili v kombinaciji z opisno metodo, da bi bolje razumeli povezavo arome, okusa in teksture v kompleksni in znani matriki jabolka.

4 KOMBINACIJA INSTRUMENTALNIH IN SENZORČINIH METOD

Človeški čuti lahko včasih zaznajo hlapne spojine v manjših koncentracijah od tistih, ki jih zazna instrument, poleg tega pa instrument ne more izmeriti vsečnosti. V nasprotju z instrumentalnimi metodami, ki omogočajo merjenje samo ene vrste spojin ali lastnosti (npr. hlapnih spojin, sladkorjev, teksture ...), senzorična analiza velja za celosten pristop, ki upošteva vse senzorične lastnosti hkrati ali v zaporednem načinu (Charles in sod., 2019).

Instrumentalne metode pridejo še posebej v poštev, ko uporaba senzoričnih metod ni primerna ali je omejena, kot je pri iskanju in identifikaciji neželenih spojin in spojin, ki povzročajo spremembo okusa. Poleg tega lahko instrumentalne metode delujejo neprekinjeno in omogočajo hitre povratne informacije o analiziranem vzorcu (Sipos in sod., 2021).

Uporaba kombinacije instrumentale in senzorične metode pri analizi arome živila, omogoča identifikacijo spojin, ki so povezane z določeno aromo ter izboljšajo interpretacijo senzoričnih podatkov s prikazom kako se fizikalne in kemijske lastnosti živila odražajo v senzoričnih občutkih (Regueiro in sod., 2017). V preglednici 3 je predstavljen pregled instrumentalnih in senzoričnih metod, uporabljenih v raziskavah hlapnih spojin v jabolkih.

Yan in sod. (2020) so proučevali aromo jabolk sorte 'Honeycrisp' s kombinacijo GC-MS, GC-O in opisne senzorične analize. Kombinacija navedenih metod se je izkazala učinkovita za prepoznavanje značilnih vonjev in arome jabolk 'Honeycrisp'. K aromi jabolk je najbolj prispeval 2-metilbutanoat, z značilno sadno noto. α -farnezen in 1,3-oktandiol so opredelili kot spojini z najbolj neprijetnim vonjem. Za α -farnezen je značilna nota po zelenem in mastnem in se uvršča med opisnike »po rastlinah«. V raziskavi sicer niso prepoznali nobene specifične spojine, ki bi prispevala k medeni aromi jabolk, vendar se predvideva, da je za to odgovorna spojina estragol, za katero so Souleyre in sod. (2014) poročali, da ima cvetlično aromo. Druga možnost je, da je medena nota posledica mešanice več različnih spojin v matriki jabolka. Yauk in sod. (2015) navajajo, da daje estragol tudi pikanten/aromatičen okus nekaterim sortam jabolk, kot so 'Ellison's Orange', 'D'Arcy Spice' in 'Fenouillet', ter noto janeža svežemu jabolku 'Royal Gala'.

Kim in sod. (2023) so z uporabo kombinacije metabolomske in senzorične analize ugotavljali povezavo med senzoričnimi lastnostmi jabolk ter njihovo kemijsko sestavo. Senzorično analizo so izvedli s potrošniki in z usposobljenim senzoričnim panelom. Potrošniki so stopnjo ugajanja ocenili na lestvici od -100 do +100, pri čemer je -100 pomenila najmočnejšo nenaklonjenost, 0 nevtrarno ter +100 najmočnejšo naklonjenost. Za oceno

intenzivnosti okusa (sladko in kisel), arome in teksture so uporabili 100-točkovno lestvico (0 = ni zaznavno, 100 = zelo intenzivno). Usposobljeni preskuševalci so intenzivnost deset predhodno izbranih opisnikov ocenili na 15-stopenjski lestvici. Ekstrakcija in analiza hlapnih spojin so izvedli s HS-SPME in GC-MS ter GC-MS/O. Za sorto 'Gamhong' (najbolj priljubljena med potrošniki) so bili značilni predvsem prijetni vonji (po jabolku, ananasu, medu, hruški, cvetlični, sadni), ki so bili povezani s hlapnimi aromatičnimi spojinami, predvsem različni estri: derivati acetata in butanoata, vključno s heksil acetatom (po jabolku, sadni), heksil heksanoatom (po jabolčni lupini), heksil butanoatom (po jabolku, ananasu, sadni), butil 2-metilbutanoatom (po ananasu, sadni), butil butanoatom (po ananasu, sadni), butil acetatom (po hruški), 2-metilbutil acetatom (sadni), 2-metilbutil izovaleratom (po jabolku, sadni), izobutil butanoatom (po jabolku, ananasu, sladek), izoamil izobutanoatom (sadni, sladek), amil butanoatom (po ananasu, sladek) in 2-metilbutil butanoatom (sadni, sladek). Po drugi strani pa je bila za sorto 'Hongra' (najmanj všečna sorta med potrošniki) značilna neprijetna aroma (večinoma po kumari), ki je bila povezana s hlapnimi snovmi, kot so (E)-2-nonenal (podobni kumari), 2-metil-1-butanol (po patočnem olju), izobutanol (po vinu), furfural alkohol (po zažganem) in furfural (po mandlju). Kombinacijo instrumentalnih in senzoričnih metod za analizo aromatičnega profila jabolk so uporabili tudi Altisent in sod. (2011), Charles in sod. (2017), Chitarrini in sod. (2020), Pontesegger in sod. (2023), Roberts in Spadafora (2020) ter Yan in sod. (2020).

4.1 ANALIZA PODATKOV

Za povezovanje podatkov, pridobljenih z instrumentalnimi in s senzoričnimi metodami je ključna zanesljiva analiza podatkov. Poleg osnovnih opisnih statistik je pogosto v uporabi analiza variance (ANOVA), ki ugotavlja ali obstajajo statistično pomembne razlike med različnimi vzorci ali skupinami (Roberts in Cozzolino, 2016). Proučevanje korelacij med različnimi podatki lahko prikaže ali med njimi obstajajo določene povezave. Eden najpogostejše uporabljenih korelacijskih koeficientov je Pearsonov koeficient korelacije. Različne multivariatne tehnike, kot sta analiza glavnih komponent (angl. Principal Component Analysis, PCA) in metoda razvrščanja v skupine (angl. Cluster Method), pomagajo pri prepoznavanju odnosov med spremenljivkami (Chambers in Koppel, 2013).

PCA zmanjša razsežnost podatkov tako, da identificira glavne komponente, ki so najbolj odgovorne za variabilnost med vzorci. Navedena metoda se pogosto

Preglednica 3: Pregled instrumentalnih in senzoričnih metod za analizo hlapnih aromatičnih spojin v jabolkih
 Table 3: A review of instrumental and sensory methods for the analysis of volatile aroma compounds in apples

Sorta jabolk	Vir	Geo- grafsko poreklo	Metoda ek- strakcije	Instrumentalna metoda za analizo hlapnih spojin	Senzorična metoda
'Fuji'	Qin in sod. (2017).	40 različnih okrajev Kitajske	HS-SPME	GC-MS	/
40 različnih sort ('Golden Delicious', 'Fuji', 'Jonagold' ...)	Yang in sod. (2021a)	Shaanxi Kitajska	HS-SPME	GC-MS	/
'Golden Delicious'	Waghmode in sod. (2021)	Srinagar, Jammu & Kašmir, Indija	HS-SPME	GC-MS	/
9 različnih sort ('Braeburn', 'Gala', 'Fuji'...)	Chitarrini in sod. (2020)	Južna Tirolska, Italija	HS-SPME	GC-MS	Kvantitativna opisna analiza
'Honeycrisp'	Yan in sod. (2020)	Shaanxi, Kitajska	Ekstrakcija s topili	GC-MS, AEDA in GC-O	Kvantitativna opisna analiza
'Orin'	Yang in sod. (2021c)	Shaanxi, Kitajska	HS-SPME	GC-MS	/
'Fuji'	Altisent in sod. (2008)	Leida, Španija	TDU	GC-FID	Potrošniški test z 9-točkovno hedonsko lestvico
'Crimson Crisp'	Pontesegger in sod. (2023)	Južna Avstrija	HS-SPME	GC-MS	CATA
'Gamhong', 'Yangwang', 'Hongro', 'Fuji'	Kim in sod. (2023)	Južna Koreja	HS-SPME	GC-MS, GC-MS/O	Hedonsko ocenjevanje na lestvici od 0-100, kvan- titativna opisna analiza
'Gala', 'Smitten', 'Rubens', 'Granny Smith'	Roberts in Spadafora (2020)	Cardiff, Wales	Ekstrakcija z mikroko- mornem toplotnem ekstrakcijskem sistemom	GC-MS	7-točkovna hedonska lestvica
'Golden Delicious'	Charles in sod. (2017)	Lavis, Italija	HS-SPME	GC-MS	TDS in kvantitativna opisna analiza
18 različnih sort ('Braeburn', 'Topaz', 'Red Delicious' ...)	Aprea in sod. (2012)	Trento, Italija	HS-SPME	GC-MS	Kvantitativna opisna analiza
'Ralls', 'Jonagold', 'Orin', 'Indo', 'Hanfu'	Zhu in sod. (2020)	Liaoning, Kitajska	HS-SPME	GC-MS, elektron- ski nos, elektronski jezik	/
35 različnih sort ('Jona- gold', 'Golden Delicious', 'Miguo'...)	Wu in sod. (2022)	Liaoning, Kitajska	HS-SPME	GC-MS	/
85 različnih sort ('Granny Smith', 'Jonagold', 'Hu- ashuo'...)	Yang in sod. (2021b)	Shaanxi, Kitajska	HS-SPME	GC-MS	/
'Granny Smith', 'Jonagold'	Yang in sod. (2022)	Shaanxi, Kitajska	HS-SPME	GC-MS	/

uporablja tudi pri analizi podatkov kombinacije instrumentalnih in senzoričnih rezultatov analize arome jabolk (Chitarrini in sod., 2020; Aprea in sod., 2021). Klasifikacijski modeli, katerih primer je linearna diskriminacijska analiza (angl. Linear Discriminant Analysis, LDA), pa omogočajo oblikovanje skupin s podobnimi značilnostmi (Charles in sod., 2017).

5 ZAKLJUČEK

Raziskav, ki se osredotočajo na analizo hlapnih aromatičnih spojin v jabolkih, je veliko, vendar pa je za natančen opis arome najprimernejša kombinacija več metod. Najbolj razširjena instrumentalna metoda je GC-MS, med senzoričnimi metodami pa prevladujejo opisne metode. Ekstrakcijo hlapnih spojin iz jabolk je učinkovito mogoče doseči s tehniko HS-SPME. GC-O omogoča hkratno ločevanje in zaznavanje različnih hlapnih spojin ter identificiranje ključnih spojin, ki prispevajo k aromi jabolk. Pri senzorični analizi s potrošniki so najpogostejše v uporabi hedonske lestvice, primerna pa je tudi kvalitativna opisna metoda CATA. Prednost metode TDS je v tem, da upošteva dinamično naravo prehranjevanja in ocenjuje zaznavanje sprememb senzoričnih lastnosti živil, ki se spreminjajo med samim uživanjem. Pomembno je, da so opisniki v senzorični analizi standardizirani, saj to omogoča medsebojno primerjavo rezultatov senzoričnih in instrumentalnih analiz. Različne statistične multivariatne metode, kot sta PCA in metoda razvrščanja v skupine, omogočajo prepoznavanje povezav med spremenljivkami in podatki, pridobljenih z različnimi metodami. Kombinacija instrumentalnih in senzoričnih metod lahko nudi celostno sliko o povezavi hlapnih spojin v jabolkih ter njihovo aromo.

6 VIRI

- Altisent, R., Graell, J., Lara, I., López, L. in Echeverría, G. (2008). Regeneration of volatile compounds in 'Fuji' apples following ultra low oxygen atmosphere storage and its effect on sensory acceptability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8490–8497. <https://doi.org/10.1021/jf8005728>
- Altisent, R., Graell, J., Lara, I., López, L. in Echeverría, G. (2011). Comparison of the volatile profile and sensory analysis of 'Golden Reinders' apples after the application of a cold air period after ultralow oxygen (ULO) storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 6193–6201. <https://doi.org/10.1021/jf2005029>
- Angeli L., Peter Robatscher P. in Giulia Chitarrini G. (2021). Volatile Organic Compounds in apples: from biosynthesis to compound identification. *Laimburg Journal*, 3. <https://doi.org/10.23796/lj/2021.002>
- Aprea, E., Corollaro, M. L., Betta, E., Endrizzi, I., Demattè, M. L., Biasioli, F. in Gasperi, F. (2012). Sensory and instrumental profiling of 18 apple cultivars to investigate the relation between perceived quality and odour and flavour. *Food Research International*, 49(2), 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.023>
- Balasubramanian, S. in Panigrahi, S. (2011). Solid-phase microextraction (SPME) techniques for quality characterization of food products: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 4(1). <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0299-3>
- Billiard, K. M., Dershem, A. R. in Gionfriddo, E. (2020). Implementing green analytical methodologies using solid-phase microextraction: A review. *Molecules*, 25(22). <https://doi.org/10.3390/molecules25225297>
- Boeckx, J., Pols, S., Hertog, M. L. A. T. M. in Nicolaï, B. M. (2019). Regulation of the central carbon metabolism in apple fruit exposed to postharvest low-oxygen stress. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01384>
- Bossi Fedrigotti, V. in Fischer, C. (2020). Why per capita apple consumption is falling: Insights from the literature and case evidence from South Tyrol. *Horticulturae*, 6(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040079>
- Brookfield, P. L., Nicoll, S., Gunson, F. A., Harker, F. R. in Wohlers, M. (2011). Sensory evaluation by small post-harvest teams and the relationship with instrumental measurements of apple texture. *Postharvest Biology and Technology*, 59(2), 179–186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.021>
- Chambers IV, E. in Koppel, K. (2013). Associations of volatile compounds with sensory aroma and flavor: The complex nature of flavor. *Molecules*, 18(5), 4887–4905. <https://doi.org/10.3390/molecules18054887>
- Charles, M., Aprea, E. in Gasperi, F. (2019). Factors influencing sweet taste in apple. *Bioactive Molecules in Food*, 1673–1694. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_80
- Charles, M., Endrizzi, I., Aprea, E., Zambanini, J., Betta, E. in Gasperi, F. (2017). Dynamic and static sensory methods to study the role of aroma on taste and texture: A multisensory approach to apple perception. *Food Quality and Preference*, 62, 17–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.06.014>
- Chitarrini, G., Dordevic, N., Guerra, W., Robatscher, P. in Lozano, L. (2020). Aroma investigation of new and standard apple varieties grown at two altitudes using gas chromatography-mass spectrometry combined with sensory analysis. *Molecules*, 25(13). <https://doi.org/10.3390/molecules25133007>
- Contreras, C., Tjellström, H. in Beaudry, R. M. (2016). Relationships between free and esterified fatty acids and LOX-derived volatiles during ripening in apple. *Postharvest Biology and Technology*, 112, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.10.009>
- Corollaro, M. L., Endrizzi, I., Bertolini, A., Aprea, E., Demattè, M. L., Costa, F., Biasioli, F. in Gasperi, F. (2012). Sensory profiling of apple: Methodological aspects, cultivar characterisation and postharvest changes. *Postharvest Biology and Technology*, 77, 111–120. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.10.010>

- Coskun, O. (2016). Separation Techniques: chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3(2), 156–160. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>
- Di Matteo, G., Spano, M., Esposito, C., Santarcangelo, C., Baldi, A., Daglia, M., Mannina, L., Ingallina, C. in Sobolev, A. P. (2021). NMR characterization of ten apple cultivars from the Piedmont region. *Foods*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/foods10020289>
- Egea, M. B., Bertolo, M. R. V., Filho, J. G. de O. in Lemes, A. C. (2021). A narrative review of the current knowledge on fruit active aroma using gas chromatography–olfactometry (GC-O) analysis. *Molecules*, 26(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175181>
- El Hadi, M. A. M., Zhang, F. J., Wu, F. F., Zhou, C. H. in Tao, J. (2013). Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules*, 18(7), 8200–8229. <https://doi.org/10.3390/molecules18078200>
- Espino-Díaz, M., Sepúlveda, D. R., González-Aguilar, G. in Olivas, G. I. (2016). Biochemistry of apple aroma: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4). <https://doi.org/10.17113/ft.b.54.04.16.4248>
- FAO. (2023). Global fruit production in 2021, by selected variety (in million metric tons)* [Graph]. Statista. <https://www.statista.com/statistics/264001/worldwide-production-of-fruit-by-variety/>
- Golob T., Jamnik M., Bertonecelj J. in Doberšek U. (2005). Senzorična analiza: metode in preskuševalci. *Acta Agriculturae Slovenica*, 55–66
- Golob T., Jamnik M., Bertonecelj J., Doberšek U. (2006). Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81 str.
- Gvozdenović D. (1989). Od obiranja sadja do prodaje. *ČZP Kmečki glas*, 10–81.
- Kaur G. in Sharma S. (2018). Gas Chromatography – A Brief Review. *International Journal of Computer Science and Information*, 5(7), 125–31.
- Kim, K., Chun, I. J., Suh, J. H. in Sung, J. (2023). Relationships between sensory properties and metabolomic profiles of different apple cultivars. *Food Chemistry*, 10(18). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100641>
- Lawless, H. in Heymann, H. (2010) *Sensory Evaluation of Food Science, Principles and Practices*. 2nd Edition, Ithaca, New York, 1–18. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Liu, X., Hao, N., Feng, R., Meng, Z., Li, Y. in Zhao, Z. (2021). Transcriptome and metabolite profiling analyses provide insight into volatile compounds of the apple cultivar 'Ruixue' and its parents during fruit development. *BMC Plant Biology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03032-3>
- MacKenzie, J. R., Duizer, L. M. in Bowen, A. J. (2022). Apple flavor and its effects on sensory characteristics and consumer preference. *Journal of Sensory Studies*, 37(3). <https://doi.org/10.1111/joss.12735>
- Marx, Í. M. G., Veloso, A. C. A., Casal, S., Pereira, J. A. in Peres, A. M. (2021). Chapter 12 - Sensory analysis using electronic tongues. *Innovative Food Analysis*, 323–343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819493-5.00012-1>
- Niu, Y., Wang, P., Xiao, Z., Zhu, J., Sun, X. in Wang, R. (2019). Evaluation of the perceptual interaction among ester aroma compounds in cherry wines by GC–MS, GC–O, odor threshold and sensory analysis: An insight at the molecular level. *Food Chemistry*, 275, 143–153. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.102>
- Oliver, P., Cicerale, S., Pang, E. in Keast, R. (2018). A comparison of temporal dominance of sensation (TDS) and quantitative descriptive analysis (QDATM) to identify flavors in strawberries. *Journal of Food Science*, 83(4), 1094–1102. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14096>
- O'Sullivan, M. (2017). Chapter 2 - Descriptive Methods. *A Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development*. Innovative Technologies for the Food and Beverage Industry (13–37). Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition .
- Pihlar, B. in Prosen, H. (2019). *Osnove analize kemije* (1. izd.). Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 231 str.
- Pontesegger, N., Rühmer, T. in Siegmund, B. (2023). Physico-chemical attributes, volatile profile and sensory quality of organic 'Crimson Crisp' apples during on-tree maturation. *Foods*, 12(7), 1425. <https://doi.org/10.3390/foods12071425>
- Odor Observatory. (2023). Gas Chromatography Olfactometry. <https://odourobbservatory.org/measuring-odour/gas-chromatography-olfactometry/>
- Qin, L., Wei, Q. P., Kang, W. H., Zhang, Q., Sun, J. in Liu, S. Z. (2017). Comparison of volatile compounds in 'Fuji' apples in the different regions in China. *Food Science and Technology Research*, 23(1), 79–89. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.79>
- Regueiro, J., Negreira, N. in Simal-Gándara, J. (2017). Challenges in relating concentrations of aromas and tastes with flavor features of foods. *Food Science and Nutrition*, 57(10), 2112–2127. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1048775>
- Roberts, G. in Spadafora, N. D. (2020). Analysis of apple flavours: the use of volatile organic compounds to address cultivar differences and the correlation between consumer appreciation and aroma profiling. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2020/8497259>
- Rocha, S. M., Costa, C. P. in Martins, C. (2022). Aroma clouds of foods: A step forward to unveil food aroma complexity using GC × GC. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.820749>
- Sinesio, F., Cammareri, M., Cottet, V., Fontanet, L., Jost, M., Moneta, E., Palombieri, S., Peparai, M., Del Castillo, R. R., Civitelli, E. S., Spigno, P., Vitiello, A., Navez, B., Casals, J., Causse, M., Granell, A. in Grandillo, S. (2021). Sensory traits and consumer's perceived quality of traditional and modern fresh market tomato varieties: A study in three European countries. *Foods*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/foods10112521>
- Sipos, L., Nyitrai, Á., Hitka, G., Friedrich, L. F. in Kókai, Z. (2021). Sensory panel performance evaluation—comprehensive review of practical approaches. *Applied Sciences*, 11(24). <https://doi.org/10.3390/app11241977>
- Souleyre, E. J. F., Chagné, D., Chen, X., Tomes, S., Turner, R. M., Wang, M. Y., Maddumage, R., Hunt, M. B., Winz, R. A., Wiedow, C., Hamiaux, C., Gardiner, S. E., Rowan, D. D. in Atkinson, R. G. (2014). The AAT1 locus is critical for the biosynthesis of esters contributing to 'ripe apple' flavour

- in 'Royal Gala' and 'Granny Smith' apples. *Plant Journal*, 78(6), 903–915. <https://doi.org/10.1111/tpj.12518>
- Starowicz, M. (2021). Analysis of volatiles in food products. *Separations*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/separations8090157>
- Stone H., Sidel J. L. 1993. Sensory evaluation practices. London, Academic Press: 311 str.
- Suwonsichon, S. (2019). The importance of sensory lexicons for research and development of food products. *Foods*, 8(1), <https://doi.org/10.3390/foods8010027>
- Verde, A., Míguez, J. M. in Gallardo, M. (2022). Role of melatonin in apple fruit during growth and ripening: possible interaction with ethylene. *Plants*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/plants11050688>
- Vidal, L., Ares, G., Hedderley, D. I., Meyners, M. in Jaeger, S. R. (2018). Comparison of rate-all-that-apply (RATA) and check-all-that-apply (CATA) questions across seven consumer studies. *Food Quality and Preference*, 67, 49–58. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.12.013>
- Waghmode, B., Masoodi, L., Kushwaha, K., Mir, J. I. in Sircar, D. (2021). Volatile components are non-invasive biomarkers to track shelf-life and nutritional changes in apple 'Golden Delicious' during low-temperature postharvest storage. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104075>
- Werrie, P. Y., Burgeon, C., Le Goff, G. J., Hance, T. in Fauconnier, M. L. (2021). Biopesticide trunk injection into apple trees: A proof of concept for the systemic movement of mint and cinnamon essential oils. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.650132>
- Wu, X., Bi, J. in Fauconnier, M. L. (2022). Characteristic volatiles and cultivar classification in 35 apple varieties: A case study of two harvest years. *Foods*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/foods11050690>
- Yan, D., Shi, J., Ren, X., Tao, Y., Ma, F., Li, R., Liu, X. in Liu, C. (2020). Insights into the aroma profiles and characteristic aroma of 'Honeycrisp' apple (*Malus × domestica*). *Food Chemistry*, 327, 127074. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127074>
- Yang, S., Hao, N., Meng, Z., Li, Y. in Zhao, Z. (2021a). Identification, comparison and classification of volatile compounds in peels of 40 apple cultivars by HS-SPME with GC-MS. *Foods*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/foods10051051>
- Yang, S., Li, D., Li, S., Yang, H. in Zhao, Z. (2022). GC-MS metabolite and transcriptome analyses reveal the differences of volatile synthesis and gene expression profiling between two apple varieties. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6). <https://doi.org/10.3390/ijms23062939>
- Yang, S., Meng, Z., Fan, J., Yan, L., Yang, Y. in Zhao, Z. (2021b). Evaluation of the volatile profiles in pulp of 85 apple cultivars (*Malus domestica*) by HS-SPME combined with GC-MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(5), 4215–4225. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01003-8>
- Yang, S., Meng, Z., Li, Y., Chen, R., Yang, Y. in Zhao, Z. (2021c). Evaluation of physiological characteristics, soluble sugars, organic acids and volatile compounds in 'Orin' apples (*Malus domestica*) at different ripening stages. *Molecules*, 26(4). <https://doi.org/10.3390/molecules26040807>
- Zhu, D., Ren, X., Wei, L., Cao, X., Ge, Y., Liu, H. in Li, J. (2020). Collaborative analysis on difference of apple fruits flavour using electronic nose and electronic tongue. *Scientia Horticulturae*, 260. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108879>