

IDENTYFIKACJA ALKILOBENZENÓW POWSTAJĄCYCH W MODELOWEJ REAKCJI RYBOZY Z LIZYNĄ

IDENTIFICATION OF ALKYL BENZENES BEING FORMED IN THE MODEL REACTION OF RIBOSE WITH LYSINE

Elżbieta Biller

Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła
Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

Słowa kluczowe: żywność, lotne związki, alkilobenzeny, fenylalkany, reakcje Maillarda

Key words: food, volatile compounds, alkylbenzenes, phenylalkanes, Maillard reactions

STRESZCZENIE

Wprowadzenie. Alkilobenzeny należą do zanieczyszczeń żywności i mogą pochodzić z detergentów, oleju napędowego, osadów geologicznych, ale uzyskano je także w reakcjach *Maillarda*. Ich obecność stwierdzono badając lotne związki powstające w warunkach modelowych symulujących pieczenie mięsa (reakcja rybozy z lizyną). Substancje te nie podlegają rutynowemu monitorowaniu w żywności, chociaż wspomniana reakcja wykazała, że powstawanie ich w wysokiej temperaturze jest możliwe.

Cel. Celem pracy była próba identyfikacji alkilobenzenu powstającego w modelowej reakcji rybozy z lizyną.

Material i metody. Przygotowano równe objętości mieszanin reakcyjnych rybozy (0,1 mol/dm³) i lizyny (0,1 mol/dm³) w proporcji 10 cm³ + 10 cm³. Do każdej próbki dodawano roztwór buforu cytrynianowo-fosforanowego w celu ustalenia pH na poziomie 5,6 odwzorowując w ten sposób pH mięsa. Reakcję prowadzono w opiekaczu gastronomicznym w temperaturze 185±5°C w czasie: 0, 5, 10, 15, 30, 45 i 60 minut. Alkilobenzeny oznaczono metodą GC-MS, badając profil lotnych związków. Otrzymane substancje identyfikowano porównując ich widma masowe (MS) z widmami znanych związków zawartych w bibliotekach widm, wyliczając ich indeksy retencji (LRI), szukając analogicznych substancji o zbliżonych LRI w innych publikacjach. Ilość badanych związków podawano w wartościach względnych [-], wyliczając proporcje pola powierzchni pików danej substancji do pola powierzchni sygnału wzorca wewnętrznego (IS)

Wyniki. Rodzaje zidentyfikowanych związków i ich ilości zależały od czasu prowadzenia reakcji. Maksymalnie obserwowano tworzenie się 16 związków. Podjęta próba identyfikacji tych związków pozwoliła na ich potwierdzenie z prawdopodobieństwem 85-90%. W celu ich dokładnego zbadania należałoby zastosować wielowymiarową metodę GC×GC-MS lub inne metody chromatograficzne.

Wnioski. Identyfikacja produktów powstających podczas pieczenia mięsa jest niezwykle ważnym zagadnieniem, ponieważ stanowią one niepożądane ze zdrowotnego punktu widzenia zanieczyszczenia żywności. W związku z tym powinny one podlegać rutynowemu monitorowaniu w żywności.

ABSTRACT

Background. While studying volatile compounds in model experiments which simulated the broiling of meat (the reactions of ribose with lysine), there were alkylbenzenes identified. They belong to food contaminants and they could be originated from the detergents and petroleum as well as geochemical samples, but they were also obtained in *Maillard* reactions.

Objective. The aim of the studies was the attempt of the alkylbenzenes identification being formed in the model reaction of ribose with lysine.

Material and methods. Aqueous solutions of ribose and lysine (at concentration of 0.1 mol/dm³ each) were mixed in equal volumes 10 cm³ + 10 cm³. The pH of the mixtures were adjusted to 5.6 using citrate-phosphorous buffer. In that way conditions simulating pH of meat were obtained. The mixtures were heated inside the gastronomic roaster during 0, 5, 10, 15, 30, 45 and 60 minutes respectively, at the temperature 185±5°C. After reactions, in the mixtures, the profiles of volatile compounds, including alkylbenzenes, were analyzed by GC-MS method. The compounds were being identified by: comparing each mass spectrum (MS) with spectra from the known libraries of MS; calculating the linear retention indexes (LRI);

Adres do korespondencji: Elżbieta Biller, Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c, tel. +48 22 5937074, e-mail: elzbieta_biller@sggw.pl

seeking similar LRI values of analogue compounds in literature. Amounts of volatiles were calculated in relation to amount of internal standard (IS) [-], dividing the area of the compound by area of IS.

Results. The kinds and amounts of alkylbenzenes depended on the duration of the reaction time. Maximally 16 various alkylbenzenes were developed. More of these compounds could be identified with the probability of 85-90%, using only MS, because of the lack information in literature. Moreover, the multi-dimensional GC×GC-MS or other chromatographic methods in order to make these compounds being better explored seems to be advisable.

Conclusions. The identification of the compounds being formed during broiling of meat is very important, because of the fact that many of arising substances are considered to be unhealthy and undesirable food contaminants. Thus these compounds should be routinely investigated in food products.

WSTĘP

Ryboza jest bardzo reaktywnym cukrem redukującym, który łatwo ulega reakcjom *Maillarda* [7, 15]. Podczas obróbki termicznej mięsa, ryboza, obok mniej reaktywnej glukozy [6, 12, 16], odpowiedzialna jest za powstawanie charakterystycznej brązowej barwy na powierzchni produktów oraz ich specyficzne cechy smakowo-zapachowe [4, 19]. Z tych powodów wykorzystywana jest jako materiał służący do badań modelowych symulujących warunki odzwierciedlające obróbkę termiczną mięsa [9, 17].

Wyniki wstępnych badań polegających na przeprowadzeniu modelowej reakcji rybozy z lizyną umożliwiły obserwację zjawiska nieenzymatycznego brązowienia mięsa i analizę powstających lotnych związków [3]. W badaniach zastosowano ten aminokwas, ponieważ ulega on wymienionym reakcjom szybciej niż pozostałe [18].

Oprócz lotnych związków, których obecności spodziewano się w mieszaninach poreakcyjnych, znajdowała się w nich grupa substancji trudna do identyfikacji. Ilość powstających związków i ich względne zawartości (w stosunku do ilości dodanego wzorca wewnętrznego), ulegały zmianie w zależności od czasu trwania reakcji polegającej na ogrzaniu: sukcesywnie wzrastały w próbkach ogrzewanych w czasie od 5 do 30 minut, istotnie zmniejszały się po 45 minutach reakcji, natomiast po 60 minutach prowadzenia procesu występowały one w stężeniach poniżej granic oznaczalności. Grupa ww. związków nie występowała także w próbce kontrolnej, nie poddanej reakcji nieenzymatycznego brązowienia. Porównanie widm badanych związków z widmami masowymi zawartymi w bibliotekach (NIST 147, PAL 600 oraz NIST 02) wykazało z prawdopodobieństwem wynoszącym od 85% do ponad 90%, że związki te to alkilobenzeny, a najprawdopodobniej fenylalkany.

Na temat alkilobenzenów w literaturze światowej nie ma wielu informacji. Wspomina się o nich w publikacjach dotyczących badań geologicznych. *Ellis* i wsp. [8] zidentyfikowali fenylalkany w ekstraktach organicznych pochodzących z osadów skalnych. Były one zbudowane z benzenu i łańcuchów węglowych o liczbach atomów węgla od 16 do 21. Ci sami autorzy

wykazali, że alkilobenzeny (fenylalkany) były także obecne w zużytych oleju ogrzewanym, a ich łańcuchy węglowe liczyły od 14 do 25 atomów węgla i były to inne związki niż te wyekstrahowane z osadów geologicznych. Analogiczne substancje, z łańcuchami węglowymi o długościach od C_{16} do C_{20} , są charakterystyczne dla surfaktantów. Jednak ich obecność we wszystkich równoległych badanych próbkach poreakcyjnych była zmienna w zależności od czasu reakcji i powtarzalna pod względem ilościowym i jakościowym.

Alkilobenzeny, w tym fenylalkany, są uważane za zanieczyszczenia środowiska. Posiadają zazwyczaj długie łańcuchy węglowe, mają charakter lipofilny i są odporne na biodegradację. Stanowią niepożądany produkt uboczny przy produkcji detergentów, rozpuszczalników, lakierów i kabli [2]. Związki te mają zdolność wiązania się z osadami hydrofilnymi i ze środowiska mogą przedostawać się do żywności. W ostatnich latach prowadzi się badania nad możliwością ich utylizacji mikrobiologicznej, ponieważ odpady olejowe mogą stanowić istotne źródło energii [1, 2]. Mogą być również składnikiem oleju napędowego [2]. Substancje te nie podlegają rutynowemu monitorowaniu w żywności, chociaż reakcja rybozy z lizyną wykazała, że ich powstawanie w wysokiej temperaturze jest możliwe. Wcześniej *Kocsis* i wsp. [13], badając profil aromatu czerwonej papryki zidentyfikowali dwa fenylalkany. Jednak autorzy ci nie skomentowali przyczyny ich obecności. Badania *Kocsis*'a i wsp. [13] oraz ogrzewanie rybozy z lizyną wskazują, że powinno zwrócić się uwagę na te związki, których obecności można spodziewać się w żywności.

Celem niniejszych badań była próba identyfikacji alkilobenzenów powstających w modelowej reakcji rybozy z lizyną.

MATERIAŁ I METODY

Odczynniki i przygotowanie próbek do badań.

Odczynniki: D-ryboza (SAFC Supply Solution, czystość $\geq 97\%$), L-lizyna (Sigma, czystość $\geq 98\%$), bufor cytrynianowo-fosforanowy o pH 4 (Chempur, $Na_2HPO_4 \cdot C_6H_8O_7 \cdot xH_2O$). Z D-rybozy i L-lizyny (od-

dzielnie) sporządzono wodne roztwory o stężeniu 0,1 mol/dm³ dodając wodę dejonizowaną. Z roztworów przygotowano równe objętości mieszanin reakcyjnych w proporcji: 10 cm³ rybozy + 10 cm³ lizyny. Do każdej próbki dodawano bufor cytrynianowo-fosforanowy w celu ustalenia pH na poziomie 5,6, odzwierciedlając w ten sposób pH mięsa. Reakcję prowadzono w opiekaczu gastronomicznym (Philips HD4454/A) w temperaturze 185±5°C w ciągu 0, 5, 10, 15, 30, 45 i 60 minut.

Oznaczenie lotnych związków

Oznaczenia wykonywano za pomocą chromatografu Shimadzu GCMS-QP 2010. Analizę przeprowadzono stosując następujące warunki: temperatura dozownika 200°C, wzrost temperatury pieca w zakresie 40-220°C (4°C/min), ciśnienie gazu (hel) 35,2 kPa, temperatura źródła jonów 170°C, energia jonizacji 70 eV, rodzaj kolumny ZB-WAX Plus (30 m × 0,25 mm; 0,25 μm). Wszystkie analizy wykonywano co najmniej w trzech powtórzeniach.

Warunki ekstrakcji lotnych związków

Do ekstrakcji zastosowano włókno ekstrakcyjne do SPME 75 μm CAR/PDMS (*carboxen/polydimethylsiloxane*), czas termostatowania próbki wynosił 20 minut, temperatura 60°C, czas ekstrakcji związków - 30 minut. Do próbek dodawano wzorzec wewnętrzny 1,2-dichlorobenzen (Fluka, czystość ≥99%). Masa dodanego wzorca wewnętrznego (IS) wynosiła 1,306 μg.

Metody identyfikacji lotnych związków

Analizie poddawano piki związków, których minimalny udział procentowy wynosił 0.05%. Porównywano widma masowe (MS) substancji nieznanych z widmami związków opublikowanych w bibliotekach NIST 147, PAL 600 oraz NIST 02. Wyliczano ich indeksy retencji (LRI) na podstawie wzorca węglowodorów (Fluka, C₈-C₂₀). Następnie próbowano potwierdzać ich

obecność porównując wyznaczone LRI z wynikami badań innych autorów [13] oraz z bazami danych [10, 20]. Jednak w ten sposób możliwe było potwierdzenie tylko dwóch związków. Większość substancji więc zidentyfikowano wyłącznie na podstawie MS, dlatego podano prawdopodobieństwo, z jakim były one podobne do wzorca opublikowanego w bibliotekach. Nazwy wszystkich związków podano zgodnie z nomenklaturą IUPAC.

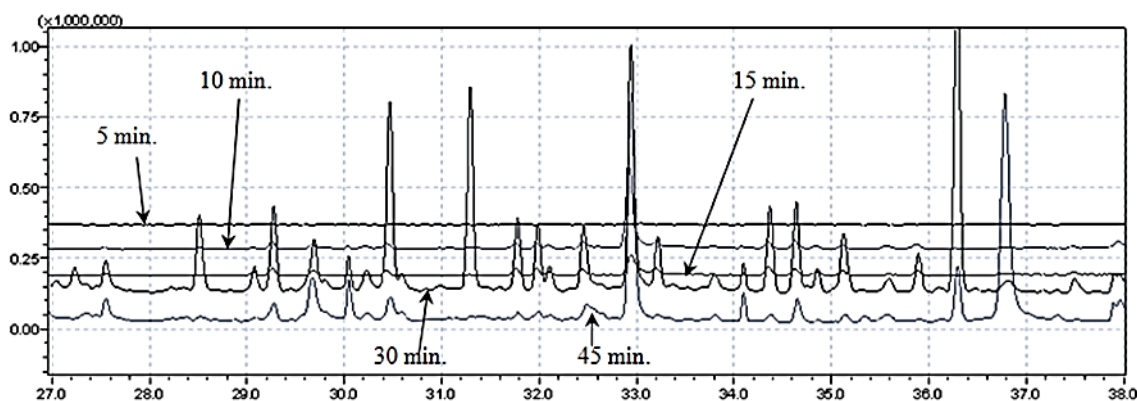
Obliczenie wyników

Ilość oznaczonych związków podano jako ich względną zawartość w stosunku do wzorca wewnętrznego. W tym celu podzielono pole powierzchni sygnału danej substancji przez pole powierzchni sygnału wzorca wewnętrznego (IS). Ponieważ pola powierzchni niektórych związków były nawet tysiąckrotnie mniejsze niż pole powierzchni pików IS, uzyskane wartości dzielenia były bardzo niskie (niektóre wynosiły <0,001 [-]), co utrudniłoby interpretację wyników. Dlatego ostatecznie uzyskane wartości pomnożono przez 1000 (jako jednostkę odniesienia przyjęto IS·1000 [-]).

Analiza statystyczna

W celu dokonania oceny statystycznej uzyskanych wyników badań zastosowano analizę wariancji ANOVA oraz analizę skupień. Obliczenia przeprowadzono wykorzystując pakiet statystyczny *Statistica* 9.0.

Szczegóły doświadczenia opublikowano w pracy *Biller* [3]. W jej ramach badano zjawisko nieenzymatycznego brązowienia zachodzące podczas modelowej reakcji rybozy z lizyną przeprowadzonej w warunkach symulujących proces opiekania/pieczczenia, uwzględniając analizę rodzaju powstających lotnych związków i smakowo-zapachowych, oraz badając ich właściwości. Następnie porównywano zjawiska nieenzymatycznego brązowienia zachodzące podczas reakcji modelowej



Ryc. 1. Porównanie chromatogramów uzyskanych podczas analizy mieszaniny poreakcyjnej rybozy z lizyną; 5, 10, 15, 30 i 45 min. – czas trwania reakcji

The comparison of the chromatograms obtained during the analysis of the postreaction's mixture of the ribose with lysine; duration of the reaction time - 5, 10, 15, 30 and 45 min.

z reakcjami przebiegającymi w mięsie pieczonym w analogicznych warunkach.

WYNIKI I DYSKUSJA

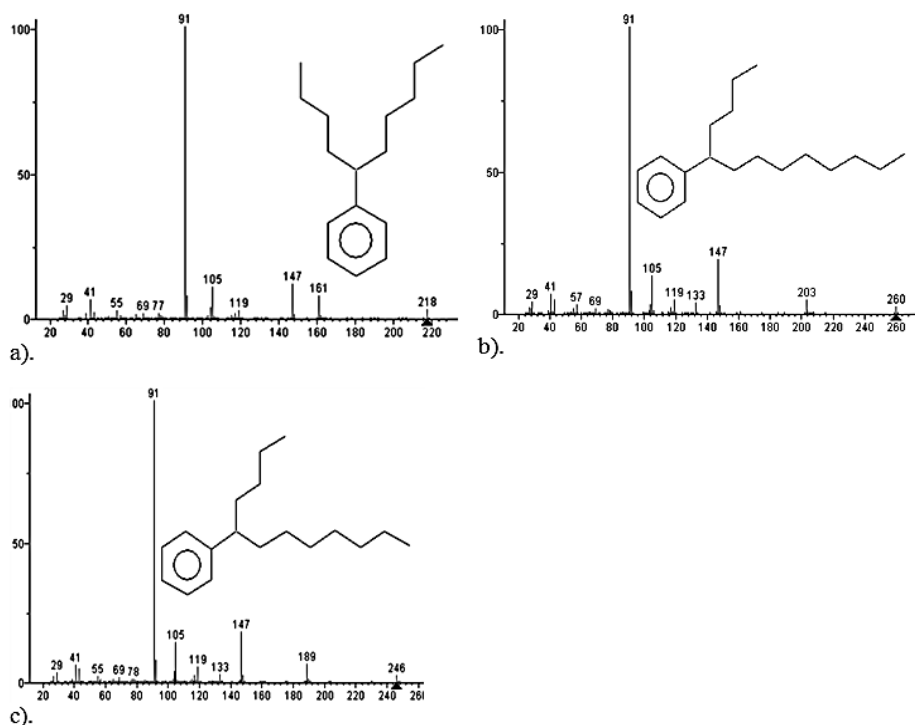
Alkilobenzeny charakteryzowały się czasem retencji (rt) 27-38 minut, dlatego na ryc. 1 zamieszczono fragmenty chromatogramów uwzględniające ten zakres czasu analizy.

Na tym etapie badań jedynie stwierdzono obecność tych związków bez możliwości potwierdzenia ich identyfikacji na podstawie innych materiałów źródłowych. Wszystkie te substancje charakteryzowały się podobną strukturą widm masowych (MS). Na ryc. 2. przedstawiono przykładowe widma masowe trzech różnych, losowo wybranych, związków.

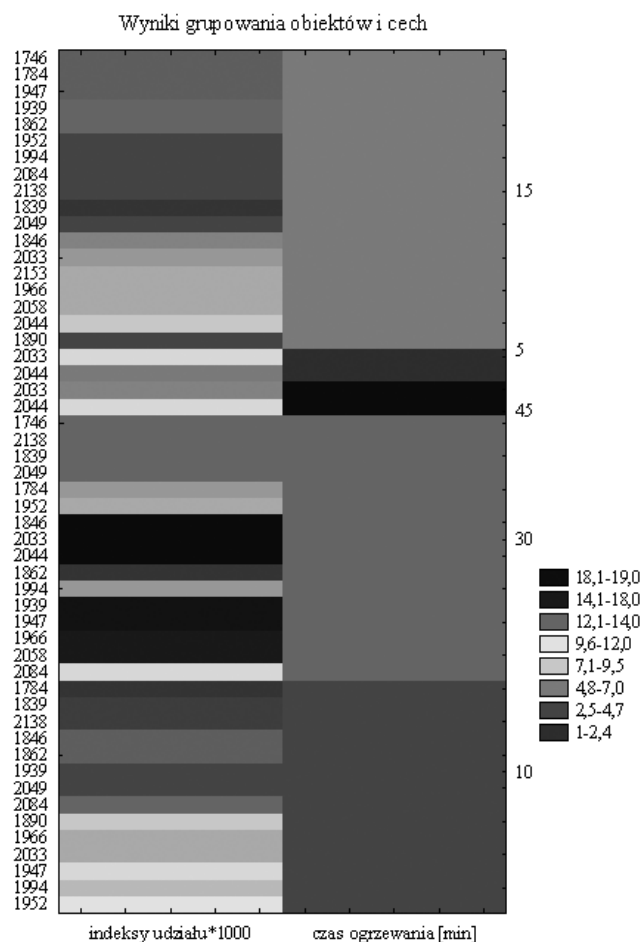
Wszystkie trzy związki posiadały ten sam pik bazowy (m/z 91) i wspólne inne piki znaczące. Ten sam problem dotyczył wszystkich pozostałych substancji z tej grupy. Do ich rozróżnienia potrzebne byłyby wartości indeksów retencji (LRI) wyznaczone przez innych autorów dla podobnego rodzaju kolumn, jednak w piśmiennictwie brakuje na ten temat danych. Dlatego większość związków można było zidentyfikować tylko wstępnie, podając prawdopodobieństwo, z jakim były one podobne do substancji bazowych występujących w bibliotekach NIST 147, PAL 600 i NIST 02. Prawdopodobieństwo to wahało się od 85 do 90% dla każdego przypadku.

Na podstawie wcześniejszych badań *Kocsis'a* i wsp. [13] można było potwierdzić identyfikację tylko dwóch związków. Były to: dodekan-5-ylbenzen (1-butylooktyl benzen, LRI 1930) i dodekan-4-ylbenzen (1-propylnonyl benzen, LRI 1949). Autorzy do badań zastosowali kolumnę Supelcowax 10 (30 m × 0,25 mm).

Przedstawione na ryc. 1 chromatogramy pokazują w jaki sposób zmieniała się liczba i intensywność sygnałów odpowiadających poszczególnym lotnym związkom. Po 5 minutach reakcji zidentyfikowano dwa trudno dostrzegalne piki o śladowych powierzchniach. Były to dwa alkilobenzeny, których czasy retencji i wartości indeksów retencji wynosiły odpowiednio: $34,36 \pm 0,04$ min. i 2033 ± 1 oraz $34,64 \pm 0,01$ min. i 2044 ± 5 (wartości średnie i odchylenia standardowe podano po uwzględnieniu danych pochodzących ze wszystkich etapów reakcji łącznie). Związek o wartości indeksów retencji 2033 ± 1 powstawał także po wszystkich kolejnych etapach reakcji (aż do 45 minuty), natomiast związek o oznaczeniu 2044 ± 5 nie występował tylko po 10 minutach ogrzewania rybozy z lizyną. Po 10 minutach procesu powstało czternaście różnych związków z tej grupy. Ich czasy retencji wynosiły od $27,55 \pm 0,00$ min. do $37,53 \pm 0,01$ min. Wartości indeksów retencji (LRI) dla tych substancji wynosiły od 1784 ± 0 do 2084 ± 1 . Profile wszystkich próbek poddano analizie skupień i przedstawiono na ryc. 3. Na lewej osi y zamieszczono rodzaje alkilobenzenów (ich LRI), powstające po poszczególnych minutach reakcji rybozy



Ryc. 2. Przykładowe widma masowe trzech różnych fenylalkanów: a) dekan-5-ylbenzen b). tridekan-5-ylbenzen, c) dodekan-5-ylbenzen
Examples of the mass spectrum of three different phenylalkanes: a) decan-5-ylbenzene, b) tridecan-5-ylbenzene, c) dodecan-5-ylbenzene



Ryc. 3. Wyniki analizy skupień fenylalkanów powstających w reakcji rybozy z lizyną; oznaczenia osi: oś y(lewa) – rozrzut LRI w poszczególnych próbach, oś y(prawa) – czas reakcji [min]; tony barw odpowiadają indeksom udziału pojedynczych związków w poszczególnych próbach; ilości [-] odzwierciedlające tony barw podano w legendzie

The results of the cluster analysis of the phenylalkanes being formed in the reaction between ribose and lysine; the axis notations: y(left) - LRI dispersion in the respective samples, y(right) - the duration of the reaction [min]; colours' saturation represents the amounts [-] of the individual compounds in particular samples; the legend includes the values that reflect various saturations of colours

z lizyną (oś y prawa). Różna intensywność szarości dla związków o danym LRI (lewy y) oznacza ich różną względną ilość w stosunku do IS=1000 [-]. W legendzie podano wartości liczbowe [-] odpowiadające poszczególnym odcieniom szarości.

Po 15 minutach reakcji powstało siedemnaście różnych związków, które charakteryzowały się czasem retencji od 26,45±0,01 min. do 37,96 min. (ostatni z nich występował tylko raz). Ich wartości LRI wynosiły od 1746±0 do 2153. W porównaniu z poprzednim etapem, po 15 minutach, powstały dodatkowo substancje o indeksach retencji: 1746±0 i 2058±0 oraz wymienione wcześniej: 2044±5 i 2153. Po 30 minutach ogrzewania

w mieszaninie poreakcyjnej było szesnaście potencjalnych fenylalkanów. Ich czas retencji zawierał się w granicach od 26,45±0,01 min. (LRI 1746±0) do 37,53±0,01 min. (LRI 2084±1). Były to dokładnie te same substancje, które obserwowano po 15 minutach (bez 2153), natomiast ich udziały były istotnie wyższe. Po 45 minutach znajdowały się tylko dwa związki, dokładnie te same, które oznaczono po 5 minutach reakcji.

Zawartość pojedynczych substancji była śladowa, wynosiła od kilku do kilkunastu jednostek [-] (odniesionych do IS=1000 [-]), ale ich liczba, zwłaszcza po 10, 15 i 30 minutach ogrzewania, była znacząca. Analiza wariacji wykazała, że udziały poszczególnych substancji były uzależnione od czasu ogrzewania. Po 30 minutach reakcji powstawały one w istotnie większych ilościach niż po 10 i 15 minutach. Ich poziomy po 5 i 45 minutach procesu był zbliżony. Po 60 minutach ogrzewania związków tych nie stwierdzono w żadnej z prób, pomimo kilkukrotnych powtórzeń. Nie było ich również w próbie nie poddanej reakcji.

Przeprowadzona analiza GC-MS uprawniała jedynie do orientacyjnej identyfikacji omawianych fenylalkanów, jednak z bardzo wysokim prawdopodobieństwem, którego zakres podano wyżej, można wyszczególnić ich rodzaje. Wśród nich mogły znajdować się: dekan-5-ylbenzen ($C_{16}H_{26}$), heksan-3-ylbenzen ($C_{12}H_{18}$), dodekan-6-ylbenzen ($C_{18}H_{30}$), undekan-4-ylbenzen ($C_{17}H_{28}$), tridekan-3-ylbenzen ($C_{19}H_{32}$), dodekan-5-ylbenzen ($C_{18}H_{30}$), dodekan-2-ylbenzen ($C_{18}H_{30}$), dekan-3-ylbenzen ($C_{16}H_{26}$), tridekan-5-ylbenzen ($C_{19}H_{32}$), tridekan-4-ylbenzen ($C_{19}H_{32}$), undekan-5-ylbenzen ($C_{17}H_{28}$), dodekan-4-ylbenzen ($C_{18}H_{30}$).

Aby rozróżnić poszczególne substancje należałoby zastosować wielowymiarową chromatografię gazową połączoną ze spektrometrią mas. Taką technikę zastosowali *Ratel i Engel* [21] do oznaczenia szkodliwych lotnych pochodnych benzenowych i chlorków zawartych w żywności, uzyskując siedmiokrotnie większą czułość analizy w przypadku zastosowania GC×GC-TOF/MS w porównaniu z GC-Quad/MS.

Badanie obecności alkilobenzenów w żywności jest uzasadnione nie tylko ze względów żywieniowych, a także funkcjonalnych. Reakcje *Maillarda* zmieniają bowiem właściwości fizyczne białek wpływając np. na zwiększenie ich lepkości [5], poprawiają właściwości emulgujące przy jednoczesnym zwiększeniu ich odporności na wysoką temperaturę [11] oraz wpływają na zmiany napięcia powierzchniowego [14]. Mechanizmy większości tych zmian nie są jeszcze poznane. Tymczasem większość z nich można byłoby wyjaśnić obecnością fenylalkanów lub innych alkilobenzenów.

WNIOSKI

1. Badania wykazały, że w wyniku reakcji rybozy z lizyną mogą powstawać alkilobenzeny. Ich pełna identyfikacja nie była możliwa. Ostatecznie większość związków zidentyfikowano z prawdopodobieństwem w zakresie 85-90%.
2. Substancji tych nie można dokładnie zidentyfikować za pomocą techniki GC-MS ponieważ posiadają prawie identyczne widma masowe, dlatego do ich oznaczania należałoby stosować chromatografię wielowymiarową.
3. Monitorowanie zawartości tych związków w żywności powinno być prowadzone rutynowo, ponieważ stanowią one niepożądane, ze zdrowotnego punktu widzenia, zanieczyszczenia żywności.
9. *El-massry K., Farouk A., El-Ghorab A.*: Volatile constituents of glutathione – ribose model system and its antioxidant activity. *Amino Acids* 2003, 24, 171-177.
10. *El-Sayed A.M.*: The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. HortResearch, Lincoln, New Zealand, (baza danych).
11. *Jing H., Yap M., Wong P.Y.Y.*: Comparison of physicochemical and antioxidant properties of egg-white proteins and fructose and inulin Maillard reaction products. *Food Bioprocess Technol.* 2011, 4, 1489-1496.
12. *Kautsidis G., Elmore J.S., Oruna-Concha M.J., Campo M.M., Wood J.D., Mottram D.S.*: Water-soluble precursors of beef flavor. Part II: effect of post-mortem conditioning. *Meat Sci.* 2007, 79, 270-277.
13. *Kocsis N., Amtmann M., Mednyánszky Z., Korányi K.*: GC-MS investigation of aroma compounds of Hungarian red paprika (*Capsicum annuum*) cultivars. *J. Food Compos. Anal.* 2002, 15, 195-203.
14. *Kreuz M., Krause I., Kulozik U.*: Influence of glycosylation on foaming properties of bovine caseinomacropепptide. *Int. Dairy J.* 2009, 19, 715-720.
15. *Laroque D., Inisan C., Berger C., Vouland É., Dufossé L., Guérard F.*: Kinetic study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity. *Food Chem.* 2008, 111, 1032-1042.
16. *Meinert L., Schäfer A., Bjerregaard Ch., Aaslyng M.D., Bredie W.L.P.*: Comparison of glucose, glucose 6-phosphate, ribose, and mannose as flavour precursors in pork; the effect of monosaccharide addition on flavour generation. *Meat Sci.* 2009, 81, 419-425.
17. *Meynier A., Mottram D.S.*: The effect of pH on the formation of volatile compounds in meat-related model system. *Food Chem.* 1995, 52, 361-366.
18. *Monti S.M., Bailey R.G., Ames J.M.*: The influence of pH on the non-volatile reaction products of aqueous Maillard model systems by HPLC with diode array detection. *Food Chem.* 1998, 62, 63, 369-375.
19. *Mottram D.S.*: Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 1998, 62(4), 415-424.
20. *Mottram R.*: The LRI and Odour Database. Flavour Research Group, School of Food Biosciences, University of Reading, UK, (baza danych).
21. *Ratel J., Engel W.*: Determination of benzenic and halogenated volatile organic compounds in animal-derived food products by one-dimensional and comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2009, 1216, 7889-7898.

PIŚMIENNICTWO

1. *Awe S., Mikolasch A., Hammer E., Schauer F.*: Degradation of phenylalkanes and characterization of aromatic intermediates acting as growth inhibiting substances in hydrocarbon utilizing yeast *Candida maltose*. *Int. Biodet. Biodegr.* 2008, 62, 408-414.
2. *Awe S., Mikolasch A., Schauer F.*: Formation of coumarins during the degradation of alkyl substituted aromatic ail components by yeast *Trichosporon asahii*. *Appl. Microb. -Cell Physiol.* 2009, 84, 965-976.
3. *Biller E.*: Studia nad brązowaniem nieenzymatycznym i kształtowaniem cech smakowo-zapachowych w warunkach modelowych i w mięsie pieczonym. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
4. *Calkins C.R., Hodgen J.M.*: A fresh look at meat flavor. *Meat Sci.* 2007, 77, 63-80.
5. *Carzo-Martínez M., Moreno F.J., Villamiel M., Harte F.M.*: Characterization and improvement of rheological properties of sodium caseinate glycosylated with galactose, lactose and dextran. *Food Hydrocol.* 2010, 24, 88-97.
6. *Chevalier F., Chobert J.-M., Popineau Y., Nicolas M.G., Haertle T.*: Improvement of functional properties of β -lactoglobulin glycosylated through the Maillard reaction in related to the nature of the sugar. *Intern. Dairy J.* 2001, 11, 145-152.
7. *Chobert J.-M., Gaudin J.-Ch., Dalgalarrodo M., Haertlé Th.*: Impact of Maillard type glycation on properties of beta-lactoglobulin. *Biotechnol. Adv.* 2006, 24, 629-632
8. *Ellis L., Langworthy T.A., Winans R.*: Occurrence of phenylalkanes in some Australian crude oils and sediments. *Org. Geochem.* 1996, 24(1), 57-69.

Otrzymano: 05.12.2011

Zaakceptowano do druku: 19.09.2012