

## **METODY ANALIZY ZWIĄZKÓW ZAPACHOWYCH ŻYWNOŚCI**

**Elżbieta Wojtowicz**

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych

ul. Starołęcka 40, 61-361 Poznań

elzbieta.wojtowicz@ibprs.pl

### **Streszczenie**

W artykule przedstawiono przegląd światowego piśmiennictwa dotyczącego metod analizy związków zapachowych żywności. Związki te charakteryzują się wysoką lotnością, śladową ilością, a ich wyodrębnianie z produktów, identyfikacja i kwantyfikacja stwarzają wiele problemów analitycznych. Do analizy związków zapachowych wykorzystywane są metody instrumentalne: destylacja z parą wodną, ekstrakcja ciągła z jednoczesną destylacją z parą wodną, mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej, chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas, olfaktometria oraz metody sensoryczne.

**Słowa kluczowe:** aromat, związki zapachowe, metody instrumentalne, metody sensoryczne

## **METHODS OF FOOD AROMA COMPOUNDS ANALYSIS**

### **Summary**

The article presents an overview of the world literature concerning methods of analysis of food aroma compounds. The volatiles compounds are characterized by high volatility, a trace amount, and therefore their isolation, identification and quantification creates many analytical problems. There are used instrumental methods: steam distillation, a continuous extraction with simultaneous steam distillation, a solid phase microextraction, gas chromatography coupled with mass spectrometry, olfactometry and sensory analysis for the analysis of volatile compounds.

**Key words:** aroma, volatile compounds, instrumental methods, sensory analysis

## WPROWADZENIE

Aromat żywności jest przedmiotem zainteresowania konsumentów i producentów. Na jego walory składa się szeroka gama związków zapachowych, których zawartość w produkcie jest bardzo mała. Analiza związków zapachowych żywności wymaga właściwego doboru metod analitycznych. Interesujące nas związki mogą występować w ilościach śladowych, a mimo to mogą kształtować zapach produktu [Belitz i in. 2004]. Aromat może być wywołany mieszaniną związków, które są mało stabilne i mogą bardzo szybko ulegać rozkładowi. Z tej przyczyny bardzo ważna jest metoda izolacji związków lotnych. Tradycyjną metodą jest destylacja z parą wodną SD (ang. *Steam Distillation*) oraz ekstrakcja ciągła z jednoczesną destylacją z parą wodną SDE (ang. *Simultaneous Distillation and Extraction*). W ostatnim czasie często wykorzystywana jest także metoda mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej SPME (ang. *Solid Phase Microextraction*). Przełomem w rozdziale i identyfikacji skomplikowanych mieszanin związków lotnych było zastosowanie chromatografii gazowej w połączeniu ze spektrometrią masową. W ciągu przeszło pięćdziesięciu lat, które minęły od wprowadzenia chromatografii gazowej przez Jamesa i Martina, zdobywców Nagrody Nobla w dziedzinie chemii w 1952 roku (którzy zastosowali tę metodę do rozdziału amin i homologów pirydyny oraz amoniaku i metyloaminy), dynamicznie rozwijana przez wielu badaczy chromatografia gazowa w połączeniu ze spektrometrią mas znalazła wiele zastosowań do analizy lotnych związków w żywności [Brinkman i Janssen 2002; Lehotay i Hajsova 2002].

### Izolacja związków lotnych

W praktyce laboratoryjnej izolację olejków eterycznych przeprowadza się, stosując tradycyjną metodę destylacji z parą wodną (SD) w szklanym aparacie, którego prototypem jest aparat Clevengera, a polską odmianą jest aparat Derynga [Klimek 1957]. Metoda polega na oddestylowaniu olejku eterycznego z ogrzewanej w kolbie mieszaniny surowca olejkodajnego i wody. Jest to bardzo dobra technika izolacji dla aromatycznych wyciągów z przypraw roślinnych, ponieważ są one słabo rozpuszczalne w wodzie, a ich składniki nie ulegają rozkładowi w temperaturze 100°C. Metoda ta jest zalecana przez Farmakopeę Polską [2002] i Polską Normę do oznaczania zawartości olejku eterycznego w przyprawach i ziołach [PN-ISO 6571:2001] i jest powszechnie stosowana do materiałów roślinnych [Klimek 1957; Masada 1976; Stoyanova i in. 2001; Richter i Schellenberg 2007]. Inną powszechnie stosowaną metodą izolacji lotnych związków zapachowych z produktów żywnościowych jest ekstrakcja ciągła z jednoczesną destylacją z parą wodną (SDE) w aparacie Likensa-Nickersona [Likens i Nickerson 1964; Zawirska-Wojtasiak 2004].

W klasycznych metodach przygotowania próbki ponad 80% czasu analizy przeznaczone jest na ekstrakcję, zateżnianie i oczyszczanie oraz frakcjonowanie analitów. Rozwój technik przygotowania próbek zmierza zarówno w kierunku obniżenia granic oznaczalności, jak i w kierunku ograniczenia pracochłonności i czasochłonności analizy, eliminowania rozpuszczalników w zgodzie z zasadami „zielonej chemii”. W ostatnim piętnastoleciu dynamicznie rozwija się spełniająca te wymagania metoda mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej SPME, która w połączeniu z technikami chromatografii gazowej i chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC i GC/MS) jest skutecznym narzędziem przeznaczonym do analizy związków lotnych [Snow i Slack 2002]. Metodę tę wprowadził i rozpropagował na świecie J. Pawliszyn w latach 90. XX w. Polega ona na adsorpcji lub absorpcji związków lotnych na włóknie pokrytym fazą organiczną. Włókno wraz ze związkami lotnymi zostaje podane do chromatografu gazowego, gdzie w porcie nastrojowym następuje desorpcja związków i ich rozdział na kolumnie chromatograficznej. SPME to metoda o dużej czułości, selektywności i powtarzalności [Pawliszyn 1997]. Współczynnik zmienności (ang. *Relative Standard Deviation* – RDS) nie przekracza zazwyczaj 10% [Stashenko i Martinez 2007]. W ostatnich latach SPME była z powodzeniem stosowana przez badaczy do wielu trudnych analiz w różnych dziedzinach m.in. w nauce o żywności [Snow i Slack 2002]. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej umożliwiła szybkie oznaczenie związków lotnych, których zawartość jest na poziomie g/kg i ng/kg [Jeleń 2004]. W literaturze przedstawiono wiele aplikacji SPME do badania aromatu produktów spożywczych np. soku pomarańczowego [Steffen i Pawliszyn 1996], moreli [Guillot i in. 2006], tropikalnych brazylijskich owoców [Augusto i in. 2000], kawy [Roberts i in. 2000], kawy zbożowej i jej surowców [Zawirska-Wojtasiak i in. 2014; Wojtowicz 2015], wina [Li i in. 2008; Gurbuz i in. 2006], piwa [Jeleń i in. 1998], napojów alkoholowych [Plutowska i Wardencki 2008], coli i coli dietetycznej [Elmore i in. 1997], wołowiny [Moon i in. 2006], olejów roślinnych [Jeleń i in. 2000; Mildner-Szkudlarz i in. 2003], ziemniaczanych snacksów [Majcher i Jeleń 2005], ekstraktów roślinnych w proszku [Wojtowicz i in. 2013a], chleba bezglutenowego [Pacynski i in. 2015]. SPME okazała się przydatna podczas jakościowego i ilościowego badania lotnych związków zapachowych roślin przyprawowych, np. majeranku [Richter i Schellenberg 2007; Wojtowicz i in. 2010; Wojtowicz i in. 2013b], tymianku [Richter i Schellenberg 2007; Wojtowicz i in. 2010; Wojtowicz i in. 2013b], oregano (Diaz-Maroto i in. 2002), kminku (Richter i Schellenberg 2007; Wojtowicz i in. 2013b), kolendry [Wojtowicz 2009; Wojtowicz i in. 2013b], bazylii [Klimankova i in. 2008], chili [Mazida i in. 2005], pieprzu czarnego [Jirovetz i in. 2002], enancjomerów przypraw [Zawirska-Wojtasiak

2004; Wojtowicz 2009].

### **Identyfikacja i kwantyfikacja lotnych związków zapachowych**

Związki lotne tworzące aromat mają zróżnicowany charakter i z tego względu do ich identyfikacji i oznaczania metodami chromatograficznymi stosowane są detektory uniwersalne płomieniowo-jonizacyjne (FID) oraz detektory selektywne, np. detektor azotowo-fosforowy (NPD) do związków zawierających azot, płomieniowo-fotometryczny (FPD) do związków zawierających siarkę, wychwyty elektronów (ECD) do związków halogenowych. Najistotniejszy w analizie związków zapachowych jest detektor masowy (MS). Z uwagi na stopień złożoności mieszanin związków zapachowych i niedostępność wielu standardów tych związków zastosowanie techniki łączonej chromatografii gazowej ze spektrometrią masową jest narzędziem niezbędnym w ich analizie. Właściwości spektrometrów masowych umożliwiają ich pracę zarówno jako detektorów uniwersalnych, jak i selektywnych. Innym typem detektora wykorzystywanym w analizie związków lotnych jest spektrometr mas czasu przelotu TOF (ang. *Time of Flight*), który zbiera nawet kilkaset widm w czasie sekundy i pozwala na identyfikację koelujących ze sobą związków [Jeleń 2004].

### **Analiza izomerów lotnych związków zapachowych**

Identyfikację związków lotnych w olejkach eterycznych utrudnia stereoizomeria. Zapach związku zależy od budowy przestrzennej cząsteczki i bardzo często nieznaczne różnice w budowie sferycznej związków powodują ich zupełnie inną percepcję. Związki z podwójnym wiązaniem mogą występować w postaci stereoizomerów różniących się położeniem atomów względem tego wiązania (izomery cis i trans) [Morrison i Boyd 1996]. Związki olejkowe występujące w postaci izomerów geometrycznych cis i trans są trudno identyfikowalne, a mogą różnić się aromatem. Przykładem są izomery cis- i trans-hydratu sabinenu (o różnej intensywności zapachu balsamicznego) występującego w majeranku [Novak i in. 2000; Wojtowicz 2009] oraz anetolu z anyżu lub geraniolu w olejku różanym [Mosandl 1995; Zawirska-Wojtasiak 2004].

W przypadku związków, które zawierają w swojej budowie atom węgla połączony z czterema podstawnikami, istnieje inny rodzaj stereoizomerii – enancjomeria, zwana także izomerią optyczną. Występowanie tej izomerii wiąże się z nieidentycznością cząstki i jej lustrzanego odbicia. Enancjomery różnią się konfiguracją – rzeczywistym rozmieszczeniem atomów w przestrzeni oraz kierunkiem kąta skręcenia światła. Konfigurację ustala się na podstawie „reguły pierwszeństwa podstawników” i oznacza symbolem R (prawy) i S (lewy). Enancjomer, którego roztwór skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego w lewo,

nazywamy lewoskrętnym i oznaczamy (-), a enancjomer, którego roztwór skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego w prawo, nazywamy prawoskrętnym i oznaczamy (+) [Morrison i Boyd 1996]. Enancjomery związków zapachowych mogą różnić się zapachem. Przykładem mogą być enancjomery karwonu, którego izomer (+) ma zapach kminkowy, a izomer (-) ma zapach miętowy [Brenna i in. 2003; Zawirska-Wojtasiak 2004]. Wśród związków zapachowych występujących w aromatach wiele jest związków stereoizomerów, które stwarzają trudności analityczne. Początki chromatografii enancjoselektywnej, pozwalającej na rozdział izomerów optycznych, datowane są na lata sześćdziesiąte i dotyczyły enancjomerów kwasów białkowych. U progu nowego milenium zanotowano 2200 naukowych publikacji, które dotyczyły łącznie 22 000 rozdziałów 5500 chiralnych związków. Chromatografia enancjoselektywna znalazła szerokie zastosowanie do analizy metabolitów, prekursorów w biochemii, leków, pestycydów, fungicydów, herbicydów, feromonów i aromatów [Schurig 2001]. Pierwsze rozdziały chiralnych związków zapachowych dotyczyły związków siarkowych w owocach, odgrywających w tym delikatnym aromacie istotną rolę, pomimo występowania w śladowych ilościach [Weber i in. 1995]. Już wtedy zauważono, że specyficzny stosunek stereoizomerów tych związków był stały, niezależny od procesów technologicznych, co sugerowało, że analiza enancjoselektywna pozwala na odróżnienie naturalnie występujących składników aromatu od ich syntetycznych racematów [Zawirska-Wojtasiak 2004]. Jednakże nie wszystkie związki chiralne występują w charakterystycznym i stałym stosunku obu form optycznych. Jako kryterium autentyczności aromatu naturalnego mogą być brane pod uwagę tylko te lotne związki, które charakteryzują się wysoką czystością enancjomeryczną, to znaczy dużą przewagą jednej formy optycznej nad drugą i nieznacznymi wahaniami tego stosunku [Mosandl i Kreis 1992; Grosch 1993; Weber i in. 1995].

Przez wiele lat zafalszowania olejku lawendowego *Lawandula angustifolia* M. wykrywano poprzez detekcję ubocznych produktów syntezy, np. dihydrolinalolu. Analiza chiralna octanu linalilu i linalolu wprowadziła nowe istotne kryterium autentyczności olejku z lawendy. W szczególności może nim być octan linalilu, który w naturalnym oleju lawendy ma dużą czystość enancjomeryczną formy (-), niezależnie od odmiany, przechowywania, warunków wzrostu rośliny – sięgającą 99% sumy obu form [Mosandl i Kreis 1992]. Analiza chiralna posłużyła także do oceny pochodzenia i autentyczności olejków miętowych i rozmarynowych [Coleman i Lawrence 2000].

Novak i współpracownicy (2000) badali zawartość enancjomerów (+)-cis-hydratu sabinenu i (+)-trans-hydratu sabinenu występujących w majeranku i stwierdzili stały ich stosunek 20:1. W majeranku występuje także limonen, którego forma (+) odpowiada za

zapach cytrusowy, podczas gdy forma (-) za zapach pomarańczy. Z kolei inni autorzy [Larkov i in. 2005; Wojtowicz 2009] badali stosunek enancjomerów cis- i trans-hydratu sabinenu między innymi w *Origanum majorana* L. i *Origanum vulgare* L. i stwierdzili przewagę (1R,4R,5S)-cis-hydratu sabinenu, sięgającą nawet 99,9%.

Pod kątem izomerów optycznych badano również olejek kopru ogrodowego, a szczególnie jego dwa główne składniki – limonen i karwon. Oba główne składniki występują w formach izomerów optycznych, ale w owocach kopru dominują (R)-(+)-limonen o zapachu cytrynowym i (R)-(+)-karwon charakteryzujący się typowym zapachem kopru [Blank i Grosch 1991]. Badania nad rozmarynem lekarskim wykazują, że poza eukaliptołem dominującym w olejku rozmarynu, główne składniki tego aromatu to związki chiralne. Analiza enancjoselektywna wykazała obecność form optycznych:  $\alpha$ -pinenu,  $\beta$ -pinenu, kamfenu, limonenu, linalolu, kamfory, borneolu i  $\alpha$ -terpineolu [Mosandl 1995; Zawirska-Wojtasiak 2004]. Mosandl (1995) wskazał na borneol jako związek, który może służyć za kryterium autentyczności aromatu naturalnego rozmarynu. (1S,2R,4S)-(-)-borneol występuje w rozmarynie w relatywnie małych ilościach, ale z czystością optyczną nie mniejszą niż 83% [Zawirska-Wojtasiak 2004].

Jako dominujący i istotny w aromacie grzybów jest uważany lewoskrętny izomer (R)-(-)-1-okten-3-ol, który występuje z bardzo wysoką, stałą czystością optyczną różną dla różnych gatunków grzybów. (R)-(-)-1-okten-3-ol charakteryzuje się zapachem świeżych grzybów, natomiast (S)-(+)-1-okten-3-ol ma zapach pleśniowo-trawiasty [Assaf i in. 1997; Mosandl i in. 1986; Brenna i in. 2003].

### **Aktywność zapachowa aromatów**

W żywności odkryto już tysiące związków zapachowych i ciągle odkrywane są nowe. Niektóre opracowania podają listę ponad 5000 związków zapachowych zidentyfikowanych w produktach naturalnych. Mieszaniny związków lotnych w żywności są bardzo skomplikowane. W konkretnym produkcie związki lotne mogą być zdominowane przez jedną klasę (np. przez estry w owocach). Zdarza się, że w produkcie występuje bardzo wiele związków zapachowych. Wśród nich jednak często występuje jeden lub kilka, które determinują aromat. Nie zawsze związek, który występuje w największej ilości, jest decydujący dla aromatu. Wiąże się to z różnymi progami wykrywalności (ang. *Odour Threshold* – OT) poszczególnych związków. Stężenie progowe to najniższe stężenie, przy którym związek zapachowy może być odróżniany przez zmysł węchu człowieka od próby ślepej w warunkach standardowych [Teranishi 1997].

Rothe i Thomas (1963) opisali koncepcję wskaźnika aktywności aromatu (ang. *Odour*

*Activity Value* – OAV). Jest to stosunek stężenia związku w mieszaninie do jego progu wykrywalności sensorycznej. OAV, zwana także przez badaczy „odour unit” [Teranishi i in. 1991; Teranishi 1997], staje się coraz ważniejszym kryterium brany pod uwagę przy ocenie aromatu. Związki o najwyższych wartościach OAV są decydujące dla danego aromatu [Grosch 1993; Zawirska-Wojtasiak 2007]. Wskaźnik OAV eliminuje wpływ synergistyczny i antagonistyczny związków lotnych występujących w kompozycji oraz wpływ matrycy na aromat [Pyysalo i in. 1977].

Wyznaczenie OAV posłużyło między innymi do oceny aktywności zapachowej lotnych związków zapachowych aromatów następujących produktów spożywczych: czarnej herbaty Darjeeling [Schuh i Schieberle 2006], sera Camembert [Kubickova i Grosch 1998], wina [Li i in. 2008; Gurbuz i in. 2006], pieczeni wołowej [Grosch 1993], chleba [Grosch 1997], pietruszki [Masanetz i Grosch 1998] oraz przypraw: kopru [Blank i Grosch 1991], pieprzu [Jagella i Grosch 1999a, b], bazylii [Guth i Margoci 1997].

### **Analiza olfaktometryczna**

Identyfikację i podział związków na aktywne i nieaktywne zapachowo można uzyskać także dzięki zastosowaniu metody kolejnych rozcieńczeń ekstraktu (AEDA) [Ullrich i Grosch 1987]. Metoda AEDA oparta jest na analizie olfaktometrycznej kolejnych rozcieńczeń ekstraktów aż do zaniku zapachu. Zapach odnosi się do indeksu retencji i uzyskuje wskaźnik rozcieńczeń FD (ang. *Dilution Factor*), czyli największe rozcieńczenie, przy którym związek jest jeszcze wyczuwalny [Blank i Grosch 1991; Grosch 1993]. Im wyższy wskaźnik FD związku zapachowego, tym większy jego wpływ na kształtowanie aromatu produktu. Wyniki otrzymywane metodą AEDA przedstawiane są w postaci diagramów – aromagramów (chromatogramy wskaźników rozcieńczeń).

Analiza olfaktometryczna znalazła zastosowanie do badań aromatu produktów spożywczych, np. słoju jęczmiennego [Zawirska-Wojtasiak i in. 1995], azjatyckich owoców cytrusowych [Kim i in. 2003], napojów alkoholowych [Plutowska i Wardencki 2008], przetworów mlecznych, kawy, mięsa i owoców [Zeller i in. 2008], aromatu przypraw: kopru [Blank i Grosch 1991], liści goździkowca [Jirovetz i in. 2001], pieprzu czarnego [Jirovetz i in. 2002].

### **Analiza sensoryczna**

Podczas gdy metody chemiczne dostarczają informacji o odpowiednich właściwościach produktu, metody sensoryczne informują o tym, jak te właściwości są odbierane przez zmysły człowieka i jakie wrażenia wywołują. Analiza sensoryczna jest metodą komplementarną w stosunku do analizy chemicznej, natomiast nie może być nią zastąpiona [Baryłko-Pikielna

1998]. Obecnie istnieje wiele metod i procedur analitycznych stosowanych w analizie sensorycznej. Do odpowiedniej analizy dobiera się metodę w zależności od zadania postawionego danej ocenie. Przykładowe metody stosowane w analizie sensorycznej to: metoda ocen porównawczych, kolejności, skalowania, wielokrotnych porównań, oceny punktowej, konsumencka, limitów, schodkowa, średniego błędu i stałego bodźca, a także metody wykrywania różnic, jakimi są metoda parzysta, trójkątowa, duo-trio, dwie z pięciu [Gawęcka i Jędryka 2001].

Metoda trójkątowa to jedna z najstarszych metod różnicowych stosowanych w analizie sensorycznej. Twórcami tej metody byli Helm i Trolle w 1946 roku. Charakteryzuje się ona jednoznacznością interpretacją statystyczną uzyskanych wyników [Baryłko-Pikielna 1995]. Metoda ta znalazła zastosowanie m.in. w analizie smakowitości przypraw poddawanych procesowi napromieniania [Kamiński i in. 1991] i przypraw ziołowych (majeranku, kminku, papryki ostrej, gorczycy) poddanych napromienianiu w różnych materiałach opakowaniowych [Czaczyk i in. 1993]. Metodę trójkątową Lüntzel i współpracownicy (2000) stosowali do wyznaczenia progów wyczuwalności enancjomerów 3-merkapto-2-metylpentanolu.

Najbardziej rozwiniętą techniką jest metoda ilościowej analizy opisowej QDA (ang. *Quantitative Descriptive Analysis*), zwana profilową [Baryłko-Pikielna 1995; Stampanoni-Koeferli 1998; Gawęcka i Jędryka 2001]. Metoda ta znalazła zastosowanie między innymi do oceny wpływu różnych metod suszenia na aromat bazylii pospolitej [Guth i Margoci 1997], do oceny sensorycznej kminu rzymskiego [Dattatreya i in. 2004], majeranku, hyzopu lekarskiego i cząbrzu ogrodowego [Venskutonis 1997], biszkoptów pszennych [Mildner-Szkudlarz i in. 2013], ekstraktów roślinnych w proszku [Wojtowicz i in. 2013a], prażonych surowców ziołowych [Wojtowicz 2015].



## PODSUMOWANIE

Związki zapachowe żywności charakteryzują się wysoką lotnością i niską zawartością w produkcie, dlatego ich właściwe wyodrębnianie z produktów, identyfikacja i kwantyfikacja zależą od doboru metod i technik analitycznych. Analiza związków zapachowych żywności stanowi ważną dziedzinę chemii analitycznej, w której szybko znajdują zastosowanie nowe techniki i rozwiązania.

## PIŚMIENNICTWO

1. Assaf S., Hadar Y., Dosoretz C. G. (1997). 1-octen-3-ol and 13-hydroperoxylinoleate are products of distinct pathways in the oxidative breakdown of linoleic acid by *Pleurotus pulmonarius*. *Enzyme Microb. Tech.*, 21, 484-490
2. Augusto F., Valente A. L. P., Tada E., Rivellino S. R. (2000). Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 873, 117-127
3. Baryłko-Pikielna N. (1998). Analiza sensoryczna w zapewnieniu jakości żywności. *Przem. Spoż.*, 12, 25-28
4. Baryłko-Pikielna N. (1995). Sensoryczna analiza profilowa i ocena konsumencka w opracowaniu nowych produktów żywnościowych. W: Czapski J., red. *Food Product Development*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego, 207-220
5. Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P. (2004). *Food Chemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
6. Blank L., Grosch W. (1991). Evaluation of potent odorants in dill seed and dill herb (*Anethum graveolens* L.) by aroma extract dilution analysis. *J. Food Sci.*, 56, 63-67
7. Brenna E., Fuganti C., Serra S. (2003). Enantioselective perception of chiral odorants. *Tetrahedron Asymmetry*, 14, 1-42
8. Brinkman U. A. Th., Janssen H-G. (2002). 50 years of gas chromatography. *Trends in Anal. Chem.*, 21, 545-546
9. Coleman W. M., Lawrence B. M. (2000). Examination of the enantiomeric distribution of certain monoterpene hydrocarbons in selected essential oils by automated solid-phase microextraction-chiral gas chromatography – mass selective detection. *J. Chromatogr. Sci.*, 38, 95-99
10. Czaczyk K., Kamiński E., Kubera H., Skrzywan B., Zawirska-Wojtasiak R. (1993).

- Zastosowanie wybranych rodzajów opakowań do napromieniowania przypraw. Opakowanie, 3, 12-16
11. Dattatreya A., Prakash M., Baht K. K. (2004). Sensory flavor profiling and mapping of market samples of cumin (*Cuminum cyminum* L.). J. Food Qual., 27, 264-273
  12. Diaz-Maroto M. C., Perez-Coello M. S., Cabezudo M. D. (2002). Headspace solid – phase microextraction analysis of volatile components of spices. Chromatographia, 55, 723-728
  13. Elmore J. S., Erbahadir M. A., Mottram D. S. (1997). Comparison of dynamic headspace concentration on tenax with solid phase microextraction for the analysis of aroma volatiles. J. Agric. Food Chem., 45, 2638-2641
  14. Farmakopea Polska VI (2002). Warszawa: Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne
  15. Gawęcka J., Jędryka T. (2001). Analiza sensoryczna. Wybrane metody i przykłady zastosowań. Poznań: Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu
  16. Grosch W. (1993). Detection of potent odorants in foods by aroma dilution analysis. Trends Food Sci. Technol., 4, 68-73
  17. Grosch W. (1997). Flavour of white bread. W: Kruse H. P. i Rothe M., red. Flavour perception aroma evaluation. Proceedings of the 5th Wartburg Aroma Symposium, Eisenach. Universitat Potsdam, 179-191
  18. Guillot S., Peytavi L., Bureau S., Boulanger R., Lepoutre J-P., Crouzet J. (2006). Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. Food Chem., 96, 147-55
  19. Gurbuz O., Rouseff J. M., Rouseff R. L. (2006). Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. J. Agric. Food Chem., 54, 3990-3996
  20. Guth H., Margoci A-M. (1997). Identification of the key odorants of basil (*Ocimum basilicum* L.) - Effect of different drying procedures on the overall flavour. W: Kruse H. P. i Rothe M., red. Flavour perception aroma evaluation. Proceedings of the 5th Wartburg Aroma Symposium, Eisenach. Universitat Potsdam, 234-242
  21. Jagiella T., Grosch W. (1999a). Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.). II. Odour activity values of desirable and undesirable odorants of black pepper. Eur. Food Res. Technol., 209, 22-26

22. Jagella T., Grosch W. (1999b). Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.). III. Desirable and undesirable odorants of white pepper. Eur. Food Res. Technol., 209, 27-31
23. Jeleń H. (2004). Związki zapachowe żywności wyzwanie dla analityka. Przem. Spoż., 5, 18-22
24. Jeleń H., Wlazły K., Wąsowicz E., Kamiński E. (1998). Solid – phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer. Comparison with statistic headspace method. J. Agric. Food Chem., 46, 1469-1473
25. Jeleń H., Obuchowska M., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E. (2000). Headspace Solid-Phase Microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. J. Agric. Food Chem., 48, 2360-2367
26. Jirovetz L., Buchbauer G., Ngassoum M. B., Geissler M. (2002). Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction–gas chromatography, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry. J. Chromatogr. A, 976, 265-275
27. Jirovetz L., Buchbauer G., Shafi P. M., Rosama M. K., Geissler M. (2001). Analysis of the composition and aroma of the essential leaf oil of *Syzygium travancoricum* from South India by GC-FID, GC-MS, and olfactometry. Seasonal changes of composition. Chromatogr., 53, 372-374
28. Kamiński E., Wąsowicz E., Zawirska-Wojtasiak R., Czaczyk K., Trojanowska K. (1991). Effect of irradiation dose on sensory characteristics and microbiological contamination of chosen seasonings. Acta Alimen. Pol., 17, 80-87
29. Kim T., Lee S. M., Kim Y. S., Kim K. H., Oh S., Lee H. J. (2003). Aroma dilution method using GC injector split ratio volatile compound extracted by headspace solid phase microextraction. Food Chem., 83, 151-158
30. Klimankova E., Holadova K., Hajslova J., Cajka T., Poustka J., Koudela M. (2008). Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. Food Chem., 107, 464-472
31. Klimek R. (1957). Olejki eteryczne. Warszawa: Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego
32. Kubickova J., Grosch W. (1998). Quantification of potent odorants in Camembert cheese and calculation of their odour activity values. Int. Dairy J., 8, 17-23

33. Larkov O., Dunkelblum E., Zada A., Lewinsohn E., Freiman L., Dudai N., Ravid U. (2005). Enantiomeric composition of (*E*)- and (*Z*)-sabinene hydrate and their acetates in five *Origanum* spp. *Flavour Fragr. J.*, 20, 109-114
34. Lehotay S., Hajsova J. (2002). Application of gas chromatography in food analysis. *Trends Anal. Chem.*, 21, 686-697
35. Li H., Tao Y. S., Wang H. (2008). Impact odorants of Chardonnay dry wine from Changli County (China). *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 287-292
36. Likens S. T., Nickerson G. B. (1964). Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Am. Soc. Brew. Chem. Proc.*, 5-13
37. Lüntzel Ch. S., Widder S., Vossing T., Pickenhagen W. (2000). Enantioselective syntheses and sensory properties of the 3-mercapto-2-methylpentanols. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 424-427
38. Majcher M. A., Jeleń H. H. (2005). Identification of potent odorants formed during the preparation of extruded potato snacks. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 6432-6437
39. Masada Y. (1976). Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. New York: John Wiley
40. Masanetz C., Grosch W. (1998). Hay-like off-flavour of dry parsley. *Z. Lebensm. Unter. Forsch.*, 206, 114-120
41. Mazida M. M., Salleh M. M., Osman H. (2005). Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *J. Food Compos. Anal.*, 18, 427-437
42. Mildner-Szkodlarz S., Jeleń H., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E. (2003). Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chem.*, 83, 515-522
43. Mildner-Szkodlarz S., Bajerska J., Zawirska-Wojtasiak R. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *J. Sci. Food Agric.*, 2, 389-395
44. Moon S-Y., Cliff M. A., Li- Chan E. C. Y. (2006). Odour - active components of simulated beef flavour analysed by solid phase microextraction and gas chromatography - mass spectrometry and olfactometry. *Food Res. Int.*, 39, 294-308
45. Morrison R. T., Boyd R. N. (1996). *Chemia organiczna*. Warszawa: PWN
46. Mosandl A. (1995). Enantioselective capillary gas chromatography and stable isotope ratio mass spectrometry in the authenticity control of flavors and essential oils. *Food Rev. Int.*, 11, 597-664

47. Mosandl A., Heusinger G., Messner M. (1986). Analytical and sensory differentiation of 1-octen-3-ol enantiomers. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 119-122
48. Mosandl A., Kreis P. (1992). Chiral compounds of essential oils. Part 11. Simultaneous stereoanalysis of lavender oil constituents. *Flavour Fragr. J.*, 7, 187-193
49. Novak J., Bitsch Ch., Langbehn J., Pank F., Skoula M., Gotsiou Y., Franz Ch. M. (2000). Ratios of cis- and trans- sabinene hydrate in *Origanum majorana* L and *Origanum microphyllum* (Benth) Vogel. *Biochem. Sys. Ecol.* 28, 697-704
50. Pacynski M., Zawirska-Wojtasiak R., Mildner-Szkudlarz S. (2015). Improving the aroma of gluten-free bread. *LWT-Food Sci. Technol.*, 1, 706-713
51. Pawliszyn J. (1997). *Solid Phase Microextraction – Theory and Practice*. New York: Wiley VCH
52. Plutowska B., Wardencki W. (2008). Application of gas chromatography – olfactometry (GC-O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. *Food Chem.*, 107, 449-463
53. PN-ISO 6571:2001. Przyprawy i zioła. Oznaczanie zawartości olejku eterycznego. Polski Komitet Normalizacyjny
54. Pyysalo T., Suihko M., Honkanen E. (1977). Odour thresholds of major volatiles identified in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) and arctic bramble (*Rubus arcticus* L.). *Lebensm. Wiss. Technol.*, 10, 36-39
55. Richter J., Schellenberg I. (2007). Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, 2207-2217
56. Roberts D. D., Pollien P., Milo C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2430-2437
57. Rothe M., Thomas B. (1963). Aromastoffe in Brot. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 109, 302-310
58. Schuh Ch., Schieberle P. (2006). Characterization of key aroma compounds in the beverage prepared from Darjeeling black tea: quantitative differences between tea leaves and infusion. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 916-924
59. Schurig V. (2001). Separation of enantiomers by gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, 906, 275-299

60. Snow N. H., Slack G. C. (2002). Headspace analysis in modern gas chromatography. *Trends Anal. Chem.*, 21, 608-617
61. Stampanoni-Koeferli Ch. R. (1998). Ujednoczenie słownictwa sensorycznego – definicje wyróżników smakowości. *Przem. Spoż.*, 4, 36-39
62. Stashenko E. E., Martinez J. R. (2007). Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70, 235-242
63. Steffen A., Pawliszyn J. (1996). Analysis of flavor volatiles using Headspace Solid-Phase Microextraction. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2187-2193
64. Stoyanova A., Konakchiev A., Kermedchieva D. (2001). Studies on the essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. Var. Dulce Mill. From Bulgaria. *Herba Pol.*, 47 (4), 290-294
65. Teranishi R. (1997). Development and uses of odor threshold. W: Kruse H. P., Rothe M., red. Flavour perception aroma evaluation. Proceedings of the 5th Wartburg Aroma Symposium, Eisenach. *Universitat Potsdam*, 171-177
66. Teranishi R., Buttery R. G., Stern D. J., Takeoka G. (1991). Use of odour thresholds in aroma research. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 24, 1-5
67. Ullrich F., Grosch W. (1987). Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autooxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 184, 277-282
68. Venskutonis P. R. (1997). Flavour of some in Lithuania cultivated aromatic herbs: instrumental and sensory evaluation. W: Kruse H. P., Rothe M., red. Flavour perception aroma evaluation. Proceedings of the 5th Wartburg Aroma Symposium, Eisenach. *Universitat Potsdam*, 295-306
69. Weber B., Maas B., Mosandl A. (1995). Stereoisomeric distribution of some chiral sulfur-containing trace components of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2438-2441
70. Wojtowicz E. (2009). Aromat roślin przyprawowych w procesie sterylizacji parą wodną. Praca doktorska. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
71. Wojtowicz E. (2015). Aroma analysis of herbal raw materials for chicory coffee. *Polish J. Commodity Sci.*, 3, 78-84
72. Wojtowicz E., Przygoński K., Remiszewski M., Korbas E. (2013a). The study of bioactive and sensory characteristic of dried plant extracts. W: *Current Trends in Commodity Science: Food Bioactive Compounds*, Poznań University of Economics, 20-30

73. Wojtowicz E., Zawirska-Wojtasiak R., Adamiec J., Pacyński M., Przygoński K. (2013b). Aroma of decontaminated leaf and fruit spices. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 3, 393-403
74. Wojtowicz E., Zawirska-Wojtasiak R., Adamiec J., Wąsowicz E., Przygoński K., Remiszewski M. (2010). Odour active compounds content in spices and their microencapsulated powders measured by SPME. *J. Food Sci.*, 8, 441-445
75. Zawirska-Wojtasiak R. (2004). Charakterystyka składu enancjomerów w wybranych aromatach pochodzenia naturalnego i jej wykorzystanie w kontroli autentyczności tych aromatów. *Rozprawy naukowe. Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*, zeszyt 352
76. Zawirska-Wojtasiak R. (2007). Substancje generujące wrażenia zmysłowe. W: *Zmysły a jakość żywności i żywienia*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego
77. Zawirska-Wojtasiak R., Kamiński E., Jeleń H. (1995). Charakterystyka aromatu słodu jęczmiennego. Cz. II. Zastosowanie techniki olfaktometrycznej połączonej z chromatografią gazową do analizy słodu jęczmiennego. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 11, 15-18
78. Zawirska-Wojtasiak R., Wojtowicz E., Przygoński K., Olkowicz M. (2014). Chlorogenic acid in raw materials for the production of chicory coffee. *J. Sci. Food Agric.*, 94, 2118-2123
79. Zeller B. A., Dugo P., Dugo G., Mondello L. (2008). Gas chromatography – olfactometry in food flavour analysis. *J. Chromatography A*, 1186, 123-143