



HERNEBAASIDE AROOMIPROFIILIDE KIRJELDAMINE KASUTADES SPME-GC/MS-O MEETODIT JA SENSOORSET ANALÜÜSI

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Maria Alas

Juhendaja: Sirli Rosenvall
TFTAK, Suunajuht; TalTech lõputöö juhendaja

Kaasjuhendaja: Aleksandra Zhogoleva
TFTAK, teadur

Õpperekava: Rakenduskeemia, toidu- ja geenitehnoloogia

Tallinn, 2022

AUTORIDEKLARATSIOON

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Maria Alas

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab bakalaureusetööle/magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Sirli Rosenvald

[allkiri ja kuupäev]

Kaasjuhendaja: Aleksandra Zhogoleva

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: [nimi]

[allkiri ja kuupäev]



CHARACTERIZATION OF POWDERED PEA AROMA PROFILES USING SPME-GC/MS-O AND SENSORY ANALYSIS

Bachelor thesis

Student: Maria Alas

Supervisor: Sirli Rosenvall
TFTAK, Team Lead; TalTech thesis supervisor

Co-supervisor: Aleksandra Zhogoleva
TFTAK, researcher

Curriculum: Applied Chemistry, Food and Gene Technology

Tallinn, 2022

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	7
1.1. Kaunviljad	7
1.2. Hernes	7
1.3. Hernetooted: tootmine ja kasutamine	9
1.4. Herne aroomimolekulid	10
1.5. Aroomi analüüsimise metoodikad	12
1.5.1 Sensoorne analüüs	12
1.5.2 Gaaskromatograafia-massispektomeetria/ olfaktomeetria meetodid	13
1.6. Töö eesmärk	14
2 EKSPERIMENTAALNE OSA	16
2.1 Materjalid	16
2.2 Standardid	16
2.3 Sensoorne analüüs	17
2.4 GC-O ja GC-MS analüüs	17
2.5 Andmeanalüüs	18
3 TULEMUSED	20
3.1 GC-MS analüüsi tulemused	20
3.2 GC-O analüüsi tulemused	23
3.3 Sensoorne analüüs ja seosed instrumentaalanalüüsiga	26
4 ARUTELU	30
KOKKUVÕTE	32
ABSTRACT	33
TÄNUSÖNAD	34
KASUTATUD KIRJANDUS	35
LISA 1 – GC-MS SKANEERIMISMEETODI TULEMUSED	
LISA 2 – GC-MS MRM MEETODI TULEMUSED	
LISA 3 – SENSOORSE ANALÜÜSI TULEMUSED (LÖHNA JA MAITSE ATRIBUUDID)	

SISSEJUHATUS

Rahvaarvu suurenemise tõttu otsivad nii tarbijad kui ka tootjad jätkusuutlike alternative loomsetele valkudele (Henchion et al., 2017). Kõrge ja keskmise elatustasemega riikides on taimsed liha- ja piimaanalooigid loomse päritoluga toiduainete asendajateks. Taimsed analooigid annavad võimaluse säastlikumale ja jätkusuutlikumale toitumisele (Alae-carew et al., 2022). Jätkusuutlikule toitumisele üleminek on globaalselt tunnustatud ja suure taimse sisaldusega ning väheste loomse päritoluga toidul on kasu inimeste tervisele ja keskkonna säastlikkusele (Willett et al., 2019).

Hernevalgu kättesaadavus, füüsikalised ja töötlemisomadused, toitevääratus ja madal hind on suurendanud selle kasutamist uudse ja tõhusa alternatiivina sojaoa või loomsete valkude asendamiseks funktsionaalsetes toitudes (Lu et al., 2019). Hernevalku kasutatakse mitmesuguste toitude, sealhulgas toidulisandite, pagari- ja kondiitritoode, jookide, jogurtite, jäätiste, lihatoodete ning liha- ja piimatoodete alternatiivide valmistamisel (Cosson et al., 2020).

Tarbijad kirjeldavad hernevalgupõhiseid toite tavaliselt tugevate oa-, mõru- ja kootavate maitsetega (Cosson et al., 2020). Samuti on probleemiks hernevalgupõhistele toodetele iseloomulik „murune“ ja „värské herne“ lõhn, mis vähendab toodete atraktiivsust (Shi et al., 2021; Fischer et al., 2022). Nende vähendamiseks kombineerivad toidutootmisettevõtted hernevalke mitmete muude koostisosadega (näiteks rasv, sool, suhkur, maitseained ja/või tekstuuri andvad ained). Uute toodete loomine ja koostisosade kombineerimine on aga keeruline ning ajakulukas. Sensoorne hindamine on selles kontekstis väärthuslik tööriist: võimalik on uurida, kuidas toidu koostis mõjutab toidu sensoorselt tajutavaid omadusi (lõhn, maitse jne). (Cosson et al., 2020) Teadmised aroomiprofiilide kohta näitavad potentsiaali hernevalgupõhise toidu tööstusliku aroomi ning maitse optimeerimise lihtsustamiseks (Utz et al., 2022).

Herne sensoorset profiili parandatakse näiteks sordiaretuse või maskeerimisega. Aroomimolekulide molekulaarse päritolu välja selgitamine, herne peamiste aroomikomponentide tuvastamine ning töötluse erinevate etappide mõju hindamine lenduvatele ühenditele annavad selleks vajalikku informatsiooni. (Trindler et al., 2022) Oluline on mõista tootmisprotsessiga seotud lõhnaaktiivsete komponentide muutusi, mis tekivad valkude puhastamise või tekstureerimise käigus. Gaaskromatograafiliste / mass-spektomeetriliste ja olfaktomeetriliste meetodite abil on uuritud ja tuvastatud paljud lenduvad ühendid hernebaasides (Ebert et al., 2022).

Uurimistöö **eesmärgiks** on kirjeldada erinevate hernebaaside aroomiprofile nii instrumentaalselt kui sensoorselt ning leida, millised ühendid hernepulbrites on sensoorselt kõige olulisemad. Käesolevas töös on hernebaaside all möeldud erinevaid hernejahusid, kontsentrataate ning isolaate. Samuti on töö üheks osaks sensoorikapaneeli treening, et parandada taimsete baasidega valmistatud toodete hindamist ning nende hindamiste kokkuviimist GC-MS ja GC-O tulemustega.

Töö teoreetiline osa annab ülevaate hernest kui taimsest toormaterjalist, milliseid tooteid hernest valmistatakse ning kus neid kasutatakse. Samuti antakse ülevaade kirjanduse põhjal leitud peamistest aroomühenditest hernebaasides ning nende tekkeradadest. Lisaks on ära toodud lühitutvustus SPME-GC-MS/O meetoditest, millega uuritakse lenduvaid ühendeid hernebaasides.

Eksperimentaalses osas käsitletakse analüüsitavate hernebaaside ettevalmistust, kasutatavaid meetodeid ning andmeanalüüs.

Hernebaasid eristusid omavahel nii sensoorselt kui analüüsitud aroomimolekulide poolest ja ühendite aroomiprofiilid võivad sõltuda toorainest ja tootmisprotsesside intensiivsusest. Olulised hernebaaside aroomiühendid on metoksüürasiinid ning küllastunud ja küllastumata aldehüüdid. Nimetatud ühendite kogused varieerusid analüüsitud proovides suurel määral. Lisaks olid olulised eristavad ühendid metaantiool, mis põhjustas sensoorselt väävlist, munast lõhna ning β -damaskenoon, mis andis mesiseid, lillelisi noote.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Kaunviljad

Taimsemat dieeti järgiva tarbija eelistused võivad hõlmata muuhulgas erinevaid kaunvilju (Tuso et al., 2013). Kaunviljad on libliköieliste (*Fabaceae*) sugukonda kuuluvad taimed, mille söödav osa on kaun või kaunas olevad seemned. Paljude kaunviljade juurestikus asuvad lämmastikku siduvad bakterid. (*Legumes Definition*, 2021)

Kaunviljad on olulised nii inimeste kui ka loomade toiduks. Nad on suure tähtsusega inimeste tervise parandamisel, sest on olulised taimsete valkude allikana. (Tharanathan & Mahadevamma, 2003) Kaunviljade õhulämmastikku siduva võime töttu on nad olulised kasvuhoonegaaside heitkoguste vähendamisel (Lemke et al., 2007). Samuti aitab kaunviljade kasvatus mitmekesistada teisi pöllukultuure, vähendada kahjureid ja haiguseid ning aidata kaasa taimsete valkude tootmise puudujäägi tasakaalustamisele paljudes maailma piirkondades, sealhulgas Euroopas (Peoples et al., 2009).

Suuremad kaunviljade grupid saab jaotada õliseemnelisteks ja mitteõliseemnelisteks kaunviljadeks. Õliseemnelistel kaunviljadel on suurem rasvasisaldus (sojauba, maapähkel). Mitteõliseemnelistel kaunviljadel on rohkem kiudaineid ja madalam rasvasisaldus. Mitteõliseemnelised kaunviljad jagunevad kaheks: värskelt söödavad kaunad ning töötlemist (keetmine, aurutamine) vajavad seemned. Viimased on näiteks: kikerhnered, lehmhernered, oad, hnered ja läätsed, mis on toitainete rikkad, kõrge kiudainete ja kaalumi sisaldusega ning tervislikku kehakaalu toetava kalorisisdaldusega. (Didinger & Thompson, 2021)

1.2. Hernes

Hernes on üheaastane rohttaim, mis kasvab kuni 2–3 m pikkuseks. Lehed on vahelduvad ja koosnevad 2-3 paarist 1,5-8 cm pikkestest lehetaolistest osadest. Õitel on viis valget kuni punakaslillat erineva suurusega kroonlehte. Viljast kasvab 2,5–10 cm pikkune kaun, millel on sageli kare sisekest. Kaun on seemnemahuti, mis koosneb kahest suletud ventiilist ja on poolitatud piki kahte klappi ühendavat ömblust. Seemned on ümarad, siledad ja rohelist värti. (Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul, 2017)

Hernestel, nagu ka teistel kaunviljadel, on sümbiootiline seos mügarbakteritega (*rhizobia* bakteritega), mis võimaldavad pöllukultuuril lämmastikku fikseerida ja kasvatada ilma lämmastikväetise kasutamiseta. Hernest peetakse ka libliköieliste köögiviljade hulgas säastvamaks, sest selle veekasutuse efektiivsus on teiste kaunviljadega võrreldes suur. (Hacisalihoglu et al., 2021) Hernes on tänapäeval üks olulisemaid parasvöötme kaunvilju, seda nii inimtoiduks kui ka loomakasvatuses. Hernest on kasvatatud aastatuhandeid, peamiselt suhteliselt kõrge valgusisalduse (25%) ja madala toksiinide sisalduse töttu. Euroopas leidub köige rohkem Hariliku herne (*Pisum sativum*) alamliike. (Maxted & Ambrose, 2001) Eestis kasvatatakse hernest

inimtoiduks ning loomadele söödaks (Kuusemaa, 2015). Aedhernest (*P. sativum var. sativum*) toodetakse peamiselt inimtoiduks, pöldhernest (*P. sativum var. arvense (L.) Poiret*) loomakasvatuseks ja väetiseks. Aed- ja pöldherneid kasvatatakse parasvöötme piirkonnas kogu maailmas. Kaunased süükse ka ebaküpse köögiviljana (nt. suhkruherned). Paljudes arenenud riikides koristatakse märkimisväärne osa saagist ebaküpsena ja külmutatakse valmistoidu valmistamiseks. (Maxted & Ambrose, 2001) Hernestest kui toormaterjalist tehtud toit võib olla alternatiiviks lihale või pliimatoodele, eriti kui seemnetes on antinutrientide sisaldust vähendatud. (Hacisalioglu et al., 2021) Antinutriendid ehk antitoitained (nt. fütiinhape ja fütaadid) vähendavad valkude seeduvust ja mineraalide imendumist (Samtiya et al., 2020).

Hariliku herne (*Pisum sativum*) toiteväärtslikud omadused on järgmised: energiasisaldus 72,6 kcal, rasvad 0,4 g, küllastunud rasvhapped 0,1 g, süsivesikud 9,4 g, valgud 5,1 g (Herned, 2020). Harilikus hernes sisalduvad neli peamist makroelementi on kaalium, fosfor, magneesium ja kaltsium. Vähesel määral leidub mikroelemente: rauda, seleeni, tsinki, molübdeeni, mangaani, vaske ja boori. (Dahl et al., 2012)

Hernes sisaldb köiki asendamatuid aminohappeid, mis vastavad Maailma Terviseorganisatsiooni WHO soovitatud kogustele. Herned ületavad soovitatud lüsiini vajaduse (4,5%), aga ei kata soovitatavat metioniini kogust (1,6%). Seetõttu on soovitatav tarbida koos teiste toodetega, kus on madal lüsiini kogus, aga piisav metioniini kogus (nt. mais, kanepiseemned ja pruun riis). (Gorissen et al., 2018)

Tabel 1. Herne asendamatute aminohapete koostise võrdlus lehmapiima, soja ja munaga. Kohandatud Gorissen et al., (2018) ja Cudmore (2021) põhjal

g/100g	Hernes	Lehmapiim	Soja	Muna
Histidiin	1.6	1.9	1.5	0.9
Isoleutsiin	2.3	2.9	1.9	1.6
Leutsiin	5.7	7.0	5	3.6
Lüsiin	4.7	5.9	3.4	2.7
Metioniin	0.3	2.1	0.3	1.4
Fenüülalaniin	3.7	3.5	3.2	2.3
Treoniin	2.5	3.5	2.3	2.0
Valiin	2.7	3.6	2.2	2.0
Trüptofaan	1.0	0.8	0.2	1.5
* (% aminohapete üldarvust)				

Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul (2017) on oma uurimuses välja toonud hariliku herne erinevad bioaktiivsed ühendid ja fütokemikaalid, mis on antibakteriaalse, vähi- kui ka diabeedivastaste omadustega. Samuti on herned põletikuvastaste omadustega ning head antioksüdandid. Hariliku herne mõned aktiivsed fütokemikaalid on järgmised: asparaginaas,

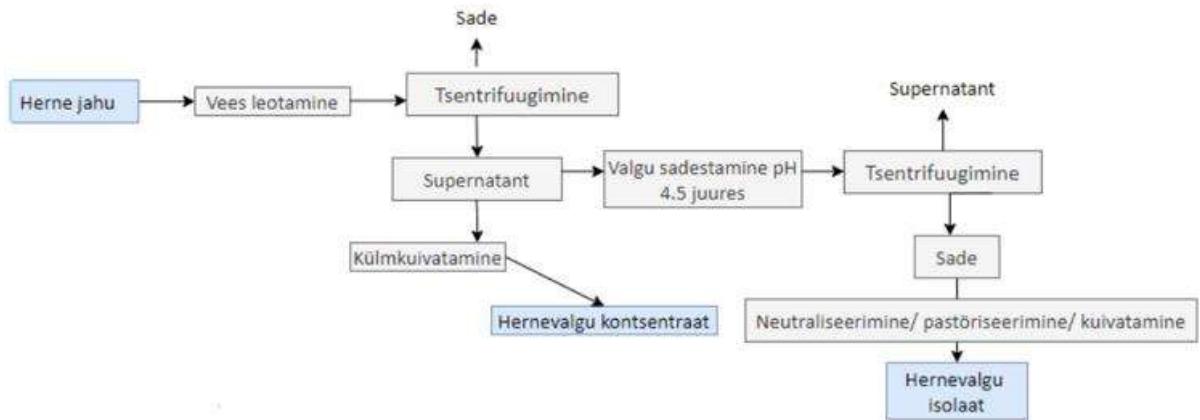
erinevad flavonoidid, lektiin, fenoolsed ühendid nagu näiteks katehhiiin, saponiinid ja tanniinid. (Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul, 2017)

Hernevalk on pälvitud palju tähelepanu, kuna seda saab kasutada lihatoodetes ja lihaanalooogides mitmel kujul, lähtudes lõpptoote koostisest, kasutatavast tehnoloogiast ja võimalikest regulatiivsetest nõuetest. Herne koostisosade võime siduda vett ja rasva ning tekitada pärast termilist töötlemist kindlat tekstuuri, võimaldab neil toimida sideainete, täiteainete ja funktsionaalsuse parandajatena. (Kyriakopoulou et al., 2021) Võrreldes teiste kaunviljade või muude kõrge valgusisaldusega toiduainete valkudega on hernevalgud madala allergeensusega (Bi et al., 2020). Põhjuseks on kõrge tsüsteini sisaldusega allergeen 2S-albumiin, mida leidub teistes väga tugevates kaunviljade (sojauba, maapähkel) allergenides, aga ei leidu hernes (Taylor et al., 2021). Samuti on hened head energiaallikad. Tänu sellele on kiiresti kasvanud herne kasutamine toormaterjalina erinevates toiduoodetes. (Bi et al., 2020) Pärast töötlemist saab hernest toota valgupulbreid ja tärklierikast jahu. Hernest saadud komponente kasutatakse muna asendusena pastades, kookides, küpsistes, taignates ja paneeringutes. Neid kasutatakse ka kõrge valgusisaldusega koostisosadena suupistetes, pagaritoodetes, makaronides ja jahutoodetes ning tekstureerijatena suppides, kreekerites, küpsistes ning emulgaatorina liha- ja kastmetoodetes. (Tulbek et al., 2016)

1.3. Hernetooted: tootmine ja kasutamine

Hernevalku, nagu ka teisi kaunviljavalke, võib kasutada näiteks valgukontsentsraadina või valgusolaadina (Heng, 2005). Hernetoodete koostise ja kasutuse põhjal jagatakse need üldjoontes kolme kategooriasse. Hernejahu saadakse pärast seemnete jahvatamist ning jahu valgusisaldus on tavaselt umbes 20% juures ning see sobib hästi pastadesse. Pärast jahu osakeste tiheduse põhjal tuulsõelumist saadakse tärklierikas ja valgurikas osa. Valgurikka osa valgusisaldus on umbes 50% ning seda nimetatakse kontsentsraadiks. Seda kasutatake palju küpsetistes ja batoonides. Üle 80% valgusisaldusega isolaate kasutatakse batoonide ja joogisegude valmistamisel ning liha- ja piimatoodete alternatiivide tootmisel. (Naguleswaran, 2019)

Hernevalku saab toota kuiv- ja märgjahvatustehnoloogiate abil ning lõplik valgusisaldus on vahemikus 48-90% (Tulbek et al., 2016). Kuivtöötlemise alla kuulub koorimine, poolitamine, kuivjahvatamine jahu saamiseks, tuulsõelumine ja segamine. Kuivtöötlemise peamisteks probleemideks on pulbri madal valgusisaldus, funktsionaalsus, maitse ja lõhn. Nendest väljakutsetest ülesaamiseks kasutatakse märgtöötlemist, mille lõpptulemuseks on üle 80% valgusisaldusega isolaat. Peamine erinevus isolaadi ja kontsentsraadi vahel on, et isolaati töödeldakse rohkem (rohkem filtreerimist ja eraldamist), mille tulemuseks on suurem valgusisaldus ning vähem süsivesikuid ja rasva. Isolaat on tavaselt kallim kui kontsentsraat. Märgtöötlemine koosneb märgjahvatamisest ja märgfraktsioneerimisest. Valgusolaadi saamiseks saab kasutada kahte tüüpi märgtöötlust. Üks võimalus on alustada seemnete leotamisega, seejärel toimub märgjahvatamine, eraldamine, kontsentreerimine ja kuivatamine. Teine võimalus on alustada jahust ja seda lahustada. Seejärel toimub samuti eraldamine, kontsentreerimine ja kuivatamine. (Naguleswaran, 2019) Hernebaaside tootmisetape on mitmeid ning ülevaatlik näide on toodud joonisel 1.



Joonis 1. Hernevalgu kontsentsraadi ja isolaadi tootmise etapid. Kohandatud Kornet et al., (2021) ja García Arteaga et al., (2021) põhjal

Taimsetel valkudel on tavaselt madalamad toiteväärtsused ja funktsionaalsed omadused võrreldes loomsete valkudega, sealhulgas piimatoodetega. Seda süvendavad tööstuslikud valkude eraldamise tingimused, mis põhjustavad mõningast valgu denaturatsiooni, aggregatsiooni ja funktsionaalsuse kadu. (Moll et al., 2021) Nende valgupreparaatide valmistamiseks vajalikud fraktsioneerimisetapid, nt. ekstraheerimine ja sadestamine happenises pH-s, võivad põhjustada ka teatavate lenduvate orgaaniliste ühendite eemaldamist või rikastumist. (Heng, 2005)

Agregatsiooni tõttu on mittefunktsionaalsed valgud tavaselt lahustumatud ja neil võib olla kahjulik mõju valgulise tooraine kasutusvõimalustele. Neid mittefunktsionaalseid valke saab eraldada lihtsa tsentrifuugimisega. (Moll et al., 2021) See võimaldab taimsete valkude koostisosade tarnijatel optimeeritud rakenduste jaoks toota palju erinevaid taimsete valkude tooteid (nt NUTRALYS S85 lahustuv hernevalk ja B85 lahustumatu hernevalk, Roquette, Prantsusmaa). Ühest küljest on kuiv-fraktsioneeritud taimse valgu kontsentsraatidel struktuurselt terved valgud ja seetõttu parem funktsionaalsus. Seevastu madalam valgusisaldus ja muude lisandite olemasolu seavad väljakutsed toote koostisele ja kõrge valgusisalduse nõudlusele, piirates nende kasutamist. (Yong et al., 2021)

1.4. Herne aroomimolekulid

Lõhna- ja maitseomadused on saanud peamisteks teguriteks, mis piiravad herne kasutamist toiduainetes ja mõjutavad tarbija valikut (Bi et al., 2020). Hernevalgu aroom ei ole tavaselt neutraalne ning neil on iseloomulik tugev roheline ja hernene lõhn. Omnivoorsetel tarbijatel on madal taimsete alternatiivtoodete aksepteeritavus just intensiivse tooraine maitse ning lõhna tõttu. (Saint-Eve et al., 2019) Seetõttu on väga oluline parandada hernetoodete sensoorseid profiile ja muuta toodet tarbija soovidele vastavaks (Trindler et al., 2022).

Hernes leidub rasvhappeid ligikaudu 0.4%. Need on peamiselt polüküllastama rasvhapped (0.2%). (Herned, 2020) Kõrge küllastumata rasvhapete sisaldus on avatud lipiidide oksüdatsioonile. Valguse poolt indutseeritud lipiidide oksüdatsiooni ja radikalide poolt indutseeritud autooksüdatsiooni tulemusena moodustuvad hüdroperorsiidid, mis võivad seejärel laguneda ensümaatiliste

(lipoksügenaas) või mitteensümaatilise lagunemise teel katalüsaatoriga (nt raud). (Ebert et al., 2022) Peamised lõhnaühendite klassid, mis tekivad rasvhapete oksüdatsioonist on aldehydid, alkoholid ja ketoonid (Trindler et al., 2022).

Suur hulk lõhnaühendeid tuleneb rasvhapete nagu linoleenhappe ja linoolhappe lagunemisest (Trindler et al., 2022). Linoleenhappe ja linoolhappe autooksüdatsioonil tekkinud lõhnaühendid on 1-pentanool, heksanaal, 2-heptanoon, 1-okteen-3-ol, 2-pentülfuraan, (E)-2-oktenaal, (E)-2-heptenaal, oktaanhape, (E,E)-2,4-nonadienaal, (E,E)-2,4-dekadienaal, (E,E)-2,4-heptadienaal, (E,E)-3,5-oktadien-2-oon, 2-undekanoon (Trindler et al., 2022; Ebert et al., 2022). Oleiinhappest tekivad rasva oksüdatsiooni produktid on oktanaal, 3-okten-2-oon, dekanaal, (E)-2-nonenaal (Ebert et al., 2022). Oleiinhappest võivad pärineda ka lenduvad ühendid nagu nonanaal ja gammalaktoonid. Nonenaal tekib oleiinhappest, heptanaal ja oktanaal võivad pärineda nii oleiinhappest kui ka linoolhappest. Aroomiühendite tekkimisse võib kaasatud olla ka arhhidoonhape. Näiteks heksaanal võib tekkida nii linoolhappe, linoleenhappe kui ka arhadioonhappe mõjust. (Murray et al., 1976; Wang et al., 2020)

Pürasiinid on väga madala tunnetusläävega lõhnaühendid ning mõjutavad oluliselt herne aroomi. Need võivad tekkida kas Maillard'i reaktsiooni tulemusena või aminohapete metabolismist. (Arteaga et al., 2021; Murat et al., 2013) Maillard'i reaktsiooni produktidest on rõstitud hernestest leitud mitmeid pürasiini derivaate (Bi et al., 2020). Näiteks 2,5-dimetüülpürasiini, mida kirjeldatakse sensoorselt kasutades atribuute „pähkline“ ja „linnaseline“ (Trindler et al., 2022).

Hernes leidub ka aminohapete metabolismist pärinevaid metoksüpürasiine, näiteks 3-alküül-2-metoksüpürasiinid (Jakobsen et al., 1998; Murat et al., 2013). Vastavad metoksüpürasiinid takistavad seemnete levitajaid (nt linde) söömast vilju enne kui seemned on elujõulised (Moore et al., 1990). Isegi kui need esinevad väga väikeses kontsentratsioonis, on need tajutavad nende madala lõhnaläve tõttu (Bi et al., 2020). 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini ja 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini köige madalamad tuvastatud lõhnaläved on valges veinis vastavalt 0.3ng/L ja 1 ng/L (Sidhu et al., 2015; Hjelmeland et al., 2016). Punases veinis on lõhnaläve väärtsused suuremad, kuid siiski jäavad nanogrammidesse. 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiini lõhnalävi on 1-2 ng/l (vees). Neid metoksüpürasiine kirjeldatakse sensoorselt kui „värske hernes“, „mullane“ ja „paprikane.“ (Sidhu et al., 2015; Belitz et al., 2009)

Mõned lõhnaühendid võivad tekkida feruulhappe dekarboksülimisest (näiteks 2-metoksü-4-vinüülfenool, mis on terava nelgi lõhnaga) (Arteaga et al., 2021; Trindler et al., 2022). Ühendid, mis on aga magusa (γ -nonaktoon) või rõstitud (2-pentüül-püridiin) lõhnaga on sekundaarsed Maillard'i reaktsiooni produktid. Need tekivad aldehyhidide ja redutseerivate suhkrute vaheliste reaktsioonide tagajärvel. Aroomiühendid geraniool ja ionoon on taimsele omased ühendid või pärinevad karotenoidide lagunemisest. (Ebert et al., 2022)

Streckeri reaktsiooni käigus tekivad lõhnavad aldehyhidid nagu 3-metüülbutanaal (linnased) ja fenüülatsetaldehyd (mesi) ja seda vastavatest aminohapetest leutsiin ja fenüülaraliin. Reaktsioon toimub α -dikarbonüüli juuresolekul (Hofmann & Schieberle, 2000). Streckeri reaktsiooni tulemusena tekib ka metionaal ja seal edasi metaantiool (Yeretzian et al., 2017). Metionaal võib tekkida ka temperatuuri vajavatest Maillard'i reaktsioonidest aminohapete ja süsivesikute vahel. (Trindler et al., 2022)

Furaanide moodustumise aluseks on mitu reaktsiooniteed, näiteks süsivesikute termiline lagunemine, järjestuse muutumine iseeneslikult või aminohapete juuresolekul ning askorbiinhappe oksüdeerumine körgetel temperatuuridel. Samuti võivad tekkemehhanismideks olla teatavate aminohapete termiline lagunemine ning polüküllastumata rasvhapete ja karotenoidide oksüdeerumine. (Seok et al., 2015)

1.5. Aroomi analüüsimise metoodikad

Lõhn mängib olulist rolli inimeste meeldivuses ja mittemeeldivuses, mälestustes ja emotsiionides. Inimesed seostavad lõhnu varasemate kogemustega ja nende kogemuste põhjal hindavad nad tahtmatult lõhna meeldivaks, ebameeldivaks või ükskõikseks. (Brattoli et al., 2013) Toidu aroomi- ja maitseanalüüs jaotub sensoorseks analüüsiks ja instrumentaalseks analüüsiks (Bax et al., 2020).

Aroomiained kuuluvad väga mitmetesse ühendite klassidesse, millest mõned on väga reaktiivsed ja esinevad toidus äärmiselt madalates kontsentratsioonides, kuid madala tuvastamise läve tõttu on neid lõhnu tugevalt tunda. Kõrge reaktiivsuse ja madalate kontsentratsioonidega on seotud aroomiühendite tuvastamise raskused, väljakutsed on seotud ka aroomiühendite tuvastamisega, nende keemilise struktuuri selgitamisega ja sensoorsete omaduste iseloomustamisega. Aroomianalüüs tulemused saavad olla objektiivseks juhendiks toiduainete töötlemisel ning üksikute töötlemisetappide sobivuse ning tooraine kvaliteedi hindamiseks. Lisaks avardab toidu aroomi uurimine võimalust parandada toidu maitsestamist ning erinevate loomsete analoogide tootmiseks taimsetest materjalidest. (Belitz et al., 2009)

1.5.1 Sensoorne analüüs

Sensoorset analüüsi kirjeldatakse kui teaduslikku meetodit, mida kasutatakse selliste omaduste mõõtmiseks, analüüsimiseks ja tõlgendamiseks, mida tajutakse nägemis-, haistmis-, kompimis-, maitse- ja kuulmismeele kaudu. Olenevalt uurimistöö eesmärgist võib kasutada erinevaid sensoorseid hindamismeetodeid. Nendest köige sagedadmini kasutatakse sensoorset kirjeldavat analüüsi ja tarbijakatseid. (Yang & Lee, 2019)

Sensoorne hindamine hõlmab tehnikate kogumit inimeste toidule reageerimise täpseks ja objektiivseks hindamiseks. Sensoorses hindamises on kolm analüüsimeetodi gruppi: (1) võrdlemine, (2) kirjeldamine ja (3) meeldivus. Kvaliteetse sensoorse paneeli toimimiseks on väga oluline koolitada paneliste, kuidas iga tegurit isoleerida ja keskenduda igaühele teistest sõltumatult, et hinnata uurijale huvipakkuvat omadust. (Bratcher, 2013)

Sensoorne kirjeldav analüüs hõlmab toodete kvalitatiivsete ja kvantitatiivsete sensoorsete tegurite hindamist ja kirjeldamist koolitatud paneelide poolt. Näiteks saab hinnata lõhna, maitset ning tekstuuri. Seda tüüpi meetodeid kasutades on võimalik kindlaks teha erinevused toodete ning tingimuste vahel, tuvastada tarbijate reaktsioonide põhjustajaid ning uurida sensoorsete ja keemiliste omaduste vahelisi seoseid. (Yang & Lee, 2019)

1.5.2 Gaaskromatograafia-massispektromeetria/ olfaktomeetria meetodid

Kromatograafia on meetod, mis lahutab segus olevad komponendid likuva ja statsionaarse faasi vahel vastavalt jaotuskoeffitsentidele/sorbeerumiskoeffitsentidele. Sorbeerumata osa liigub mobiilse faasiga järgmissele teoreetilisele taldrikule, kus toimub uus jaotumine (tasakaalu saavutamine). Gaaskromatograafia (GC) on üks populaarsemaid kromatograafiateodeid lenduvate ühendite või ainete eraldamiseks. GC liikuvas faasis ehk gaasifaasis on kandegaasiks inertgaas (nt. helium või argoon), mis kannab segu läbi statsionaarse faasi. Gaasifaasis olevad ühendid interakteeruvad läbimise ajal tahke faasiga. Komponentide omaduste ja struktuuride erinevuste tõttu on iga ühendi interaktsioon statsionaarse faasiga erineva pikkusega ja afiinsusega. See tähendab, et igal ühendil on eri sorbeerumiskoeffitsent ja viibimisaeg taldrikul. Seetõttu on sama liikumapaneva jõu korral erinevate komponentide retensiooniajad erinevad ja ühendid liiguavad kolonnist välja erinevas järjekorras ehk segu eraldub. (McNair et al., 2019; Scott, 1998)

Gaaskromatograafia töö algab proovi süstmisega (manuaalselt või autosampleriga) injektorisse. Sealt kantakse see kandegaasiga kolanni, mis on kas preparatiivne täidiskolonn või analüütiline kvartskolonn. Koloni ümbritseb reguleeritava temperatuuriga ahi ning koloni soojendatakse. Kromatograafiline eraldamine toimub siis, kui segu liigub läbi koloni. Kui proovi eraldatud komponendid väljuvad kolonnist, jõuavad need detektorisse, kus mõõdetakse ning antakse elueeruvate analüütide kogusega võrdeline elektrooniline signaal. Elektrooniline signaal võimendatakse ja saadetakse andmetetötlusesse. Arvuti genereerib kromatogrammi. (Stauffer et al., 2008)

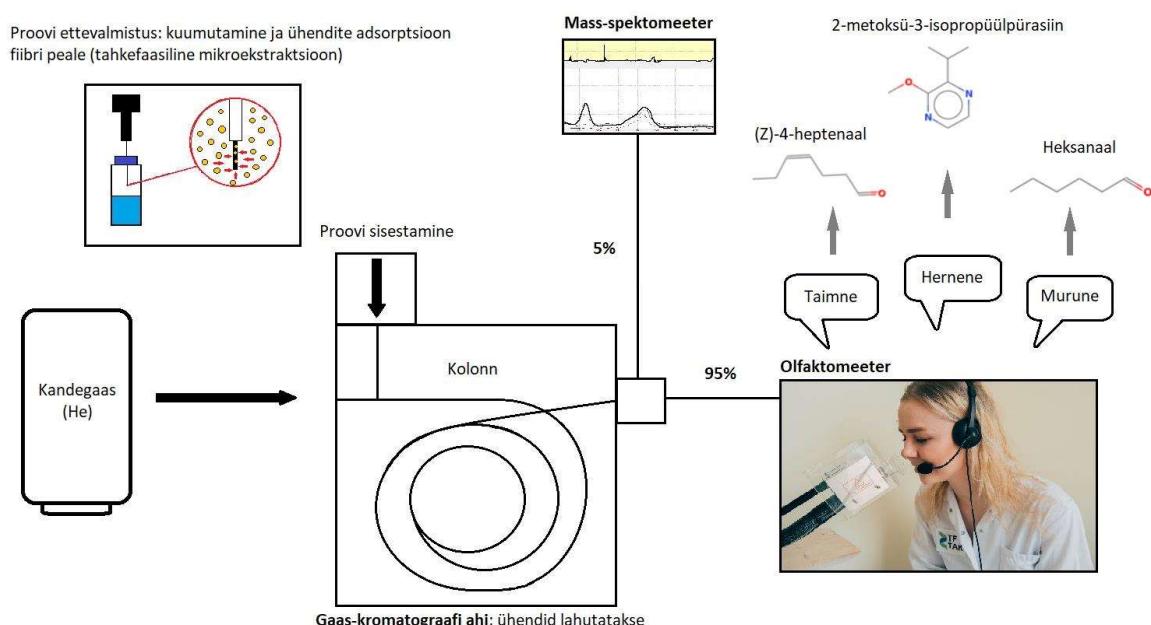
Massispektromeetria (MS) põhimõte seisneb ühendite ioniseerimisel ning ioonide eraldamisel massi/laengu suhte alusel. Detektor mõõdab massi/laengu suhet ja loob signaali. MS peetakse kõigist meetoditest kõige mitmekülgsemaks ja äärmiselt tundlikuks. (Habbab et al., 2022)

Mitmed olulised aroomiühendid, mida leidub toidus väga väikestes kontsentratsioonides, ei anna aga pärast proovi gaaskromatograafilist eraldamist detektori signaali. Neid aineid saab määrata ainult kandegaasi voolu nuusutades. Näiteks 2-atsetüül-1-pürrooliini ja 2-etüül-3,5-dimetüülpürasiini on kergem tuvastada gaaskromatograafia-olfaktomeetria (GC-O) meetodi abil. (Belitz et al., 2009) GC-O tehnika ühendab traditsioonilise gaasikromatograafilise analüüs sensoorse tuvastamisega, et uurida lõhnaainete keerulisi segusid, tuvastada lõhnaaktiivseid ühendeid ning hinnata nende suhtelist tähtsust (Brattoli et al., 2013). GC-O olfaktomeetria kasutab inimest kui lõhnaühendite tundlikku ja selektiivset detektorit (Delahunty et al., 2006). Leitud ühendeid ja nende olulisust esitatakse tulemuste tabelina ja kasutatavaid meetodeid saab liigitada: tuvastamise sageduseks (*detection frequencies*), lahvenduste seeriadeks (*dilution factors*), otseseks intensiivsuseks (*intensity value*) ja modifitseeritud sageduseks (*modified frequencies*). (Delahunty et al., 2006; Rosenvall, 2017) Gaas-kromatograaf/mass-spektromeetria-olfaktomeetria ühine süsteem on graafiliselt kujutatud joonisel 2.

Olfaktomeetriliste portide disain on sarnane: eluaat jõuab ülekandeliini kaudu klaasist ja ninale kohandatud porti. Ülekandeliini kuumutatakse, et vältida poolenduvate analüütide kondenseerumist kapillaari seintele. Eluaadile lisatakse niisket õhku, et vältida hindajate nina limaskestade kuivamist, mis võib eriti pikema analüüsiga puhul põhjustada ebamugavust.

Ülekandeliini pikkus peab olema piisavalt pikk, et tagada mugav istumisasend ja vältida tuvastamise ajal kuumade kromatograafi komponentide lähedusest tulenevat ebamugavust. Iga port on varustatud arvutiga seotud süsteemiga, millele vajutades genereeritakse signaal ning assessorid saavad portist väljuvaid lõhnasid kirjeldada ning intensiivsus hinnata. (Corporate et al., 2002)

GC-O analüüs kasutatakse sageli õhufaasi tahkefaasilist mikroekstraheerimist (HS-SPME) kui ekstraheerimistehnikat. HS-SPME põhimõttel on mitmeid eeliseid- lihtne, solvendivaba, kiire ja vähe proovi manipuleerimisega. Proovi hoitakse koos magnetsegajaga viaalis analüüsile sobiva temperatuuri (kuni 60°C) juures. Pärast seda surutakse roostevaba terasnööl, kus asub fiiber, läbi viaali vaheseina ja lükatakse fiiber korpusest välja ja paljastatakse prooviviaali õhufaasi. Tasakaalu saavutamisel tömmatakse fiiber tagasi nõela sisse ja süstitakse otse gaasikromatograafia aurustisse, kus temperatuuri (termiline desorptsioon) tõttu vabanevad analüüdid. (Martí et al., 2003)



Joonis 2. Gaas-kromatograaf/mass-spektromeetria-olfaktomeetria süsteem

1.6. Töö eesmärk

Uurimistöö probleem:

Hernevalgu kätesaadavus, toiteväärthus ja madal hind teeb selle töhusaks alternatiiviks sojaoa või loomsete valkude asendamiseks (Lu et al., 2019), kuid tarbijad kirjeldavad hernevalgupõhiseid toite tugevate oa-, mõru- ja kootavate maitsetega (Cosson et al., 2020). Samuti on probleemiks hernevalgupõhistele toodetele iseloomulik „murune“ ja „värske herne“ lõhn, mis vähendab toodete atraktiivsust (Shi et al., 2021; Fischer et al., 2022). Uute toodete loomine ja koostisosade kombineerimine on aga keeruline ning ajakulukas. Sensoorne hindamine ja teadmised aroomiprofiilide kohta võimaldavad uurida, kuidas toidu koostis mõjutab toidu sensoorselt

tajutavaid omadusi ning annavad informatsiooni aroomi ning maitse optimeerimise lihtsustamiseks. (Cosson et al., 2020; Utz et al., 2022)

Uurimistöö eesmärgiks on kirjeldada erinevate hernebaaside aroomiprofile nii instrumentaalselt kui sensoorselt, kasutades selleks GC-MS, GC-O meetodit ja sensoorset analüüsni leida, millised ühendid hernepulbrates on sensoorselt kõige olulisemad. Käesolevas töös on hernebaaside all mõeldud erinevaid hernejahusid, kontsentraate ning isolaate. Samuti on töö üheks eesmärgiks sensoorikapaneeli treening, et parandada taimsete baasidega valmistatud toodete hindamist ning nende hindamiste kokkuviimist GC-MS ja GC-O tulemustega.

Uurimistöö uurimisküsimused on:

- Millised on kõige olulisemad ühendid hernebaasides?
- Millisel määral erinevad hernebaasid üksteisest?

2 EKSPERIMENTAALNE OSA

2.1 Materjalid

Töös kasutati viite erinevat valgupulbrit: 3 isolaati, kontsentraat ja jahu. Valgubaaside ametlikud tootjapoolsed nimed olid: Pisane M9- Cosucra, CAREFLOUR PEAPROTEIN 80- Caremoli, NUTRALYS® S85F- Roquette, 50.0BP ORGANIC BROWN PEA PROTEIN CONCENTRATE ja 17.0BP ORGANIC BROWN PEA STARCHY FLOUR- Alojas.

Toote spetsifikatsioonis on välja toodud, et Cosucra Pisane on hernevalgu isolaatide kogum, mis on ekstraheeritud kollasest hernest ja need on kasvatatud Belgias. **Pisane M9** sobib liha, linnuliha, kala ja taimetoidu, kastmete ja tekstureeritud valgu jaoks ning parandab toote tekstuuri pärast termilist töötlemist. Toote valgusisaldus on 86 +/- 2 %. Toote spetsifikatsiooni põhjal on **Careflour PeaProtein 80** on toidus kasutamiseks sobiv (*food grade*) hernevalgu isolaat, mis on valmistatud USA ja Kanada hernestest. Toote valgusisaldus on 80%. Prantsuse firma **Roquette Nutralys S85F** hernevalgu isolaadi valgusisaldus jäääb vahemikku 83-88%. **Alojas 17.0BP** orgaaniline pruuun hernetärklisjahu ja samanimeline **50.0BP** valgukontsentraadi tooraine päritoluriigid on Eesti, Läti, Leedu. Toodete valgusisaldus on vastavalt 17% ja 46,9%.

2.2 Standardid

Nimekirjas olevaid puhtaid referentsaineid kasutati lõhnatreelingus, et tutvustada assessoritele olulisemaid parameetreid. Samuti nuusutati vastavaid standardeid GC-olfaktomeetria abil, et täpsustada nii lõhna omadused kui ka retentsiooniaeg.

- Butanaal, 3-metüül
- Metionaal
- Oktanaal
- γ-heptalaktoon
- Atsetoin
- Pürasiin, 2,5-dimetüül-
- (E,E)-2,4 Heptadienaal
- (E)-2-Nonenal
- (E)-2-Pentenaal
- Pürasiin, 2,3-dimetüül-
- (E)-2-Oktenaal
- 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin
- Heksanaal
- (E)-2-Heptenaal
- Atsetofenoon
- 3-isobutüül- 2- metoksüpürasiin
- (E)- 2-Heksenaal
- 1-Okteen-3-ool
- 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin
- 2-Dekanoon
- 1-Heksanool
- 5-Hepten-2-oon, 6-metüül-
- 2-Nonanoon
- Dekanaal
- 2-Heptanoon
- 3-Oktanoon
- Nonanaal
- (E,E)-2,4-Nonadienaal

4-metüül-2-pentanooli kasutati sisestandardina GC-MS semi-kvantifitseerimise jaoks. Enamik leitud ühendite standardeid soetati Sigma-Aldrichist. Erandideks 3-oktanoon ja oktanaal Merckist, dekanaal Acroest, heksanaal Flukast.

2.3 Sensoorne analüüs

Enne lõplikku senoorset analüüsi viidi läbi lõhnatreening. Lõhnatreeningus osales 15 assessorit, kelle hulgas oli viis treenitud assessorit, kes hiljem osalesid gaasikromatograafia olfaktomeetria katsetes. Lõhnatreeningul tutvustati varasemate katsete ning kirjanduse põhjal leitud võtmeühendite standardeid, mis esinevad herne baasil tehtud toodetes.

Sobiva kangusega (enamik 0.01%) lahuseid tutvustati assessoritele. Assessorid tutvusid lõhnadega iseseisvalt, nuusutades neid lahuse sisse kastetud lõhnaribadelt. Kõigil assessoritel oli võimalus oma pakkumine teha, toimus arutelu ning loeti ette lõhna ametlik kirjeldus.

Lõhnatreeningul testiti assessoreid ning tuvastati assessorite tundlikkus valitud standardite suhtes. Baseerudes tundlikkuse tulemustel valiti sobivad assessorid edastiteks analüüsideks. See aitas assessoritel lõhnadega veelgi enam tutvuda ning oma tundlikkust treenida. Samuti toimus eelnev arutelu hindamislehe uuendusteks, et eelnevalt mainitud standardite ja kirjanduse põhjal kõik hernepulbritele vajalikud parameetrid oleksid kajastatud.

Sensoorse analüüsi hindamisleht pandi kokku nii eelkatsete kui ka teemakohase allika (Utz et al., 2022) põhjal. Herne atribuutiteks toodi artiklis välja mullane, linnaseline, pähkline, meelaadne, rasvane, hapukas, oalaadne, murune. Pärast standartite nuusutamist lisasime värske hernesuse, kurgisuse, lillelisuse, väävlisuse ning tsitruselisuse atribuudid.

Sensoorne analüüs viidi läbi koolitatud hindajatega, kellest kõik hindajad osalesid varasemas lõhnatreeningus. Sensoorsel analüüsil toimus hernepulbrite hindamine juba laiendatud profiiliga. Hindamine toimus spetsiaalses sensoorses ruumis vastavalt standardile ISO 8589:2007 ning hindamisel osales 12 assessorit. Osales 11 naist ning üks meessoost isik. Hernepulbri lahus valmistati 8-protsendiline, kasutades leidget vett. Proovid serveeriti kodeeritult nuusutamisklaasides. Hindamine toimus skaalal 0-9, kus „0“ antud omadus puudub, „1“ väga nõrk, „5“ keskmine ja „9“ väga kõrge. Hinnati erinevaid lõhna ja maitse atribuute. Lisaks oliolemas vabatahtlik kommentaaride lahter. Senoorsed andmed koguti RedJade tarkvaraga (RedJade Sensory Solutions LLC, Martinez, CA, USA). Hindamine toimus kahes paralleelsessioonis, mõlema pikkuseks kuni pool tundi.

2.4 GC-O ja GC-MS analüüs

GC-O analüüsi jaoks kaaluti 20 milliliitrisse viaali 0.3g hernebaasi ning segati 1.5 ml veega ja saadi 20% lahus. Kogus valiti selle põhjal, et tuleks sobiva konsistsentsiga proov, piigid ei üleküllastuks ning oleks võimalik palju lõhnaühendeid identifitseerida. GC-MS SCAN meetodi SQ (*Single Quadrupole*) jaoks kaaluti analüüsitavat proovi 0.3 g ja lisati 2 ml vett. GC-MS MRM meetodi TQ (*Triple*

Quadrupole) analüüsiproovide puhul kaaluti 10 milliliitrisse viaali 0.1g hernepulbrit ja lisati 0.7 ml vett. Proovidele lisati magnetsegajad, suleti tugeva tihendiga korkidega ning hoiti -20 °C külmruumis kuni kasutamiseni.

Ühendite tuvastamiseks kasutati skaneerimismeetodit (*SCAN mode*) ja detektoriks oli GC-SQ (*single quadrupole*.) Kolme metoksüpürasiini määramiseks kasutati lisaks MRM meetodit, mis vajab detektoriks GC-TQ (*triple quadrupole*.) Tulemuste kontsentratsiooni ühikuks on ppb ehk miljardikosa ($\mu\text{g/L}$) sisestandardi 4-metüül-2-pentanooli ekvivalendi suhtes. MRM puhul määritati piikide pindala ehk AU.

Viaale eelinkubeeriti 5 minutit 60 °C juures. Lenduvate ühendite ekstraheerimiseks hernepulbrite lahustest kasutati tahke faasi mikroekstraktsiooni (SPME). SPME fiibrit (30/50 μm DVB/Car/PDMS Stableflex, pikkusega 1 cm, Supelco 548653-U) kasutati 30 minuti jooksul ja 60 °C juures lenduvate ühendite adsorbeerimiseks gaasifaasist. Adsorbeerunud lenduvad ühendid desorbeeriti seejärel 5 minutiks GC süsttimisporti.

Lenduvate ühendite analüüsiks kasutati gaasikromatograafia süsteemi GCMS-QP2020 NX (Shimadzu, Kyoto, Japan), mis oli ühendatud autosampleri AOC-6000 Plus, mass-spektromeetri (QP2020NX *Single Quadrupole*) ja GC nuusutusotsikuga PHASER-L (GL Sciences B.V.). Kolonnina kasutati mittepolaarset kolonni ZB5-MS (pikkus 30 m \times diameeter 0.25 mm \times stationaarse faasi paksus 1.0 μm ; Phenomenex, Torrance, CA, USA), kandegaasiks oli helium, mis liikus lineaarsel kiirusel 35 cm/sekundis. Kasutati paralleelset süsteemi, kus 5% läks gaasikromatograafia massspektomeetriasse ja nuusutamise torusse 95%. Ahju temperatuur oli programmeeritud tõusma lineaarselt alates 35 °C kuni 280 °C, kogu tööaeg oli 17 minutit. Massispektrid saadi 1,2 kV ionisatsioonienergia juures ja m/z ioniide otsimisvahemik oli 35st kuni 300ni.

Lenduvate ühendite tuvastamiseks kasutati GC-MS tarkvara GCMSsolution 4.53 (Shimadzu, Jaapan) ja retentsiooniindekseid (RI). Retentsiooniindeksid arvutati kasutades vastavaid n-alkaanide retentsiooniaegu. Ühendid leiti kasutades assessorite kirjeldusi ning võrreldes nende retentsiooniaegu NIST17 ja FFNSC4.0 raamatukogudega kui ka internetis elevate andmebaasidega. Andmebaasideks oli flavournet.org, thegoodscentscompany.com, vcf-online.nl ja pherobase.com.

GC-O analüüsил osales viis koolitatud hindajat. Eelnev lõhnatreening aitas assessoritel täpsemalt hinnata kolonnist väljuvaid lõhnu ning kirjeldada neid õigete ning ühetaolistele kirjeldustega. Osalejad pidid kirjeldama koheselt lõhnu, kui need kolonnist väljusid ning hindama neid kolme palli skaalal: nõrk hindega „1,” keskmine hindega „2” ja tugev hindega „3.” Proovide rohkuse tõttu hindasid assessorid proove ühes paralleelis.

2.5 Andmeanalüüs

GC-O lõhnaintensiivsused arvutati kasutades modifitseeritud sageduse (*modified frequency* - MF) valemit:

$$MF(\%) = \sqrt{F(\%) * I(\%)}$$

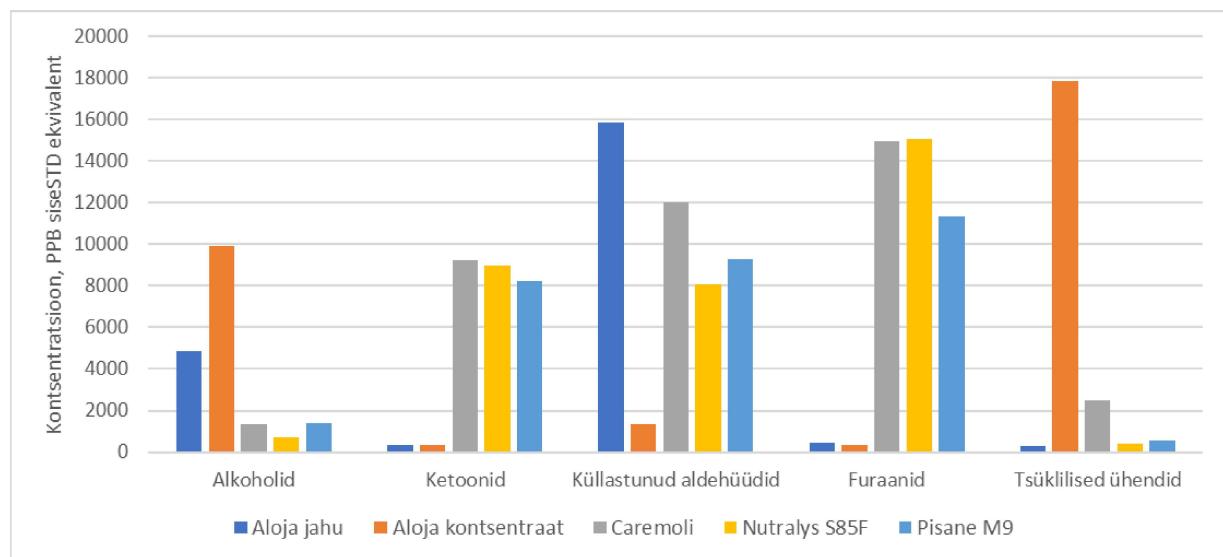
Vastav valem on kombinatsioon intensiivsusest ja inimeste arvust. F (%) on detekteerimiste tihedus jagatud maksimaalse detekteerimise arvuga. Maksimaalne detekteerimise arv oli viis, sest osales viis erinevat assessorit. I (%) on lõhnaintensiivsuste summa jagatud maksimaalse võimaliku intensiivsuse summaga. Maksimaalne võimalik summa oli selles töös 15, sest 5 assessorit sai maksimaalselt tugevaks hindeks panna „3.“ Andmeanalüüs viidi läbi programmis Excel. Võtmeühenditeks loeti ühendeid, mille MF(%) väärthus oli vähemalt ühel hernevalgupulbril võrdne või kõrgem kui 33%.

GC-MS tulemused analüüsiti kolmes paralleelis. Kõikide ühendite koguste põhjal leiti statistiline keskmene, standardhälve ja suhteline standardhälve. Samuti kasutati GC-MS tulemuste paremaks esitamiseks ja analüüsiks peakomponentide analüüsi (PCA). PCA mudeli arvutamine ja visualiseerimine on teostatud R 4.1.2 tarkvaras (The R Foundation for Statistical Computing, Viin, Austria). GC-O ja sensoorika tulemuste võrdlemiseks kasutati statistilist meetodit - osaliselt väikseimate ruutude regressiooni (PLSR). PLSR mudelite visualiseerimine ning arvutamine teostati samuti R 4.1.2 tarkvaras; pistikprogrammiga „pls“ 2.8-0.S.

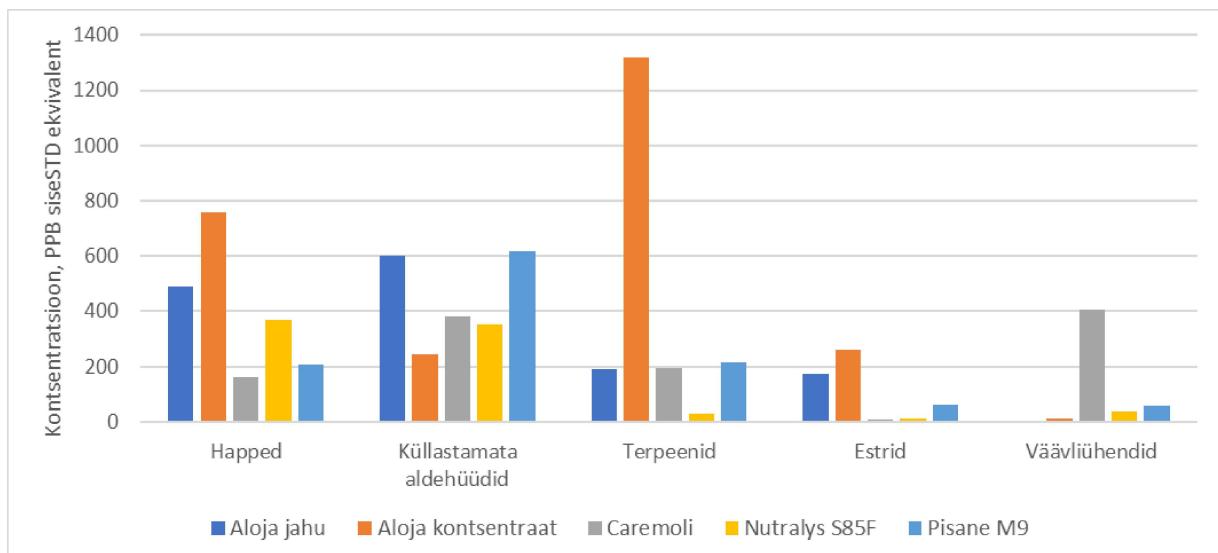
3 TULEMUSED

3.1 GC-MS analüüs tulemused

Erinevates hernevalgupulbrites leiti gaas-kromatograafia mass-spektromeetria abil üle 130 ühendi, mis on välja toodud lisas 1. GC-MS meetodi abil leiti 36 aldehyüdi, millest küllastunud aldehyüde oli 22, küllastumata aldehyüde 10 ning polüküllastumata aldehyüde neli. Ketoone ja alkohole leiti mölemaid 20, happeid oli seitse ja furaane ning väävliühendeid oli mölemaid neli. Leiti 10 estrit, samuti oli terpeene ja terpenoide kokku 10. Lisaks oli aromaatseid/tsüklilisi ühendeid 20. Erinevaid pürasiine leiti kokku 8. Kõrgemates kontsentratsioonides esinevate ühendite aineklassid on välja toodud joonisel 3. ja madalamates kontsentratsioonides esinevate ühendite aineklassid on välja toodud joonisel 4.



Joonis 3. Kõrgemates kontsentratsioonides esinevate ühendite aineklassid hernepulbrites



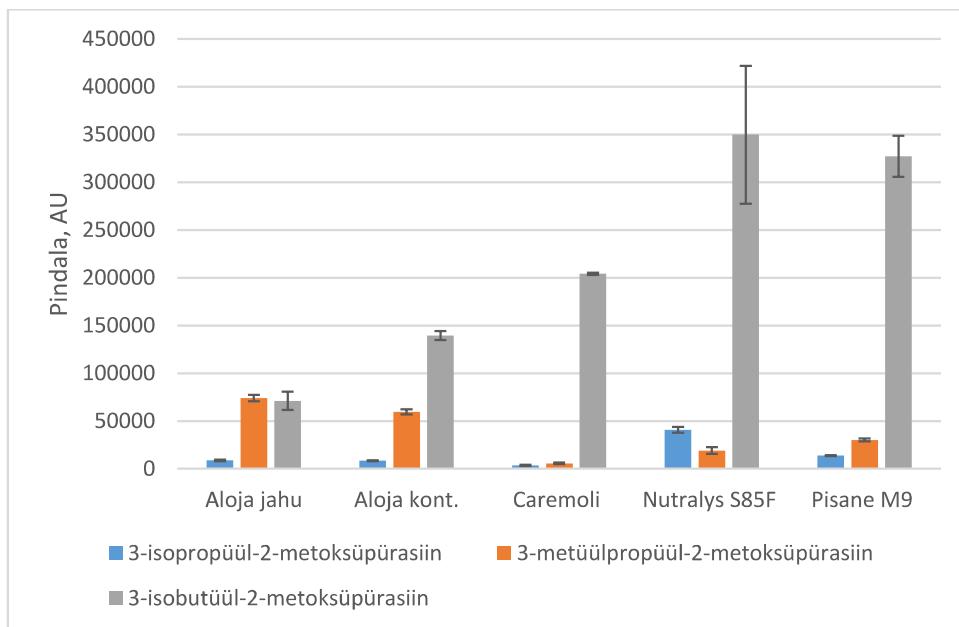
Joonis 4. Madalamates kontsentratsioonides esinevate ühendite aineklassid hernepulbrites

Aldehyüdid tekivad rasvhapete oksüdatatsioonist, näiteks heksanaal peamiselt linoolhappest ning nonanaal peamiselt oleinhappest. Aloja toodetel on erinev aldehyüdide profiil võrreldes isolaatidega. Seal on suur osakaal pikemaid kui C12 aldehyüde. Caremolis, Nutralysis ning Pisanes on enamasti aga C4-C10 aldehyüdid, millel võib olla seos kindlate rasvhapetega. Aloja kontsentaadil oli küllastunud aldehyüdide kogus kõige väiksem. Madala sisaldusega aldehyüdid olid näiteks heksanaal, nonanaal, oktanaal ja benseenatseetaldehyüs. Seetõttu saab järel dada, et heksanaal muutus pikema töötlusprotessi mõjul alkoholi dehüdrogenaasi käigus heksanooliks, mida oli kontsentaadis palju (Genovese et al., 2021). Heksanooli ja nonanooli tõttu oligi alkohole kõige rohkem Aloja toodetes. Kolmel isolaadil oli kõrge ketoonide sisaldus, mis tuli peamiselt tänu erinevatele 2-ketoonidele. Näiteks 2-heptanoon, 2-oktanoon, 2-nonanoon ja 2-dekanoon. On leitud, et heksanaal võib edasi reageerida ja toota alkaan-2-oone, näiteks 2-heksanooni, mille käigus heksanaali enda kontsentratsioon väheneb (Grebenteuch et al., 2021). Samuti oli isolaatides kõrge furaanisisaldus, mida mõjutas kõige rohkem 2-pentülfuraan ja 2-etülfuraan. Furaanid on peamiselt Maillard'i reaktsioniproduktid (Imacher et al., 2008). Aloja kontsentaadis oli aga võrreldes teiste toodetega kõrge aromaatsete ühendite sisaldus, tulenevalt peamiselt tolueeni sisaldusest.

Põhilised happed olid äädikhape, heksaanhape ja nonaanhape. Tugev seos oli vastavate hapete estrite ja alkoholidega. Proovides, kus oli palju heksaanhapet, oli kõrge 1-heksanooli sisaldus ning samuti kõrge heksaanhappe metüülestrite sisaldus. Vastavalt ka nonaanhappe, tema metüülestri kui ka 1-nonanoliga. Seega oli mõlemas Aloja proovides kõige rohkem nii alkohole, happeid kui ka estreid. Aloja kontsentaadil oli üldine väga suur terpeenide sisaldus, samuti oli tal kõrgeim D-Limoneeni sisaldus, mis oli ainus terpeen, mida tuvastati sensoorselt. Kõrge väävlisisalduse andis Caremoli proovile metaantiool. Metaantiool on aminohappe metioniini või selle Streckeri lagunemissaaduse metionaali tundud lagunemissaadus (Yeretzian et al., 2017). Aloja kontsentaadil oli üldine väga suur terpeenide sisaldus, samuti oli tal kõrgeim D-Limoneeni sisaldus, mis oli ainus terpeen, mida tuvastati sensoorselt.

Metoksüpürasiinid põhjustavad iseloomulikku "herne", "mulla", "kuivade ubade" lõhna herne baasides. Metoksüpürasiinidel on madal tuvastamispiir (ppt), seetõttu isegi madalal kontsentratsioonidel põhjustavad nad tugeva "rohelise" lõhna. Metoksüpürasiinide ppt-kontsentratsioonid on detekteeritavad küll GC-O assessorite abil, aga neid ei ole kõiki võimalik määräta GC-MS SCAN meetodi abil. Just pürasiinide paremaks määramiseks arendati GC-MS MRM meetodikat.

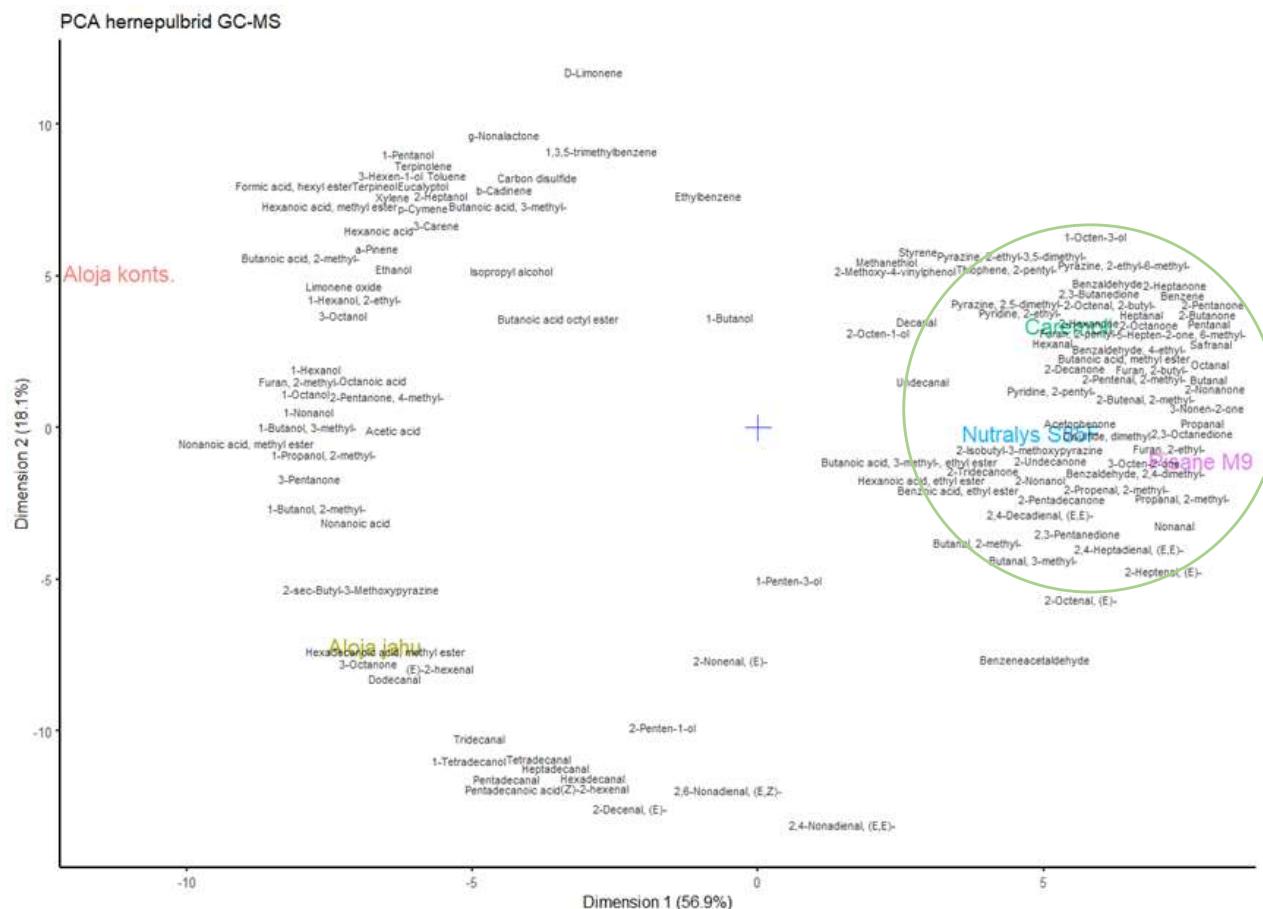
GC-MS MRM meetodi põhjal on 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini (IPMP) kontsentratsioon kõige kõrgem Nutralys S85F ja kõige madalam Caremoli valgupulbris. Kõige rohkem oli 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiini (SBMP) Aloja jahus ja kõige vähem Caremolis. Kõige rohkem oli 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini (IBMP) Nutralys S85F ja kõige vähem Aloja jahus. Graafiliselt on tulemused esitatud joonisel 5. ja piikide pindalad koos standardhälvetega on välja toodud lisas 2.



Joonis 5. Metoksüpürasiinide tuvastamine MRM meetodi abil, AU- *arbitrary units*

Kuigi (IPMP) pürasiini kontsentratsioonid ei ole tavaliselt nii kõrged kui (IBMP), on 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini (IPMP) lõhnalävi väga madal (valges veinis kuni 0.3ng/L) ning iseloomulik värsker herne lõhn on tunda juba väga madalatel kontsentratsioonidel (Hjelmeland et al., 2016).

GC-MS tulemuste põhjal tehtud peakomponentide analüüs põhjal (PCA) tuleb selgesti välja, et kolm isolaati on omavahel sarnased. Kõige sarnasemad on Pisane M9 ja Nutralys S85F, nendest natuke erinev on Caremoli isolaat. Aloja jahu ja kontsentraat erinevad teistest. Nad on küll üksteisest erinevad, aga erinevused on omavahel väiksemad kui isolaatidega. Vastava analüüsiga graafik on leitav joonisel 6.



Joonis 6. GC-MS tulemuste PCA-analüüs.

3.2 GC-O analüüs tulemused

Erinevates hernepulbrites leiti algelt kokku 62 ühendit. Nendest on tabelis 2 toodud välja ühendid, mille modifitseeritud sageduse (MF%) väärthus on võrdne või suurem kui 33%. Modifitseeritud sagedus näitab ühendi olulisust 0-100% skaalal. Roheliseks on tehtud tulemused, mille MF% > 55%. Tabelis 2 on esitatud lisaks tuvastatud ühenditele nende retentsiooniajad kui ka vastavad lõhnakirjeldused. Samuti on lisatud intensiivsused, mis on arvutatud modifitseeritud sageduse põhjal ning mille maksimaalne väärthus saab olla 100%. GC-MS tulemuste abil tuvastatud olulisemad ühendid on toodud paksemas kirjas. Eeldatava ühendi puhul on sobiv ühend leitud kas kirjandusest või on leitud ühendi piik GC-MS tulemusi vastavate ioonidega uurides, aga kogused pole sisestandardi ekvivalendis väljendatavad. Ühend on märgitud kui tuvastamata, kui assessorid tundsid lõhna kõrge sageduse ja intensiivsusega, aga GC-MS tulemustest ega kirjandusest lõhnakirjelduste järgi ei olnud võimalik ühendit identifitseerida. Eeldatava ühendi puhul on sobiv ühend leitud, kas kirjandusest või on leitud ühendi piik GC-MS tulemusi vastavate ioonidega uurides, aga kogusi pole sisestandardiga ekvivalendis väljendatud.

Tabel 2. GC-O meetodiga määratud hernebaaside võtmeühendid ja nende lõhnakirjeldused koos retentsiooniaegade- ja indeksitega ning modifitseeritud intensiivsustega

No	RT, min	Ühend	Lõhnakirjeldus	LRI	Aloja jahu	Aloja kont.	Caremoli	Neutralys S85	Pisane M9
1	1.90	Metaantiool	Väävel, roiskunud	<500	0	0	82	0	16
2	4.19	Tolueen	Kummine	774	35	23	0	0	0
3	4.45	Heksanaal	Muru, roheline õun	799	82	57	86	93	86
4	4.67	3-metüülbutaanhape	Juustune	815	45	28	0	65	49
5	4.78	2-metüül-2-pentenaal	Hapu	823	23	0	77	12	28
6	5.07	etüül-3-metüülbutanoaat	Komm, puuvili	843	0	0	12	0	52
7	5.52	Tuvastamata	Köögine, röstine	875	73	82	82	82	68
8	5.89	(Z)-4-heptenaal	Vetikad, halb kartul	901	86	28	61	65	77
9	6.05	Metionaal	Keedukartul	911	67	61	57	65	57
10	6.19	2,5-dimetüülpürasiin	Röstine, kohv	920	0	0	53	23	33
11	6.30	2,3-dimetüülpürasiin	Pähkline	926	0	0	28	33	33
12	7.14	1-okteen-3-ool	Seen	977	93	89	86	89	97
13	7.41	2-oktanoon	Puuvili, värvine	994	0	0	40	23	0
14	7.43	2-pentüülfuraan	Komm, värvine, puuvili	995	0	0	23	23	61
15	7.58	Oktanaal	Pesupulber, tsitrus	1004	40	0	68	73	28
16	8.02	D-limoneen/3-okteen-2-oon	Tsitrus, roheline	1030	28	12	35	40	28
17	8.33	Benseenatsetaldehüüd	Karamell, mesi	1048	12	0	16	0	33
18	8.44	Heptaanhape	Märg lapp, higi	1055	69	77	73	69	57
19	8.62	(E)-2-oktenaal	Rasvane, putukas	1065	61	40	16	35	28
20	8.71	3,5-oktadieen-2-oon	Puuvili, seen	1071	12	12	45	28	73
21	9.05	3-isopropüül-2-metoksüpürasiin	Roheline hernes, värske	1091	86	82	61	82	82
22	9.16	2-Nonanoon	taimne, lill, köögine	1097	37	0	37	0	28
23	9.21	Tuvastamata	Rasvane, kohvine röst	1100	49	45	49	68	45
24	9.63	Maltool	Röstitud suhkur, iiris	1124	61	23	0	0	12
25	9.90	3-nonen-2-oon	Niiske, roheline	1140	12	0	23	28	35
26	10.25	(E,Z)-2,6-nonadienaal	Värske kurk	1161	82	16	57	68	73
27	10.32	(E)-2-nonenaal	Taimne, roheline, kurk	1165	77	73	57	45	40
28	10.40	3-metüülpropyüül-2-metoksüpürasiin	Vöilill, muld, hernene	1170	82	65	61	23	53
29	10.60	3-isobutüül-2-metoksüpürasiin	Paprika, hernes	1181	86	89	93	73	89
30	10.75	2-dekanoon	Siirup, puuvili	1190	0	0	28	45	23
31	11.32	(E,E)-2,4-nonadienaal	Rasvane, taimne	1224	89	86	45	77	82
32	11.67	Tuvastamata	Münt, hapu, taimne	1245	57	23	57	57	40
33	12.27	Tuvastamata	Magus puuvili, lilled, mes	1282	35	0	52	33	23
34	12.99	2-metoksü-4-vinüülfenool	Nelk, terav	1326	28	20	69	82	53
35	12.99	(E,E)-2,4-dekadienaal	Rasvane, taimne	1327	57	40	28	0	33
36	13.39	Dekaanhape	Õietolm, niiske, vöilill	1352	82	28	28	0	23
37	13.80	γ-nonalaktoon	Magus, puuvili	1378	28	45	46	52	28
38	13.94	Tuvastamata	Niiskus, kelder	1387	28	45	40	0	28
39	14.10	β-Damaskenoon	Õunamahl, mesi	1397	61	0	52	16	82

Kõikides hernebaasides esinenud ja nende aroomi tugevalt mõjutanud lõhnaühendid on: heksanaal (muru, rohelise õun), (Z)-4-heptenaal (vetikas, halb kartul), metionaal (kartul), 1-okteen-3-ool (seen), koos elueerunud D-Limoneen (tsitrus) ja 3-okteen-2-oon (roheline, seen), heptaanhape (märg lapp, higi), (E)-2-oktenaal (rasvane, putukas), 3,5-oktadieen-2-oon (puuviljane, seen), 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin (roheline hernes, värske), (E,Z)-2,6-nonadienaal (värske kurk,

putukas), (E)-2-nonenaal (taimne, kurk), 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin (mullane, hernene, paprika), 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin (paprika, hernes), (E,E)-2,4-nonadienaal (rasvane, taimne), 2-metoksü-4-vinüülfenool (nelk, terav) ja γ -nonalaktoon (magus, puuvili). Samuti esines kõikides hernevalgupulbrites kolm ühendit, mida ei suudetud identifisteerida, aga mille kirjeldused olid vastavalt köögine, röstine, rasvane, putukane ning mündine, aniisine.

Eelnimetatud ühenditest, mis esinesid kõigis viies hernepulbris, olid kõige kõrgema esinemissageduse ja intensiivsusega ühendid järgnevad: heksanaal, (Z)-4-heptenaal, 1-okteen-3-ool, 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin, (E,Z)-2,6-nonadienaal, 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin ja (E,E)-2,4-nonadienaal. Seega olid kõige domineerivamad lõhnakirjeldused: muru, halb kartul, seen, värske, roheline hernes, kurk, paprika ning rasvane ja taimne.

Aloja jahus hinnati teiste ühenditega võrreldes kõrgemate väärustega järgmisi ühendeid: kummise aroomiga tolueen, rasvase lõhnaga (E)-2-oktenaal, röstitud suhkru ja iiriise lõhnaga maltool, rasvase lõhnaga (E,E)-2,4-dekadienaal, õietolmu nootidega dekaanhape. Samuti kõikides proovides esinenud ühenditele nagu 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin (värske, hernes), (E,Z)-2,6-nonadienaal (värske kurk), (E)-2-nonenaal (taimne, roheline, kurk), 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin (paprika, hernes) anti Aloja jahus kõrgeimad hinnangud. Domineerivaks olid värsked rohelised noodid.

Aloja kontsentraat oli GC-O tulemuste põhjal kõige madalam ja nõrgema lõhnaprofiiliga. Seda nii ühendite rohkusest kui ka intensiivsusest. 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini (IPMP) ja 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiini (SBMP) intensiivsus oli kontsentaadis natukene madalam kui jahus ning 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini (IBMP) intensiivsus natuke kõrgem kui jahus. Seda toetavad ka GC-MS tulemused. Samuti iseloomustas kontsentaati peaagu sama suur (E)-2-nonenaal ja (E,E)-2,4-nonadienaal kogus kui jahus. Domineerivaks olid värsked rohelised noodid.

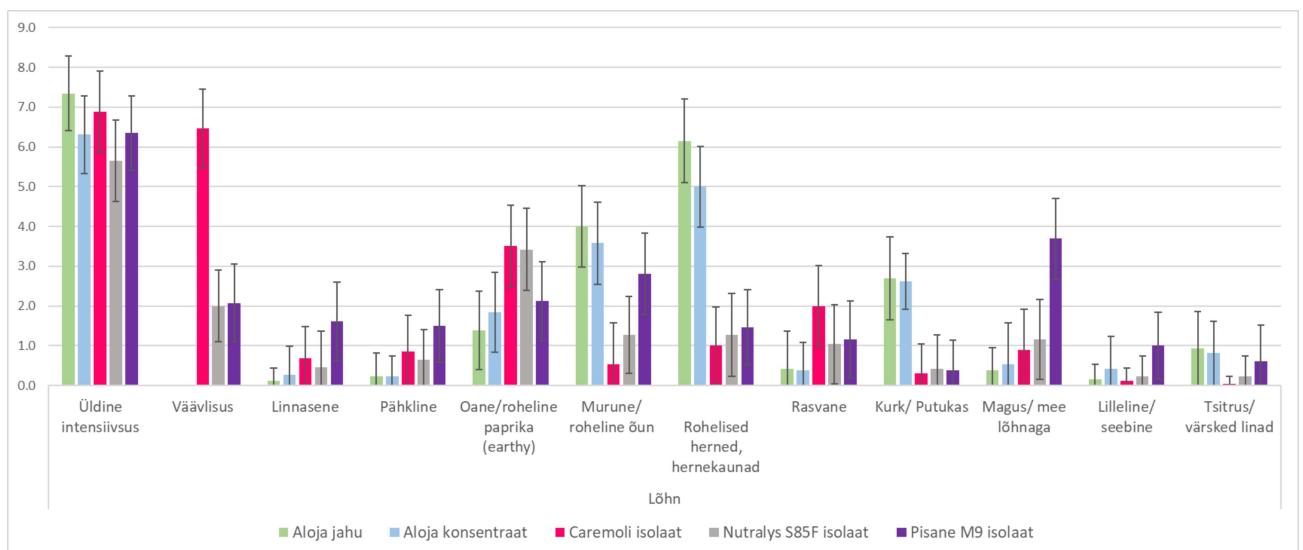
Caremoli herneisolaati iseloomustasid järgnevad ühendid: väga tugev väävliselt lõhnava metaantiooli, hapu lõhnaga 2-metüül-2-pentenaal, märja lapi lõhnaga heptaanhape, röstise lõhnaga 2,5-dimetüülpürasiin ning nelgise aroomiga 2-metoksü-4-vinüülfenool. Caremolis oli peaegu kaks korda väiksem rasvaselt ja taimselt lõhnava (E,E)-2,4-nonadienaali intensiivsus kui Aloja baaside. Metaantiooli MF% = 86% oli kindlasti suurimaks Caremolil lõhnaprofiili mõjutajaks.

Nutralys S85F herneisolaati iseloomustasid ühendid: juustune 3-metüübuthaanhape, tsitruse lõhnaline oktanaal, nelgi ja terava lõhnaga 2-metoksü-4-vinüülfenool ja magusa puuviljase lõhnaga γ -nonalaktoon. Samuti olid antud proovis kõrge mullase ja paprikalise lõhnaga 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini hinne. Üldiselt sarnanes profiil rohkem Caremolilie ja Pisanele, mis olid samuti isolaadid ning erines Aloja toodetest- jahust ja kontsentaadist. Samuti olid kõrge mullase ja paprikalise lõhnaga pürasiini hinne.

Pisane M9 herneisolaati iseloomustasid järgmised ühendid: kommise ja puuviljase lõhnaga etüül-3-metüübutoanoaat ja 2-pentüülfuraan. Puuviljase ja seenese aroomiga 3,5-oktadieen-2-oon ning öunamahlase ja mee lõhnaga β -damaskenoon ja benseenatsetaldehüüd. Domineerivaks olid palju puuviljasemad noodid kui teistel hernepulbritel.

3.3 Sensoorne analüüs ja seosed instrumentaalanalüüsiga

Erinevate hernevalgupulbrite kirjeldamiseks teostati sensoorne analüüs, mille lõhnparameetrite tulemused on toodud joonisel 7. Tooted olid lõhna üldise intensiivuse poolest pigem sarnased. Enamik intensiivsusit hinnati 6-7 vahele 10-palli skaalal. Kõige kõrgema üldise intensiivsusega oli Aloja jahu ja kõike madalamäma intensiivsusega Nutralys S85F. Tunduvalt kõige väävlisem oli Caremoli hernevalk, natuke oli väävlisust tunda ka Pisane ja Nutralys S85F puhul. Linnasus, pähklisus ja lillelisus olid madalalt hinnatud parameetrid, aga Pisane puhul hinnati neid parameetreid kõige kõrgemateks. Pisane puhul eristus tugevalt ja oli kõrgelt hinnatud mee lõhn, seda oli ka natuke nii Nutralysis kui Caremolis. Kõige värskemad pulbrid olid Aloja jahu ja kontsentraat: need olid nii kõige murusemad/õunasemad kui kõige rohkem värsked herne moodi. Samuti olid need kõige kurgisemad ning neis oli kõige rohkem tsitrusele omaseid noote. Oa, mulla ja paprika noote leidus kõige rohkem Caremolis ja Nutralysis. Caremoli oli vastavalt ka kõige rasvasem. Aloja pulbrid ei olnud rasvased ega mullased, Pisanes oli oaseid/mullaseid ning rasvaseid noote hinnatud keskmiselt. Keskmised väwärtused ning standardhälved kõikide lõhnparameetrite kohta on välja toodud lisas 3.

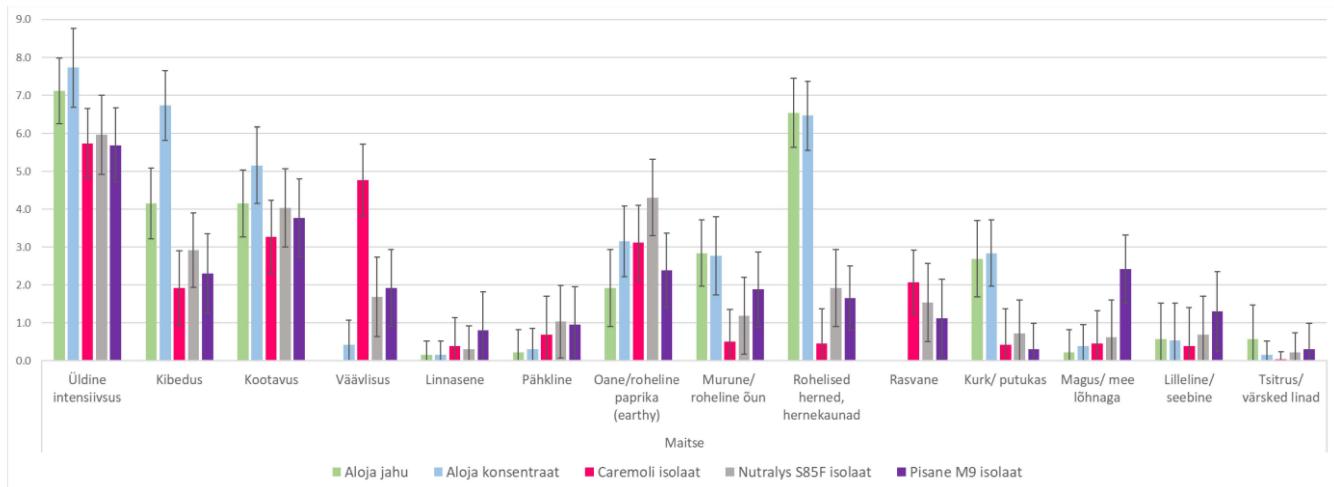


Joonis 7. Sensoorse hindamise lõhnaatribuudid ja tulemused

Sensoorse hindamise tulemused maitse atribuutidele on esitatud joonisel 8. Maitses oli kõige kõrgema üldise intensiivsusega Aloja kontsentraat, mis arvatavasti tulenes väga kõrgetest kibeduse ning kootavuse hinnetest. Aloja jahul ja kontsentraadil olid kõrged sarnased atribuudid: murune, roheliste hernekaunte ja kurgine maitse. Kontsentraadil oli kõrgem oase/rohelise paprika hinne. Tsitrus hinnati väga minimaalselt, aga Aloja jahu oli hernepulbritest kõige tsitruselisem. Aloja jahul oli madalam kibedus ja kootavus kui kontsentraadil.

Caremoli üldine maitseprofiil oli üpris ühekülgne. Kõige kõrgemalt hinnati väävlisust, samuti oli proov kõige rasvasem. Proovil oli natuke oaseid ning mullaseid noote. Nutralys oli keskmise üldise intensiivsusega. Ta oli keskmise kibeduse ja kootavusega. Hernepulber oli kõige oasem ja mullasem. Leidus teatavat pähklisust, rasvasust ja veidi väävlisust.

Pisane M9 hernevalguisolaat oli kõige meesem, lillelisem ja linnaselisem. Ta oli keskmiselt muruse/rohelise õuna lõhnaga. Samuti oli temas keskmiselt või pigem vähe nii oaseid kui herneseid noote. Oli tunda teatavat väävlisust. Kõikidest hernepulbritrest oli Pisanes kõige vähem tunda kurgist/putukalist maitset. Proov oli keskmise kootavuse ning kibedusega. Keskmised väärtsused ning standardhälved kõikide maitseparameetrite kohta on välja toodud lisas 3.



Joonis 8. Sensoorse hindamise maitseatribuudid ja tulemused

Sensoorsete tulemuste põhjal on lõhnas kõige kõrgema üldise intensiivsusega Aloja jahu. GC-MS tulemuste järgi oli just Aloja jahus kõige rohkem aldehüüde, mis üldiselt lõhnavad kõige tugevamalt. GC-O tulemustes oli Aloja jahu palju tugevama lõhnaprofiiliga kui Aloja kontsentraat.

Caremoli hernevalgupulber hinnati sensoorselt kõige väävlisemaks ning samuti kõige mullasemaks/paprikalisemaks. Caremoli isoladi omase väävlise lõhna andis metaantiool, mida hinnati GC-O MF% = 82%. Vastavalt oli MS tulemustes Caremoli hernepulbris metaantiooli keskmiselt 161 ppb-d. Teistes hernepulbrites ei ületanud kontsentratsioon 4ppb-d. Pisanes oli võrreldes teiste toodetega (v.a Caremoli) kõige rohkem metaantiooli ning see oli ainuke proov, kus lisaks Caremoli proovile tunti väävlist lõhna ka GC-Os. Mullasust/paprikalisust andis 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin, mida oli GC-MS tulemuste põhjal kolmest metoksüpürasiinist kõige rohkem. GC-MS tulemused, sensoorika tulemused kui ka GC-O tulemused näitasid kõik, et Caremoli hernekontsentraadis on kõikidest hernepulbritest kõige vähem ning madalaima intensiivsusega esimest pürasiini ehk 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini. Seetõttu on sensoorselt värske herne lõhn sellel valgupulbril kõige madalam.

GC-O kui ka GC-MS tulemustes oli heksanaali palju ja kõrge intensiivsusega kõigis hernepulbrites. Sensoorselt hinnati murust ja rohelise õuna parameetrit kõige kõrgemaks Aloja jahus, Aloja kontsentraadi ja Pisanes. Sensoorset hindamist sai mõjutada mitu asja ning siin paar näidet: tugev väävlilõhn Caremolis mattis muruse heksanaali lõhna ja seda ei olnud tunda; Aloja kontsentraadi madal võtmeühendite intensiivsus võimaldas heksanaali murust/õunast lõhna kergemini tunda; Aloja jahu ja kontsentraadi kurgise lõhnaga ühendid suurendasid heksanaali intensiivsust või seostusid assessoritele kurgise lõhna asemel murusena.

β -Damaskenooni kõrge intensiivsus GC-O tulemustes ja heksanaali kõrge intensiivsus nii GC-MS kui ka GC-O tulemustes põhjendab Pisane herneisolaadile omast tugeva mee ja keskmise rohelise õuna intensiivsust sensoorselt.

Paprika, mullase ja oase lõhnaga 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini oli kõige vähem Aloja toodetes. Seda toetab senoorne hindamine, kus nii jahu kui ka kontsentraat olid madalate mullaste, oaste hinnetega ning kõrgete värskete taimsete kui ka putukaste/kurgiste lõhnade ja maitsetega. Nii GC-O kui ka senoorika põhjal oli Aloja kontsentraat natuke vähem värske hernene kui Aloja jahu ja natuke rohkem oane/paprikane ehk seal oli rohkem kolmandat metoksüpürasiini kui jahus. Kolmandat metokspürasiini ehk 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini oli GC-MS tulemuste põhjal kõige rohkem Nutralys S85F isolaadis. Proovi oane/paprikane maitse ja lõhn tulid sensoorselt väga hästi välja.

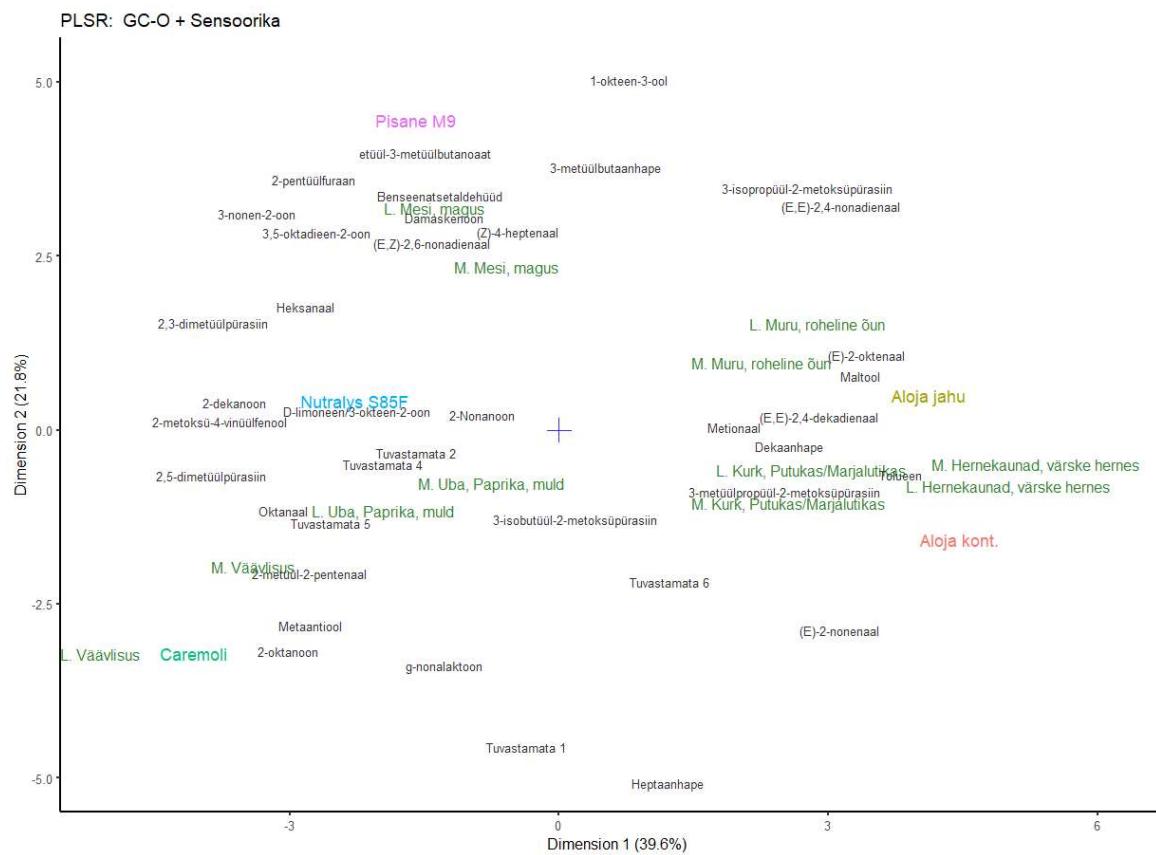
Aloja jahu hinnati kõige kurgisemaks, millele vastab GC-O tulemuste põhjal kõrge (E,Z)-2,6-nonadienalaal ja (E)-2-nonenaal MF% hinne. Samuti (E,E)-2,4-nonadienalaal ja (E,E)-2,4-dekadienalaal sisaldus, mis olenevalt kontsentratsioonidest võivad anda, kas rasvaseid või kurgiseid/taimseid noote. Samuti võisid samad küllastunud ja polüküllastunud ühendid tugevalt mõjutada sensoorsel hindamisel rasvasuse parameetrit, sest just GC-O nuusutamisel hinnati neid ühendeid nii taimse kui ka rasvasena.

Isolaate iseloomustas kõrge 2-pentüülfuraani kontsentratsioon, mida Aloja jahus ja kontsentraadis ei olnud. Vastava furaani kommist ja värvist lõhna tunti GC-Os ainult isolaatide puhul.

Kokuvõtvat regressiooni analüüs (PLSR) on võimalik vaadata joonisel 9. Sensoorselt nii **Pisane M9** isolaadi lõhnas kui maitses tuvastatud kõrge **mee ja magus lõhn** läks kokku GC-O ühenditega: **damaskenoon, benseenatseetaldehüüd**, etüül-3-metüülbutanoaat, 2-pentüülfuraan.

Lõhnas ja maitses **oaselt, paprikaliselt ja mullaselt kirjeldatud Nutralys S85F** läks GC-O kui ka GC-MS tulemustes kokku **3-isobutüül-2-metoksüpürasiiniga**. Sensoorselt **väävlisenä** hinnatud **Caremoli** seostus **metaantiooliga**.

Aloja tooted olid sensoorselt omavahel sarnasemad: lõhnas ja maitses **kurgised, värsked, hernedes, taimsed**. GC-O tulemuste põhjal läks Aloja kontsentraadi senoorne kirjeldus kokku järgmiste ühenditega: (E)-2-nonenaal ja 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin. Aloja jahus vastavalt 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin ja (E,E)-2,4-nonadienalaal.



Joonis 9. GC-O ja sensoorse hindamise tulemuste analüs PLSR-analüsiga (mustad – GC-O tulemused, rohelised – sensoorsed atribuudid)

4 ARUTELU

Käesolevas töös tuvastatud olulised ühendid olid võrreldavad varasemate uurimistöödega. Heksanaal, (E,E)-2,4-nonadienaal ja (E)-2-oktenaal, (E)-2-nonenaal ja 2-pentüülfuraan on ka varasemalt tuvastatud herne oluliste lõhnauhenditena (Utz et al., 2022, Trikusuma et al., 2020, Fischer et al., 2022). Lõputöös leitud metoksüpärasiinidest on 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin ja on varasemalt välja toodud kui oluline ühend herne aroomiprofiili panustamisel (Trikusuma et al., 2020, Utz et al., 2022). 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin ja 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin on oluliste ühenditega peamiselt märgitud veinisorte uurivates artiklites (Sidhu et al., 2015; Hjelmeland et al., 2016; Augustyn et al., 1982)

β -Damaskenooni ja metaantiooli ei ole varasemalt hernetoodete oluliste aroomiühenditena märgitud. Oma töös tuvastasime need oluliste lõhnamolekulidena konkreetsetes uuritavates proovides, β -Damaskenoon vastavalt Pisane M9 proovis andes mesiseid noote ja metaantiool Caremoli proovis põhjustades vävliseid/munaseid noote.

Taimsete karotenoidide kooseissu kuuluva neoksantiini lagunemine viib esmalt rohutirtsu ketoonini. Rohutirtsu ketooni redutseerumine, millele järgneb happeline hüdrolüs, viib lõpuks β -damaskenooni tekkeni. (Belitz et al., 2009) Seda ühendit iseloomustab väga madal maitselävi vees (20–90 ng/l) ja seda leidub looduslikult laagerdunud ölles kontsentratsioonis kuni 210 μ g/l (De Schutter et al., 2009). Madala kontsentratsiooni tõttu polnud võimalik GC-MS SCAN meetodiga β -damaskenooni tuvastada ning tänu väga madalale lõhnalävele tunti seda nii GC-O kui ka sensoorse analüüsiga käigus. Seetõttu tuleks tulevasteks katsetes kasutada GC-MS MRM meetodit β -damaskenooni tuvastamiseks. Karotenoide, sealhulgas neoksantiini, on varasemalt hernes tuvastatud Edelenbos et al., (2001) uurimuses. Metaantiool on aminohappe metioniini või selle Streckeri reaktsiooni lagunemissaaduse metionaali tundud lagunemissaadus (Yeretzian et al., 2017).

Käesolevas uurimistöös leitud tulemused näitavad metoksüpürasiinide ja erinevate küllastunud (heksanaal, oktanaal) kui ka küllastumata aldehyüdide ((E,Z)-2,6-nonadienaal, (E)-2-nonenaal jne) olulisust. Need molekulide gruppid on ka tarbijale mittemeeddiva hernese ning taimse lõhna ning maitse peamisteks põhjustajateks.

Üldiselt oli nii GC-O kui ka GC-MS tulemuste põhjal hernebaasidel suur kogus samu ühendeid. Näiteks tugeva hernese lõhnaga 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin esines kõigis viies baasis. Kõikidel uuritud hernebaasidel olid aga iseloomulikud sensoorsed omadused, mis tulenesid spetsiifilistest aroomimolekulidest. Caremoli isolaati hinnati sensoorselt vävliseks ning sellele vastas vävlise lõhnaga lenduv ühend metaantiool. Pisane puuviljase ja õunase aroomi põhjustasid beeta-damaskenoon ja heksanaal. Nutralys S85F mullase lõhnaga läks kokku kõrge 3-isobutüül-2-metoksüpürasiini kogus. Värske herne ja kurgise lõhnaga Aloja kontsentraadi ja jahu peamisteks ühenditeks oli vastavalt (E)-2-nonenaal ja 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin ning jahu puhul 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin ja (E,E)-2,4-nonadienaal. Samuti olid Aloja baasid kõige kibedamat, mida võis põhjustada kõrge mittelenduvate ja kibedate ühendite nt. saponiinide olemasolu. Mittelenduvaid ühendeid uurimistöös ei uuritud.

Teostatud analüüsides näitavad, et hernebaasidel (jahudel, kontsentraatidel ning isolaatidel) on väga erinev lõhna- ja maitseprofiil. Uurimistöös leiti, et kolm isolaati (Caremoli, Pisane ja Nutralys) olid omavahel sarnased ning erinesid jahust ja kontsentraadist. Aloja jahu ja kontsentraat olid omavahel rohkem sarnased, kuigi tegemist oli erinevate tootmistehnoloogiatega. Sama tootja puhul kasutati ka sama toorainet- Baltimaades kasvatatud hernest. Nendel erinevustel võib olla seos tootmisprotesside intensiivsusega ning kasutatava tooraineega.

Antud uurimistöö annab informatsiooni oluliste aroomiühendite kohta hernebaasides, mis tekitavad intensiivset hernest lõhna ning maitset, mis mõjutavad toodete sensoorset profiili. Need teadmised aitavad välja töötada parema senoorse profiliiga piima- ja lihaalternatiive. Teades kõrvallõhna- ja maitset tekitavaid ühendeid, saab nende mõju vähendada fermenteerimise, maitselisandite, ensümaatilise töötlemise või maskeerivate ühenditega. Saab hakata arendama ja tootma maskeerijad ning edasi uurida, mis ühendid blokeeriks neid ebameeldivaid omadusi. See annab võimaluse toota näiteks paremaid uusi jogurti ja pudingu taimseid alternatiive.

Järgnevates uurimistöödes saab kasutada antud töös leitud informatsiooni, näiteks hernele omase lõhna vähendamise ehk maskeerimiskatsete käigus. Täiendavalt oleks vaja võrrelda erinevate tootmisetappide mõju herne aroomiühenditele, selleks saaks laboris ise isolaate toota. See annaks võimaluse uurida, kuidas näiteks temperatuur ja pH mõjutavad lenduvaid ühendeid. Samuti saab täiendavalt uurida erinevate aroomiühendite tekkmehhanisme ja neid iseloomustada. Fermenteerimine aitab tihti saavutada toote soovitud maitse- ja happeprofiili ning tekstuuri. Seetõttu vajaks täiendavat uurimist veel fermentatsiooni mõju hernese lõhnaga metoksüpürasiinidele. Võimalus on, et fermentatsioon vähendab metoksüpürasiinide intensiivsust või kogust ning sellest tulenevalt paraneks ka taimsete analoogide senoorne profiil. See informatsioon aitaks hernest tootearenduses rohkem rakendada.

Uurimistöö uurimisküsimustele leiti vastused:

- Köikides hernebaasides esinevad **olulisemad** aroomiühendid, mis tuvastati nii GC-MS kui ka GC-O meetodiga või ainult GC-O meetodiga on: heksanaal, (Z)-4-heptenaal, metionaal, 1-okteen-3-ool, oktanaal, (E)-2-oktenaal, 3-isopropüül-2-metoksüpürasiin, (E,Z)-2,6-nonadienaal, (E)-2-nonenaal, 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin, 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin, (E,E)-2,4-nonadienaal, 2-metoksü-4-vinüülfenool ja gamma-nonalaktoon.
- Hernebaasidel olid sarnased senoorsed omadused, milltel oli seos eelnevalt toodud kattuvate aroomiühenditega. Lisaks sellele leiti senoorse analüüsi käigus erinevusi. Aloja jahu ning kontsentraat olid värskema hernese kui ka kurgisema lõhnaga. Samuti olid need maitses kibedamat. Caremoli isolaat oli väävline ja munane, mis tulenes esmakordelt tuvastatud võtmeühendist metaantiool. Pisane M9 isolaat oli senoorselt puuviljase, õunase ja meese noodiga ja olulist rolli mängis selles esmakordelt herne võtmekomponendina tuvastatud β -Damaskenoon. Nutralysi isolaat oli senoorselt kõige mullasem.

KOKKUVÕTE

Hernest valmistatud pulbreid kasutatakse üha enam taimsete analoogide valmistamiseks, aga tihti on takistavaks probleemiks hernele omane lõhn, mis mõjutab negatiivselt meeldivust tarbijate. Täpsemad teadmised aroomiprofiilidest võimaldavad uurida, kuidas toidu koostis mõjutab toidu sensoorselt tajutavaid omadusi ning annavad informatsiooni aroomi ning maitse optimeerimise lihtsustamiseks.

Antud töö eesmärgiks oli kirjeldada erinevate hernebaaside (jahude, kontsentraatide ning isolaatide) aroomiprofiile nii instrumentaalselt kui sensoorselt, kasutades selleks GC/MS-O meetodit ja sensoorset analüüsni ning leida, millised ühendid hernepulbrites on sensoorselt kõige olulisemad.

Analüüs tulemusel leiti üle saja lenuva ühendi. Sama toorainega Aloja tooted olid pigem värskemad, hernesemad ning kurgisemad. Need noodid andsid hernepulbritele (E,Z)-2,6-nonadienaal ja (E)-2-nonenaal. Samuti võis seda toetada keskmne kogus 3-isopropüül-2-metoksüpürasiini, mille madala lõhnaläve tõttu on värsket herne lõhna tootes kerge tunda, lisaks veel (E,E)-2,4-nonadienaal ja 3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin.

Pisanele oli erinevalt teistest hernevalgupulbritest palju puuviljasema ning mee lõhnaga. Need noodid andsid isolaadile peamiselt β -Damaskenoon. Lisaks võisisid puuviljast ja kommist nooti anda benseenatseetaldehüüd, etüül-3-metüülbutanoaat, 2-pentüülfuraan ning 3,5-oktadieen-2-oon.

Nutralys S85F valguisolaati kirjeldati oa, paprika ning mulla lõhnaga. Neid noote tekitas valgupulbris väga kõrge sisaldusega 3-isobutüül-2-metoksüpürasiin. Nutralysi kirjeldasid ka GC-O tulemuste põhjal värske tsitruselise lõhnaga oktanaal ja nelgise lõhnaga 2-metoksü-4-vinüülfenool. Caremolile omase vävlise lõhna andis ühend metaantiool.

Lisaks eelnimetatutele ühenditele leidus kõigis hernevalgupulbrites: heksanaali (muru, roheline õun), (Z)-4-heptenaali (vetikas, halb kartul), metionaali (kartul), 1-okteen-3-ooli (seen), koos elueerunud D-Limoneeni (tsitrus) ja 3-okteen-2-ooni (roheline, seen), heptaanhapet (märg lapp, higi), (E)-2-oktenaali (rasvane, putukas), 3,5-oktadieen-2-ooni (puuviljane, seen), (E,E)-2,4-nonadienaali (rasvane, taimne), 2-metoksü-4-vinüülfenooli (nelk, terav) ja γ -nonalaktooni (magus, puuvili).

Taimsete baaside lõhna ja maitse parandamiseks tuleb leida võimalusi vastutavate lenduvate ühendite vähendamiseks või varjamiseks. Optimaalseteks lahendusteks on nii tehnoloogilised protsessid kui ka maskeerimine. Ebameeldiva lõhna optimeerimiseks saab muuta toorainet, tootmisprotessi (sealhulgas fermentatsiooni) või kasutada erinevaid kommertsiaalseid maskeerijaid. Uurimistöös leitud informatsiooni on võimalik praktikasse rakendada tootearenduses taimsete piima- ja lihaanalooogide tootmisel ning antud uurimistööst saadud teave on sisendiks edaspidistes uurimustes.

ABSTRACT

Powdered peas (flours, concentrates, and isolates) are increasingly being used in plant analogs, but the characteristic odor of peas, which is not preferred by the consumer, is often a problem. Advanced knowledge about aroma profiles gives a better understanding how food ingredients affect sensory properties and give information how to optimize aroma and taste in different foods.

This work aimed to describe the aroma profiles of different pea bases (flours and isolates) both instrumentally and sensory, using the GC / MS-O method, sensory analysis and to find out which compounds are the most important for describing the sensory profile.

More than one hundred volatile compounds were found. Aloja flour and Aloja concentrate, which had the same raw material, were rather fresh, pea-like, and with a cucumber-like odor. Compounds (E,Z)-2,6-nonadienal and (E)-2-nonenal were responsible for these odors. It may also have been supported by the average amount of 3-isopropyl-2-methoxypyrazine, which, due to its low odor threshold, is easy to distinguish in the product. In addition, (E,E)-2,4-nonadienal and 3-methylpropyl-2-methoxypyrazine were also present and detected.

Unlike other pea protein powders, Pisane smelled much more fruity and honey-like. Mainly β -Damascenone was responsible for these odor notes. In addition, benzeneacetaldehyde, ethyl 3-methylbutanoate, 2-pentylfuran, and 3,5-octadien-2-one gave a fruity and candy-like odor.

Nutralys S85F odor (that was described as beany, green pepper, and earthy) was associated with high content of 3-isobutyl-2-methoxypyrazine. Nutralys was also described by octanal (citrus odor) and 2-methoxy-4-vinylphenol (clove odor) in GC-O analyses. The methanethiol compound gave a characteristic sulfur odor to Caremoli isolate.

In addition to the above compounds, all pea protein powders contained: hexanal (grass, green apple), (Z)-4-heptenal (seaweed, bad potato), methional (potato), 1-octen-3-ol (mushroom), D-Limonene (citrus) and 3-octen-2-one (green, fungus), heptanoic acid (wet cloth, sweat), (E)-2-octenal (greasy, insect), 3,5-octadien-2-one (fruity, mushroom), (E, E)-2,4-nonadienal (fatty, vegetable), 2-methoxy-4-vinylphenol (clove, sharp) and γ -nonactactone (sweet, fruit).

To improve the odor and taste of plant bases, ways must be found to reduce or mask the responsible volatile compounds. The optimal solutions are both technological processes and masking. The raw material or production process (including fermentation) could be changed or different commercial maskers to optimize the unpleasant odor could be used. The information found in the research can be applied in production of plant-based dairy and meat analogs in product development. Information obtained from this research can be used in future research.

TÄNUSÖNAD

Soovin tänada oma juhendajaid Sirli Roservaldi ja Aleksandra Zhogolevat, tänu kelle soovitustele on käesolev lõputöö valminud. Samuti sooviksin tänada TFTAK-i sensoorika paneeli ning ka eraldi GC-O assessoreid. Lisaks ka analüütika osakonda- suureks abiks olid Merli Špitsmeister ja Aaro Videvik.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Alae-carew, C., Green, R., Stewart, C., Cook, B., Dangour, A. D., & Scheelbeek, P. F. D. (2022). Science of the Total Environment The role of plant-based alternative foods in sustainable and healthy food systems : Consumption trends in the UK. *Science of the Total Environment*, 807, 151041. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151041>
- Augustyn, P. H., Rapp, A., & Vanwyk, C. J. (1982). *Some Volatile Aroma Components of Vitis Vinifera L. cv. Sauvignon blanc **. 3(2), 53–60.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Springer.
- Bi, S., Xu, X., Luo, D., Lao, F., Pang, X., Shen, Q., Hu, X., & Wu, J. (2020). Characterization of Key Aroma Compounds in Raw and Roasted Peas (*Pisum sativum L.*) by Application of Instrumental and Sensory Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(9), 2718–2727. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07711>
- Bratcher, C. L. (2013). Trained Sensory Panels. *The Science of Meat Quality*, 1, 207–213.
- Brattoli, M., Cisternino, E., Rosario Dambruoso, P., de Gennaro, G., Giungato, P., Mazzone, A., Palmisani, J., & Tutino, M. (2013). Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds. *Sensors (Switzerland)*, 13(12), 16759–16800. <https://doi.org/10.3390/s131216759>
- Corporate, R., Division, D., Sa, F., Box, P. O., Sa, V., & Hector, R. (2002). Improved Hardware and Software for Quick Gas Chromatography - Olfactometry Using CHARM and GC- " SNIF " Analysis. *Analytical Chemistry*, 74(10), 2345–2351.
- Cosson, A., Souchon, I., Richard, J., Descamps, N., & Saint-Eve, A. (2020). Using Multiple Sensory Profiling Methods to Gain Protein-Based Formulated Foods. *Foods*, 9(969).
- Cudmore, D. (2021). *Pea Protein Amino Acid Profile (Is It Complete?)*. VegFAQs. <https://vegfaqs.com/pea-protein-amino-acid-profile/>
- Dahl, W. J., Foster, L. M., & Tyler, R. T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum L.*). British Journal of Nutrition. *British Journal of Nutrition*, 108, 3–10. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>
- De Schutter, D. P., Saison, D., Delvaux, F., Derdelinckx, G., & Delvaux, F. R. (2009). The Chemistry of Aging Beer. *Beer in Health and Disease Prevention*, 375–388. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00036-5>
- Delahunty, C. M., Eyres, G., & Dufour, J. P. (2006). Gas chromatography-olfactometry. *Journal of Separation Science*, 29(14), 2107–2125. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500509>
- Didinger, C., & Thompson, H. J. (2021). Defining Nutritional and Functional Niches of Legumes : A Call for Clarity to Distinguish a Future Role for Pulses in the Dietary Guidelines for Americans. *Nutrients*, 13.
- Ebert, S., Michel, W., Nedele, A. K., Baune, M. C., Terjung, N., Zhang, Y., Gibis, M., & Weiss, J. (2022). Influence of protein extraction and texturization on odor-active compounds of pea proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(3), 1021–1029. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11437>
- Edelenbos, M., Christensen, L. P., & Grevesen, K. (2001). *HPLC Determination of Chlorophyll and Carotenoid Pigments in Processed Green Pea Cultivars (*Pisum sativum L.*)*. <https://doi.org/10.1021/jf010569z>
- Fischer, E., Cachon, R., & Cayot, N. (2022). Impact of Ageing on Pea Protein Volatile Compounds and Correlation with Odor. *Molecules*, 27(852).
- García Arteaga, V., Leffler, S., Muranyi, I., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2021). Sensory profile, functional properties and molecular weight distribution of fermented pea protein isolate. *Current Research in Food Science*, 4(August 2020), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ccrfs.2020.12.001>
- Genovese, A., Caporaso, N., & Sacchi, R. (2021). Flavor chemistry of virgin olive oil: An overview.

- Applied Sciences (Switzerland)*, 11(4), 1–21. <https://doi.org/10.3390/app11041639>
- Gorissen, S. H. M., Crombag, J. J. R., Senden, J. M. G., Waterval, W. A. H., & Bierau, J. (2018). Protein content and amino acid composition of commercially available plant - based protein isolates. *Amino Acids*, 50(12), 1685–1695. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2640-5>
- Grebenteuch, S., Kanzler, C., Klaußnitzer, S., Kroh, L. W., & Rohn, S. (2021). The formation of methyl ketones during lipid oxidation at elevated temperatures. *Molecules*, 26(4). <https://doi.org/10.3390/molecules26041104>
- Habbab, A., Belboukhari, N., & Sekkoum, K. (2022). Mass spectrometry. In *Analytical Techniques in Biosciences* (pp. 115–124). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00016-6>
- Hacisalihoglu, G., Beisel, N. S., & Settles, A. M. (2021). Characterization of pea seed nutritional value within a diverse population of *Pisum sativum*. *PLOS ONE*, 16(11 November), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259565>
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., & Tiwari, B. (2017). Future Protein Supply and Demand : Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods*, 6(53), 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>
- Heng, L. (2005). *Flavour Aspects of Pea and its Protein Preparations in Relation to Novel Protein Foods*. Doctoral Thesis. Wageningen University.
- Hjelmeland, A. K., Wylie, P. L., & Ebeler, S. E. (2016). A comparison of sorptive extraction techniques coupled to a new quantitative , sensitive , high throughput GC – MS / MS method for methoxypyrazine analysis in wine. *Talanta*, 148, 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.086>
- Hofmann, T., & Schieberle, P. (2000). Formation of aroma-active Strecker-aldehydes by a direct oxidative degradation of Amadori compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4301–4305. <https://doi.org/10.1021/jf000076e>
- Imacher, A. N. L., Erler, J. O. K., Avidek, T. O. D., & Chmalzried, F. R. S. (2008). Formation of Furan and Methylfuran by Maillard-Type Reactions in Model Systems and Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3639–3647.
- Kornet, R., Veenemans, J., Venema, P., Jan, A., Goot, V. Der, Meinders, M., Sagis, L., & Linden, E. Van Der. (2021). Food Hydrocolloids Less is more : Limited fractionation yields stronger gels for pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 112(106285), 13. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106285>
- Kuusemaa, K. (2015). VILJELUSVIISI MÕJU HERNE SAAGI KVALITEEDILE JA KASVATAMISE TASUVUSELE. In *EESTI MAAÜLIKool*.
- Kyriakopoulou, K., Julia, K., & van der Goot, A. J. (2021). Meat Analogues. *Foods*, 10(600).
- Legumes Definition. (2021). Biology Online. <https://www.biologyonline.com/dictionary/legumes>
- Lemke, R. L., Zhong, Z., Campbell, C. A., & Zentner, R. (2007). Can Pulse Crops Play a Role in Mitigating Greenhouse Gases from North American Agriculture? *Agron. J.*, 99, 1719–1725. <https://doi.org/10.2134/agronj2006.0327s>
- Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., Bing, D. J., He, J. F., Zhang, Y. C., & Composition, D. J. B. (2019). Composition , physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8398, 1–13. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>
- Martí, M. P., Mestres, M., Sala, C., Bustos, O., & Guasch, J. (2003). Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography Olfactometry Analysis of Successively Diluted Samples. A New Approach of the Aroma Extract Dilution Analysis Applied to the Characterization of Wine Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 7861–7865. <https://doi.org/10.1021/jf0345604>
- Maxted, N., & Ambrose, M. (2001). Peas (*Pisum L.*). In *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* (Issue 1872, pp. 181–190).
- McNair, H. ., Miller, J. M., & Snow, N. H. (2019). *Basic Gas Chromatography, 3rd Edition*.
- Moll, P., Salminen, H., Schmitt, C., & Weiss, J. (2021). Impact of microfluidization on colloidal properties of insoluble pea protein fractions. *European Food Research and Technology*,

- 247(3), 545–554. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03629-2>
- Moore, B. P., Brown, W. V., & Rothschild, M. (1990). Methylalkylpyrazines in aposematic insects, their hostplants and mimics. *Chemoecology*, 1(2), 43–51. <https://doi.org/10.1007/BF01325227>
- Peoples, M. B., Hauggaard-Nielsen, H., & Jensen, E. S. (2009). The potential environmental benefits and risks derived from legumes in rotations. In H. B. Emerich, David W. and Krishnan (Ed.), *Nitrogen Fixation in Crop Production* (pp. 349–385). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. <https://orgprints.org/id/eprint/18989/>
- Rosenvald, S. (2017). *Application of Gas Chromatography- Olfactometry (GC-O) and Correlation with Sensory Analysis*. Doktoritöö. Tallinna Tehnikaülikool.
- Rungruangmaitree, R., & Jiraungkoorskul, W. (2017). Pea, *Pisum sativum*, and its anticancer activity. *Pharmacognosy Reviews*, 11(21), 39–42. https://doi.org/10.4103/PHREV.PHREV_57_16
- Saint-Eve, A., Granda, P., Legay, G., Cuvelier, G., & Delarue, J. (2019). Consumer acceptance and sensory drivers of liking for high plant protein snacks. *J Sci Food Agric*, 99(February), 3983–3991. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9624>
- Samtiya, M., Aluko, R. E., & Dhewa, T. (2020). Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(2:6), 1–14.
- Scott, R. P. W. (1998). *Introduction to Analytical Gas Chromatography, Revised and Expanded*.
- Seok, Y. J., Her, J. Y., Kim, Y. G., Kim, M. Y., Jeong, S. Y., Kim, M. K., Lee, J. Y., Kim, C. Il, Yoon, H. J., & Lee, K. G. (2015). Furan in thermally processed foods - A review. *Toxicological Research*, 31(3), 241–253. <https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.3.241>
- Shi, Y., Singh, A., Kitts, D., & Pratap-singh, A. (2021). Lactic acid fermentation: A novel approach to eliminate unpleasant aroma in pea protein isolates. *LWT - Food Science and Technology*, 150, 35. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111927>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>
- Stauffer, E., Dolan, J. A., & Newman, R. (2008). Gas Chromatography and Gas Chromatography—Mass Spectrometry. In *Fire Debris Analysis* (pp. 235–293). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012663971-1.50012-9>
- Taylor, S. L., Marsh, J. T., Koppelman, S. J., Kabourek, J. L., Johnson, P. E., & Baumert, J. L. (2021). A perspective on pea allergy and pea allergens. *Trends in Food Science and Technology*, 116(November 2020), 186–198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.017>
- Tharanathan, R. N., & Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes — a boon to human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 507–518. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.002>
- Trikusuma, M., Paravisini, L., & Peterson, D. G. (2020). Identification of aroma compounds in pea protein UHT beverages. *Food Chemistry*, 312(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126082>
- Trindler, C., Kopf-bolanz, K. A., & Denkel, C. (2022). Aroma of peas , its constituents and reduction strategies – Effects from breeding to processing. *Food Chemistry*, 376(December 2021), 131892. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131892>
- Tulbek, M. C., Lam, R. S. H., Wang, Y. C., Asavajaru, P., & Lam, A. (2016). Pea: A Sustainable Vegetable Protein Crop. In *Sustainable Protein Sources* (pp. 145–164). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3>
- Tuso, P. J., Ismail, M. H., Ha, B. P., & Bartolotto, C. (2013). Nutritional Update for Physicians : Plant-Based Diets. *The Permanente Journal*, 17(2), 61–66.
- Utz, F., Spaccasassi, A., Kreissl, J., Stark, T. D., Tanger, C., Kulozik, U., Hofmann, T., & Dawid, C. (2022). Sensomics-Assisted Aroma Decoding of Pea Protein Isolates. *Foods*, 11(3), 1–15.
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., Garnett, T., Tilman, D., & Declerck, F. (2019). The Lancet Commissions Food in the Anthropocene : the EAT –

- Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet*, 393, 447–492. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4)
- Yang, J., & Lee, J. (2019). Application of sensory descriptive analysis and consumer studies to investigate traditional and authentic foods: A review. *Foods*, 8(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods8020054>
- Yeretzian, C., Blank, I., & Wyser, Y. (2017). Protecting the Flavors—Freshness as a Key to Quality. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 329–353). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00014-1>
- Yong, S., Sim, J., Srv, A., & Chiang, J. H. (2021). Plant Proteins for Future Foods : A Roadmap. *Foods*, 10(1967), 1–31.

LISA 1 – GC-MS SKANEERIMISMEETODI TULEMUSED

RT	Compound	RI	Description	Aloja cont		Aloja flour		Caremoli		Nutralys		Pisane M9	
				AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD
2.11	Methanethiol	468	Eggy, creamy	1.31	0.16	0.66	0.05	161.65	8.99	3.19	0.01	1.80	0.25
2.25	Ethanol	479	Strong, alcoholic, etho	447.96	159.06	141.95	37.62	24.45	2.20	15.90	0.65	106.36	2.35
2.54	Isopropyl alcohol	503	Alcohol, musty, wood	27.90	1.14	19.06	1.68	0.00	0.00	31.53	1.03	0.00	0.00
2.55	Propanal	503	Earthy, alcohol, coco	0.00	0.00	16.44	1.00	63.26	0.33	36.82	3.46	69.92	1.16
3.05	Carbon disulfide	543	Vegetable, sulfide	10.83	1.67	4.58	0.76	9.95	0.52	0.00	0.00	1.45	0.18
3.25	Propanal, 2-methyl-	558	Floral, pungent	1.11	0.16	2.74	0.22	4.42	0.54	6.76	0.55	5.79	0.50
3.38	Methacrolein	569	Wild hyacinth, foliage	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.01	0.22	0.01
3.50	Acetic acid	582	Acetic, pungent	86.24	28.43	58.43	7.81	3.42	0.13	56.68	1.43	13.06	1.64
3.64	2,3-Butanedione	589	Sweet, creamy, butte	0.00	0.00	0.00	0.00	7.29	0.59	3.00	0.04	5.01	0.16
3.72	Butanal	595	Pungent, cocoa, must	0.00	0.00	0.00	0.00	28.55	1.47	31.67	2.94	40.38	2.12
3.75	Butanone	596	Diffusive, slightly fruit	3.58	0.19	3.89	0.25	70.99	4.84	49.78	2.50	53.98	6.71
4.06	Furan, 2-methyl-	612	Ethereal, acetone, che	164.51	13.48	96.98	12.31	0.00	0.00	1.56	0.15	1.55	0.12
4.31	1-Propanol, 2-methyl-	624	Ethereal, winey, corte	16.90	0.43	13.08	1.64	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4.95	Butanal, 3-methyl-	654	Fruity, peach	0.88	0.05	11.42	1.07	2.08	0.23	45.98	1.52	33.89	1.85
5.06	1-Butanol	658	Fusel, oil, sweet, balsa	21.17	1.12	0.50	0.07	0.00	0.00	40.73	3.85	2.53	0.24
5.14	Benzene	661	Solvent	2.92	0.34	2.23	0.25	38.57	1.06	21.62	1.77	27.93	2.41
5.18	Butanal, 2-methyl-	663	Cocoa, nutty	2.1	0.2	9.3	0.4	2.5	0.1	34.4	2.1	18.3	0.1
5.55	1-Penten-3-ol	680	Green, radish	52.9	1.8	96.2	9.1	98.9	3.5	48.0	1.0	66.4	3.1
5.64	2-Pentanone	683	Fruity, banana, winey	5.7	0.8	2.2	0.2	38.9	1.9	37.0	2.6	35.1	3.7
5.86	2,3-Pentanedione	694	Buttery, creamy, nutt	0.0	0.0	5.8	0.1	8.3	0.9	4.5	0.2	18.6	0.2
5.89	3-Pentanone	695	Ethereal, acetone	104.1	9.3	88.8	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5.95	Pentanal	698	Fermented, bready	24.3	1.7	24.9	3.3	530.8	3.7	404.2	23.2	470.2	15.5
6.02	Furan, 2-ethyl-	701	Sweet, burnt	6.6	0.3	29.3	2.7	96.4	5.8	186.3	10.3	205.2	9.5
6.59	Butanoic acid, methyl	721	Fruity, sweet	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.2	1.1	0.1	1.1	0.1
6.95	1-Butanol, 3-methyl-	733	Fusel, whiskey, fruity	29.6	0.1	20.4	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7.08	1-Butanol, 2-methyl-	737	Alcoholic, fatty	29.3	1.1	29.4	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7.14	2-Pentanone, 4-meth	739	Green, herbal, fruity	3.3	0.2	2.7	0.1	1.4	0.0	1.3	0.1	0.0	0.0
7.25	2-Butenal, 2-methyl-,	743	Strong, green, fruit	0.0	0.0	0.0	0.0	25.6	1.3	16.4	0.3	47.0	3.1
7.42	Disulfide, dimethyl	749	Sulfurous, vegetable,	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5	1.0	18.2	1.1	19.2	0.6
7.90	1-Pentanol	766	Pungent, fermented	504.4	25.1	42.3	4.5	96.9	6.8	41.5	4.1	40.2	2.7
7.97	2-Penten-1-ol, (Z)-	768	Green, phenolic, nas	0.0	0.0	20.2	0.1	10.1	1.2	0.0	0.0	3.1	0.4
8.11	Toluene	773	Sweet	17171.5	477.5	61.2	0.7	257.8	12.3	70.5	2.8	93.5	3.9
8.63	2-Hexanone	790	Fruity, fungal, meaty	0.9	0.0	0.6	0.0	90.4	2.0	76.2	1.5	62.8	1.3
9.05	Hexanal	804	Fresh, green	188.0	22.5	543.5	78.8	5485.6	82.8	3797.2	103.8	4078.1	252.2
9.63	2-Pentenal, 2-methyl-	822	Aldehydic, green, cort	0.0	0.0	0.0	0.0	7.5	0.2	8.7	0.3	10.6	0.4
9.84	Butanoic acid, 3-meth	828	Sour, stinky feet, swe	31.5	6.1	2.3	0.3	0.0	0.0	15.3	1.4	0.0	0.0
10.10	Butanoic acid, 2-meth	836	Sweat, cheesy	5.1	0.4	1.3	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10.57	(Z)-2-hexenal	849	Green	0.0	0.0	2.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10.79	Butanoic acid, 3-meth	855	Fruity, sweet, apple, p	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.6	1.0
10.87	(E)-2-hexenal	858	Green, banana, aldehy	153.8	13.0	284.1	9.9	51.0	1.7	48.6	2.7	42.4	2.8
10.88	3-Hexen-1-ol	858	Green, leafy	190.0	18.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
11.29	1-Hexanol	870	Pungent, etherial	6969.4	257.1	3684.1	262.3	55.3	9.5	20.1	2.8	109.8	5.2
11.60	Ethylbenzene	879	Strong	66.2	5.1	34.1	0.8	113.6	7.3	10.1	0.6	23.1	1.4
12.07	2-Heptanone	892	Fruity, spicy, sweet	91.6	6.2	22.3	0.4	5383.9	31.9	3513.5	71.8	3113.1	178.4
12.20	Furan, 2-butyl-	896	Mild, fruity, wine	2.5	0.3	3.4	0.1	96.4	2.3	79.7	3.3	126.7	1.9

LISA 1 JÄRG. GC-MS SKANEERIMISMEETODI TULEMUSED

RT	Compound	RI exp	Description	Aloja cont		Aloja flour		Caremoli		Nutralys		Pisane M9	
				AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD
12.38	Styrene	902	Sweet, balsam, floral,	43.9	3.5	24.5	1.4	1344.7	59.0	26.3	2.2	82.7	4.2
12.45	2-Heptanol	903	Fresh, lemon, grass, sv	309.8	26.4	24.2	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	50.4	2.5
12.42	p-Xylene	903	Cold meat fat, metal,	165.4	5.9	46.5	1.6	63.5	3.0	4.5	0.4	14.3	0.2
12.55	Heptanal	906	Fresh, aldehydic	0.0	0.0	11.2	0.1	267.7	2.7	166.3	2.4	174.3	15.4
12.66	Pyridine, 2-ethyl-	910	Green, grassy	0.0	0.0	0.0	0.0	20.9	1.1	0.0	0.0	15.6	1.5
12.75	Formic acid, hexyl est	912	Apple, unripe plum, ba	58.2	5.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.99	Pyrazine, 2,5-dimethyl	919	Cocoa, roasted, nutty	0.0	0.0	0.0	0.0	58.0	0.4	52.8	1.3	20.2	0.1
13.23	Hexanoic acid, methyl	926	Ethereal, fruity, bacon	46.5	5.2	7.1	0.6	3.7	0.5	3.1	0.3	2.7	0.1
13.94	.alpha.-Pinene	946	Fresh, camphor, sweet	147.8	8.6	47.0	1.4	20.3	0.2	0.0	0.0	16.2	0.9
14.53	2-Heptenal, (E)-	962	Pungent, green, veget	17.0	1.5	44.3	1.2	54.5	1.8	68.5	3.2	73.5	3.5
14.62	Hexanoic acid	965	Cheesy, fruity	250.3	9.9	60.8	10.2	23.7	2.3	45.5	6.7	32.0	2.5
14.93	Benzaldehyde	974	Almond	74.6	6.6	93.7	7.1	4734.2	324.4	2293.5	121.8	2862.6	41.0
15.26	1-Octen-3-ol	984	Mushroom, earthy	426.2	18.8	248.5	13.0	961.7	66.2	515.2	10.3	832.0	32.7
15.36	2,3-Octanedione	987	Dill, asparagus, cilant	5.4	0.5	26.7	0.8	114.9	7.5	181.1	16.3	171.2	2.4
15.43	5-Hepten-2-one, 6-methyl	988	Citrus, green, musty	0.0	0.0	0.0	0.0	174.8	8.4	129.4	3.1	166.7	14.9
15.45	3-Octanone	989	Fresh, herbal, lavender	53.4	7.9	112.4	6.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15.60	Sabinene	993	Woody, terpene, citru	50.2	5.6	7.8	0.8	17.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
15.62	2-Octanone	994	Earthy, weedy	18.9	0.9	11.0	1.0	663.8	6.9	591.1	14.0	512.1	29.2
15.71	Furan, 2-pentyl-	996	Fruity, green	185.6	15.7	343.8	12.0	14750.4	768.0	14821.2	484.3	10986.4	266.9
15.84	Hexanoic acid, ethyl est	1000	Apple peel, banana, c	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	18.3	1.4
15.85	3-Octanol	1000	Earthy, mushroom, he	83.7	7.8	34.6	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
16.02	Mesitylene	1005	Pesticide	107.1	3.1	34.7	0.7	109.8	2.8	0.0	0.0	28.6	0.9
16.13	Octanal	1008	Aldehydic, waxy, citru	8.8	1.0	16.0	0.9	155.9	11.2	167.5	3.5	156.9	4.8
16.18	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl	1010	Roasted, potato	0.0	0.0	0.0	0.0	137.5	3.5	75.0	3.0	28.2	0.3
16.47	2,4-Heptadienal, (E,E)-	1018	Fatty, green, oily, alde	0.0	0.0	26.4	0.5	38.8	1.3	29.3	1.7	79.4	1.8
16.59	3-Carene	1022	Citrus, terpenic, herba	335.1	34.3	59.0	2.6	23.2	2.2	1.1	0.1	76.0	3.5
16.93	1-Hexanol, 2-ethyl-	1032	Citrus, fresh, floral	193.3	4.7	76.8	2.6	15.4	1.3	23.8	0.9	17.0	2.9
17.08	p-Cymene	1037	Fresh, citrus, terpene	529.0	15.7	52.9	3.3	32.6	1.3	0.0	0.0	30.9	0.2
17.27	D-Limonene	1042	Citrus, orange	211.9	16.3	19.9	2.6	119.1	7.0	29.6	5.6	92.6	5.4
17.31	3-Octen-2-one	1043	Earthy, spicy, herbal, n	15.2	1.3	24.1	1.4	166.4	12.7	391.2	46.9	791.1	43.4
17.45	Eucalyptol	1048	Eucalyptus, herbal, ca	4.8	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
17.74	Benzeneacetaldehyde	1056	Green, sweet, floral	6.4	0.4	58.2	9.3	21.8	1.4	95.2	9.3	89.2	0.3
18.06	2-Octenal, (E)-	1065	Fresh, cucumber	49.8	1.2	106.7	18.4	125.3	1.9	85.2	2.9	132.0	4.6
18.29	2-Octen-1-ol, (Z)-	1072	Sweet, floral	14.2	0.9	11.5	1.9	13.4	1.0	10.0	1.3	18.6	0.4
18.35	1-Octanol	1074	Waxy, green, orange,	205.1	3.7	121.3	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
18.52	Acetophenone	1079	Sweet, pungent, hawt	37.1	2.5	41.2	3.7	78.9	2.9	51.4	3.5	140.8	3.7
18.69	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl	1084	Peanut, nutty, caramel	0.0	0.0	0.0	0.0	71.3	3.9	12.2	1.0	11.4	0.0
19.08	2-Nonanone	1095	Cheesy, green, fruity	4.8	0.2	0.0	0.0	1135.0	25.1	1575.3	81.6	1739.1	27.1
19.17	Terpinolene	1098	Fresh, woody, sweet,	39.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
19.40	2-Nonanol	1105	Waxy, green, creamy,	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	136.8	7.6
19.58	Nonanal	1111	Waxy, aldehydic	132.8	4.6	433.8	59.8	605.2	23.2	879.4	49.5	1074.9	22.3
20.67	3-Nonen-2-one	1145	Fruity, berry, fatty, oil	0.0	0.0	0.0	0.0	28.3	2.4	43.9	2.3	61.3	1.6
20.78	Limonene oxide, cis-	1150	Citrus, floral, fresh, sv	41.5	3.4	12.7	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
21.15	Octanoic acid	1161	Fatty, waxy, rancid, oil	18.9	0.6	12.2	0.6	3.2	0.4	0.0	0.0	4.8	0.8
21.20	2,6-Nonadienal, (E,Z)-	1162	Green, fatty, dry, cucl	0.0	0.0	9.3	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	6.4	0.7

LISA 1 JÄRG. GC-MS SKANEERIMISMEETODI TULEMUSED

RT	Compound	RI exp	Description	Aloja cont		Aloja flour		Caremoli		Nutralys		Pisane M9	
				AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD	AV	SD
21.43	2-Nonenal, (E)-	1168	Fatty, green, cucumber	14.2	1.7	45.4	5.1	29.6	2.1	0.0	0.0	33.2	0.2
21.46	Camphor	1170	Camphorous	37.4	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
21.65	2-sec-Butyl-3-Methox	1175	Bell pepper, carrot, ea	7.0	0.3	7.7	0.4	0.0	0.0	2.0	0.1	3.2	0.4
21.67	1-Nonanol	1176	Fresh, clean, fatty, flo	368.0	33.7	252.3	20.1	31.7	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0
21.65	Thiophene, 2-pentyl-	1176	Fatty, chicken coup, c	0.0	0.0	0.0	0.0	230.5	12.6	14.9	0.6	35.6	1.6
21.79	Benzaldehyde, 4-ethy	1180	Bitter, almond, sweet	0.0	0.0	5.1	0.3	48.6	1.9	22.8	2.5	40.2	2.0
21.93	Benzoic acid, ethyl est	1184	Fruity, dry, musty, swe	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	23.3	1.3
21.98	2-Isobutyl-3-methoxy	1186	Bell pepper, earth, flo	7.2	0.8	5.1	0.1	5.1	0.3	22.1	0.9	22.6	0.3
22.10	Benzaldehyde, 2,4-din	1192	Naphthyl, cherry, alm	0.0	0.0	0.0	0.0	9.8	0.6	43.4	3.9	82.1	0.8
22.36	2-Decanone	1197	Orange, floral, fatty, f	0.0	0.0	2.4	0.2	1252.2	34.0	2301.3	140.5	986.7	45.4
22.54	α -Terpineol	1204	Pine, terpene, lilac, cit	46.4	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22.71	Pyridine, 2-pentyl-	1209	Fatty, tallow, green, p	0.0	0.0	0.0	0.0	18.0	1.1	0.0	0.0	35.6	3.4
22.85	Decanal	1214	Sweet, aldehydic	39.1	2.4	19.6	1.7	24.8	2.6	59.3	2.8	46.0	0.9
23.00	Safranal	1219	Fresh, herbal, rosema	0.0	0.0	0.0	0.0	44.3	1.7	40.1	2.6	43.3	1.4
23.25	2,4-Nonadienol, (E,E)-	1227	Fatty, melon, green, c	0.0	0.0	53.4	2.5	13.2	0.6	37.0	1.7	29.8	1.0
23.26	Nonanoic acid, methyl	1228	Sweet, fruity, pear, w	108.9	9.7	81.2	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
23.64	Carvacryl methyl ethe	1240	Herbal, spicy, leafy, ci	20.6	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.30	Nonanoic acid	1263	Fatty, waxy, cheesy	366.2	44.7	350.8	60.6	132.3	11.9	252.4	31.6	158.2	11.5
24.62	2-Decenal, (E)-	1273	Waxy, fatty, earthy	5.4	0.0	13.6	1.0	3.4	0.1	4.9	0.4	8.8	0.3
25.45	2-Undecanone	1300	Waxy, fruity, creamy,	0.0	0.0	0.0	0.0	33.5	2.2	32.0	1.4	344.6	26.0
25.94	Undecanal	1318	Waxy, soapy, floral	1.5	0.2	3.4	0.2	8.8	1.6	0.0	0.0	4.7	0.5
26.20	2-Methoxy-4-vinylphe	1328	Sweet, spicy, clove, sr	0.0	0.0	0.0	0.0	36.5	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0
26.35	2,4-Decadienal, (E,E)-	1333	Oily, cucumber, melon	3.6	0.4	15.2	0.9	12.0	1.0	34.1	1.8	140.3	3.0
27.61	γ -Nonalactone (=2(3H	1377	Coconut, creamy, wa	250.3	24.3	101.9	2.3	162.5	9.0	57.7	0.7	114.6	10.2
27.82	2-Octenal, 2-butyl-	1385	Aldehydic, green, wat	0.0	0.0	0.0	0.0	22.5	2.0	17.6	1.3	15.0	0.4
27.98	Butanoic acid octyl es	1392	Fresh, waxy, fruity, gr	4.7	0.3	2.3	0.2	1.0	0.1	4.5	0.1	2.0	0.2
28.82	Dodecanal	1423	Soapy, waxy, citrus	10.9	0.7	21.1	1.6	1.8	0.1	2.4	0.1	2.3	0.0
29.78	trans-alpha-Bergamot	1461	Woody, warm tea	0.0	0.0	0.0	0.0	119.9	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0
30.91	2-Tridecanone	1510	Harsh, herb, oil, old n	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	37.3	4.2
31.22	Tridecanal	1531	Fresh, clean, aldehydi	60.8	6.4	316.9	35.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
31.28	α -Cadinene	1535	Woody, dry	89.4	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
31.60	δ -Cadinene	1555	Thyme, herbal, wood	10.2	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
32.17	cis-7-Dodecen-1-yl ac	1592	Fruity	632.8	43.8	90.8	12.7	34.2	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0
32.58	Tetradecanal	1634	Fatty, waxy, amber, ir	193.2	32.0	1886.1	233.7	0.6	0.1	0.4	0.0	0.8	0.3
33.22	1-Tetradecanol	1699	Fruity, waxy, orris, co	7.5	0.4	52.3	6.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
33.38	2-Pentadecanone	1719	Fresh, jasmin, celery	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.5	1.5
33.54	Pentadecanal	1741	Fresh, waxy	559.3	96.3	11531.2	1172.3	2.4	0.4	4.7	0.0	8.3	1.6
34.37	Hexadecanal	1843	Cardboard	6.2	0.9	275.6	22.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
34.66	Pentadecanoic acid	1876	Waxy	0.0	0.0	2.5	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
35.16	Hexadecanoic acid, m	1949	Oily, waxy, fatty, orris	42.9	5.5	82.6	6.5	3.4	0.4	2.5	0.2	3.8	0.2
35.17	Heptadecanal	1951	Fragant, sweet	16.1	0.6	566.2	20.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

LISA 2 – GC-MS MRM MEETODI TULEMUSED

AU units , kindla iooni pindalad SD-standardhälve	Aloja jahu	Aloja kont.	Caremoli	Nutralys S85F	Pisane M9
3-isopropüül-2-metoksüpürasiin	8817	8569	3511	40822	13890
SD	758	503	636	3142	534
3-metüülpropüül-2-metoksüpürasiin	74079	59628	5749	19157	30064
SD	3374	2678	855	3656	1515
3-isobutüül-2-metoksüpürasiin	71212	139543	204240	349731	327091
SD	9590	4708	1166	72135	21568

LISA 3 – SENSOORSE ANALÜÜSI TULEMUSED (LÖHNA JA MAITSE ATRIBUUDID)

Sensoorse analüüsi andmed: hindamislehe parameetrid, keskmised tulemused ja standardhälved lõhnas

PROOVI NIMI		Üldine intensiivsus	Väävlisus	Linnasene	Pähkline	Oane/roheline paprika (earthy)	M
Aloja jahu	KESKMINÉ	7.3	0.0	0.1	0.2		1.4
	STANDARDHÄLVE	0.9	0.0	0.3	0.6		1.0
Aloja konsentraat	KESKMINÉ	6.3	0.0	0.3	0.2		1.8
	STANDARDHÄLVE	1.0	0.0	0.7	0.5		1.0
Caremoli isolaat	KESKMINÉ	6.9	6.5	0.7	0.8		3.5
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0	0.8	0.9		1.0
Nutralys® S85F isolaat	KESKMINÉ	5.7	2.0	0.5	0.7		3.4
	STANDARDHÄLVE	1.0	0.9	0.9	0.7		1.0
Pisane M9 isolaat	KESKMINÉ	6.3	2.1	1.6	1.5		2.1
	STANDARDHÄLVE	0.9	1.0	1.0	0.9		1.0

Murune/ rohelise õun	Rohelised hnered, hernekaunad	Rasvane	Kurk/ Putukas	Magus/ mee lõhnaga	Lilleeline/ seebine	Tsitrus/ värsked linad	Kommentaarium
4.0		6.2	0.4	2.7	0.4	0.2	0.9
1.0		1.0	0.9	1.0	0.6	0.4	0.9
3.6		5.0	0.4	2.6	0.5	0.4	0.8
1.0		1.0	0.7	0.7	1.0	0.8	0.8
0.5		1.0	2.0	0.3	0.9	0.1	0.0
1.0		1.0	1.0	0.7	1.0	0.3	0.2
1.3		1.3	1.0	0.4	1.2	0.2	0.2
1.0		1.0	1.0	0.9	1.0	0.5	0.5
2.8		1.5	1.2	0.4	3.7	1.0	0.6
1.0		0.9	1.0	0.8	1.0	0.8	0.9

Sensoorse analüüsi andmed: hindamislehe parameetrid, keskmised tulemused ja standardhälved maitses

PROOVI NIMI		Üldine intensiivsus	Kibedus	Kootavus	Väävlisus	Linnasene	Pähkline
Aloja jahu	KESKMINÉ	7.1	4.2	4.2	0.0	0.2	0.2
	STANDARDHÄLVE	0.9	0.9	0.9	0.0	0.4	0.6
Aloja konsentraat	KESKMINÉ	7.7	6.7	5.2	0.4	0.2	0.3
	STANDARDHÄLVE	1.0	0.9	1.0	0.6	0.4	0.5
Caremoli isolaat	KESKMINÉ	5.7	1.9	3.3	4.8	0.4	0.7
	STANDARDHÄLVE	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	1.0
Nutralys® S85F isolaat	KESKMINÉ	6.0	2.9	4.0	1.7	0.3	1.0
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0	1.0	1.0	0.6	1.0
Pisane M9 isolaat	KESKMINÉ	5.7	2.3	3.8	1.9	0.8	1.0
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

PROOVI NIMI		Oane/roheline paprika (earthy)	Murune/ rohelise õun	Rohelised hnered, hernekaunad	Rasvane
Aloja jahu	KESKMINÉ	1.9	2.8		6.5 0.0
	STANDARDHÄLVE	1.0	0.9		0.9 0.0
Aloja konsentraat	KESKMINÉ	3.2	2.8		6.5 0.0
	STANDARDHÄLVE	0.9	1.0		0.9 0.0
Caremoli isolaat	KESKMINÉ	3.1	0.5		0.5 2.1
	STANDARDHÄLVE	1.0	0.9		0.9 0.8
Nutralys® S85F isolaat	KESKMINÉ	4.3	1.2		1.9 1.5
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0		1.0 1.0
Pisane M9 isolaat	KESKMINÉ	2.4	1.9		1.7 1.1
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0		0.8 1.0

LISA 3 JÄRG. SENSOORSE ANALÜÜSI TULEMUSED (LÖHNA JA MAITSE ATRIBUUDID)

PROOVI NIMI		Magus/ mee lõhnaga	Lilleline/ seebine	Tsitrus/ värsked linad	Kommentaarid
Aloja jahu	KESKMINÉ	0.2	0.6	0.6	
	STANDARDHÄLVE	0.6	0.9	0.9	
Aloja konsentraat	KESKMINÉ	0.4	0.5	0.2	
	STANDARDHÄLVE	0.6	1.0	0.4	
Caremoli isolaat	KESKMINÉ	0.5	0.4	0.0	
	STANDARDHÄLVE	0.9	1.0	0.2	
Nutralys® S85F isolaat	KESKMINÉ	0.6	0.7	0.2	
	STANDARDHÄLVE	1.0	1.0	0.5	
Pisane M9 isolaat	KESKMINÉ	2.4	1.3	0.3	
	STANDARDHÄLVE	0.9	1.0	0.7	

Lihtlitsents lõputöö reproduutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina Maria Alas

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Hernebaaside aroomiprofiilide kirjeldamine kasutades SPME-GC/MS-O meetodit ja sensoorset analüüs,” mille juhendaja on Sirli Rosenvald.
 - 1.1 reproduutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektronse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäädvad alles ka autorile.
3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

_____ (allkiri)

_____ (kuupäev)

¹ Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reproduutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaks määratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reproduutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2., siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.