

**Identifizierung und Synthese flüchtiger, bei der
Lebensmittelverarbeitung entstehender Verbindungen**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften
des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von

Stephanie Nagorny

aus Lübeck

Hamburg 2006

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2002 bis März 2006 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. W. Francke
2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Steinhart

Für meine Eltern
und für Thorsten

Danksagung

Herrn Prof. Dr.Dr.h.c. mult.Wittko Francke möchte ich herzlich für die Überlassung des Themas und für seine wirklich unermüdliche Betreuung danken. Trotz seiner starken Arbeitsbelastung wurden aufkommende Fragen immer ausführlich diskutiert.

Herrn Prof. Steinhart danke ich für seine Diskussionsbereitschaft und für die Bereitstellung der Mittel für die letzten zwei Jahre aus seinem BMBF-Projekt.

Den jetzigen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises möchte ich für das freundschaftliche Klima, die anregenden Diskussionen und die vielen schönen Stunden innerhalb und außerhalb der Arbeitszeit danken. Mein besonderer Dank gilt Frau Carolin Kellersmann und Frau Jenny Haftmann auf deren Unterstützung und Freundschaft ich immer zählen konnte.

Für die erfolgreiche Zusammenarbeit danke ich allen Projektpartnern des BMBF-Verbundprojektes.

Frau Dr. Sugima Rappert und Herrn Prof. Müller von der Technischen Universität Hamburg Harburg sei gedankt für die erfolgreiche Zusammenarbeit im Bereich der Pyrazine.

Frau Carola Göldniz und Frau Sandra Fölber danke ich für Ihre Unterstützung bei Teil zwei des Geruchsprojektes.

Herrn Stephan von Reuss danke ich für die Chiralitätsmessungen.

Herrn Dr. Stephan Franke danke ich für seinen Einsatz bei der Durchführung massenspektroskopischer Experimente sowie seine stete Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse.

Herrn Dr. Sinnwell und den Mitarbeiterinnen der NMR-Abteilung möchte ich herzlich für die zuverlässige Aufnahme der NMR-Spektren danken.

Herrn Thorsten Grage danke ich für aufmunternde Worte und für Unterstützung in jeder Hinsicht.

Mein tiefer Dank gilt meinen Eltern und meinen Brüdern, auf deren liebevolle Unterstützung ich mich immer verlassen konnte.

1	EINLEITUNG.....	2
2	THEMENSTELLUNG	4
3	MATERIAL UND METHODEN.....	5
4	ERGEBNISSE	7
4.1	Abluft von Bratprozessen	7
4.1.1	Einleitung	7
4.1.2	Bratabluft von gesalzenem Schweinefleisch mit Basilikum	12
4.1.3	Bratabluft von gesalzenem Rindfleisch mit Basilikum.....	17
4.1.4	Bratabluft von gesalzenem Putenfleisch mit Basilikum	21
4.2	Abluft lebensmittelverarbeitender Betriebe	22
4.2.1	Abluft einer Fett/Öl-verarbeitenden Fabrik.....	22
4.2.2	Abluft einer fischverarbeitenden Fabrik	48
4.2.3	Abluft eines Schweinemastbetriebes.....	50
4.2.4	Abluft einer Stärkefabrik.....	53
4.2.5	Abluft einer Schokoladenfabrik	56
4.3	Identifizierung und Synthese mikrobieller Abbauprodukte von Alkylpyrazinen60	
4.3.1	Allgemeines.....	60
4.3.2	Abbau von 2,5-Dimethylpyrazin durch das Bakterium <i>Rhodococcus erythropolis</i> DP-45	62
4.3.3	Abbau von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin durch das Bakterium <i>Mycobacterium</i> sp. strain DM-11	67
5	DISKUSSION	75
6	ZUSAMMENFASSUNG	79
7	SUMMARY	81
8	EXPERIMENTELLER TEIL.....	83
9	LITERATUR	118
10	SICHERHEITSDATEN	126

1 Einleitung

Bei nahezu jeder Form der Lebensmittelherstellung und –verarbeitung, aber auch bei zahlreichen anderen industriellen Prozessen entstehen Gerüche. Bei diesen handelt es sich in der Regel um komplex zusammengesetzte Vielstoffgemische, die einerseits aus den eigentlichen „Geruchsträgern“ bestehen und andererseits aus Begleitsubstanzen, die an den olfaktorischen Charakteristika der entsprechenden Duftbouquets nur geringen Anteil haben.

Steigende Ressentiments in der Bevölkerung gegenüber Geruchsbelästigungen führten zu verstärkten gesetzlichen Regelungen [1,2,3]. Um diesen Rechnung zu tragen, sind Industriebetriebe in der Pflicht, Maßnahmen gegen Geruchsbelästigungen zu ergreifen. Am häufigsten finden die katalytische Nachverbrennung, sowie die Kombination aus Biowäscher und Biobeet industrielle Anwendung. Diese Systeme sind jedoch zum Teil mit Mängeln behaftet, so kommt es bei der katalytischen Nachverbrennung zu einem hohen CO₂-Ausstoß, zudem ist sie mit hohen Energiekosten verbunden. Bei der oftmals eingesetzten Kombination aus Biowäscher und Biobeet ist der geringe Wirkungsgrad sowie die biologische Anfälligkeit gegenüber äußeren Einflüssen problematisch.

Es besteht deshalb eine hohe Nachfrage nach ökonomisch und ökologisch sinnvollen Verfahren zur Geruchsminderung. Eine weitere Quelle der Geruchsbelästigungen können die in der heimischen Küche entstehenden Gerüche darstellen. Auch hier entstehen, wie bei der industriellen Verarbeitung von Lebensmitteln Verbindungen, denen teilweise olfaktorisch eine große Bedeutung zukommt. Auch die Verbindungen, die in größerer Menge entstehen, denen geruchstechnisch geringere Bedeutung zukommt, sind von Interesse und sind bis heute eher zurückhaltend untersucht worden.

Die für den jeweiligen von der menschlichen Nase wahrnehmbaren Geruch entscheidenden Substanzen sind häufig zahlen- und mengenmäßig relativ gering. Unter ihnen befinden sich Haupt- aber auch Spurenkomponenten der Bouquets. Es hat sich gezeigt, dass Nebensubstanzen oft von besonderer olfaktorischer Bedeutung sind [4].

Allerdings sind die chemischen Strukturen vieler in diesem Zusammenhang wichtigen Substanzen unbekannt, bzw. sie stehen für Versuche zu deren Quantifizierung oder Entfernung nicht zur Verfügung, da sie nicht kommerziell erhältlich sind. Die Kenntnis der chemischen Strukturen kritischer Verbindungen und deren Synthese sind jedoch von zentraler Bedeutung. Nur detailliertes Wissen über die chemischen Strukturen der Zielverbindungen und über deren chemische Eigenschaften ermöglichen die Entwicklung

effizienter Vermeidungsstrategien bei Produktions- und Verarbeitungsprozessen, sowie die Entwicklung von Verfahren zur Reinigung von Abluft und Abwasser.

Erst in den letzten Jahren wurde gezeigt, dass die Zahl geruchsaktiver “Leitsubstanzen“ häufig relativ gering ist [5,6,7,8,9,10]. So wurden zB. im Kaffee mehr als 800 Substanzen mit geruchsaktivem Potential identifiziert, wovon allerdings lediglich etwa 25 Substanzen für das Aroma des Röstkaffees von Bedeutung sind [11,12,13,14]. Diese Untersuchungen wurden häufig durch organoleptische Versuche unter Beteiligung von Panels durchgeführt, die aus mehreren trainierten Personen bestanden. Diesbezügliche Ansätze werden von Etievant et al. [15] und von Pollien et al. [16] beschrieben.

Zur Isolierung bzw. Anreicherung flüchtiger Geruchsstoffe werden etablierte Methoden angewandt wie Extraktionstechniken, Headspace-Techniken oder Adsorption/Desorption [17,18] und Festphasen-Extraktion [19,20]. Dabei werden in der Regel Vielstoffgemische erhalten, aus denen einzelne Komponenten nur selten isoliert werden können. Aus diesem Grund kommen NMR-spektroskopische Strukturzuordnungen nur selten in Betracht; die analytische Methode der Wahl ist vielmehr die Kombination von Gaschromatographie und (hochauflösender) Massenspektrometrie (GC/MS). Bei der Strukturzuordnung der Verbindungen kann auf elektronische Datenbanken zurückgegriffen werden. Der Strukturbeweis für unbekannte Substanzen im Zusammenhang mit deren Identifizierung und Quantifizierung sowie die Durchführung von Versuchen zur Verfahrensentwicklung wird erst durch die Synthese von Reinsubstanzen ermöglicht.

Durch Einsatz gaschromatographischer Methoden in Kombination mit Detektion zur olfaktometrischen Bestimmung (sniffing ports) können in den zu untersuchenden Proben geruchsrelevante Leitsubstanzen aufgespürt werden, die mit den bis dahin benutzten Abluftreinigungsanlagen nicht entfernt werden können. Bei der Untersuchung von Geruchsstoffen kann die Identifizierung der Zielverbindungen dann als erfolgreich angesehen werden, wenn die synthetischen Kopien(als Einzelsubstanzen oder als künstliche Gemische) ähnliche olfaktorische Eigenschaften aufweisen wie die untersuchten Gerüche [21,22].

2 Themenstellung

In den letzten Jahren wurden eine Reihe von Arbeiten vorgestellt, die sich mit der Identifizierung und Bewertung geruchsaktiver Substanzen beschäftigen [23,24,25,26,27,28,29,30]. Diese beschreiben in erster Linie die Anreicherung geruchsaktiver Substanzen mittels Adsorption und anschließende thermische Desorption sowie die Identifizierung flüchtiger Substanzen mit Hilfe der Kombination Gaschromatographie und Massenspektrometrie. Parallel werden dabei häufig organoleptische Indikatoren, insbesondere Olfaktometrie genutzt. Diese Arbeiten beschäftigen sich jedoch schwerpunktmäßig mit der Analytik von Aromastoffen in speziellen Lebensmitteln.

Die Identifizierung und Synthese geruchsaktiver Substanzen in der Abluft lebensmittelverarbeitender Betriebe sowie beim gemeinsamen Erhitzen von Lebensmitteln in der heimischen Küche entstehen, sind bisher eher zurückhaltend untersucht worden. Im Rahmen dieser Arbeit sollte eine Methode zur repräsentativen Gewinnung von Abluftproben unterschiedlicher Quellen entwickelt werden. Die so gewonnenen Proben sollten auf geruchsaktive bzw. von Filtersystemen nicht entfernte Substanzen mittels gekoppelter Gaschromatographie/Olfaktometrie hin untersucht werden. Anschließend sollte eine Strukturaufklärung mittels GC/MS oder verschiedene Derivatisierungsreaktionen durchgeführt werden. Eine endgültige Identifizierung erfolgte abschließend durch die Synthese dieser Substanzen.

3 Material und Methoden

Die Probennahme wurde bei verschiedenen lebensmittelverarbeitenden Betrieben durchgeführt. Die zu untersuchende Abluft wurde über Stutzen und Teflonschläuche mit Hilfe eines Mikroprozessor-gesteuerten Gassamplers (TDS A, Gerstel, Mühlheim, Germany) durch Glasliner geführt, welche mit unterschiedlichen Adsorbentien befüllt waren.

Verschiedene Flussraten (0,2 bis 1,0 l/min), Probevolumina (0,2 bis 10,0 L) und Adsorbentien (Tenax TA, SuperQ) wurden getestet. Die auf dem Adsorbens Tenax TA adsorbierten Verbindungen wurden für die gaschromatographische Analyse thermisch (Starttemperatur 30°C, 50°C/min bis 280°C für 4 min) bei einem Heliumfluß von 50 ml/min desorbiert. Die desorbierten Substanzen wurden anschließend in einem mit flüssigem Stickstoff gekühlten und mit TenaxTA befüllten Glasliner bei –150 °C aufgefangen. In wenigen Sekunden wurden die adsorbierten Substanzen im Kaltaufgabesystem bei 280 °C zur gaschromatographischen Analyse auf eine Kapillarsäule gegeben. Das Ende der Kapillarsäule führte in ein T-Stück durch welches der Gasstrom im Verhältnis 1:1 aufgeteilt wurde. Der eine Teil wurde in ein Massenspektrometer geleitet und der andere Teil in einen sogenannten Olfactory Detector Port oder Sniffingport (Abbildung 1).

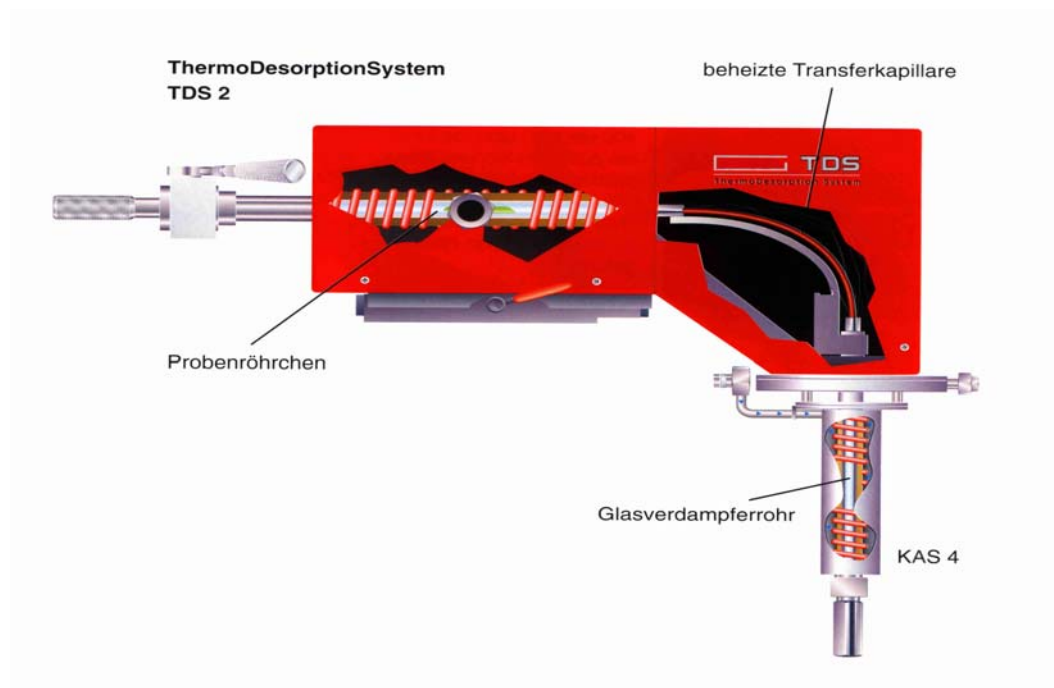


Abbildung 1: Aufbau des ThermoDesorptionssystems

Die mit Hilfe des Adsorbens SuperQ gesammelten Substanzen wurden jeweils mit 10ml eines geeigneten Lösungsmittels eluiert . Eine Fraktionierung erfolgte dabei durch die Wahl unterschiedlich polarer Solventien und/oder anschließende säulenchromatographische Trennung an stationären Phasen mit unterschiedlicher Polarität. Die anschließend auf 10 µl eingeengten Proben wurden mittels gekoppelter Gaschromatographie/Massenspektrometrie untersucht.

4 Ergebnisse

4.1 Abluft von Bratprozessen

4.1.1 Einleitung

Bei jeder Form der Verarbeitung von Lebensmitteln entstehen Gerüche. So auch beim Erhitzen/Braten von verschiedenen Lebensmitteln. Ledl *et al.* [31] untersuchten die flüchtigen Aromakomponenten in gekochten Tomaten, Karotten, Zwiebeln und in gekochtem Fleisch sowie die entstehenden Verbindungen beim gemeinsamen Erhitzen von Fleisch und Zwiebeln. Es zeigte sich, dass beim gemeinsamen Braten oder Kochen von Rindfleisch mit Zwiebeln eine Reihe von Verbindungen nachweisbar waren, die beim alleinigen Erhitzen der Zutaten nicht nachgewiesen werden konnten. Van Loon *et al.* [32] klärten das Bouquett von Pommes Frites unter Bedingungen wie sie im Mundraum beim Zerkleinern der Nahrung vorherrschen auf. Sie konnten 41 für das Aroma verantwortliche Verbindungen identifizieren. Hauptgeruchsträger waren 3-Methylbutanal, Hexanal, verschiedene Pyrazine, Dimethyltrisulfid sowie eine Reihe von Carbonsäuren und Aldehyden. Es handelt sich zum großen Teil um Verbindungen, die auch in der Abluft der untersuchten lebensmittelverarbeitenden Betriebe nachweisbar waren.

MacLeod *et al.* [33] haben den Einfluß von Wasser bei der Produktion von gekochtem Rindfleisch untersucht. Sie konnten im Aroma 2-Methyl-3-(methylthio)furan, 3-Methylcyclopentanon, 2-Methylcyclopentanon, Cyclopent-2-enon und Cyclohex-2-enon nachweisen. Die Verbindungen waren ebenfalls in Rindfleisch bei der Untersuchung des Einflusses der Brattemperatur von MacLeod *et al.* [34] gefunden worden. Es handelt sich offensichtlich um typische Aromakomponenten von gebratenem Fleisch.

Die bei der Simulation des Bratprozesses, dem gemeinsamen schnellen Erhitzen von Fleisch mit Gewürzen, entstehenden Gerüche sind weitgehend unbekannt. Kawamura *et al.* [35] haben das Aroma von Hühnersuppe beim Erhitzen mit Lorbeerblättern untersucht. Sie fanden heraus, dass der Gehalt an 1,8-Cineol, Linalool, Sabinen und α -Terpinen in der entstehenden Abluft im Verlauf des Kochprozesses abnahm und nach einer Stunde Eugenol als Hauptkomponente nachweisbar war.

Chevance *et al.* [36] identifizierten in den Headspaceproben von gekochten Frankfurter Würstchen eine Reihe von Mono- und Sesquiterpenen sowie phenolische Verbindungen. Einzelanalysen der enthaltenen Gewürze sowie des Fleischbräts ergaben, dass die

phenolischen Verbindungen eindeutig beim Räuchern der Würstchen entstanden waren, während die Terpene ihren Ursprung in den Gewürzen hatten.

Um die beim Bratprozess entstehenden Reaktionsprodukte von Fleisch und Gewürzen zu identifizieren, wurden im Rahmen dieser Arbeit Bratversuche unter Küchenbedingungen durchgeführt. Dazu wurden Fleisch und das jeweilige Gewürz mit Pflanzenöl auf 170 °C in einer Bratpfanne erhitzt. Die dabei entstehenden flüchtigen Verbindungen wurden mittels Gassamplers an dem Adsorbens SuperQ adsorbiert und anschließend mit Lösungsmitteln unterschiedlicher Polarität eluiert.

Abbildung 2 zeigt den Versuchsaufbau.



Abbildung 2: Apparatur zur Simulation des Bratprozesses und zum Adsorbieren der flüchtigen Verbindungen

I. Basilikum (*Ocimum basilicum*) [37]

Familie der Lippenblütengewächse (Lamiaceae, Synonym Labiatae)

Einjährige Pflanze, Stängel einfach oder verästelt, vierkantig, kahl oder schwach behaart, bis 60 cm hoch werdend, Blätter gegenständig gestielt, eiförmig oder eiförmig länglich,



Blüten im oberen Bereich des Stängels und der Seitenzweige, Krone zweilippig, 4 Staubblätter, Fruchtknoten oberständig.

Abbildung 3: *Ocimum basilicum*

Basilikum kommt als frisches Kraut oder getrocknet und gerebelt in den Handel.

Es werden hauptsächlich die frischen Blätter, das frische oder getrocknete Kraut, das Basilikumöl oder Basilikum-Oleoresin bei der Zubereitung von Speisen verwendet. Aufgrund der starken Variabilität der Zusammensetzung des ätherischen Öls ist der Geruch des Basilikums unterschiedlich. Er reicht von zitronenartig, anisartig bis zimtartig. Der Geschmack ist würzig, pfefferartig und kühlend.

Inhaltsstoffe:

Der Gehalt an ätherischem Öl beträgt in frischen Blättern 0,02 – 0,5 % im getrockneten Kraut 0,2 – 7 %. Hauptkomponenten sind Linalool (bis 85 %), Estragol (bis 91 %), (*E*)-Methylcinnamat (bis 82 %), Eugenol (bis 80 %) oder Methyleugenol (Eugenolmethylether bis 44 %), in Mischtypen dominieren u.a. Linalool + Geraniol, Linalool + Estragol, Linalool + (*E*)-Methylcinnamat. Seltener vorkommende Komponenten sind u.a. Geranylacetat (bis 44 %), Geraniol (bis 27 %), Methylisoeugenol (bis 26 %); 1,8-Cineol (bis 20 %), α -Bulnesen (bis 20 %); Bergamotten (bis 13 %); α -Muurolool (bis 11 %); β -Caryophyllen (bis 10 %); β -Elemen (bis 5 %); γ -Cadinen (bis 5 %); und α -Terpineol (bis 5 %). Weiterhin sind eine Reihe von Hydroxyzimtsäurederivaten, Flavonoide, Triterpene und Sterole enthalten. In den Samen findet man sehr fettes Öl mit hohen Gehalten an Linolensäure.

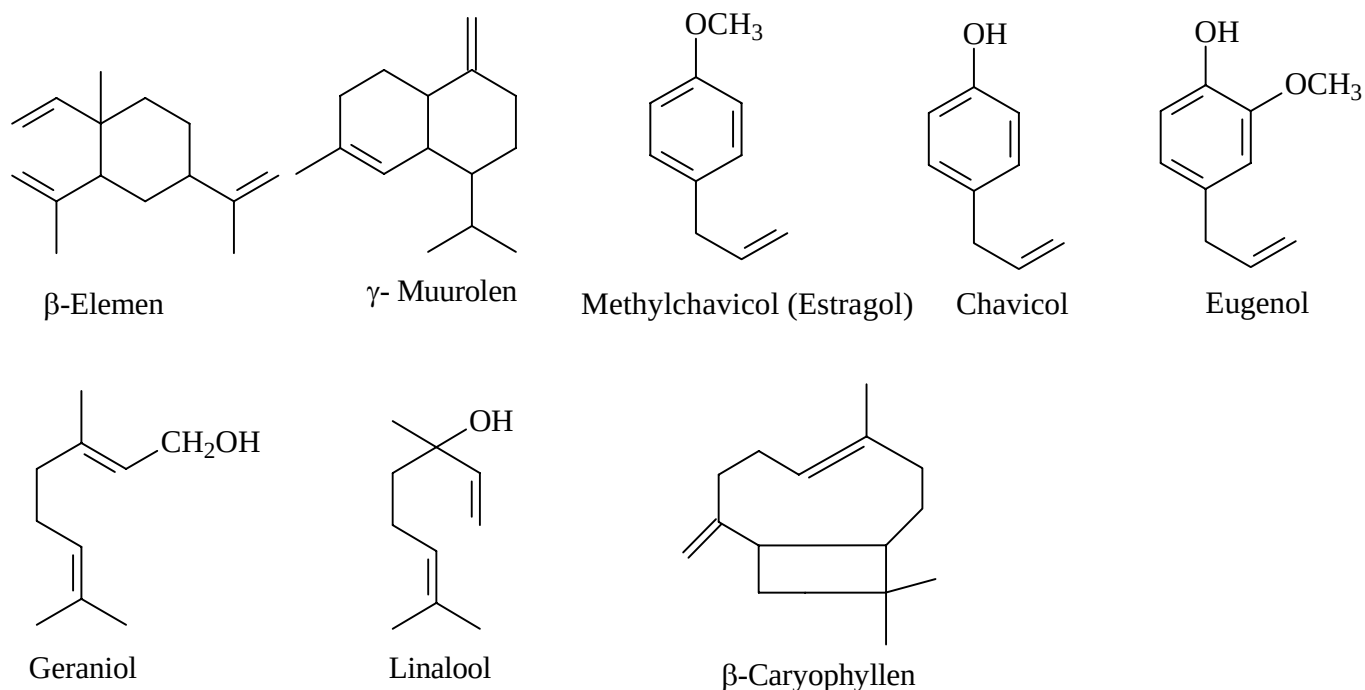


Abbildung 4: Flüchtige Inhaltsstoffe von Basilikum

Um genau zu bestimmen, welche flüchtigen Verbindungen als Reaktionsprodukte aus dem gemeinsamen Erhitzen von Fleisch mit Basilikum hervorgingen, wurden zunächst die Komponenten allein mit Pflanzenöl auf 170 °C erhitzt.

Abbildung 5 zeigt das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der flüchtigen Erhitzungsprodukte von Basilikum.

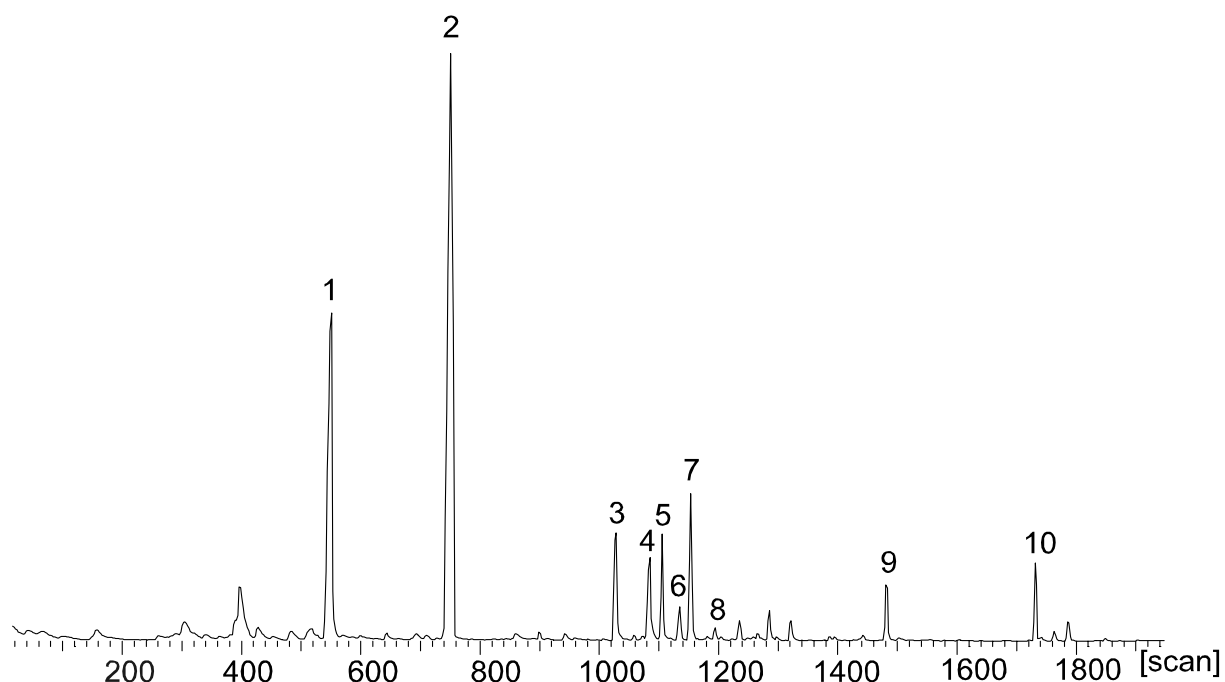


Abbildung 5: Flüchtige Komponenten des Dichlormethanextraktes von erhitztem Basilikum

Wie in Tabelle 1 dargestellt, ließen sich die aus der Literatur [37] bekannten flüchtigen Verbindungen nachweisen. Es waren keine weiteren Erhitzungsprodukte durch Reaktion der Basilikuminhaltsstoffe untereinander entstanden.

1.	Linalool	6.	β -Caryophyllen
2.	Methylchavicol	7.	Bergamotten
3.	Eugenol	8.	α -Humulen
4.	Methylcinnamat	9.	α -Muurolol
5.	Methyeugenol	10.	Neophytadien

Tabelle 1: Flüchtige Inhaltsstoffe von erhitztem Basilikum

Es wurde auch die beim Braten von Schweineschnitzelfleisch entstehende Abluft untersucht.

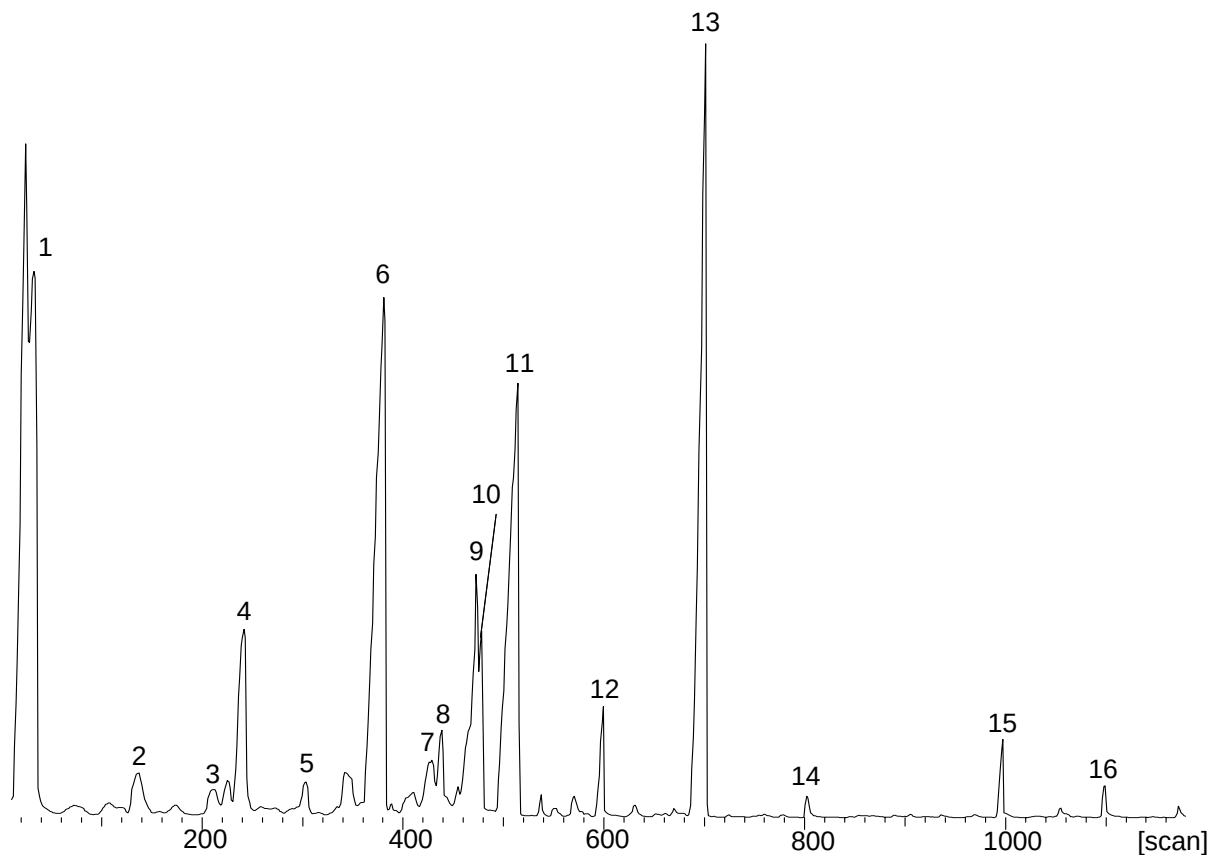


Abbildung 6: Gaschromatogramm der Bratabluft von Schweinefleisch

Die dabei entstehenden Verbindungen zeigt Tabelle 2:

1.	Hexanal	9.	2,4-Heptadienal
2.	3-Hexenal	10.	Octanal
3.	5-Methyl-2-Hexanon	11.	2,4-Heptadienal
4.	Heptanal	12.	2-Octenal
5.	Butylcyclopentan	13.	Nonanal
6.	2-Heptenal	14.	2-Nonenal
7.	1-Octen-3-ol	15.	2-Decenal
8.	2-Pentylfuran	16.	2,4-Decadienal

Tabelle 2: Flüchtige Produkte von gebratenem Schweinefleisch

4.1.2 Bratabluft von gesalzenem Schweinefleisch mit Basilikum

Im Folgenden sollten die flüchtigen Produkte des gemeinsamen Bratprozesses von Fleisch mit Gewürz untersucht werden. Dazu wurde über einen Zeitraum von 10 min Schweineschnitzelfleisch mit Basilikum und haushaltsüblichem Kochsalz zusammen gebraten. Die entstehende Abluft wurde auf SuperQ absorbiert und anschließend mit verschiedenen Lösungsmitteln eluiert.

Das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes wird in Abbildung 7 dargestellt.

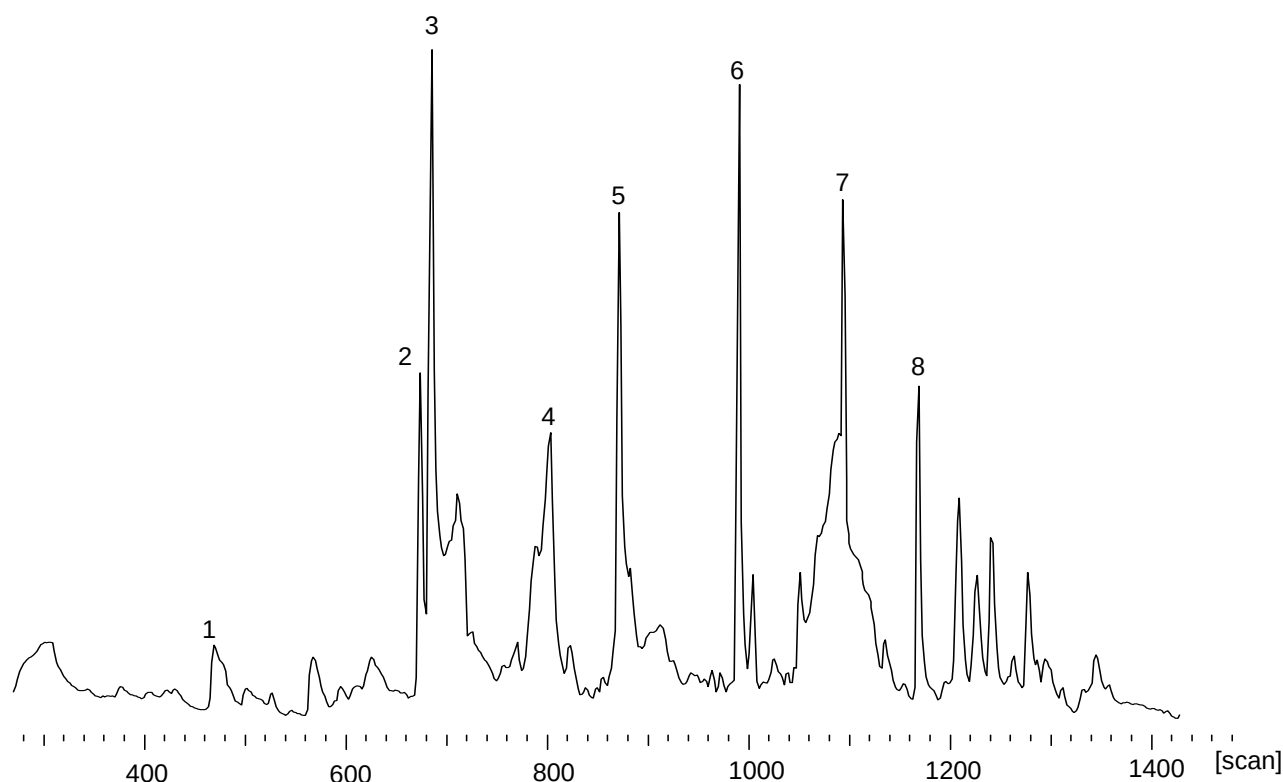


Abbildung 7: Gaschromatogramm der Bratabluft von gesalzenem Schweinefleisch mit Basilikum

Die identifizierten Verbindungen sind in Tabelle 3 dargestellt.

1. Octanal
2. Linalool
3. Nonanal
4. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on
5. Methylchavicol
6. 2-Decenal
7. 2,4-Decadienal
8. 2-Undecenal

Tabelle 3: flüchtige Produkte des Bratprozesses von gesalzenem Schweinefleisch und Basilikum

Abbildung 8 zeigt das Massenspektrum der Verbindung 4 aus Tabelle 3.

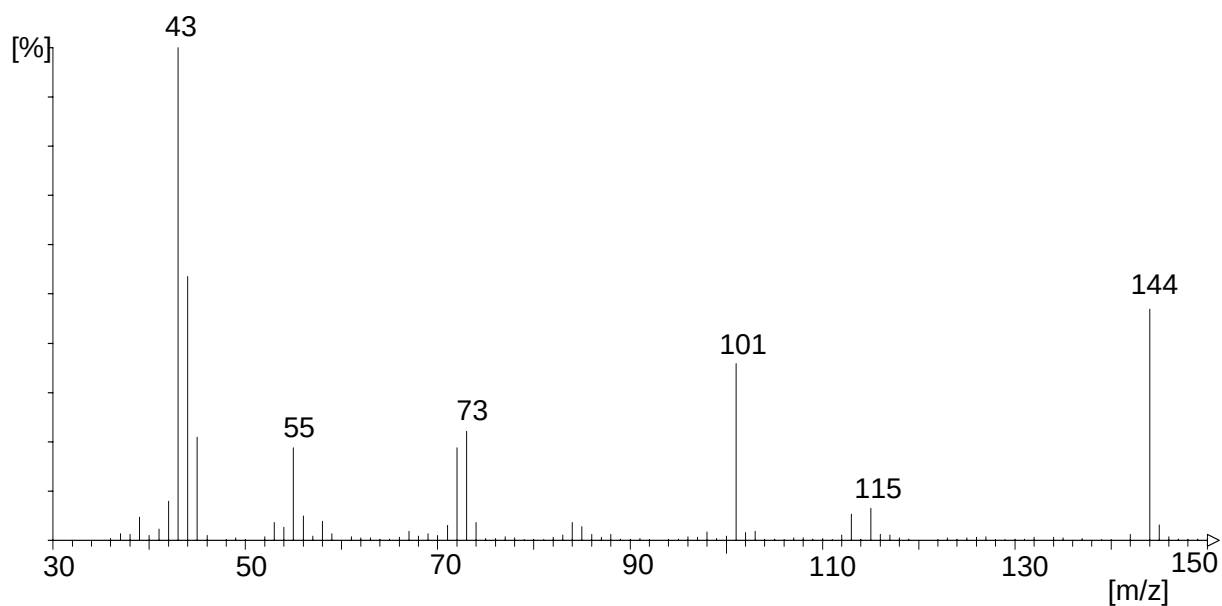


Abbildung 8: Massenspektrum von Verbindung 4 der Tabelle 3

Aufgrund der Fragmentierung (Abbildung 9) ergab sich 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1) als Strukturvorschlag.

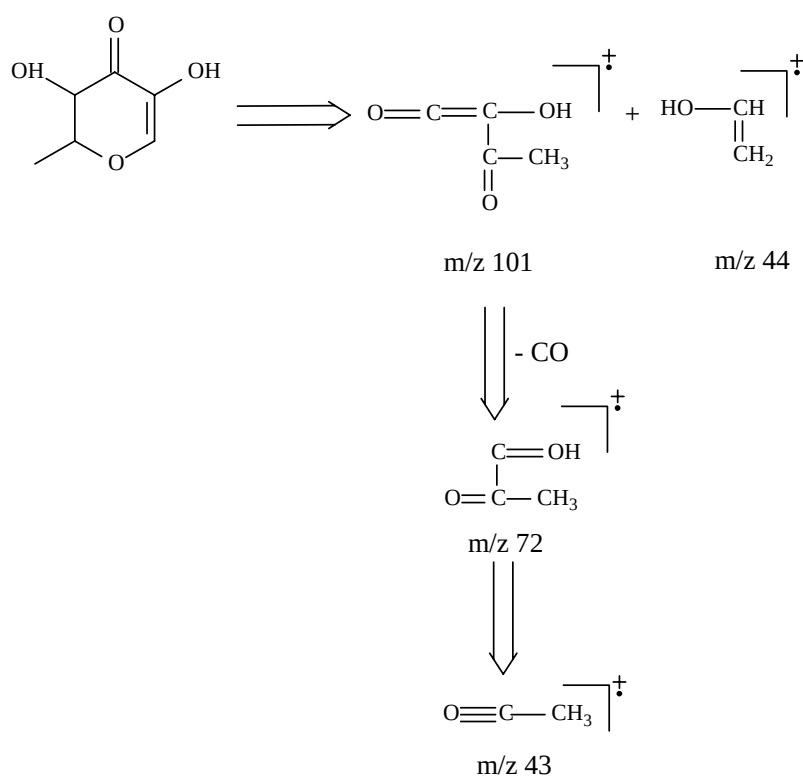


Abbildung 9: Fragmentierung der Verbindung 4 aus Tabelle 3

Da die Substanz nicht kommerziell erhältlich war, musste sie zur zweifelsfreien Identifizierung synthetisiert werden. Zunächst wurde der Dichlormethanextrakt acetyliert, um das Vorkommen von Hydroxyfunktionen zu überprüfen.

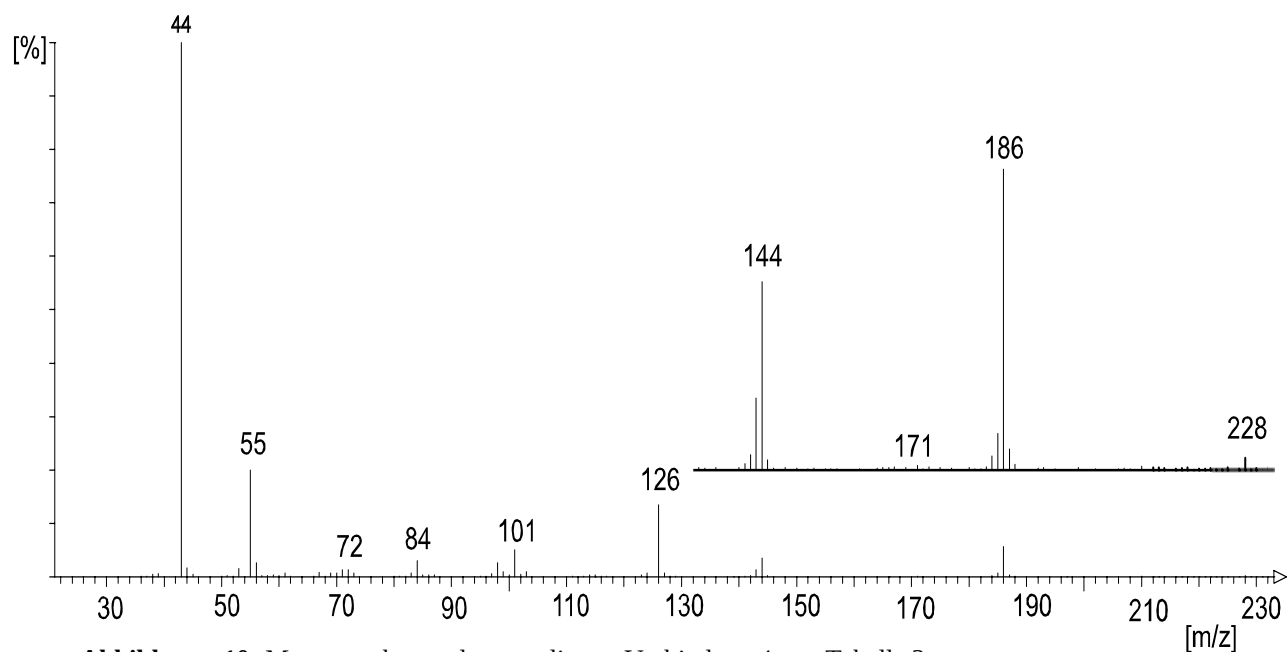


Abbildung 10: Massenspektrum der acetylierten Verbindung 4 von Tabelle 3

Es entsteht das Diacetat mit einer Molmasse von 228 g/mol des vermuteten Pyranderivates. Dies beweist das Vorkommen von zwei Hydroxyfunktionen. Verbindung 4 wurde gemäß Kim et al. [38] synthetisiert. D-Glucose wird mit Piperidin in Ethanol erhitzt. Nach saurer Aufarbeitung ergibt sich das gewünschte Produkt (1).

Es kommt zunächst zur Addition des Piperidins an die Carbonylgruppe der Glucose. Anschließende Wasserabspaltung führt zum Imin (Abbildung 11):

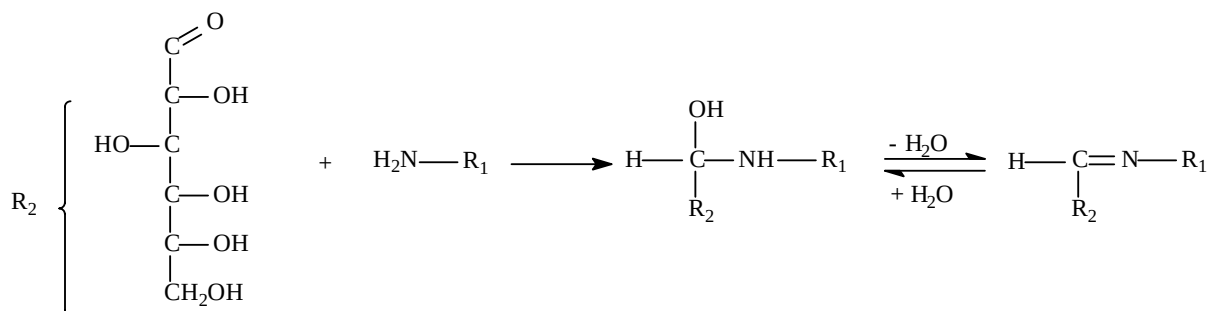


Abbildung 11: Iminbildung

Das entstandene Aldosylamin wird zu einer 1- Amino-1-desoxyketose umgelagert (Amadori-Umlagerung).

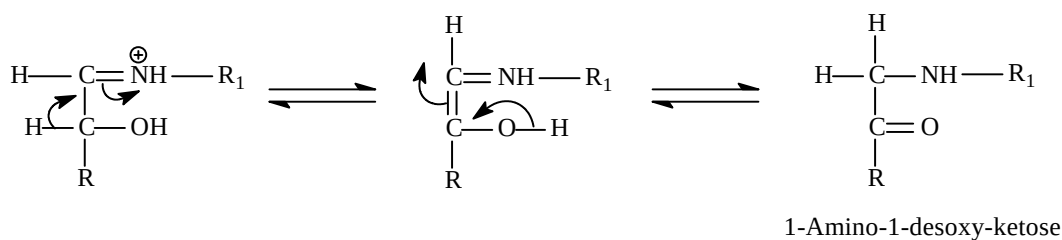


Abbildung 12: Amadori-Umlagerung

Amadoriprodukte sind Zwischenverbindungen wie sie auch in Lebensmitteln bei der Maillard-Reaktion gebildet werden. Sie sind relativ stabil und in erhitzten, getrockneten und gelagerten Lebensmitteln nachweisbar. Im pH-Bereich von 4-7 werden sie zu den 1-, 3-, und 4-Desoxydicarbonylverbindungen (Desoxyosone) im Lebensmittel abgebaut. Bei der durchgeführten Reaktion wird dieses durch die Zugabe von 0,2 mol Essigsäure bewirkt.

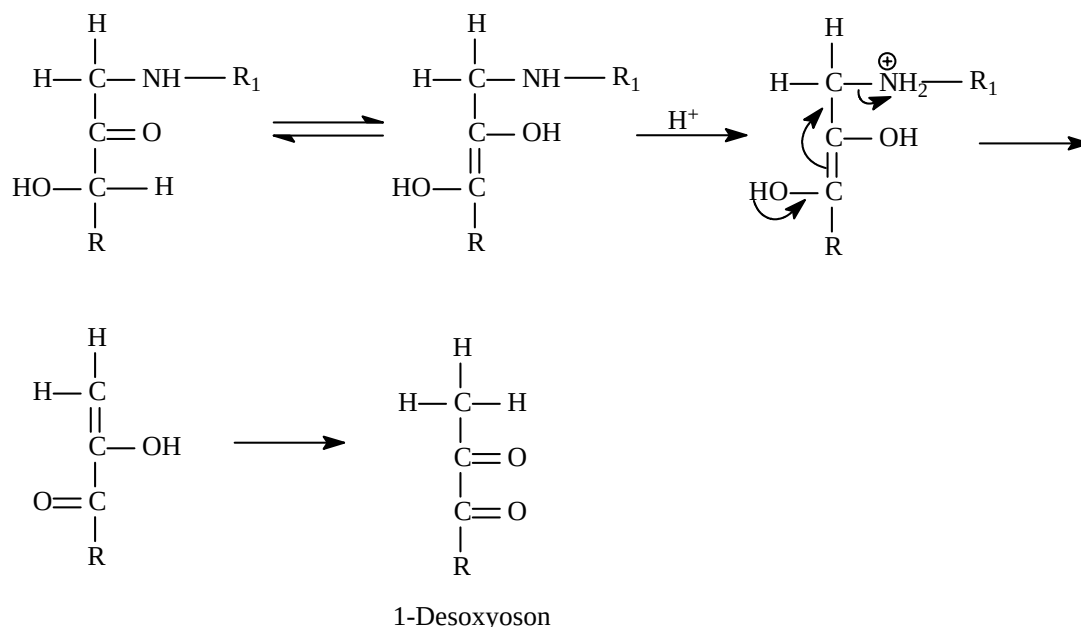


Abbildung 13: Bildung eines 1-Desoxyosons

Aus 1-Desoxyosonen von Pentosen, Methylpentosen und Hexosen werden Pyrane gebildet, die wichtige Aromastoffe sind. Diese Reaktionen finden sowohl im Lebensmittel, als auch bei der Reaktion von Glucose mit Piperidin unter sauren Bedingungen statt.

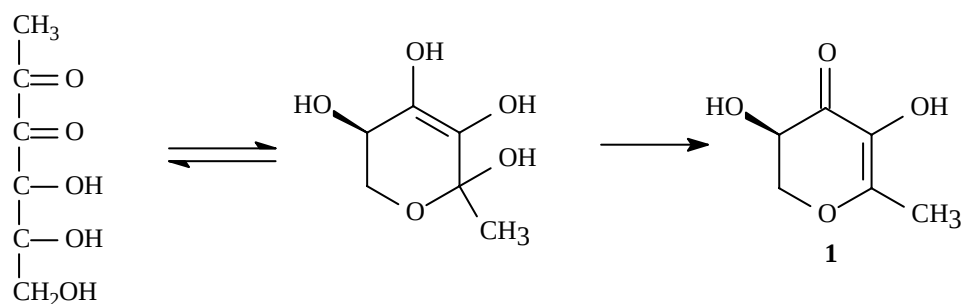


Abbildung 14: Bildung von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1)

Der Vergleich des Massenspektrums, sowie der Retentionszeit zeigte, dass es sich bei dem Erhitzungsprodukt um das vermutete 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1) handelte. Aufgrund des Reaktionsmechanismus bleibt sowohl die Reihenfolge der Kohlenstoffatome, als auch die Stereochemie erhalten. Das Stereozentrum an der Position 3

des entstandenen Pyrans besitzt demnach die gleiche Konfiguration wie C₅ der eingesetzten Glucose. In der Natur kommt ausschließlich D-Glucose vor, und auch in der durchgeführten Synthese wurde diese Glucose eingesetzt. Das C₃ des synthetisierten 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on sollte demnach (*R*)-konfiguriert sein.

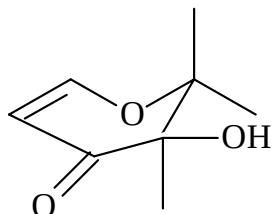


Abbildung 15: Konformation von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1)

Um zu überprüfen, ob das 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on in der Probe des erhitzten Lebensmittels tatsächlich am C₃-Kohlenstoff (*R*) konfiguriert vorliegt, oder ob es beim Bildungsprozess zur Enolisierung und gleichzeitig dann zur Racematbildung kommt (Abbildung 16) wurde die synthetisch hergestellte Verbindung mit Hilfe einer Cyclodextrinsäule vermessen. Für das nicht racemische Produkt ist hier nur ein Peak zu erwarten. Das Syntheseprodukt wurde anschließend unter gleichen Bedingungen wie die Lebensmittelprobe erhitzt, die flüchtigen Verbindungen auf SuperQ adsorbiert und mit Dichlormethan eluiert. Würde die Verbindung nun wie in Abbildung 16 enolisieren und anschließend das Racemat bilden, so wären auf der chiralen Säule zwei Peaks nachweisbar.

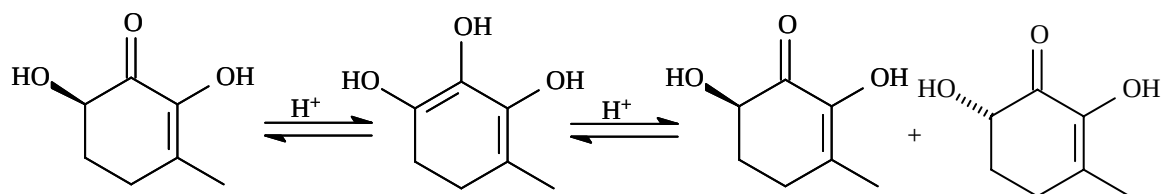


Abbildung 16: Racemisierung von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1)

Es konnte keine Enantiomerentrennung der Verbindung 1 auf der Cyclodextrinphase beobachtet werden. Dieses mag zum einen darin begründet sein, dass es nicht zu der vermuteten Racemisierung gekommen ist, oder dass die optimale Phase für das Trennproblem noch nicht gefunden wurde (verwendete Phasen siehe Experimenteller Teil).

Es wurde versucht, 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1) alkalisch zu racemisieren. Hierbei kam es jedoch zur Spaltung der Verbindung. Ob es tatsächlich zu der vermuteten Enolisierung und zur Racematbildung kommt, konnte nicht abschließend geklärt werden. Weiterführende Untersuchungen sind hier notwendig.

Da (1) nur beim gemeinsamen Erhitzen von Schweinefleisch mit Basilikum entsteht und in den einzeln erhitzten Lebensmitteln nicht nachzuweisen ist, spielen bei der entsprechenden Maillard-Reaktion offenbar katalytische Effekte eine Rolle an denen beide Ressourcen beteiligt sind.

Ledl *et al.* [31] konnten (1) beim gemeinsamen Bratprozess von Rindfleisch mit Zwiebeln nachweisen. Sie fanden (1) nicht in rohem Rindfleisch und auch in erhitztem Rindfleisch nur in Spuren. Erst beim gemeinsamen Erhitzen war auch hier (1) nachweisbar. Shaw *et al.* [39] konnten (1) in getrocknetem Instant-Orangenpulver sowie in durchgeführten Abbaubersuchen von Glucose mit Aminosäuren nachweisen.

4.1.3 Bratabluft von gesalzenem Rindfleisch mit Basilikum

Um einordnen zu können, welche Verbindungen durch die Reaktion des Fleisches mit den Gewürzen entstehen, und welche bereits beim alleinigen Erhitzen des Rindfleisch gebildet werden, wurde zunächst Rindfleisch gebraten und die flüchtigen Verbindungen mittels GC-MS identifiziert. Abbildung 17 zeigt das Gaschromatogramm des Pentanextraktes von erhitztem Rindfleisch.

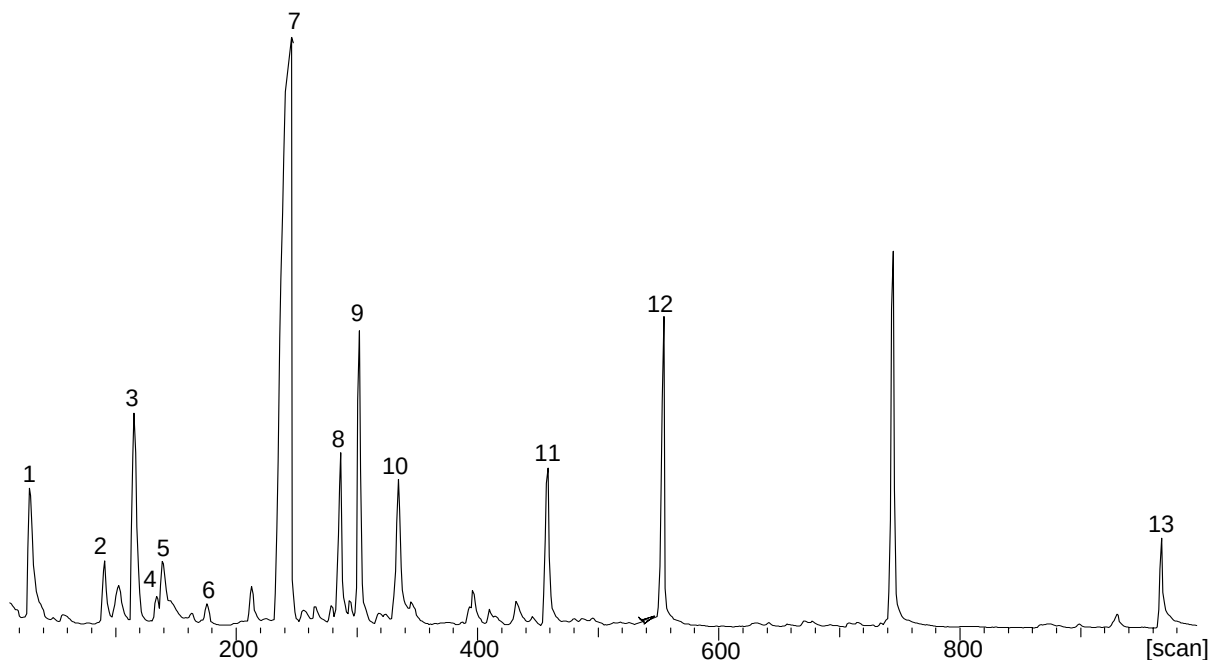


Abbildung 17: Gaschromatogramm der Bratabluft von Rindfleisch

Neben den bereits im Schweinefleisch nachgewiesenen Aldehyden konnten das geruchsintensive 2,5-Dimethylpyrazin und Methional identifiziert werden. Eine detaillierte Zusammensetzung der Bratabluft ist in Tabelle 4 dargestellt.

- | | | | |
|----|---------------------|-----|----------------|
| 1. | 2-Hexenal | 8. | 1-Octen-3-ol |
| 2. | 2-Heptanon | 9. | 2-Pentylfuran |
| 3. | Heptanal | 10. | Octanal |
| 4. | Methional | 11. | 2-Octenal |
| 5. | 2,5-Dimethylpyrazin | 12. | Nonanal |
| 6. | Butylcyclopentan | 13. | 2,4-Decadienal |
| 7. | 2-Heptenal | | |

Tabelle 4: identifizierte Inhaltsstoffe der Bratabluft von Rindfleisch

Im Dichlormethanextrakt konnte zusätzlich noch 5-Methyl-2,4-imidazolidindion (2) nachgewiesen werden.

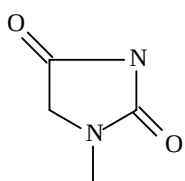


Abbildung 18: 5-Methyl-2,4-imidazolidindion (2)

Das gesalzene Rindfleisch wurde zusammen mit Basilikum erhitzt und die flüchtigen Verbindungen an SuperQ adsorbiert. Im Pentanextrakt ließen sich keine neu entstandenen Erhitzungsprodukte nachweisen. Es waren die flüchtigen Verbindungen enthalten, die direkt aus dem Rindfleisch und dem Basilikum stammen. Abbildung 19 zeigt das Gaschromatogramm.

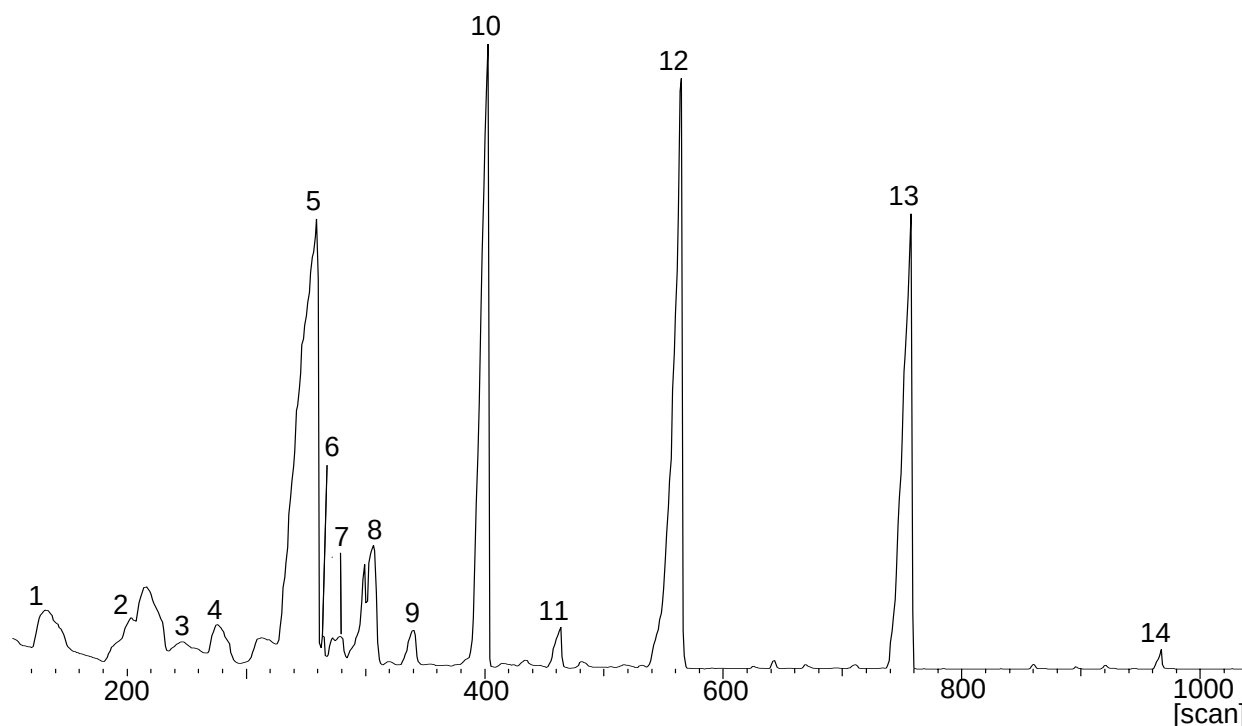


Abbildung 19: Gaschromatogramm des Pentanextraktes der Bratabluft von gesalzenem Rindfleisch mit Basilikum

Die identifizierten Verbindungen sind in Tabelle 5 aufgelistet.

- | | | | |
|----|---------------------|-----|----------------|
| 1. | 2-Hexenal | 8. | 1-Octen-3-ol |
| 2. | 2-Heptanon | 9. | 2-Pentylfuran |
| 3. | Heptanal | 10. | Octanal |
| 4. | Methional | 11. | 2-Octenal |
| 5. | 2,5-Dimethylpyrazin | 12. | Nonanal |
| 6. | Butylcyclopentan | 13. | 2,4-Decadienal |
| 7. | 2-Heptenal | | |

Tabelle 5: Identifizierte Verbindungen des Pentanextraktes der Bratabluft von gesalzenem Rindfleisch mit Basilikum

Im Dichlormethanextrakt war das bereits beim erhitzen Schweinefleisch nachgewiesene 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1) in größeren Mengen nachweisbar. Die Verbindung bildet sich demnach auch beim gemeinsamen Erhitzen von Rindfleisch mit Basilikum.

Ein weiteres Maillardprodukt, das 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4-H-pyran-4-on (3), konnte ebenfalls nachgewiesen werden. In Abbildung 20 ist das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes dargestellt.

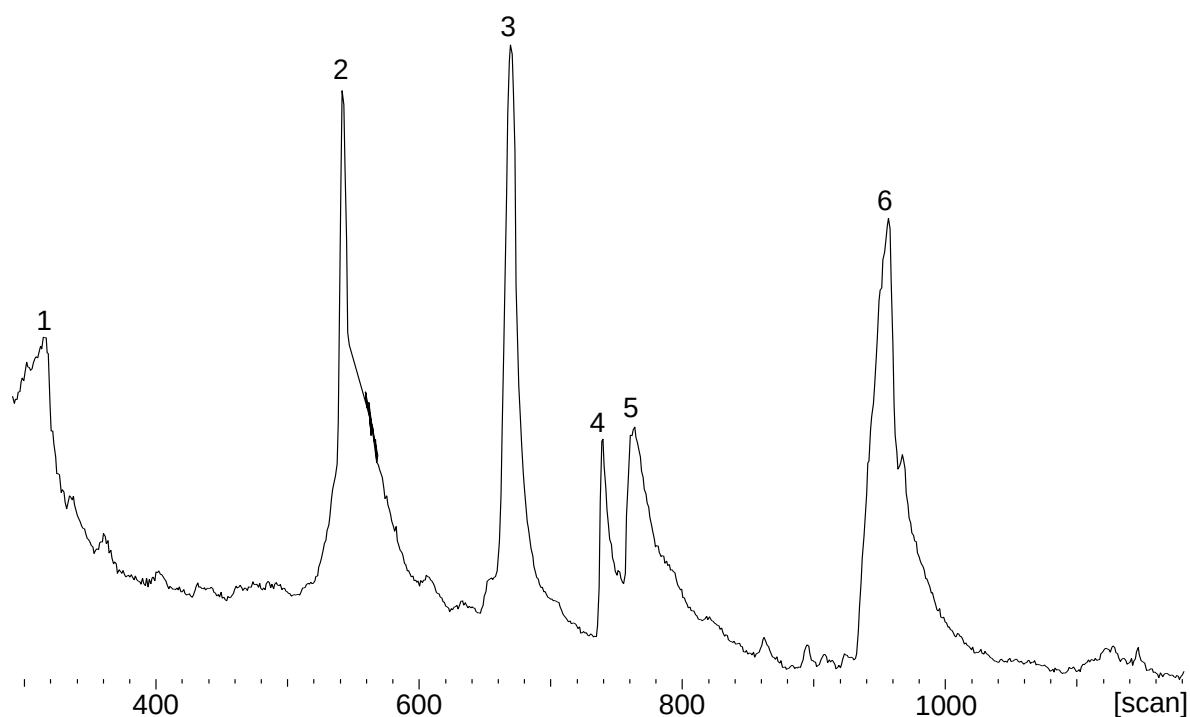


Abbildung 20: Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der Bratabluft von erhitztem Rindfleisch mit Basilikum

Es konnten folgende Verbindungen identifiziert werden:

1. meso-2,3-Butandiol
2. Linalool
3. 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (1)
4. Methylchavicol
5. 2,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (3)
6. 5-Methyl-2,4-imidazolidindion

Tabelle 6: Identifizierte Verbindungen im Dichlormethanextrakt der Bratabluft von erhitztem Rindfleisch mit Basilikum

Das Hydroxymaltol (3) ist ein Oxidationsprodukt des 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-ons (1). Kim *et al.* [38] konnten beim Rösten von (1) für 20 min bei 220 °C das Pyranderivat (3) als Hauptprodukt nachweisen.

Durch Versuche mit isotoopenmarkiertem 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on gelang es Kim *et al.* [38] den Abbauweg von (1) zu Hydroxymaltol (3) aufzuklären.

In neutralem oder schwach alkalischen wässrigen Medium wird (1) zunächst zur enolischen Hemiketal- Struktur (1a) hydratisiert. Durch Tautomerisierung bildet sich die Hemiketal-Struktur (1b), aus der anschließend durch Oxidation das 2,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (3) entsteht (Abbildung 21).

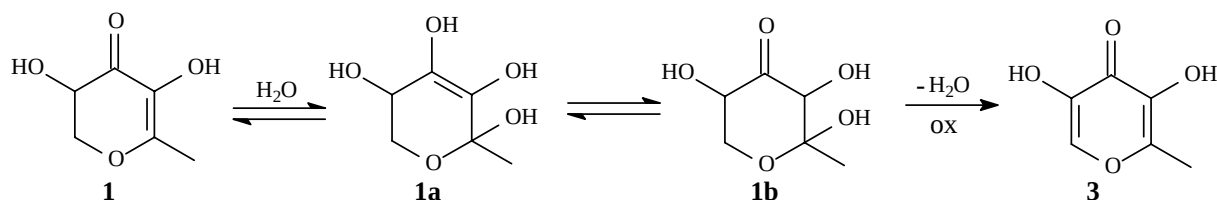


Abbildung 21: Bildung von Hydroxymaltol (3) aus 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-on (1)

Das Massenspektrum des nachgewiesenen 2,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-ons (3) ist identisch mit dem Massenspektrum welches van de Ouweland *et al.* [94] beschrieben haben. Die Identität der Verbindung konnte somit geklärt werden.

4.1.4 Bratabluft von gesalzenem Putenfleisch mit Basilikum

Beim gemeinsamen Erhitzen von Putenfleisch mit Basilikum konnten keine Erhitzungsprodukte oder Maillardverbindungen nachgewiesen werden. Es waren nur die erwarteten Fettoxydationsprodukte sowie die flüchtigen Inhaltsstoffe des Gewürzes nachweisbar. In mehrfach durchgeführten Wiederholungsversuchen wurden reproduzierbare Ergebnisse erhalten. Abbildung 22 zeigt das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes.

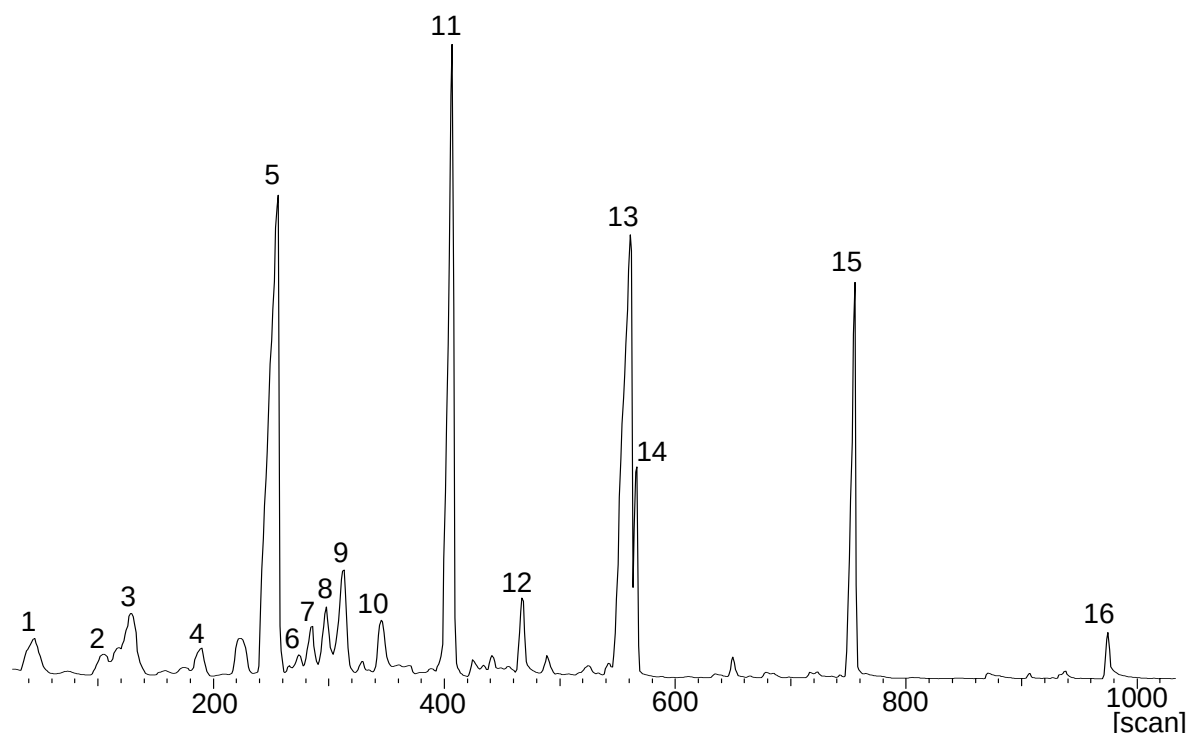


Abbildung 22: Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der Bratabluft von erhitztem Putenfleisch mit Basilikum

Tabelle 7 zeigt die identifizierten Inhaltsstoffe.

1.	2-Hexenal	9.	2-Pentylfuran
2.	2-Heptanon	10.	Octanal
3.	Heptanol	11.	1,8-Cineol
4.	α -Pinen	12.	2-Octenal
5.	2-Heptenal	13.	Linalool
6.	Sabinen	14.	Nonanal
7.	β -Pinen	15.	Methylchavicol
8.	1-Octen-3-ol	16.	2,4-Decadienal

Tabelle 7: Identifizierte Inhaltsstoffe von erhitztem Putenfleisch mit Basilikum

Die Zusammensetzung des Aminosäuremusters von Putenfleisch ist der von Rind- bzw. Schweinefleisch sehr ähnlich [40]. Offensichtlich ist jedoch die Entstehung von Maillardprodukten beim Erhitzen von Putenfleisch gehemmt. Welche Faktoren bei diesem Phänomen eine Rolle spielen, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht werden.

4.2 Abluft lebensmittelverarbeitender Betriebe

4.2.1 Abluft einer Fett/Öl-verarbeitenden Fabrik

Bei der Öl- und Fettveredelung werden pflanzliche und tierische Rohprodukte zu Speisefetten und Speiseölen veredelt. Besonders bei dem Produktionsschritt der Desodorierung der Speisefette und Speiseöle fallen stark geruchsbelastete Abluftströme an.

Auf dem Gelände einer Fettveredelungsfirma wurde vom Projektpartner der TU Harburg, Arbeitsbereich Abfallwirtschaft, eine mehrstufige Versuchsanlage im Technikumsmaßstab zur Behandlung von geruchsbelasteter Abluft aufgebaut (Abb.23).

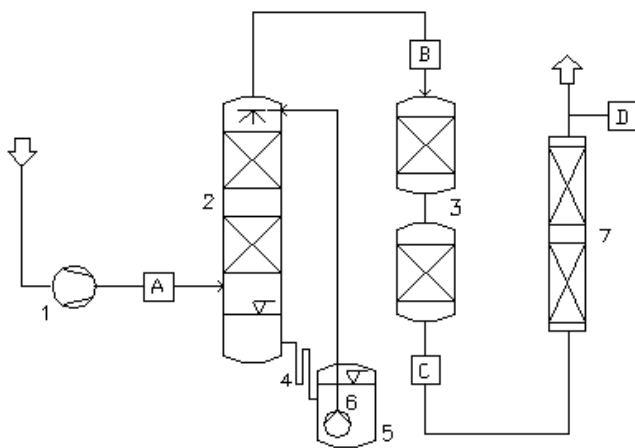


Abbildung 23: Verfahrensfließbild und Foto der Versuchsanlage bestehend aus Biowäscher, Biofilter und Aktivkohlefilter

Ein Radialverdichter (1) fördert die Abluft durch die Versuchsanlage. Der Biowäscher (2) wird im Gegenstrom betrieben. Bei dem Wäscherwasser (5) handelt es sich um eine Nährlösung, die mit ca. einem Liter Abwasser aus der betriebseigenen Klärstufe angeimpft wurde. Eine Umlaufpumpe (6) fördert die Waschlösung in den Kolonnenkopf des Wäschers und verrieselt sie über den Füllkörpern (HiFlow Pallringe, 15mm) im Wäscher. Der im down-flow betriebene Biofilter (3) ist mit reifem Grünschnittkompost gefüllt. Der Biofilter ist aus zwei ca. 40 cm hohen, übereinander angeordneten Schüttungen aufgebaut (Filterbettbelastung: zwischen 60-120 m³/h, Strömungsgeschwindigkeit ca. 0,02 m/s). Die aus dem Biofilter austretende biologisch vorbehandelte Abluft durchströmt schließlich noch zwei Aktivkohleschüttungen (4) [41].

Das System erreichte teilweise Wirkungsgrade von über 99 %. Der wesentliche Teil des Abbaus olfaktorisch relevanter Substanzen, gemessen in Geruchseinheiten/Kubikmeter (GE/m^3) erfolgte hierbei durch den Biowäscher. Die Geruchskonzentration wurde in diesem Anlagenteil von über $20.000 \text{ GE}/\text{m}^3$ auf durchschnittlich unter $5.000 \text{ GE}/\text{m}^3$ reduziert.

Hinter dem Biofilter lagen die Konzentrationen deutlich unter $1.000 \text{ GE}/\text{m}^3$. Die Aktivkohlestufe reduzierte weiterhin auf Konzentrationen unterhalb $100 \text{ GE}/\text{m}^3$ (Messungen wurden durchgeführt vom Arbeitsbereich Abfallwirtschaft der TU Harburg) .

Zur Identifizierung der noch in der Abluft verbliebenden Komponenten wurden jeweils 3 Liter Luft vor und nach der Reinigung auf dem Adsorbens SuperQ adsorbiert. Anschließende Elution mit Lösungsmitteln führte zu den Extrakten, welche für die Strukturaufklärung adsorbierter Substanzen mittels GC/MS eingesetzt wurden.

Abbildung 24 zeigt das Gaschromatogramm des Pentanextraktes der unbehandelten Abluft .

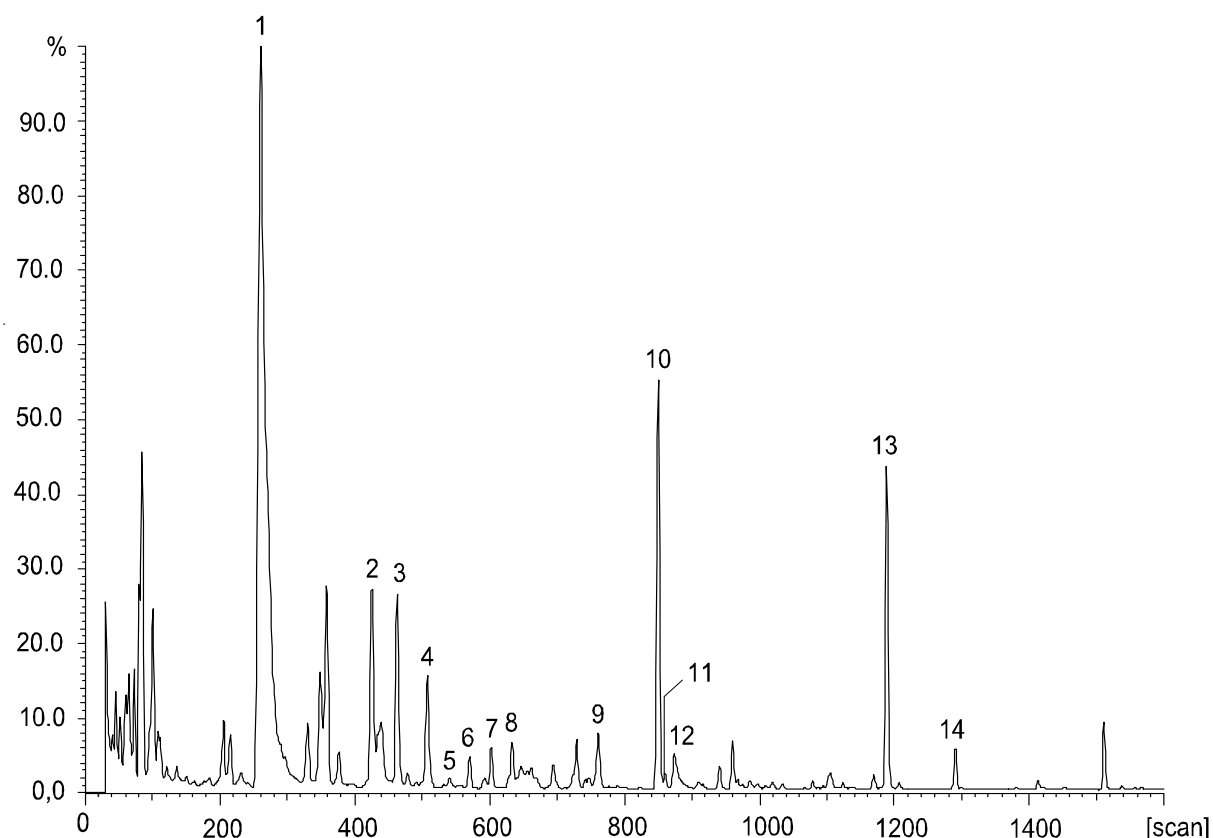


Abbildung 24: Totalionenstromchromatogramm vom Pentanextrakt der Rohluft einer Fettveredelung

Es konnten typische Fettoxydationsprodukte in der Rohluft nachgewiesen werden. Es handelt sich hierbei um verschiedene Aldehyde, Carbonsäuremethylester, Terpene und Furane.

Eine detaillierte Zuordnung zeigt Tabelle 8. Hexanal und 2-Nonenal kommen hierbei eine besondere Bedeutung zu, da diese Substanzen über eine sehr niedrige Geruchsschwelle

verfügen, und in der untersuchten Abluft in so hoher Konzentration vorkamen, dass ihre Geruchschwelle stark überschritten wurde. In reproduzierbaren Versuchswiederholungen wurden übereinstimmende Ergebnisse erzielt.

- | | |
|------------------|---------------------------|
| 1. Hexanal | 8. Octanal |
| 2. 2-Heptanon | 9. 1-Hexanol |
| 3. Limonen | 10. Octansäuremethylester |
| 4. 2-Pentylfuran | 11. 2-Nonanon |
| 5. 1-Pentanol | 12. Nonanal |
| 6. 3-Octanon | 13. 2-Nonenal |
| 7. 2-Octanon | 14. Decansäuremethylester |

Tabelle 8: Flüchtige Inhaltsstoffe der Rohluft einer Fettveredelung

Von besonderem Interesse sind die Substanzen, die den Biowäscher, den Biofilter sowie die Aktivkohlefilter der zur Abluftreinigung eingesetzten Modellanlage passieren können.

Zu diesem Zweck wurde auch diese Luft über SuperQ-Filter geleitet und die Adsorbate anschließend mit unterschiedlichen Lösungsmitteln eluiert. Es zeigte sich, dass Pentan als Elutionsmittel am besten geeignet ist, da in den Pentanextrakten im Gegensatz zu den Dichlormethan- und Methanolextrakten zahlreiche Verbindungen nachzuweisen waren.

Abbildung 25 zeigt das Totalionenchromatogramm des Pentanextraktes der vollständig gereinigten Abluft.

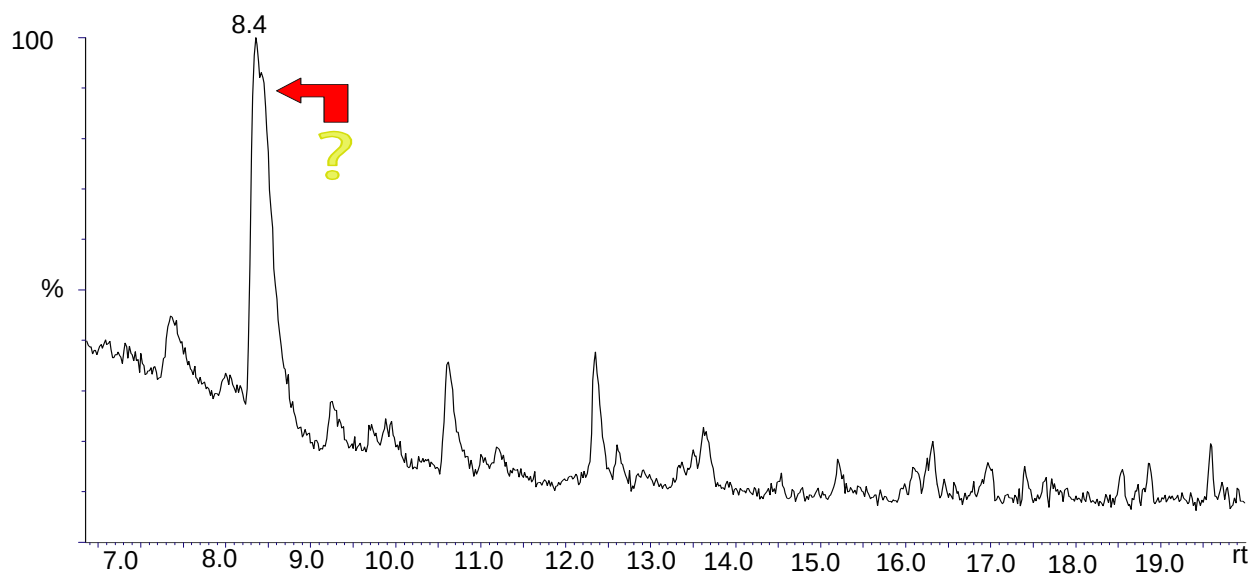


Abbildung 25: Chromatogramm der gereinigten Abluft einer Fettveredelung

Wie aus Abbildung 25 ersichtlich, ist in der gereinigten Abluft eine Verbindung in größerer Menge enthalten, der olfaktorisch keine Bedeutung zuzukommen scheint, die aber aufgrund ihrer hohen Konzentration als Umweltkontaminante angesehen werden kann. Dagegen erwies sich eine Spurenkomponente als außerordentlich geruchsaktiv. Deshalb sollten die Strukturen dieser Verbindungen aufgeklärt werden.

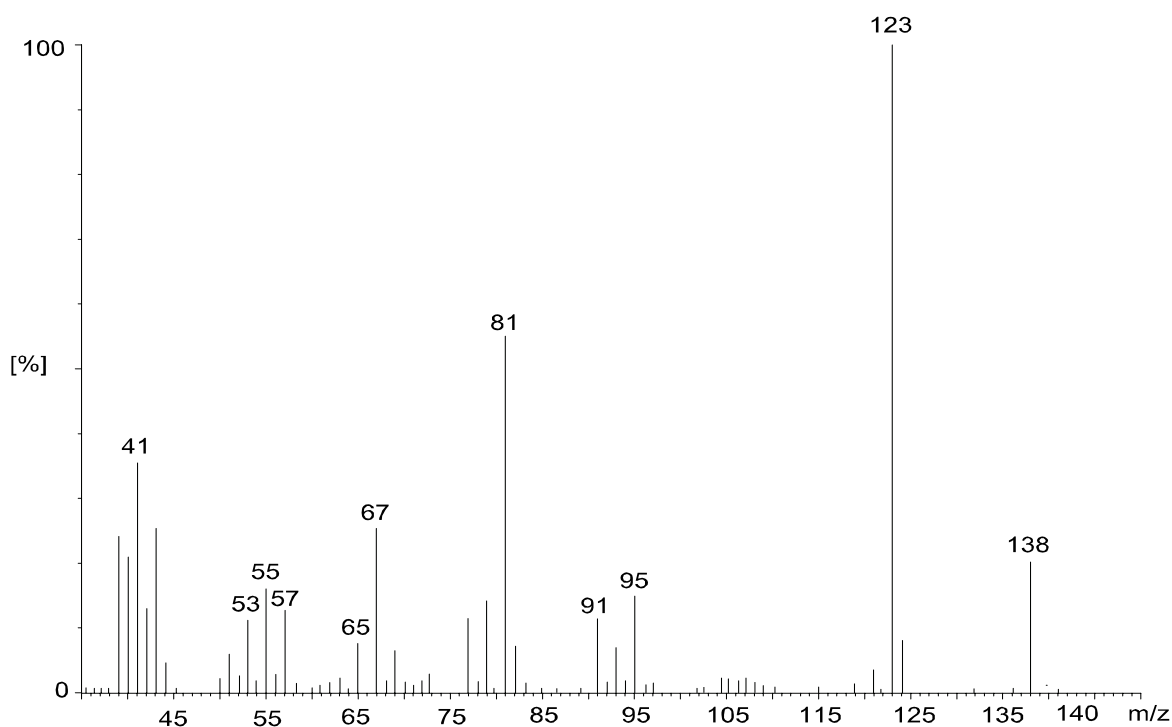


Abbildung 26: Massenspektrum der unbekannten Hauptverbindung aus der gereinigten Abluft einer Fettveredelung

Abbildung 26 zeigt das Massenspektrum der unbekannten Hauptkomponente. Durch Vergleich mit Literaturdaten [42] ergab sich 1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopenten (4) als Strukturvorschlag. Da diese Verbindung nicht kommerziell erhältlich ist, wurde sie durch partielle katalytische Hydrierung des käuflichen 1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopentadiens (5) hergestellt [43].

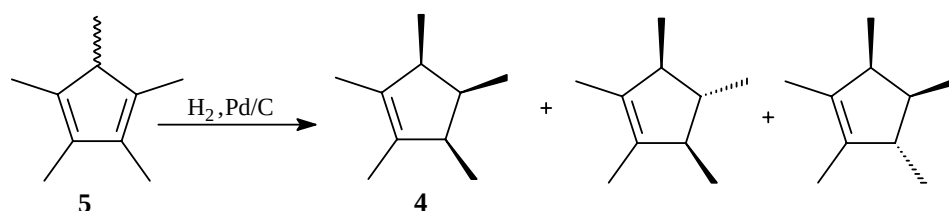


Abbildung 27: Synthese eines Gemisches der Stereoisomere von 1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopenten

Die Massenspektren der unbekannten Substanz und der synthetisierten Verbindung stimmten hervorragend überein (Abbildung 28).

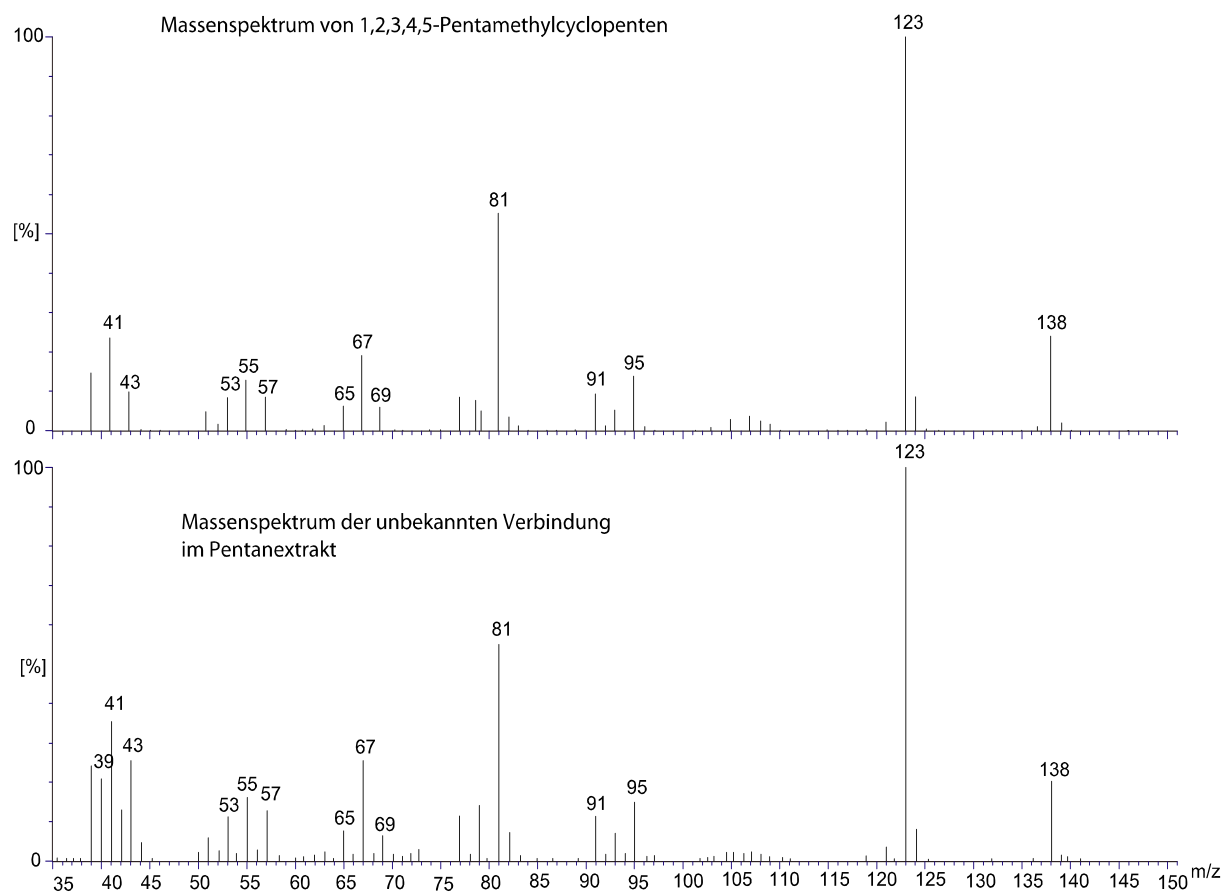


Abbildung 28: Massenspektren der unbekannten Substanz und von 1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopentan

Wie aus Abbildung 29 ersichtlich, unterscheidet sich die Retentionszeit der in der Abluft enthaltenen Verbindung deutlich von der des Syntheseproduktes. Das Gaschromatogramm des Syntheseproduktes zeigt, wie erwartet drei Peaks, die durch die verschiedenen Stereoisomere hervorgerufen werden (2 meso-Formen und 1 Racemat). Es konnte sich demzufolge bei der unbekannten Verbindung nicht um das postulierte 1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopentan (4) handeln.

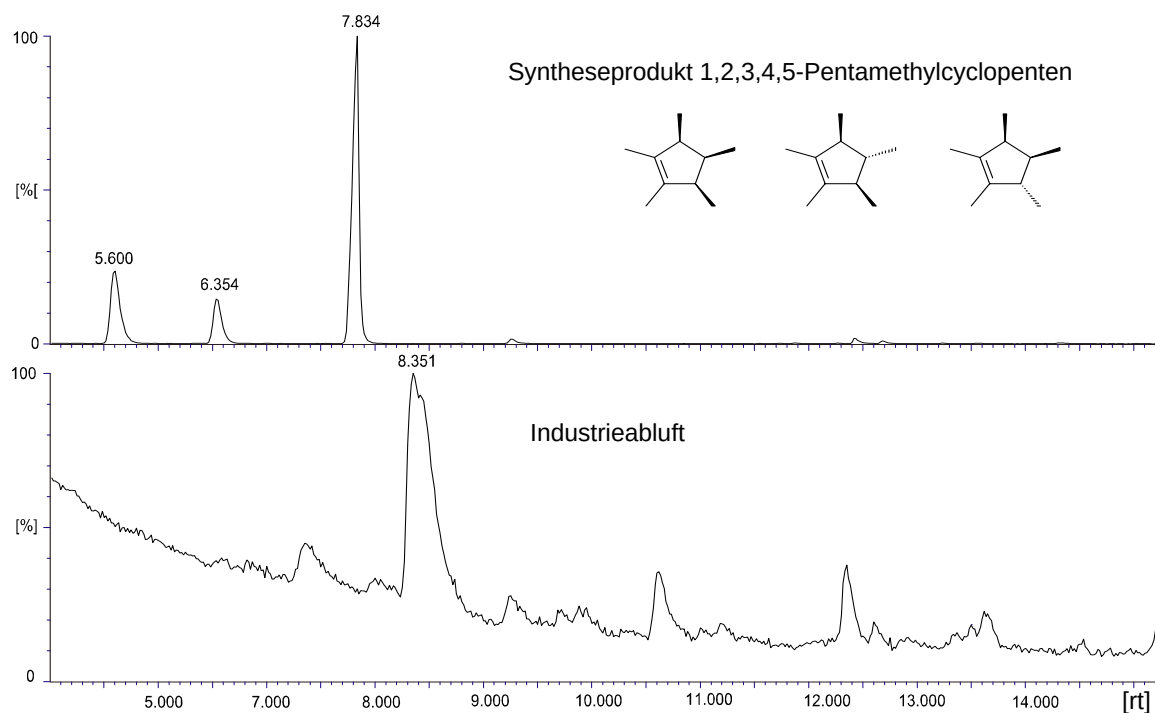


Abbildung 29: Vergleich der Retentionszeiten der Umweltprobe und der Synthesesubstanz

Als weiterer plausibler Strukturvorschlag ergab sich 1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentan (6) [42]. Auch diese Verbindung wurde synthetisiert; das Reaktionsschema ist in Abbildung 30 dargestellt [44].

Durch Grignardreaktion wurde Adipinsäurediethylester (7) mit Methylmagnesiumchlorid zu 2,7-Dimethyl-2,7-octandiol (8) umgesetzt. Anschließend Eliminierung mit Phosphorsäure in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel ergab das gewünschte Produkt (6). Das entstehende 1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentan (6) wurde im Verlauf der Reaktion kontinuierlich abdestilliert.

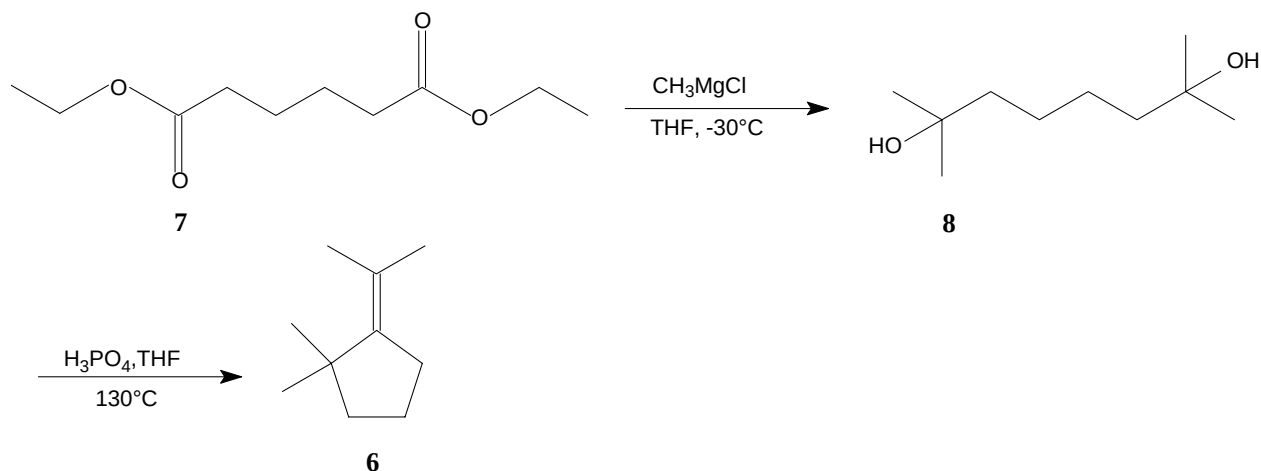


Abbildung 30: Synthese von 1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentan

Wie im Fall des Pentamethylcyclopentens (4), war das Massenspektrum des 1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentans (6) mit dem der aufzuklärenden Verbindung nahezu identisch (Abbildung 31). Allerdings konnte auch dieser Strukturvorschlag aufgrund der erheblich abweichenden gaschromatographischen Retentionszeit des Syntheseproduktes nicht verifiziert werden.

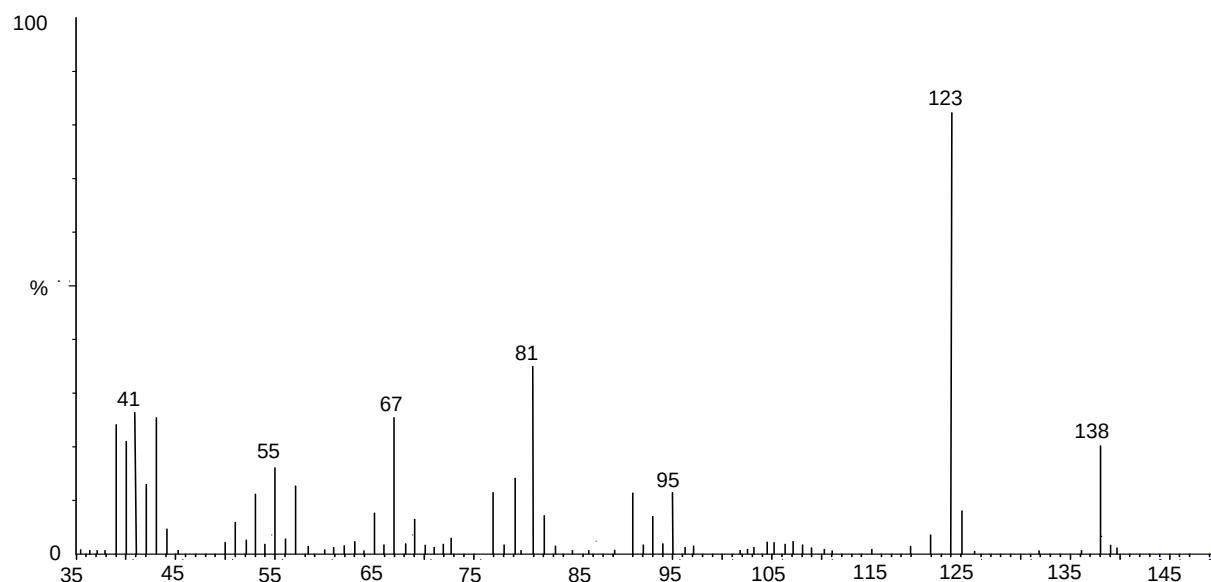


Abbildung 31: Massenspektrum von 1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentan (6)

Da es auf dem bisher beschrittenen Weg nicht möglich schien, in absehbarer Zeit die Struktur der Substanz zu identifizieren, wurde versucht mit Hilfe von Derivatisierungsreaktionen zusätzliche Informationen über die Struktur der Verbindung zu erhalten. Durch Hydrierung einer unbekannten Substanz können das Vorkommen, bzw. die Anzahl an möglichen Doppelbindungen bestimmt werden. Es wurde hierzu der Pentanextrakt mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator versetzt und hydriert. Nach beendeter Reaktion wurde abfiltriert und der Extrakt eingengt.

Bei gaschromatographischer Untersuchung des Produktes zeigte sich, dass die hydrierte Verbindung von einer unpolaren und einer polaren Kapillarsäule früher eluiert als die nicht hydrierte Verbindung.

Abbildung 32 zeigt das Massenspektrum der unbekannten Substanz nach der Hydrierung.

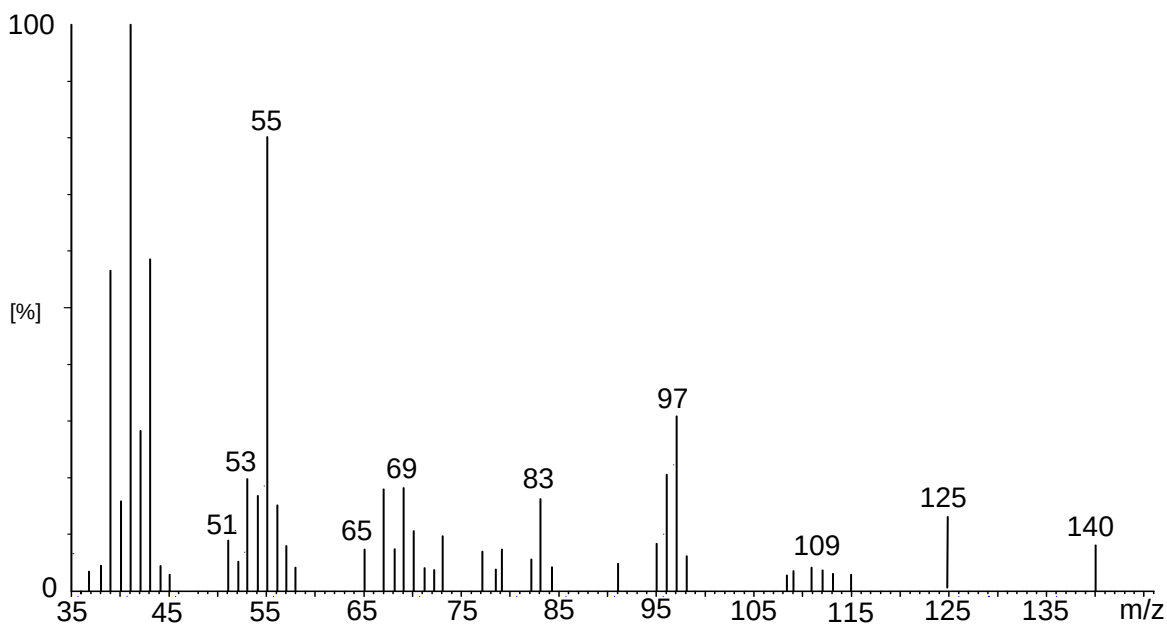


Abbildung 32: Massenspektrum der hydrierten Verbindung aus dem Pentanextrakt der Rohluft einer Fettveredelung

Die hydrierte Verbindung hat die Masse M^+140 im Gegensatz zu M^+138 der Ausgangssubstanz.

Es kommt ebenfalls zur Abspaltung einer Methylgruppe, was hier zu dem Fragment m/z 125 führt.

Gemäß der Masse und der molekularen Zusammensetzung der Ausgangsverbindung enthält diese zwei Doppelbindungsäquivalente. Lediglich eines von diesen reagiert mit Wasserstoff unter Palladiumkatalyse. Diese Tatsache beweist eine cyclische Struktur. Auf der Basis von Spektrenbibliotheken ist 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexan (9) ein möglicher Strukturvorschlag für die hydrierte Verbindung [42].

Um die genaue Lage der Doppelbindung innerhalb der Ringstruktur der Zielverbindung zu untersuchen, wurde diese ozonisiert. Anhand des daraus entstehenden Spaltungsproduktes sollte es möglich sein, die Position der Doppelbindung zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurde durch den auf -80°C gekühlten Pentanextrakt 20 min lang Ozon geleitet. Nach reduktiver Aufarbeitung ergab das Produkt das in Abbildung 33 gezeigte Massenspektrum.

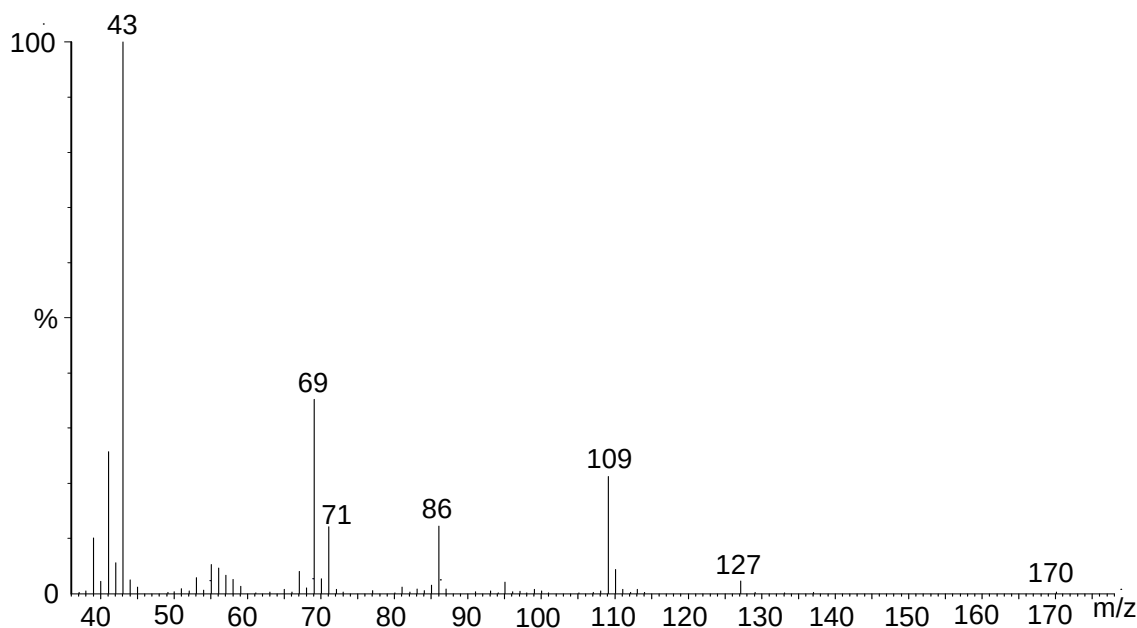


Abbildung 33: Massenspektrum des Ozonolyseproduktes der unbekannten Komponente des Pentanextraktes einer Fettveredelung

Anhand der Fragmentierung (dargestellt in Abbildung 34) und nach Vergleich mit Literaturdaten [42] handelt es sich bei dem Produkt der ozonolytischen Spaltung um 3,3-Dimethyloctan-2,7-dion (10)

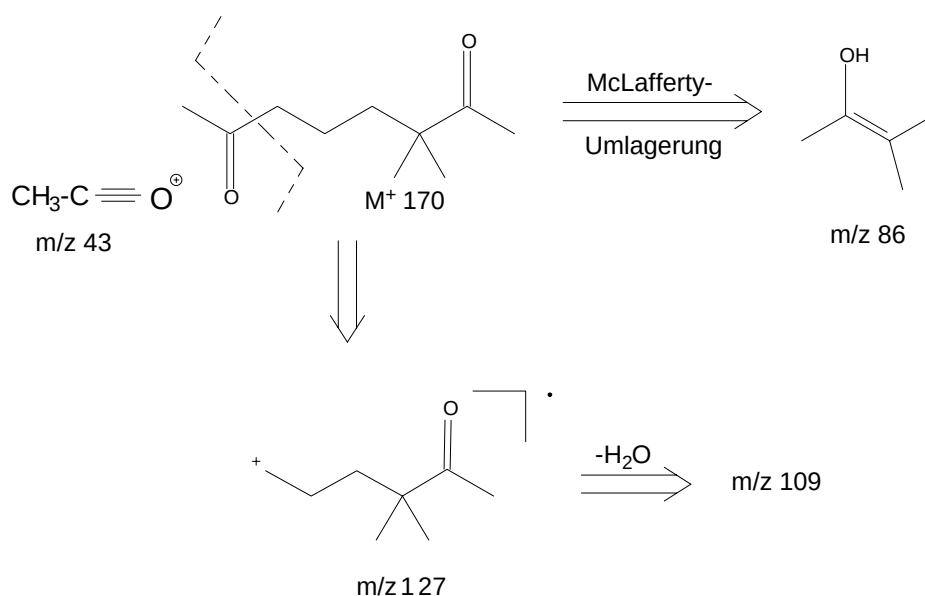


Abbildung 34: Massenspektrometrische Fragmentierung von 3,3-Dimethyl-2,7-octandion

Das entstandene Diketon ist daher das Produkt der ozonolytischen Spaltung von 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen (9). (Abbildung 35)

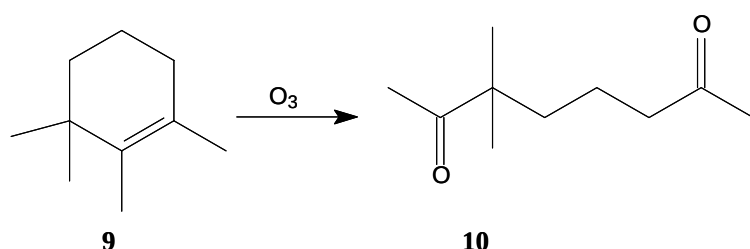


Abbildung 35: Ozonolytische Spaltung von 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen (9)

Dieser Strukturvorschlag wurde durch unabhängige Synthese verifiziert. Die Synthese des Cyclohexens ist in Abbildung 36 dargestellt. Kommerziell erhältliches 6-Methyl-5-hepten-2-on (11) wird in einer Grignardreaktion mit Dibrommethan (12) zu 3,7-Dimethyl-6-octen-3-ol (13) umgesetzt. Das entstandene 3,7-Dimethyl-6-octen-3-ol (13) wurde nach säulenchromatographischer Reinigung mit Oxalsäure bei 150 °C zum gewünschten 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen (9) cyclisiert [45,46].

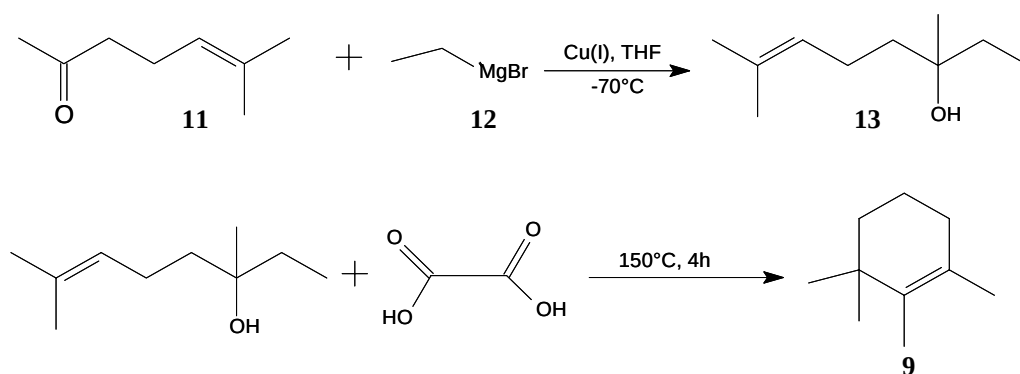


Abbildung 36: Synthese von 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen

Das Massenspektrum sowie die Retentionszeit der synthetisierten Verbindung entsprechen exakt denen der unbekannten Verbindung in der Naturprobe. Die Struktur konnte somit eindeutig zugeordnet werden. In der Struktur ist ein Terpenskelett deutlich zu erkennen, die Entstehung der Substanz bleibt dennoch unbekannt.

Einige in der gereinigten Abluft enthaltene Verbindungen wurden zusätzlich auf Tenax adsorbiert und anschließend wie beschrieben thermisch desorbiert. Das Gaschromatogramm dieser Messung enthielt neben der bereits identifizierten Hauptkomponente noch eine weitere Verbindung, welche ebenfalls zu identifizieren war.

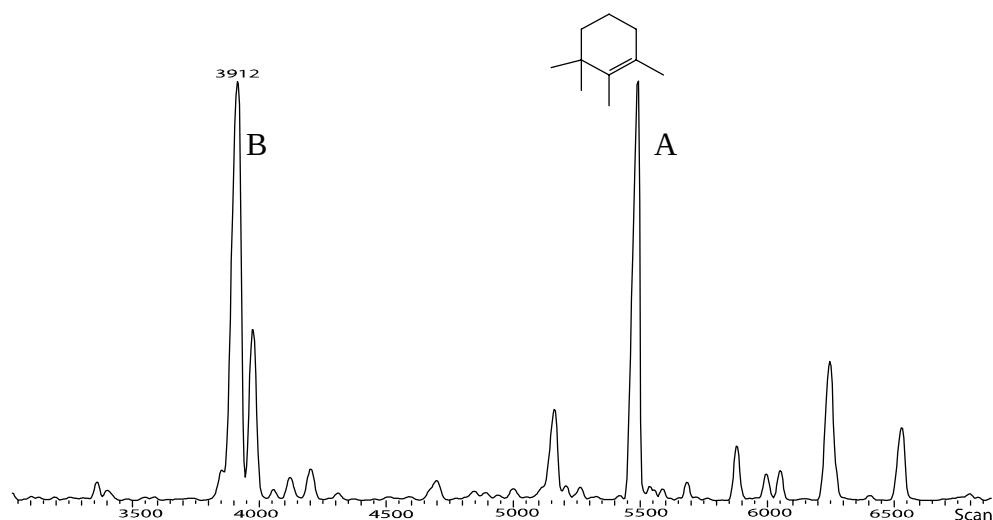


Abbildung 37: Gaschromatogramm der vollständig gereinigte Abluft mit Hauptkomponenten

In Abbildung 38 ist das Massenspektrum der Verbindung B abgebildet.

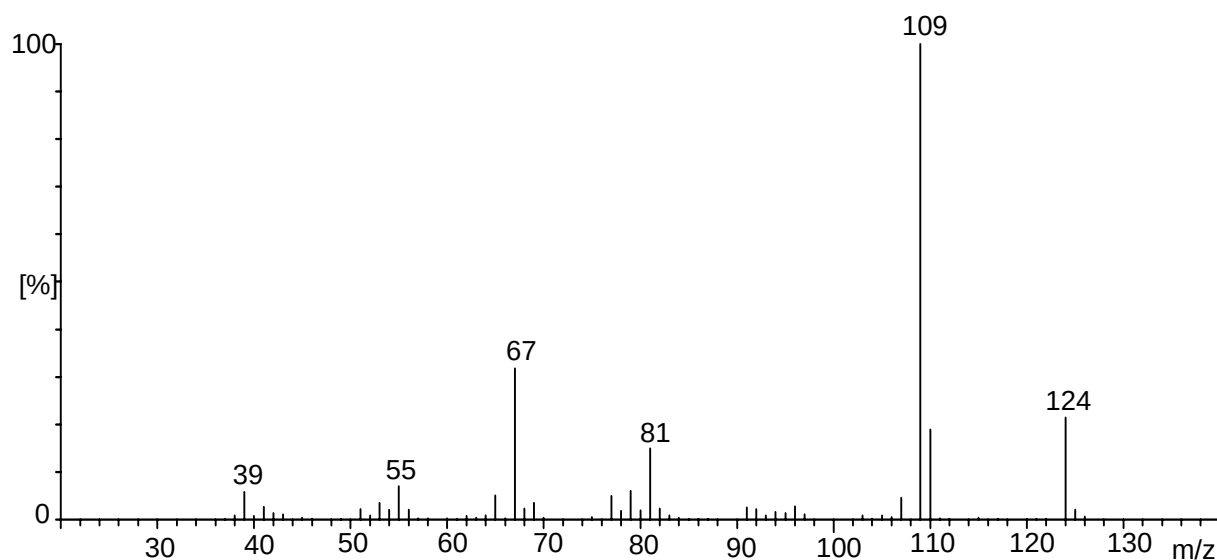


Abbildung 38: Massenspektrum der unbekannten Verbindung B

Wie aus dem Massenspektrum zu ersehen, ist diese Verbindung um eine CH_2 -Gruppe leichter als das bereits identifizierte 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen (9). Die unbekannte Substanz eluiert bei der gaschromatographischen Untersuchung deutlich früher von der Kapillarsäule als die bereits identifizierte Verbindung.

Aus dem Massenspektrum ergab sich sich 1,2,3-Trimethylcyclohexen (14) als plausibler Strukturvorschlag. Da diese Verbindung nicht kommerziell erhältlich war, wurde sie synthetisiert.

2,3-Dimethylcyclohexanol (15) wurde zunächst zum 2,3-Dimethylcyclohexanon (16) oxidiert. Dieses wurde dann in einer Grignardreaktion mit Methyljodid (17) zum 1,2,3-

Trimethylcyclohexanol (18) umgesetzt. Durch Eliminierung von Wasser wurde die gewünschte Zielverbindung (14) erhalten.

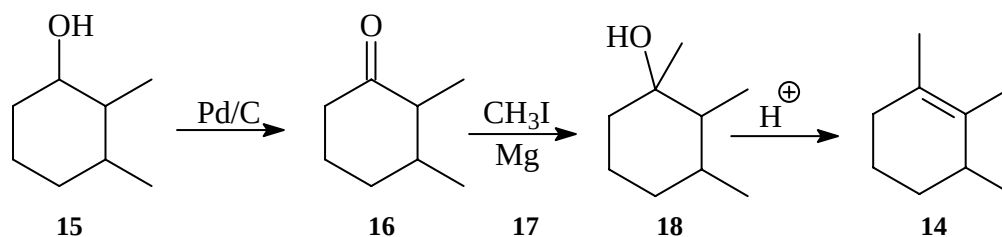


Abbildung 39: Synthese von 1,2,3-Trimethylcyclohexen (14)

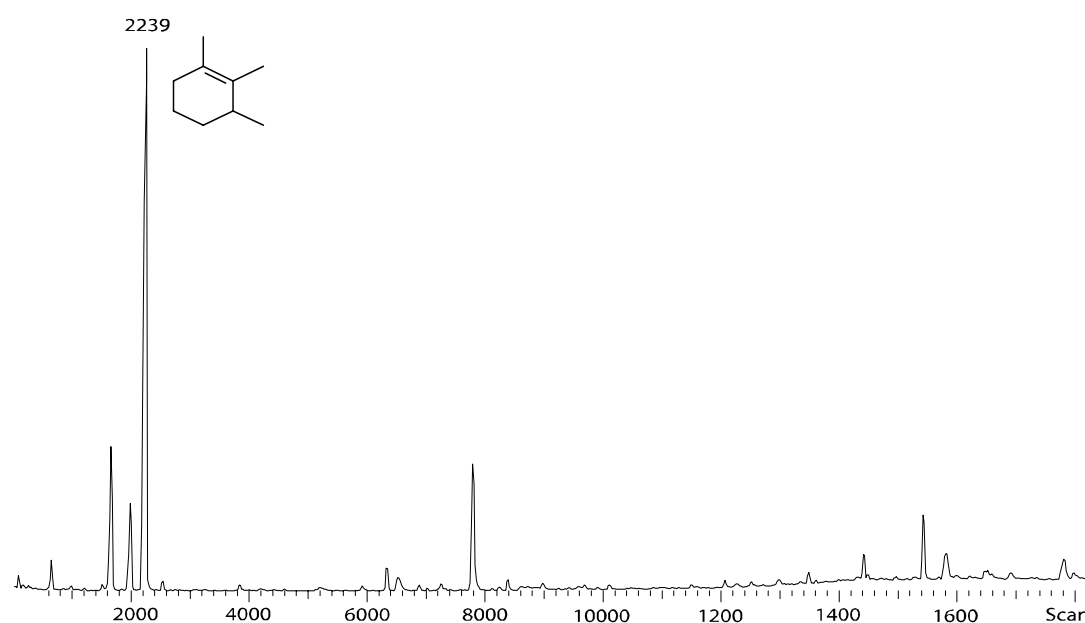


Abbildung 40: Gaschromatogramm von 1,2,3-Trimethylcyclohexen

Abbildung 40 zeigt das Gaschromatogramm des synthetisch hergestellten 1,2,3-Trimethylcyclohexens. Aus der Retentionszeit, sowie aus dem in Abbildung 41 dargestellten Massenspektrum wird deutlich, dass die unbekannte Substanz nicht das vermutete Trimethylcyclohexen ist.

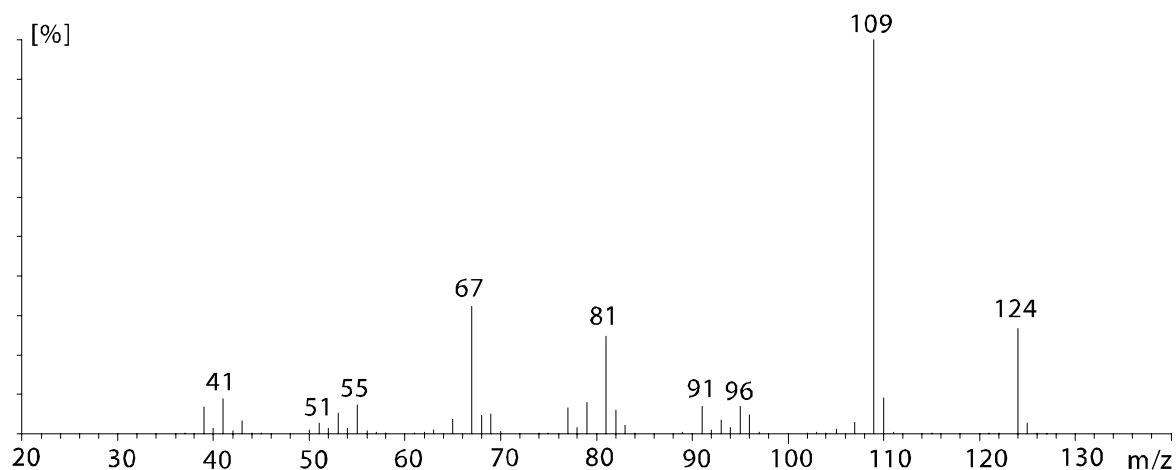


Abbildung 41: Massenspektrum von 1,2,3-Trimethylcyclohexen (14)

Aufgrund der Fragmentierung und nach Datenbankrecherche ergab sich 1,2,4,4-Tetramethylcyclopenten (19) als weiterer plausibler Strukturvorschlag [42]. Da auch diese Substanz nicht kommerziell erhältlich ist, wurde sie ebenfalls synthetisiert.

Hierzu wird käufliches 2,4,4-Trimethylcyclopentanon (20) mit Methyllithium zum 1,2,4,4-Tetramethylcyclopentanol (21) umgesetzt. Anschließend wird durch Eliminierung das gewünschte Produkt (19) erhalten.

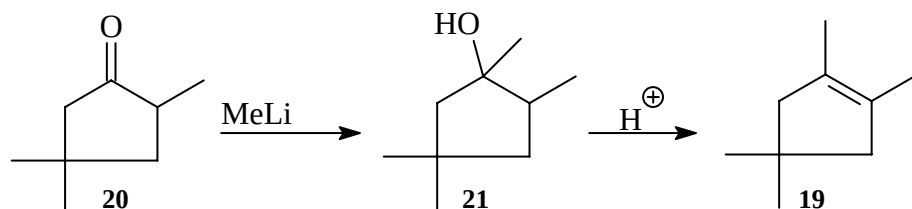


Abbildung 42: Synthese von 1,2,4,4-Tetramethylcyclopenten

Wie aus der Retentionszeit, ebenso wie aus dem in Abbildung 43 dargestellten Massenspektrum deutlich wurde, konnte auch dieser Strukturvorschlag nicht verifiziert werden.

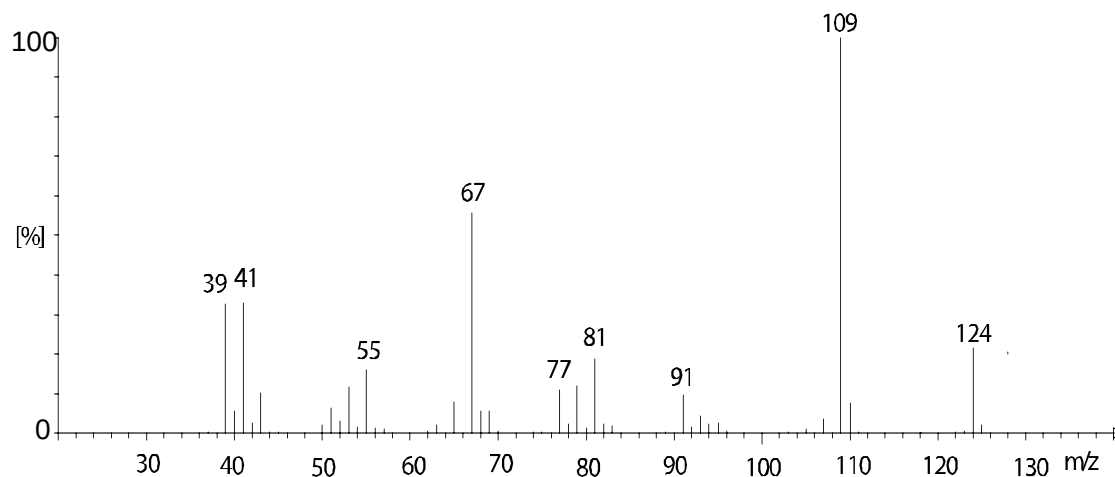


Abbildung 43: Massenspektrum von 1,2,4-Tetramethylcyclopenten (19)

Die Retentionszeit des Cyclopentens und die der unbekannten Substanz weichen nur geringfügig voneinander ab, während die des Cyclohexens deutlich verschieden ist. Dennoch kann es als sicher angesehen werden, dass es sich bei der unbekannten Substanz um einen cyclischen, ungesättigten Kohlenwasserstoff handelt. Für die Entwicklung von Vermeidungsstrategien ist diese Tatsache entscheidend. Eine eindeutige Identifizierung des Kohlenstoffgerüsts ist hierfür nicht ausschlaggebend.

Eine im Pentanextrakt der gereinigten Rohluft enthaltene Spurenkomponente erwies sich als besonders geruchsaktiv. Es sollte auch die Struktur dieser unbekannten Verbindung aufgeklärt werden.

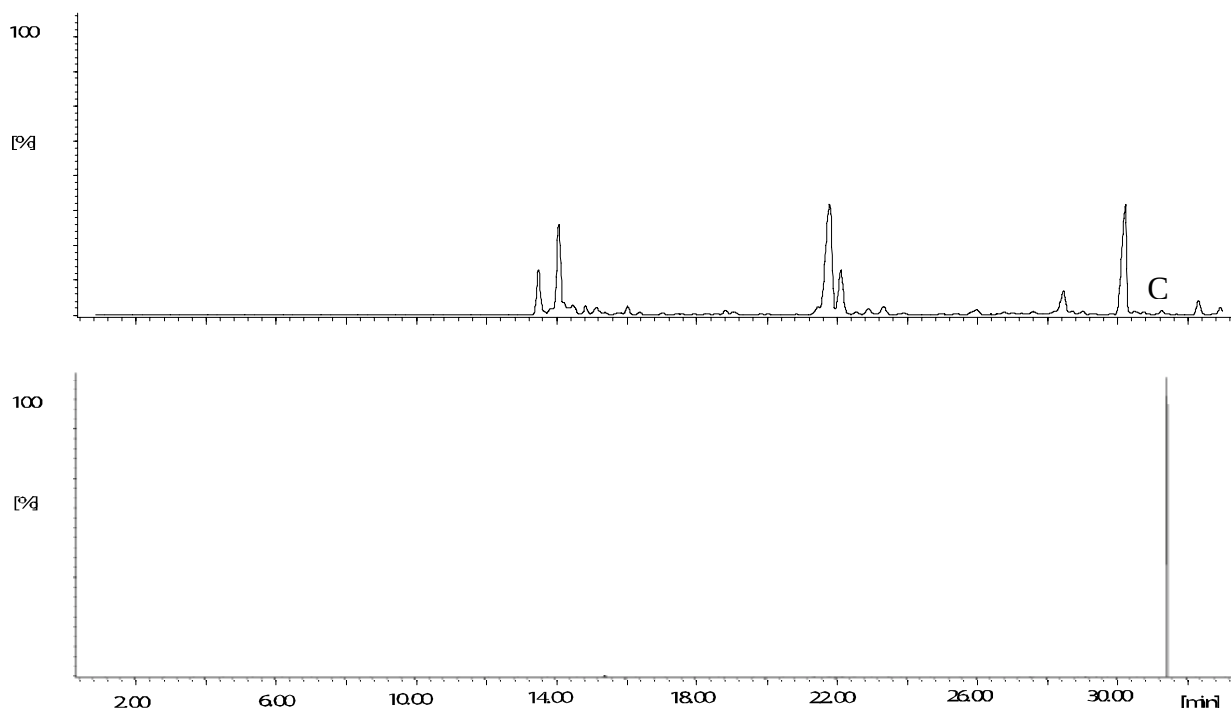


Abbildung 44: FID und Sniff Port Chromatogramm der thermischen Desorption der vollständig gereinigten Luft einer Fettveredelung

In Abbildung 45 ist das Massenspektrum der geruchsaktiven Spurenkomponente C dargestellt.

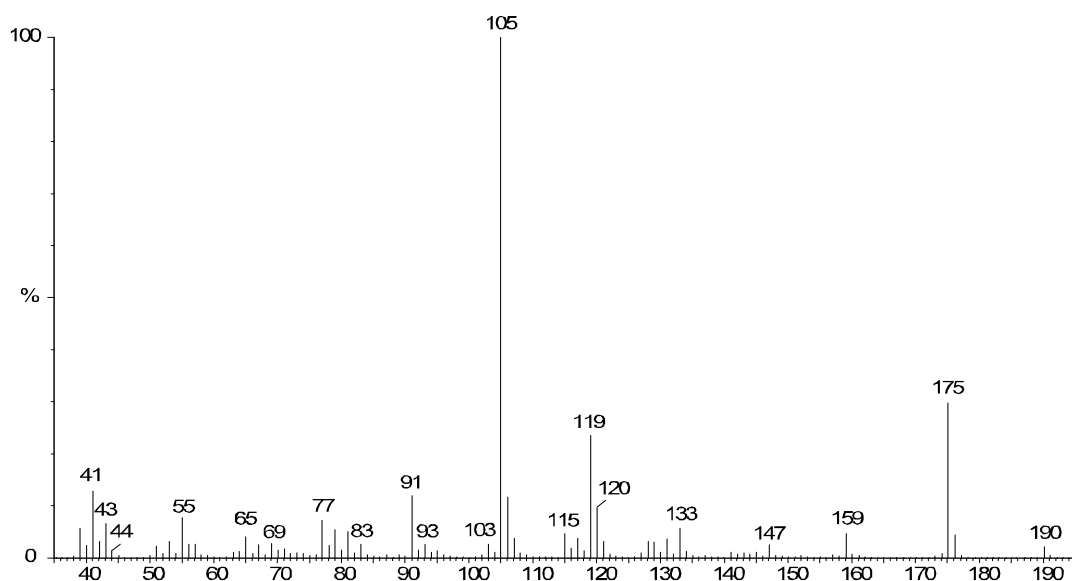


Abbildung 45: Massenspektrum der geruchsaktiven unbekannten Verbindung C

Abgeleitet aus dem Massenspektrum ergibt sich als Strukturvorschlag für die unbekannte Verbindung 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan (22). Diese Substanz wurde synthetisiert [47,48]. Hierzu wurde Acrylsäure (23) mit tert.-Butyllithium (24) zu 4,4-Dimethylpentansäure (25) umgesetzt. Durch Reaktion mit Oxalylchlorid (26) wurde das Säurechlorid (27) erhalten. Dieses reagiert mit Benzol in einer Friedel-Crafts Acylierung zu 4,4-Dimethyl-1-phenylpentan-1-on (28). Anschließend Umsetzung mit Methyllithium (29) ergab 5,5-Dimethyl-1-phenyl-1-hexanol (30). Durch Eliminierung wurde zunächst 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpent-1-en (31) erhalten und hieraus durch anschließende katalytische Hydrierung das gewünschte 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan (22) dargestellt.

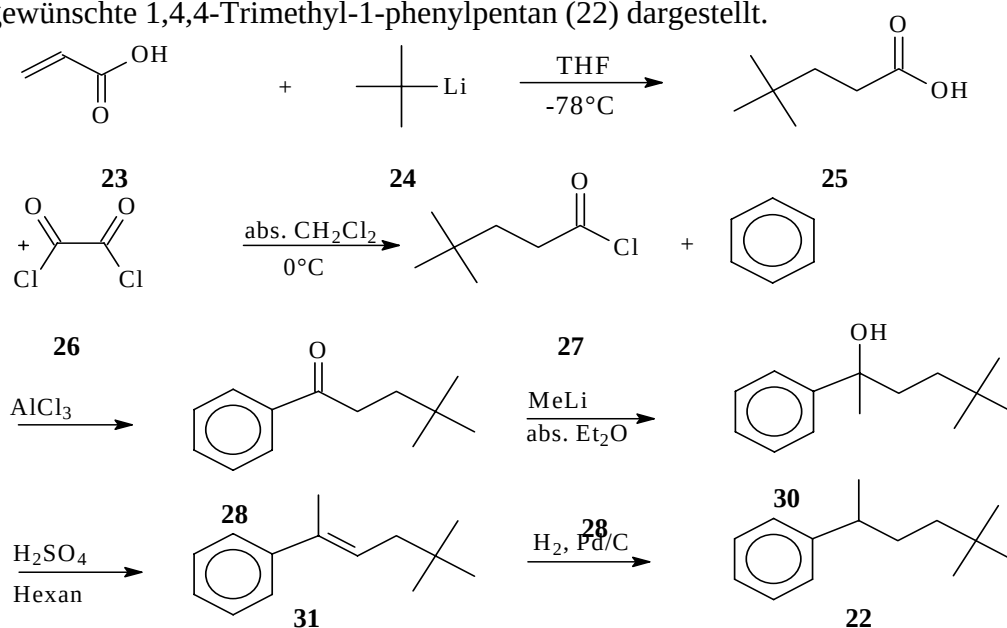


Abbildung 46: Synthese von 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan (22)

Durch Vergleich der Massenspektren wurde deutlich, dass es sich bei der unbekannten Substanz nicht um das vermutete 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan (22) handelte (Abbildung 47).

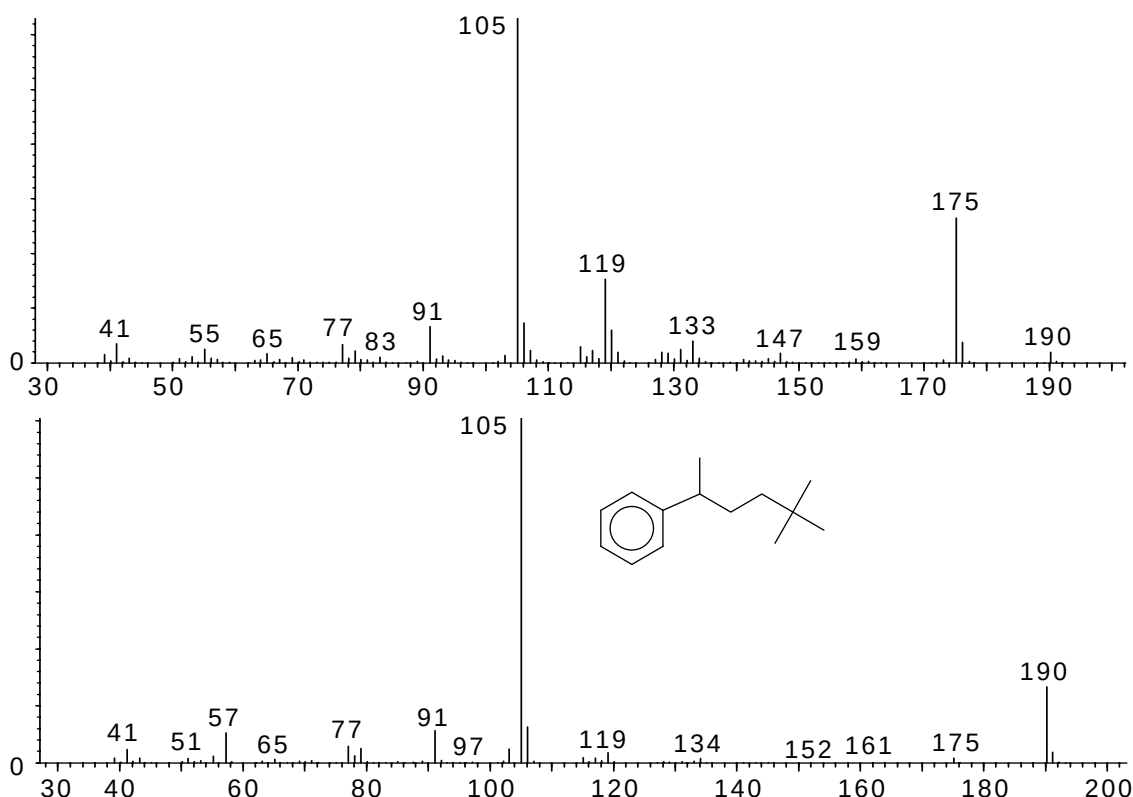


Abbildung 47: Vergleich der Massenspektren der unbekannten geruchsaktiven Verbindung und von 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan (22)

Eine alternative Struktur, die ein Basision der Masse m/z 105 liefern sollte, ergab sich, wenn angenommen wurde, dass sich eine Methylgruppe am Ring befände. Damit war 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan (32) ein weiterer plausibler Strukturvorschlag, der synthetisiert wurde [47,48]. Hierzu wurde zunächst mit Toluol (33) und 4,4-Dimethylpentansäurechlorid (27) eine Friedel-Crafts Acylierung zu 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolyl-pentan-1-on (34) durchgeführt. Durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid wurde 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolyl-1-pentanol (35) zugänglich. Dieses wurde durch Eliminierung von Wasser in 4,4-Dimethyl-*p*-tolyl-1-penten (36) umgewandelt. Hieraus wurde schließlich durch katalytische Hydrierung das gewünschte 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan (32) (Abbildung 48) erhalten.

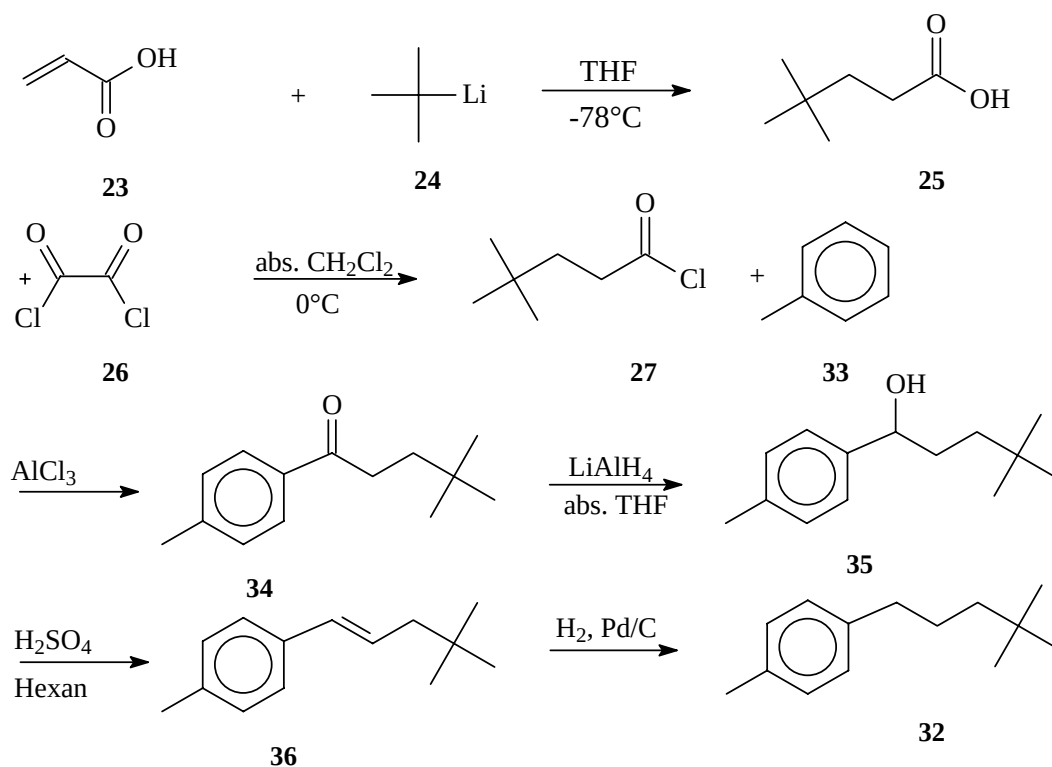


Abbildung 48: Synthese von 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan (32)

Wie sich anhand von Massenspektrum und gaschromatographischer Retentionszeit zeigte, war auch diese Verbindung im Hinblick auf die Struktur der unbekannten Substanz nicht relevant.

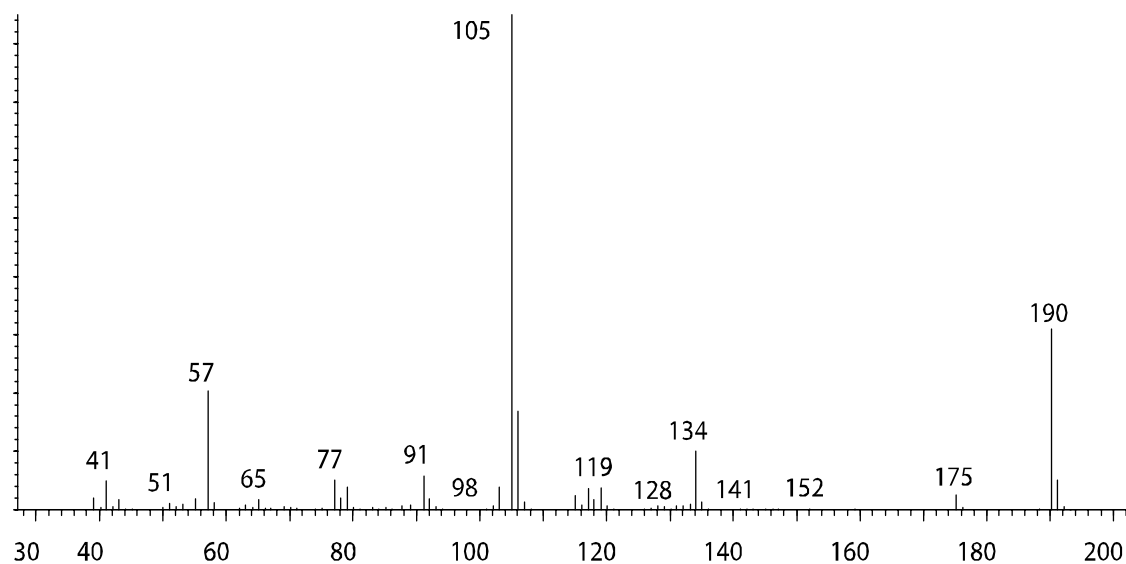


Abbildung 49: Massenspektrum von 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan (32)

Durch Vergleich des Fragmentierungsverhaltens von Eudesma-2,4-dien (37) [42] mit dem Fragmentierungsmuster der unbekannten Verbindung, kam das Norsesquiterpen 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (38) als weiterer Strukturvorschlag in Betracht.

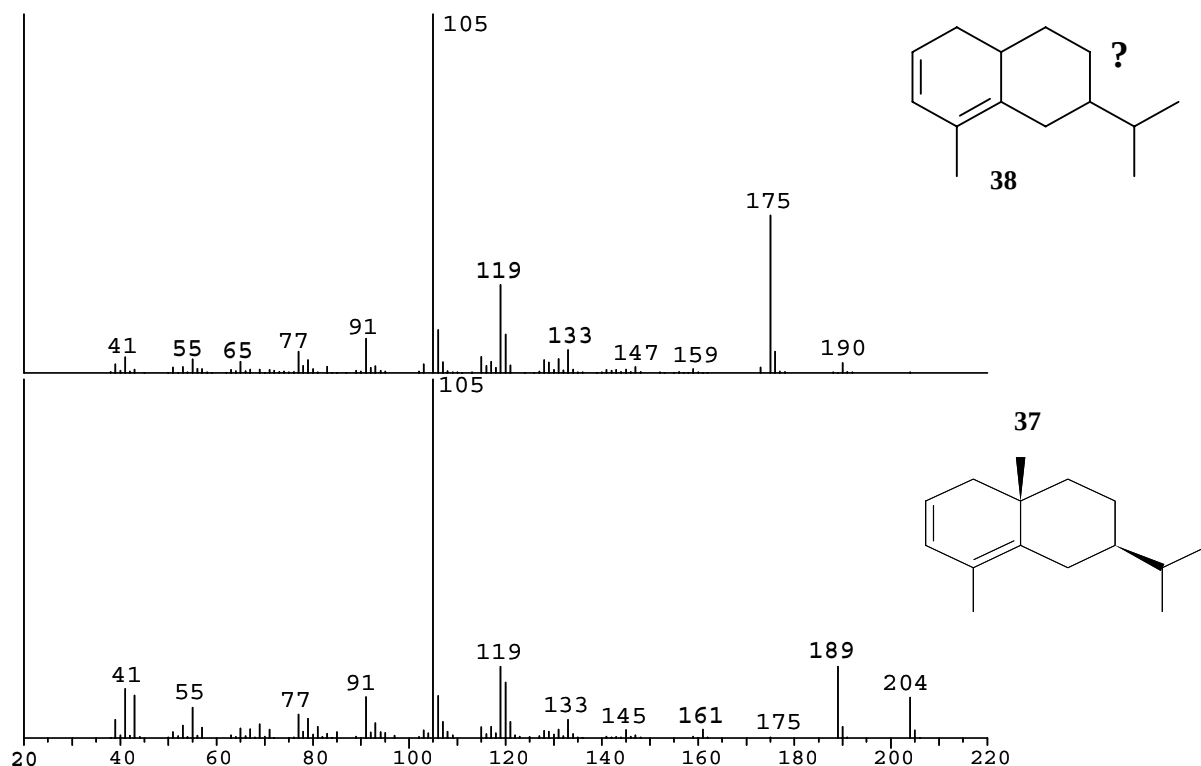


Abbildung 50: Vergleich der Massenspektren von Eudesma-2,4-dien (37) und 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (38)

Die Masse des Sesquiterpens ist um 14 Masseneinheiten (eine Methylengruppe) höher als die Masse der zu identifizierenden Verbindung. Das Fragmentierungsmuster weist jedoch erhebliche Ähnlichkeiten auf.

Somit ergab sich als weiterer Strukturvorschlag das oben erwähnte 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (38).

Durch Hydrierung müsste die Masse der postulierten Struktur um 4 Einheiten zunehmen. Dieses wurde geprüft. Zu diesem Zweck wurde das Abwasser der Fallwassertanks direkt mit Pentan extrahiert. Der erhaltene Extrakt wurde zur Trockne eingengt, in Methanol aufgenommen und mit Pd/C bei 40 Bar hydriert. Abbildung 51 zeigt das Chromatogramm des hydrierten Extraktes. Die zu identifizierende Verbindung war nicht mehr nachweisbar, stattdessen konnte ein neuer Peak detektiert werden.

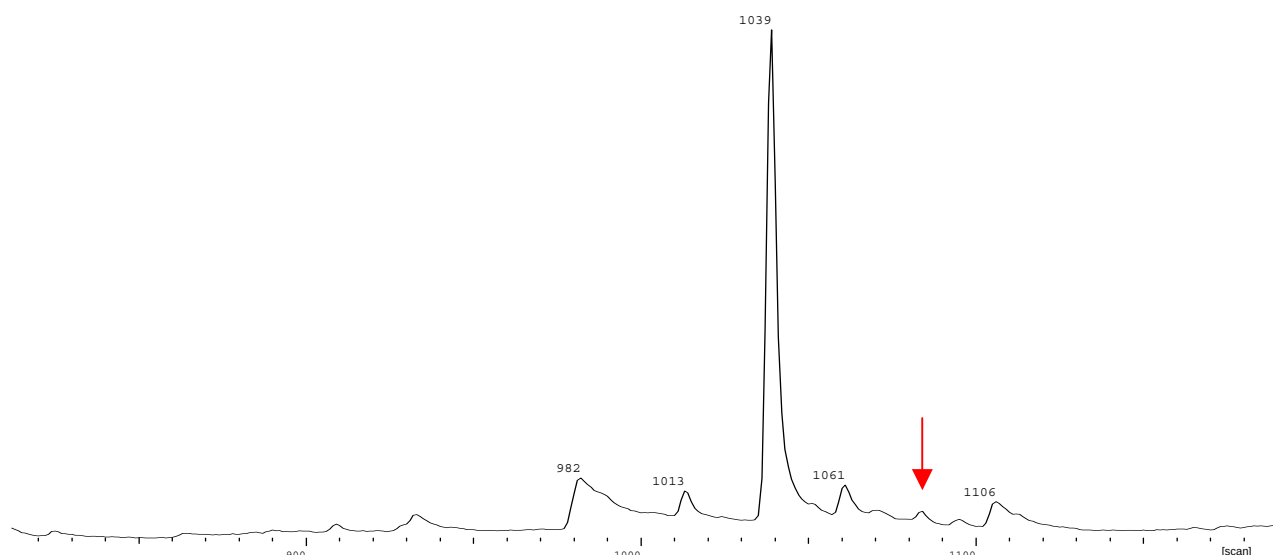


Abbildung 51: Hydrierter Pentanextrakt des Abwassers aus den Fallwassertanks einer Fettveredelung

Die Substanz war in den Chromatogrammen des nicht hydrierten Naturextraktes nicht nachweisbar. Das Massenspektrum des Hydrierungsproduktes der Verbindung C mit der Molekülmasse 194 ist in Abbildung 52 dargestellt. Es kommt auch hier zu Abspaltung einer Methylgruppe, was zu dem Fragment m/z 179 führt und nicht zu m/z 175 wie im nicht hydrierten Produkt.

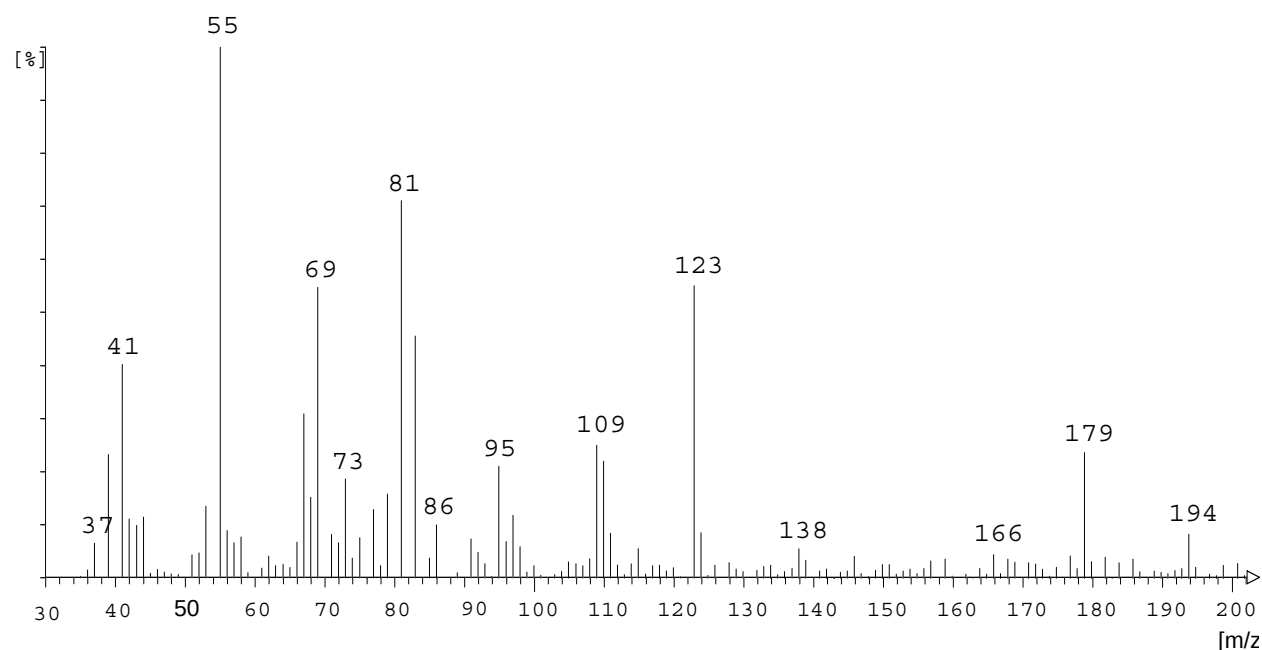


Abbildung 52: Massenspektrum der hydrierten Verbindung C

Die Gemeinsamkeiten in der Art der Fragmentierung von Eudesma-2,4-dien mit der unbekannten Verbindung sowie die Zunahme um 4 Masseneinheiten beim Hydrieren legen nahe, dass es sich bei der geruchsaktiven Verbindung um das vermutete 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (38) handeln könnte.

Eine Möglichkeit, das Kohlenstoffskelett der unbekannten Geruchssubstanz zuzuordnen, ist die Identifizierung des Hydrierungsproduktes der Verbindung C. Aus dem vermuteten Nortерpen würde beim Hydrieren 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39) entstehen. Die Verbindung ist in Abbildung 53 dargestellt.

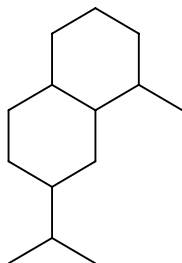


Abbildung 53: 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39)

Ein möglicher Weg zur Darstellung der Verbindung 39 würde von 2-Cyclohexenon (40) ausgehen (Abb. 54). Dieses könnte mit dem Grignardreagenz aus 2-Brompropan durch 1,4-Addition zum 3-(1-Methylethyl)-cyclohexanon (41) umgesetzt werden. Dieses würde nach Reaktion mit Trimethylsilylchlorid den entsprechenden Silylether (42) liefern. Der Silylether (42) könnte mit 2,4-Hexadiensäuremethylester (43) in einer Diels Alder Reaktion umgesetzt werden. Bei dieser Reaktion können prinzipiell die beiden Regioisomere (44) und (44a) gebildet werden. Ein Vergleich der Orbitalkoeffizienten im Dien und im Dienophil spricht für 44a, die sperrige Trimethylsilylschutzgruppe lässt eher (44) erwarten. Die möglicherweise als Gemisch entstandenen Zwischenprodukte (44) und (44a) würden danach zunächst deblockiert und dabei gleichzeitig unter Eliminierung der freien Hydroxylfunktion 5-Carbomethoxy-8-methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (45) und 8-Carbomethoxy-5-methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (45a) liefern. Reduktion der Methylester (45) und (45a) mit Titanocendichlorid über die freien Säure (46) und (46a) sollte die Nortерpene (47) und (47a) liefern. [95,96,97,98,99,100]. Das Nortерpen (47) könnte dann zu (39) hydriert werden.

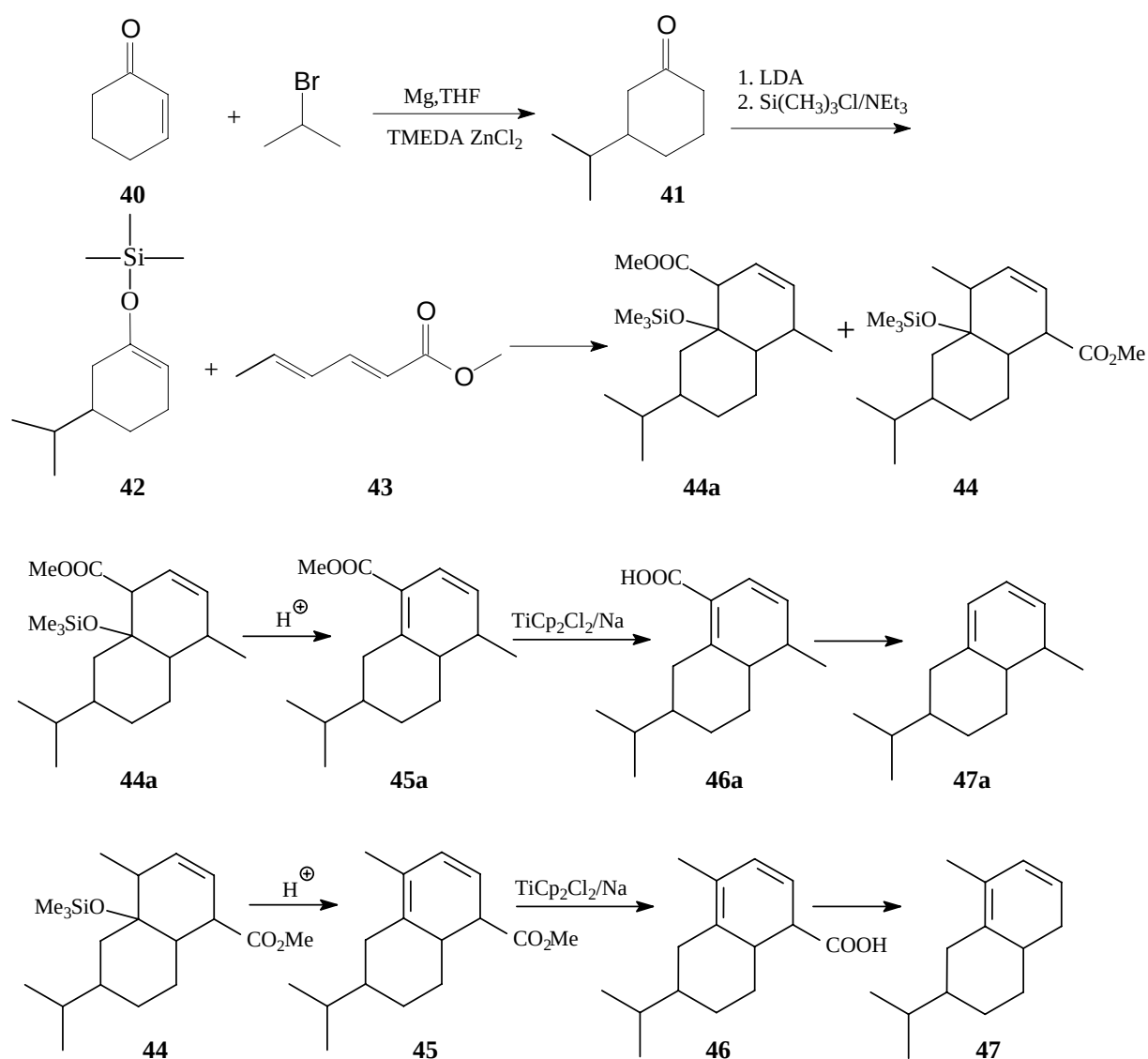


Abbildung 54: Geplante Synthese von 5-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (47a) und 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (47)

Der gewählte Syntheseweg gestaltete sich problematisch. Bereits die Darstellung des 3-(1-Methylethyl)-cyclohexanons (41) verlief nur unter erheblichem Zeitaufwand und Ausbeuteverlusten. Nur die Synthese unter Zinkchloridkatalyse und Aktivierung mittels TMEDA lieferte schließlich befriedigende Ergebnisse.

Die folgende Blockierung der Ketofunktion mit Trimethylsilylchlorid und Imidazol lieferte ebenfalls kein zufriedenstellendes Resultat. Die Verwendung von NaOH als stärkere Base, die das Keto-Enolgleichgewicht mehr in Richtung des Enols verschieben sollte und gleichzeitiges Erhitzen unter Rückfluß lieferten nicht das gewünschte Produkt. Ein weiterer Versuch mit Triethylamin in Acetonitril und Zugabe von Natriumiodid zeigte ebenfalls keinen Erfolg.

Gemäß Corey et al. [96] führt die Deprotonierung von Ketonen und Estern mit Lithiumalkylamiden in Gegenwart von Trimethylchlorsilan zu den Enolaten bzw. den Silylethern. Es wurde deshalb der von Corey [96] beschriebene Weg verwendet. Zu einer auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten LDA-Lösung wurde zunächst das Trimethylchlorsilan gegeben und anschließend langsam 3-(1-Methylethyl)-cyclohexanon (41). Nach kurzer Reaktionszeit wurde wasserfreies Triethylamin zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt.

Der gewählte Reaktionsweg lieferte den Silylether (42) in befriedigenden Ausbeuten.

Bei der anschließenden Diels Alder Reaktion mit 2,4-Hexadiensäuremethylester (43) erwies sich die gewählte Schutzgruppe als sehr instabil. Das gemeinsame zwölfstündige Erhitzen der Reaktionspartner in Toluol führte bereits zur Deblockierung der Ketofunktion des Cyclohexanons. Die Verwendung von Aluminiumchlorid als Katalysator und entsprechend mildere Reaktionsbedingungen (niedrigere Temperatur, kürzere Reaktionsdauer) lieferte ebenfalls das deblockierte Keton. Erhitzen des Diens und des Dienophils ohne Lösungsmittel 36 h lang auf $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ergab ein Produktgemisch, in welchem der gewünschte Ester (44) in nachweisbarer Menge enthalten war. Schwierigkeiten bereitete die anschließende Reinigung. Es war weder auf chromatographischem noch auf destillativem Wege möglich, saubere Substanzen zu isolieren. Die anschließende Deblockierung mit gleichzeitiger Eliminierung von Wasser verlief glatt mit Hilfe von 50 % iger Schwefelsäure. Allerdings konnten auch hier die Reaktionsprodukte nicht vollständig gereinigt werden. Als minimierender Faktor der Synthese gestaltete sich die Entfernung der Methylesterfunktion (45) zum Alkan. Gemäß van Temden et al. [101] sollten sich Methylester mit Titanocendichlorid und Natrium glatt decarboxylieren lassen. Dazu wurden Titanocendichlorid und festes Natrium in trockenem Toluol 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene, hochentzündliche Niederschlag wurde abfiltriert. Zum erhaltenen Filtrat wurde die Methylesterfraktion gegeben und 48h bei Raumtemperatur gerührt. Die eingesetzten Edukte reagierten jedoch nicht. Die Reaktion wurde wiederholt, und es wurde 25 %ige Natriumsuspension anstatt festem Natrium eingesetzt. Auch diese Variante brachte nicht den gewünschten Erfolg. Die Decarbomethoxylierung von (45) zu (47) gelang nicht

Eine Alternative zur Darstellung von (39) zeigt Abbildung 55. Das bicyclische Keton (50) sollte durch Robinson-Anellierung von kommerziell erhältlichem 4-(1-Methylethyl)-cyclohexanon (48) mit 3-Penten-2-on (49) erhalten werden. Das Produkt könnte zu 4-Methyl-6-(1-methylethyl)-2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydronaphtalin-2-ol (51) reduziert werden. Anschließende Eliminierung von Wasser und Hydrierung sollten über das Dien (52) das gewünschte 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39) liefern.

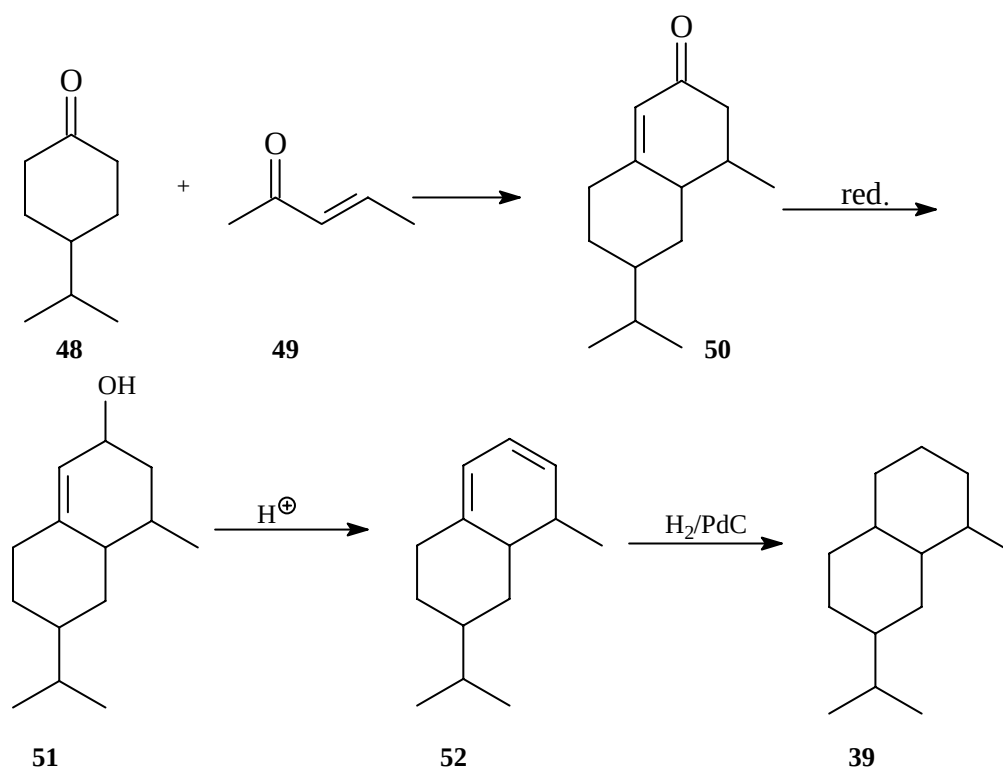


Abbildung 55: Synthese von 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39)

Wurde die Anellierung mit Natriumhydroxid als Base durchgeführt, konnte keine Reaktion der Edukte festgestellt werden. Lithiumdiisopropylamid war, wie Natriumhydroxid, offenbar eine zu schwache Base zum Deprotonieren, denn und auch hier reagierten die Edukte nicht. Heathcock *et al.* [54] beschreiben die Robinson-Anellierung unter sauren Bedingungen. Daher wurde 4-(1-Methylethyl)-cyclohexanon (48) in Toluol gelöst, und es wurde konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Anschließend wurde langsam frisch destilliertes 3-Penten-2-on (49) hinzugefügt und unter Rückfluß erhitzt. Dieser Reaktionsweg lieferte das gewünschte Produkt in allerdings geringer Ausbeute. Die anschließende Reduktion des Ketons (50) führte zu dem gewünschten Alkohol (51). Nach Eliminierung mit verdünnter Schwefelsäure und anschließender Hydrierung mit Pd/C als Katalysator konnte die Zielverbindung (39) erhalten werden. Abbildung 56 zeigt das Massenspektrum von 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39).

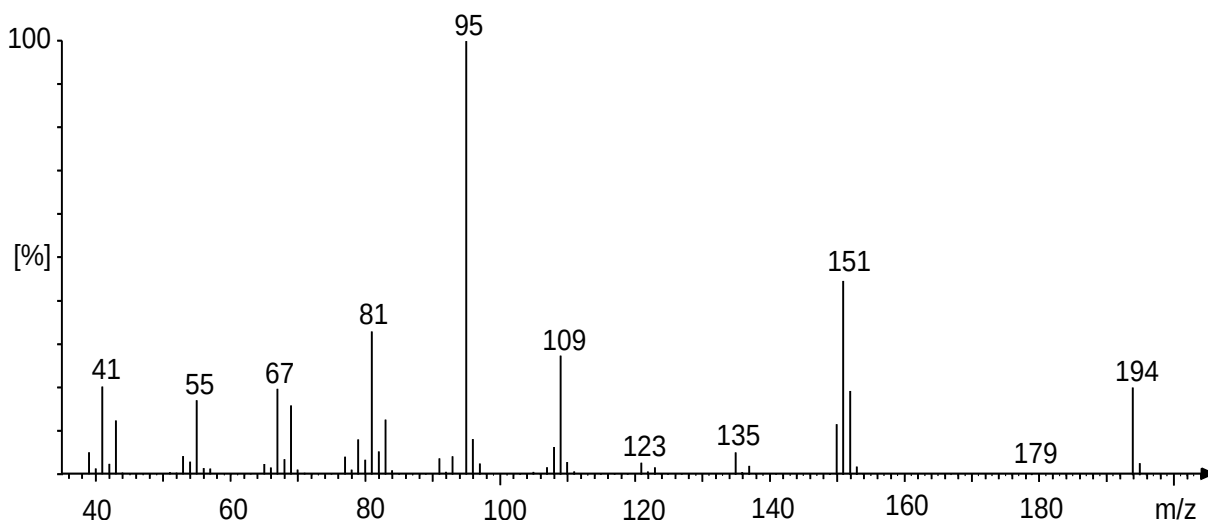


Abbildung 56: Massenspektrum von 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphthalin (39).

Die Massenspektren des Hydrierungsproduktes der unbekannten Verbindung und des 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphthalins (39) zeigten jedoch keine Übereinstimmung (s. Abb. 52). Es handelte sich demzufolge beim Hydrierungsprodukt der Zielsubstanz C nicht um das vermutete 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphthalin (39). Der für die Zielverbindung postulierte Strukturvorschlag, das 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalin (38), konnte somit nicht verifiziert werden.

Die unterschiedliche Fragmentation der Verbindungen ist eventuell auf eine andere Position der Methylgruppe innerhalb des Hydronaphthalins zurückzuführen. Es sollte deshalb zur Kenntnis der Fragmentierung entsprechender Decaline eine weitere Verbindung dieser Gruppe synthetisiert werden und zwar das 6-Methyl-2-(1-methylethyl)-decahydronaphthalin (56).

4-(R)-Limonen (48) könnte mittels Platinoxidkatalyse zu (4R)-1-Methyl-4-(1-methylethyl)cyclohexen (49) hydriert werden. Dieses würde gemäß Oppolzer *et al.* [49] über eine epoxidische Zwischenstufe zu den diastereomeren Alkoholen (1S,5R)- 2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol und (1R,5R)-2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol (50/51) umgesetzt werden. Die Oxidation der entstandenen Alkohole (50/51) mit Dess-Martin-Perjodian Reagenz könnte α -Santolinolen (52) zugänglich machen, welches bereits von Francesconi *et al.* [51] als Naturprodukt beschrieben wurde. Das entstandene α -Santolinolen könnte als Vinylketon zwar sehr schnell in einer Hetero-Diels-Alder Reaktion dimerisieren und damit die nachfolgende Wittig Reaktion mit 2-Butenyltriphenylphosponiumbromid (53) behindern, doch sollten bei schnell durchgeführter Wittig-Reaktion die 2-[But-2-enyliden]-4-(1-methylethyl)-1-methylencyclohexane (54/55) zugänglich sein. Eines von diesen, nämlich (54) könnte anschließend gemäß Steiner *et al.* [53] durch intramolekulare Diels-Alder-Reaktion zum gewünschten Nortерpen 6-Methyl-1-

(methylethyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydronaphtalinhydronaphtalin (56) reagieren. Katalytische Hydrierung würde das Dialkyldecalin (57) liefern.

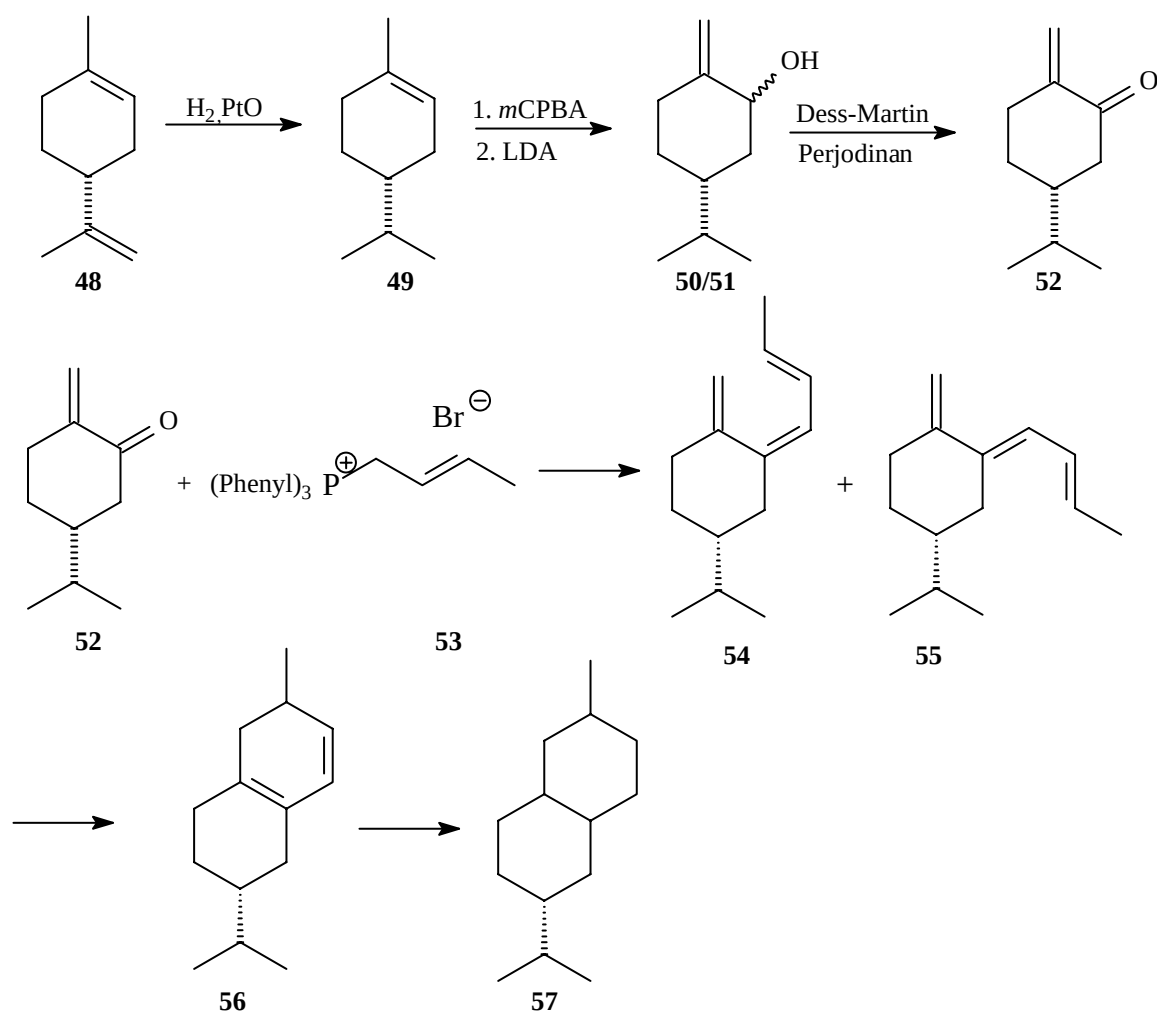


Abbildung 57: Geplante Synthese von 6-Methyl-2-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (56)

Die Hydrierung von Limonen (48) zum Dihydrolimonen (49) verlief glatt und mit sehr guten Ausbeuten. Die anschließende Epoxidierung und Reduktion mit LDA zu den diastereomeren Alkoholen (50/51) gestaltete sich ebenfalls problemlos. Die Darstellung des Santolinolens (52) mittels Dess Martin Perjodinan Oxidation ergab ebenfalls gute Ausbeuten. Das entstandene Vinylketon isomerisierte jedoch schnell und musste deshalb direkt nach der Synthese weiter mit dem entsprechenden Wittigsalz umgesetzt werden. Bei dieser Reaktion entstand ein Gemisch, aus welchem das gewünschte Produkt nicht ganz sauber isoliert werden konnte. Auffällig war dabei, dass die Fraktion, die die gewünschte Verbindung 54 in größerer Menge enthielt, einen intensiven Geruch nach Gras aufwies, genauso wie der zu identifizierende Geruchsstoff. Die anschließende electrocyclische Reaktion nach Steiner *et al.*

[53] gelang allerdings nicht. Auch Versuche, die Verbindung auf andere Weise zu cyclisieren schlugen fehl.

Es gelang nicht, im Rahmen dieser Arbeit die Struktur der unbekannten geruchsaktiven Substanz C zu identifizieren. Aufgrund der durchgeführten Synthesen ist davon auszugehen, dass es sich nicht, wie zunächst vermutet, um ein alkyliertes Benzolderivat handelt. Die synthetisierten Verbindungen dieser Stoffklasse zeigen im Massenspektrum eine andere Fragmentierung. Der Vergleich des Massenspektrums von Eudesma-2,4-dien (37) mit dem Massenspektrum der unbekannten Substanz C zeigt ähnliche Fragmentierung. Die Hydrierung der Verbindung bestätigte das Vorkommen von zwei Doppelbindungsäquivalenten wie es beim vermuteten aus dem Massenspektrum abgeleiteten Strukturvorschlag von 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin (38) der Fall wäre. Das Produkt der Hydrierung des als Struktur von C postulierten 8-Methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalins (38) wäre 1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin (39). Diese Verbindung wurde synthetisiert. Die Massenspektren des hydrierten Naturextraktes und der Synthesesubstanz zeigten keine Übereinstimmung, so dass dieser Strukturvorschlag nicht bestätigt werden konnte.

4.2.2 Abluft einer fischverarbeitenden Fabrik

Die Firma, deren Abluft beprobt wurde betreibt eine Anlage zur Herstellung von Fischmehl und Fischöl aus Fischen und Fischabfällen.

Die kontinuierlich entstehende Abluft wird mit Ventilatoren abgesaugt und einem im Gegenstrom arbeitenden Nasswäscher mit einer maximalen Waschflüssigkeitsmenge von $5,6 \text{ m}^3/\text{h}$, zugeführt. Nach Durchströmen des Wäschers wird das Abgas in ein Biobeet geleitet. Das Biobeet wird mit max. $35000 \text{ m}^3/\text{h}$ Abluft bei einer Temperatur von 37°C durchströmt. Auf einem Lattenrost aus Bongossiholz befindet sich eine 1,3 m hohe Schicht aus gerissenem Wurzelholz bestehend aus Fichte und Kiefer. Den Abschluß bildet eine ca. 0,3m breite Deckschicht aus Rindenmulch (Abbildung 58)



Abbildung 58: Biowäscher und Biobeet der Fischmehlfabrik

Olfaktorische Messungen ergaben $7000000 \text{ GE}/\text{m}^3$ in der Rohluft. Nach dem Biowäscher reduziert sich dies auf 3,2 % oder immer noch $224.000 \text{ GE}/\text{m}^3$. Durch das Biobeet wird eine Reduktion der Geruchsemission um insgesamt 99,5 % auf $35.000 \text{ GE}/\text{m}^3$ erreicht.

Die Luft, die von Biowäscher sowie Biobeet gereinigt wurde, wurde untersucht. Es wurden 10 l Abluft auf Super Q und Tenax adsorbiert. Erwartungsgemäß sind in der Abluft große Mengen an Trimethylamin nachweisbar. Ebenso Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid. Abbildung 59 zeigt das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der an SuperQ adsorbierten Abluftinhaltsstoffe.

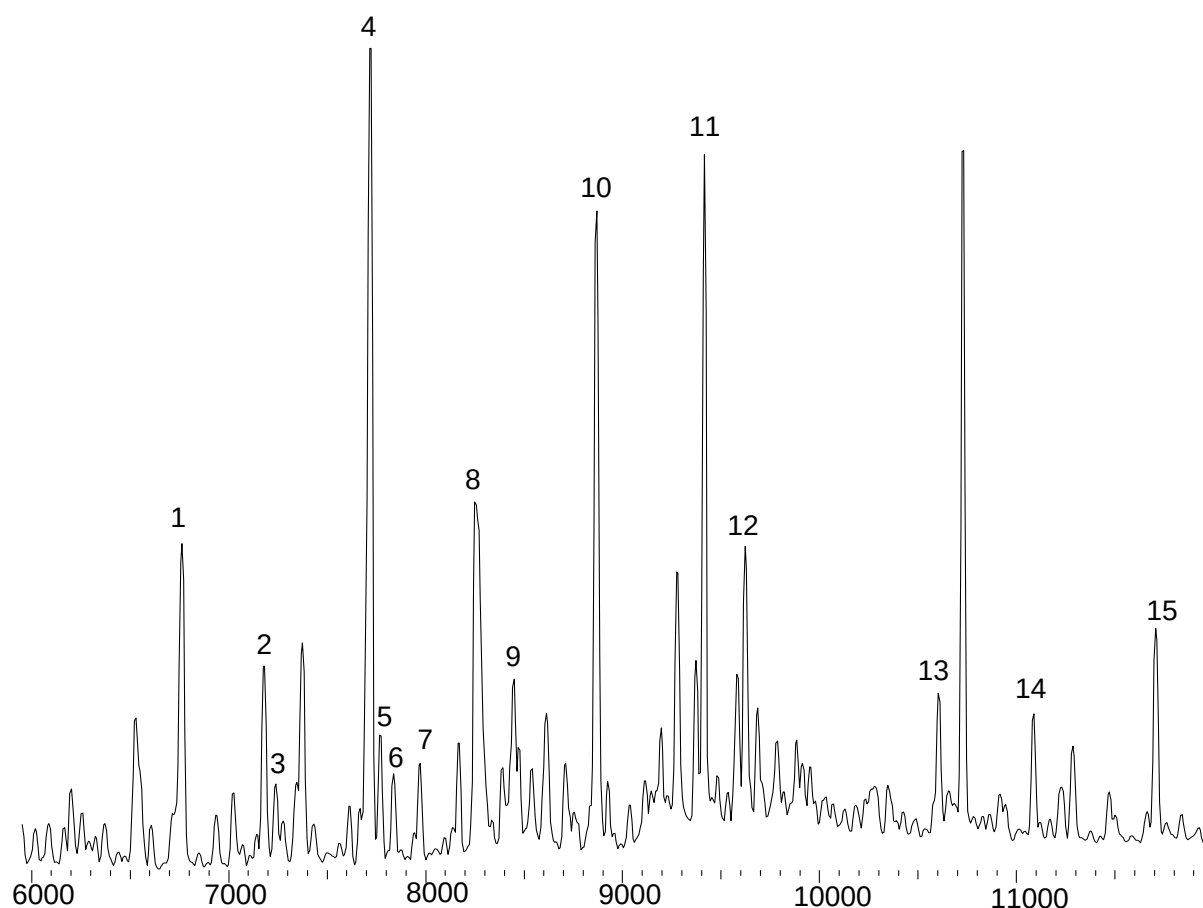


Abbildung 59: Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der Abluft einer Fischmehlfabrik

1.	3-Hydroxy-2-butanon	8.	2,6-Diethylpyrazin
2.	2,5-Dimethylpyrazin	9.	2-Ethyl-1-hexanol
3.	2,6-Dimethylpyrazin	10.	Benzaldehyd
4.	Dimethyltrisulfid	11.	2,6,10,14-Tetramethylpentadecan
5.	2-Ethyl-6-methylpyrazin	12.	Acetophenon
6.	2-Ethyl-5-methylpyrazin	13.	2-Methoxyphenol
7.	Trimethylpyrazin	14.	2-Methoxy-4-methylphenol

Tabelle 9: Inhaltsstoffe der Abluft einer Fischmehlfabrik

Das sehr flüchtige und für den Geruch verantwortliche Trimethylamin konnte lediglich mittels Adsorption auf Tenax und anschließender Kryofokussierung nachgewiesen werden. Desweiteren wurden die in Tabelle 9 aufgelisteten Verbindungen identifiziert. Sniff Port Messungen ergaben, dass Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid sowie Dimethyltrisulfid für einen fauligen, zwiebelartigen Geruchseindruck verantwortlich sind. 2-Methylpropanal sowie 2- und 3-Methylbutanal hinterlassen eine malzige Geruchsnote. Enzymatische und autokatalytische Reaktionen katalysieren in erster Linie die Bildung von Aminen und den charakteristischen, am Sniff Port auch identifizierten, fischigen Geruchseindruck. Es gilt

deshalb auch der TVBN (Total Volatile Basic Nitrogene) als guter Frischeindikator bzw. als Indikator für beginnende Verderbnisprozesse bei Fischen [55]

4.2.3 Abluft eines Schweinemastbetriebes

In einem Schweinemastbetrieb wurden zwei unterschiedliche Messpunkte beprobt. Zum einen die Aufzuchtstation für Ferkel bis zum Alter von 50 Tagen und zum anderen schlachtreife Schweine von 180 Tagen. Die Bedingungen in den Ställen unterschieden sich hauptsächlich in den Temperaturen. Bei den jungen Ferkeln betrug diese 30 °C, bei den schlachtreifen Schweinen 22 °C. Die relative Luftfeuchte betrug 60 –80 %. Die Ställe wurden mit einer kontinuierlichen Mischlüftung (1kg Lebendgewicht/1 m³ Abluft) belüftet. Die Proben wurden direkt aus der Stallabluft entnommen.



Abbildung 60: Probennahme im Schweinemastbetrieb

Die Abluft wurde sowohl auf SuperQ als auch auf Tenax adsorbiert und mittels GC/MS vermessen. Die olfaktometrischen Werte betrugen 300 –500 GE/m³ bei den jungen Schweinen und 700-900 GE/m³ bei den älteren. Eines der Hauptgeruchsprobleme landwirtschaftlicher Betriebe dieser Größe ist die starke Anreicherung von Ammoniak. Vom Arbeitsbereich Abfallwirtschaft wurde der Ammoniakgehalt mittels Dräger Röhrchen bestimmt. Bei den Ferkeln war kein Ammoniak nachweisbar, bei den Mastschweinen lag der Wert bei 5 ppm. Abbildung 61 zeigt das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der Abluft der Ferkelaufzucht.

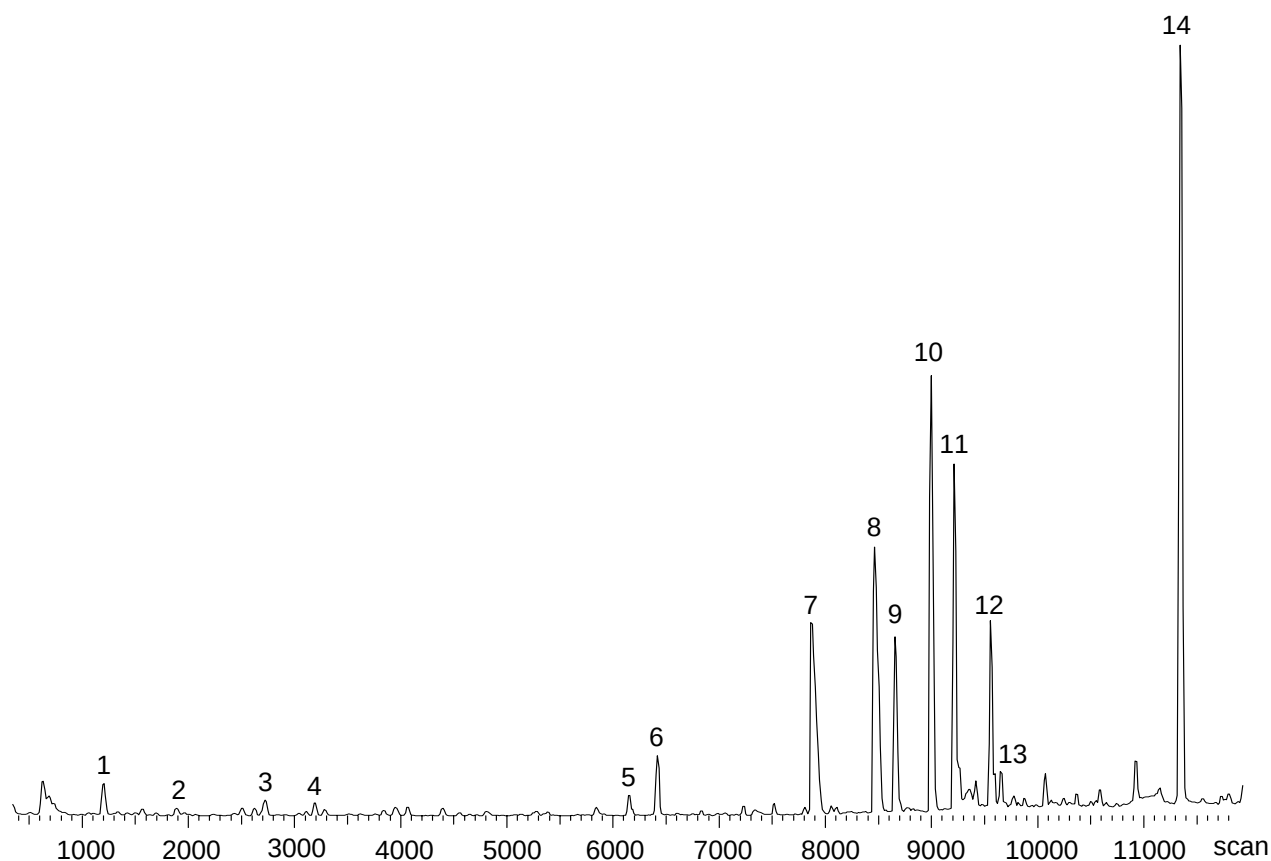


Abbildung 61: Gaschromatogramm: Dichlormethanextrakt der Abluftprobe der Ferkelaufzucht eines Schweinemastbetriebes

Die identifizierten Inhaltsstoffe sind in Tabelle 10 aufgeführt:

1.	2-Butanon	8.	Propionsäure
2.	2,3-Butandion	9.	2-Methylpropionsäure
3.	Toluol	10.	Butansäure
4.	Dimethyldisulfid	11.	3-Methylbuttersäure
5.	Tridecan	12.	Pentansäure
6.	3-Hydroxy-2-butanon	13.	3-Methyl-5(H)-2-furanon
7.	Essigsäure	14.	4-Methylphenol

Tabelle 10: Inhaltsstoffe der Abluft der Ferkelaufzucht eines Schweinemastbetriebes

Es zeigte sich, dass in der Zusammensetzung der Abluft beider Messpunkte keine qualitativen Unterschiede festzustellen sind. Die Konzentrationen der Inhaltsstoffe bei den Mastschweinen war deutlich höher, und der geruchsintensive Ammoniak ließ sich auch nur bei diesen nachweisen. Von den identifizierten Substanzen aus der Stallabluft sind neben Ammoniak hauptsächlich eine Reihe von Carbonsäuren sowie verschiedene Sulfide, die mittels Thermodesorption des Tenax nachgewiesen werden konnten, für den Geruch verantwortlich. Die für landwirtschaftliche Mastbetriebe typischen und in der Literatur oft erwähnten Geruchsstoffe Indol und 3-Methylindol (Scatol) konnten weder mittels Elution von SuperQ

noch mittels Thermodesorption von Tenax nachgewiesen werden. Beide Substanzen weisen eine sehr niedrige Geruchsschwelle auf und sind typische Bestandteile von Exkrementen. Es ist zu vermuten, dass die guten hygienischen Bedingungen in den Ställen für das Fehlen dieser Verbindungen verantwortlich sind.

Die identifizierte Zusammensetzung der Stallabluft entsprach bis auf das nicht nachweisbare Indol und Scatol der in der Literatur beschriebenen Zusammensetzung von Stallabluft aus landwirtschaftlichen Betrieben [56,57,58].

4.2.4 Abluft einer Stärkefabrik

In einer stärkeverarbeitenden Fabrik, die hauptsächlich Maisstärke herstellt wurden fünf verschiedene Abluftquellen beprobt. Folgende Messpunkte wurden untersucht:

- Futtertrockner I
- Futtertrockner II
- Klebertrockner
- Keimtrockner I
- Keimtrockner II

10 Liter der Abluft wurden auf Tenax adsorbiert. Das Adsorbat wurde anschließend mittels Thermodesorption und Kryofokussierung gaschromatographisch und massenspektrometrisch vermessen.

Die Abluft bei den untersuchten Messpunkten unterschied sich nur geringfügig. In Abbildung 62 ist das Gaschromatogramm der Abluft des Futtertrockners II abgebildet. Im Futtertrockner werden die nach der Extraktion der Stärke zurückbleibenden Pflanzenfasern getrocknet und zu Viehfutter weiterverarbeitet.

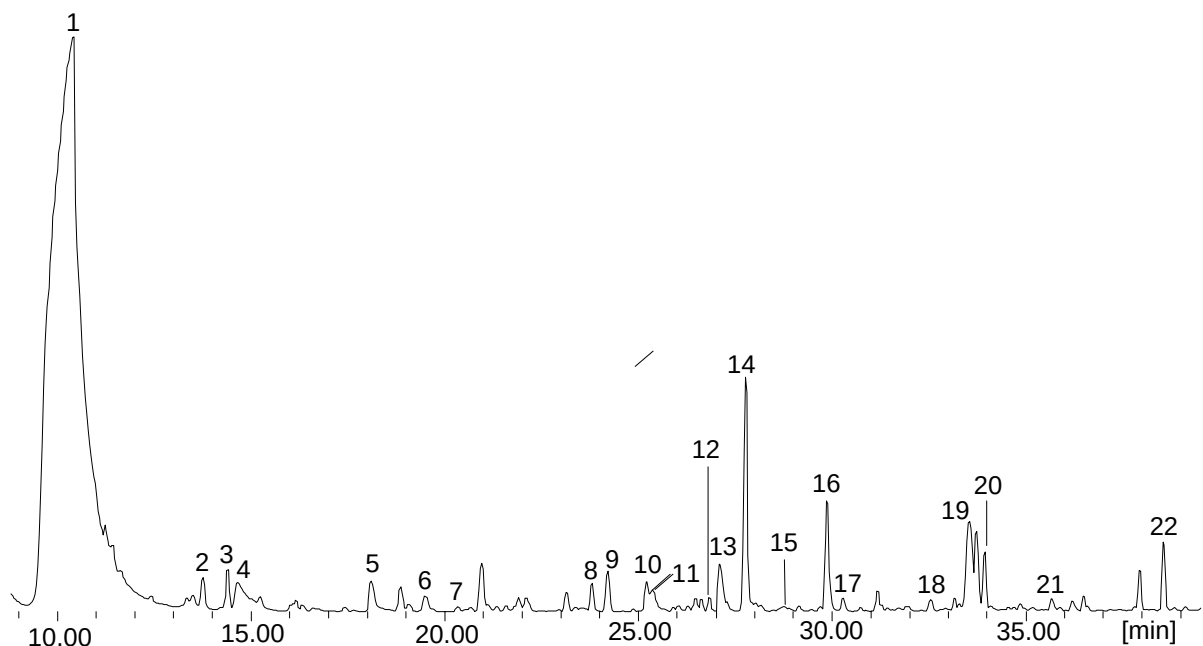


Abbildung 62: Gaschromatogramm der Abluft eines Futtertrockners einer Stärkefabrik

Die massenspektroskopisch identifizierten Inhaltsstoffe werden in Tabelle 11 dargestellt.

1.	3-Methylbutanal	13.	Essigsäure
2.	2,3-Pentandion	14.	Furfural
3.	Dimethyldisulfid	15.	Methional
4.	Hexanal	16.	Benzaldehyd
5.	Heptanal	17.	1-Octanol
6.	Pentylfuran	18.	Buttersäure
7.	1-Pentanol	19.	Phenylacetaldehyd
8.	1-Hexanol	20.	3-Methylbutansäure
9.	5-Methyl-2-(1-methylethyl)-2-hexenal		
10.	Dimethyltrisulfid	21.	Pentansäure
11.	Nonanal	22.	Hexansäure
12.	1-Octen-3-ol		

Tabelle 11: Inhaltsstoffe der Abluft des Futtertrockner II einer Stärkefabrik

Vergleichend zeigt Abbildung 63 das Gaschromatogramm der Abluft des Keimtrockners II. Im Keimtrockner werden die Keime von den Maiskörnern abgetrennt und anschließend für die Futterindustrie getrocknet.

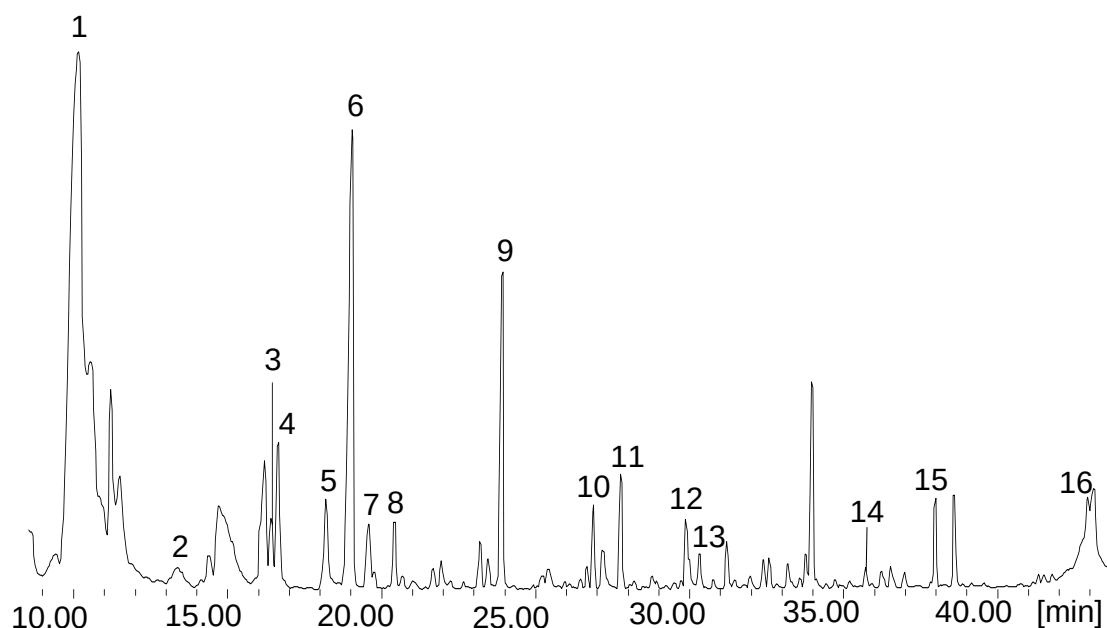


Abbildung 63: Gaschromatogramm der Abluft des Keimtrockner II einer Stärkefabrik

Die massenspektroskopisch identifizierten Inhaltsstoffe werden in Tabelle 12 aufgeführt.

1.	3-Methylbutanal	9.	1-Hexanol
2.	Methylbenzol	10.	1-Octen-3-ol
3.	Dimethylbenzol	11.	Furfural
4.	Dimethylpyrazin	12.	Benzaldehyd
5.	Dimethylbenzol	13.	1-Octanol
6.	3-Methyl-1-butanol	14.	Pentansäure
7.	Pentylfuran	15.	Hexansäure
8.	Amylalkohol	16.	Hexadecansäure

Tabelle 12: Inhaltsstoffe der Abluft des Keimtrockner II einer Stärkefabrik

Die Zusammensetzung der Abluft unterscheidet sich bei den beprobten Messpunkten unwesentlich in der Zusammensetzung. Hauptkomponente ist bei allen Abluftproben das sehr geruchintensive 3-Methylbutanal. Da diese Verbindung in einer so dominierenden Menge enthalten ist, wurde berechnet, welchen Anteil 3-Methylbutanal am Gesamtgeruch einnimmt. Gemäß Freudental *et al.* [59] lässt sich mittels Odour Index der Beitrag einer Einzelsubstanz zum Gesamtgeruch einer Quelle berechnen. Der Odour Index OR_i (%) setzt die gemessene Peakfläche mit der jeweiligen Geruchsschwelle ins Verhältnis und schätzt somit den Anteil einer Substanz am Gesamtgeruch ab.

$$OR_i = \frac{\frac{a_i}{OT_i}}{\sum_{j=1}^n \frac{a_j}{OT_j}}$$

Mit a_i : Peakfläche (TIC) der Substanz i

OT_i : Geruchsschwelle der Substanz i

Es wurde für alle in den Abluftproben der Stärkefabrik identifizierten Substanzen der Odour Index berechnet (Tabelle 13).

Substanzklasse	Substanz	Geruchseindruck	Keimtrockner 1 Tenax	Klebertrockner Tenax	Futtertrockner I Tenax	Futtertrockner II Tenax
ALKANE	Pentan	Kohlenwasserstoff				
AROMATEN	m-, p-Xylol	Plastik, aromatisch	<1%	<1%	<1%	<1%
	o-Xylol	Plastik, aromatisch	<1%		<1%	
ALKOHOLE	Ethanol	Alkohol, süßlich	<1%	<1%	<1%	
	Isoamylalkohol	malzig, Whisky, verbrannt	<1%	3%	<1%	
	Amylalkohol	balsamisch	<1%	<1%	<1%	<1%
	1-Hexanol	grün, blumig, harzig	<1%	<1%	<1%	<1%
	1-Octen-3-ol	pilzig	<1%	<1%	<1%	<1%
ALDEHYDE	2-Methylpropanal	grün, stechend, malzig				
	3-Methylbutanal	malzig	97%	57%	93%	79%
	2-Methylbutanal	Schokolade, Mandel				
	Hexanal	Gras, Apfel, ranzig	<1%	3%	<1%	<1%
	Furfural	Brot, süßlich, Mandel	<1%	<1%	<1%	<1%
	Heptanal	ölig, Citrus, ranzig				
	Benzaldehyd	Bittermandel	<1%	<1%	<1%	<1%
	Phenylacetaldehyd	Honig, süßlich		19%	4%	7%
	Nonanal	ranzig, Citrus	<1%	9%	1%	<1%
KETONE	Aceton	Lösungsmittel				
	2,3-Pentandion	Butter				<1%
	Methylheptanon		<1%			
CARBON-SÄUREN	Essigsäure	Essig, stechend		<1%	<1%	<1%
	Buttersäure	Schweiß, ranzig, Käse	<1%	1%	<1%	<1%
	Isovaleriansäure	Schweiß	<1%	5%	<1%	<1%
	2-Methylbutansäure	Schweiß				
	Hexansäure	Schweiß	<1%	2%	<1%	<1%
ESTER	Ethylacetat	Lösungsmittel, fruchtig, Ananas				
	Isovaleriansäure-ethylester			<1%	<1%	
FURANE	2-Pentylfuran	Butter, grüne Bohnen	<1%	<1%	<1%	<1%
SCHWEFEL-VERBINDUNGEN	Schwefeldioxid	stechend				
	Dimethylsulfid	schwefelig, Kohl, Benzin				
	Dimethyldisulfid	Kohl, Zwiebel, faulig	<1%			<1%
	Methional	gekochte Kartoffel				13%
	Dimethyltrisulfid	schwefelig, Fisch, Kohl	<1%			<1%

Tabelle 13: Odour Indices

Aus den Berechnungen wird deutlich, dass 3-Methylbutanal in allen Fällen einen erheblichen (57%) bis fast ausschließlichen (97 %) Beitrag zum Gesamtgeruchsproblem darstellt.

Die vom Arbeitsbereich Abfallwirtschaft durchgeführte olfaktometrische Messung ergab folgende Werte:

Probe	GE/m ³	Geruchseigenschaften
FT1	12740	süß, malzig, feuchter Müll
FT2	275858	modrig, Müll
KT	2233	Joghurt, süß, faule Eier, nasser Hund
KeimT1	10935	Buttermilch, faule Eier, schweißig

Es ist zu erkennen, dass die einzelnen Abluftquellen unterschiedlich stark zur Gesamtgeruchsbelästigung beitragen. Innerhalb der jeweiligen Abluftquellen wird der Geruch hauptsächlich, wie zuvor beschrieben, durch 3-Methylbutanal verursacht.

4.2.5 Abluft einer Schokoladenfabrik

Es wurde zum einen die gesammelte Abluft der Kakaomasseherstellung und zum anderen die beim Conchierprozeß der Schokolade entstehende Abluft beprobt.

Im ersten Teil dieses Kapitels wird die Untersuchung der Abluft der Kakaomasseherstellung beschrieben. Die Abluft wird routinemäßig einer thermischen Nachverbrennung zugeführt. Es wurden Proben am Eingang des Laminarbrenners genommen

Die SuperQ-Filter wurden mit jeweils 5 l Abluft beladen und anschließend mit Dichlormethan eluiert. Die Extrakte wurden auf 100 µl eingengt und gaschromatographisch/massenspektrometrisch untersucht.

In Abbildung 64 ist das Gaschromatogramm der untersuchten Abluft dargestellt.

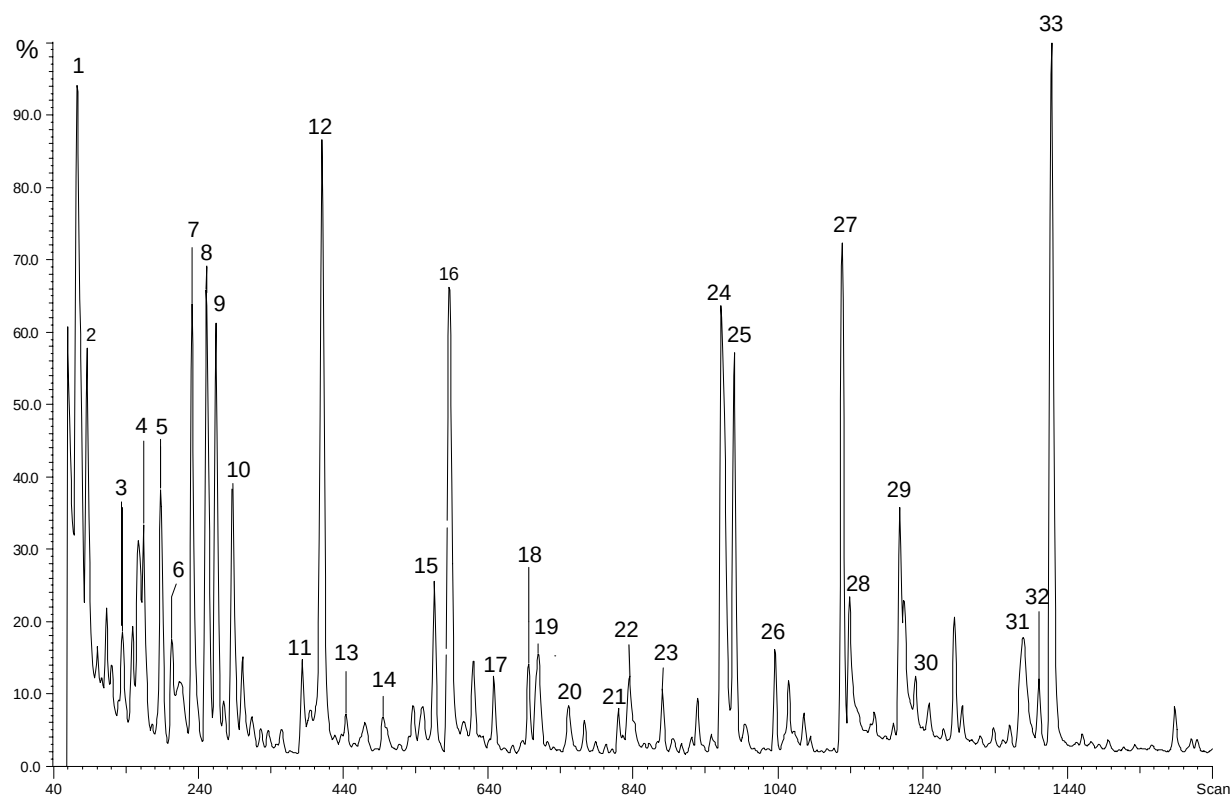


Abbildung 64: Gaschromatogramm des Pentanextraktes der Kakaomasseherstellung einer Schokoladenfabrik. Als Hauptkomponenten konnten in erster Linie die in der Literatur beschriebenen [60,61] und für den Geruch charakteristischen Substanzen identifiziert werden. Hauptinhaltsstoffe und gleichzeitig Geruchsträger aufgrund ihrer niedrigen Geruchsschwelle sind 3-Hydroxy-2-butanon (Acetoin), Furfural, Essigsäure und Benzaldehyd. Ebenso wurde eine Reihe alkylierter, ebenfalls geruchsintensiver Pyrazine identifiziert. Tabelle 14 zeigt die identifizierten Inhaltsstoffe.

1.	2,3-Butandion	18.	2,5-Dimethylpyrazin
2.	2-Pentanon	19.	2,6-Dimethylpyrazin
3.	3-Buten-2-on	20.	2,3-Dimethylpyrazin
4.	2,3-Pentandion	21.	2-Nonanon
5.	2-Pentylacetat	22.	2,3,5-Trimethylpyrazin
6.	2-Methyl-1-propanol	23.	Nonanal
7.	Undecan	24.	Essigsäure
8.	2-Pentanol	25.	Furfural
9.	3-Methylbutylacetat	26.	Tetramethylpyrazin
10.	3-Penten-2-on	27.	Benzaldehyd
11.	2-Heptanon	28.	2,3-Butandiol
12.	3-Methyl-1-butanol	29.	2-Methylpropansäure
13.	Pyrazin	30.	5-Methylfurfural
14.	1-Dodecen	31.	Phenylacetaldehyd
15.	Methylpyrazin	32.	Acetophenon
16.	3-Hydroxybutan-2-on	33.	3-Methylbuttersäure
17.	2-Heptanol		

Tabelle 14: flüchtige Substanzen der Kakaomasseherstellung in einer Schokoladenfabrik

Ein wesentliches Problem tritt bei der Schokoladenveredelung, dem sogenannten Conchieren auf. Hierbei wird die Kakaorohmasse mit weiteren Zutaten vermengt und unter Erwärmung gerührt. Dabei verringert sich der Wassergehalt der Schokolade, und das sogenannte „Mouthfeeling“ verbessert sich. Conchen sind offene Behälter, die bei etwa 60 °C betrieben werden. Das Wasser verdampft mitsamt den flüchtigen Geruchsstoffen in die Raumluft. Die zu untersuchende Abluft wird über einen Stutzen von einer mit Blechen abgedeckten Conche über das Adsorbens geführt (Abbildung 40).

Zur Untersuchung der Abluft wurden die SuperQ-Filter wurden mit jeweils 5 l Luft beladen und anschließend mit Dichlormethan eluiert. Die Extrakte wurden auf 100 µl eingengt und gaschromatographisch/massenspektrometrisch untersucht.

Das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes der Abluft des Conchierprozesses ist in Abbildung 65 dargestellt.

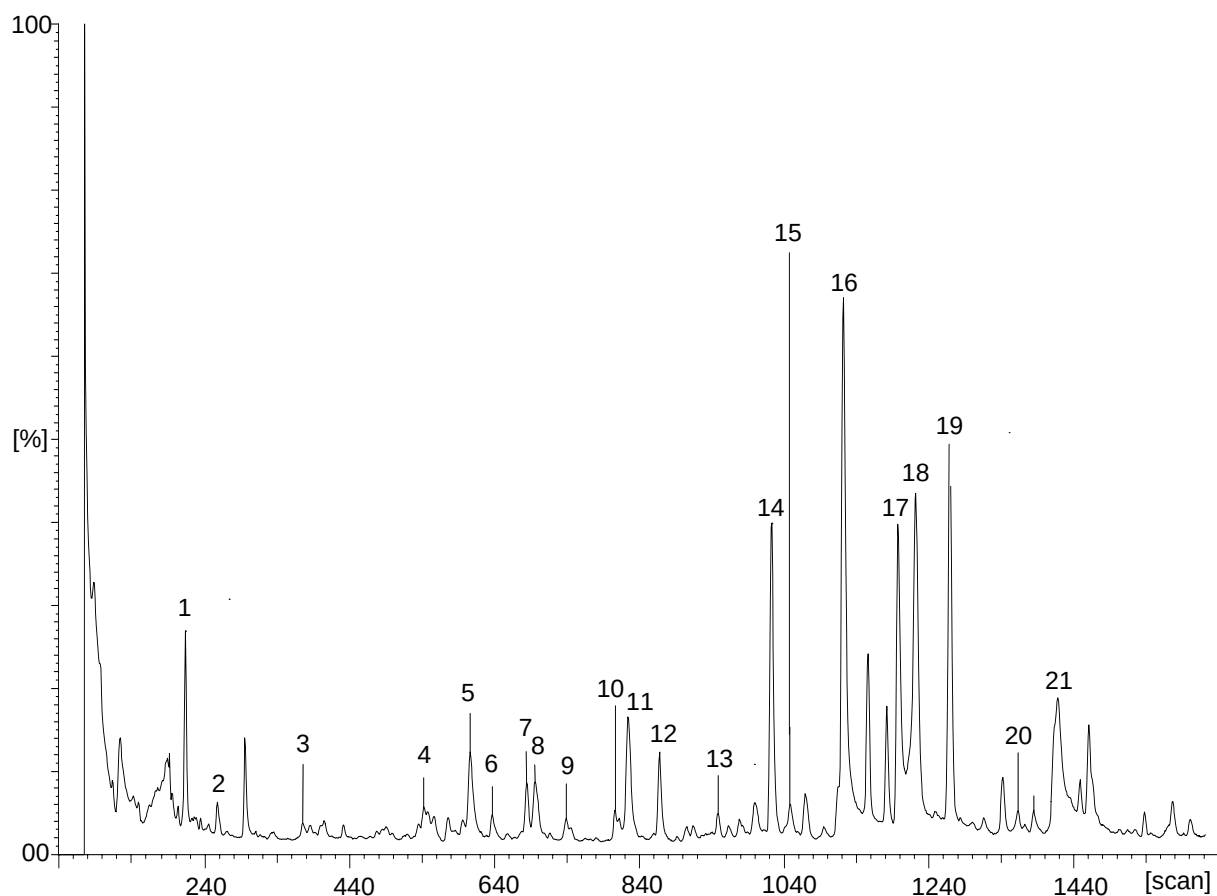


Abbildung 65: Dichlormethanextrakt der Abluft des Conchierprozesses bei der Schokoladenherstellung

Die Hauptkomponente des Dichlormethanextraktes der bei der Schokoladenveredelung (Conchierprozess) entstehenden Abluft ist *rac*-2,3-Butandiol. In etwas geringerer Konzentration findet sich *meso*-2,3-Butandiol; beide Verbindungen sind strukturell verwandt mit Acetoin (s.o.). Weiterhin wurden verschiedene Sesquiterpene (α -Copaen, α -Longifolen, Caryophyllen sowie α -Humulen) identifiziert. Die identifizierten Inhaltsstoffe werden in Tabelle 15 gezeigt.

1. Undecan	12. 2,3,5-Trimethylpyrazin
2. 2-Methylbutylacetat	13. 3-Ethyl-2,5-Dimethylpyrazin
3. 2-Heptanon	14. Tetramethylpyrazin
4. <i>p</i> -Cymene	15. α -Copaen
5. Tridecan	16. 2,3-Butandiol
6. 2-Heptanol	17. <i>meso</i> -2,3-Butandiol
7. 2,5-Dimethylpyrazin	18. Longifolen
8. 2,6-Dimethylpyrazin	19. β -Caryophyllen
9. 2,3-Dimethylpyrazin	20. Furfurylalkohol
10. 2-Nonanon	21. α -Humulen
11. Tetradecan	

Tabelle 15: Identifizierte Inhaltsstoffe des Conchierprozesses bei der Schokoladenherstellung

4.3 Identifizierung und Synthese mikrobieller Abbauprodukte von Alkylpyrazinen

4.3.1 Allgemeines

Pyrazine kommen in verarbeiteten Lebensmitteln vor, wo sie während mehrstufiger Trocknungs- und Erhitzungsprozesse gebildet werden. In der Natur lassen sie sich in verschiedenen Gemüsen, Insekten und marinen Organismen nachweisen. Ebenso werden sie von Mikroorganismen während des Metabolismus anderer Stoffe gebildet [62,63,64,65].

Bei einer Vielzahl alkylierter und methoxylierter Pyrazine handelt es sich um intensiv riechende Verbindungen, die zum Aroma in einer Reihe von Lebensmittelprodukten beitragen [66,67]. Einige Pyrazine besitzen bakterizide und konservierende Eigenschaften [68,69,70]. Durch diese Vielzahl an verschiedenen Eigenschaften finden sie als chemische Bausteine in einer Reihe von industriellen Lebensmittelprodukten vielfache Verwendung. Sie sind Bestandteile von biologisch/chemisch aktiven Zubereitungen wie Antiseptika, Desinfektionsmittel, Herbizide, Fungizide, Insektizide sowie in Arzneimitteln mit unterschiedlichen Anwendungsfeldern [71,72,73,74,75].

Bisher wurden mehr als siebenzig alkylierte Pyrazine identifiziert [64]. Alkylpyrazine sind in einer Vielzahl von Lebensmitteln enthalten [67,76]. Die Geruchsschwelle ist sehr gering, und somit tragen Alkylpyrazine stark zum Aroma von Lebensmitteln bei [64,77,78]. (Die geringste Konzentration bei der ein Geruch von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin wahrgenommen werden kann, liegt bei 9-1,8 pg/l Luft). Unter den verschiedenen Alkylpyrazinen konnte 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin als eine der sechs Schlüsselkomponenten im Aroma von medium geröstetem Kaffee (*Coffea arabica*) identifiziert werden [66].

Pyrazine stellen die mit am unangenehmsten riechenden Hauptinhaltsstoffe in der Abluft lebensmittelverarbeitender Betriebe dar [67,79]. Es ist deshalb sinnvoll und nötig, Abbaumethoden zu finden, mit denen Pyrazine metabolisiert werden können, bevor sie in die Umwelt gelangen.

Obwohl der mikrobiologische Abbau von verschiedensten Heterocyclen bereits aufgeklärt werden konnte, ist nur wenig über den mikrobiologischen Abbau von Alkylpyrazinen bekannt. Einige wenige Veröffentlichungen beschreiben den Metabolismus von Alkylpyrazinen durch Bakterienstämme. Kiener *et al.* [80] zeigt, dass *Pseudomonas putida* 2,5-Dimethylpyrazin quantitativ zu 5-Methylpyrazincarbonsäure umsetzt. Dieser

Bakterienstamm metabolisiert ebenfalls 2,3,6-Trimethylpyrazin zu 5,6-Dimethylpyrazin-2-carbonsäure.

Ralstonia/Burkholderia sp. DSM 6920 setzen Pyrazin-2-carbonsäure zu 3-Hydroxypyrazin-2-carbonsäure sowie 5-Methylpyrazin-2-carbonsäure zu 3-Hydroxy-5-methylpyrazin-2-carbonsäure um [81]. Der Bakterienstamm nutzt die genannten Substrate allerdings nicht als Nährmedium.

Mattey *et al.* [82] isolierten den Stamm *Pseudomonas* sp. PZ3 aus den Fäkalien von Ratten. Diese Bakterien sind die bislang einzig bekannten die hydroxylierte Pyrazine als Nährmedium nutzen.

Bisher sind keine Bakterienstämme isoliert worden, die Alkylpyrazine mineralisieren könnten.

Zur effektiven Reinigung pyrazinhaltiger Abluft, ist es nötig, Bakterienstämme zu isolieren, welche geruchsintensive Pyrazinderivate zu geruchslosen Endprodukten abbauen.

4.3.2 Abbau von 2,5-Dimethylpyrazin durch das Bakterium *Rhodococcus erythropolis* DP-45

Aus dem die Abluftanlagen einer Kaffeebohnenrösterei umgebenden Boden, konnte vom Arbeitsbereich Biotechnologie II der Technischen Universität Hamburg-Harburg ein Bakterienstamm isoliert und kultiviert werden, der in der Lage ist, 2,5-Dimethylpyrazin abzubauen. Auf Basis morphologischer und physiologischer Kennzeichen sowie der 16s rDNA wurde der Bakterienstamm als *Rhodococcus erythropolis* DP-45 identifiziert.

Die Abbauprobe mit 2,5-Dimethylpyrazin durch DP-45 wurden vom Arbeitsbereich Biotechnologie II der Technischen Universität Hamburg-Harburg durchgeführt.

Rhodococcus erythropolis nutzt 2,5-Dimethylpyrazin als alleinige Kohlenstoffquelle. Um zu überprüfen, ob er das Pyrazin auch als alleinige Stickstoffquelle nutzen kann, wurde das Bakterium in stickstofffreies Minimalnährmedium verbracht und mit verschiedenen 2,5-Dimethylpyrazinkonzentrationen kultiviert. Es zeigte sich, dass das Pyrazin von dem Bakterium tatsächlich als alleinige Stickstoffquelle genutzt werden kann.

Bildung des Metaboliten während des Abbaus von 2,5-Dimethylpyrazin:

In einer Kultur mit 3,0 mmol 2,5-Dimethylpyrazin konnte nach 36 Stunden die Anreicherung eines Metaboliten festgestellt werden. Der von den Zellen gereinigte Überstand wurde mittels Photometer vermessen. Der Metabolit wies Absorptionsmaxima bei 319 und 223 nm auf. 2,5-Dimethylpyrazin absorbiert bei 275 nm. Nach 24 Stunden war kein Edukt mehr nachweisbar und stattdessen war ein Metabolit detektierbar, der nach 36 h ebenfalls nicht mehr nachweisbar war (Abbildung 66).

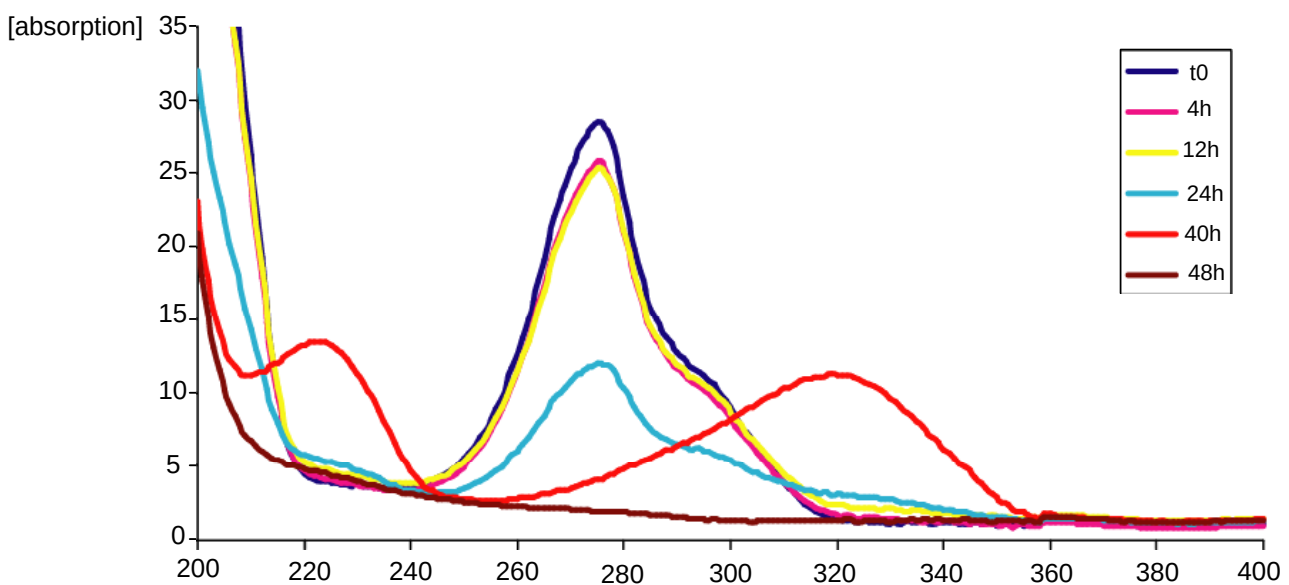


Abbildung 66: UV-Spektrum während der Kultivierung von *Rhodococcus erythropolis*

Es wurde festgestellt, dass der Abbau von 2,5-Dimethylpyrazin nur unter aeroben Bedingungen stattfindet, was darauf hindeutet, dass für die Bildung des Metaboliten molekularer Sauerstoff benötigt wird.

Strukturaufklärung und Synthese des Metaboliten:

Wenn kein Edukt mehr nachweisbar war, wurde der Versuch beendet und der gereinigte wässrige Überstand mit organischen Lösungsmitteln extrahiert und anschließend massenspektrometrisch untersucht. Im Dichlormethanextrakt ließ sich eine neue Verbindung nachweisen (Abbildung 67).

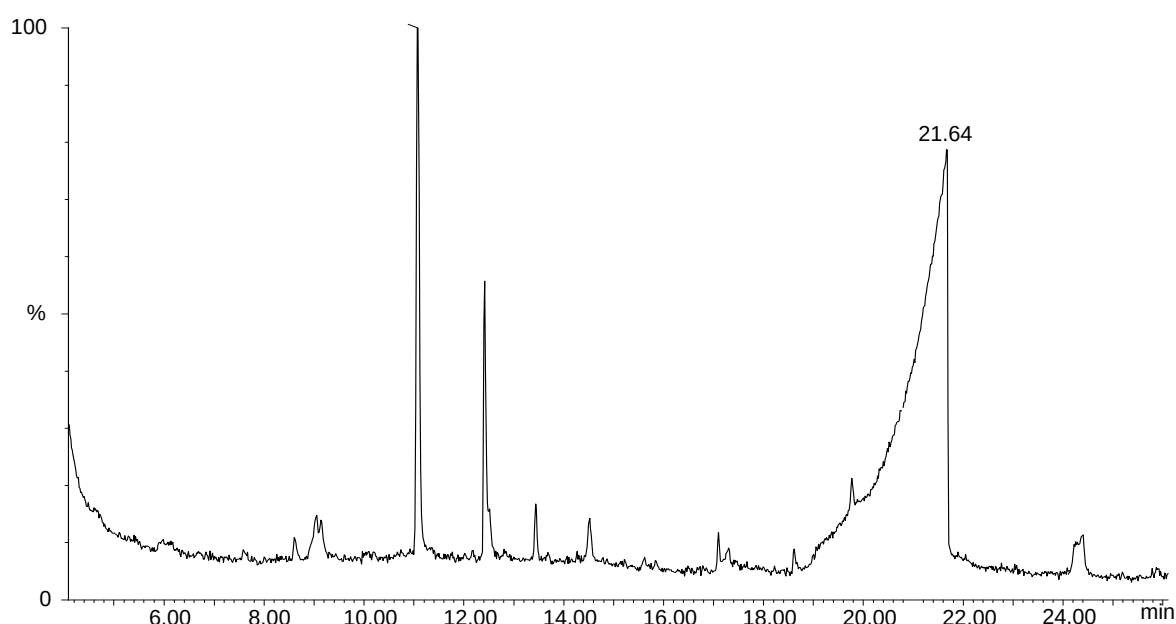


Abbildung 67: Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes des bakteriellen Abbaus von 2,5- Dimethylpyrazin

Abbildung 68 zeigt das Massenspektrum des Metaboliten von 2,5-Dimethylpyrazin. Dieser weist gegenüber der Ausgangsverbindung ein um 16 Masseneinheiten höheres Molekulargewicht auf und ist somit das Produkt einer enzymatischen Oxidation.

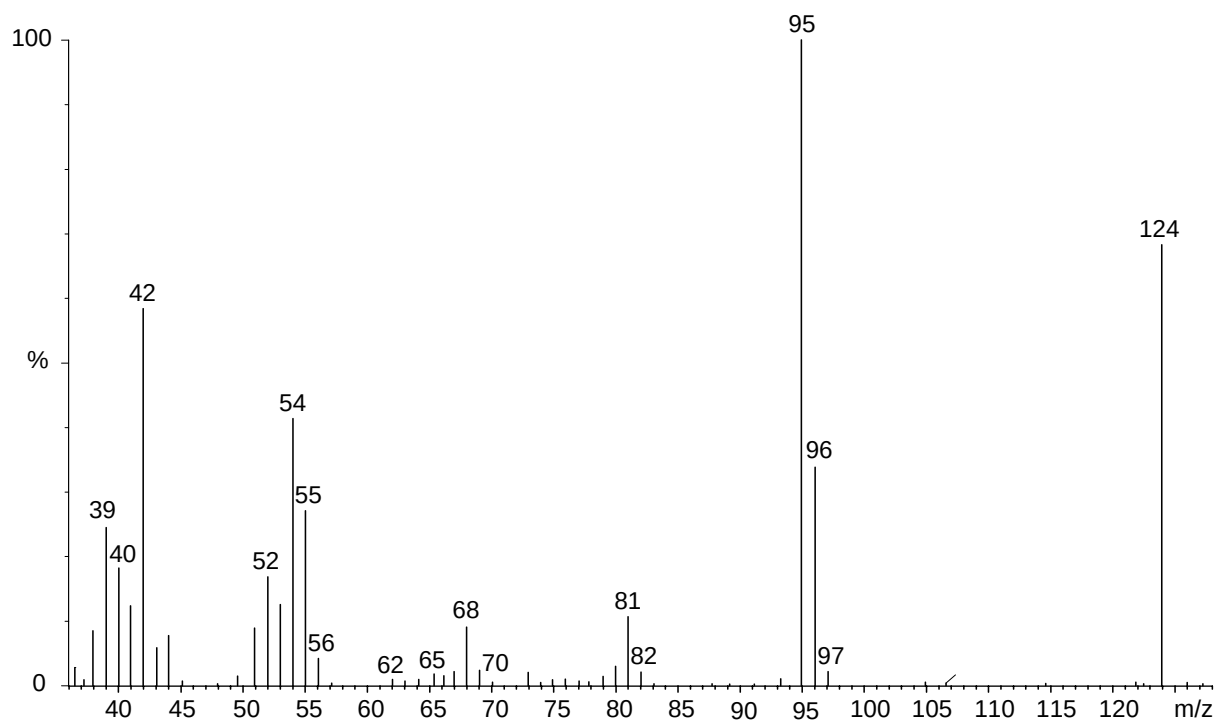


Abbildung 68: Massenspektrum des unbekannten Metaboliten von 2,5-Dimethylpyrazin

Um zu überprüfen, ob in der unbekannten Verbindung eine Hydroxyfunktion vorhanden ist wurde der Dichlormethanextrakt acetyliert. Anhand des Massenspektrums des Derivats wurde deutlich, dass der Metabolit sich acetylieren lässt und daher in dem Abbauprodukt eine Hydroxyfunktion vorhanden sein muß. Abbildung 69 zeigt das Massenspektrum der acetylierten Verbindung.

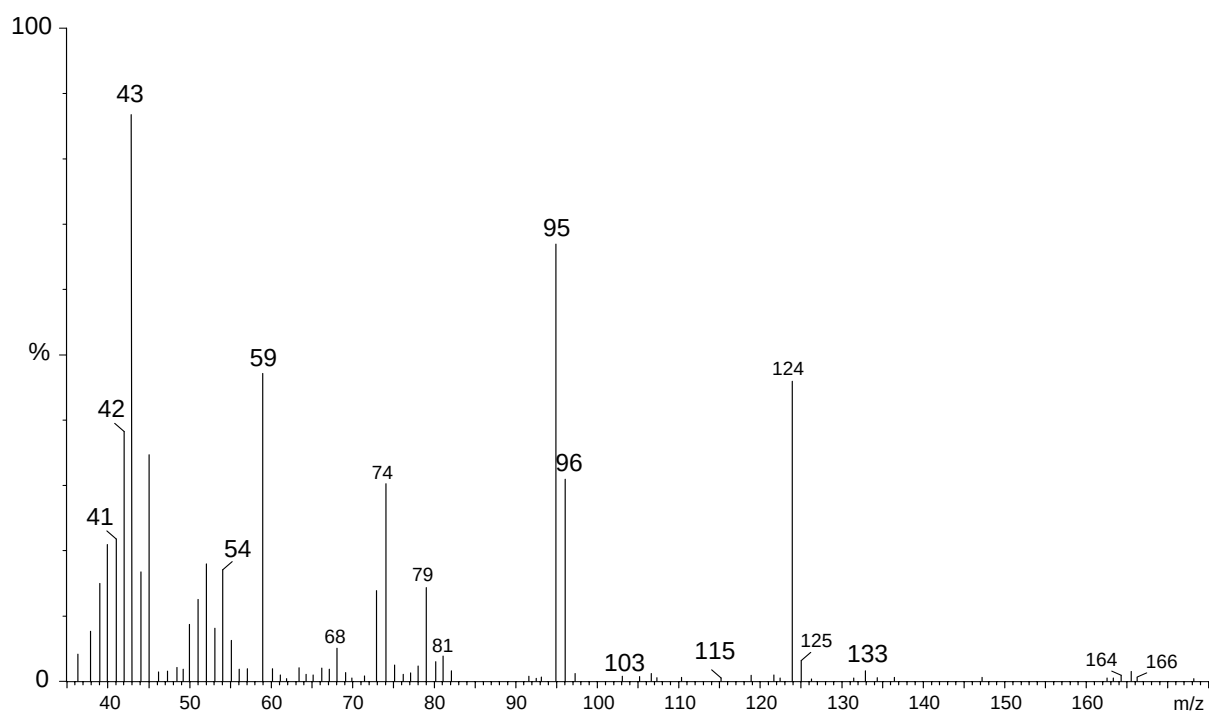


Abbildung 69: Massenspektrum des acetylierten Metaboliten von 2,5-Dimethylpyrazin

Ein Strukturvorschlag war 2-Hydroxymethyl-5-methylpyrazin (58), als Produkt einer Seitenkettenoxidation. Da die Substanz nicht kommerziell erhältlich war, wurde sie synthetisiert. 5-Methylpyrazin-2-carbonsäure (59) wurde mit Methanol verestert. Der Methylester (60) wurde anschließend mit Lithiumaluminiumhydrid zum gewünschten Alkohol (58) reduziert (Abbildung 70).

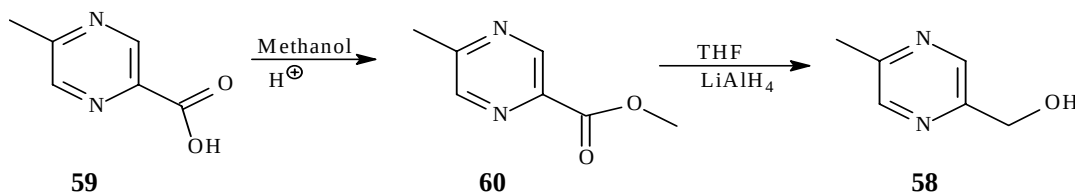


Abbildung 70: Synthese von 2-Hydroxymethyl-5-methylpyrazin

Der Vergleich der Massenspektren zeigte jedoch deutlich, dass die synthetisierte Substanz mit dem Metaboliten nicht identisch war (Abbildung 71).

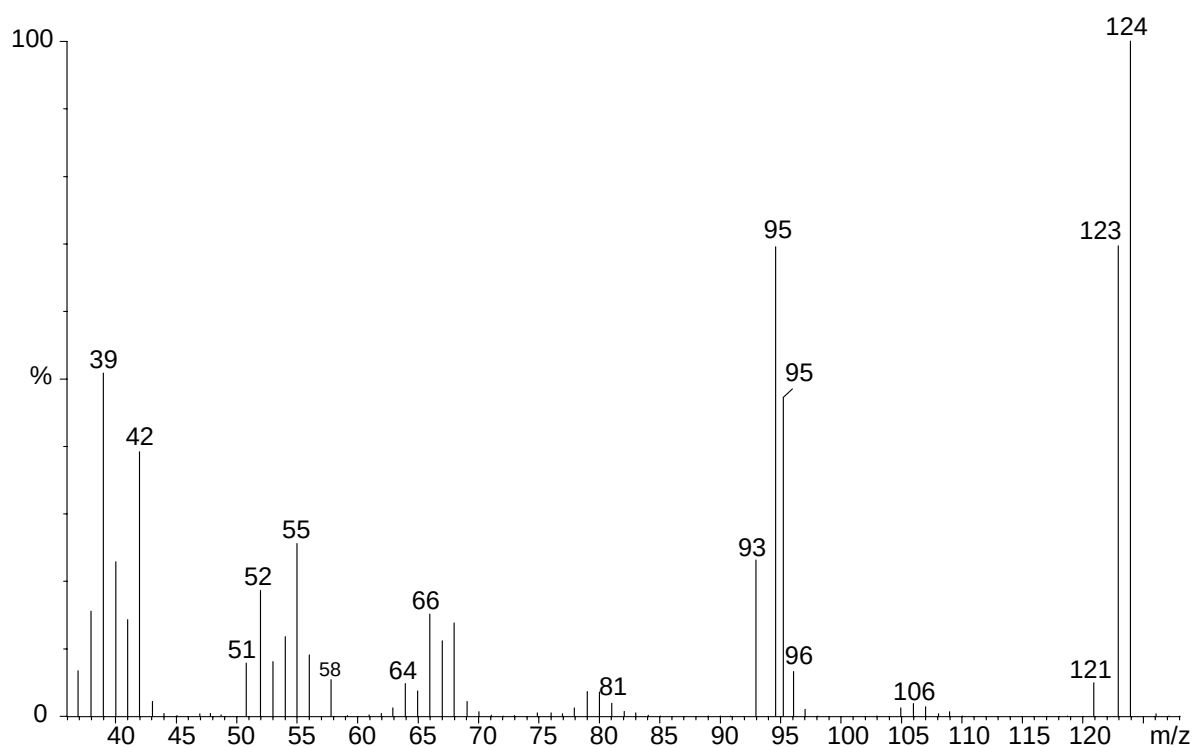


Abbildung 71: Massenspektrum von 2-Hydroxymethyl-5-methylpyrazin (58)

Ein weiterer plausibler Strukturvorschlag war 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin (61), das das Produkt einer Kernoxidation ist. Die Verbindung wurde ausgehend von 2,5-Dimethylpyrazin (62) synthetisiert. Dieses wird mit Wasserstoffperoxid zum N-Oxid (63) oxidiert. Durch Reaktion mit Phosphorylchlorid erhält man 2-Chlor-3,6-dimethylpyrazin (64). Dieses wird

unter basischen Bedingungen zum gewünschten 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin umgesetzt (61) [83,84,85,86,87] (Abbildung 72).

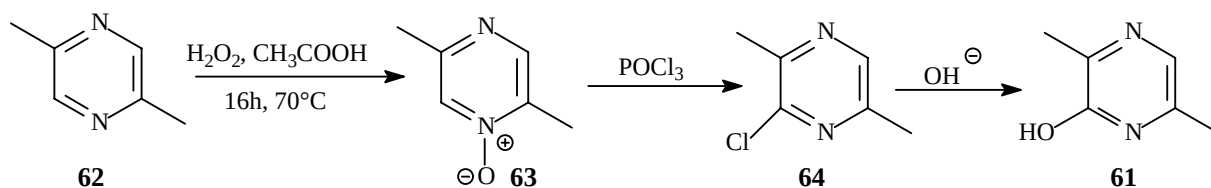


Abbildung 72: Synthese von 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin (61)

Der Vergleich der chromatographischen Retentionszeiten und der Massenspektren zeigte, dass es sich bei dem bakteriellen Abbauprodukt von 2,5-Dimethylpyrazin tatsächlich um 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin handelte (Abbildung 73).

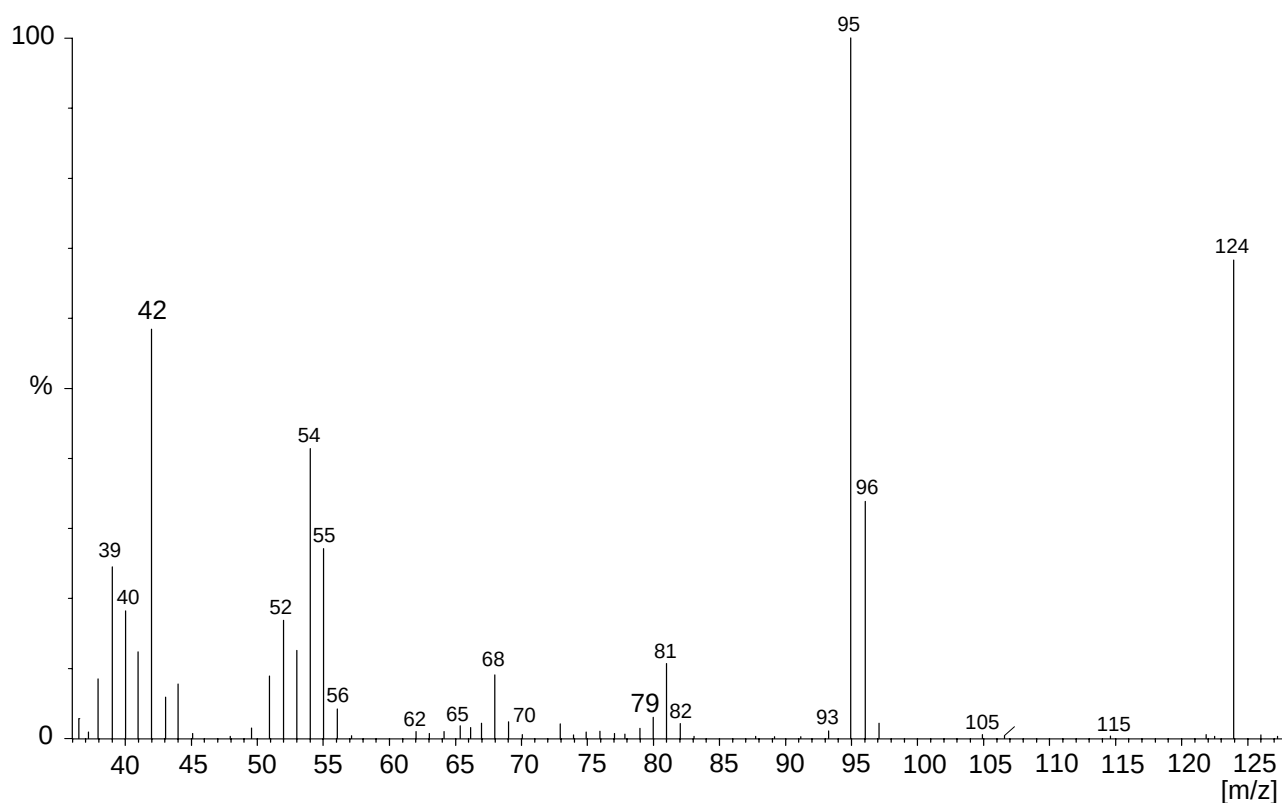


Abbildung 73: Massenspektrum von 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin (61)

Weiterführende Abbauprobe zeigten, dass *Rhodococcus erythropolis* seinen Metaboliten 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin als einzige Kohlenstoff-, Stickstoff-, und Energiequelle verwenden kann. Ebenso wird für den Abbau des Metaboliten molekularer Sauerstoff benötigt. Es waren in den Extrakten des Abbaus des Metaboliten nach dessen Verschwinden weder photometrisch noch massenspektroskopisch weitere Metabolite nachweisbar. Dies

deutet auf eine schnelle Ringspaltung hin. Weiterführende Untersuchungen sind hier notwendig.

4.3.3 Abbau von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin durch das Bakterium *Mycobacterium* sp. strain DM-11

In Zusammenarbeit mit der Abteilung Biotechnologie II der Technischen Universität Hamburg Harburg ist es gelungen einen neuen Bakterienstamm aus dem Biowäscher der in Kapitel 4.2.2. untersuchten und beschriebenen Fischmehlfabrik zu isolieren und zu identifizieren.

Der als *Mycobacterium* sp. strain DM-11 eingeordnete Stamm ist in der Lage, 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin als Kohlenstoffquelle zu nutzen und das intensiv riechende Substrat dabei abzubauen. Der erste Metabolit dieses Abbauweges konnte als 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin identifiziert werden.

Die Versuche zur Isolierung des Bakterienstammes sowie zum bakteriellen Abbau wurden von der Abteilung Biotechnologie II der Technischen Universität Hamburg Harburg durchgeführt. 1 ml aus dem Waschwasser des Biowäschers der zuvor beschriebenen Fischmehlfabrik wurde zu 30 ml M1-Nährmedium gegeben und mit 0,5 mmol 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin als Kohlenstoffquelle versetzt. Die Ansätze wurden bei 25 °C zwei Wochen geschüttelt und anschließend Subkulturen wöchentlich in frisches Nährmedium verbracht. Proben, die visuell gutes Wachstum zeigten und demzufolge offensichtlich die angebotene Kohlenstoffquelle nutzten, wurden auf M1-Agar-Platten gegeben. Die Platten wurden in einem Exsikkator bei 25 °C inkubiert. Die Gasphase des Exsikkators enthielt 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin in einer Konzentration von 100 µg/l, welches mittels eines Gasgenerators bereitgestellt wurde. Einzelne Kolonien der gewachsenen Stämme wurden auf frischen Platten kultiviert und auf ihre Fähigkeit, 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin abzubauen zu können im flüssigen M1 Nährmedium getestet. Jene, die weiterhin gutes Wachstum zeigten und dabei das Alkylpyrazin metabolisierten, wurden an die Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH zur taxonomischen Einordnung des Stammes geschickt.

Der Bakterienstamm konnte der Gattung *Mycobacterium* zugeordnet werden. Der Vergleich der 16S rRNA des neuen Stammes mit allen bekannten Arten der Gattung *Mycobacterium* zeigte keine Übereinstimmung, so dass der isolierte Stamm eine neue Art der Gattung *Mycobacterium* darstellt.

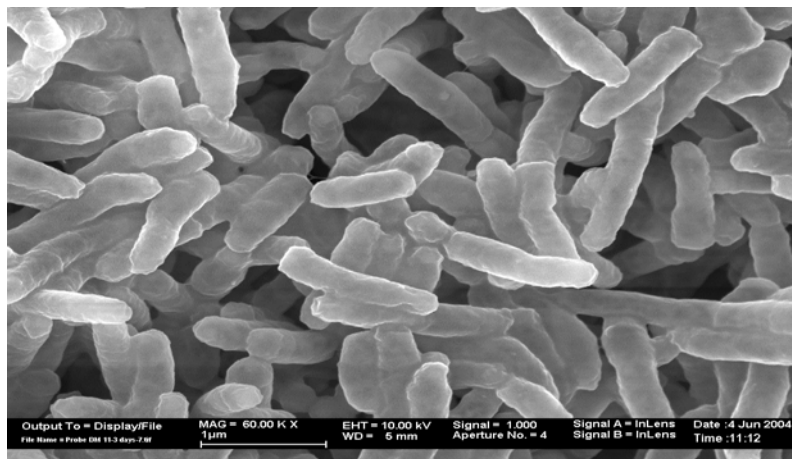


Abbildung 74: elektronenmikroskopische Aufnahme von *Mycobacterium* sp. strain DM11

Zur Überprüfung, ob der Bakterienstamm 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin ebenfalls als alleinige Stickstoffquelle nutzen kann, wurde er auf ein kohlenstoff- sowie stickstofffreies Nährmedium geimpft, und mit 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin als alleiniger Quelle für beide Elemente versetzt.

Es war zu beobachten, dass während des Wachstums das Alkylpyrazin verbraucht wurde bei einer gleichzeitigen Zunahme der Ammoniumkonzentration. Die Anreicherung von Ammonium war in Kontrollversuchen mit anderen Bakterienstämmen nicht zu beobachten.

Die Anzahl der gewachsenen Kolonien korrelierte mit der Menge des eingebrachten Alkylpyrazins. Wenn kein Pyrazin mehr vorhanden war, starben die Kolonien langsam ab. Diese Versuche bestätigten, dass *Mycobacterium* sp. strain DM11 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin als Kohlen- sowie Stickstoffquelle nutzen und somit dieses effektiv abbauen kann.

Bildung des Metaboliten während des Abbaus von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin:

Der Abbau von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin wurde mittels Photometer beobachtet. Dazu wurde der von Zellen gereinigte Überstand des M1-Nährmediums mittels Photometer vermessen. Eine Abnahme der Konzentration des Eduktes mit gleichzeitiger Zunahme einer neuen Substanz war zu beobachten. Der genaue Verlauf ist in Abbildung 75 dargestellt.

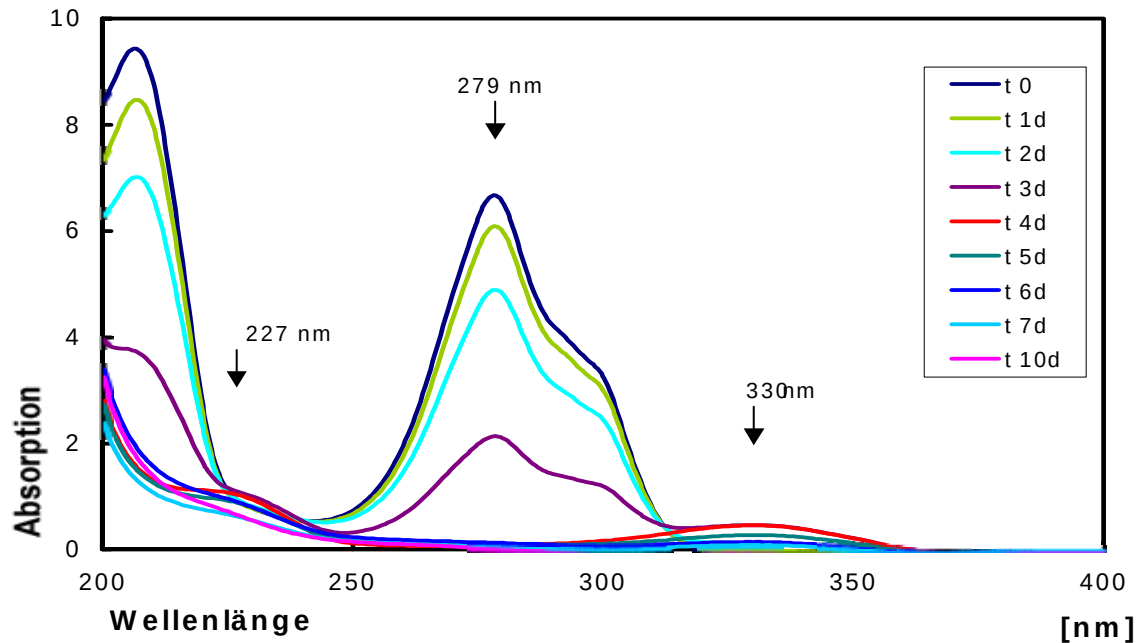


Abbildung 75: Darstellung des Absorptionsverlaufes

2,3-Diethyl-5-methylpyrazin weist ein Absorptionsmaximum bei 279 nm auf. Nach 4 Tagen Inkubationszeit war kein Edukt mehr nachweisbar. Wie in Abbildung 72 dargestellt, konnte nach zwei Tagen bereits ein Metabolit detektiert werden, der Absorptionsmaxima bei 227 nm und 330 nm aufwies. Nach 3 Tagen erreichte die Metabolitenkonzentration ihr Maximum, und nach weiteren 7 Tagen konnte keine Metabolit mehr nachgewiesen werden. Während der Inkubationszeit von insgesamt 15 Tagen war keine andere Verbindung mit Absorption im sichtbaren Bereich nachweisbar. Kontrollversuche ohne Bakterienstämmen zeigten keinen Abbau von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin und auch keine Bildung eines Metaboliten.

Strukturaufklärung und Synthese des Metaboliten:

Zur Isolierung des Metaboliten wurde der bakterielle Abbau abgebrochen, wenn photometrisch kein Edukt mehr nachweisbar war. Der von Bakterien(rückständen) und Nährmedium gereinigte wässrige Überstand wurde mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet und auf ein Volumen von 1ml

eingengt. Die so erhaltenen Extrakte wurden gaschromatographisch/massenspektrometrisch untersucht.

Im Gaschromtogramm ließ sich eine neue Substanz nachweisen (Abbildung 76).

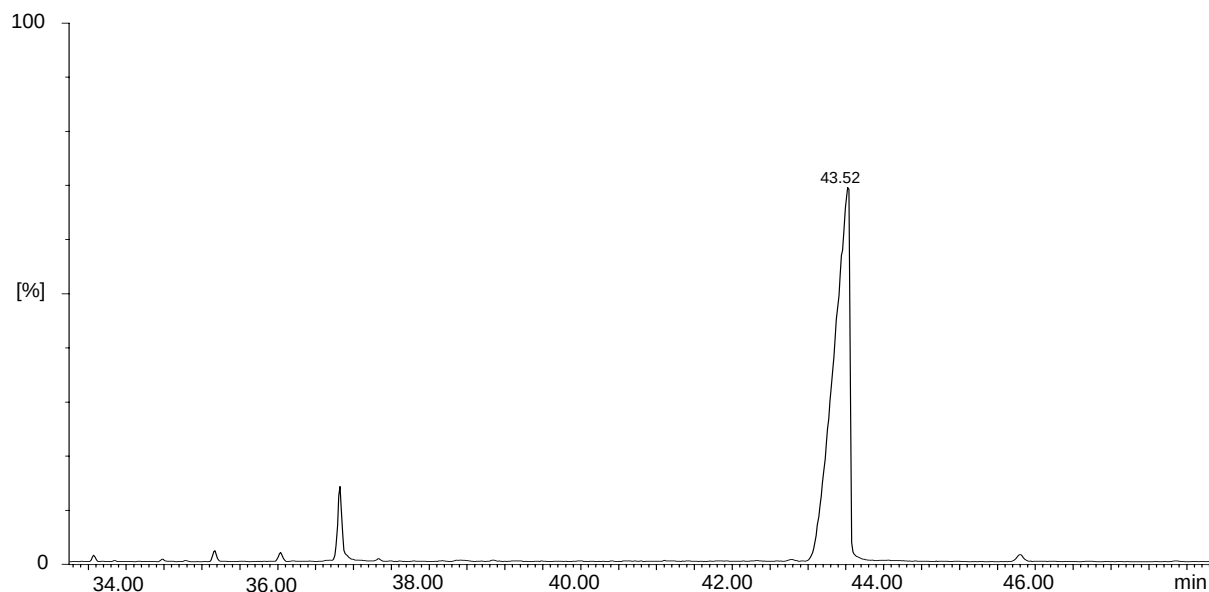


Abbildung 76: Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes vom Abbau von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin

Abbildung 77 zeigt das Massenspektrum des Metaboliten von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin. Dieser weist gegenüber der Ausgangsverbindung ein um 16 Masseneinheiten höheres Molekulargewicht auf und ist somit das Produkt einer enzymatischen Oxidation.

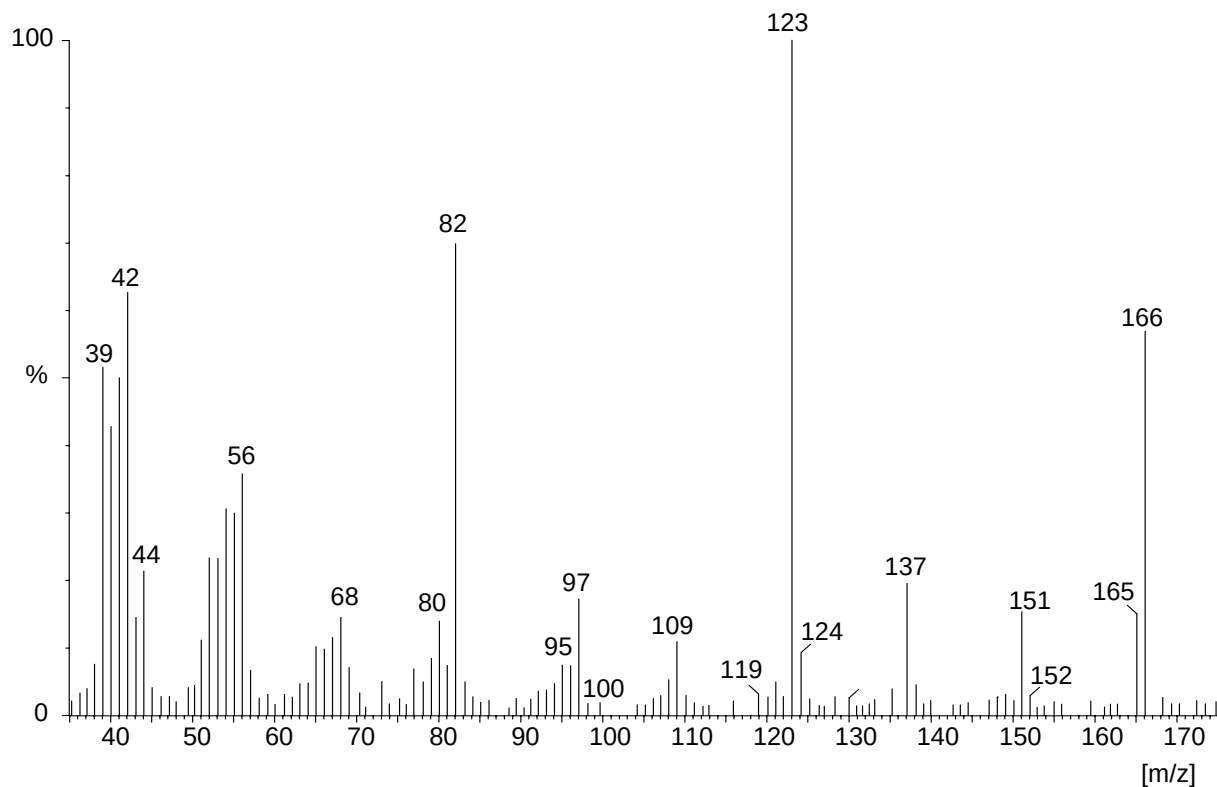


Abbildung 77: Massenspektrum des unbekannten Metaboliten von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin

Aufgrund der im Fall des 2,5-Dimethylpyrazins gemachten Erfahrungen und aufgrund des Massenspektrums ergab sich als Strukturvorschlag 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin (65). Da auch diese Substanz nicht kommerziell erhältlich ist, wurde sie synthetisiert. 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (66) wurde mit Wasserstoffperoxid zum N-Oxid (67) oxidiert. Dieses wurde mit Phosphorylchlorid zum 2-Chlor-5,6-diethyl-3-methylpyrazin (68) umgesetzt. Durch Reaktion mit festem Natriumhydroxid bei 220°C wurde das gewünschte 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin (65) erhalten [83,84,85,86,87].

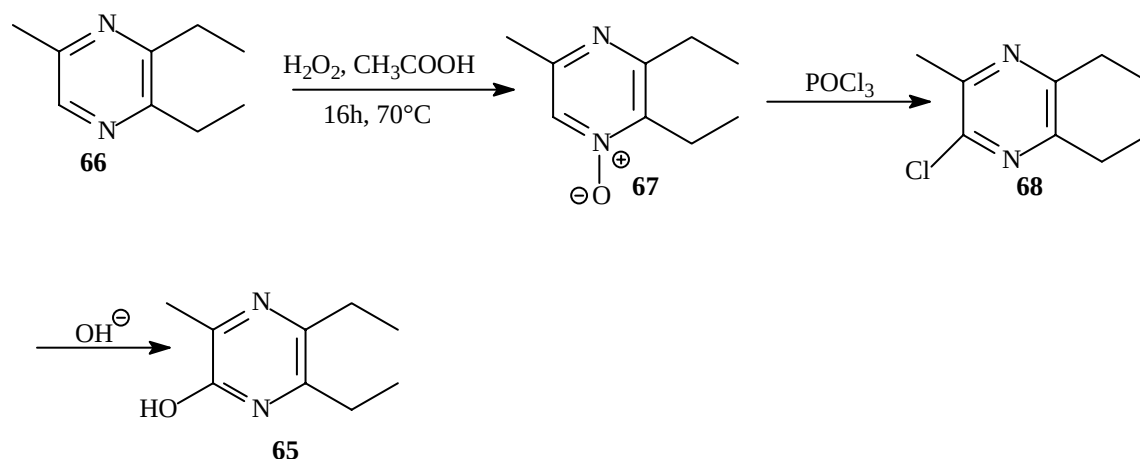


Abbildung 78: Synthese von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin (65)

In Abbildung 79 wird das Massenspektrum des Syntheseproduktes dargestellt.

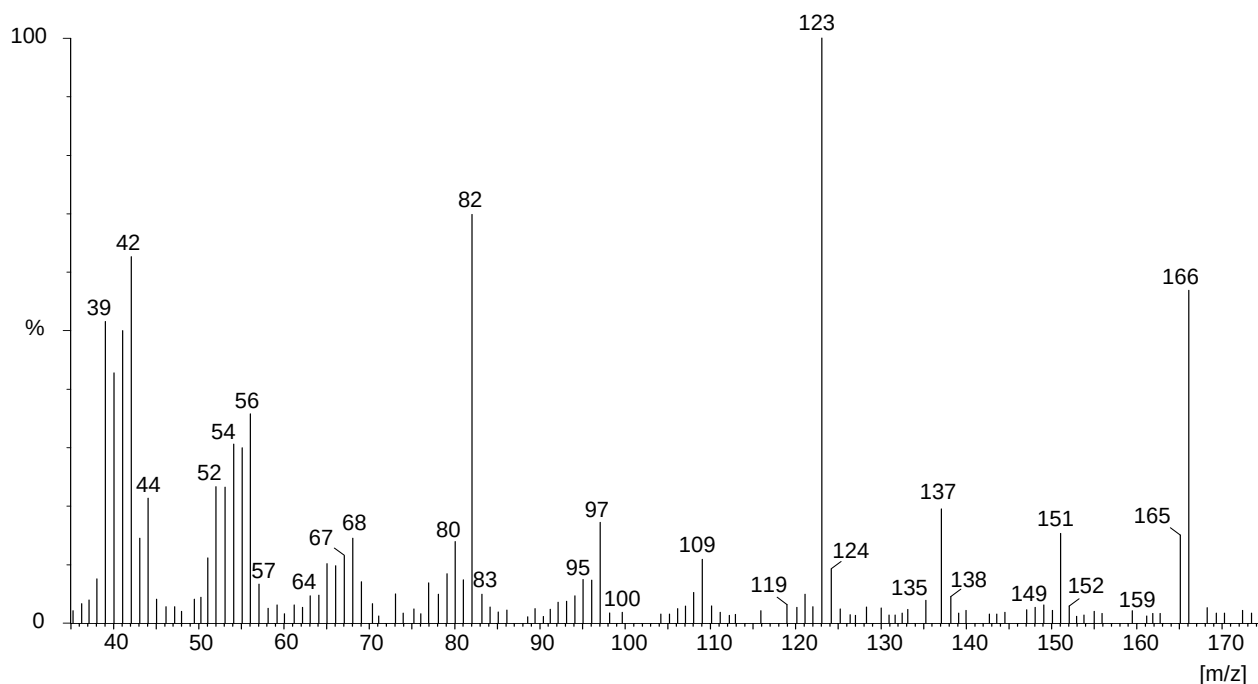


Abbildung 79: Massenspektrum von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-5-methylpyrazin

Die analytischen Daten des Syntheseproduktes und die des Abbauproduktes stimmen vollständig überein. Somit wurde der Metabolit von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin eindeutig als 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin (65) identifiziert.

Zur Klärung des vollständigen Abbauweges von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin sollte der Abbau des identifizierten Metaboliten untersucht werden.

Unter aeroben Bedingungen wächst *Mycobacterium* sp. strain DM11 auf M1 Nährmedium welches mit 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin angereichert wurde. Nach einer Kultivierung von 10 Tagen waren 90 % des 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin abgebaut, zeitgleich kam es zur Anreicherung von Ammonium im Nährmedium. Dies zeigt, das 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin ein wirkliches Zwischenprodukt und kein Endprodukt des Abbauweges darstellt. Während des Abbaus des Metaboliten wurde keine andere Substanz gebildet, die sich photometrisch nachweisen ließ. Auch in den untersuchten organischen Extrakten der wässrigen Phase war gaschromatographisch keine Verbindung nachweisbar. Gemäß Fetzner *et al.*, 1998 [88] konnten beim Abbau von Alkylpyridinen durch eine Bakterienmischkultur hydroxylierte Metaboliten sowie Ringbruchstücke nachgewiesen werden. Der Abbau von entstandenen Hydroxypyridinen verläuft über mehrfach hydroxylierte Zwischenstufen schließlich gefolgt vom Bruch des aromatischen Ringes.

Entsprechend den von Fetzner *et al.* gemachten Erfahrungen wurde folgende Verbindung als möglicher weiterer Metabolit postuliert:

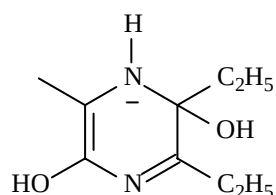


Abbildung 80: vermuteter Metabolit von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin

Die Verbindung hat die Masse 184. Der Dichlormethan- sowie der Methanolextrakt wurden auf das Vorkommen dieser Verbindung hin untersucht. Es ließen sich allerdings in beiden Extrakten keine spezifischen Fragmente nachweisen. Die gezeigte Verbindung würde wahrscheinlich wie in Abbildung 81 dargestellt weiter abgebaut werden.

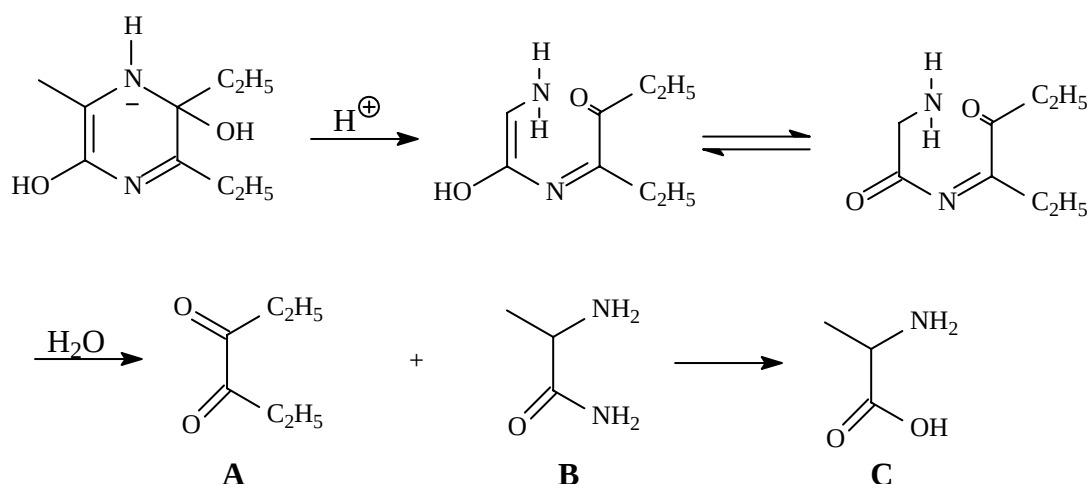


Abbildung 81: vermutlicher weiterer Abbau von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin (57)

Das 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin würde zu dem Diketon A und 2-Aminopropanamid B bzw weiter zu Alanin C abgebaut werden. Die Verbindungen lassen sich gaschromatographisch nur schwer nachweisen, da das Diketon A zur Polymerisation neigt, und die Aminosäure C sich gaschromatographisch nicht erfassen lässt.

Die Bildung von Ammonium während des bakteriellen Metabolismus von Heterocyclen ist bekannt. *Rhodococcus erythropolis* nutzt Thiazole als Kohlenstoffquelle beim Wachsen und reichert währenddessen ebenfalls Ammonium im Nährmedium an [89]. *Mycobacterium* sp. strain HE5 bildet während des Metabolismus von Morpholin ebenfalls Ammonium [90]. Die Bildung von Ammonium deutet auf Spaltung des heterocyclischen Ringes hin [89,91]. Im allgemeinen wird der Abbau von N-Heterocyclen durch Hydroxylierungsreaktionen neben dem Stickstoffatom im Ring initiiert, anschließend gefolgt von Ringbruch [88,89,92]. Matthey et al. [29] vermuten, dass der Metabolismus von Hydroxypyrazinen durch *Pseudomonas* sp. der allgemeinen Oxidation von aromatischen Ringen durch *Pseudomonas* species folgt. Der erste Schritt ist die Bildung von 2,6-Dihydroxypyrazin, gefolgt von Öffnung des aromatischen Ringes durch eine Oxygenase. In vielen Fällen ist die Hydroxylierung auch unter anaeroben Bedingungen möglich, und die Hydroxylgruppen werden somit durch Wasser und nicht durch molekularen Sauerstoff eingeführt [82,86,88,92,93]. Im Fall des untersuchten Abbaus von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin durch *Mycobacterium* sp. strain DM11 ist dieses ausgeschlossen, da sich das Intermediat 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin nur unter aeroben Bedingungen bildet, wie sich in Abbauprobieren unter anaeroben Bedingungen gezeigt hat.

Die Tatsache, dass beim bakteriellen Abbau von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin kein weiteres Produkt gebildet wird, welches sich photometrisch oder gaschromatographisch nachweisen lässt, sowie die Freisetzung von Ammonium während des Abbaus deuten darauf hin, dass es direkt nach der Bildung von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin zum Ringbruch kommt. Da die Hydroxylierung des Substrates ausschließlich unter Verwendung von molekularem Sauerstoff möglich ist, ist davon auszugehen, dass die Hydroxylierung durch eine Oxygenase vermittelt wird. Die Rolle von bakteriellen Dioxygenasen bei Ringöffnungen von N-Heterocyclen wurde intensiv von Fetzner *et al* [88] untersucht. Der Mechanismus der Ringöffnung und der weitere Abbau von 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin ist noch nicht eindeutig bewiesen und bedarf weiterer Untersuchungen.

5 Diskussion

Die Belastung der Umwelt durch industrielle Abgase konnte durch die Verringerung bis dahin zulässiger Staubemissionen und der kontinuierlichen Absenkung der Grenzwerte für gasförmige Schadsstoffe, wie beispielsweise Schwefel- und Stickoxide aus Verbrennungsprozessen, in den letzten zwanzig Jahren deutlich vermindert werden.

Nach der Lösung schwerwiegender unmittelbar umweltrelevanter Probleme traten bisher geringer gewichtete Belastungen in der Luftreinigung in den Vordergrund. Derzeit wird, auch in entsprechenden rechtlichen Verordnungen und Gesetzen, besonders die Verringerung des Ausstoßes von Substanzen gefordert, die unangenehme Gerüche verursachen. Die Geruchskomponenten sind zum Teil bereits in sehr geringen Mengen wahrnehmbar und kommen auch in großer Verdünnung in der Abluft lebensmittelverarbeitender Betriebe vor. Da häufig hohe Volumenströme, in denen die Geruchsträger enthalten sind, emittiert werden gelangen dennoch mitunter erhebliche Mengen der Substanzen in die Umwelt. Bisherige Techniken zur Eliminierung der Geruchsstoffe aus Gasströmen erfüllen die hohen Anforderungen meist unzureichend, weil sie die erforderlichen minimalen Restgehalte nicht einhalten können, bzw. geruchsaktive Verbindungen nicht vollständig entfernen.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Verbindungen identifiziert und synthetisiert, die als entscheidende Komponenten bei der Geruchsbelästigung durch lebensmittelverarbeitende Betriebe erkannt wurden. Die Kenntnis der detaillierten Strukturen ermöglicht die Entwicklung effizienter Vermeidungsstrategien bei industriellen Produktions- und Verarbeitungsprozessen, sowie die Entwicklung von Verfahren zur Reinigung der Abluft.

Es wurde eine Anreicherungsmethode für flüchtige Verbindungen aus der Industrieabluft entwickelt, die spätere chemische Derivatisierungen ermöglicht.

Durch Kombination der beiden Adsorbentien SuperQ und TenaxTA und die damit verbundenen unterschiedlichen Elutions- bzw. Desorptionsmöglichkeiten wurde sichergestellt, dass sämtliche flüchtige Verbindungen, auch wenn sie nur in sehr geringen Konzentrationen in der Abluft enthalten waren, detektiert werden konnten.

Es wurde die Abluft verschiedener lebensmittelverarbeitender Betriebe untersucht.

Abluft einer Fettveredelungsfabrik

Während des Prozesses der Fettveredelung entstehen verschiedene Gerüche, die teilweise über Abluftströme und aus diffusen Quellen freigesetzt werden. Wurde die Geruchsbelästigung durch diese Fabrik früher von den Anwohnern hingenommen, so häufen sich jetzt die Beschwerden, und es besteht konkreter Handlungsbedarf. Es soll eine biologische Filtereinheit, bestehend aus Biofilter und Biowäscher mit nachgeschaltetem Aktivkohlefilter installiert werden. Es wurde zunächst eine Pilotanlage aufgebaut, die, wenn sie sich als geeignet erweist, im großen Maßstab installiert werden soll. Biologische Abluftreinigungsverfahren beruhen auf der Aktivität von Mikroorganismen, die in der Lage sind, die unerwünschten Abluftinhaltsstoffe biologisch abzubauen und so in nicht schädliche bzw. geruchsneutrale Verbindungen zu überführen. Zur Überprüfung der Effektivität der Pilotanlage ist es nötig, jene Verbindungen die nicht entfernt wurden zu identifizieren und durch olfaktorische Messungen zu bewerten. Darauf aufbauend ist es möglich, zB. durch den gezielten Einsatz verschiedener Mikroorganismen die Abbauleistung zu steigern. Die Hauptkomponente der gereinigten Luft konnte identifiziert werden. Es handelt sich um 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen. Messungen am Sniff Port zeigten, dass der Verbindung olfaktorisch eine geringere Bedeutung zukommt, diese aber eine Umweltkontaminante darstellt, die zu entfernen ist. Die Entfernung der Verbindung wäre durch das Nachschalten eines sauren Wäschers möglich.

Abluft einer Schokoladenfabrik:

Es entstehen bei der Kakaomasseherstellung sowie beim Conchierprozess der Schokolade erheblich geruchsbelastete Abluftströme. Zur Zeit nutzt die Firma ein mit dem TÜV entwickeltes regeneratives Nachverbrennungsverfahren. Diese Lösung zeichnet sich durch sehr hohe Energiekosten aus und ist zu uneffektiv, so dass es zu vermehrten Anwohnerbeschwerden kommt. Es soll deshalb ein alternatives Abluftbehandlungsverfahren entwickelt werden. Hierzu ist es nötig, die Inhaltsstoffe der freigesetzten Abluft zu identifizieren und olfaktometrisch zu bewerten.

Es wurden als Hauptgeruchsträger das sehr geruchsintensive Acetoin, Furfural, Essigsäure, Benzaldehyd sowie verschiedene alkylierte Pyrazine identifiziert. Aldehyde und Ketone lassen sich effektiv durch die Kombination Biowäscher/Biofilter aus Abluftströmen entfernen. Es wurden in Zusammenarbeit mit der Technischen Universität Hamburg Harburg, zwei neue Bakterienstämme isoliert, die in der Lage sind, ausschließlich 2,5-Dimethylpyrazin und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin abzubauen. Es werden sich auch für weitere geruchsintensive

alkylierte Pyrazine Bakterienstämme isolieren lassen, die dann gezielt diese Verbindungen entfernen. Der Einsatz gezielt ausgewählter Bakterien, die ausschließlich die identifizierten Alkylpyrazine verstoffwechseln können, stellt eine hocheffektive Weiterentwicklung des Biofilters dar. Der Einsatz eines solch spezialisierten Filters wäre im Fall der untersuchten Schokoladenfabrik sinnvoll und würde sehr zur Geruchsminderung beitragen.

Abluft einer Stärkefabrik

Die Firma betreibt zur Zeit keine Abluftreinigungsanlage, ist nun aber aufgrund behördlicher Auflagen zur Abluftbehandlung verpflichtet worden. Um die wirkungsvollste Anlage für diesen Zweck zu ermitteln, sollten die Hauptgeruchsträger der Abluft der verschiedenen Quellen identifiziert werden.

Durch Berechnung des Odour Index wurde deutlich, dass von den identifizierten Verbindungen 3-Methylbutanal fast ausschließlich (95%) für den Geruch verantwortlich ist. Einige Schwefelverbindungen wie Methional und Dimethyldisulfid tragen ebenfalls zum Geruch bei. 3-Methylbutanal lässt sich sehr gut und nahezu vollständig durch einen Biowäscher entfernen. Für die Eliminierung der Schwefelverbindungen würde sich ein Biofilter, welcher mit *Pseudonocardia asaccharolytica* beimpft wird, anbieten. Dieser Bakterienstamm baut verschiedene Schwefelverbindungen sehr schnell und vollständig zu geruchlosen Verbindungen ab [67].

Abluft einer Fischfabrik:

Die Fabrik nutzt zur Reinigung der stark geruchsbelasteten Abluft ein Biobeet mit vorgeschaltetem Biowäscher. Diese Kombination ermöglicht die Reduktion der Geruchsbelastung von 7000000 GE/m³ um 99,5 % auf 35.000 GE/m³. Dieses ist ein Wert, der von der menschlichen Nase nicht mehr als störend unangenehm empfunden wird. Hauptgeruchsstoff in der Abluft ist Trimethylamin. Reste hiervon, welche nicht durch das Biobeet entfernt wurden, könnten durch Nachschalten eines mit *Aminobacter aminovorans* beimpften Biofilters vollständig entfernt werden.

Abluft eines Schweinemastbetriebes:

Hauptgeruchsstoff in der Abluft des Betriebes war Ammoniak. Die ermittelte Konzentration war zu gering, um eine Geruchsbelästigung außerhalb des Geländes zu verursachen. Die erwarteten, für landwirtschaftliche Betriebe typischen Geruchsträger, Indol und Scatol

konnten aufgrund der guten hygienischen Bedingungen in den Ställen nicht nachgewiesen werden. Es bestand deshalb nicht die Notwendigkeit einer Abluftbehandlungsanlage.

Abluft von Bratprozessen:

In der heimischen Küche entstehende Gerüche können ebenfalls geruchsbelästigend sein.

Die beim Erhitzen von Fleisch entstehenden flüchtigen Verbindungen sind in der Literatur beschrieben worden. Ebenfalls die flüchtigen Komponenten verschiedener nicht erhitzter Gewürze. Über Verbindungen, die beim gemeinsamen Erhitzen von Fleisch mit Gewürzen entstehen, findet man in der Literatur keine Hinweise. Es ist nicht beschrieben, ob sich Verbindungen bilden, die evtl. gesundheitsschädlich sein können. In dieser Arbeit wurden Verbindungen identifiziert und synthetisiert, die beim gemeinsamen Bratprozess entstehen.

Es zeigte sich, dass beim Erhitzen von Schweine- oder Rindfleisch typische Fettoxidationsprodukte entstehen. Die flüchtigen Verbindungen erhitzten Basilikums entsprachen denen, die in der Literatur beschrieben werden. Wurden Schweinefleisch und Basilikum gemeinsam erhitzt, entstand in großer Menge 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on. Bei Wiederholungsversuchen wurden reproduzierbare Ergebnisse erhalten. Da die Verbindung nicht entsteht, wenn die Komponenten einzeln erhitzt werden, ist davon auszugehen, dass die Bildung durch das Gewürz im Sinne einer Maillard-Reaktion katalysiert wird. Erstaunlich war in diesem Zusammenhang, dass keine weiteren Maillardprodukte nachweisbar waren. In allen durchgeführten Versuchen war ausschließlich 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on nachweisbar. Beim gemeinsamen Erhitzen von Rindfleisch mit Basilikum entstand als Hauptprodukt ebenfalls das 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on. Anders als beim Schweinefleisch war zusätzlich noch ein weiteres Maillardprodukt nachweisbar, das 2,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on. Diese Verbindung wird beim thermischen Abbau von 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on gebildet.

In Versuchswiederholungen wurden reproduzierbare Ergebnisse erhalten.

In erhitztem Putenfleisch/Basilikum konnte kein Maillardprodukt nachgewiesen werden. Die Aminosäurezusammensetzung von Putenfleisch unterscheidet sich unwesentlich von Rind oder Schweinefleisch, so dass zunächst nicht erklärbar ist, weshalb die Entstehung von Maillardprodukten hier gehemmt ist.

6 Zusammenfassung

In Zusammenarbeit mit Partnern aus der Industrie wurden flüchtige Substanzen untersucht und identifiziert, die bei der Verarbeitung unterschiedlicher Lebensmittel in der entstehenden Abluft enthalten sind. Es wurde zunächst eine Anreicherungsmethode für flüchtige Verbindungen aus der Industrieabluft entwickelt, die spätere chemische Derivatisierungen ermöglicht. Die Abluft wurde hierfür auf den beiden Adsorbentien TenaxTA und SuperQ adsorbiert. Die auf Tenax adsorbierten Verbindungen wurden mittels Thermodesorption und anschließender Kryofokussierung desorbiert. Abluft, die auf dem lösungsmittelbeständigen SuperQ adsorbiert wurde, konnte mit Lösungsmitteln desorbiert werden. Die Untersuchungen der Verbindungen erfolgte durch gekoppelte Gaschromatographie-Massenspektrometrie und Synthese der anhand analytischer Daten erarbeiteten Strukturvorschläge.

Es wurden verschiedene lebensmittelverarbeitende Betriebe untersucht. In der Rohluft einer Fettveredelungsfabrik konnten 14 geruchsaktive Verbindungen identifiziert werden. Hauptinhaltsstoffe sind hier verschiedene Aldehyde wie Hexanal, Octanal, Nonanal und 2-Nonenal, sowie eine Reihe von Ketonen (2-Heptanon, 2-Octanon, 3-Octanon und 2-Nonanon). Von besonderem Interesse war die Luft, die bereits durch eine Versuchsanlage bestehend aus Biowäscher, Biofilter und nachgeschaltetem Aktivkohlefilter gereinigt worden war. Mittels Adsorption an SuperQ und anschließender Elution mit Lösungsmitteln konnte eine Verbindung nachgewiesen werden, die zwar nicht intensiv zum Geruch der Abluft beitrug, die aber aufgrund ihres starken Vorkommens eine Umweltkontaminante darstellte. Die Verbindung konnte als 1,2,3,3-Tetramethylcyclohexen identifiziert werden. In Spuren konnte in der auf TenaxTA adsorbierten Luft eine Verbindung nachgewiesen werden, die nach Sniff-Port-Messung als geruchsintensiv einzustufen war. In Anlehnung an das Massenspektrum und die Fragmentierung von Eudesma-2,4-dien kam als Strukturvorschlag das Norsesquiterpen 8-Methyl-2-(1-Methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalin in Betracht. Die Verbindung im Naturextrakt ließ sich hydrieren, so dass der Strukturvorschlag unterstützt wurde. Eine eindeutige Identifizierung der geruchsintensiven Verbindung konnte jedoch nicht erreicht werden. In einer Schokoladenfabrik wurden die Abluft der Kakaomasseherstellung sowie die Abluft des Conchierprozesses untersucht. Hauptgeruchsträger in der Abluft der Kakaomasseherstellung waren das 3-Hydroxy-2-butanon (Acetoin), Furfural, Essigsäure und Benzaldehyd. Ebenso wurde eine Reihe methylverzweigter, ebenfalls geruchsintensiver Pyrazine identifiziert. In der Abluft des Conchierprozesses konnte das strukturell mit Acetoin verwandte *meso* 2,3-Butandiol als

Hauptkomponente nachgewiesen werden sowie zusätzlich verschiedene Sesquiterpene (α -Copaen, α -Longifolen, Caryophyllen sowie α -Humulen). Erwartungsgemäß ließen sich in der Abluft eines Fischmehlwerkes große Mengen an Trimethylamin nachweisen. Die Abluft enthält weiterhin große Mengen an Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid. Für den malzigen Geruchseindruck in der Abluft sind das 2-Methylpropanal sowie 2- und 3-Methylbutanal verantwortlich. Die in der Abluft eines Schweinemastbetriebes vermuteten und in der Literatur oft erwähnten Verbindungen Indol und 3-Methylindol konnten bei dem untersuchten Betrieb nicht nachgewiesen werden. Dies lag wahrscheinlich an den guten hygienischen Bedingungen in den Ställen. Es zeigte sich, dass das Hauptgeruchsproblem einer Stärkefabrik das in der Abluft in großer Menge enthaltene 3-Methylbutanal ist. Die Berechnung des Odour Index ergab, dass das 3-Methylbutanal bis zu 97 % der Geruchsbelästigung induziert.

In Zusammenarbeit mit dem Arbeitsbereich Biotechnologie der Technischen Universität Hamburg Harburg wurden neue Bakterienstämme identifiziert, die in der Lage sind, verschiedene geruchsintensive Alkylpyrazine zu geruchsneutralen Endprodukten abzubauen. Es konnten die jeweils ersten Metaboliten identifiziert und synthetisiert werden.

2,5-Dimethylpyrazin wird durch das Bakterium *Rhodococcus erythropolis* abgebaut. Nach massenspektroskopischer Untersuchung und Synthese zeigte sich, dass es sich bei dem ersten Abbauprodukt von 2,5-Dimethylpyrazin durch *Rhodococcus erythropolis* um 2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin, dementsprechend das Produkt einer Kernoxidation, handelt. 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin wird durch den neuen Bakterienstamm *Mycobacterium* sp. strain DM-11 abgebaut. Es konnte der erste Metabolit des Abbaues isoliert werden, und es gelang auch die Identifizierung und die Synthese des identifizierten 5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazins.

Bei der Untersuchung von in der heimischen Küche entstehenden Gerüchen zeigte sich, dass beim gemeinsamen Erhitzen von Schweinefleisch mit Basilikum in großer Menge 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-on entsteht. Werden Rindfleisch und Basilikum zusammen erhitzt, ist neben dem 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-on auch Hydroxymaltol, 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-on, nachweisbar. In erhitztem Putenfleisch/Basilikum ließen sich keine Maillard- oder weitere Verbrennungsprodukte nachweisen.

7 Summary

The investigations reported here are dealing with the identification and synthesis of volatile, odoriferous compounds contained in the exhaust gas of food factories and on the biodegradation of alkylpyrazines. First a method was developed to enrich volatile compounds. Collections of odour emissions were performed with a gas sampler equipped with filter tubes containing the styrene-polymer SuperQ and the absorbent TenaxTA. After elution of SuperQ with solvents of different polarities, the extracts were analysed by GC/MS and chemical microreactions. The compounds which had been adsorbed on TenaxTA were analysed by thermal desorption into a cryotrap and subsequently submitted to gas chromatography coupled with mass spectrometry. Proposed structures were verified by comparison of analytical data with those of synthetic reference samples. Major components in the exhaust gas of a fat finishing factory were found to be aliphatic aldehydes (hexanal, octanal, nonanal and 2-nonenal), strongly dominated by hexanal. The identification of 1,2,3,3-tetramethylcyclohexene shows that for structural proof of target compounds the use of authentic reference samples is indispensable. Despite the fact that the mass spectra in the electronic database are identical, the substances can differ in the retention time. In the exhaust gas of a chocolate factory several carbonyl compounds and alkylated pyrazines could be identified. Main components different from those mentioned are 3-hydroxy-2-butanone, furfural, acetic acid and benzaldehyde.

Pyrazines are considered as one of the major malodorous class of compounds in the exhaust gas of various food industries. In this study we isolated two bacterial strains which can degrade alkylpyrazines. We also identified the first metabolites formed during the degradation process. The bacterial strain *Rhodococcus erythropolis* DP-45 was isolated from the ground which surrounds the filter system for exhaust air at coffee bean roasting. *Rhodococcus erythropolis* is able to use 2,5-diethylpyrazine as a sole carbon and energy source. The first intermediate of the degradation was found to be 2-hydroxy-3,6-dimethylpyrazine as the product of an oxidation at the nucleus.

Mycobacterium sp. strain DM-11, a new bacterial strain was isolated from water in a washing step of the waste gas treatment plant at fishmeal processing. This bacterium uses 2,3-diethyl-5-methylpyrazine as a sole carbon and energy source. The degradation of 2,3-diethyl-5-methylpyrazine by *Mycobacterium sp.* Strain DM-11 requires molecular oxygen. The first intermediate was identified as 5,6-diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazine.

As expected, the main compound in the exhaust gas of a fishmeal factory was trimethylamine with the typical fishy and amine-like odour. Dimethyldisulfide and dimethyltrisulfide had also been found. The identified 2-methylpropanal and 3-methylbutanal leave a malty odour.

The expected indol and 3-methylindol couldn't be found in the exhaust gas of an examined pig breeding company. A reason for this could be the good hygiene in the stall.

The main odour problem of a starch producing factory was 3-methylbutanal. After calculation of odour index it became apparent that 97 % of the malodorous odour was caused by 3-methylbutanal.

When frying pork, spiced with salt and *Ocimum basilicum*, the Maillard product 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one could be identified. This product was also found when heating *Ocimum basilicum* with beef. In this case another Maillard product, 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one was formed. This is a degradation product of 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one. When heating *Ocimum basilicum* with turkey no Maillard products could be detected.

8 Experimenteller Teil

Gaschromatographie:

Es wurden Geräte des Typs Carlo Erba 4300 FTV Series 4300, Satochrom (Firma Sato), und GC 800 Fisons verwendet. Hierbei diente Wasserstoff als Trägergas, und die Detektion erfolgte durch Flammenionisationsdetektoren (FID). Für die Trennungen wurden Kapillaren mit folgenden Belegungen verwendet:

DB-5 MS fused silica, 30 m 0,25 mm I.D. 0,25 µm Filmdicke (Firma J&W Scientific)

FFAP fused silica, 50 m, 0,25 mm I.D. 0,25 µm Filmdicke (Firma Machery&Nagel)

CP 8944, VF-5ms factour four WCOT fused silica ,30 m, 0,25 mm I.D.,0,25 µm Filmdicke (Firma Varian)

FFAP 60m, 0,25mm I.D. 0,50 µm Filmdicke Firma Agilent

Chirale Phasen:

2,6-Methyl-3-Propyl-β-Cyclodextrin

6-TBDMS-2,3-Methyl-β-Cyclodextrin

6-TBDMS-2,3-Acetyl-β-Cyclodextrin

2,3-Pentyl-6-Methyl-β-Cyclodextrin

Gaschromatographie-Massenspektrometrie:

Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen wurden mit folgenden GC-MS-Kopplungen mit Ionenstoßionisation (70eV) und Helium als Trägergas durchgeführt:

- Sektorfeldmassenspektrometer VG 70/70 E der Firma VG Analytical mit Gaschromatograph HP 6890 der Firma Agilent mit Split/Splitless-Injektor
- Quadrupolmassenspektrometer MD 800 mit Gaschromatograph GC 8060 mit Split/Splitless-Injektor der Firma Fisons
- Quadrupolmassenspektrometer MSD5973N Gaschromatographen GC6890n, Firma Agilent Technologies, Waldbronn, Germany

Angegeben werden Massenzahlen (m/z) und relative Intensitäten (in %) bezogen auf das intensivste Signal.

NMR-Spektroskopie:

NMR-Spektren wurden mit folgenden Geräten aufgenommen:

- AMX-400 Firma Bruker (^1H mit 400 MHz; ^{13}C mit 101 MHz)
- DRX-500 Firma Bruker (^1H mit 500 MHz; ^{13}C mit 126 MHz)

Alle Messungen wurden bei 300 K vorgenommen, als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS $\delta=0$) und/oder das verwendete Lösungsmittel. Angaben über die chemische Verschiebung erfolgen in ppm und sind auf die oben angegebenen Signale kalibriert. Für die Signalformen werden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett); d (Dublett); t (Triplett); m (Multiplett).

Die Zuordnung der ^{13}C -Signale erfolgte durch DEPT-Spektroskopie. Für die eindeutige Zuordnung der Signale wurden zusätzlich ^1H , ^1H -COSY-, ^1H , ^{13}C -COSY- und HMBC-Experimente durchgeführt.

Chemikalien und Chromatographie:

Die für die Extrakte verwendeten Lösungsmittel wurden von der Firma Merck in SupraSolv bzw. LichroSolv Qualität bezogen. Wasserfreie Lösungsmittel wurden entweder bei den Firmen Merck, Aldrich, Acros oder Fluka erworben oder nach den gängigen Methoden absolutiert.

Alle verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Aldrich, Fluka, Lancaster und Sigma bezogen und, wenn nicht anders erwähnt, ohne vorherige Reinigung eingesetzt.

Für dünnschichtchromatographische Trennungen wurde fertig beschichtete Aluminiumfolie der Firma Merck 60 F₂₅₄ verwendet. Zur Detektion der Substanzen wurde ein Anisaldehydtauchbad (2% Anisaldehyd, 2 % konz. Schwefelsäure, 2 % Essigsäure in Ethanol) oder UV-Licht verwendet.

Säulenchromatographische Trennungen:

Säulenchromatographische Trennungen wurden an Kieselgel (Partikelgröße 32-63 μm , Porengröße 60A) der Firma ICN mit 0,2 bar Überdruck durchgeführt. Die jeweiligen Laufmittel sind den Versuchsvorschriften zu entnehmen.

Adsorbentien:

SuperQ: Divinylbenzol-Polymer mit der Formel $-(\text{C}_8\text{H}_8)_n$ (CAS-Nr. 9003-70-7) der Firma Alltech GmbH

Tenax: Poly-(2,6-Diphenylphenylenoxid), Firma Supelco oder Firma Gerstel

Derivatisierungen:**Methylierung:**

In einer speziellen Destillationsapparatur wurde 0,5 mg *N*-Nitroso-*N*-methylharnstoff tropfenweise mit 40%iger Natronlauge bis zum Stillstand der Gasentwicklung versetzt. Das entstehende Diazomethan kondensierte bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ in eine Lösungsmittelvorlage, die dann zur Probe hinzugegeben wurde. Proben wurden anschließend zur Trockne eingengt, anschließend wieder in Lösungsmittel aufgenommen und massenspektrometrisch untersucht.

Darstellung von *N*-Nitroso-*N*-methylharnstoff:

20,1 g (300 mmol) Methylamin-hydrochlorid und 60,0 g (1 mol) Harnstoff werden in 150 ml Wasser gelöst und 3 h unter Rückfluß erhitzt. Es werden 22,1 g (320mmol) Natriumnitrit hinzugegeben und auf $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Man gießt die erkaltete Reaktionslösung auf 600 g Eis/110 g konz Schwefelsäure. Der gebildete Feststoff wird abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert.

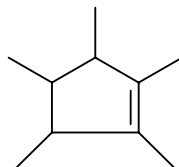
Acetylierung:

Wenige mg Substanz werden in 0,1ml Pyridin und 0.5 ml Acetanhydrid bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 12h gerührt. Der Reaktionsansatz wird mit Natriumhydrogencarbonat und Wasser zur Neutralisation versetzt. Es wird mit Ether extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet und für die massenspektroskopische Analyse gegebenenfalls eingengt.

Silylierung:

Wenige μl der Probe werden mit 5 μl BSTFA/TMCS 99:1 versetzt und 12 h bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Überschüssiges BSTFA/TMCS wird im Argonstrom abgeblasen und der Rückstand in einem geeigneten Lösungsmittel aufgenommen (BSTFA: N,O-bis-Trimethylsilyltrifluoracetamid/TMCS-Trimethylchlorsilan).

1,2,3,4,5-Pentamethylcyclopenten



1,60 g (12 mmol) Pentamethylcyclopentadien werden in 50 ml Diethylether gelöst und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Es wurde Palladium auf Aluminiumoxid (5%) in katalytischen Mengen hinzugegeben und zwei Stunden Wasserstoff bei Normaldruck in den Reaktionsansatz geleitet.

Die Reaktion wird durch Abfiltrieren des Katalysators und anschließendes Entfernen des Lösungsmittels beendet.

Ausbeute: 1,50g (11 mmol) entsprechend 92%, Lit: 91 % [42], farbloses Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.83 (m, 3H, CH₃); 0.86 (m, 6H, 2*CH₃); 0.89 (m, 1H, CH); 1.04 (m, 2H, 2*CH); 1.59 (m, 6H, 2*CH₃)ppm.

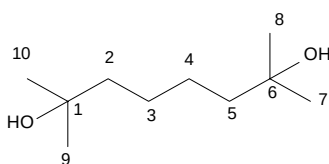
¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

11.02 (CH₃); 12.42 (2*CH₃); 21.98 (2*CH₃); 33.54 (CH); 37.68 (2*CH); 134.81 (2*C_{olefin})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 138 (24, M⁺), 123 (100), 124 (9), 95 (14), 91 (9), 81 (55), 67 (19), 55 (12), 41 (23), 39 (15)

2,7-Dimethyloctan-2,7-diol:



5,00g (20 mmol) Diethyladipat werden in 100 ml THF vorgelegt und auf -30°C gekühlt. Es werden 30 ml einer 20 %igen Methylmagnesiumchloridlösung zugetropft und 1,5 h unter Eiskühlung weitergerührt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wird nach einer Stunde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchloridlösung abgebrochen. Es wird mit Ether verdünnt und die organische Phase abgetrennt, gewaschen und getrocknet. Man erhält ein braunes zähflüssiges Rohprodukt, welches säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 5:1 gereinigt wird. Nach Abtrennen der Nebenprodukte wird das Produkt mit reinem Ethylacetat eluiert

Ausbeute: 3,11g (18 mmol) entsprechend 90 %, Lit: keine Angabe, weißer Feststoff

Charakterisierung:

Schmelzpunkt: 91 °C

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 1.30 (s, 12H, H₇, H₈, H₉, H₁₀ 4*CH₃); 1.46 (m, 4H, H₃, H₄, 2*CH₂);
1.58 (m, 4H, H₂, H₅ 2*CH₂)ppm.

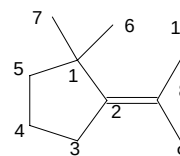
¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 25.27 (2*CH₂, C₃, C₄); 29.61 (4*CH₃, C₇, C₈, C₉, C₁₀); 44.28 (2*CH₂, C₂, C₅);
71.36 (2*C_{quat}, C₁, C₆)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 123 (16,); 98 (8); 83 (26); 71 (11); 70 (11); 69 (19); 59 (100); 43 (48)

1,1-Dimethyl-2-isopropylidencyclopentan



1,31g (8 mmol) 2,7-Dimethyloctan-2,7-diol werden in 100 ml abs. THF gelöst, mit 0,65g 85%iger Phosphorsäure versetzt und in einer Destillationsapparatur erhitzt. Das entstehende Produkt destilliert in die Vorlage über (Siedebereich: 90-125 °C). In die Vorlage wird nach beendigter Destillation Magnesiumsulfat zum Trocknen gegeben. Der Überstand wird abdekantiert. Es wird ein Produktgemisch erhalten, welches noch mal über eine Vigreux-Kolonne destilliert wird.

Ausbeute: 213 mg (2 mmol), entsprechend 25 %, Lit: 17 % [44], farblose, intensiv riechende Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

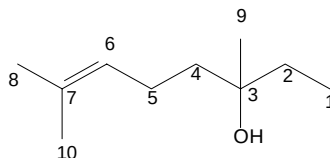
δ = 1.18 (s, 6H, H₆, H₇, 2*CH₃); 1.57 (m, 2H, H₅, CH₂); 1.62 (m, 3H, H₉ oder H₁₀, CH₃); 1.70 (m, 2H, H₄, CH₂); 1.76 (m, 3H, H₉ oder H₁₀, CH₃); 2.30 (m, 2H, H, CH₂)ppm.

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 20.25 (CH₃, C₆); 23.29 (CH₂, C₅); 23.20 (CH₃, C₇); 27.89 (2*CH₃, C₉, C₁₀); 33.47 (CH₂, C₄); 41.59 (C_{quat}, C₁); 46.21 (CH₂, C₃); 125,89 (C_{olef}); 152.78 (C_{olef})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 138 (25, M⁺); 124 (12); 123 (100); 95 (13); 93 (3); 91 (3); 82 (16); 81 (34); 79 (6); 77 (5); 67 (12); 55 (12); 41 (12)

3,7-Dimethyl-6-octen-3-ol:

Zu 3,21 g (130 mmol) frisch gemörserten Magnesiumspänen in 150 ml abs. THF werden 10,00 g (90 mmol) Bromethan in 50 ml THF zur Herstellung des Grignardreagenzes gegeben und 1 h zum Sieden erhitzt. Die abgekühlte Lösung wird langsam zu einer auf –78°C gekühlten Lösung aus 12,62 g (100 mmol) 6-Methyl-5-hepten-2-on und 1,70 g (9 mmol) Kupfer(I)iodid in 150 ml abs. THF getropft. Nach beendeter Zugabe wird auf Raumtemperatur erwärmt und 1,5h gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von Ammoniumchloridlösung abgebrochen. Es wird mit Diethylether ausgeschüttelt, die organische Phase gewaschen, getrocknet und eingengt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 10:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 4,77 g (34 mmol) entsprechend 38 %, Lit:91 % [45], farblose Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

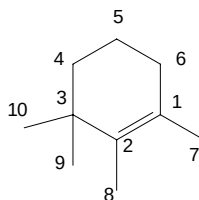
δ = 0.90 (t, 3H, H₁, CH₃); 1.15 (t, 3H, H₉, CH₃); 1.59 (m, 2H, H₂, CH₂); 1.63 (s, 6H, H₈ u. H₁₀, 2*CH₃); 1.69 (m, 2H, H₄, CH₂); 2.05 (m, 2H, H₅, CH₂); 5.15 (m, 1H, H₆, CH) ppm.

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 8.82 (CH₃, C₁); 18.03 (CH₃, C₉); 23.03 (CH₂); 26.10 (CH₃, C₈ od. C₁₀); 26.65 (CH₃, C₈ od. C₁₀); 34.71 (CH₂); 41.49 (CH₂); 73.34 (C, C₃); 124.94 (CH, C₆); 132.01 (C, C₇) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 138 (34, M⁺); 123 (20); 109 (64); 95 (14); 83 (24); 81 (17); 79 (21); 69 (56); 67 (41); 41 (100)



1,1,2,3,-Tetramethylcyclohex-2-en:

1,82 g (13 mmol) 2,6-Dimethyl-2-octen-6-ol werden mit einer Spatelspitze wasserfreier Oxalsäure versetzt und 5 Stunden bei 150 °C unter Rückfluß erhitzt..

Nach beendeter Reaktion wird über Kieselgel abfiltriert und mit Pentan nachgespült.

Um die Doppelbindungsisomere in dem Rohprodukt zu trennen, wurde das erhaltene Isomerengemisch an Silbernitrat beschichtetem Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Zur Herstellung des mit Silbernitrat beschichteten Kieselgels werden 15 % Silbernitrat in Wasser gelöst, und mit dem Kieselgel vermischt. Das Wasser wird dann am Rotationsverdampfer entfernt. Die Verbindungen wurden mit Pentan/Diethylether 5:1 als Laufmittel eluiert.

Ausbeute: 430 mg (3mmol) entsprechend 24 %, Lit:70% [45], stark riechende Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.97 (m,6H,H₉/H₁₀ 2*CH₃); 1.57 (m,6H,H₇/H₈,2*CH₃); 1.63 (m,2H,H₄,CH₂); 1.64 (m,2H, H₅,CH₂), 1.89 (m,2H,H₆,CH₂) ppm.

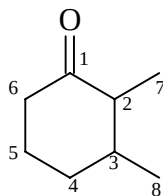
¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 19.7 (CH₂); 25.9 (CH₃); 27.5 (CH₃); 28.0 (2*CH₃); 32.8 (CH₂); 39.7 (CH₂); 30.3 (C); 125.6 (C_{olefin}); 132.8 (C_{olefin})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 138 (6, M⁺); 123 (100); 95 (22); 91 (18); 81 (56); 67 (30); 55 (22); 41 (51)

2,3-Dimethylcyclohexanon:



Zu einer Lösung von 2,14 g (15mmol) 2,3-Dimethylcyclohexanol in 250 ml abs. Dichlormethan werden 8,22 g (22 mmol) Pyridiniumdichromat gegeben. Die Reaktion wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird über Kieselgel abfiltriert und mit Diethylether nachgespült. Das Lösungsmittel wird abdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 1,70 g (13 mmol) entsprechend 90 %, farblose Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.57 (d, 3H, H₈, CH₃, J = 7.12 Hz); 0.71 (d, 3H, H₇, CH₃, J = 6.87 Hz); 0.76 (m, 1H, H₃, CH); 0.79 (m, 1H, H₂, CH); 1.20-1.39 (m, 2H, H₄, CH₂); 1.54-1.59 (m, 2H, H₅, CH₂); 1.95-2.03 (m, 2H, H₆, CH₂)ppm.

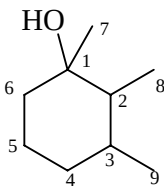
¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 14.88 (CH₃, C₈); 21.10 (CH₃, C₇); 23.67 (CH₂, C₄); 26.47 (CH₂, C₅); 31.54 (CH₂, C₆); 42.52 (CH, C₃); 49.66 (CH, C₂); 214.61 (C, C₁)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 126 (27, M⁺); 98 (15); 83 (71); 82 (45); 70 (42); 67 (22); 56 (26); 55 (100); 42 (36); 41 (53)

1,2,3-Trimethylcyclohexanol:



Zu 1 ml (15 mmol) einer 1.5 M Methyllithiumlösung in Ether wird bei Raumtemperatur eine Lösung aus 1,00g (8 mmol) 1,2-Dimethylcyclohexanon in 30 ml abs. THF getropft. Nach 3,5 h wird der Reaktionsansatz auf eine Eiswasser/ NaHCO_3 -Lösung gegossen. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet und eingeeengt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 1,04 g (7 mmol) entsprechend 92 %, gelbes, streng riechendes Öl

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 +TMS):

δ = 0.79 (m, 1H, H_3 , CH); 0.82 (d, 3H, H_9 , CH_3 , $^3J_{\text{H}_9-\text{H}_3}$ = 2.54 Hz); 0.84 (d, 3H, H_8 , CH_3 , $^3J_{\text{H}_8-\text{H}_2}$ = 2.55 Hz); 0.87 (m, 1H, H_2 , CH); 1.11 (m, 2H, H_4 , CH_2); 1.22 (s, 3H, H_7 , CH_3); 1.25 (m, 2H, H_5 , CH_2); 1.49 (m, 2H, H_6 , CH_2) ppm.

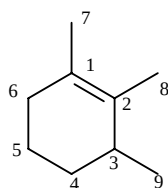
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 +TMS):

δ = 21.10 (CH_3 , C_9); 22.87 (CH_3 , C_8); 28.30 (CH_2 , C_4); 28.76 (CH_3 , C_7); 29.59 (CH_2 , C_5); 33.22 (CH_2 , C_6); 35.29 (CH, C_3); 35.93 (CH, C_2); 66.25 (C, C_1) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 142 (25, M^+); 127 (11); 124 (18); 109 (23); 99 (27); 95 (26); 82 (27); 71 (100); 67 (19); 58 (32); 55 (27); 43 (98); 41 (45)

1,2,3-Trimethylcyclohexen:



0,50 g (3 mmol) 1,2,3-Trimethylcyclohexanol werden in 40 ml Wasser gegeben und mit 40 ml 50%iger Schwefelsäure versetzt. Der Ansatz wird über Nacht gerührt. Es wird mit NaHCO_3 -Lösung versetzt und mit Petrolether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

Das Produkt bedarf keiner weiteren Reinigung

Ausbeute: 320 mg (2,5 mol) entsprechend 87 %, gelbe, stark riechende Flüssigkeit

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 +TMS):

$\delta = 1.14$ (d, 3H, H_9, CH_3 , $^3J_{\text{H}_9-\text{H}_3} = 6.87$ Hz); 1.18 (m, 1H, H_3, CH); 1.50 - 1.66 (m, 2H, H_4, CH_2); 1.73 (m, 3H, H_7 od. H_8, CH_3); 1.76 (m, 3H, H_7 od. H_8, CH_3); 1.78 - 1.82 (m, 2H, H_5, CH_2), 2.04 (m, 2H, H_6, CH_2)ppm.

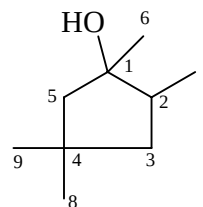
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 +TMS):

$\delta = 20.14$ (CH_3, C_9); 20.40 (CH_3, C_7 od. C_8); 22.61 (CH_3, C_7 od. C_8); 25.46 (CH_2, C_4); 26.06 (CH_2, C_5); 28.45 (CH_2, C_6); 34.99 (CH, C_3); 121.00 ($\text{C}_{\text{olef.}}$); 121.55 ($\text{C}_{\text{olef.}}$)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z : 124 (24, M^+); 109 (100); 81 (37); 67 (56); 55 (16); 41 (34)

1,2,4,4-Tetramethylcyclopentanol :



Zu 1,00 g (8 mmol) 2,4,4-Trimethylcyclopentanon in 50 ml abs. THF werden bei -30°C 11,25 ml (30 mmol) einer 20 %igen Methylmagnesiumchloridlösung in Ether getropft. Es wird noch 1.5 h bei dieser Temperatur weitergerührt und dann die Reaktion durch Zugabe von Ammoniumchloridlösung abgebrochen. Die wässrige Phase schüttelt man mit Diethylether aus, trocknet über Natriumsulfat und engt ein. Das Rohprodukt wurde

säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 6:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute:

936 mg (7 mmol) entsprechend 88 %, leicht gelbe Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

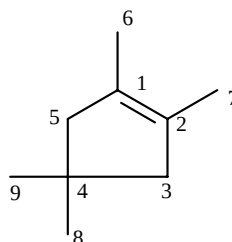
δ = 1.05 (m, 3H, H₈ od. H₉, CH₃); 1.15 (m, 3H, H₈ od. H₉, CH₃); 1.23 (m, 3H, H₇, CH₃); 1.27 (m, 3H, H₆, CH₃); 1.35 (m, 1H, H₂, CH); 1.60 (m, 1H, H_{3a}, CH₂); 1.70 (m, 1H, H_{3b}, CH₂); 1.78 (m, 2H, H₅, CH₂) ppm.

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 22.8 (CH₃); 24.4 (CH₃); 32.3 (CH₃); 32.8 (CH₃); 35.0 (CH₂); 35.8 (C_{quat}, C₄); 35.5 (CH, C₂); 46.7 (CH₂); 69.1 (C_{quat}, C₁) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 142 (1, M⁺); 127 (5), 109 (16); 99 (100); 85 (45); 84 (25); 71 (19); 69 (49); 57 (20); 43 (88)



1,2,4,4-Tetramethylcyclopenten:

400 mg (3 mmol) 1,2,4,4-Tetramethylcyclopentanol werden in 50 ml Dichlormethan gelöst, mit 20 ml wässriger Schwefelsäure versetzt, und 3h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wird mit Petrolether ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen getrocknet und eingeengt. Das Produkt wird nicht weiter gereinigt.

Ausbeute: 290 mg (2 mmol) entsprechend 67 %, leicht gelbliches stark riechendes Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 1.05 (m, 6H, H₈/H₉, 2xCH₃); 1.23 (m, 6H, H₆/H₇, 2xCH₃); 1.61 (m, 2H, CH₂) 2.26 (m, 2H, CH₂) (H₃ und H₅) ppm.

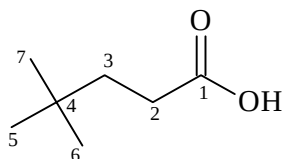
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 23.06 (2*CH₃, C₈/C₉); 28.71 (CH₂); 29.83 (CH₂); 30.60 (C_{quat}, C₄); 32.01 (2*CH₃, C₆/C₇); 129.69 (2*C_{olef}, C₁/C₂)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 124 (21, M⁺); 109 (100); 91 (10); 81 (19); 67 (55); 55 (16); 41 (33); 39 (32)

4,4-Dimethylpentansäure:



Zu 40 ml (60 mmol) einer 10 M tert.-BuLi-Lösung in 200 ml abs. THF werden bei -78°C 2,00 g (30 mmol) Acrylsäure in 100 ml abs. THF zugetropft. Es wird 1.5 h bei dieser Temperatur gerührt und anschließend die Reaktion durch Zugabe von 150 ml Wasser abgebrochen. Das Reaktionsgemisch wird mit konz. HCl auf pH 1 angesäuert, mit festem NaCl gesättigt und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 % iger NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, bis keine Gasentwicklung mehr feststellbar ist. Die gesammelten wässrigen Phasen werden angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Dann wird getrocknet und eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wird bei 130°C im Ölpumpenvakuum destilliert.

Ausbeute: 1,61 g (120 mmol) entsprechend 55 %, Lit:85% [47], leicht gelbes Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.90 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3 * CH₃); 1.57 (t, 2H, H₃, ³JH₃-H₂=8,4 Hz, CH₂); 2.33 (t, 2H, H₂, ³JH₂-H₃=8,4 Hz, CH₂); ppm.

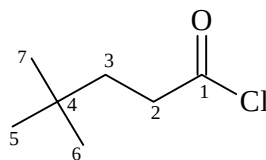
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 28.91 (3 x CH₃, C₅/C₆/C₇); 29.82 (C, C₄); 30.01 (CH₂, C₃); 38.32 (CH₂, C₂); 180.79 (C=O, C₁)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 115 (11); 97 (39); 73 (22); 69 (49); 57 (100); 45 (23); 41 (68)

4,4-Dimethylpentansäurechlorid:



0,52 g (4 mmol) Dimethylpentansäure werden in 50 ml abs. Dichlormethan gelöst. Bei 0 °C werden 0,60 g (6 mmol) Oxalylchlorid zugetropft. Man rührt weitere drei Stunden bei Raumtemperatur, und destilliert dann das Dichlormethan und überschüssiges Oxalylchlorid im Vakuum ab. Das Produkt ist unter Argonlagerung 4 Tage stabil.

Ausbeute: 0,71 g (4,7 mmol) entsprechend 94 %, farblose Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.91 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 1.64 (t, 2H, H₃, ³J_{H3-H2} = 8,4 Hz; CH₂); 2.86 (t, 2H, H₂, ³J_{H2-H3} = 8,4 Hz, CH₂) ppm.

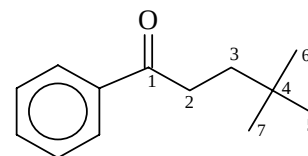
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 28.9 (3xCH₃, C₅/C₆/C₇); 30.1 (C, C₄); 38.4 (CH₂, C₃); 43.4 (CH₂, C₂); 174.7 (C=O, C₁) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 135 (1); 113 (15); 97 (13); 69 (76); 57 (100); 43 (18); 41 (69)

4,4-Dimethyl-1-phenylpentan-1-on:



Zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension aus 13,31 g (100 mmol) wasserfreiem Aluminiumchlorid in 65 ml Benzol wird über einen Zeitraum von einer Stunde eine Lösung aus 0,70 g (5mmol) Dimethylpentansäurechlorid in 10 ml Benzol zugetropft. Es wird 1.5 h bei dieser Temperatur gerührt und anschließend 2 h bei Raumtemperatur.

Zum Abbrechen der Reaktion wird der Ansatz auf Eiswasser gegossen und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat ausgeschüttelt, und die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Produkt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 800 mg (4,20 mmol) entsprechend 89 %, Lit: 64% [48], leicht gelbes Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.60 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 1.65 (t, 2H, H₃, CH₂); 2.93 (t, 2H, H₂, CH₂); 7.25 (m, 5H, H_{phenyl})ppm.

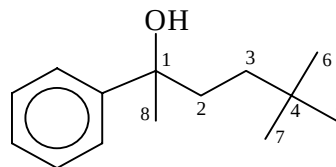
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 29.20 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 31.13 (CH₂, C₃); 34.37 (CH₂, C₂); 38.15 (C_{quat}, C₄); 128.11 (C_{phenyl}); 128.52 (C_{phenyl}); 128.67 (C_{phenyl}); 128.77 (C_{phenyl}); 128.86 (C_{phenyl}); 128.99 (C_{phenyl}); 201.80 (C=O, C₁)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 190 (6, M⁺); 133 (20); 105 (100); 77 (66); 57 (23); 53 (36); 51 (24); 41 (43)

5,5-Dimethyl-2-phenyl-2-hexanol:



Zu 6 ml (8 mmol) einer 1.5 M Methyllithium-Lösung in Ether wird bei Raumtemperatur eine Lösung von 0,80 g (4 mmol) 4,4-Dimethyl-1-phenylpentan-1-on in 40 ml abs. Diethylether gegeben. Nach 3.5 Stunden wird das Reaktionsgemisch auf Natriumhydrogencarbonat/Eiswasser gegossen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 618 mg (3 mmol) entsprechend 75 %, gelbliches Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

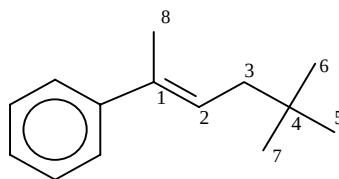
δ = 0.83 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃), 1.10 (m, 2H, H₃, CH₂); 1.55 (s, 3H, H₈, CH₃); 1.79 (m, 2H, H₂, CH₂); 7.25-7.35 (m, 5H, 5*H_{phenyl})ppm.

¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 29.71 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 30.79 (CH₃, C₈); 38.09 (CH₂, C₂); 39.23 (CH₂, C₃); 42.44 (C_{quat}, C₁); 75.12 (C_{quat}, C₄), 125.22 (C_{phenyl}); 126.52 (C_{phenyl}); 126.8 (C_{phenyl}); 128.51 (C_{phenyl}); 128.87 (C_{phenyl}); 129.42 (C_{phenyl})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 206 (0.3, M⁺); 131 (9); 121 (100); 105 (9); 91 (6); 77 (10); 57 (13); 43 (89)

1,4,4-Trimethyl-1-phenylpent-1-en

35 mg (0,2mmol) 5,5-Dimethyl-2-phenyl-2-hexanol werden in 40 ml Hexan gelöst. Man gibt 40 ml 50 %iger Schwefelsäure zu und lässt 4 h rühren. Die Reaktion wird durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat abgebrochen und die wässrige Phase mit Petrolether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeengt.

Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: 23 mg (0,12mmol) entsprechend 60 %, gelbliche Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 1.00 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 2.07 (s, 3H, H₈, CH₃); 2.15 (d, 2H, H₃, CH₂); 5.90 (m, 1H, H₂, CH); 7.28-7.38 (m, 5H, H_{phenyl})ppm.

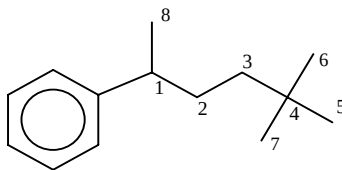
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 16.43 (CH₃, C₈); 29.98 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 32.51 (C, C₄); 43.12 (CH₂, C₃); 129.42 (CH, C₂); 136.31 (C, C₁); 126.21 (C_{phenyl}); 126.76 (C_{phenyl}); 126.79 (C_{phenyl}); 126.99 (C_{phenyl}); 128.65 (C_{phenyl}); 128.98 (C_{phenyl})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 188 (18, M⁺); 132 (48); 131 (100); 129 (14); 117 (17); 115 (16); 91 (32); 77 (9); 57 (74); 41 (21)

1,4,4-Trimethyl-1-phenylpentan



23 mg (0,12mmol) 1,4,4-Trimethyl-1-phenylpent-1-en werden in 20 ml abs. Methanol gelöst. Es wird eine katalytische Menge Pd/C (10 %) hinzugegeben und 2 Tage bei Normaldruck hydriert. Der Katalysator wird über Kieselgel abfiltriert und das Produkt mit Ethylacetat nachgewaschen.

Ausbeute: 18 mg (0,09 mmol) entsprechend 75 %, farblose, geruchsintensive Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 1.10 (s,9H,H₅/H₆/H₇,3*CH₃); 1.30-1.42 (m,2H,H₃,CH₂); 1.50 (d,3H,H₈,J= 7,12 Hz, CH₃); 1.80 (m,2H,H₂,CH₂); 2.85 (m,1H,H₁,CH); 7.45 (m,5H,H_{phenyl})ppm.

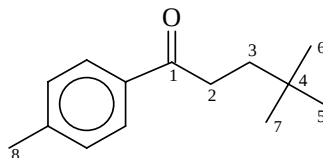
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 23.01 (CH₃,C₈); 29.89 (3x CH₃,C₅/C₆/C₇); 30.12 (C, C₄); 33.65 (CH₂, C₂); 41.42 (CH, C₁); 42.44 (CH₂, C₃); 126.21 (C_{phenyl}); 126.56 (C_{phenyl}); 127.32 (C_{phenyl}); 128.78 (C_{phenyl}), 128. 98 (C_{phenyl}); 129.44 (C_{phenyl})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 190 (12, M⁺); 175 (1); 119 (3); 106 (14); 105 (100); 91 (12); 57 (18)

4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan-1-on:



Zu einer eisgekühlten Suspension aus 9,51 g (70 mmol) Aluminiumchlorid in 65 ml Toluol wird tropfenweise über einen Zeitraum von 1.5h eine Lösung aus 0,50 g (3,4 mmol) Dimethylpentansäurechlorid in 10 ml Toluol zugetropft. Nach 3h wird das Eisbad entfernt, und man lässt über einen Zeitraum von 12h weiterreagieren. Das Reaktionsgemisch wird auf Eiswasser gegossen, die organische Phase abgetrennt, sowie die wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 20:1 gereinigt.

Ausbeute: 350 mg (2 mmol) entsprechend 53 %, leicht gelbe Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.95 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 1.63 (m, 2H, H₃, CH₂), 2.41 (s, 3H, H₈, CH₃); 2.91 (m, 2H, H₂, CH₂); 7.25 (m, 2H, CH_{phenyl}); 7.85 (m, 2H, CH_{phenyl}) ppm.

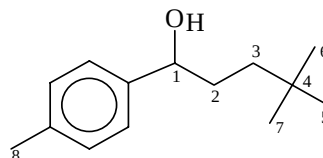
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 21.75 (CH₃, C₈); 29.41 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 30.21 (C₄), 34.42 (CH₂, C₂); 38.53 (CH₂, C₃); 135.44 (C_{phenyl}); 144.46 (C_{phenyl}); 129.01 (2x CH_{phenyl}); 130.03 (2x CH_{phenyl}); 202.02 (C=O) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 204 (5, M⁺); 189 (7); 147 (16); 119 (100); 91 (29); 65 (13); 55 (10)

4,4-Dimethyl-1-*p*-tolyl-1-pentanol:



350 mg (2mmol) 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolyl-pentan-1-on

werden mit 40 mg (2mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 15 ml abs. THF versetzt und bei Raumtemperatur 3,5 h gerührt. Die Reaktion wird durch tropfenweise Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wird abgetrennt, und die wässrige Phase wird mit Ether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 20:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 246 mg (1,2 mmol) entsprechend 60 %, gelbliche Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

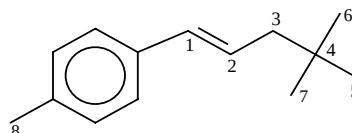
δ = 0.86 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 1.08 (m, 1H); 1.36 (m, 1H); 1.72 (m, 2H); 2.35 (s, 3H, H₈, CH₃); 4.56 (t, 1H), 7.16 (m, 2H, H_{phenyl}); 7.24 (m, 2H, H_{phenyl}) ppm.

¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 21.20 (CH₃, C₈); 29.32 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 30.18 (C, C₄); 34.23 (CH₂); 40.20 (CH₂); 75.30 (CH, C₁); 125.98 (2x CH_{phenyl}); 129.23 (2x CH_{phenyl}); 137.21 (C_{phenyl}); 141.97 (C_{phenyl}) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 206 (3, M⁺); 173 (7); 131 (7); 121 (100); 93 (44); 91 (43); 77 (25); 57 (28); 55 (32); 41 (46)



4,4-Dimethyl-*p*-tolyl-1-penten:

242 mg (1,2 mmol) 4,4-Dimethyl-1-*p*-tolyl-1-butanol werden in 40 ml Hexan gelöst und mit 50 %iger Schwefelsäure versetzt. Es wird 12h bei Raumtemperatur gerührt, und die Reaktion anschließend mit gesättigter NaHCO₃-Lösung abgebrochen. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird mit Hexan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingedunstet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 20:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 184 mg (0,96 mmol) entsprechend 81 %, leicht gelbe Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

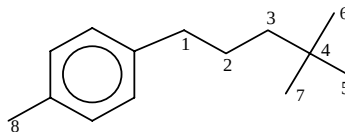
δ = 0.93 (s, 9H, H₅/H₆/H₇, 3*CH₃); 2.07 (m, 2H, H₃, CH₂); 2.30 (s, 3H, H₈, CH₃); 6.18-6.24 (m, 1H, H₂, CH); 6.29-6.33 (m, 1H, H₁, CH); 7.10 (2H, 2*CH_{phenyl}); 7.24 (2H, 2*CH_{phenyl}) ppm.

¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 21.25 (CH₃, C₈); 29.57 (3*CH₃, C₅/C₆/C₇); 31.61 (C, C₄); 126.65 (2*CH_{phenyl}); 127.95 (CH, C₂); 129.95 (2*CH_{phenyl}); 132.44 (CH, C₁); 136.02 (C_{phenyl}); 137.33 (C_{phenyl}) ppm.

MS (EI, 70 eV):

188 (7, M^+); 132 (17); 115 (29); 91 (22); 77 (9); 57 (100); 42 (30); 41 (96)

4,4-Dimethyl-1-*p*-tolylpentan:

150 mg (0,78 mmol) 4,4-Dimethyl-*p*-tolyl-1-penten werden in 30 ml abs. Methanol gelöst und mit einer katalytischen Menge Pd/C versetzt. Es wird 20 h bei Normaldruck hydriert. Nach beendeter Reaktion wird der Katalysator über Kieselgel abfiltriert, und es wird mit Ethylacetat nachgespült. Das Produkt bedarf keiner weiteren Reinigung.

Ausbeute: 138 mg (0,72 mmol) entsprechend 92 %, farbloses Öl

Charakterisierung:

 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 +TMS):

δ = 0.86 (s,9H, $\text{H}_5/\text{H}_6/\text{H}_7,3^*\text{CH}_3$); 1.24 (m,2H, H_3,CH_2); 1.56 (m,2H, H_2,CH_2), 2.29 (s,3H, H_8,CH_3); 2.53 (t,2H, $\text{H}_1,\text{J}= 7,88 \text{ Hz}$, CH_2); 7.08 (m,4H, $\text{CH}_{\text{phenyl}}$)ppm.

 $^{13}\text{C-NMR}$ (101MHz, CDCl_3 +TMS):

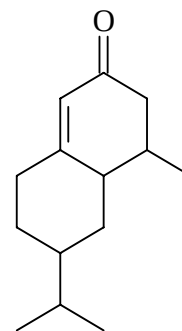
δ = 20.99 (CH_3,C_8); 26.85 (CH_2 , C_2); 29.56 ($3^*\text{CH}_3,\text{C}_5/\text{C}_6/\text{C}_7$); 36.87 (CH_2 , C_1); 43.98 (CH_2 , C_3); 128.25 ($2^*\text{CH}_{\text{phenyl}}$); 128.93 ($2^*\text{CH}_{\text{phenyl}}$); 134.96 (C_{phenyl}); 139.99 (C_{phenyl})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z : 190 (7, M^+); 119 (4); 105 (100); 91 (16); 77 (25); 57 (93); 41(97)

4-Methyl-6-(1-methylethyl)-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphtalin-2(3H)-on:

330 mg (2,4 mmol) 4-(1-methylethyl)-cyclohexanon werden in 5 ml abs. Ethanol gelöst. Es wurden 0,1 ml konz. Schwefelsäure hinzugegeben und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Man tropft 200 mg (2,4 mmol) 3-Penten-2-on hinzu, und erwärmt für 16 Stunden unter Rückfluß. Man schüttelt mit 5 % iger Natronlauge aus, trocknet, filtriert und engt ein. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 10/1 gereinigt.



Ausbeute: 15,5 mg (0,07mmol) entspricht 3 % , leicht gelbe Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃):

0.84 (m,6H,2*CH₃); 0.87-0.89 (m,2H); 0.93 (m,1H); 1.02 (d,3H,CH₃); 1.18 (m,1H); 1.49 (m,3H); 2.09 (m,2H); 2.30 (m,1H); 2.40-2.45 (m,1H); 5.74 (m,1H)ppm

¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃):

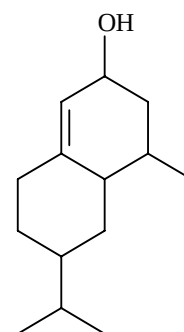
17.46 (CH); 19.96 (2*CH₃); 20.28 (CH₃); 20.42 (CH); 29.95 (CH₂); 32.91 (CH); 35.73 (CH); 35.96 (CH₂); 36.10 (CH₂); 45.54 (CH₂); 122.97 (CH); 124.37 (C_{carbonyl})ppm

MS (EI, 70 eV):

m/z: 206 (65); 191 (15); 178 (13); 164 (64); 163 (42); 149 (20); 135 (42); 121 (73); 107 (48); 94 (88); 91 (74); 79 (64); 66 (27); 55 (37); 41 (100)

4-Methyl-6-(1-methylethyl)-2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphtalin-2-ol:

15,5 mg (0,07 mmol) 4-Methyl-6-(1-methylethyl)-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphtalin-2(3H)-on werden zu einer Lösung aus einer Spatelspitze Lithiumaluminiumhydrid in abs. THF gegeben. Es wird 3h bei Raumtemperatur und 1h unter Rückfluß gerührt. Es wird langsam 2N NaOH zum Reaktionsansatz gegeben, bis weißes Lithiumhydroxid ausfällt. Dieses wird über Kieselgel abfiltriert und anschließend wird nachgewaschen und eingengt. Das erhaltene Produkt wird ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.



Ausbeute:

8 mg (0,04 mmol), entsprechend 58 %, gelbe Flüssigkeit

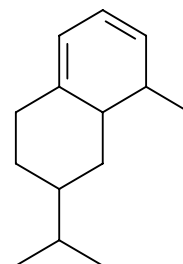
Charakterisierung:

MS (EI, 70 eV):

m/z: 208 (18); 193 (20); 190 (16); 175 (10); 165 (11); 149 (61); 147 (58); 123 (52); 107 (44); 105 (38); 95 (100); 91 (55); 84 (19); 81 (42); 79 (44); 77 (29); 67 (36); 55 (36); 41 (56)

5-Methyl-3-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin:

8 mg (0,04 mmol) 4-methyl-6-(1-methylethyl)-2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphtalin-2-ol werden in 2 ml Hexan gelöst und mit 2 ml 50%iger Schwefelsäure versetzt. Man lässt 3 h bei Raumtemperatur rühren. Die Reaktionslösung wird mit NaHCO₃-Lösung versetzt, extrahiert, getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.



Ausbeute: 7 mg (0,04 mmol), entsprechend 92 %, gelbe Flüssigkeit

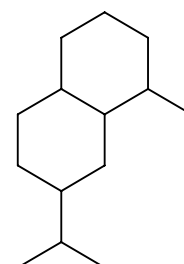
Charakterisierung:

MS (EI, 70 eV):

m/z 190 (47); 175 (15); 161 (3); 147 (94); 131 (7); 119 (28); 105 (81); 91 (100); 77 (20); 65 (8); 55 (9); 41 (29)

1-Methyl-7-(1-methylethyl)-decahydronaphtalin:

7 mg (0,04 mmol) 5-Methyl-3-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin werden in 1 ml abs. Methanol aufgenommen und mit einer Spatelspitze Pd/C als Katalystor versetzt. Man hydriert 3 h bei 40 bar. Nach beendeter Reaktion wird abfiltriert, nachgewaschen und eingengt.



Ausbeute: 3 mg (0,015 mmol), entsprechend 39 %, leicht gelbe Flüssigkeit

Charakterisierung:

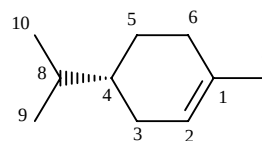
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃):

0.48 (m,1H); 0.79 (m,9H); 0.81-0.91 (m,4H); 1.19-1.23 (m,4H); 1.35 (m,3H); 1.43-1.556 (m,5H)

MS (EI, 70 eV):

m/z 194 (17); 179 (0,2); 151 (47); 135 (6); 121 (3); 109 (30); 95 (100); 81 (36); 67 (21); 55 (20); 41 (23)

(+)-Dihydrolimonen, (4R)-1-Methyl-4-(1-methylethyl)cyclohexen



17, 02 g (125 mmol) enantiomerenreines (R)-(+)-Limonen wird durch Destillation über eine kurze Säule gereinigt und sofort für die Hydrierung eingesetzt. Unter Stickstoffatmosphäre wird das Edukt mit 100ml absolutem Methanol (absolutiert über Magnesium, 2h erhitzen unter Rückfluss, destillieren) emulgiert. Nach Zusatz von ca. 0.5mol% PtO₂ (121mg, 0,52mmol) wird unter Wasserstoff-Atmosphäre bei Normaldruck gerührt, bis nach Aufnahme von ca. 1,05mol% H₂ (2940ml, 130mmol) der Verbrauch zum Erliegen kommt. Die Reaktionslösung wird über Kieselgel filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt
Ausbeute: 16,87 g (122 mmol) entsprechend 98 %, Lit: 82 % [49], farbloses Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.98 (m, 6H, H₉/H₁₀, 2*CH₃); 1.15-1.29 (m, 1H, CH₂); 1.20-1.25 (m, 1H, CH₂); 1.47 (m, 1H, CH); 1.64 (s, 3H, H₇, CH₃); 1.66-1.78 (m, 1H, CH); 1.66-1.78 (m, 2H, CH₂); 1.91-2.04 (m, 2H, CH₂); 5.37 (m, 1H, CH)ppm.

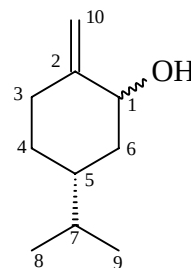
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 19.84 (CH₃, C₉ oder C₁₀); 20.15 (CH₃, C₉ oder C₁₀); 23.63 (CH₃, C₇); 26.64 (CH₂); 29.11 (CH); 30.97 (CH₂); 32.43 (CH); 40.16 (CH₂); 121.17 (CH); 134.10 (C)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z : 39 (28), 40 (5), 41 (45), 42 (5), 43 (14), 51 (6), 53 (19, C₄H₅⁺), 55 (32, C₄H₇⁺), 65 (8), 67 (82, C₅H₇⁺), 68 (56, C₅H₈⁺), 69 (17), 70 (3), 77 (16), 79 (27), 80 (6), 81 (38), 82 (18), 83 (4), 91 (10), 93 (10), 94 (13), 95 (100, M⁺-CH₃CHCH₃), 96 (17), 109 (5), 123 (16), 138 (28, M⁺).

(1S,5R)-2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol
und (1R,5R)-2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol:



200 mg (1,4 mmol) (4R)-1-Methyl-4-(1-methylethyl)cyclohexen werden in einer Lösung aus 5 ml Dichlormethan und 1,5 ml einer 10 %igen wässrigen NaHCO₃-Lösung suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Anschließend werden 430 mg (2,5 mmol) m-Chlorperoxybenzoesäure zugegeben. Es wird 3h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit 1 N NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt.

Das erhaltene Epoxid wird sofort weiter zu den Alkoholen umgesetzt.

Ausbeute: 129 mg (0,8 mmol) entsprechend 60 %, farbloses Öl

Massenspektroskopische Daten:

m/z: 154 (2, M⁺); 139 (12); 125 (6); 111 (24); 95 (7); 83 (11); 71 (19); 69 (23); 67 (11); 56 (14); 55 (32); 43 (100)

129 mg (0,8 mmol) Epoxid werden in 2 ml abs. THF gelöst. Es wird vorsichtig 1 ml einer 2 M (0,006 mol) LDA-Lösung zugetropft. Man erhitzt 3h unter Rückfluß und bricht die Reaktion durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung ab. Die organische Phase wird mit Ether ausgeschüttelt, getrocknet und eingeengt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 10:1 gereinigt. Man erhält ein Isomerengemisch aus 2S,4R-p-Menten-2-ol und 2R,4R-p-Menthen-2-ol.

Ausbeute: 118 mg (0,76 m mol) entsprechend 96 %, Lit: 82 % [49], farbloses Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

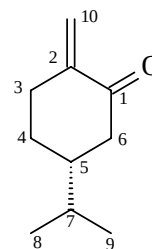
δ= 0.86 (6H, m, 2x CH₃); 0.89 (6H, m, 2xCH₃); 1.22-1.40 (3H, m); 1.65-1.80 (5H,m); 2.10-2.21 (6H, m); 2.40-2.45 (4H,m); 4.74 (1H,m); 4.76 (1H, m); 4.81 (1H, m); 4.90 (1H,m)ppm.

¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 19.79 (CH₃); 19.87 (CH₃); 19.99 (CH₃); 20.03 (CH₃); 30.02 (CH₂); 30.72 (CH₂); 30.94 (CH₂); 32.09 (CH); 32.46 (CH); 34.00 (CH₂); 37.20 (CH); 37.77 (CH₂); 40.80 (CH₂); 43.22 (CH); 73.02 (CH); 79.96 (CH); 103.88 (CH₂); 109.90 (CH₂); 151.54 (C); 152.95 (C)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 154 (6, M⁺), 136 (4); 121 (9); 111 (37); 109 (14); 107 (6); 98 (5); 97 (11); 96 (9=; 91 (40); 91 (18); 84 (27); 83, (42); 82 (44); 81 (21); 79 (21); 22 (20); 71 (14); 70 (30); 67 (51); 56 (14); 53 (20); 43 (100)

(5R)-2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanon:

10 µl (0,55 mmol) Wasser werden in 10 ml Dichlormethan durch starkes Rühren suspendiert. Das feuchte Dichlormethan wird langsam zu einer gerührten Lösung aus 65 mg (0,42 mmol) (1S,5R)- 2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol und (1R,5R)-2-Methyliden-5-(1-methylethyl)-cyclohexanol und 321 mg (0,502 mmol) Dess-Martin periodinan Reagenz gegeben . Man lässt 1h bei Raumtemperatur rühren. Es wird etwas Ether zum Verdünnen hinzugegeben, wobei eine Trübung auftritt. Man lässt eine weitere halbe Stunde rühren. Die organische Phase wird mit 30 ml eines 1:1 Gemisches aus 10 % Natriumthiosulfat und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet und eingeeengt.

Das Produkt ist extrem instabil und isomerisiert sehr leicht. Es wurde daher ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 59 mg (0,38 mmol) entsprechend 91 %, Lit: 95% [49], farblose Flüssigkeit

Charakterisierung:

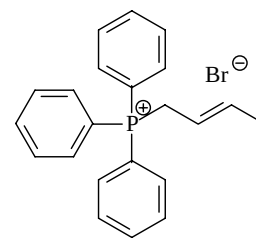
¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 0.86 (d,3H,H₈ oder H₉,J= 6,7 Hz, CH₃); 0.89 (d,3H,H₈ oder H₉,J= 6,7 Hz, CH₃); 1.25-1.76 (m,3H); 1.89 (m,1H); 2.10 (m,1H); 2.30-2.77 (m,3H); 5.13 (m,1H); 5.80 (m,1H) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 152 (11, M⁺); 121 (4); 109 (26); 95 (12); 82 (17); 81 (100); 80 (14); 79 (40); 69 (40); 68 (16); 67 (11); 55 (25); 54 (12); 53 (31); 43 (20); 41 (57); 39 (37)

2-Butenyltriphenylphosponiumbromid:



5,00 g (55 mmol) Crotonylchlorid werden in 15 ml abs. Toluol gelöst und mit 14,31 g (55 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Die Lösung wird unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß 24h erhitzt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit heißem Toluol nachgewaschen.

Ausbeute: 16,00 g (50 mmol) entsprechend 92 %, weißer Feststoff

Charakterisierung:

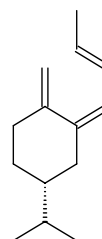
Schmelzpunkt: 211,3 °C

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 1.25 (m, 2H, CH₂); 1.45 (m, 3H, CH₃); 5.22 (m, 1H, CH); 5.55 (m, 1H, CH); 7.5-7.6 (m, 15H, H_{arom})ppm.

¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 18.72 (CH₂); 49.45 (CH₃); 119.68 (CH); 120.54 (CH); 131.79 (6x C_{arom}); 135.45 (6x C_{arom}); 136.77 (6x C_{arom})ppm.



2-[But-2-enyliden]-4-(1-methylethyl)-1-methylcyclohexan

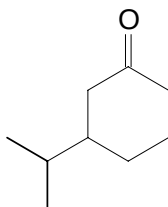
300 mg (0,9 mmol) 2-Butenyltriphenylphosponiumbromid werden in 20 ml abs. THF suspendiert. Bei -80 °C werden 0,58 ml (0,9 mmol) einer 1.6 M n-BuLi Lösung zugegeben. Nachdem die Lösung tiefrot wird, tropft man 161 mg (0,9 mmol) (5R)-2-Methyliden-5-isopropylcyclohexanon in 10 ml abs. THF hinzu. Die Lösung entfärbt sich und es wird 12h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von Eiswasser abgebrochen und mit Hexan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Ausfallendes Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert. Es entsteht ein Produktgemisch, in welchem zu einem kleinen Teil die gewünschte Verbindung enthalten ist. Die Isolierung einer Reinsubstanz gelang jedoch nicht.

Charakterisierung:

MS (EI, 70 eV):

m/z: 190 (20); 175 (5); 161 (1); 147 (15); 119 (23); 106 (100); 105 (80); 91 (86); 77 (22); 67 (6); 55 (22); 43 (60)

3-(1-Methylethyl)-cyclohexanon:



Zu einer Lösung aus 23 mg (0,2 mmol) TMEDA in 40 ml abs. THF wird bei Raumtemperatur 106 μ l (0,2 mmol) einer 1,9 M Zinkchloridlösung (angesetzt in abs. THF) gegeben. Der Ansatz wird 5 min bei Raumtemperatur gerührt und es werden 1,90 g (20 mmol) Cyclohex-2-enon hinzugefügt. Man kühlt auf -90°C und gibt 23 mmol Isopropylmagnesiumbromid (hergestellt aus 2,80 g 2-Brompropan und 0,50 g Magnesium) in 60 ml abs. THF innerhalb von 20 min hinzu. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktion sofort durch Zugabe von 100 ml Ammoniumchloridlösung abgebrochen. Die organische Phase wird abgetrennt, und die wässrige Phase wird dreimal mit Ether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Kugelrohrdestillation gereinigt.

Ausbeute: 2,11 g (15 mmol) entspricht 75 % des theoretischen (leicht gelbes Öl)

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 +TMS):

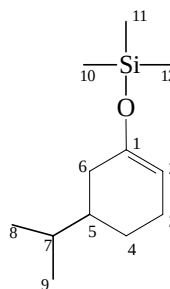
$\delta = 0.90$ (d,6H,2* CH_3); 1.30-1.80 (m,5H,2* CH_2 , CH); 1.88 (m,1H,CH); 1.90-2.43 (m,4H, 2* CH_2)ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (101MHz, CDCl_3 +TMS):

$\delta = 19.76$ (CH_3); 19.98 (CH_3); 25.91 (CH_2); 28.80 (CH_2); 32.91 (CH); 41.92 (CH_2); 45.71 (CH_2); 45,87 (CH); 213.11 ($\text{C}=\text{O}$)

MS (EI, 70 eV):

m/z: 140 (13, M^+); 97 (100); 82 (18); 69 (49); 55 (69); 41 (90)



1-(TBDMS)-5-(1-methylethyl)-cyclohexen:

Unter Argon wird zu 1 ml einer 2 M LDA-Lösung 1 ml abs. THF gegeben. Man kühlt auf -50°C und gibt zunächst eine Lösung aus 0,97 g (9 mmol) TMSCl in 2 ml abs. THF hinzu. Anschließend werden 280 mg (2 mmol) 3-Isopropylcyclohexanon in 2 ml abs. THF hinzugefügt. Nach einer Minute werden 2 ml abs. Triethylamin zugegeben. Es wird unter Erwärmen auf Raumtemperatur 12 h gerührt und die Reaktion durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonatlösung abgebrochen.

Die wässrige Phase wird mit Hexan ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird durch Destillation bei 110 °C im Wasserstrahlpumpenvakuum gereinigt.

Ausbeute: 336 mg (1,6 mmol) entspricht 79 % des theoretischen (farbloses Öl)

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 0.12 (m,9H, H₁₀/H₁₁/H₁₂,3*CH₃); 0.71 (m,6H,H₈/H₉,2*CH₃); 0.85-1.65 (m,6H,3*CH₂); 1.73 (m,1H,H₇,CH); 1.81 (m,1H,H₅,CH); 4.62 (m,1H,H₂,CH)ppm.

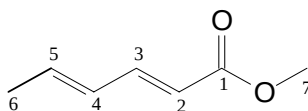
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 22.06 (CH₃); 23.59 (2xCH₃); 25.25 (CH₃); 25.80 (CH₃); 29.74 (CH); 31.83 (CH₂); 32.26 (CH₂); 33.46 (CH); 40.68 (CH₂); 149.99 (CH,C₂); 150.43 (C,C₁)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 212 (15, M⁺); 197 (10); 169 (38); 130 (70); 82 (31); 75 (61); 73 (100); 43 (39)

2,4-Hexadiensäuremethylester:



10,03 g (123 mmol) Sorbinsäure werden zusammen mit 14 ml (300 mmol) Methanol und 1 ml konz. Schwefelsäure 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung werden die Phasen getrennt, und die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether /Ethylacetat 5:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 11,00 g (87 mmol) entspricht 71 % des theoretischen (farblose Flüssigkeit)

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 1.85 (d,3H,J= 5.85 Hz,H₆,CH₃); 3.71 (m,3H,H₇,CH₃); 5.78 (d,1H,J= 15.26 Hz,H₂,CH); 6.11-6.21 (m,2H,H₃/H₄,2*CH); 7.25 (m,1H,H₅,CH)ppm.

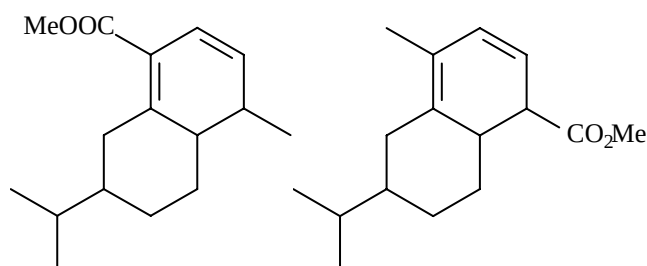
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 19.02 (CH₃, C₆); 51.79 (CH₃, C₇); 118.93 (CH); 130.16 (CH), 139.84 (CH); 145.57 (CH); 168.13 (C=O)ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 126 (32, M⁺); 111 (69); 95 (47); 67 (100); 65 (38); 55 (13); 41 (66); 39 (68)

5-Carbomethoxy-8-methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin +
8-Carbomethoxy-5-methyl-2-(1-methylethyl)-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphtalin



100 mg (0,5 mmol) 1-(TBDMS)-5-(1-methylethyl)-cyclohexen werden mit 100 mg (0,8 mmol) 2,4-Hexadiensäuremethylester ohne Lösungsmittel für 36 h auf 150 °C erwärmt. Die Reaktion wird mit Natriumhydrogencarbonatlösung beendet und das Produkt mit Hexan ausgeschüttelt.

Da sich die Produkte nicht vollständig trennen und reinigen ließen, konnte nur eine massenspektroskopische Charakterisierung erfolgen.

Ausbeute: 136 mg (0,4 mmol) entspricht 88 % des theoretischen

Charakterisierung:

MS (EI, 70 eV):

m/z: 308 (3); 265 (66); 201 (7); 176 (3); 169 (4); 157 (6); 147 (27); 133 (69); 117 (22); 91 (39); 79 (12); 75 (42); 73 (100); 59 (6); 55 (21); 45 (18); 41 (23)

Deblockierung und Eliminierung

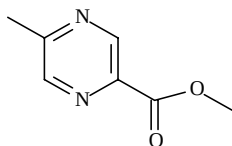
100 mg des Silylethergemisches werden in 4 ml Hexan gelöst und mit 4 ml 50%iger Schwefelsäure für 12h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonatlösung beendet und die wässrige Phase mit Hexan ausgeschüttelt, gewaschen, getrocknet und eingengt. Der gewünschte Carbonsäuremethylester ist entstanden, konnte aber aus dem Reaktionsgemisch nicht isoliert werden, so dass lediglich eine massenspektroskopische Charakterisierung möglich war.

Charakterisierung:

MS (EI, 70 eV):

m/z: 218 (15); 176 (16); 175 (32); 134 (22); 133 (100); 132 (12); 131 (85); 117 (11); 105 (25); 91 (63); 79 (15); 77 (15); 67 (17); 55 (13); 43 (12); 41 (29)

2-Methoxy-5-methylpyrazin:



700 mg (5 mmol) 5-Methylpyrazin-2-carbonsäure werden in 15 ml Methanol gelöst. Man gibt 0,2 ml (9 mmol) HCl hinzu und erhitzt 5 Stunden unter Zusatz von trockenem Molsieb am Wasserabscheider. Es wird mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingengt.

Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 5:1 als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 668 mg (4 mmol) entsprechend 88 %, orangener Feststoff

Charakterisierung:

Schmelzpunkt: 95,9 °C

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 2.61 (s, 3H, CH₃); 3.98 (s, 3H, CH₃); 8.52 (s, 1H, H_{arom}); 9.12 (s, 1H, H_{arom}) ppm.

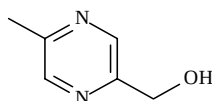
¹³C-NMR (101MHz, CDCl₃+TMS):

δ = 22.36 (CH₃); 53.39 (CH₃); 144.65 (CH_{arom}); 145.76 (CH_{arom}); 156.43 (C_{arom}); 158.31 (C_{arom}); 165.07 (C=O) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 152 (11, M⁺); 122 (22); 121 (31); 94 (100); 66 (32); 53 (26); 52 (22); 39 (43)

2-Hydroxymethyl-5-methylpyrazin:



Zu einer Lösung aus 200 mg (5 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 10 ml abs. THF wird eine Lösung aus 400 mg (3 mmol) 2-Carbomethoxy-5-methylpyrazin in 20 ml abs. THF getropft. Nach 3 h ist die Reaktion beendet und nicht umgesetztes Lithiumaluminiumhydrid wird mit Wasser hydrolysiert.. Der Reaktionsansatz wird alkalisch gemacht, und mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden gewaschen, getrocknet und eingengt.

Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 gereinigt.

Ausbeute: 341 mg (2,8 mmol) entsprechend 92 %, farblose Flüssigkeit

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 2.63 (s, 3H, CH₃); 3.54 (s, 2H, CH₂); 8.51 (s, 1H, H_{arom}); 9.12 (s, 1H, H_{arom}) ppm.

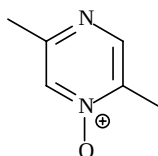
¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 23.10 (CH₃); 58.91 (CH₂); 144.66 (CH_{arom}); 145.76 (CH_{arom}); 158.98 (C_{arom}); 159.99 (C_{arom}) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 124 (100, M⁺); 123 (71); 95 (49); 93 (25); 68 (19); 67 (19); 66 (20); 55 (34); 52 (28)

2,5-Dimethylpyrazinmonooxid:



2,51 g (20 mmol) 2,5-Dimethylpyrazin in 40 ml Eisessig werden mit 9.70 g Perhydrol versetzt und 24 h auf 70 °C erwärmt. Anschließend wird der Reaktionsansatz auf 30 ml eingengt. Der gekühlte Rückstand wird alkalisiert und mehrmals mit Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Man löst den Rückstand in siedendem Chloroform, lässt abkühlen und filtriert ab.

Ausbeute: 1,96 g (15 mmol) entsprechend 77 %, Lit: 61 % [84], weißer Feststoff

Charakterisierung:

Schmelzpunkt: 107,4 °C

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 2.42 (s,3H,CH₃); 2.50 (s,3H,CH₃); 8.05 (s,1H,H_{arom}); 8.35 (s,1H,H_{arom})ppm.

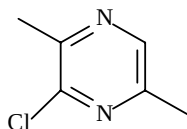
¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 12.34 (CH₃); 23,32 (CH₃); 131.98 (C_{arom}); 134.80 (C_{arom}); 142.34 (CH_{arom}); 146.48 (CH_{arom})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 124 (91, M⁺); 108 (16); 107 (49); 80 (72); 66 (26); 54 (12); 53 (18); 52 (16); 42 (42); 39 (100)

2-Chlor-3,6-dimethylpyrazin:



1,00 g (8 mmol) 2,5-Dimethylpyrazinmonooxid wird unter Kühlung und in kleinen Portionen zu 6 ml Phosphorylchlorid gegeben. Man erwärmt vorsichtig bis alles gelöst ist und erhitzt 2 h unter Rückfluß. Anschließend wird der Reaktionsansatz bis auf wenige ml eingengt, der Rückstand auf Eiswasser gegossen und mit NaOH alkalisiert. Man schüttelt mehrmals mit Chloroform aus und wäscht die vereinigten organischen Phasen, trocknet und engt ein.

Das erhaltene Rohprodukt wird durch Destillation im Vakuum gereinigt.

Ausbeute 280 mg (2 mmol) entspricht 25 % des theoretischen, farbloses Öl

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 2.54 (s,3H,CH₃); 2.68 (s,3H,CH₃); 8.21 (s,1H,H_{arom})ppm.

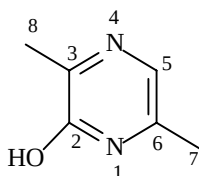
¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 21.37 (CH₃); 22.10 (CH₃); 141.93 (CH_{arom}); 148.12 (C_{arom}); 151.60 (2xC_{arom})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 143 (9, M⁺); 142 (100); 108 (7); 107 (96); 80 (44); 66 (13); 52 (13); 42 (43); 39 (43)

2-Hydroxy-3,6-dimethylpyrazin:



800 mg (6 mmol) 2-Chlor-3,6-dimethylpyrazin werden 18 h mit 8 ml 20 % iger NaOH-Lösung unter Rückfluß erhitzt. Es wird mit konz. HCl auf pH 7 eingestellt und das Reaktionsgemisch mit Toluol ausgeschüttelt. Die vereinigten Toluolphasen werden getrocknet und eingeeengt. Man reinigt das erhaltene Rohprodukt durch Umkristallisieren aus Toluol.

Ausbeute: 190 mg (2 mmol) entsprechend 33 %, Lit: 56% [86], zart gelbe Nadeln

Charakterisierung:

Schmelzpunkt: 209,1 °C

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 2.22 (s, 3H, H₇, CH₃); 2.35 (s, 3H, H₈, CH₃), 7.19 (s, 1H, H₅, H_{arom}) ppm.

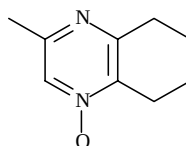
¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 16.43 (CH₃, C₇); 20.24 (CH₃, C₈); 123.11 (CH_{arom}, C₅); 134.82 (2* C_{arom}, C₃, C₆); 154,51 (C_{arom}, C₂) ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 124 (75, M⁺); 96 (37); 95 (100); 81 (10), 55 (25); 54 (34)

2,3-Diethyl-5-methylpyrazinmonooxid:



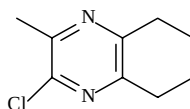
1.40 g (9 mmol) 2,3-Diethyl-6-methylpyrazin werden in Essigsäure gelöst und mit 3 ml H₂O₂ versetzt. Man erwärmt 17h auf 70 °C. Anschließend wird der Reaktionsansatz auf 30 ml eingeeengt. Der gekühlte Rückstand wird alkalisch gemacht und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet und bis zur Trockne eingeeengt. Man löst den Rückstand in siedendem Chloroform, lässt abkühlen und filtriert ab. Es entsteht ein Produktgemisch aus 2,3-Diethyl-6-methylpyrazin-1-monooxid und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin-1-monooxid. Die Verbindungen lassen sich säulenchromatographisch oder destillativ nicht voneinander trennen. Sie werden deshalb gemeinsam weiter umgesetzt.

Charakterisierung von 2,3-Diethyl-6-methylpyrazin-4-monooxid:

MS (EI, 70 eV):

m/z: 166 (28, M⁺), 149 (100); 134 (18); 133 (35); 121 (11); 66 (12); 56 (18); 39 (40)

2-Chlor-5,6-diethyl-3-methylpyrazin:

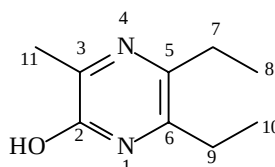


Ca. 1,50 g 2,3-Diethyl-6-methylpyrazin-4-monooxid wird unter Kühlung und in kleinen Portionen zu 6,75 ml Phosphorylchlorid gegeben. Man erwärmt vorsichtig bis alles gelöst ist und erhitzt 2 h unter Rückfluß. Anschließend wird der Reaktionsansatz bis auf wenige ml eingengt, der Rückstand auf Eiswasser gegossen und mit NaOH alkalisch gemacht. Man schüttelt mehrmals mit Chloroform aus und wäscht die vereinigten organischen Phasen, trocknet und engt ein. Man erhält ein Produktgemisch aus dem gewünschten 2-Chlor-5,6-diethyl-3-methylpyrazin und dem 2,3-Diethyl-6-methylpyrazin-1-monooxid. Die Verbindungen ließen sich nicht voneinander isolieren, so dass lediglich eine massenspektroskopische Charakterisierung möglich ist.

Charakterisierung von 2-Chlor-5,6-diethyl-3-methylpyrazin:

MS (EI, 70 eV):

185 (37, M⁺); 184 (100); 183 (81); 169 (67); 155 (23); 149 (12); 73 (15), 54 (26); 52 (27); 51 (27); 39 (91)



5,6-Diethyl-2-hydroxy-3-methylpyrazin:

570 mg (3 mmol) 2-Chlor-5,6-diethyl-3-methylpyrazin werden 4 h mit 2 g (50 mmol) gepulvertem, trockenem Natriumhydroxid auf 180 °C erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wird in Wasser gegeben und mit konz. HCl auf PH 8 eingestellt. Es wird mehrmals mit Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet und eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch zweimalige Sublimation im Ölpumpenvakuum bei 150 °C gereinigt.

Ausbeute: 100 mg (0,6 mmol) entspricht 20 % des theoretischen (feine, weiße Nadeln)

Charakterisierung:

Schmelzpunkt: 104,7 °C

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 1.10-1.18 (m, 6H, H₈/H₁₀, 2*CH₃); 2.28 (s, 3H, H₁₁, CH₃);

2.46-2.54 (m, 4H, H₇/H₉, 2*CH₂)ppm.

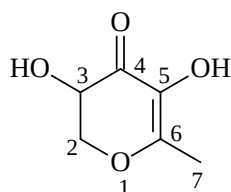
¹³C-NMR (101MHz, CD₃OD):

δ = 14.14 (CH₃, C₈ oder C₁₀); 14.79 (CH₃, C₈ oder C₁₀); 20.10 (CH₃, C₁₁); 23.56 (CH₂, C₇ oder C₉); 25.61 (CH₂, C₇ oder C₉); 134.50 (C_{arom}); 136.05 (C_{arom}); 153.79 (C_{arom}); 158.33 (C_{arom})ppm.

MS (EI, 70 eV):

m/z: 166 (53); 151 (13); 137 (19); 123 (100); 109 (9); 97 (15)

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)pyran-4-on:



Eine Mischung aus 18,00g (100 mmol) α-D-Glucose, 8,51 g (100 mmol) Piperidin und 75 ml Ethanol werden 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Im Anschluß werden 6 g Essigsäure in 15 ml abs. Ethanol zugegeben und die Reaktion 12h bei 90 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Dabei fallen unlösliche Piperidinreductone aus, welche abfiltriert werden. Es wird mehrmals mit Ethylacetat ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen gewaschen, getrocknet und eingeeengt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 5:1>reines Ethylacetat als Laufmittel gereinigt.

Ausbeute: 9,12 g (63 mmol) entspricht 63 % des theoretischen (hellbraune, leicht pastöse Flüssigkeit)

Charakterisierung:

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD):

δ = 2.05 (s, 3H, H₇, CH₃); 4.12 (dd, 1H, H_{2a}, ³J_{H_{2a}-H₃} = 9.78 Hz, ²J_{H_{2b}-H_{2a}} = 11.03 Hz, CH₂); 4.19 (dd, 1H, H₃, ³J_{H_{2a}-H₃} = 4.41 Hz, ³J_{H_{2b}-H₃} = 9.45 Hz, CH); 4.34 (dd, 1H, H_{2b}, ³J_{H_{2b}-H₃} = 4.73 Hz, ²J_{H_{2b}-H_{2a}} = 11.35 Hz, CH₂)

^{13}C -NMR (101MHz, CD_3OD):

δ = 19.78 (CH_3); 67.91 (CH); 71.53 (CH_2); 131.65 (C); 159.85 (C); 171.85 ($\text{C}=\text{O}$)

MS (EI, 70 eV):

m/z: 144 (19, M^+); 101 (17); 72 (23); 55 (19); 43 (100)

9 Literatur

1. Both, R., 1995, Odor regulations in Germany-a new directive an odor in ambientair, proceedings of an international speciality conderence. *Air and Waste Management Association*, Bloomington, MN
2. Geruchsimmissions-Richtlinie GIRLL: Feststellung und Beurteilung von Geruchseimmissionen, in der Fassung vom 13. Mai 1998 mit Begründung und Auslegungshinweisen in der Fassung vom 7. Mai 1999
3. Erste Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Bundes-Immissionsschutzgesetz Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft- TA-Luft vom 24. Juli 2002
4. Acree, T.E. GC/Olfactometry, *Analytical Chemistry News&Features*. March 1997, 170A-175A
5. Stahl, H.: What makes the coffee smells so good? *Chemtech*, 1995, 25, 38-47
6. Semmelroch, P., Grosch, W.: Studies on charakter impact odorants of coffee brews, *J. Agric.Food Chem.*, 1996, 44, 537-5
7. Hida, Y.; Matsumoto, M.; Kudo, K.: Identification of beverages by GC/MS using aroma components as indicators *Curr. Top. Forensic Sci. Proc. Meet. Int. Assoc Forensic Sci.* 1997, 4, 118-120 zitiert nach CA 129 (1998) 199003
8. Grosch, W.: Flavour of coffee, a review. *Nahrung*, 1998, 42, 344-350
9. Tago, I.: Application of gas sensor to quality control of heat-stored coffee. *Nippon Ajito Nioi Gakkaishi*5, 1998, 303-306; zitiert nach CA 130 (1999) 222279
10. Boatright, W.L.; Lei, Q.: Compounds contributing to the “beany” odor of aqueous solutions of soy protein isolates, *J.Food Sci*, 1999, 64, 667-670
11. Bücking, M., Steinhart, H., 2002 Headspace GC and sensorx analysis charakterization of the influence of different milk additives on the flavor release of coffee beverages., *J. Agric. Food chem.*, 50, 1529-1534
12. Mayer, F., Czerny, M., Grosch, W., 2000, Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage., *Eur.Food Res. Technol.*, 211, 272-276
13. Nijssen, L.M., Visscher, C.A., Maarse, H., Willemsens, L.C., Boelens, M.H. 1996. In: *Volatile Compounds in Foods. Qualitative and Quantitative Data*, 7th ed., TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, The Netherlands, 72.1-72.23.
14. Semmelroch; P., Grosch, W. 1996. Studies on character impact odorants of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 537-543.

15. Etievant, P.X.; Callement, G., Longlois, D. ; Issanchou, S ; Coquibus, V. : Odor intensity evaluation in gas chromatography olfactometry by finger-span method GC-O-FSCN. *J. Agric.Food Chem.* 1999, 47, 1673-1680
16. Pollien, P.; Fay, L.B.; Baumgartner , M.; Chaintreau, A.; *Anal. Chem.* 1999,71, 5391-5397
17. Attygalle, A.B.; Morgan, E.D.: Strukturbestimmung mit Nanogramm-Mengen durch Kombination mikrochemischer und gaschromatographischer Methoden am Beispiel von Pheromonen. *Angew.Chem.* 1988, 100, 475-493
18. Millar, I.G.; Hayns, K. (eds): *Methods in chemical Ecology*. Chapman & Hall, New York, 1998
19. Procida, A.; Conte, L.S.; Fiorasi, S.; Comi., Gabrielli-Favoretto, I.: Study on volatile components in salami by reverse carrier gas headspace gas chromatography-mass spectrometry, *J.Chromatogr.* 1999, A 830 , 175-182
20. Pawliszyn, J.: *Solid Phase Micro Extraction. Theory and Paractice*. Wiley-VCH, New York, 1997
21. Francke, W.; Semiochemicals: Mevalogenins in Systems of Chemical Communication in: *Perfumes: Art, Science and Technology*, P.M. Müller and D.Lamparsky (eds). Elsevier Applied Science, London 1991 61-99
22. Francke, W.; Schulz, S.: Pheromones, in: *Comprehensive Natural Product Chemistry*, Sir D. Barton and K. Nakanishi (eds), Elsevier 1999, Vol. 8, 197-261
23. Arora, G., Cormier, F., Lee, B. 1995. Analysis of odor-active volatiles in cheddar cheese headspace by multidimensional GC/MS/Sniffing. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 748-752.
24. Augustin, R.F., Bittner, H.-G., Klingenger, H., Wiesend, B. 2000. Volatile organic compounds from adhesives and their contribution to indoor air problems. *Gerstel AppNote* 8/2000, 1-7.
25. Etievant, P.X., Callement, G., Langois, D., Issanchou, S., Coquibus, N. 1999. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1673-1680.
26. Jordan, M.J., Margarina, C.A., Shaw, P.E., Goodner, K.L. 2003. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1421-1426.
27. Lee, S.-J., Noble, A.C. 2003. Characterization of odor-active compounds in californian chardonnay wines using GC-Olfactometry and GC-Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 8036-8044.

28. Pfannkoch, E., Whitecavage, J. 2000. Analysis of wet samples by direct thermal desorption GC. Gerstel AppNote 7/2000, 1-8.
29. Qian, M., Reineccius, G. 2002. Identification of aroma compounds in Parmigiano-Reggiano cheese by gas chromatography/olfactometry. *J. Dairy Sci.*, 85, 1362-1369.
30. Rabaud, N.E., Ebeler, S.E., Ashbaugh, L.L., Flocchini, R.G. 2002. The application of thermal desorption GC/MS with simultaneous olfactory evaluation for the characterization and quantification of odor compounds from a dairy. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5139-5145.
31. Ledl, F., Schnell, W., Severin, Th., *Z.Lebensm. Unters.-Forsch.*, 1976, 160, 367-370
32. van Loon, W., Linssen, J., Legger, A., Posthumus, M., Voragen, G., *Food Chem.*, 2005, 90, 417-425
33. MacLeod, G., Ames, J., *Flavour and Fragrance Journal*, 1986, 1, 91-104
34. MacLeod, G., Ames, J., *J.Food.Sciene.*, 1987, 52, 42-45
35. Kawamura, F., Kawamura, T., Toshimi, K., *Kaseigaku Zasshi*, 1983, 34, 387-391 (Abstract)
36. Chevance, F., Farmer, L., *J.Agric.Food Chem*, 1999, 47, 5151-5160
37. Teuscher, E., *Gewürzdrogen*, 2003, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, ISBN: 3-8047-1867-1
38. Kim, M., Baltes, W., *J.Agric.Food.Chem*, 1996, 44, 282-289
39. Shaw, E.P., Tatum, J.H., Berry, R.E., *Carbohydr.Res.*, 1967, 5, 266
40. *Lebensmitteltabelle für die Praxis*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2.Auflage, 1991

41. Schlegelmilch, M., Kleeberg, K., Streese, J., Stegmann, R., Geruchsmanagement in der Lebensmittelindustrie in Messung und Minimierung von Gerüchen, *Verlag abfall Aktuell*, Hamburger Berichte, 23, 185-201
42. The Wiley/NBS, Registry of Mass Spectral Data, John Wiley & Sons, N.Y., Chichester, Brisbane, Toronto, Signapore
43. T.S. Sorensen, S.M. Whitworth, *J.Am.Chem.Soc.*, 1990, 6647-6651
44. D.Dauzonne, N. Platzter, P.Demerseman, C.Lang, R.Royer, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1979, 506-514
45. C.G.Oppenlander, A.R.Day, *J.Org.Chem.*, 21,1956, 961-963
46. Escourrou, *Bull. Soc. Chim.*, 39, 1460, 1926
47. Aurell, M.,J., Mestres,R., Munoz, E., *Tetrahedron lett.*, 39, 1998, 6351-6354
48. Kilway, K.,V., Siegel,J.,S., *J.Am.chem.soc.*, Vol. 114, No 1, 1992, 255-260
49. Oppolzer,W., Flachsmann, F.,, *Helv.chim.Acta*, 2001, 84, 416
50. Dess, D., Martin, J., *J.Org.Chem*, 1983, 48, 4156
51. Francesconi, L., Granata, N., *Gazz.Chim.Ital.*, 1914, 150
52. Vedejs, E., Meier, G., Snoble, K., *J.Am. Chem.Soc*, 1981, 103, 2823-2831
53. Steiner, R., Michel, J., *J.Am.Chem.Soc.*, 1978, 27, 6413
54. Heathcock, C., Ellis, J., *Tetrahedron.Lett.*, 1971, 52, 4995-4996
55. LMBG §35 L 10.00-3, 1988-12: Bestimmung des Gehaltes von flüchtigen stickstoffhaltigen Basen (TVB-N) in Fischen und Fischereierzeugnissen, Referenzverfahren
56. Keener, K.M., Zhang, J., Bottcher, R.W., Munilla, R.D. 2002. Evaluation of thermal desorption for the measurement of artificial swine odorants in the vapor phase. *Transaction of the ASAE*, 45(5), 1579-1584.

57. Czerny, M., Schieberle, P., Maier, B., Riess, G., Gronauer, A., Schön, H., 2001, Identifizierung von Geruchsstoffen in der Schweinestall-Luft, *Landtechnik*, 5/2001,2-4
58. Yasuhara, A., Fuwa, K., Jimbu, M., 1984, Identification of odorous compounds in fresh and rotten swine manure, *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3001-3010
59. Freudenthal, K., Otterpohl, R., Behrendt, J. (2005): Absorption of odourous substances using selective gas-liquid separation processes, *Waste Management J.*, vol. 25, Elsevier, pp.975-984
60. Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. 2001. Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag 2001, 5. Auflage.
61. Flament, I. 1989. Coffee, Cocoa, and Tea. *Food Rev. Int.*, 5: 617-669.
62. Adams, T. B., J. Doull, V. J. Feron, J. I. Goodman, L. J. Marnett, I. C. Munro, P. M. Newberne, P. S. Portoghese, R. L. Smith, W. J. Waddell, and B. M. Wagner. 2002. The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Food Chem. Toxicol.* 40: 429-451.
63. Beck, H. C., A. M. Hansen, and F. R. Lauritsen. 2003. Novel pyrazine metabolites found in polymyxin biosynthesis by *Paenibacillus polymyxa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 220: 67-73.
64. Wagner, R., M. Czerny, J. Bielohradsky, and W. Grosch. 1999. Structure-odour-activity relationships of alkylpyrazines. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.* 208: 308-316.
65. Woolfson, A. and M. Rothschild. 1990. Speculating about pyrazines. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 242. 113-119.
66. Grosch, W. 2001. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments aroma models and omission. *Chem. Senses.* 26: 255-545.
67. Rappert, S., and R. Müller. 2005, Odor compounds in waste gas emissions from agricultural operations and food industries. *Waste Manage.* 25: (in press).
68. MacDonald, J. C. 1973. Toxicity, analyses, and production of aspergillilic acid and its analogues. *Can. J. Biochem.* 51: 1311-1315.
69. Van Scoy, R. E., and C. J. Wilkowske. 1992. Antituberculous agents. *Mayo Clin. Proc.* 67: 179-187.

70. Kim, N. D., M. K. Kwak, and S. G. Kim. 1997. Inhibition of cytochrome P450 2E1 expression by 2-(allylthio) pyrazine, a potential chemoprotective agent: Hepatoprotective effects. *Biochem. Pharmacol.* 53: 261-269.
71. Baker, R., J. Saunders, and L. J. Street. 1989. Pyrazines, pyrimidines and pyridazines useful in the treatment of Senile Dementia. *European Patent Appl.* 0327155.
72. Brown, D. J. 2002. The Pyrazines Supplement I. John Wiley & Sons Inc., New York.
73. Tinschert, A., A. Kiener, K. Heizmann, and A. Tschech. 1997. Isolation of new 6-methylnicotinic-acid-degrading bacteria, one of which catalyses the regioselective hydroxylation of nicotinic acid at position C2. *Arch. Microbiol.* 168: 355-361.
74. Street, L. J., R. Baker, T. Book, A. J. Reeve, J. Saunders, T. Willson, R. S. Marwood, S. Patel, and S. B. Freedman. 1992. Synthesis and muscarinic activity of quinuclidinyl- and (1-azanorbornyl) pyrazine derivatives. *J. Med. Chem.* 35: 295-305.
75. Wieser, M., K. Heinzmann, and A. Kiener. 1997. Bioconversion of 2-cyanopyrazine to 5-hydroxypyrazine-2-carboxylic acid with *Agrobacterium* sp. DSM 6336. 48: 174-176.
76. Maarse, H. 1991. Volatile compounds in food and beverages. Marcel Dekker, Inc., New York.
77. Grosch, W. 1993. Detection of potent odorants in foods by aromaextract dilution analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 4: 68-73.
78. Grosch, W. 1994. Determination of potent odorants in food by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). *Flavour Fragrance J.* 9: 147-158.
79. Ranau, R., H. Steinhart. 2004. Bewertung und Quantifizierung von Leitsubstanzen aus der geruchstragenden Abluft von Lebensmittelbetrieben und der Ferkelaufzucht. Erfassung und Minimierung von Gerüchen, p. 147-165. In B. Niemeyer, A. Robers, and P. Thiesen (ed.), Messung und Minimierung von Gerüchen, *Hamburger Berichte 23*, Verlag Abfall aktuell, Stuttgart, Germany.
80. Kiener, A. 1992. Enzymatic oxidation of methyl groups on aromatic heterocycles: A versatile method for the preparation of heteroaromatic carboxylic acids. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 31: 774-775.
81. Tinschert, A., A. Tschech, K., Heinzmann, and A. Kiener. 2000. Novel regioselective hydroxylations of pyridine carboxylic acids at position C2 and pyrazine carboxylic acids at position C3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53: 185-195.
82. Matthey, M., and E. M. Harle. 1976. Aerobic metabolism of pyrazine compounds by a *Pseudomonas* species. *Biochem. Soc. Trans.* 4: 492-494.
83. Sato, N., Kato, Y., Studies on Pyrazines A Convenient Synthesis of 2,5-Dihydroxypyrazines, *J. Heterocyclic.Chem.* 23, 1677, 1986

84. Ohta, A., Akita, Y., Hara, M., Syntheses and Reactions of Some 2,5-Disubstituted Pyrazine Monooxides, *Chem. Pharm. Bull.*, 27 (9), 2027-2041, 1979
85. Baxter, A., R., Spring, F., S., Pyrazine Derivatives. Part III Conversation of Diketopiperazines into Pyrazine Derivatives. Synthesis of 2-Hydroxy-3,6-di-*sec*-butylpyrazine from isoLeucine, *J. Chem. Soc.*, 1947, 1179-1183
86. Uchimaru, F., Okada, S., Kosasayama, A., Konno, T., Mass Spectra of Pyrazine N-Oxides. Studies on Pyrazine Derivatives, *J. Heterocyclic Chem.*, 1971, 8, 99-10
87. Adachi, J., Nobuhiro, S., The Syntheses of 2,5-Dihydroxypyrazines and Their Derivatives, *J. Heterocyclic Chem.*, 23,871,1986
88. Fetzner, S. 1998. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline, and their derivatives under different redox conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 237-250.
89. de Wever, H., K. Vereecken, A. Stolz, and H. Verachtert. 1998. Initial transformations in the biodegradation of benzothiazoles by *Rhodococcus* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3270-3274.
90. Schröder, T., G. Schuffenhauer, B. Sielaff, and J. R. Andreesen. 2000. High morpholine degradation rates and formation of cytochrome P450 during growth on different cyclic amines by newly isolated *Mycobacterium* sp. strain HE5. *Microbiology.* 146: 1091-1098.
91. Cain, R. B., and G. K. Watson. 1975. Microbial metabolism of the pyridine ring: Metabolic pathways of pyridine biodegradation by soil bacteria. *Biochem. J.* 146: 157-172.
92. Kaiser, J. P., Y. Feng, and J. M. Bollag. 1996. Microbial metabolism of pyridine, quinoline, acridine, and their derivatives under aerobic and anaerobic conditions. *Microbial Rev.* 60: 483-498.
93. Tinschert, A., A. Kiener, K. Heizmann, and A. Tschech. 1997. Isolataion of new 6-methylnicotinic-acid-degrading bacteria, one of which catalyses the regioselective hydroxylation of nicotinic acid at position C2. *Arch. Microbiol.* 168: 355-361.
94. van de Ouweland, G.A.M., Peer., *Synthetic Comm.*, 1971, 1(2), 111-112
95. Cazeau, P., Duboudin, F., Moulines, F., Babot, O., Dunogues, J., *Tetrahedron Vol 43, No.9*, 2075-2088, 1987
96. Corey, E., J., Gross, A., W., *Tetrahedron Letters.*, Vol.25, No.5, 495-498, 1984
97. Jansen, J., F., G., A., Feringa, B., L., *J.Org.Chem.*, 1990, 55, 4168-4175
98. Jansen, J., F., G., A., Feringa, B., L., *J.Chem.Soc, Chem. Commun.*, 1998, 741-742

99. Kijonaa, R.,A., Vawter, E.J., J.Org. Chem. 1986, 51, 3993-3996
100. Jansen, H.,F.,G.,A., Feringa, B.,L., Tetrahedron Letters, Vol. 29, No.29, 3593-3596,1988
101. van Temden, E., Gladysz, J., J. Am. Chem.Soc., 1974, 5290-5291

10 Sicherheitsdaten

Substanzname	Gef-Symb.	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	Xi,F	11-36-66-67	(2-)9-16-26
Acylsäure	C,N	10-20/21/22-35-50	26-36/37/39-45-61
Ammoniumchlorid	Xn	22-36	22
Aluminiumchlorid	C,	34	7/8-28.1-45
Anisaldehyd	Xi	36/37/38	23-24/25
Benzol	F,T	45-11-48/23/24/25	53.1-45
<i>n</i> -Buthyllithium	Xn,F,C	11-14/15-17-34-48/20	16-26-45-36/37/39-61-62
Bromethan	F,Xn	11-20/22-40	36/37
2-Brompropan	F,T	60-11-E48/20-66	53-16-45
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
<i>m</i> -Chlorperbenzoesäure	Xi,O	5-8-36/37/38	3/7-14-10-36/37/39
2-Cyclohexen-1-on	T	10-22-23/24	36/37-45
Crotonylchlorid	C	10-34-37	26-36/37/39-45
Diethyladipiat			25
Diethylether	F+,Xn,N	11-19-22-66-67	9-16-29-33
Dichlormethan	Xn	40	22-24/25-36/37
2,3-Dimethylcyclohexanol			24/25
2,5-Dimethylpyrazin	Xn,	22	
2,3-Diehyl-5-methylpyrazin	Xn,	22	
Dess-Martin-Perjodan		20/21/22-36/37/38	26-36
Ethylacetat	Xi,F	11-36-66-67	16-26-33
Ethanol	F	11	7-16
Essigsäure	C	10-35	23-36-45
Essigsäureanhydrid	C	10-20/22-34	26-36/37/39-45
Hexan	F,N,Xn	11-38-48/20-51/53	9-16-29-33-36/37
		-62-65-67	-61-62
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
Lithiumdiisoproylamid	F,C,N	11-34-50/53-67	16-26-36/37/39-45-61
(<i>R</i>)-(+)-Limonen	Xi,N	10-38-43-50/53	24-37-60-61
Magnesiumspäne	F	15-17	7/8-43.6
Methylmagnesiumchloridlsg.(20%)	F,C	10-14-34	26-36/37/38-45
Methanol(_d 4)	F,T	11-23/24/25-39/23	7-16-36/37-45
		/24/25	
6-Methyl-5-hepten-2-on		10	16
5-Methylpyrazin-2-carbonsäure	Xi	36/37/38	25-37/39
Natronlauge	C	35	26-37/39-45
Oxalylchlorid	T,F,C	15-3-23/24/25-34-37	26-36/37/39-45
Pentamethylcyclpentadien	F,	10	
Phosphorsäure	C,	34	26-36/37/39-45
Pyridin	F,Xn	11-20/21/22	26-28
Pyridiniumdichromat	CatII,T,N	49-43-50/53	53-45-60-61
Pentan	F+,Xn,N	12-51/53-65-66-67	9-16-29-33-36/37

Petrolether	F,Xn,N	11-38-48/20-51/53-62-65-67	16-23.2-24-33-36/37-61-62
Perhydrol	C	34	3-26-36/37/39-45
Phosphorylchlorid	T,C		7-8-26—36/37/39-45
Piperidin	F,T	11-23/24-34	16-26-27-45
Schwefelsäure	C	35	26-60-45
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Silbernitrat	C,N	34-50/53	26-45-60-61
Sorbinsäure	Xi	36/37/38	22-24/25
Tetrahydrofuran	F,Xi	1-19-36/37	16-29-33
Tetramehtylsilan	F+	12-9-16-29-43.3	
Trimethylsilylchlorid	F,C	11-14-35	16-25-30-36/37/39-45
2,4,4-Trimehtylcyclopentanon		10	16
Toluol	Xn,F	11-20	16-25-29-33
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	Xi,F	36/37/38	26-37
Triethylamin	F,C	11-20/21/22-35	(1/2)3-16-26-29-36/37/39-45
Triphenylphosphin	Xn	21/22-52/53	22-36/37-61
Tetramethylethylendiamin	F+,C	11-20/22-34	16-26-36/37/39-45
Zinkchlorid	C,N	34-50/53	7/8-28.1-45-60-61

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet zu haben.

Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut (wasserfrei)
COSY	correlated spectroscopy
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigester
et al.	und weitere
eV	Elektronenvolt
FD	Filmdicke
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatograph
ges.	gesättigt
ID	Innendurchmesser
J	Kopplungskonstante
m	Multiplett
MCPA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
MS	Massenspektrum
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Buthyllithium
NMR	Kernmagnetische Resonanz
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PE	Petrolether
q	Quartett
rt	Retentionszeit
s	Singulett
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan

