



GIDALARIN TÜKETİLMESİ SIRASINDA RETRONAZAL YOLLA AROMA SALINIMININ BELİRLENMESİ

Tülin Eker¹, Turgut Cabaroğlu^{2*}

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Osmaniye, Türkiye.

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş / Received: 18.07.2017; Kabul / Accepted: 04.12.2017; Online baskı / Published online: 27.12.2017

Eker, T., Cabaroğlu, T. (2018). Gıdaların tüketilmesi sırasında retronazal yolla aroma salınımının belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (1): 64-77 doi: 10.15237/gida.GD17066

ÖZ

Uçucu organik bileşikler gıdanın aromasını oluşturan ve bu sebeple gıda bilimi ve teknolojisi alanında önemli yeri olan maddelerdir. Gıdaların tüketilme sırasındaki aroma salınımı ve bunun algılanması, bir gıdanın son aroma kalitesini belirleyen faktörlerdir. Bu nedenle son yıllarda gıdaların tüketimi sırasında aroma salınımının belirlenmesi konusuna büyük ilgi oluşmuştur. Yapılan araştırmalarda kütle spektrometresi teknikleriyle *in vivo* koşullarda "burun boşluğu" ve/veya "ağız boşluğundan" alınan havanın analizi yapılmaktadır. Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon-kütle spektrometresi (APCI-MS) ve proton transfer reaksiyon-kütle spektrometresi (PTR-MS) uçucu organik bileşiklerin, gıda tüketimi sırasında eş-zamanlı ölçülmesine imkân vermektedir. *In vitro* aroma analizi ise her laboratuvarında kullanılabilen geleneksel gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) tekniği ile yapılmaktadır. Bu çalışmada, gıdalarda aroma salınımının önemi ve aroma salınımında kullanılan *in vivo* ve *in vitro* yöntemler üzerinde durulmuştur.

Anahtar kelimeler: Aroma, Retronazal aroma salınımı, APCI-MS, PTR-MS

DETERMINATION OF RETRONASAL AROMA RELEASE DURING FOOD CONSUMPTION

ABSTRACT

Volatile organic compounds are responsible of the food flavor. Therefore, they play an important role in food science and technology. Flavor release and perception during consumption are the key factors for flavor quality of the food. Consequently, studies on the understanding of the aroma release during food consumption have increased dramatically in recent years. Mass spectrometry techniques are often used for the analysis of the head-space from the "nasal cavity" and/or "oral cavity" during food consumption. Atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (APCI-MS) and proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS) allow real-time measurement of volatiles release during *in vivo* consumption. For *in vitro* analysis, conventional gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques are amenable to many laboratories. In this review, the importance of aroma release from different food matrices and *in vivo* and *in vitro* methods used for aroma release were discussed.

Keywords: Aroma, Retronasal aroma release, APCI-MS, PTR-MS

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ tcabar@cu.edu.tr

☎ (+90) 322 338 6997

☎ (+90) 322 338 6614

GİRİŞ

Aroma, lezzetin algılamaında önemli belirleyicilerden biridir ve dolayısıyla tüketici tercihlerini yönlendiren ana faktördür. Uçucu organik bileşiklerin analizinin gıda endüstrisi için önemli bir konu haline gelmesinin nedeni budur. Gıdalar, uçucu ve uçucu olmayan maddelerden oluşan karmaşık çok bileşenli sistemlerdir. Aroma bileşikleri, oda sıcaklığında buhar fazında bulunan, burun boşluğundaki koku alma dokusuna (olfaktor reseptörlerine) ulaşarak algılanan uçucu moleküllerdir. Aroma bileşenlerinin, gıda maddesinden buhar fazına salınmaları, gıda matriksinde bulunan uçucu olmayan bileşiklerle olan etkileşimine bağlıdır (Guichard, 2014). Proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve polifenoller gibi gıda bileşenleri ile aroma maddeleri arasındaki etkileşimi anlamak için çok çeşitli analitik teknikler geliştirilmiştir.

Gıdalardaki aroma çalışmaları, çoğunlukla aroma bileşiklerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi üzerine odaklanmıştır. Bu tür çalışmalar aroma maddeleri ile gıda matriksi arasındaki etkileşimleri belirlemede çok değerli olmasına rağmen, bu teknikler ile gıdanın gerçek tüketimi sırasında salınan aroma maddeleri belirlenemez. Bu nedenle elde edilen sonuçlar ile duyuusal deneyim arasında ilişki elde etmek zordur. Bir gıdanın aroma bileşimi ile o gıdanın tüketilmesi esnasında salınan aroma maddelerinin aynı olmadığı bildirilmektedir (Muñoz-González vd., 2014a).

Birçok çalışmada, gıdanın aroma algısının ve *in vivo* aroma salınımının, (i) gıdanın doğası (tekstür, parçacık boyutu, viskozite), (ii) aroma maddelerinin miktarı ve doğası, (iii) gıda matriksi (lipid, protein, şeker, asit, alkol ve pektin vb.), (iv) yeme davranışı ve (v) oral fizyoloji (tükürük salınımı, çiğneme, nefes alma, ağız boşluğu hacmi, ağız sıcaklığı, zaman, vb.) gibi faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir (Ting vd., 2012; Paravisini vd., 2014; Ting vd., 2016; Boesveldt ve Graaf, 2017; Ployon vd., 2017). Bu etkileşimler, gıdanın aroma maddelerinin salınımını değiştirebilir ve ürünün aromatik dengesini etkiler. Bir gıdanın tüketimi sırasında, matriksinin, oral fizyolojinin ve

oral çiğneme faktörlerinin aroma bileşiklerinin salınması üzerine etkisini anlamak için, *in vivo* ve *in vitro* koşullarda gerçek gıdalarda veya aroma maddelerinin takviye edildiği model gıda sistemleri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır (Farneti vd., 2013; Boisard vd., 2014; Muñoz-González vd., 2014a; Muñoz-González vd., 2014b; Labouré vd., 2014; Genovese vd., 2015). Öte yandan, çok az sayıda araştırmada, ağızda aroma salınımını incelemek için gerçek gıda matriksleri kullanılmıştır (Doyennette vd., 2011; Genovese vd., 2015; Ting vd., 2016). Dolayısıyla bir gıdanın tüketimi sırasında olfaktori reseptörlerine ulaşan aroma maddelerini ve bu maddelerin konsantrasyonunu belirlemek için, burun boşluğundan veya ağız boşluğundan verilen nefese bağlantılı enstrümental teknikler geliştirilmiştir. Bu derlemede duyuusal etkileşimde rol oynayan aroma maddelerinin araştırılmasını sağlayan *in vitro* ve *in vivo* yöntemler ele alınmıştır.

Gıdanın tüketilme esnasındaki aroma salınımının belirlenmesi

Bir gıdanın duyuusal karakteri, fiziksel ve kimyasal özellikleriyle ortaya çıkan birden fazla uyarının bütünsel algısından kaynaklanır. Aromanın bu çoklu duyuusal algılanışının kökenini ve mekanizmasını anlamak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. (Poinot vd., 2013; Arvisenet vd., 2016).

Bir gıdanın tüketilmesi sırasında, gıdadaki aroma bileşikleri gıda matriksinden serbest bırakılır ve bu bileşenler lezzet algılamaasının gerçekleştiği ağız ve burun içindeki uygun reseptörlere taşınır. Aroma uyarınları olfaktör epitele genelde iki yol ile ulaşır: i) koklama sırasında burun yoluyla ve ii) yeme veya içme sırasında retronazal yolla. Bu uyarınlara algılanmasında koku, tat ve üçlü (trigeminal) duyuular olmak üzere üç büyük sistem rol alır. Aromanın algılanmasındaki ilk yol, koklama ile dış çevreden gelen koku uyarısının, ön burun deliklerinden olfaktori mukozaya doğru taşınmasıdır (Bojanowski ve Hummel 2012; Bushdid vd., 2014; Boesveldt ve de Graaf, 2017; Mosca ve Chen, 2017). İkinci yol ise, genellikle tat ve koku uyarısının birleşimidir. Çiğneme sırasında serbest kalan aroma molekülleri, soluma veya yutma ile birlikte burun boşluğuna ve geniz

yoluyla koku alma yarığındaki alıcılara ulaşarak uyarırlar. Bu yol retronazal koku alma olarak tanımlanır. Retronazal uyarı için koku kaynağı ağız içinde veya yutakta/midede olduğu için, algılanan uyarıların aralığı genellikle gıda ve ağız ile ilişkilidir (Bojanowski ve Hummel 2012).

Gıdanın tüketimi sırasında oluşan aroma algısı, aromayı oluşturan uçucu organik bileşiklerin yapısına, konsantrasyonuna ve gıda matriksine bağlıdır (Benjamin vd., 2012). Bununla birlikte, aromanın algılanması basit bir uyarıcı yanıt süreci değil, çok daha karmaşıktır. Her bir gıda aroması, belli sayıda koku veren anahtar maddenin farklı kompozisyonları ile karakterize edilir. Gıdanın çiğnenmesi sırasında ağızda salınan aroma, belli bir gıdayla ilişkili olan karakteristik aroma algısını uyandırır. Bu algı, gıda matriksini oluşturan yapısal bileşikler (proteinler, lipitler, karbonhidratlar) ile doğrudan ilgilidir (Guichard, 2014).

Gıda tekstürü, oral fizyoloji ve oral çiğneme faktörünün, tüketim sırasında aroma bileşiklerinin salınımı üzerine katkısını anlamak için, *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle uçucu organik bileşikler ilave edilmiş model yiyecek sistemleri veya gerçek gıdalar üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Literatürde yapılan çalışmaları üç başlık altında toplamak mümkündür; i) statik *in vitro* analizler, ii) dinamik *in vitro* analizler ve iii) dinamik *in vivo* analizler.

Statik *in vitro* analizler

Model gıdalardan salınan uçucu maddelerin statik *in vitro* ekstraksiyonu genelde tepe boşluğu yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Katı faz mikroekstraksiyonu, sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu veya katı faz ekstraksiyonu da kullanılan yöntemlerdir. Tanımlama ve miktar belirleme geleneksel gaz kromatografisi-alev iyonlaştırma dedektör (GC-FID) (Van Ruth ve Roozen, 2000a), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) (Muñoz-González vd., 2014a), proton transfer reaksiyon-kütle spektrometresi (PTR-MS), (Onishi vd., 2012), proton transfer reaksiyon-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (PTR-TOF-MS) (Heenan vd., 2012; Cappelin vd., 2012; Cappelin vd., 2013; Soukoulis vd., 2013; Romano vd., 2014; Ting vd., 2016) ve atmosferik

basınç kimyasal iyonizasyon-kütle spektrometresi (APCI-MS) (Weel vd., 2004; Gan, 2015) teknikleri ile yapılmıştır. Bu yöntemler ile aroma bileşenleriyle lezzet veya yapısal bileşenler arasındaki fiziksel ve kimyasal etkileşimlerin yanı sıra gıda matriksinin yapısal değişimine bağlı olarak uçucu bileşenlerin davranışı izlenmiştir.

Dinamik *in vitro* analizler

Gıdaların ağız boşluğuna girdikten sonra, tüketim sırasında burun boşluğunda devamlı bir aroma salınımının mümkün olmadığı ve aromanın algılanmasını arttırmak veya aroma algılanmasına izin vermek için yutma gibi bir fizyolojik etkiye ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir. Bu etkilerin ölçülmesine yönelik bir yaklaşım da gıdanın ağızda çiğneme sürecini taklit eden model çiğneme cihazlarının geliştirilmesidir. Aroma salınımını inceleyen çalışmalarda, model veya gerçek gıda sistemleri, bu ağız modelleri ile yapay tükürük (Van Ruth ve Roozen 2000a; Doyennette vd., 2011; Onishi vd., 2012; Muñoz-González vd., 2014a; Thomsen vd., 2014) veya gerçek tükürük (Benjamin vd., 2012; Muñoz-González vd., 2014b; Genovese vd., 2015) eşliğinde çiğneme benzeri hareketler ile taklit edilmiştir (Çizelge 1).

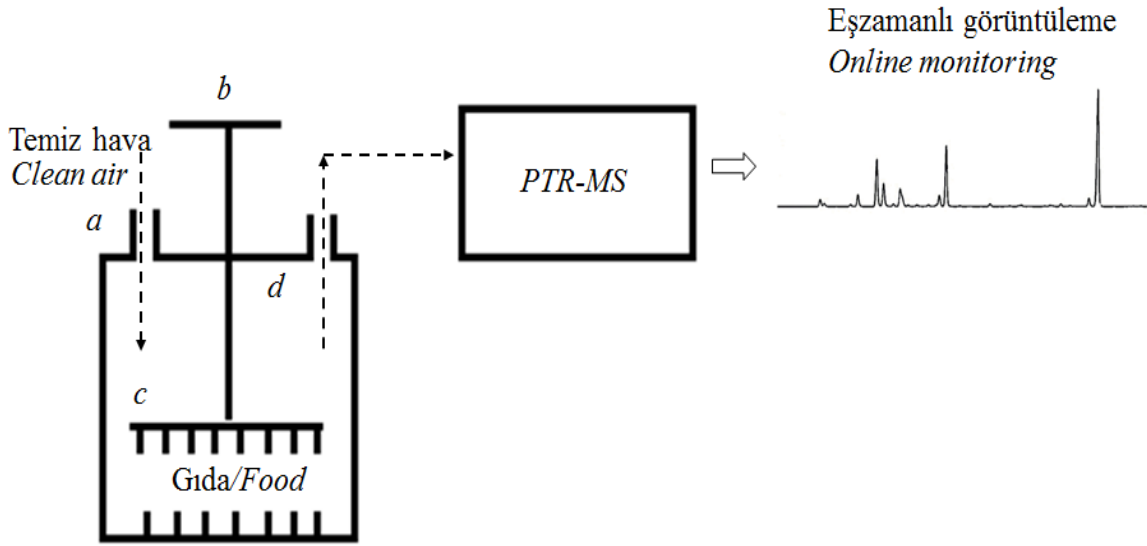
Katı bir gıda, çiğneme sırasında tükürük ile karışır, yapısı değişir. Bu işlem ile ağız boşluğuna salınan uçucu bileşenlerin difüzyonu etkilenir. Çiğneme ile gıdanın yüzey alanı artar ve gıda matriksi başlangıçta içerdiği sudan ayrılır. Gıdanın tekstürel ve fizikokimyasal özellikleriyle doğrudan ilişkili olan çiğneme süreci, *in vivo* aroma salınımını etkileyen önemli bir parametre olarak bildirilmiştir (Foster vd., 2011; Farneti vd., 2013). Geliştirilen model-ağız sistemleri, çiğneme sürecini insan ağızı gibi taklit ederek hızlı, hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar verecek şekilde tasarlanmıştır. (Van Ruth ve Roozen 2000b; Weel vd., 2004; Benjamin vd., 2012; Genovese vd., 2015; Akiyama vd., 2016).

Bu modellerde, aroma bileşikleri ve diğer bileşenlerden (polisakkaritler, proteinler, lipitler) oluşan belli miktarda gıda maddesi bir kap içine konur ve farklı yollarla karıştırılır veya çalkalanır (çoğu durumda 37 °C'ye kadar ısıtılır). Tepe boşluğundan hava örneği alınır. Model sistemden salınan gaz akımı içinde bulunan uçucu bileşikler,

doğrudan MS tekniği ile ya da adsorbe/absorbe edici malzemeler üzerine tutularak GC-MS ile analiz edilir. Katı gıdalar için, ağızda yapısal parçalanma söz konusu olduğundan aroma salınımı, Van Ruth vd., (1995)'nin model ağız sistemi veya retronazal aroma simülatörü (RAS) ile tekrarlanabilir şekilde incelenebilir.

Farneti vd., (2013)'nin, geliştirdikleri çiğneme cihazı (Şekil 1), bir kapak ile kapatılmış silindirik

bir cam küvet (800 mL) ve elle kontrol edilen çentikli bir pistondan oluşmaktadır. Çentikli pistonun yüksekliği 10 mm'dir ve 34 plastik diş içerir. Çiğneme yapılacak meyve ile temas eden cihazın tüm kısımları politetrafloroetilenden (PTFE) yapılmıştır. Gerçek zamanlı analiz için tepe boşluğuna salınan uçucular bir vakum pompası ile (0,5 L/saat) PTR-MS'e gönderilir.



Şekil 1. Çiğneme cihazının şematik gösterimi. a) kapalı başlık ve b) elle kontrol edilen piston, c) plastik diş, d) PTR-MS'inde eş-zamanlı izlenen uçucuların toplandığı tepe boşluğu

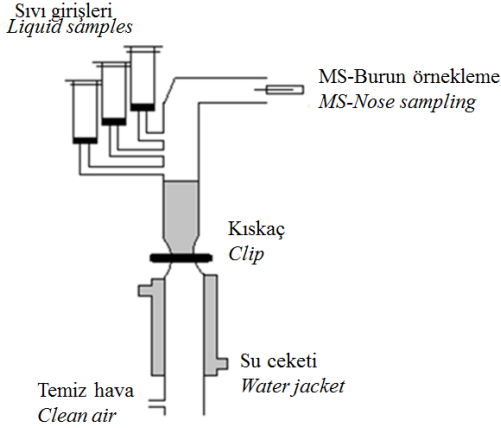
Figure 1. Chewing device. a) sealed with a cap, b) a plunger controlled manually, c) plastic teeth, d) the head space for online analysis into the PTR-MS

Ağıza alınmasından kısa bir süre sonra yutulan sıvı gıdalarda ise aroma salınımı yutma ile ortaya çıkar. Sıvıların aroma salınımı sıvıyı yuttuktan sonra gerçekleşen olaylarla belirlendiğinden, çiğneme faktörleri ve sıcaklık değişiklikleri gibi etkenlerin aroma salınımı üzerine etkisinin çok az olduğu bildirilmiştir (Weel vd., 2004).

Model sıvı gıdalardan aroma salınımı yapay bir yutak yardımı ile taklit edilmiştir (Şekil 2). Yutak, dikey cam tüplerden oluşur (iç çapı 12 mm). Cam tüpün ortasında, bir kısaç yardımı ile açılıp kapanabilen 3 mm kalınlığında yutak işlevi gören bir kauçuk vardır ve sistemin en önemli parçasıdır. Bu kauçuk bölümün üzerinden, aynı anda veya

farklı zamanlarda şırıngalardan cam tüpe çeşitli sıvılar eklenebilir. Cam tüpü çevreleyen su mantosu su banyosuna bağlıdır (37 °C'ye ayarlanmıştır). Su ceketinin altında, yukarı doğru bakan bir hava girişi bulunur. Sıvı, yutma işleminin taklit edilmesinden sonra cam tüpün alt ucundan sistemi terk edebilir (Weel vd., 2004).

Genovese vd., (2015), panelistlerden topladığı gerçek tükürük eşliğinde RAS'a yerleştirdiği model zeytinyağı örneklerinde aroma salınımını incelemiştir. Uçucu bileşenler, RAS içine bir septum aracılığıyla yerleştirilen fiber yardımıyla tutulmuş (37 °C, 4 dakika), ardından fiber geleneksel GC-MS yöntemi ile desorbe edilmiştir.



Şekil 2. Yapay yutak şematik görünümü
Figure 2. Schematic overview of the artificial throat

Teknik açıdan bakıldığında GC-MS gıda uçucu bileşenlerinin belirlenmesinde referans metottur ancak uzun zaman alması ve kinetik ölçümlere imkan vermemesi aroma salınımı çalışmalarında en önemli olumsuz yönleridir. Uçucu bileşenlerin hızlı tanımlanması ve miktar analizinin yapılmasında PTR-MS en çok kullanılan, piklerin eş-zamanlı izlenmesini sağlayan hızlı bir metottur (Farneti vd., 2013). Van Ruth ve Roozen (2000b) rehidre edilmiş biberden yapay tükürük ve gerçek tükürük eşliğinde aldehit salınımı arasında önemli bir fark olmadığını bildirirken Pagès-Hélary vd., (2014), insan tükürüğünün suni tükürüğe göre ester salınımı bakımından daha güçlü bir etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak iki çalışma arasındaki fark, gerçek tükürük kompozisyonundaki değişkenlikler ve/veya analize tabi tutulan aromanın (esterler, aldehitler gibi) farklı kimyasal niteliği ile açıklanabilir. Öyle ki ağız mikrobiyotasının da aroma salınımı üzerine etkisi olabileceği bildirilmiştir. 200'den fazla sağlıklı bireyin 9 ağız bölgesinin bakteri popülasyonunu karşılaştırılmış, tükürük mikrobiyomunun analizi, bireyler arasında yüksek bir çeşitlilik ortaya koyarken, dünyanın dört bir yanındaki coğrafi bölgeler arasında nispeten daha az fark olduğunu ortaya koymuştur (Eren vd., 2014; Mark Welch vd., 2016; Ployon vd., 2017).

Bu tekniklerle, gıda matriksi, tükürük veya çiğneme kuvvetlerinin etkisi memnuniyet verici düzeyde taklit edilebilmesine rağmen olumsuz

yönleri gerçek yutkunma işleminin ve tabii ki ağız mukozasının etkisinin incelenememesidir (Benjamin vd., 2012).

Dinamik *in vivo* analizler

İnsanın aroma algısını, gıdadan bir çözgen yardımıyla veya fibere ekstrakte edilip GC-MS yöntemleri ile belirlenen uçucu aroma bileşikleri ile karşılaştırmanın çok doğru olmadığı bildirilmektedir (Farneti vd., 2013). Yapay koşullar altında salınan uçucu maddelerin maksimum miktarının ölçülmesine dayanan bu metotlar (dinamik ve statik *in vitro* çalışmalar), uçucuların gıda matriksinden bireysel farklı salınım kinetiğini ölçemezler. Gıdanın tüketilmesi sırasında insan ağızından veya burnundan örnek alınması gibi *in vivo* ölçümler daha çok tercih edilir çünkü, bu metotlar olfaktor epiteli ile etkileşime giren uçucu bileşen profiline daha yakın sonuçlar verir. Bu nedenle bu ölçümler duyuusal algı ile daha iyi ilişkilendirilebilir.

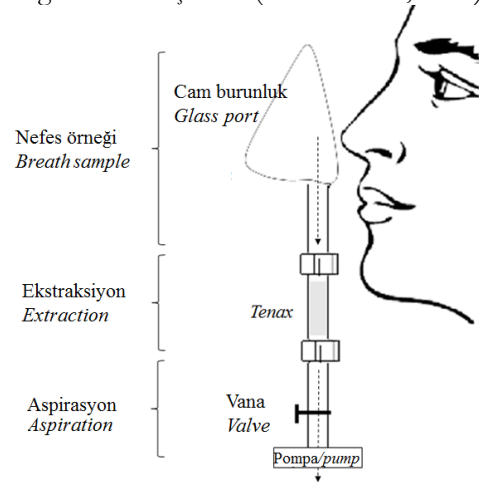
Nefes örneklerinde bulunan aroma maddelerinin eşzamanlı olarak ilk analizi 1988 yılına dayanmaktadır (Soeting ve Heidema, 1988). Linforth vd., 90'lı yılların ortalarında, burun-boşluğundan (nose space) örnek almayı sağlayan bir ara birimi APCI-MS'ine bağlayarak bu alanda yapılacak çalışmaların temelini atmışlardır.

Nefes/hava içinde bulunan uçucuların konsantrasyonunun zamana bağlı değişiminin çevrimiçi bir şekilde belirlenmesi için iki ayrı teknik geliştirilmiştir: i) APCI-MS (Taylor vd., 2000) ve ii) PTR-MS (Lindinger vd., 1998). Her iki teknik de aromaya katkıda bulunan uçucuların dinamik araştırmalarında gerçek bir ilerleme olmuştur. Tekrarlanabilirliği, doğrusallığı ve hassasiyeti yüksek olan bu metotlar, *in vitro* ekstraksiyon metotları ile birlikte uygulandığında, bir yapısal bileşiğin, gıda matriksine bağlı olarak aroma salınımı üzerine bir etkisi olup olmadığını belirler.

Bu yöntemlerde koku alma dokusuna ulaşan uçucu bileşenleri analiz etmek için APCI-MS veya PTR-MS teknikleri kişilerin bireysel burun delikleri ile bağlantılır (MS-nose adı verilir). Panelistler önceden eğitilir ve bireysel farklılıkları

ortadan kaldırmak için panelistlere belli bir tadım protokolü uygulanır. Bu yöntemler i) koku alma dokusuna ulaşan uçucu bileşenlerin konsantrasyonu ve doğası üzerine tat veya yapısal bileşiklerin etkisini ve ii) bu uçucu bileşenlerin burun boşluğu içindeki transfer kinetiğini göstermektedir. Bununla birlikte, her iki metot da büyük bir kısıtlamaya sahiptir. Sadece model gıdalardaki etkileşimlerin analizi için kullanılabilirler. Bilinmeyen bileşiklerin karışımları araştırılırken tanımlama problemi çok önemlidir. Uygulamada, gerçek bir gıdanın aromasına katkıda bulunan tüm bileşikler, bu teknolojilerle eşzamanlı olarak nadiren izlenebilir. Eşik değeri çok düşük olan ve tespit sınırlarının dışında kalan bileşikler takip edilemez. Buna ek olarak, aynı kütle/yük (m/z) değerine sahip küçük fragman iyonları ve aynı molekül yapısına sahip stereoisomerler zorlukla belirlenir. Bu tekniklerle yapılan aroma çalışmalarına bakıldığında takip edilen aroma bileşen sayısının 1-10 arasında değiştiği görülür (Muñoz-González vd., 2013; Özdehan 2013; Ruijschop vd., 2011; Muñoz-González vd., 2014a). Daha fazla bileşiğin hassas ve doğru bir şekilde tespit edilebilmesi için APCI ve PTR arabirimlerine uçuş zamanı-kütle spektrometresi (TOF-MS) bağlanmıştır (Heenan vd., 2012; Ting vd., 2016). Ting vd., (2016), statik *in vitro* koşullarda yaptıkları çalışmada, HS-PTR-TOF-MS tekniği ile elma çeşitlerinde 49 uçucu bileşen tespit etmiştir. Ancak, APCI-MS ve PTR-MS gibi gelişmiş cihazların yüksek fiyatları da ilave bir dezavantaj olarak söylenebilir. Aroma salınımının belirlendiği bir diğer yöntem ise burun boşluğundan verilen nefesteki aroma maddelerinin Tenax gibi adsorbe edici polimer üzerine ekstraksiyonudur ve ekstrakte edilen uçucu bileşikler geleneksel GC-MS tekniği ile belirlenir (Şekil 3). GC-MS, PTR veya APCI tabanlı tekniklerin aksine tüketim sırasında aroma bileşiklerinin salınımının zamansal profilini vermez (Benjamin vd., 2012). Bununla birlikte, bu teknik uçucu bileşiğin kesin olarak tanımlanmasına ve nefes ekstraktının içerdiği aroma bileşenlerinin hassas bir şekilde analiz edilmesine imkân sağlar. Öte yandan GC-MS'in, PTR-MS ve APCI-MS'e kıyasla nispeten düşük maliyeti herhangi bir laboratuvarında uygulanmasını kolaylaştırmaktadır (Muñoz-González vd.,

2014a). Muñoz-González vd., (2014a), şarap bazlı bir içkinin *in vivo* koşullarda aroma salınımını belirlemek için retronazal yolla aroma tuzaklayıcı aparat (RATD) geliştirmiştir. Bu aparat ile gıdayı tüketen panelistlerin, tüketim sırasında burundan verdikleri nefesteki uçucuların polimer içinde tuzaklanması sağlanmıştır. Panelistlere standart bir tüketim prosedürü uygulanarak, analiz sonunda polimer tarafından tutulan aroma maddeleri 6 mL hekzan:dietiler, [1:1, v/v] karışımı ile desorbe edilmiş, azot gazı altında konsantre edilen örnek içindeki aroma maddeleri GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Tüketim sırasında (*in vivo*), gıda matriksinin, aroma salınımı üzerine etkisini incelemek için RATD yöntemi hassas, ucuz ve uygun bir metot olarak görülmektedir (Muñoz-González vd., 2013; Muñoz-González vd., 2014a). *In vivo* aroma salınımını inceleyen bir başka çalışmada iki taze (taze küp parçaları, taze püre) ve iki kurutulmuş (kuru küp parçalar, kurutulmuş toz) halde olmak üzere dört farklı yapıdaki mango örnekleri kullanılmıştır. Tüketim sırasında salınan uçucu bileşenler RATD yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Araştırmacılar, aroma bileşiklerinin *in vivo* salınımının, gıda matriksinden etkilendiğini ve bütün haldeki örneklerden (taze ve kurutulmuş kübik parçalar), parçalanmış örneklere (taze püre, kurutulmuş toz) kıyasla daha fazla aroma bileşiği salındığını bildirmişlerdir (Bonneau vd., 2018).



Şekil 3. Retronazal yolla aroma salınımının RATD ile belirlenmesi

Figure 3. RATD used for the analysis of retronasal aroma release

Yapılan çalışmalar gıdaların tüketilmesi sırasında toplam aroma salınımını etkileyen faktörlerin yalnızca ürüne bağlı olmadığı aynı zamanda kişilerin oral fizyolojilerine ve yiyeceklerin ağız yoluyla işlenmesine bağlı olduğunu göstermektedir (Forde vd., 2013; Stieger ve Velde, 2013; Repoux vd., 2012; Laboure vd., 2014, Jourden vd., 2017). Laboure vd., (2014)'nin, farklı sertlikte ve yağ içeriğine sahip model peynirde yaptıkları çalışmada tadım yapan kişilerin oral işlemlerinin aroma salınımı üzerine etkisini nefes analizi-APCI-MS yöntemi ile araştırmışlar ve en yüksek aroma salınımına sahip olan kişilerin çiğneme aktivitesi en fazla olan kişiler olduğunu bildirmişlerdir. *In vivo* aroma salınımını inceleyen bir diğer çalışmada, 48 panelistin farklı sertlikteki peynirleri tüketim sırasında *in vivo* koşullarda çiğneme hareketleri bir elektro-miyografi (EMG) yardımı ile izlenmiş, elde edilen verilerden kişilerin çiğneme sayısı, çiğneme aralığı ve toplam kas hareketi gibi bilgiler hesaplanmıştır. Gıdanın tüketilmesi sırasında geniz boşluğunda salınan toplam uçucu bileşen profilinin nefes alma sayısına, ağız hacmine ve iki yutkunma arasındaki yutaktaki kapanmaya bağlı olduğunu bildirilmiştir (Feron vd., 2014; Kohyama vd., 2015; Kohyama vd., 2016).

Aroma salınımının *in vivo* koşullarda belirlenmesini sağlayan bir diğer yaklaşım ise gıdanın tüketilmesi sırasında ağıza yerleştirilen bir fibere uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunu sağlamaktır. Çilek aromalı süt ve su örneklerinde aroma salınımı incelemek amacıyla, panelistlere 25 mL numune almaları söylenmiş ve 10 saniye boyunca ağızlarını örnek ile çalkalamaları süre sonunda numuneyi tükürmeleri istenmiştir. Tükürmenin ardından panelistlerin başka bir gıda almamak koşulu ile her zamanki davranışlarına (yutkunma konuşma gibi) izin verilmiştir. Tükürmenin ardından belli zamanlarda (15, 30, 60 saniye sonra) ağız içine kapsül fiber yerleştirilmiş, ağız ve dudaklar kapalı bir şekilde, yutkunma olmadan kapsülün yavaşça ağız içinde hareketi sağlanmıştır

(5 dakika). Ekstraksiyondan sonra kapsül çıkarılarak hızlıca desorpsiyon birimine yerleştirilmiştir (Buettner ve Mestres 2005). Şarap örnekleri ile yapılan bir başka çalışmada, yine panelistlerin ağız içine bir fiber yerleştirilmiş, ekstraksiyon süresi (2 dk) boyunca panelistlerin yutkunmasına izin verilmemiş ve ağızları kapalı bir şekilde süre sonuna kadar beklemişlerdir. Ekstraksiyon bittikten sonra, fiber ağızdan çıkarılarak GC-MS yöntemi ile aroma bileşimi belirlenmiştir (Fernández vd., 2016).

SONUÇ

Aromanın algılanmasını etkileyen faktörleri anlamak, gıda işleme endüstrisinde, yenilikçi ve beğenilen gıda ürünlerini üretmek için önemlidir. Nitekim, aroma, tüketicilerin tercihlerini etkileyen en önemli faktördür. Araştırmacılar, son yıllarda tüketim sırasında aroma salınımını ve algılanmasını zamana bağlı olarak inceleyen çeşitli yöntemler kullanmaktadır. Kullanılan tekniklerden, PTR-MS ve APCI-MS gıdanın ağızda tüketimi sırasında aroma salınımının gerçek zamanlı belirlenmesine olanak sağlarken takip edilen uçucu bileşen sayısının azlığı bu cihazların en önemli kısıtıdır. Öte yandan, son zamanlarda yapılan araştırmalarda gıdanın tüketimi sırasında bir polimer tarafından tutulan aroma maddelerinin geleneksel GC-MS yöntemleri ile belirlenmesine yönelik araştırmalar daha basit ve eş zamanlı metotlar kadar hassas metodoloji sunmaktadır. Ancak PTR ve APCI tabanlı tekniklerin aksine, aroma bileşenlerinin gerçek-zamanlı salınımının izlenmesine imkan vermemektedir. Literatürde yapılan çalışmalar daha çok model gıdalar üzerine odaklanmıştır. Gerçek gıda matrisleri ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır ve bu çeşitli faktörlerin (şekerler, pektinler, tükürük vb.) aroma bileşiklerinin salınımına ve aroma algısına etkisinin anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Bu yaklaşımla ülkemizde yapılacak çalışmaların, geleneksel aroma analiz yöntemlerine yeni bir boyut kazandıracığı düşünülmektedir.

Çizelge 1. Aroma salınımının belirlenmesinde kullanılan yöntemler
 Table 1. The methods used for analysis of aroma release

Metodoloji <i>Methodology</i>	Enstrümental metot <i>Instrumental method</i>	Ürün <i>Product</i>	Değerlendirilen ürün sayısı <i>Number of different products evaluated</i>	Takip edilen uçucu bileşen sayısı <i>Number of volatiles followed</i>	Panelist Sayısı <i>Number of assessors</i>	Tadım protokolü <i>Tasting protocol</i>	Kaynaklar <i>References</i>
Dinamik <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> analizler <i>Dynamic in vitro and in vivo analyses</i>	>>Model ağız sistemi-yapay tükürük veya insan tükürüğü-HS-PTR-MS >>Model mouth-airtificial or real saliva-HS-PTR-MS	Sıvı sistemler <i>Liquid systems</i>	3/5 mM fosfat tamponu (pH 7), yağ ve yağ/su emülsiyonu <i>3/5 mM phosphate tampon (pH 7) oil and oil/water emulsion</i>	7	10 (tükürük örnekleri için) <i>10 (for saliva)</i>	Yok <i>No</i>	Benjamin vd., 2012
	>>Model ağız -su veya yapay tükürük-Tenax-GC-MS >>Statik HS-GC-FID >>Model mouth-water or airtificial saliva-Tenax-GC-MS>>Statik HS-GC-FID	Ticari ayçiçek yağı <i>Commercial sun flower oil</i>	2/Ticari ayçiçek yağı ve ayçiçek yağı-su-tween emülsiyonu <i>2/ Commercial sun flower oil, flower oil-water-tween emulsion</i>	11	Yok <i>No</i>	Yok <i>No</i>	Van Ruth ve Roozen 2000a
Dinamik ve statik <i>in vitro</i> analizler <i>Dynamic and static in vitro analyses</i>	>>Model ağız-yapay tükürük-GC-MS>>SPME-GC-MS>>PT-GC-MS>>SAFE-GC-MS >>Model mouth-airtificial-GC-MS>>SPME-GC-MS>>PT-GC-MS>>SAFE-GC-MS	Peynir <i>Cheese</i>	7/farklı sertlikte <i>7/ different texture</i>	27	Yok <i>No</i>	Yok <i>No</i>	Thomsen vd., 2014
	>>Yapay tükürük-HS-GC-MS>>Gerçek tükürük-HS-GC-MS >>Airtificial saliva-HS-GC-MS>>Real saliva-HS-GC-MS	Şarap <i>Wine</i>	2/Kırmızı ve beyaz şarap <i>2/ Red wine and white wine</i>	45	20 (Tükürük örnekleri için) <i>20 (for saliva)</i>	Yok <i>No</i>	Muñoz-González., 2014a

Çizelge 1 devam
Table 1 continued

Metodoloji <i>Methodology</i>	Enstrümental metot <i>Instrumental method</i>	Ürün <i>Product</i>	Değerlendirilen ürün sayısı <i>Number of different products evaluated</i>	Takip edilen uçucu bileşen sayısı <i>Number of volatiles followed</i>	Panelist Sayısı <i>Number of assessors</i>	Tadım protokolü <i>Tasting protocol</i>	Kaynaklar <i>References</i>
Dinamik <i>in vivo</i> ve statik <i>in vitro</i> analizler <i>Dynamic in vivo and static in vitro analyses</i>	>>Yapay yutak-APCI-GPA-MS-Nose>>Statik HS-APCI-GPA-MS-Nose>>İnsan nefesi-APCI-GPA-MS-Nose>> <i>Artificial pharinx-APCI-GPA-MS-Nose>>Statik HS-APCI-GPA-MS-Nose>> Human breath-APCI-GPA-MS-Nose</i>	Peyniraltı suyu proteinleri <i>Whey proteins</i>	1/Peyniraltı suyu protein izolatı <i>1/Whey protein isolate</i>	8	2	Var Yes	Weel vd., 2004
	>>Model ağız (RAS)-yapay tükürük-PTR-MS>> Nefes analizi-PTR-MS <i>>>Model mouth (RAS)-yapay tükürük-PTR-MS>>Nefes analizi-PTR-MS</i>	Model ekmek <i>Model bread</i>	1	5	1	Var Yes	Onishi vd., 2012
	>>Burun boşluğu-PTR-TOF-MS>>HS-PTR-TOF-MS>>Nose space-PTR-TOF-MS>>HS-PTR-TOF-MS	Çilek aromalı tahıl çubukları <i>Cereal bars with strawberry aroma</i>	8/şeker içeriği değişen aromalı barlar <i>8/aromatic bars with different sugar concentrations</i>	14	5	Var Yes	Heenan vd., 2012
	>>Burun boşluğu-PTR-TOF-MS>>HS-PTR-TOF-MS>>Nose space-PTR-TOF-MS>>HS-PTR-TOF-MS	Model kahve <i>Model coffee</i>	3/farklı kavurma yöntemi <i>3/different roasting method</i>	81	5	Var Yes	Romano vd., 2014

Çizelge 1 devam
Table 1 continued

Metodoloji <i>Methodology</i>	Enstrümental metot <i>Instrumental method</i>	Ürün <i>Product</i>	Değerlendirilen ürün sayısı <i>Number of different products evaluated</i>	Takip edilen uçucu bileşen sayısı <i>Number of volatiles followed</i>	Panelist Sayısı <i>Number of assessors</i>	Tadım protokolü <i>Tasting protocol</i>	Kaynaklar <i>References</i>
	>>Ağız içi SBSE ekstraksiyon kapsülü >> <i>SBSE in mouth extraction capsule</i>	Çilek aroması <i>Strawberry aroma</i>	2/ çilek aromalı su ve süt <i>2/ milk and water with strawberry aroma</i>	15	10	Var <i>Yes</i>	Buettner ve Mestres 2005
	>>Burun boşluğu-APCI-MS >> <i>Nose space-APCI-MS</i>	Model süt jeli <i>Model milk gel</i>	3/kimozin içermeyen, 3 veya 10 µL kimozin içeren süt jeli <i>3/ milk gel without chymosin and milk gel with 3 or 10 µL chymosin</i>	10	14	Var <i>Yes</i>	Gierczynski vd., 2008
	>>Burun boşluğu-PTR-MS >> <i>Nose space-PTR-MS</i>	Glikoz şurubu <i>Glucose syrup</i>	7/viskozitesi değişen şurup örnekleri <i>7/ syrup samples varying in viscosity</i>	2	5	Var <i>Yes</i>	Doyennette vd., 2011
Dinamik <i>in vivo</i> analizler <i>Dynamic in vivo analyses</i>	>>Nefes analizi-APCI-MS >> <i>Breath analysis-APCI-MS</i>	Model peynir <i>Model cheese</i>	6/ farklı tekstürde <i>6/ different texture</i>	2	44	Yok <i>No</i>	Repoux vd., 2012
	>>RATD-GC-MS >> <i>RATD-GC-MS</i>	Şarap <i>Wine</i>	5	4	6	Var <i>Yes</i>	Muñoz-González vd., 2014a
	>>RATD-GC-MS >> <i>RATD-GC-MS</i>	Model şarap <i>Model wine</i>	4	6	3	Var <i>Yes</i>	Muñoz-González vd., 2014b
	>>Nefes analizi-APCI-MS >> <i>Breath analysis-APCI-MS</i>	Model peynir <i>Model cheese</i>	6/ farklı yağ içerikli ve sertlikte <i>6/ different texture and fat content</i>	2	34	Var <i>Yes</i>	Labouré vd., 2014
	>>Nefes analizi-APCI-MS >> <i>Breath analysis-APCI-MS</i>	Model peynir <i>Model cheese</i>	4/ farklı tekstürde <i>4/ different texture</i>	-	48	Var <i>Yes</i>	Feron vd., 2014
	>>Nefes analizi-PTR-MS >> <i>Breath analysis_PTR-MS</i>	Konyak <i>Cognac</i>	5/ farklı olgunlukta <i>5/ different maturity</i>	9	13	Var <i>Yes</i>	Fiches vd., 2016
	>>Ağız içi SPME-GC-MS >> <i>SPME in mouth-GC-MS</i>	Beyaz şarap <i>White wine</i>	4/ farklı aromalı şaraplar <i>4/ wines with different aroma</i>	6	3	Var <i>Yes</i>	Fernandez vd., 2016

Çizelge 1 devam
Table 1 continued

	>>Yapay tükürük- PTR-MS	Peynir <i>Cheese</i>	4/farklı yağ içerikli ve farklı sertlikte peynir	2	Yok <i>No</i>	Yok <i>No</i>	Doyennette vd., 2011
	>>Airtifical saliva- PTR-MS		4/ <i>different fat contents and different textures</i>				
Dinamik <i>in vitro</i> analizler <i>Dynamic in vitro analyses</i>	>>HS-GC-MS>>HS- APCI-MS>>Burun boşluğu analizi-APCI- MS	Model köri sos <i>Model curry</i>	21/farklı yağ içeriği ve farklı baharatlar	3	23	Var <i>Yes</i>	Hatakeyama vd., 2014
	>>HS-GC-MS>>HS- APCI-MS>>Nose <i>space-APCI-MS</i>	Model köri sos <i>Model curry</i>	21/ <i>different fat ana- spices</i>				
	>>Model ağız (RAS)- gerçek tükürük SPME-GC-MS	Zeytin yağı <i>Olive oil</i>	6	13	14 (tükürük örnekleri için) <i>14(for saliva)</i>	Yok <i>No</i>	Genovese vd., 2015
Statik <i>in vitro</i> analiz <i>Static in vitro analysis</i>	>>HS-PTR-TOF-MS	Elma <i>Apple</i>	9/ farklı elma çeşitleri <i>9/ different variety</i>	49	13	Yok <i>No</i>	Ting vd., 2016

RAS: Retronazal aroma simülatorü/Retronasal aroma simulator; APCI-MS:Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon-kütle spektrometresi/Atmospheric-pressure chemical ionization; GC-FID:Gaz kromatografisi-alev iyonlaşmalı dedektör/Gas chromatography flame ionization detector; SPME: Katı faz mikro ekstraksiyonu/solid phase microextraction; HS:Tepe boşluğu yöntemi/Head space method; RATD:Retronazal aroma tuzaklayıcı aparat/Retronasal aroma trapping device; SBSE:Karıştırma çubuğu sorptif ekstraksiyonu/Stir bar sorptive extraction; TOF: Uçuş zamanlı kütle spektrometresi/Time of flight mass spectrometer; GPA:Gaz faz analizatorü/Gas phase analyser; PT: Purge and trap/Purge and trap.

KAYNAKÇA

Akiyama, M., Watanabe, R., Ohata, M., Onishi, M., Mizota, Y., Okawa, T., Iwabuchi, H. (2016). Effect of milk components on release of retronasal-aroma compounds from coffee with milk. *Food Sci Technol Res*, 22(4): 545-555.

Arvisenet, G., Guichard, E., Ballester, J. (2016). Taste-aroma interaction in model wines: Effect of training and expertise. *Food Qual Prefer*, 52: 211-221.

Benjamin, O., Silcock, P., Beauchamp, J., Buettner, A., Everett, D.W. (2012). Tongue pressure and oral conditions affect volatile release from liquid systems in a model mouth. *J Agric Food Chem*, 60(39): 9918-9927.

Boesveldt, S., de Graaf, K. (2017). The differential role of smell and taste for eating behavior. *Perception*, 46(3-4), 307-319.

Boisard, L., Tournier, C., Semon, E., Noirot, E., Guichard, E., Salles, C. (2014). Salt and fat contents influence the microstructure of model cheeses, chewing/swallowing and in vivo aroma release. *Flavour Frag J*, 29(2): 95-106.

Bojanowski, V., Hummel, T. (2012). Retronasal perception of odors. *Physiol Behav*, 107: 484-487.

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., Valette, J., Guichard, E., Gunata, Z. (2018). Impact of fruit texture on the release and perception of aroma compounds during in vivo consumption using fresh and processed mango fruits. *Food Chem*, 239, 806-815.

- Buettner, A., Mestres, M. (2005). Investigation of the retronasal perception of strawberry aroma aftersmell depending on matrix composition. *J Agric Food Chem*, 53(5): 1661-1669.
- Bushdid, C., Magnasco, M.O., Vosshall, L.B., Keller, A. (2014). Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, 343: 1370-1372.
- Cappellin, L., Karl, T., Probst, M., Ismailova, O., Winkler, P.M., Soukoulis, C., Biasioli, F. (2012). On quantitative determination of volatile organic compound concentrations using proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry. *Environ Sci Technol*, 46: 2283-90.
- Cappellin, L., Loreto, F., Aprea, E., Romano, A., del Pulgar, J.S., Gasperi, F., Biasioli, F. (2013). PTR-MS in Italy: a multipurpose sensor with applications in environmental, agri-food and health science. *Sensors*, 13(9): 11923-11955.
- Doyennette, M., De Loubens, C., Deleris, I., Souchon, I., Trelea, I.C. (2011). Mechanisms explaining the role of viscosity and post-deglutitive pharyngeal residue on *in vivo* aroma release: A combined experimental and modeling study. *Food Chem*, 128(2): 380-390.
- Eren, A.M., Borisy, G.G., Huse, S.M., Mark Welch, J.L. (2014). PNAS Plus: From the cover: Oligotyping analysis of the human oral microbiome. *Proc Natl Acad Sci*, 111(28): 2875-2884.
- Esteban-Fernández, A., Rocha-Alcubilla, N., Muñoz-González, C., Moreno-Arribas, M. V., Pozo-Bayón, M.Á. (2016). Intra-oral adsorption and release of aroma compounds following in-mouth wine exposure. *Food Chem*, 205: 280-288.
- Farneti, B., Alarcón, A.A., Cristescu, S.M., Costa, G., Harren, F.J.M., Holthuysen, N.T. E., Woltering, E.J. (2013). Aroma volatile release kinetics of tomato genotypes measured by PTR-MS following artificial chewing. *Food Res Int*, 54(2): 1579-1588.
- Feron, G., Ayed, C., Qannari, E.M., Courcoux, P., Laboure, H., Guichard, E. (2014). Understanding aroma release from model cheeses by a statistical multiblock approach on oral processing. *PLoS one*, 9(4): e93113.
- Fiches, G., Saint Eve, A., Jourden, S., Délérís, I., Brunerie, P., Souchon, I. (2016). Temporality of perception during the consumption of French grape brandies with different aging times in relation with aroma compound release. *Flavour Frag J*, 31(1): 31-40.
- Forde, C.G., van Kuijk, N., Thaler, T., de Graaf, C., Martin, N. (2013). Oral processing characteristics of solid savoury meal components, and relationship with food composition, sensory attributes and expected satiation. *Appetite*, 60(1): 208-219.
- Foster, K.D., Grigor, J., Cheong, J.N., Yoo, M.J., Bronlund, J.E., Morgenstern, M.P. (2011). The role of oral processing in dynamic sensory perception. *J Food Sci*, 76(2): 49-61.
- Gan, H.H. (2015). Aroma-matrix interaction in food: an APCI approach. Ph.D. Dissertation, University of Nottingham, UK, 138 p.
- Genovese, A., Caporaso, N., Villani, V., Paduano, A., Sacchi, R. (2015). Olive oil phenolic compounds affect the release of aroma compounds. *Food Chem*, 181: 284-294.
- Gierczynski, I., Laboure, H., Guichard, E. (2008). *In vivo* aroma release of milk gels of different hardnesses: Inter-individual differences and their consequences on aroma perception. *J Agric Food Chem*, 56(5): 1697-1703.
- Guichard, E. (2014). Interaction of aroma compounds with food matrices. In: *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, Parker, J.K., Elmore J.S., Methven, L., Elsevier, the UK, pp. 273-295.
- Hatakeyama, J., Davidson, J.M., Kant, A., Koizumi, T., Hayakawa, F., Taylor, A.J. (2014). Optimising aroma quality in curry sauce products using *in vivo* aroma release measurements. *Food Chem*, 157: 229-239.
- Heenan, S., Soukoulis, C., Silcock, P., Fabris, A., Aprea, E., Cappellin, L., Biasioli, F. (2012). PTR-TOF-MS monitoring of *in vitro* and *in vivo* flavour release in cereal bars with varying sugar composition. *Food Chem*, 131(2): 477-484.

- Jourdren, S., Masson, M., Saint-Eve, A., Panouillé, M., Blumenthal, D., Lejeune, P., Souchon, I. (2017). Effect of bread crumb and crust structure on the in vivo release of volatiles and the dynamics of aroma perception. *J Agric Food Chem*, 65(16): 3330-3340.
- Kohyama, K., Hayakawa, F., Kazami, Y., Ishihara, S., Nakao, S., Funami, T., Nishinari, K. (2015). Electromyographic texture characterization of hydrocolloid gels as model foods with varying mastication and swallowing difficulties. *Food Hydrocoll*, 43: 146-152.
- Kohyama, K., Hayakawa, F., Gao, Z., Ishihara, S., Funami, T., Nishinari, K. (2016). Natural eating behavior of two types of hydrocolloid gels as measured by electromyography: Quantitative analysis of mouthful size effects. *Food Hydrocoll*, 52: 243-252.
- Labouré, H., Repoux, M., Courcoux, P., Feron, G., Guichard, E. (2014). Inter individual retronasal aroma release variability during cheese consumption: Role of food oral processing. *Food Res Int*, 64: 692-700.
- Lindinger, W., Hansel, A., Jordan, A. (1998). On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research. *Int J Mass Spectrom Ion Process*, 173(3): 191-241.
- Linforth, R., Taylor, A.J. (2000). Persistence of volatile compounds in the breath after their consumption in aqueous solutions. *J Agric Food Chem*, 48(11): 5419-5423.
- Mark Welch, J.L., Rossetti, B.J., Rieken, C.W., Dewhirst, F.E., Borisy, G.G. (2016). Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proc Natl Acad Sci India Sect*, 113(6): 791-800.
- Mosca, A.C., Chen, J. (2017). Food-saliva interactions: Mechanisms and implications. *Trends Food Sci Technol*, 66: 125-134.
- Muñoz-González, C., Martín-Álvarez, P.J., Moreno-Arribas, M.V., Pozo-Bayón, M.A. (2013). Impact of the nonvolatile wine matrix composition on the in vivo aroma release from wines. *J Agric Food Chem*, 62(1): 66-73.
- Muñoz-González, C., Feron, G., Guichard, E., Rodríguez-Bencomo, J.J., Martín-Álvarez, P.J., Moreno-Arribas, M.V., Pozo-Bayón, M.A. (2014a). Understanding the role of saliva in aroma release from wine by using static and dynamic headspace conditions. *J Agric Food Chem*, 62(33): 8274-8288.
- Muñoz-González, C., Rodríguez-Bencomo, J.J., Moreno-Arribas, M.V., Pozo-Bayón, M. Á. (2014b). Feasibility and application of a retronasal aroma-trapping device to study in vivo aroma release during the consumption of model wine-derived beverages. *Food Sci Nutr*, 2(4): 361-370.
- Onishi, M., Inoue, M., Araki, T., Iwabuchi, H., Sagara, Y. (2012). A PTR-MS-based protocol for simulating bread aroma during mastication. *Food Bioprocess Tech*, 5(4): 1228-1237.
- Özdestan, Ö. (2013). PTR-MS tekniğinin gıda analizlerinde kullanımı. *GIDA*, 38(2): 103-110.
- Pagès-Hélary, S., Andriot, I., Guichard, E., Canon, F. (2014). Retention effect of human saliva on aroma release and respective contribution of salivary mucin and α -amylase. *Food Res Int*, 64: 424-431.
- Paravisini, L., Septier, C., Moretton, C., Nigay, H., Arvisenet, G., Guichard, E., Dacremont, C. (2014). Caramel odor: Contribution of volatile compounds according to their odor qualities to caramel typicality. *Food Res Int*, 57: 79-88.
- Ployon, S., Morzel, M., Canon, F. (2017). The role of saliva in aroma release and perception. *Food Chem*, 226: 212-220.
- Poinot, P., Arvisenet, G., Ledauphin, J., Gaillard, J.L., Prost, C. (2013). How can aroma-related cross-modal interactions be analysed? A review of current methodologies. *Food Qual Prefer*, 28(1): 304-316.
- Repoux, M., Sémon, E., Feron, G., Guichard, E., Labouré, H. (2012). Inter-individual variability in aroma release during sweet mint consumption. *Flavour Fragr J*, 27(1): 40-46.

- Romano, A., Cappellin, L., Ting, V., Aprea, E., Navarini, L., Gasperi, F., Biasioli, F. (2014). Nosespace analysis by PTR-ToF-MS for the characterization of food and tasters: The case study of coffee. *Int J Mass Spectrom*, 365: 20-27.
- Ruijschop, R.M., Zijlstra, N., Boelrijk, A.E., Dijkstra, A., Burgering, M.J., de Graaf, C., Westerterp-Plantenga, M.S. (2011). Effects of bite size and duration of oral processing on retro-nasal aroma release—features contributing to meal termination. *Br J Nutr*, 105(2): 307-315.
- Soeting, W.J., Heidema, J. (1988). A mass spectrometric method for measuring flavour concentration/time profiles in human breath. *Chem Senses*, 13(4): 607-617.
- Soukoulis, C., Cappellin, L., Aprea, E., Costa, F., Viola, R., Märk, T.D., Biasioli, F. (2013). PTR-ToF-MS, A novel, rapid, high sensitivity and non-invasive tool to monitor volatile compound release during fruit post-harvest storage: the case study of apple ripening. *Food Bioprocess Tech*, 6(10): 2831-2843.
- Stieger, M., Van de Velde, F. (2013). Microstructure, texture and oral processing: New ways to reduce sugar and salt in foods. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 18(4): 334-348.
- Taylor, A.J., Linfoth, R.S.T., Harvey, B.A., Blake, A. (2000). Atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry for in vivo analysis of volatile flavour release. *Food Chem*, 71(3): 327-338.
- Thomsen, M., Gourrat, K., Thomas-Danguin, T., Guichard, E. (2014). Multivariate approach to reveal relationships between sensory perception of cheeses and aroma profile obtained with different extraction methods. *Food Res Int*, 62: 561-571.
- Ting, J.L.V., Soukoulis, C., Silcock, P., Cappellin, L., Romano, A., Aprea, E., Biasioli, F. (2012). In vitro and in vivo flavor release from intact and fresh-cut apple in relation with genetic, textural, and physicochemical parameters. *J Food Sci*, 77(11): 1226-1233.
- Ting, V.J.L., Romano, A., Soukoulis, C., Silcock, P., Bremer, P.J., Cappellin, L., Biasioli, F. (2016). Investigating the in-vitro and in-vivo flavour release from 21 fresh-cut apples. *Food Chem*, 212: 543-551.
- Van Ruth, S.M., Roozen, J.P., Cozijnsen, J.L. (1995). Changes in flavour release from rehydrated diced bell peppers (*Capsicum annuum*) by artificial saliva components in three mouth model systems. *J Sci Food Agr*, 67(2): 189-196.
- Van Ruth, S.M., Roozen, J.P. (2000a). Aroma compounds of oxidised sunflower oil and its oil-in-water emulsion: volatility and release under mouth conditions. *Eur Food Res Technol*, 210(4): 258-262.
- Van Ruth, S.M., Roozen, J.P. (2000b). Influence of mastication and saliva on aroma release in a model mouth system. *Food Chem*, 71(3): 339-345.
- Weel, K.G., Boelrijk, A.E., Burger, J.J., Verschuere, M., Gruppen, H., Voragen, A. G., Smit, G. (2004). New device to simulate swallowing and in vivo aroma release in the throat from liquid and semiliquid food systems. *J Agric Food Chem*, 52(21): 6564-65.