

URSZULA MICHALSKA, HENRYK JELEŃ, ERWIN WĄSOWICZ

CHARAKTERYSTYKA ZWIĄZKÓW LOTNYCH WYIZOLOWANYCH Z ZAKWASU Z MAKI ŻYTNIEJ

Streszczenie

Celem pracy była analiza związków lotnych wytwarzanych przez mikroorganizmy podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, przeznaczoną do przygotowania żurku. Po 24, 48, 72 h fermentacji w 20°C pobierano próby i analizowano związki lotne oraz kwasy organiczne metodami chromatograficznymi, a także monitorowano wartość pH.

Do wyodrębnienia z zakwasu związków lotnych zastosowano metodę destylacyjno - ekstrakcyjną oraz techniki analizy fazy nadpowierzchniowej (tzw. headspace): statyczny headspace i dynamiczny headspace. Do rozdzielenia związków lotnych wykorzystano techniki chromatografii gazowej stosując kolumny kapilarnie z fazami stacjonarnymi o zróżnicowanej polarności HP - 5 i Stabilwax połączone z detektorem ECD, FID, spektrometrem masowym oraz analizę olfaktometryczną.

Do rozdzielenia kwasów organicznych zastosowano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z kolumną HPX - 87H oraz detektorem adsorpcyjnym Dual Absorbance Detector 2487.

W wyniku przeprowadzonych analiz zidentyfikowano 26 związków lotnych: 6 kwasów, 7 alkoholi, 4 aldehydy, 5 estrów, 2 ketony, 1 związek heterocykliczny i 1 węglowodór.

Wstęp

O jakości żywności fermentowanej decydują mikroorganizmy, których metabolity mają z reguły korzystny wpływ na aromat i smak produktu. Dużym zainteresowaniem naukowców cieszą się bakterie mlekowe, które stosowane są w procesach fermentacji zakwasów chlebowych [7, 22-25], do produkcji sera twarogowego i serów dojrzewających [21, 26], fermentowanych napojów mlecznych [11, 17], wytwarzania kiszonek roślinnych [27], dojrzewania niektórych gatunków win [13], fermentacji mięsa, wędlin, ryb [2, 8], nasion roślin strączkowych, oliwek, kawy, sporządzania żurku oraz wielu innych produktów [9, 10, 15].

Przedmiotem pracy była analiza związków lotnych oraz kwasów organicznych wytwarzanych przez mikroorganizmy w żurku. Do chwili obecnej zidentyfikowano kilkadziesiąt związków chemicznych, które są produktami metabolizmu bakterii mlekowych i innych mikroorganizmów [10, 21, 26]. Jednak brak jest opracowań dotyczących związków smakowo-zapachowych powstających podczas naturalnej fermentacji żurku, stosowanego do przygotowania zupy. W związku z powyższym celem niniejszej pracy była charakterystyka tych związków. Powstające w procesie fermentacji związki lotne oraz kwasy organiczne analizowano technikami GC, GC/MS i HPLC.

Material i metody badań

Do badań użyto mąkę razową z żyta odmiany Dańkowskie Złote, wyprodukowaną w gospodarstwie ekologicznym w Okonku. Proces fermentacji mieszaniny mąki żytniej z wodą w proporcjach 4 : 1 (v/v) prowadzono w temperaturze 20°C przez trzy dni. Próby pobierano po 24, 48 i 72 h fermentacji oraz monitorowano wartość pH.

Analiza związków lotnych metodami chromatografii gazowej

1) Wyodrębnianie związków lotnych metodą Nickersona - Likensa

Zasada metody opiera się na destylacji związków lotnych z parą wodną i jednoczesnej ich ekstrakcji niskowrzącymi rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaniną. Izolację przeprowadzono w aparacie opisanym przez Likensa i Nickersona [12], później zmodyfikowanym przez Flath a i Forrey a [5]. Do analizy użyto 2 litry zakwasu oraz 20 ml mieszaniny izopentan/eter w stosunku 1:1 (v/v) z tetradkanem jako standardem wewnętrznym w ilości 4 µl/ml. Po zakończeniu ekstrakcji (2h) próby zagęszczano do objętości 4 ml, wymrażano wodę i наносzono na chromatograf gazowy.

2) Wyodrębnianie związków lotnych metodą barbotażu

Próba o objętości 2 litrów została umieszczona w kolbie Erlenmeyera o pojemności 5 litrów, której korek był wyposażony w rurkę doprowadzającą gaz do dna kolby oraz dwa wyloty zakończone pułapkami, wypełnionymi polimerem Tenax GR (Alltech Associates, USA). Tenax w ilości 120 mg był umieszczany w rurce o średnicy zewn. 6 mm (średnica wewn. 4 mm), pomiędzy zatyczkami z silanizowanej wełny szklanej. Przed analizą pułapki były kondycjonowane w temp. 200°C przez 3 h przy przepływie azotu 5.0 150 ml/min, a następnie ochłodzone do temperatury pokojowej.

Próbka umieszczona w kolbie była przedmuchiwana azotem 5.0 (przepływ 100 ml/min, 1 h). Wyodrębnianie związków lotnych przeprowadzono w temperaturze 20°C. Ekstrahowane w ten sposób związki lotne były adsorbowane na powierzchni polimeru. Desorpcję związków przeprowadzono przemywając pułapkę 1 ml mieszaniny eter etylowy/izopentan z tetradkanem jako standardem wewnętrznym (4 µl/ml). Ekstrakt

zagęszczano do objętości około 100 μl w strumieniu azotu i наносono na kolumnę chromatografu gazowego.

3) Wyodrębnianie związków lotnych metodą statycznego headspace

Analizy przeprowadzono za pomocą automatycznego samplera HP 7694, umożliwiającego nastrzyk stałej objętości par z nadanalitu na kolumnę chromatograficzną. Do analizy użyto po 10 ml próbki. Zakwas sączono przez sączek bibułowy (Filtrak 389), a następnie odmierzoną objętość zamykano w naczyniu o pojemności 20 ml, które było następnie termostatowane przez 20 min w temp. 50°C. Po ustaleniu się w naczyniu równowagi, 1 ml par był nastrzykiwany na kolumnę chromatografu gazowego.

Identyfikacja związków lotnych

Identyfikację związków lotnych przeprowadzono za pomocą spektrometrii masowej, porównując widma analizowanych substancji z widmami masowymi zawartymi w bibliotece NBS 75K, zawierającej około 75000 związków, a także przez porównanie widm i czasów retencji ze standardami.

Stosowana aparatura

Chromatograf gazowy firmy Hewlett Packard 5890 II z detektorem masowym MSD 5971B. Rozdział związków lotnych przeprowadzono na kolumnie MDN 5 (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm). Próby наносono w ilości 2 μl w systemie splitless.

Chromatograf gazowy firmy Hewlett Packard 5890II z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID, wyposażonym w kolumnę HP-5 (30 m \times 0,32 mm \times 0,25 μm) i przystawkę umożliwiającą wachanie frakcji.

Chromatograf gazowy firmy Hewlett Packard 6890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID i detektorem selektywnego wychwytu elektronów ECD. Chromatograf współpracował z przystawką do analizy fazy nadpowierzchniowej Hewlett Packard 7694. Rozdział związków lotnych przeprowadzono na kolumnie kapilarnej Stabilwax (30 m \times 0,32 mm \times 1,0 μm) w przypadku detektora FID oraz HP-5 (30 m \times 530 μm \times 1,5 μm) przy użyciu detektora ECD.

Analiza kwasów organicznych metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC

Analizy wykonano za pomocą chromatografu cieczowego firmy Waters 2690 z użyciem detektora Dual Absorbance Detector 2487 przy następujących parametrach: eluent 0,0004 M H_2SO_4 , kolumna HPX-87H firmy BIORAD, temp. rozdziału 35°C, przepływ 0,6 ml/min, długość fali 210 nm. Po wirowaniu próby przy 1500 \times g przez 5 minut наносono ją na kolumnę w ilości 10 μl . Analizę jakościową przeprowadzono poprzez porównanie chromatogramów i czasów retencji ze standardami.

Wyniki

W żurkach zidentyfikowano 26 związków lotnych, w tym: 6 kwasów, 7 alkoholi, 4 aldehydy, 5 estrów, 2 ketony, 1 związek heterocykliczny i 1 węglowodór (tab. 1).

Tabela 1

Związki lotne wyizolowane podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą.

Volatile compounds isolated during spontaneous fermentation of rye flour with water.

Grupa związków Group of compounds	Związek Compound	Metoda izolacji Isolation method	Występowanie związków podczas fermentacji Presence of compounds during fermentation		
			t = 24 godz./h	t = 48 godz./h	t = 72 godz./h
			(5,86)*	(4,36)*	(3,81)*
aldehydy aldehydes	heksanal / hexanal	DH,SDE	+	+	+
	heptanal / heptanal	DH,SDE	+	+	+
	nonanal / nonanal	DH,SDE	+	+	+
	aldehyd octowy / acetaldehyde	SH	+	+	+
alkohole alcohols	3-metylo-1-butanol / 3-methylbutanol	SH,SDE	+	+	+
	1-heksanol / 1-hexanol	DH,SDE	+	+	+
	2-etylo-1-heksanol / 1-hexanol,2-ethyl ethanol / ethanol	DH,SDE	+	+	+
	1-propanol / 1-propanol	SH	+	+	+
	butanol / butanol	DH,SDE	+	+	+
	1-oktanol / 1-octanol	SH	+	+	+
estry esters	ester etylowy kwasu heksadecanowego / hexadecanoic acid ethyl ester	DH,SDE	+	+	+
	octan izoamylu / isoamyl acetate	SH,SDE	+	+	-
	octan etylu / ethyl acetate	SH,SDE	+	+	+
	kapronian etylu / ethyl capronate	SH,SDE	+	-	-
	kaprylan etylu / ethyl caprylate	SH,SDE	-	+	+
ketony ketones	diacetyl / diacetyl	SH,SDE	+	+	+
	pentadion / pentadion	SH,SDE	+	+	+
kwasy acids	mlekowy / lactic	HPLC	+	+	+
	propionowy / propionic	HPLC	+	+	+
	octowy / acetic	HPLC	+	+	+
	mrówkowy / formic	HPLC	+	+	+
	oktanowy / octanoic	DH,SDE	+	+	+
heksadecanowy / hexadecanoic	DH,SDE	+	+	+	
węglowodory hydrocarbons	p-ksylen / p-xylene	DH,SDE	+	+	+
związki heterocykliczne heterocyclic compounds	2-pentylo-furan / 2-pentyl furan	DH,SDE	+	+	+

t – czas poboru próby /sampling time

DH –metoda dynamicznego headspace / techniques dynamic headspace

SH –metoda statycznego headspace / techniques static headspace

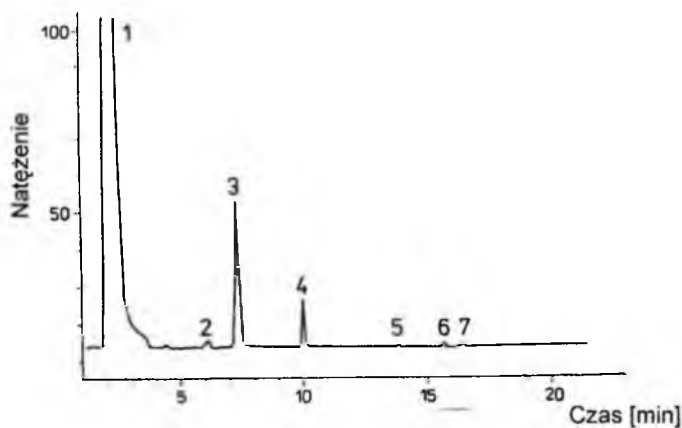
SDE –metoda Nickersona/Likensa / Nickerson/Likens method

HPLC –metoda wysokosprawnej dchromatografii cieczowej / high performance liquid chromatography

+/- obecność/brak związku po 24, 48, 72 godz. fermentacji / presence/absence of compound after 24, 48 and 72 h of fermentation

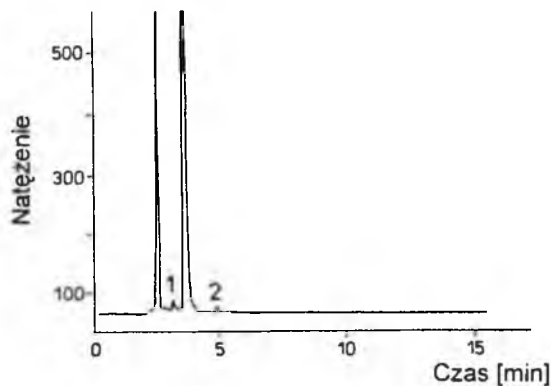
* W nawiasach podano średnią wartość pH z 6 serii / average value of pH from 6 series is given in brackets.

Stosując metodę statycznego headspace z użyciem detektora FID wykryto obecność takich związków jak: aldehyd octowy, octan etylu, octan izoamylu, kaprylan etylu, kapronian etylu, etanol, propanol, butanol i 3 – metylo-1-butanol (rys. 1), natomiast zastosowanie detektora ECD umożliwiło identyfikację diacetylu i pentadionu (rys. 2).



Rys. 1. Chromatogram związków lotnych wyizolowanych techniką statycznego headspace podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, kolumna Stabilwax, detektor FID, 1 – aldehyd octowy, 2 – octan etylu, 3 – etanol, 4 – propanol, 5 – butanol, 6 – 3-metylo-1-butanol, 7 – kapronian etylu, st – standard.

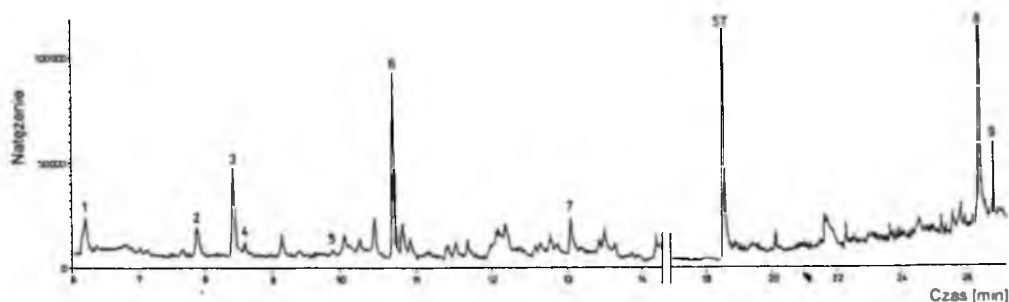
Fig. 1. Gas chromatogram of volatiles isolated during spontaneous fermentation of rye flour with water by using static headspace, Stabilwax capillary column, detector FID, 1–acetaldehyde, 2 – ethyl acetate, 3 – ethanol, 4 – propanol, 5 – butanol, 6 – 3–methylbutanol, 7 - ethyl capronate, st – standard.



Rys. 2. Chromatogram związków lotnych wyizolowanych techniką statycznego headspace podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, detektor ECD, kolumna HP – 5, 1 – diacetyl, 2 – pentadion, st – standard.

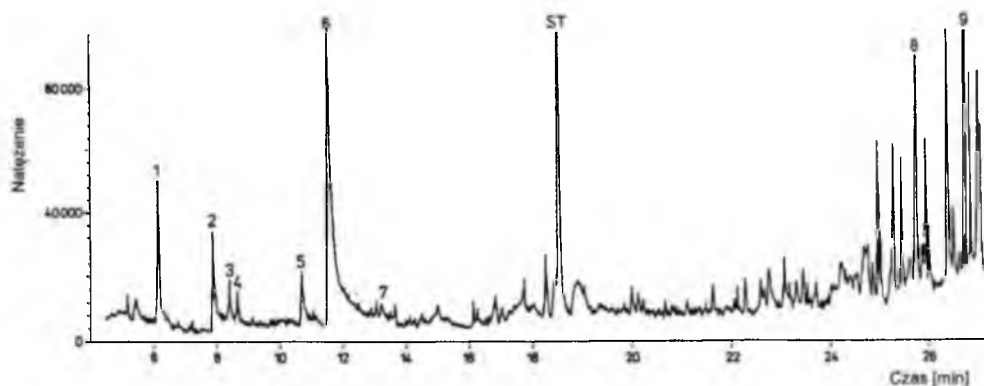
Fig. 2. Gas chromatogram of volatiles isolated during spontaneous fermentation of rye flour with water by using static headspace technique, detector ECD, HP – 5 capillary column, 1 – diacetyl, 2 – pentadione, st – standard.

Pozostałe związki lotne, tj. propanol, 1-oktanol, 2-etylo-1-heksanol, heksanal, heptanal, nonanal, p-ksylen, kwas oktanowy, kwas heksadekanowy, 2-pentylo-furan oraz ester etylowy kwasu heksadekanowego zostały wykryte po zastosowaniu metody destylacyjno-ekstrakcyjnej i metody dynamicznego headspace (rys. 3 i 4). Z kolei ekstrakty uzyskane metodą Likensa/Nickersona użyto do analizy olfaktometrycznej (tab.



Rys. 3. Chromatogram związków lotnych wyizolowanych techniką dynamicznego headspace podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, analiza GC – MS, kolumna MDN – 5, 1 – heksanal, 2 – 1-heksanol, 3 – p-ksylen, 4 – heptanal, 5 – 2-pentylo-furan, 6 – 2-etylo-1-heksanol, 7 – nonanal, 8 – kwas heksadekanowy, 9 – ester etylowy kwasu heksadekanowego, st – standard.

Fig. 3. Gas chromatogram of volatiles isolated during spontaneous fermentation of rye flour with water by using dynamic headspace technique, GC – MS analysis, MDN – 5 capillary column, 1 – hexanal, 2 – 1-hexanol, 3 – p-xylene, 4 – heptanal, 5 – 2-pentyl furan, 6 – 2-ethyl 1-hexanol, 7 – nonanal, 8 – hexadecanoic acid, 9 – hexadecanoic acid ethyl ester, st – standard.



Rys. 4. Chromatogram związków lotnych wyizolowanych metodą destylacyjno – ekstrakcyjną podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, analiza GC – MS, kolumna MDN – 5, 1 – heksanal, 2 – 1-heksanol, 3 – p-ksylen, 4 – heptanal, 5 – 2-pentylo-furan, 6 – 2-etylo-1-heksanol, 7 – nonanal, 8 – kwas heksadekanowy, 9 – ester etylowy kwasu heksadekanowego, st – standard.

Fig. 4. Gas chromatogram of volatiles isolated during spontaneous fermentation of rye flour with water by using simultaneous steam distillation and extraction, GC – MS analysis, MDN – 5 capillary column, 1 – hexanal, 2 – 1-hexanol, 3 – p-xylene, 4 – heptanal, 5 – 2-pentyl furan, 6 – 2-ethyl 1-hexanol, 7 – nonanal, 8 – hexadecanoic acid, 9 – hexadecanoic acid ethyl ester, st – standard.

Tabela 2

Związki lotne wyizolowane metodą Nickersona/Likensa podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, detektor FID.

List of odour – active compounds isolated by using Nickerson/Likens method during spontaneous fermentation of rye flour with water, detector FID.

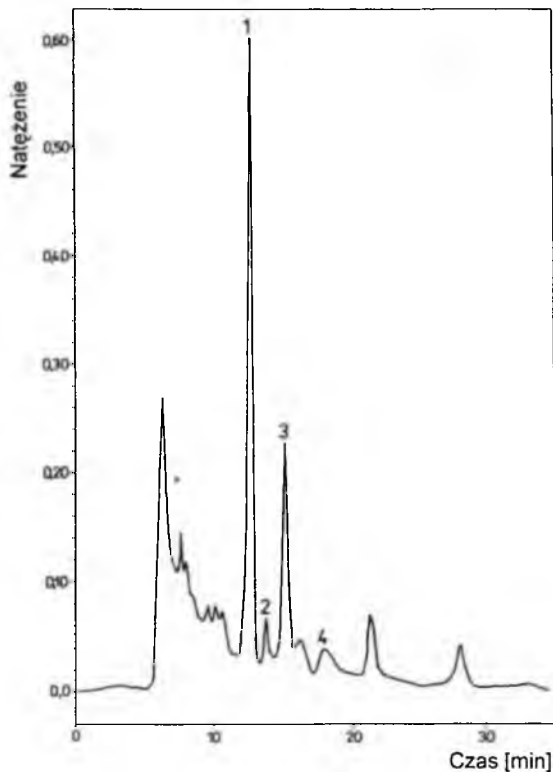
Czas retencji Retention time	RI	Nazwa związku Compound's name	Zapach Odour type
1.5			eterowy / etheric
2.0		diacetyl / diacetyl	maślany / buttery
2.2			nieprzyjemny, olejowy unpleasant, oily
3.0	504.20	1 – propanol / 1-propanol	
3.3			bardzo nieprzyjemny very unpleasant
4.4		toluen* / toluen	nieprzyjemny, olejowy unpleasant, oily
4.8	710	heksanal* / hexanal	roślinny, trawiasty floral, grassy
5.2			bardzo nieprzyjemny very unpleasant
5.7			kwiatowy / flowery
6.3			orzechowy / nutty
6.5	864.31	1 – heksanol / 1-hexanol	
7.0			tłuszczowy / fatty
7.2	911.48	heptanal / heptanal	
7.3			ziemniaczany / potato-like
8.7			grzybowy / mushroom-like
9.9	1045.08	2-etylo-1- heksanol 2- ethylo-1-hexanol	
10.8	1090.17	1 - oktanol* / 1-octanol	grzybowy / mushroom-like
11.3	1120.69	nonanal* / nonanal	ogórkowy / cucumber-like
11.9			walerianowy / valerian-like
12.3			chemiczny / chemical
12.7			przyjemny / pleasant
12.9	1193.06	kwas oktanowy / octanoic acid	
13.1			roślinny / floral
14.4			wosk, parafina / wax, parafin
15.0			kwiatowy, słodki, ciężki flowery, sweet, heavy
15.5			grzybowy / mushroom-like
16.3			owocowy / fruity
21.1			selerowy / celery-like
26.4	2170	ester etylowy kwasu heksadekanowego hexadecanoic acid ethyl ester	

* - czas retencji związku zbliżony do czasu retencji standardu / the retention time of compound is similar to the retention time of standard

RI – indeks retencji / retention index.

2), ale nie odnotowano zapachu 1-propanolu, 1-heksanolu, heptanal, 2-etylo-1-heksanolu, kwasu oktanowego i estru etylowego kwasu heksadekanowego.

Wysokosprawna chromatografia cieczowa umożliwiła rozdział takich kwasów, jak: kwas mlekowy, octowy, mrówkowy i propionowy (rys. 5).



Rys. 5. Chromatogram kwasów organicznych rozdzielonych techniką HPLC podczas naturalnej fermentacji mąki żytniej z wodą, detektor Dual Absorbance Detector 2487, kolumna HPX – 87H, 1 – kwas mlekowy, 2 – kwas mrówkowy, 3 – kwas octowy, 4 – kwas propionowy.

Fig. 5. HPLC chromatogram of organic acids separated during spontaneous fermentation of rye flour with water, Dual Absorbance Detector, HPX – 87H column, 1 – lactic acid, 2 – formic acid, 3 – acetic acid, 4 – propionic acid.

Dyskusja

W celu pełnej charakterystyki lotnych metabolitów bakterii mlekowych i innych mikroorganizmów w zakwasie z mąki żytniej zastosowano kilka metod. Aby zapewnić wyodrębnienie jak największej liczby związków lotnych, zróżnicowanych pod względem lotności i polarności, zastosowano do ich izolacji trzy techniki. Metoda Nickerso-

na/Likensa pozwoliła na wyizolowanie wysokowrzących związków zarówno polarnych, jak i niepolarnych. Propanol, 1-oktanol, 2-etylo-1-heksanol, heksanal, heptanal, nonanal, p-ksylen, 2-pentylo furan, kwas oktanowy i heksadekanowy oraz ester etylowy kwasu heksadekanowego były wykrywane przez innych autorów w świeżym mleku [16], serach [4, 21, 26, 19], mięsie [6], w procesie fermentacji zakwasów chlebowych [9], a także 1-propanol, 1-heksanol, 1-oktanol i p-ksylen w papai. Wykryte związki lotne adsorbowano również na polimerze Tenax GR, używanym w metodzie dynamicznego headspace. Metoda umożliwia oznaczanie związków o charakterze hydrofobowym występujących w niskich stężeniach. Heksanal, heptanal i nonanal zidentyfikowano w produktach mleczarskich [19, 20], a 1-propanol jest obecny w procesie dojrzewania sera [28].

Metodę statycznego headspace wybrano w celu oznaczenia związków niskowrzących, najbardziej lotnych, o charakterze głównie hydrofobowym. Przy użyciu detektora FID wykryto aldehyd octowy, etanol, propanol, butanol, 3-metylo-1-butanol, octan etylu, octan izoamylu, kapronian etylu i kaprylan etylu, które były także identyfikowane w serach [1, 18, 21]. Detektor ECD, umożliwiający wykrywanie śladowych ilości związków wykazujących powinowactwo elektronowe, pozwolił na oznaczenie w badanych próbach diacetylu [22] i pentadienu.

Nie rozpoznano zapachu wszystkich związków, czego przyczyną może być niskie stężenie. Większość związków lotnych ma określony próg wykrywalności i charakterystyczny zapach. Z literatury wiadomo, że kwas oktanowy ma zapach kozi, mydlany lub woskowy, zależnie od stężenia [3], 2-pentylo-furan przyjemny posmak gotowanego mięsa [6], estry zapach kwiatowy lub owocowy natomiast aldehydy trawiasty [1].

W celu oznaczenia kwasów organicznych zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową, która służy do rozdzielania zarówno związków lotnych o małej masie molowej, jak i polimerów, a więc stanowi doskonałe uzupełnienie chromatografii gazowej. Kwas mlekowy nie posiada charakterystycznego zapachu, ale wpływa na smak produktu. Kwas octowy, mrówkowy i propionowy wywołują między innymi ostry posmak. Zidentyfikowane kwasy są obecne także w wielu produktach mleczarskich i mięsie [14].

Wnioski

1. W wyniku przeprowadzonych analiz w zakwasie z mąki żytniej zidentyfikowano 26 związków w tym: 6 kwasów, 7 alkoholi, 4 aldehydy, 5 estrów, 2 ketony, 1 związek heterocykliczny i 1 węglowodór.
2. Analiza olfaktometryczna związków lotnych nie wykazała obecności jednego związku odpowiedzialnego za aromat zakwasu. W związku z tym należy przypuszczać, że aromat zakwasu jest wypadkową zapachu zidentyfikowanych związków, w szczególności kwasów organicznych.

3. Dla pełnej charakterystyki związków lotnych w zakwasie z mąki żytniej należy stosować różne metody ich izolacji: metody destylacyjno – ekstrakcyjne oraz techniki izolacji fazy nadpowierzchniowej.

Literatura

- [1] Arora G., Cormier F., Lee B.: Analysis of odor – active volatile in Cheddar cheese headspace by multidimensional GC/MS/sniffing, *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1995, 748.
- [2] Bogaczek R., Napierała W.: Kwas mlekowy- jakość, właściwości i kierunki zastosowań, *Przem. Spoż.*, **6**, 1998, 43.
- [3] Brennan C., Kimha J., Lindsay R.: Aroma properties and threshold of some branched-chain and other minor volatile fatty acids occurring in milkfat and milk lipids, *J. Sens. Stud.*, **5**, 1989, 105.
- [4] Christensen K., Reineccius G.: Aroma extract dilution of aged cheddar cheese, *J. Food Sci.*, **60**, 1995, 218.
- [5] Flath R., Forrey R.: Volatile compounds of papaya (*Carica papaya* L., Solo Variety), *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 1977, 103.
- [6] Greenberg M.: Characterization and comparison of flavor volatiles in meat by products. In : *Flavour 1981*. Walter de Gruyter & Co., 1981.
- [7] Haberowa H., Włodarczyk M., Haber T.: Badania nad mikroflorą pszenżytnich międzyproduktów piekarskich ze szczególnym uwzględnieniem bakterii mlekowych i ich zdolności kwaszących. *Przeгляд Piekarsko-Cukierniczy*, **44**, 1996, 37.
- [8] Hames W., Tichaczek P.: The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, **198**, 1994, 193.
- [9] Hansen B., Hansen A.: Volatile compounds in wheat sourdoughs produced by lactic acid bacteria and sourdough yeasts, *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, **198**, 1994, 202.
- [10] Kavovicova J., Drdak M., Grief G.: The choice of strains of *Lactobacillus* species for the lactic acid fermentation of vegetable juice, *Eur. Food Res. Techn.*, **210**, 1999, 53.
- [11] Kosikowska M., Jakubczyk E.: Napoje mleczne z udziałem tradycyjnych i nowych mikroorganizmów, *Przem. Spoż.*, **8**, 1997, 12.
- [12] Likens S., Nickerson G.: *Proc. Am. Soc. Brev. Chem.*, 1964, 5.
- [13] Lonvand-Funel A.: Lactic acid bacteria in the quality improvement and deprecitation of wine, *Int. Dairy J.*, **76**, 1999, 317.
- [14] Marsili R.: Monitoring chemical changes in Cheddar cheese during aging by high performance liquid chromatography and gas chromatography techniques, *J. Dairy Sci.*, **68**, 1985, 3155.
- [15] Mayra-Makinen A., Bigret M.: Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. In : *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc., 1993, 65.
- [16] Moio L., Dekimpe J., Etievant P., Addeo F.: Neutral volatile compounds in the raw milks from different species, *J. Dairy Res.*, **60**, 1993, 199.
- [17] Motyl J., Libudzisz Z.: Właściwości probiotyczne bakterii mlekowych i ich wykorzystanie w przetwórstwie mleczarskim, *Przeгляд Mleczarski*, **8**, 1996, 72.
- [18] Milo C., Reineccius G.: Identification and quantification of potent odorants in regular-fat and low-fat mild Cheddar cheese, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 3590.
- [19] Najera A., Barron L., Barcina Y.: Changes in free fatty acids during the ripening of Idiazabal cheese: influence of brining time and smoking, *J. Dairy Res.*, **61**, 1994, 281.

- [20] Park S., Goins R.: Determination of volatile lipid oxidation products by dynamic-headspace-capillary gas chromatographic analysis with application to milk-based nutritional products, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1992, 1581.
- [21] Paulsen P., Kowalewska J., Hammond E., Glatz B.: Role of microflora in production of free fatty acids in flavor in Swiss cheese, *J. Dairy Sci.*, **63**, 1980, 912.
- [22] Preininger M., Warmke R., Grosch W.: Identification of the character impact flavour compounds of Swiss cheese by sensory studies of models, *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, **202**, 1996, 30.
- [23] Staszewska E., Ambroziak Z., Janik M.: Kultury starterowe- ich funkcje i zastosowanie w produkcji chleba. *Przegląd Piekarsko-Cukierniczy*, **43**, 1995, 4.
- [24] Staszewska E., Banecki H.: Prowadzenie procesów fermentacyjnych w produkcji pieczywa z mąki pszenżytniej, *Przegląd Piekarsko-Cukierniczy*, **38**, 1990, 6.
- [25] Trojanowska K.: Mikroorganizmy w żywności, sojuszniczy czy wrogowie. PTTŻ, Poznań 1995.
- [26] Urbach G.: Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products, *Int. Dairy J.*, **5**, 1995, 877.
- [27] Warmińska-Radyłko I., Laniewska-Moroz Ł., Kujawa K.: Bakterie propionowe w fermentowanych sałatkach warzywnych, *Przem. Spoż.*, **7**, 1997, 38.
- [28] Yang W., Min B.: Dynamic headspace analyses of volatile compounds of Cheddar and Swiss cheese during ripening, *J. Food Sci.*, **59**, 1994, 1309.

THE CHARACTERISTICS OF VOLATILE COMPOUNDS ISOLATED FROM RYE FLOUR LEAVEN

S u m m a r y

The purpose of this paper was to characterize compounds from rye flour leaven, which is used for making prepare sour soup.

It was found that for full characteristics of flavour compounds various isolation methods should be applied. The volatiles were isolated after 1, 2 and 3 days of spontaneous fermentation by using simultaneous steam distillation and extraction technique, static and also dynamic headspace techniques. Gas chromatography analyses were performed on capillary column of different polarities connected to flame ionization detector, electron capture detector, mass spectrometer and sniffing port. The organic acids were analyzed by high performance chromatography on HPX – 87H column and Dual Adsorbance Detector.

Totally 26 compounds were identified: 6 acids, 7 alcohols, 4 aldehydes, 5 esters, 2 ketones, 1 hydrocarbon, 1 heterocyclic compound. ☒