

DISSERTATION

ORTHONASALE AROMAWAHRNEHMUNG VON MILCHHALTIGEN KAFFEEGETRÄNKEN - EINFLUSS DER MILCHTECHNOLOGIE AUF DAS AROMA

Zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

aus dem
Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie
- Abteilung Lebensmittelchemie –
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Marijana Parat Wilhelms
aus Hamburg

Hamburg 2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom August 2001 bis Dezember 2004 unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, an der Universität Hamburg angefertigt.

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Steinhart
- 2. Gutachter: Prof. Dr. Bisping

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 24.05.2007

Danksagung

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart für die Überlassung des Themas und die Betreuung.

Herrn Prof. Dr. B. Bisping danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Ein besonderer Dank geht an Herrn Matthias Denker, Frau Geertje Denker, Frau Jana Paucke und den Teilnehmern des Sensorikpanels, die tatkräftig am Gelingen der Arbeit mitgewirkt haben.

Bei Frau Dr. A. Luger möchte ich mich für die kompetente Unterstützung und Hilfe bei der Koordinierung der Projektsitzungen bedanken.

Bei Herrn Dr. W. Hoffmann (Institut für Chemie und Technologie der Milch, Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Kiel) und Herrn Dr. J. Wilkens (Fa. Tchibo Frisch-Röst-Kaffee-GmbH, Hamburg) möchte ich mich für die Bereitstellung des Untersuchungsmaterials bedanken.

Für die finanzielle Unterstützung des Forschungsprojektes möchte ich mich bei dem Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich all denen danken, die stets an mich geglaubt und mich unterstützt haben. Besonders Markus Wilhelms.

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent	GC	Gaschromatographie
α	Irrtumswahrscheinlichkeit	GC/O	GC/Olfaktometrie
°C	Grad Celsius	GMP	Glycomakropetid
μg	Mikrogramm	h	Stunde
μL	Mikroliter	ID	Innendurchmesser
abs.	absolut	ISO	International Organisation for Standardization
AEVA	Aromaextrakt-verdünnungsanalyse	k.A.	keine Angabe
AVA	Aromaverdünnungsanalyse	KAS	Kaltaufgabesystem
BSA	bovine serum albumine (Rinderserumalbumin)	kD	Kilo-Dalton
BFEL	Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel	KG	Kaffeegetränk
BVL	Bundesverband des deutschen Lebensmittelhandel	kg	Kilogramm
bzw.	beziehungsweise	kPa	Kilopascal
c	Konzentration	L	Liter
ca.	circa	m	Meter
ccm	Kubikzentimeter	m/z	Masseladungsverhältnis
CHARM	combined hedonic and response measurement	mg	Milligramm
cm	Zentimeter	min	Minuten
d[3,2]	Oberflächenbezogener mittlerer Partikeldurchmesser	mL	Milliliter
d[4,3]	Volumenbezogener mittlerer Partikeldurchmesser	mm	Millimeter
d.h.	das heißt	MS	Milchsalze
DHS	dynamische Headspace	MSD	Massenselektiver Detektor
DIN	Deutsche Industrie Norm	NL	Normliter
DMDS	Dimethyldisulfid	nm	Nanometer
EI	Elektronenstoßionisation	NMR	'nuclear magnetic resonance'
eV	Elektronenvolt	Nr.	Nummer
Fa.	Firma	NRa	Nichtraucher
FD-	Flavour Dilution Faktor	O/W	Öl in Wasser(Emulsion)
FID	Flammenionisationsdetektor	OBS	Oral Breath Sampler / Sampling
g	Gramm	P	pasteurisiert
R	Rekombinat	PC	Personal Computer
		RI	Retentionsindex

Abkürzungsverzeichnis

Rt	Retentionszeit	TDS	Thermodesorptionssystem
S	sterilisiert	TM	Trockenmasse
s	Sekunde	U	Umdrehung
s.	siehe	UF	Ultrafiltration
SHS	statische Headspace	UHT	ultrahocherhitzt
Skt	Skalenteile	vgl.	vergleiche
SP	Sniffing-Port	w	weight - Gewicht
SPE	Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion)	W	weiblich
t	Zeit	W/O	Wasser in Öl(-Emulsion)
T	Temperatur	z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2. ALLGEMEINER TEIL	3
2.1 Milch	3
2.1.1 Milchlipide	5
2.1.2 Milchproteine	8
2.1.2.1. Caseine	9
2.1.2.2. Molkenproteine	13
2.1.3 Kohlenhydrate der Milch	14
2.1.3.1. Lactose	14
2.1.3.2. Lactulose.....	15
2.2 Bearbeitung der Milch	16
2.2.1 Effekte der Temperatur und der Hochdruckbehandlungen auf strukturelle Eigenschaften der Proteine und des Fettes aus der Milch	19
2.2.2 Erfassung der thermisch induzierten chemischen Veränderungen bei flüssigen Milchprodukten	22
2.3 Geruch und Geschmack der Milchprodukte	23
2.4 Kaffee	24
2.4.1 Aromastoffe im Kaffee	24
2.5 Aromastoffe und Aromastoffwahrnehmung	26
2.5.1 Grundlage der Wechselwirkungen von Milchinhaltsstoffen mit den Kaffeearomastoffen	27
2.6 Problemstellung	28
3. MATERIAL UND METHODEN	31
3.1 Untersuchungsmaterial	31
3.1.1 Kaffee	31
3.1.2 Milchezusätze	33
3.1.2.1. Milchprodukte.....	33
3.1.2.2. Milchkomponenten.....	33
3.1.2.3. Rekombinierte Milchprodukte	35
3.1.2.4. Variation der Homogenisierung	39
3.1.2.5. Variation der Erhitzung	45
3.2 Methoden der Aromastoffanalytik	48

3.2.1 Isolierung der Aromastoffe.....	49
3.2.1.1. Extraktionsmethoden	49
3.2.1.2. Headspace Methoden.....	49
3.2.1.3. Aromafreisetzung im Nasenraum oder der Mundhöhle	51
3.2.2 Methoden zur Isolierung der Aromastoffe.....	52
3.2.2.1. Externe dynamische Headspace	52
3.2.2.2. Externe statische Headspace	54
3.2.3 Identifizierung der Aromastoffe.....	55
3.2.4 Methoden zur Identifizierung der Aromastoffe.....	57
3.2.5 Sensorische Relevanz der Aromastoffe	58
3.2.6 Sensorik.....	62
3.2.6.1. Schulung der Sensorik - Prüfer	63
4. ERGEBNISSE	66
4.1 Milchkomponenten	66
4.1.1 Sensorische Untersuchungen.....	66
4.1.1.1. Vorversuche mit Lactose	66
4.1.1.2. Modelluntersuchungen mit Casein, Molkeproteinen und Milchfett.....	66
4.1.2 Chemische Untersuchungen	76
4.1.2.1. Externe dynamische Headspace (DHS) – GC/FID-O (CHARM).....	76
4.1.2.2. Externe dynamische Headspace (DHS) – GC / MSD	78
4.1.2.3. Externe statische Headspace (SHS) – GC / MSD	85
4.2 Rekombinate	89
4.3 Variation der Homogenisierung	93
4.3.1 Externe statische Headspace (SHS) – GC/MSD	94
4.4 Variation der Erhitzung	98
4.4.1 Externe statische Headspace (SHS) – GC/MSD	98
5. DISKUSSION	102
5.1 Isolierung der Aromastoffe.....	102
5.1.1 Externe Dynamische Headspace	103
5.1.2 Externe Statische Headspace	104
5.2 Identifizierung der Aromastoffe	104
5.2.1 Modifizierte CHARM-Analyse	106

5.3 Einflüsse auf die Aromafreisetzung beim Röstkaffee	107
5.3.1 Milchkomponenten und Milchrecombineate	107
5.3.2 Variation der Homogenisierung und der Erhitzung	110
5.4 Sensorik	115
5.4.1 Einfluss der Milchezsätze	117
5.4.1.1. Milchkomponenten.....	117
5.4.1.2. Milchprodukte.....	118
6. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	120
7. ANHANG	124
7.1 Kaffee	124
7.2 Herstellung der Milchkomponenten und Bearbeitung der Milch	124
7.2.1 Milchkomponenten.....	124
7.2.2 Rekombinierte Milchprodukte	129
7.2.3 Herstellung der doppelt homogenisierten Milchproben	130
7.3 Geräteparameter	131
7.4 Arbeitsmethoden	135
7.4.1 Zubereitung des Kaffeegetränkes.....	135
7.4.2 Durchführung der externen DHS	135
7.4.3 Durchführung der externen SHS	135
7.5 Messergebnisse	136
7.5.1 Temperatur der Kaffeegetränke.....	136
7.5.2 pH-Werte der Kaffeegetränke.....	137
7.5.3 Identifizierung der Aromastoffe im Kaffeegetränk.....	138
7.5.4 Berechnung des Retentionsindizes	142
7.5.5 Messergebnisse Sensorik.....	143
7.5.6 Messergebnisse CHARM	144
7.5.7 Messergebnisse DHS	145
7.5.8 Messergebnisse SHS	147
7.6 Sensorik	149
7.6.1 Prüfformulare	149
7.7 Chemikalien	151
8. LITERATUR	152

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Gleichgewichtes zwischen der molekular-dispersen, der kollide-dispersen und der grob-dispersen Phase in Milch (Schlimme und Buchheim, 1995).....	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung der mittleren Zusammensetzung (Gew.%) der Milch	4
Abbildung 3: Modell für den Aufbau der Caseinmicellen (nach Rollema, 1992)	10
Abbildung 4: Strukturformel von Lactose.....	14
Abbildung 5: Strukturformel von Lactulose.....	15
Abbildung 6: Fließschema für die Milcherhitzung.....	17
Abbildung 7: Schematische Darstellung eines zweistufigen Homogenisierventils	18
Abbildung 8: Berechnungsbeispiel für ca. 1 Liter rekombinierte Vollmilch mit 3,5 % Fett.....	37
Abbildung 9: Volumenbezogene Fettkugelverteilungen bei pasteurisierter rekombinierter und Handels-Vollmilch	37
Abbildung 10: Vollmilch-Rekombinate mit unterschiedlichen Caseingehalten	38
Abbildung 11: Partikelverteilung bei ein- und zweimal homogenisierter und pasteurisierter Vollmilch.....	39
Abbildung 12: Partikelverteilungen bei unterschiedlich homogenisierter fettarme Milch	40
Abbildung 13: Zweifache Homogenisierung und Pasteurisierung von fettarme Milch.....	42
Abbildung 14: Partikelverteilung bei je doppelt homogenisierter und pasteurisierter fettarme Milch.....	43
Abbildung 15: Zweimal hintereinander homogenisierte und dann pasteurisierte fettarme Milch.....	44
Abbildung 16: Partikelverteilung bei zwei Varianten von zweimal homogenisierter fettarme Milch.....	44
Abbildung 17: Partikelverteilungen bei fettarmen Milchproben mit unterschiedlichem Caseingehalt	45
Abbildung 18: Herstellung von thermisch unterschiedlich behandelte fettarme Milch.....	46
Abbildung 19: Partikelverteilung bei thermisch unterschiedlich behandelte, einmal homogenisierter fettarme Milch.....	47
Abbildung 20: Übersicht über die Methoden der Aromastoffanalytik (* in modifizierter Form verwendet)	48
Abbildung 21: Schematische Darstellung der Headspace-Methoden	51
Abbildung 22: Glasgefäß für die externe dynamische Headspace.....	54
Abbildung 23: Purgegefäß für die externe statische Headspace	55
Abbildung 24: Aromaprofile – Modelluntersuchungen mit Casein	67

Abbildung 25: Aromaprofile – Modelluntersuchungen mit Molkenprotein	69
Abbildung 26: Aromaprofile - Modelluntersuchungen mit Milchfett	70
Abbildung 27: Aromaprofil-Kaffeegetränk mit Zusatz von pasteurisierten Milchprodukten ...	72
Abbildung 28: Aromaprofil - Kaffeegetränk mit Zusatz von Vollmilchprodukten	73
Abbildung 29: Aromaprofil - Kaffeegetränk mit Zusatz von fettarmen Milchprodukten.....	74
Abbildung 30: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Caseinzusätzen ...	76
Abbildung 31: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Molkenproteinzusatz (DHS)	77
Abbildung 32: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Milchfettzusatz.....	77
Abbildung 33: DHS - Aldehyde / Ketone bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)	80
Abbildung 34: DHS - Pyrazine bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)	81
Abbildung 35: DHS - Furane bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	81
Abbildung 36: DHS - Diverse Substanzen bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	82
Abbildung 37: DHS - Pyrazine bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	83
Abbildung 38: DHS - Aldehyde / Ketone bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	83
Abbildung 39: DHS - Furane bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	84
Abbildung 40: DHS – Diverse Substanzen bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	85
Abbildung 41: SHS – Aldehyde / Ketone bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	86
Abbildung 42: SHS - Pyrazine bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	87
Abbildung 43: SHS - Furane bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	87
Abbildung 44: SHS – Diverse Substanzen bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)	88
Abbildung 45: DHS – Aldehyde und Ketone bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)	90
Abbildung 46: DHS - Pyrazine bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in	

Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)	91
Abbildung 47: DHS – Furane bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)	91
Abbildung 48: DHS – diverse Verbindungen bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0%)	92
Abbildung 49: SHS - Pyrazine bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)	94
Abbildung 50: SHS – Aldehyde und Ketone bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)	95
Abbildung 51: SHS - Furane bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)	96
Abbildung 52: SHS – Diverse Substanzen bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)	97
Abbildung 53: SHS - Pyrazine bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahocherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	98
Abbildung 54: SHS – Aldehyde und Ketone bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahocherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	99
Abbildung 55: SHS - Furane bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahocherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	100
Abbildung 56: SHS – diverse Verbindungen bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahocherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)	101
Abbildung 57: Schematische Darstellung der Sekundärmembran (Walstra und Jenness, 1984)	114
Abbildung 58: Oberfläche einer Fettkugel mit sekundärer Membran, elektronenmikroskopische Aufnahme (Buchheim, 1988)	114
Abbildung 59: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an micellarem Casein	125
Abbildung 60: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an nativem Molkenprotein	126

Abbildung 61: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an nativem Molkenprotein.....	127
Abbildung 62: Herstellung von emulgiertem eiweißarmem Milchfett.....	128
Abbildung 63: Herstellung von rekombinierter Vollmilch	129
Abbildung 64: Partikelverteilung bei fettarmer homogenisierter und pasteurisierter Milch..	130
Abbildung 65: GC/FID-Chromatogramm des Kaffeegetränks mit 20 % Wasser (DHS)	133
Abbildung 66: GC/ MSD-Chromatogramm des Kaffeegetränks mit 20 % Wasser (SHS) ..	134
Abbildung 67: Temperaturverläufe bei Kaffeegetränken mit Zusatz von 50 %, 100 % Vollmilch und 100 % Wasser	136
Abbildung 68: Temperaturverläufe bei Zugaben von je 30 g Wasser, Molkenprotein- (0,6 g in 30 g) und Caseinlösung (2,7g in 30 g).....	137
Abbildung 69: Prüfformular für die Dreiecksprüfung.....	149
Abbildung 70: Prüfformular für die Profilprüfung	150
Abbildung 71: Aromaprofile - Vorversuche mit Caseinzusätzen	151

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung des Gesamtfettes der Kuhmilch (Schlimme und Buchheim, 1995).....	5
Tabelle 2: Mittlere Fettsäurezusammensetzung des Milchfettes (Schlimme und Buchheim, 1995).....	6
Tabelle 3: Zusammensetzung der Fettkugelmembranen aus Kuhmilch (Schlimme und Buchheim, 1995).....	7
Tabelle 4: Milchproteine.....	8
Tabelle 5: Mittlere Konzentrationsbereiche an Lactulose in Konsummilch (Schlimme und Buchheim, 1995).....	16
Tabelle 6: Änderungen der Partikelgröße, des Volumens und der Viskosität der Caseinmicellen durch Assoziierung von Molkenproteinen zwischen pH 6.5 und 6.7 bei Magermilchproben, die bei 90°C für 30 Minuten erhitzt wurden (Anema und Li, 2003a)	21
Tabelle 7: Identifizierte Aromastoffe des Röstkaffees (Grosch, 1996)	25
Tabelle 8: Arten der Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen und Lipiden, Proteinen und Kohlenhydraten aus Lebensmitteln (Kinsella, 1990).....	28
Tabelle 9: Übersicht der praktischen Durchführung zur Erreichung der Problemlösung	30
Tabelle 10: Kaffeebohnen–Daten aus Muster Röstungen auf Bambi-Röster (Fa. Tchibo, Hamburg).....	31
Tabelle 11: Gehalte an Milchfett, Caseinen und Molkenproteinen in verschiedenen Milchprodukten (Hoffmann, 2002).....	34
Tabelle 12: Zugabemengen verschiedener Milchprodukte zu 150g Kaffeegetränk (geschätzt)	35
Tabelle 13: Gehalt der Milchkomponenten im milchhaltigen Kaffeegetränk (Kaffeeanteil 150g).....	35
Tabelle 14: Verwendete Zugabemengen der Milchinhaltsstoffe zu 150g Kaffeegetränk	35
Tabelle 15: Zusammensetzung der synthetischen Milchsatzlösung nach Jenness und Koops (1962).....	36
Tabelle 16: Übersicht über die verwendeten Rekombinate	38
Tabelle 17: Berechnung der Fettkugeloberfläche bei ausgewählten Milchproben	41
Tabelle 18: Übersicht über die wichtigsten Aromastoffe im Kaffeegetränk.....	58
Tabelle 19: Leitsubstanzen für die CHARM-Analyse.....	61
Tabelle 20: Homogene Untergruppen zu Abbildung 24.....	68
Tabelle 21: Homogene Untergruppen zu Abbildung 25.....	69

Tabelle 22: Homogene Untergruppen zu Abbildung 26.....	70
Tabelle 23: Homogene Untergruppen zu Abbildung 27.....	72
Tabelle 24: Homogene Untergruppen zu Abbildung 28.....	73
Tabelle 25: Homogene Untergruppen zu Abbildung 29.....	75
Tabelle 26: Messergebnisse der Farbintensitäten.....	75
Tabelle 27: Übersicht über die mit DHS mittels GC / MS untersuchten Substanzen.....	78
Tabelle 28: Überblick über die Milchprodukte zu den Homogenisierungsversuchen	93
Tabelle 29: Volumen- u. oberflächenbezogene Mittelwerte der Fettkugelverteilungen in Vollmilch.....	130
Tabelle 30: pH- Messung im Kaffeegetränk unter Zugabe von Molkenprotein und Casein.....	137
Tabelle 31: Geruchseindrücke und identifizierte Verbindungen an einer DB 5-Säule	138
Tabelle 32: Geruchseindrücke an einer OV 1701-Säule	140
Tabelle 33: Übersicht der Leitsubstanzen mit charakteristischen Massenfragmenten	141
Tabelle 34: Retentionszeiten der n-Alkane	142
Tabelle 35: Intensität Geruch und Geschmack (Intensitätsskala 0-5)	143
Tabelle 36: Auswertung: DHS - GC/FID - O (CHARM): Länge der Deskriptoren in cm	144
Tabelle 37: Auswertung: Modeluntersuchungen (GC/MS Peakflächen - Mittelwerte).....	145
Tabelle 38: Auswertung: Rekombinate(GC/MS Peakflächen - Mittelwerte).....	146
Tabelle 39: Auswertung: Modeluntersuchungen (GC/MS Peakflächen - Mittelwerte).....	147
Tabelle 40: Auswertung: Variation der Homogenisierung und der Erhitzung (Peakflächen - Mittelwerte)	148
Tabelle 41: Chemikalien	151

1. Einleitung

Kaffee ist ein beim deutschen Verbraucher sehr beliebtes Getränk. Dies beruht auf seiner anregenden Wirkung und seinem besonderen Aroma. Dieses Aroma wird aber in den meisten Fällen nicht allein durch den Röstkaffee bestimmt, sondern entsteht im Zusammenspiel mit einem zugesetzten Milchprodukt. Eine eventuelle Zuckerzugabe beeinflusst dagegen nur den Geschmack des Getränkes, nicht aber seinen Geruch.

Die Beliebtheit eines Produktes kann über die Jahre bekanntermaßen starken Wandlungen unterworfen sein. In der Nachkriegszeit wurden vor allem Kondensmilcherzeugnisse als Zusatz zum Kaffeegetränk bevorzugt, während in den letzten Jahren Kaffeesahne und Konsummilch steigende Anteile erobern. Die Kaffeesahne wird vor allem zum Abrunden des traditionellen Kaffees mittleren Röstgrades gewählt. Für die zunehmend vom Verbraucher nachgefragten Kaffeespezialitäten wie Cappuccino oder Café au lait dienen dagegen die verschiedenen Konsummilchsorten als Zusätze. Diese Spezialitäten werden in der Regel aus dunkler gerösteten Kaffeebohnen hergestellt. Jüngere Konsumenten lehnen das traditionelle Kaffeegetränk häufig ab, schließen in ihren Life Style aber gern die Kaffeespezialitäten ein, besonders in entsprechender Umgebung und Gesellschaft (Café). Dabei handelt es sich fast ausschließlich um Kaffeegetränke mit hohem Milchanteil, da hierbei der von dieser Konsumentengruppe abgelehnte bittere Geschmack des Kaffees mehr in den Hintergrund tritt. Ein häufiger Konsum dieser Getränke ist für diese jungen Leute aus Kostengründen nicht immer möglich. Um nun diese Zielgruppe, die ja den Verbraucher der Zukunft darstellt, wieder verstärkt an den Kaffeekonsum heranzuführen und sinkenden Absatzzahlen entgegenzusteuern, ist es erforderlich, das im Haushalt zubereitbare Kaffeegetränk an den Geschmack dieser Konsumenten anzupassen. Dazu müssen zunächst beide Lebensmittel in verschiedenen Varianten definiert hergestellt und dann die bei ihrer Zusammenführung entstehenden Geruchs- und Geschmackseindrücke untersucht werden.

Das wirtschaftliche Interesse ist demnach groß, das „Kaffeegetränk“ weiter zu optimieren und eventuell durch neue Produkte für den Verbraucher attraktiv zu halten. Das Interesse wird hier insbesondere in Richtung der Kaffee-Mixprodukte geweckt. Eine Umfrage des Bundesverbands des deutschen Lebensmittelhandels (BVL) im Jahr 2002 ergab, dass 33,6 % Milchkaffee, 27 % Cappuccino und 21,3 % Latte Macchiato bevorzugen.

Die Kaffee- und Milchindustrie hat ein zunehmendes Interesse daran, die Einflüsse von diversen Milchzusätzen auf das Kaffeearoma zu erforschen. Dadurch soll es möglich

werden, Aromamischungen, besonders für die immer mehr Marktanteile gewinnenden Instantprodukte (Cappuccino: 68 % Marktanteil, 1999), zu optimieren. („Deutscher Kaffeeverband e.V.“ 2003).

Leland (1997) und Widder (1998) untersuchten den Einfluss von Proteinen, Fett oder auch Kohlenhydraten auf die Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus Modell-Aromasystemen. Sie zeigten, dass die Zugabe von Proteinen, Fett bzw. Kohlenhydraten einen messbaren sensorischen Einfluss auf die Aromafreisetzung hat und Untersuchungen von Bücking und Steinhart (2002) zeigten, dass verschiedene Milchezsätze einen zumeist retardierenden Effekt auf die Aromafreisetzung von Röstkaffee haben.

Basierend auf der Arbeit von Bücking (1999) sollten im Rahmen eines Projektes des Forschungskreises der Ernährungsindustrie (FEI) der „Einfluss der Art beziehungsweise der Herstellung von Milchprodukten und Kaffee auf Geruch und Geschmack von milchhaltigen Kaffeegetränken“ untersucht werden. Kooperationspartner bei diesem Projekt war das Institut für Technologie und Chemie der Milch der Bundesforschungsanstalt für Milch, später Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (Standort Kiel).

Das Ziel dieses Projektes war es, die für den Geruch und Geschmack milchhaltiger Kaffeegetränke relevanten Einflussfaktoren zu ermitteln. Dazu sollten die Inhaltsstoffe und diejenigen Parameter, die bei der industriellen Verarbeitung bzw. Herstellung des Kaffees und der Milchprodukte von besonderer Bedeutung sind, variiert werden. Die Auswirkungen dieser Veränderungen sollten sensorisch und chemisch-analytisch verfolgt werden.

Die vorliegende Arbeit ist ein Teil dieses Projektes und hatte das Ziel, den Einfluss von definiert hergestellten Milchbestandteilen und Milchezsätzen mittels verschiedener Headspace-Techniken (DHS, SHS) zu untersuchen.

Ein weiterer Teil des Projektes wurde von Herrn Denker bearbeitet. Der Schwerpunkt der Arbeit von Herrn Denker lag auf der Untersuchung der retronasalen Aromawahrnehmung. Dazu wurde eine Methode für die instrumentelle Untersuchung des retronasalen Aromas adaptiert, die es ermöglicht, nach dem Genuss von Kaffee freigesetzte Aromastoffe im Mundraum zu sammeln und mittels GC (MSD/O und FID/O) zu untersuchen.

2. Allgemeiner Teil

2.1 Milch

Milch ist nach der Begriffsbestimmung des Gesetzgebers das Gemelk einer Kuh oder mehrerer Kühe. Als Milch wird im allgemeinen und gesetzlichen Sprachgebrauch somit Kuhmilch verstanden. Bei Milch von anderen Säugetieren muss die Tierart (Ziege, Schaf, Pferd, Büffel etc.) zusätzlich angegeben werden.

Milch ist ein weißliches bis gelblich-weißes Drüsensekret mit einem pH-Wert von 6,5 - 6,7. Aus physikalisch-chemischer Sicht ist Milch ein polydisperses System, das in Bezug auf das Fett, wenn dieses unter höherer Temperatur flüssig vorliegt, eine Öl-in-Wasser-Emulsion bildet und, wenn die Fettkügelchen erstarrt sind, eine Suspension darstellt. Im frisch gemolkenen Zustand ist das Fett in diesem System in Form membranumhüllter Tröpfchen mit einem Durchmesser von 0,1 bis max. 10 µm emulgiert.

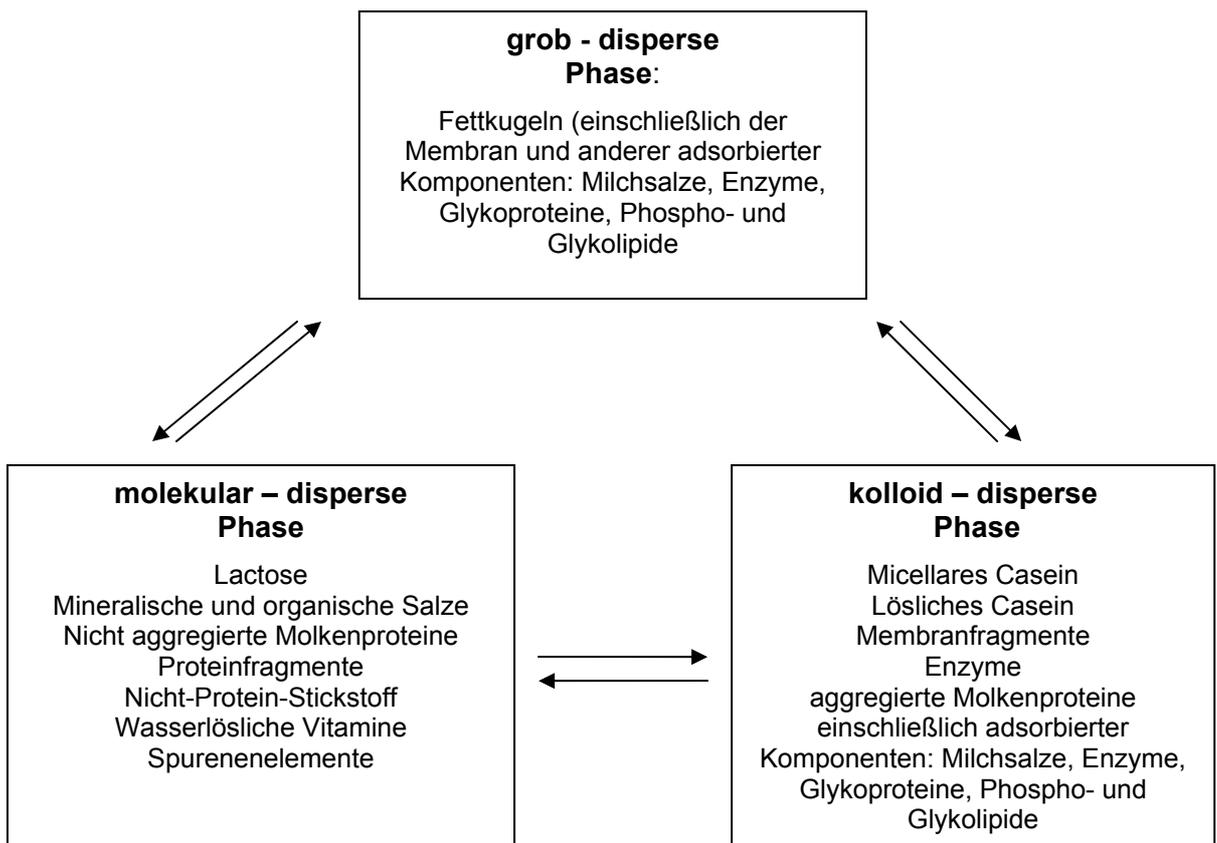


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Gleichgewichtes zwischen der molekular-dispersen, der kolloid-dispersen und der grob-dispersen Phase in Milch (Schlimme und Buchheim, 1995)

In der Milch liegen die Proteine hinsichtlich der Caseine als Caseinmicellen kolloid-dispers (mit Durchmessern von 0,02 bis max. 0,6 μm) und bezüglich der Molkenproteine molekular-dispers gelöst in der homogenen wässrigen Lösung der übrigen Milchbestandteile vor. Lactose stellt das Hauptkohlenhydrat der Milch dar und ist molekular-dispers gelöst (Abbildung 2).

Die Anteile der einzelnen Milchinhaltsstoffe sind jedoch von Tierart zu Tierart unterschiedlich. Aber auch innerhalb einer Säugetierart variiert die Zusammensetzung der Milch. Diese Schwankungen sind durch Rasse, Alter, Laktationsstadium, Fütterungs- und Haltungsbedingungen sowie durch den Gesundheitszustand bedingt. Deshalb ist es schwierig, eine „normale“ Zusammensetzung der Milch für eine Tierart anzugeben.

Die Trockenmasse fasst den Gehalt aller Milchinhaltsstoffe zusammen und bestimmt in Art und Menge die Ausbeute und Qualität bei der Herstellung von Milchprodukten. Eine schematische Übersicht gibt Abbildung 2.

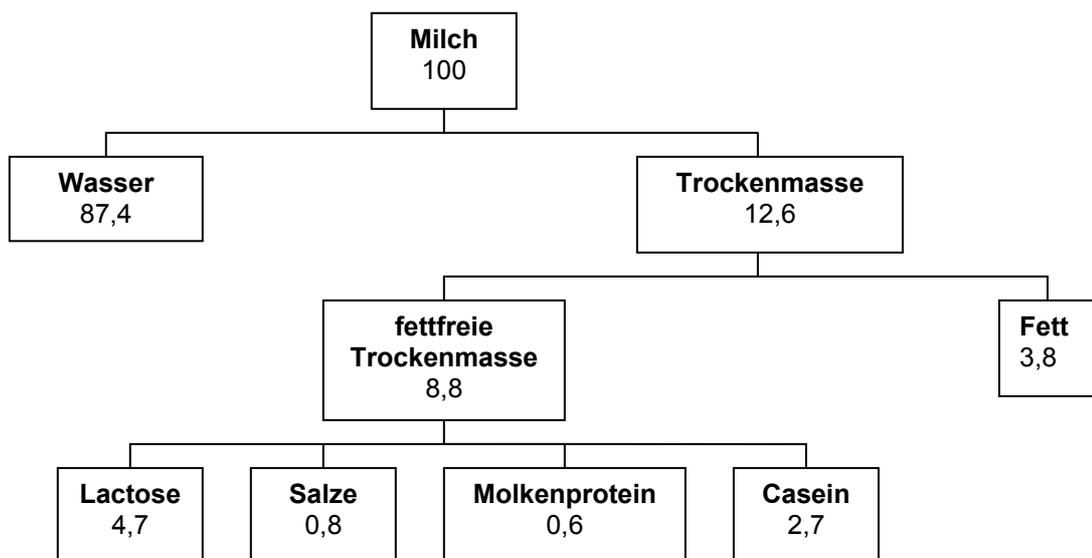


Abbildung 2: Schematische Darstellung der mittleren Zusammensetzung (Gew. %) der Milch

2.1.1 Milchlipide

Zur Gruppe der Lipide zählen die eigentlichen Fette (auch Neutralfette genannt), die fettähnlichen Stoffe (früher Lipoide genannt), die Isoprenoidlipide und die Fettbegleitstoffe.

Zu den eigentlichen Fetten zählen die Mono-, Di- und Triglyceride. Der Gruppe der fettähnlichen Stoffe gehören die Phospholipide, Glykolipide und Wachse an. Zur Gruppe der Isoprenoidlipide gehören die Sterine, Steroidhormone und Carotenoide. Zu den Fettbegleitstoffen zählen freie Fettsäuren, fettlösliche Vitamine A, D, E und K, fettlösliche Aromastoffe, Lipoproteine und Alkanole. Die wichtigsten Lipide im Gesamtfett sowie deren Gehalte in der Milch gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1: Zusammensetzung des Gesamtfettes der Kuhmilch (Schlimme und Buchheim, 1995)

<i>Bestandteil</i>	<i>Gehalt in Milch (%)</i>
Triglyceride	96 - 99
Diglyceride	0,3 - 1,6
Monoglyceride	0,02 – 0,10
Phospholipide	0,2 – 1,0
Steroide	0,2 – 0,4
Freie Fettsäuren	0,1 – 0,4
Cerebroside	0,01 - 0,07
Squalen	Spuren
Wachse	Spuren

Triglyceride stellen in den Milchen aller Tierarten mit ca. 97 – 98 % die Hauptlipidklasse und werden immer von geringen Mengen an Partialglyceriden (Mono- und Diglyceride) sowie Cholesterin, Cholesterinestern, nicht veresterten (freien) Fettsäuren, Phospholipiden und geringen Anteilen an einfachen Lipiden und Glykolipiden begleitet. Obwohl die Phospholipide nur in Anteilen von 0,2 – 1,0 % vorliegen, stellen sie eine wichtige Komponente dar, weil sie ein Bestandteil der nativen Fettkugelmembran sind und eine stabilisierende Wirkung haben. Das Cholesterin stellt mit min. 95 % die Hauptkomponente der Sterine dar. Weitere Minorkomponenten sind Squalen und Carotin, fettlösliche Vitamine, Prostaglandine, Carnitin sowie verschiedene Aromastoffe wie z.B. Lactone und Methylketone. Cerebroside und Ganglioside sind die wichtigsten Glykolipide in der Milch und hauptsächlich Bestandteile der Milchfettkugelchenmembrane.

Die Fettsäurezusammensetzung des bovinen Milchfettes ist von der Fütterung, von der genetischen Konstitution und vom Laktationsstadium stark abhängig. Die mengenmäßig wichtigsten Fettsäuren des Milchfettes sind die gesättigten, geradekettigen Fettsäuren ($C_4 - C_{18}$), sowie die einfach, doppelt und dreifach ungesättigten Fettsäuren der Kettenlänge C_{18} . Die Fettsäurezusammensetzung folgt aus Tabelle 2.

Tabelle 2: Mittlere Fettsäurezusammensetzung des Milchfettes (Schlimme und Buchheim, 1995)

Fettsäure	Gew. %
4:0 Buttersäure	3,3
6:0 Capronsäure	1,6
8:0 Caprylsäure	1,3
10:0 Caprinsäure	3,0
12:0 Laurinsäure	3,6
14:0 Myristinsäure	9,5
16:0 Palmitinsäure	26,3
16:1 Palmitoleinsäure	2,3
18:0 Stearinsäure	14,6
18:1 Octadecansäure	29,8
18:2 Octadecadiensäure	2,4
18:3 Octadecantriensäure	0,8
$C_{20} - C_{22}$	Spuren

Die übrigen Minorfettsäuren sind cis/trans-Isomere, ungeradezahlige, verzweigte Fettsäuren sowie Keto- und Hydroxyfettsäuren.

Physikalische Eigenschaften des Milchfettes

Das Fett ist in Form von Fetttropfchen, die mit einer Membran umgeben sind, im Milchserum emulgiert. Rohmilch enthält ca. 10^{10} Fettkügelchen pro Milliliter wobei über 90 % ein Durchmesser zwischen etwa 1 und 8 μm aufweisen. Bei den kleineren Fettkügelchen, deren Durchmesser im Zehntel-Mikrometer-Bereich liegt, ist die genaue Messung der Größenverteilung methodisch schwierig. Die Verfahren zur Fettkugelbestimmung, wie z.B. Licht- und Elektronmikroskopie, Trübungsmessung, Laserbeugung oder Leitfähigkeitsmethoden, sind meist nur eingeschränkt aussagefähig.

Wegen der größeren physikalischen Relevanz ist es sinnvoller, die Größenverteilung der Fettkügelchen nicht nur als Anzahlverteilung, sondern als Oberflächen- und Volumen (Massen)-Verteilung zu bezeichnen. Aus solchen Verteilungen lassen sich verschiedene Durchmesserwerte ableiten, wie z.B. das gewogene Mittel der

Oberflächenverteilung d_{32} - auch bezeichnet als d_{VS} -Durchmesser (engl.: volume-surface diameter) und das Mittel der Volumenverteilung d_{43} - auch als d_{VM} – Durchmesser (engl.: volume-moment diameter) bezeichnet.

In Kuhmilch variieren die Durchmesserwerte der Fettkügelchen zwischen einzelnen Kühen, verschiedenen Rassen, mit der Fütterung und im Verlaufe der Laktation. Es wird ein Schwankungsbereich für den d_{32} –Wert von 2,5 bis 5 μm angegeben (Schlimme und Buchheim, 1995)..

Im Vergleich zu Rohmilch ist es erforderlich bei der Herstellung von Konsummilch und der verschiedenen Milchprodukte eine feinere Verteilung des Fettes zu erreichen. Dazu wird für die Verkleinerung der originären Fettkügelchen das Verfahren der Hochdruckhomogenisierung eingesetzt.

Milchfettkügelchenmembran

Die Fettkügelchen in frisch gemolkener Milch sind mit einer besonders zusammengesetzten und strukturierten Hüllenschicht umgeben, die sich nicht, wie sonst in Emulsionen, durch freie Adsorption von grenzflächenaktiven Substanzen (wie z.B. Proteinen) gebildet hat, sondern durch den einzigartigen Sekretionsvorgang beim Verlassen der Milchdrüsenzellen. Diese Hüllenschicht stellt eine biologische Membran dar. Über die Zusammensetzung dieses Hüllenmaterials (Membran + Proteinschicht + Cytoplasmaresten) liegen nur für Kuhmilch umfangreiche Ergebnisse vor. Eine Zusammensetzung der Fettkugelmembran ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Fettkugelmembranen aus Kuhmilch (Schlimme und Buchheim, 1995)

Bestandteile	Menge	
Protein	25 – 60	% der Trockenmasse
Gesamtlipide	0,5 – 1,2	mg / mg Protein
Phospholipide	0,13 – 0,34	mg / mg Protein
Neutralfette	56 – 80	% der Gesamtlipide
Cerebroside	3,5	nmol / mg Protein
Ganglioside	6,0 – 7,4	nmol Sialinsäure / mg Protein
Sialinsäure (gesamt)	63	nmol / mg Protein
Hexosen	0,6	μmol / mg Protein

Zusammen machen die Proteine und Lipide über 90% der Trockenmasse des Hüllmaterials aus; allerdings sind in der Literatur größere Unterschiede für die relativen Anteile von Lipiden und Proteinen zu finden. Besonders große Unterschiede werden beim Gehalt an Neutralfetten, insbesondere der Triglyceridfraktion, gefunden.

Die Hüllenschichtdicke ist ungleichmäßig und beträgt im Durchschnitt 8-9 nm. Auf ihrer Außenseite befinden sich die kohlenhydratreichen Regionen der Glykolipide und Glykoproteine, während die Innenseite der Membran entweder direkt an die Fettphase grenzt oder in Teilbereichen noch mit einer Schicht der Hauptproteinkomponenten Xanthinoxidase und Butyrophilin bedeckt ist.

Die native Fettkugelmembran gibt den Fettkugeln eine hohe Emulsionsstabilität und Schutz gegen Lipolyse. Um die Tendenz zum Aufrahmen bei der üblichen Milchverarbeitung zu reduzieren, ist eine deutliche Verkleinerung des mittleren Fettkügelchendurchmessers von 3-5 µm in Rohmilch auf Werte zwischen 0,3 und 0,8 µm erforderlich. Dies erfolgt mit Hilfe der Hochdruckhomogenisierung mit Drücken zwischen 10 und 25 MPa bzw. 100 – 250 bar. Die Verkleinerung der Fettkügelchen führt zu einer Vergrößerung der volumenbezogenen spezifischen Oberfläche und damit zur Bildung einer (sekundären) Grenzschicht, die vor allem durch Adsorption von Milchproteinen (Casein, Molkenprotein) gebildet wird. Diese Sekundärmembranen haben völlig andere Eigenschaften und Strukturen als die originäre Hüllenschicht, die jedoch für physikalisch-chemische Eigenschaften einzelner Milchprodukte von außerordentlicher Bedeutung sind.

2.1.2 Milchproteine

Die Milchproteine setzen sich aus den in Tabelle 4 genannten Gruppen von Proteinen zusammen, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Fällbarkeit bzw. Löslichkeit unterschieden werden können.

Tabelle 4: Milchproteine

Milchproteine	Mittlerer Gehalt in Gew. %	Schwankungsbreite
Caseine	2,7	2,2 – 3,8
Molkenproteine	0,6	0,5 – 0,9
Proteose-Peptide	0,08	0,05 – 0,18
Proteine der Fettkugelmembran	0,04	

Die Hauptmilchproteine sind die Caseine und die Molkenproteine. Das Mengenverhältnis dieser beiden Eiweißgruppen liegt bei 82:18. Die Caseine werden aus

der Milch durch Ansäuern auf pH 4,6 ausgefällt (präzipitiert); die Molkenproteine bleiben nach der Präzipitation der Caseine im Milchserum gelöst.

Das Milcheiweiß ist besonders wertvoll, weil darin alle lebensnotwendigen Bausteine des Eiweißes, wie essentielle Aminosäuren und organischer Stickstoff, vorkommen.

2.1.2.1. Caseine

Die Hauptgruppe der Milchproteine bilden die Caseine, die in der Milchdrüse synthetisiert werden. Die Caseinfraction setzt sich aus folgenden Komponenten mit einem durchschnittlichen Gehalt (in Gew. %) der Caseinfraction zusammen:

- α_{S1} –Casein (38%)
- α_{S2} –Casein (10%)
- β –Casein (36%)
- κ – Casein (13%)

Dazu kommen noch als nicht originäre Milchproteine die γ -Caseine (3 %). Die werden durch die milcheigene Proteinase Plasmin als Fragmente aus dem β -Casein freigesetzt. Zur Caseinfraction gehören auch die Proteose-Peptide, die überwiegend durch Plasmin freigesetzte N-terminale Fragmente des β -Caseins darstellen.

Caseinmicellen

Die Komponenten der Caseinfraction liegen in der Milch nicht als Monomere vor, sondern aggregieren zu Caseinkomplexen und Caseinmicellen. Die Monomere werden zusammengehalten durch:

- hydrophobe Bindungen, die bei Temperaturen unter 5 °C minimal sind
- elektrostatische Bindungen (vorwiegend über Calcium- bzw. Calciumphosphat-Brücken zwischen Phosphoserinresten und Glutaminsäureresten)
- Wasserstoffbrücken

In frischer ungekühlter Kuhmilch liegen die Caseine zu etwa 95 % kolloid-dispers vor. Die Caseinmicellen enthalten zwischen 20 und ca. 300 000 Caseinmoleküle und deren Durchmesser variiert zwischen ca. 0,02 und 0,4 μm (teilweise bis zu 0,6 μm) (Walstra und Jenness, 1984). Die Anzahl der Caseinmicellen in einem Milliliter Milch beträgt etwa 10^{14} .

Die Trockenmasse der Caseinfraction besteht zu 92 – 93 % aus Casein und zu 7 – 8 % aus anorganischen Bestandteilen, hauptsächlich Calcium und Phosphat, auch

Calciumphosphat oder Calcium-Phosphat-Citrat-Komplex genannt. Das Gewichtsverhältnis der vier Caseine (α_{S1} , α_{S2} , β und κ) ist bei Kuhmilch im Mittel 3 : 0,8 : 3 : 1.

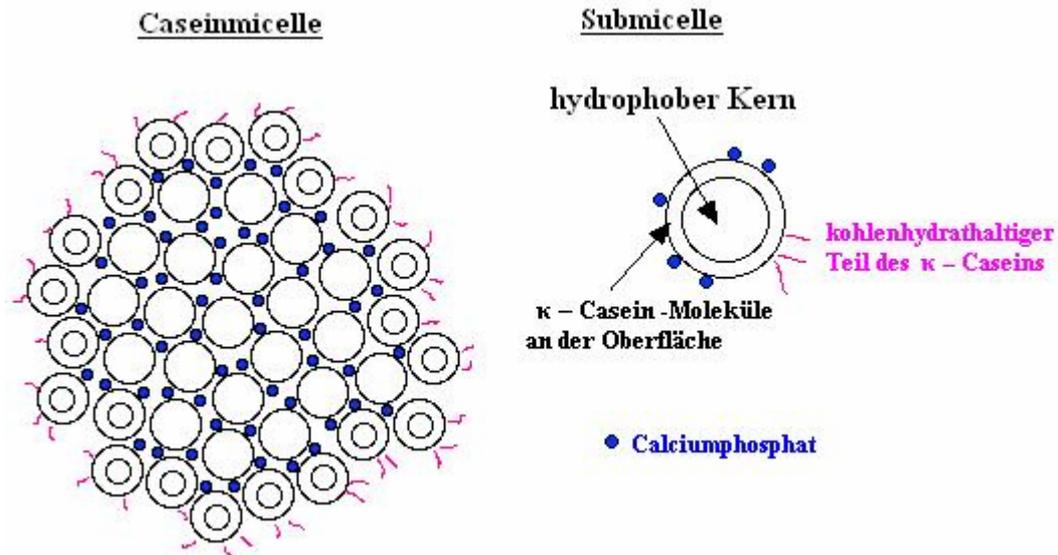


Abbildung 3: Modell für den Aufbau der Caseinmicellen (nach Rollema, 1992)

Caseinmicellen sind nicht dicht gepackt, sondern stark solvatisiert (1,9 g H₂O/ g Protein) und damit porös. Es wird angenommen, dass die Porenweiten bei einigen Nanometern liegen, so dass kleinere Moleküle frei in die Micellen diffundieren können.

Die Verteilung der einzelnen Caseine innerhalb einer Micelle ist nicht gleichmäßig. An der Micellenoberfläche ist vorrangig κ -Casein lokalisiert. Kleinere Micellen enthalten daher wegen ihrer größeren Oberfläche relativ mehr κ -Casein als größere Micellen (Schlimme und Buchheim, 1995).

Caseinmicellen befinden sich in einem dynamischen Gleichgewichtszustand mit dem umgebenden wässrigen Medium, dem Milchserum. Struktur und Stabilität von Caseinmicellen ändern sich bei den Veränderungen des natürlichen Gleichgewichtszustandes. Diese Veränderungen können verursacht werden z.B durch:

- Bei Erhitzung von Milch auf Temperaturen über 70 °C kommt es zu Assoziation denaturierter Molkenproteine, insbesondere β -Lactoglobulin mit dem κ -Casein. Diese Casein-Molkenprotein-Komplexe haben im Vergleich zu den Caseinmicellen veränderte Eigenschaften.
- Bei Absenkung des pH-Wertes der Milch geht das kolloide Calciumphosphat zunehmend in Lösung. Unterhalb von pH 5,2 beginnen sich die Caseinmicellen zu größeren lockeren Aggregaten zusammenzulagern, um

schließlich am isoelektrischen Punkt (pH 4,6) vollständig unlöslich zu sein.

- Unter hohem statischen Druck (z.B. 200 MPa, 5 min, 20 °C) zerfallen die Micellen irreversibel in kleine Aggregate, welches primär auf strukturelle Veränderungen am Calciumphosphat sowie auf die Druckempfindlichkeit nichtkovalenter Ionenbindungen zurückgeführt wird.
- Caseinmicellen können auch nach enzymatischen Reaktionen koagulieren z.B. mit dem Enzym Chymosin aus dem Kälberlab. Bei pH 6,7 spaltet Chymosin das κ -Casein spezifisch an einer definierten Stelle im Molekül in ein lösliches Caseinglykomakropeptid und das unlösliche para- κ -Casein.

Caseinfraktion

α_{S1} -Casein (α_{S1} -CN) ist die überwiegende Casein-Komponente der Caseinmicellen boviner Milch. Der Index „s“ bedeutet „sensitiv“ für Calciumsalze.

Es sind fünf genetische Varianten (A, B, C, D und E) bekannt, die als α_{S1} -Casein A, α_{S1} -Casein B usw. bezeichnet werden. Die Sequenz α_{S1} -Casein B ist die Hauptkomponente und besteht aus einer Peptidkette mit 199 Aminosäuren und einer molaren Masse von 23 619 g/mol. α_{S1} -Casein B enthält acht Phosphoserinreste.

Die Variante α_{S1} -Casein D enthält neben den acht Phosphoserinresten ein phosphoryliertes Threonin. Die anderen genetischen Varianten A, C und E sind wie α_{S1} -Casein B an acht Positionen phosphoryliert. Diese Positionen bilden einen extrem polaren, sauren Abschnitt. In Gegenwart von Ca^{2+} -Ionen in den in der Milch üblichen Konzentrationen bildet α_{S1} -Casein ein unlösliches Calciumsalz.

α_{S2} -Casein (α_{S2} -CN) ist wie α_{S1} -CN durch Calciumionen fällbar. Es sind vier genetische Varianten bekannt (A, B, C und D). Die Peptidkette des α_{S2} -CN enthält 207 Aminosäuren und hat eine molare Masse von 25 230 g/mol. Die Variante A hat dreizehn Seitenketten (zwölf Serin und ein Threonin), die phosphoryliert sind. Bei den anderen Varianten B, C und D ist die Primärstruktur noch nicht genau geklärt.

α_{S2} -Casein besitzt eine dipolare Struktur mit einer Konzentration anionischer Gruppen im N-terminalen Bereich und kationischer Gruppen im C-terminalen Bereich.

β -Casein (β -CN) liegt mit fast gleichem Anteil wie α_{S1} -CN in den Caseinmicellen vor und ist das am stärksten hydrophobe Casein. Es sind sieben genetische Varianten bekannt (A^1 , A^2 , A^3 , B, C, D und E). Die Primärstruktur des β -Caseins A^2 besteht aus

209 Aminosäuren und die molare Masse beträgt 23 983 g/ mol. Die Peptidkette enthält fünf Phosphoserine, die im N-terminalen Bereich liegen. In den Varianten A, B und E sind fünf und in den Varianten C und D nur vier Serine phosphoryliert. Durch das Milchenzym Plasmin werden aus dem β -Casein Fragmente freigesetzt, die als γ -Caseine bezeichnet werden.

κ – Casein (κ – CN) liegt in der Caseinmicelle mit einem Anteil von 13 % vor und ist als essentielle Komponente für die Stabilität der Caseinmicelle verantwortlich. Zwei genetische Varianten sind bekannt (A und B). Die Peptidkette des κ – CN besteht aus 169 Aminosäuren und hat eine molare Masse von 19 007 g/ mol. κ – CN enthält zwei Cysteine, die Disulfidbrücken bilden und dadurch die Caseinmicellen stabilisieren.

Die κ – CN Fraktion unterscheidet sich von α - und β -Caseinen, weil diese nur ein Phosphoserin enthält. Der C-terminale Bereich des κ -CN ist polar und enthält Kohlenhydratketten, die aus vier Verbindungen (Galactose, N-Acetylgalactosamin, N-Acetylglucosamin und N-Acetylneuraminsäure) auf unterschiedliche Weise aufgebaut sind. Dagegen ist der N-terminalen Bereich des κ – CN hydrophob.

Durch Labenzym (Rennin) kommt es zu einer selektiven Spaltung der Peptikette zwischen Phe-105 und Met-106, wobei das hydrophobe para- κ -Casein und das hydrophile Glykomakropeptid (GMP) freigesetzt werden. Dieser Vorgang führt in der Milch (Käsereimilch) zur Ausfällung des restlichen Caseins. An diese spezifische Phase schließt sich eine zweite Phase an, in der durch proteolytische Reaktionen Caseine zu Peptiden und Aminosäuren abgebaut werden. Diese unspezifische Proteolyse ist bei der Käsereifung von Bedeutung.

Bioaktive Caseinpeptide

Die meisten bisher bekannten biologisch aktiven Peptide wurden proteolytisch aus Caseinen freigesetzt, isoliert und charakterisiert oder als potentiell bioaktive Sequenzen in der Primärstruktur von Caseinen aufgefunden und synthetisiert. Es ist nachgewiesen worden, dass die gewonnenen Casein-Fragmente eigene biologische Wirkungen besitzen. Sie haben opioide Eigenschaften, die vermutlich über eine Wechselwirkung mit Rezeptoren des Dünndarms die Magen-Darm-Motilität hemmen und stimulierend auf Sekretionsvorgänge wirken. Das erste Peptid (Heptapeptid) mit opioider Wirkung wurde aus Rinder- β -Casein gewonnen. Das Heptapeptid gehört zu einer Gruppe von Peptiden, die β -Casomorphine heißen, die in der Primärstruktur des β -Caseins enthalten sind und durch enzymatische Proteolyse freigesetzt werden können. (Meisel und Frister, 1989;

Meisel und Schlimme, 1990; Kurek et al., 1992).

2.1.2.2. Molkenproteine

Neben den Caseinen gehören die Molkenproteine zu den Hauptmilchproteinen. Die Hauptkomponenten der globulären Molkenproteine, die in der Milch molekular-dispers vorliegen, sind (mittlere Gehalt in Gew. % der Molkenproteinfraktion):

- β -Lactoglobulin (56 %)
- α -Lactalbumin (21 %)
- Serumalbumin (7 %)
- Immunglobuline (14 %)
- Lactoferrin (2 %)

β -Lactoglobulin ist mengenmäßig die stärkste Komponente der Molkenproteinfraktion mit etwa 3,5 g/L Milch. Derzeit sind sieben genetische Varianten (A, B, C, D, E, F und G) bekannt. β -Lactoglobulin B besteht aus 162 Aminosäuren mit einer molaren Masse von 18277 g/mol. β -Lactoglobulin enthält Cysteinreste, von denen ein Cystein mit freier Thiolgruppe vorliegt und die anderen zwei Disulfidbrücken ausbilden. Durch Denaturierung wird die freie Thiolgruppe freigelegt und kann zur Dimerisierung des Proteins über eine Disulfidbrücke führen oder zu Reaktionen mit anderen Milchproteinen, besonders mit κ -Casein und α -Lactalbumin.

α -Lactalbumin ist mengenmäßig die zweitstärkste Komponente der Molkenproteinfraktion mit etwa 1 g/ L Milch. Es sind drei genetische Varianten (A, B und C) bekannt. Die Peptidkette des α -Lactalbumins besteht aus 123 Aminosäuren mit einer molaren Masse von 14175 g/ mol. α -Lactalbumin enthält acht Cysteinreste, die vier Disulfidbrücken bilden und es hat den höchsten Tryptophangehalt (6,6 %) aller Nahrungsproteine.

Serumalbumin kommt mit einem Anteil von 0,7-1,3 % am Gesamtprotein in der Milch vor. Im Gegensatz zu den Caseinen, β -Lactoglobulin und α -Lactalbumin wird Serumalbumin nicht in der Milchdrüse synthetisiert, sondern tritt vom Blut in die Milch über. Die Peptidkette des Serumalbumins besteht aus 582 Aminosäuren mit einer molaren Masse von 66 267 g/ mol und enthält einen Cysteinrest mit freier Thiolgruppe und zusätzlich siebzehn Disulfidbrücken, die die globuläre Struktur dieses Molkenproteins stabilisieren.

Immunglobuline treten monomer und/oder polymer auf. Sie gehören zu den

Glykoproteinen. Die Immunglobulinmonomere bestehen aus vier Polypeptidketten: zwei identische schwere und zwei identische leichte Ketten, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Die N-terminalen Bereiche beider Ketten enthalten variable Regionen, die für die Antigenbindung verantwortlich sind. Die C-terminalen Bereiche sind hinsichtlich der Aminosäuresequenz sehr konstant und bestimmen damit chemische und physikalische Eigenschaften dieser Proteinklasse.

Lactoferrin gehört zu den eisenbindenden, proteolytisch stabilen Glykoproteinen der Milch und wird von der Milchdrüse synthetisiert.

2.1.3 Kohlenhydrate der Milch

Das Hauptkohlenhydrat der Kuhmilch ist Lactose (Milchzucker). Als minore Kohlenhydrate befinden sich in Milch Glucose und Galactose sowie mehrere Oligosaccharide und Zuckerderivate.

2.1.3.1. Lactose

Lactose kommt mit einem Anteil von 4,7 % (die natürliche Schwankungsbreite liegt beim Rind zwischen 4,5 und 5,2 %) in der Milch vor.

Lactose ist ein Disaccharid mit einer beta-1,4-glykosidischen Verknüpfung der Monosaccharide Glucose und Galactose (Abbildung 4).

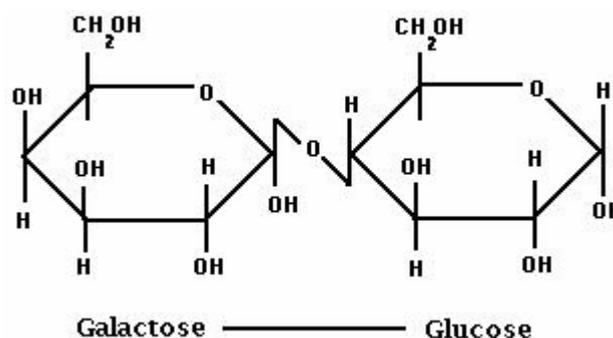


Abbildung 4: Strukturformel von Lactose

Lactose liegt in zwei Anomeren vor, als α -Lactose und β -Lactose. In einer wässrigen Lösung von Lactose stellt sich ein Gleichgewicht zwischen beiden Anomeren ein. Die Wasserlöslichkeit der Lactose ist im Vergleich zu anderen Kohlenhydraten wie Glucose

mit 103 g/ 100 g Wasser, Saccharose mit 210 g/ 100 g Wasser oder Fructose mit 405 g/ 100 g Wasser gering und hängt mit der unterschiedlich guten Löslichkeit der anomeren Formen der Lactose zusammen. Die Wasserlöslichkeit von α -Lactose beträgt 8,6 und von β -Lactose 51,9 g/100 g Wasser.

Die Süßkraft der Lactose ist geringer als die anderer Zucker, z.B. ist eine 1 % ige wässrige Saccharoselösung isosüß mit einer 0,8 %igen Fructose-, einer 1,8 %igen Glucose- und einer 3,5 %igen Lactoselösung.

Im kristallinen Zustand kommt Lactose in zwei Modifikationen vor: α -Lactose-Monohydrat und β -Lactose. α -Lactose-Monohydrat kristallisiert aus einer übersättigten wässrigen Lösung bis zu einer Temperatur von 93,5 °C aus. Oberhalb dieser Temperatur erfolgt Kristallisation von wasserfreier β -Lactose. Die Größe der Kristallformen von α -Lactose-Monohydrat beeinflusst die sensorischen Eigenschaften des Milchproduktes. Ab einem Durchmesser von 16 μm werden die Kristalle sensorisch wahrnehmbar.

Neben diesen beiden kristallinen Modifikationen kommt die Lactose in amorpher Form vor. Die amorphe Lactose bzw. ein amorphes Gleichgewichtsgemisch aus α -Lactose und β -Lactose entsteht, wenn eine sehr schnelle Trocknung einer wässrigen Lösung vorgenommen wird. Diese amorphe Lactose ist hygroskopisch.

2.1.3.2. Lactulose

Durch chemische Umlagerung (Isomerisierung) der Lactose, welche ein natürliches Disaccharid aus Glucose und Galactose ist, zu einem Disaccharid aus Galactose und Fructose in β -glycosidischer Bindung, entsteht Lactulose (Abbildung 5).

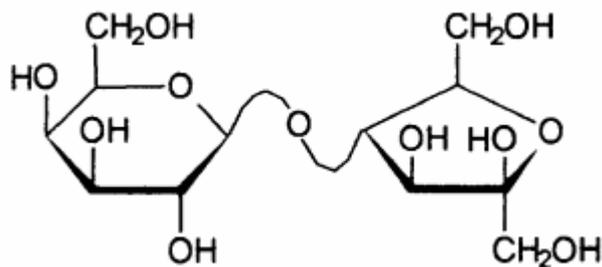


Abbildung 5: Strukturformel von Lactulose

Lactulose kommt in erhitzten Milchprodukten vor. Diese ist etwas süßer und deutlich besser löslich als Lactose. In der unbehandelten Milch ist sie nicht nachweisbar. Deswegen wird die Lactulose als geeigneter chemischer Erhitzungsindikator – insbesondere zur Unterscheidung verschiedener Arten wärmebehandelter Milch wie UHT- und Sterilmilch – angesehen.

Tabelle 5: Mittlere Konzentrationsbereiche an Lactulose in Konsummilch (Schlimme und Buchheim, 1995)

Wärmebehandelte Milch	mg / kg
pasteurisierte Milch	< 50
ultrahochoerhitzte Milch	100 – 500
sterilisierte Milch	600 - 1400

2.2 Bearbeitung der Milch

Milch, die von einer Molkerei in den Verkehr gebracht wird, muss laut Milch-Verordnung einer geeigneten und amtlich zugelassenen Wärmebehandlung unterzogen werden, um die Übertragung von Krankheitserregern zu unterbinden. Neben diesem hygienischen Zweck kommt es dadurch zu einer Verbesserung der Haltbarkeit des mikrobiologisch und enzymatisch sehr anfälligen Rohstoffes Milch.

In das Erhitzungsverfahren werden die Bearbeitungsstufen Reinigen und Entrahmen sowie Homogenisierung integriert. Abbildung 6 gibt eine Übersicht über die Verfahrensabläufe zur Herstellung der Konsummilch.

Zum Entrahmen der Milch werden Separatoren eingesetzt, die die leichtere innere Phase (Milchfett, Rahm) von der schwereren äußeren Phase (Magermilch) trennen. Durch gezieltes Rückmischen kann die Milch auf den gewünschten Fettgehalt standardisiert werden.

Das Milchfett, das in Form von Kügelchen in der Milch verteilt ist, rahmt bei der frisch gemolkene Milch schon nach einigen Stunden auf. Ziel der Homogenisierung ist die Stabilisierung der Emulsion durch Zerkleinerung der Fetttröpfchen. Das bedeutet, dass Milch mit hohem Druck (bis 350 bar) durch eine oder zwei sehr feine Düsen (zweistufiges Homogenisierventil) gepresst wird (Abbildung 7). Auf diese Weise werden die Fettkügelchen mechanisch noch weiter zerkleinert. Des Weiteren schmeckt

homogenisierte Milch durch das Zerkleinern der Fettkügelchen vollmundiger und ist leichter verdaulich.

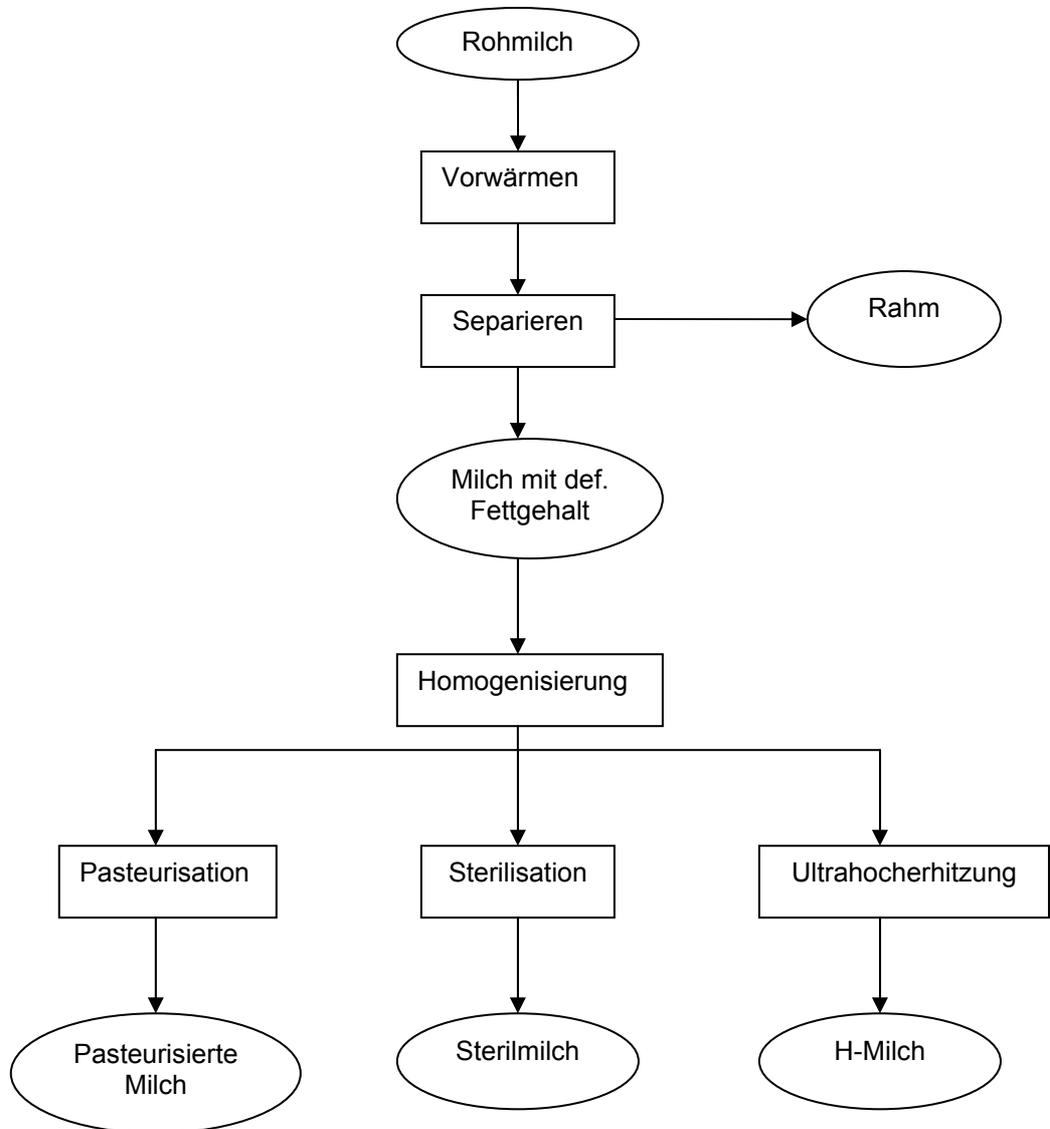


Abbildung 6: Fließschema für die Milcherhitzung

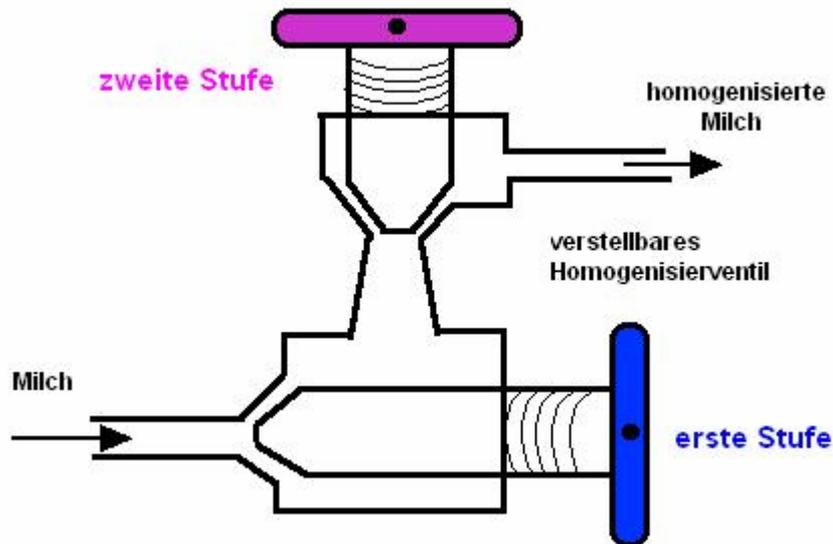


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines zweistufigen Homogenisierventils

Der thermische Effekt einer Wärmebehandlung ist abhängig von der Kombination aus Temperatur und Zeit.

- **Pasteurisierung** – Sowohl frische Konsummilch als auch die Milch, aus der die verschiedenen Milchprodukte hergestellt werden, wird pasteurisiert. Als Pasteurisierung bezeichnet man die Erhitzung der Milch auf ca. 72 °C bis 75 °C für mindestens 15 Sekunden.
- **Hoherhitzung** - Die Hoherhitzung ist ein Verfahren, bei der die Milch für mindestens 4 Sekunden auf 85 °C erhitzt wird.
- **Ultrahoherhitzung** - Hier wird 2 bis 8 Sekunden lang ein hoher Druck und eine hohe Temperatur (135 °C bis 150 °C) aufrechterhalten, bei der bis zu 100 % der in der Milch enthaltenen Keime abgetötet werden.
- **Sterilisation** - Bei dieser Erhitzung auf 110 °C bis 115 °C für etwa 45 Minuten werden alle enthaltenen Mikroorganismen und deren Sporen abgetötet, so dass eine Haltbarkeit von einigen Monaten oder sogar Jahren erzielt werden kann

2.2.1 Effekte der Temperatur und der Hochdruckbehandlungen auf strukturelle Eigenschaften der Proteine und des Fettes aus der Milch

In Abhängigkeit von der Erhitzungszeit und der Temperatur kommt es zu einer Anlagerung der thermolabilen Molkenproteine an die Caseinmicellen oder an die Fettkügelchenmembran. Bei 90 °C und 10 min Heißhaltezeit gehen etwa 60 % der Molkenproteine der Milch in die Komplexbildung mit den Caseinmicellen ein (Casein-Molkenprotein-Komplexen). Dabei ist vor allem β -Lactoglobulin beteiligt, das sich über Thiolgruppen mit dem oberflächlich an den Caseinmicellen zugänglichen κ -Casein umsetzt (Schlimme und Buchheim, 1995). Lee und Sherbon (2002) berichteten, dass sich mit Dauer der Erhitzung die Menge an β -Lactoglobulinen und α -Lactalbuminen, die an der Fettkügelchenmembran gebunden sind, erhöhte. Dabei ist die Menge an α -Lactalbuminen viel niedriger im Vergleich zu den β -Lactoglobulinen.

Die Molkeproteine α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin denaturieren in unterschiedlichem Umfang durch Erhitzung oder Hochdruckbehandlung. Ein Druck von 100 MPa hat keinen Einfluss auf die Proteinstrukturen. Die Anwendung eines höheren Drucks führt zu Denaturierung von β -Lactoglobulinen, die nach einer Behandlung von 400 MPa zu 70-80 % denaturiert sind. Im Vergleich zu β -Lactoglobulin ist α -Lactalbumin viel resistenter und seine Struktur bleibt unverändert sogar bei einem Druck von 500 MPa (Hupertz et al., 2002).

α -Lactalbumin zeigt bei 80°C ein thermostabileres Verhalten als β -Lactoglobulin. Erst bei höheren Temperaturen oder längerer Dauer der Erhitzung (Lee und Sherbon, 2002) wird die Denaturierung bedeutsamer. Wahrscheinlich liegt es an der Struktur des α -Lactalbumins, das im Vergleich zu β -Lactoglobulin vier Disulfidbrücken und keine freien Thiol-Gruppen hat (Gaucheron et al., 1997).

Die Größe der Caseinmicellen ist auch vom Druck abhängig. Bei Anwendung von Hochdruck (200 MPa) erhöht sich die Lichtdurchlässigkeit der Milch. Dies weist auf Zersetzung der Caseinmicellen hin, vermutlich durch Trennung von kolloidalem Calciumphosphat und Reduzierung der hydrophoben und elektrostatischen Wechselwirkungen. Bei der Homogenisierung der Milch bei einem Druck von 250 MPa erhöht sich die Caseinmicellengröße um 30 % und beim Druck >300 MPa reduziert sich die Micellengröße bis zu 50 %. Die Vergrößerung der Caseinmicellen durch Hochdruck entsteht wahrscheinlich aufgrund der Bildung von Caseinaggregaten oder durch Wechselwirkungen zwischen denaturierten Molkenproteinen (β -Lactoglobulin) und

Caseinmicellen, wobei die Art der Bindung noch ungeklärt ist (Hupertz et al., 2004; Hayes und Kelly, 2003).

Der Effekt der Hochdruckbehandlung von Milch auf die Micellengröße ist von der Temperatur und Dauer der Erhitzung abhängig. Schon 1962 haben Zittle et al. festgestellt, dass es durch Hitze zu Wechselwirkungen zwischen β -Lactoglobulin und κ -Casein kommt. Viele Studien haben sich mit der Art der Wechselwirkungen beschäftigt. Wahrscheinlich kommt es zu Wechselwirkungen zwischen β -Lactoglobulin über Thiolgruppen und dem κ -Casein, das sich an der Oberfläche der Caseinmicellen befindet (Jang und Swaisgood, 1990). Einige Arbeiten behaupten, dass ionische und/oder hydrophobe Wechselwirkungen eine signifikante Rolle bei der Anlagerung der denaturierten Molkenproteine an die Caseinmicellen spielen (Hill, 1989).

Bei langsamer Erhitzung der Milch assoziieren circa 80 % der denaturierten Molkenproteine mit den Caseinmicellen. Bei einer schnellen Erhitzung (unter Prozessbedingung) ist es nur die Hälfte der denaturierten Molkenproteine, die mit Caseinmicellen assoziieren. Der Rest der Molkenproteine verbleibt im Milchserum und bildet Aggregate (Oldfield et al. 1998). Dies liegt daran, dass bei einer schnellen Erhitzung alle Molkenproteine anfangen, in kurzer Zeit zu denaturieren und größere Aggregate bilden. Es wird angenommen, dass kleinere Aggregate, die bei langsamer Erhitzung entstehen, leistungsfähiger bei der Komplexbildung mit Caseinmicellen sind.

Proteine, die die Fettkügelchenmembran bilden, stellen nur einen kleinen Teil der Gesamtmilchproteine dar, aber sie sind für die Stabilität der Fettkügelchen wichtig. Die meisten Proteine haben hohe hydrophobe Eigenschaften und sind kovalent mit den Fettsäuren und den Kohlenhydratresten gebunden.

Cano-Ruiz und Richter (1997) haben keine signifikanten Unterschiede, die nach Homogenisierungsversuchen mit verschiedenen Drücken (30, 60, 90 MPa) in der Struktur der Fettkugelmembran entstehen, festgestellt. Es wurde gezeigt, dass es durch Erhitzung der Milch zu einer Veränderung an der Fettkügelchenmembran kommt. Sogar bei niedrigen Temperaturen (ca. 65 °C) kommt es zu Wechselwirkungen zwischen α -Lactalbumin, β -Lactoglobulin und der Fettkugelmembran (Corredig and Dalgleish, 1996). Cano-Ruiz und Richter (1997) berichteten, dass bei einer Temperatur von 65 °C und erhöhtem Druck hauptsächlich die Caseine an der Fettkugelmembran adsorbiert waren. Erst nach einer Erhitzung auf 85 °C und anschließender Homogenisierung kam es zur Denaturierung der Molkenproteine. So denaturierte β -Lactoglobuline und α -Lactalbumine haben die Möglichkeit, über Disulfidbrücken mit Caseinmicellen Komplexe zu bilden, die an der Fettkugelmembran adsorbiert werden oder sich direkt an

die Fettkugelmembran binden. Dadurch ist die vorhandene Milchfettoberfläche für eine weitere Adsorption der Caseine nicht mehr geeignet.

So entsteht eine neue, sekundäre Membran. Die Art der Wechselwirkungen ist noch unklar. Es wird vermutet, dass entweder

- die Milchproteine (aus Plasma) originäres Membranmaterial ersetzen, oder dass
- die Proteine die Lücken, die nach der Milcherhitzung an der Fettmembran entstehen, ausfüllen, oder dass
- sich die Milchproteine mit der Fettkugelmembran über Disulfidbrücken verbinden.

Bei Absenkung des pH-Wertes der Milch geht das kolloide Calciumphosphat zunehmend in Lösung. Unterhalb von pH 5,2 beginnen sich die Caseinmicellen zu größeren, lockeren Aggregaten zusammenzulagern, um schließlich am isoelektrischen Punkt (pH 4,6) nahezu vollständig unlöslich zu sein. Ebenso wird die Säuregerinnung des Caseins von der Vorerhitzung der Milch mit den Folgen einer Anlagerung denaturierter Molkenproteine auf die Micellenoberfläche beeinflusst.

In Tabelle 6 ist dargestellt, dass die Verbindung der Molkeproteine mit den Caseinmicellen stark vom pH der Milch abhängig ist.

Tabelle 6: Änderungen der Partikelgröße, des Volumens und der Viskosität der Caseinmicellen durch Assoziierung von Molkenproteinen zwischen pH 6.5 und 6.7 bei Magermilchproben, die bei 90°C für 30 Minuten erhitzt wurden (Anema und Li, 2003a)

pH	Assoziierte MP*(%)	Partikelgrößen- änderung (nm)	Partikelvolumen- änderung (nm)	Viskositätsänderung (Nsm ⁻²)
6,50	70,10	31,5	55,3	0,23
6,55	59,70	25,5	43,6	0,20
6,60	51,00	19,3	31,9	0,17
6,65	44,80	15,3	24,8	0,13
6,70	31,50	7,5	12,1	0,08

*MP-Molkeproteine

Bei niedrigeren pH-Werten (6,50 - 6,55) steigt die Caseinmicellengröße im Vergleich zu höheren pH-Werten (6,7). Im Gegensatz dazu wird die Denaturierungsrate von Molkenproteinen in diesem pH Bereich nicht beeinflusst. Die Ergebnisse zeigen, dass die Veränderungen in der Größe der Caseinmicellen bei der Milcherhitzung stark vom

pH-Wert der Milch abhängig sind. Dies ist auf die Assoziierungsrate von denaturierten Molkenproteinen an Caseinmicellen, die stark vom pH-Wert beeinflusst ist, zurückzuführen.

2.2.2 Erfassung der thermisch induzierten chemischen Veränderungen bei flüssigen Milchprodukten

Bei flüssigen Milchprodukten können die thermisch induzierten chemischen Veränderungen mit Hilfe verschiedener Methoden und Parameter erfasst werden. In den letzten 20 Jahren wurden hierzu am Forschungszentrum für Milch und Lebensmittel (FML) in Weihenstephan und an der Bundesanstalt für Milchwissenschaft (Standort Kiel) zahlreiche Untersuchungen durchgeführt (z. B. Horak, 1980; Konietzko, 1981; Fink, 1984; Dannenberg, 1986), deren Ergebnisse auch Eingang in die Gesetzgebung für die Wärmebehandlung von Konsummilch fanden (z.B. Biewendt, 1994; Schlimme et al., 1994; Schlimme, 1996).

Werden die flüssigen Milchprodukte unter definierten Temperatur-Zeit-Bedingungen erhitzt, so kann beispielsweise die Denaturierung der temperaturlabilen Molkenproteine über die bekannte Reaktionskinetik des β -Lactoglobulins oder die des α -Lactalbumins berechnet werden (Dannenberg, 1986).

Ebenso kann die gebildete Menge an Lactulose, die in Rohmilch nicht nachweisbar ist und die als Indikator für die thermische Belastung geeignet ist, mathematisch ermittelt werden (Nangpal et al., 1990). Für jeden einzelnen dieser Parameter kann ein so genannter F-Wert definiert werden, der die Zeit angibt, die nötig ist, um bei einer festgelegten Bezugstemperatur und einem festgelegten Z-Wert den gleichen thermischen Effekt zu erreichen wie bei dem zu bewertenden Erhitzungsverfahren (z. B. Biewendt, 1994).

Liegen die Temperatur-Zeit-Diagramme nicht vor, so kann über die Analyse der gebildeten Lactulosemenge umgekehrt auf die Wärmebelastung der Milchprodukte geschlossen werden. Wird dagegen bei einer solchen Milch die Menge der nicht denaturierten Molkenproteine analysiert, so ist dieser Schluss nicht ohne weiteres möglich, wenn die Milch vor der Erhitzung nicht untersucht werden konnte und somit die Ausgangsmenge an nativem Molkenprotein nicht genau bekannt ist.

Die thermische Belastung kann nicht nur bei flüssigen Milchprodukten, sondern beispielsweise auch bei Magermilchpulver erfasst werden. Hier kann mit dem Molkenproteinindex (MPI) der Gehalt an nicht denaturiertem Molkenprotein-Stickstoff erfasst werden (Voss und Moltzen, 1973).

2.3 Geruch und Geschmack der Milchprodukte

Die sensorische Qualität von thermisch behandelter Milch und Milchprodukten wird durch ihre Hauptinhaltsstoffe bestimmt. Die Merkmale "rein" und "vollmundig" charakterisieren sowohl das "mild-süße" – von der Lactose bestimmte – und das "mild-salzige" – von den Mineralstoffen verursachte – "Flavour" der Milch als auch den "vollmundigen" Eindruck, der von den in einer wässrig-kolloidalen Proteinphase emulgierten Milchfettkügelchen hervorgerufen wird. Außer diesen das Flavour bestimmenden Komponenten sind in der frischen Milch einige hundert organische Verbindungen gefunden worden, die verschiedenen Stoffklassen angehören. Dazu zählen u.a. Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Ester, Lactone sowie Schwefel- und Stickstoffverbindungen. Die Konzentration der meisten dieser Verbindungen liegt unterhalb der Reiz- oder Erkennungsschwelle (Walstra und Jenness, 1984). Badings (1984 und 1991) führte eine umfangreiche Untersuchung und Bewertung der geruchsaktiven Substanzen der Milch durch. Er stellte dabei fest, dass das Aroma von Milch maßgeblich von 48 Substanzen bestimmt wird, wobei technologische Behandlungen die Gehalte der einzelnen Substanzen und damit das Aromaprofil verändern.

Durch stärkeren Wärmeeintrag als bei der Kurzzeiterhitzung der Milch kann es zu einem als "Kochgeschmack" bezeichneten Flavour kommen. Bei hochehitzter Milch wird der Kochgeschmack hauptsächlich durch Schwefelwasserstoff und andere Schwefelverbindungen verursacht. Methylketone aus der thermischen Decarboxylierung von β -Ketofettsäuren tragen aber ebenso zum Kochgeschmack bei wie die aus γ - und β -Hydroxyfettsäuren entstehenden Lactone. Das Aroma von H-Milch wird gleichfalls von 2-Alkanonen, Lactonen und Schwefelverbindungen bestimmt.

Bei einer noch stärkeren thermischen Belastung wie bei einer Durchflussterilisation oder einer traditionellen Sterilisation treten dann zunehmend Maillard-Produkte wie Iso-Maltol oder 5-Hydroxymethylfurfural in den Vordergrund. Aus der Maillard-Reaktion resultiert in erster Linie die merkmaltypische leichte bräunliche Färbung von sterilisierter Milch. Bei Kondensmilch werden aufgrund der üblicherweise ebenfalls starken thermischen Belastung ähnliche Aromaprodukte gebildet wie bei Sterilmilch. Der bei längerer Lagerung von Kondensmilch auftretende Altgeschmack wird auf höhere Konzentrationen der gebildeten Verbindungen zurückgeführt, insbesondere auf das Vorkommen des aus dem Abbau von Tryptophan stammenden o-Aminoacetophenons.

Für den Geschmack hochehitzter Milchpulver sind ebenfalls 2-Alkanone, Lactone und Produkte der Maillard-Reaktion charakteristisch (Walstra und Jenness, 1984).

Neben der thermischen Behandlung beeinflusst auch eine mechanische Bearbeitung den Milchflavour. Hier ist einerseits die Hochdruckhomogenisierung zu nennen, bei der die deutliche Verkleinerung der Fettkügelchen zu einer erhöhten Viskosität und Vollmundigkeit der Milch führt. Noch gravierender wird durch eine andere Art der mechanischen Bearbeitung, die Entrahmungszentrifugation, in das System Milch eingegriffen. Das abgetrennte Fett wird in unterschiedlichen Mengen der Magermilch wieder zugesetzt, je nachdem, wie es für die verschiedenen flüssigen Milchprodukte, wie beispielsweise für die fettarme Milch (1,5 bis 1,8 % Fett), eine Kaffeesahne (mind. 10 % Fett) oder eine Schlagsahne (mind. 30 % Fett) erforderlich ist. Durch den stark differierenden Fettgehalt werden diese Produkte auch geschmacklich völlig unterschiedlich empfunden. Durch andere Trennverfahren, insbesondere die Membranfiltration, können auch die anderen Inhaltsstoffe in ihrem Verhältnis zueinander deutlich verändert werden und so entsprechend variierende Geschmackseindrücke hervorrufen. Bei der Eindampfung wie für eine Kondensmilch wird dagegen nur der Wasseranteil reduziert, während der Anteil der übrigen Inhaltsstoffe im gleichen Verhältnis ansteigt. Als Folge werden diese intensiver geschmacklich wahrgenommen.

2.4 Kaffee

Unter Kaffee (Bohnenkaffee) versteht man die von der Fruchtschale und nach Möglichkeit von der Samenschale befreiten, rohen (Rohkaffee) oder gerösteten (Röstkaffee), ganzen oder zerkleinerten Samen von Pflanzen der Gattung *Coffea*, wie auch das daraus zubereitete Getränk.

Von den ca. 70 *Coffea*-Arten sind nur zwei von großer wirtschaftlicher Bedeutung: *Coffea arabica* und *Coffea canephora*, allgemein als *Coffea robusta* bekannt. Diese beiden Arten unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Herkunft und ihres Aromas. *Coffea arabica* zeichnet sich durch ein mildes, harmonisches Aroma aus. Das Aroma von *Coffea robusta* wird hingegen als erdig, muffig und streng beschrieben (Semmelroch, 1995).

2.4.1 Aromastoffe im Kaffee

Die Bildung der Aromastoffe erfolgt prinzipiell auf zwei Arten: zum einen auf enzymatischem Wege, zum anderen durch nicht-enzymatische Reaktionen von Lebensmittelbestandteilen während der Verarbeitung oder Lagerung. Während bei pflanzlichen Produkten die Bildung von Aromastoffen überwiegend auf enzymatische

Reaktionen zurückzuführen ist oder durch enzymatische Reaktionen Vorstufen der späteren Aromastoffe entstehen, sind die tierischen Lebensmittel meist von Natur aus aromaarm und bilden erst durch Verarbeitung oder Lagerung ihr entsprechendes Aroma. Von entscheidender Bedeutung für die nicht-enzymatische Aromastoffbildung ist die Maillard-Reaktion meist in Kombination mit dem Streckerabbau von Aminosäuren oder der Lipidperoxidation (Whitfield, 1992).

Die Zusammensetzung der flüchtigen Fraktion von Röstkaffee ist sehr komplex. Reaktionen zwischen Aminosäuren und Kohlenhydraten sind die Hauptursache der Entstehung von Aromastoffen in Lebensmitteln. Auch Fette können bei der Aromastoffbildung eine Rolle spielen, da z.B. die zahlreichen Carbonylverbindungen in Fetten fähig sind, mit Aminen zu reagieren, und somit heterocyclische Aromaverbindungen gebildet werden können (Shibamoto, 1991).

Tabelle 7: Identifizierte Aromastoffe des Röstkaffees (Grosch, 1996)

Substanzklasse	Anzahl identifizierter Aromastoffe
Kohlenwasserstoffe, aliphatisch	45
Kohlenwasserstoffe, aromatisch	35
Alkohole, Ketoalkohole	25
Aldehyde	37
Ketone, Diketone	85
Säuren	28
Ester, Ether	33
Amine	13
Phenole	49
Furanone	128
Pyrrole	72
Pyridine	20
Pyrazine	89
Chinoxaline	11
Thiole	7
Sulfide, Disulfide	23
Thiophene	28
Thiazole	27
Oxazole	35
Andere	45
Insgesamt	835

Die Vielzahl an Reaktionsmöglichkeiten erklärt auch die zahlreichen im Kaffeearoma identifizierten Substanzklassen. Tabelle 7 zeigt die Anzahl der bis 1996 identifizierten Aromastoffe anhand ihrer Substanzklassen.

Im Aroma des Röstkaffees dominieren vor allem die heterocyclischen Verbindungen,

wobei unter den wasserdampf­flüchtigen Aromastoffen die Furane mit 38 - 45 % mengenmäßig den größten Anteil haben, gefolgt von Pyrazinen (25 - 30 %), Pyridinen (3 - 7 %) und Pyrrolen (2 - 3 %) (Grosch, 1996).

2.5 Aromastoffe und Aromastoffwahrnehmung

Unter Aromastoffen werden im Allgemeinen flüchtige geruchsaktive Verbindungen verstanden, die beim Menschen über die Geruchsrezeptoren im Riechepithel (olfaktorisches Epithel/Trigeminus) der Nasenhöhle wahrgenommen werden können. Die Aromastoffe oder auch Geruchsstoffe prägen zusammen mit den gustatorischen Reizauslösern (bitter, salzig, süß, sauer und umami), den Geschmacksstoffen, das Aroma oder auch „Flavor“ eines Lebensmittels. Dabei können Geschmacksstoffe auch gleichzeitig Geruchsstoffe sein im Sinne einer Riech-Schmeck-Verwechslung (Burdach, 1988). In diesem Sinne wird auch später bei der Darstellung der sensorischen Ergebnisse unter dem Begriff „Geschmack“ die retronasale Wahrnehmung mit einbezogen, obwohl streng genommen nur die genannten gustatorischen Reize den Geschmack ausmachen.

Ob ein Lebensmittel einem Verbraucher gefällt, entscheidet das Zusammenwirken von olfaktorischen, gustatorischen und haptischen Reizen, die das entsprechende Lebensmittel beim Verbraucher auslöst. Aber nur die geschmacks- und geruchsaktiven Inhaltsstoffe eines Lebensmittels sind per Definition (E DIN 10950) das „Aroma“ (Fliender and Wilhelmi, 1993).

Der Begriff Aromastoff selbst ist wertneutral. Ob ein Aromastoff als angenehm oder unangenehm empfunden wird, hängt von dem Lebensmittel ab, in dem er enthalten ist. Es gibt geruchsaktive Verbindungen, die zu den wichtigsten prägenden Aromastoffen eines Lebensmittels zählen. Sie werden daher auch als „Charakter Impact Compound“ bezeichnet. Aromastoffe dagegen, die das Aroma des Lebensmittels schmälern, werden als „Off-flavor“ bezeichnet. Dabei kann ein Aromastoff in einem Lebensmittel ein „Off-flavor“ erzeugen und in einem anderen Lebensmittel eine „Charakter Impact“ - Verbindung sein.

Die Aromastoffe können auf zwei Wegen das ca. 2,5 cm² große und mit 5-50 Millionen Geruchsrezeptoren durchsetzte Riechepithel in der Nasenschleimhaut erreichen. Ein Weg ist der über die nasale Passage, also durch direktes Einatmen durch die Nase. Diese Wahrnehmung wird als orthonasal bezeichnet. Der zweite Weg geht

über den Rachenraum und man spricht von der retronasalen Wahrnehmung. Erst beim Schlucken oder Kauen gelangen die Aromastoffe durch die Rachen-Nasenverbindung in die *regio olfactorie* der Nasenschleimhaut (Heath, 1982; Fliender and Wilhelmi, 1982; Taylor, 1996).

Einige Faktoren, die bei der Aromafreisetzung in der Mundhöhle eine Rolle spielen, werden im Folgenden kurz erläutert:

→ Temperatur:

Die Temperatur der Mundhöhle beeinflusst die Freisetzung der Aromastoffe zum einen über Veränderung der Aktivitätskoeffizienten der Aromastoffe und zum anderen über die Veränderung der Konsistenz des Lebensmittels.

→ Gastransport:

Durch den Atmungsvorgang und die Zungenbewegung entsteht in der Mundhöhle ein dynamischer Gastransport. Intensität und Geschwindigkeit dieses Transports sind entscheidend für die Wahrnehmung des Geruchs im Riechepithel.

→ Speichel / Hydratation:

Trockene Lebensmittel werden in der Mundhöhle durchfeuchtet, wodurch sich die Konsistenz des Lebensmittels und somit auch die Aromafreisetzung verändern. Der Speichel beeinflusst aber auch durch seine Bestandteile die Aromafreisetzung, beispielsweise durch die Bindung von Aromastoffen an Speichelproteine.

2.5.1 Grundlage der Wechselwirkungen von Milchinhaltstoffen mit den Kaffeearomastoffen

Prinzipiell sind verschiedene Arten von Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen und Inhaltsstoffen von Lebensmitteln denkbar. Diese wurden von Kinsella (1990) zusammengefasst und sind in Tabelle 8 dargestellt.

Bekannt ist vor allem die starke, irreversible Bindung von Aldehyden, insbesondere von gesättigten Aldehyden, an verschiedene native Proteine (Van Osnabrugge, 1989). Diese sind dann unter Umständen nicht mehr wahrnehmbar. Auch Ketone werden an Proteine gebunden; so wird 2,3-Butandion leicht an Rinderserumalbumin oder rohes Eialbumin gebunden und zwar bereits in Konzentrationen, die von den meisten Lebensmitteln überschritten werden (Van Osnabrugge, 1989). Eine Denaturierung der Proteine kann, eventuell aufgrund der besseren Zugänglichkeit der

hydrophoben/lipophilen Regionen, die Absorption von Aromastoffen erhöhen (Kinsella and Srinivasan, 1981).

Tabelle 8: Arten der Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen und Lipiden, Proteinen und Kohlenhydraten aus Lebensmitteln (Kinsella, 1990)

Komponente	mögliche Wechselwirkungen
Lipide	<ul style="list-style-type: none"> • Lösung • Dispersion Wasser/Öl Emulsion Öl/Wasser Emulsion • Adsorption feste Phase • Einschluss Öl/Wasser Emulsion
Proteine	<ul style="list-style-type: none"> • spezifische Bindungen • Adsorption • Absorption • Einschluss • Einkapselung • kovalente Wechselwirkungen
Kohlenhydrate	<ul style="list-style-type: none"> • Adsorption • Einschluss/Okklusion, Mikroregionen • Komplexierung • Einkapselung • Begrenzungen aufgrund von Viskosität/Diffusion

2.6 Problemstellung

Die flüchtigen Aromastoffe des Kaffees werden bereits seit den zwanziger Jahren des letzten Jahrhunderts mit chemisch-analytischen Methoden untersucht. Der Durchbruch bei dieser Forschung gelang mit der Entwicklung der Kapillargaschromatographie. Dabei werden die Aromastoffe aus dem Röstkaffeepulver mit verschiedenen Verfahren extrahiert und der gaschromatographischen Analyse mit anschließender Flammenionisations-detektion und/oder olfaktometrischer und massenspektrometrischer Detektion zugeführt. Dabei wurde in der Hauptsache das Aroma von Röstkaffee untersucht. Erst in den neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts wurde beispielsweise durch Blank et. al. (1991), Semmelroch und Grosch (1995) sowie von Bücking (1999) intensiver das Kaffeegetränk untersucht.

Durch Bücking und Steinhart (2002) wurde auch erstmals der Einfluss von Zusätzen

auf die Aromafreisetzung von Kaffee analysiert. Am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg wurden bereits im Rahmen eines FEI-Projektes zusammen mit der Kaffeeindustrie (AiF-FV 11048N) Untersuchungen an milchhaltigen Kaffeegetränken durchgeführt. Dabei stand der methodische Aspekt im Vordergrund. Es wurden diverse analytische Techniken entwickelt, welche die Bestimmung des Geruchseindruckes, so wie dieser vom Verbraucher wahrgenommen wird, ermöglichen. Dabei zeigte sich insbesondere eine Methode als dienlich, die als Headspace-Analyse bezeichnet wird, da hiermit ansatzweise berücksichtigt wird, wie das Aroma vom Verbraucher wahrgenommen wird, d.h. die nasale Wahrnehmung beim Genießen des Getränkes.

Die retronasale Aromawahrnehmung kann mit dem „Oral Breath Sampler“ (OBS), einem in Wageningen (Holland) von J. Roozen (Roozen und Legger-Huysman, 1995) entwickelten Gerät, gemessen werden. Bei diesem Gerät wird der Atem des Konsumenten während des Verzehrs aus dem Mund abgesogen und auf Tenax-Röhrchen gesammelt. Diese Röhrchen werden anschließend einer gaschromatographischen Analyse zugeführt. Im Rahmen dieses Projektes wurden erste orientierende Untersuchungen mit üblicherweise verwendeten Kaffeezusätzen durchgeführt, die im Handel gekauft wurden und deren konkrete Herstellungsbedingungen daher nicht bekannt waren (Frischmilch, H-Milch, Kondensmilch, Kaffeesahne, Schlagsahne, Milchpulver, jeweils in verschiedenen Fettgehaltsstufen, außerdem pflanzlicher Kaffeeweißer). Neben den apparativen Methoden ist auch der Einsatz von sensorisch geschulten Prüfern möglich, die unter definierten Bedingungen Kaffeegetränke verkosten.

Im Rahmen eines vom FEI geförderten Projektes war es das Ziel, diejenigen Parameter bei Kaffee und Milchprodukten zu ermitteln, die für die Beeinflussung von Geruch und Geschmack milchhaltiger Kaffeegetränke von Bedeutung sind. Dazu sollten von der BFEL (Standort Kiel) Milchprodukte mit stark differierenden Anteilen der Hauptinhaltsstoffe unter variabler physikalischer Belastung (Erhitzung, Homogenisierung) definiert hergestellt werden. Die apparativ und sensorisch wahrnehmbaren Änderungen der Aromafreisetzung bei Zugaben dieser Milchprodukte zu einem Kaffeegetränk festzustellen, war das Ziel der vorliegenden und einer weiteren Arbeit (Denker, 2006). Beide Arbeiten sind in enger Zusammenarbeit erstellt worden und umfassen zum einen den Einfluss auf die retronasale Aromawahrnehmung (Arbeit von Herrn Denker) und zum anderen lag der Schwerpunkt auf der orthonasalen Aromawahrnehmung (vorliegende Arbeit). Da aber das Aroma eines Kaffeegetränkes sowohl durch den ortho- wie durch den retronasalen Weg beim Verzehr wahrgenommen

werden, sind beide Arbeiten im Zusammenhang zu lesen, damit der Einfluss der Milchprodukte bzw. der Milchtechnologie im Ganzen erfasst werden kann.

Tabelle 9: Übersicht der praktischen Durchführung zur Erreichung der Problemlösung

#	Arbeitsschritte	Durchgeführte Arbeiten
0	Methodenentwicklung „Oral Breath Sampler“	<ul style="list-style-type: none"> • Adaption der Parameter des klassischen OBS an die Geräte- Bedingungen des „Gas Samplers“ der Firma Gerstel • Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der Probennahme
1	Untersuchung der einzelnen Milchinhaltsstoffe	<p>Untersuchung von Lactose, Casein, Molkenproteinen und Milchfett</p> <p>Sensorische Untersuchungen</p> <p>Eine weitere Untersuchung der Lactose wurde im Einvernehmen mit dem Projektbegleitenden Ausschuss nicht vorgenommen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • mit unverdeckelten Gefäßen (Triangeltest, Profilprüfung) • mit verdeckelten Gefäßen (Profilprüfung) <p>Chemisch-analytische Untersuchungen</p> <ul style="list-style-type: none"> • DHS • OBS • (SHS - bei den Milchproteinen)
2	Untersuchung mit definierten Milchproben	<p>Untersuchung von rekombinierten Milchen (Profilprüfungen, Triangeltests, DHS, OBS)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vollmilch (mit Milchsalzen) • „Vollmilch“ (ohne Milchsalze) • Milch mit erhöhtem Fettgehalt (7,0 %) • Milch mit erhöhtem Caseingehalt (4,2%) • Milch mit doppelten Caseingehalt (5,6%)
3 / 4	Variation der technologischen Parameter / Untersuchung definiert hergestellter Mischgetränke	<p>Untersuchungen (Profilprüfungen, Triangeltests, DHS, OBS, SHS)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vollmilch • Variation der Homogenisierung bei fettarmer Milch (Druck: 200/50 und 250/50; einfach oder doppelt) • Variation der Wärmebehandlung (Pasteurisierung, Ultrahecherhitzung und Sterilisierung)

3. Material und Methoden

3.1 Untersuchungsmaterial

3.1.1 Kaffee

Kaffeeauswahl

Für die Untersuchungen standen Kaffeebohnen der Art *Coffea arabica* zur Auswahl. In Tabelle 10 sind die Daten der Bohnen zusammengestellt. Der Kaffee wurde von der Fa. Tchibo, Hamburg geröstet und zur Verfügung gestellt.

Tabelle 10: Kaffeebohnen–Daten aus Muster Röstungen auf Bambi-Röster (Fa. Tchibo, Hamburg)

Herkunft	Röstung	Röstgrad	Temperatur	Röstzeit	Einbrand
Santos Brasil	hell	90 Skt	266°C	2,5 Minuten	13,9 %
Santos Brasil	dunkel	70 Skt	277°C	2,5 Minuten	15,0 %
Kenia	hell	90 Skt	257°C	2,5 Minuten	11,0 %
Kenia	dunkel	70 Skt	266°C	2,5 Minuten	12,3 %

Aus diesen Kaffeesorten wurden nach einer definierten Vermahlung (Mahlgrad 3) durch Zubereitung mit einer handelsüblichen Kaffeemaschine (TCM 01828) vier Kaffeegetränke hergestellt. Des Weiteren wurden aus den Kaffeebohnen nach dergleichen Vermahlung vier Kaffeegetränke mit der so genannten Bodum-Kanne (Cafetiere) hergestellt. Für beide Zubereitungsverfahren wurde die gleiche Menge an Kaffee und Wasser verwendet (42 g Kaffeepulver und 800 ml Leitungswasser; s. Anhang 7.4.1). Der Stempel der Bodum-Kanne wurde nach 5 Minuten heruntergedrückt. Somit standen acht definierte Kaffeegetränke zur Verfügung, aus denen das aromaintensivste Getränk ausgewählt wurde.

Die sensorischen Untersuchungen zur Auswahl des aromaintensivsten Kaffeegetränkes wurden an der Fachhochschule Bergedorf im Sensorik-Labor von Frau Prof. Busch-Stockfisch (Hochschule für angewandte Wissenschaft Hamburg) durchgeführt. Das Sensorik-Panel bestand aus 12 auf Kaffee geschulten Prüfern. Die acht Kaffeegetränke wurden vor jeder Prüfung frisch zubereitet. Für die Beurteilung der Aromaintensität der Kaffeegetränke wurde zunächst der Friedman-Test herangezogen.

Dabei wurden die Kaffeegetränke in zwei Gruppen eingeteilt: die hellen Röstungen bildeten die eine Gruppe, die dunklen Röstungen wurden in der zweiten Gruppe zusammengefasst. Die Prüfer erhielten zuerst die vier "hellen" Kaffeegetränke, diese waren von ihnen der Aromaintensität nach zu ordnen. Dieselbe Prüfung wurde mit den "dunklen" Kaffeegetränken durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass unter den dunklen Kaffees das mit der Kaffeemaschine hergestellte Getränk aus den dunkel gerösteten Kenia-Bohnen am aromaintensivsten war. Bei den hellen Kaffees war das Ergebnis nicht eindeutig. Es wurde daher auf die paarweise Vergleichsprüfung zurückgegriffen. Dabei erhielten die Prüfer je ein "helles" Kaffeegetränk und das "dunkle" Kenia-Kaffeegetränk und sollten angeben, welches der beiden Getränke die höhere Aromaintensität aufwies. Bei diesem Test entschieden sich die Prüfer signifikant für das Kaffeegetränk, welches mit der Kaffeemaschine aus den dunkel gerösteten Kenia-Bohnen zubereitet wurde, als den aromaintensivsten Kaffee. Dieses Kaffeegetränk wurde somit für die nachfolgenden Untersuchungen ausgewählt.

Kaffeebohnen

Bei den untersuchten Kaffeebohnen handelt es sich um Samen der *Coffea arabica*. Diese Bohnen stammen aus dem Erzeugerland Kenia und haben einen hohen Röstgrad (dunkel) (s. Anhang Nr. 7.1).

Kaffeepulver

Die Kaffeebohnen wurden kurz vor der Verwendung mit einer handelsüblichen Kaffeemühle gemahlen (Mahlgrad 3). Der angewandte Mahlgrad lieferte eine für eine Brühung in der Kaffeemaschine optimale Partikelgröße. Die Reproduzierbarkeit der Korngröße bei der Vermahlung in dieser Kaffeemühle wurde von der Firma Tchibo nachgewiesen. Es kann davon ausgegangen werden, dass die erhaltenen Korngrößen des Kaffeepulvers während der Untersuchung konstant waren (Wilkins, 1997).

Herstellung des Kaffeegetränks

Die Kaffeegetränke wurden mit 42 g frisch gemahlenem Kaffeepulver und 800 g Leitungswasser in einer haushaltsüblichen Kaffeemaschine bzw. in einer Bodum-Kanne zubereitet (s. Anhang Nr. 7.4.1). Die Reproduzierbarkeit der Kaffe Zubereitung mit der Kaffeemaschine wurde ebenfalls von der Firma Tchibo versichert (Wilkins, 2002). Der erhaltene Kaffeeextrakt ist daher als konstant anzusehen.

3.1.2 Milchzusätze

Vom Institut für Chemie und Technologie der Milch der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Standort Kiel, wurden die verwendeten Milchzusätze hergestellt. Es wurden sowohl die Hauptinhaltsstoffe der Milch, Lipide, Caseine, Molkenproteine, angereichert als auch daraus rekombinierte Milchprodukte hergestellt. Des Weiteren wurden verschiedene Milchprodukte, welche sich bezüglich ihrer technologischen Bearbeitung (Homogenisierung und Erhitzung) unterscheiden, erzeugt.

3.1.2.1. Milchprodukte

- Pasteurisierte Vollmilch und fettarme Milch

Alle Produkte wurden immer aus frischer Rohmilch hergestellt. Sie wurden im Durchfluss bei 55 °C mit 200/50 bar homogenisiert, dann bei 73 °C für 20 s erhitzt, und wieder auf 10-15 °C abgekühlt. Die pasteurisierten Proben wurden zunächst in sterilisierte Literflaschen aus Glas gefüllt, schnell weiter auf 5 °C abgekühlt, unter einem Sterilflow in sterile 100 ml-Becher aus Polypropylen (PP) mit Schraubverschluss umgefüllt und bis zum Verbrauch weiter bei 5 °C gelagert.

- Ultrahocherhitzte Vollmilch und fettarme Milch

Als zweites Wärmebehandlungsverfahren kam die indirekte Ultrahocherhitzung bei 138-139 °C für 4,5 s zum Einsatz. Aus den Temperatur/Zeit-Diagrammen ergaben sich - als Maß für die Wärmebelastung - F_0 -Werte von 7,2-8,5 min. Bei der fettarmen Milch und der Vollmilch fand vor der Ultrahocherhitzung eine Homogenisierung mit 200/50 bar bei 70-75 °C statt. Alle ultrahocherhitzten Proben wurden unter dem Sterilflow direkt in die sterilen PP-Becher gefüllt und bei 5 °C zwischengelagert.

- Sterilisierte Vollmilch und fettarme Milch

Fettarme Milch und Vollmilch aus frischer Rohmilch wurden auch in Flaschen (0,25 l) mit Kronkorken gefüllt und bei 121 °C im Rotationsautoklaven sterilisiert. Dabei wurden F_0 -Werte zwischen 5,5 und 6 min gefahren.

3.1.2.2. Milchkomponenten

Im Einzelnen wurden die folgenden Hauptinhaltsstoffe angereichert:

Caseine

Mit micellarem Casein (nativem Phosphocaseinat) angereichertes Pulver wurde durch

geeignete Membranfiltration von Magermilch und anschließender Gefriertrocknung hergestellt. Durch die Gefriertrocknung wurden thermische Effekte ausgeschlossen und Produktverluste minimiert. Die Herstellungsschritte sind im Anhang Nr. 7.2.1 beschrieben.

Molkenprotein

Aus frischer Rohmilch zentrifugierte Magermilch war Ausgangsmaterial für Pulver mit angereichertem nativem Molkenprotein (ohne Glycomakropeptid). Dazu wurde die Magermilch wie bei der Caseinherstellung zunächst im Crossflow-Verfahren mit niedriger transmembraner Druckdifferenz mikrofiltriert (Porengröße 1 µm). Während das Casein nahezu vollständig im Retentat verblieb, konnte das Molkenprotein die Membran passieren. Das Permeat wurde dann durch Ultrafiltration (Trenngrenze 10 kD) aufkonzentriert, dreimal durch Diafiltration im Lactose- und Milchsalzgehalt reduziert (gewaschen) und anschließend gefriergetrocknet. Die Herstellungsschritte sind im Anhang Nr. 7.2.1 beschrieben.

Milchfett

Neben den Eiweißfraktionen wurde auch emulgiertes Milchfett angereichert. Dazu wurde frisch zentrifugierter Rahm (Fettgehalt 40-45 %) dreimal mit UF-Permeat aus der Ultrafiltration (10 kD) von Magermilch gewaschen, um den Eiweißgehalt deutlich zu reduzieren (erreicht wurden ca. 0,3 %). Nach dem Waschen erfolgte die Einstellung des Fettgehaltes mit dem UF-Permeat auf 35 bzw. 36,5 % sowie eine Zugabe von 0,02 % Carrageen zur Verzögerung der Aufräumung. Anschließend erfolgte eine Erhitzung auf 85 °C im Wasserbad. Die Herstellungsschritte sind im Anhang Nr. 7.2.1 beschrieben.

Zugabemengen

Aus den natürlichen Gehalten der einzelnen Hauptinhaltsstoffe in den Milchprodukten (Vollmilch, Fettarme Milch, Magermilch, Kaffeesahne, Schlagsahne und Kondensmilch) und deren geschätzten üblichen Zugabemengen zu einer Tasse Kaffee (~150 g) erfolgte die Berechnung der Zugabemengen (Tabelle 11 - 13).

Tabelle 11: Gehalte an Milchfett, Caseinen und Molkenproteinen in verschiedenen Milchprodukten (Hoffmann, 2002)

	Magermilch	Vollmilch	Kaffeesahne	Schlagsahne	Kondensmilch
Milchfett	0,3 %	3,5 %	10 %	30 %	10 %
Caseine	0,3 %	2,6 %	3,2 %	2,0 %	7,0 %
Molkenproteine	0,7 %	0,6 %	0,8 %	0,5 %	1,8 %

Tabelle 12: Zugabemengen verschiedener Milchprodukte zu 150g Kaffeegetränk (geschätzt)

	Magermilch	Vollmilch	Kaffeesahne	Schlagsahne	Kondensmilch
Zusatz [~ %]	20 %	10 %	5,0 %	5,0 %	5,0 %
Zusatz [~ g]	30 g	15 g	7,5 g	7,5 g	7,5 g

Tabelle 13: Gehalt der Milchkomponenten im milchhaltigen Kaffeegetränk (Kaffeeanteil 150g)

	Magermilch	Vollmilch	Kaffeesahne	Schlagsahne	Kondensmilch
Zusatz [g]	30 g	15 g	7,5 g	7,5 g	7,5 g
Milchfett	0,1 g	0,5 g	0,8 g	2,3 g	0,8 g
Caseine	0,8 g	0,4 g	0,2 g	0,2 g	0,5 g
Molkenproteine	0,2 g	0,1 g	0,1 g	0,0 g	0,1 g

Basierend auf diesen Berechnungen wurden folgende Milch-Zugabemengen zu einer Tasse Kaffee (Tabelle 12) ausgewählt (die höheren Zugabemengen resultieren aus größeren Anteilen an Milch in verschiedenen Kaffeespezialitäten, wie z.B. Café au lait):

Tabelle 14: Verwendete Zugabemengen der Milchinhaltstoffe zu 150g Kaffeegetränk

Zusatz	Zugabemengen [g]				
Molkenproteine	0,25	0,6	0,8	1,5	
Caseine	0,2	0,6	0,8	2,7	4,0
Milchfett	0,2	1,0	2,0	4,0	6,0

Diese Mengen an Milchinhaltstoffen wurden in 30 mL destilliertem Wasser unter Rühren gelöst, so dass die Zugabe in 30 g Wasser zu den 150g Kaffeegetränk erfolgte.

3.1.2.3. Rekombinierte Milchprodukte

Die so genannten „Rekombinate“ sollten in ihren Hauptinhaltsstoffen eine vergleichbare Zusammensetzung wie Vollmilch mit 3,5 % Fett aufweisen. Sie wurden aus den beschriebenen angereicherten Hauptinhaltsstoffen hergestellt, ergänzt durch kommerziell hergestellte Lactose und eine synthetische Milchsatzlösung (Tabelle 15)

nach Jenness und Koops (1962).

Tabelle 15: Zusammensetzung der synthetischen Milchsatzlösung nach Jenness und Koops (1962)

Trockenmischung für 1 Liter Milchsatzlösung	
KH ₂ PO ₄	1,580 g
K ₃ -Citrat x H ₂ O	1,203 g
Na ₃ -Citrat x 5 H ₂ O	2,120 g
K ₂ SO ₄	0,180 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1,320 g
MgCl ₂	0,306 g
K ₂ CO ₃	0,300 g
KCl	0,599 g

In Abbildung 8 ist ein Berechnungsbeispiel für das Rekombinat aufgeführt.

Gewünschte Zusammensetzung:

- 35g Milchfett
- 28g Casein
- 7g Molkenprotein
- 47g Lactose
- Milchsätze

Rekombination:

- 0,9L Synthetische Milchsatzlösung nach Jenness und Koops
- 34,5g Caseinangereichertes Pulver:
 - ca. 82% = 28g Casein
 - ca. 5% = 1,7g Molkenprotein
- 6,5g Molkenproteinangereichertes Pulver:
 - ca. 82% = 5,3g Molkenprotein
 - ca. 10% = 0,7g Lactose
- 44g Lactose (Variolac 99 edible grade, Fa. Biolca)
- 96g Gewaschener Rahm:
 - 36,5% = 35g Milchfett
 - 36,5% = 61g UF-Permeat
 - = (2,9g Lactose + 0,5gMilchsätze)

Abbildung 8: Berechnungsbeispiel für ca. 1 Liter rekombinierte Vollmilch mit 3,5 % Fett

Der Verfahrensweg für die Herstellung der rekombinierten Milch ist im Anhang Nr. 7.2.2, Abbildung 63 beschrieben.

Das rekombinierte homogenisierte und pasteurisierte Produkt erhielt durch Verwendung des gelblichen Lactose-Pulvers eine vergleichbare Farbe wie Frischmilch aus dem Handel, war aber bei etwa gleichem pH-Wert im Geschmack deutlich flacher. Die über die Laserbeugungsspektroskopie gemessenen volumenbezogenen Größenverteilungen der Fettkügelchen in der rekombinierten und Handelsmilch stimmten nahezu überein, wie Abbildung 9 zeigt.

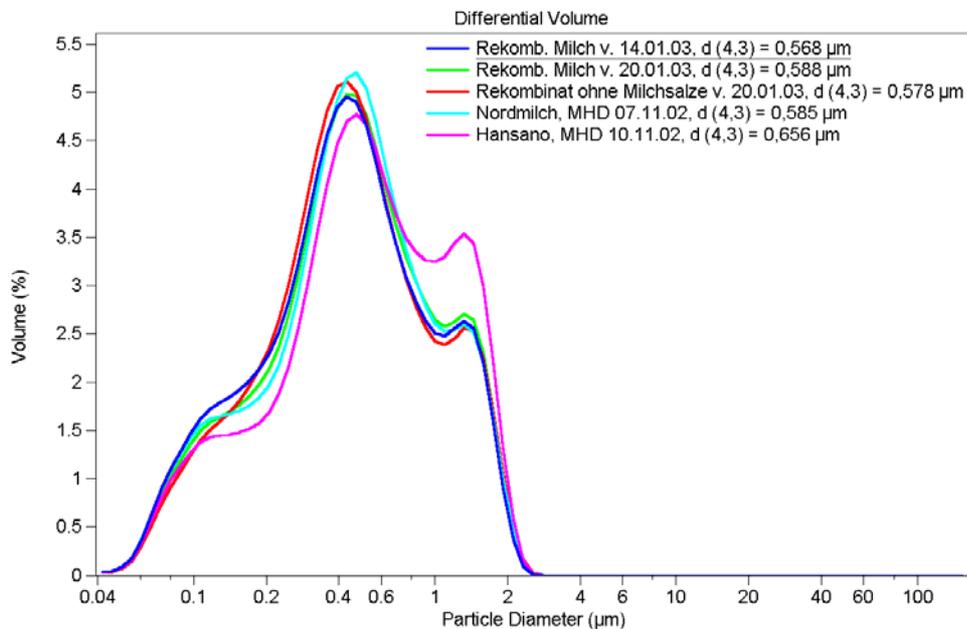


Abbildung 9: Volumenbezogene Fettkugelverteilungen bei pasteurisierter rekombinierter und Handels-Vollmilch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Neben diesem Vollmilch Rekombinat wurden auch nach dem gleichen Verfahren von der Vollmilch abweichende Rekombinate hergestellt. Bei Rekombinat 2 wurde anstelle der Milchsatzlösung nur destilliertes Wasser eingesetzt. Dies veränderte nicht die Fettkugelverteilung (rote Kurve in Abbildung 9), senkte aber den pH-Wert um 0,1-0,15.

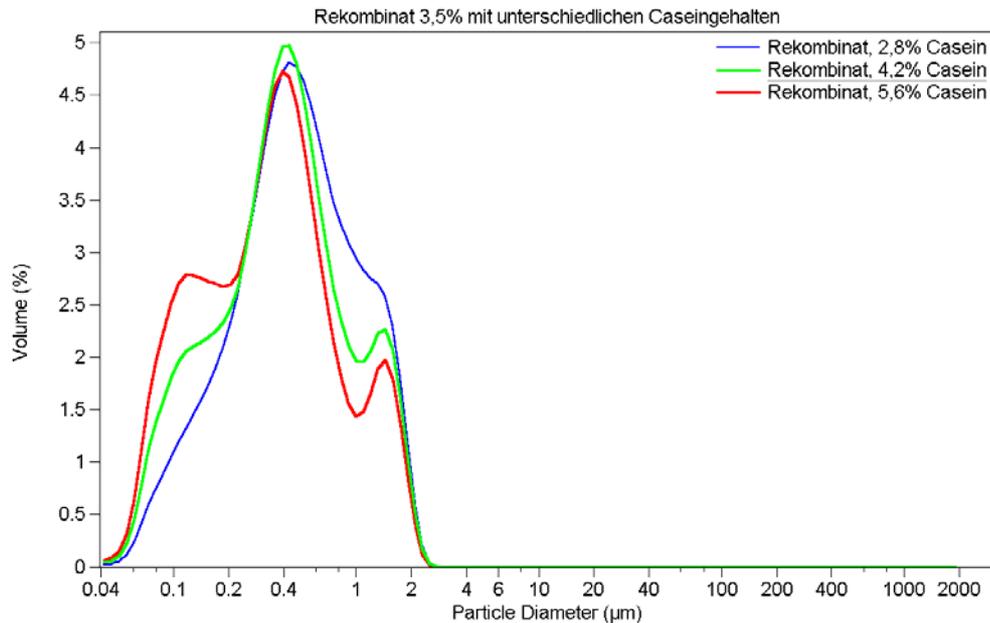


Abbildung 10: Vollmilch-Rekombinate mit unterschiedlichen Caseingehalten (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Wurde in der rekombinierten Vollmilch der Caseinanteil von 2,8 auf 4,2 und 5,6 % erhöht, gingen die kleinen Caseinmicellen (meist < 0,3 µm) deutlicher in die Verteilungskurve ein. Durch die Caseinerhöhung stieg die Viskosität (bei 20 °C) von 2,5 auf 3,2 und 3,9 mPas.

Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die in der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel in Kiel hergestellten Rekombinate:

Tabelle 16: Übersicht über die verwendeten Rekombinate

Rekombinat	Fettgehalt [%]	Caseingehalt [%]	Milchsalze (MS): mit (+); ohne (-)
Rekombinat 1	3,5	2,8	+
Rekombinat 2	3,5	2,8	- (*)
Rekombinat 3	7,0	2,8	+
Rekombinat 4	3,5	4,2	+
Rekombinat 5	3,5	5,6	+

(*) statt der Milchsalzlösung wurde destilliertes Wasser eingesetzt

3.1.2.4. Variation der Homogenisierung

Als Basis für die weiteren Untersuchungen wurden die Fettkugelverteilungen einer normal homogenisierten (200/50 bar) und pasteurisierten Vollmilch mit denen einer gleich behandelten fettarmen Milch, an vier verschiedenen Tagen verglichen.

Die volumenbezogenen Mittelwerte ($d_{4,3}$) von vier Vollmilchproben liegen zwischen 0,459 und 0,478 μm und die oberflächenbezogenen Mittelwerte ($d_{3,2}$) zwischen 0,291 und 0,302 μm (s. 7.2.3, Tabelle 29).

Bei gleich behandelte fettarmer Milch (4 Proben) liegen die $d_{4,3}$ -Werte zwischen 0,344 und 0,375 μm , wobei die $d_{3,2}$ -Werte zwischen 0,188 und 0,212 μm lagen (s. 7.2.3, Abbildung 64).

Zunächst wurde homogenisierte und pasteurisierte Vollmilch (3,5 % Fett) noch einmal mit dem gleichen Druck (200/50 bar) homogenisiert, wodurch die 1-2 μm großen Fettkugeln weitgehend verschwanden und sich der mittlere volumenbezogene Partikeldurchmesser $d_{4,3}$ deutlich verringerte (s. Abbildung 11).

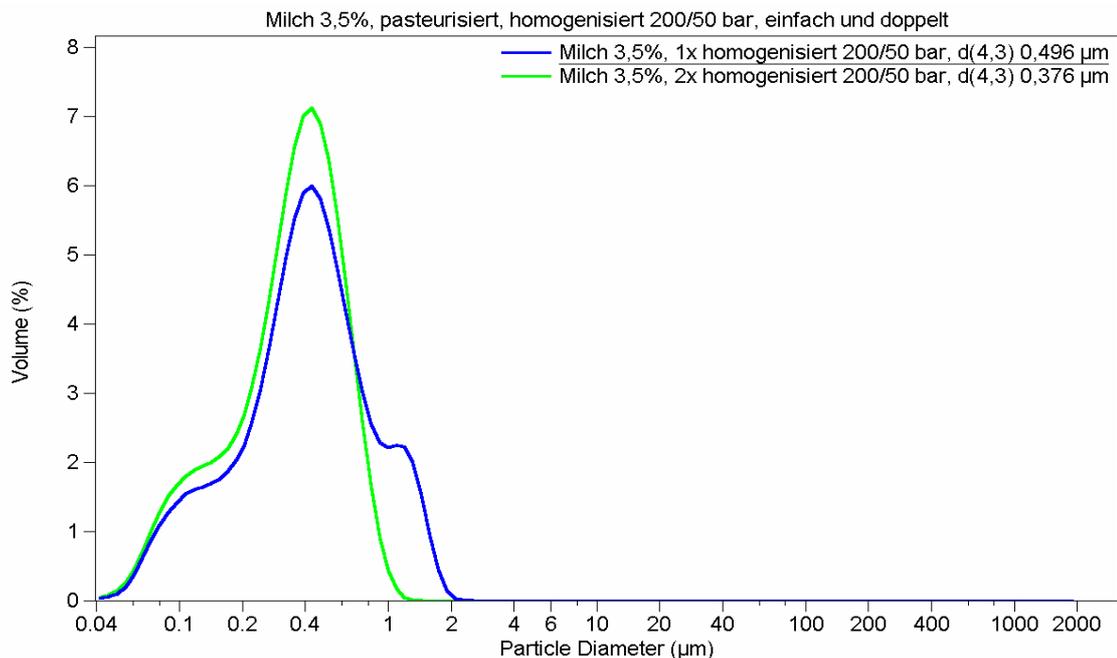


Abbildung 11: Partikelverteilung bei ein- und zweimal homogenisierter und pasteurisierter Vollmilch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Durch einen verringerten Fettkugeldurchmesser wird deren Gesamtoberfläche vergrößert, die Vollmundigkeit ebenso wie die Weißkraft im Kaffeegetränk erhöht.

Wurde die fettarme Milch **vor der Pasteurisierung** zweimal homogenisiert mit je 250/50 bar (Abbildung 12), so zeigte sich eine deutlich feinere Verteilung, die zudem deutlich bimodal war. Hier gingen also offensichtlich nicht nur die Fettkugeln in die Berechnung der Mittelwerte ein, sondern zunehmend auch die Caseinmicellen, deren mittlerer Durchmesser bei ca. 0,1 µm liegt.

Eine eindeutige Größentrennung von Fettkugeln und Caseinmicellen war schwierig, wurde aber versucht (s. Tabelle 17).

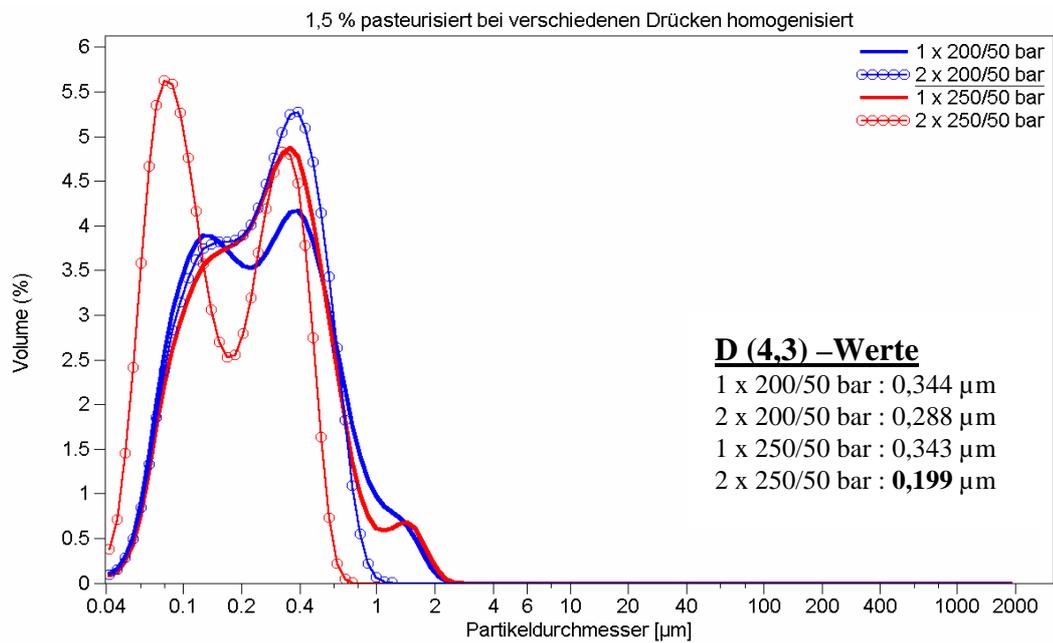


Abbildung 12: Partikelverteilungen bei unterschiedlich homogenisierter fettarmer Milch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Die Gesamtoberfläche der Fettkugeln in der Milch lässt sich aus dem $d_{3,2}$ -Wert berechnen:

Spezifische volumenbezogene Oberfläche

$$S_v = \frac{\text{Oberfläche (der dispersen Phase)}}{\text{Volumen (der dispersen Phase)}} = \frac{6}{d_{32}}$$

(d_{32} ist der oberflächenbezogene arithmetische Durchmesser der Fettkugeln)

Wird d in μm gemessen, so erhält man S_v in m^2 pro ml Fett!

Beispiel für eine Milch mit 3,5 % Fett und $d_{32} = 0,6 \mu\text{m}$:

$$\begin{aligned} S_v &= 10 \text{ m}^2 / \text{ml Fett} \\ &35 \text{ g Fett } (\rho \approx 0,93 \text{ g/ml}) / \text{kg Milch} \\ &= 37,6 \text{ ml Fett} \quad \quad \quad / \text{kg Milch} \\ \Rightarrow &\underline{376 \text{ m}^2 \text{ Fettkugeloberfläche} / \text{kg Milch}} \end{aligned}$$

Nach Walstra (Walstra et al., 1999) wird die Fettkugeloberfläche von ca. 10 mg Eiweiß/ m^2 bedeckt. Dies ist aber als grobe Schätzung anzusehen, die nur als Anhaltspunkt dienen kann. Sie wird sicherlich nicht für alle unterschiedlich bearbeiteten Milchproben gleichermaßen gelten können. Trotz dieser Einschränkungen wurde für ausgewählte Milchproben mit diesem Wert gerechnet (Tabelle 17).

Tabelle 17: Berechnung der Fettkugeloberfläche bei ausgewählten Milchproben

Homogenisierte, pasteurisierte Milch	$d_{4,3}$ (μm)	$d_{3,2}$ (μm)	Fettkugeloberfläche (m^2/l)
3,5 % Fett, 1 x 200/50 bar	0,478	0,296	763
1,5 % Fett, 1 x 200/50 bar	0,344	0,188	514
1,5 % Fett, 2 x 250/50 bar	0,199	0,126	767
		nur Werte > 0,195:	
1,5 % Fett, 1 x 200/50 bar		0,396	243
1,5 % Fett, 2 x 250/50 bar		0,305	316

Bei den ersten drei Milchproben wurden alle Ergebnisse der jeweiligen Partikelverteilung berücksichtigt. Sie zeigen, dass die Oberfläche der fettarmen stark homogenisierten Milch gleich groß wie die der mit 200/50 bar homogenisierten Vollmilch ist. Mit der obigen Annahme von Walstra folgt dann, dass zwischen 0,5 und 0,8 % Protein benötigt werden, um die Fettkugeln ausreichend zu emulgieren.

Wie ausgeführt, beinhalten insbesondere die Verteilungen von sehr fein homogenisierten, fettarmen Proben auch die der Caseinmicellen. Aus den bimodalen Kurven (s. z.B. Abbildung 12) wurde geschätzt, dass Caseinmicellen in der Regel $d_{3,2}$ -

Werte von max. 0,195 μm aufweisen. Wurden daher nur Werte oberhalb 0,195 μm berücksichtigt, so resultierten deutlich größere $d_{3,2}$ -Werte und entsprechend kleinere Gesamtoberflächen, wie sie in den beiden unteren Zeilen von Tabelle 17 angegeben sind. Hierdurch verringert sich der berechnete Proteinbedarf auf ca. 0,2 bzw. 0,3 %.

Die zweimalige im Abstand von 30-40 min durchgeführte Homogenisierung vor der Wärmebehandlung führte zu Lipolyse, wobei der Anteil an freien Fettsäuren stieg. Das wirkte sich deutlich negativ auf den Geruch und Geschmack von Milch aus (Variante 1 und Variante 2) (Denker, 2006). Deswegen wurden für die nächsten Versuche zwei Pasteurisierungen jeweils unmittelbar nach dem Homogenisieren vorgenommen (s. Abbildung 13).

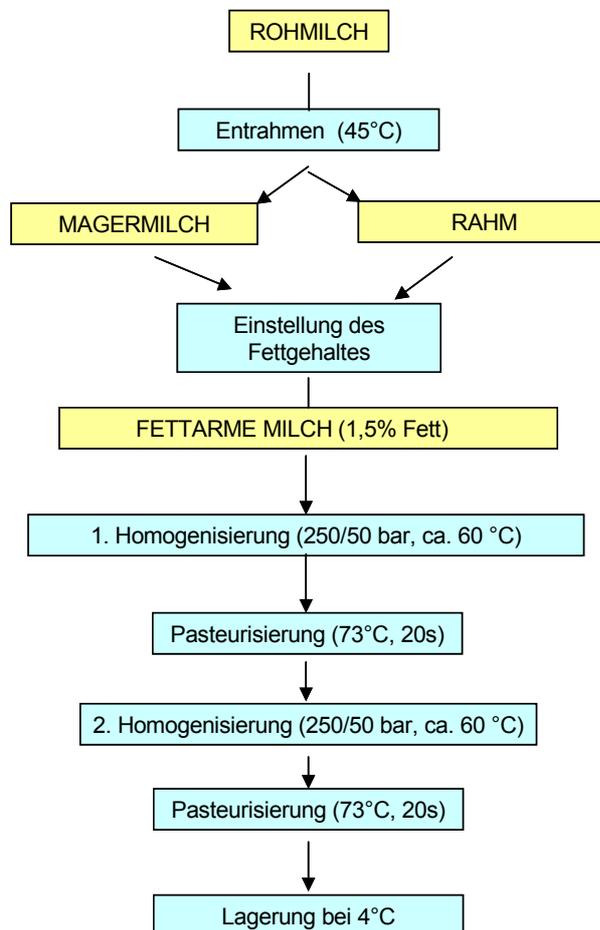


Abbildung 13: Zweifache Homogenisierung und Pasteurisierung von fettarmer Milch (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Betrugen die Drücke je 200/50 bar, so war die zugehörige Partikelverteilung (Abbildung 14) noch weitgehend monomodal, bei je 250/50 bar jedoch eindeutig bimodal mit zwei Maxima bei $< 0,1 \mu\text{m}$ und $0,35 \mu\text{m}$. Vermutlich repräsentiert der erste Peak wieder den durchschnittlichen Caseinmicellendurchmesser, der zweite den der Fettkugeln. Die zugehörigen $d_{3,2}$ -Werte lagen über die Gesamtverteilung bei $0,191 \mu\text{m}$ bzw. $0,141 \mu\text{m}$.

Durch die jeweilige Wärmebehandlung unmittelbar nach der Homogenisierung konnte ein Anstieg des Gehaltes an freien Fettsäuren und sensorische Abweichungen vermieden werden. Durch eine Pasteurisierung wird die Lipase inaktiviert (Walstra et al., 1999).

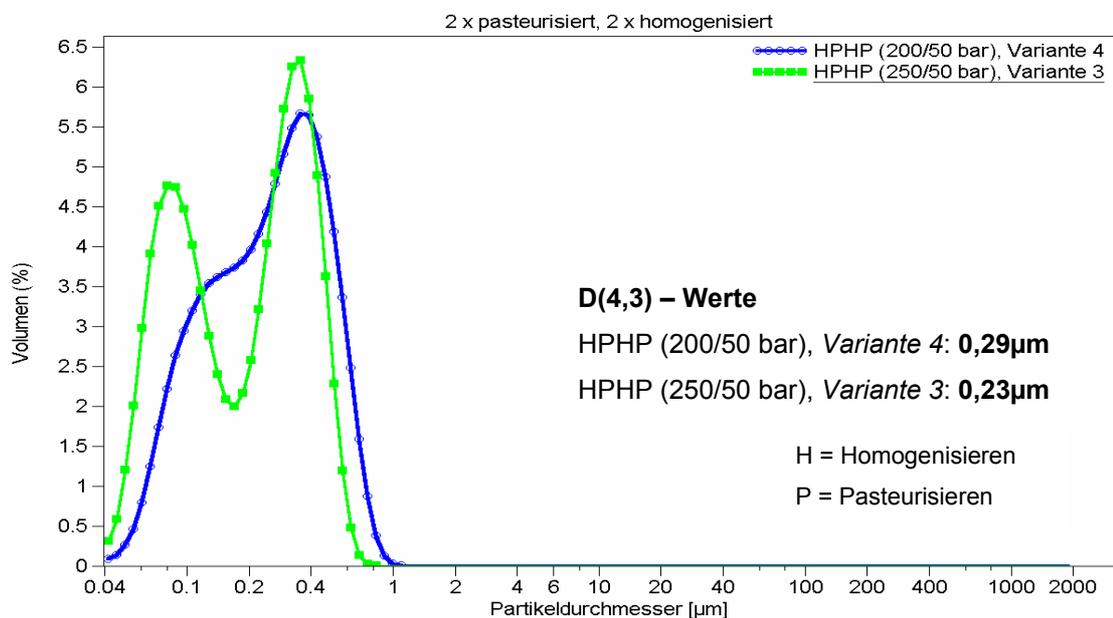


Abbildung 14: Partikelverteilung bei je doppelt homogenisierter und pasteurisierter fettarmer Milch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

In einem weiteren Versuch wurden zwei Homogenisiermaschinen unmittelbar hintereinander geschaltet und sofort eine Pasteurisierung angeschlossen. Dies war verfahrenstechnisch nicht ganz einfach durchzuführen und beschränkte sich daher auf zwei Versuche (Abbildung 15).

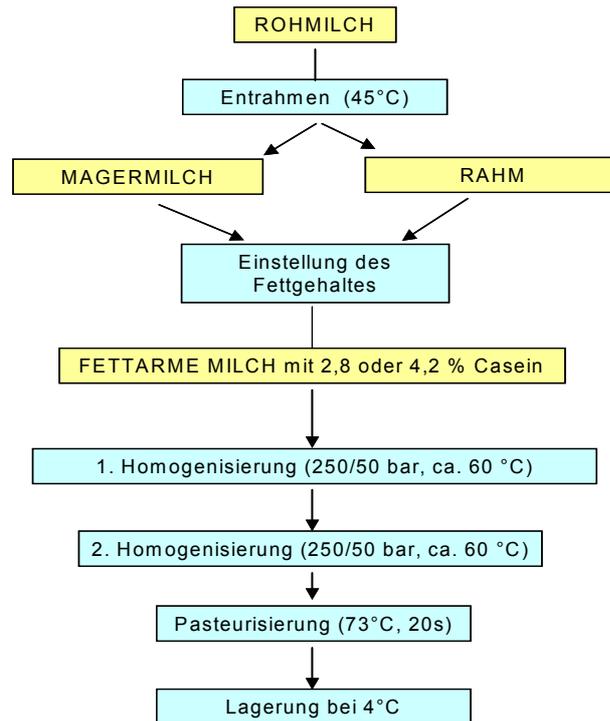


Abbildung 15: Zweimal hintereinander homogenisierte und dann pasteurisierte fettarme Milch (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

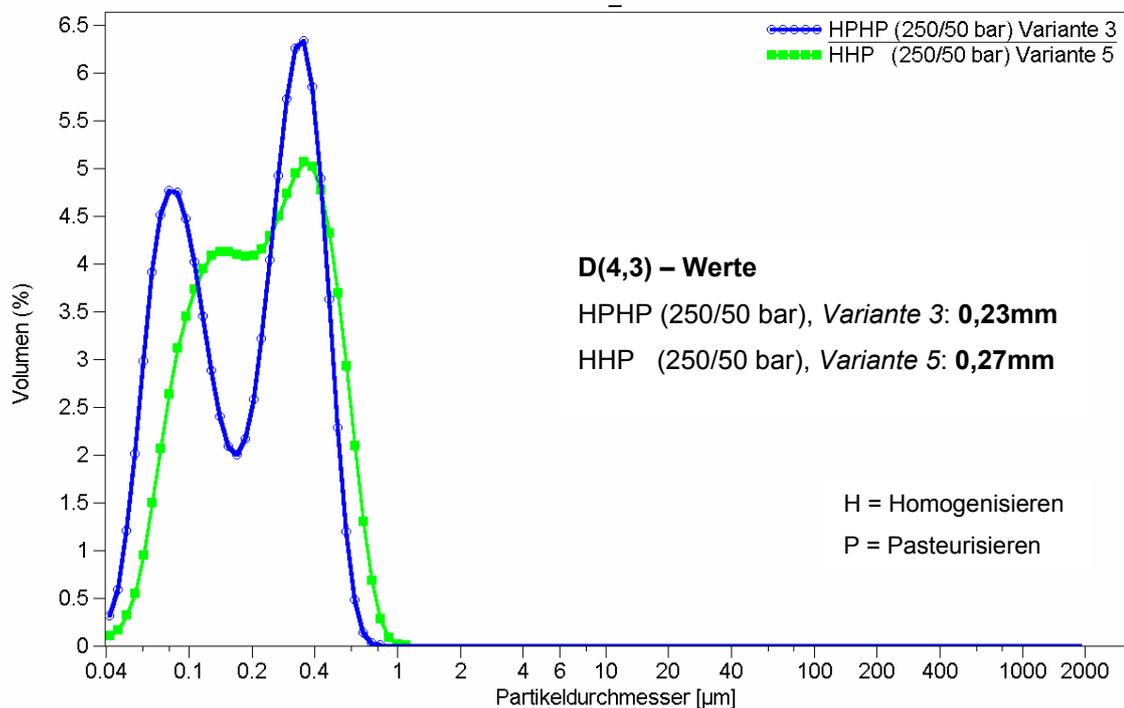


Abbildung 16: Partikelverteilung bei zwei Varianten von zweimal homogenisierter fettarmer Milch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

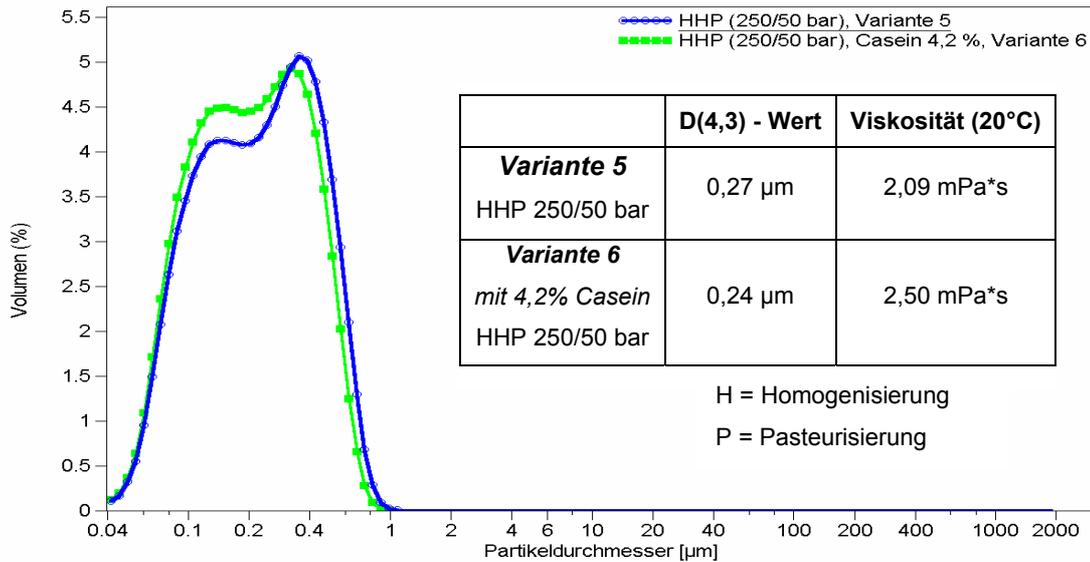


Abbildung 17: Partikelverteilungen bei fettarmen Milchproben mit unterschiedlichem Caseingehalt (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Die fettarme Milch (*Variante 5*) erhielt dadurch eine etwas andere Partikelverteilung ($d_{3,2} = 0,177 \mu\text{m}$) als bei doppelter Homogenisierung und doppelter Pasteurisierung (*Variante 3*). Der mittlere Durchmesser war etwas größer; die Bimodalität nur schwach erkennbar (Abbildung 16).

In einer weiteren *Variante 6* wurde die fettarme Milch vor dem Homogenisieren durch Zusatz von caseinangereichertem Pulver im Caseingehalt von 2,8 auf 4,2 % erhöht. Erwartungsgemäß sank dadurch der mittlere Partikeldurchmesser geringfügig ($d_{3,2} = 0,166 \mu\text{m}$), während der wahrscheinliche Caseinpeak etwas deutlicher heraustrat. Das zusätzliche Eiweiß erhöhte die Viskosität von 2,09 auf 2,50 mPas (Abbildung 17).

3.1.2.5. Variation der Erhitzung

Abschließend wurde jeweils aus einer Charge Rohmilch fettarme Milch mit 1,5 % Fett eingestellt und den drei typischen Wärmebehandlungen für Konsummilch (pasteurisieren, ultrahoherhitzen und sterilisieren) unterworfen. Dabei wurde jeweils einmal mit 250/50 bar homogenisiert. Das Verfahrensschema ist in

Abbildung 18 dargestellt.

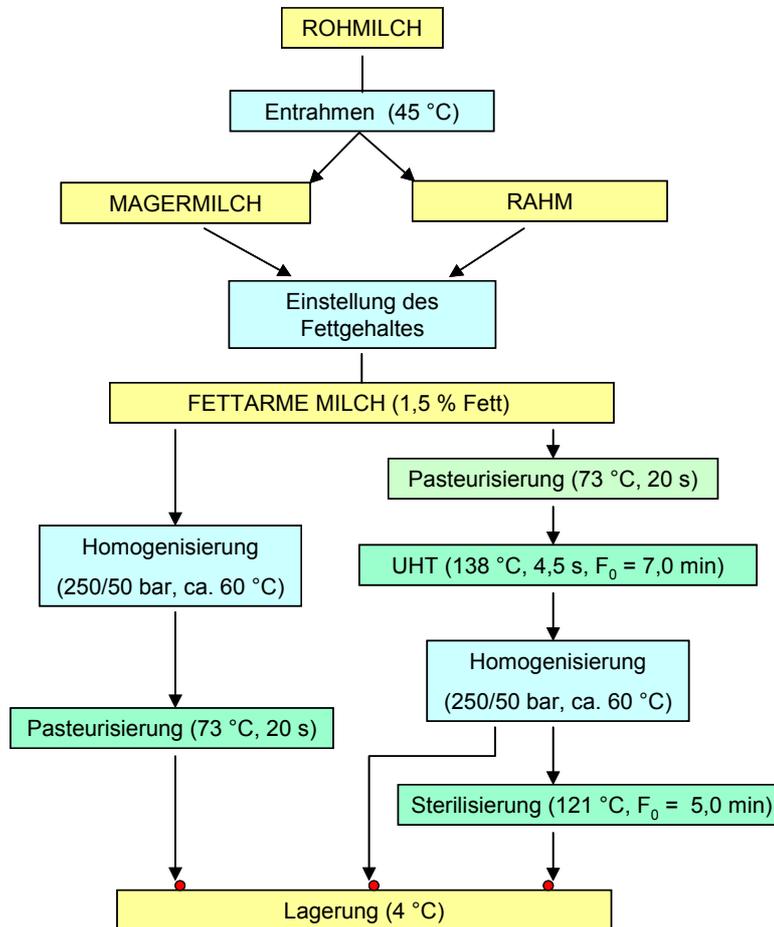


Abbildung 18: Herstellung von thermisch unterschiedlich behandelte fettarmer Milch (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Trotz der unterschiedlichen Wärmebehandlungen unterschieden sich die Partikelverteilungen nicht stark voneinander (

Abbildung 19). Bei der Ultrahoherhitzung und der Sterilisierung (in Flaschen im Rotationsautoklav) bildeten sich offensichtlich keine Fett / Eiweiß-Aggregate bzw. Trauben. Die $d_{3,2}$ -Werte reichten von 0,201 bis 0,222 μm .

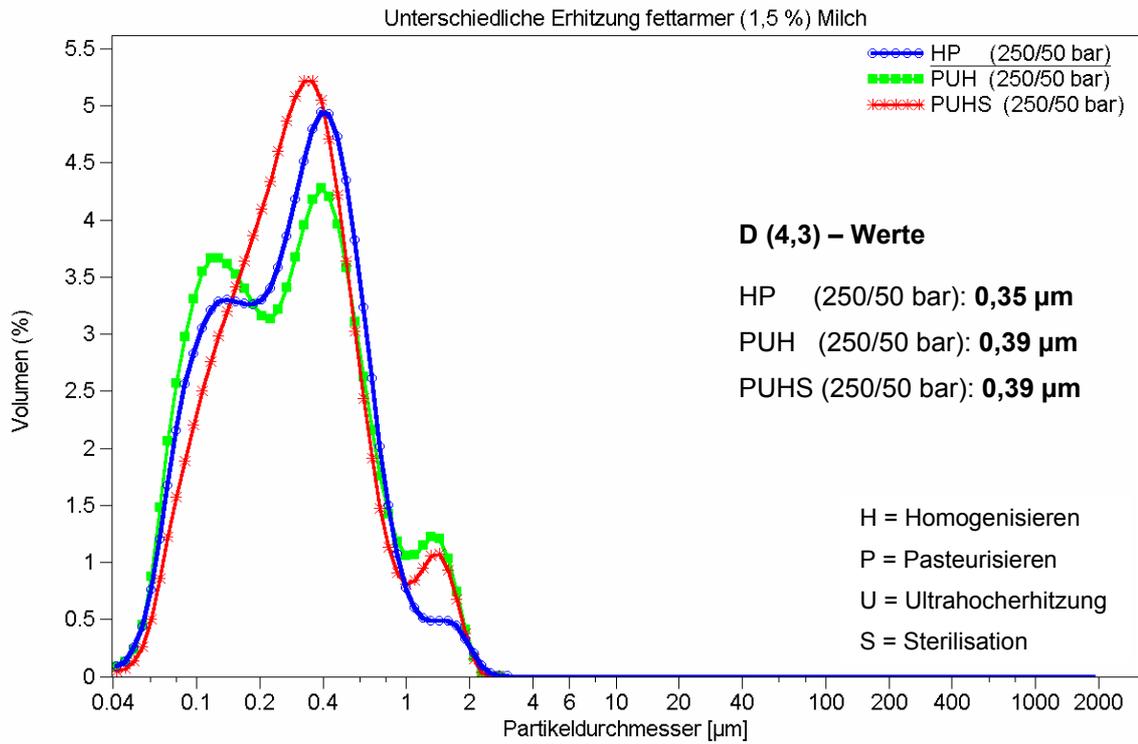


Abbildung 19: Partikelverteilung bei thermisch unterschiedlich behandelter, einmal homogenisierter fettarmer Milch (Diagramm aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

3.2 Methoden der Aromastoffanalytik

In Abbildung 20 sind die gebräuchlichen Analysenmethoden in der Aromaanalytik dargestellt. Die für die folgenden Untersuchungen verwendeten Methoden sind fettgedruckt (Bücking, 1999).

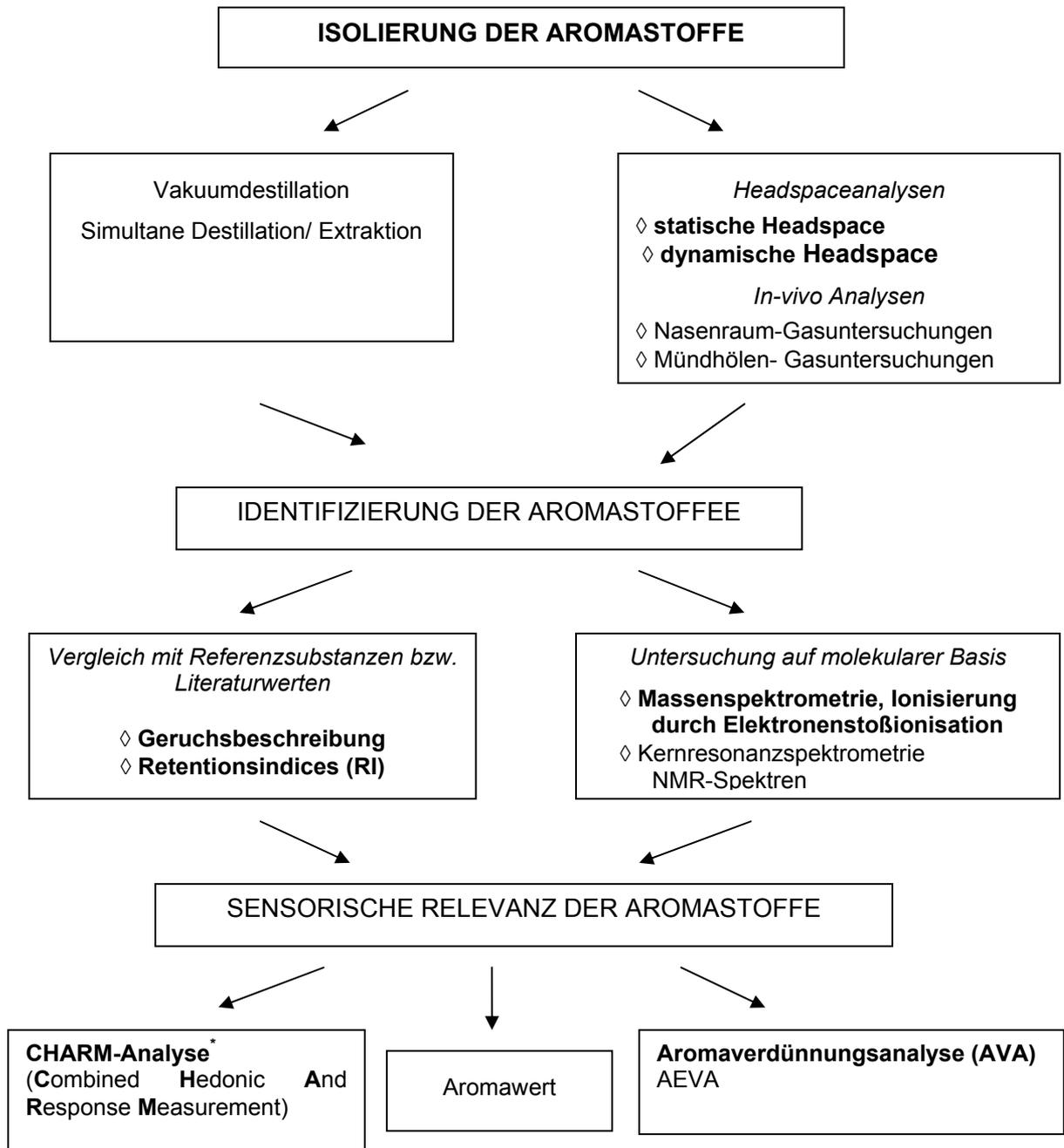


Abbildung 20: Übersicht über die Methoden der Aromaanalytik

(* in modifizierter Form verwendet)

3.2.1 Isolierung der Aromastoffe

Es gibt in der Aromaanalytik grundsätzlich zwei Methoden zur Isolierung der Aromastoffe. Zum einen die Extraktionsmethoden, bei denen das gesamte Lebensmittel zur Untersuchung verwendet wird und so sämtliche erfassbaren Aromastoffe aus der Lebensmittelmatrix extrahiert und analysiert werden. Zum anderen wird nicht das gesamte Lebensmittel untersucht bzw. extrahiert, sondern nur der Gasraum über dem zu untersuchenden Lebensmittel. Im Folgenden werden die allgemein üblichen Methoden in der Aromaforschung vorgestellt.

3.2.1.1. Extraktionsmethoden

Isolierung der Aromastoffe mittels Vakuumdestillation

Die Extraktion der Aromastoffe aus der Probenmatrix erfolgt mit organischen Lösungsmitteln (z.B. Diethylether oder n-Pentan). Die Aromastoffe aus den so gewonnenen Extrakten werden mittels Destillation im Hochvakuum abgetrennt. Durch Auswahl der entsprechenden Lösungsmittel und Variieren des pH-Wertes können so Aromastofffraktionen hergestellt werden, die im Anschluss an evtl. notwendige Verdünnungsschritte gaschromatographisch untersucht werden können (Semmelroch, 1995).

Isolierung der Aromastoffe durch simultane Destillation/ Extraktion (SDE)

Mit der Apparatur nach LIKENS und NICKERSON können Destillation und Extraktion flüchtiger Verbindungen mit niedrig siedenden Lösungsmitteln aus wässrig-flüssigen Lebensmitteln gleichzeitig durchgeführt werden. Der erhaltene destillierte Extrakt wird für die folgenden GC Untersuchungen verwendet (Likens und Nickerson, 1964).

3.2.1.2. Headspace Methoden

Im Gegensatz zu den oben genannten Methoden handelt es sich bei diesen Methoden um direkte und partielle Analysenverfahren zur Bestimmung von flüchtigen Stoffen in flüssigen oder festen Proben durch die Analyse der entsprechenden Dampfphasen. Diese Methoden eignen sich damit sehr gut zur Untersuchung des Kaffeearomas. Neben der Vermeidung von Störpeaks (z.B. Lösungsmittel) liegt der Vorteil dieser Analytik gegenüber den anderen Methoden im geringen Arbeitsaufwand, da aufwendige Aufarbeitungsschritte entfallen (Bücking, 1999).

Gegenüber der konventionellen GC-Analytik können jedoch, im Hinblick auf die

qualitative und quantitative Analyse, Probleme auftreten. So sind, bedingt durch die geringeren Konzentrationen im Dampfraum, Identifizierungen oft problematischer als in der klassischen GC, was die qualitative Aussage im Spurenbereich erschweren kann.

Statische Headspace (SHS)

Bei der SHS (Abbildung 21a) werden die Proben aus dem Kopfraum über dem Lebensmittel, das in ein Gefäß, in dem ein thermodynamisches Gleichgewicht herrscht, eingeschlossen ist, direkt gaschromatographisch analysiert. Die Konzentration der zu analysierenden Stoffe verändert sich nach der Gleichgewichtseinstellung nicht mehr, da der Dampfraum über dem Lebensmittel gesättigt ist. Die Ergebnisse sind aber meistens unbefriedigend, weil wichtige Aromastoffe in so niedrigen Konzentrationen vorliegen, dass ihre Identifizierung nicht möglich ist (Grosch, 1993).

Dynamische Headspace (DHS)

Bei der DHS (s. Abbildung 21 b, c) handelt es sich um eine kontinuierliche Gasextraktion mit einem Inertgas der zu analysierenden flüchtigen Stoffe.

Dabei vermindert sich die Konzentration der eluierten Stoffe ständig, bis sie asymptotisch den Wert 0 erreicht (Curves et al., 1984). Die DHS bietet bei der Untersuchung von Kaffeegetränken zwei Möglichkeiten der technischen Durchführung:

- *Die Gasextraktion wird kontinuierlich „über“ der Probe, d.h. im „Kopfraum“ der Probe durchgeführt (Abbildung 21b).*
- *Das Spülgas wird kontinuierlich durch das zu untersuchende Kaffeegetränk geleitet (Purge and Trap, Abbildung 21c).*

Das Sammeln (trapping) der eluierten Stoffe kann durch einfaches Ausfrieren (Kühlfalle, Trap) oder adsorptiv durch geeignete Adsorbentien geschehen. Als Adsorbentienmaterialien eignen sich Tenax TA[®], Poropak[®] und Chromosorb[®] (Hachenberg und Beringer 1996). Dabei weist Tenax TA[®] für die verschiedensten Stoffklassen das beste Bindungsverhalten auf und es ist das am häufigsten eingesetzte Adsorptionsmaterial für flüchtige Komponenten (Withycombe et al., 1978). Die auf diese Weise adsorbierten Aromastoffe werden dann im Injektorsystem des Gaschromatographen thermisch desorbiert. Der Nachteil der DHS besteht darin, dass sich die Zusammensetzung des Gasraums aufgrund der unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der einzelnen Verbindungen ständig ändert. In Abhängigkeit von

der Probenmatrix und den Durchführungsparametern können daher SHS und DHS unterschiedliche Zusammensetzungen des Gasraums wiedergeben.

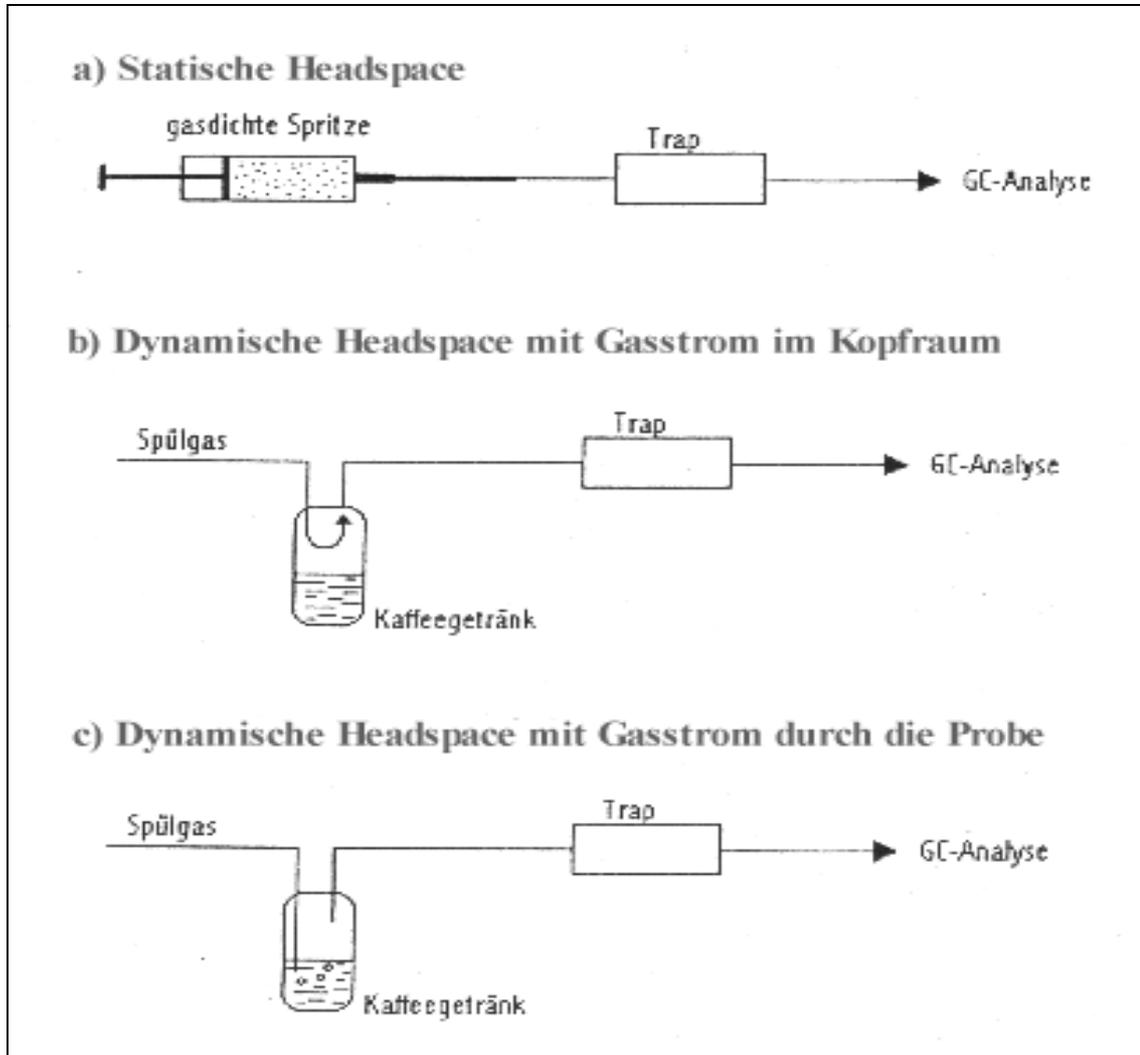


Abbildung 21: Schematische Darstellung der Headspace-Methoden

3.2.1.3. Aromafreisetzung im Nasenraum oder der Mundhöhle

Die bisher vorgestellten Headspace Methoden geben in etwa das originäre Aroma der Lebensmittelproben wieder. Dabei wird ansatzweise der direkte Weg durch die Nase (orthonasale Wahrnehmung) wiedergegeben. Indes können Aromastoffe, wie bereits ausgeführt, auch durch die Rachen-Nase-Passage (retronasaler Weg) zu den Geruchsrezeptoren im Nasenepithel gelangen. Beim Verzehr bzw. dem Genuss von

Lebensmitteln können die Aromastoffe in vielfältiger Weise beeinflusst werden (Taylor, 1996).

Es gibt zahlreiche Versuche mit so genannten Mundmodell-Systemen (van Ruth et al., 1994; Roberts und Acree, 1995; Taylor, 1996; Deibler et al., 2001; Rabe et al., 2002) wie z.B.:

- Retronasaler Aroma Simulator (RAS) - Bei diesem In-vitro-Versuch wird das Milieu in der Mundhöhle (z.B. Temperatur, Zusatz von künstlichem oder realem Speichel, Kaubewegungen, Scherkräfte, etc.) imitiert.
- Bei den In-vivo-Methoden mit freiwilligen Prüfpersonen (MS Nose™, Spit-Off Odorant Measurement (SOOM), Exhaled Odorant Measurement (EXOM), Oral Breath Sampling (OBS), wird der Gasraum beim Konsum von Lebensmitteln oder von Modelllösungen mit definierter Aromastoffzusammensetzung in der Mundhöhle oder in der Nase untersucht.

3.2.2 Methoden zur Isolierung der Aromastoffe

Da für die Auswahl der Analysenmethoden die Bedingungen, wie sie beim Verbraucher beim Verzehr des Kaffeegetränks vorliegen, im Vordergrund standen, wurden die Extraktionsmethoden, wie Vakuumdestillation oder Simultane Destillation/Extraktion ausgeschlossen, da bei diesen Methoden die Aromastoffe annähernd vollständig aus der Lebensmittelmatrix isoliert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden deshalb zwei verschiedene Headspace-Methoden verwendet, da diese die orthonasale Aromawahrnehmung beim Verzehr des Kaffeegetränks am ehesten widerspiegelt. Die verwendeten Methoden sind statische und dynamische Headspace-Methoden, die extern durchgeführt wurden.

Für die Untersuchung der retronasalen Aromawahrnehmung wurde die Methodik des Oral Breath Samplings gewählt. Diese Methode wurde im gemeinsamen Projekt von Herrn Denker entwickelt und verwendet (Denker, 2006).

3.2.2.1. Externe dynamische Headspace

Bei der externen DHS handelt es sich um eine Aromastoff-Trapping-Methode auf Tenax TA[®], bei der der Gasraum mittels eines inerten Gases (Stickstoff) auf das Tenaxröhrchen gespült wird.

Für diese Art der Aufarbeitung wurde die in Abbildung 22 dargestellte Apparatur von

Bücking entwickelt (Bücking, 1999).

Ein definiertes Volumen (50 g) des frisch zubereiteten Kaffeegetränkes wird mit dem entsprechenden Zusatz (10 g, dies entspricht einem 20 % igen Zusatz) in das Spülgefäß überführt. Da die Temperatur des Kaffees einen großen Einfluss auf die Freisetzung der Aromastoffe besitzt, wird dieses auf 40 °C, welches in etwa der Temperatur der Mundhöhle nach dem Genuss des heißen Kaffeegetränks entspricht, temperiert. Der Gasraum wird dann mit Stickstoff gespült, und das ausströmende Gas auf einem Tenaxröhrchen gesammelt. Von entscheidender Bedeutung für die Konstanz der Ausbeute ist auch hier die Menge des durch das Tenaxröhrchen fließenden Gases. Die Menge des einströmenden Gases zu bestimmen, reicht bei dieser Methode nicht aus, da die verschiedenen verwendeten Tenaxröhrchen über verschiedene Gasdurchlässigkeit, d.h. unterschiedlich dichte Packungsverhältnisse, verfügen. Es ist daher unerlässlich, den Gasfluss am Ende des Tenaxröhrchen zu bestimmen. Die verwendeten Parameter sind in Anhang Nr. 7.3 angegeben.

Beim Sammeln („Trapping“) der Aromastoffe auf dem Tenaxröhrchen besteht das Problem, dass der im Dampfraum enthaltene Wasserdampf die Trennleistung der Kapillarsäule erheblich mindert (Holscher, 1991; Pollien et al., 1997) und führt bei der Verwendung einer Cryofokussierung, bei der die injizierten Substanzen mittels Trägergas auf eine als Kühlfalle dienende Kapillarsäule (Trap) gespült werden, welche mit flüssigem Stickstoff auf Temperaturen unterhalb von –100 °C gekühlt wird, sogar zur Zerstörung des Trap. Das im Gasstrom enthaltene Wasser wird deshalb durch Verwendung von Calciumchlorid entfernt (Abbildung 22).

Die auf dem Tenax TA[®] gesammelten Substanzen werden gaschromatographisch (GC) getrennt. Dazu stand ein „Purge and Trap“-Injektionssystem in Verbindung mit einem GC zur Verfügung. Der mit Tenax TA[®] gefüllte Glasliner wird in das „Purge and Trap“-System eingebaut. Durch Aufheizen des Injektors werden die Substanzen desorbiert und anschließend auf eine als Kühlfalle (Trap) dienende Kapillarsäule gepurgt. Das Trap wird mit flüssigem Stickstoff auf –130 °C gekühlt. Nach Ablauf der Purgezeit wird das Trap innerhalb von 1 min von –130 °C auf 250 °C aufgeheizt.

Die „ausgefrorenen“ bzw. in ihrer Wanderungsgeschwindigkeit herabgesetzten (cryofokussierten) flüchtigen Verbindungen gelangen dabei schlagartig in einer schmalen Bande auf die Trennsäule. Dies entspricht einer normalen Injektion in den GC (Geräteparameter siehe Anhang Nr. 7.3).

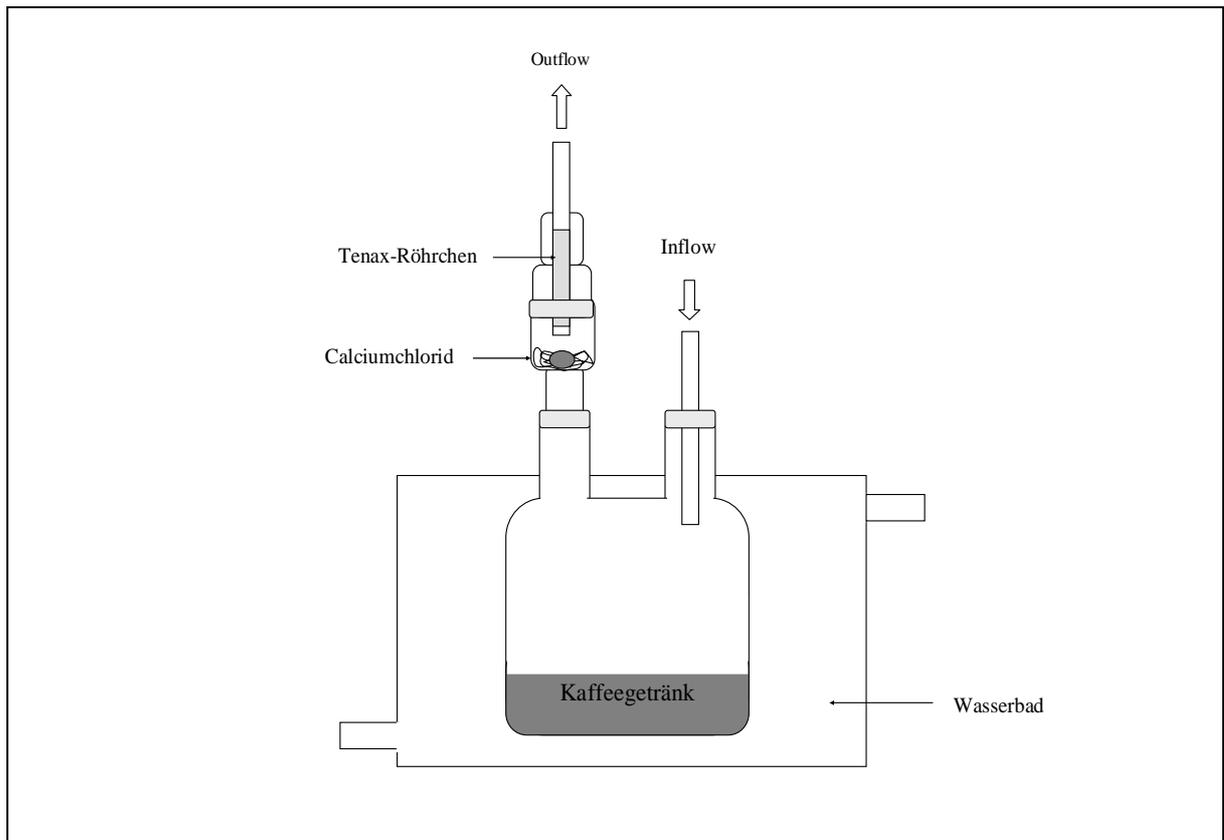


Abbildung 22: Glasgefäß für die externe dynamische Headspace

3.2.2.2. Externe statische Headspace

Für die Untersuchungen mittels SHS wurde das von Bücking (1999) entworfene zweiteilige Glasgefäß verwendet. Um den Verlust an leicht flüchtigen Aromastoffen zu minimieren, wurde dieses modifiziert, indem zwei Hähne eingebaut wurden, die während der Equilibrierung geschlossen und während des Spülens geöffnet sind. In Abbildung 23 ist der schematische Aufbau der externen SHS dargestellt.

In das untere kleinere Gefäß werden insgesamt 264 mL Kaffeegetränk („schwarzer Kaffee“, „verdünnter schwarzer Kaffee“ und „milchhaltiger Kaffee“ vgl.) gefüllt und 15 Minuten, bei geschlossenen Hähnen und Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wird das untere, mit Kaffee gefüllte Gefäß durch ein leeres Gefäß ersetzt. Bei geöffneten Hähnen wird ein Stickstoffgasstrom von 100 mL pro Minute für 30 Minuten durch die Glasapparatur geleitet. Die Aromastoffe werden wie bei der DHS auf Tenax TA[®] gespült und der Gasstrom wird ebenfalls hinter dem Tenax-Röhrchen

gemessen.

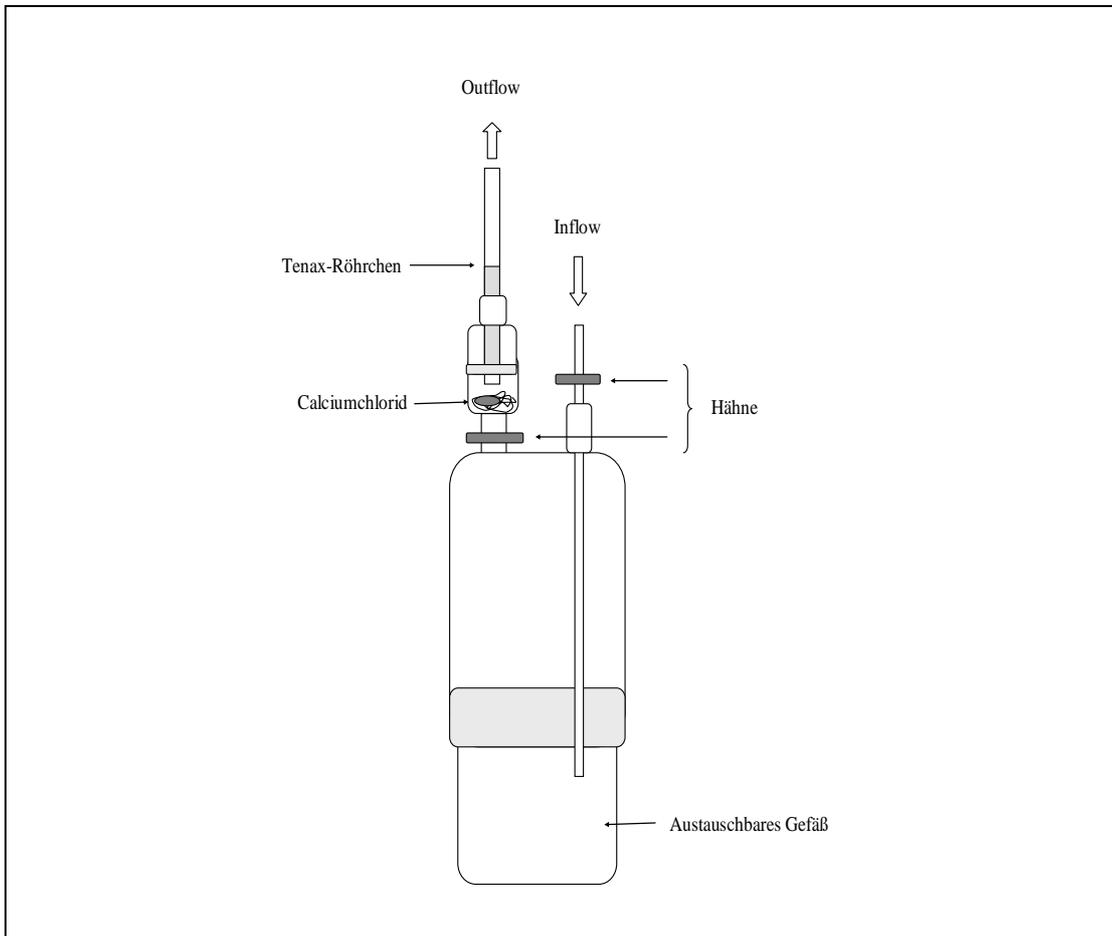


Abbildung 23: Purgegefäß für die externe statische Headspace

3.2.3 Identifizierung der Aromastoffe

Aromastoffe werden im Allgemeinen gaschromatographisch getrennt. Gepackte Säulen haben nicht die Trennschärfe, die für die Vielzahl an flüchtigen Verbindungen in Lebensmitteln benötigt wird. Erst durch Einführung der „fused silica“ Kapillarsäulen ist auch die Trennung von stickstoff- und schwefelhaltigen Aromastoffen möglich geworden (Shibamoto, 1991).

Identifizierung über Retentionsindizes

Unterschiedliche Parameter wie z.B. die Säulenlänge, der Trägergasfluss und das Temperaturprogramm bestimmen den Zeitpunkt der Elution einer Verbindung von der Säule. Die Retentionszeit einer Substanz ist somit bei unterschiedlichen

chromatographischen Systemen nicht miteinander vergleichbar. Durch die Verwendung der von Van den Dool und Kratz eingeführten Retentionsindices (RI) ist bei gleicher Belegung der Kapillarsäule ein Vergleich mit Literaturdaten möglich (Van den Dool und Kratz, 1963). Zur Ermittlung dieser wird ein n-Alkanstandard eingespritzt. Die RI-Werte geben dann die Retentionszeit einer Verbindung relativ zu den beiden auf der Zeitachse benachbart liegenden aliphatischen Kohlenwasserstoffen an (Berechnung s. Anhang Nr. 7.5.4). Der Vergleich der RI-Werte einer unbekanntem Substanz auf zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität mit Literaturdaten und eine sich anschließende Injektion der reinen Referenzsubstanz ermöglichen eine Identifizierung.

Identifizierung über Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC/O)

Als GC/O werden im Allgemeinen alle Messungen bezeichnet, bei denen die menschliche Nase als Detektor bei der GC eingesetzt wird, da sie einen weitaus genaueren Detektor darstellt als jeder elektrische Detektor (Shibamoto, 1991). Bei der GC/O wird das Säuleneluat am Ende der Kapillarsäule gesplittet, ein Teil gelangt zum GC-Detektor und der andere Teil wird nach dem Verlassen der Kapillarsäule am Sniffing-Port (SP) von sensorisch geschulten Prüfern abgerochen (Acree und Barnard, 1994). Der Geruchseindruck wird beschrieben und mit Literaturdaten und Referenzsubstanzen verglichen (Dravnieks und O'Donnel, 1971; Grosch, 1993; Schlüter et al., 1996). Für die Beschreibung bekannter Aromastoffe bedient man sich dabei eines genormten Vokabulars, so dass ein Vergleich mit Literaturdaten möglich wird.

Die Wahrnehmbarkeit von Aromastoffen im Trägergasstrom hängt von vielen Einflussfaktoren ab, z.B. von der als Ausgangsmaterial eingesetzten Menge an Lebensmitteln, vom Konzentrierungsgrad der flüchtigen Fraktion und von der Probenmenge, die gaschromatographisch getrennt wird. Außerdem ist zu beachten, dass bei der GC/O synergistische und antagonistische Effekte nicht zur Geltung kommen, weil die Aromastoffe einzeln abgerochen werden (Grosch, 1993).

Identifizierung über Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS)

Durch die Kopplung eines MS-Detektors an den GC werden von den eluierten Verbindungen Massenspektren aufgenommen. Dabei wird das Säuleneluat chemisch oder durch einen Elektronenstrahl ionisiert. Bei der chemischen Ionisation wird die zu analysierende Substanz zusammen mit einem Überschuss eines Hilfsreaktandengases

(z.B. Methan, Kohlendioxid, Wasserstoff) in eine Elektronenstoßionisationsquelle gebracht. Das Hilfsreaktandengas wird durch Ionenbeschuss ionisiert. Die Analysensubstanz wird dann durch Wechselwirkungen mit dem Reaktandengas, z.B. Ladungsübertragung oder Ionen-Molekül-Reaktionen, ionisiert. Bei der Elektronenstoßionisation wird senkrecht zum Molekülstrom der Probe ein Elektronenstrahl von einer Glühkathode zu einer Anode hin beschleunigt (Budzikiewicz, 2005). Die entstehenden Ionen (Target-Ionen) werden dann entsprechend ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis aufgetrennt. Das Target-Ion charakterisiert die zu untersuchende Substanz, so dass eventuell koeluiierende Substanzen nicht erfasst werden (siehe Anhang Nr.7.5.3, Tabelle 33). Die Ionen werden mit ihrer relativen Intensität registriert. Das intensivste Ion wird dabei gleich 100 % gesetzt und die übrigen Ionenintensitäten werden in ihrem prozentualen Anteil davon angegeben. Die erhaltenen Ergebnisse müssen mit Literaturdaten und Referenzsubstanzen verglichen werden

Identifizierung über Kernresonanzspektrometrie (NMR)

Das am häufigsten in der Aromastoffanalytik verwendete NMR-Verfahren ist das ¹H-NMR. Das ¹H-Atom hat einen Kernspin ungleich null, besitzt also ein magnetisches Moment. Ein angelegtes äußeres Magnetfeld veranlasst diese Atome sich entweder parallel oder antiparallel zu einem Magnetfeld zu orientieren. Die Wechselwirkung des Spins mit äußeren Magnetfeldern gibt Aufschluss über die Umgebung der ¹H-Atome und somit über die vorliegende Struktur der Moleküle (Maier, 1990).

3.2.4 Methoden zur Identifizierung der Aromastoffe

Retentionsindex

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgte in erster Hinsicht auf der Berechnung der Retentionsindices und den Vergleich mit Literaturdaten.

Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC/O)

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgte mittels GC/FID-O. Das heißt, dass die zuvor auf Tenax[®]-Röhrchen gesammelten Aromastoffe am GC thermodesorbiert, an einer Kapillarsäule getrennt wurden, dann einerseits mittels eines FID detektiert und andererseits am „Sniffing-Port“ abgerochen wurden (siehe Geräteparameter Anhang Nr. 7.3).

Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS)

Die zweite Methode der Identifizierung der Aromastoffe war die GC/MSD. Hierbei wurden die thermodesorbierten Aromastoffe nach der Trennung an einer Kapillarsäule mittels eines MSD detektiert und die ermittelten Massen mit den Daten einer elektronischen Datenbank verglichen (siehe Geräteparameter Anhang Nr. 7.3).

3.2.5 Sensorische Relevanz der Aromastoffe

Bei der Untersuchung von Lebensmittel lässt sich eine Vielzahl an aromapotenten Verbindungen feststellen. Es gibt nur wenige Lebensmittel, deren Aroma von nur einer geruchsaktiven Verbindung, der so genannten „Character Impact Compound“, herrührt (Belitz et al., 2001).

In Tabelle 18 ist eine Auflistung wichtiger Aromastoffe im Kaffeegetränk gegeben.

Tabelle 18: Übersicht über die wichtigsten Aromastoffe im Kaffeegetränk

Substanz	RI DB 5 1), 2)	RI OV 1701 2), 3)	Geruchsbeschreibung 1), 2), 3)
Acetaldehyd	< 500	< 600	fruchtig, stechend
Methylmercaptan	< 500	< 600	faulig
Dimethylsulfid	< 500	< 600	kohlartig
Propanal	< 500	< 600	fruchtig
2-Methylpropanal	< 500	< 600	fruchtig, malzig
2,3-Butadion	580	686	buttrig
3-Methylbutanal	653	739	malzig, stechend
2-Methylbutanal	662	726	malzig, stechend
2,3-Pentadion	697	791	süß, buttrig
3-Methyl-2-buten-1-thiol	822	874	raubtierartig
3-Methylbuttersäure	856	1022	gärig, käsig
2-Methylbuttersäure	862	1022	gärig, käsig
Methional	906	1040	gekochte Kartoffel
2-Furfurylthiol	911	1004	röstig, kaffeeähnlich
1-Octen-3-on	978	k.A.	pilzartig
2,3,5-Trimethylpyrazin	1000	1078	röstig, erdig
3-Mercapto-3-methylbutyl- formiat	1022	1139	katzenartig, johannisbeerartig
Phenylacetaldehyd	1053	1178	honigartig
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3- (2H)-furanon	1065	1235	karamellähnlich
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1086	1154	erdig, röstig

Substanz	RI DB 5 <small>1), 2)</small>	RI OV 1701 <small>2), 3)</small>	Geruchsbeschreibung <small>1), 2), 3)</small>
Guajacol	1092	1228	phenolisch, verbrannt
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	1097	1146	erdig, röstig
Linalool	1102	1193	blumig, Bergamotte
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2-(5H)-furanon	1107	1347	würzig, karamell-artig
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	1155	1218	erdig, kartoffelchipartig
(E)-2-Nonenal	1160	1275	fettig, lederartig, Gurke
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	1186	1237	erdig, röstig, paprikaartig
4-Ethylguajacol	1282	1424	phenolisch, Gewürznelke
4-Vinylguajacol	1317	1482	phenolisch, Gewürznelke
(E)- β -Damascenon	1385	1502	honigartig, fruchtig

⁽¹⁾ Semmelroch, 1995; ⁽²⁾ Blank et al., 1991 ⁽³⁾ Rychlik et al., 1998

Um herauszufinden, welche der vielen geruchsaktiven Substanzen eines Lebensmittels dessen Aroma prägen, werden folgende Untersuchungsmethoden angewendet:

Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA)

Die Methode der AEVA ist eine Methode zur Erkennung aromarelevanter Verbindungen in Lebensmitteln. Die geruchsaktiven Substanzen im Aromaextrakt werden mittels GC/O bestimmt. Der Aromaextrakt wird immer jeweils 1:1 mit einem Lösungsmittel verdünnt und nach jeder Verdünnung erneut mittels GC/O analysiert. Dies wird solange fortgeführt bis kein Aromastoff am Sniffing-Port mehr wahrnehmbar ist. Auf diese Weise wird für jeden Aromastoff ein „flavor dilution factor“ (FD-Faktor) bestimmt. Dieser gibt an, mit wie viel Teilen Lösungsmittel der Aromaextrakt verdünnt werden muss, bis der Aromawert auf 1 abgesunken ist. Führen zwei Prüfer die AEVA durch, dann unterscheiden sich die FD-Faktoren maximal um zwei Verdünnungsstufen (Grosch, 1994).

Aromawert-Konzept

ROTHER definierte den Aromawert (A_x) eines Aromastoffes als Quotient aus der Konzentration dieses Stoffes (c_x , z.B. $\mu\text{g}/100\text{ g}$) und dessen Geruchsschwellenwert im Lebensmittel (a_x , z.B. $\mu\text{g}/100\text{ g}$) (Rothe 1963).

$$A_x = c_x / a_x$$

Die Geruchsschwelle ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der ein Geruch noch erkannt, d.h. beschrieben werden kann.

Aromastoffe, deren Konzentration im Lebensmittel größer ist als ihr Geruchsschwellenwert, tragen zum Aroma des Lebensmittels bei (d.h. ihr Aromawert ist größer 1). So ist die Aromarelevanz eines Aromastoffes proportional zu seinem Aromawert. Wechselwirkungen der Aromastoffe mit anderen Lebensmittelinhaltsstoffen, welche die Freisetzung der flüchtigen Verbindungen beeinflussen und sich auf die Konzentration der Aromastoffe in der Gasphase und damit auf die Intensität und Qualität des Aromas auswirken, bleiben unberücksichtigt (Semmelroch und Grosch, 1995). Das Aromawert-Konzept ist nur eine Hypothese. Nicht berücksichtigt wird die Abhängigkeit der Geruchsintensität von der Konzentration, die nicht linear ist und für verschiedene Aromastoffe sehr unterschiedlich sein kann (Dravnieks und O`Donnel, 1971; Abbot et al., 1993). Die Freisetzung von Aromastoffen, also ihr Eintritt in die Dampfphase, und somit ihr Aromawert, hängt wesentlich von ihrer Löslichkeit im entsprechenden Lebensmittel ab. Aromawerte müssen daher immer in dem Medium bestimmt werden, das in dem interessierenden Lebensmittel vorliegt (Grosch, 1993).

CHARM-Analyse (Combined hedonic and response measurement)

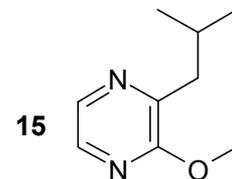
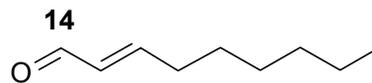
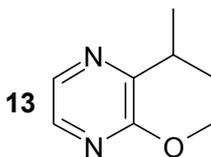
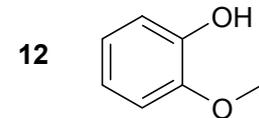
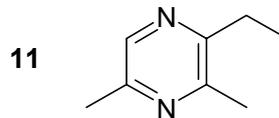
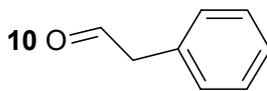
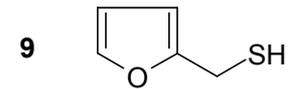
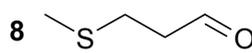
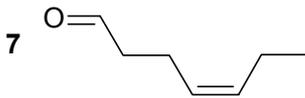
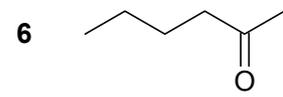
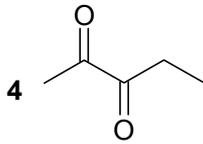
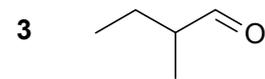
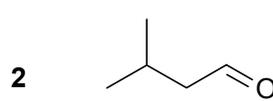
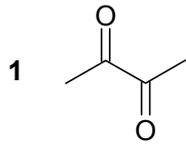
1984 entwickelten Acree et al. eine sensorische Methode zur Bestimmung der Aromapotenz der flüchtigen Verbindungen eines Lebensmittels. Bei der sogenannten CHARM-Analyse wird während des Abriechens des Säuleneluates von den Prüfern am SP gleichzeitig eine Beschreibung des Geruchs und über ein Tastsignal die Dauer der Geruchswahrnehmung festgehalten. Wie bei der AEVA auch werden hier mehrere aufeinander folgende Verdünnungen abgerochen, bis kein Geruch mehr am SP wahrnehmbar ist. Zusätzlich zur AEVA geht hier aber auch die Dauer bzw. die Länge des Geruchseindrucks über die Tastsignaldauer in die Gewichtung mit ein. Das Verhältnis zwischen der Konzentration der eluierten Verbindungen und deren Geruchsschwelle lässt sich dann entsprechend dem Aromawert-Konzept als Quotient aus der höchsten Konzentration des Aromastoffes und dessen Konzentration in der höchsten Verdünnungsstufe, in der dieser noch wahrnehmbar ist, ausdrücken (entspricht dem CHARM-Wert).

Da im Rahmen dieser Arbeit, bedingt durch die Methode der externen Headspace-Analyse, keine AEVA, wie oben beschrieben, möglich war, wurde die CHARM-Analyse

bereits von Bücking modifiziert, dass nicht Verdünnungsreihen, sondern mehrfach von drei geschulten Prüfern am SP des GC abgerochen wurde. Die CHARM-Analyse wurde nur mit vorher ausgewählten Aromastoffen (Tracer-Substanzen) durchgeführt (Tabelle 19). Die Länge der Tastsignale wurde dabei in cm angegeben (Bücking, 1999).

Tabelle 19: Leitsubstanzen für die CHARM-Analyse

Nr.	Geruchseindruck	Substanz
1	Butter, Karamell	2,3-Butadion
2	gärig, Apfel, stechend	3-Methylbutanal
3	gärig, Apfel, stechend	2-Methylbutanal
4	Butter, Karamell	2,3-Pentadion
5	Schwefel, Kohl	Dimethyldisulfid
6	etherisch, Nagellackentferner	2-Hexanon
7	gärig, stinkig	(Z)-4-Heptenal
8	Kartoffel	Methional
9	Kaffee, röstig	2-Furfurylthiol
10	Honig, Blumen	Phenylacetaldehyd
11	erdig, röstig	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin
12	phenolisch, Nelke	Guajacol
13	Erbse	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin
14	Gurke, fettig	(E)-2-Nonenal
15	Bohne, Paprika	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin



3.2.6 Sensorik

Nach der DIN-Norm 10950 Teil 1 von 1999 ist Sensorik die Wissenschaft vom Einsatz menschlicher Sinnesorgane zu Prüf- und Messzwecken. Die dabei benutzte Methodik wird als sensorische Analyse bezeichnet; sie umfasst die Planung, Durchführung und Auswertung von Sinnesprüfungen sowie die Interpretation der Ergebnisse (DIN 10950 Teil 2, 2000).

Im Gegensatz zu den apparativen Methoden wenden sensorische Methoden ausschließlich die menschlichen Sinne von sensorisch geschulten Prüfpersonen an, die ihre Eignung nachgewiesen haben und für die Prüfaufgabe geschult sind. Diese Schulung ist erforderlich, da die Zuverlässigkeit sensorischer Prüfungen wesentlich von der Fähigkeit der Prüfperson abhängt, Prüfproben reproduzierbar sensorisch zu unterscheiden, zu beschreiben und zu bewerten (DIN 10961, 1996).

Mit Hilfe einer Gegenüberstellung der apparativen und sensorischen Analyse kann die apparative Analytik überprüft werden und die sensorische Relevanz der erzielten Ergebnisse für den Verbraucher beurteilt werden.

Prüfverfahren

Dreiecksprüfung (Triangel-Test) DIN ISO 4120 (1995)

Das Verfahren ist anwendbar zur Feststellung geringer Unterschiede zwischen Prüfproben. Die Unterschiede können sich entweder auf alle Merkmale/Merkmalseigenschaften oder auf ein Merkmal/Merkmalseigenschaft der Prüfprobe beziehen.

Bei der einfachen Dreiecksprüfung (objektive Feststellung) und bei der erweiterten Dreiecksprüfung (zusätzliche subjektive Entscheidung) werden den Prüfern drei verschlüsselte Proben gleichzeitig gereicht, von denen zwei identisch sind („Doppelprobe“). Die abweichende Probe („Einzelprobe“) ist herauszustellen.

Bei der erweiterten Dreiecksprüfung wird zusätzlich nach der Art und/oder Intensität der Unterschiede sowie nach der Bevorzugung gefragt. Eine sachlich gut begründete Präferenz für eine der Proben (Einzel- oder Doppelprobe) erhöht den Aussagewert der Prüfung. Zur Gewährleistung eines aussagekräftigen Ergebnisses sollten mindestens fünf Urteile vorliegen. Das Prüfformular für die Dreiecksprüfung befindet sich im Anhang 7.6.1, Abbildung 69.

Intensitätsprüfung DIN 10966 (1997)

Bei der Intensitätsprüfung wird von den Prüfern die sensorisch wahrnehmbare Intensität einzelner geruchlicher und/oder geschmacklicher Eigenschaften des Lebensmittels anhand einer Intensitätskala ausgedrückt. Zur Beschreibung der Intensität steht dem Prüfer eine Skala mit einer vorher festgelegten Anzahl an Skalenwerten zur Verfügung. Dazu müssen die Prüfpersonen an der so erarbeiteten Skala geschult werden. Zur Gewährleistung eines aussagekräftigen Ergebnisses sollten mindestens sechs Urteile vorliegen. Das Prüfformular für die Intensitätsprüfung befindet sich im Anhang 7.6.1, Abbildung 70.

3.2.6.1. Schulung der Sensorik - Prüfer

Das sensorische Panel bestand aus Studenten der Lebensmittelchemie und Mitarbeiter am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Universität Hamburg, die durch ihre Teilnahme an einem Sensorik-Seminar an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften ihre Eignung als Prüfpersonen nachgewiesen hatten. In diesem Seminar wurde gleichzeitig neben den verschiedenen sensorischen Prüfungen auch die Fähigkeit

zur Planung, Durchführung und Auswertung einer sensorische Analyse vermittelt.

Für die sensorischen Untersuchungen am Kaffeegetränk wurde zusätzlich eine produktspezifische Prüferschulung durchgeführt. Die Schulung erfolgte durch mehrmaliges Verkosten von schwarzem Kaffeegetränk, um die Prüfer für die spezifischen Merkmale des Kaffeegetränks zu sensibilisieren. Es wurde eine Liste mit verschiedenen qualitativen Aussagen über geruchliche und geschmackliche Eigenschaften des Kaffeegetränks erstellt, die dann in einer weiteren Diskussion auf die wichtigsten charakteristischen Deskriptoren reduziert wurden.

Durchführung der sensorischen Prüfungen

Als Probenmaterial wurde der in Kapitel 3.1 vorgestellte Kaffee verwendet. Als Zusätze dienten die bereits in Kapitel 3.1.4 beschriebenen Produkte. Neben den Prüfformularen (siehe Anhang Nr. 7.6.1) stand den Prüfern Wasser zum Neutralisieren zur Verfügung.

Die Kaffeegetränke wurden in durchsichtigen unverschlossenen Plastikbechern und mit dreistelligen Zufallsziffern beschriftet dargereicht. Die Menge des Zusatzes entsprach der Menge, die auch bei der apparativen Analytik eingesetzt wurde.

Dreiecksprüfung: Den Prüfern lagen jeweils drei Proben vor. In diesem Probensatz waren zwei Proben identisch und eine Probe abweichend. Dabei wurde jedes Produkt einmal als Doppelprobe und einmal als Einzelprobe eingesetzt. Zuerst sollte versucht werden, mit Hilfe des Geruchssinns die abweichende Probe zu bestimmen. Dann wurden die Einzel- und Doppelprobe verkostet. Der Prüfer musste nun entscheiden, welche der drei Proben abweichend ist, dieses notieren und eine Beschreibung/Begründung der Bevorzugung für Einzel- oder Doppelprobe abgeben.

Intensitätsprüfung: Den Prüfern lagen wieder drei Proben vor, von denen zwei mit 20 % von den bereits in Kapitel 3.1.4 beschriebenen Zusätzen versetzt waren und eine dem „schwarzen Kaffee“ entsprach, der 20 % Wasser enthält. Die Prüfer mussten nun der Reihe nach mittels des Geruchssinns anhand der vorgegebenen Skala die Intensitäten einzelner Geruchsmerkmale bestimmen. Anschließend wurden die drei Proben nacheinander verkostet und die Intensitäten einzelner Geschmacksmerkmale anhand der vorgegebenen Skala bestimmt. Einzelne Geruchs- und Geschmacksdeskriptoren wurden anhand einer Intensitätsskala ausgedrückt: von

0, nicht vorhanden über schwach erkennbar, erkennbar, gut erkennbar, sehr gut erkennbar bis 5 dominierend.

Die zuvor festgelegten Deskriptoren für Geschmack sind: Butter, milchig, sahnig, säuerlich, verbrannt, bitter röstig und Kaffee. Geruch wurde mit den Deskriptoren Kaffee, rostig, aromatisch, karamell, säuerlich, sahnig, Butter und milchig beschrieben.

Aufgrund der deutlichen Veränderung des Aromaprofils durch längere Standzeiten und/oder Abkühlung des Getränks wurde das Kaffeegetränk direkt nach dem Aufbrühen sensorisch untersucht.

Mittels des Statistikprogramms SPSS (Version 10.0, SPSS Inc. Chicago, IL) wurden mit *t*-Tests ein paarweiser Vergleich von Mittelwerten und mit einer einfachen Varianzanalyse (Oneway-ANOVA) die Unterschiede in Bezug auf eine Signifikanz beurteilt. Die Ergebnisse sind in mehreren Tabellen als homogene Untergruppen dargestellt. Beim jeweiligen Vergleich der unterschiedlichen Zusätze mit dem schwarzen Kaffeegetränk sind die Unterschiede mit Ziffern dargestellt. Bei gleichen Ziffern ist ein Unterschied als nicht signifikant ($\alpha = 0,05$) zu bewerten. Die Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS durchgeführt (Einfache Varianzanalyse – Oneway ANOVA, Student-Newman-Keuls-Prozedur, Turkey-B-Test und der Scheffé-Prozedur).

4. Ergebnisse

Die Aromastoffe der Kaffeegetränke wurden mittels SHS und DHS (s. Kapitel 3.2.2) gesammelt, thermodesorbiert und über GC/FID, GC/MS und GC/O erfasst.

Beim Kaffees handelt es sich um dunkel geröstete *Coffea arabica* aus Kenia (s. Anhang 7.1). Die Zubereitung des Kaffeegetränkes ist im Anhang Nr. 7.4.1 dargestellt. Die Bestimmungen wurden vom schwarzen Kaffeegetränk, Kaffeegetränk mit Milchkomponenten (Lactose, Milchfett, Caseine und Molkeproteine) und Kaffeegetränk mit verschiedenen Milchprodukten jeweils mindestens dreimal durchgeführt.

4.1 Milchkomponenten

4.1.1 Sensorische Untersuchungen

4.1.1.1. Vorversuche mit Lactose

Bei den sensorischen Untersuchungen des Kaffeegetränkes mit einem Zusatz von Lactose (0,6 g und 1,5 g) wurde mittels Triangeltests keine signifikanten Unterschiede zum schwarzen Kaffee festgestellt; daher wurden keine weiteren Profilprüfungen mehr durchgeführt. Ein Unterschied wurde nur im Geschmack bei einer Zugabe von 6 g Lactose ermittelt (Geschmackseindruck insgesamt süßer; die Deskriptoren bitter, verbrannt und säuerlich wurden vermindert bzw. überdeckt). Ein Vergleich einer Lactose-Zugabe von 6 g mit einer äquivalenten bzw. isosüßen Saccharose-Zugabe von 1,8 g ergab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied, so dass der Unterschied zum schwarzen Kaffeegetränk vermutlich nur auf die Süßkraft der Lactose zurückzuführen ist.

Eine weitere Untersuchung des Einflusses der Lactose bei den Modelluntersuchungen wurde daher nicht vorgenommen. Die verwendete Lactose (Variolac 99 S1) stammte von der Fa. Biolact GmbH, Harbarnsen.

4.1.1.2. Modelluntersuchungen mit Casein, Molkeproteinen und Milchfett

Die in Tabelle 14 (Seite 35) angegebenen Zugaben wurden wie in den Vorversuchen immer in der gleichen Menge Wasser gelöst bzw. suspendiert, so dass die Zugabe in 30 g Wasser zu 150 g Kaffeegetränk erfolgte.

In den Netzdiagrammen befinden sich auf der rechten Seite die Deskriptoren für den

Tabelle 20: Homogene Untergruppen zu Abbildung 24

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
KG* (Schwarz)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,2	1	1	1	1	
0,2g Casein	2,3	2	3	1	1	1,2	3	1,2	1	1,2	1,2	2	1	2	2	1,2
0,8g Casein	2,3	2	3	1	1	1,2	3	2	1	2	1,2	1	1,2	3	3	1,2
2,7g Casein	3	3	4	1	1	1,2	2,3	2	1	2	2	1	2	4	4	2

*KG-Kaffegetränk

Caseine haben einen großen Einfluss auf die Milch- und Kaffeedeskriptoren. Dabei ist der Einfluss auf die Milchdeskriptoren viel stärker. Deskriptoren, wie „sahnig“, „milchig“ und „Butter“ im Geruch und Geschmack nehmen zu und steigen gleichmäßig mit steigendem Caseinzusatz.

Dagegen ist der Einfluss auf Kaffeedeskriptoren mengenunabhängig, aber trotzdem deutlich. Besonders beim Geruch ist eine klare Abnahme zu sehen, wobei die „röstige“ Note im Geruch und Geschmack durch Caseinzusatz am meisten beeinflusst ist. Die Deskriptoren „Kaffee“ im Geruch und „bitter“ im Geschmack zeigen auch eine signifikante Reduktion. Auffällig ist der säurebindende Effekt des Caseins (Protonenfängereigenschaften) beim Geschmack (Abbildung 24).

Bei den einzelnen Zugaben ergab sich ein signifikanter Unterschied bei den Deskriptoren: „sahnig“ und „milchig“ im Geschmack zwischen den 0,2 g, 0,8 g und 2,7g Zugaben und beim Geruch bei den gleichen Deskriptoren zwischen 0,8 g und 2,7g Casein.

Die Molkenproteine beeinflussen die Milchdeskriptoren im Geruch und Geschmack, aber nicht so stark wie Caseine. Eine klare Mengenabhängigkeit bei den Deskriptoren „milchig“ und „Butter“ ist nicht zu erkennen. Nur die „sahnige“-Note wird durch eine erhöhte Zugabemenge (1,5 g) deutlicher.

Wie beim Casein zeigten auch Molkenproteine einen großen Einfluss bei den Kaffeedeskriptoren „röstig“ und „Kaffee“ im geruchlichen Bereich. Die „bittere“-Note ist weniger wahrnehmbar bei den höheren Zugaben (1,5 g).

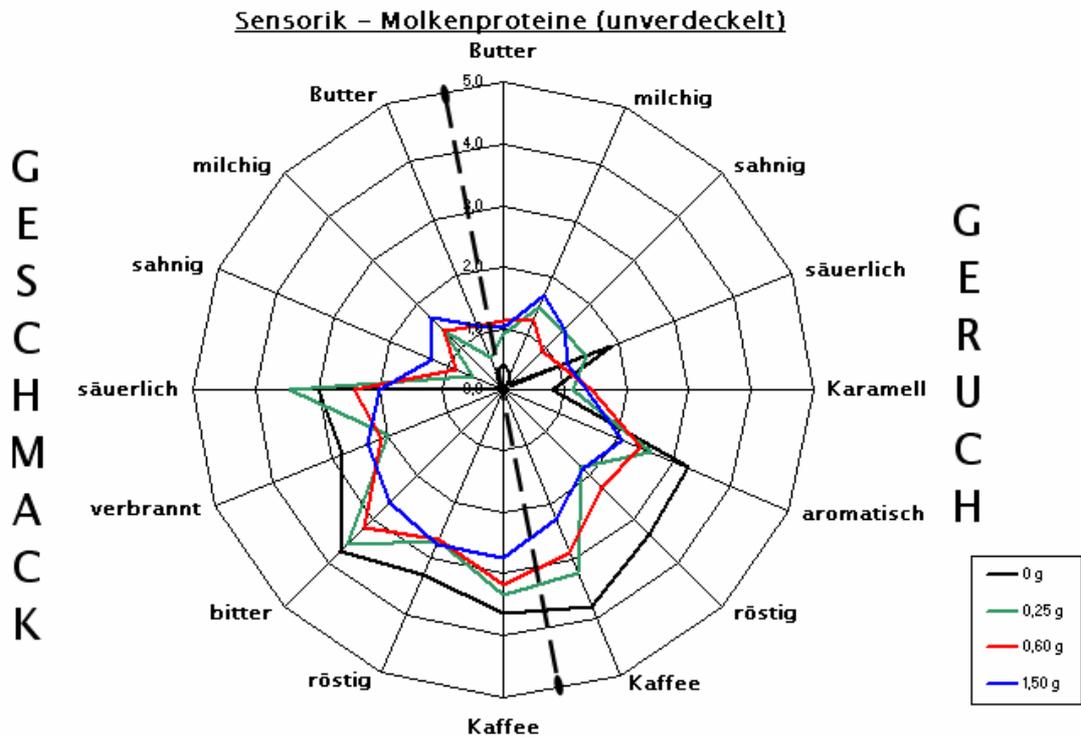


Abbildung 25: Aromaprofile – Modelluntersuchungen mit Molkenprotein

Tabelle 21: Homogene Untergruppen zu Abbildung 25

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
KG* (Schwarz)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,2	1	1	1
0,25g MP*	1	2	3	1	1	1,2	2	1	1	1	1	1	1	2	2,3	1,2
0,60g MP	1	2	2	1	1	1,2	2	1,2	1	1	1,2	1	1,2	2	2,3	2
1,50g MP	1	2	3	1	1	2	2	2	1	1	2	1	2	3	3	2

*KG-Kaffeetränk , MP- Molkenprotein

Zwischen den einzelnen Zugaben wurden keine deutlichen Unterschiede erkannt, außer beim Deskriptor „sahnig“ im Geschmack zwischen den Zugabemengen von 0,6 g und 1,5 g MP.

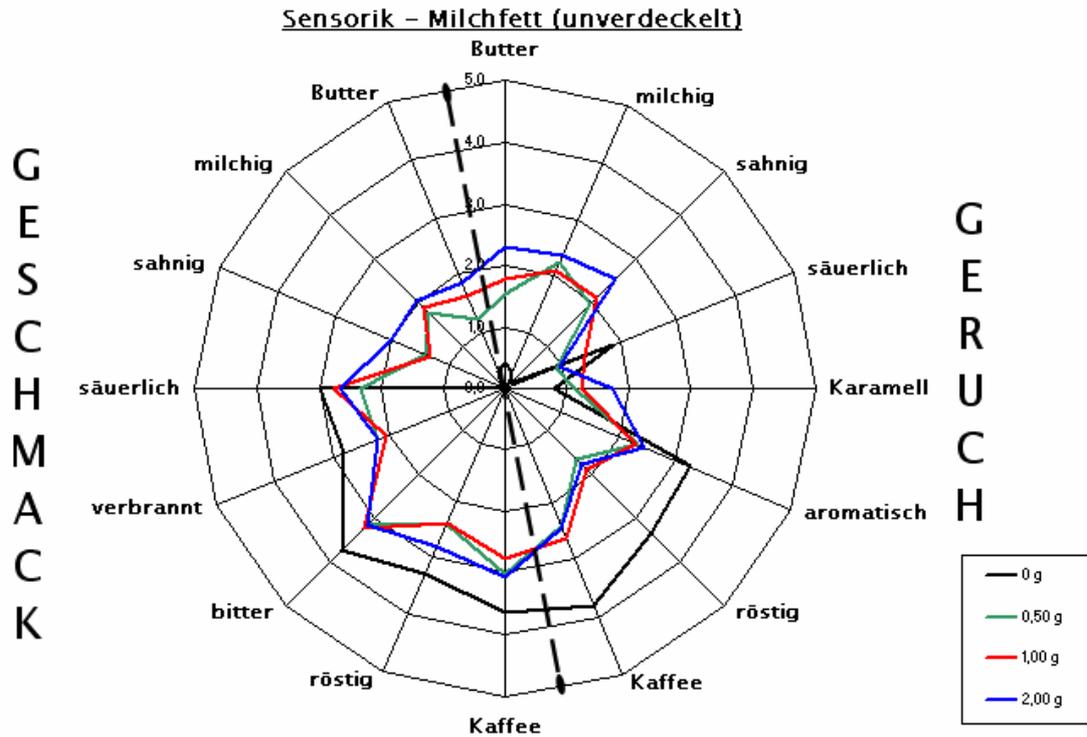


Abbildung 26: Aromaprofile - Modelluntersuchungen mit Milchfett

Tabelle 22: Homogene Untergruppen zu Abbildung 26

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
KG*(Schwarz)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,5g Milchfett	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2,3,4
1,0g Milchfett	2,3	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	3,4
2,0g Milchfett	3	2	3	1	1	1,2	2	2	1	1	1	1	1	3	2	4

*KG-Kaffeetränk

In Abbildung 26 ist zu beobachten, dass Milchfett am meisten den Geruch des Kaffeetränkes beeinflusst. Milchdeskriptoren, wie „Butter“ und „sahnig“, nehmen zu und sind von der Milchfettmenge abhängig. Die Kaffeedeskriptoren „aromatisch“, „röstig“ und „Kaffee“ nehmen ab, aber deren Abnahme ist nicht von der Menge an Fett abhängig. Kaffeetypische Geschmacksdeskriptoren wie „verbrannt“, „bitter“, „röstig“ und „Kaffee“

wurden durch den Milchfettzusatz nicht beeinflusst. Dagegen ist, wie beim Casein, ein deutlicher Einfluss auf die Milchdeskriptoren festzustellen, besonders bei den Deskriptoren „sahnig“ und „Butter“. Diese zeigten mengenabhängig, bzw. zwischen Zugabemengen von 0,5 g und 1,0 g, einen signifikanten Unterschied. Dies könnte auf das Mundgefühl der Proben zurückzuführen sein.

Im Bereich der milchspezifischen Deskriptoren zeigen das Milchfett und das Casein deutliche Erhöhungen. Das Molkenprotein hat dabei eine geringere Auswirkung gezeigt. Der optische Einfluss auf die Wahrnehmung während der Verkostung, welcher vermutlich durch die „Weißkraft“ der einzelnen Komponenten verursacht wurde, könnte beim Casein für die höhere Bewertung bei der Sahnigkeit und Milchigkeit verantwortlich sein. Zum Vergleich siehe Tabelle 26 über die Farbmessungen bei den einzelnen Komponenten.

Zusätze von unterschiedlichen Milchprodukten

Es wurden verschiedene Milchprodukte untersucht. Dabei wurden Zusätze mit gleicher Technologie und verschiedener Zusammensetzung, sowie Zusätze gleicher Zusammensetzung und verschiedener Technologie miteinander verglichen. Dargestellt werden beispielhaft die Netzdiagramme von fettarmer Milch und Vollmilch (jeweils pasteurisiert) (Abbildung 27) sowie von Vollmilch und fettarmer Milch (jeweils pasteurisiert, ultrahochoerhitzt und sterilisiert) (Abbildung 28 und Abbildung 29) bei einer Zugabe von je 150 g zu 150 g Kaffeegetränk (s. auch Anhang 7.5.5). Diese Zugaben an Vollmilch bzw. fettarmer Milch zum Kaffeegetränk liegen im Bereich der handelsüblichen Zugabe in diversen Milchkaffeespezialitäten (z.B. Cafe au Lait, etc. wie sie in Coffee-Bars angeboten werden). In den Tabellen 23, 24 und 25 sind die homogenen Untergruppen dargestellt.

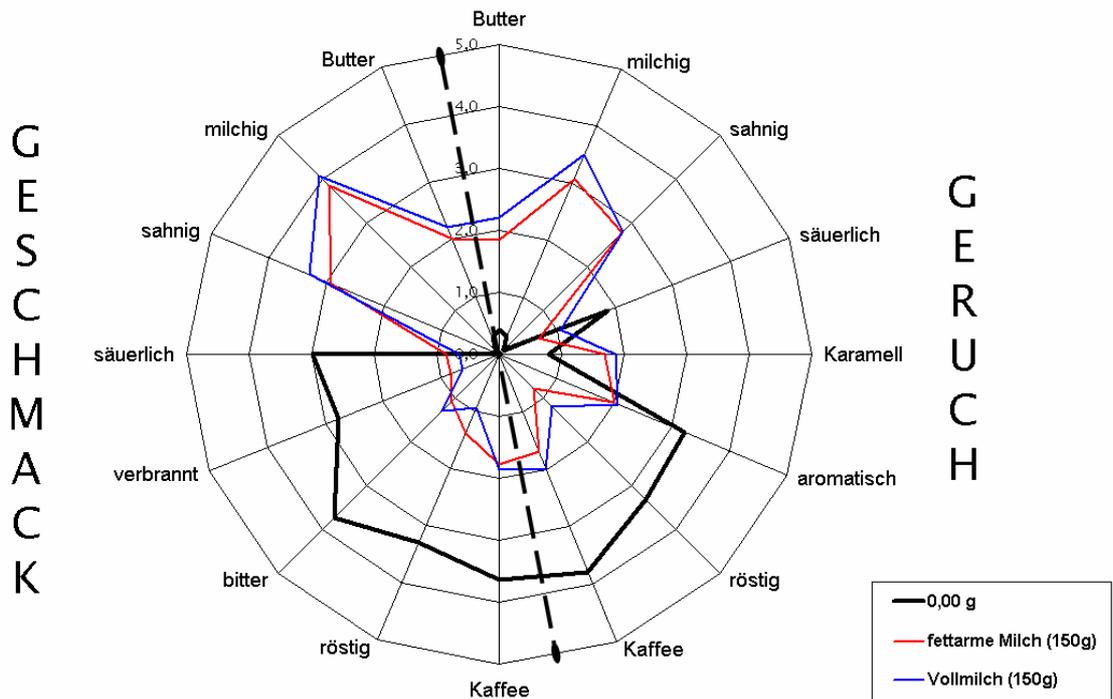


Abbildung 27: Aromaprofil-Kaffeegetränk mit Zusatz von pasteurisierten Milchprodukten

Bei dem in Abbildung 27 dargestellten Diagramm ist zu erkennen, dass wie erwartet, die beiden Milchzusätze die Geschmacks- und Geruchsdeskriptoren beeinflussen. Dabei hat beim Geschmack die Vollmilch den größeren Einfluss im Vergleich zu fettarmer Milch, besonders bei den Deskriptoren „sahnig“ und „milchig“, bei denen ein signifikanter Unterschied festzustellen ist.

Tabelle 23: Homogene Untergruppen zu Abbildung 27

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	Säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
FAM*	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
VM*	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	2
KG* (Schwarz)	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1

*FAM = fettarme Milch, VM = Vollmilch, KG = Kaffeegetränk

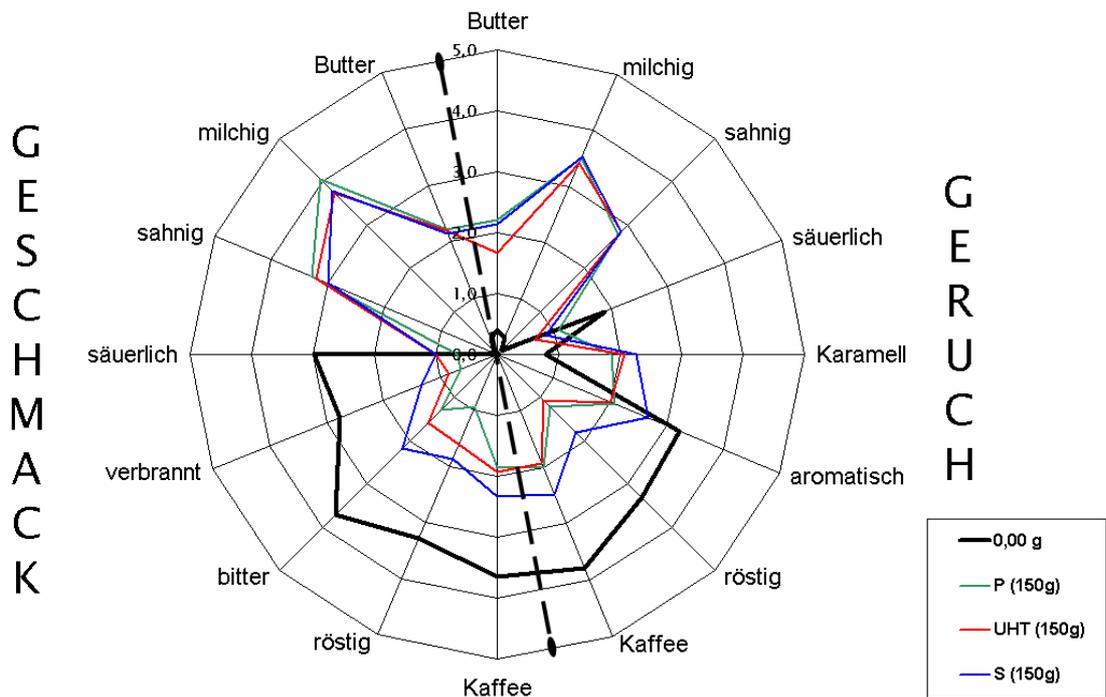


Abbildung 28: Aromaprofil - Kaffeegetränk mit Zusatz von Vollmilchprodukten

Tabelle 24: Homogene Untergruppen zu Abbildung 28

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
VM* (150-P)	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	1
VM*(150UHT)	2	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1
VM* (150-S)	2	2	2	1	2	1,2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1
KG *(Schwarz)	1	1	1	2	1	2	3	2	2	3	3	2	2	1	1	2

*P = pasteurisiert, UHT = ultrahoherhitzt, S = sterilisiert, VM = Vollmilch, KG = Kaffeegetränk

Ein Einfluss der unterschiedlich erhitzten Vollmilch (VM) (Abbildung 28) und fettarmen Milch (FAM) (Abbildung 29) auf alle Milch- und Kaffeedeskriptoren ist erkennbar. Dabei hat die sterilisierte Milch (FAM und VM) im Vergleich zu pasteurisierter und UHT- Milch einen kleineren Einfluss auf alle kaffeetypischen Deskriptoren gezeigt. Bei der fettarmen Milch ist dieser Unterschied deutlicher zu erkennen als bei der Vollmilch, besonders bei

den Deskriptoren „Kaffee“, „röstig“, „verbrannt“ und „bitter“. Bei der Vollmilch ist dieser Unterschied nur bei den Deskriptoren „röstig“ und „bitter“ signifikant. Die anderen Unterschiede konnten aufgrund von großen Schwankungsbreiten bei der Bewertung statistisch nicht abgesichert werden.

In Abbildung 28 ist zu sehen, dass VM unabhängig vom Erhitzungsverfahren einen vergleichbaren Einfluss auf die Milchdeskriptoren hat. Einziger signifikanter Unterschied ist beim Geschmack beim Deskriptor „milchig“, der sich durch pasteurisierte VM Zugabe erhöht, zu beobachten.

Abbildung 29 zeigt, dass das Erhitzungsverfahren bei FAM auf die Milchdeskriptoren Einfluss hat. Dies ist bei den Deskriptoren „sahnig“ und „milchig“, die sich durch eine Zugabe von pasteurisierter FAM erhöhen, zu beobachten. Dieser Unterschied ist im Vergleich zu UHT und S Milch signifikant.

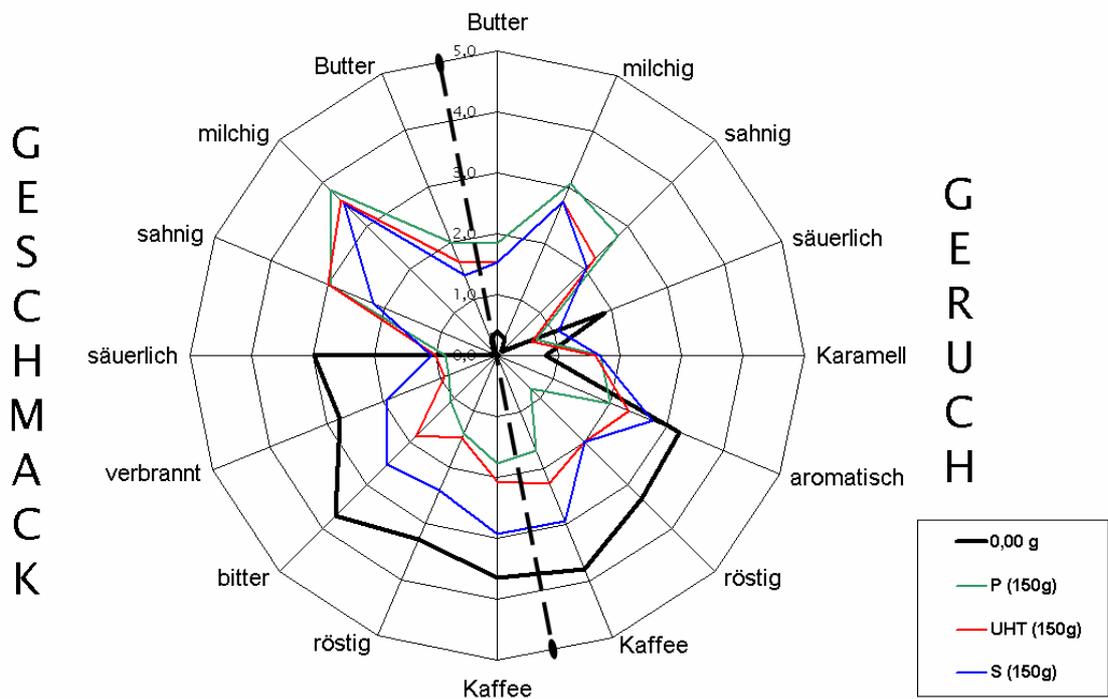


Abbildung 29: Aromaprofil - Kaffeegetränk mit Zusatz von fettarmen Milchprodukten

Tabelle 25: Homogene Untergruppen zu Abbildung 29

	Deskriptoren für den Geruch								Deskriptoren für den Geschmack							
	Butter	milchig	sahnig	säuerlich	Karamell	aromatisch	röstig	Kaffee	Kaffee	röstig	bitter	verbrannt	säuerlich	sahnig	milchig	Butter
FAM* (150-P)	2	2	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	2
FAM* (150-UHT)	2	2	2	1	2	1,2	2	1	1	1	2	1	1	3	2	2
FAM* (150-S)	2	2	2	1	2	2,3	2	2	2	2	3	2	1	2	2	2
KG* (Schwarz)	1	1	1	2	1	3	3	3	3	3	4	3	2	1	1	1

*P = pasteurisiert, UHT = ultrahocherhitzt, S = sterilisiert, FAM = fettarme Milch, KG = Kaffeegetränk

Untersuchung der Farbunterschiede bei Kaffeegetränken mit unterschiedlichen Zusätzen

Da die Untersuchungen in unverschlossenen Bechern stattgefunden haben, wurde eine Messung der „Weißkraft“ der einzelnen Milchproduktzusätze mittels eines Farbmessgerätes der Firma Minolta (Chromameter CR-300) durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Messergebnisse der Farbintensitäten

Yxy-CIE-Farbsystem	Y	x	y
KG (schwarz)	3,09	0,3257	0,3267
KG + 0,75 g Casein	3,66	0,3570	0,3479
KG + 1,50 g Casein	6,39	0,3842	0,3685
KG + 0,75 g Molkenprotein	3,78	0,3413	0,3387
KG + 1,50 g Molkenprotein	3,83	0,3422	0,3411
KG + 0,75 g Lactose	3,08	0,3174	0,3217
KG + 1,50 g Lactose	3,16	0,3232	0,3250
KG + 30,0 g Magermilch	6,42	0,3637	0,3564
KG + 15,0 g fettarme Milch	5,40	0,3716	0,3573
KG + 15,0 g Vollmilch	6,67	0,3893	0,3676
KG + 7,5 g Rahm	7,37	0,3912	0,3640
KG + 7,5 g Kaffeesahne	7,90	0,4012	0,3746

Y = Hellbezugswert, x, y = Koordinaten des Farborts in der CIE-Farbtafel
 CIE = COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE

Der Bezugspunkt für die Bewertung der Messungen ist ein Kaffeegetränk ohne Zusatz (KG (schwarz)). Bei den einzelnen Hauptinhaltsstoffen der Milch ist zu sehen, dass eigentlich nur durch Casein eine deutliche Erhöhung der Helligkeit hervorgerufen wird. Molkenprotein und insbesondere Lactose haben kaum eine aufhellende Wirkung.

4.1.2 Chemische Untersuchungen

4.1.2.1. Externe dynamische Headspace (DHS) – GC/FID-O (CHARM)

Die Geruchsdauer der erfassten Tracer-Substanzen wurde mittels modifizierter CHARM-Analyse von drei sensorisch geschulten Prüfern festgehalten. Für diese Analysen wurden die gleichen Zugaben der jeweiligen Milchinhaltstoffe wie bei der Sensorik gewählt. Die Geruchsdauer wird hier in cm gemessen, wobei 1 cm einer Zeit von 6 Sekunden entspricht (s. Anhang 7.5.6). Die Probenahme erfolgte mittels DHS (s. Anhang 7.4.2).

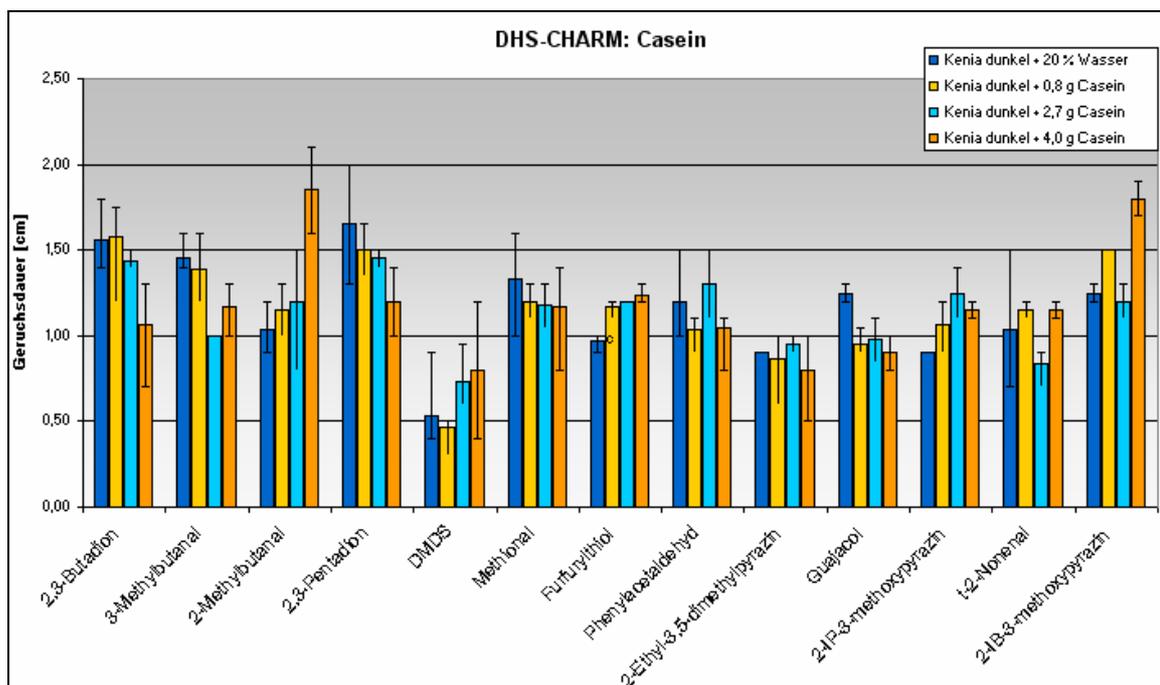


Abbildung 30: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Caseinzusätzen (DHS)

Casein: Die Geruchsdauer der Aldehyde und Ketone nehmen in der Regel ab (Ausnahme: 2-Methylbutanal), Pyrazine und Schwefelverbindungen werden offenbar verstärkt freigesetzt (Abbildung 30).

Molkenproteine: Es gibt kaum messbare Auswirkungen, nur 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin nimmt ab und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin nimmt zu (Abbildung 31).

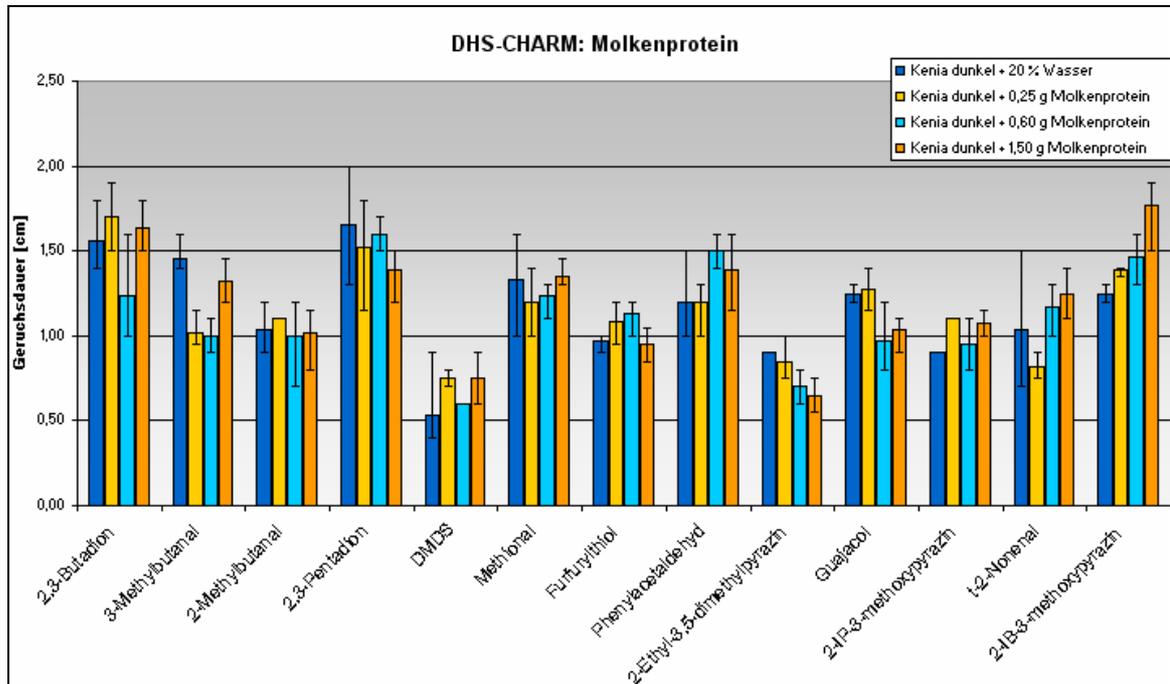


Abbildung 31: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Molkenproteinzusatz (DHS)

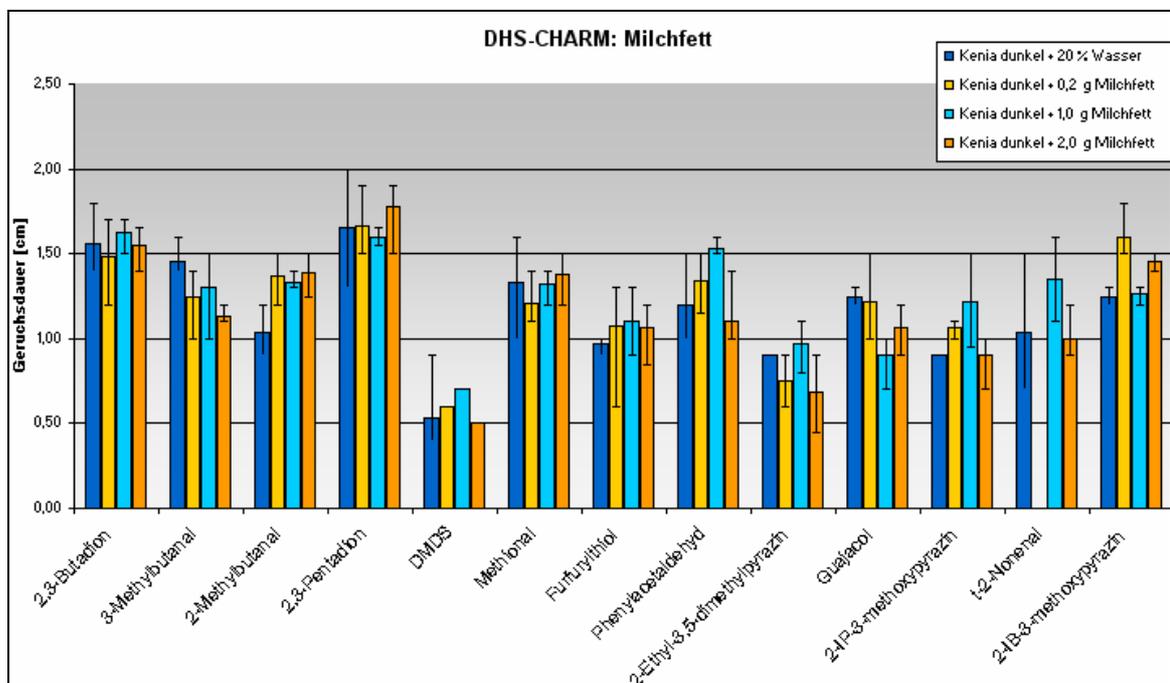


Abbildung 32: Diagramm der Geruchsdauer der Tracer-Substanzen bei Milchfettzusatz (DHS)

Milchfett: Auffällig ist hier vor allem die starke Zunahme an DMDS und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin und die leichte Zunahme an 2-Methylbutanal und Furfurylthiol bei den hohen Zugaben (Abbildung 32).

4.1.2.2. Externe dynamische Headspace (DHS) – GC / MSD

Die Ergebnisse der DHS werden in einer anderen Form dargestellt. Die Anzahl der untersuchten Substanzen wurde erhöht und es erfolgt eine Einteilung in verschiedene Substanzklassen. Einige der zuvor untersuchten Tracer-Substanzen konnten mit dem zur Verfügung stehenden GC/MSD - System nicht analysiert werden. Es wurden die folgenden Substanzklassen untersucht: Pyrazine, Aldehyde / Ketone, Furane und eine Gruppe ohne Klassenzuordnung (Diverse: Dimethyldisulfid, 1-Methyl-1H-pyrrol, Pyridin und 2-Methoxyphenol (Guajacol)). Eine Übersicht über die untersuchten Substanzen ist in Tabelle 27 zusammengefasst. Die Auswahl dieser Substanzen erfolgte aus einem Geruchsprotokoll (s. Anhang 7.5.3), in dem durch Sammeln verschiedener Gasvolumina bei der Headspace eine Art der Verdünnungsanalyse durchgeführt wurde und so aromaintensive Verbindungen in dem untersuchten Kaffeegetränk festgestellt wurden.

Tabelle 27: Übersicht über die mit DHS mittels GC / MS untersuchten Substanzen

RT	SUBSTANZ	GERUCHSEINDRÜCKE	GSW*
PYRAZINE			
21,04	Pyrazin	nussig, röstig	
25,73	Methylpyrazin	nussig, Kakao, grün, röstig	bei 25 °C: 105 mg/kg
30,40	2,5-Dimethylpyrazin	röstig, Kakao, grasig, Chips, Kaffee	bei 25 °C: 0,002 mg/kg
30,80	Ethylpyrazin	Erdnuss-Butter, muffig, nussig, röstig	bei 25 °C: 21 mg/kg
35,20	2-Ethyl-6-Methyl-pyrazin	röstig, würzig	
35,30	2-Ethyl-5-methyl-pyrazin	pilzig, Lit.: Kaffee	bei 25 °C: 0,1 mg/kg
39,30	2-Ethyl-3,5-Dimethylpyrazin	erdig	O: 0,5 µg/L R: 0,08 µg/L
ALDEHYDE & KETONE			
11,52	2-Propanon	Butter	300 mg/L
12,88	2-Methylpropanal	Schoko, stechend	0,001 mg/L
14,59	2,3-Butandion	Butter	O: 10 µg/L R: 2,5 µg/L
16,73	3-Methylbutanal	Schoko, gärig	O: 1,5 µg/L R: 0,1 µg/L
17,01	2-Methylbutanal	Schoko, gärig	O: 2,5 µg/L R: 0,9 µg/L
19,01	2,3-Pentadion	Karamell, Butter	30 µg/l
24,07	Hexanal	grün	10 µg/L
41,2	Benzenacetaldehyd	Honig	O: 4 µg/L

RT	SUBSTANZ	GERUCHSEINDRÜCKE	GSW*
FURANE			
13,34	2-Methylfuran	Kaffee, Lösungsmittel, etherisch	
17,26	2,5-Dimethylfuran	fruchtig	
29,10	Furancarboxaldehyd (Furfural)	süß, gekochte Kartoffel; karamellartig	O: 3000 µg/L
31,03	2-Furanmethanol	süß, Honig; leicht karamellartig & kaffeeartig	bei 25 °C: 5 mg/kg
36,00	2-Furanmethanol-acetat	würzig, scharf, blumig	
36,15	2-Furfurylmethylsulfid	Kaffee, Knoblauch	
37,05	5-Methyl-2-Furfural	süß, scharf, Karamell	-
DIVERSE			
20,56	Dimethyldisulfid	Kohl	7,6 µg/L
21,41	1-Methyl-1H-pyrrol	rauchig, leicht fischig	-
21,7	Pyridin	sauer, fischig / Plastik, muffig	2 mg/L
43,8	2-Methoxyphenol (Guajacol)	phenolisch	O: 2,5 µg/L R: 5 µg/L

*) GSW: Geruchsschwellenwert (in Wasser)
o: orthonasal
r: retronasal

Die Diagramme selbst sind so aufgebaut, dass man die Änderungen bei den einzelnen Zugaben leicht erkennen kann. Eine Anzeige der Schwankungsbreite (Range oder Standardabweichung) wird durch die Diagrammerstellung leider nicht unterstützt. Die Standardabweichung lag für nahezu alle untersuchten Substanzen unter 10 %.

Die Angabe der Änderung erfolgt bei den Modellzugaben relativ zu einem schwarzen Kaffeegetränk (gleich 0 %) und die Abweichung wird prozentual zur Flächenänderung angegeben. Führt die Zugabe einer Komponente zu einer Retention eines Aromastoffes, also zu einer Abnahme gegenüber dem schwarzen Kaffeegetränk, so resultiert ein negativer Wert. Führt die Zugabe hingegen zu einer verstärkten Freisetzung, so wird der Wert positiv (s. Anhang 7.5.7, Tabelle 38). Es ist zu beachten, dass bei später dargestellten Untersuchungen auch andere Kaffeegetränke (z.B. milchhaltige KG mit fettarmer Milch) als Basis für diese Darstellung dienen!

In Abbildung 33 ist ein Unterschied der Beeinflussung der untersuchten Substanzen durch Caseine und Molkenproteine zu sehen. Aldehyde und Ketone nehmen in ihrer Freisetzung bei einer Zugabe von Caseinen ab. Diese Abnahme ist bei den Aldehyden von der Caseinmenge abhängig bzw. durch Erhöhung der Caseinmenge werden Aldehyde, die einen malzig/süßlichen Aromaeindruck bewirken, verstärkt im

Kaffeegetränk zurückgehalten. Bei den Ketonen die eine karamellartige/buttrige Note aufweisen, ist dies nicht der Fall: diese nehmen in ihrer Freisetzung ab; dieser ist jedoch mengenunabhängig. Nur die Freisetzung von 2-Propanon nimmt durch Caseinzugabe leicht zu.

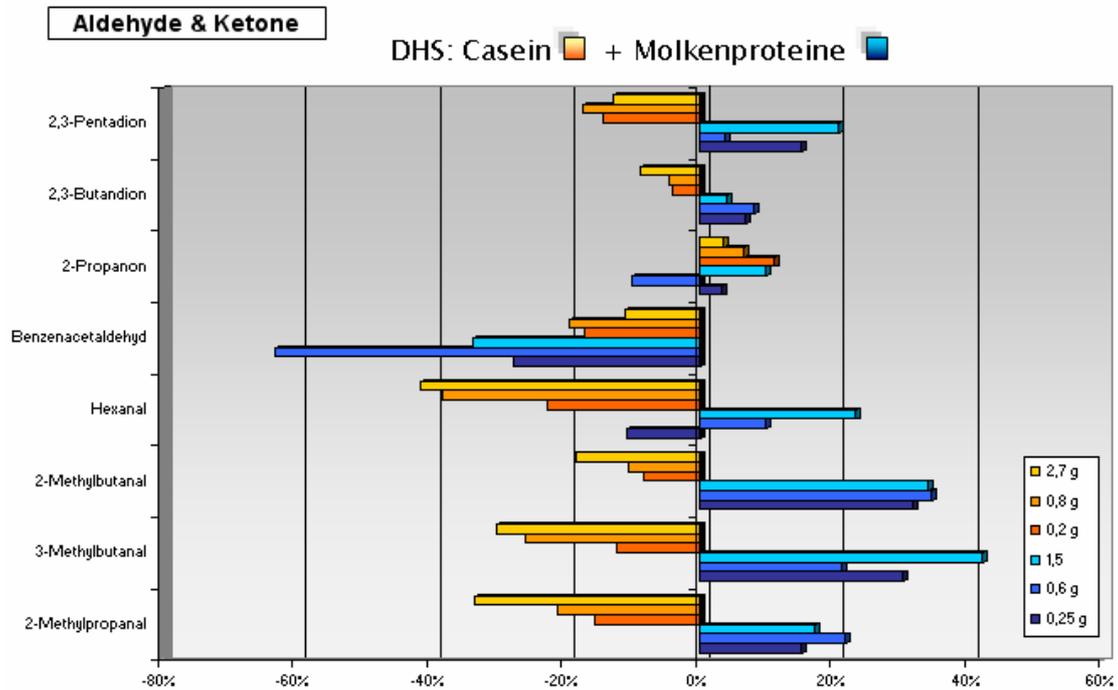


Abbildung 33: DHS - Aldehyde / Ketone bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)

Bei Zugabe von Molkenprotein ist zu erkennen, dass Aldehyde und Ketone verstärkt freigesetzt werden. Die einzige Ausnahme ist Benzenacetaldehyd, dessen Freisetzung abnimmt. Dabei fällt jedoch auf, dass die Freisetzung der Aromastoffe bei einer Molkenproteinzugabe von 0,60 g bei den meisten Aromastoffen eine Ausnahme bildet.

Bei den anderen Stoffklassen, wie den Pyrazinen, Furanen und Diversen, ist das Bild nicht so deutlich. In der Regel ist die Freisetzung der Leitsubstanzen bei dieser Probenahmetechnik durch die Casein- und Molkeproteinzugaben erhöht, wobei die Beeinflussung der Aromastofffreisetzung durch die Molkenproteine höher, aber nicht von der Menge abhängig ist.

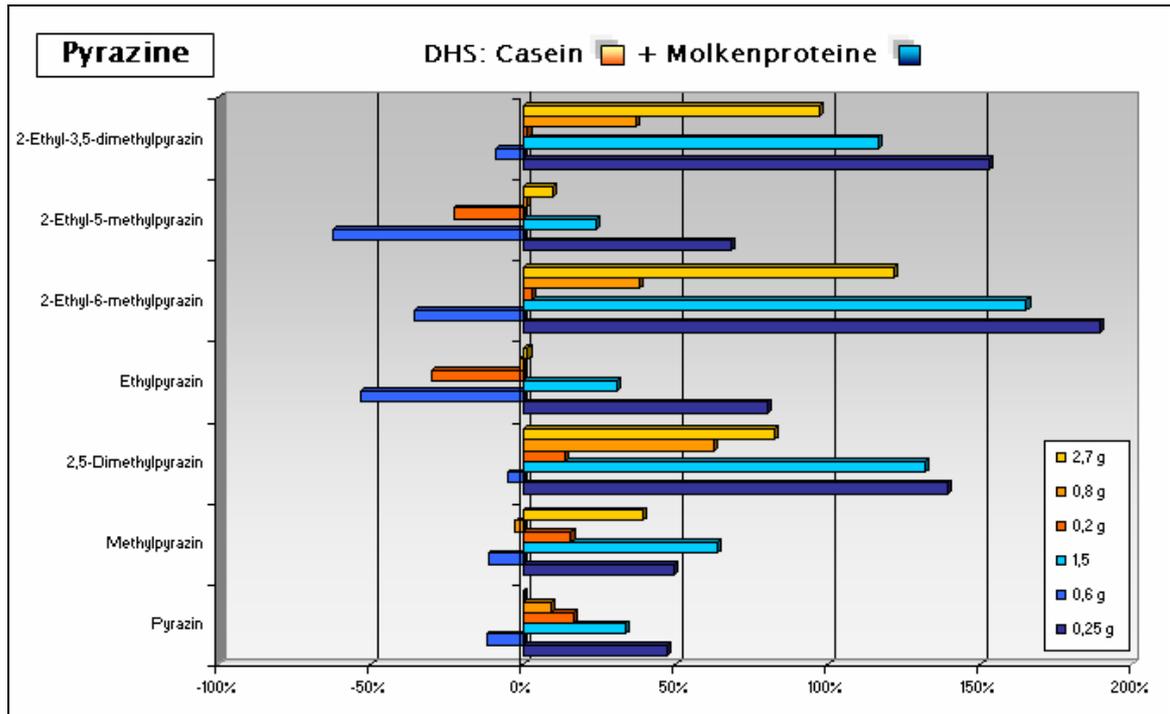


Abbildung 34: DHS - Pyrazine bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)

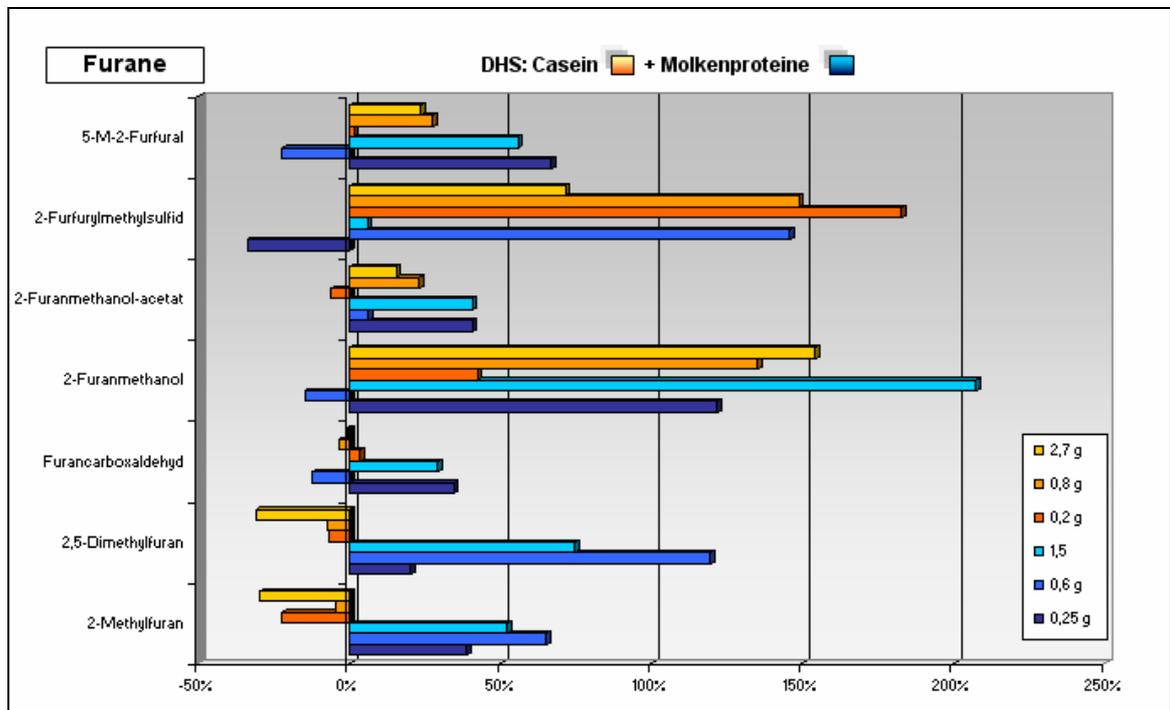


Abbildung 35: DHS - Furane bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0%)

Pyrazine (röstig/erdige Note) wie 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2-Ethyl-6-methylpyrazin, 2,5-Dimethylpyrazin und Methylpyrazin nehmen in ihrer Freisetzung mit erhöhten Caseinzusätzen deutlich zu (Abbildung 34).

Bei den Furanen ist das Bild nicht einheitlich. Die erhöhte Freisetzung durch die Zugabe von Casein ist bei 5-Methyl-2-Furfural, 2-Furfurylmethylsulfid, 2-Furanmethanolacetat und 2-Furanmethanol zu beobachten. Dagegen nimmt die Freisetzung der Aromastoffe 2,5-Dimethylfuran und 2-Methylfuran ab. Furancarboxaldehyd ist durch Casein nicht beeinflusst (Abbildung 35).

Alle Furane die eine kaffee-/verbrannt/karamellartig Note aufweisen, werden durch Zugabe von Molkenproteinen verstärkt freigesetzt.

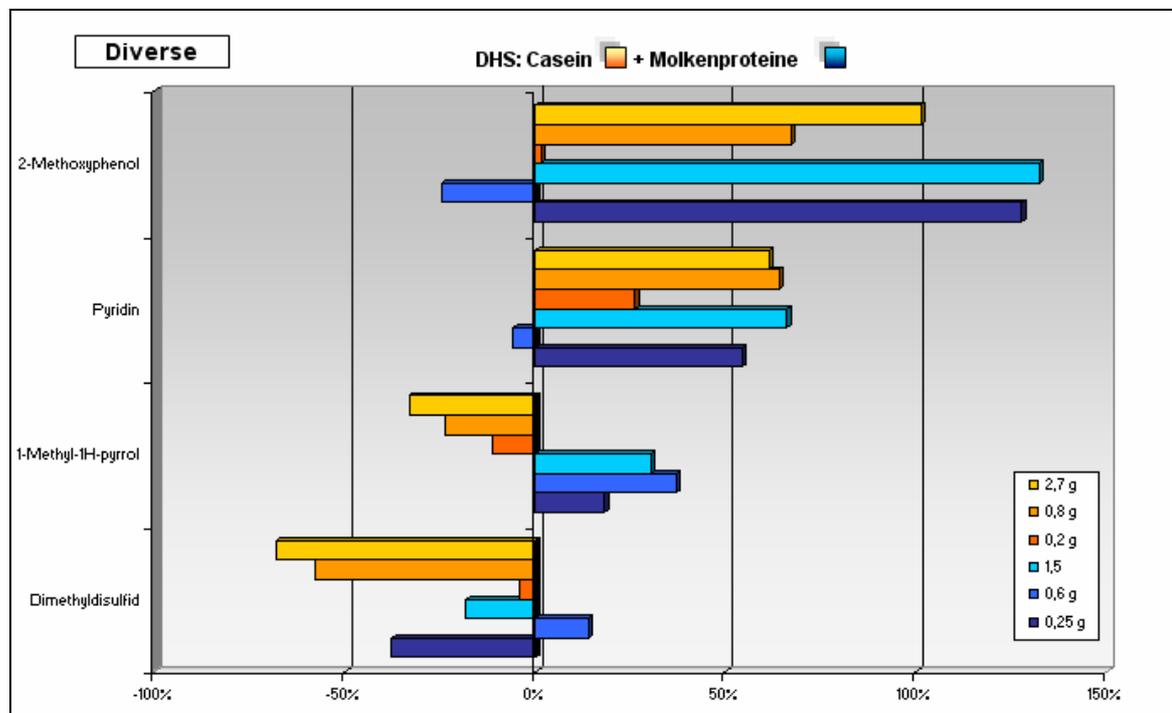


Abbildung 36: DHS - Diverse Substanzen bei Zugabe von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

In Abbildung 36 ist zu sehen, dass bei hohen Zusätzen an Casein die Freisetzung von 2-Methoxyphenol (rauchig) und Pyridin (fischig) verstärkt ist. 1-Methyl-1H-pyrrol und Dimethylsulfid (kohlartige Aroma) nehmen in ihrer Freisetzung mengenabhängig vom Caseinzusatz ab.

Wie bei den anderen Aromastoffen ist eine vermehrte Freisetzung durch die

Molkenproteinzugaben zu beobachten. Dimethyldisulfid zeigt das Gegenteil.

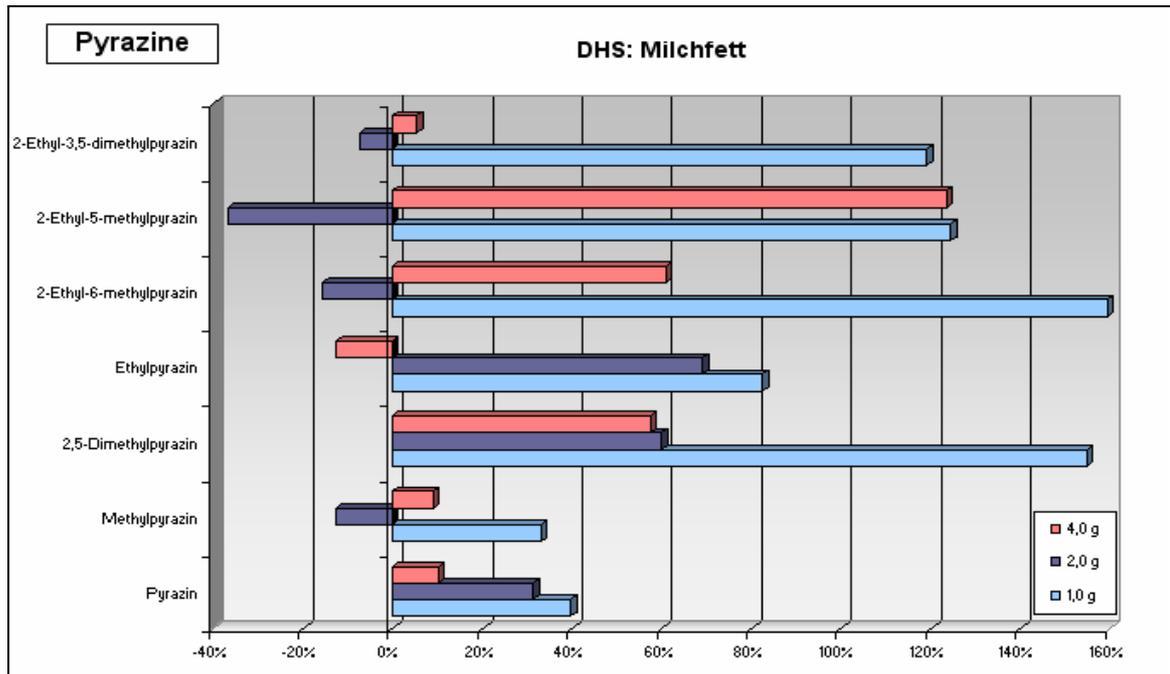


Abbildung 37: DHS - Pyrazine bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

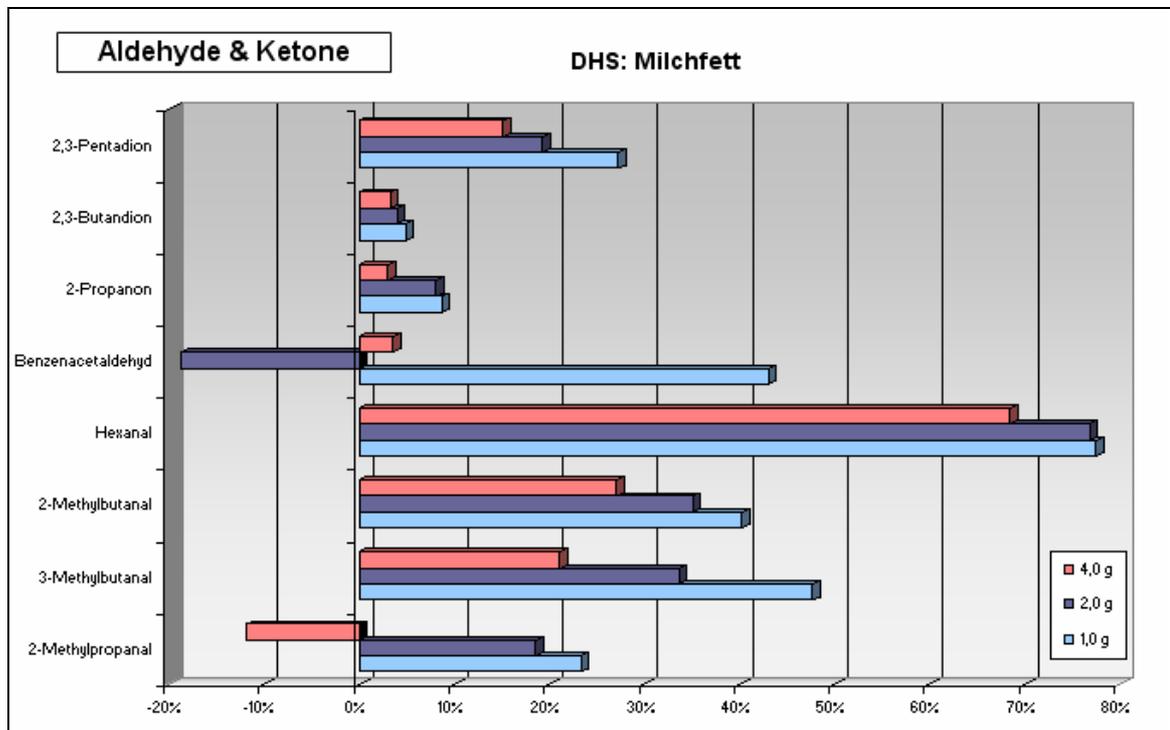


Abbildung 38: DHS - Aldehyde / Ketone bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Durch Zugabe von Milchfett werden die Pyrazine (Abbildung 37), Aldehyde und Ketone (Abbildung 38), Furane (Abbildung 39), sowie 2-Methoxyphenol, Pyridin, 1-Methyl-1H-pyrrol und Dimethyldisulfid (Abbildung 40) deutlich freigesetzt.

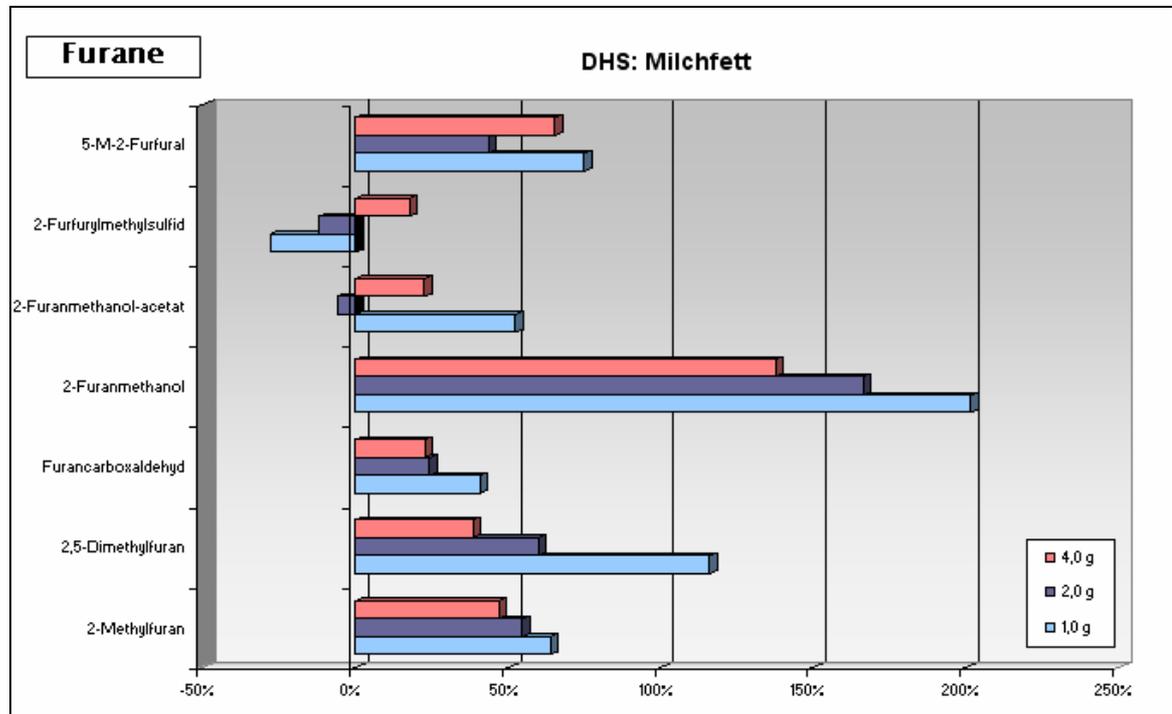


Abbildung 39: DHS - Furane bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Bei Zugabe von Milchfett führen schon geringe Mengen (1,0 g) zu einer verstärkten Freisetzung der Aromastoffe. Dieser Effekt lässt jedoch bei Zugabe von 2,0 bzw. 4,0 g Milchfett nach und kehrt sich, je nach Aromastoff, ab einer bestimmten Menge an Milchfettzugabe sogar um. Das ist der Fall beim 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2-Ethyl-5-methylpyrazin, 2-Ethyl-6-methylpyrazin, Methylpyrazin, Benzenacetaldehyd und Dimethyldisulfid, deren Freisetzung durch eine Zugabe von 2,0 g Milchfett abnimmt.

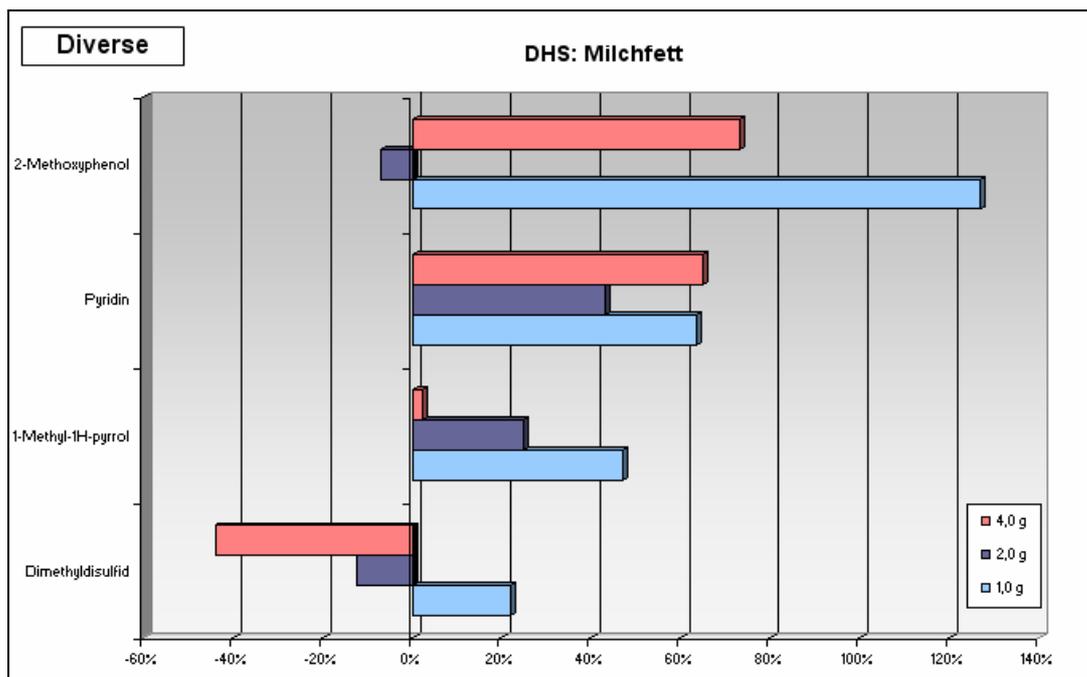


Abbildung 40: DHS – Diverse Substanzen bei Zugaben von Milchfett in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Beim Vergleich der Milchproteine Casein und Molkenprotein, zeigt Casein den größeren Einfluss auf die Aromafreisetzung. Dies ist auch an den Ergebnissen der CHARM-Analyse bei Zugabe von Molkenproteinen zum Kaffeegetränk zu erkennen. Bei den Molkenproteinzugaben ist aber auch auffällig, dass bei einer Zugabe von 0,60 g die Ergebnisse nicht mit den anderen korrelieren. Bei Zugabe von Casein fällt sowohl in den CHARM- als auch in den MSD-Ergebnissen auf, dass bei höheren Zugaben nicht wie erwartet die Freisetzung weiter abnimmt, sondern dass ab einer gewissen Menge an Casein die Aromafreisetzung wieder verstärkt zunimmt.

4.1.2.3. Externe statische Headspace (SHS) – GC / MSD

In Abbildung 41 ist der Einfluss der Milchproteine auf die Aromastofffreisetzung der Aldehyde und Ketone dargestellt (s. auch Anhang 7.5.8).

Es zeigt sich bei den Molkenproteinen und beim Casein eine reduzierte Freisetzung. Die Abnahme in der Freisetzung ist nicht von der Menge an Molkeproteinen und Caseinen abhängig. Eine Ausnahme bildet hier das Hexanal, welches durch eine steigende Caseinzugabe verstärkt freigesetzt wird. Erst mit einem Zusatz von 4 g Casein nimmt die Freisetzung deutlich ab.

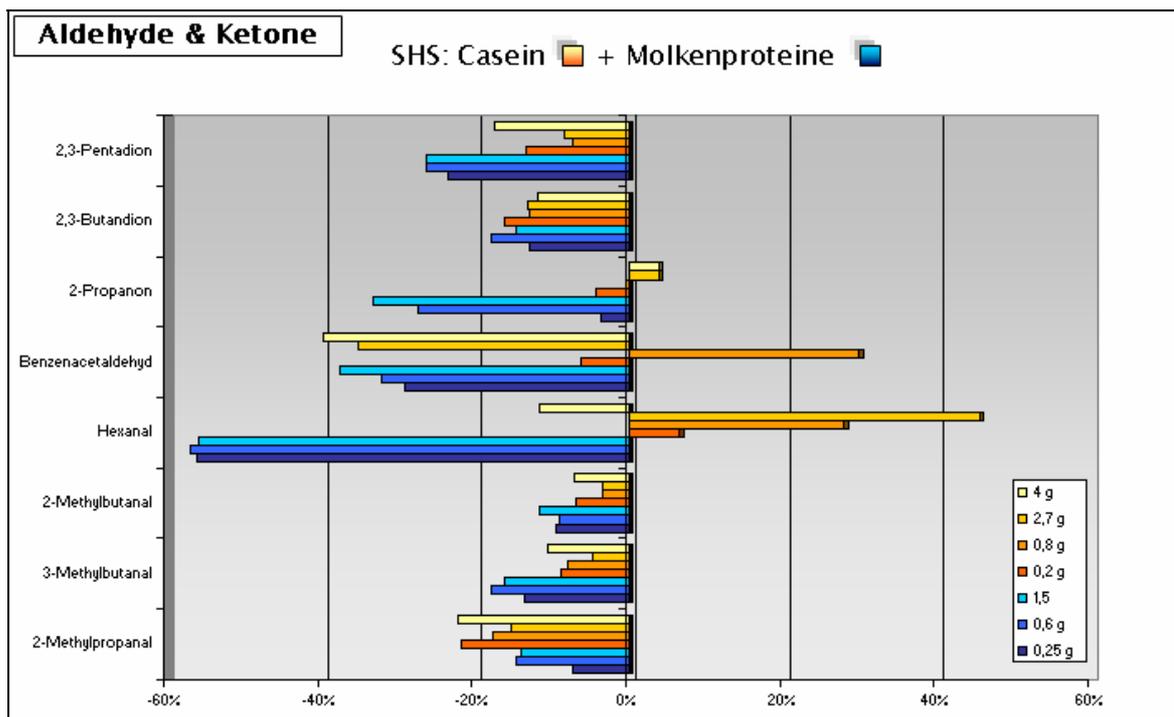


Abbildung 41: SHS – Aldehyde / Ketone bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Bei den Pyrazinen ist das Bild eindeutig (siehe Abbildung 42). Die Molkenproteine haben auf alle Pyrazine eine retardierende Wirkung, wobei sich bis auf 2-Ethyl-5-methylpyrazin und Pyrazin bei den einzelnen Zugabemengen kein Unterschied zeigt.

Bei der Caseinzugabe zeigt sich ein Anstieg der Headspace Konzentration bei den meisten Pyrazinen. Die Freisetzung verringert sich durch höhere Caseinmenge, besonders durch Zugabe von 4,0 g Casein. Eine Ausnahme bilden Ethylpyrazin und 2,5-Dimethylpyrazin, bei denen die Konzentrationen abnehmen.

Bei den Furanen zeigt sich kein einheitliches Bild (s. Abbildung 43). Bei den Caseinzugaben wird ein Teil der untersuchten Furane wie 2-Furamethanol, 2,5-Dimethylfuran und 2-Methylfuran verstärkt, aber 5-Methyl-2-Furfural, 2-Furanmethanolacetat und Furancarboxaldehyd vermindert freigesetzt.

Bei einer Molkenproteinzugabe von 0,6 g fallen die Ergebnisse gegenüber den anderen Zugabemengen, wie schon bei der DHS, aus der Reihe. Bis auf 2-Methylfuran werden die Furane von den Molkenproteinen konzentrationsunabhängig retardiert

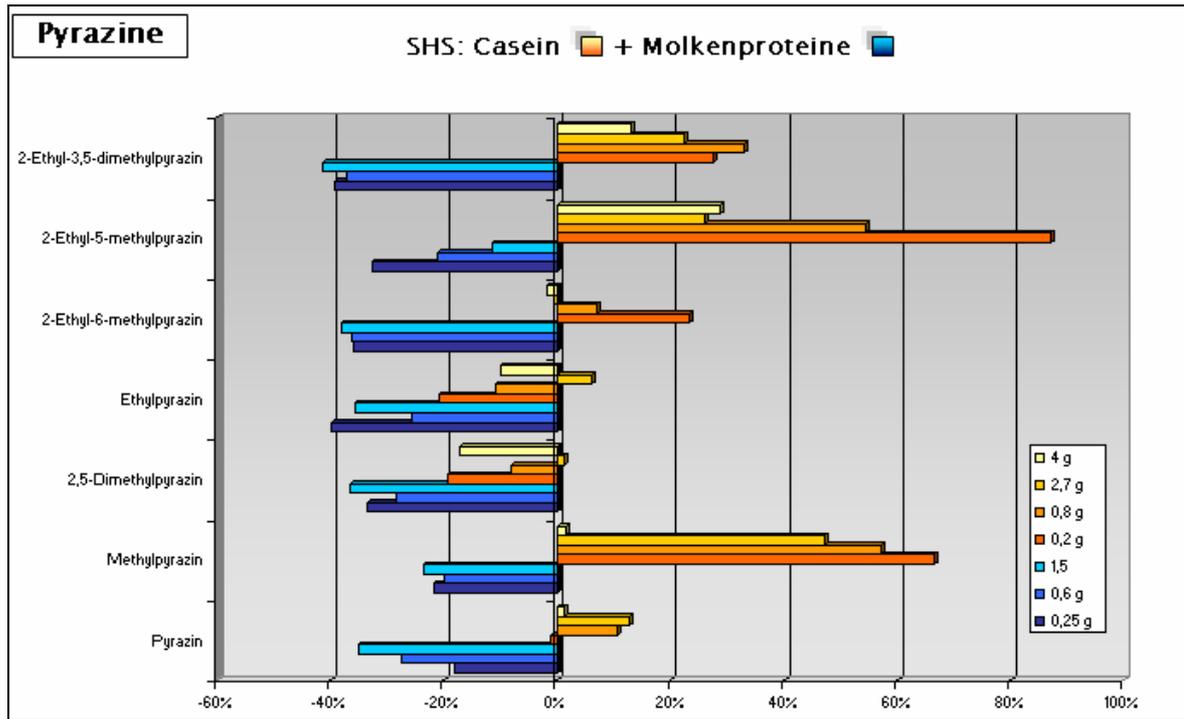


Abbildung 42: SHS - Pyrazine bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

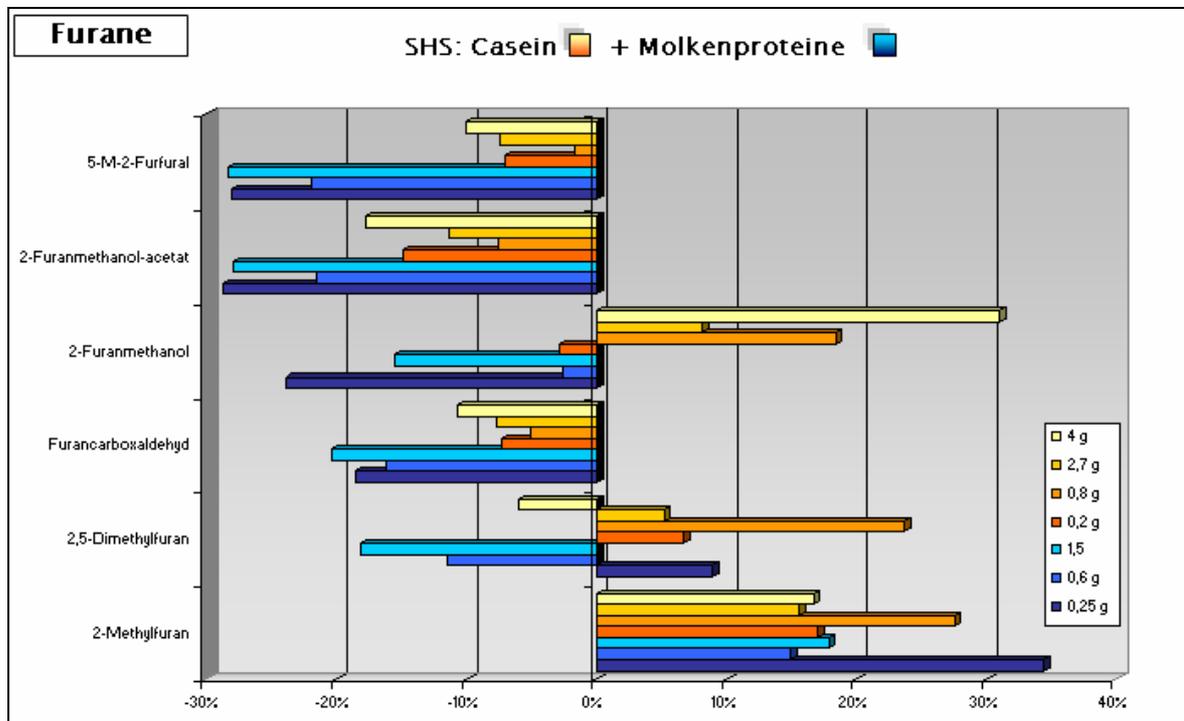


Abbildung 43: SHS - Furane bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

In Abbildung 44 ist der Einfluss von Casein und der Molkenproteine auf Dimethyldisulfid, 1-Methyl-1H-pyrrol, Pyridin und 2-Methoxyphenol dargestellt.

Beim 2-Methoxyphenol ist bei steigender Zugabe der Milchproteine eine Abnahme in der Headspace-Konzentration festzustellen. Beim Casein wird im Vergleich zum schwarzen Kaffeegetränk durch eine geringe Zugabemenge eine verstärkte Freisetzung bewirkt, welche mit steigender Konzentration sinkt, bis bei einer Zugabe von 4 g Casein sogar eine Verminderung gegenüber dem schwarzen Kaffeegetränk auftritt.

Beim Pyridin ist durch die Konzentrationserhöhung der Milchproteine eine verstärkte Freisetzung zu beobachten. Im Vergleich zum schwarzen Kaffeegetränk wird durch das Molkenprotein die Pyridinkonzentration im Kopfraum vermindert und durch Casein verstärkt. Beim Casein ist darüber hinaus zu beobachten, dass mit einer Zugabe von 4 g gegenüber der Zugabe von 2,7 g eine Abnahme der Konzentration an Pyridin der Headspace stattfindet.

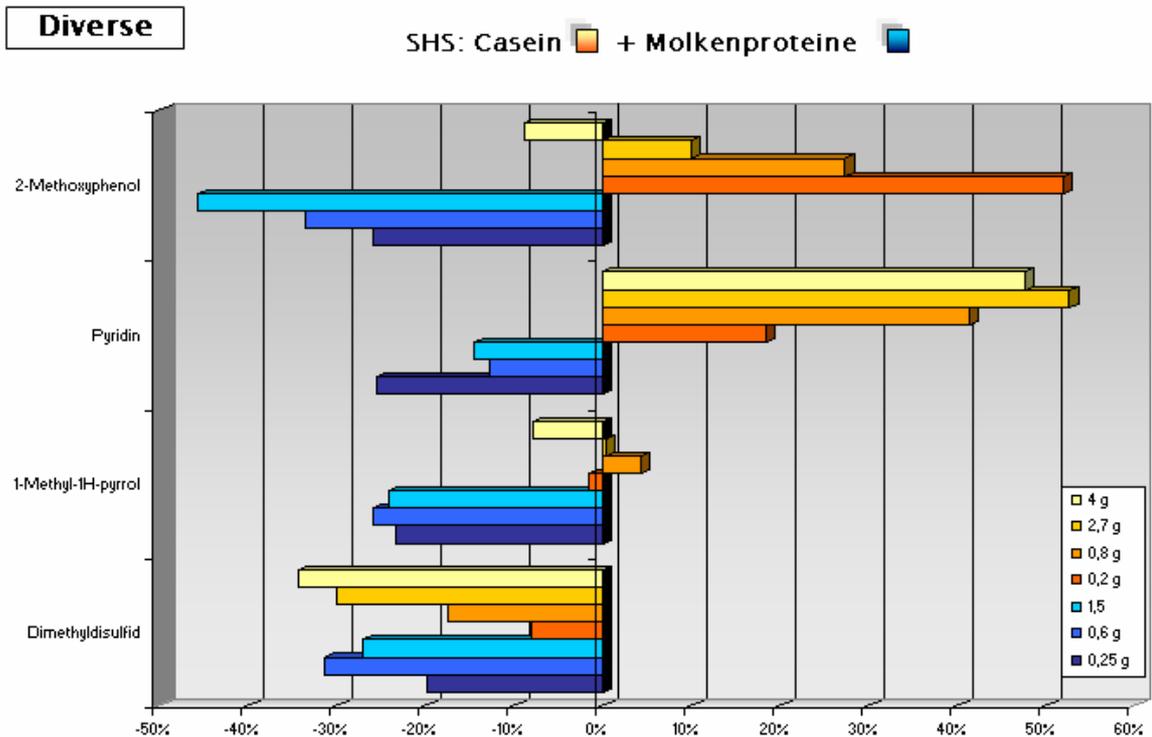


Abbildung 44: SHS – Diverse Substanzen bei Zugaben von Milchproteinen in Relation zum schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

1-Methyl-1H-pyrrol wird durch das Casein kaum beeinflusst. Molkenproteine haben auf diese Substanz eine retardierende Wirkung.

Die Freisetzung von Dimethyldisulfid wird durch die beiden Milchproteine erniedrigt. Beim Casein ist eine Zunahme dieses Effektes bei steigender Zugabemenge zu beobachten.

Durch die Molkenproteinzugabe bei der SHS werden im Vergleich zu einem schwarzen Kaffeegetränk die meisten Aromastoffe retardiert. Bei den Zugaben an Casein ist ein geteiltes Bild erkennbar, da einige Aromastoffe verstärkt und andere vermindert freigesetzt werden. In der Tendenz nehmen aber die Aromastoffe mit steigender Caseinzugabe ab, nur im Vergleich zu einem schwarzen Kaffee ist die Freisetzung größer.

Im Vergleich zur DHS ist mit der SHS eine bessere Aussage über die Massenübergänge zwischen der Gasphase und den Kaffeegetränken zu treffen, da keine Aufkonzentrierung der Aromastoffe vorkommt.

4.2 Rekombinate

In Abbildung 8 (s. 3.1.2.3) ist die Zusammensetzung eines Rekombinates aufgeführt. Neben dem Rekombinat mit 3,5 % Fett, das eine vergleichbare Zusammensetzung wie eine Vollmilch mit 3,5 % Fett aufweist, wurden Rekombinate mit erhöhtem Fettgehalt (7,0 % Milchfett) und erhöhten Caseingehalten (4,2 % und 5,6 %) hergestellt.

Deren Einflüsse auf die Aromafreisetzung aus einem Kaffeegetränk sind in Abbildung 45 bis 48 dargestellt (s. auch 7.5.7).

In Abbildung 45 ist zu sehen, dass Ketone die eine karamellartige und buttrige Note aufweisen, durch Zugabe von Rekombinaten weniger retardiert sind als Aldehyde, die einen malzig /süßlichen Aromaeindruck bewirken.

Die Rekombinate mit 3,5% und 7,0% Fett weisen einen größeren Einfluss auf die Freisetzung fast aller Aromastoffe auf. Dabei zeigt sich kaum ein Unterschied zwischen den beiden Rekombinaten in der Wirkung.

Die mit Casein angereicherte rekombinierte Milch hat im Vergleich zum Rekombinat mit 3,5% Fett, das in der Zusammensetzung einer Vollmilch entspricht bzw. einen Caseingehalt von 2,8% hat, eine schwächere Wirkung auf die Retardierung von Aldehyden und Ketonen. Diese Wirkung nimmt mit steigender Menge an Casein in der rekombinierten Milch ab.

Eine Ausnahme zeigt Benzenacetaldehyd, der unabhängig von Milchfett- und Caseinmenge gleich stark retardiert ist.

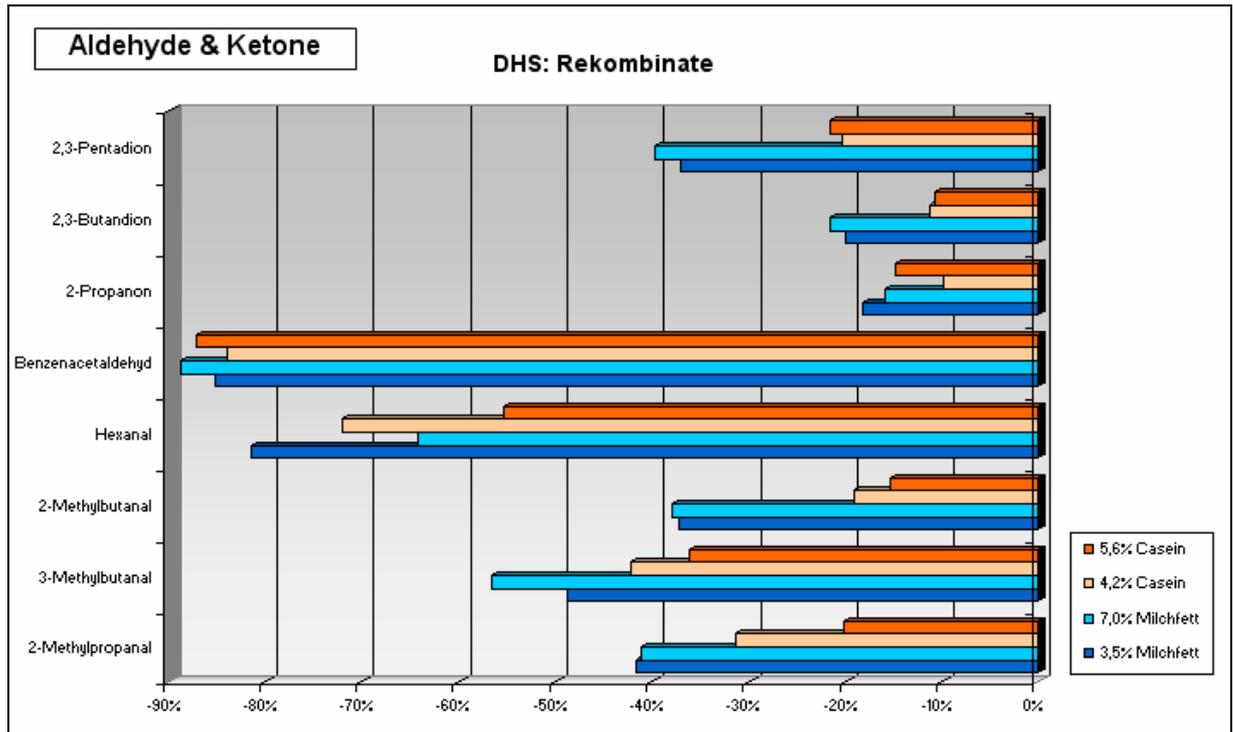


Abbildung 45: DHS – Aldehyde und Ketone bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)

Pyrazine sind im Vergleich zur den Aldehyden und Ketonen stärker retardiert (Abbildung 46). Insgesamt wird die röstig/erdige Note der Pyrazine von dem Kaffeegetränk durch die Zugabe von Rekombinat mit 7,0% Fett am stärksten reduziert.

Auch hier zeigen die Rekombinate mit erhöhtem Caseingehalt (4,2% und 5,6%) eine schwächere Wirkung auf die Retardierung als das Rekombinat mit 3,5% Fett. Diese Wirkung nimmt beim 2,5-Dimethylpyrazin und Ethylpyrazin deutlich mit steigendem Caseingehalt ab.

Furane mit ihren kaffee-/verbrannt/karamellartigen Aromaeindrücken werden wie Aldehyde, Ketone und Pyrazine durch das Rekombinat mit 3,5% Fett und das Rekombinat mit 7,0% Fett deutlich stärker retardiert als durch die Rekombinate mit erhöhten Caseingehalten (Abbildung 47).

Die Rekombinate mit 4,2% und 5,6% Casein haben eine gleich starke Wirkung auf die Aromafreisetzung, aber diese Wirkung ist deutlich geringer als im Vergleich zur rekombinierten Milch mit einem normalen Caseingehalt (2,8 %).

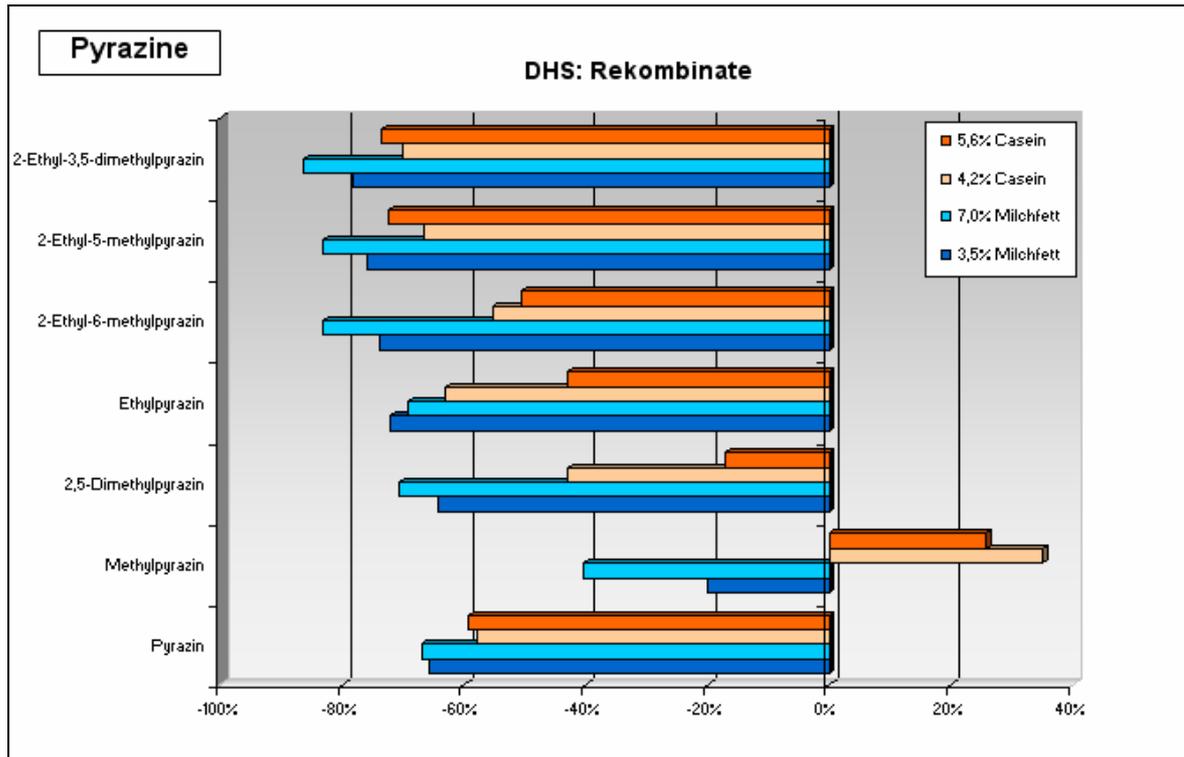


Abbildung 46: DHS - Pyrazine bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)

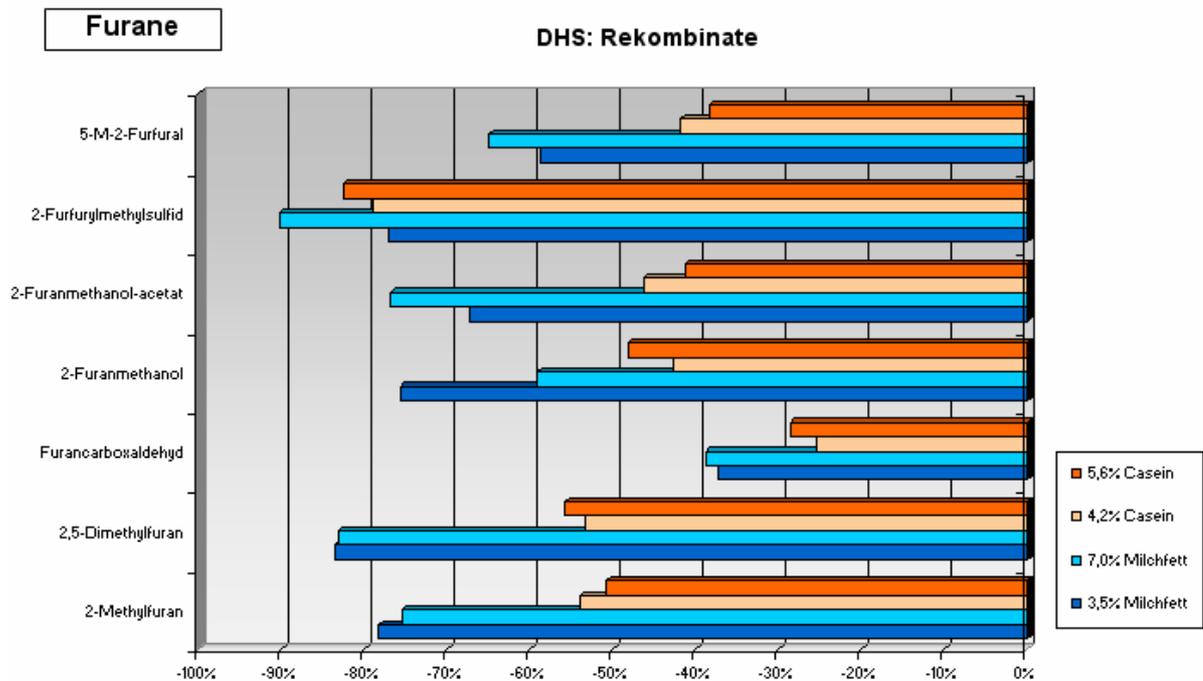


Abbildung 47: DHS – Furane bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)

Auf Dimethyldisulfid, welches für das kohlrartige Aroma verantwortlich ist, haben die Rekombinate mit den erhöhten Caseingehalten (4,2% und 5,6% Casein) und das Rekombinat mit erhöhtem Fettgehalt die gleiche retardierende Wirkung wie das Rekombinat mit 3,5% Fett und 2,8% Casein gezeigt (Abbildung 48).

Ähnliches ist beim 2-Methoxyphenol zu beobachten, wobei das Rekombinat mit 7% Milchfett eine stärkere retardierende Wirkung aufweist.

Pyridin wurde kaum durch das mit Casein angereicherte Rekombinat beeinflusst. Dagegen hat das Rekombinat mit 7,0% Milchfett die Freisetzung des Pyridins um 40% verringert.

1-Methyl-1H-pyrrol (rauchig/verbrannt) ist in seiner Freisetzung durch das Rekombinat mit 3,5% Milchfett und das Rekombinat mit 7,0% im Vergleich zu den Rekombinaten mit 4,2% und 5,6% Casein stärker retardiert.

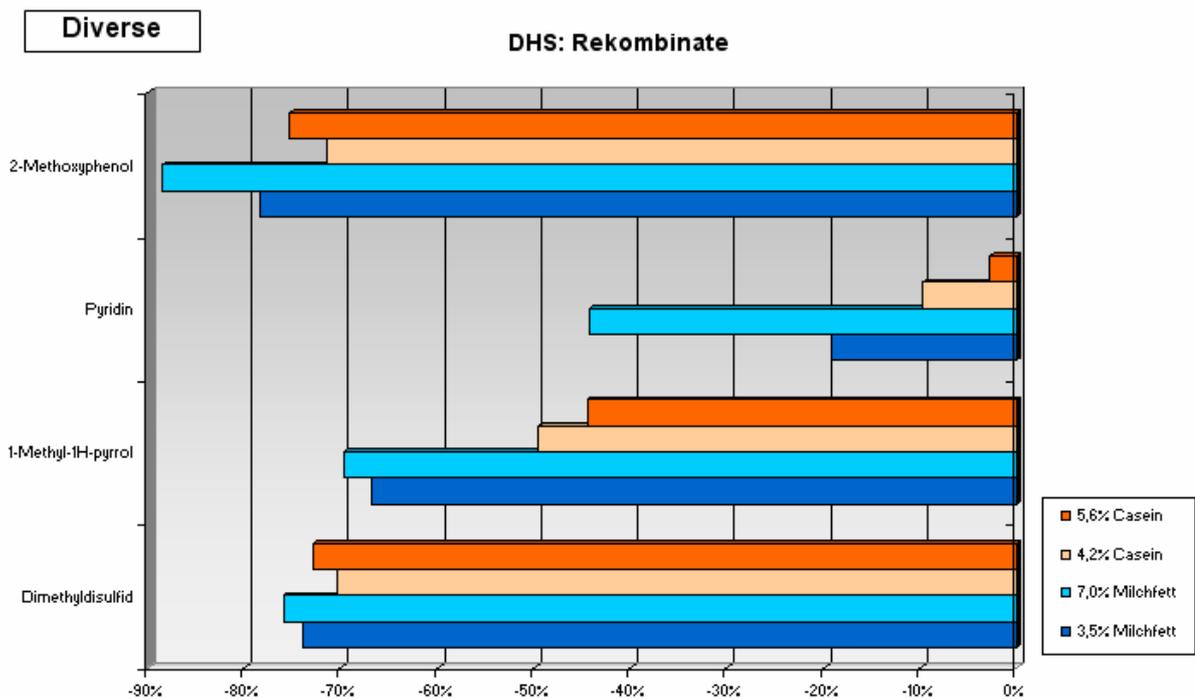


Abbildung 48: DHS – diverse Verbindungen bei Zugabe von Milch-Rekombinaten zum Kaffeegetränk in Relation zu einem verdünnten Kaffeegetränk (0 %)

4.3 Variation der Homogenisierung

Wie bereits im Abschnitt Material und Methoden beschrieben, wurden für die weiteren Untersuchungen folgende Milchproben hergestellt (Tabelle 28).

Tabelle 28: Überblick über die Milchprodukte zu den Homogenisierungsversuchen

Milchzusatz	Technologie
Vollmilch	Homogenisierung bei 200/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach Homogenisierung
fettarme Milch	Homogenisierung bei 200/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 1*	1. Homogenisierung: 30 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Druck: 250/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach 2. Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 2*	1. Homogenisierung: 50 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Druck: 250/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach 2. Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 3	1. Homogenisierung: 50 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Druck: 250/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach jeder Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 4	1. Homogenisierung: 50 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Druck: 200/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach jeder Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 5	1. Homogenisierung: 50 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Homogenisierungen direkt nacheinander Druck: 250/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach 2. Homogenisierung
Doppelt homogenisierte fettarme Milch ↳ Variante 6 (Caseingehalt: 4,2 %)	1. Homogenisierung: 50 °C 2. Homogenisierung: 60 °C Homogenisierungen direkt nacheinander Druck: 250/50 bar Pasteurisierung (73 °C, 20 s) nach 2. Homogenisierung

*Variante 1 und Variante 2 wurden wegen erhöhten Gehaltes an freien Fettsäuren für analytische Untersuchungen nicht verwendet. Sensorische Untersuchungen sind bei Denker (2006) zusammengefasst.

Sowohl für die apparativen als auch für die sensorischen Untersuchungen (Denker, 2006) der milchhaltigen Kaffeegetränke wurde ein 100 %iger Milchzusatz (150 g zu 150 g Kaffeegetränk) gewählt. Bei der Untersuchung mit der statischen Headspace erfolgt die Ergebnispräsentation wie bei den Modelluntersuchungen in Form von Balkendiagrammen (s.7.5.8, Tabelle 40). Die Änderungen der Aromastofffreisetzung werden hier relativ zu einem Kaffeegetränk mit einem Zusatz von fettarmer Milch (0% Achse) angegeben.

4.3.1 Externe statische Headspace (SHS) – GC/MSD

Bei diesen Untersuchungen mit den unterschiedlichen Milchvarianten sind große Schwankungen bei den Messwerten aufgetreten. Die mittlere Standardabweichung liegt bei 15 bis 25 % und bei einzelnen Substanzen (2,5-Dimethylfuran, Pyridin und Ethylpyrazin) sogar bis zu 33 %.

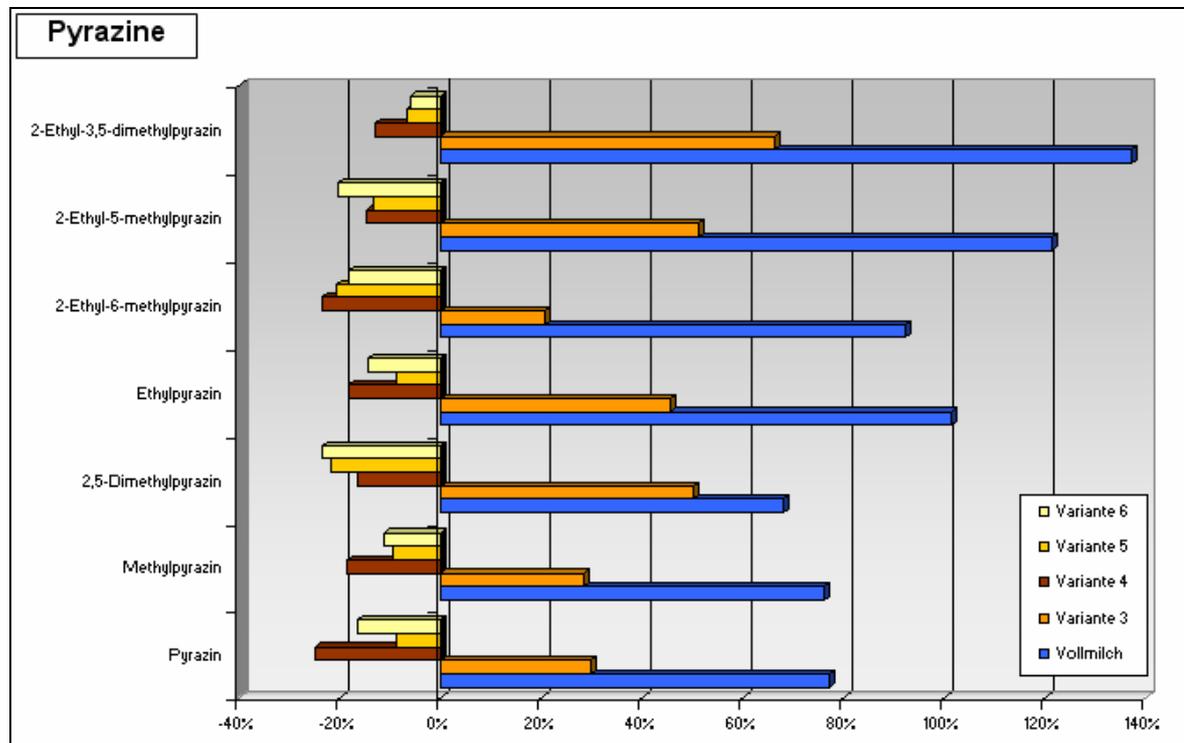


Abbildung 49: SHS - Pyrazine bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)

In Abbildungen 49-52 ist zu beobachten, dass eine Zugabe von Variante 3 (doppelt homogenisiert (250/50 bar) und doppelt pasteurisiert) und ein Zusatz einer „normalen“ Vollmilch einen ähnlichen Einfluss auf die Freisetzung der untersuchten Aroma-Substanzen haben. Diese beiden Milchprodukte haben auch, unter der Annahme, dass bei der bimodalen Verteilungsmessung der Variante 3 nur Fettkügelchen gemessen wurden ($d_{3,2}$ -Wert = 0,141), eine ähnliche Fettkugeloberfläche von $\sim 750 \text{ m}^2$ (Vollmilch) bzw. von $\sim 686 \text{ m}^2$ (Variante 3).

Pyrazine (Abbildung 49) sind durch die Zugabe von Vollmilch und Variante 3 gegenüber dem „normalen“ fettarmen Milch-Zusatz verstärkt freigesetzt. Dabei ist die Aromafreisetzung am stärksten durch den Vollmilchzusatz. Demnach erhöht sich insgesamt die erdig / röstige Note des Kaffeegetränkes. Dagegen zeigt sich bei Zugabe von Varianten 4, 5 und 6 eine Abschwächung dieser Substanzen.

Abbildung 50 zeigt ein ähnliches Bild. Die buttrig / karamellartige Note ist am stärksten wahrnehmbar bei einer Zugabe von Vollmilch, weil dadurch die Ketone stärker freigesetzt werden. Ebenso erhöht sich die Freisetzung von Benzenacetaldehyd und Hexanal, die zu einem süßlich / frischen Geruch beitragen.

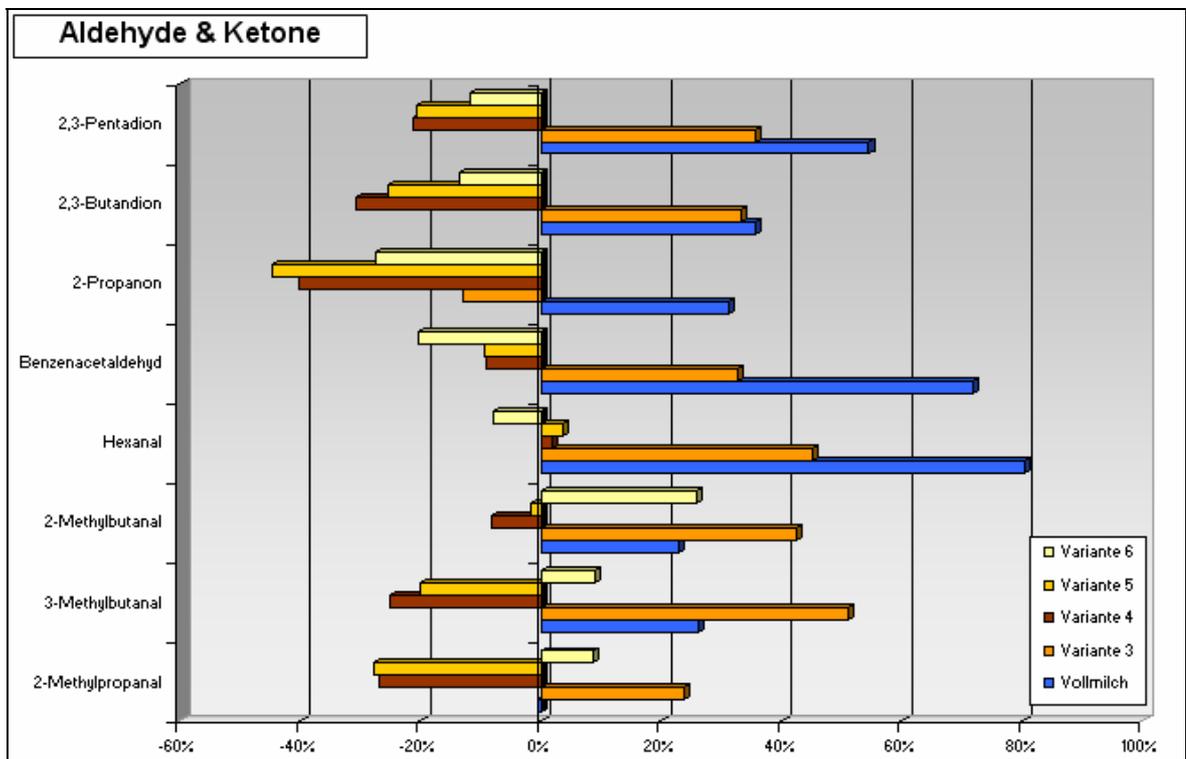


Abbildung 50: SHS – Aldehyde und Ketone bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)

Die restlichen Aldehyde, wie 2-Methylbutanal, 3-Methylbutanal und 2-Methylpropanal (Schokolade / malzig), sind stärker freigesetzt worden durch Variante 3, als durch den Zusatz von Vollmilch. Nur bei diesen drei Aldehyden zeigt sich eine vermehrte Freisetzung durch Zugabe von Variante 6, die mit Casein angereichert ist. Sonst hat die Variante 6, genauso wie Varianten 4 und 5, auf alle anderen Substanzen eine retardierende Wirkung.

Bei den Furanen (Abbildung 51) ist im Allgemeinen eine verstärkte Freisetzung von den für das typische röstige Kaffeearoma verantwortlichen Substanzen durch die Zugabe der Milchvarianten und der Vollmilch zu sehen. Besonders stark werden 2-Methylfuran (bis ca. 80%) und 2,5-Dimethylfuran (um 100%) durch die Zugabe von Variante 3 und Variante 6 freigesetzt.

Variante 4 und Variante 5 haben eine relativ schwache Wirkung, sowohl bei der Retardierung als auch bei der Freisetzung von Furanen gezeigt.

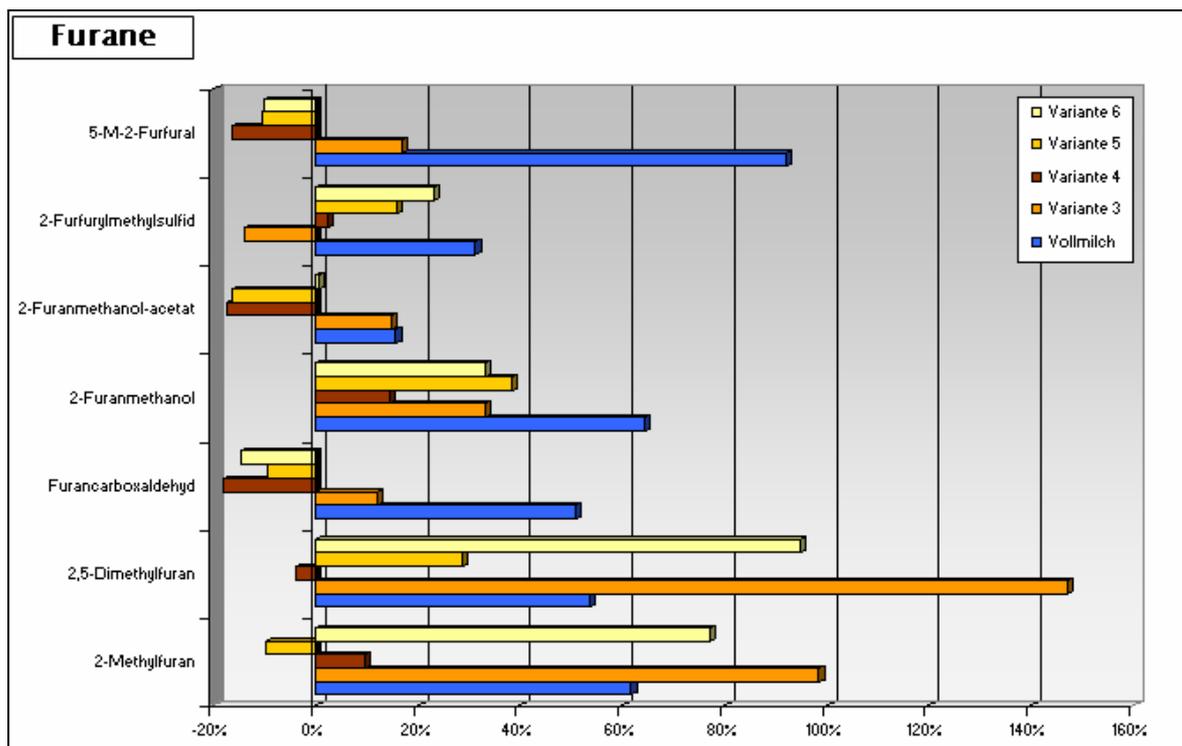


Abbildung 51: SHS - Furane bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvarianten und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)

In Abbildung 52 ist auffällig, dass sich die Freisetzung von Dimethyldisulfid (kohlartige Note) um 120% vergrößert durch die Zugabe von Vollmilch im Vergleich zu

der fettarmen Milchzugabe. Seine Headspace Konzentration erhöht sich auch mit der Zugabe von Variante 6 (um 40 %). Die anderen Substanzen sind auch durch Vollmilch und durch Zugabe von Variante 3 deutlicher (um 50 %) freigesetzt worden. Auch hier zeigen Variante 4 und Variante 5 eine schwache retardierende Wirkung auf alle Substanzen aus dieser Gruppe.

Pyrazine, Furane, Aldehyde und Ketone werden im Allgemeinen bei einer Zugabe von Vollmilch und Variante 3 gegenüber dem „normalen“ fettarmen Milch-Zusatz verstärkt freigesetzt. Dies ist ein unerwartetes Ergebnis, da die Vollmilch einen größeren Fettgehalt aufweist als die Varianten und somit eine Retention der unpolaren Aromastoffe erwartet wurde.

Gerade die unpolaren Aromastoffe, wie Hexanal, Dimethyldisulfid, 1-Methyl-1H-pyrrol und Guajacol (2-Methoxyphenol), müssten sich in der größeren Menge Fett besser lösen; dies ist aber nicht der Fall (siehe Abbildung 52). Es wird vermutet, dass keine Verteilung der Aromastoffe in der Fettphase möglich ist, da die Fettkügelchenmembran einen Durchtritt verhindert. Die retardierenden oder freisetzenden Eigenschaften beruhen in diesem Fall nur auf Wechselwirkungen mit Bestandteilen der Membran, in der Hauptsache vermutlich mit Proteinen. Eine entsprechende Literaturrecherche hat dies bezüglich aber keine weiterführenden Erkenntnisse erbracht.

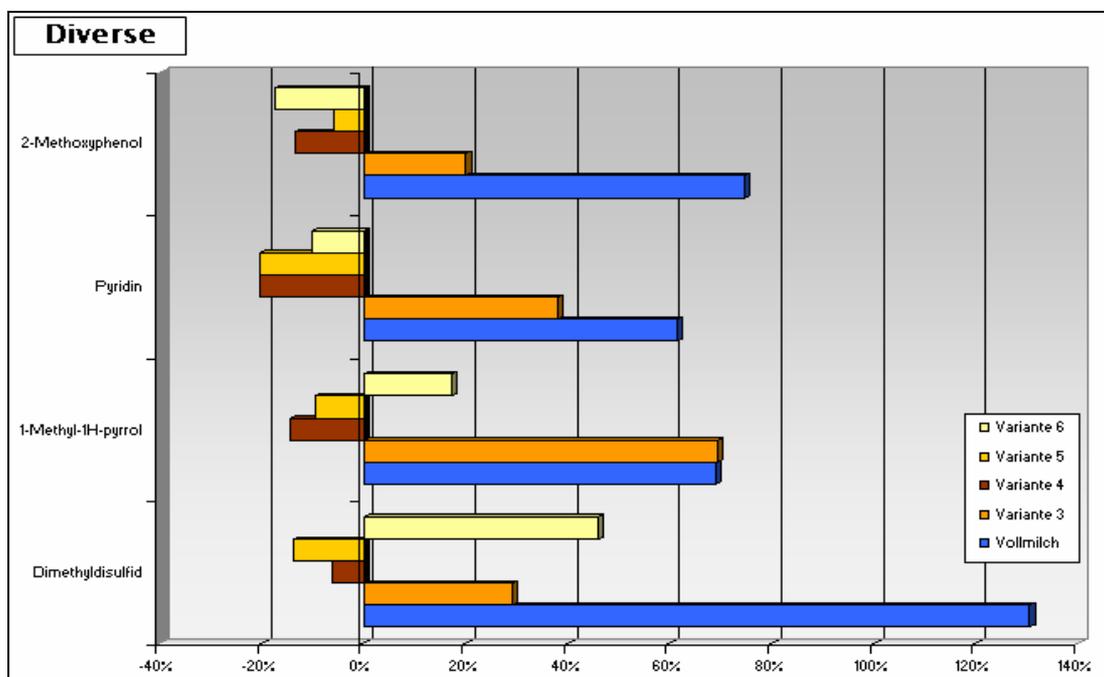


Abbildung 52: SHS – Diverse Substanzen bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchvariante und Vollmilch in Relation zu einem fettarmen milchhaltigen Kaffeegetränk (0 %)

4.4 Variation der Erhitzung

4.4.1 Externe statische Headspace (SHS) – GC/MSD

Die Abbildungen 53 bis 56 zeigen den Einfluss der thermischen Behandlung von fettarmen Milchprodukten auf die Freisetzungen der Aromastoffe. Die Ergebnisse sind bei diesen Untersuchungen in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk gesetzt. Dieses Kaffeegetränk hat anstelle des Milchzusatzes einen Wasserzusatz von 150 g. Die Standardabweichung liegt bei diesen Untersuchungen bei durchschnittlich 13 – 17 % (Ausnahme Pyridin: 23 %).

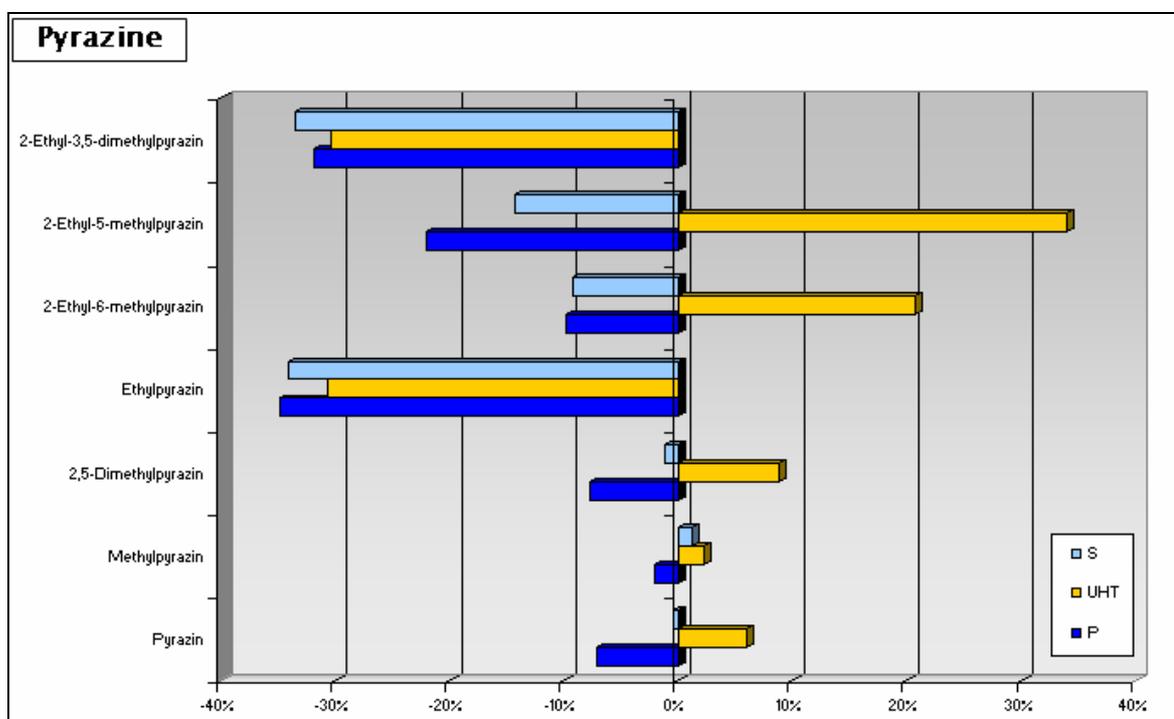


Abbildung 53: SHS - Pyrazine bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultraheerhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Bei den Pyrazinen (Abbildung 53), die eine röstig / erdige Note aufweisen, bewirkt die UHT-Milch mit Ausnahme bei Ethylpyrazin und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin eine verstärkte Freisetzung. Dagegen zeigen die pasteurisierte und die sterile Milch bei fast allen Substanzen nahezu den gleichen retardierenden Einfluss. Pyrazin, Methylpyrazin und 2,5-Dimethylpyrazin sind kaum durch die Zugabe von unterschiedlich behandeltem Milchen beeinflusst.

Bei den Aldehyden und Ketonen (Abbildung 54) ist ein geteiltes Bild zu sehen. Durch den Zusatz aller Milchproben im Vergleich zum schwarzen Kaffeegetränk insgesamt kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von Ketonen, dagegen werden Aldehyde (mit Ausnahme 2-Methylpropanal) retardiert in ihrer Freisetzung.

Am stärksten ist 2-Propanon, das bei der orthonasalen Wahrnehmung zur buttrigen Note beiträgt, freigesetzt. Den größten Effekt zeigt hier die Sterilmilch, welche eine Freisetzung von bis zu 120% bewirkt. 2,3-Pentadion ist kaum durch den Milch Zusatz beeinflusst.

Von den Aldehyden sind am meisten Benzenacetaldehyd und Hexanal retardiert, wodurch die süßlich/frische Note abnimmt. 2-Methylbutanal und 3-Methylbutanal (gärig/malzig) werden durch die Zugabe von pasteurisierter und steriler Milch vermindert freigesetzt. Dagegen bewirkt UHT-Milch bei diesen zwei Substanzen eine geringfügig vermehrte Freisetzung.

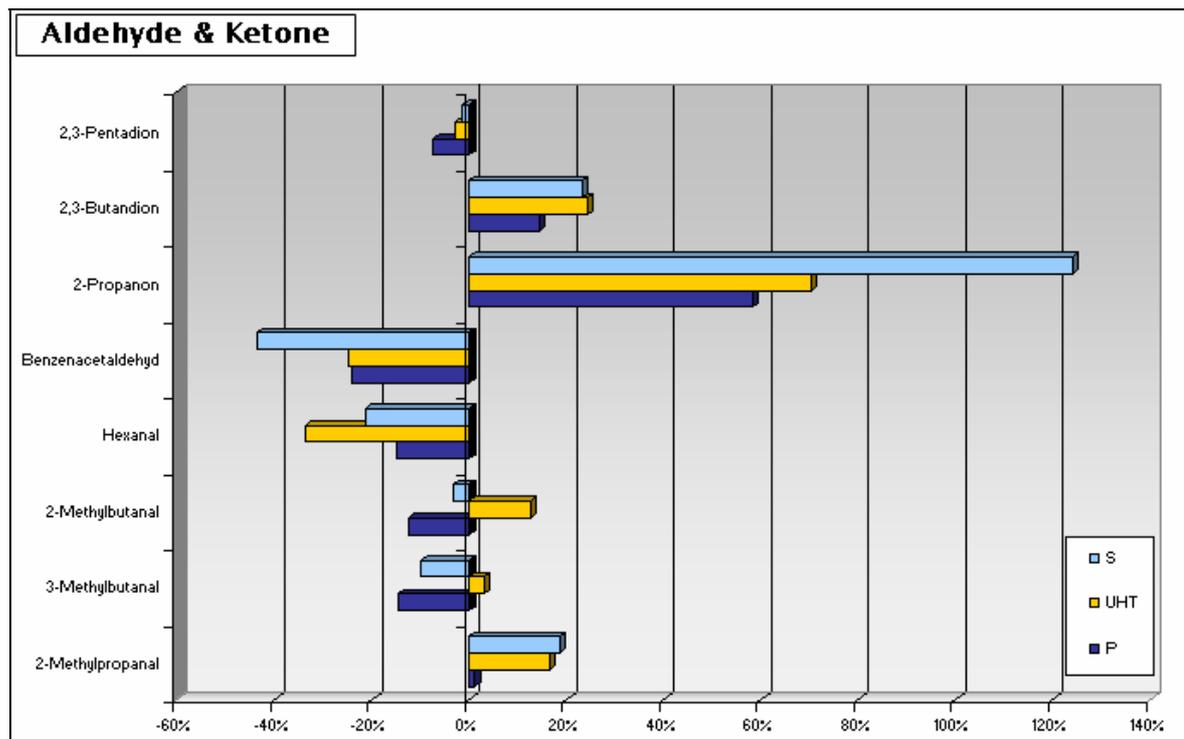


Abbildung 54: SHS – Aldehyde und Ketone bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahocherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Insgesamt sind die Furane (Abbildung 55), welche in der Regel einen verbrannten / kaffeeartigen Geruchseindruck aufweisen, durch die Zugabe von allen Milchproben in ihrer Freisetzung retardiert. Einzige Ausnahme in diesem Falle zeigt 2-Furanmethanol, das mit Zugabe von UHT und Sterilmilch leicht vermehrt freigesetzt wird.

Der stärkste retardierende Effekt ist beim 2-Furfurylmethylsulfid (kaffeeartig) und 2,5-Dimethylfuran (fruchtig) zu sehen. Bei fast allen Furanen zeigt die pasteurisierte Milch den größten retardierenden Einfluss, der bei der Sterilmilch jedoch leicht vermindert ist.

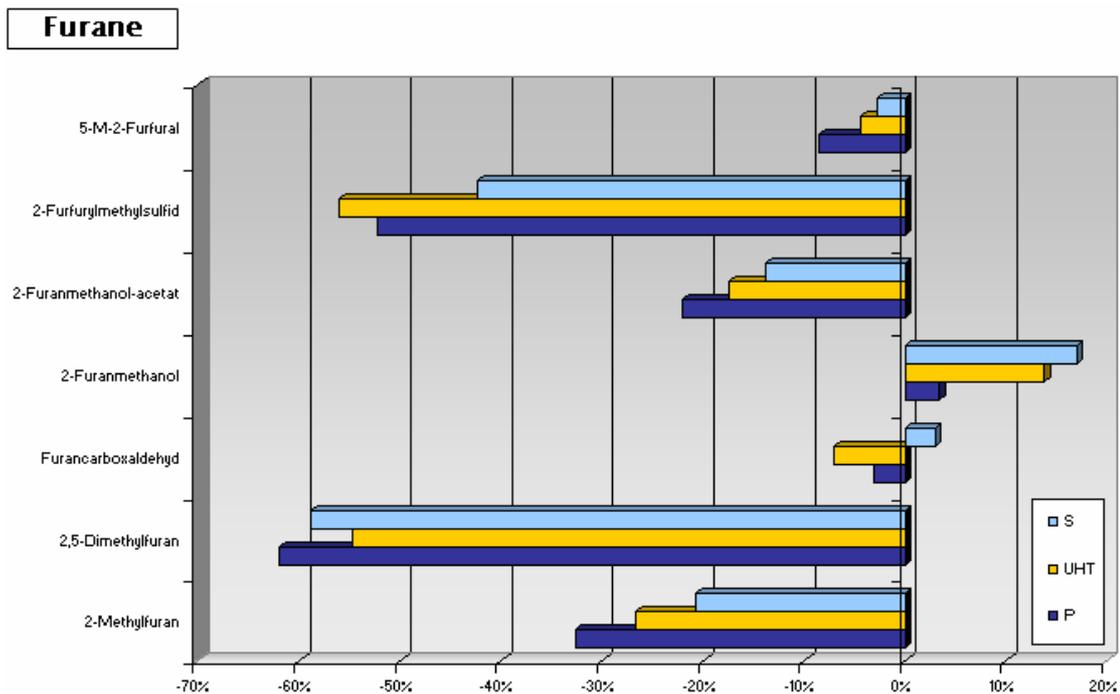


Abbildung 55: SHS - Furane bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahoherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Dimethyldisulfid, das für die kohlartige Note im Geruch des Kaffeegetränkes verantwortlich ist, wird durch Zugabe von pasteurisierter fettarmer Milch bis zu 80 % in seiner Freisetzung reduziert. Eine Retardierung von 40 % bzw. 30 % ist auch bei Zugabe von UHT- und Sterilmilch zu beobachten.

Das gleiche Bild ist weniger ausgeprägt beim 1-Methyl-1H-pyrrol und beim 2-Methoxyphenol, die zu einem rauchig/verbrannten Geruch beitragen. Pyridin (fischig) wird dagegen verstärkt freigesetzt, wobei die Sterilmilch im Gegensatz zur UHT- und

pasteurisierten Milch dessen Freisetzung um 10% erhöht.

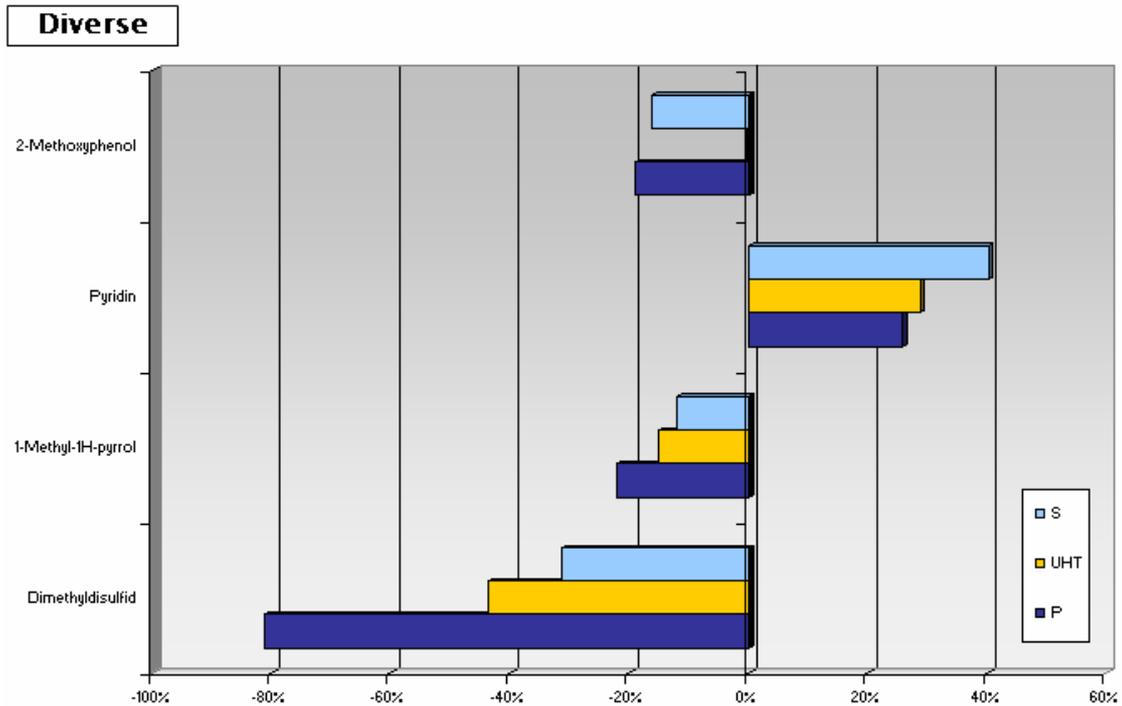


Abbildung 56: SHS – diverse Verbindungen bei Kaffeegetränken mit Zugaben fettarmer Milchprodukte (pasteurisiert, ultrahoherhitzt und sterilisiert; bei 250/50 bar homogenisiert) in Relation zu einem verdünnten schwarzen Kaffeegetränk (0 %)

Insgesamt ist es bei diesen hitzebehandelten Milchprodukten schwer, einen Zusammenhang zwischen Milchprodukten und Hitzebehandlung bei der Freisetzung der Aromastoffe zu finden, da die Milchprodukte aufgrund der unterschiedlichen Reihenfolge der Behandlungsschritte nicht direkt vergleichbar sind. Durch die einzelnen technologischen Verfahren laufen in der Milch vielfältige Prozesse ab und je nach dem zeitlichen Ablauf werden unterschiedliche Effekte erzielt. Gerade im Bereich der MilCHFettmembran ergeben sich so schwer zu erfassende Wechselwirkungen (s. 5.3.2).

5. Diskussion

5.1 Isolierung der Aromastoffe

Ziel aller Bemühungen muss es sein, ein Aromakonzentrat zu gewinnen, das die ursprünglichen sensorischen Eigenschaften des Untersuchungsgutes möglichst authentisch wiedergibt. In der Praxis lässt sich diese Forderung jedoch in vielen Fällen nur schwer realisieren.

Zur Aromaisolierung stehen viele Techniken zur Verfügung und jedes Verfahren hat Vor- und Nachteile (Holscher, 1991). Entscheidend für die nachfolgende Analyse und Bewertung ist, ob die Proben dabei aus dem Kopfraum gewonnen werden (also als Gas vorliegen und in der Regel geringere Konzentrationen an Aromastoffen aufweisen) oder ob sie aus dem Untersuchungsmaterial extrahiert werden (also in Lösung und relativ hoch konzentriert vorliegen).

In der Vergangenheit erfolgte die vollständige Extraktion der Aromastoffe über eine Vakuumdestillation oder simultane Destillation und Extraktion. Eine sensorische Beurteilung (CHARM, AEVA) dieser Extrakte nach gaschromatographischer Trennung bietet keine Aussagen über retardierende Effekte von Zusätzen des Kaffeegetränkes.

Diese Verfahren erlauben keine Aussage über die gegenseitige Beeinflussung oder die Wechselwirkung dieser mit der Lebensmittelmatrix. Außerdem werden durch den Einsatz von Lösungsmitteln sehr leichtflüchtige Verbindungen nicht erfasst (Grosch, 1996).

In dieser Arbeit wurden die Methoden zur Isolierung der Aromastoffe entsprechend der Aufgabenstellung ausgewählt. Wenn man das Aroma, welches der Verbraucher beim Öffnen einer Packung Kaffee oder oberhalb des Kaffeegetränks wahrnimmt, messen möchte, so kommen nur Headspace-Methoden in Frage. Es wurden verschiedene Headspace-Techniken benutzt, da diese eine Annäherung an das „wirkliche“ Aromaprofil eines Lebensmittels ermöglichen (Taylor, 1996).

Vielfache Anwendung finden Headspace-Techniken wegen des relativ geringen Probenvorbereitungsaufwandes. Die aromawirksamen Verbindungen im Dampfraum oberhalb einer Probe können so analysiert werden, wie sie sensorisch wahrgenommen werden.

So stellt die DHS die Verhältnisse bei der orthonasalen Aromawahrnehmung dar, da der Kopfraum des Kaffeegetränks wie oberhalb einer Tasse Kaffee ein offenes System darstellt.

Die SHS bietet die Möglichkeit, Aromastoffe im Gleichgewicht ihrer Verteilung zwischen Lösung und Kopfraum zu messen, was bei der Beurteilung des Aromas oberhalb einer geschlossenen Packung Kaffee von Bedeutung ist.

5.1.1 Externe Dynamische Headspace

Das Prinzip der DHS beruht auf der Adsorption der im Kopfraum einer Probe befindlichen Aromastoffe an ein Adsorbensmaterial. Da sich beim Durchströmen des Kopfraums mit einem inerten Gas das Gleichgewicht zwischen der flüssigen Phase und der gasförmigen Phase nicht einstellt, werden Verbindungen mit hohem Dampfdruck verstärkt angereichert, da diese in den Kopfraum vermehrt nachdiffundieren. Unter den dynamischen Bedingungen im Mund wird ebenfalls wie bei der DHS niemals die maximale Headspace-Konzentration eines Gleichgewichts erreicht (de Roos, 1997). Somit ist diese Methode eine Annäherung an die Bedingungen, die beim Genuss einer Tasse Kaffee vorliegen, da ein offenes System vorliegt, bei dem sich zwischen dem Kopfraum und dem Kaffeegetränk das Gleichgewicht auch nicht einstellt. So entspricht das verfügbare Volumen des Purgegefäßes in seiner Dimensionierung einer menschlichen Mundhöhle (Bücking, 1999). Die hier verwendete DHS Methode berücksichtigt zwar die ungefähre Temperatur der Mundhöhle (ca. 40 °C) und den kontinuierlichen Gasfluss der über den retronasalen Weg durch die Nase strömt; Effekte wie z.B. Bewegung und Verdünnung des Kaffeegetränks werden jedoch nicht berücksichtigt.

Ebenso kommt es in der menschlichen Mundhöhle beim Verzehr von Lebensmitteln nicht zu einer Gleichgewichtseinstellung (Leland, 1997).

Die Reproduzierbarkeit der DHS Methode wurde bereits 1999 von Bücking untersucht. Es zeigten sich dabei Abweichungen von 5 bis 15 %, die laut Hachenberg und Beringer (1996) bei Headspaceuntersuchungen sogar in einem Bereich von 20 % liegen können, da es viele Faktoren gibt, die den Ablauf der DHS beeinflussen können (z.B. Mahlen des Kaffeepulvers und das Aufbrühen des Getränks). Die Methode ist somit reproduzierbar gegeben.

Da es bei einem erhöhten Gasfluss und einer erhöhten Spüldauer zu einem Nachdiffundieren von flüchtigen Verbindungen kommen kann, besteht die Möglichkeit, dass der retardierende Effekt der Milchezsätze wieder ausgeglichen wird (Bücking, 1999).

5.1.2 Externe Statische Headspace

Der Unterschied der SHS zur DHS ist das durch die Equilibrierungszeit erreichte Dampfraumgleichgewicht. Dadurch ist ein Nachdiffundieren wie bei der DHS nicht möglich. Der retardierende Effekt von Zusätzen kann mit dieser Methode besser beschrieben werden als mit der DHS. Fabre et al., (2002) verglichen SHS, DHS und Festphasen-Mikroextraktion in Bezug auf Wechselwirkungen von Milchproteinen mit Aromastoffen. Es wurde festgestellt, dass bei der SHS zwar weniger Aromakomponenten nachgewiesen werden konnten als bei der DHS; diese zeigten jedoch den nachgewiesenen Einfluss von Milchproteinen auf die Aromastoffe. Mit der DHS war dies nicht möglich, da die retardierende Wirkung der Milchproteine auf die Aromastoffe wahrscheinlich ausgeglichen wurde (Fabre et al., 2002).

Ein häufig erwähnter Nachteil der SHS ist die geringe Konzentration einiger flüchtiger Verbindungen im Dampfraum, wodurch der Nachweis einiger dieser Substanzen oft nicht möglich ist. Das von Bücking (1999) entworfene zweiteilige Glasgefäß bietet jedoch einen ausreichend großen Gasraum, die erhaltenen Werte sind reproduzierbar. Mit dieser Methode konnten die gleichen Verbindungen wie bei der DHS mittels MSD bestimmt werden.

Die Isolierung der Aromastoffe mittels SHS spiegelt jedoch nicht die Situation im Mund während des Essens wieder, da währenddessen, wie bereits oben erwähnt, der kontinuierliche Gasfluss, die Bewegung, die Verdünnung und die Vermischung hinzukommen. Es stellt dagegen in etwa die orthonasale Aromawahrnehmung während der sensorischen Untersuchungen dar, denn bei diesen werden verdeckelte Becher verwendet, die erst bei der Geruchsprüfung geöffnet werden (Denker, 2006). So konnte sich in dem Becher, wie bei der SHS, ein Gleichgewicht einstellen.

Die Reproduzierbarkeit der SHS wurde von Bücking (1999) bewiesen. Es wurde die von ihm entworfene zweiteilige Glasapparatur verwendet, die jedoch in dieser Untersuchung durch Einbau von zwei Hähnen modifiziert wurde.

5.2 Identifizierung der Aromastoffe

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgte über den Vergleich der R_t mit Referenzsubstanzen und dem Vergleich der Retentionsindices mit Literaturdaten und sensorischen Eigenschaften. Die Anzahl der sensorisch identifizierten Aromastoffe ist hoch, so dass die Identifizierung mittels Referenzsubstanzen und RI auf wenige

Tracersubstanzen begrenzt wurde. Diese Tracersubstanzen sind Vertreter verschiedener Geruchs- oder Substanzklassen. So konnte mit wenigen Substanzen das gesamte Feld der im Kaffeegetränk vorkommenden Aromastoffe abgedeckt werden. Um eine genaue Identifizierung zu garantieren, wurden die Aromastoffe an zwei verschiedenen Säulen getrennt und identifiziert. Die DB 5-Säule ist die in der Literatur am häufigsten erwähnte Trennsäule und es existieren auch die meisten Daten. Die OV 1701-Säule unterscheidet sich von der DB 5 in der Polarität. So ist die OV 1701 polarer und sie kann im Gegensatz zur der DB 5 nicht nur nach Siedepunkten der Substanzen trennen, sondern auch noch nach verschiedenen Polaritäten der Substanzen. Blank et al. (1992) konnte z.B. zwei nicht identifizierte Substanzen mit einem fruchtigen und einem karamellartigen Geruchseindruck auf einer OV 1701 und einer FFAP am Sniffing-Port registrieren, auf einer SE-54 (entspricht der DB 5) dagegen konnten sie diese beiden Geruchseindrücke nicht feststellen.

Für die Detektion standen ein FID in Verbindung mit einem Sniffing-Port sowie ein MSD zur Verfügung. Aufgrund der großen Sensibilität ist die menschliche Nase als Detektor eine geeignete Ergänzung zum FID, da die Detektion mit einem FID zwar universell, jedoch nicht empfindlich genug ist, um die zahlreichen im Kaffee vorkommenden Aromastoffe zu identifizieren.

Bei der Untersuchung des schwarzen Kaffees an der DB 5-Säule konnten 47 Geruchseindrücke am Sniffing-Port festgestellt werden. Davon wurden 15 Geruchseindrücke den Tracersubstanzen zugeschrieben, und diese mittels Referenzsubstanzen und RI-Vergleich mit Literaturdaten bestimmt. Die Leitsubstanzen sind zum größten Teil „Character Impact Compounds“, wie sie von Holscher (1991) und Grosch (1998) beschrieben wurden. Die beiden Tracersubstanzen Dimethyldisulfid und 2-Hexanon wurden des weiteren überwiegend als Milchtracersubstanzen angesehen. Sie kommen nur in geringen Mengen im schwarzen Kaffee vor.

An der OV 1701-Säule konnten mittels Sniffing-Port 50 Geruchseindrücke im schwarzen Kaffee festgestellt werden, davon konnten mittels RI-Vergleich mit Literaturdaten 15 Geruchseindrücke als Leitsubstanzen identifiziert werden. Diese entsprechen den Tracersubstanzen, die an der DB 5-Säule bereits identifiziert wurden. Mittels MSD konnten jedoch nicht alle Substanzen eindeutig identifiziert werden. Insbesondere 2-Furfurylthiol und Methional ließen sich mittels MSD nicht nachweisen, da die Empfindlichkeit des MSD für die Konzentrationen dieser Substanzen im

Kaffeegetränk nicht ausreichte. Semmelroch et al. (1995) stellten fest, dass die Konzentrationen an 2-Furfurylthiol und Methional im Kopfraum des Kaffeepulvers nicht ausreicht, um diese apparativ zu detektieren. Aufgrund ihrer geringen Geruchsschwellenwerte sind sie jedoch am Sniffing-Port gut wahrnehmbar. Hofmann und Schieberle (2002) führen dieses Phänomen auf die Anwesenheit von Melanoidinen zurück, die wahrscheinlich kovalente Bindungen mit Thiolen eingehen können. Des Weiteren bestanden Probleme bei der Detektion verschiedener Methoxypyrazine. Diese konnten nicht immer eindeutig nachgewiesen werden, da sie dazu neigten, mit anderen Substanzen zu koeluiieren.

5.2.1 Modifizierte CHARM-Analyse

Für die sensorische Beurteilung der Aromazusammensetzung wurde die modifizierte CHARM-Analyse (Acree et al., 1984) verwendet. Aufgrund der beschriebenen Probenahme mittels externer DHS und SHS war die Verwendung von Verdünnungsstufen eines Aromaextraktes nicht möglich. Aus diesem Grunde wurde die von Bücking (1999) modifizierte CHARM - Analyse angewendet.

Durch die Kombination der instrumentellen Analytik mit sensorischen Methoden ist die CHARM-Analyse stärker mit zufälligen Fehlern behaftet. Die Individualität der jeweiligen Prüfer führt zu zahlreichen Faktoren, die auf das Messergebnis einen Einfluss haben:

- Schwankungen in der Geruchswahrnehmung und dadurch bedingte unterschiedliche, individuelle Geruchsschwellenwerte.
- Beeinflussung der Wahrnehmung des Prüfers durch eine unausgeglichene Atmung, kurze Ablenkungen bzw. abnehmende Konzentration durch häufiges Abriechen.
- Abhängigkeit der Wahrnehmung von Aromakomponenten vom Prüfer durch die physische und psychische Verfassung, sowie die Tageszeit

Die Modifizierung der CHARM - Analyse berücksichtigt demzufolge aber nur die Dauer und nicht die Intensität des Geruchseindrucks, die bei der CHARM- Analyse durch Verdünnungsreihen mit einbezogen wird. So kommt es zur Über- bzw. Unterbewertung einzelner Geruchseindrücke. Außerdem steht die Aromaintensität und somit die sensorische Wahrnehmung in keiner Verbindung zu seiner Konzentration (Abbott et al., 1993b).

5.3 Einflüsse auf die Aromafreisetzung beim Röstkaffee

Zur Untersuchung des Einflusses von Milch auf die **orthonasale Aromawahrnehmung** eines milchhaltigen Kaffeegetränkes wurden zunächst der Einfluss der Einzelbestandteile (Protein: Molkenprotein und Casein, Milchfett) untersucht. Um diese Auswirkungen der Einzelbestandteile auch in komplexeren Matrices zu untersuchen, wurden rekombinierte Milchen hergestellt, bei denen schlussfolgernd aus den vorigen Ergebnissen entweder der Caseingehalt oder der Fettgehalt erhöht wurde. Zur Überprüfung wurde eine Milch hergestellt, die in ihrer Zusammensetzung einer handelsüblichen Vollmilch entspricht.

Nach der Verdopplung des Fettgehaltes wurde im Folgenden der entgegengesetzte Weg beschritten und die Folgen eines Zusatzes mit reduziertem Milchfettgehalt im Kaffeegetränk geprüft. Dabei wurde eine fettarme Milch (mit 1,5 % Fett) intensiv homogenisiert, um der Gesamtfettkugeloberfläche und der Vollmundigkeit einer Vollmilch nahe zu kommen.

Zum Abschluss der Untersuchungen wurden fettarme Milchproben unterschiedlich thermisch behandelt, um den Einfluss von dadurch entstandenen chemischen Veränderungen für den Aromaeindruck im Kaffeegetränk zu erfassen.

5.3.1 Milchkomponenten und Milchrekominate

In Gegenwart von Proteinen kommt es zur Abnahme der Freisetzung von Aromastoffen, da sie kovalente Bindungen und reversible Wasserstoffbrückenbindungen mit den Aromastoffen bilden können (Leland, 1997).

Kinsella (1990) gab an, dass Proteine verschiedene Bindungen mit Aldehyden und Ketonen aufgrund ihrer verschiedenen Größe, Struktur und Oberfläche eingehen. So zeigen Proteine eine große Kapazität, Aromastoffe zu binden. Dabei kommt es darauf an, welche Struktur ein Protein besitzt.

Molkenprotein ist im Gegensatz zum Casein ein einfaches Protein; es besteht aus β -Lactoglobulinen und α -Lactalbuminen. Casein besteht in der Hauptsache aus drei verschiedenen Fraktionen: α_s -Caseine, β -Caseine und χ -Caseine. Die Caseine liegen in der Milch nicht als Monomere vor, sondern aggregieren zu Caseinmizellen. Caseinmicellen sind nicht dicht gepackt, sondern stark solvatisiert (1,9 g H₂O/ g Protein) und damit porös. Daraus folgt, dass das Casein aufgrund seiner Struktur und Oberfläche

in der Lage ist, mehr Aromastoffe zu binden als Molkenproteine. Das ist besonders auffällig bei den Aldehyden und Ketonen, die mittels DHS gewonnen wurden (siehe Abbildung 33). Durch Zugabe von Caseinen nehmen Aldehyde und Ketone in ihrer Freisetzung ab. Die Retardierung ist bei den Aldehyden stärker als bei anderen Aromastoffen und sie ist von der Caseinmenge abhängig.

Dagegen kommt es bei Zugabe von Molkenproteinen zur verstärkten Freisetzung. Ausnahme ist Benzenacetaldehyd, das mit Molkenproteinen kovalente Bindungen bildet (Guichard und Langourieux, 2000). Die SHS-Ergebnisse dokumentieren eine Retardierung in der Freisetzung der Aldehyde und Ketone durch Casein und durch Molkenproteinzugabe.

Dabei ist die Aromafreisetzung abhängig von der Flüchtigkeit der Aromastoffe: je flüchtiger eine Verbindung ist, desto größer ist die Bindungsrate dieser Verbindung. Widder (1998) beobachtete dieses Phänomen, bei dem Aldehyde durch Wechselwirkungen der Carbonylgruppe mit den Aminogruppen der Proteine kovalente Bindungen ausbilden können.

Bei Zugabe von Casein fällt in den DHS-Ergebnissen, besonders bei den Pyrazinen (siehe Abbildung 34) auf, dass bei höheren Zugaben nicht wie erwartet die Freisetzung weiter abnimmt, sondern dass ab einer gewissen Menge an Casein die Aromafreisetzung wieder verstärkt zunimmt. Eine Erklärung ist, dass es bei höheren Proteinkonzentrationen zu Protein-Protein-Wechselwirkungen kommt, die die potentiellen Bindungsstellen für Aromastoffe blockieren. Dieses Phänomen beobachteten bereits Landy et al. (1995), als sie den Einfluss von Proteinen auf die Aromaretention in wässrigen Lösungen untersuchten.

Das gleiche Ergebnis hat sich durch Zugabe von rekombinierter Milch, die mit Casein angereicht wurde, gezeigt.

Mottram et al. (1996) fanden, dass es zu Wechselwirkungen von Cystin- und Cysteingruppen im Protein mit thiol- und disulfidhaltigen Aromastoffen kommt. Dadurch sind Schwefelwasserstoffbrückenbindungen und Disulfidbrückenbindungen möglich. Zu beobachten ist dieses Phänomen bei den DHS- (Abbildung 36) und SHS-Ergebnissen (Abbildung 44), wo die Freisetzung des Dimethyldisulfids stark beeinflusst ist.

Durch die Molkenproteinzugabe werden bei der SHS im Vergleich zu einem schwarzen Kaffeegetränk die meisten Aromastoffe retardiert. Bei Zugaben von Casein zum Kaffeegetränk ist ein geteiltes Bild erkennbar, da einige Aromastoffe verstärkt und andere vermindert freigesetzt werden.

Die Auswirkungen, wie sie sich bei den Zusätzen von Casein in den Modellzugaben

präsentiert haben, wurden auch bei der caseinangereicherten rekombinierten Milch erwartet. Hier zeigte sich jedoch ein anderes Bild. Im Vergleich der rekombinierten Milch mit einem normalen Caseingehalt (2,8 %) ist der Einfluss der rekombinierten Milch mit erhöhtem Caseingehalt auf die Freisetzung geringer. Am geringsten sind die leichtflüchtigen Aromastoffe retardiert. Das widerspricht im Wesentlichen der Literatur. Le Thanh et al. (1992) fanden, dass die Bindung einer Verbindung an ein Protein umso stärker ist, je leichtflüchtiger sie ist.

Da die Aromastoffe nicht nur mit Proteinen, sondern auch mit Lipiden in Wechselwirkung treten, ist eine eindeutige Zuordnung oder Gewichtung dieser Effekte nicht möglich, da der Milchfettgehalt der rekombinierten caseinangereicherten Milch 3,5 % betrug.

Der Einfluss von Fett auf die Retardierung von Aromakomponenten manifestiert sich durch polare bzw. hydrophobe Wechselwirkungen (de Roos, 1997). So werden lipophile (unpolare) Aromakomponenten in Fett oder fetthaltigen Produkten an die Fettmoleküle durch reversible Van-der-Waalskräfte gebunden (Plug und Haring, 1993). Viele der wichtigen Aromakomponenten sind hydrophob und lösen sich dadurch nur schlecht im Kaffeegetränk. Dadurch ist ihr Dampfdruck hoch und die Gleichgewichtsverteilung zwischen den Phasen verschiebt sich zu Gunsten der Luft. Bei Zusatz von Milchfett oder fetthaltigen Milchprodukten ist es den unpolaren Aromastoffen möglich, sich nicht nur zwischen Wasser- und Luft zu verteilen, sondern auch in die unpolare Fettphase zu diffundieren. Die Fettphase wirkt als starkes Lösungsmittel für die lipophilen Aromakomponenten (Leland, 1997). So werden die unpolaren flüchtigen Verbindungen bei Zugabe von Milchfett vermindert freigesetzt werden bzw. die Erhöhung der Fettkonzentration sollte eine Abnahme von lipophilen Aromastoffen in Headspace bewirken.

Dieser Effekt ist bei den CHARM-, aber insbesondere bei den MSD-Ergebnissen (Abbildung 37 bis Abbildung 40) nicht immer zu beobachten. Nach Zusatz geringer Mengen Milchfett zum Kaffeegetränk ist keine reduzierte Freisetzung der Aromastoffe zu erkennen. Im Gegenteil: es wurde insbesondere bei den leichtflüchtigen Aromakomponenten eine erhöhte Freisetzung festgestellt. Es könnte sein, dass die Fettmenge nicht ausreicht, um diese Aromastoffe zu lösen. Erst bei einer höheren Zugabe an Milchfett ist zu beobachten, dass die Aromafreisetzung vermindert wird.

Bei der rekombinierten Milch mit erhöhtem Fettgehalt (7 %) zeigt sich in den MSD-

Ergebnissen (Abbildung 45 bis Abbildung 48) im Vergleich mit dem „schwarzen Kaffee“ eine deutlich verminderte Aromafreisetzung bei nahezu allen Aromakomponenten. Dies entspricht dem Verhalten von unpolaren Aromakomponenten, die sich in der Fettphase lösen und somit vermindert freigesetzt werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen beim Zusatz von Milchfett werden die beiden Diketone 2,3-Butadion und 2,3-Pentadion vermindert freigesetzt.

Guyot (1996) berichtete, dass die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen mit Lebensmittelbestandteilen aufgrund der Komplexität schwierig ist. Insbesondere die Unterscheidung der Effekte von Proteinen und Fett ist nicht immer möglich. Auch die Wechselwirkungen des Caseins mit dem Milchfett, das in der homogenisierten Milch eine Fettkügelchenmembran bildet (Schlimme und Buchheim, 1995), in die Milchproteine zu einem geringen Teil eingelagert werden, spielen eine große Rolle beim Proteineinfluss auf das Kaffeearoma.

Im Vergleich zur DHS ist mit der SHS eine bessere Aussage über die Massenübergänge zwischen der Gasphase und den Kaffeegetränken zu treffen, da keine Aufkonzentrierung der Aromastoffe erfolgt.

Im Laufe des Projektes stellte sich heraus, dass durch die Aufkonzentrierung der Aromastoffe mit der DHS-Methode ein zu großer Einfluss auf die zu untersuchenden Aromastoffwechselwirkungen genommen wird, so dass zwischen den einzelnen, verschiedenen Zugaben keine eindeutigen Aussagen getroffen werden können. Fabre et al. (2002) sind bei einem Vergleich dieser beiden Headspace Methoden mit der SPME über den retardierenden Effekt von Proteinen zu dem Ergebnis gekommen, dass die gemessenen Unterschiede bei der DHS nicht signifikant sind. Dies wird ebenfalls auf die Nichteinstellung des Gleichgewichtes zurückgeführt, so dass ein retardierender Effekt von Proteinen nicht zum Tragen kommt.

Aus diesem Grund wurde im Allgemeinen bei der Vorstellung der Ergebnisse auf die Darstellung der DHS-Resultate verzichtet. Bei den Untersuchungen, die nur mit der DHS erfolgen konnten, wurden die Ergebnisse auch präsentiert.

5.3.2 Variation der Homogenisierung und der Erhitzung

Es ist oft berichtet worden, dass die Lipide als Lösungsmittel für lipophile Aromastoffe wirken. Die Lipide in den Nahrungsmitteln beeinflussen die Aromawahrnehmung durch Aromafreisetzung und strukturelle Änderungen. Eine Reduzierung der Fettmenge beeinflusst die Aromawahrnehmung und führt zu hohen Aromaverlusten während der Verarbeitung und Lagerung aufgrund zunehmender

Flüchtigkeit der Aromastoffe (Ross, 1997).

Der Verteilungskoeffizient zwischen dem Produkt und der Dampfphase beschreibt die Flüchtigkeit eines Aromastoffes. Je hydrophober der Aromastoff ist, umso höher ist der Verteilungskoeffizient. In Öl-in-Wasser-Emulsionen müssen die Aromakomponenten erst von der Fettphase in die wässrige Phase diffundieren, bevor sie aus der wässrigen in die Dampfphase freigesetzt werden können. Hydrophobe Aromakomponenten besitzen einen niedrigeren Dampfdruck im Öl und folglich eine höhere Geruchsschwelle als in den wässrigen Systemen (Haahr et al., 2000).

Die meisten Komponenten des Kaffeearomas sind hydrophob und lösen sich infolgedessen in dem Kaffeegetränk, das aus einer Wassermatrix besteht, schlecht. Dementsprechend ist ihr Dampfdruck relativ hoch und die Verteilung zwischen Wasser und Luft zugunsten der Luft verschoben. Wird dem Kaffeegetränk Milch zugesetzt, erfolgt gemäß dieser Theorie die Retardierung der Aromastoffe, bzw. sie lösen sich diese in der Fettphase.

Deswegen wurde angenommen, dass durch einen Vollmilchzusatz bzw. eine größere Fettmenge, die unpolaren Aromastoffe, wie Hexanal, Dimethyldisulfid, 1-Methyl-1H-pyrrol und Guajacol (2-Methoxyphenol), weniger freigesetzt werden als bei einem fettarmen Milchzusatz. Diese Hypothese konnte nicht bestätigt werden. Bei den Ergebnissen (s. 4.3.1, Abbildung 52) ist zu beobachten, dass die Aromastofffreisetzung eines milchhaltigen Kaffeegetränks im Vergleich zu einem „schwarzen Kaffeegetränk“ abnimmt, aber auch, dass die Retention der Aromastoffe durch den Vollmilchzusatz nicht so stark ist wie durch den Zusatz der doppelt homogenisierten fettarmen Milchproben. Die gleichen Wirkungen sind bei den OBS-Untersuchungen festgestellt worden (Denker, 2006). Die nachgewiesene Aromafreisetzung ist also nicht auf den Fettgehalt der Zusätze zurückzuführen, sondern vermutlich auf der Fettoberfläche.

Bei Vollmilch und einfach homogenisierter fettarmer Milch sind die Durchmesser der Fettkügelchen bis zu 2 µm groß, wobei die größeren Partikel der Vollmilch ein größeres Volumen einnehmen als die der fettarmen Milch. Durch die doppelte Homogenisierung der fettarmen Milch werden die Partikeldurchmesser der Fettkügelchen stark verkleinert (<1 µm). Dadurch wird die Fettoberfläche vergrößert und es ergibt sich somit eine größere Wechselwirkung zwischen den Aromastoffmolekülen und den Fettkügelchen.

Eine weitere Erklärung für die Ergebnisse ist, dass keine Verteilung der Aromastoffe in der Fettphase möglich ist, da die Fettkügelchenmembran undurchlässig ist. Die

retardierenden oder freisetzenden Eigenschaften beruhen in diesem Fall dann nur auf Wechselwirkungen mit Bestandteilen der Membran, vermutlich hauptsächlich mit den Proteinen durch reversible physikalische Adsorption (van-der Waals-Kräfte) oder irreversibel durch kovalente oder ionische Bindungen.

Durch die Zugaben von Variante 4, 5 und 6 zu einem Kaffeegetränk zeigte sich eine deutlich größere Retardierung in der Aromafreisetzung als durch die Zugabe von Vollmilch. Die Zugabe von Variante 3 hat einen ähnlichen Einfluss auf die Freisetzung wie Vollmilch, was sich auch in den Ergebnissen (s. Abbildung 49 bis Abbildung 52) widerspiegelt. Dies könnte im Zusammenhang mit einer analogen Partikelverteilung der Fettkügelchen stehen. Der Kurvenverlauf der Partikelverteilung von Variante 3 (Abbildung 14) ist im Vergleich zu Variante 4 und 5 (Abbildung 16) deutlich unterschiedlich. Variante 3 zeigt eine bimodale Partikelverteilung; es sind zwei deutliche Maxima zu erkennen. Beim zweiten Maximum handelt es sich eindeutig um Fettkügelchen, während der erste Peak wahrscheinlich eine Mischung aus Fettkügelchen und Eiweißpartikel (Caseinmicellen) darstellt (Hoffmann et al., 2004).

Aus der Partikelverteilung von Variante 6 (mit erhöhtem Caseingehalt) ist zu erkennen, dass mehrere kleinere Partikel (0,04 bis 0,2 μm) vorhanden sind. Es ist nach der oben beschriebenen Theorie eine geringere Aromastofffreisetzung zu erwarten. Dies ist nach den Ergebnissen nicht immer der Fall, da die Aromafreisetzung im Vergleich zu Variante 5 bei vielen Aromastoffen (Aldehyde u. Ketone, s. Abbildung 50, Furane s. Abbildung 51) größer ist. Eine mögliche Erklärung könnten Protein-Protein-Wechselwirkungen sein, wodurch die Bindungsstellen für die Aromastoffmoleküle blockiert werden. Dieses Phänomen wurde von Landy et al. (1995) in wässrigen Lösungen beobachtet, wobei dies auch von der chemischen Natur der Aromastoffe abhängt.

Gleiche Ergebnisse wurden auch bei den OBS-Untersuchungen und den sensorischen Untersuchungen festgestellt (Denker, 2006).

Der Einfluss der thermisch behandelten Milch auf die Freisetzung der Aromastoffe aus dem Kaffee ist schwer erklärbar. Es ist zu beobachten, dass die UHT-behandelte Milch in den Diagrammen (insbesondere bei den Pyrazinen) aus der Reihe fällt. Die „nur“ pasteurisierte Milch zeigt bei fast allen Substanzen den größten retardierenden Einfluss.

Insgesamt ist es bei diesen hitzebehandelten Milchprodukten schwer, einen

Zusammenhang bei der Freisetzung der Aromastoffe zu finden, da die Milchprodukte aufgrund der unterschiedlichen Reihenfolge der Behandlungsschritte nicht direkt miteinander vergleichbar sind (s.

Abbildung 18). Durch die einzelnen technologischen Verfahren laufen in der Milch unterschiedliche und vielfältige Prozesse ab und je nach dem zeitlichen Ablauf werden verschiedene Effekte erzielt. Gerade im Bereich der Milchfettmembran ergeben sich somit Unterschiede.

Wie bereits im Kapitel Allgemeiner Teil (s. 2.2.1) beschrieben, ist der Effekt der Hochdruckbehandlung von Milch auf die Micellengröße von der Temperatur und Dauer der Erhitzung abhängig. Bei langsamer Erhitzung der Milch bilden denaturierte Molkenproteine mit den Caseinmicellen kleinere Aggregate, die leistungsfähiger bei der Komplexbildung mit Caseinmicellen sind. Bei einer schnellen Erhitzung fangen alle Molkenproteine an, in kurzer Zeit zu denaturieren und sie bilden größere Aggregate. Lediglich die Hälfte der denaturierten Molkenproteine assoziieren mit Caseinmicellen, der Rest der Molkenproteine verbleibt im Milchserum und bildet Aggregate (Oldfield et al. 1998).

Bei der Homogenisierung wird die Gesamtoberfläche der Fettkugeln stark vergrößert und das Material der originären Fettkugelmembran reicht zur Bedeckung der neuen Fettkugeln nicht mehr aus. Da Caseinmicellen hydrophile und hydrophobe Bereiche aufweisen und daher gute Emulgatoreigenschaften besitzen, können sie unmittelbar nach dem Homogenisieren die bloßgelegten neuen Fettkugeln bedecken. Dabei lagern sich nicht nur vollständige Caseinmicellen an, sondern auch Micellenfragmente oder Submicellen. Das Auseinanderreißen der Micellen geschieht spontan beim Kontakt mit den bloßgelegten Fettkugeln und ist vermutlich keine Folge der Scherwirkung beim Homogenisieren. Erfolgt die Homogenisierung bei einer Milch, die auch beim Homogenisieren noch nicht über 65 °C erhitzt wurde, so lagern sich ausschließlich Caseinbestandteile an die Fettkugeln an.

Ab 65 bzw. 70 °C beginnen die Molkenproteine zu denaturieren. Sie sind im nativen Zustand globulär, kompakt strukturiert und entfalten sich bei der Denaturierung. Erst in denaturiertem Zustand kann eine Anlagerung an die Fettkugeln erfolgen. Ein Modell, bei dem sowohl Caseine als auch Molkenproteine Bestandteile der nach der Homogenisierung neu gebildeten Sekundärmembranen sind, zeigt Abbildung 57, während Abbildung 58 eine entsprechende Aufnahme mit dem Elektronenmikroskop wiedergibt. Wie die Abbildungen deutlich machen, haben Sekundärmembranen örtlich unterschiedliche Dicken, die von der zufälligen Adsorption der neuen Membranbestandteile abhängen.

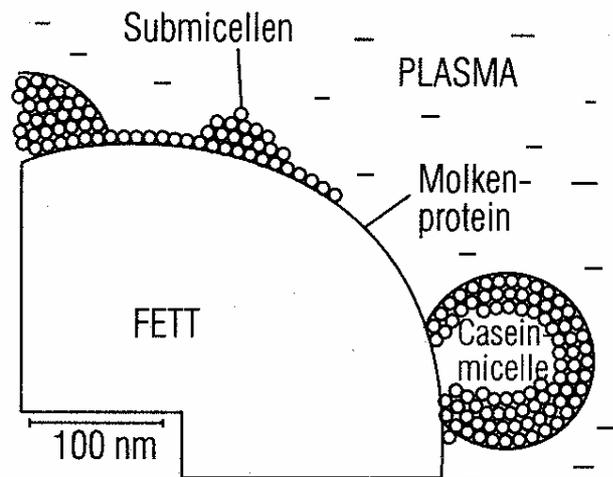


Abbildung 57: Schematische Darstellung der Sekundärmembran (Walstra und Jenness, 1984)

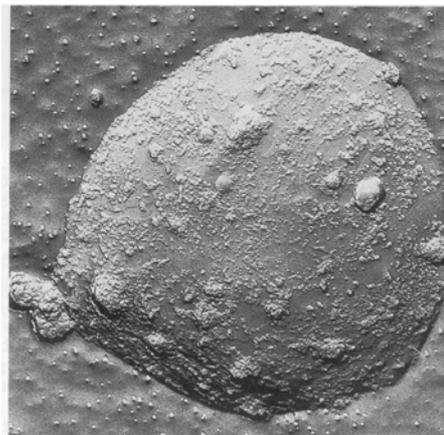


Abbildung 58: Oberfläche einer Fettkugel mit sekundärer Membran, elektronenmikroskopische Aufnahme (Buchheim, 1988)

Erfolgt die Wärmebehandlung nach der Homogenisierung (Fall 1: z.B. bei der ausschließlichen Pasteurisierung), so kann es an der Sekundärmembran zu einer Assoziation der denaturierten Molkenproteine mit dem Rest der Originärmembran oder mit den Caseinbestandteilen kommen (Dalgleish und Sharma, 1993). Insbesondere β -Lactoglobulin assoziiert mit der hydrophilen Komponente des Caseins, dem κ -Casein.

Erfolgt die Wärmebehandlung vor der Homogenisierung (Fall 2: z.B. bei der Pasteurisation und anschließenden Ultrahocherhitzung), so entstehen die Molkenprotein-

Casein-Komplexe schon im Milchserum, bevor es zur Bildung der Sekundärmembran kommt. Daraus lässt sich folgern, dass die Sekundärmembran in Fall 1 und Fall 2 nicht identisch ist. Ob sich das Verhältnis von Casein zu Molkenprotein an der Membran unterscheidet, wird in der Literatur kontrovers diskutiert und hängt sicherlich auch von den jeweiligen Verfahrensbedingungen ab (Sharma und Dalgleish, 1994; Lee und Sherbon, 2002).

Auch zur Frage, ob die Gesamtmenge der Proteinbeladung im einen oder anderen Fall höher ist, gibt es noch keinen Konsens (Oortwijn und Walstra, 1979; Sharma und Dalgleish, 1994). Bei den Partikelverteilungen der mit immer gleichem Druck (250/50 bar) homogenisierten, aber unterschiedlich wärmebehandelten fettarmen Milchproben (Abbildung 20), hatten sich keine deutlichen Unterschiede gezeigt. Dies kann aber nicht mehr als ein Hinweis auf jeweils ähnlich strukturierte und zusammengesetzte Fettkugelmembranen sein. Für tiefergehende Untersuchungen müssten die Fettkugeln oder das jeweilige Membranmaterial zunächst weitgehend isoliert werden. Dann könnten auch detaillierte Versuche zur Wechselwirkung mit Aromastoffen durchgeführt werden, die bisher noch nicht in der Literatur beschrieben wurden.

5.4 Sensorik

Um die Ergebnisse der instrumentellen Analytik zu unterstützen, bzw. diese auf eine für Verbraucher verständliche Stufe zu transferieren, wurden die Untersuchungen mit sensorischen Methoden erweitert.

Kaffee zeichnet sich als Naturprodukt durch ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Geruchs- und Geschmackseindrücke aus. Hierbei spielen die sensorischen Vorlieben der Konsumenten eine wesentliche Rolle. Im Gegensatz zu anderen Lebensmitteln sind beim Kaffee die Zusammenhänge zwischen Kaffeebehandlung und Aroma wesentlich komplexer. Neben den Rohstoffschwankungen haben die Einflüsse, die sich durch den Rostprozess und die Lagerung ergeben, eine große Rolle auf das Aroma.

Es wurden sensorische Untersuchungen zur Kaffeealterung (Holscher, 1991), zur Bestimmung der „Character Impact Compounds“ (Semmelroch und Grosch, 1995) oder zur Charakterisierung der Kaffeesorten durchgeführt. Um den Einfluss verschiedener Milchezsätze auf die Aromafreisetzung des Kaffeegetränks zu untersuchen, benutzten Bücking und Steinhart (2002) die Dreiecksprüfung kombiniert mit der Intensitätsprüfung.

Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurden unverdeckelte und verdeckelte

Becher verwendet. Es sind aber nur die Ergebnisse, die mittels unverdeckelter Becher erfasst wurden, dargestellt. Die Untersuchungen mit geschlossenen Gefäßen hat Denker (2006) in seiner Arbeit zusammengefasst. Die Ergebnisse der beiden Untersuchungen sind prinzipiell vergleichbar. Allerdings ist aus den Ergebnissen ersichtlich, dass die optische Wahrnehmung einen großen Einfluss auf die Milchdeskriptoren hatte. Nachdem das Kaffeegetränk von den Prüfern nur noch geruchlich und geschmacklich wahrgenommen wurde, indem die verschlossenen Gefäße verwendet wurden, ist der Bereich der Milchdeskriptoren in den Diagrammen nicht mehr ganz so stark ausgeprägt. Allerdings sind auch andere Einflüsse durch das geschlossene System denkbar, da sich hier im Kopfraum ein statisches Gleichgewicht einstellt und so der „erste“ Eindruck intensiver wahrgenommen werden kann als bei der dynamischen Variante im offenen System, welches aber eher dem normalen Kaffeeverzehr entspricht. Gleichwohl haben die im geschlossenen System erhaltenen Daten eine bessere Aussagekraft über die Aromaeinflüsse der einzelnen Milchzusätze, da der visuelle Faktor ausgeschlossen werden kann (Denker, 2006).

◦ Dreiecksprüfung

Die Aufgabenstellung an das Panel war hier, zwischen drei Proben die geruchlich und geschmacklich abweichende Probe zu ermitteln. Dies ist eine notwendige Voraussetzung für die Durchführung der Intensitätsprüfung.

Die Bevorzugung eines bestimmten Kaffeegetränkes und deren Begründung (erweiterte Dreiecksprüfung) dienen in dieser Arbeit nicht Zielen der Marktforschung, da die Anzahl der Prüfer eines „analytischen“ Panels für gesicherte Aussagen diesbezüglich nicht ausreichend ist. Dazu sind nur groß angelegte, repräsentative Verbraucherbefragungen geeignet, die aufgrund der relativ geringen Milchmengen, die von der BFEL zur Verfügung gestellt werden konnten, sowie der großen Anzahl an verschiedenen Proben im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnten. Diese Angaben dienen auch nicht der Zuordnung der Prüfer zu einer bestimmten Gruppe (Heidema und de Jong, 1998), sondern sollten vielmehr die Aussagen der Intensitätsprüfung bezüglich des Aromaprofils ergänzen.

◦ Intensitätsprüfung

Die Auswahl der Deskriptoren bei der Intensitätsprüfung erfolgte nach den Erfahrungen von Bücking (1999). Dessen umfangreiche Anzahl an Deskriptoren wurde innerhalb einer Schulung dem Panel vorgestellt. Dazu wurde ein schwarzes

Kaffeegetränk verkostet. Im Laufe dieser Schulung wurde die Anzahl der Deskriptoren reduziert, da einige für das Panel nicht eindeutig erkennbar waren.

Durch Verwendung einer diskreten Skala (Ordinalskala: 0 bis 5) anstelle einer Intervallskala (Abmessung in Zentimetern) kommt es zu relativ hohen Standardabweichungen. Zur Überprüfung des Panels wurde regelmäßig schwarzer Kaffee bei der Intensitätsprüfung mitverkostet. Anhand der statistischen Auswertung dieser Daten ließ sich ablesen, ob das Panel reproduzierbare Ergebnisse lieferte. Kleinere Änderungen in der Beurteilung des schwarzen Kaffeegetränkes mussten allerdings toleriert werden, da während der Dauer des Projektes verschiedene Kaffeechargen zur Verfügung standen. Jeder Mensch zeichnet sich durch eine unverwechselbare Anlage der Geschmacksrezeptoren aus. Diese interpersonellen Differenzen sind wiederum dafür verantwortlich, dass einunddasselbe Lebensmittel unterschiedlich wahrgenommen wird.

Beim Vergleich der Ergebnisse der Dreiecks- und der Intensitätsprüfungen ist es vorgekommen, dass bei den Dreiecksprüfungen signifikante Unterschiede festgestellt wurden, aber in den Profilen keine deutlichen Unterschiede erkennbar waren z.B. bei den Rekombinat-Untersuchungen (Denker, 2006).

5.4.1 Einfluss der Milchzusätze

5.4.1.1. Milchkomponenten

◦Casein und Molkenproteine

Bei den Einzelkomponentenuntersuchungen zeigten die Proteine auch in der Sensorik einen Einfluss auf die Aromastoffe. Wie bereits erklärt, ist dies auf die Protein-Aromastoff-Wechselwirkungen zurückzuführen. Im Bereich der Milchdeskriptoren hat Casein im Unterschied zu den Molkenproteinen einen deutlich größeren Einfluss. Für die höhere Bewertung beim Casein könnte der optische Einfluss auf die Wahrnehmung während der Verkostung, welcher vermutlich durch die „Weißkraft“ der einzelnen Komponenten verursacht wurde, verantwortlich sein.

Es ist zu beobachten, dass Molkenprotein bei höheren Zugaben einen Sättigungseffekt aufweist. Bei höheren Zugaben vermindern beide Proteine die „bittere“ Note im Geschmack. Casein hat aufgrund seines Pufferungsvermögens, welches auch durch pH-Wert-Messungen bestätigt wurde (siehe Tabelle 30), einen säurebindenden Einfluss im

Geschmack. Dieses Phänomen beobachteten auch Fischer und Widder (1997), als sie die Aromafreisetzung im Modellsystem aus wässrigen Caseinlösungen sensorisch und apparativ untersuchten.

◦ *Milchfett*

Erwartungsgemäß trug das Milchfett zum Milchkaffeearoma bei, da es zum einen als Aromaträger schon ein Eigenaroma besitzt und zum anderen als Lösungsmittel für hydrophobe Aromastoffe dienen kann (Leland, 1997). In Abbildung 26 ist zu beobachten, dass Milchfett am meisten den Geruch des Kaffeegetränkes beeinflusst. Die Deskriptoren „Kaffee“ und „rostig“ nehmen signifikant im Vergleich zu schwarzem Kaffeegetränk ab.

Hauptsächlich sind im Geruch und Geschmack die Milchdeskriptoren wie „Butter“, „sahnig“ und „milchig“ bei diesen Versuchen höher bewertet worden, was speziell auf eine textuelle Veränderungen im Kaffeegetränk zurückzuführen sein könnte.

Kaffeedeskriptoren rücken durch die Milchfettzugabe weiter in den Hintergrund, da insbesondere die unpolaren Aromastoffe, die für das typische Kaffee Aroma verantwortlich sind, an das Fett gebunden werden.

Die sensorisch erstellten Aromaprofile zeigen deutlicher als die GC/O-Aromaprofile den Einfluss der Zusätze. Das liegt daran, dass mit der Sensorik die Intensitätsdauer bewertet wird und am Sniffing-Port die Geruchsdauer. Nach Bücking (1999) besteht zwischen der Konzentration eines Aromastoffes und seiner sensorischen Wahrnehmung keine lineare Korrelation. D.h. bei einer signifikanten Intensitätsveränderung besteht die Möglichkeit einer nur unwesentlichen Änderung der Geruchsdauer, die sogar innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegen könnte.

5.4.1.2. Milchprodukte

Es wurden unterschiedliche Milchprodukte untersucht (siehe 4.1.1). So wurden Zusätze mit gleicher Technologie und verschiedener Zusammensetzung (fettarmer Milch und Vollmilch), sowie Zusätze gleicher Zusammensetzung und verschiedener Technologie (jeweils pasteurisiert, ultrahochoerhitzt und sterilisiert) miteinander verglichen. Die großen Zugabemengen von 150 g Vollmilch bzw. fettarmer Milch zu 150 g Kaffeegetränk liegen in Bereich der handelsüblichen Zugabe in diversen Milchkaffeespezialitäten (z.B. Cafe au Lait, etc.), wie sie in Coffee-Bars angeboten werden.

Wie erwartet haben Vollmilch und die fettarme Milch einen großen Einfluss auf den Geruch und den Geschmack gezeigt, wobei die beiden Produkte fast gleiche Wirkung auf das Aromaprofil zeigten.

Ein Einfluss der unterschiedlichen Technologien bei der Vollmilch und fettarmer Milch ist erkennbar, wobei sterile Milch im Vergleich zu pasteurisierter und UHT-Milch einen deutlichen Unterschied bei fast allen kaffeetypischen Deskriptoren zeigt.

Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich durch die thermische Belastung deutlichere Unterschiede in der Aromawahrnehmung ergeben. Es kommt zur Denaturierung der Milchproteine, wobei sich deren Struktur ändert, so dass unterschiedliche Bindungsstellen für die Aromastoffe zur Verfügung stehen (Kinsella, 1990). Außerdem kommt es zur Strukturänderung der sekundären Milchfettmembran, welche die Fettkugeloberfläche umschließt.

Erfolgt die Wärmebehandlung nach der Homogenisierung, so kann es an der Sekundärmembran zu einer Assoziation der denaturierten Molkenproteine mit dem Rest der Originärmembran oder mit den Caseinbestandteilen kommen (Dalgleish und Sharma, 1993). Insbesondere β -Lactoglobulin assoziiert mit der hydrophilen Komponente des Caseins, dem κ -Casein. (Die Bildung von Casein-Molkenprotein-Komplexen ermöglicht überhaupt erst das Herstellen einer flockungsfreien Milch nach Ultrahocherhitzung oder Sterilisierung.)

6. Zusammenfassung / Summary

Das Kaffee-Aroma wird bei Milch-Kaffee-Getränken nicht nur durch den Röstkaffee bestimmt, sondern entsteht im Zusammenspiel mit dem zugesetzten Milchprodukt. Seit 1993 ist ein Abwärtstrend beim Kaffeeverbrauch zu beobachten. Besonders ausgeprägt war in den letzten Jahren der Rückgang des Konsums traditioneller Kaffeeprodukte in der Gruppe der jüngeren Verbraucher. Andererseits wenden sich diese jüngeren Verbraucher schon seit Jahren mit großem Interesse neuen Kaffeeprodukten zu, die sich z. B. in USA bereits sehr großer Beliebtheit erfreuen. Hierzu gehören: Cappuccino, Café au lait, Latte Macchiato, Café Freddo und andere fantasievoll benannte Getränke, die in der Regel vor Ort frisch zubereitet werden, aber zum Teil auch als Instantmischprodukt erhältlich sind. Allen gemeinsam ist ein hoher Anteil unterschiedlicher Milchprodukte und eine eher dunkel geröstete Kaffeebasis zum Teil als Espresso zubereitet.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte der Einfluss der Zusammensetzung und der technologischen Bearbeitung der Milch auf die Aromawahrnehmung eingehender untersucht werden. Dazu wurden in einem ersten Schritt Auswirkungen der einzelnen Hauptinhaltsstoffe (Lactose, Casein, Molkenproteine, Milchfett) im Kaffeegetränk untersucht. Mit diesen milchkomponentenhaltigen Kaffees wurden sensorische und analytische Untersuchungen durchgeführt. Mit einem geschulten Sensorik-Panel wurden Dreiecksprüfungen durchgeführt und Aromaprofile mit Deskriptoren für den Geruch und den Geschmack erstellt. Für die analytischen Untersuchungen der ortonasal wahrnehmbaren Aromastoffe wurden verschiedene Headspace-Techniken (statische und dynamische Headspace). Die Analysen erfolgten mittels GC/MS und GC/FID nach Thermodesorption und Kryofokussierung. Es wurden anfänglich nur einige Tracer-Verbindungen und später mehrere Aromastoffe aus verschiedenen Substanzklassen (Pyrazine, Aldehyde/Ketone, Furane, etc.) ausgewertet.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass die Lactose nur einen sehr geringen Einfluss auf das Aroma hatte. Von den Molkenproteinen wurde der Geruch deutlicher beeinflusst; der Geschmack dagegen kaum. Milchfett und besonders Casein hatten einen erkennbaren Einfluss auf die milchige Aromanote im Kaffeegetränk. Sensorisch bewirkte Casein eine Abmilderung des sauren Geschmacks.

Apparativ zeigen alle untersuchten Milchkomponenten einen retardierenden Effekt. Beim Milchfett und beim Casein wurden allerdings auch verstärkte Freisetzungen von Aromastoffen beobachtet. Im Vergleich zur DHS ist mit der SHS eine bessere Aussage

über die Massenübergänge zwischen der Gasphase und den Kaffeegetränken zutreffen, da keine Aufkonzentrierung der Aromastoffe erfolgt.

Im zweiten Schritt wurde aus den Milchkomponenten ein vollständiges Milch-Rekombinat, welches in seiner Zusammensetzung einer Vollmilch entsprach, hergestellt. Es wurden auch casein- und milchfettangereicherte Rekombinate produziert. Im Kaffeegetränk konnte zwischen einer Handelsvollmilch und dem entsprechenden Rekombinat erst bei einer hohen Zugabemenge ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Auch hier war durch den Caseinzusatz eine Verminderung des sauren Geschmacks zu erkennen.

Es wurden verschiedene technologische Variationen bei der Milchproduktherstellung untersucht. Es wurden fettarme Milch - Varianten, die sich bezüglich ihrer Herstellung (Homogenisierung – einfache und doppelte Homogenisierung, Homogenisierdruck/Wärmebehandlung – einfache und doppelte Pasteurisierung) unterschieden, erzeugt. Durch die doppelte Homogenisierung der Milchproben wurde eine Fettkugeloberfläche erreicht, die in etwa einer der Vollmilch entsprach. Apparativ zeigte sich eine vergleichbare Aromastofffreisetzung bei einem Zusatz einer der doppelt homogenisierten fettarmen Milch mit der eines Vollmilch-Zusatzes. Die anderen Varianten zeigten demgegenüber im Vergleich zur Vollmilch bei der Mehrzahl der Aromastoffe signifikante Unterschiede in der Freisetzung.

Fettarme Milch wurde auch den drei typischen Wärmebehandlungen für Konsummilch (Pasteurisieren, Ultrahoherhitzen und Sterilisieren) unterworfen. Es zeigte sich eine klare Unterscheidung im Aroma der Kaffeegetränke mit den unterschiedlich erhitzten Milchprodukten, wobei kein klarer Trend zu erkennen war.

Insgesamt entsprachen die Ergebnisse nicht immer den Erwartungen, zeigten teilweise sogar ein sehr uneinheitliches Bild. Dies deutet darauf hin, dass im Verlaufe der technologischen Bearbeitung der Milch Vorgänge, vor allem an den Fettkugelmembranen, ablaufen, die in ihren Auswirkungen auf die Aromastoffe eines Milchkaffees noch nicht untersucht sind und im Rahmen dieses Projektes aufgrund der zeitlichen Begrenzung auch nicht untersucht werden konnten. Speziell die Veränderungen der Proteine an der Oberfläche der Fettkugeln scheinen eine größere Rolle zu spielen als bisher angenommen wurde. Für das Aroma eines Milchkaffees ist demnach nicht nur der Fettgehalt der Milch von Bedeutung, sondern die technologischen Parameter der Milchherstellung spielen eine mindestens ebenso große Rolle.

Summary

The coffee flavour of milky coffee beverages is determined not only by the coffee but develops an interplay with the added milk product. In the past, primarily condensed milk was preferred for this, but in the last years coffee cream and consumer's milk gained in market share. For the coffee specialities such as cappuccino or café au lait which are in increasing demand, the several consumer's milk products are used as additives. Younger consumers often decline the traditional coffee beverage but include the coffee specialities in their life style. These are mainly coffee beverages with a high percentage of milk because this results in a decrease of the bitter taste which is disapproved of by this consumer group. In order to lead this consumer group which represents the customer of the future to coffee consumption and to work against decreasing sales it is imperative to adapt the coffee beverage prepared in the household to the taste of these consumers.

The aim of this project was the determination of the relevant influencing factors for the flavour of milky coffee beverages. For this, the components and those parameters that are of importance in the industrial production and manufacturing, resp., of coffee and the milk products were to be varied. The effects of those variations were to be sensorically and analytically monitored by the changes in descriptors.

In a first step the main components of the milk (casein, whey protein, milk fat and lactose) were analysed. With these milk component containing coffees, sensory and chemical analyses were performed. A trained panel performed triangle tests and worked out aroma profiles with descriptors for taste and smell. For the analysis of the volatile flavour compounds, several headspace techniques were employed. On one hand the external static headspace (SHS) and external dynamic headspace (DHS). With all methods the adsorption of the volatile compounds was performed on TENAX TA®. Analysis took usually place by GC/MSD after thermodesorption and cryofocussing. At first only a few tracer compounds, later on several more flavour compounds representing different chemical classes (pyrazines, aldehydes/ketones, furans etc.) were computed. The results of these investigations showed the very small influence of lactose. Whey proteins have only a slight effect on the milk descriptors and the taste but the smell is considerably influenced by them. Casein and milk fat have a significant effect on the milky flavour note of the coffee beverage. Casein addition showed a decrease of the sour taste in the sensory analysis. With the instrumental analysis, all studied milk components showed a retarding effect. However, with milk fat and with casein some increase in the release of flavour compounds was observed.

In a second step complete milk recombinates representing a whole milk in its composition were prepared. Some recombinates were fortified with casein and milk fat. In the coffee beverage, a significant difference between retail whole milk and the corresponding recombine was only observable with a high amount of additive. Here also a decrease of the sour taste was observed with the addition of casein.

Finally, variations in milk processing (heat treatment and homogenisation) and its influence on the flavour perception of milky coffee beverages were studied. Differently processed low-fat milks (homogenisation – once and twice, homogenisation pressure/pasteurisation – once and twice) were produced. The double homogenisation of the low-fat milk with 1.5% fat resulted in an increase of the surface of the fat globules corresponding roughly to that of a whole milk with 3.5% fat. Triangle tests showed significant differences between the addition of the low-fat milk variants and the addition of whole milk. In the aroma profiles, no significant differences were observed (Denker, 2006). Apparative analysis showed a similar flavour release of one of the double homogenised low-fat milk and the whole milk. The other low-fat milk variants showed significant differences in the release for most of the flavour compounds in comparison to the whole milk. Low-fat milk was also exposed to the three typical thermal treatments (pasteurisation, UHT heating, sterilisation). A clear distinction in the flavour of the coffee beverages was observed with these milk products. Nevertheless, no trend was observable.

Altogether, the results did not always meet the expectations. Sometimes even a mixed picture showed itself. This points to processes taking place during the technological processing of the milk (especially at the membrane of the fat globules) that have not been investigated in their effect on the aroma compounds of a milky coffee yet. Due to time restrictions, a study in the framework of this project was also not possible. Especially the changes in the protein bound to the fat globules seem to have a greater effect than generally assumed. Therefore, for the flavour of a milky coffee not only the fat content of the milk is to be taken into consideration, the technological parameters of the milk processing are at least of the same importance. This study had the aim to illustrate the basic connections in the interaction of the main components as regards smell and taste. This has been achieved. With the results of this study, it has become possible for the industry to vary the flavour of milky coffee beverages not only by choosing suitable parameters for the roasting of the coffee beans or a suitable preparation process. On further investigations which will vary according to their aim it will be possible for the milk industry to produce milk products especially suited for the addition to certain coffees.

7. Anhang

7.1 Kaffee

Hersteller:	Firma Tchibo, Hamburg
Sorte:	<i>Coffea arabica</i> Kenia
Röstgrad:	70 Skt (dunkel)
Rösttemperatur:	266 °C
Einbrand	12,3 %
Lagerung:	in ca. 85 – 90 g Portionen unter Stickstoffbegasung in PE-Behältern luftdicht verpackt und bei -17°C bis zu Mahlung gelagert. Für die Dauer eines Messtages wurden die Bohnen ungemahlen in PE-Behälter verschlossen im Kühlschrank gelagert.

7.2 Herstellung der Milchkomponenten und Bearbeitung der Milch

7.2.1 Milchkomponenten

Micellares Casein

Casein liegt in der Milch weitgehend in Form runder Caseinmicellen kolloid-dispers verteilt vor. Diese Micellen haben originär einen Durchmesser zwischen 0,02 und 0,4 µm. Die Koagulation und Gelbildung des Caseins durch Lab oder Säure ist die Voraussetzung für die Herstellung von Käse bzw. Sauermilchprodukten. Es sollte eine Fraktion mit möglichst hohem Anteil an micellarem Casein (nativem Phosphocaseinat) hergestellt werden. Die Gewinnung erfolgte gemäß Sachdeva and Buchheim 1997 sowie anhand von Vorversuchen. Dazu wurde frische Rohmilch aus dem Versuchsgut der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (Standort Kiel) separiert und die Magermilch mit einer keramischen Membran der Porengröße 0,1 µm im Crossflow-Verfahren mikrofiltriert. Eine gleichmäßig niedrige transmembrane Druckdifferenz über das gesamte Modul, eine hohe Strömungsgeschwindigkeit, eine Temperatur von 50 °C und eine Volumenverringerng um den Faktor 4 führten zu einer Konzentrierung des micellaren Caseins im Retentat. Gleichzeitig konnte ein Teil der Molkenproteine, der anderen großen Milcheiweißfraktion, die Membran passieren. Durch nachfolgendes dreimaliges Waschen mit destilliertem Wasser (Diafiltration) wurde weiteres

Molkenprotein aus dem Retentat entfernt. Das diafiltrierte Retentat wurde anschließend gefriergetrocknet. Bei einem ersten Versuch mit einer Sprühtrocknung war die Ausbeute zu gering und thermische Effekte waren nicht auszuschließen. Das Verfahren ist in Abbildung 59 dargestellt.

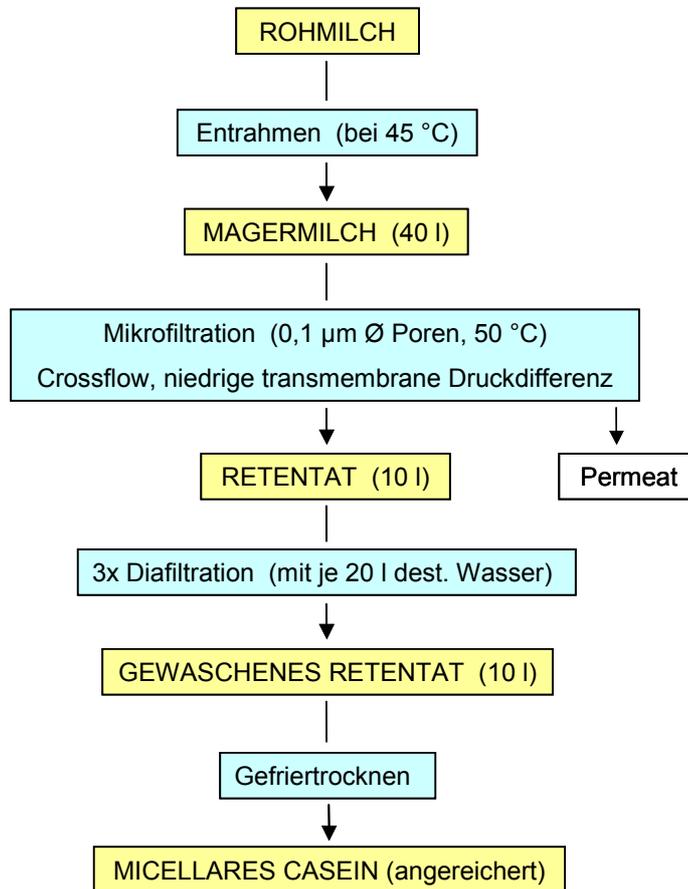


Abbildung 59: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an micellarem Casein (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Das hergestellte Pulver wies im Mittel eine Trockenmasse von ca. 98 % auf, wobei der Gesamteiweißgehalt ca. 88 % betrug. Das Verhältnis von Casein und Molkenprotein lag zwischen 94 zu 6 und 95 zu 5 %. Beim Aschegehalt ergaben sich etwa 8 %, beim Calcium 2,8 %. Die Calcium-Ergebnisse zeigen, dass das micellare Casein, das etwa 2/3 des gesamten Calciums in der Milch enthält, durch die dreimalige Diafiltration nicht aus den Caseinmicellen entfernt wurde. Es ist davon auszugehen, dass die Micellstruktur weitgehend unverändert geblieben ist.

Natives Molkenprotein

Zur Anreicherung von nativem Molkenprotein sind zwei Verfahren möglich, die beide eine Mikrofil

tration beinhalten. Im ersten Fall blieb durch die Verwendung von Lab aus der Caseinmicelle abgespaltenes hydrophiles Glycomakropeptid (GMP) im Molkenproteinkonzentrat. Bei diesem Verfahren (s. Abbildung 60) wurde die Rohmilch mit Lab versetzt und die gebildete Gallerte geschnitten. Nach anschließendem Rühren wurde die Süßmolke vom Bruch getrennt und zentrifugiert, um eventuell noch vorhandene Caseinpartikel und Fett zu entfernen. Die so geklärte Molke wurde dann bei 50 °C mit einer Membran der Trenngrenze 10 kD - wieder im Crossflow-Verfahren - ultrafiltriert. Das 13-fach aufkonzentrierte Retentat mit dem enthaltenen Molkenprotein wurde dreimal diafiltriert, um den Lactose- und Milchsalzgehalt zu reduzieren. Zum Abschluss wurde das Retentat gefriergetrocknet. Eine Sprühtrocknung hätte zu einer unerwünschten Teildenaturierung des thermisch labilen Molkenproteins geführt. Das gefriergetrocknete, nahezu wasserfreie Pulver enthielt über 90 % Molkenprotein. Trotz der Konzentrierung der Mikroorganismen im Retentat lag die Gesamtkeimzahl hier nur bei 20.000/ ml und betrug im Pulver nur 7.700/ g.

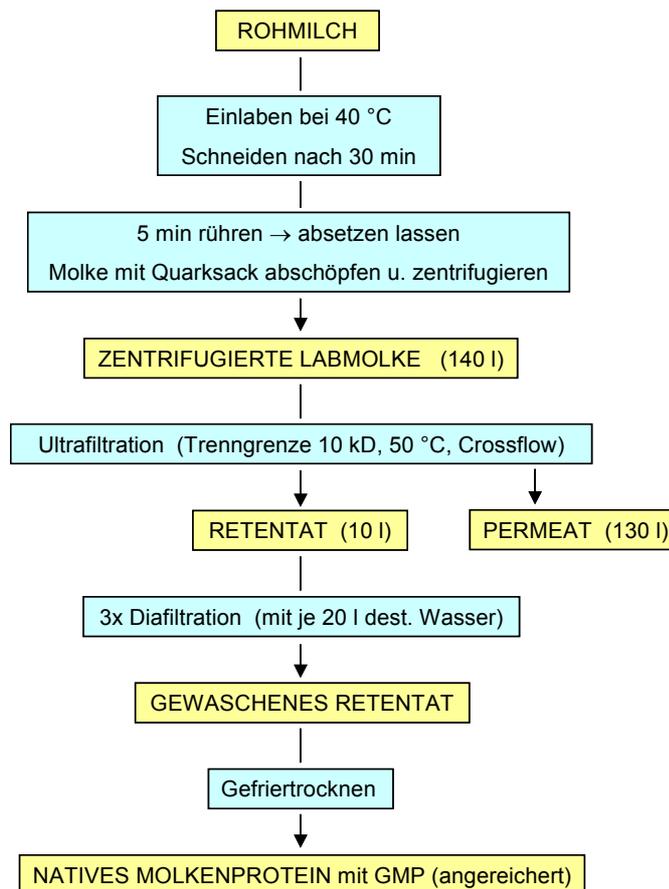


Abbildung 60: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an nativem Molkenprotein (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

Aus frischer Rohmilch zentrifugierte Magermilch war Ausgangsmaterial für

angereichertes natives Molkenprotein ohne Glycomakropeptid (s. Abbildung 61). Die Magermilch wurde wie bei der Caseinherstellung zunächst im Crossflowverfahren mit niedriger transmembraner Druckdifferenz mikrofiltriert (Porengröße 1 µm). Während das Casein nahezu vollständig im Retentat verblieb, konnte das kompakter strukturierte, überwiegend molekular-dispers verteilte Molkenprotein die Membran passieren. Das Permeat wurde dann durch Ultrafiltration (Trenngrenze 10 kD) aufkonzentriert, dreimal durch Diafiltration im Lactose- und Milchsalzgehalt reduziert (gewaschen) und anschließend gefriergetrocknet. Bei der Analyse der Pulver wurde eine mittlere Trockenmasse von ca. 98 % gefunden. Der Molkenproteinanteil betrug etwa 82 %, der Aschegehalt 3 % und der von Calcium 0,4 %. Wenn im Folgenden natives Molkenprotein erwähnt wird, ist ausschließlich Pulver gemeint, das nach dem in Abbildung 61 beschriebenen Verfahren hergestellt wurde.

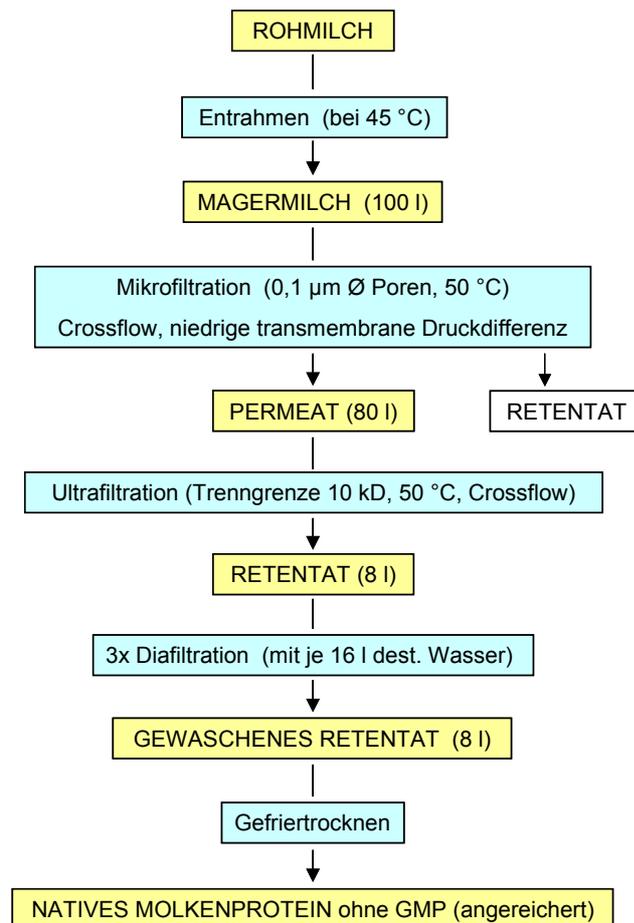


Abbildung 61: Herstellung von Pulver mit hohem Anteil an nativem Molkenprotein
(Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“;
Hoffmann, 2004)

Emulgiertes Milchfett

Neben den Eiweißfraktionen wurde auch emulgiertes Milchfett angereichert (s. Abbildung 62). Fett liegt in Rohmilch in Form membranumhüllter Tröpfchen mit Durchmessern meist zwischen 1 und 8 µm vor. Es wurde frisch zentrifugierter Rahm (Fettgehalt 40-45 %) dreimal mit UF-Permeat aus der Ultrafiltration (10 kD) von Magermilch gewaschen, um den Eiweißgehalt deutlich zu reduzieren. Nach dem Waschen erfolgte eine genaue Einstellung des Fettgehaltes mit dem UF-Permeat auf 35 bzw. 36,5 % sowie evtl. eine Zugabe von 0,02 % Carrageen zur Verzögerung der Aufrahmung. Anschließend erfolgte mit einer Ausnahme (Sterilisierung bei 121 °C im Rotationsautoklaven, Wärmebelastung: F₀-Wert 4,3 min) eine Hocherhitzung auf 88 °C im Wasserbad. Durch das Waschen wurde der Eiweißgehalt von etwa 2,3 auf ca. 0,3 % gesenkt.

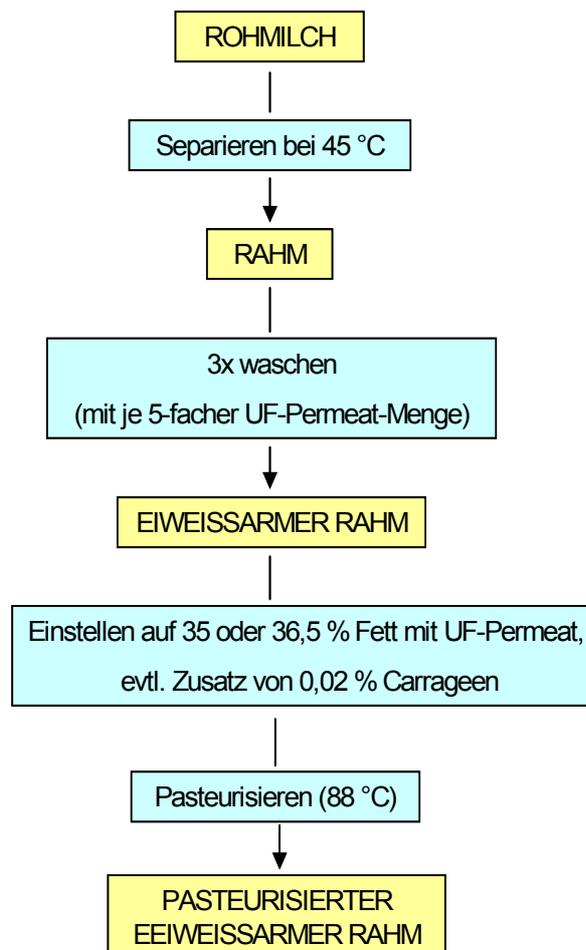


Abbildung 62: Herstellung von emulgiertem eiweißarmem Milchfett (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

7.2.2 Rekombinierte Milchprodukte

Zur Herstellung der „Rekombinate“ wurde zunächst eine synthetische Milchsatzlösung nach Jennes und Koop (1962) hergestellt (s. 3.1.2.3, Tabelle 15). In diese Lösung wurde bei 50 °C unter intensivem Rühren die berechnete Menge an caseinangereichertem Pulver und an molkenproteinangereichertem Pulver eingerührt. Außerdem wurde nicht-raffiniertes, leicht gelbliches Lactose-Pulver (edible grade, Fa. Biolac) zugegeben. Nach Rühren bis zur Lösung wurde der Ansatz für 16-20 h bei 5 °C gelagert, um eine vollständige Quellung der Caseinmicellen zu gewährleisten. Inzwischen wurde aus frischer Rohmilch gewaschener Rahm hergestellt und in berechneter Menge dem wieder für 2 h auf 50 °C angewärmten Ansatz zugefügt. Nach halbstündigem Rühren erfolgte eine Homogenisierung mit 200/50 bar bei 50 °C und eine Kurzzeiterhitzung bei 73 °C. Der Verfahrensweg für die Herstellung der rekombinierten Milchprodukte wird in Abbildung 63 wieder gegeben.

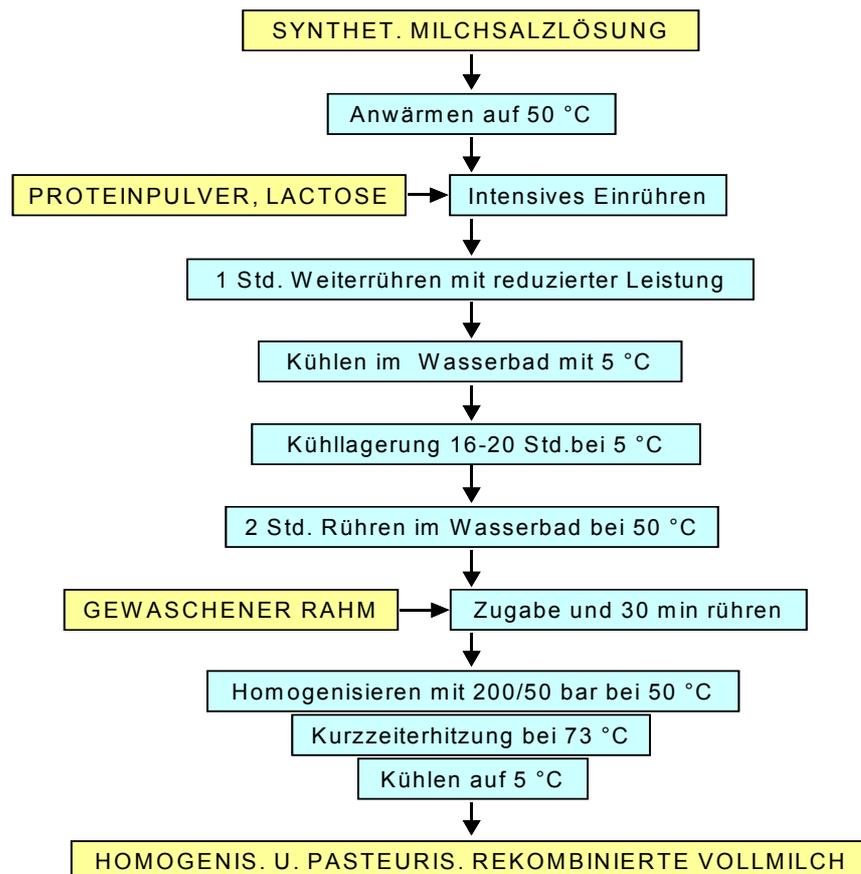


Abbildung 63: Herstellung von rekombinierter Vollmilch (Schema aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

7.2.3 Herstellung der doppelt homogenisierten Milchproben

Die volumen- und oberflächenbezogenen Mittelwerte $d_{4,3}$ und $d_{3,2}$ von vier Vollmilchproben sind in Tabelle 29 angegeben.

Tabelle 29: Volumen- u. oberflächenbezogene Mittelwerte der Fettkugelveilteilungen in Vollmilch

Vollmilch (3,5 % Fett) vom	$d_{4,3}$ (μm)	$d_{3,2}$ (μm)
24.06.2003	0,478	0,296
16.06.2003	0,474	0,294
19.05.2003	0,471	0,302
06.05.2003	0,459	0,291

Bei gleich behandelter fettarmer Milch resultierten die in Abbildung 64 dargestellten Ergebnisse, wobei die $d_{3,2}$ -Werte zwischen 0,188 und 0,212 μm lagen.

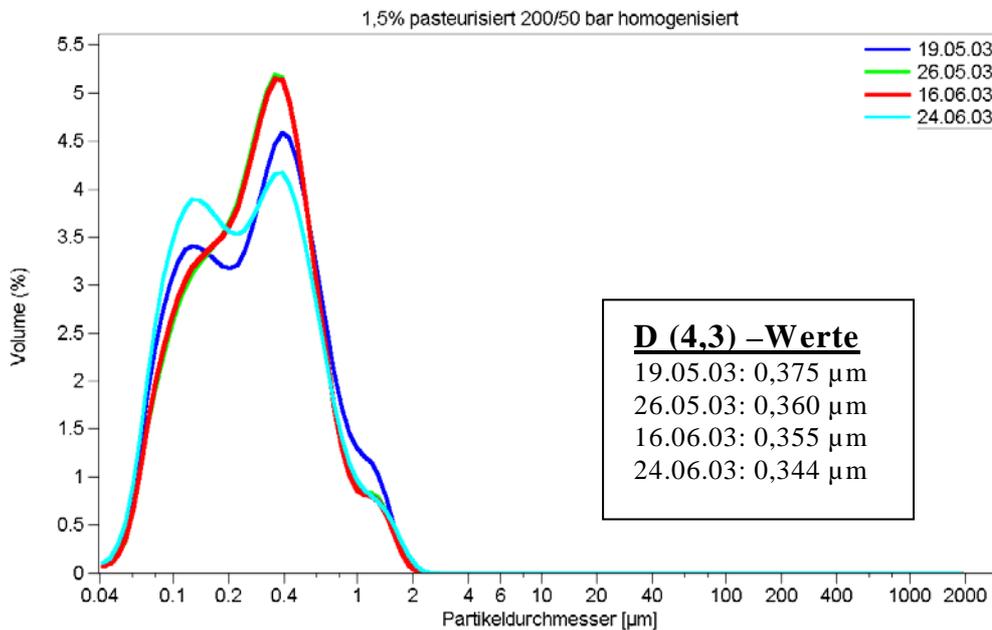


Abbildung 64: Partikelverteilung bei fettarmer homogenisierter und pasteurisierter Milch (aus: „Abschlußbericht zum FEI-Projekt AiF-FV 12970N“; Hoffmann, 2004)

7.3 Geräteparameter

Kaffeemühle

Gerät:	Elektro-Kaffeemühle
Hersteller:	Firma Stawert, Hamburg
Typ:	Mahlkönig
Kenndaten:	die Reproduzierbarkeit der Korngröße wurde bei der Firma Tchibo (Hamburg) überprüft, die Konstanz des Mahlgrades ist gewährleistet: Partikelgrößenanalyse mittels Trockendispergierer: 0,30 mm ($\pm 0,04$ mm)

Kaffeemaschine

Gerät:	Elektrische Kaffeemaschine zur Zubereitung des Kaffeegetränks
Hersteller:	Firma Tchibo
Typ:	Tchibo mat

Flowmeter

Gerät:	Digital Flowmeter
Hersteller:	Jour Research7 Resteck, Bad Soden
Flow Range:	0,1 bis 500 ccm/ min

Tenax-Röhrchen

Hersteller:	Supelco
Trägermaterial:	Tenax TA [®]
Körngröße:	Mesh 60/80
Lagerung:	nach Entnahme aus dem GC bis zur nächsten Messung unverschlossen im Trockenschrank bei 105 °C

GC-FID

Gerät:	GC Hewlett-Packard 5890 II, Waldbronn
Stationäre Phase:	DB 5 (Firma Hewlett-Packard, Waldbronn) Länge: 30 m, Innendurchmesser: 0,53 mm, Filmdicke: 1,5 µm
Trap:	DB 5 (Firma Hewlett-Packard, Waldbronn) Länge: 40 cm, Innendurchmesser: 0,53 mm, Filmdicke: 5 µm
Trägergas:	Helium, Vordruck 40 kPa
Make-up-Gas:	Helium, 30 mL/ min
Brenngase:	Wasserstoff, 30 mL/ min, Sauerstoff, 300 mL/ min
Split:	Split im Verhältnis 1:1 zum FID und zum SP zwischen dem Splitter und FID bzw. SP werden unbelegte Fused-Silica-Kapillaren (50 cm x 0,53 mm ID) verwendet.
Detektor:	FID, SP
Detektortemperatur:	300 °C
Injektor:	Purge und Trap-System CP 4001 (Firma Chrompack)
Temperatur der Trap während Precool und Desorption:	-130 °C
Desorptionsflow:	12 mL/ min
Desorptionszeit:	15 min
Temperatur des Desorptionsofens während Backflush:	250 °C
Dauer des Backflush:	25 min bei 40 mL/ min
Temperaturprogramm:	-5 °C für 1 min isotherm / 4 °C pro Minute auf 50 °C 6 °C pro Minute auf 120 °C/ 8 °C pro Minute auf 250 °C 250 °C für 2 Minuten isotherm
Auswerteeinheit:	PC mit HP Chem Station
Schreiber für CHARM:	W + W electronic Inc. (Chart-Speed: 10 cm/ min)

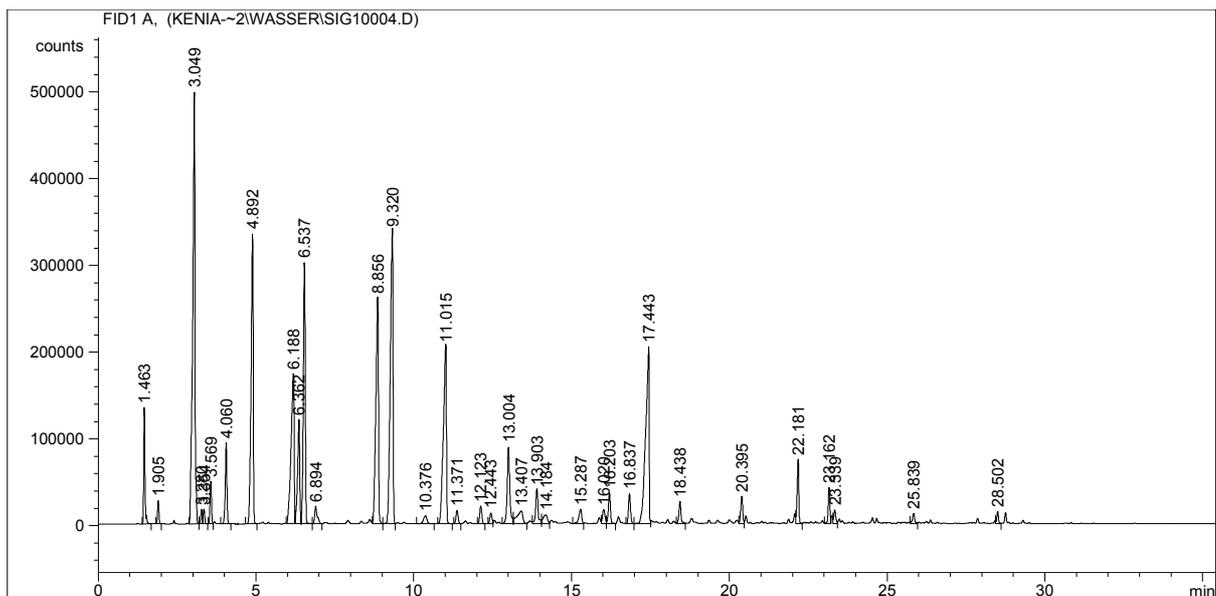


Abbildung 65: GC/FID-Chromatogramm des Kaffeegetränks mit 20 % Wasser (DHS)

GC-MSD

Gerät: GC Hewlett-Packard 5890 II, Waldbronn

Stationäre Phase: OV 1701 (Firma BGB, Adliswil, Schweiz)
 Länge: 60 m, Innendurchmesser: 0,25 mm, Filmdicke: 0,5 µm

Trärgas: Helium, 1 mL/ min

Injektor: Thermodesorptionssystem TDS 2 mit Kaltaufgabesystem KAS 3
 Incl. Stickstoffeinrichtung (beides Firma Gerstel, Mülheim a.d. Ruhr)

TDS 2-Parameter: Sample Mode: Sample Remove

Flow Mode: Splitless

Anfangstemp. 30 °C

Aufheizrate: 60 °C pro Minute auf 150 °C
 1 Minute isotherm
 40 °C pro Minute auf 300 °C

Endtemperatur: 300 °C für 3 Minuten isotherm

KAS 3-Parameter: Split Mode: splitless
 Splitless Time: 1 min
 Purge Time: 1 min
 Anfangstemp: -150 °C
 Aufheizrate: 12 °C/ sec

Endtemp.: 320 °C für 2 min isotherm
Controller: C 505 (Firma Gerstel)
Detektor: massenselektiver Detektor MS HP 5971 A (MSD)
Sniffing-Port (SP)
Detektortemp.: 280 °C
MSD-Aufzeichnungsmodus: Totalionenstrom
Mass range (m/ z): 40-225
Threshold: 150
Ionisierungsverfahren: Elektronenstoßionisation (EI)
Angelegte Potentialdifferenz: 70 eV
Temperaturprogramm: 40 °C für 3 min isotherm/ 5 °C pro Minute auf 220 °C
8 °C pro Minute auf 250 °C; 25 °C pro Minute auf 285 °C;
285 °C für 10 min isotherm

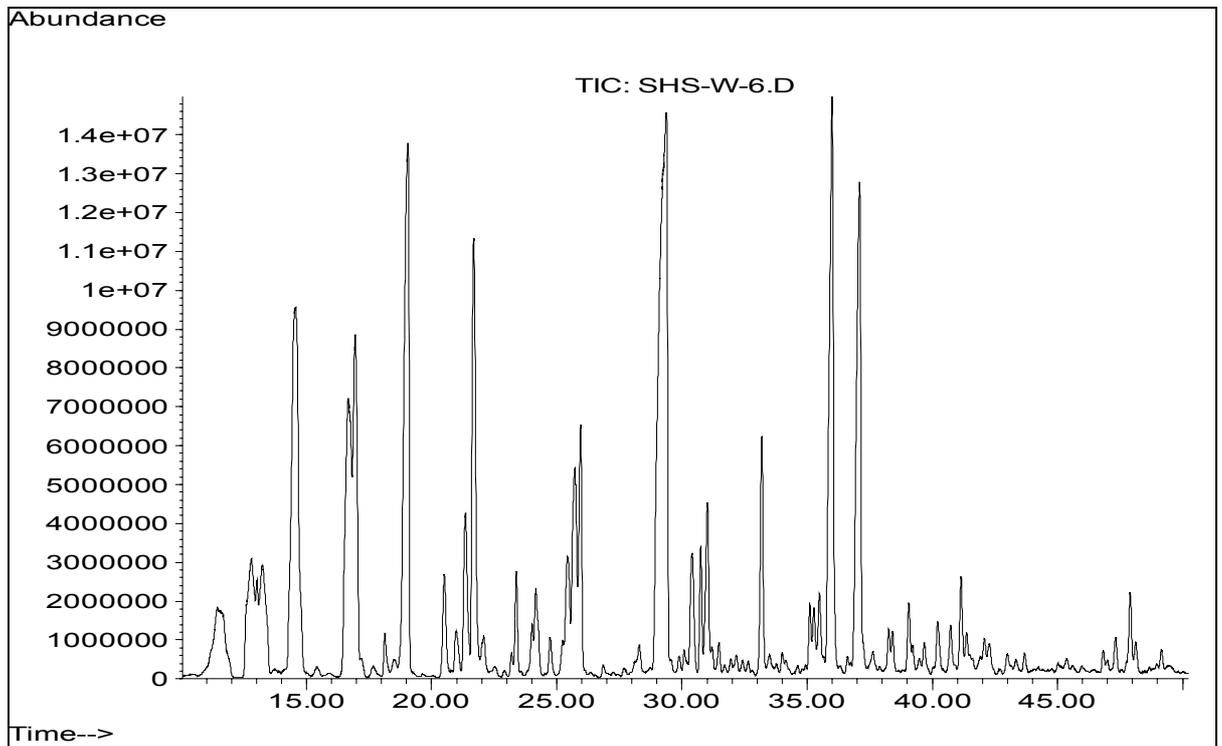


Abbildung 66: GC/MSD- Chromatogramm des Kaffeegetränks mit 20 % Wasser (SHS)

7.4 Arbeitsmethoden

7.4.1 Zubereitung des Kaffeegetränk

Die Kaffeebohnen werden in der Kaffeemühle bei Mahlgrad 3 gemahlen (s. 7.3) und sofort für die Herstellung des Kaffeegetränk verwendet. In einer Kaffeemaschine (s.7.3) wird das Kaffeegetränk folgendermaßen zubereitet:

- 42 g frisch gemahlenes Kaffeepulver
- 800 mL Leitungswasser
- Melitta-Filtertüte, Größe 4
- ca. 5 min Brühzeit

7.4.2 Durchführung der externen DHS

- Apparatur im Wasserbad auf 40 °C temperieren
- Stickstofffluss mit Flowmeter (siehe 7.3) auf 40 ± 1 mL pro min einstellen
- Kaffeebohnen mahlen (siehe 7.3)
- Kaffeegetränk aufbrühen (siehe 7.4.1)
- Entsprechenden Zusatz (10 g Wasser bzw. 30 g Milchprobe) in Apparatur geben
- Sofort nach beendeter Aufbrüfung entsprechende Menge Kaffeegetränk (50 bzw. 30 g) in Apparatur zugeben
- Insgesamt 30 min mit Stickstoff spülen, nach 15 min Flow überprüfen
- Tenax-Röhrchen entnehmen, verschließen und bis zur gaschromatographischen Trennung bei -17 °C aufbewahren

7.4.3 Durchführung der externen SHS

- Apparatur zusammensetzen
- Stickstofffluss mit Flowmeter (siehe 7.3) auf 100 mL pro min einstellen
- Kaffeebohnen mahlen (siehe 7.3)
- Kaffeegetränk aufbrühen (siehe 7.4.1)
- 220 bzw. 132 g Kaffeegetränk sofort nach dem Aufbrühen mit dem entsprechenden

Zusatz (44 g Wasser bzw. 132 g Wasser oder Milchprobe) in unteres Gefäß einwiegen

- Apparatur sofort verschließen und 15 min bei geschlossenen Hähnen equilibrieren
- Unteres Gefäß gegen ein leeres Gefäß tauschen
- Bei geöffneten Hähnen 30 min mit Stickstoff spülen, nach 15 min Flow überprüfen
- Tenax-Röhrchen entnehmen, verschließen und bis zur gaschromatographischen Trennung bei -17 °C aufbewahren Messergebnisse

7.5 Messergebnisse

7.5.1 Temperatur der Kaffegetränke

Bei den Temperaturmessungen wurde ein Zeitraum von bis zu 15 Minuten untersucht. Die sensorischen Prüfungen hatten eine Zeitdauer von ca. 10 Minuten.

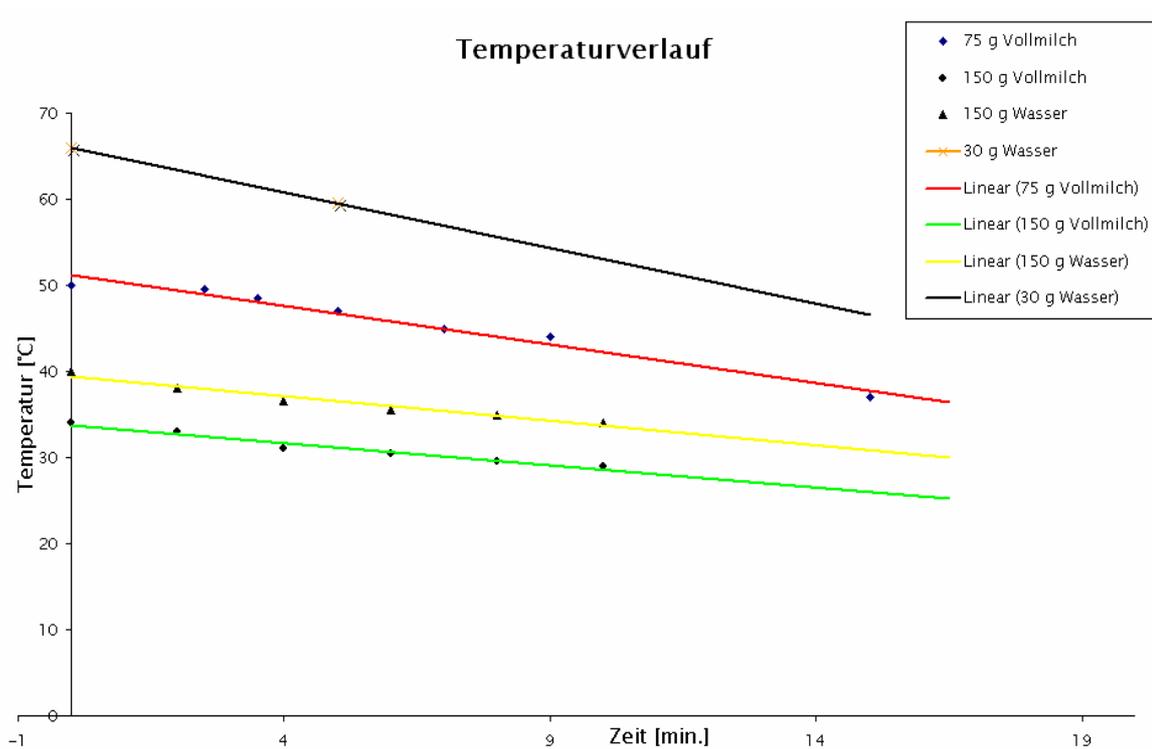


Abbildung 67: Temperaturverläufe bei Kaffegetränken mit Zusatz von 50 %, 100 % Vollmilch und 100 % Wasser

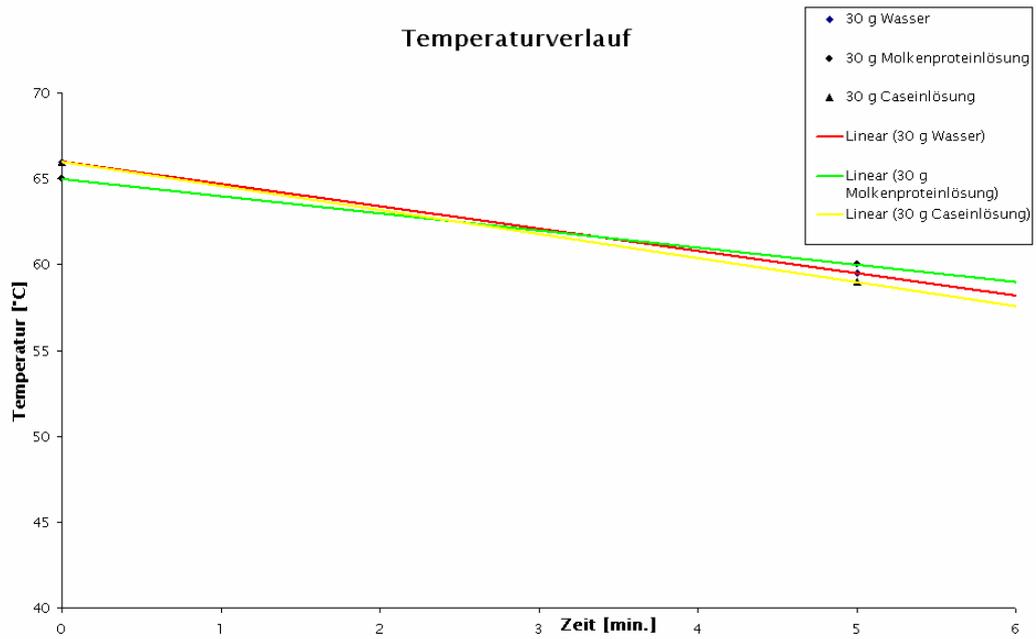


Abbildung 68: Temperaturverläufe bei Zugaben von je 30 g Wasser, Molkenprotein- (0,6 g in 30 g) und Caseinlösung (2,7g in 30 g)

7.5.2 pH-Werte der Kaffeegetränke

Tabelle 30: pH- Messung im Kaffeegetränk unter Zugabe von Molkenprotein und Casein

Kaffeegetränk mit Zusatz:	pH-Werte	
	nach 5 min.	nach 15 min.
Wasser	4,75	4,83
0,8 g Casein	5,30	5,40
4,0 g Casein	5,90	5,98
0,2 g Molkenprotein	4,91	4,99
1,5 g Molkenprotein	5,10	5,12
0,8 g Casein; 0,2 g Molkenprotein	5,25	5,33

7.5.3 Identifizierung der Aromastoffe im Kaffeegetränk

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgte mit verschiedenen gaschromatographischen Methoden, die in Kapitel 3 dargestellt wurden. Tabelle 31 stellt das an einer DB 5-Säule erstellte und Tabelle 32 das an einer OV 1701-Säule erstellte Geruchsprotokoll dar. Die Untersuchungen an der DB 5-Säule erfolgten mittels GC-FID/O, die an der OV 1701-Säule mittels GC-MSD/O. Die Identifizierung der Verbindungen an der DB 5-Säule erfolgte über GC-Olfaktometrie, Berechnung der Retentionsindices und Vergleich der Retentionsindices mit Literaturdaten; die Identifizierung der Verbindungen an der OV 1701-Säule erfolgte auch über die Spektrenbibliothek Wiley 138 und Vergleichsspektren von Standardsubstanzen. Eine Identifizierung an der DB 5-Säulen erfolgte bereits bei Bücking (1999).

Die apparativen Geruchsuntersuchungen wurden auf wenige Komponenten beschränkt, um die Datenfülle zu reduzieren. Es wurden daher entsprechende Komponenten (in den folgenden Tabellen grau hinterlegt) ausgewählt, die einen Geruchseindruck und/oder eine Substanzklasse repräsentieren und somit als Leitsubstanzen (Tracer) dienen.

Tabelle 31: Geruchseindrücke und identifizierte Verbindungen an einer DB 5-Säule

Nr.	Rt DB 5	Geruchseindruck	RI DB 5	RI DB 5 Lit. ¹⁾ ²⁾	Substanz
	1.30	alkoholisch, Ether			
	1.46	stinkig, Kohl			
	3.02	fruchtig, alkoholisch			
	3.25	Schoko, Apfel			
	3.30	Kohl			
	5.03	Schoko			
1	5.59	Butter, Karamell	566	592¹⁾	2,3-Butandion
	7.30	Knoblauch			
2	8.38	gärig, Apfel, stechend	641	652¹⁾	3-Methylbutanal
3	9.01	gärig, Apfel, stechend	655	663¹⁾	2-Methylbutanal
	10.42	Kartoffel			
4	10.47	Butter, Karamell	708	696¹⁾	2,3-Pentandion
5	12.55	Schwefel, Kohl	746	741¹⁾	Dimethyldisulfid
	14.47	Plastik			
	14.59	fruchtig			
6	15.28	etherisch, Nagellackentf	792	896²⁾	2-Hexanon
	15.52	Gras			
	16.49	Kartoffel			

Nr.	Rt DB 5	Geruchseindruck	RI DB 5	RI DB 5 Lit. ¹⁾ ²⁾	Substanz
	17.42	medizinisch, stechend			
	17.45	schweißig			
	18.23	pilzig, erdig			
	18.40	Fruchtbombon			
7	19.54	gärrig, stinkig	896	899¹⁾	(Z)-4-Heptenal
8	20.11	Kartoffel	904	905¹⁾	Methional
9	20.17	Kaffee, röstig	907	911¹⁾	2-Furfurylthiol
	21.20	süßlich, fruchtig			
	22.30	Gas, stechend			
	22.40	Pilz			
	23.00	Nagellackentferner			
	24.02	Plastik			
10	24.39	Honig, Blumen	1046	1047¹⁾	Phenylacetaldehyd
	25.20	grün, blumig			
	25.35	gebrannte Mandeln			
	24.40	Pilz			
11	25.49	erdig, röstig	1086	1083¹⁾	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin
12	25.58	phenolisch, Nelke	1091	1089¹⁾	Guajacol
13	26.07	Erbse	1096	1096¹⁾	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin
14	27.27	Gurke, fettig	1147	1161¹⁾	(E)-2-Nonenal
	27.31	Mandel (angebrannt)			
15	27.43	Bohne, Paprika	1157	1184¹⁾	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin
	29.40	Kaffee			
	30.50	blumig			
	32.20	Nüsse			
	32.25	blumig			
	33.20	Kompott			
	33.27	süßlich, fruchtig			
	34.59	Kaffee			

¹⁾ (Rychlik, Schieberle et al. 1998), ²⁾ (Acree and Arn 1997)

Tabelle 32: Geruchseindrücke an einer OV 1701-Säule

Nr	Rt OV 1701	Geruchseindruck	RI OV 1701	RI OV 1701 Lit. ¹⁾	Substanz
	2.36	süßlich			
	4.24	stinkig, verbrannt			
	6.02	süßlich			
	8.25	süß			
	8.45	gärig			
	8.62	gärig, süß			
	10.01	stinkig, Kohl			
	10.34	alkoholisch, süß			
	10.59	Gummi, süß, gärig			
	11.82	Schoko, Apfel			
	11.92	Apfel			
	12.60	süß			
1	13.28	Butter, Karamell	683	692¹⁾	2,3-Butandion
	13.82	Schoko			
	15.01	Gummi, süß, gärig			
2	15.40	gärig, Apfel, stechend	741	730¹⁾	3-Methylbutanal
3	15.58	gärig, Apfel, stechend	745	7441)	2-Methylbutanal
4	17.42	Butter, Karamell	792	7881)	2,3-Pentadion
5	18.59	Schwefel, Kohl	821	7941)	Dimethyldisulfid
	20.24	Plastik			
	20.75	verbranntes Plastik			
	21.78	Gras, grün			
6	22.48	Nagellackentferner	915	8713)	2-Hexanon
	25.94	Gas			
7	26.16	gärig, stinkig	1006	9851)	(Z)-4-Heptenal
8	26.67	Kaffee, röstig	1019	9911)	2-Furfurylthiol
	27.49	verbrannt			
9	28.16	Kartoffel	1058	10391)	Methional
	28.60	süße Mandeln			
	28.90	pilzig, erdig			
	29.11	Pilz, Champignon			
	29.73	süß, fruchtig			
	30.22	fruchtig			
	30.39	verbranntes Gummi			
	31.17	süß, fuchtig			
10	32.07	erdig, röstig	1165	1151¹⁾	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin
11	32.27	Erbse, grün	1170	1143¹⁾	2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin
12	33.66	Honig, Blumen	1210	1175¹⁾	Phenylacetaldehyd
13	34.72	phenolisch, Nelke	1242	1224¹⁾	Guajacol
	35.31	gekochte Bohne			

Nr	Rt OV 1701	Geruchseindruck	RI OV 1701	RI OV 1701 Lit. ¹⁾	Substanz
	35.45	frische Bohne			
14	36.06	Bohne, Paprika	1282	1237¹⁾	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin
	36.66	gebrannte Mandeln			
15	36.74	Gurke, fettig	1303	1273¹⁾	(E)-2-Nonenal
	37.63	süßlich			
	38.01	Plastik			
	38.30	Pilz			
	39.05	Kaffee, verbrannt			
	39.66	fettig			
	39.84	süßlich, fruchtig			

Tabelle 33: Übersicht der Leitsubstanzen mit charakteristischen Massenfragmenten

Leitsubstanz	Rt [min]	Target-Ionen [m/z (%)]
2,3-Butandion	13.3	43 (100) / 86 (25)
3-Methylbutanal	15.4	44 (100) / 41 (100) / 58 (50)
2-Methylbutanal	15.6	41 (100) / 57 (80) / 58 (75)
2,3-Pentandion	17.4	43 (100) / 57 (50) / 100 (30)
Dimethyldisulfid	18.6	94 (100) / 79 (70) / 45 (70) / 96 (10)
2-Hexanon	22.5	43 (100) / 58 (49) / 57 (15)
(Z)-4-Heptenal	26.2	41 (100) / 68 (100) / 55 (85) / 84 (74)
2-Furfurylthiol	26.7	81 (100) / 53 (70) / 114 (30) / 45 (10)
Methional	28.2	48 (100) / 104 (50) / 76 (30)
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	32.1	137 (100) / 152 (35) / 124 (25) / 95 (5)
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	32.3	135 (100) / 136 (85) / 108 (10) / 107 (5)
Phenylacetaldehyd	33.7	91 (100) / 92 (30) / 65 (30) / 120 (30)
Guajacol	34.7	109 (100) / 124 (90) / 81 (80) / 53 (25)
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	36.1	124 (100) / 151 (20) / 94 (20) / 93 (5) / 95 (5)
(E)-2-Nonenal	36.7	43 (100) / 55 (89) / 70 (86) / 84 (35)

7.5.4 Berechnung des Retentionsindizes

Der Retentionsindex (RI) berechnet sich nach dem Retentionsindexsystem (Van den Dool and Kratz 1963) wie folgt:

$$RI = 100 \cdot n + 100 \cdot \frac{t(\text{Analyt}) - t(n - \text{Alkan})}{t(n - \text{Alkan} + 1) - t(n - \text{Alkan})}$$

n Anzahl der C-Atome des letzten n-Alkans vor der unbekanntes Substanz

t(Analyt) Retentionszeit der interessierenden Substanz

t(n-Alkan) Retentionszeit des letzten n-Alkans vor der entsprechenden Substanz

t(n-Alkan + 1) Retentionszeit des nächsten n-Alkans nach der entsprechenden Substanz

Der verwendete n-Alkanstandard enthielt die Alkane Pentan (C 5) bis Octadecan (C18). Die für die Berechnung benötigten Retentionszeiten der n-Alkane sind in Tabelle 34 aufgeführt.

Tabelle 34: Retentionszeiten der n-Alkane

Alkan	Retentionszeit [min]
C 5	9,7
C 6	11,9
C 7	15,3
C 8	19,4
C 9	25,08
C 10	30,6
C 11	36,3
C 12	41,7
C 13	47,0
C 14	51,9
C 15	56,1
C 16	59,8
C 17	63,4
C 18	67,6

7.5.5 Messergebnisse Sensorik

Tabelle 35: Intensität Geruch und Geschmack (Intensitätsskala 0-5)

Deskriptor		KG*	Casein			Molkenproteine			Milchfett			fettarme Milch			Vollmilch		
			0,20 g	0,80 g	2,70g	0,25 g	0,60 g	1,50 g	0,50 g	1,00 g	2,00 g	P*	UHT*	S*	P*	UHT*	S*
													150 g	150 g	150 g	150 g	150 g
Geruch	Butter	0,4	1,5	1,4	1,8	0,9	1,1	1,0	1,5	1,8	2,3	1,8	1,5	1,5	2,2	1,7	2,1
	milchig	0,3	1,5	1,9	2,6	1,4	1,2	1,7	2,2	2,1	2,4	3,1	2,7	2,7	3,5	3,4	3,5
	sahnig	0,1	1,5	1,4	2,4	1,3	0,9	1,4	1,9	2,1	2,5	2,8	2,3	2,1	2,8	2,9	2,9
	säuerlich	1,9	1,2	0,9	0,6	1,4	1,0	1,1	0,9	1,4	0,9	0,7	0,6	1,1	1,1	0,7	0,9
	Karamell	0,8	1,6	1,9	1,5	1,1	1,4	1,3	1,1	1,2	1,7	1,7	1,6	1,7	1,9	2,1	2,3
	aromatisch	3,2	2,5	2,9	2,4	2,6	2,4	2,1	2,3	2,3	2,4	2,0	2,3	2,7	2,1	2,0	2,7
	röstig	3,3	1,5	1,6	1,7	1,8	2,2	1,8	1,6	1,8	1,7	0,8	2,0	2,0	1,2	1,1	1,8
	Kaffee	3,8	3,1	2,6	2,6	3,2	2,9	2,3	2,4	2,6	2,4	1,7	2,3	2,9	2,0	1,9	2,5
Geschmack	Kaffee	3,6	3,0	2,8	2,9	3,3	3,2	2,7	3,0	2,8	3,1	1,8	2,1	2,9	1,9	1,9	2,3
	röstig	3,3	2,8	2,1	2,1	2,7	2,6	2,7	2,4	2,4	2,8	1,4	1,5	2,4	0,9	1,6	1,9
	bitter	3,7	3,5	3,0	2,6	3,6	3,2	2,6	3,1	3,2	3,1	1,1	1,9	2,5	1,3	1,6	2,2
	verbrannt	2,8	2,9	1,4	1,4	2,0	2,1	2,4	2,2	2,1	2,2	0,8	0,9	1,9	0,6	0,9	1,3
	säuerlich	3,0	2,7	2,0	1,1	3,4	2,4	2,0	2,3	2,8	2,6	0,8	1,0	1,1	0,6	1,0	1,0
	sahnig	0,0	0,6	1,1	2,0	0,6	0,8	1,3	1,4	1,3	2,0	2,9	3,0	2,2	3,3	3,2	3,0
	milchig	0,1	1,1	1,8	2,9	1,4	1,4	1,7	1,7	1,8	2,0	3,8	3,6	3,5	4,1	3,7	3,8
	Butter	0,3	0,9	0,9	1,4	0,6	1,1	1,1	1,2	1,6	1,9	2,0	1,7	1,4	2,2	2,2	2,1

KG – Kaffeegetränk; P – pasteurisiert; UHT – ultrahoherhitzt; S - sterilisiert

7.5.6 Messergebnisse CHARM

Tabelle 36: Auswertung: DHS - GC/FID - O (CHARM): Länge der Deskriptoren in cm

Substanz	KG*	Casein			Molkenproteine			Milchfett		
		0,8 g	2,7 g	4,0 g	0,25 g	0,60 g	1,50 g	0,2 g	1,0 g	2,0 g
2,3-Butadion	1,56	1,58	1,43	1,07	1,70	1,23	1,52	1,48	1,63	1,55
3-Methylbutanal	1,45	1,38	1,00	1,17	1,02	1,00	1,23	1,25	1,30	1,13
2-Methylbutanal	1,03	1,15	1,20	1,85	1,10	1,00	1,13	1,37	1,33	1,38
2,3-Pentadion	1,65	1,50	1,45	1,20	1,52	1,60	1,53	1,66	1,60	1,78
DMDS	0,53	0,47	0,73	0,80	0,75	0,60	0,58	0,60	0,70	0,50
Methional	1,33	1,20	1,18	1,17	1,20	1,23	1,24	1,21	1,33	1,38
Furfurylthiol	0,97	1,17	1,20	1,23	1,08	1,13	1,18	1,07	1,10	1,06
Phenylacetaldehyd	1,20	1,03	1,30	1,05	1,20	1,50	1,18	1,34	1,53	1,10
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,90	0,87	0,95	0,80	0,85	0,70	0,93	0,75	0,97	0,69
Guajacol	1,25	0,95	0,98	0,90	1,28	0,97	1,06	1,22	0,90	1,07
2-IP-3-methoxypyrazin	0,90	1,07	1,25	1,15	1,10	0,95	0,98	1,07	1,21	0,90
t-2-Nonenal	1,04	1,15	0,83	1,15	0,82	1,17	1,01		1,35	1,00
2-IB-3-methoxypyrazin	1,25	1,50	1,20	1,80	1,38	1,47	1,32	1,60	1,27	1,45

*KG - Kaffeegetränk

7.5.7 Messergebnisse DHS

Tabelle 37: Auswertung: Modeluntersuchungen (GC/MS Peakflächen - Mittelwerte)

Substanz	Casein			Molkenproteine			Milchfett		
	0,2 g	0,8 g	2,7 g	0,25 g	0,6 g	1,5 g	1,0 g	2,0 g	4,0 g
2-Propanon	11%	6%	3%	3%	-10%	10%	9%	8%	3%
2-Methylpropanal	-16%	-21%	-34%	15%	21%	17%	23%	19%	-12%
2-Methylfuran	-22%	-4%	-30%	39%	65%	52%	64%	55%	47%
2,3-Butandion	-4%	-5%	-9%	7%	8%	4%	5%	4%	3%
3-Methylbutanal	-12%	-26%	-30%	30%	21%	42%	48%	34%	21%
2-Methylbutanal	-8%	-11%	-19%	32%	34%	34%	40%	35%	27%
2,5-Dimethylfuran	-7%	-8%	-31%	20%	119%	75%	116%	60%	39%
2,3-Pentadion	-14%	-17%	-13%	15%	4%	21%	27%	19%	15%
Dimethyldisulfid	-4%	-58%	-68%	-38%	14%	-18%	22%	-12%	-44%
Pyrazin	17%	9%	0%	47%	-12%	34%	40%	31%	10%
1-Methyl-1H-pyrrol	-11%	-24%	-33%	18%	37%	30%	47%	25%	2%
Pyridin	26%	64%	61%	54%	-6%	66%	63%	43%	65%
Hexanal	-23%	-38%	-42%	-11%	10%	23%	77%	77%	68%
Methylpyrazin	16%	-3%	39%	50%	-11%	63%	33%	-13%	9%
Furancarboxaldehyd	3%	-4%	-1%	35%	-12%	29%	41%	24%	23%
2,5-Dimethylpyrazin	14%	63%	82%	139%	-5%	132%	155%	60%	57%
Ethylpyrazin	-30%	-1%	1%	80%	-53%	31%	82%	69%	-13%
2-Furanmethanol	42%	135%	154%	122%	-15%	207%	202%	167%	138%
2-Ethyl-6-methylpyrazin	3%	38%	121%	189%	-36%	165%	159%	-16%	61%
2-Ethyl-5-methylpyrazin	-23%	1%	9%	68%	-62%	24%	125%	-37%	123%
2-Furanmethanol-acetat	-6%	23%	16%	41%	6%	41%	52%	-6%	22%
2-Furfurylmethylsulfid	183%	149%	71%	-34%	146%	6%	-28%	-12%	18%
5-M-2-Furfural	1%	28%	24%	67%	-22%	56%	75%	44%	65%
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1%	37%	97%	153%	-9%	116%	119%	-7%	5%
Benzenacetaldehyd	-17%	-19%	-11%	-28%	-63%	-34%	43%	-19%	4%
2-Methoxyphenol	2%	67%	101%	128%	-25%	132%	127%	-7%	73%

Tabelle 38: Auswertung: Rekombinate(GC/MS Peakflächen - Mittelwerte)

Substanz	Milchfett		Casein	
	3,5%	7,0%	4,2%	5,6%
2-Propanon	-18%	-16%	-10%	-15%
2-Methylpropanal	-42%	-41%	-31%	-20%
2-Methylfuran	-78%	-75%	-54%	-51%
2,3-Butandion	-20%	-22%	-11%	-11%
3-Methylbutanal	-49%	-57%	-42%	-36%
2-Methylbutanal	-37%	-38%	-19%	-15%
2,5-Dimethylfuran	-84%	-83%	-53%	-56%
2,3-Pentadion	-37%	-40%	-20%	-22%
Dimethyldisulfid	-74%	-76%	-70%	-73%
Pyrazin	-66%	-67%	-58%	-59%
1-Methyl-1H-pyrrol	-67%	-70%	-50%	-44%
Pyridin	-19%	-44%	-10%	-3%
Hexanal	-81%	-64%	-72%	-55%
Methylpyrazin	-20%	-40%	35%	26%
Furancarboxaldehyd	-37%	-39%	-25%	-29%
2,5-Dimethylpyrazin	-64%	-71%	-43%	-17%
Ethylpyrazin	-72%	-69%	-63%	-43%
2-Furanmethanol	-76%	-59%	-43%	-48%
2-Ethyl-6-methylpyrazin	-74%	-83%	-55%	-51%
2-Ethyl-5-methylpyrazin	-76%	-83%	-67%	-72%
2-Furanmethanol-acetat	-67%	-77%	-46%	-41%
2-Furfurylmethylsulfid	-77%	-90%	-79%	-82%
5-M-2-Furfural	-59%	-65%	-42%	-38%
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	-78%	-86%	-70%	-73%
Benzenacetaldehyd	-85%	-89%	-84%	-87%
2-Methoxyphenol	-78%	-89%	-72%	-75%

7.5.8 Messergebnisse SHS

Tabelle 39: Auswertung: Modeluntersuchungen (GC/MS Peakflächen - Mittelwerte)

Substanz	Casein				Molkenproteine		
	0,2 g	0,8 g	2,7 g	4,0 g	0,25 g	0,6 g	1,5 g
2-Propanon	-4%	0%	4%	4%	-4%	-27%	-33%
2-Methylpropanal	-22%	-18%	-15%	-22%	-7%	-15%	-14%
2-Methylfuran	17%	28%	16%	17%	34%	15%	18%
2,3-Butandion	-16%	-13%	-13%	-12%	-13%	-18%	-15%
3-Methylbutanal	-9%	-8%	-5%	-11%	-13%	-18%	-16%
2-Methylbutanal	-7%	-3%	-3%	-7%	-9%	-9%	-12%
2,5-Dimethylfuran	7%	24%	5%	-6%	9%	-12%	-18%
2,3-Pentadion	-13%	-7%	-8%	-18%	-23%	-26%	-26%
Dimethyldisulfid	-8%	-17%	-30%	-34%	-20%	-31%	-27%
Pyrazin	-1%	11%	13%	1%	-18%	-28%	-35%
1-Methyl-1H-pyrrol	-2%	4%	0%	-8%	-23%	-26%	-24%
Pyridin	18%	41%	53%	48%	-25%	-13%	-14%
Hexanal	7%	28%	46%	-12%	-56%	-57%	-56%
Methylpyrazin	67%	57%	47%	2%	-22%	-20%	-23%
Furancarboxaldehyd	-7%	-5%	-8%	-11%	-19%	-16%	-20%
2,5-Dimethylpyrazin	-19%	-8%	1%	-17%	-34%	-28%	-37%
Ethylpyrazin	-21%	-11%	6%	-10%	-40%	-26%	-36%
2-Furanmethanol	-3%	18%	8%	31%	-24%	-3%	-16%
2-Ethyl-6-methylpyrazin	23%	7%	-1%	-2%	-36%	-36%	-38%
2-Ethyl-5-methylpyrazin	87%	55%	26%	29%	-33%	-21%	-11%
2-Furanmethanol-acetat	-15%	-8%	-11%	-18%	-29%	-22%	-28%
5-M-2-Furfural	-7%	-2%	-7%	-10%	-28%	-22%	-28%
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	27%	33%	23%	13%	-39%	-37%	-41%
Benzenacetaldehyd	-6%	30%	-35%	-40%	-29%	-32%	-38%
2-Methoxyphenol	52%	27%	10%	-9%	-26%	-34%	-46%

Tabelle 40: Auswertung: Variation der Homogenisierung und der Erhitzung (Peakflächen - Mittelwerte)

Substanz	Variation der Homogenisierung*					Variation der Erhitzung**		
	Vollmilch	Variante 3	Variante 4	Variante 5	Variante 6	P	UHT	S
2-Propanon	31%	-13%	-40%	-45%	-28%	58%	70%	124%
2-Methylpropanal	-1%	24%	-27%	-28%	8%	1%	16%	19%
2-Methylfuran	62%	98%	9%	-10%	77%	-33%	-27%	-21%
2,3-Butandion	35%	33%	-31%	-25%	-14%	14%	24%	23%
3-Methylbutanal	26%	51%	-25%	-20%	9%	-14%	3%	-10%
2-Methylbutanal	23%	42%	-8%	-2%	26%	-12%	12%	-3%
2,5-Dimethylfuran	54%	147%	-4%	29%	95%	-62%	-55%	-59%
2,3-Pentadion	54%	36%	-21%	-21%	-12%	-7%	-3%	-1%
Dimethyldisulfid	130%	29%	-6%	-14%	46%	-81%	-44%	-31%
Pyrazin	77%	30%	-25%	-9%	-16%	-7%	6%	0%
1-Methyl-1H-pyrrol	69%	69%	-15%	-10%	17%	-22%	-15%	-12%
Pyridin	61%	38%	-20%	-20%	-10%	26%	29%	40%
Hexanal	80%	45%	2%	4%	-8%	-15%	-34%	-21%
Methylpyrazin	76%	29%	-19%	-10%	-11%	-2%	2%	1%
Furancarboxaldehyd	51%	12%	-18%	-10%	-14%	-3%	-7%	3%
2,5-Dimethylpyrazin	68%	50%	-17%	-22%	-24%	-8%	9%	-1%
Ethylpyrazin	101%	46%	-18%	-9%	-14%	-35%	-31%	-34%
2-Furanmethanol	64%	33%	14%	38%	33%	3%	14%	17%
2-Ethyl-6-methylpyrazin	92%	21%	-23%	-21%	-18%	-10%	21%	-9%
2-Ethyl-5-methylpyrazin	121%	51%	-15%	-13%	-20%	-22%	34%	-14%
2-Furanmethanol-acetat	16%	15%	-17%	-16%	1%	-22%	-17%	-14%
2-Furfurylmethylsulfid	31%	-14%	2%	16%	23%	-52%	-56%	-42%
5-M-2-Furfural	92%	17%	-16%	-10%	-10%	-9%	-4%	-3%
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	137%	66%	-13%	-7%	-6%	-32%	-30%	-33%
Benzenacetaldehyd	72%	33%	-9%	-10%	-21%	-24%	-25%	-44%
2-Methoxyphenol	74%	20%	-13%	-6%	-18%	-19%	0%	-16%

*relativer Bezug zum FAM (100% Zusatz)

**relativer Bezug zum verd. schwarzen Kaffee (100% Wasserzusatz)

7.6 Sensorik

7.6.1 Prüfformulare

<u>Prüfprotokoll</u>	
Name :	Datum :

Dreiecksprüfung (Triangeltest) nach DIN ISO 4120

Prüfanleitung:

Ihnen liegen zwei Probensätze mit jeweils drei Proben vor. In jedem der beiden Probensätze sind zwei Proben identisch und eine Probe abweichend. Verkosten Sie die Proben und geben Sie bitte die abweichende Probe an. **Achten Sie bitte auf ein zügiges Verkosten.**

Probensatz 1. auf geschmackliche und geruchliche Ausprägung und Bevorzugung
 Probensatz 2. auf geschmackliche und geruchliche Ausprägung und Bevorzugung

Prüffragen: Welches ist die abweichende Probe?
 Welche Probe bevorzugen Sie? Begründen Sie bitte Ihre Bevorzugung!

Proben Nr.			abweichende Probe	Bevorzugung	Beschreibung/Begründung der Bevorzugung
				Einzelprobe	
				Doppelprobe	

Proben Nr.			abweichende Probe	Bevorzugung	Beschreibung/Begründung der Bevorzugung
				Einzelprobe	
				Doppelprobe	

Abbildung 69: Prüfformular für die Dreiecksprüfung

PRÜFPROTOKOLL

NAME : _____ DATUM : _____

Intensitätsprüfung nach DIN 10966

GERUCH

Prüfanleitung:

Dem Geruch wird jeweils ein Wert der Intensitätsskala von 0 bis 5 zugeordnet.
Achten Sie bitte auf ein zügiges Verhalten.

Intensitätsskala:

- 0 = nicht vorhanden
- 1 = schwach erkennbar
- 2 = erkennbar
- 3 = gut erkennbar
- 4 = sehr gut erkennbar
- 5 = dominierend

GESCHMACK

Prüfanleitung:

Dem Geschmack wird jeweils ein Wert der Intensitätsskala von 0 bis 5 zugeordnet.
Achten Sie bitte auf ein zügiges Verhalten.

Intensitätsskala:

- 0 = nicht vorhanden
- 1 = schwach erkennbar
- 2 = erkennbar
- 3 = gut erkennbar
- 4 = sehr gut erkennbar
- 5 = dominierend

Descriptor	Pr. #:	Pr. #:	Pr. #:
säuerlich	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
Butter	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
milchig	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
säunig	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
Karamell	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
aromatisch	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
röstig	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
Kaffee	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0

Descriptor	Pr. #:	Pr. #:	Pr. #:
bitter	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
verbrannt	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
säuerlich	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
Butter	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
milchig	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
säunig	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0
röstig	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5	0 1 2 3 4 5
Kaffee	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0

Abbildung 70: Prüfformular für die Profilprüfung

7.7 Chemikalien

Tabelle 41: Chemikalien

Substanz	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Bortrifluorid (20 %ig in Methanol)	F, T	11-23/24/25-34- 39/23/24/25	6.3-16-26- 36/37/39-45
2,3-Butadion	F, Xn	11-20/22-36/38	9-16-26
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Coomassie serva Blue	Xi	36/37/38	26-36
Decan	Xn	10-65	23.2-24-62
Diethylether	F+, Xn	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Dimethyldisulfid	F, Xn, N	11-20/22-36-51/53	16-24-26-61
Dodecan	Xn	65	23.2-24-62
Eicosan	-	-	-
Ethanol	F	11	7-16
2-Ethyl-3,5- dimethylpyrazin	Xi	36/37/38	24/25
2-Furfurylthiol	-	10	-
Guajacol	Xn	22-36/38	26
Heptadecan	Xn	65	23.2-24-62
Heptan	F, Xn, N	11-38-48/20-51/53- 62-65-67	9-16-29-33- 36/37-61-62
(Z)-4-Heptenal			
Hexadecan	Xn	65-66	23.2-24-62
Hexan	F, Xn, N	12-51/53-665-66-67	9-16-29-33-61-62
2-Hexanon	Xn	10-20	23.2-24/25
2-Isobutyl-3- methoxypyrazin	Xi	-	-
2-Isopropyl-3- methoxypyrazin	-	-	-
Methanol	F, T	11-23/24/25- 39/23/24/25	7-16-36/37-45
Methional	-	10	-
2-Methylbutanal	Xi, F	36/37/38	26
3-Methylbutanal	Xi, F	36/37/38	26
Nonadecan	-	-	-
Nonan	Xn	10-65	23.2-24-62
Oktadecan	-	-	-
Oktan	F, Xn, N	11-38-50/53-65-67	9-16-29-33-60- 61-62
Pentadecan	Xn	65	23.2-24-62
2,3-Pentadion	F, Xn	11-22	9-16-33
Phenylacetaldehyd	Xn, F	22-36/37/38	9-16-29
Phosphorsäure	C	34	26-36/37/39-45
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Tetradecan	Xn	65	23.2-24-62
Tridecan	Xn	65	23.2-24-62
Undecan	Xn	65	23.2-24-62

8. Literatur

"Deutscher Kaffeeverband e.V." (2003). Kaffeebericht 2002, Deutscher Kaffeeverband

DIN ISO 4120 (1995) Sensorische Analyse - Prüfverfahren - Dreiecksprüfung, Stand Januar 1995; Beuth Verlag, Berlin

DIN 10961 (1996) Schulung von Prüfpersonen für sensorische Prüfungen, Stand August 1996; Beuth Verlag, Berlin

DIN 10966 (1997) Sensorische Analyse - Prüfverfahren - Intensitätsprüfung, Stand Dezember 1997; Beuth Verlag, Berlin

DIN 10950 Teil 1 (1999) Sensorische Prüfung - Begriffe, Stand April 1999; Beuth Verlag, Berlin

DIN 10950 Teil 2 (2000) Sensorische Prüfung - Grundlagen, Stand Oktober 2000; Beuth Verlag GmbH; Berlin, Wien, Zürich

Abbott, N.; Etievant, P.; Langlois, D.; Lesschaeve, I.; Issanchou, S., (1993): "Evaluation of the Representativeness of the Odor of Beer Extracts Prior to Analysis by GC Eluate Sniffing", J Agric Food Chem **41**, 777-780.

Abbott, N.; Etievant, P.; Issanchou, S.; Langlois, D. (1993): "Critical Evaluation of Two Commonly used Techniques for the Treatment of Data from Extract Dilution Sniffing Analysis", J Agric Food Chem **41**, 1698-1703.

Acree, T. E.; Arn, H., (1997): "Flavornet: Gaschromatography-olfactometry (GC/O) of Natural Products", Cornell University (<http://www.nysaes.cornell.edu/flavornet>).

Acree, T. E.; Barnard, J. (1994): Gas Chromatography-Olfactometry and CHARM Analysis. Trends in Flavour Research, Amsterdam, Elsevier Science B.V.

Anema, S.G.; Li, Y. (2003): "Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size" J Dairy Res **70**, 73-83

- Badings, H.T. (1984): Flavours and off-flavours in milk. Dairy Chemistry and Physics (Eds. P. Walstra, P. Jenness), Wiley & Sons, New York.
- Badings, H.T. (1991): Milk. Food Sci. Tech **44**, 91-106
- Belitz, H. D., Grosch W., Schieberle, P. (2001): Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 5. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Biewendt, H.-G. (1994): Die Bedeutung von Sterilisationswerten für das Ultrahocherhitzen von Milch, Nahrung **38**, 233-252.
- Blank, I.; Sen, A.; Grosch, W. (1991): Aroma Impact Compounds of Arabica and Robusta Coffee. Qualitative and Quantitative Investigations. ASIC, 14th colloque, San Francisco.
- Bücking, M. (1999): Freisetzung von Aromastoffen in Gegenwart retardierender Substanzen aus dem Kaffeegetränk. Dissertation, Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie; Universität Hamburg.
- Bücking, M.; Steinhart H. (2002): Headspace GC and Sensory Analysis Characterization of the Influence of Different Milk Additives on the Flavor Release of Coffee Beverages. J Agric Food Chem_ **50**, 1529-1534.
- Budzikiewicz, H.; Schäfer, M. (2005): Massenspektrometrie - Eine Einführung, 5. Auflage, Wiley - VCH, Weinheim.
- Buchheim, W.; Peters, K.-H. (1985): Physikalisch-chemische Eigenschaften ultrahocherhitzter Kaffeesahne. Mol.-Zeitg. Welt der Milch **39**, 1141-1146.
- Buchheim, W.; Falk, G.; Hinz, A. (1986): Ultrastructural aspects and physico-chemical properties of UHT-treated coffee cream. Food Microstructure **5**, 181-192.
- Burdach, K. J. (1988): Geschmack und Geruch: Gustatorische, olfaktorische und trigeminale Wahrnehmung. Verlag Hans Huber, Bern.
- Cano-Ruiz. M.E.; Richter, R.L. (1997): Effect of Homogenisation Pressure on the Milk

- Fat Globule Membrane Proteins. J. Dairy Sci **80**, 2732-2739.
- Corredig, M.; Dalgleish, D.G. (1996): Effect of different heat treatments on the strong binding interactions between whey proteins and milk fat globules in whole milk. J. Dairy Res **63**, 441-449.
- Corredig, M.; Dalgleish, D.G. (1998): Effect of Heating of Cream on the Properties of Milk Fat Globule Membrane Isolates. J Agric Food Chem **46**, 2533-2540.
- Curvers, J.; Cramers, C; Rijks, J. (1984): Possibilities and Limitations of Dynamic Headspace sampling as a Pre-Concentration Technique for Trace Analysis of Organics by Capillary Gas Chromatography. J Chromatogr_ **289**, 171-182.
- Dalgleish, D. G.; Sharma, S. K. (1993): Interactions Between Milkfat and Milk Proteins - The Effect of Heat on the Nature of the Complexes Formed. International Dairy Federation(Special Issue 9303), 7-17.
- Dairy Science and Technology, University of Guelph, Canada
<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/home.html>
- Dannenberg, F. (1986): Zur Reaktionskinetik der Molkenproteindenaturierung und deren technologischer Bedeutung. Dissertation, TU München
- Deibler, K. D.; Lavin, E. H.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A.; Acree, T. E.(2001): Verification of a Mouth Simulator by in Vivo Measurements. J Agric Food Chem **49**, 1388-1393.
- de Roos, K. (1997): How Lipids Influence Food Flavor, Food Technol **51**, 60-62.
- Dravnieks, A.; O'Donnel, A. (1971): Principles and some Techniques of High-Resolution Headspace Analysis. J. Agr. Food Chem. **19**, 1049-1056.
- Fabre, M.; Aubry, V.; Guichard, E. (2002): Comparison of Different Methods: Static and Dynamic Headspace and Solid-Phase Microextraction for the Measurement of Interactions between Milk Proteins and Flavor Compounds with an Application to Emulsions, J Agric Food Chem **50**, 1497-1501.

- Fliedner, N.; Wilhelmi, F. (1993): Grundlagen und Prüfverfahren der Lebensmittelsensorik. Behr's Verlag, Hamburg.
- Fink, R. (1984): Über lagerungsbedingte Veränderungen von UHT-Vollmilch und deren reaktionskinetische Beschreibung. Dissertation, TU München
- Garcia-Risco, M.R.; Olano, A.; Ramos, M.; Lopez-Fandino, R., (2000): Micelar Changes Induced by High Pressure. Influence in the Proteolytic Activity and Organoleptic Properties of Milk. *J. Dairy Sci* **8**, 2184-2189.
- Garcia-Risco, M.R.; Ramos, M.; Lopez-Fandino, R., (2002): Modifications in milk proteins by heated treatment and homogenisation and their influence on susceptibility to proteolysis. *Int. Dairy J.* **12**, 679-688.
- Gaucheron, F.; Famelart, M.H.; Mariette, F.; Raulot, K.; Michel, F.; Le Graet, Y. (1997): Combined effects of temperature and high-pressure treatments on physicochemical characteristics of skim milk. *Food Chem* **59**, 439-447.
- Grosch, W. (1993): Detection of Potent Odorants in Food by Aroma Extract Dilution Analysis. *Trends Food Sci. Technol.* **4**, 68-73.
- Grosch, W. (1993): Neuere Entwicklungen in der Aromaforschung. *Lebensmittelchemie* **47**, 129-134.
- Grosch, W. (1994): Determination of Potent Odourants in Food by Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) and Calculation of Odour Activity Values (OVAs). *Flavour Fragrance J.* **9**, 147-158.
- Grosch, W. (1996): Warum riecht Kaffee so gut? *Lebensmittelchemie*, **30**, 126-134.
- Guichard, E.; Langourieux, S. (2000): Interactions Between β -Lactoglobulin and Flavour Compounds. *Food Chem.* **71**, 301-308.
- Hachenberg, H.; K. Beringer (1996): Die Headspace Chromatographie als Analysen- und Messmethode. Vieweg Verlag, Braunschweig.

- Hayes, M.G.; Kelly, A.L. (2003): High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *J. Dairy Res.* **70**, 297-305
- Heath, H. B. (1982): *The physiology of flavor: Taste and aroma perception in coffee*, Elsevier Science.
- Hoffmann, W.; Borcherdig, K.; Parat-Wilhelms, M.; Denker, M.; Steinhart, H. (2004): Einfluss definierter Milchprodukte auf Geruch und Geschmack eines standardisierten Kaffeegetränkes. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **56**, 121-133.
- Holscher, W. (1991): *Charakterisierung von Aroma-Impact-Verbindungen aus Arabica-Röstkaffee und ihre Bedeutung für die Röstkaffeealterung*. Abteilung Lebensmittelchemie; Dissertation, Universität Hamburg.
- Horak, F.P. (1980): *Über die Reaktionskinetik der Sporenabtötung und chemischer Veränderungen bei der thermischen Haltbarmachung von Milch zur Optimierung von Erhitzungsverfahren*. Dissertation TU München.
- Huppertz, T.; Fox, P.F.; Kelly A.L (2002): Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *Review, Int. Dairy J.* **12**, 561-572.
- Huppertz, T.; Fox, P.F.; Kelly A.L. (2004): Properties of casein micelles in high pressure-treated bovine milk. *Food Chem* **87**, 103-110.
- Huppertz, T.; Fox, P.F.; Kelly A.L. (2004): High pressure treatment of bovine milk: effects on casein micelles and whey proteins, *J. Dairy Res* **71**. 97-106.
- Jang H.D.; Swaisgood H.E. (1990): Disulfide bond formation between thermally denaturated β -lactoglobulin and κ -casein micelles. *J.Dairy Sci.* **73**, 900-904
- Jenness, R.; Koops, J. (1962): Preparation and Properties of a Salt Solution which Simulates Milk Ultrafiltrate. *Netherl. Milk Dairy J.* **16**,153-164.
- Innocente, N.; Corradini, C.; Blecker, C.; Paquot, M. (1998): Dynamic Surface of the Proteose-Peptide Fraction of Bovine Milk. *J. Dairy Sci.* **81**, 1833-1839.

Kennel, R. (1994): Hitzeinduzierte Molkenproteinaggregationen - Größebestimmung und Strukturanalyse. Dissertation TU München.

Kinsella, J. E. (1990). Flavor Perception and Binding, *Inform* **1**, 215-226.

Kinsella, J. E.; Srinivasan, D. (1981): Criteria of Food Acceptance. Forster Verlag, Schweiz 296-332.

Konietzko, M., (1981): Abtötung von *Bacillus stearothermophilus* und Bildung von Gesamt-Hydromethylxyfurfural während des Ultrahocherhitzens von Milch. Dissertation, Universität Kiel.

Kurek, M; Przybilla, B; Hermann, K.; Ring, J. (1992): A naturally occurring opioid peptide from cows milk, beta-casomorphine-7, is a direct histamine releaser in man. *Int Arch Allergy Immunol.* **97**, 115-20.

Landy, P.; Druaux, C.; Voilley, A.. (1995): Retention of Aroma Compounds by Proteins in Aqueous Solution. *Food Chem*, **54**, 387-392.

Lee, S.J.; Sherbon, J.W. (2002): Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenisation of whole milk. *J. Dairy Res* **69**, 555-567

Leland, J. V. (1997): Flavor Interactions: The Greater Whole. *Food Technol.* **51**, 75-80.

Likens, S. T.; Nickerson G. B. (1964): Detection of Certain Hop Oil Constituents in Brewing Products, *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* 5-13.

Meisel, H.; Schlimme, E., (1990): Milk proteins: precursors of bioaktive peptides. *Trende Food Sci. Technol.* **1**, 41-43

Meisel, H., Frister, H. (1989): Chemical characterisation of bioaktive peptides from in vivo digests of casein. *J Dairy Res.* **56**, 349-9

Maier, H. G. (1990) *Lebensmittel- und Umweltanalytik*, Steinkopff Verlag, Darmstadt

- Mottram, D. S.; Szauman-Szumski, C.; Dodson, A. (1996): Interaction of Thiol and Disulfide Flavor Compounds with Food Components. *J Agric Food Chem*, **44**, 2349-2351.
- Nangpal, A., Reuter, H., Kiesner, C. (1990): Reaction kinetics of lactulose and furosine formation. *Kieler Milchwirtschaftl. Forsch. Ber.* **42**, 53-64.
- Oldfield D.J., Singh H.; Taylor M.W. (1998): Association of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with the casein micells in skim milk heated in an ultra-high temperature plant. *Int. Dairy J.* **8**, 765-770
- Oortwijn, H.; Walstra, P. (1979): The Membranes of Recombined Fat Globules. 2. Composition, *Netherlands Milk and Dairy J.* **33**, 134-154.
- Pollien, P.; Ott, A.; Montigon, F.; Baumgartner, M.; Munoz-Box, R.; Chaintreau, A. (1997): Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: Screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons, *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2630-2637.
- Plug, H.; Haring, P. (1993): The Role of Ingredient-Flavour Interactions in the Development of Fat-Free Foods, *Trende Food Sci. Technol.* **4**, 150-153.
- Rabe, S.; Banavara, D. S.; Krings, U.; Berger, R. G. (2002): Computerized Apparatus for Measuring Dynamic Flavor Release from Liquid Food Matrices. *J Agric Food Chem*, **50**, 6440-6447.
- Roberts, D. D.; Acree, T. E., (1995): Simulation of Retronasal Aroma Using a Modified Headspace Technique: Investigating the Effects of Saliva, Temperature, Shearing, and Oil on Flavor Release. *J Agric Food Chem.* **43**, 2179-2186.
- Rollema, H.S. (1992): Casein association and micelle formation. *Adv Dairy Chem.* Volume 1, Elsevier Applied Science, 111-140
- Rothe, M. (1963): Aromastoffe des Brotes. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **119**, 302-310.

- Roozen, J. P.; Legger-Huysman, A.(1995): Sensory Analysis and Oral Vapour Gaschromatography of Chocolate Flakes. Proceedings of the 4th Wartburg Aroma Symposium, Aroma Perception, Formation and Evaluation, Wartburg.
- Rychlik, M.; Schieberle, P.; Grosch, W. (1998). Compilation of Odor Tresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food Odorants. Institut für Lebensmittelchemie, TU München und Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie.
- Sachdeva, S.; Buchheim, W. (1997): Separation of Native Casein and Whey Proteins during Crossflow Microfiltration of Skim Milk. Austral. J. Dairy Technol **52**. 92-97.
- Schlimme, E., Buchheim, W., Heeschen, W. (1994): Beurteilung verschiedener Erhitzungsverfahren und Hitzeindikatoren für Konsummilch. Lebensm. Ind. u. Milchwirtsch. **115**, 64-69
- Schlimme, E.; Buchheim, W. (1995): Milch und ihre Inhaltsstoffe, Chemische und physikalische Eigenschaften, Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen
- Schlimme, E. (1996): Milcherhitzungsverfahren und Grenzwertfestlegungen. Dt. Milchwirtschaft, **47**, 106-109
- Schlüter, S.; Steinhart, H.; Schwarz, F. J.; Oberle, M.; Kirchgesser, M. (1996). "Einfluss der Fütterung auf das Aroma von gedünstem Karpfenfilet." Lebensmittelchemie **50**: 109-112.
- Semmelroch, P. (1995): Untersuchungen zur Objektivierung des Unterschieds im Aroma von Arabica- und Robusta-Kaffee. Garching, TU München.
- Semmelroch, P.; Grosch, W. (1995): Analysis of Roasted Coffee Powders and Brews by Gas Chromatography-Olfactometry of Headspace Samples. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. **28**, 310-313.
- Sharma, S. K.; Dalgleish, D. G. (1994): Effect of Heat Treatments on the Incorporation of Milk Serum Proteins into the Fat Globule Membrane of Homogenized Milk. J Dairy Res. **61**, 375-84.

- Shibamoto, T. (1991): An Overview of Coffee Aroma and Flavor Chemistry. ASIC, 14th International Scientific Colloquium on Coffee, San Francisco.
- Taylor, A. J. (1996): Volatile Flavor Release from Foods during Eating. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **36**, 765-784.
- Van den Dool, H.; Kratz, P. D. (1963): A Generalization of the Retention Index Systems Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. J Chromatogr. **11**, 463-471.
- Van Osnabrugge, W. (1989): How Flavor Baked Goods Snacks Effectively. Food Technol., **43**: 74-82.
- van Ruth, S. M.; Roozen, J. P.; Cozijnsen, J. L., (1994): Comparison of Dynamic Headspace Mouth Model Systems for Flavour Release from Rehydrated Bell Pepper Cuttings.
- Voss, E., Moltzen, B. (1973): Standardisierung der Bestimmung des Molkenproteinindexes in Magermilchpulver. Milchwissenschaft, **28**, 282-284
- Walstra, P.; Jenness, R. (1984): Dairy Chemistry and Physics. John Wiley and Sons Inc. New York
- Walstra, P.; Geurts, T. J.; Noomen, A.; Jellema, A.; van Boekel, M. A. J. S., (1999): Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes., Marcel Dekker. New York
- Wilkens, J., (1997): Persönliche Mitteilung der Fa. Tchibo. M. Bücking. Hamburg.
- Whitfield, F. B., (1992): Volatiles from Interactions of Maillard Reactions and Lipids. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **31**, 1-58.
- Withycombe, D. A.; Mookherjee, B. C.; Hruza, A. (1978): Isolation of Trace Volatile Constituents of Hydrolysed Vegetable Protein via Porus Polymer Headspace Entrainment. Analysis of Food and Beverages, Headspace Techniques. G.

Charalambous. New York, Academic Press: 81-84.

Zittle C.A.; Thompson M.P.; Custer J.H.; Cerbulis J. (1962): κ -casein- β -lactoglobulin interaction in solution when heated, J. Dairy Sci. **45**, 807-810

Persönliche Angaben

Name: Parat-Wilhelms, Marijana
Geburtsdatum: 05.10.1974
Geburtsort: Split, Kroatien
Familienstand: verheiratet

Schulbildung

1981-1989: Grundschule in Split, Kroatien
1989-1993: Mittelschule mit Ausbildung zur chemisch-technischen Assistentin
Juli 1993: Abitur

Studium

Oktober 1994-Oktober 2000: Studium der Lebensmittelchemie und Biotechnologie an der Universität in Zagreb, Kroatien
Studiengang: Lebensmitteltechnologie
Studienrichtung: Chemie und Technologie der Ernährungswissenschaften
29.09.2000: Diplomprüfung Abschluss mit der Bezeichnung Diplomingenieur der Lebensmitteltechnologie

Berufliche Tätigkeit

August 2001- Dezember 2003: Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
seit Januar 2005: Euro Allianz Pharma GmbH: Sachbearbeiterin im Bereich Qualitätskontrolle

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

1. **Parat-Wilhelms, M.; Denker, M.; Borchering, K.; Hoffmann, W.; Steinhart, H.:** *Modelluntersuchungen zum Einfluss definiert hergestellter Milchhaltsstoffe auf die Aromawahrnehmung milchhaltiger Kaffeegetränke.* Lebensmittelchemische Gesellschaft - Regionalverband Nord 38. Arbeitstagung, Hamburg (2003)
2. **Parat-Wilhelms, M.; Denker, M.; Luger, A.; Hoffmann, W.; Steinhart, H.:** *Untersuchungen zum Einfluss von Milch und Milchhaltsstoffen auf die Aromawahrnehmung milchhaltiger Kaffeegetränke.* Milchkonferenz 2003, Osnabrück (2003)
3. **Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Hoffmann, W.; Steinhart, H.:** *Untersuchungen zum Einfluss definiert hergestellter Milcherzeugnisse auf die Aromawahrnehmung milchhaltiger Kaffeegetränke.* Lebensmittelchemische Gesellschaft, 32. Deutscher Lebensmittelchemikertag, München (2003)
4. **Steinhart, H.; Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Hoffmann, W.:** *Ortho- und retronasale Aromawahrnehmung von Milchkaffees – Einfluss der Milchtechnologie auf das Aroma.* Lebensmittelchemische Gesellschaft - Regionalverband Nord und Nordost 39. Arbeitstagung, Hannover (2004)
5. **Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Ullrich, F.; Luger, A.; Hoffmann, W.; Borchering, K. und Steinhart, H.:** *Flavour Perception of White Coffee Beverages – Oral Breath Sampling and Sensory Analysis of the Influence of Milk Proteins.* 20th International Scientific Colloquium on Coffee (Bangalore, 2004)
6. **Hoffmann, W.; Borchering, K.; Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Luger, A. und Steinhart, H.:** *Einfluss definierter Milchprodukte auf sensorische Eigenschaften eines standardisierten Kaffeegetränks.* Dt. Milchwirt. 56, 89-91 (2005).
7. **Parat-Wilhelms, M.; Denker, M.; Borchering, K.; Hoffmann, W.; Luger, A. und Steinhart, H.:** *Influence of defined milk products on the flavour of white coffee beverages using static headspace GC-MS/O and sensory analysis.* Eur. Food Res. Technol., online 10.1007/s00217-005-1152 (2005).

8. **Hoffmann, W.; Borchering, K.; Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Luger, A. und Steinhart, H.:** *Einfluss definierter Milchprodukte auf sensorische Eigenschaften eines standardisierten Kaffeegetränks.* Proc. Germ. Nutr. Soc. 7, 42 (2005).

9. **Denker, M.; Parat-Wilhelms, M.; Drichelt, G.; Paucke, J.; Luger, A.; Hoffmann, W.; Borchering, K. und Steinhart, H.:** *Investigation of the retronasal flavour release during the consumption of coffee with additions of milk constituents by 'Oral Breath Sampling'.* Food Chem. 98; 201-208 (2006)