

Entwicklung und Beeinflußbarkeit des Flavors von Sojalecithinen

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

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

vorgelegt von

Andreas Stephan

aus Seevetal

Hamburg 1999

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1996 bis September 1999 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Dr. Hans Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie in der Abteilung für Lebensmittelchemie angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. Hans Steinhart
2. Gutachter: Prof. Dr. R. Bredehorst

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 30.09. 1999

Danksagungen

Für die umfangreiche wissenschaftliche, praktische und moralische Unterstützung, die mir während meiner Promotionszeit zuteil wurde, bedanke ich mich ganz herzlich bei:

Herrn Prof. Dr. Dr. Hans Steinhart für die Bereitstellung des Themas, die vielfältige Unterstützung und den großzügigen Handlungsspielraum bei der Bearbeitung dieses Projekts.

Herrn Prof. Dr. R. Bredehorst für die bereitwillige Übernahme des Koreferats.

Frau Esther Bethke, Herrn Lutz Graffelmann, Herrn Olaf Jansen und Herrn Stefan Schmidt für ihr Engagement und die hervorragende Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. W. Grosch und Herrn Prof. Dr. P. Schieberle von der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in Garching für die Bereitstellung von Referenzsubstanzen.

Dem Forschungsbereich für Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Mitglied des AiF, für die finanzielle Unterstützung dieses Forschungsprojekts.

Frau H. Schmitt, Herrn Dr. R. Lange und Herrn Dr. M. Schneider von der Fa. Lucas Meyer GmbH & Co., Herrn J. Berchthold von der Harry Brot GmbH und Herrn R. Wettig vom Verband der Deutschen Backmittel- und Backgrundstoffhersteller e.V. für den wissenschaftlichen Austausch, die Bereitstellung des Probenmaterials und die Begleitung dieses Projektes.

Den Teilnehmern des „Sojapanel“ für ihre vielen und sorgfältig durchgeführten sensorischen Untersuchungen.

Frau K. Baker für das Redigieren der englischen Publikationen.

Meinen Eltern Gisela und Christian Stephan, meiner Schwester Elisabeth, meiner Frau Irina Flohr-Stephan und meiner Tochter Alena Maria für die stete Förderung meiner Promotion, die moralische Unterstützung sowie den Blick für das Wesentliche im Leben.

Abkürzungsverzeichnis

AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
AEVA	Aromaextraktverdünnungsanalyse
AU	Acetonunlösliches
AW	Aromawert
BGB-1701	Kapillarsäule mit 14% Cyanopropylphenyl- und 86% Dimethylpolysiloxan-Belegung
BGB-FFAP	Kapillarsäule mit Terephthalsäure-veresterter Polyethylenglykol-Belegung
CHARM	Combined Hedonic And Response Measurement
CI	Chemische Ionisation
DC	Dünnschichtchromatographie
DHS	Dynamische Headspace
DIN	Deutsches Institut für Normung
DPG	Diphosphatidylglycerin
EIC	Extracted Ion Chromatogramm
EI	Elektronen(stoß)ionisation
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
FD	Flavor Dilution
FFA	Freie Fettsäure
FID	Flammenionisationsdetektor
FSME	Fettsäuremethylester
FTIR	Fourier Transform Infrarot Spektrometrie
GC	Gaschromatographie
GC/MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GC/O	Gaschromatographie-Olfaktometrie
GC/O-MS	kombinierte Gaschromatographie - Olfaktometrie-Massenspektrometrie
GPL	Glycerophospholipid
GRAS	Generally Recognized As Safe
HG	Hydrolysegrad
HLB	Hydrophile Lipophile Balance
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
HRGC	High Resolution Gas Chromatography
HS	Headspace
HSI	Headspace Injektor
IS	Interner Standard
ISO	International Organization for Standardization
IU	International Unit

KAS	Kaltaufgabesystem
Kf	Korrekturfaktor
LPC	Lysophosphatidylcholin
MS	Massenspektrometrie
MSD	Massenselektiver Detektor
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäuren
MW	Mittelwert
NAPE	N-Acylphosphatidylethanolamin
nAW	nasaler Aromawert
NL	Neutrallipide
NMR	Kernresonanzspektrometrie
n.n.	nicht nachweisbar
OAV	Odor Activity Value
PA	Phosphatidsäure
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Phosphatidylglycerin
PI	Phosphatidylinosit
PL	Phospholipid
PS	Phosphatidylserin
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
QI	Qualifier Ion
rAW	retronasaler Aromawert
RI	Retentionsindex
s	Standardabweichung
SC	Säulenchromatographie
SDE	Simultane Destillation Extraktion
SFA	gesättigte Fettsäuren
SHS	Statische Headspace
SHS/GC-O	kominierte Statische Headspace - Gaschromatographie-Olfaktometrie
SIM	Selected Ion Monitoring
SN	Signifikanzniveau
SPE	Festphasenextraktion
SZ	Säurezahl
TDS	Thermodesorptionssystem
TI	Target Ion
Wf	Wiederfindung

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Problemstellung und Zielsetzung	5
3. Allgemeine Grundlagen	12
3.1 Begriffsbestimmungen	12
3.1.1 Flavor	12
3.1.2 Phospholipide	13
3.2 Sojalecithin	14
3.2.1 Inhaltsstoffe des Sojalecithins	14
3.2.2 Phospholipid-Zusammensetzung	15
3.2.3 Fettsäureverteilung der Phospholipid-Fraktion	16
3.2.4 Klassische Lecithinkennzahlen	17
3.2.5 Modifizierung von Lecithinen	18
3.2.5.1 Enzymatische Hydrolyse	19
3.3 Bildung von Flavor	20
3.3.1 Allgemeines	20
3.3.2 Aromastoffbildung in Sojalecithinen	20
3.3.3 Bildung von Geschmacksstoffen	28
4. Material und Methoden	30
4.1 Untersuchungsmaterial	30
4.2 Sensorische Untersuchungen	31
4.2.1 Schulung des Sensorik-Panels	31
4.2.2 Erweiterte Dreiecksprüfung	32
4.2.3 Profilprüfung	33
4.2.4 Schwellenwertprüfung	33
4.3 Instrumentelle Aromastoffanalytik	35
4.3.1 Isolierung von Aromastoffen	36
4.3.1.1 Vakuumdestillation	36
4.3.1.2 Simultane Destillation/Extraktion und Extraktion	36
4.3.1.3 Headspace-Analytik	37
4.3.2 Olfaktometrische Analysen	38
4.3.2.1 AEVA	38
4.3.2.2 CHARM	39
4.3.3 Identifizierung von Aromastoffen	39
4.3.3.1 Geruchsbeschreibung mittels GC/O	40
4.3.3.2 Retentionsindices	40
4.3.3.3 Untersuchungen auf molekularer Basis	40
4.3.4 Quantifizierung von Aromastoffen	41
4.3.5 Aromawertkonzept	42
4.3.6 Untersuchungen am Aromamodell	42
4.4 Instrumentelle Analytik von Geschmacksstoffen	43

4.4.1 Dünnschichtchromatographie	43
4.4.2 HPLC/ELSD	43
4.2.3 Festphasenextraktion	44
4.4.4 Gaschromatographie	44
5. Ergebnisse	46
5.1 Sensorische Charakterisierung herkömmlicher Sojalecithine	46
5.1.1 Geruchsprofile	47
5.1.2 Mundgefühl/Texturprofile	50
5.1.3 Geschmacksprofile	52
5.1.4 Bestimmung signifikanter Bitterunterschiede von Lecithinen	54
5.1.5 Schwellenwert des Bittergeschmacks hydrolysierter Lecithine	56
5.2 Aroma von Sojalecithinen	57
5.2.1 Arbeitsschema	57
5.2.2 Isolierung von Aromastoffen aus der Lecithinmatrix	58
5.2.3 Aromastoffe des Sojalecithins	60
5.2.4 Olfaktometrische Charakterisierung	63
5.2.4.1 AEVA und FD-Diagramme	63
5.2.4.2 Modifizierte CHARM-Analyse	66
5.2.4.3 Bedeutung der FD- und CHARM-Diagramme	67
5.2.5 Quantifizierung der Aromastoffe mittels GC/MS	67
5.2.6 Aromastoff-Gehalte von Sojalecithinen	71
5.2.6.1 Bedeutung der Gehalte an Aromastoffen	77
5.2.7 Nasale und retronasale Schwellenwerte von Aromastoffen	77
5.2.8 Aromawerte flüchtiger Verbindungen von Sojalecithinen	79
5.2.8.1 Summe der Aromawerte verschiedener Substanzklassen	79
5.2.8.2 Aromawerte der Einzelsubstanzen	81
5.2.9 Modelluntersuchungen	83
5.3 Bittergeschmack von Sojalecithinen	84
5.3.1 Freie Fettsäuren	84
5.3.1.1 Bittergeschmack-Schwellenwerte von FFA in Emulsion	85
5.3.1.2 Abhängigkeit des Schwellenwertes von der Polarität des Emulgators	87
5.3.1.3 Gehalte an FFA in Sojalecithinen	88
5.3.1.3.1 Summe der FFA in Sojalecithinen	88
5.3.1.3.2 Absolutgehalte der FFA in Sojalecithinen	89
5.3.1.3.3 Relativgehalte der FFA in Sojalecithinen	91
5.3.1.4 Modelluntersuchungen zum Bittergeschmack von FFA	92
5.3.1.5 Bedeutung der FFA für den Bittergeschmack von Sojalecithinen	92
5.3.2 Flüchtige Verbindungen	93
5.3.3 Einfluß von Hydrolyseparametern	94
5.3.3.1 Enzymatische (Neben-)Aktivitäten	94
5.3.3.2 Einfluß von Calciumchlorid	97
5.3.4 Einfluß von oxidierten Fettsäuren, Hydroxyfettsäuren, fraktionierten Phospholipiden und Kohlenhydraten/Glykolipiden	97

6. Diskussion	99
6.1 Vorbemerkungen	99
6.1.1 Ausgangssituation	99
6.1.2 Sensorische Charakterisierung; Status Quo	100
6.2 Das Aroma von Sojalecithinen	101
6.2.1 Identifizierung, Charakterisierung und Bildung von Aromastoffen	101
6.2.1.1 Identifizierung von Aromastoffen	101
6.2.1.2 Charakterisierung der Aromastoffe über GC/O	102
6.2.1.3 Bildung von Aromastoffen	103
6.2.2 Bedeutung der Aromastoffe	105
6.2.2.1 Schwellenwerte von Aromastoffen	105
6.2.2.2 Quantifizierungsmethode	106
6.2.2.3 Aromastoffgehalte	107
6.2.2.4 Modelluntersuchungen	111
6.2.2.5 Aromawerte in Abhängigkeit der Lecithin-Behandlung	111
6.3 Der Geschmack von Sojalecithinen	115
6.3.1 Einfluß der freien Fettsäuren FFA	115
6.3.2 Einfluß der Hydrolyse-Bedingungen	118
6.3.3 Einfluß weiterer Substanzklassen	119
6.4 Schlußfolgerungen, Ausblick	120
 7. Zusammenfassung / Summary	 121
 8. Anhang	 125
8.1 Untersuchungsmaterial	125
8.2 Arbeitsmethoden, Versuchsbedingungen	125
8.2.1 Aufarbeitungsmethoden	125
8.2.1.1 Vakuumdestillation	125
8.2.1.2 Simultane Destillation/Extraktion	126
8.2.1.3 Statische Headspace	126
8.2.1.4 Externe Dynamische Headspace	127
8.2.1.5 Isolierung und Derivatisierung der freien Fettsäuren	127
8.2.1.5.1 Überprüfung der FFA-Bestimmung	128
8.2.1.6 HPLC-ELSD-Trennung	129
8.2.1.7 HPTLC-Trennung	129
8.2.1.8 Doppelte Lecithin-Entölung	129
8.2.1.9 Säurezahl der Aceton-löslichen Lecithin-Phase	130
8.2.2 Sensorische Analysen	130
8.2.2.1 Profilprüfung	132
8.2.2.2 Erweiterte Dreiecksprüfung	133
8.2.2.3 Schwellenwertprüfung	134
8.2.2.3.1 Bestimmung von Geschmacksschwellen	134
8.2.2.3.2 Bestimmung nasaler und retronasaler Geruchsschwellen	135
8.2.2.4 AEVA	137

8.2.2.5 Modifizierte CHARM-Analyse	137
8.3 Standardzusammensetzungen	138
8.3.1 Aromastoffquantifizierung	138
8.3.1.1 Volumenstandardsubstanzen	138
8.3.1.2 Interne Standard-Lösungen	138
8.3.1.3 Externe Kalibrierstandard-Lösungen	139
8.3.2 SDE-Standards und Modellmatrix	142
8.3.3 Bestimmung der Geschmacksstoffe	143
8.3.3.1 Phospholipidstandardsubstanzen	143
8.3.3.2 Fettsäure- und Neutrallipid-Standardsubstanzen	143
8.3.3.3 FSME-Standardgemisch	143
8.4 Berechnungen und statistische Auswertungen	144
8.4.1 Retentionsindex	144
8.4.2 Ermittlung der CHARM-Werte	144
8.4.3 Berechnungen zur Quantifizierung der Aromastoffe	145
8.4.3.1 Berechnung der Wiederfindungsrate	145
8.4.3.2 Berechnung der Korrekturfaktoren	146
8.4.3.3 Berechnung des Gehaltes an Analyten in der Probe	146
8.4.4 Auswertung der FFA-Quantifizierung	146
8.4.5 Berechnung der SZ und des Gesamt-FFA-Gehalts	147
8.4.6 Ausreißertest nach DIXON	147
8.4.7 T-Test	148
8.4.8 Berechnung von Schwellenwerten	148
8.4.9 Berechnung von Signifikanzniveaus bei Dreiecksprüfungen	148
8.5 Geräte und Meßbedingungen	149
8.5.1 Vakuumdestillationsapparatur	149
8.5.2 Simultane Destillation Extraktion	149
8.5.3 Statischer Headspace-Injektor	149
8.5.4 Externe Dynamische Headspace und Thermodesorption	150
8.5.5 Gaschromatographische Systeme	150
8.5.6 Festphasenextraktion	152
8.5.7 HPTLC	152
8.5.8 HPLC-ELSD	153
8.6 Toxizitätenliste der verwendeten Chemikalien	154
8.7 Einzelergebnisse	155
8.7.1 MS-Daten der Aromastoffe	155
8.7.2 Ergebnisse der Aromastoffquantifizierung	157
8.7.3 FFA-Quantifizierung	162
8.7.3.1 Ergebnisse der Methodenüberprüfung	162
8.7.3.2 Ergebnisse der FFA-Quantifizierung	162
8.7.3.3 Überprüfung der FFA-Bestimmung durch SZ	166
9. Literaturverzeichnis	167

1. Einleitung

Lecithine, auch Phospholipide genannt (siehe 3.1.2), gehören zu den wichtigsten und am längsten bekannten natürlichen, grenzflächenaktiven Substanzen. Sie sind Bestandteil aller pflanzlicher und tierischer Zellen und werden nach dem von BOLLMANN (1921) entwickelten und modifizierten Verfahren hauptsächlich als Nebenprodukte aus der Pflanzenölproduktion gewonnen (siehe 3.2.5). Als Hauptquelle der kommerziellen Gewinnung dienen - neben dem tierischen Eilecithin - im wesentlichen ölreiche Samen, insbesondere die der Sojabohne (*Glycine max* L.). Des weiteren stellen auch die Sonnenblume, die Erdnuß, aber auch der Raps oder die Baumwolle potentielle, jedoch kommerziell bisher noch wenig genutzte Lecithinquellen dar (MORRISON, 1981; CHERRY et al. 1981; PARDUN, 1982, 1989; SCHNEIDER, 1992).

Sojalecithin ist hierbei aus mehreren Gründen die Hauptquelle kommerzieller Lecithine (FLIDER, 1985). Neben den hohen Lecithin-Gehalten zwischen etwa 1,1 und 3,2% in der Sojabohne, die eine Lecithinausbeute von ca. 0,6% ergeben, sowie der jahrzehntelangen Ausrichtung auf Soja als Ursprungsquelle und dem damit verbundenen analytischen und technischen know-how für die Umsetzung dieses Rohstoffes in nutzbare „Zusatzstoffe“, liegt diese Ausrichtung auf Soja ganz entscheidend auch an der seit Jahrzehnten guten Verfügbarkeit der entsprechenden Sojalecithine. Gemessen an der weltweiten jährlichen Gesamtölproduktion von zur Zeit knapp 80 Millionen Tonnen Pflanzenöl, entfällt der Hauptanteil von 23 Millionen Tonnen (etwa 29%) auf das Sojaöl (USDA, 1998). Aus diesem Anteil wird jährlich ungefähr ein Viertel der theoretisch verfügbaren Sojalecithinmenge, 1991 etwa 130.000 Tonnen, 1994 bereits 180.000 Tonnen (LANGE, 1997) als kommerziell nutzbares Lecithin produziert, während z.B. aus Raps bisher nur etwa 5.000 Tonnen oder aus Sonnenblumen nur ca. 2.500 Tonnen gewonnen werden (SCHNEIDER, 1992). Der Anteil an kommerziellem Eilecithin fällt mit nur ca. 60 Tonnen vergleichsweise sehr gering aus und kann aufgrund der niedrigen Menge und des im Vergleich zum Sojalecithin deutlich höheren Preises im Lebensmittelbereich nur in wenigen speziellen Anwendungen, wie z. B. der Diätetik, eingesetzt werden.

Hauptnutzer des Sojalecithins, das im wesentlichen aus Sojaanbaugebieten der USA (etwa 50%), Brasilien und Argentinien stammt (USDA, 1998), sind die EU-Mitgliedsstaaten, die mehr als 60% der Weltjahresproduktion an Lecithinen verarbeiten. Lecithine gelten hierbei, unabhängig von ihrer tierischen oder pflanzlichen Herkunft, nach der Zusatzstoffzulassungsverordnung (ZZuLV) unter der Bezeichnung E 322 als allgemein zugelassene Zusatzstoffe und besitzen den GRAS-Status. Zu dieser rechtlichen Definition von Lecithinen zählen jegliche in der Zusatzstoff-Verkehrsverordnung (ZVerKV) beschriebenen behandelten Lecithine. Der Begriff Lecithine wird hierbei als ein Gemisch aus neutralen und polaren Lipiden verstanden und unterscheidet sich von der wissenschaftlichen Definition (=Phosphatidylcholin). Die Definition in der ZVerKV beschränkt den Zusatzstoff Lecithin insoweit, als nur *Mischungen oder Fraktionen von Phosphatiden, die mit physikalischen Verfahren aus tierischen oder pflanzlichen Lebensmitteln gewonnen werden, auch durch geeignete Enzyme teilweise hydrolysiert*, dieser Definition entsprechen. Das heißt, daß klassische Verfahren der Ölraffination, wie beispielsweise Hydrierung, Umesterung, Acetylierung oder Hydroxylierung für den Zusatzstoff Lecithin in der EU nicht zugelassen sind, im Gegensatz zu den lebensmittelrechtlichen Vorschriften in den USA, in denen insbesondere die beiden letztgenannten chemischen Prozesse eine große Bedeutung besitzen. Trotz dieser erheblichen EU-weiten Einschränkung der Lecithin-Modifizierung ist es möglich, durch verschiedene Behandlungen wie z.B. Entölung, Fraktionierung, enzymatischer Hydrolyse oder kombinierten Verfahren eine Vielzahl an Lecithinen mit unterschiedlichen funktionellen Eigenschaften auf den Markt zu bringen (PARDUN, 1982; SCHNEIDER, 1997a, 1997b; NIEUWENHUYZEN, 1998).

Insbesondere die aus der enzymatischen Hydrolyse hervorgehenden Sojalecithine, auch Lysolecithine genannt, sind dabei von Bedeutung, da im EU-Raum nur durch die Hydrolyse direkt die Amphiphilität der Phospholipidstruktur - und damit ihre hydrophilen Eigenschaften - deutlich erhöht werden kann. Gerade diese erhöhten hydrophilen Eigenschaften sind es, die ganz besonders in neuen Anwendungsgebieten von Lecithinen die Entwicklung innovativer Produkte im Lebensmittelbereich ermöglichen. Die Lysolecithine besitzen hierbei zur Zeit einen Marktanteil von etwa 10% an der Weltjahresproduktion der Lecithine (Fa. LUCAS MEYER, persönliche Mitteilung, 1996).

Die vielfältigen Eigenschaften, als Emulgator, Stabilisator und Dispergiermittel wirken zu können, machen Lecithine heutzutage in vielen Industriebereichen unersetzlich. Hierbei ist es aufgrund der äußerst komplexen Zusammensetzung und Struktur der Lecithine und der damit verbundenen Komplexität der Wechselwirkungen der Lecithine mit der Matrix nur schwer möglich, eindeutige Struktur-Wirkungs-Beziehungen für Lecithine in ihrer entsprechenden Anwendung nachzuweisen. Diese Komplexität macht Lecithine hinsichtlich ihrer technologischen Eigenschaften nur schwer durch synthetische Zusatzstoffe ersetzbar. Das mag ein entscheidender Grund sein, weshalb Marktprognosen zufolge Lecithine in diesem Jahrzehnt im Vergleich zu synthetischen Emulgatoren einen etwa doppelt so hohen Umsatzzuwachs erwarten lassen (Fa. LUCAS MEYER, persönliche Mitteilung, 1996).

Aufgrund der Eigenschaften ergibt sich ein breites Anwendungsspektrum für Lecithine und Lecithinprodukte, die allein in Lebensmitteln in etwa 20.000 bis 30.000 verschiedenen Produkten (LANGE, 1997; UNILEVER, 1997) verarbeitet sind. Ihr Anwendungsbereich erstreckt sich dabei von der Herstellung von Instantprodukten, über Saucen, Mayonnaisen, fettreduzierten Produkten, Eiscremes bis zu Streichwurstwaren (PARDUN, 1989) und diätetischen Lebensmitteln. In der kakao-verarbeitenden Industrie dient Lecithin bspw. aufgrund seiner grenzflächenaktiven Eigenschaften u.a. dazu, Kakaobutter als teuerste Komponente bei der Herstellung von Schokoladenmasse einzusparen, ohne die Fließgrenze und die Viskosität nachteilig zu verändern. In Margarine besitzt Lecithin neben seiner Funktion als Emulgator u.a. die Fähigkeit, das Spritzverhalten der Margarine beim Erhitzen günstig zu beeinflussen. Im Backwarenbereich wirken Lecithine und ganz speziell Lysolecithine durch Vernetzung mit Amylose und Einlagerung in Amyloseketten z.B. dem „Altbackenwerden“ von Backwaren (Retrogradation) entgegen und verbessern deren Elastizität, Volumen und Porung (NIEUWENHUYZEN 1981; PARDUN, 1997; SCHNEIDER, 1992).

Neben dem Anwendungsbereich in der Lebensmittelindustrie werden Lecithine in der Tierernährung als Futtermittelergänzung, in technischen Produkten wie z.B. Farben und Lacken als Dispergiermittel, sowie insbesondere auch für pharmazeutische und kosmetische Zwecke genutzt. Sojalecithine, respektive spezielle Phospholipide wie

z.B. das Phosphatidylcholin (PC), werden dabei mit einer Vielzahl von physiologischen Funktionen wie bspw. der Senkung des LDL-Cholesterinspiegels in Verbindung gebracht (BONACKER, 1988; FELDHEIM, 1996).

2. Problemstellung und Zielsetzung

Problemstellung

Neben den zur Zeit aktuellen medienpräsenten Problemstellungen bei der Verwendung von Sojaprodukten in Lebensmitteln wie z.B. dem Allergie-Potential oder aber dem Einsatz gentechnologisch veränderter Sojabohnen (Glyphosat-tolerant) und den damit verbundenen Kennzeichnungsdiskussionen (Novel Food Verordnung, 1997; Etikettierungsrichtlinie, 1998), welche sich trotz der Kennzeichnungsbefreiung der Sojalecithinanwendungen (siehe 1.) als Zusatzstoffe ganz wesentlich auf den Lecithinbereich auswirken, befaßten sich wissenschaftliche Fragestellungen bisher mit Bereichen wie z.B. der Erforschung von Struktur-/ Wirkungsbeziehungen von Lecithinen, analytischen Untersuchungen zur Zusammensetzung von Lecithinen oder technologischen Verfahren zur Lecithinherstellung/-gewinnung.

Ein in weiten Bereichen bisher nur wenig und wenn, dann im wesentlichen empirisch erforschtes Gebiet, welches sich gerade in den letzten Jahren in nachteiliger Hinsicht als immer bedeutender für Sojalecithine herausgestellt hat, ist das Flavor (Definition siehe 3.1.1) von Sojalecithinen, ganz besonders das off-Flavor und dessen Einfluß auf das Endprodukt.

Während in klassischen Anwendungsgebieten von Lecithinen (wie z.B. in der Schokoladenherstellung) aufgrund der eingesetzten Konzentrationen (i.d.R. zwischen 0,3 und 1%, SCOCCA, 1976) sowie aufgrund von Überlagerungen des Lecithin-Flavors mit produktspezifischen Geruchs- und Geschmacksstoffen keine off-Flavor Problematik besteht, sind es insbesondere neuere und innovative (Soja-) Lecithin-Anwendungen, die trotz hervorragender technologischer Lecithineigenschaften deutliche Einschränkungen durch off-Flavor-Bildungen im Endprodukt erfahren. Das Auftreten dieser geruchlichen und geschmacklichen Fehlnoten im Endprodukt geht hierbei einher mit dem Einsatz von Lecithinen in höheren Konzentrationen oder aber ganz besonders in Anwendungen mit höheren Wasser- und gleichzeitig niedrigeren Fettgehalten. Hierbei sind es speziell die enzymatisch hydrolysierten Lecithine, die aufgrund ihrer positiven hydrophilen Eigenschaften eingesetzt werden (sollen), die jedoch einen „heu- und bohnenartigen“ Fehlgeruch

sowie einen als unangenehm und bitter beschriebenen Fehlgeschmack ausbilden (PARDUN, 1982; SESSA, 1985; PARDUN, 1989).

In dieser Arbeit werden deshalb Untersuchungen zur Aufklärung der Entwicklung und Beeinflußbarkeit des Flavors von Sojalecithinen durchgeführt, die beide oben genannten grundlegend unterschiedlichen Teilbereiche (siehe 3.1.1) der Flavorforschung beinhalten: Geruch und Geschmack.

Der erste Teil beschäftigt sich hierbei mit dem Aroma, welches durch flüchtige geruchsaktive Verbindungen verursacht wird und dessen Erforschung durch größtenteils analytisch bekannte und erprobte Verfahren wie z.B. der Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA), dem combined hedonic and response measurement (CHARM) oder dem Aromawertkonzept erfolgen kann (ROTHE und THOMAS, 1963; ACREE et al., 1984; ULLRICH und GROSCH, 1987; GROSCH, 1993a).

Der zweite Teil beinhaltet Untersuchungen zum Geschmack, speziell zum Bittergeschmack von hydrolysierten Lecithinen, der sich im Gegensatz zum Geruch nicht durch eine einheitliche Substanzklasse bzw. physikalische Eigenschaft der Substanzen erfassen läßt, sondern im allgemeinen durch eine Vielzahl von verschiedenen Verbindungen, wie z.B. Alkaloiden, L-Aminosäuren, oxidierten Fettsäuren oder Flavononglykosiden verursacht werden kann (SESSA et al. 1974, BAUR et al., 1977; ROY, 1990). Dementsprechend gilt es, diesen Bereich durch empirische und vor allem sensorische Untersuchungen verschieden behandelter Lecithine systematisch zu erfassen und daraus eine entsprechende spezifische Analytik auf die jeweiligen geschmacklich relevanten Substanzen/Substanzklassen anzuwenden, diese damit zu erfassen und ihren sensorischen Einfluß zu beschreiben.

Im Gegensatz zum Flavor von Sojabohnen sowie Sojaprodukten, wie z.B. Sojamilch, Sojaöl oder Sojaprotein (MACLEOD und AMES, 1988), zu denen es eine Reihe von Flavor-Untersuchungen gibt, gibt es zum Flavor von Sojalecithinen und daraus entwickelten Sojalecithinprodukten bisher nur sehr wenige und zudem veraltete Untersuchungen. Mit Hilfe der Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen läßt sich das Flavor der heutigen Sojalecithine und dessen Ursachen weder hinsichtlich des Aromas (KIM et al., 1984) noch bezüglich des Bittergeschmacks (SESSA et al. 1974, 1976; SESSA und PLATTNER, 1979; NEY, 1979; MOLL et al., 1979) erfassen oder erklären.

Aroma

Bei der Charakterisierung des Aromas (siehe 3.1.1) der Lecithine und dem direkt damit verbundenen Aufzeigen möglicher Bildungswege gilt es zu berücksichtigen, daß neben der Peroxidation der in hohen Gehalten im Lecithin vorkommenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren (siehe 3.2.3) eine Reihe weiterer Mechanismen der Aromastoffbildung, insbesondere auch Reaktionen der stickstoffhaltigen organischen Reste, sowie Reaktionen aus dem komplexen Gemisch der Begleitsubstanzen (u.a. freie Fettsäuren, Glykolipide, Kohlenhydrate und Proteinreste) eine mögliche Bedeutung für das Aroma besitzen können.

Die folgende Tabelle 1 zeigt eine Auswahl von flüchtigen Verbindungen, welche durch Peroxidation aus einzelnen Fettsäuren wie z.B. der Linol- oder der Linolensäure sowie aus Sojaöl entstehen können. Zu ihrer Identifizierung haben u.a. ULLRICH und GROSCH (1987, 1988), SELKE und FRANKEL (1987), GUTH und GROSCH (1990b), MAHUNGU et al. (1994) und LEE et al. (1995) beigetragen. Eine Reihe der in Tabelle 1 genannten flüchtigen Verbindungen wurde zudem quantifiziert. Die Ergebnisse dieser qualitativen und quantitativen Untersuchungen geben Aufschlüsse über Oxidationsprodukte und deren Aromaeinfluß in reinen Fetten/Ölen.

Tabelle 1: Auswahl flüchtiger Verbindungen, gebildet aus Linolsäure, Linolensäure, Trilinolein und Sojaöl (ULLRICH und GROSCH, 1987, 1988; GUTH und GROSCH, 1990; MAHUNGU et al., 1994; LEE et al., 1995)

Verbindung	Aromabeschreibung	Konzentration in µg/kg und (Aromawert)	
		Sojaöl ¹⁾	Trilinolein ²⁾
Pentanal	stechend	---	11,9
Hexanal	frisch	2367 (32)	70,8
(Z)-3-Hexenal	grün, apfelartig	94 (34)	---
Heptanal	fettig	---	4,3
(E)-2-Heptenal	fruchtig, seifig	---	268,7
1-Octen-3-on	champignonartig, metallisch	11 (36)	---
1-Octen-3-ol	champignonartig	---	31,2
3-Octen-2-on	würzig, fettartig, nußartig	---	---
(Z)-2-Octenal	fettartig, fruchtig	---	---
(E)-2-Octenal	fettartig, nußartig	---	36,0
(Z)-1,5-Octadien-3-on	metallisch, geranienartig	0,6 (20)	---
(Z)-3-Nonenal	frisch, gurkenartig	---	---
(E)-3-Nonenal	fettartig	---	---

(Z)-2-Nonenal	fettig, grün, leicht ranzig	4,4 (7,3)	---
(E)-2-Nonenal	gurkenartig, talgig	28 (<1)	43,4
(E,Z)-2,6-Nonadienal	gurkenartig, grün	2,6 (2)	---
(E,E)-2,4-Nonadienal	fettartig, seifig	---	---
3-Methyl-2,4-nonandion	strohig	721 (481)	---
(E,Z)-2,4-Decadienal	talig, fruchtig	28	63,8
(E,E)-2,4-Decadienal	frittierfettartig	42 (1)	322,5

¹⁾ Konzentrationen und (Aromawerte) von flüchtigen Verbindungen aus Sojaöl nach 30tägiger Lagerung unter Tageslicht, berechnet mit der Konzentration der flüchtigen Komponente dividiert durch die Geruchsschwelle der Verbindung (GUTH und GROSCH, 1990b)

²⁾ Konzentrationen von flüchtigen Verbindungen aus Trilinolein nach 12-stündigem Erhitzen auf 190° C (MAHUNGU et al., 1994)

Diese Ergebnisse der Untersuchungen des Sojaöls sind jedoch durch die komplexe und völlig andere Zusammensetzung der Sojalecithine keinesfalls auf diese übertragbar. Dies zeigen u.a. die Untersuchungen von KIM et al. (1984), die in entölten Sojalecithinen 79 flüchtige Verbindungen identifiziert haben. Bei diesen 79 Substanzen, von denen Tabelle 2 eine Auswahl enthält, handelt es sich um Verbindungen einer Reihe von verschiedenen Stoffklassen, die auf mehrere unterschiedliche Bildungswege hindeuten. KIM et al. (1984) untersuchten dabei die Majorkomponenten der flüchtigen Fraktion, die jedoch nach dem von ROTHE und THOMAS (1963) entwickelten Aromawertkonzept sensorisch völlig unbedeutend sein können und somit keinen Aufschluß über das Aroma geben. Die Untersuchungen von KIM et al. (1984) behandeln zudem vielmehr das Problem der Entölung, bei der in früheren Jahren aufgrund der Prozeßführung Acetonkondensationsprodukte wie Mesityloxid oder Isophoron in sehr hohen Konzentrationen entstanden, im Lecithin verblieben und das Aroma von entölten Sojalecithinen zur damaligen Zeit entscheidend mitprägten.

Tabelle 2: Auswahl flüchtiger Verbindungen im entölten Sojalecithin (KIM et al., 1984)

Stoffklasse (Anzahl d. Verbindungen)	Verbindung	relative Peakgröße¹⁾
Kohlenwasserstoffe (28)	2,2,4-Trimethylheptan	M
	1-Penten	XL
	1,3-Octadien	S
Ketone (31)	3-Penten-2-on	XL
	2-Hexanon	XL
	Isophoron	S

		2-Octanon	S
		3-Octen-2-on	M
		2-Nonanon	XS
Aldehyde	(2)	Hexanal	XL
Alkohole	(2)	1-Octen-3-ol	XS
Ester	(4)	n-Pentylacetat	S
Lactone	(2)	4-Hydroxybuttersäurelacton	XS
Nitrile	(6)	n-Butylnitril	S
		α -Methylbutylnitril	S
		3-Hydroxy-4-cyano-1-buten	XS
Heterocyclen	(2)	2-Pentylfuran	XS
		4,5-Dimethylisoxazol	XS
Sonstige	(2)	Chloraceton	XS

¹⁾ XL = extra large; L = large; M = medium; S = small; XS = extra small

Geschmack

Bei den Untersuchungen zum Geschmack (siehe 3.1.1) steht im wesentlichen der Bittergeschmack der Sojalecithine im Vordergrund. Hierbei besteht zunächst die Notwendigkeit, die im Lecithin vorhandenen Substanzklassen hinsichtlich des Auftretens der Merkmalseigenschaft „bitter“ zu überprüfen und festzustellen, inwieweit durch Phospholipid-modifizierende Prozesse (wie z.B. der enzymatischen Hydrolyse) Bitterkomponenten gebildet bzw. entfernt werden. Wie bereits zuvor erwähnt liegt dem Bittergeschmack (entgegen dem Aroma mit der Flüchtigkeit der Komponenten) keine bekannte einheitliche physikalische Eigenschaft oder Substanzklasse zugrunde.

NEY (1979) versucht die Bitterkeit von Lipiden durch den Quotienten aus der Anzahl der C-Atome eines Moleküls und der Anzahl seiner Hydroxylgruppen abzuleiten und bezeichnet dies als R-Wert. Bittere Verbindungen weisen demnach R-Werte zwischen 2,00 und 6,99 auf. Der Bittergeschmack kann von Phosphatiden selbst (SESSA et al., 1974, 1976), wie z.B. von Lyso-lauroyl-phosphatidylcholin (R=6,66), aber auch von Oxidationsprodukten der Fettsäuren, wie z.B. Trihydroxyoctadecensäuren (R=6,00), verursacht werden (NEY, 1979). Untersuchungen von BAUR und GROSCH (1977), BAUR et al. (1977) und MOLL et al. (1979) am Bittergeschmack oxidierten Linolensäure bzw. den Fettsäuren in Sojabohnen verweisen als Hauptkomponenten des Bittergeschmacks auf die Trihydroxyfettsäuren 9,12,13-Trihydroxy-

10-trans-octadecensäure und 9,10,13-Trihydroxy-11-trans-octadecensäure mit Geschmacksschwellen von 0,6 - 0,9 µmol/ml Emulsion. Zudem beschreiben WIESER et al. (1984) sowie GROSCH und LASKAWY (1984), daß auch ungesättigte freie Fettsäuren wie z.B. Linolsäure (Schwellenwert 4-6µmol/l) bitter schmecken, wenn sie in emulgierter Form vorliegen. Als weitere Ursachen des Bittergeschmacks der Fettfraktion von Sojabohnen werden Produkte aus der Lipoxygenase- und Peroxydase-Aktivität beschrieben (RACKIS et al., 1972; KALBRENNER et al., 1974). Die Entfernung der Aceton-löslichen Bestandteile des Lecithins durch Entölung führt hierbei jedoch nicht zur Entfernung des Bittergeschmacks.

Bisherige Verfahren, die sich mit der „Entbitterung“ von Produkten befassen, sind in erster Linie bei bitter schmeckenden Wirkstoffen im medizinischen Bereich zu finden und befassen sich dort mit der Unterdrückung bzw. Maskierung dieser in niedrigen Konzentrationen eingesetzten Wirkstoffe durch Zugabe größerer Gehalte an Substanzen mit maskierender Wirkung (EP PATENT Nr. 0631787A2, 1995).

Zielsetzung

Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen sowohl zum Aroma als auch zum Geschmack von Sojalecithinen bzw. Sojaölen zeigen, daß es z.Zt. nur wenige Hinweise zum tatsächlichen Flavor der heutigen Sojalecithine gibt. Es ist bisher weitgehend unbekannt, welche Verbindungen im einzelnen für das Flavor von verschieden behandelten Sojalecithinen und Sojalecithinprodukten verantwortlich sind und welchen Beitrag diese Verbindungen zum Gesamtflavor leisten. Des weiteren ist weitgehend unbekannt, welche Verarbeitungsbedingungen zu welchen Veränderungen in der Flavorzusammensetzung führen. Somit ist es bisher auch nicht möglich, eine zielgerichtete Optimierung von Sojalecithinen hinsichtlich ihrer Flavoreigenschaften durchzuführen bzw. Lecithine gezielt aufgrund ihrer Flavoreigenschaften für entsprechende Anwendungsgebiete einzusetzen.

Daraus ergeben sich für dieses Forschungsvorhaben folgende Ziele:

- a) Die sensorische Charakterisierung und Beschreibung des Flavors von Sojastandardlecithinen und durch enzymatische Hydrolyse, Entölung und Fraktionierung hergestellten modifizierten Lecithinen.

- b) Die Identifizierung und Quantifizierung von flavorrelevanten Verbindungen der Sojalecithine sowie die Charakterisierung hinsichtlich ihrer sensorischen Bedeutung.
- c) Untersuchungen zur technologischen Beeinflußbarkeit der Flavorzusammensetzung im Hinblick auf die Nutzung und Anwendbarkeit von Sojalecithinen in innovativen Produkten (Vermeidung von off-Flavor durch Maskierung, Optimierung der Flavors).

3. Allgemeine Grundlagen

3.1 Begriffsbestimmungen

3.1.1 Flavor

Der Begriff Flavor ist definiert als oraler Gesamtsinneseindruck. Das Flavor umfaßt die Summe olfaktorischer, gustatorischer, temperaturbedingter und/oder trigeminaler und haptischer Sinneseindrücke im Mund (DIN 10950-1, 1999; ISO 5492, 1992). Die olfaktorischen Eindrücke entstehen hierbei durch Einwirkung flüchtiger Substanzen auf die in der Riechschleimhaut der Nase befindlichen Chemosensoren. Als Aroma wird der Gesamtgeruchseindruck beschrieben, der sich aus dem Geruchseindruck direkt über die Nase (nasal) und indirekt über den Rachenraum beim Verzehr (retronasal) zusammensetzt. Gustatorische Eindrücke kennzeichnen den Geschmack, welcher über Geschmacksrezeptoren der Mundhöhle wahrgenommen wird. Temperaturbedingte, trigeminale und haptische Eindrücke lassen sich vereinfacht als Tastempfindungen (Somatosensorik) zusammenfassen. Abbildung 1 zeigt schematisch das Zusammenwirken der in dieser Arbeit untersuchten Teilfaktoren der Ausbildung von Flavor und Aroma.

Die Begriffe off-Flavor bzw. Fehlgeruch oder Fehlgeschmack bezeichnen Sinneseindrücke, die als negativ und nicht charakteristisch (untypisch) für das Lebensmittel angesehen werden.

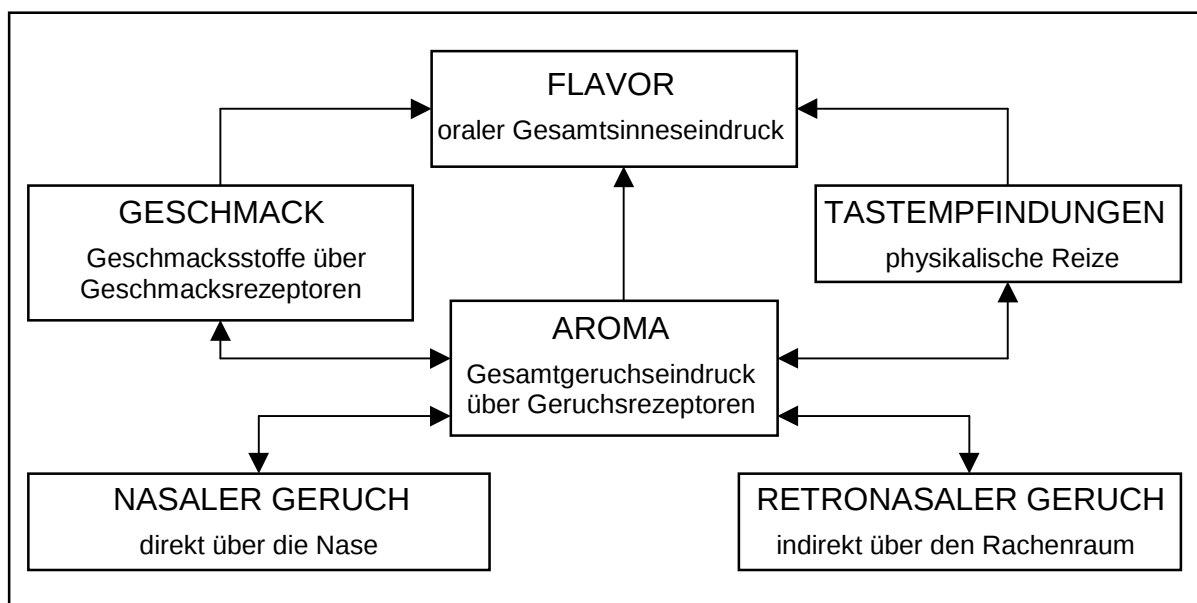


Abb.1: Zusammenwirken verschiedener Teilfaktoren des Flavors (ROTHE, 1978; JELLINEK, 1981)

3.1.2 Phospholipide

Zur Gruppe der Phospholipide bzw. Phosphatide gehören nach der wissenschaftlichen Definition alle Phosphor-haltigen Lipide. Der Begriff Lecithin kann deutlich weiter gesteckt sein, zum einen historisch als Synonym für das Phosphatidycholin (PC), zum anderen rechtlich als (Phospho-) Lipid-Gemisch polarer und unpolarer Bestandteile mit u.a. einem definierten Mindestgehalt an Acetonunlöslichem. Zudem wird Lecithin im allgemeinen Sprachgebrauch häufig auch als Synonym für Sojalecithin verwendet, da Soja die Hauptquelle für die Lecithin-Gewinnung ist (vergleiche 1.).

Die im Sojalecithin vorkommenden Phospholipide enthalten als weiteren Baustein Glycerin, an das der Phosphor in Form eines Phosphat-Esters gebunden ist. Die Grundstruktur dieser Glycerinphosphatide ist das *sn*-Glycerin-3-phosphat. An Position 1 und/oder 2 des Glycerinmoleküls sind jeweils Bindungen mit verschiedenen Fettsäuren möglich, so daß zwischen Diacylphosphatiden und Monoacylphosphatiden, auch Lysophospholipide bzw. Lysolecithine genannt, unterschieden werden kann.

Die verschiedenen Gruppen der Phospholipide unterscheiden sich außerdem durch den spezifischen Phosphat-Rest (Z), welcher mit Ausnahme der Phosphatidsäure, bei der Z ein Wasserstoff-Atom darstellt, esterartig gebunden ist, z.B. Cholin, Ethanolamin oder Inosit (THIELE, 1979). Abbildung 2 zeigt die Struktur der in Sojalecithin vorkommenden Phospholipide.

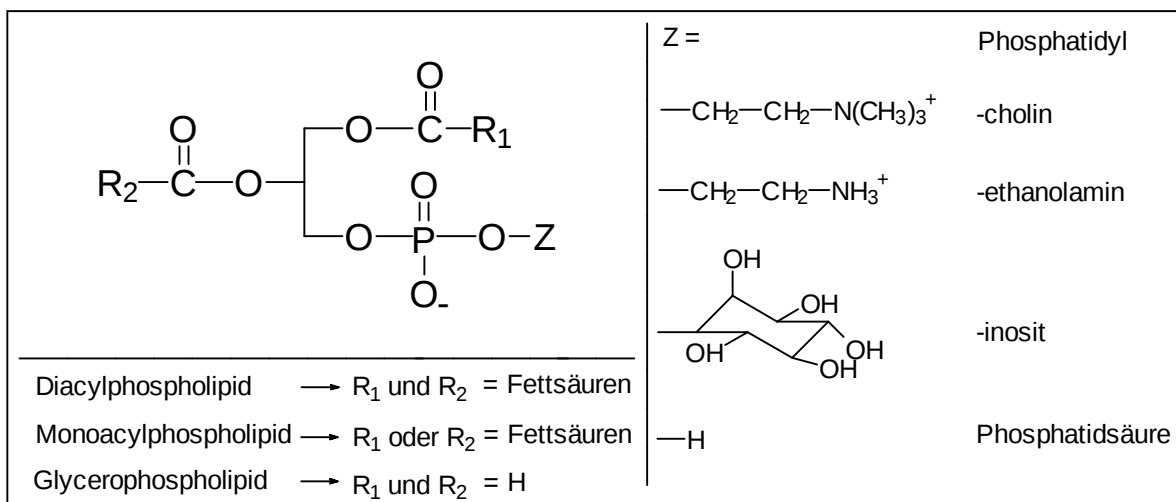


Abb.2: Molekülstruktur von Phospholipiden (THIELE, 1979)

3.2 Sojalecithin

3.2.1 Inhaltsstoffe des Sojalecithins

Neben der Substanzklasse der Phospholipide enthält Sojalecithin eine Reihe weiterer Substanzklassen, welche einen entscheidenden Einfluß auf das Flavor ausüben können. Hierzu zählen zu den Aceton-löslichen Bestandteilen u.a. Tri-, Di-, Monoacylglycerine und freie Fettsäuren, zum Acetonunlöslichen neben den Phospholipiden u.a. Glykolipide und Kohlenhydrate. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Sojalecithin-Inhaltsstoffe.

Für die Bildung sowohl von Aromastoffen als auch Geschmacksträgern sind neben den eigentlichen Phospholipiden sowie den Lipiden ganz besonders die hohen Gehalte an freien und gebundenen Kohlenhydraten von bis zu 13% von Interesse (siehe 3.3.1). Bei den gebundenen Kohlenhydraten handelt es sich um Glykolipide, u.a. Sterylglykosidester, Mono- und Digalaktosyldiacylglycerine (WEBER, 1981). An freien Kohlenhydraten sind im wesentlichen Stachyose, Saccharose und Raffinose enthalten (SCHOLFIELD, 1981).

Tabelle 3: Typische Zusammensetzungen der Inhaltsstoffe von flüssigen Sojalecithinen (WEBER, 1976; NIEUWENHUYZEN, 1976; SCHOLFIELD, 1981; PARDUN, 1989; SCHNEIDER, 1996; LANGE, 1997; MÜLLER et al., 1998)

Inhaltsstoffe von flüssigen Sojalecithinen [g/100g Sojalecithin]					
	WEBER, 1976; PARDUN, 1989	NIEUWEN- HUYZEN, 1976	SCHOLFIELD, 1981	SCHNEIDER, 1996	LANGE, 1997
Acetonlösliches	36,8			38-44	
Triacylglycerine	34,2	35	33-35	35-40	29,9-34,7
Diacylglycerine	0,4				
Freie Fettsäuren (FFA)	0,4			2	
Sterine		5 ¹⁾	2- 5	1- 2	0,6- 2,6
Sonstige Neutrallipide	1,8		0,13 ²⁾		
Acetonunlösliches	63,2				
Phospholipide	50,0	60		56	50,4-54,8
Glykolipide	6,5			6	6,7-10,7
Kohlenhydrate	6,7	5 ¹⁾	5		3,7- 6,1
Proteine					bis zu 0,31 ³⁾
Wasser			1		0,5 ³⁾

¹⁾ Summenbestimmung; ²⁾ Tocopherol; ³⁾ MÜLLER et al., 1998

3.2.2 Phospholipid-Zusammensetzung

Die Verteilung der Phospholipide in kommerziellen Lecithinen lässt sich (ebenso wie die Gesamtzusammensetzung der Lecithine) durch Verfahren wie z.B. der enzymatischen Hydrolyse oder der Fraktionierung grundlegend verändern. Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Verteilung der Phospholipide in flüssigen Rohlecithinen. Hauptphospholipide sind Phosphatidylcholin (PC), -ethanolamin (PE), -inosit (PI) sowie die Phosphatidsäure. Durch (enzymatische) Hydrolyse erhöhen sich die Lysophosphatid-Gehalte, während gleichzeitig die der Diacylphosphatide abnehmen. Die Bildung von Glycerophospholipiden (GPL) ist hierbei möglich. Neben den oben genannten Phospholipiden kommen als Minorkomponenten N-Acylphosphatidyl-ethanolamin (NAPE), Phosphatidylglycerin (PG) und Diphosphatidylglycerin (DPG) vor. Phosphatidylserin (PS) wird in neueren Untersuchungen nicht als Bestandteil von Sojalecithin gefunden (SCHNEIDER, 1997).

Tabelle 4: Typische Phospholipid-Zusammensetzungen von flüssigen Soja(roh-)lecithinen (WEBER, 1976; NIEUWENHUYZEN, 1976; SCHOLFIELD, 1981; PARDUN, 1989; SCHNEIDER, 1997; LANGE, 1997)

Phospholipidzusammensetzung in flüssigen Soja(roh)lecithinen [g/100g Sojalecithin]					
	WEBER, 1976; PARDUN, 1989	NIEUWEN- HUYZEN, 1976	SCHOLFIELD, 1981	SCHNEIDER, 1997 ¹⁾	LANGE, 1997
PC	19,1	20	19-21	21,9	7,5-16,9
LPC	0,8			2,9 ²⁾	
PE	8,7	15	8-20	13,6	5,3-16,0
LPE	0,2			2,9 ²⁾	
PI	8,8	20	20-21	12,0	5,1-13,7
LPI				2,9 ²⁾	
PA	4,2			5,8	2,0-14,5
NAPE	1,0			2,8	
PS	0,3			n.n.	
PG	0,6			2,3 ³⁾	
sonstige	6,4	5	5-11	3,6	
Summe	50,1	60		64,9	

¹⁾ Angaben in g/100g AU; ²⁾ Summe aller Lyso-PL; ³⁾ Summe von PG und DPG

3.2.3 Fettsäureverteilung der Phospholipid-Fraktion von Sojalecithinen

Die in Sojalecithinen bedeutenden Fettsäuren sind Palmitinsäure (16:0), Stearinsäure (18:0), Ölsäure (18:1 ω 9), Linolsäure (18:2 ω 6) und Linolensäure (18:3 ω 3). Tabelle 5 zeigt das Fettsäuremuster von Sojalecithinen. Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren Linol- und Linolensäure sind dabei zu etwa 60% an der *sn*-2-Position des Diacylglycerins und nur zu etwa 40% an der *sn*-1-Position verestert. Im Gegensatz dazu sind die gesättigten Fettsäuren Palmitin- und Stearinsäure zu über 90% an der *sn*-1-Position gebunden. Ölsäure befindet sich in etwa zu gleichen Teilen an *sn*-1 und *sn*-2-Position (PARDUN, 1989).

Tabelle 5: Typische Fettsäuremuster der Phospholipidfraktion von Sojalecithinen (WEBER, 1976; PARDUN, 1989; MACRAE et al., 1993; SCHNEIDER, 1997; VERLEYSEN und SANDRA, 1997)

Fettsäureverteilung der Phospholipidfraktion von Sojalecithinen [Relativ%]					
	WEBER, 1976	PARDUN, 1989	MACRAE et al., 1993	SCHNEIDER, 1997	VERLEYSEN und SANDRA, 1997
16:0	17,4	21,4	15,6	21,4	18,6
18:0	4,0	4,4	4,7	3,8	5,9
18:1 ω 9	17,7	9,9	17,9	12,0	14,2
18:2 ω 6	54,0	58,7	54,0	57,0	55,0
18:3 ω 3	6,8	5,5	6,7	5,8	6,3
andere		0,2	1,1		
Summe	je Spalte 100%				

Die jeweiligen Fettsäuren verteilen sich hierbei wie folgt auf die entsprechenden Major-Phospholipide (Tabelle 6):

Tabelle 6: Fettsäureverteilung in Phospholipiden von Sojalecithinen (WEBER, 1981; HILDEBRAND et al., 1984; SIMPSON, 1989; GHOSH und BHATTACHARYYA, 1997)

Fettsäureverteilung in den jeweiligen Phospholipiden [Relativ%]												
	PC				PE			PI			PA	
	1)	2)	3)	4)	1)	2)	3)	1)	2)	3)	1)	2)
16:0	13,1	15,5	15,5	18,3	17,0	29,8	23,2	24,3	33,9	35,5	11,0	15,8
18:0	3,8	4,4	4,0	2,8	2,8	4,6	2,6	9,7	7,9	6,9	2,8	4,4
18:1 ω 9	17,5	11,9	14,5	13,4	15,8	14,0	11,6	12,2	6,2	7,8	16,2	9,6
18:2 ω 6	61,7	62,5	60,3	59,3	60,6	48,7	57,1	49,6	46,2	44,3	65,4	64,4
18:3 ω 3	3,9	5,7	5,6	5,2	4,0	2,8	5,5	4,3	5,8	5,4	4,5	5,8
Summe	je Spalte 100%											

¹⁾ SIMPSON, 1989 ²⁾ HILDEBRAND et al., 1984 ³⁾ WEBER, 1981 ⁴⁾ GHOSH und BHATTACHARYYA, 1997

Weitere Fettsäuren sind in Sojalecithinen mit Ausnahme der Furanfettsäuren, für die in Sojaöl die Potenz eines lichtinduzierten Fehl aromas (Photooxygenierung) nachgewiesen wurde (GUTH und GROSCH, 1991), von untergeordneter Bedeutung. Tabelle 7 gibt einen Überblick über die in Sojaöl nachgewiesenen Furanfettsäuren sowie deren Gehalte.

Tabelle 7: Furanfettsäuren in Sojaöl nach GUTH und GROSCH (1991)

Furanfettsäuren in Sojaöl [mg/kg Öl]	
10,13-Epoxy-11-methyloctadeca-10,12-diensäure	7- 23
10,13-Epoxy-11,12-dimethyloctadeca-10,12-diensäure	121-170
12,15-Epoxy-13,14-dimethyleicosa-12,14-diensäure	132-229

3.2.4 Klassische Lecithinkennzahlen

Neben den Analysen über die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe der Sojalecithine, der Phospholipidverteilung sowie der Fettsäurezusammensetzung beinhaltet die Lecithinanalytik eine Reihe von klassischen Untersuchungsverfahren wie z.B. die Bestimmung der Fettkennzahlen. Hierzu zählen bspw. Jodfarbzahl, Säurezahl, Peroxidzahl oder Jodzahl. Des weiteren geben Untersuchungen zur Acetonunlöslichkeit, Toluolunlöslichkeit (vergleiche ZVerKV) oder aber Viskositätsmessungen und pH-Wert Aufschluß über die Lecithinqualität. Tabelle 8 gibt hierzu Beispiele von einigen Lecithin-Kennzahlen für flüssige Sojalecithine.

Tabelle 8: Kennzahlen von flüssigen Sojalecithinen

Auswahl von Lecithin-Kennzahlen			
	PARDUN, 1989	MACRAE et al., 1993	MÜLLER et al., 1998
Acetonunlösliches	69	35-98	65
Toluolunlösliches		0,05-0,3	<0,1
Säurezahl	21	20-36	23
Peroxidzahl		0-10	<1
Jodfarbzahl	25		35

3.2.5 Modifizierung von Lecithinen

Abbildung 3 stellt eine Übersicht über die industrielle Verarbeitung und Behandlung von Sojalecithinen dar.

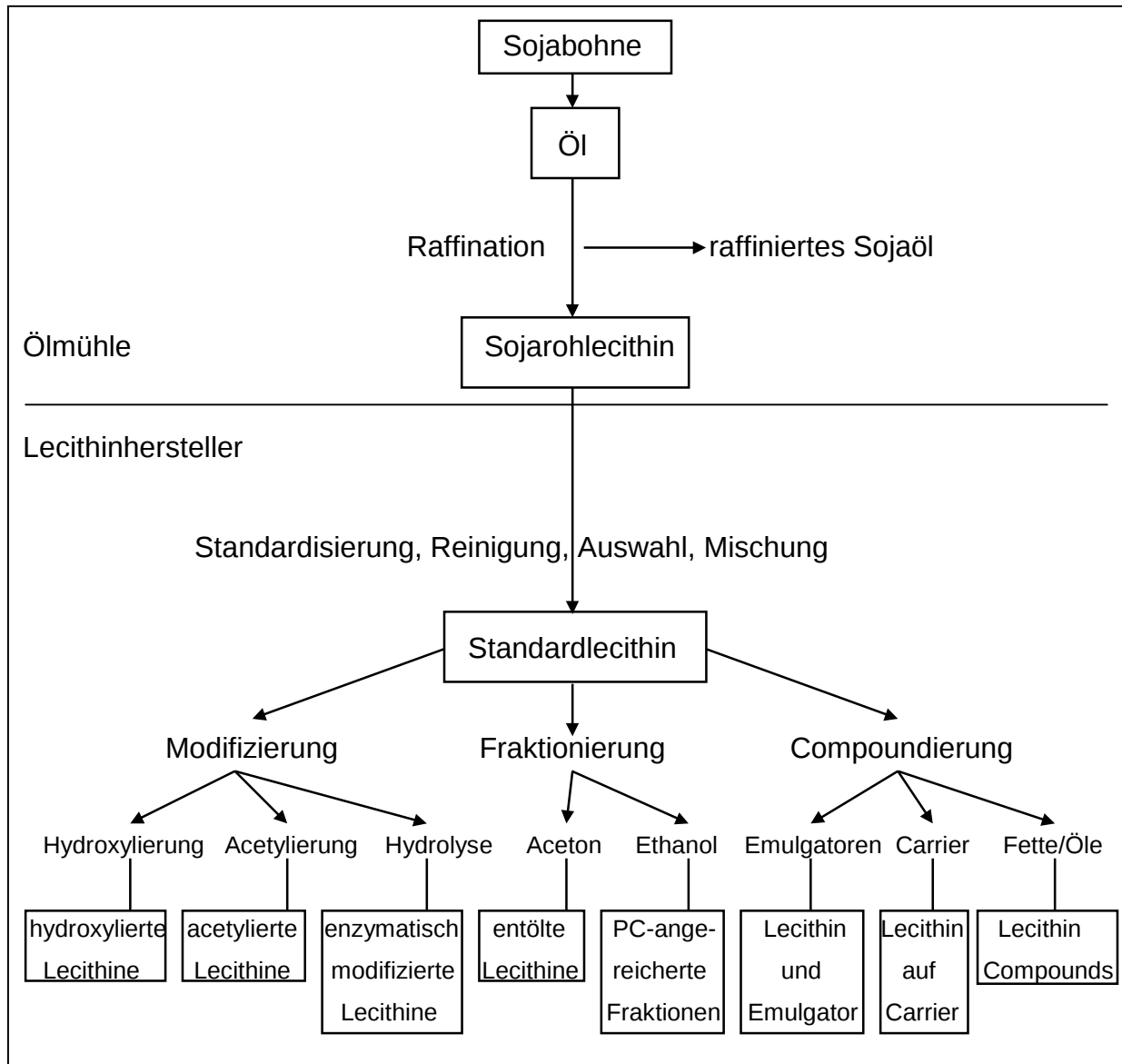


Abb.3: Schema der Sojalecithinverarbeitung (SCHNEIDER, 1997)

In dieser Arbeit wurden Untersuchungen zur Aufklärung des Flavors an Sojarahlecithinen, Standardlecithinen, enzymatisch modifizierten, Ethanol-fraktionierten und Aceton-entölte Lecithinen durchgeführt. Der Schwerpunkt lag hierbei bei den enzymatisch hydrolysierten Lecithinen, welche in flüssiger und in entölter Form sowie mittels Ethanol und Säulenchromatographie fraktioniert untersucht wurden.

3.2.5.1 Enzymatische Hydrolyse

Die enzymatische Hydrolyse von Lecithinen ist grundsätzlich an vier Positionen im Diacylglycerin-Molekül möglich. Abhängig vom Angriffspunkt am Molekül unterscheidet man die Phospholipasen A, B, C und D (Abbildung 4). Während die Phospholipasen A₁, A₂ und B Fettsäuren abspalten, spalten die Phospholipasen C und D an der Glycerophosphat-Bindung bzw. an der Esterbindung zum organischen Rest (Z).

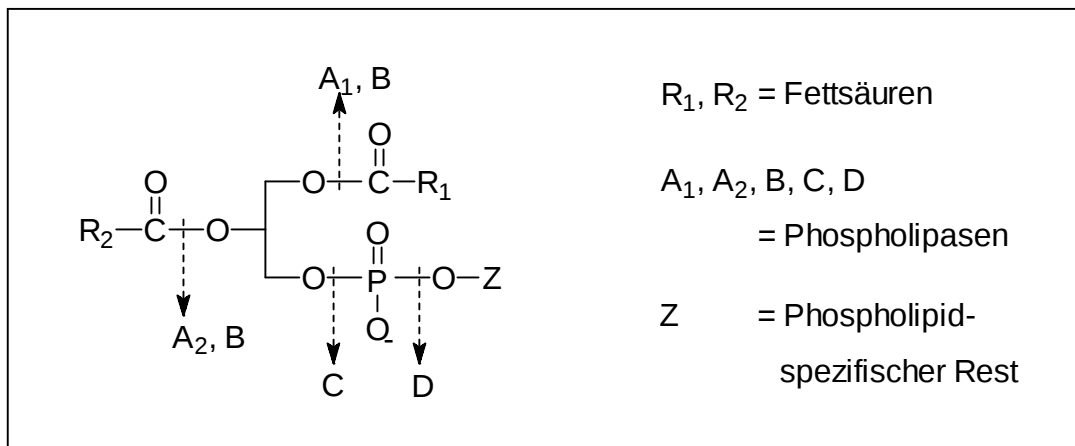


Abb.4: Schematische Darstellung der hydrolytischen Spaltung von Phospholipiden durch Phospholipasen A₁, A₂, B, C und D (SESSA, 1985).

Von kommerzieller Bedeutung sind z.Zt. nur enzymatische Hydrolysen mit der Phospholipase A₂ (SCHNEIDER, 1997), bei der die Lysolecithine durch enzymatische Hydrolyse von Standardlecithinen mit Phospholipase A₂-Lösungen (10000 - 50000 IU/kg Phospholipid) gewonnen werden. Standardlecithin, Wasser, Enzym-Lösung und Calciumchlorid werden bei 50 bis 60° C homogen vermischt und in Abhängigkeit vom gewünschten Hydrolysegrad (20 - 50% bezogen auf Phosphatidylcholin) bei 60° C und pH 8,0 bis 8,5 zwischen 10 und 24 Stunden gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgt durch Trocknung des Lecithins (DT-PATENT 1692567, 1967; DT-PATENT Nr. 1900959, 1970; DT-PATENT 2063128, 1971; EP PATENT 0260573A2, 1988). Die auf diese Weise hydrolysierten Lecithine weisen im Vergleich zum Ausgangslecithin deutlich erhöhte hydrophile Eigenschaften auf. Der HLB-Wert (hydrophile-lipophile Balance) steigt von HLB_≅3 beim Ausgangslecithin auf etwa HLB_≅7 für die partiell hydrolysierten Lecithine. Hydrolysegrade über 50% verbessern noch die Dispersionseigenschaften, jedoch nicht mehr die Emulgierkapazität der Lysolecithine (SCHNEIDER, 1997).

3.3 Bildung von Flavor

3.3.1 Allgemeines

Der Flavorbildung unterliegen zahlreiche Reaktionen, die unterschiedlich stark in bestimmten Lebensmittelgruppen vorkommen. Obst, Gemüse und Gewürze enthalten Aroma- und Geschmacksstoffe, die überwiegend aus dem Sekundärstoffwechsel hervorgehen. Fleisch, Fisch, Milch und Cerealien dagegen sind von Natur aus arm an Aromen. Erst bei der Verarbeitung entstehen z.B. durch Erhitzen und/oder Fermentation produkt- und prozeßspezifische Aromen.

Grundsätzlich lassen sich die Bildungswege der Aromastoffe in enzymatische und nicht-enzymatische Reaktionen einteilen. Bei den enzymatischen Reaktionen unterscheidet man solche, bei denen die Bildung der Aromastoffe intrazellulär abläuft, und andere, bei denen die Aromakomponenten nach Zerstörung des Zellverbandes gebildet werden. Unter den nicht-enzymatischen Bildungswegen sind vor allem die Reaktionen unter Einfluß von Licht und Temperatur von Bedeutung. Als typische nicht-enzymatische Umsetzungen sind z.B. die Lipid-Autoxidation, der STRECKER-Abbau und die MAILLARD-Reaktion zu nennen. Zusätzlich können auch noch Reaktionen von bereits gebildeten Aromastoffen mit z.B. Lipiden, Proteinen oder Kohlenhydraten zu weiteren geruchsaktiven Verbindungen führen oder aber durch Wechselwirkungen mit diesen Matrixbestandteilen in ihrer Retention beeinflusst werden.

Viele in der Literatur veröffentlichte Reaktionswege der Aromastoffbildung stellen nur Hypothesen bzw. postulierte Mechanismen dar. Bisher konnten nur bei wenigen Reaktionen angenommene Zwischenprodukte isoliert, beteiligte Enzyme nachgewiesen und der vorgeschlagene Reaktionsweg durch Modellversuche gesichert werden. Die Schwierigkeit dieser Untersuchungen liegt darin begründet, daß die meisten Aromastoffbildungswege Seitenwege (bio-) chemischer Reaktionen sind, die hinsichtlich der umgesetzten Mengen kaum ins Gewicht fallen.

3.3.2 Aromastoffbildung in Sojalecithinen

Das Spektrum der Aromastoffe in Sojalecithinen setzt sich zum einen aus den aromarelevanten Reaktionsprodukten von Sojalecithin-Inhaltsstoffen, wie z.B. freien Fettsäuren, Neutrallipiden, polaren Lipiden oder Kohlenhydraten zusammen; zum

anderen spielt das hohe Lösungsvermögen der Phospholipide für Aromastoffe, die bspw. in der Sojabohne (und somit auch aus Aminosäuren/Peptiden) bei der Öl-Extraktion der Saaten oder während der Lecithinisolierung in den rohen Extraktionsölen gebildet werden, eine wichtige Rolle für die Aromastoff-Zusammensetzung. Neben diesen Bildungsmöglichkeiten von Aromastoffen trägt die Fraktion der Phospholipide als wesentlicher Bestandteil des Sojalecithins entscheidend zur Bildung aromarelevanter Geruchsstoffe bei. Dieser Einfluß der Phospholipide läßt sich grob auf zwei Hauptursachen zurückführen. Phospholipide stellen einmal die Hauptquelle an ungesättigten Fettsäuren dar, aus denen sich über Peroxidationsprodukte aromawirksame Carbonyl-Verbindungen bilden können, zudem können die verschiedenen Stickstoff-haltigen organischen Reste der Phospholipide mit den aus der Oxidation der ungesättigten Fettsäuren entstandenen Carbonyl-Verbindungen zu weiteren aromawirksamen Verbindungen reagieren (KIM et al., 1984; SESSA, 1985)

Folgende Bildungsmöglichkeiten für Aromastoffe in Sojalecithinen lassen sich daher ableiten:

1. Lipidoxationen von ungesättigten Fettsäuren, insbesondere von Linol-, Linolen- und Furanfettsäuren
2. MAILLARD-Reaktionen von reduzierenden Zuckern (Kohlenhydrate oder Glykolipide) mit N-haltigen Verbindungen (z.B. Ethanolamin aus der Phospholipid-Fraktion)
3. STRECKER-Abbau von Aminosäuren (unter Beteiligung von Dicarbonyl-Verbindungen aus der MAILLARD-Reaktion)
4. Reaktionen der verwendeten Lösungsmittel (z.B. Aldolkondensation von Aceton)

Die Bildungsreaktionen der Aromastoffe sind hierbei sowohl während der Gewinnung des Sojaöls aus der Saat bzw. der Isolierung des Lecithins aus dem Rohöl als auch bei der Verarbeitung und Lagerung der Lecithine möglich.

Im folgenden werden beispielhaft Reaktionsmechanismen der Bildung von Aromastoffen beschrieben, welche in dieser Arbeit als bedeutend für das Aroma von Sojalecithin identifiziert wurden.

Peroxidation

Die Peroxidation der ungesättigten Fettsäuren durch Angriff von Luftsauerstoff kann sowohl auf nicht-enzymatischem als auch auf enzymatischem Wege erfolgen (MISTRY und MIN, 1992). Abbildung 5 zeigt beispielhaft die Bildung eines 1-Alken-3-ons aus einer Allyl-Stellung auf nicht-enzymatischem Wege (GROSCH, 1982).

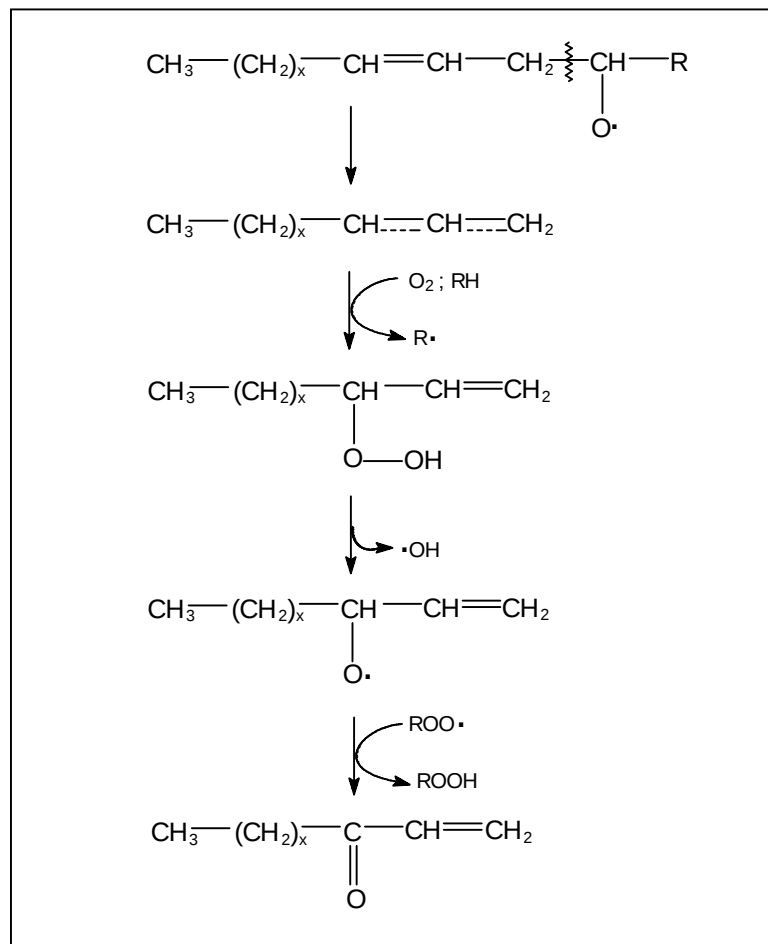


Abb.5: Bildung eines 1-Alken-3-ons aus Allyl-Stellung durch Autoxidation (GROSCH, 1982)

Der Angriff von Sauerstoff wird u.a. durch Katalysatoren, zu denen bspw. Schwermetallionen zählen, sowie durch Erhöhung der Temperatur beschleunigt. Der Autoxidation ungesättigter Fettsäuren liegt ein radikalischer Reaktionsmechanismus zugrunde, was voraussetzt, daß zumindest zeitweise ein Wasserstoff-Atom der Fettsäure homolytisch unter Hinterlassung eines ungebundenen Elektrons abgespalten werden muß. Dies erfolgt am häufigsten an allylständigen C-Atomen, da dann eine Mesomerie-Stabilisierung möglich ist. Das Verhältnis der relativen Oxidationsraten wird dabei (bezogen auf Stearinsäure = 1) für die ungesättigten

Fettsäuren Öl-, Linol- und Linolensäure mit 1 zu 100 zu 1200 und zu 2500 angegeben (LEA, 1952; MISTRY und MIN, 1992).

Neben dem Kohlenstoffatom C 11 besitzt bei der Ölsäure auch das Kohlenstoffatom C 8 allylständige Wasserstoff-Atome. Da die nach Wasserstoff-Abspaltung entstehenden Radikale eine Resonanzstabilisierung erfahren, kann das freie Elektron in den entsprechenden Grenzstrukturen auch an den Kohlenstoff-Atomen C 9 und C 10 lokalisiert sein. Bei der Autoxidation von Ölsäure sind also eine ganze Reihe von Reaktionsprodukten zu erwarten, wie z.B. Alkanale (z.B. Hexanal), Alkenale (z.B. (E)-2-Nonenal) und Alkohole (z.B. 1-Heptanol) (BADINGS, 1970; MISTRY und MIN, 1992). Bei den mehrfach ungesättigten Fettsäuren Linol- und Linolensäure bilden sich aufgrund der höheren Anzahl an allylständigen Wasserstoff-Atomen dementsprechend eine Vielzahl weiterer Reaktionsprodukte, u.a. Dienale (z.B. (E,Z)-2,6-Nonadienal), ungesättigte Ketone wie in Abbildung 5 (z.B. 1-Octen-3-on) oder ungesättigte Alkohole (z.B. 1-Octen-3-ol) (BADINGS, 1970; FRANKEL, 1984).

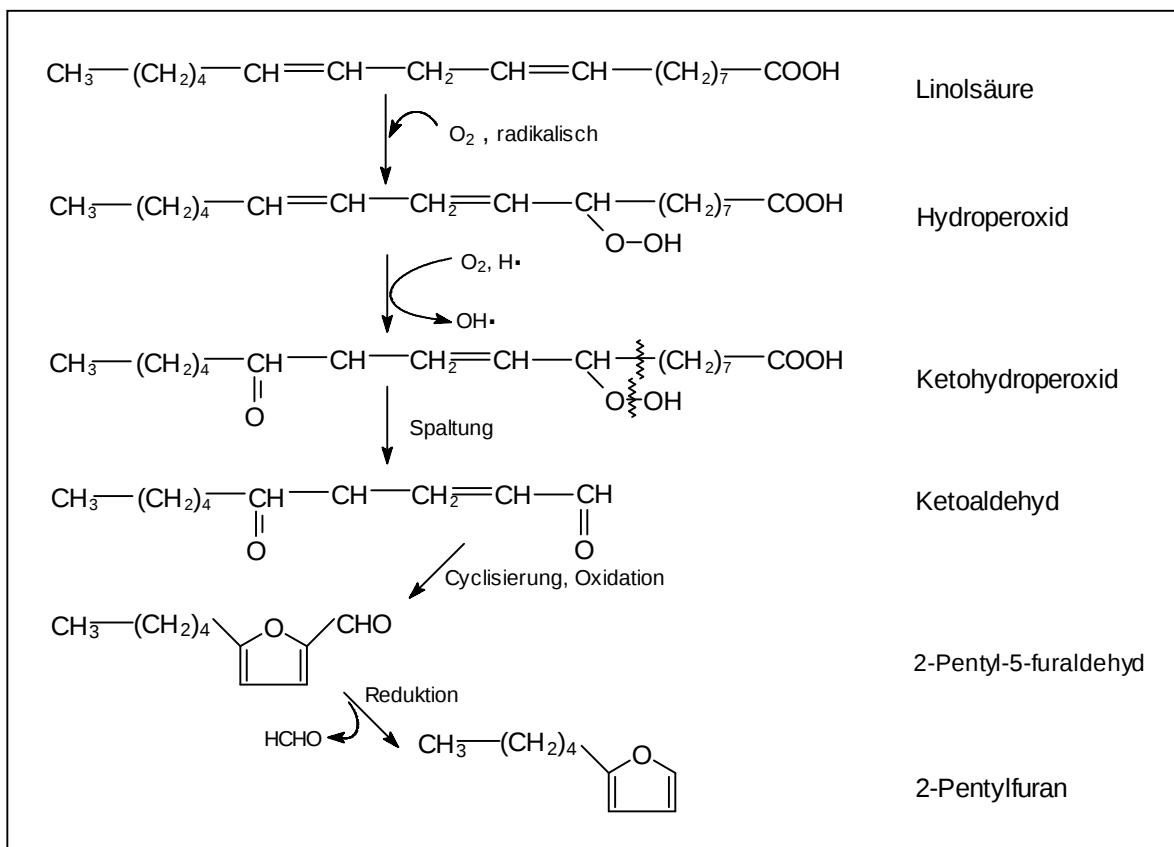


Abb.6: Bildung von Pentylfuran aus Linolsäure (FRANKEL, 1981)

Zu diesen Oxidationsprodukten zählt u.a. auch das Pentylfuran, welches einen strohig, bohnenartigen Geruch aufweist und in (oxidierten) Sojaölen nachgewiesen wurde (SELKE und FRANKEL, 1987; LEE et al., 1995; PINNEL und VANDEGANS, 1996). Die Bildung von Pentylfuran aus Linolsäure, welches nach SMOUSE und CHANG (1967) das Reversionsaroma von Sojaöl verursacht, ist in Abbildung 6 dargestellt.

Neben Autoxidationsprodukten der oben beschriebenen ungesättigten Fettsäuren sind Reaktionsprodukte von verzweigten Furanfettsäuren (siehe 3.2.3, Tabelle 7) in Sojaölen von entscheidender Bedeutung. GUTH und GROSCH (1989; 1990a; 1990b; 1991) identifizierten den Aromastoff 3-Methyl-2,4-nonandion, welcher den als Reversionsgeschmack bezeichneten Aromafehler photooxygenerter Sojaöle verursacht. Die dem in Abbildung 7 beschriebenen Reaktionsweg zugrunde liegende lichtinduzierte Oxidation verzweigter Furanfettsäuren ist hierbei um ein vielfaches schneller als die von Linol- bzw. Linolensäure.

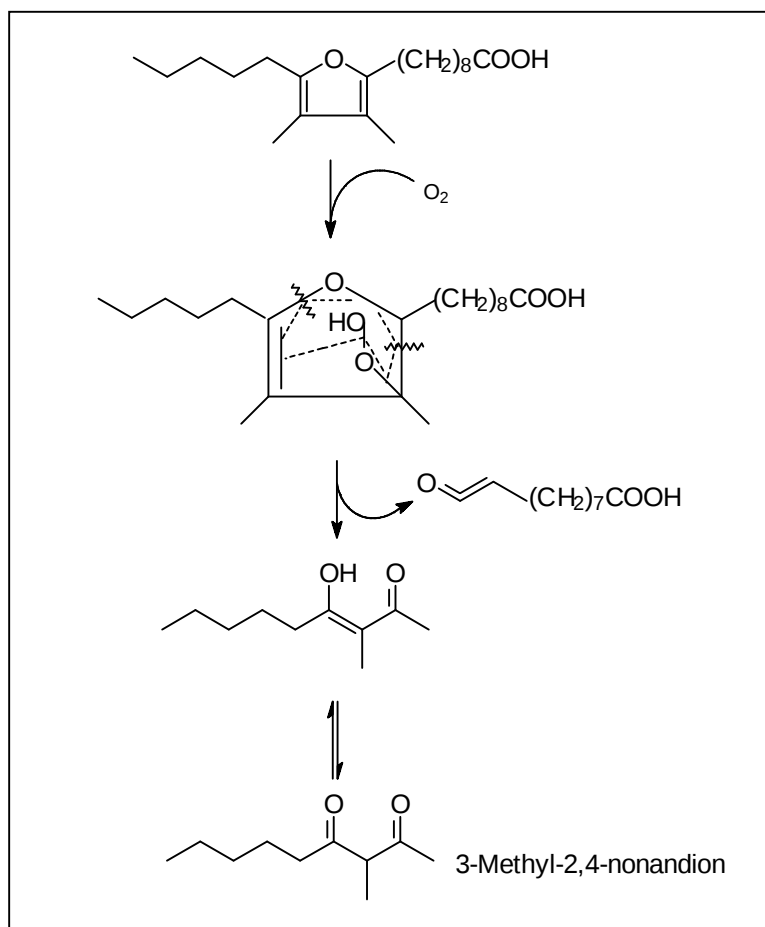


Abb.7: Bildung von 3-Methyl-2,4-nonandion aus verzweigten Furanfettsäuren (GUTH und GROSCH, 1991)

Durch die in Sojabohnen vorkommenden Lipoxygenasen und Peroxidasen ist es auch auf enzymatischem Wege möglich, daß Sauerstoff auf Fette übertragen wird. Abbildung 8 zeigt beispielhaft den Ablauf des Enzym-Angriffs an der ω -6-Stellung von Linolsäure. Nach Freisetzung des Substrates entsteht hierbei 13-Hydroperoxy-octadecadiensäure, die zwei konjugierte Doppelbindungen enthält. Aus den gebildeten Hydroperoxiden werden dann Abbauprodukte wie durch die bereits beschriebene Autoxidation (DEGROOT et al., 1973) gebildet.

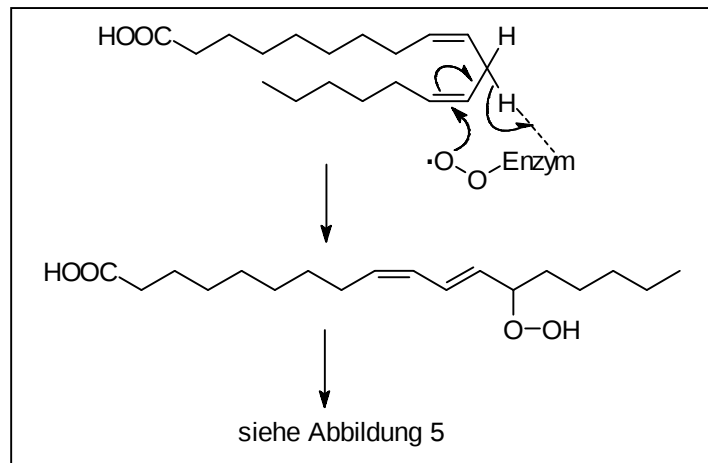


Abb.8: Vereinfachte Darstellung des Enzymangriffs auf Linolsäure (DEGROOT et al., 1973)

MAILLARD-Reaktion, STRECKER-Abbau

Zu den wichtigsten Stickstoff-haltigen Aromastoffen gehören die Pyrazine, die in nahezu jedem thermisch behandelten Lebensmittel zu finden sind (MAGA, 1992; MOTTRAM, 1994; GROSCH, 1998). Mehrere Modellstudien lassen darauf schließen, daß Pyrazine Nebenprodukte der MAILLARD-Reaktion sind (HO und CARLIN, 1989). Eine MAILLARD-Reaktion findet immer dann statt, wenn reduzierende Zucker mit Proteinen, Peptiden, Aminosäuren oder Aminen gemeinsam vorkommen, besonders leicht bei erhöhter Temperatur (BALTES, 1993). Reduzierende Zucker werden in Sojalecithinen bspw. nach hydrolytischer Spaltung aus den Glykolipiden bzw. aus den Kohlenhydraten, die im Sojalecithin zusammen zu etwa 13% vorkommen (PARDUN, 1989), gebildet. Als Stickstoffquelle dienen die Aminoalkohole (Cholin, Ethanolamin) der Phospholipide. Die die MAILLARD-Reaktion begünstigenden höheren Temperaturen wirken im Verlauf der Sojarohölgewinnung, Lecithin-gewinnung sowie insbesondere der enzymatischen Hydrolyse auf das Lecithin ein (FLIDER, 1985; EP PATENT 0260573A2, 1988).

Eingeleitet wird die MAILLARD-Reaktion durch die Bildung eines N-Glykosids, aus dem durch mehrere Umlagerungsreaktionen und Abspaltungen u.a. α -Dicarbonyl-Verbindungen gebildet werden, die ihrerseits bei der MAILLARD-Reaktion die Voraussetzung für den Ablauf eines STRECKER-Abbaus von Aminosäuren (BALTES, 1993) schaffen.

Abbildung 9 zeigt allgemein die Reaktion von Aminosäuren mit einer α -Dicarbonyl-Verbindung. Im Sojalecithin können hierbei zum einen die Major-Aminosäuren der Sojabohne wie z.B. Valin, Leucin oder Isoleucin, aus denen die besonders geruchsaktiven kurzkettigen, verzweigten Aldehyde 2-Methylpropanal, 2- und 3-Methylbutanal entstehen, zum anderen bspw. der Serin-Rest von Phosphatidylserin Quellen des STRECKER-Abbaus sein.

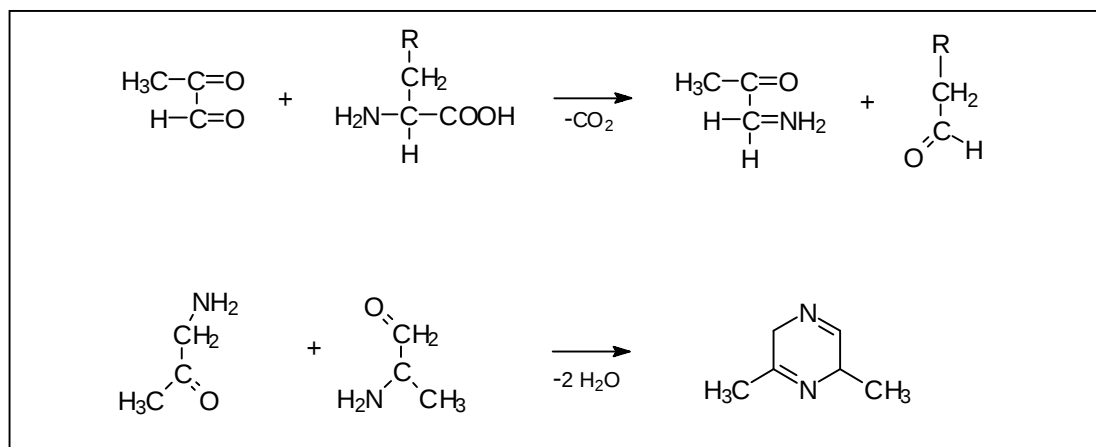


Abb.9: Aminosäure-Abbau nach STRECKER mit nachfolgender Kondensation gebildeter Aminoketone zu einem Dihydropyrazin (HO und CARLIN, 1989; BALTES, 1993; MOTTRAM, 1994)

Neben den sogenannten STRECKER-Aldehyden und CO_2 entsteht bei dieser Reaktion ein Aminoketon. Das gebildete Aminoketon kann im Anschluß in Form einer Dimerisierung zur Vorstufe der Pyrazine reagieren, den sogenannten Dihydropyrazinen (HO und CARLIN, 1989). Die Vielfalt der Pyrazine sowie besonders die Bildung der sehr aromawirksamen trisubstituierten Alkylpyrazine (GROSCH, 1993), die in erhitzten Lebensmitteln auftreten, beruhen nun u.a. darauf, daß die Dihydropyrazine von Aldehyden alkyliert werden können. Dies führt zu den in Abbildung 10 dargestellten trisubstituierten alkylierten Pyrazinen (HO und CARLIN, 1989; CHIU et al., 1990; CERNY und GROSCH, 1994), von denen insbesondere 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin röstig und erdig riechende

Aromastoffe mit sehr niedrigen Geruchsschwellen sind (BLANK et al., 1992; CERNY und GROSCH, 1993).

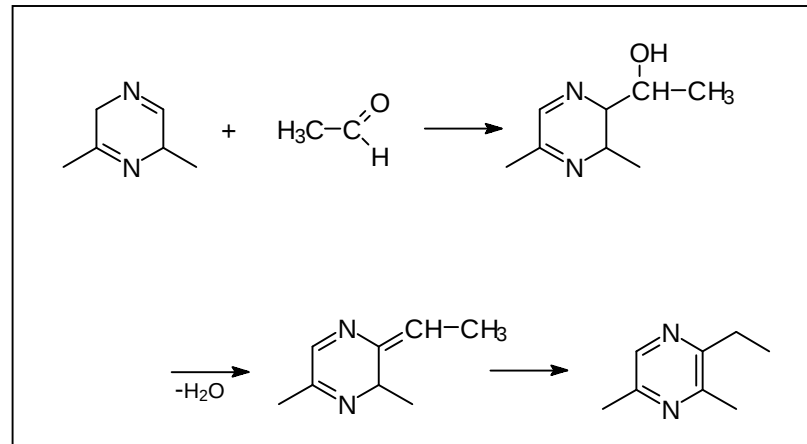


Abb.10: Bildung von 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (HO und CARLIN, 1989; CERNY und GROSCH, 1994)

Neben der Bildung von Pyrazinen aufgrund thermischer Einflüsse ist des weiteren die Bildung von Pyridinen aus Stickstoff-haltigen Verbindungen und Fettoxidationsprodukten von HO und CARLIN (1989) beschrieben. Abbildung 11 zeigt den Bildungsweg von 2-Pentylpyridin, einem intensiv talgartig und strohig riechenden Aromastoff, aus 2,4-Decadienal und einer Aminogruppe.

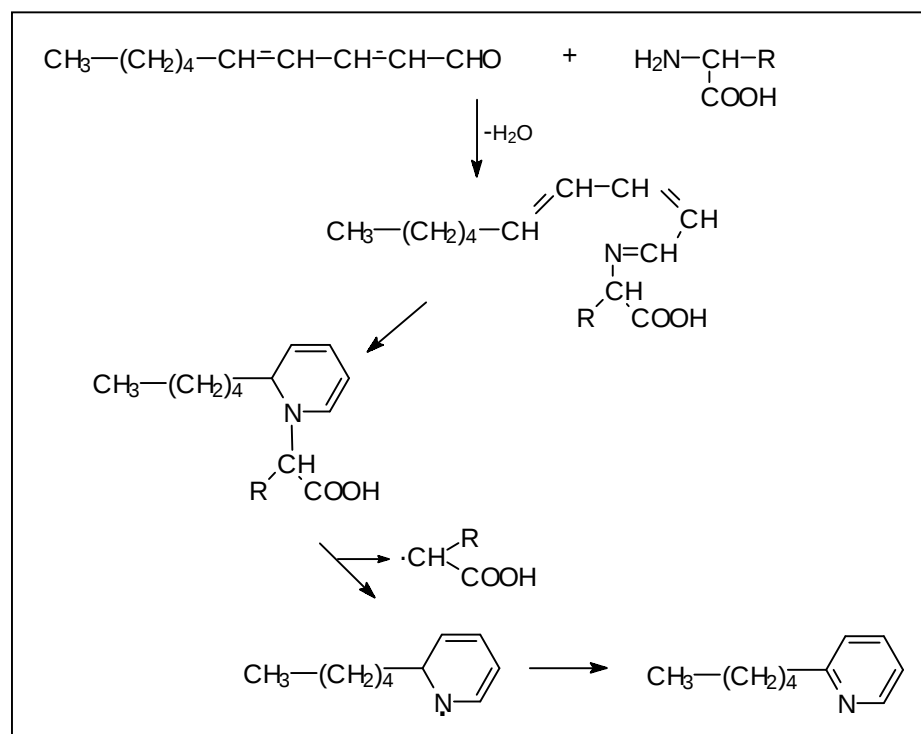


Abb.11: Bildung von 2-Pentylpyridin (HO und CARLIN, 1989).

Aldolkondensation

Neben der Bildung von Aromastoffen aus Sojalecithin-Inhaltsstoffen können geruchsaktive Substanzen durch Reaktionen der verwendeten Lösungsmittel entstehen. Eine bekannte Reaktion, die bei der Verwendung von Aceton zur Entölung von Lecithin vonstatten geht, ist die Aldolkondensation (KIM et al., 1984). Hierbei entsteht durch Kondensation von zwei Acetonmolekülen Mesityloxid und durch ein weiteres Aceton-Molekül Isophoron. Isophoron bildet einen als heu-, kleie- und bohnenartig beschriebenen Geruch aus. Abbildung 12 zeigt den Bildungsmechanismus dieser Verbindung.

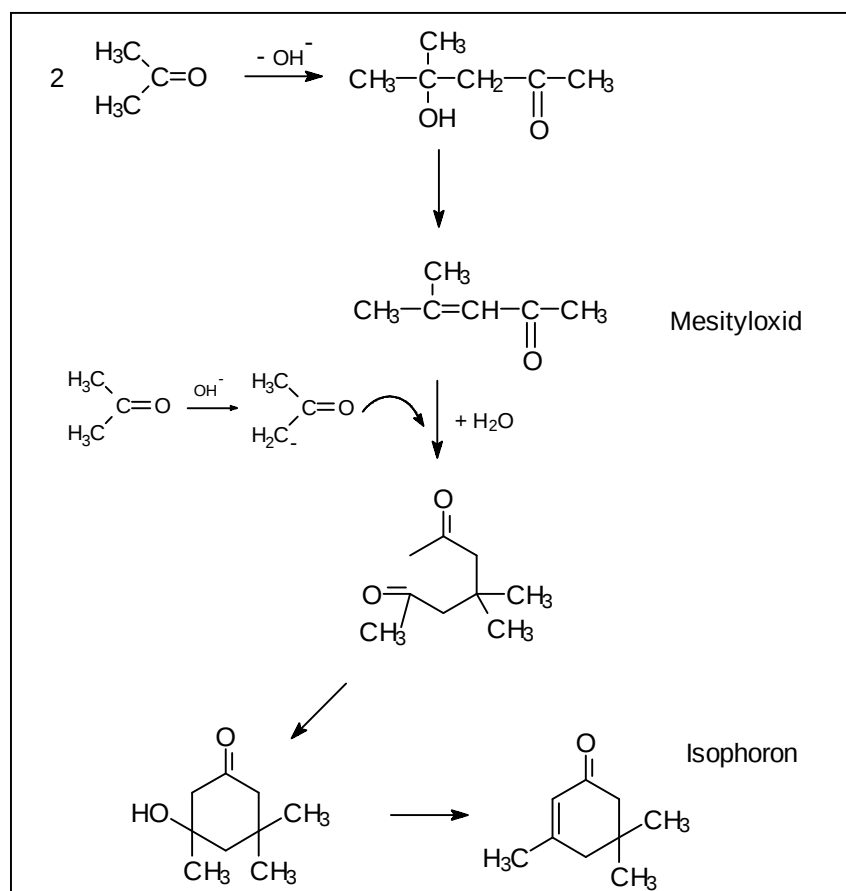


Abb.12: Bildung von Isophoron als Aldolkondensationsprodukt von Aceton (KIM et al., 1984)

3.3.3 Bildung von Geschmacksstoffen

Für die Bildung von Geschmacksstoffen ist es, wie bereits unter Abschnitt 2 erwähnt, wenig zweckmäßig, ihre genauen Reaktionswege zu beschreiben. Zum einen gibt es im Gegensatz zu den Aromastoffen keine einheitlichen Substanzklassen, die für den Bittergeschmack von Sojalecithinen verantwortlich gemacht werden können, zum

anderen können eine Reihe von Inhaltsstoffen den Bittergeschmack der Sojalecithine verursachen.

Die folgende Aufzählung enthält eine Auswahl von in der Literatur diskutierten Substanzen mit Bittergeschmack und deren Bildungsmöglichkeiten. Hierbei gilt es zu überprüfen, inwieweit die entstandenen Substanzen bzw. Substanzklassen für den Bittergeschmack von Lipiden bzw. Sojalecithinen von Bedeutung sein können.

- Ungesättigte Fettsäuren, die durch Hydrolyse in freier Form vorliegen und einen Bittergeschmack entwickeln, wenn sie emulgiert vorliegen (WIESER et al., 1984).
- Oxidierte Fettsäuren und Hydroxyfettsäuren, die aus Linolsäure unter Beteiligung von Lipoxygenasen entstehen und in Emulsion einen Bittergeschmack aufweisen (BAUR et al., 1977; BAUR und GROSCH, 1977; MOLL et al., 1979).
- Phosphatidylcholin-Molekülstrukturen, in denen ungesättigte gebundene Fettsäuren eine Oxidation durch Lipoxygenase erfahren (SESSA et al., 1974, 1976).
- Hydroperoxide der Linol- und Linolensäure sowie ihre weiteren Zersetzungsprodukte (KALBRENER et al., 1974).
- Produkte, die allgemein aus der Lipoxygenase- und Peroxidase-Aktivität in Sojabohnen entstehen (RACKIS et al., 1972).
- L-Aminosäuren und N-terminale hydrophobe Peptide, welche durch hydrolytische Prozesse freigesetzt werden (WIESER und BELITZ, 1975; ROY, 1990; PEDERSEN, 1994; WALTERS and ROY, 1996).
- Glykolipide wie z.B. acylierte Kohlenhydrate (HONIG et al., 1971; HUANG et al., 1981, PARDUN, 1982).
- Produkte der MAILLARD-Reaktion, wie z.B. flüchtige Stickstoff-haltige Verbindungen (PABST et al., 1988; MAGA, 1992).
- Amine und verwandte Verbindungen (WIESER und BELITZ, 1975).

Neben dem Hauptbestandteil von Sojalecithinen, der Lipidfraktion, können als Verursacher von Bittergeschmack des weiteren Bestandteile der Protein- und Kohlenhydrat-Fractionen einen Einfluß ausüben. Die Bildungsursache liegt bei vielen dieser Substanzen in hydrolytischen, thermischen und/oder oxidativen Prozessen begründet.

4. Material und Methoden

4.1 Untersuchungsmaterial

Abbildung 13 gibt eine Übersicht über die in den Untersuchungen verwendeten (kommerziellen) Sojalecithine (vergleiche 8.1). Der Schwerpunkt der Arbeit liegt bei der Erforschung des Flavors von hydrolysierten Lecithinen. Des weiteren wurden entölt, mit Ethanol fraktionierte sowie stark PC- bzw. LPC-angereicherte Lecithine untersucht (vergleiche Abb.3).

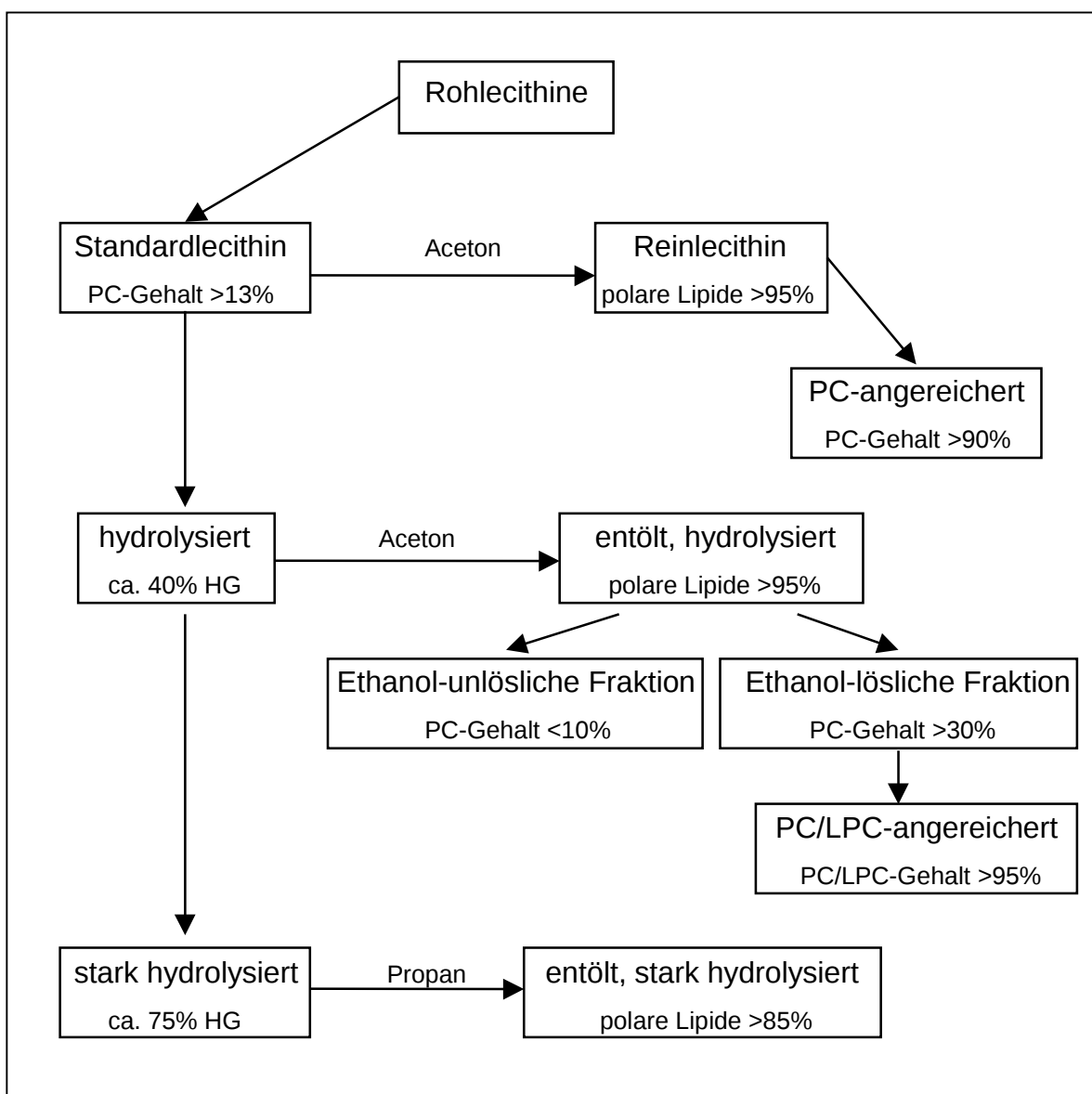


Abb.13: Übersicht des verwendeten Probenmaterials

4.2 Sensorische Untersuchungen

Als Sensorik wird die Wissenschaft des Einsatzes menschlicher Sinne zu Prüf- und Meßzwecken bezeichnet (DIN 10950-1, 1999). Die sensorischen Untersuchungen mit dem Meßinstrument Mensch ermöglichen es, Ergebnisse von chemisch-analytischen und instrumentellen Analysenverfahren hinsichtlich ihrer Flavor-Bedeutung zu charakterisieren. Hierzu werden sensorische Verfahren nach wissenschaftlichen Maßstäben vorbereitet, durchgeführt, statistisch ausgewertet und hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit überprüft.

Im folgenden werden die in dieser Arbeit durchgeführten sensorischen Prüfverfahren beschrieben. Sie wurden jeweils mit einem Panel, je nach Prüfverfahren bestehend aus 18 bis 20 sensorisch geschulten Prüfern, durchgeführt.

Kombinierte Verfahren von sensorischen und instrumentellen Methoden werden unter 4.3.2 beschrieben.

4.2.1 Schulung des Sensorik-Panels

Sensorische Ergebnisse beruhen auf Wahrnehmungen verschiedener Sinneseindrücke (u.a. olfaktorische, gustatorische, haptische) durch Prüfpersonen. Die Qualität der Ergebnisse dieser Wahrnehmungen beruht hierbei, wie bei allen anderen Meßmethoden auch, wesentlich auf ihrer Reproduzierbarkeit. Aus diesem Grund ist es zwingend erforderlich, sensorische Untersuchungen nur mit dafür geeigneten Prüfpersonen durchzuführen.

Das zu den sensorischen Analysen dieser Arbeit eingesetzte Panel wurde allgemein und produktspezifisch geschult und die Fähigkeiten der Panelteilnehmer wurden überprüft. Das eingesetzte Panel bestand ausschließlich aus Prüfern gemäß DIN 10950-1 (1999).

Die Schulung in Anlehnung an entsprechende Normen (DIN 10961, 1996; ISO 8586-2, 1994) umfaßte dabei folgende Schwerpunkte:

- Theoretische Grundlagen und Begriffe der Lebensmittelsensorik (DIN 10950-2, 1993; ISO 6658, 1985)
- Erkennen der vier Grundgeschmacksarten (DIN 10961, 1996)
- Bestimmung der Geschmacksempfindlichkeiten; Schwellenprüfung der vier Grundgeschmacksarten (DIN 10959, 1998; DIN 10961, 1996)

- Geruchserkennungsprüfung von Riechstoffen standardisierter und nicht standardisierter Zusammensetzung (DIN 10961, 1996; ISO 5496, 1992)

Des weiteren wurden folgende Prüfverfahren in der Schulung berücksichtigt:

- Einfach beschreibende Prüfung (DIN 10964, 1996)
- Bewertende Prüfung mit Skale (DIN 10952-1/2 1978/83; ISO 5121, 1987)
- Profilprüfung (E-DIN 10967-1, 1998; ISO 11035, 1994)
- Verdünnungsprofilprüfung (FLIEDNER und WILHELMI, 1993)
- Erweiterte Dreiecksprüfung (DIN ISO 4120, 1995)
- Paarweise Vergleichsprüfung (DIN 10954, 1997; ISO 5495, 1983)
- Rangordnungsprüfung (DIN 10963, 1997; ISO 8587, 1988)
- Hedonische Prüfung (FLIEDNER und WILHELMI, 1993)

4.2.2 Erweiterte Dreiecksprüfung

Dieses sensorische Analysenverfahren nach DIN ISO 4120 (1995) ist zur Feststellung von (sehr geringen) Unterschieden zwischen Prüfproben zweier Prüfmuster geeignet. Die Dreiecksprüfung kann um eine Reihe weiterer Fragestellungen wie z.B. der Bevorzugung, der Beschreibung oder der Intensitätsdifferenz der beiden Proben erweitert werden. Abbildung 58 in Anhang 8.2.2.2 zeigt ein zur erweiterten Dreiecksprüfung entwickeltes Formblatt.

Die Anzahl der Prüfpersonen sollte durch sechs teilbar sein, um alle Kombinationen der Aufstellung der Prüfproben (AAB, ABA, BAA, ABB, BAB, BBA) in gleicher Anzahl vorliegen zu haben (DIJKSTERHUIS, 1996). Aus der Form der Darreichung können somit für den Prüfer keine Rückschlüsse auf die abweichende Probe gezogen werden und eventuell auftretende Effekte wie z.B. verzögertes Auftreten von Sinneseindrücken oder Geschmacksermüdung verteilen sich gleichermaßen auf alle Aufstellungen.

Um eine statistische Auswertung zu ermöglichen, wird die Prüfung in der „Forced-Choice“-Technik angewendet (DIN ISO 4120, 1995). Je nach Fragestellung (einseitig, zweiseitig) ergeben sich die entsprechenden Signifikanzniveaus ($\alpha=0,05$; $\alpha=0,01$ und $\alpha=0,001$) aus der Binominalverteilung mit dem Parameter ($p = \frac{1}{3}$ (einseitige Fragestellung)) und der Anzahl an Wiederholungen bzw. Prüferantworten

(n). Für die einseitige Fragestellung der abweichenden Probe bei der Dreiecksprüfung lautet der Binomische Ausdruck folglich $(\frac{1}{3} + \frac{2}{3})^n$.

4.2.3 Profilprüfung

Mit der Profilprüfung werden Merkmalseigenschaften von Prüfproben identifiziert, beschrieben und quantifiziert (E-DIN 10967-1, 1998; ISO 11035, 1994). Zu den Anwendungsgebieten der Profilprüfung zählen u.a. die Definition sensorischer Eigenschaften eines Produktes, die Charakterisierung und Spezifikation eines Standards für die Qualitätskontrolle in der Forschung und Entwicklung oder aber die Korrelation sensorischer Produktmerkmale mit instrumentell ermittelten chemischen und physikalischen Analysenergebnissen (MEILGAARD et al., 1991).

Die Beschreibung der Intensität der entsprechenden Merkmalseigenschaften erfolgt z.B. anhand einer Skale von null (keine Wahrnehmung der Eigenschaft) bis fünf (sehr intensive Wahrnehmung). Abbildung 57 in Anhang 8.2.2.1 zeigt ein zur Profilprüfung entwickeltes Formblatt. Die Auswertung der Ergebnisse aller Einzelurteile zum aussagekräftigen und reproduzierbaren Gesamturteil erfolgt graphisch mittels Netzdiagramm. Das Aufeinanderprojizieren von Profilen verschiedener Prüfmuster, welche in Form von Netzdiagrammen angelegt sind, ermöglicht einen direkten Vergleich dieser Profile (siehe z.B. Abb.15).

4.2.4 Schwellenwertprüfung

Schwellenwerte lassen sich wie folgt unterscheiden: Reiz-, Erkennungs-, Unterschieds- und Sättigungsschwelle. Die Reizschwelle kennzeichnet dabei die Konzentration einer Substanz, ab der eine Wahrnehmung unterschiedlich zur Blindprobe bzw. zum Vergleich wahrgenommen wird. Die Erkennungsschwelle gibt die Konzentration wieder, bei der ein Unterschied zur Blindprobe erfaßt wird und zudem die Merkmalseigenschaft erkannt und beschrieben werden kann. Unterschieds- und Sättigungsschwelle bezeichnen jeweils die Konzentrationen, die einen Intensitätsunterschied zweier Proben noch erfassen, bzw. ab der keine Zunahmen der Intensitäten mehr wahrgenommen werden (DIN 10950-1, 1999).

Die Ermittlung von Schwellenwerten ist hierbei Matrix-abhängig. Geruchsschwellen werden in der Regel in den Matrices Luft, Wasser und Öl bestimmt. Andere der zu

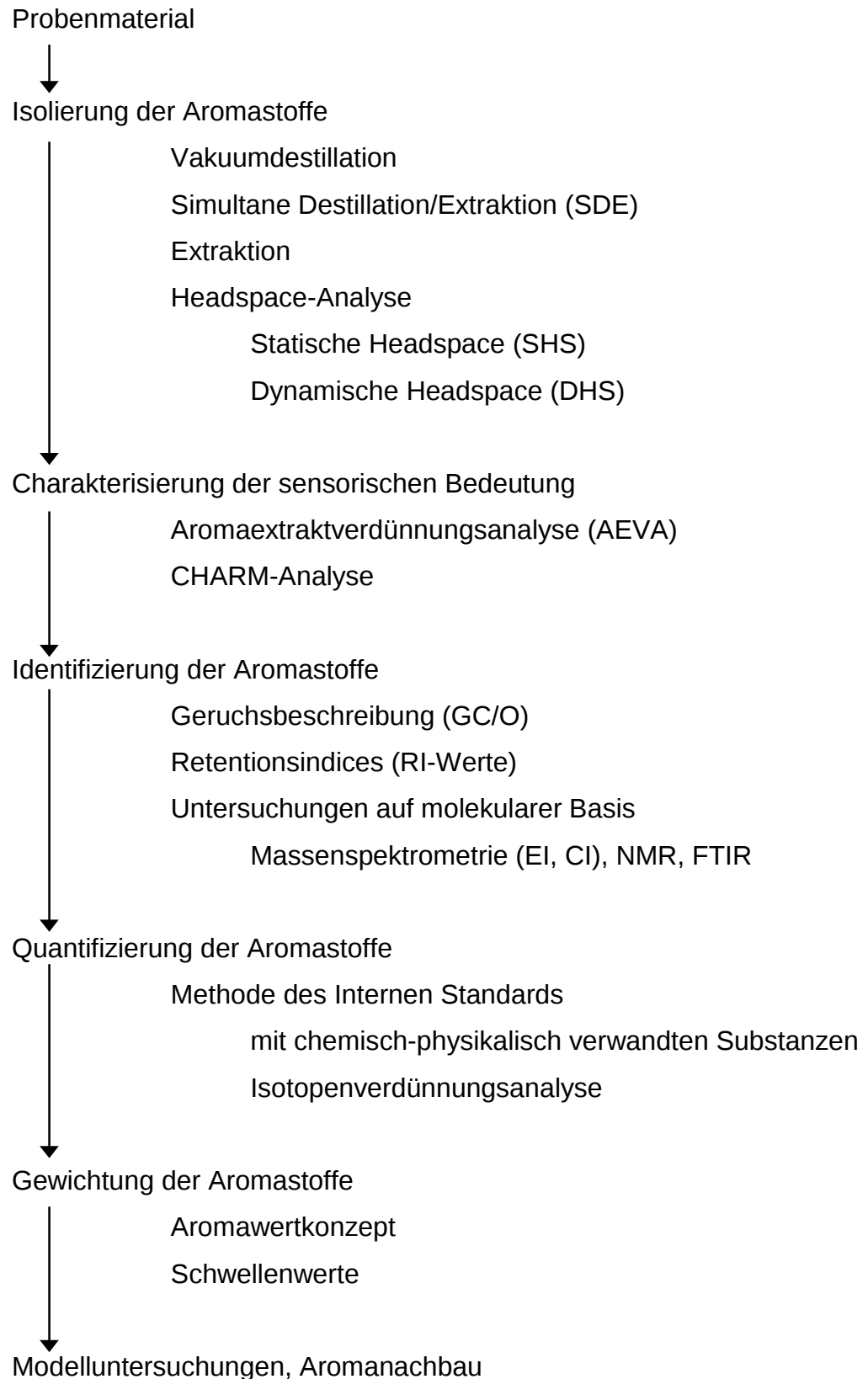
untersuchenden Lebensmittel ähnlichere Matrices bieten sich aus Sicht der Retardierung von Aromastoffen in Abhängigkeit von der Matrix an, beinhalten jedoch die Schwierigkeit fehlender Literaturangaben als Vergleichswerte. Da Vergleichswerte für Geschmacksschwellen von Substanzen zumeist nicht vorliegen, bieten sich bei deren Bestimmung die Matrices der Prüfprobe oder ihrer Anwendungsgebiete an.

Schwellenwertprüfungen werden nach DIN 10959 (1998) durch Prüfreihe, die in aufsteigender Konzentration verkostet werden, bestimmt. Dieses Verfahren ist als Methode (00.90-7) in der Sammlung amtlicher Prüfverfahren (§35 LMBG) verzeichnet.

Zur Überprüfung und Absicherung der ermittelten Schwellenwerte erweist sich die Durchführung von erweiterten Dreiecksprüfungen (4.2.2), bestehend aus den berechneten Schwellenwert-Gehalten und Blindprobe, als geeignet.

4.3 Instrumentelle Aromastoffanalytik

Überblick über die allgemeine Methodik der Aromastoffanalytik:



4.3.1 Isolierung von Aromastoffen

Zur Isolierung der Aromastoffe können grundsätzlich drei unterschiedliche Methoden verwendet werden. Die der Isolierung zugrunde liegenden Prinzipien sowie ihre Vor- und Nachteile werden im folgenden kurz aufgezeigt.

4.3.1.1 Vakuumdestillation

Das Probenmaterial wird mit einem niedrigsiedenden, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel, wie z.B. Diethylether oder n-Pentan, versetzt. Mit Hilfe einer Hochvakuumdestillationsapparatur werden das Lösungsmittel und die flüchtige Fraktion des Probenmaterials von der übrigen Matrix abgetrennt. Aus dem so gewonnenen Destillat kann über pH-Wert-Veränderungen eine Trennung in eine saure und eine neutral/basische Fraktion erfolgen. Die Fraktionen werden dann im Anschluß zur gaschromatographischen Untersuchung mittels Destillation und Vakuumdestillation konzentriert (GUTH und GROSCH, 1989; SEN et al., 1991; RYCHLIK und GROSCH, 1996; SCHLÜTER et al., 1996).

Durch die Trennung der flüchtigen von den nichtflüchtigen Bestandteilen im Vakuum können hohe Ausbeuten bei der Aromastoff-Isolierung erzielt werden. Die Artefaktbildung ist, soweit Temperaturen unter 40° C angewendet werden, für die meisten Substanzklassen gering (GUTH und GROSCH, 1989). Nachteile bestehen im wesentlichen durch den großen zeitlichen Aufwand der Gesamtmethode und geringere Ausbeuten der sehr leicht flüchtigen und sehr schwer flüchtigen Aromastoffe (ULLRICH und GROSCH, 1987).

4.3.1.2 Simultane Destillation/Extraktion (SDE) und Extraktion

Bei der SDE nach LIKENS und NICKERSON (1964) werden flüchtige Probenbestandteile mit Hilfe von Wasserdampf aus der wäßrigen Matrix ausgetrieben und mit einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel, wie z.B. Diethylether oder n-Pentan, extrahiert. Dies erfolgt i.d.R. durch Erhitzen der mit Wasser versetzten Probe bis zum Sieden. Die Temperatur kann hierbei durch Anlegen eines leichten Vakuums etwas erniedrigt werden. Durch den Aufbau der Apparatur werden die kondensierten Phasen wieder getrennt. Aufgrund des kontinuierlichen Betriebs kommt es schließlich zu einer starken Anreicherung der flüchtigen Verbindungen in der

Lösungsmittelphase (AMES und MACLEOD, 1984; KOBAYASHI et al., 1995). Mit Hilfe dieser Methode werden hohe Ausbeuten erzielt, jedoch kann es durch die Temperaturbelastung zu nicht unerheblichen Artefaktbildungen kommen. Zudem kann der Extrakt neben flüchtigen auch Wasserdampf-flüchtige Verbindungen (MCGILL und HARDY, 1977; RUNGE et al., 1990; SIEGMUND et al., 1996) enthalten. Durch klassische Extraktionsverfahren mit z.B. Soxhlet-Systemen oder Rotationsperforatoren und dem Einsatz verschiedener Lösungsmittel können Temperatureinflüsse zwar minimiert werden, die Zusammensetzung der Extrakte ist jedoch in hohem Maße von den Extraktionsbedingungen abhängig (SCHREIER, 1987) und eine Reinigung der Extrakte zumeist notwendig.

4.3.1.3 Headspace-Analytik

Die Isolierung der Aromastoffe kann sowohl mittels statischer Headspace (SHS) als auch durch dynamische Headspace (DHS) erfolgen.

Die SHS wird vornehmlich zur Bestimmung besonders leicht flüchtiger Aromastoffe wie z.B. Acetaldehyd verwendet, die u.a. bei GC/O-Untersuchungen von Aromakextrakten durch das Lösungsmittel überdeckt werden können. Mittels einer gasdichten Spritze wird hierbei ein definiertes Volumen aus dem Dampfraum über der temperierten Probe abgezogen und gaschromatographisch analysiert (GROSCH, 1993b). Mit Hilfe einer Kryofokussierung können die zu analysierenden Substanzen dabei während der Injektion der gasförmigen Probe fokussiert oder auch durch Mehrfachinjektion angereichert werden. Neben der Möglichkeit, besonders leicht flüchtige Verbindungen analysieren zu können, bietet die SHS den Vorteil, die reale Zusammensetzung des Dampftraumes widerzuspiegeln. Nachteilig wirken sich die zum Teil sehr niedrigen Konzentrationen der Aromastoffe (insbesondere der mittel und schwer flüchtigen) im Dampfraum aus, die unter Umständen eine Identifizierung unmöglich machen.

Zur Anreicherung der Aromastoffe kann die DHS verwendet werden. Hierbei werden die Aromastoffe aus dem Kopfraum der temperierten Probe mit einem Inertgas (z.B. Stickstoff) herausgespült, reversibel an einem polymeren Träger (z.B. 2,6-Diphenyl-p-phenylenoxid) adsorbiert und nach der Desorption mittels Thermodesorptionssystem (TDS) und Kryofokussierung gaschromatographisch analysiert (HA et al., 1992; HACHENBERG und BERINGER, 1996; OTT et al., 1997; SUCAN und RUSSEL,

1997). Diese Art der Untersuchung mit flüssigen Proben wird auch als Purge & Trap bezeichnet (ABEEL et al., 1994). Der besondere Vorteil dieser Methode liegt in dem geringen Zeitaufwand, mit dem die Aromastoffe isoliert werden können. Mittels DHS können insbesondere vergleichende Untersuchungen mit sogenannten Fingerprints der Proben durchgeführt werden. Eine Quantifizierung der Aromastoffe nach DHS erweist sich jedoch aufgrund unterschiedlicher Retardierungen der jeweiligen Substanzen und damit schwer festzusetzender Bezugsgrößen (interne Standards) als schwierig (CURVERS et al., 1984; BUTTERY et al., 1988, 1994, 1997).

4.3.2 Olfaktometrische Analysen

Um aus einer Vielzahl von flüchtigen Verbindungen diejenigen zu identifizieren, die sensorisch relevante Eigenschaften besitzen und damit wesentliche Beiträge zum Aroma liefern, ist es erforderlich, vor einer Identifizierung der entsprechenden Substanzen Methoden zur Charakterisierung der geruchlichen Bedeutung anzuwenden. Hierzu zählen die Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) (ULLRICH und GROSCH, 1987) und die CHARM-Analyse (Akronym für: combined hedonic and response measurement bzw. „charm“ = Reiz) (ACREE et al., 1984).

Bei beiden Methoden erfolgen die Analysen der geruchlichen Bedeutung der jeweiligen Aromastoffe durch Kapillargaschromatographie/Olfaktometrie (GC/O). Die durch bspw. Vakuumdestillation gewonnenen und eingeeengten Aromakonzentrate werden hierbei kapillargaschromatographisch getrennt. Der Trägergasstrom wird im Anschluß an die Kapillarsäule geteilt, wobei ein Teil zu instrumentellen Detektoren wie z.B. FID oder MSD geleitet wird und der andere Teil zu einem Sniff-Detektor gelangt (DRAVNIKS und O'DONNELL, 1971). Am Sniff-Detektor werden die geruchsaktiven Substanzen abgerochen und bei Erkennung eines Geruchs eine Geruchsbeschreibung vorgenommen.

4.3.2.1 AEVA

Bei der AEVA werden Aromakonzentrate schrittweise verdünnt und die Konzentrate sowie jede aus ihnen hergestellte Verdünnung mittels GC/O analysiert. Das Verfahren wird solange fortgesetzt, bis kein Aromastoff mehr am Sniff-Detektor wahrgenommen wird. Die Verdünnungsstufe, in der der jeweilige Aromastoff zuletzt olfaktorisch wahrgenommen wird, stellt dessen Flavor-Dilution-Faktor (FD-Faktor)

dar. Als Verdünnungstufen werden i.d.R. 1:1-Verdünnungen verwendet (ULLRICH und GROSCH, 1987; CERNY und GROSCH, 1992; KERSCHER und GROSCH, 1997), so daß Konzentrationsreihen von 2^{-n} entstehen. Verdünnungen von jeweils 1:10 sind ebenfalls beschrieben (GUTH, 1997). Die Darstellung der Ergebnisse kann in Form eines Diagramms erfolgen, in dem die FD-Faktoren gegen die Retentionsindices der jeweilig entsprechenden Aromastoffe aufgetragen sind (=„FD-Diagramm“).

4.3.2.2 CHARM

Bei der CHARM-Analyse nach ACREE et al. (1984) riechen sensorisch geschulte Prüfer den Aromaextrakt sowie eine Reihe von Verdünnungstufen (z.B. 1:10) am Sniff-Detektor ab und erzeugen beim Erkennen eines Aromastoffes ein Signal mit einem Taster. Die Anzahl der Prüfer, die den jeweiligen Aromastoff wahrnehmen und eine gleichartige Geruchsbeschreibung vornehmen, die Verdünnungsstufe, bei der der Aromastoff noch erkannt wird sowie die Dauer der über den Taster erzeugten Signale gehen in die Gewichtung für die relevanten Aromakomponenten ein. Durch die jeweilige Gewichtung der drei Komponenten Anzahl an Erkennungen, Verdünnungsstufen und Dauer des Reizes läßt sich die CHARM-Analyse vielfältig modifizieren (ROBERTS and ACREE, 1996; SCHLÜTER et al., 1996; POLLIEN et al. 1997).

4.3.3 Identifizierung von Aromastoffen

Die Identifizierung von Aromastoffen erfolgt prinzipiell durch drei verschiedene Analyseverfahren, der Geruchsbeschreibung mittels GC/O, der Bestimmung von RI-Werten an mindestens zwei verschieden polaren Säulen und der Ermittlung von Daten auf molekularer Basis der Substanzen (z.B. Massenspektren) (ULLRICH und GROSCH, 1988). Alle Verfahren basieren hierbei auf einer kapillargaschromatographischen Trennung der flüchtigen Verbindungen, weshalb dieser als Voraussetzung einer Identifizierung eine entscheidende Bedeutung zukommt. Als Probenaufgabesystem für die GC eignet sich dabei insbesondere ein Kaltaufgabesystem. Im Gegensatz zur klassischen splitlosen Probeninjektion in einen beheizten Injektorblock erfolgt diese in einen gekühlten Injektorblock mit anschließender programmierter Aufheizung. Dies ermöglicht eine schonende, quantitative Überführung der Aromastoffe auf die Kapillarsäule und vermeidet mögliche Artefaktbildungen (KOLB et al., 1986; BARCAROLO und CASSON, 1997).

4.3.3.1 Geruchsbeschreibung mittels GC/O

Der direkte Vergleich der Geruchsbeschreibungen der entsprechenden Aromastoffe in der Probe sowie ihrer Referenzsubstanzen jeweils am Sniff-Detektor stellt einen entscheidenden Identifizierungsschritt dar (SCHIEBERLE und GROSCH, 1984). Die geruchliche Identifizierung ermöglicht dabei häufig überhaupt erst eine Zuordnung der instrumentellen Detektorsignale. Die geruchliche Erkennung eines Aromastoffes ist (durch seine Definition als Aromastoff) stets möglich, die klassische instrumentelle Detektion z.B. durch MS-Spektren jedoch vor allem bei Aromastoffen mit sehr niedrigen Geruchsschwellen wie z.B. (*E*)- β -Damascenon mit 0,003ng/l Luft (BLANK et al., 1992) äußerst schwierig und häufig nur durch verschiedene Anreicherungsschritte und spezifische Detektionsverfahren möglich (OTT et al, 1997).

4.3.3.2 Retentionsindices

Durch RI-Werte werden die zu identifizierenden Aromastoffe über ihre Retentionszeiten an unterschiedlich polaren Kapillarsäulen charakterisiert. Die Berechnung von Retentionsindices erfolgt hierbei nach dem Retentionsindexsystem von VAN DEN DOOL und KRATZ (1963) dessen Prinzip darin liegt, daß die Lage einer unbekannten Verbindung relativ zu zwei benachbarten aliphatischen Kohlenwasserstoffen angegeben wird. Im Gegensatz zu den Retentionszeiten unterliegen die RI-Werte bei gleicher Kapillarsäulenbelegung nur einem geringen Einfluß der chromatographischen Bedingungen, was einen Vergleich der ermittelten RI-Werte mit Literaturangaben sowie mit selbst bestimmten RI-Werten der Referenzsubstanzen ermöglicht.

4.3.3.3 Untersuchungen auf molekularer Basis

Neben Methoden, wie z.B. der hochauflösenden Kernresonanz-Spektrometrie (NMR) oder der Fourier-Transform-Infrarotspektrometrie (FTIR), die wesentlich zur Strukturaufklärung unbekannter Substanzen verwendet werden, hat sich die Massenspektrometrie (MS) mit vorgeschalteter Gaschromatographie (GC) für die Identifizierung von Aromastoffen bekannter Struktur als gebräuchlichste Methode erwiesen (SCHIEBERLE und GROSCH, 1987; MIHARA und MASUDA, 1988; BUTTERY et al., 1994; PINNEL und VANDEGANS, 1996). Als Ionisierungsverfahren werden hierbei die Elektronen(stoß)ionisation (EI) und die chemische Ionisation (CI) angewendet.

Während bei der EI ein Elektronenstrahl senkrecht zum Molekülstrom der Probe von einer Glühkathode zu einer Anode hin beschleunigt wird, bringt man die zu analysierende Substanz bei der CI mit einem Überschuß an Reaktandgas (z.B. Methan) zusammen, welches durch Elektronenbeschuß ionisiert wird. Dem entsprechend werden mittels EI neben dem ionisierten Substanzmolekül eine Reihe von für die Substanz charakteristischen Bruchstücken erzeugt, mittels CI im wesentlichen das um das Reaktandgasmolekül erweiterte Molekülion der Substanz (BUDZIKIEWICZ, 1992). Zur Identifizierung von Aromastoffen wird hierbei i.d.R. im Scan-Modus der Totalionenstrom gemessen, d.h. die Gesamtzahl der durch den Analysator tretenden Ionen wird mit ihren relativen Intensitäten registriert. Die so erhaltenen Massenspektren der Probensubstanzen können dann mit Bibliotheksspektren bzw. mit selbst aufgenommenen Referenzspektren zugeordnet werden.

4.3.4 Quantifizierung von Aromastoffen

Zur Quantifizierung von Aromastoffen werden dem Probenmaterial interne Standards vor der Aufarbeitung der Probe zugesetzt, um die der Gesamtmethode der Quantifizierung zugrunde liegenden Verluste der Analyten berücksichtigen zu können. Die internen Standards sind hierbei so auszuwählen, daß sie den zu analysierenden Probensubstanzen in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften möglichst ähnlich sind. Einen Idealfall dieser Prämisse stellt die Isotopenverdünnungsanalyse dar. Bei dieser Methode werden deuterierte Komponenten hergestellt, die die gleiche Struktur wie die zu analysierenden Substanzen besitzen. Diese stabilen Isotope werden als interne Standards zur Berechnung der Wiederfindung eingesetzt (SCHIEBERLE und GROSCH, 1987). Neben dem Einsatz von Isotopen ist bei der Methode des Internen Standards die Verwendung von Substanzen mit gleichen funktionellen Gruppen und ähnlichen Siedeeigenschaften wie die der Probesubstanzen in der Aromastoffanalytik gebräuchlich (BUTTERY et al., 1994).

Üblicherweise erfolgt die Quantifizierung der Aromastoffe mittels GC/MS (SEN et al., 1991; CERNY und GROSCH, 1993). Hierbei wird je nach erwarteter Konzentration und Detektierbarkeit der einzelnen Analyten entweder im Scan-Modus der Totalionenstrom gemessen oder es werden im SIM-Modus (Selected Ion Monitoring) nur

einzelne Massen zur Analyse ausgewählt, was zu einer bis um Faktor 100 größeren Empfindlichkeit führt (BUDZIKIEWICZ, 1992).

4.3.5 Aromawertkonzept

Die Bestimmung von Aromawerten ist das gebräuchlichste Konzept zur Gewichtung der einzelnen Aromastoffe hinsichtlich ihrer Bedeutung für das Gesamtaroma. Der Aromawert ist dabei definiert als der Quotient aus der Konzentration eines Aromastoffes im Lebensmittel und dessen Geruchsschwelle im gleichen Lebensmittel (ROTHER und THOMAS, 1963). Die Geruchsschwelle wiederum ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der ein Geruch noch erkannt, dh. beschrieben werden kann (siehe 4.2.4). Als Geruchsschwelle werden die Schwellenwerte zweckmäßigerweise in dem Medium gewählt, welches die vorwiegende Matrixphase des Probenmaterials am ehesten widerspiegelt.

Unberührt von synergistischen oder antagonistischen Effekten, die Aromastoffe untereinander oder mit Matrixbestandteilen möglicherweise ausüben können, liefert nach diesem Konzept jeder Aromastoff, der einen Aromawert größer als eins besitzt, einen Beitrag zum Gesamtaroma. Je höher der Aromawert einer Verbindung ist, desto größer ist auch die Bedeutung des Aromastoffes für das Aroma (FRIJTERS, 1978; GROSCH, 1993b).

4.3.6 Untersuchungen am Aromamodell

Mit Hilfe von Modelluntersuchungen ist es möglich, die nach dem Aromawertkonzept erzielten Ergebnisse hinsichtlich ihrer Vollständigkeit zu prüfen. Hierzu werden die Aromastoffe, die für das entsprechende Aroma bzw. Fehl aroma verantwortlich gemacht werden, in den entsprechenden ermittelten Konzentrationen einer im Aroma neutralen Probenmatrix zugesetzt. Die zugesetzten Aromastoffe sind in erster Linie diejenigen, welche die höchsten Aromawerte aller Substanzen bzw. für die entsprechenden Attribute des Fehl aromas erzielten. Durch Profilprüfungen (siehe 4.2.3) kann dann mittels sensorischer Untersuchungen festgestellt werden, inwieweit die olfaktorischen Merkmalseigenschaften des Modellsystems mit denen der Probe übereinstimmen (GUTH und GROSCH, 1994; SEMMELROCH und GROSCH, 1996). Durch diese Modelluntersuchungen wird geklärt, inwieweit die erzielten Ergebnisse

der durchgeführten Analytik das entsprechende Aroma bzw. Fehl aroma tatsächlich wiedergeben.

4.4 Instrumentelle Analytik von Geschmacksstoffen

Die instrumentelle Analytik von Geschmacksstoffen des Sojalecithins erfolgt im wesentlichen durch (halbpräparative) Trennung verschiedener Substanzklassen bzw. Substanzen zur weiteren Bestimmung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung sowie der Beschreibung ihrer sensorischen Eigenschaften.

4.4.1 Dünnschichtchromatographie

Die DC auf Kieselgel ermöglicht eine Trennung der Lecithinbestandteile u.a. in Neutrallipide, freie Fettsäuren (FFA), Glykolipide und Phospholipide. Des weiteren ermöglichen dünnschichtchromatographische Trennungen durch den Einsatz von Laufmitteln mit unterschiedlicher Polarität eine weitergehende Aufteilung z.B. der Neutrallipide in Mono-, Di- und Triglyceride, der FFA in einzelne Fettsäuren oder der Phospholipid-Fraktion in ihre Einzelbestandteile (CHRISTIE, 1985a; OLSSON, 1992). Eine Detektion der jeweiligen Substanzen kann z.B. durch UV-Licht oder entsprechende (spezifische) Reagenzien (DITTMER und LESTER, 1964) erfolgen.

Verfahren mittels DC unterstützen hierbei wesentlich säulenchromatographische Methoden wie die der HPLC oder der Festphasenextraktion (SPE). Neben der Ermittlung der stofflichen Zusammensetzung kann die DC in der Lecithin-Analytik zu halbquantitativen Bestimmungen (auch zur Bestimmung der Abwesenheit von Substanzklassen) und zur schnellen Überprüfung der Reinheit von Fraktionen, die durch andere chromatographische Verfahren isoliert wurden, genutzt werden (CHRISTIE, 1985b).

4.4.2 HPLC/ELSD

Der Einsatz der HPLC ermöglicht es, ebenso wie bei der DC, Lecithin-Inhaltsstoffe voneinander zu trennen (THIELE, 1979; AITZETMÜLLER, 1984; VAN DER MEEREN, 1992). Zusätzlich können jedoch durch die halbpräparative Durchführung Fraktionen gesammelt und mittels anderer Verfahren weiter analysiert werden. Klassische

Detektionsverfahren wie z.B. UV-Detektion von Phospholipiden (YANDRASITZ et al., 1981; WILEY et al., 1992) sind aufgrund der verwendeten Wellenlängen von 205 bis 210nm wenig spezifisch. Geringe UV-aktive Begleitsubstanzen in den entsprechenden Fraktionen (z.B. Peptide) können hierbei erzielte Ergebnisse wesentlich verfälschen. Deshalb ist bei Lecithin-Analysen mittels HPLC ein Streulichtdetektor (ELSD) zu bevorzugen (STOLYHWO et al., 1984; BECART et al., 1990). Dieser ist zwar ebensowenig selektiv, jedoch sind Minorbestandteile den Hauptkomponenten in der Detektion gleichgestellt (MOUREY und OPPENHEIMER, 1984).

4.2.3 Festphasenextraktion

Durch säulenchromatographische Verfahren wie die Festphasenextraktion (SPE) lassen sich Lecithin-Substanzklassen voneinander trennen und fraktionieren. Die verwendeten Trennsysteme und Laufmittel sind hierbei denen der DC sehr ähnlich. Die Überprüfung der Trennleistung der SPE, welcher für weitergehende Untersuchungen eine entscheidende Bedeutung zukommt, erfolgt u.a. durch die DC. Zur analytischen Trennung von Lecithin-Stoffklassen und Phospholipiden hat sich die Verwendung von Kieselgel- (BLUNK und STEINHART, 1990) und Aminopropyl-Kartuschen durchgesetzt (KALUZYNY et al., 1985; PIETSCH und LORENZ, 1993). Verschieden polare Lösungsmittel (Hexan, Dichlormethan, Methanol, Wasser) ermöglichen bei diesen Verfahren die Trennung.

4.4.4 Gaschromatographie

Die klassische analytische Methodik zur Identifizierung und Quantifizierung von Lipidzusammensetzungen wird mittels Gaschromatographie (GC) durchgeführt. Voraussetzung zum Einsatz der GC ist jedoch die Flüchtigkeit der zu analysierenden Substanzen, weshalb die Bestimmung von nichtflüchtigen Lecithinbestandteilen mittels GC eine vorherige Derivatisierung erfordert, die je nach Substanzklasse durch Verfahren im basischen (NaOH) und im sauren (BF₃-Methanol-Komplex) Milieu erfolgen kann (MORRISON und SMITH, 1964; DGF-Einheitsmethoden, 1994). Im Falle der Derivatisierung freier Fettsäuren (FFA) ist bspw. eine Veresterung mit dem BF₃-Methanol-Komplex erfolgreich, während die Umesterung von gebundenen Fettsäuren bevorzugt im Basischen geschieht.

In gleicher Weise wie bei Quantifizierungen von Aromastoffen erfolgen auch bei diesen Gehaltsbestimmungen die Berechnungen über die Methode des Internen Standards (siehe 4.3.4). Als Detektion nach der gaschromatographischen Trennung genügt für einen Großteil der Inhaltsstoffe der Lipid-Fraktion die Detektion mittels Flammenionisationsdetektor (FID), da es sich speziell bei Sojalipiden um analytisch einfach trennbare Fettsäuren mit bekannter Struktur handelt.

5. Ergebnisse

5.1 Sensorische Charakterisierung herkömmlicher Sojalecithine

Die sensorische Charakterisierung von standardisierten und durch unterschiedliche Verfahren modifizierten Lecithinen (siehe 4.1) erfolgte durch Profilprüfungen. Das Panel bestand hierbei jeweils aus 20 Prüfpersonen ($n = 20$). Die Merkmalseigenschaften (Attribute) der Probenmaterialien wurden zuvor mittels Einfach Beschreibender Prüfung (DIN 10964, 1996) bestimmt, sowie durch Beschreibungen des Soja- und Lecithin-Flavors aus Arbeiten von DOI et al. (1980), KIM et al. (1984), SESSA (1985) und WHITFIELD und LAST (1991) erfaßt. Das zu diesen Profilprüfungen entwickelte Formblatt ist im Anhang (unter 8.2.2.1) abgebildet. Profile wurden für folgende Teilbereiche des Flavors bestimmt: Geruch, Mundgefühl/Textur und Geschmack. Der Geruch der Lecithine wurde direkt aus der jeweiligen Originalprobe bestimmt. Die Mundgefühl/Textur- und Geschmackprofile wurden in 1%igen Lecithinlösungen, emulgiert bzw. dispergiert in 3,5%iger H-Milch, ermittelt (Anhang 8.2.2). Diese Verdünnung, die das Profil in der Intensität mindert und durch Milcheinflüsse verändert, war notwendig, da eine Reihe der untersuchten Lecithine sehr intensive Flavoreigenschaften besitzen und zudem durch ihre Textureigenschaften wie u.a. Viskosität und Klebrigkeit eine sehr lange (unangenehme) Verweildauer im Mund haben. Zu vergleichenden sensorischen Untersuchungen aller Lecithine wurde Milch als Medium verwendet, da alle untersuchten Lecithine für den Verkostungszeitraum stabile Emulsionen/Dispersionen in Milch ausbilden. Um den Einfluß des Milch-eigenen Flavors auf die Profile auszuschließen, wurden bei jeder Prüfung auch von der verwendeten Milch Profile aufgenommen. Zur Berechnung der Profile wurden die Intensitäten der reinen Milch von denen der in Milch vorliegenden Lecithinprobe abgezogen. Neben dem Effekt der Bereinigung des Lecithinprofils vom Milchprofil dienten die Intensitäten der Attribute bei der reinen Milchverkostung zugleich als Meßwerte für die Qualität des Panels (sensorischer Standard). Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist in Abbildung 14 dargestellt, in der sechs Geschmacksprofile der Milch, jeweils im Abstand von einer Woche bestimmt, abgebildet sind.

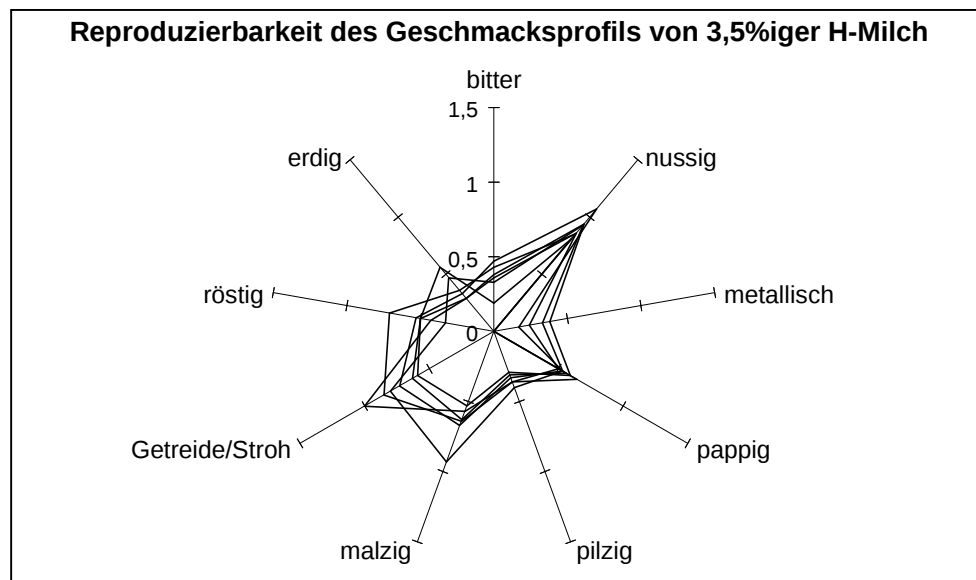


Abb.14: Reproduzierbarkeit des Geschmacksprofils der verwendeten Matrix 3,5%ige H-Milch (6 Wiederholprüfungen, 20 Prüfpersonen; Skalierung von 0 (keine Intensität) bis 5 (dominierend))

Die maximale Abweichung der Intensitäten der Wiederholprüfungen der verwendeten Matrix 3,5%ige H-Milch betrug für die zur Beschreibung des Sojalecithin-Flavors ausgewählten Attribute 0,4 Skalenpunkte für das Attribut „malzig“.

Die in den Abbildungen 19 bis 26 in Milch bestimmten Lecithinprofile sind bereinigt vom Milchprofil dargestellt und geben ausschließlich die Wahrnehmungen der sensorischen Lecithin-Eigenschaften wider. Zur besseren Übersicht sind die Profile der gleichen Merkmale mit der jeweils gleichen Skalierung dargestellt.

5.1.1 Geruchsprofile

Abbildungen 15 bis 18 zeigen die ermittelten Geruchsprofile verschieden behandelter Lecithine.

Die Hauptmerkmaleigenschaften des Geruchs von Standardlecithinen (Abb.15) sind strohig, getreideartig, röstig und nussig mit Intensitäten von bis zu 3,4. Durch die Aceton-Entölung tritt beim Reinlecithin im wesentlichen eine Abschwächung der Attribute röstig, nussig und fettig ein. Die Haupteigenschaften des Geruchs, strohig und getreideartig, bleiben beim Reinlecithin in gleicher Intensität erhalten, bohnenartige und grüne Eindrücke erfahren eine Intensitätserhöhung.

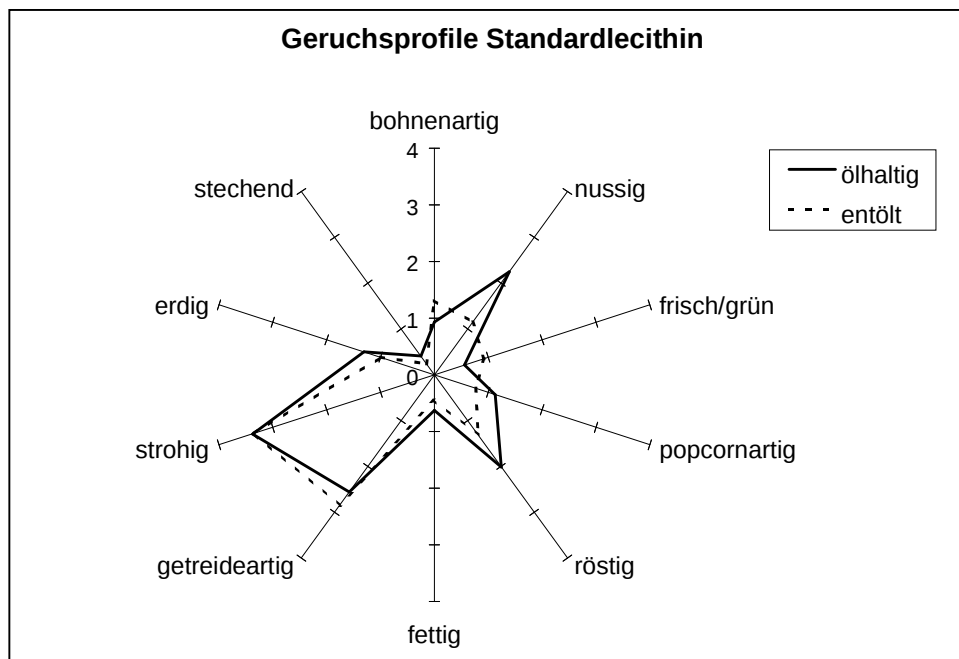


Abb.15: Geruchsprofile der Standardlecithine ölhaltig und entölt (n = 20)

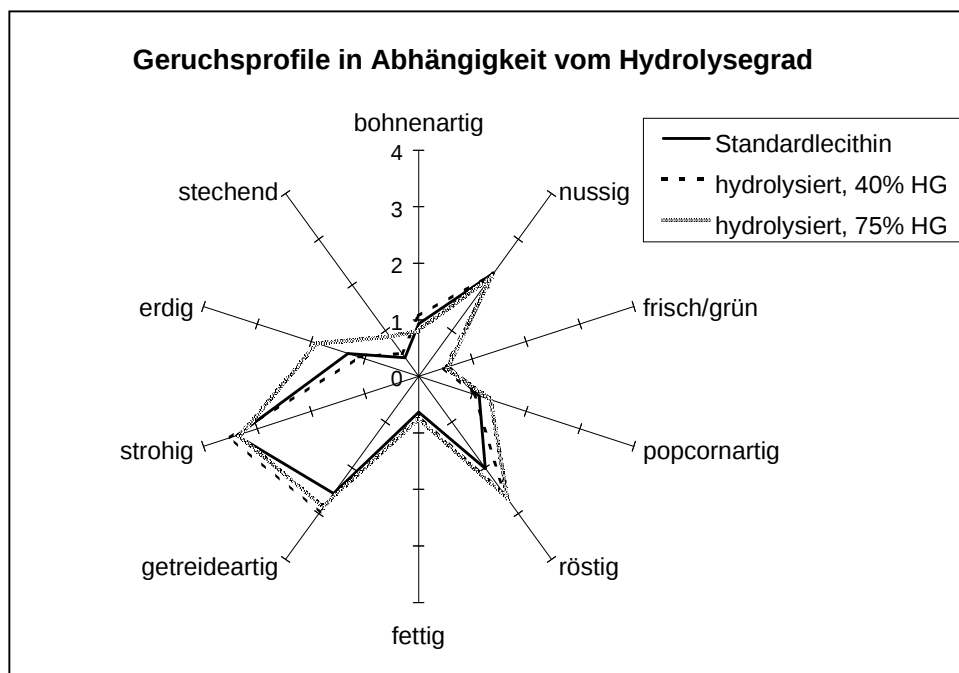


Abb.16: Geruchsprofile in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad (n = 20)

Die geruchlichen Eigenschaften ändern sich durch die Hydrolyse (Abb. 16) nur geringfügig in den Attributen röstig und erdig. Durch einen erhöhten Hydrolysegrad von 75% werden im Vergleich zum Hydrolysegrad von 40% die Geruchseigenschaften stechend und erdig intensiviert, wobei die weiteren Merkmalseigenschaften keine Veränderung im Geruch erfahren.

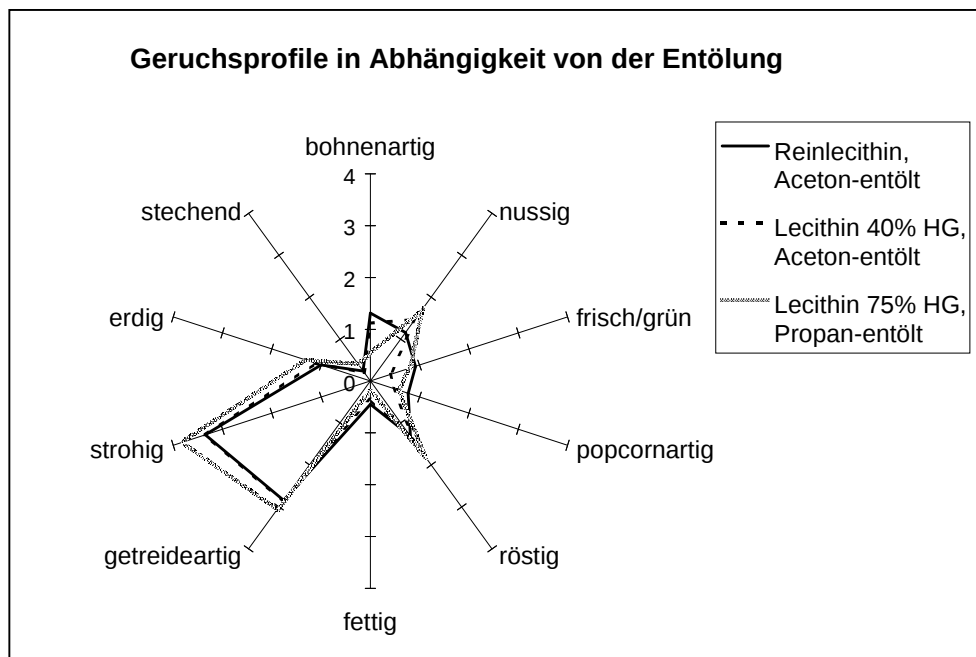


Abb.17: Geruchsprofile in Abhängigkeit von der Art der Entölung (n = 20)

Nach einer Propan-Entölung (Abb. 17) werden die Geruchseigenschaften röstig, strohig und getreideartig mit einer höheren Intensität wahrgenommen als nach einer Aceton-Entölung.

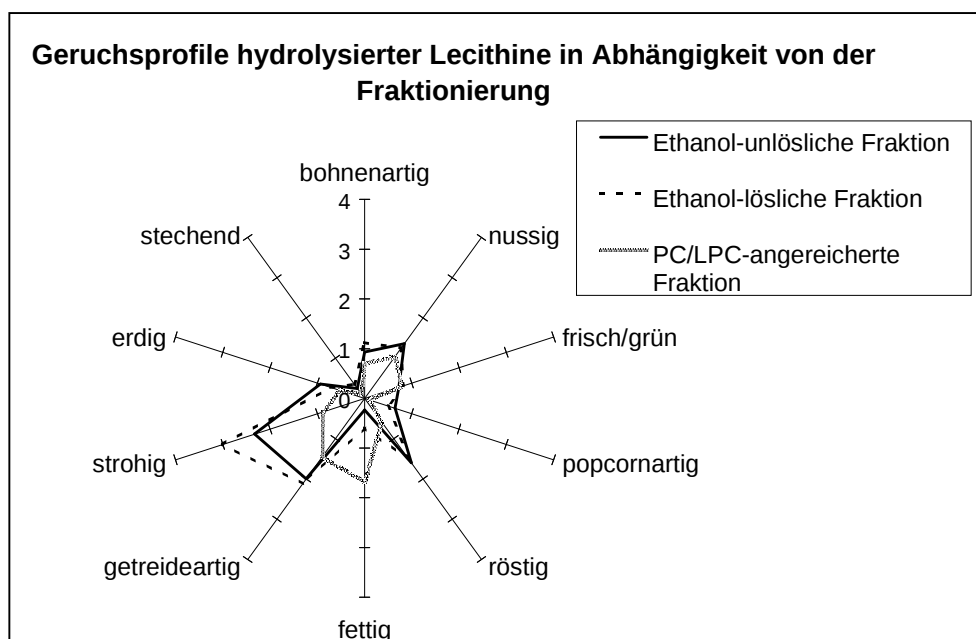


Abb.18: Geruchsprofile in Abhängigkeit von der Fraktionierung (n = 20)

Die Ethanol-Fraktionierung mindert im Vergleich zum Ausgangsprodukt (vergleiche Abb. 17 und 18) für beide Fraktionen die Hauptgeruchseindrücke strohig und getreideartig, wobei die strohige Komponente in der Ethanol-unlöslichen Fraktion

eine noch deutlich geringere Intensität erfährt. Die säulenchromatographische Anreicherung der PC/LPC-Fraktion bewirkt eine starke Senkung der strohigen, röstigen, popcorn- und getreideartigen Geruchseigenschaften und eine Intensivierung von fettigen Komponenten.

5.1.2 Mundgefühl/Texturprofile

Abbildungen 19 bis 22 zeigen die ermittelten Mundgefühl/Texturprofile verschieden behandelter Lecithine.

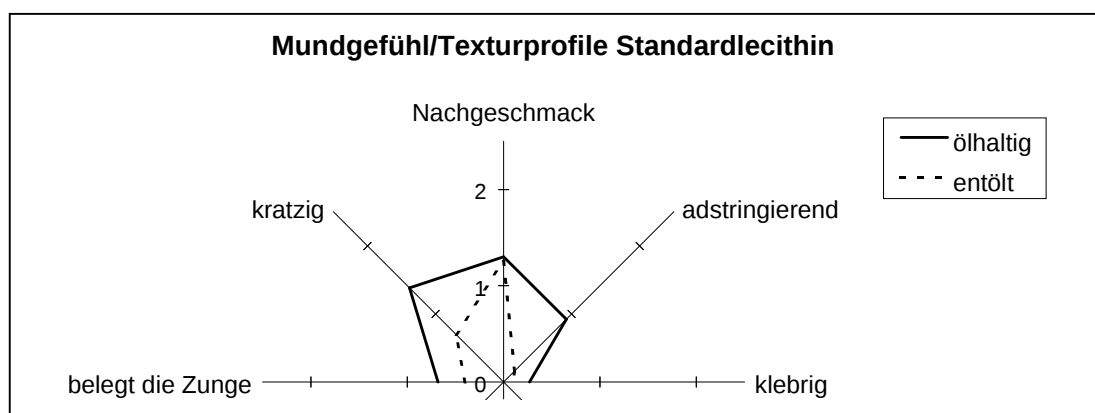


Abb.19: Mundgefühl/Texturprofile der Standardlecithine ölhaltig und entölt je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Das Reinlecithin weist einen erheblich geringeren kratzigen und adstringierenden Beigeschmack auf als das ölhaltige Standardlecithin. Eigenschaften im Mundgefühl wie z.B. klebrig oder belagbildend auf der Zunge treten durch die Verkostung in Milch nicht in Erscheinung.

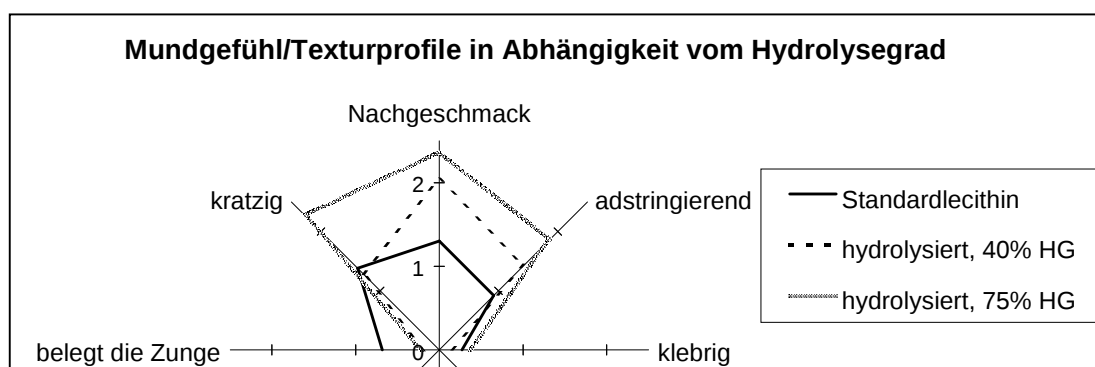


Abb.20: Mundgefühl/Texturprofile in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Durch die Hydrolyse werden der Nachgeschmack sowie das kratzige und adstringierende Mundgefühl in ihrer Intensität erhöht.

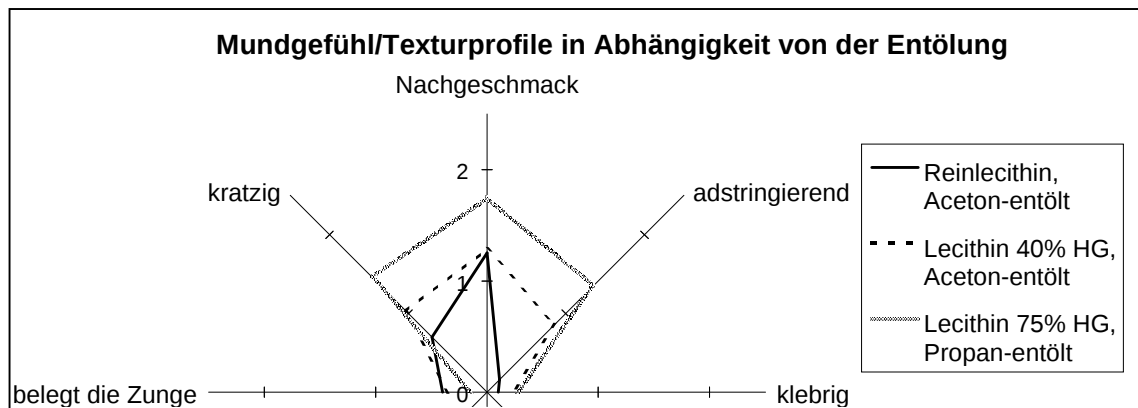


Abb.21: Mundgefühl/Texturprofile in Abhängigkeit von der Entölungsart der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Durch Propan-Entölung werden der Nachgeschmack und die Beigeschmacksarten kratzig und adstringierend in geringerem Maße in ihrer Intensität vermindert als durch Aceton-Entölung (vergleiche Abb. 20 und 21).

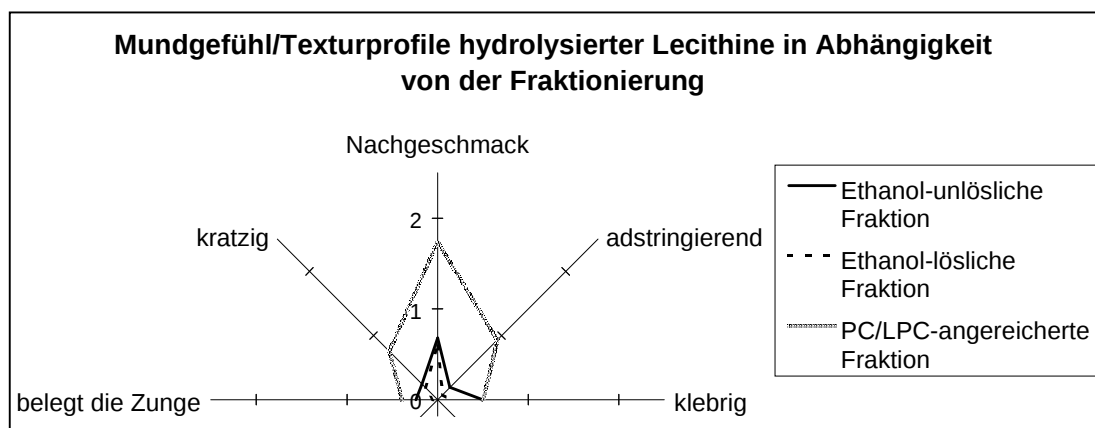


Abb.22: Mundgefühl/Texturprofile in Abhängigkeit von der Fraktionierung der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Durch Ethanol-Fraktionierung (Abb. 22) werden die Eigenschaften des Nach- und des Beigeschmacks fast vollständig entfernt. Eine säulenchromatographische Anreicherung von PC/LPC bewirkt jedoch wiederum eine Intensivierung des Nachgeschmacks sowie der kratzigen und adstringierenden Eindrücke.

5.1.3 Geschmacksprofile

Abbildungen 23 bis 26 zeigen die ermittelten Geschmacksprofile verschieden behandelter Lecithine.

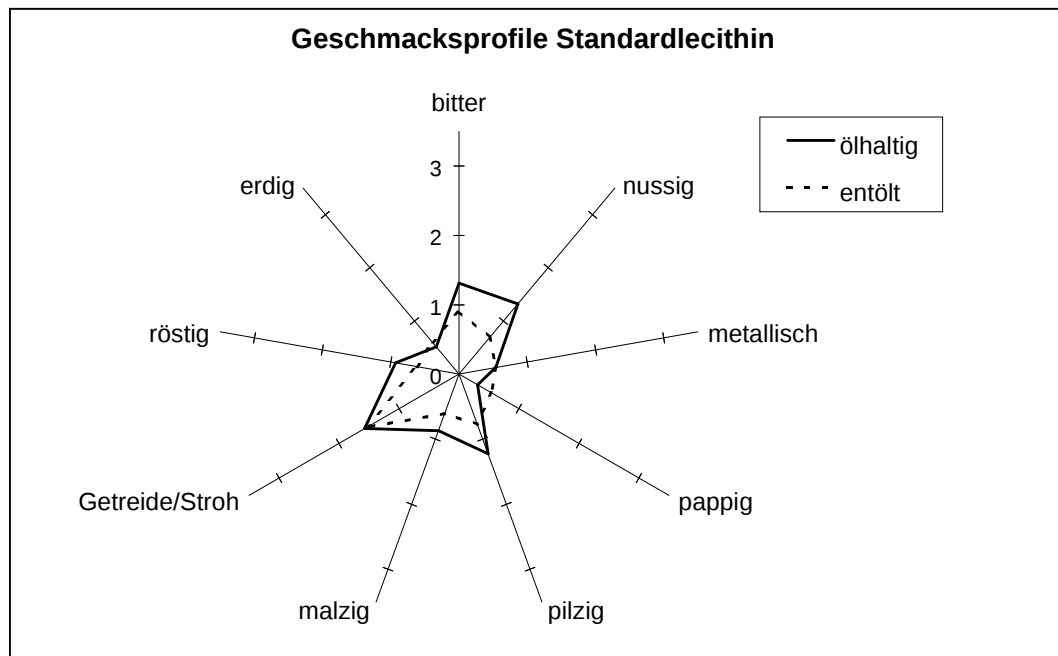


Abb.23: Geschmacksprofile der Standardlecithine ölhaltig und entölt je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Die Hauptmerkmalseigenschaften des Geschmacks von Standardlecithinen sind strohig, getreideartig, bitter, nussig, röstig und pilzig. Durch die Aceton-Entölung tritt beim Reinlecithin im wesentlichen eine Abschwächung der Attribute nussig, bitter, röstig und malzig ein. Die Geschmackseigenschaften strohig/getreideartig, erdig und metallisch bleiben im Reinlecithin in gleicher Intensität erhalten, der pappige Eindruck erfährt eine leichte Intensitätserhöhung.

Hydrolysierte Lecithine weisen erhöhte Intensitäten der Geschmackseigenschaften bitter, metallisch, röstig und erdig auf. Besonders dem Bittergeschmack mit Intensitäten bis zu 3,3 Skalenpunkten kommt eine herausragende Bedeutung in der off-Flavor Problematik der hydrolysierten Lecithine zu. Eigenschaften wie z.B. malzig und pappig haben im hydrolysierten Lecithin eine geringere Intensität als im Standardlecithin.

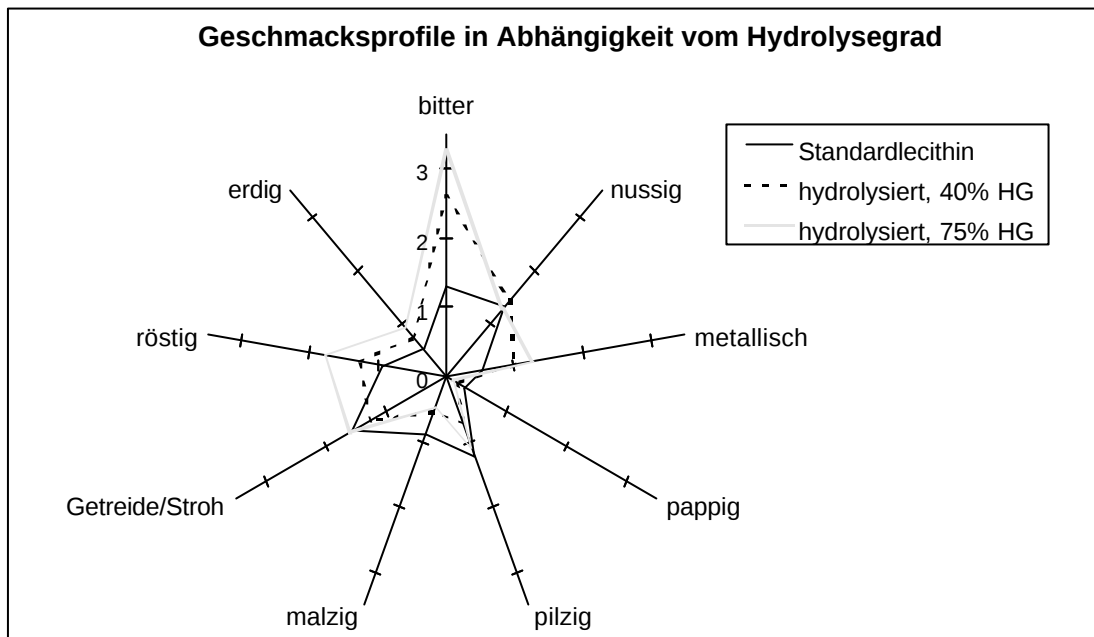


Abb.24: Geschmacksprofile in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

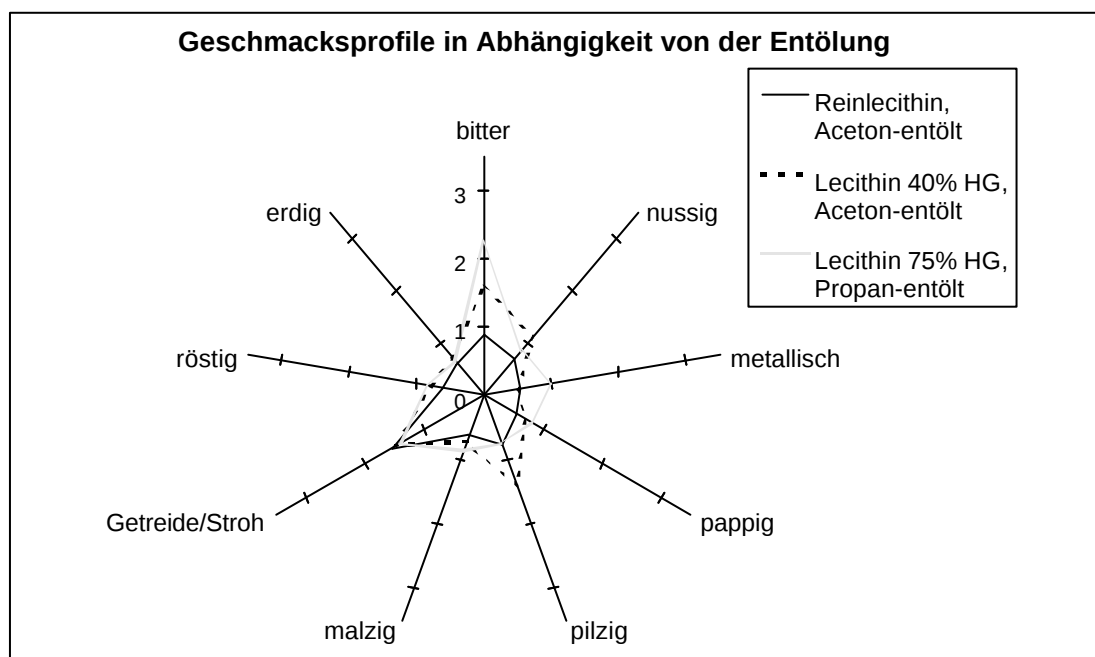


Abb.25: Geschmacksprofile in Abhängigkeit von der Entölungsart der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Verglichen mit der Aceton-Entölung bewirkt die Propan-Entölung nur eine verminderte Abnahme des Bittergeschmacks und des metallischen Eindrucks. Neben dem Bittergeschmack bestimmen die getreideartig/strohigen Wahrnehmungen die Geschmackseigenschaften der entöhlten Lecithine wesentlich.

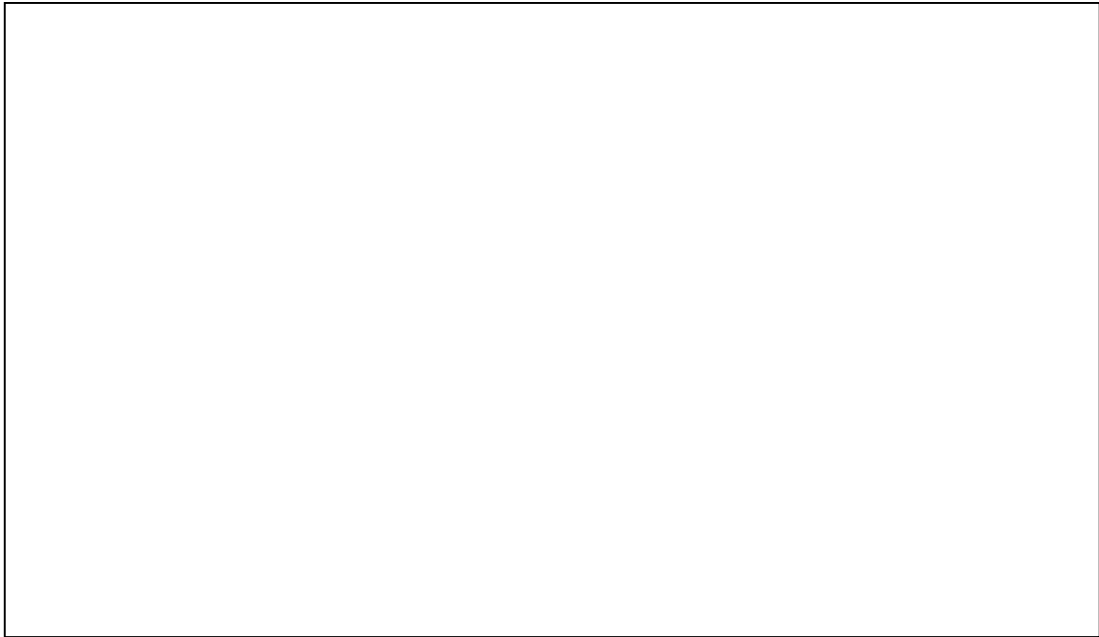


Abb.24: Geschmacksprofile in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

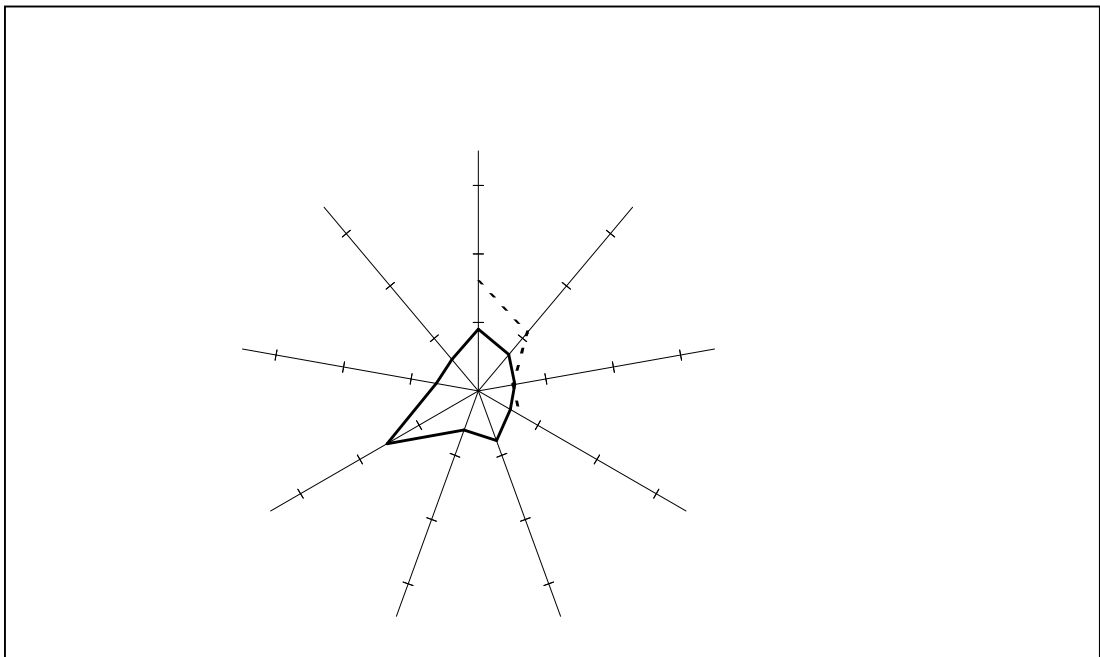


Abb.25: Geschmacksprofile in Abhängigkeit von der Entölungsart der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Verglichen mit der Aceton-Entölung bewirkt die Propan-Entölung nur eine verminderte Abnahme des Bittergeschmacks und des metallischen Eindrucks. Neben dem Bittergeschmack bestimmen die getreideartig/strohigen Wahrnehmungen die Geschmackseigenschaften der entölte Lecithine wesentlich.

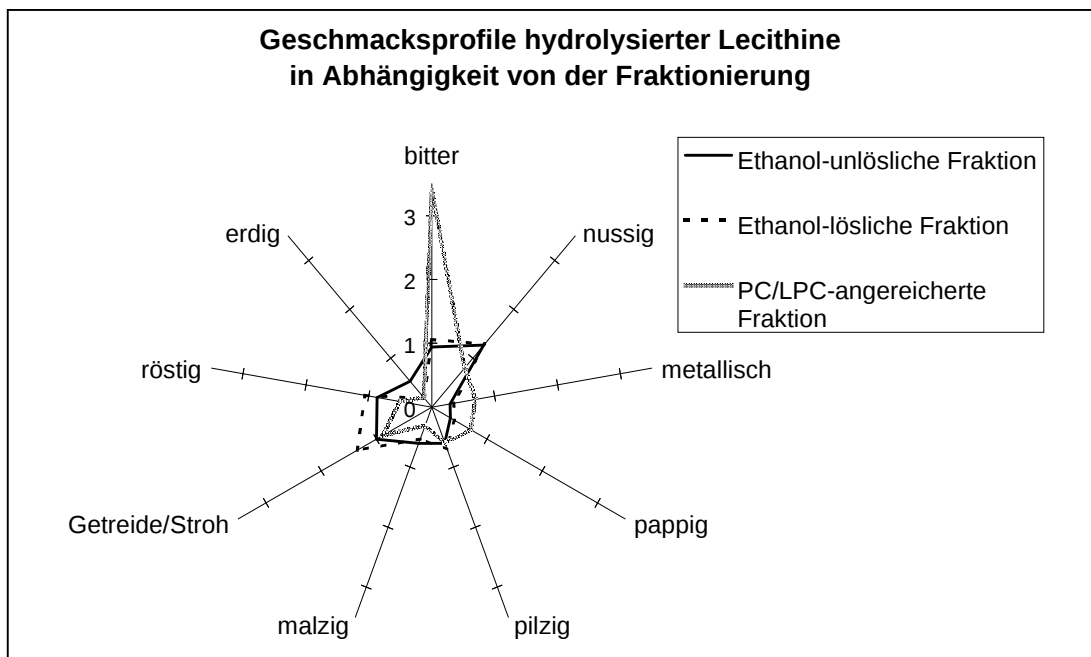


Abb.26: Geschmacksprofile in Abhängigkeit von der Fraktionierung der Lecithine je 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n = 20; Darstellung Milchprofil-korrigiert)

Bei der Fraktionierung mittels Ethanol wird der Bittergeschmack sowohl in der löslichen als auch unlöslichen Fraktion gemindert. Die angereicherte PC/LPC-Fraktion (>95% PC/LPC) weist jedoch im Gegensatz dazu einen intensiven Bittergeschmack auf.

5.1.4 Bestimmung signifikanter Bitterunterschiede von Lecithinen

Mittels erweiterter Dreiecksprüfungen wurden jeweils drei Lecithine in drei Dreiecken von 18 Prüfern gegeneinander verkostet (Prüfmuster A mit B, B mit C und C mit A; in beliebiger Reihenfolge). Abbildung 58 (Anhang 8.2.2.2) zeigt das Formblatt der Prüfung. Neben der Erkennung der jeweils abweichenden Probe galt es, Einzel- bzw. Doppelproben zu bevorzugen, den Intensitätsunterschied beider Proben zu ermitteln und die Unterschiede zu beschreiben. Diese Art der modifizierten Dreiecksprüfung ermöglicht es, signifikante Unterschiede zwischen den Prüfmustern zu bestimmen und durch die „Ringprüfung“ (alle Prüfgüter jeweils gegeneinander) zu bestätigen. Zudem geben die Bevorzugungen und die Intensitäten der Unterschiede wichtige Informationen über die Qualität der Ergebnisse und die Größe der Differenz. Abbildung 27 zeigt die Ergebnisse der Versuchsreihe der drei Lecithine Standard, hydrolysiert und stark hydrolysiert.

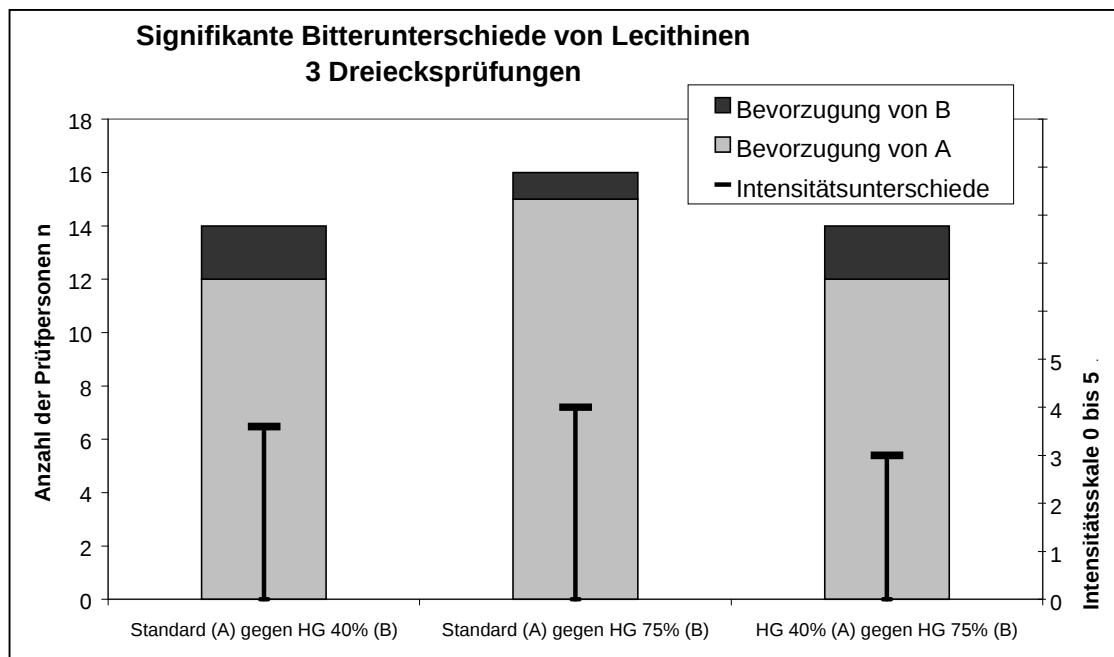


Abb.27: Darstellung der Ergebnisse der erweiterten Dreiecksprüfungen der Lecithine Standard, hydrolysiert (HG 40%) und stark hydrolysiert (75% HG) jeweils 1%ig in 3,5%iger H-Milch (n=18)

Die jeweiligen Gesamtbalken (Bevorzugung A + B) in Abbildung 27 stellen die Anzahl der Prüfpersonen dar, die die abweichende Probe erkannt haben. Die Signifikanzniveaus liegen bei 10 ($p=0,05$), 12 ($p=0,01$) und 13 ($p=0,001$) Erkennungen der Einzelprobe. Die Lecithine der oben dargestellten Dreiecksprüfungen weisen somit alle sehr hoch signifikante Unterschiede auf ($p=0,001$). Die Bevorzugung im jeweiligen Dreieck ist jeweils nur für richtige Erkennungen auswertbar. Für 14 richtige Erkennungen (Dreieck 1 und 3) ergibt eine Bevorzugung von 12 Personen für eine Probe ein Signifikanzniveau von 95% ($p=0,05$), 15 von 16 (Dreieck 2) Urteilen ein Niveau von 99,9% ($p=0,001$; vergleiche 8.4.9).

Folgende Rangfolge lässt sich aus den Ergebnissen der durchgeführten erweiterten Dreiecksprüfungen für den Bittergeschmack der Lecithine ableiten (Abb.28):

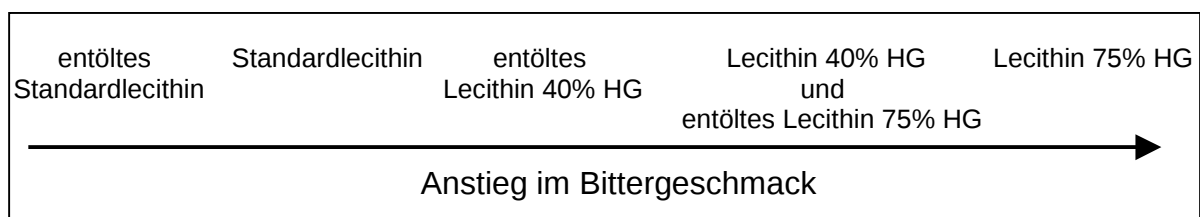


Abb.28: Rangfolge herkömmlicher Sojalecithine im Bittergeschmack

5.1.5 Schwellenwert des Bittergeschmacks hydrolysiertes Lecithine

Für weitergehende Untersuchungen zu den Ursachen des Bittergeschmacks von insbesondere hydrolysierten Sojalecithinen wurden zunächst deren Erkennungsschwellenwerte für den Bittergeschmack im Vergleich zum Standardlecithin bestimmt. Abbildung 29 zeigt die Abhängigkeit der Bitterintensität von der Konzentration des stark hydrolysierten Lecithins (HG 75%) in 3,5%iger H-Milch. Die jeweilige Konzentration des hydrolysierten Lecithins wurde hierbei mittels Dreiecksprüfung gegen die des Standardlecithins verkostet. Die Erkennungsschwelle ist hierbei definiert als signifikante Unterscheidung von Probe und Vergleich mit einem Signifikanzniveau von 95% ($p=0,05$).

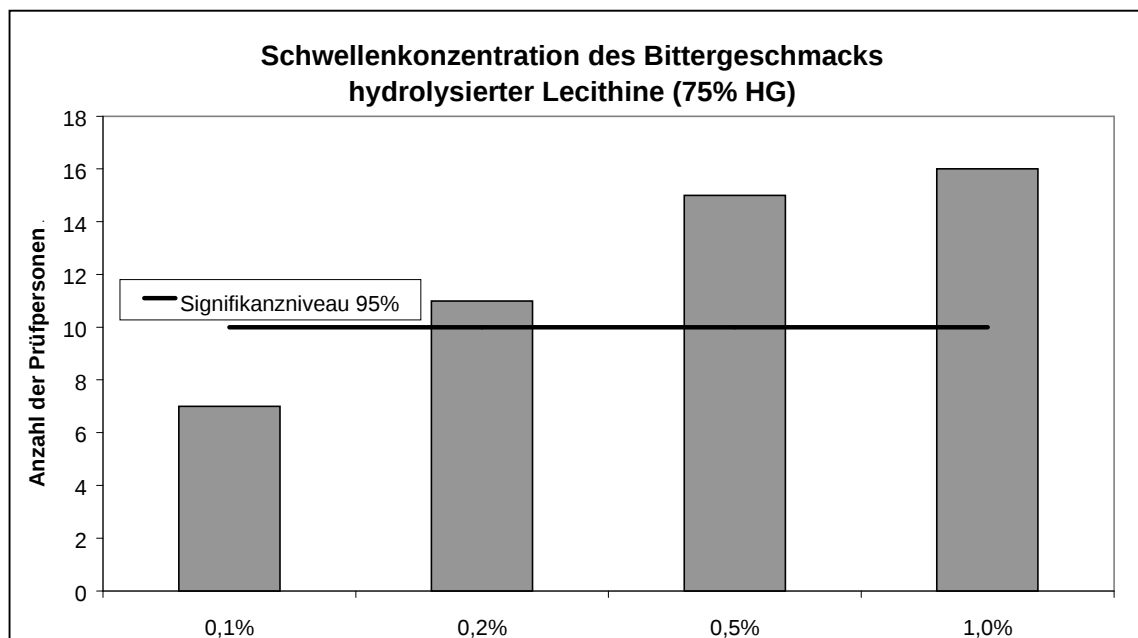


Abb.29: Abhängigkeit der Bitterintensität von der Konzentration des stark hydrolysierten Lecithins (HG 75%) in 3,5%iger H-Milch im Vergleich zum Standardlecithin (Dreiecksprüfungen, $n=18$)

Die Erkennungsschwelle für den Bittergeschmack des stark hydrolysierten Lecithins (HG 75%) liegt zwischen 0,1 und 0,2g hydrolysierten Lecithins/100g Milch. Ab diesem Konzentrationsbereich ist der Einsatz herkömmlicher hydrolysiertes Lecithine (in der Matrix Milch bzw. ähnlich wasserhaltiger Medien) anstatt von Standardlecithinen mit einer signifikanten Veränderung im Bittergeschmack behaftet.

5.2 Aroma von Sojalecithinen

5.2.1 Arbeitsschema

Abbildung 30 zeigt einen schematischen Überblick über die zur Aufklärung des Sojalecithinaromas angewandten Untersuchungsverfahren.

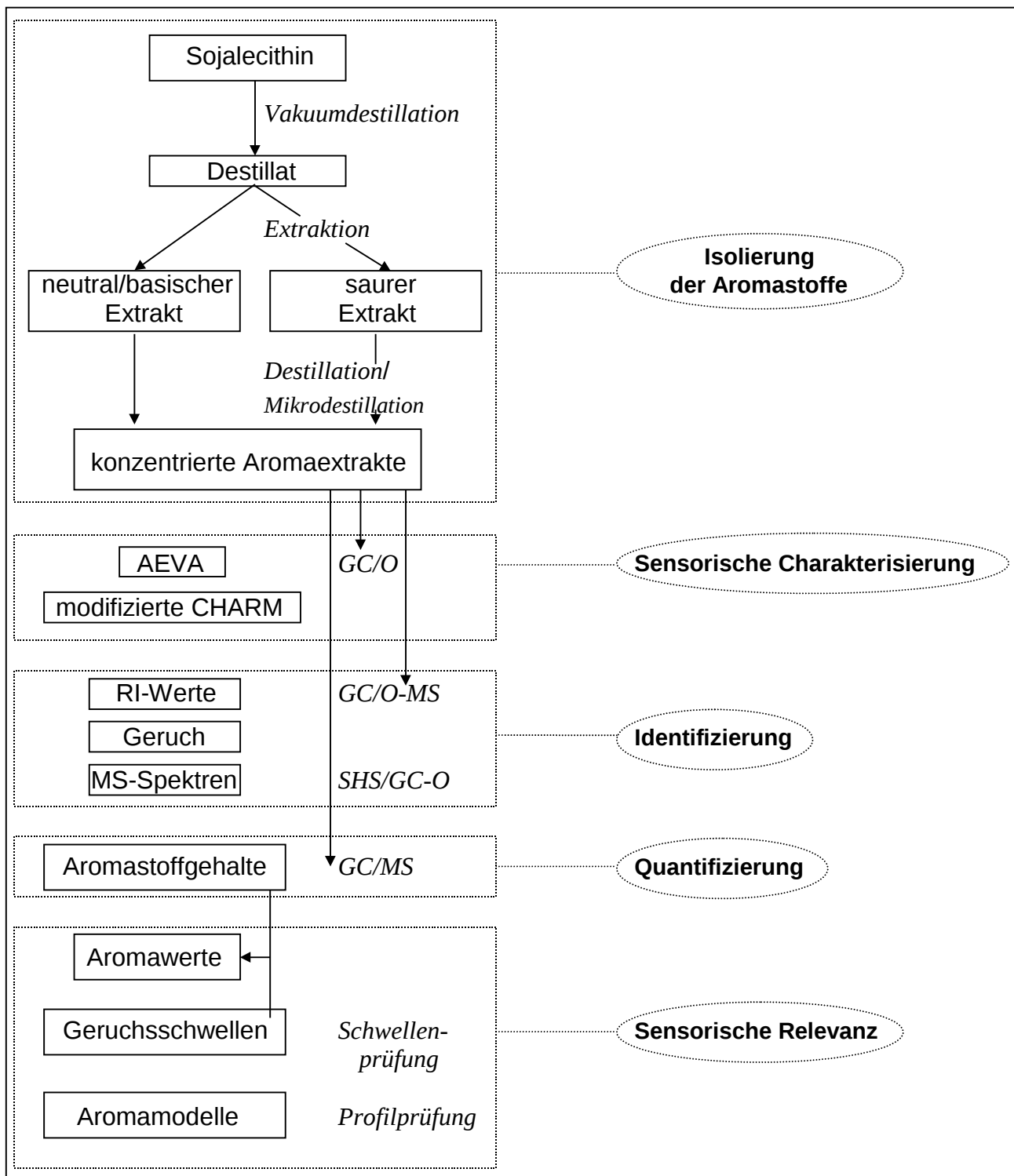


Abb.30: Arbeitsschema der Aromastoffanalytik von Sojalecithinen

5.2.2 Isolierung von Aromastoffen aus der Lecithinmatrix

Vakuumdestillation

Die Isolierung der Aromastoffe zur weiteren Identifizierung, Quantifizierung und sensorischen Charakterisierung erfolgte durch die Vakuumdestillation mit anschließender Trennung in neutral/basischen und sauren Extrakt sowie Konzentrierung durch Destillation und Mikrodestillation (siehe Anhang 8.2.1.1). Diese Methode wurde aus bekannten Verfahren adaptiert (GUTH und GROSCH, 1989; SEN et al. 1991; RYCHLIK und GROSCH, 1996) und durch in einer Reihe von im folgenden kurz skizzierten Teilschritten modifiziert. Die Optimierungen der Methode erfolgten im wesentlichen aufgrund der matrixbedingten geringen Freisetzung der Aromastoffe, die bei herkömmlicher Isolierung im hochviskosen, sirupösen Lecithin verbleiben. Abbildung 31 zeigt die verwendete modifizierte Vakuumdestillationsapparatur.

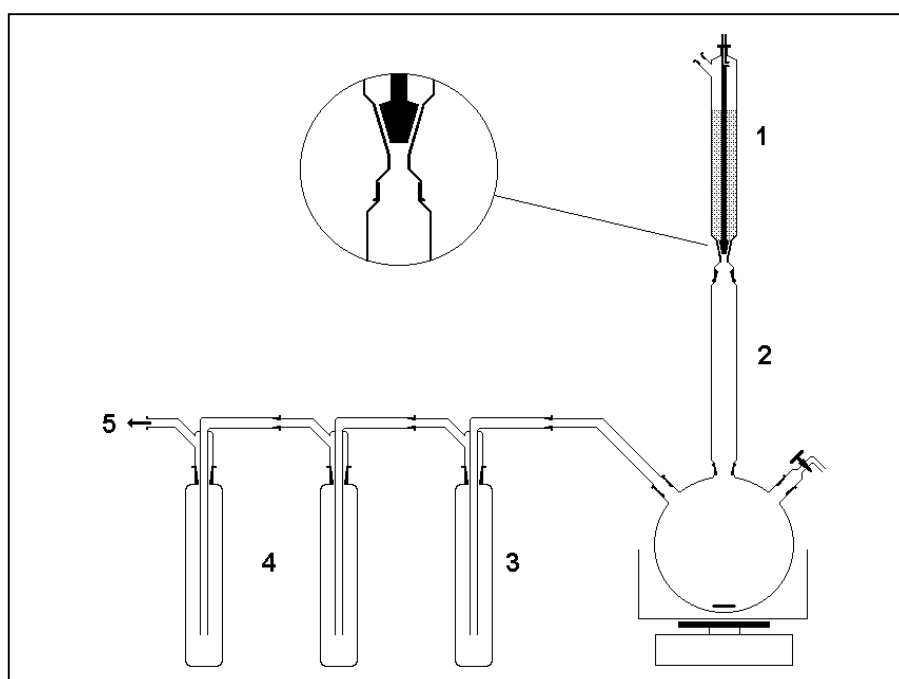


Abb.31: Modifizierte Vakuumdestillationsapparatur: Dosiertrichter mit integriertem MARRIOTTE'schen Rohr u. Innenschliff (1); Fallrohr (2); ungekühlte Fettfalle (3); Flüssig-Stickstoff-Kühlfallen (4); Vakuumpumpen (5)

Folgende Modifizierungen wurden zur Verbesserung der Ausbeute und Artefaktminimierung für die Vakuumdestillation von Sojalecithinen entwickelt:

- Spontane Vergrößerung der Lecithinoberfläche durch die tropfenweise Zugabe des Lecithins zum vakuumführenden Apparaturteil mittels Dosiertrichter mit integriertem MARRIOTTE'schen Rohr und Innenschliff (1).

- Vergrößerung der Lecithinoberfläche durch Filmbildung an der Innenwand eines Fallrohres (2).
- Integration einer ungekühlten „Fettfalle“ (3) zur Sicherung der Reinheit des Destillats.
- Trocknung der Etherphasen über hydrophobe Filtersysteme.

Simultane Destillation Extraktion (SDE)

Mittels SDE können wesentlich höhere Ausbeuten an Aromastoffen als bei der Vakuumdestillation erzielt werden. Durch die z.T. extremen Isolierungsbedingungen während der SDE (hohe thermische Belastung, lange Extraktionsdauer, stark saures Milieu) ist jedoch eine Artefaktbildung und somit eine Veränderung der originären Aromastoffzusammensetzung möglich. Dies zeigt sich u.a. in den Wiederfindungen von mittels SDE isolierten Aromastoffen, welche in Abhängigkeit von der Isolierungszeit bestimmt wurden (siehe 8.2.1.2). Aromastoffe wie bspw. (*E,E*)-2,4-Decadienal werden hierbei auch nach drei Stunden noch in beträchtlichen Mengen im Destillat gefunden (Tabelle 9). Da zudem in den durchgeführten Modelluntersuchungen stark variierende Wiederfindungen zwischen 36% (2-Acetylpyrazin) und 96% (Octanal) erzielt wurden, eignet sich die durchgeführte SDE nicht zur Isolierung der Aromastoffe für weitergehende Untersuchungen.

Tabelle 9: Abhängigkeit der Wiederfindung ausgewählter Aromastoffe von der Extraktionsdauer der SDE (n=3; Modellversuch siehe Anhang 8.3.2)

Aromastoff	Wiederfindung [%]				
	0.-1. Stunde	1.-2. Stunde	2.-3. Stunde	3.-4. Stunde	Σ [%]
Octanal	83	10	2	1	96
(<i>E</i>)-2-Nonenal	51	19	6	3	79
3-Methylbuttersäure	38	22	10	7	77
Hexanal	71	3	1	1	76
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	50	18	5	2	75
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	35	20	8	5	68
Valeriansäure	28	19	10	8	65
3-Methylbutanal	53	2	1	<1	56
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	21	15	10	9	55
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	20	16	9	7	52
(<i>E</i>)-β-Damascenon	19	13	9	8	49
2,3-Butandion	40	6	2	<1	48
Buttersäure	19	14	8	7	48
2-Acetylpyrazin	13	10	6	7	36

Mittels SDE gewonnene Aromastoff-Extrakte ermöglichen es jedoch gerade aufgrund der Artefaktbildung sowie der erhöhten Aromastoffkonzentration, bestimmte geruchsaktive Verbindungen erstmalig durch GC/O wahrzunehmen und den Geruchssinn auf diese Verbindungen zu den entsprechenden Retentionszeiten zu sensibilisieren. Zudem gibt die SDE Hinweise, welche Aromastoffe im Sojalecithin durch thermische Behandlungen entstehen können.

Statische Headspace (SHS)

Sehr leichtflüchtige Aromastoffe können nach der Aromastoffisolierung durch die Vakuumdestillation mittels GC/O nicht identifiziert werden, wenn sie bei ihrer Retention vom Lösungsmittel (Diethylether) überlagert werden. Zur Erfassung dieser Verbindungen wurden die jeweiligen Lecithine deshalb mittels SHS untersucht (Anhang 8.2.1.3).

Es wurden mittels kombinierter SHS und GC/O nur sehr leichtflüchtige geruchsaktive Verbindungen wahrgenommen, die bereits in Untersuchungen von Vakuumdestillaten identifiziert wurden. Die von ihrer Retentionszeit erste mittels GC/O geruchlich wahrgenommene Substanz war, wie bei den GC/O-Untersuchungen der Vakuumdestillate, 2-Methylpropanal mit einem schokoladenartig, strohigen Geruch. Verbindungen wie bspw. Acetaldehyd oder sehr leichtflüchtige geruchsaktive Schwefel-haltige Verbindungen erzielten in den mittels SHS untersuchten Lecithinen keine sensorische Bedeutung. Ebenso wenig wurden leichtflüchtige Amine mittels SHS-GC/O wahrgenommen.

5.2.3 Aromastoffe des Sojalecithins

In den untersuchten Sojalecithinen wurden insgesamt 63 Aromastoffe identifiziert (Tabelle 10). Die Identifizierung erfolgte über den Vergleich mit Referenzsubstanzen bezüglich der Geruchsbeschreibung, den Retentionsindices auf verschiedenen polaren Säulen (BGB-1701; BGB-FFAP) sowie den Massenspektren. Tabelle 10 beinhaltet sämtliche identifizierten, geruchsaktiven Substanzen der untersuchten Lecithine mit ihren geruchlichen Eigenschaften und Retentionsindices. Inwieweit die Aromastoffe in den jeweiligen Lecithinen wahrgenommen wurden, geht aus den FD-Diagrammen der AEVA (siehe 5.2.4.1) und den Ergebnissen der modifizierten CHARM-Analyse (siehe 5.2.4.2) hervor. Die sensorische Bedeutung der einzelnen Aromastoffe wird

für die jeweiligen Lecithine unter 5.2.8 (Aromawerte) beschrieben. Die MS-Daten der Identifizierung der Aromastoffe sind in Tabelle 38 (Anhang 8.7.1) dargestellt.

Tabelle 10: Aromastoffe der untersuchten Sojalecithine

Ifd. Nr. ^{a)}	Aromastoff	Geruchsbeschreibung ^{b)}	RI-Werte ^{c)}	
			BGB- 1701	BGB- FFAP
1	2-Methylpropanal ^{d)}	malzig, strohig	634	<900
2	2,3-Butandion ^{d)}	butter-, karamellartig	665	990
3	3-Methylbutanal ^{d)}	malzig, strohig	729	933
4	2-Methylbutanal ^{d)}	strohig	734	939
5	2,3-Pentandion ^{d)}	butterartig	775	1076
6	Dimethyldisulfid ^{d)}	schweflig	809	1104
7	Hexanal ^{d)}	grün, grasartig	876	1106
8	Mesityloxid ^{d)}	mandelartig	879	1159
9	2-Methylpyrazin ^{d)}	kümmelartig, röstig	905	1297
10	2-Heptanon ^{d)}	eisbonbonartig	969	1164
11	Heptanal ^{d)}	talig	979	1208
12	(Z)-4-Heptenal ^{d)}	fischig	985	1267
13	Diethyldisulfid ^{d)}	stinkig, schweflig	989	1246
14	2-Acetyl-1-pyrrolin ^{e)}	popcornartig	1012	1371
15	2-Pentylfuran ^{d)}	lakritzartig, strohig	1023	1251
16	1-Octen-3-on ^{d)}	champignonartig	1063	1327
17	1-Octen-3-ol ^{d)}	steinpilzartig	1068	1459
18	2-Ethyl-5-methylpyrazin ^{f)}	toffeeartig	1077	
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on ^{e)}	geranienartig, metallisch	1080	1406
20	Benzaldehyd ^{d)}	bittermandelartig	1083	1583
21	Octanal ^{d)}	apfelsinenartig	1086	1314
22	2-Acetylpyrazin ^{d)}	popcornartig, röstig	1139	1686
23	3-Octen-2-on ^{d)}	nussig, fruchtig	1140	1440
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin ^{e)}	erdig, erbsenartig	1147	1461
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin ^{d)}	röstig, erdig	1150	1477
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin ^{d)}	röstig, erdig	1157	1494
27	1-Nonen-3-on ^{e)}	pilz-, waldbodenartig	1165	1432
28	1-Nonen-3-ol ^{d)}	pilzartig	1167	1561
29	(E)-2-Octenal ^{d)}	kartonartig, fettig	1168	1467
30	Phenylacetaldehyd ^{d)}	honigartig	1179	1704
31	Nonanal ^{d)}	talig, fruchtig	1187	1420
32	(Z)-3-Nonenal ^{f)}	gurkenartig	1190	
33	(E,E)-3,5-Octadien-2-on ^{f)}	gurkenartig, würzig	1214	
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin ^{d)}	röstig, erdig	1219	1524

35	3,5-Diethyl-2-methylpyrazin ^{f)}	röstig, erdig	1223	
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin ^{e)}	paprikaartig, scharf	1240	1558
37	3-Nonen-2-on ^{d)}	nussig, fruchtig	1245	1547
38	(Z)-2-Nonenal ^{f)}	fettig	1254	
39	2-Phenylethanol ^{d)}	honigartig	1269	1978
40	(E)-2-Nonenal ^{d)}	kartonartig, pappig	1273	1575
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal ^{d)}	gurkenartig	1275	1629
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol ^{d)}	gurkenartig	1275	1794
43	2-Pentylpyridin ^{d)}	strohig, talgartig	1279	1609
44	Isophoron ^{d)}	nussig	1285	1661
45	(E,E)-2,4-Nonadienal ^{d)}	fettig	1348	1753
46	3-Methyl-2,4-nonandion ^{d)}	strohig, lakritzartig	1393	1764
47	(E,Z)-2,4-Decadienal ^{f)}	talgig	1426	
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal ^{e)}	metallisch	1451	1939
49	(E,E)-2,4-Decadienal ^{d)}	frittierfettartig	1453	1864
50	γ -Octalacton ^{d)}	kokosartig	1473	2000
51	(E)- β -Damascenon ^{d)}	apfelartig, gebacken	1511	1880
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal ^{e)}	metallisch	1553	2061
53	γ -Nonalacton ^{d)}	kokosartig	1586	2116
54	γ -Decalacton ^{d)}	kokosartig	1698	2231
A	Essigsäure ^{d)}	essigsauer		1468
B	Propionsäure ^{d)}	stechend		1554
C	Buttersäure ^{d)}	schweißig, ranzig		1646
D	3-Methylbuttersäure ^{d)}	schweißig, käsig		1687
E	2-Methylbuttersäure ^{d)}	schweißig-süß		1688
F	Valeriansäure ^{d)}	schweißig, käsig		1757
G	Crotonsäure ^{d)}	beißend		1803
H	Hexansäure ^{d)}	ziegenartig, schweißig		1867
I	3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon ^{d)}	liebstockelartig		2201

a) Aromastoffe 1-54 in der neutralen Fraktion, A-I in der sauren Fraktion identifiziert.

b) Geruchsbeschreibung am GC-Sniffdetektor.

c) Retentionsindices nach VAN DEN DOOL und KRATZ (1963).

d) Verbindung durch Vergleich mit der Referenzsubstanz anhand folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindex (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, Massenspektrum (MS-EI) und Geruchsqualität am GC-Sniffdetektor.

e) Massenspektrum zu schwach zur eindeutigen Interpretation. Identifizierung anhand der übrigen Kriterien von ^{d)}.

f) Verbindung ohne Referenzsubstanz durch MS-Spektren, Geruchsqualität und RI-Werte aus der Literatur identifiziert.

Von den 63 identifizierten Aromastoffen wurden 55 Aromastoffe erstmalig als geruchsaktive Substanzen im Sojalecithin beschrieben. Die Verbindungen 5, 7, 8, 15,

17, 23, 37 und 44 wurden zuvor von KIM et al. (1984) als flüchtige Verbindungen in entöltem Sojalecithin identifiziert.

5.2.4 Olfaktometrische Charakterisierung

5.2.4.1 AEVA und FD-Diagramme

Die Ergebnisse der GC/O-Untersuchungen mittels AEVA sind in Form von FD-Diagrammen dargestellt. Hierbei wurden nur FD-Werte berücksichtigt, die ≥ 16 waren, also in einer Verdünnung des Aromaextraktes von 2^{-4} noch geruchlich am Sniff-Detektor von zwei Prüfern wahrgenommen wurden. Die Durchführung der AEVA ist im Anhang unter 8.2.2.4 beschrieben.

Die folgenden Abbildungen 32 und 33 zeigen die FD-Diagramme der standardisierten und hydrolysierten Lecithine sowie ihrer jeweiligen entölten Varianten. FD-Werte, die sich um mehr als Faktor 4 unterscheiden, deuten dabei i.d.R. auf einen signifikanten Unterschied in den Gehalten des entsprechenden Aromastoffs (vergleiche 5.2.6) in den unterschiedlichen Lecithinen hin. Unterschiede kleiner Faktor 4 werden teilweise durch Schwankungen der olfaktometrischen Wahrnehmung verursacht. Die AEVA wurde für den neutral/basischen Extrakt auf einer BGB-1701- und einer BGB-FFAP-Kapillarsäule, für den sauren Extrakt nur auf einer BGB-FFAP-Kapillarsäule durchgeführt. Die Aromastoffe der neutral/basischen Fraktion sind durchnummeriert, die Aromastoffe der sauren Fraktion sind durch Buchstaben gekennzeichnet (vergleiche Tabelle 10). Die Vielzahl der Aromastoffe, die in hohen Verdünnungsstufen (2^{-8} bis 2^{-13}) olfaktorisch wahrgenommen wurden, deutet darauf hin, daß es sich bei den Verbindungen, die das Sojalecithin-Aroma prägen, nicht um einzelne character-impact-compounds handelt, sondern daß eine ganze Reihe an geruchsaktiven Verbindungen das Aroma bilden.

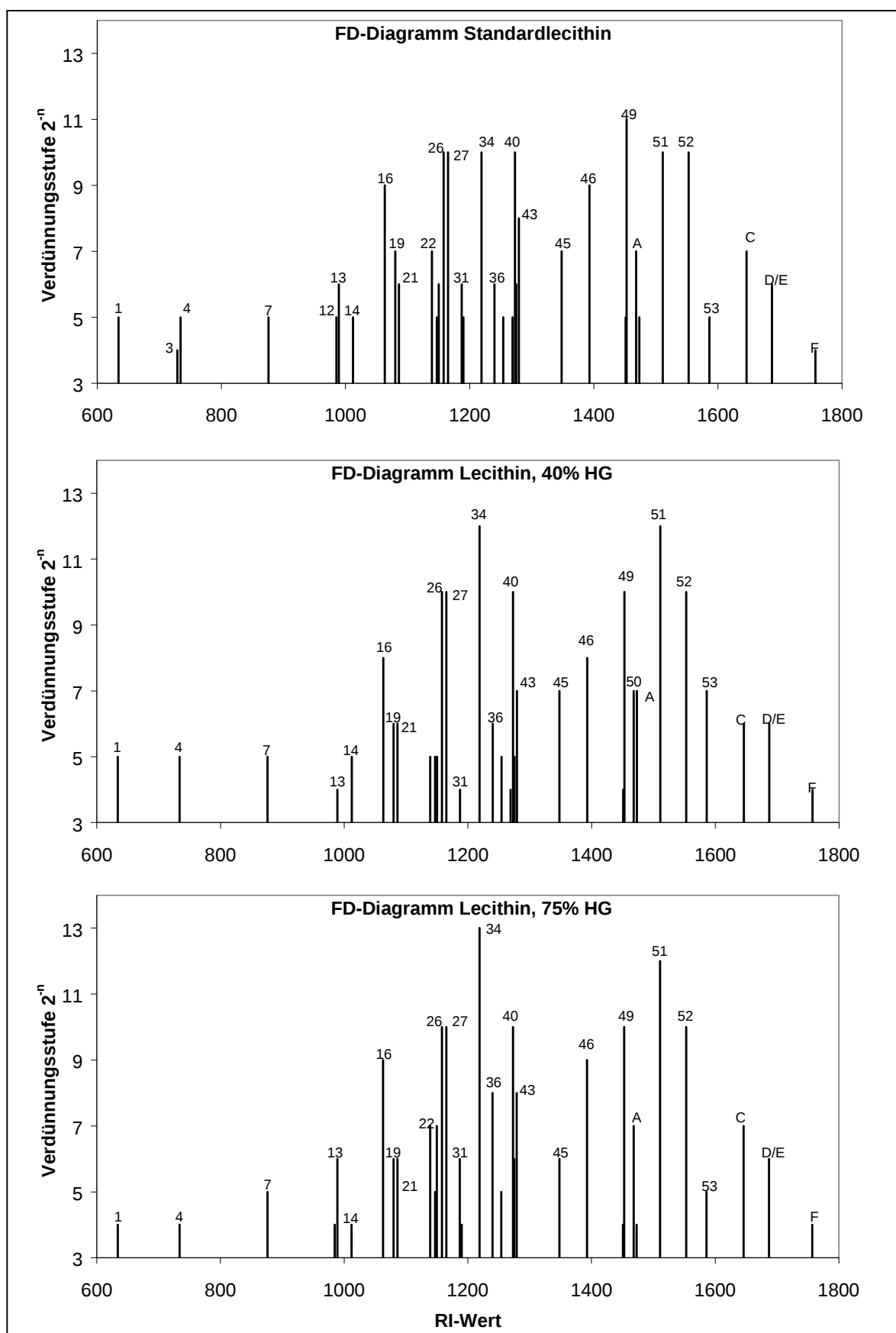


Abb.32: FD-Diagramme Standardlecithin, Lecithin 40% HG und 75% HG (neutral/-basische Fraktion: Aromastoffe 1-54 auf BGB-1701; saure Fraktion: A-I auf BGB-FFAP; $n=2$)

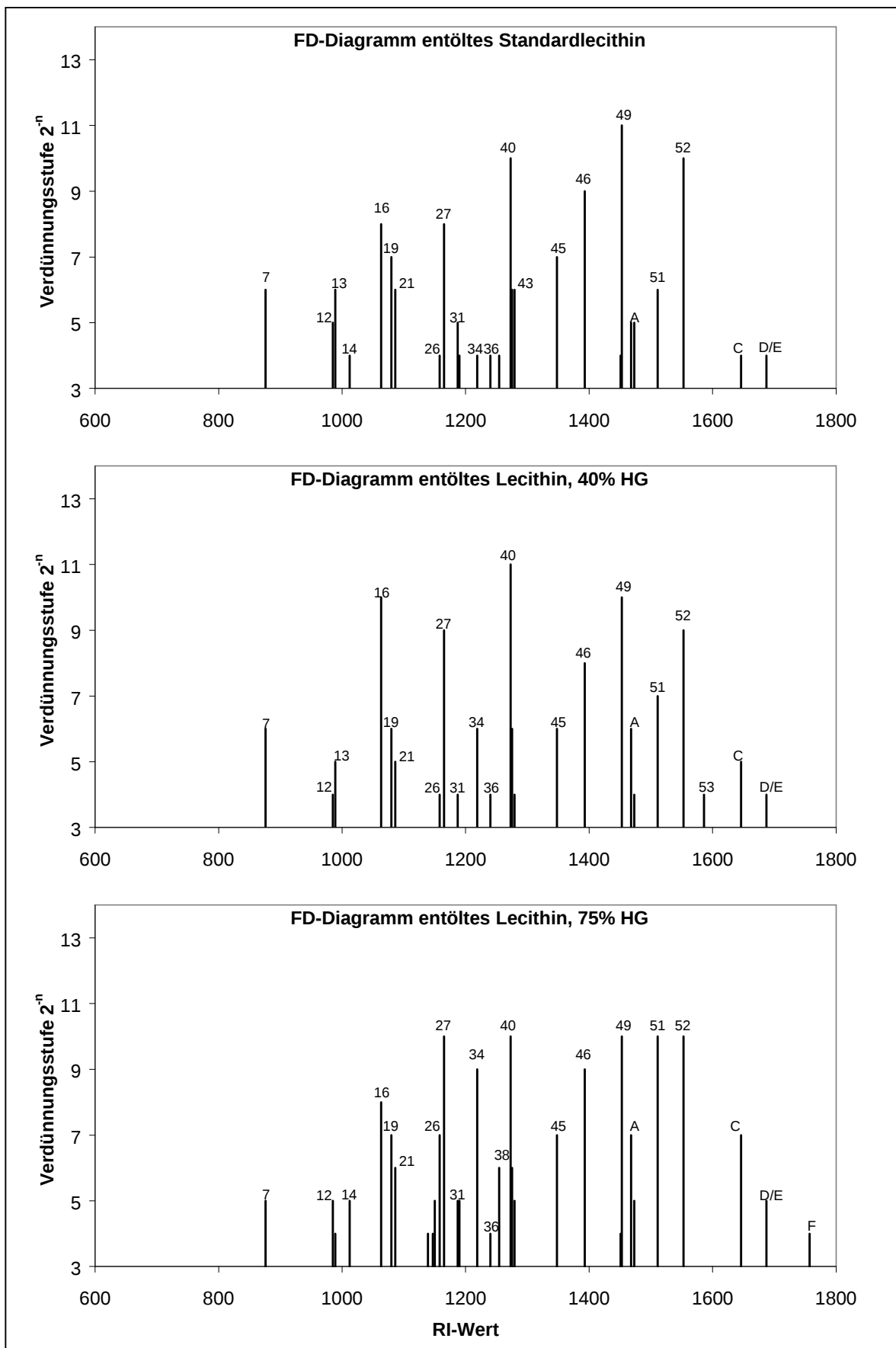


Abb.33: FD-Diagramme entöltes Standardlecithin, entöltes Lecithin 40% HG und 75% HG (neutral/basische Fraktion: Aromastoffe 1-54 auf BGB-1701; saure Fraktion: A-I auf BGB-FFAP; n=2)

5.2.4.2 Modifizierte CHARM-Analyse

Im Gegensatz zur AEVA geht bei der modifizierten CHARM-Analyse neben der Anzahl der Prüfer und der Verdünnungsstufe der Geruchswahrnehmung zusätzlich die Zeitdauer der Geruchswahrnehmung in die Berechnung mit ein. CHARM-Werte können hierdurch im Vergleich zur AEVA ein verändertes Bild der sensorischen Einstufung von Aromastoffen ergeben, aber auch deren Ergebnisse erhärten. Abbildung 34 zeigt beispielhaft die Ergebnisse der modifizierten CHARM-Analyse von zwei Lecithinen in Form von „CHARM-Diagrammen“. Die Durchführung und Auswertung der modifizierten CHARM-Analyse sind im Anhang (unter 8.2.2.5 und 8.4.2) beschrieben.

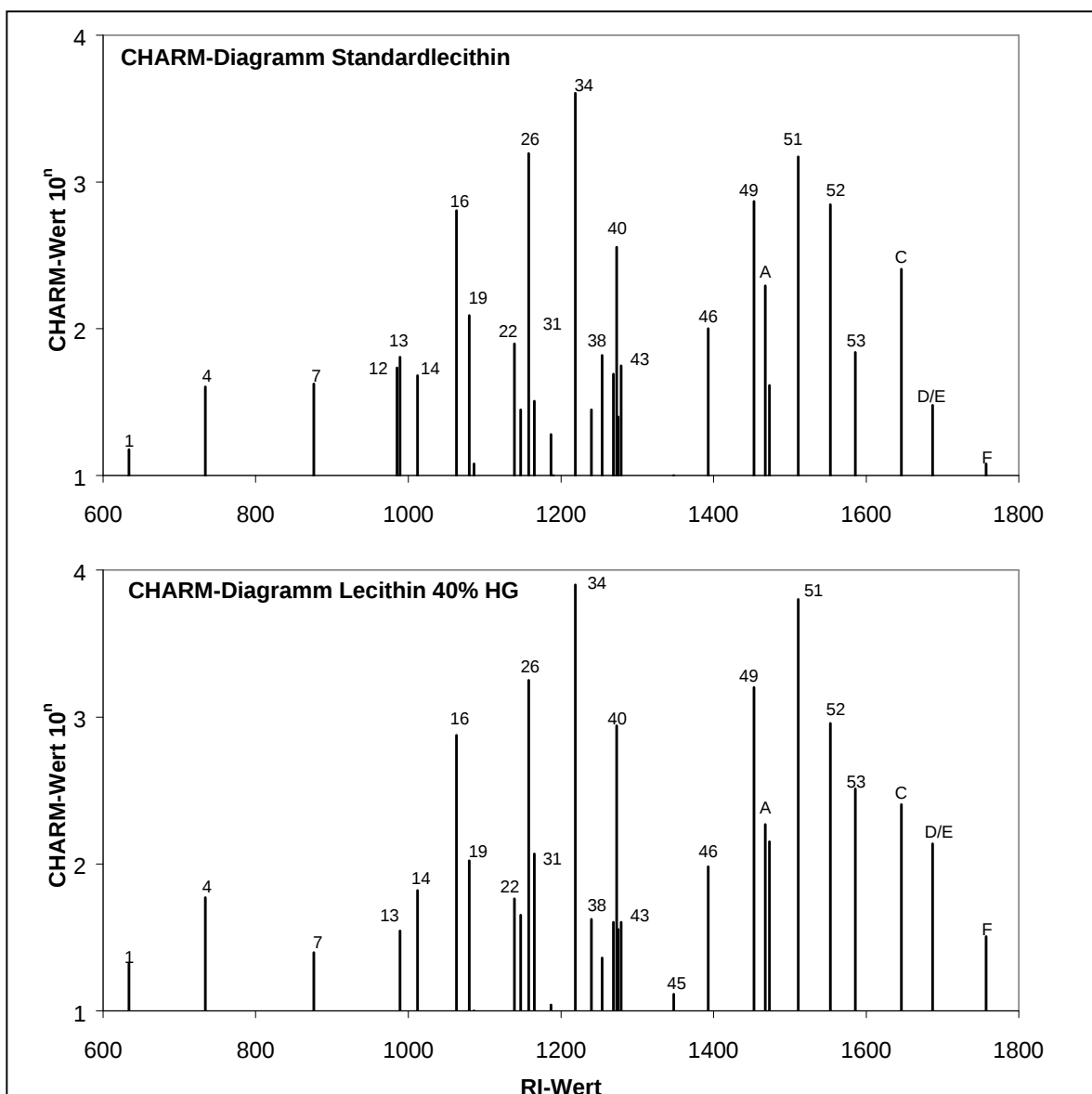


Abb.34: CHARM-Diagramme Standardlecithin und Lecithin 40% HG (neutral/-basische Fraktion: Aromastoffe 1-54 auf BGB-1701; saure Fraktion: A-I auf BGB-FFAP; n=8)

5.2.4.3 Bedeutung der FD- und CHARM-Diagramme

Durch den Einfluß der Dauer der Wahrnehmung sowie der größeren Prüferzahl ergeben sich bei der modifizierten CHARM-Analyse zum Teil Verschiebungen in der Bedeutung der einzelnen Aromastoffe im Vergleich zur AEVA (siehe Abbildung 32 und 34). Da es jedoch Zweck beider sensorischer Untersuchungen war, eine Vorauswahl in der geruchlichen Bedeutung der Aromastoffe im Hinblick auf eine Quantifizierung zu treffen, konnte durch Anwendung beider Verfahren die Wahrscheinlichkeit, potente Aromastoffe nicht wahrzunehmen, minimiert werden.

Bei der Auswahl der Aromastoffe zur Quantifizierung war des weiteren zu berücksichtigen, daß insbesondere die sehr leichtflüchtigen Verbindungen durch die Aufarbeitung (Vakuumdestillation, Extraktion, Mikrodestillation) eine niedrige Wiederfindung erfahren. Deshalb waren diese sehr leichtflüchtigen Aromastoffe, die speziell mittels SHS-GC/O wahrgenommen wurden, bei der Auswahl an Aromastoffen zur Quantifizierung zu berücksichtigen.

5.2.5 Quantifizierung der Aromastoffe von Sojalecithinen mittels GC/MS

Zur Quantifizierung wurde eine Methode entwickelt, die eine Bestimmung der Aromastoffe von Sojalecithinen mittels GC/MS-EI ermöglicht.

Interne Standards

Vor der Isolierung der Aromastoffe durch Vakuumdestillation wurden der Prüfprobe die internen Standards 5-Methyl-2-hexanon, 2-Ethylpyrazin, p-Anisaldehyd und Isobuttersäure zugesetzt. Die Auswahl der internen Standards (IS) erfüllte hierbei folgende Kriterien: Ähnlichkeit der funktionellen Gruppen von IS und Aromastoffen, Erfassen eines weiten Siedebereiches durch die IS, keine Koelution der IS mit den Aromastoffen auf den zur Quantifizierung verwendeten Kapillarsäulen, thermische Stabilität sowie Abwesenheit des IS im Probenmaterial.

Gleiche Eigenschaften galten für die nach der Mikrodestillation zugesetzten Volumenstandards (n-Decan und BHT) zur exakten Bestimmung des Probenvolumens (etwa 300µl) und zur Korrektur von Schwankungen des Injektionsvolumens. BHT besaß hierbei zudem stabilisierende Wirkung.

Target- und Qualifier-Ionen

Da die Bestimmungsgrenzen für eine Reihe von Aromastoffen bei herkömmlicher Quantifizierung z.T. deutlich unterschritten werden, wurden die Aromastoffe über für sie charakteristische Molekül-Bruchstücke mittels GC/MS-EI im SIM-Modus quantifiziert. Die Auswahl der Target- und Qualifier-Ionen ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Target(TI)- und Qualifier(QI)-Ionen zur Quantifizierung der Aromastoffe von Sojalecithinen mittels GC/MS-EI im SIM-Modus

lfd. Nr. ^{a)}	TI [m/z]	QI [m/z]	lfd. Nr. ^{a)}	TI [m/z]	QI [m/z]
1	72	43, 41	30	91	120, 92
2	86	43, 42	31	57	98, 69
3	58	71, 86	34	150	149, 135
4	57	58, 86	36	151	124, 94
5	43	57, 100	37	55	125, 43
6	94	79, 45	39	91	122, 92
7	56	82, 44	40	83	55, 96
8	83	98, 55	41	69	70, 67
9	94	67, 53	42	79	69, 68
10	43	58, 71	43	93	106, 120
11	70	86, 96	44	82	138, 54
12	68	67, 84	45	81	67, 138
13	122	94, 66	46	99	71, 170
14	83	68, 111	48	68	69, 125
15	81	138, 82	49	81	152, 95
16	55	70, 97	50	85	55, 56
17	57	72, 81	51	69	121, 190
19	55	95, 109	52	68	69, 139
20	77	106, 105	53	85	55, 56
21	84	100, 110	54	85	128, 55
22	122	80, 79	A	60	43, 45
23	55	111, 43	B	74	45, 73
24	137	152, 124	C	60	73, 42
25	135	136, 56	D	60	74, 87
26	135	136, 56	E	74	57, 87
27	55	70, 111	F	60	73, 45
28	57	113, 67	G	86	68, 69
29	70	83, 97	H	60	73, 87

^{a)} lfd. Nr. entspricht der Nummerierung/Buchstabierung der Aromastoffe nach Tabelle 10

Als Target- und Qualifier-Ionen wurden diejenigen Molekül-Bruchstücke gewählt, die für die Sojalecithinmatrix eine erfolgreiche Quantifizierung ermöglichten, d.h. nicht durch Substanzen mit gleicher Bruchstückbildung überlagert wurden. Dies waren zum einen im Idealfall die in größerer Konzentration gebildeten charakteristischen Molekülionen wie z.B. die Masse 150 für den Aromastoff 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin, zum anderen Bruchstücke wie z.B. die Masse 55, die zwar von einer Reihe von Fettoxidationsprodukten (z.B. 1-Octen-3-on) gebildet werden, ihre Spezifität dennoch über die charakteristische Retentionszeit der entsprechenden Aromastoffe erhalten. Zur Absicherung der Gehaltsbestimmungen dieser Substanzen wurde die Quantifizierung über die entsprechenden Bruchstück-Ionen an zwei verschiedenen polaren Säulen durchgeführt.

Bestimmung der Wiederfindungen und Korrekturfaktoren

Die Bestimmung der Wiederfindungen erfolgte anhand der den Proben zugesetzten internen Standards und lag in Abhängigkeit des IS und der aufgearbeiteten Probe für die Gesamtmethode bei 40 bis 60%.

Um unterschiedliche Wiederfindungen zwischen den Gehalten der Analyten und IS zu berücksichtigen, wurden Korrekturfaktoren (Kf) eingeführt, die im Modellsystem bestimmt wurden und sich auf den jeweils für den Analyten verwendeten IS beziehen. Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Korrekturfaktoren der Aromastoffe und ihre IS.

Insbesondere sehr leichtflüchtige und schwerflüchtige Aromastoffe sind mit zum Teil erheblichen Korrekturfaktoren behaftet, was im wesentlichen in der Aufarbeitung durch die Vakuumdestillation mit anschließender Konzentrierung des Destillates begründet ist. Um die Korrekturfaktoren, speziell die der sehr leichtflüchtigen Aromastoffe (mit bis zu $K_f = 10,8$), zu bestätigen, wurden diese durch dynamische Headspace (DHS) gekoppelt mit GC/MS verifiziert.

Tabelle 12: Korrekturfaktoren (Kf) der Aromastoffe, bezogen auf den jeweils verwendeten internen Standard (IS)

lfd. Nr. ^{a)}	Kf	verwendeter IS ^{b)}	lfd. Nr. ^{a)}	Kf	verwendeter IS ^{b)}
1	10,76	1	30	1,38	3
2	5,69	1	31	0,99	1
3	1,58	1	34	0,72	2
4	1,62	1	36	0,70	2
5	1,54	1	37	0,91	1
6	0,66	1	39	0,48	3
7	1,00	1	40	0,89	1
8	1,03	1	41	1,13	1
9	2,00	2	42	0,65	1
10	1,05	1	43	1,15	2
11	1,02	1	44	1,19	1
12	1,20	1	45	0,82	3
13	1,02	1	46	1,02	1
14	1,06	2	48	1,07	3
15	1,10	1	49	0,92	3
16	0,85	1	50	1,06	3
17	1,45	1	51	1,42	3
19	1,54	1	52	0,81	3
20	1,07	1	53	1,68	3
21	0,99	1	54	3,39	3
22	1,17	2	A	0,72	4
23	0,88	1	B	0,73	4
24	0,67	2	C	0,91	4
25	0,79	2	D	1,24	4
26	0,80	2	E	1,52	4
27	0,82	1	F	1,37	4
28	0,91	1	G	1,09	4
29	1,17	1	H	0,96	4

^{a)} lfd. Nr. entspricht der Nummerierung/Buchstabierung der Aromastoffe nach Tabelle 10.

^{b)} Interne Standards: 5-Methyl-2-hexanon (1); 2-Ethylpyrazin (2); p-Anisaldehyd (3); Isovaleriansäure (4).

Überprüfung der Quantifizierungsmethode mittels DHS-GC/MS

Eine Überprüfung der Korrekturfaktoren erfolgte über den Vergleich der relativen Peakflächen verschiedener Analyten. Tabelle 13 vergleicht die mittels DHS-GS/MS bestimmten relativen Peakflächen der sehr leichtflüchtigen kurzkettigen verzweigten Aldehyde mit den jeweiligen Korrekturfaktoren dieser Aromastoffe, die durch die standardisierte Quantifizierungsmethode nach Vakuumdestillation bestimmt wurden.

Tabelle 13: Vergleich der Kf-Werte (Vakuumdestillation) und Peakflächen (DHS) für sehr leichtflüchtige Aromastoffe von Sojalecithin (40% HG)

Ifd. Nr. ^{a)}	Aromastoff	Peakflächen-Relation DHS (n=3)	Korrekturfaktor Vakuumdestillation (n=3)
1	2-Methylpropanal	10,13	10,76
3	3-Methylbutanal	1,60	1,58
4	2-Methylbutanal	1,56	1,62

a) Ifd. Nr. entspricht der Nummerierung/Buchstabierung der Aromastoffe nach Tabelle 10.

Es zeigt sich eine nahezu gleiche Relation zwischen den entsprechenden Peakflächen (DHS) und den Kf-Werten (Vakuumdestillation) dieser Aromastoffe. Die ermittelten Kf-Werte ermöglichen folglich eine Quantifizierung mit sehr guter Näherung an tatsächliche Aromastoff-Gehalte.

5.2.6 Aromastoff-Gehalte von Sojalecithinen

Abbildung 35 stellt die Gesamtgehalte an Aromastoffen, aufgeteilt in neutral/basische und saure Aromastoffe, dar. Hydrolysierte Lecithine weisen erhöhte Gesamtgehalte an Aromastoffen auf, während entölt und mit Ethanol fraktionierte Lecithine eine Abnahme in ihren Aromastoff-Gehalten erfahren. Standardabweichungen und Signifikanzunterschiede (T-Test) der jeweiligen Aromastoff-Zusammensetzungen der Sojalecithine sind im Anhang (8.7.2) angegeben.

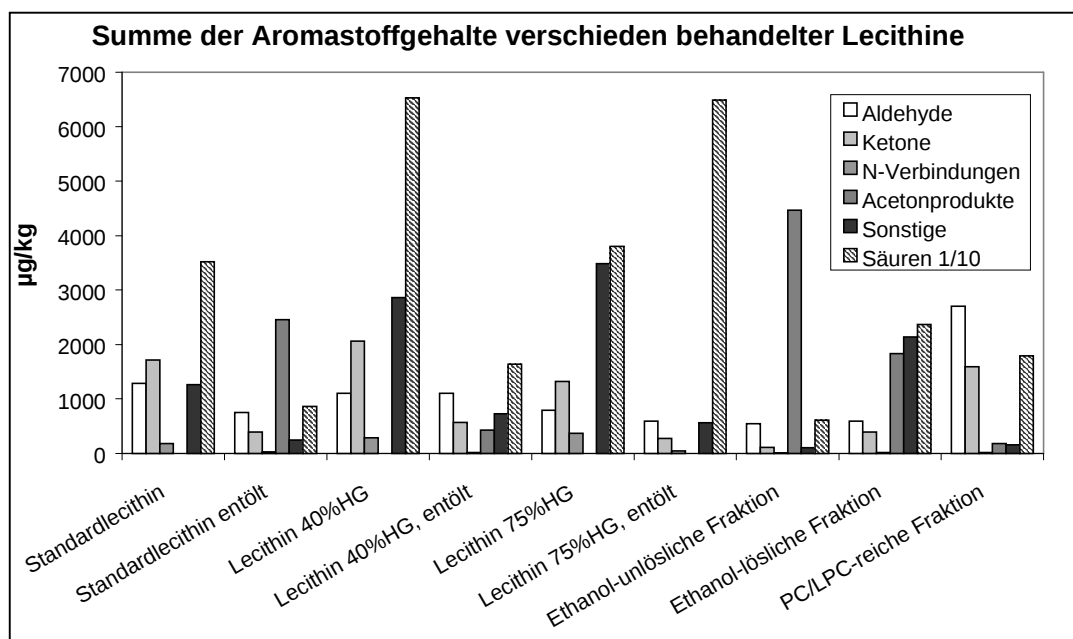


Abb.35: Gesamtgehalte an Aromastoffen in verschieden behandelten Sojalecithinen

Quantifiziert wurden 56 der 62 identifizierten Aromastoffe. Die Gehalte teilen sich wie folgt in funktionelle Gruppen und Einzelsubstanzen auf (Tabelle 14-16):

Tabelle 14: Aromastoffgehalte hydrolysiertes Sojalecithine

lfd. Nr.	Substanzklassen Aromastoffe	Aromastoff-Gehalte [µg/kg Lecithin]		
		Standardlecithin n=4	Lecithin 40% HG n=4	Lecithin 75% HG n=3
	Aldehyde Σ	1311	1133	817
	verzweigt Σ	640	618	271
1	2-Methylpropanal	232	191	110
3	3-Methylbutanal	58	38	16
4	2-Methylbutanal	350	389	145
	gesättigt (aromatisch) Σ	561	449	469
7	Hexanal	328	329	293
11	Heptanal	45	19	30
21	Octanal	38	18	33
31	Nonanal	124	54	90
20	Benzaldehyd	23	20	20
30	Phenylacetaldehyd	2,5	9,2	3,2
	ungesättigt Σ	110	66	77
12	(Z)-4-Heptenal	4,2	0,1	1,8
29	(E)-2-Octenal	19	23	15
40	(E)-2-Nonenal	49	15	30
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	6,3	5,1	4,7
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	14	5,8	9,9
49	(E,E)-2,4-Decadienal	14	14	12
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	0,3	0,2	0,2
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	2,7	2,8	3,7
	Ketone Σ	1757	2145	1394
	gesättigt Σ	1607	1948	1179
2	2,3-Butandion	21	14	10
5	2,3-Pentandion	4,7	14	5,9
10	2-Heptanon	1560	1900	1140
46	3-Methyl-2,4-nonandion	21	20	23
	ungesättigt Σ	150	197	215
16	1-Octen-3-on	13	7,9	11
23	3-Octen-2-on	91	83	87
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	1,3	1,6	1,0
27	1-Nonen-3-on	2,9	3,0	3,1
37	3-Nonen-2-on	35	63	68
51	(E)-β-Damascenon	6,8	38	45
	N-Verbindungen Σ	322	460	597
9	2-Methylpyrazin	141	174	226
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	0,4	0,3	0,2
22	2-Acetylpyrazin	40	31	36
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	29	90	125
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	34	54	55

34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	8,6	49	66
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,9	0,6	0,9
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	1,1	1,9	3,0
43	2-Pentylpyridin	67	59	85
	Alkohole Σ	318	983	1689
17	1-Octen-3-ol	125	834	1588
28	1-Nonen-3-ol	45	40	51
39	2-Phenylethanol	141	103	41
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	6,8	5,8	8,6
	S-Verbindungen Σ	127	25	115
6	Dimethyldisulfid	0,8	1,5	0,8
13	Diethyldisulfid	126	23	114
	Acetonkondensate Σ	19	26	28
8	Mesityloxid	2,8	2,0	2,6
44	Isophoron	16	24	25
	Lactone/Furane Σ	865	1896	1727
15	2-Pentylfuran	305	798	1326
50	γ -Octalacton	9,7	51	7,4
53	γ -Nonalacton	304	1020	207
54	γ -Decalacton	246	27	187
	Säuren Σ	39039	69268	41161
A	Essigsäure	26900	51200	28400
B	Propionsäure	2910	3110	2250
C	Buttersäure	1840	1000	1720
D	3-Methylbuttersäure	292	377	299
E	2-Methylbuttersäure	230	275	259
F	Valeriansäure	1790	2160	2010
G	Crotonsäure	927	846	893
H	Hexansäure	4150	10300	5330

Tabelle 15: Aromastoffgehalte entölter Sojalecithine

Ild. Nr.	Substanzklassen Aromastoffe	Aromastoff-Gehalte [µg/kg Lecithin]		
		Standardlecithin Aceton-entölt n=4	Lecithin 40% HG Aceton-entölt n=3	Lecithin 75% HG Propan-entölt n=3
	Aldehyde Σ	768	1160	694
	verzweigt Σ	77	111	90
1	2-Methylpropanal	27	30	29
3	3-Methylbutanal	15	30	13
4	2-Methylbutanal	35	51	48
	gesättigt (aromatisch) Σ	596	888	510
7	Hexanal	440	688	293
11	Heptanal	27	45	35
21	Octanal	31	37	20
31	Nonanal	82	60	65

20	Benzaldehyd	9,7	45	55
30	Phenylacetaldehyd	6,5	13	42
	ungesättigt Σ	95	161	94
12	(Z)-4-Heptenal	3,1	2,8	4,9
29	(E)-2-Octenal	17	27	20
40	(E)-2-Nonenal	31	92	28
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	11	6,7	7,1
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	10	21	9,0
49	(E,E)-2,4-Decadienal	18	8,1	18
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	0,2	<0,1	<0,1
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	4,7	3,7	6,8
	Ketone Σ	401	581	304
	gesättigt Σ	76	93	148
2	2,3-Butandion	3,1	2,9	28
5	2,3-Pentandion	7,3	4,0	10
10	2-Heptanon	33	64	84
46	3-Methyl-2,4-nonandion	33	22	26
	ungesättigt Σ	325	488	156
16	1-Octen-3-on	6,3	16	7,1
23	3-Octen-2-on	313	447	117
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	1,4	1,4	1,6
27	1-Nonen-3-on	0,6	1,6	2,9
37	3-Nonen-2-on	3,3	11	12
51	(E)- β -Damascenon	0,6	11	15
	N-Verbindungen Σ	37	26	84
9	2-Methylpyrazin	10	10	36
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	0,2	<0,1	0,4
22	2-Acetylpyrazin	3,5	3,2	6,7
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,9	0,9	16
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,9	0,5	5,2
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	0,7	0,5	9,7
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,1	0,1	0,3
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,2	0,5	0,2
43	2-Pentylpyridin	20	10	9,7
	Alkohole Σ	35	285	374
17	1-Octen-3-ol	23	264	337
28	1-Nonen-3-ol	6,6	16	16
39	2-Phenylethanol	4,0	2,4	18
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	1,3	2,6	3,1
	S-Verbindungen Σ	121	36	22
6	Dimethyldisulfid	0,5	3,5	3,0
13	Diethyldisulfid	120	32	19
	Acetonkondensate Σ	2462	428	9
8	Mesityloxid	848	149	1,5
44	Isophoron	1614	279	7,6
	Lactone/Furane Σ	97	425	186
15	2-Pentylfuran	7,2	25	53
50	γ -Octalacton	12	14	21
53	γ -Nonalacton	34	75	110

54	γ -Decalacton	44	311	2,2
	Säuren Σ	10935	18810	67965
A	Essigsäure	4600	12800	58200
B	Propionsäure	986	1480	2380
C	Buttersäure	420	414	1280
D	3-Methylbuttersäure	72	118	170
E	2-Methylbuttersäure	95	149	199
F	Valeriansäure	992	945	1480
G	Crotonsäure	1330	924	666
H	Hexansäure	2440	1980	3590

Tabelle 16: Aromastoffgehalte fraktionierter Sojalecithine

lfd. Nr.	Substanzklassen Aromastoffe	Aromastoff-Gehalte [$\mu\text{g/kg}$ Lecithin]		
		Ethanol- unlösliche Fr. n=3	Ethanol-lösliche Fraktion n=4	PC/LPC-reiche Fraktion n=3
	Aldehyde Σ	558	619	2711
	verzweigt Σ	89	168	132
1	2-Methylpropanal	55	53	113
3	3-Methylbutanal	26	39	15
4	2-Methylbutanal	8,1	76	4,1
	gesättigt (aromatisch) Σ	379	380	834
7	Hexanal	286	271	600
11	Heptanal	17	9,9	52
21	Octanal	15	24	41
31	Nonanal	47	52	131
20	Benzaldehyd	4,7	9,0	8,8
30	Phenylacetaldehyd	9,2	14	1,6
	ungesättigt Σ	90	71	1745
12	(Z)-4-Heptenal	<0,1	<0,1	<0,1
29	(E)-2-Octenal	18	27	61
40	(E)-2-Nonenal	43	11	31
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	2,8	4,2	59
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	11	2,5	9,7
49	(E,E)-2,4-Decadienal	15	24	1565
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	<0,1	<0,1	<0,1
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	0,4	2,7	19
	Ketone Σ	126	421	1682
	gesättigt Σ	63	306	119
2	2,3-Butandion	11	15	21
5	2,3-Pentandion	11	15	56
10	2-Heptanon	23	262	21
46	3-Methyl-2,4-nonandion	18	14	21
	ungesättigt Σ	63	115	1563
16	1-Octen-3-on	9,1	2,9	13
23	3-Octen-2-on	41	62	1501
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,6	0,4	0,5
27	1-Nonen-3-on	1,7	1,7	2,4

37	3-Nonen-2-on	6,3	13	35
51	(E)- β -Damascenon	4,0	35	11
	N-Verbindungen Σ	20	28	20
9	2-Methylpyrazin	14	13	6,9
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	<0,1	<0,1	<0,1
22	2-Acetylpyrazin	4,4	5,1	3,3
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,4	2,8	0,8
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,3	1,9	0,3
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	0,1	0,7	0,2
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,2	0,4	0,2
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	<0,1	0,1	0,2
43	2-Pentylpyridin	0,1	3,7	8,0
	Alkohole Σ	22	1901	49
17	1-Octen-3-ol	14	1882	37
28	1-Nonen-3-ol	4,3	8,1	8,0
39	2-Phenylethanol	2,8	9,6	1,3
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	0,9	0,8	2,7
	S-Verbindungen Σ	21	13	4,7
6	Dimethyldisulfid	18	8,5	2,1
13	Diethyldisulfid	2,9	4,7	2,6
	Acetonkondensate Σ	4464	1837	178
8	Mesityloxid	4456	1518	96
44	Isophoron	8,0	319	82
	Lactone/Furane Σ	84	242	83
15	2-Pentylfuran	3,4	23	10
50	γ -Octalacton	9,8	66	20
53	γ -Nonalacton	63	123	41
54	γ -Decalacton	7,9	30	12
	Säuren Σ	6631	25705	19537
A	Essigsäure	5300	19700	16200
B	Propionsäure	531	1540	1620
C	Buttersäure	326	1280	654
D	3-Methylbuttersäure	23	122	20
E	2-Methylbuttersäure	14	120	41
F	Valeriansäure	147	1090	322
G	Crotonsäure	10	513	12
H	Hexansäure	280	1340	668

5.2.6.1 Bedeutung der Gehalte an Aromastoffen

Die Ergebnisse der Gehalte von einzelnen Aromastoffen bzw. von Substanzklassen lassen nur in Kombination mit Daten zur sensorischen Relevanz der jeweiligen Aromastoffe eine zweckmäßige Charakterisierung für das Aroma zu. Durch die entsprechenden Gehalte können jedoch die Bildung sowie die Bildungswege von flüchtigen Verbindungen aufgrund verschiedener Prozeßführungen in der Lecithinbehandlung nachvollzogen werden (siehe auch 3.3.2). Die Einstufung der sensorischen Bedeutung der jeweils gebildeten Verbindungen erfolgt über das Konzept der Aromawerte (5.2.8) nach zusätzlicher Bestimmung der Geruchs- und Geschmacksschwellen der Aromastoffe.

5.2.7 Nasale und retronasale Schwellenwerte von Aromastoffen des Lecithins

Für die Lecithin-Matrix sind in der Literatur keine Schwellenwerte von Aromastoffen bekannt. Als Näherung zur Beurteilung der Freisetzung von Aromastoffen aus Lecithin eignet sich die Öl-Matrix, in der von einer Reihe an Aromastoffen nasale und/oder retronasale Schwellenwerte in der Literatur beschrieben sind (vergleiche Tabelle 17). Von den in 5.2.6 quantifizierten Aromastoffen sind jedoch nur teilweise Schwellenwerte in Öl bekannt, so daß zur Bestimmung der sensorischen Relevanz dieser Aromastoffe die folgenden in Tabelle 17 dargestellten nasalen und retronasalen Schwellenwerte durch Schwellenwertprüfungen und erweiterte Dreiecksprüfungen ermittelt wurden (siehe Anhang 8.2.2.3.2 und 8.2.2.2). Es wurden hierbei speziell die Schwellenwerte derjenigen Aromastoffe bestimmt, die eine erhöhte sensorische Potenz erwarten ließen.

Tabelle 17: Nasale und retronasale Schwellenwerte von Aromastoffen in Öl

lfd. Nr.	Aromastoffe	Schwellenwerte [$\mu\text{g/kg}$ Öl]			
		Eigene Bestimmung ^a		Literaturdaten ^{b-r}	
		nasal	retronasal	nasal	retronasal
1	2-Methylpropanal			3,4 ^b	3,4 ^b
2	2,3-Butandion			4,5 ^c	10 ^c
3	3-Methylbutanal			5,4 ^c	10,8 ^c
4	2-Methylbutanal	38	17	2,2 ^d 10 ^b 140 ⁱ	8,2 ^d 23 ^b
7	Hexanal			300 ^e	73 ^e
8	Mesityloxid	300	450		
10	2-Heptanon			1500 ^c	1500 ^c
11	Heptanal			3200 ^f	42 ^f
12	(Z)-4-Heptenal			10 ^g	0,5 ^h
13	Diethyldisulfid	78	31		
14	2-Acetyl-1-pyrrolin			0,1 ⁱ	
15	2-Pentylfuran			1000 ^j	
16	1-Octen-3-on			10 ^e	0,3 ^e
17	1-Octen-3-ol			34 ^k	36 ^k
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,13	0,03	0,45 ^e	0,03 ^e
21	Octanal			56 ^d	56 ^d
22	2-Acetylpyrazin			10 ⁱ	
23	3-Octen-2-on	250	140		
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	3,1	0,24		
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin			24 ⁱ	79 ⁱ
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1,8	1,2	2,2 ^b	2,2 ^b
27	1-Nonen-3-on	0,7	0,2		
29	(E)-2-Octenal			7000 ^f	1000 ^f
31	Nonanal			1000 ^f	320 ^f
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	0,5	0,5	0,5 ^b	0,9 ^b
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	10,3	7,7	0,8 ^b	0,6 ^b
39	2-Phenylethanol			211 ^d	122 ^d
40	(E)-2-Nonenal			900 ^e	45 ^m
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal			3,8 ^e	1,4 ^e
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	58	26		
43	2-Pentylpyridin			5 ⁱ	
44	Isophoron	68	32	60 ⁿ	
45	(E,E)-2,4-Nonadienal			1000 ^g	150 ^g
46	3-Methyl-2,4-nonandion			22,5 ^o	1,5 ^e
49	(E,E)-2,4-Decadienal			180 ^e	41 ^e
50	γ -Octalacton			120 ^b	197 ^b
51	(E)- β -Damascenon	1,7	1,0	11,2 ^d	3,7 ^d
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal			1,3 ^e	3 ^e
53	γ -Nonalacton			148 ^b	219 ^b
54	γ -Decalacton			320 ^b	385 ^b
A	Essigsäure	750	1750	124 ^d 1050 ^p	378 ^f 7000 ^q
C	Buttersäure	205	520	135 ^r	660 ^q
D	3-Methylbuttersäure	41	24	22 ^d	26 ^d
E	2-Methylbuttersäure	240	>500		
F	Valeriansäure	61	138		
H	Hexansäure			5400 ^r	2500 ^q

^a Bestimmung der Schwellenwerte (nasal und retronasal) in raffiniertem Pflanzenöl als Erkennungsschwellenwerte mittels Probensequenzen aufsteigender Konzentration sowie erweiterten Dreiecksprüfungen (n=18).

^{b-r} Schwellenwerte in Pflanzenöl und/oder Paraffinöl: (b) WAGNER und GROSCH (1998); (c) PREININGER und GROSCH (1994); (d) REINERS und GROSCH (1998); (e) GUTH und GROSCH (1990b); (f) MEIJBOOM (1964); (g) MEIJBOOM und JONGENOTTER (1981); (h) MCGILL et al. (1974); (i) SCHIEBERLE (1996); (j) SMOUSE und CHANG (1967); (k) KUBICKOVA und GROSCH (1998); (l) GUADAGNI et al. (1972); (m) WIDDER und GROSCH (1994); (n) KIM et al. (1984); (o) GUTH und GROSCH (1989); (p) GUTH und GROSCH (1993); (q) SIEK et al. (1969); (r) SCHIEBERLE et al. (1993).

5.2.8 Aromawerte flüchtiger Verbindungen von Sojalecithinen

Im folgenden werden die Aromastoffe in ihrer sensorischen Bedeutung nach dem Aromawertkonzept von ROTHE und THOMAS (1963) klassifiziert. Es erfolgt hierbei jeweils eine Unterscheidung in nasale (n) und retronasale (r) Aromawerte. Abbildung 36 stellt die Aromawerte (r und n) als Summe für die untersuchten Lecithine dar.

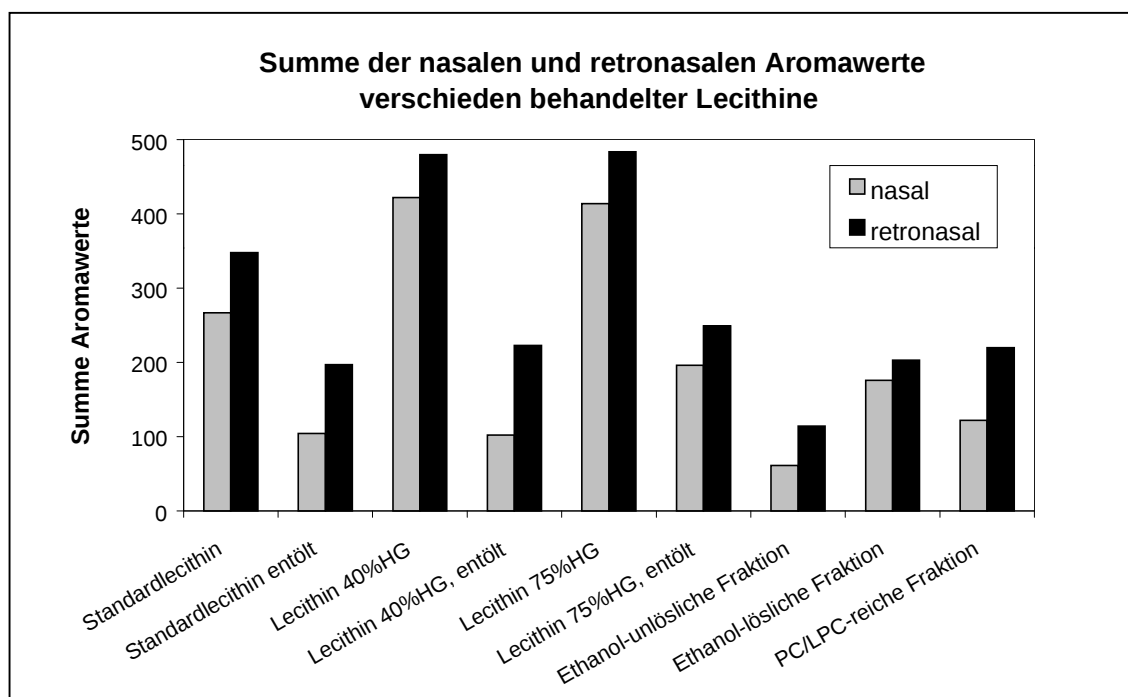


Abb.36: Summe der Aromawerte (r und n) verschieden behandelter Sojalecithine

5.2.8.1 Summe der Aromawerte verschiedener Substanzklassen

Eine Zusammenfassung der nasalen und retronasalen Aromawerte der verschieden behandelten Lecithine in Form ihrer Substanzklassen ist in Abbildung 37 dargestellt. In ölhaltigen, hydrolysierten Lecithinen stellen die Stickstoff-Verbindungen, speziell die Pyrazine, die chemische Substanzklasse mit den höchsten Aromawerten dar. Ketone weisen besonders hohe retronasale Aromawerte auf, während flüchtigen Säuren eine stärkere nasale Bedeutung zukommt. Dies zeigt sich insbesondere bei den entölte, hydrolysierten Lecithinen. In fraktionierten Lecithinen haben Aldehyde eine erhöhte Bedeutung, speziell in PC/LPC-angereicherten Fraktionen.

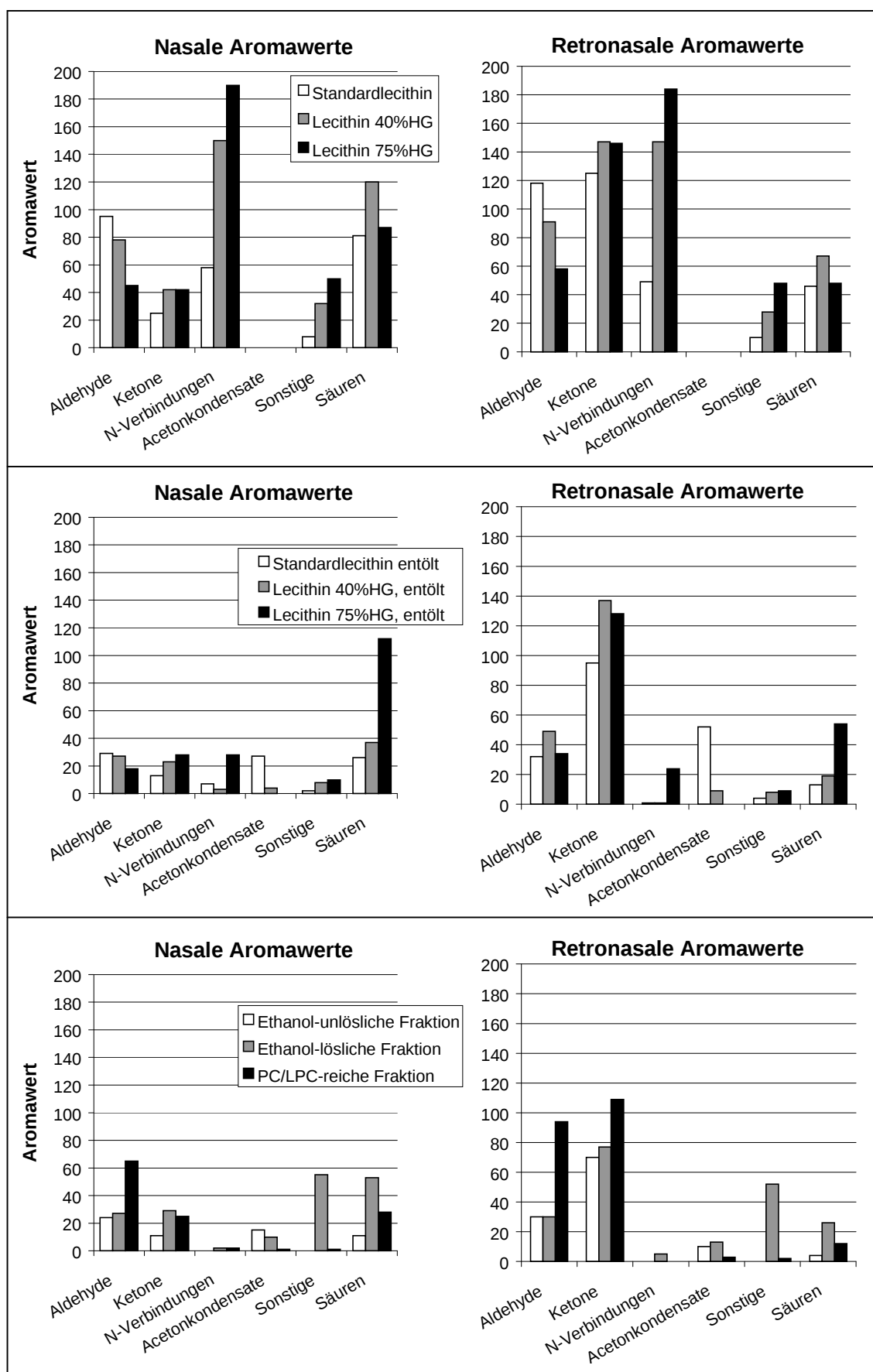


Abb.37: Nasale und retronasale Aromawerte verschiedener Substanzklassen von hydrolysierten Sojalecithinen, entöhlten, hydrolysierten Sojalecithinen und entöhlten, fraktionierten Sojalecithinen

5.2.8.2 Aromawerte der Einzelsubstanzen

Tabelle 18 zeigt eine Übersicht über die Aromastoffe, welche in mindestens einem der untersuchten Lecithine einen Aromawert von eins oder größer erzielt haben.

Tabelle 18: Nasale (n) und retronasale (r) Aromawerte (AW) von Einzelsubstanzen in verschieden behandelten Lecithinen

lfd. Nr.	Aromastoff	Standard lecithin		Standard lecithin entölt		Lecithin 40%HG		Lecithin 40%HG, entölt		Lecithin 75%HG		Lecithin 75%HG, entölt		Ethanol- unlös. Fraktion		Ethanol- lösliche Fraktion		PC/LPC- reiche Fraktion	
		AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r	AW n	a r
	Aldehyde																		
1	2-Methylpropanal	68	68	8	8	56	56	9	9	32	32	8	8	16	16	16	16	33	33
3	3-Methylbutanal	11	5	3	1	7	3	6	3	3	1	2	1	5	2	7	4	3	1
4	2-Methylbutanal	9	21		2	10	23	1	3	4	9	1	3			2	4		
7	Hexanal	1	4	1	6	1	5	2	9		4		4		4		4	2	8
11	Heptanal		1						1										1
12	(Z)-4-Heptenal		8		6				6		4		10						
40	(E)-2-Nonenal		1						2										
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	4	10	3	7	2	4	6	15	3	7	2	6	3	8		2	3	7
49	(E,E)-2,4-Decadienal																	9	38
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	2		4	2	2		3	1	3	1	5	2			2		15	6
	Ketone																		
2	2,3-Butandion	5	2			3	1			2	1	3	6	2	1	3	1	5	2
10	2-Heptanon	1	1			1	1												
16	1-Octen-3-on	1	43		21		26	2	53	1	35		24		24		10	1	42
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	10	43	11	47	12	53	11	47	8	33	12	53	5	20	3	13	4	17
23	3-Octen-2-on			1	2			2	3									6	11
27	1-Nonen-3-on	4	15		3	4	15	2	8	4	16	4	15	2	9	2	9	3	12
46	3-Methyl-2,4-nonandion		14	1	22		13		15	1	16		15		12		9		14
51	β-Damascenon	4	7			22	38	6	11	26	45	9	15	2	4	21	35	6	11
	N-Verbindungen																		
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	4		2		3				2		4							
22	2-Acetylpyrazin	4				3				4									
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin		4				3				4		1				2		
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	1				4	1			5	2								
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	19	28			30	45			30	46	3	4			1	2		
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	17	17	1	1	98	98	1	1	132	132	19	19			1	1		
43	2-Pentylpyridin	13		4		12		2		17		2						2	
	Acetonkondensate																		
8	Mesityloxid			3	2									15	10	5	3		
44	Isophoron			24	50			4	9							5	10	1	3
	Sonstige																		
13	Diethyldisulfid	2	4	2	4				1	1	4								1
15	2-Pentylfuran									1									
17	1-Octen-3-ol	4	4			25	23	8	7	47	44	10	9			55	52	1	1
39	2-Phenylethanol		1																
53	gamma-Nonalacton	2	1			7	5			1									
	Säuren																		
A	Essigsäure	36	15	6	3	68	29	17	7	38	16	78	33	7	3	26	11	22	9
C	Buttersäure	9	4	2		5	2	2		8	3	6	2	2		6	2	3	1
D	3-Methylbuttersäure	7	12	2	3	9	16	3	5	7	12	4	7			3	5		
E	2-Methylbuttersäure					1				1									
F	Valeriansäure	29	13	16	7	35	16	15	7	33	15	24	11	2	1	18	8	5	2
H	Hexansäure		2			2	4				2		1						

^a Nur Aromawerte ≥1 in Tabelle 18 berücksichtigt.

Abbildungen 38 bis 40 zeigen eine Auswahl der Aromastoffe, welche in Soja-lecithinen aufgrund ihrer hohen retronasalen Aromawerte von Bedeutung sind.

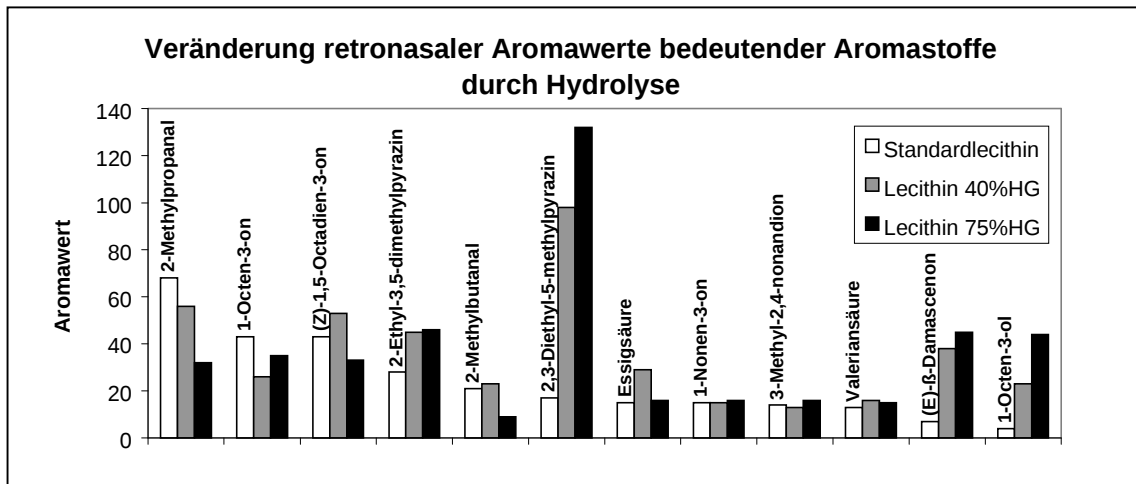


Abb. 38: Veränderung der Bedeutung von Aromastoffen mit hohen retronasalen Aromawerten durch Hydrolyse

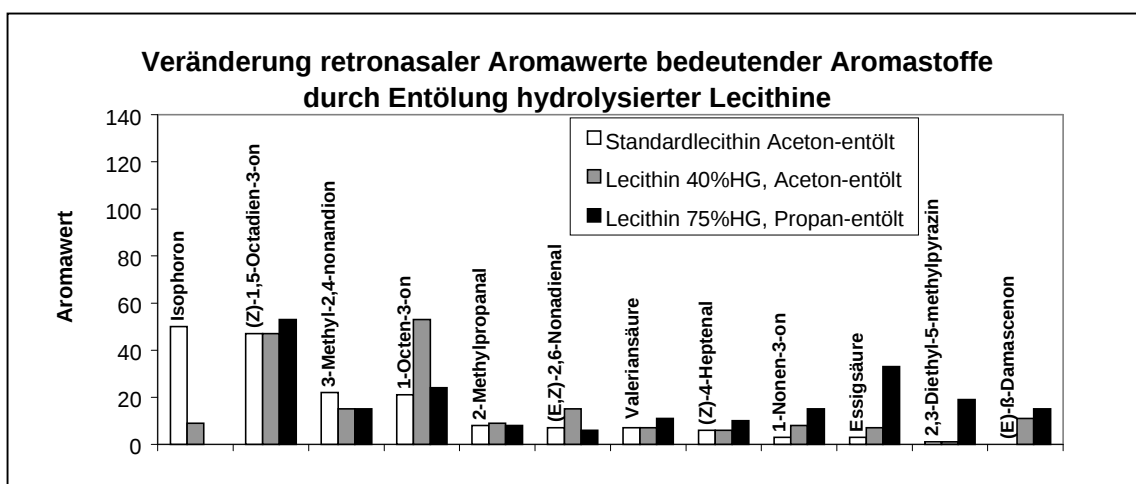


Abb.39: Veränderung der Bedeutung von Aromastoffen mit hohen retronasalen Aromawerten durch Hydrolyse und anschließende Entölung

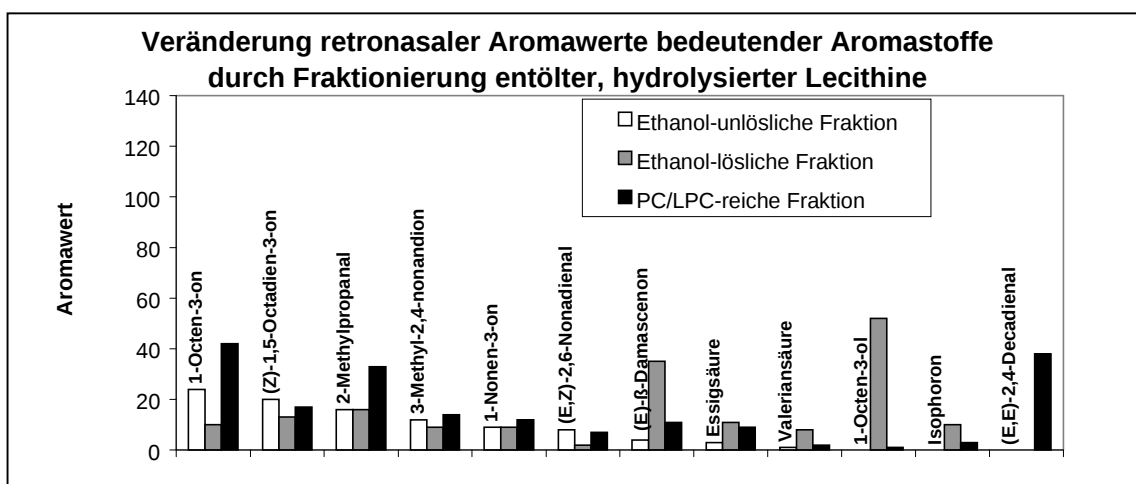


Abb.40: Veränderung der Bedeutung von Aromastoffen mit hohen retronasalen Aromawerten durch Fraktionierung

5.2.9 Modelluntersuchungen

Modellversuche, in denen das Lecithinaroma mittels Einzelsubstanzen in einer Modellmatrix nachgestellt wurde (siehe 8.2.2), ermöglichen eine Verifizierung der erzielten qualitativen, quantitativen und sensorischen Ergebnisse der Aromastoffanalytik. Abbildung 41 und 42 zeigen die nasalen und retronasalen Geruchsprofile des hydrolysierten Lecithins mit 40% HG und des entsprechenden Aroma-Nachbaus, der aus 25 Verbindungen in raffiniertem, geschmacksneutralem Pflanzenöl hergestellt wurde (8.2.2).

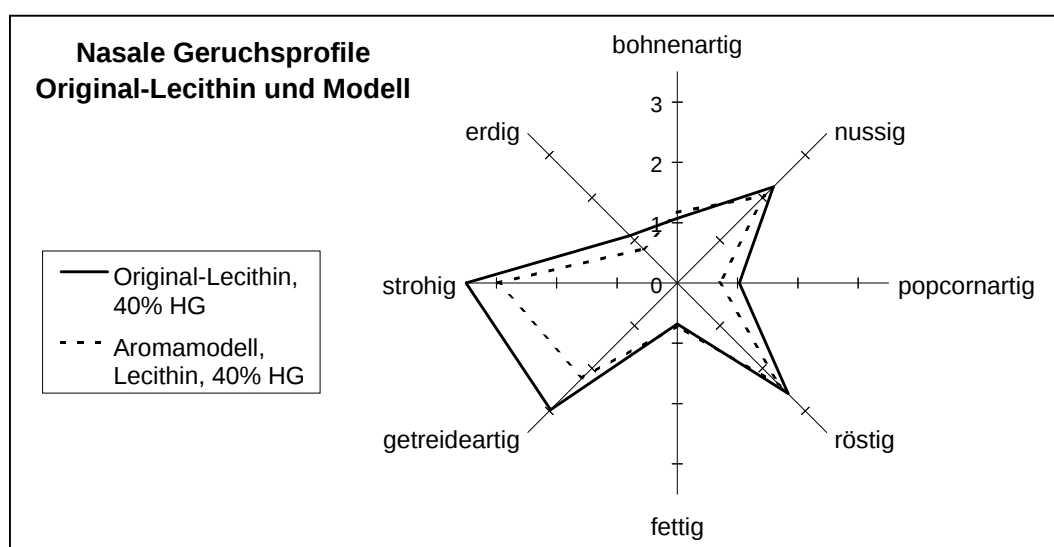


Abb.41: Nasale Geruchsprofile des unverdünnten Original-Lecithins mit 40% HG und des entsprechenden Aroma-Modells in Öl

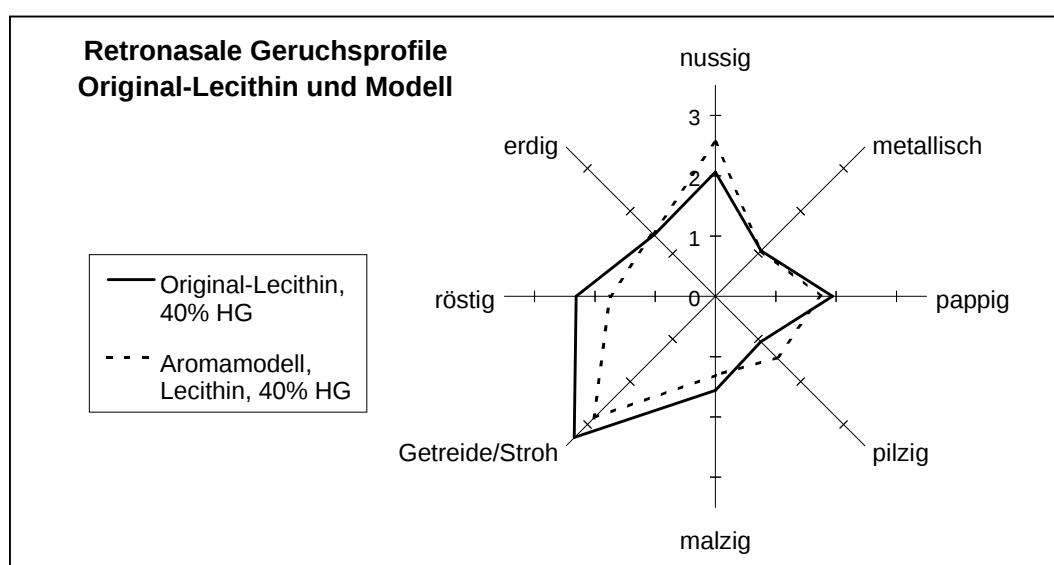


Abb.42: Retronasale Geruchsprofile des unverdünnten Original-Lecithins mit 40% HG und des entsprechenden Aroma-Modells in Öl

5.3 Bittergeschmack von Sojalecithinen

Der Geschmack von Sojalecithinen wurde im wesentlichen im Hinblick auf die Merkmalseigenschaft Bitterkeit untersucht. Des weiteren wurden Ursachen von Nebengeschmacksarten, die einen Fehlgeschmack begünstigen, untersucht.

5.3.1 Freie Fettsäuren

Der Bittergeschmack der Freien Fettsäuren (FFA) in Sojalecithinen wurde durch die Kombination sensorischer und analytisch-apparativer Methoden untersucht. Abbildung 43 zeigt das Untersuchungsschema zum Bittergeschmack von FFA.

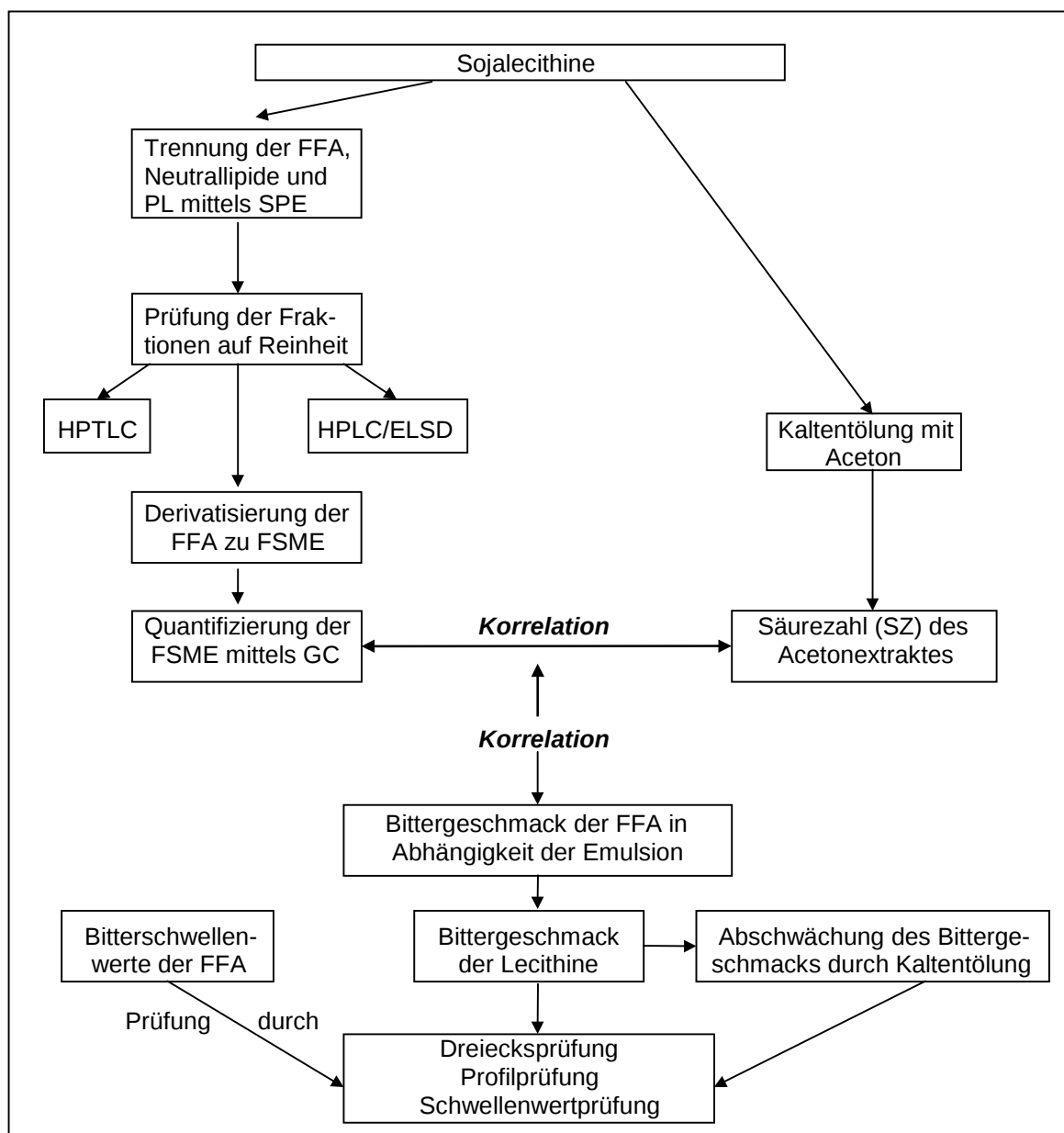


Abb.43: Untersuchungsschema zum Bittergeschmack von FFA

5.3.1.1 Bittergeschmack-Schwellenwerte von FFA in Emulsion

Es wurden in Anlehnung an DIN 19959 (1998) die Schwellenwerte von Stearin-, Palmitin-, Öl-, Linol- und Linolensäure, emulgiert in 3,5%iger H-Vollmilch, bestimmt. H-Milch erweist sich hierbei aufgrund des gleichförmigen Eigengeschmacks (siehe Abb.14) und der guten Emulgier-/Dispergiereigenschaften für sämtliche untersuchte Lecithine als geeignet und ist das für Geschmacks-Profilprüfungen (8.2.2.1) verwendete Medium. Gesättigte freie Fettsäuren weisen in den untersuchten Konzentrationen keinen Bittergeschmack auf, während ungesättigte FFA bitter schmecken und einen Neben- und Beigeschmack aufweisen (Tabelle 19).

Tabelle 19: Bitterschwellenwerte von FFA in Emulsion (Erkennungsschwellenwerte)

FFA	Bitterschwellenwert in Emulsion (3,5%ige H-Milch) [g/100g]
16:0	>0,50
18:0	>0,40
18:1ω9	0,11
18:2ω6	0,070
18:3ω3	0,012

Freie Linolensäure besitzt mit 0,012g/100g Emulsion den niedrigsten Bitterschwellenwert, wohingegen der Erkennungsschwellenwert für freie Linolsäure um Faktor sechs höher liegt, der von freier Ölsäure um Faktor neun.

Der Nachgeschmack wurde für die ungesättigten Fettsäuren als metallisch, kratzig und stechend beschrieben, wobei die Eigenschaften sich bei den mehrfach ungesättigten freien Fettsäuren deutlich verstärken. Zudem besitzen die mehrfach ungesättigten freien Fettsäuren einen nussigen Geschmack, die Linolensäure einen stark walnußartigen. Palmitinsäure zeigte in den untersuchten Konzentrationen keinen Geschmacksbeitrag, Stearinsäure einen schwach kratzigen, metallischen Eindruck.

Abbildung 44 zeigt die Abhängigkeit der Bitterintensität von der Konzentration der FFA Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure. Nach Wahrnehmung des Bittergeschmacks an der Erkennungsschwelle zeigt sich bei höheren Konzentrationen eine deutliche Steigerung der Intensität.

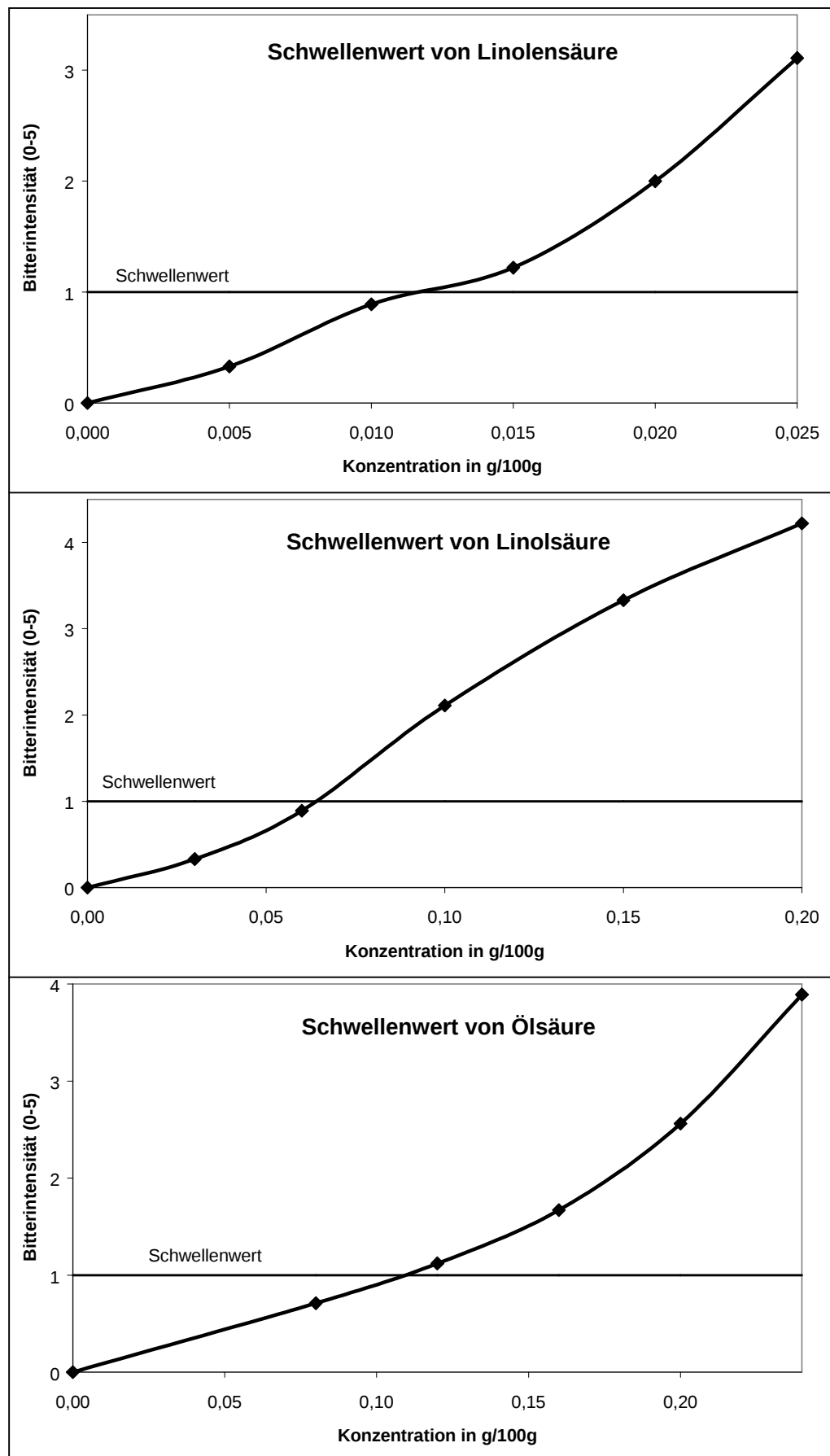


Abb.44: Bitterintensität von freier Linolen-, Linol- und Ölsäure in Abhängigkeit von der Konzentration in 3,5%iger H-Milch (n=20)

5.3.1.2 Abhängigkeit des Schwellenwertes von der Polarität des Emulgators

Der Bittergeschmack von ungesättigten FFA tritt nur in emulgierten Matrices auf. Dispersionen von FFA in reinem Wasser ergaben in den untersuchten Konzentrationsbereichen keinen Bittergeschmack. Die Intensität des Bittergeschmacks sowie die Schwelle, ab der der Bittergeschmack wahrgenommen wird, sind hierbei vom verwendeten Medium bzw. von der Polarität des verwendeten Emulgators abhängig. Tabelle 20 zeigt für die freie Linolsäure die Abhängigkeit des Schwellenwertes vom zugesetzten Lecithin (doppelt entölt, sowie im Bittergeschmack neutral), Abbildung 45 die Abhängigkeit der Bitterintensität von der Konzentration.

Tabelle 20: Abhängigkeit des Bitterschwellenwertes von Linolsäure vom zugesetzten Lecithin

FFA + 1% Emulgator	Bitterschwellenwert in Emulsion (3,5%ige H-Milch) [g/100g]
18:2 ω 6	0,07
18:2 ω 6 + Lecithin 75% HG doppelt entölt	0,05
18:2 ω 6 + Standardlecithin doppelt entölt	0,09

Lecithinzusätze mit hoher Polarität (z.B. Lecithin, HG 75%) erniedrigen die Schwellenwert-Konzentration der FFA, während Lecithine mit weniger polaren Eigenschaften (z.B. entöltes Standardlecithin) den Schwellenwert gegenüber der verwendeten Standardmatrix (3,5%ige H-Milch) erhöhen.

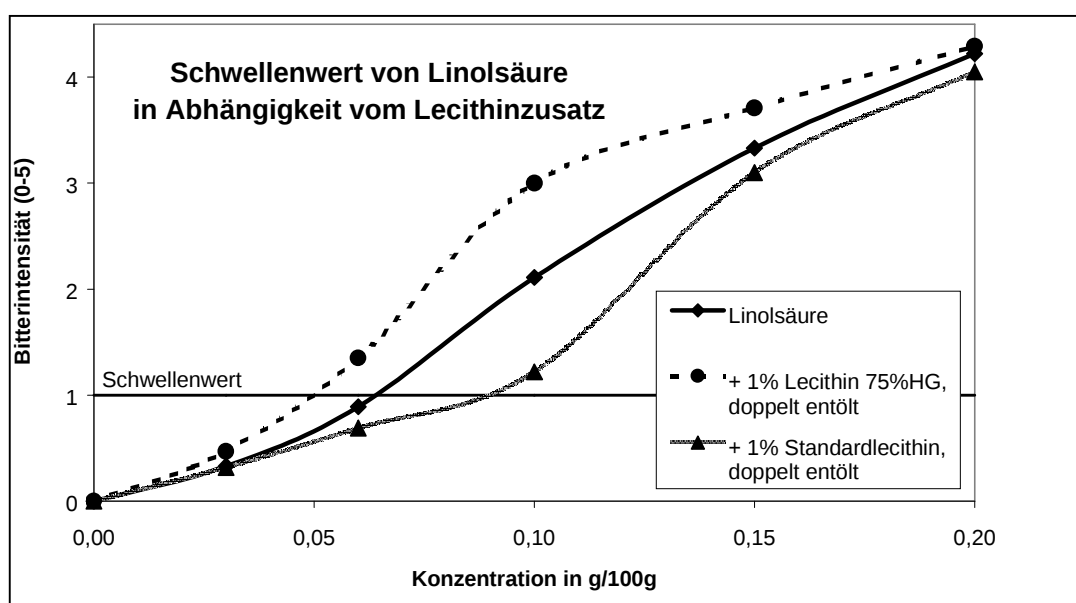


Abb. 45: Abhängigkeit der Bitterintensität von freier Linolsäure mit und ohne Lecithin-Zusatz von der FFA-Konzentration in 3,5%iger H-Milch (n=20)

5.3.1.3 Gehalte an FFA in Sojalecithinen

Die FFA-Gehalte der untersuchten Lecithine wurden nach der in Anhang 8.2.1.5 beschriebenen Methode in Dreifachbestimmung ermittelt. Hierbei wurden die FFA mittels Festphasenextraktion von den weiteren Lecithin-Bestandteilen in Anlehnung an Methoden von KALUZNY et al. (1985) sowie PIETSCH und LORENZ (1993) abgetrennt. Reinheit und Vollständigkeit der FFA-Fraktion wurden mittels HPTLC (8.2.1.7) und HPLC/ELSD (8.2.1.6) bestimmt. Die Derivatisierung der FFA erfolgte nach modifizierter DGF-Einheitsmethode, die Quantifizierung mittels GC/FID.

Folgende FFA lagen in Konzentrationen von mehr als 0,01g/100g Lecithin in einem oder mehreren der untersuchten Lecithine vor: Palmitin- (16:0), Stearin- (18:0), Öl- (18:1 ω 9), Vaccen- (18:1 ω 7), Linol- (18:2 ω 6) und Linolensäure (18:3 ω 3). Im folgenden werden die quantitativen Ergebnisse als FFA-Summen, Absolutgehalte der jeweiligen FFA und Relativgehalte der FFA untereinander dargestellt.

5.3.1.3.1 Summe der FFA in Sojalecithinen

In Abbildung 46 sind die Summen der FFA ausgewählter Lecithine wiedergegeben. Zusätzlich zu den ausgewählten kommerziellen Lecithinen von 4.1.1 wurden die entölte Lecithine mit 40% und 75% Hydrolysegrad einer weiteren (kalten) Aceton-entölung unterzogen. Die Summe der FFA bewegt sich zwischen 0,1% für doppelt entölte Lecithine bis zu annähernd 14% für Lecithine mit 75 % Hydrolysegrad.

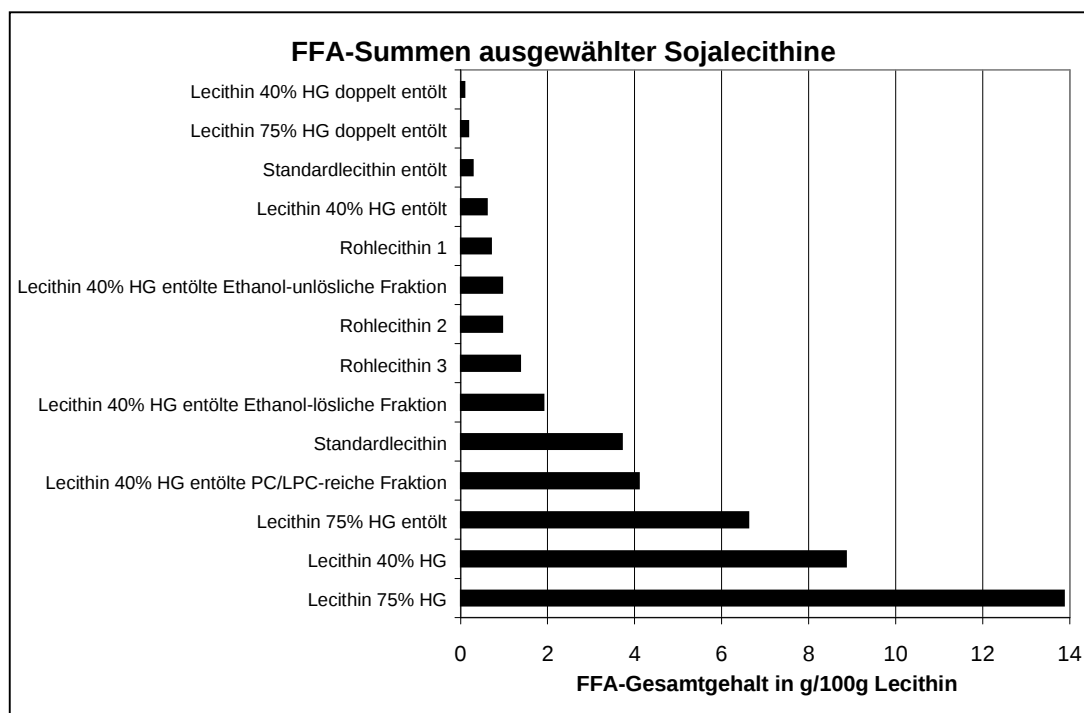


Abb.46: Summe der FFA-Gehalte in Sojalecithinen

5.3.1.3.2 Absolutgehalte der FFA in Sojalecithinen

Die FFA-Absolutgehalte der untersuchten Sojalecithine sind in den Abbildungen 47 bis 50, aufgeteilt in Rohlecithine, hydrolysierte Lecithine, hydrolysierte und entölte Lecithine sowie hydrolysierte, entölte und Ethanol-fraktionierte Lecithine wiedergegeben. Als Bezug zu den hydrolysierten Lecithinen dienen die Standardlecithine (ölhaltig und entölt). Neben den angegebenen freien Fettsäuren sind keine weiteren FFA im Sojalecithin von Bedeutung.

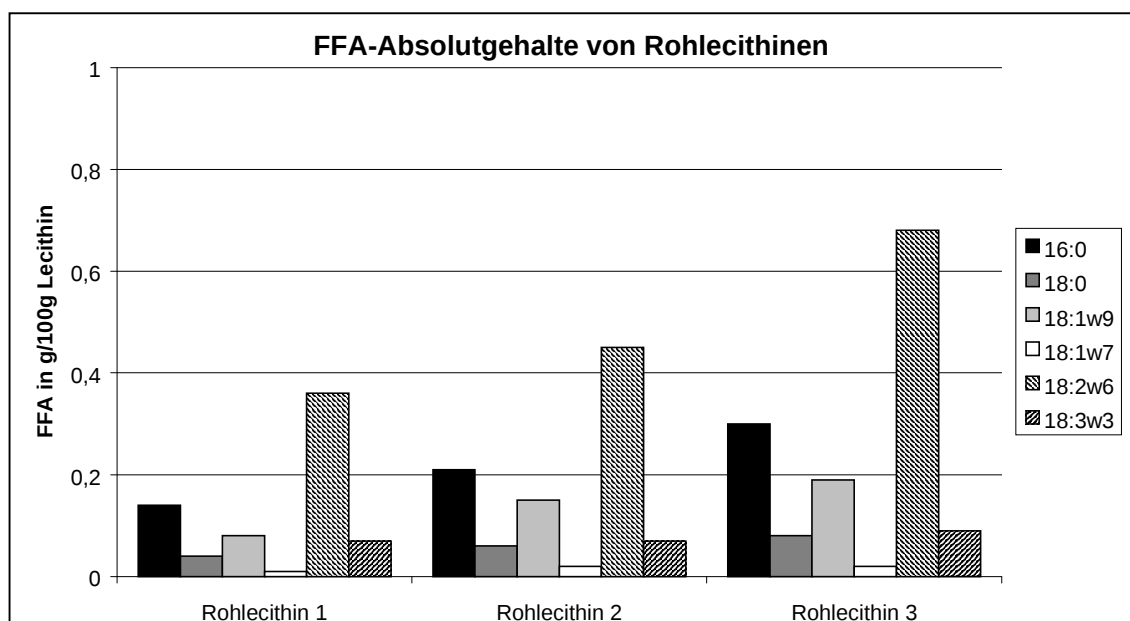


Abb.47: FFA-Absolutgehalte von Sojarohlecithinen

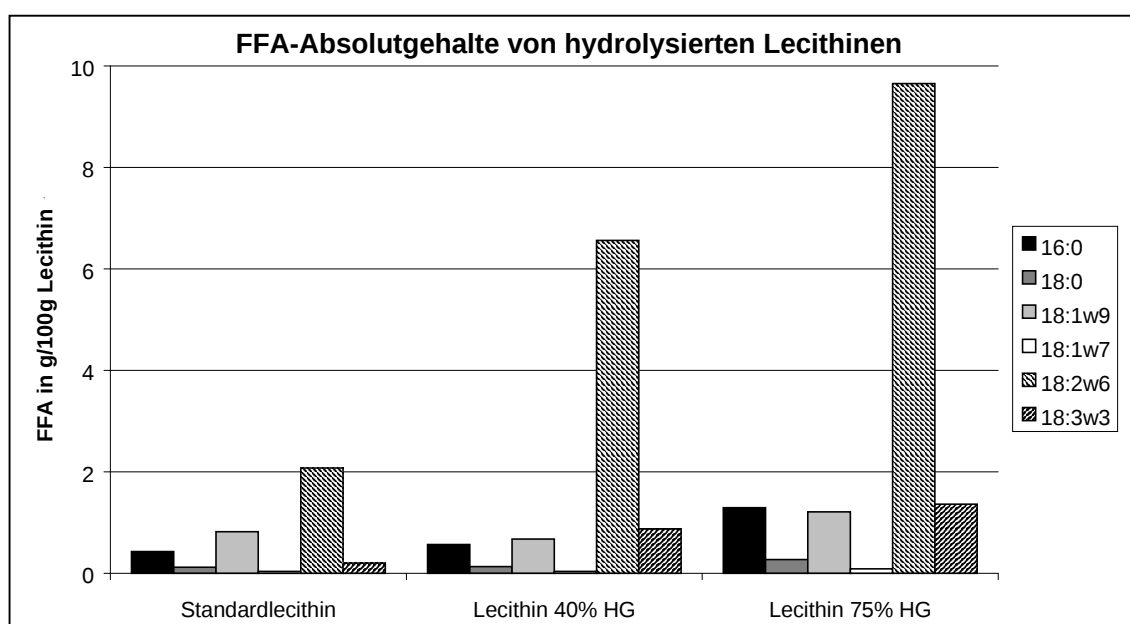


Abb.48: FFA-Absolutgehalte von hydrolysierten Sojalecithinen

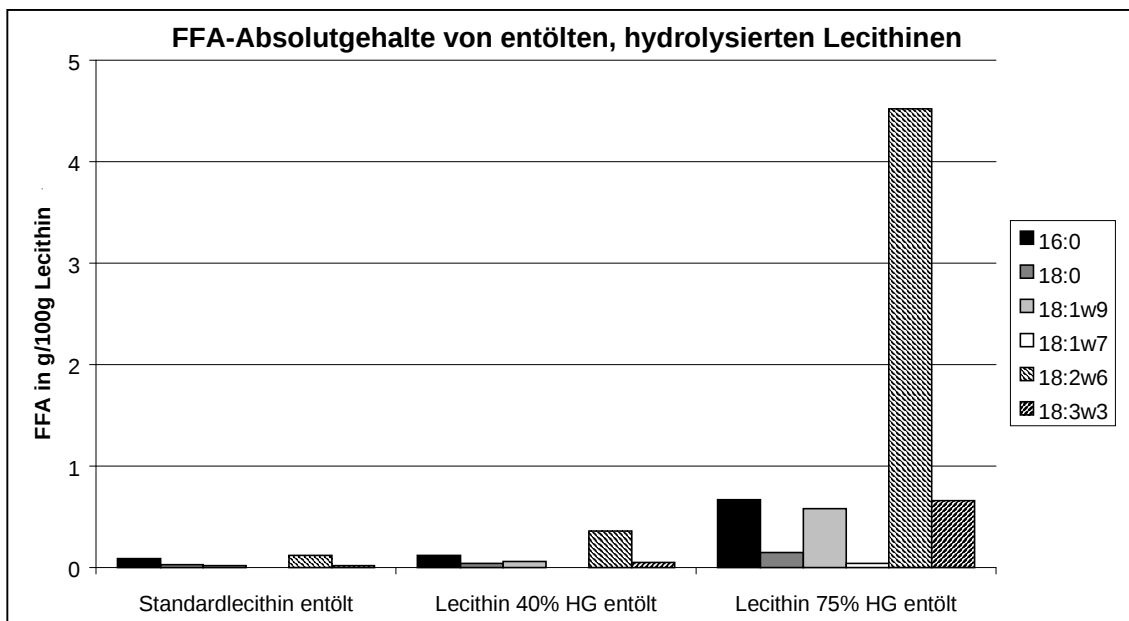


Abb.49: FFA-Absolutgehalte von hydrolysierten und entöhlten Sojalecithinen (Standard und 40% HG Aceton-entölt, 75% HG Propan-entölt)

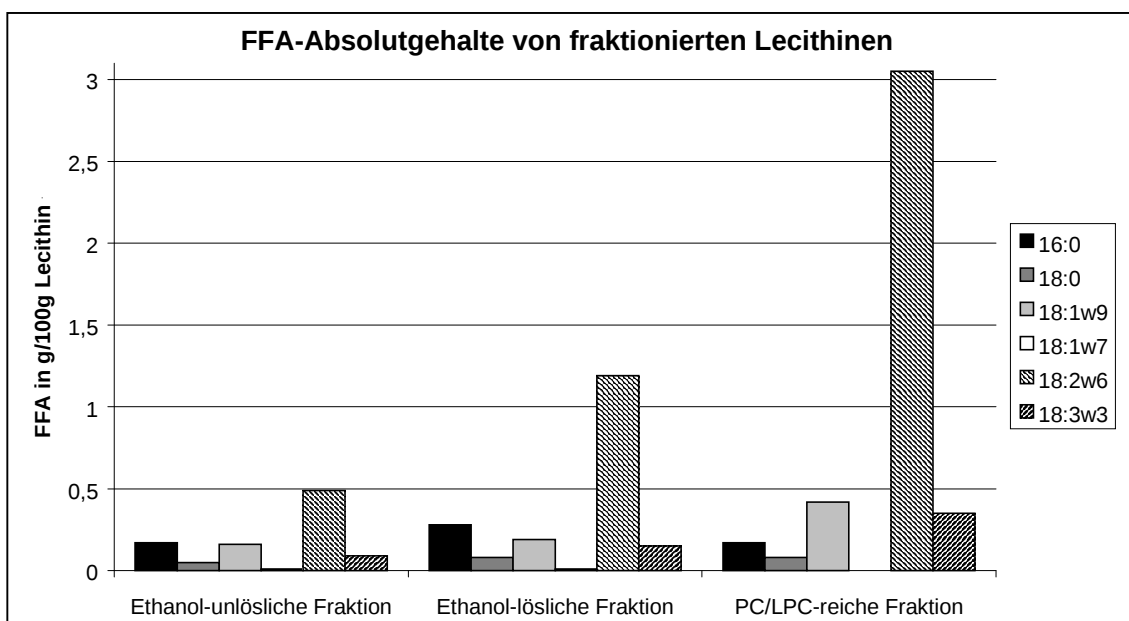


Abb.50: FFA-Absolutgehalte von hydrolysierten, entöhlten und Ethanol-fraktionierten bzw. SC-angereicherten Sojalecithinen

Die freie Linolsäure ist in sämtlichen untersuchten Lecithinen die dominierende FFA mit Gehalten von 0,12 g/100g entöltem Standardlecithin bis zu 9,65 g/100g Lecithin mit 75% HG. Freie Linolensäure kommt in hydrolysierten Lecithinen in Konzentrationen bis zu 1,36 g/100g Lecithin vor, gefolgt von freier Palmitinsäure (1,29 g /100g Lecithin) und freier Ölsäure (1,21 g /100g Lecithin). Freie Stearinsäure und freie Vaccensäure haben aufgrund ihrer niedrigen Gehalte in Sojalecithinen eine untergeordnete Bedeutung.

5.3.1.3.3 Relativgehalte der FFA in Sojalecithinen

Die Relativgehalte (bezogen auf 100% FFA) veranschaulichen die Verschiebungen der Verhältnisse zwischen den einzelnen FFA, die durch die angewendeten Modifizierungen der Lecithine verursacht werden. Durch die Hydrolyse werden die Anteile an frei vorliegenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) erhöht. Durch Aceton-Entölung werden die freien PUFA verstärkt und die freien gesättigten Fettsäuren (SFA) in geringerem Maße entfernt, wohingegen die Propan-Entölung keine Verschiebung in den FFA-Relationen bewirkt. Durch die Ethanol-Fraktionierung werden in den Ethanol-löslichen und PC/LPC-angereicherten Fraktionen die Anteile an freien PUFA erhöht.

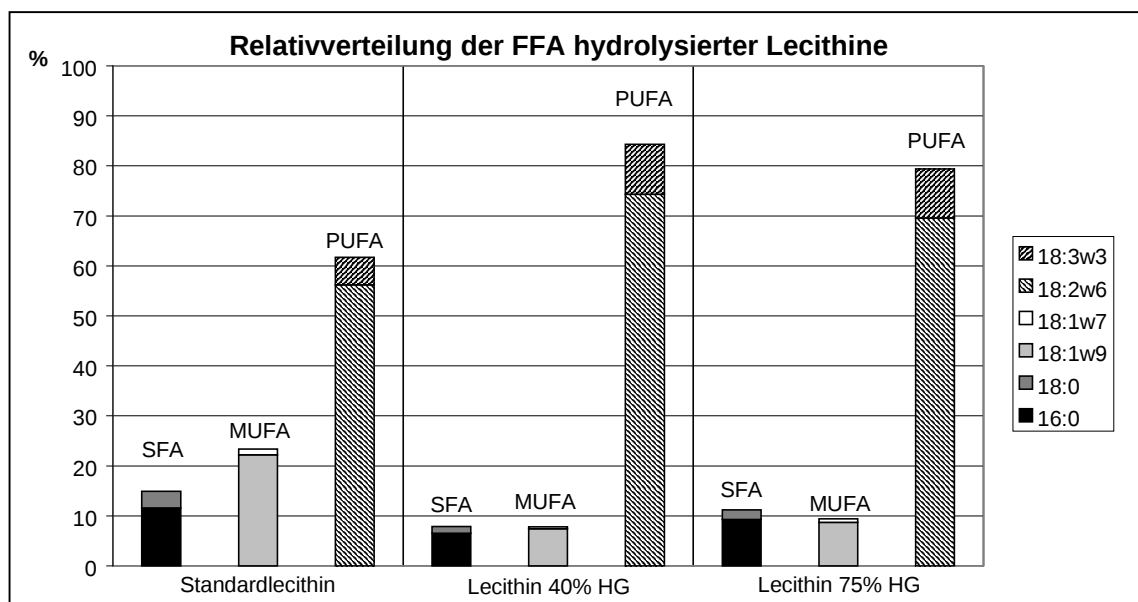


Abb.51: Veränderung der Relation der FFA-Gehalte durch Hydrolyse

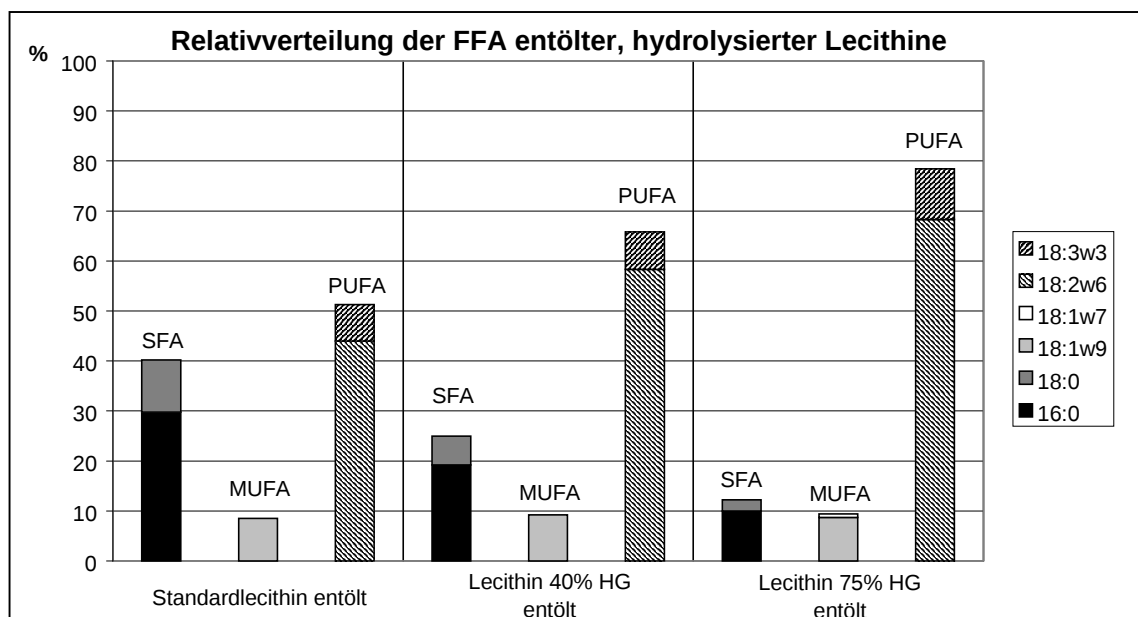


Abb.52: Veränderung der Relation der FFA-Gehalte durch Entölung

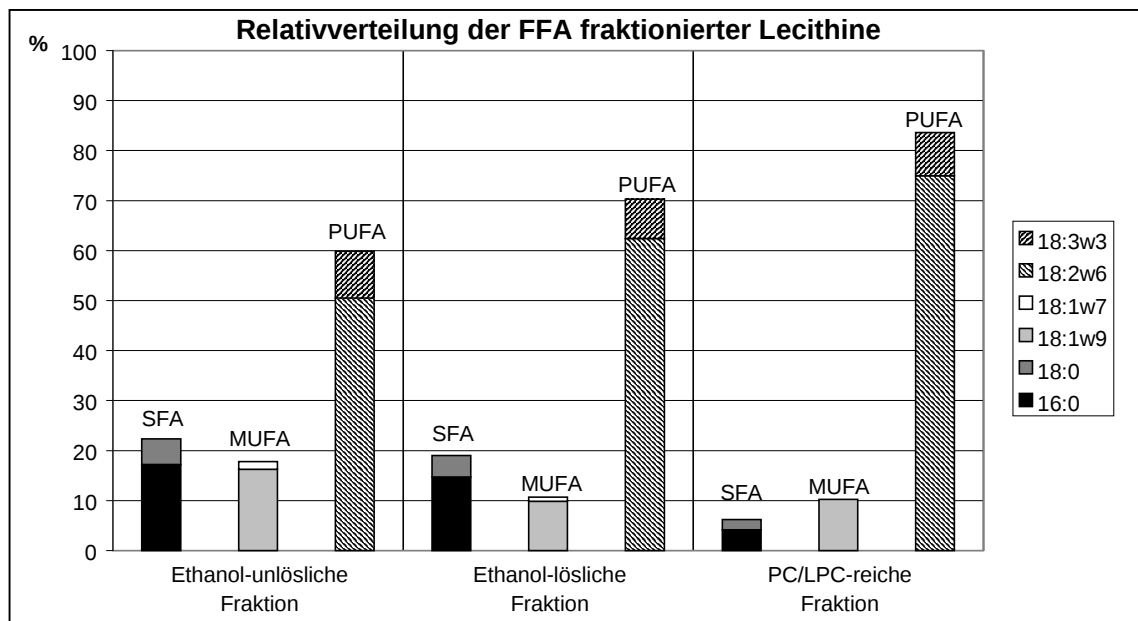


Abb.53: Veränderung der Relation der FFA-Gehalte durch Fraktionierung

5.3.1.4 Modelluntersuchungen zum Bittergeschmack von FFA

Zum Nachweis des Bittergeschmacks von FFA wurden Modelluntersuchungen durchgeführt, in denen hydrolysierten Lecithinen durch doppelte, kalte Entölung die FFA bis $<0,1\text{g}/100\text{g}$ entzogen wurden (siehe Abb. 46 unter 5.3.1.3.1) und im Anschluß diesen Lecithinen definierte Mengen an FFA-Standardsubstanzen wieder zugesetzt wurden (Anhang 8.2.2). Sensorische Untersuchungen von Original-Lecithin und FFA-dotiertem Lecithin-Modell in Form von erweiterten Dreiecksprüfungen ergaben keine signifikanten Unterschiede im Bittergeschmack. Der Bittergeschmack wurde durch die FFA-Dotierung in den entsprechenden im Sojalecithin enthaltenen Konzentrationen vollständig wiederhergestellt.

5.3.1.5 Bedeutung der FFA für den Bittergeschmack von Sojalecithinen

Die Bedeutung der FFA für den Bittergeschmack der verschieden behandelten Lecithine ergibt sich aus den jeweiligen Gehalten sowie den Bitterschwellenwerten der entsprechenden FFA. Hierbei sind es die freien PUFA, welche in hydrolysierten Lecithinen einen Bittergeschmack verursachen. Freie Linolensäure besitzt einen um den Faktor 6 niedrigeren Schwellenwert als Linolsäure, wohingegen die freie Linolsäure in den untersuchten Lecithinen um etwa den Faktor 6 höher konzentriert vorliegt.

Beiden PUFA kommt in frei vorliegender Form eine entscheidende Bedeutung im Beitrag zum Bittergeschmack von hydrolysierten Sojalecithinen zu. Die freie Ölsäure spielt aufgrund ihres erhöhten Bitterschwellenwertes eine untergeordnete Rolle, gesättigte FFA haben keinen Einfluß auf den Bittergeschmack.

5.3.2 Flüchtige Verbindungen

Der Beitrag von flüchtigen Verbindungen am Bittergeschmack der Sojalecithine wurde durch sensorische Untersuchungen von Vakuumdestillaten nachgewiesen. Hierbei wurden die flüchtigen Verbindungen des hydrolysierten Lecithins mit 75% HG mittels der für die Gewinnung der Aromastoffe zur Qualifizierung und Quantifizierung eingesetzten Vakuumdestillationsapparatur von der nichtflüchtigen Matrix abgetrennt. Das Destillat wurde u.a. mittels VIGREUX-Kolonnen und Mikrodestillationsapparatur vom Lösungsmittel befreit und in analoger Konzentration zu den Lecithinen für sensorische Untersuchungen in der Matrix 3,5%ige H-Milch eingesetzt. Durch Profilprüfungen wurde hierbei der Anteil der flüchtigen Fraktion am Gesamtbittergeschmack festgestellt. Dieser entspricht für das hydrolysierte Lecithin mit 75% HG einem Skalenwert von 1,7 bei einem Gesamtbittergeschmack von 3,3 Skalenteilen. Die Geschmacksprofile vom Destillat und dessen Ausgangslecithin sind in Abbildung 54 dargestellt.

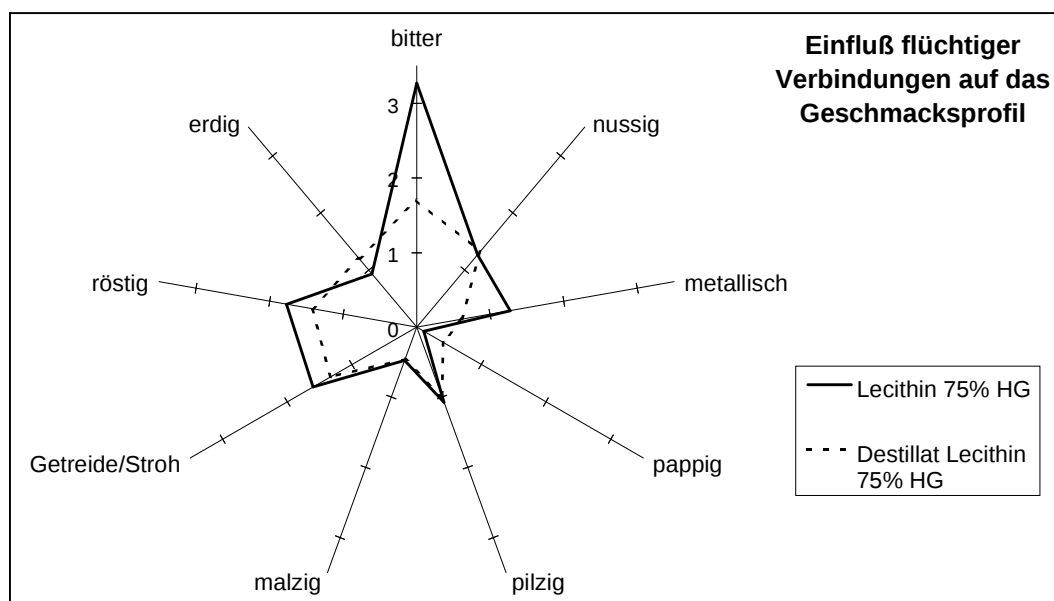


Abb.54: Geschmacksprofile vom Lecithin mit 75% HG und dessen flüchtigen Verbindungen jeweils in 3,5%iger H-Milch (n=20)

Inwieweit einzelne flüchtige Verbindungen an diesem Bittergeschmack beteiligt sind, wurde nicht weiter untersucht. Einzige Ausnahme stellt der Aromastoff 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin dar. Diese Verbindung wies bei der Bestimmung des retronasalen Erkennungsschwellenwertes (vergleiche 5.2.7) zusätzlich zum eigentlichen röstigen, erdigen Aroma in Konzentrationen über 1 µg/kg einen Bittergeschmack auf.

5.3.3 Einfluß von Hydrolyseparametern

5.3.3.1 Enzymatische (Neben-)Aktivitäten

Der Einfluß des zur Hydrolyse standardmäßig verwendeten Enzyms wurde überprüft, indem die Standard-Enzym-Lösung in der Herstellung hydrolysierter Lecithine durch zwei kommerziell nutzbare Alternativ-Enzyme ersetzt wurde. Hierbei wurden die durch die drei unterschiedlichen Enzyme (A=Standard, B und C=„neuartige Enzyme“) hergestellten Lysolecithine zum einen sensorisch in Form von erweiterten Dreiecks- und Profilprüfungen untersucht, zum anderen wurden die FFA-Gehalte bestimmt, um deren Einfluß erfassen zu können.

Um diesen FFA-Einfluß auf Veränderungen im Bittergeschmack gering zu halten, wurden neben den hydrolysierten Lecithinen mit 40% HG insbesondere deren Aceton-entölte Varianten untersucht.

Zunächst wurde anhand von erweiterten Dreiecksprüfungen untersucht, inwieweit sich durch „neuartige Enzyme“ hydrolysierte Lecithine von herkömmlichen im Bittergeschmack unterscheiden. Abbildung 55 zeigt drei Dreiecke, in denen das durch Enzym B hergestellte Hydrolysat gegen das durch Enzym A hergestellte Standardhydrolysat (jeweils ~40% HG und entölt) sowie beide jeweils gegen das als Referenzlecithin verwendete entölte nichthydrolysierte Standardlecithin verkostet wurden. Das Referenzlecithin ist hierbei das Lecithin, welches von allen untersuchten Lecithinen den niedrigsten Bittergeschmack aufweist (vergleiche Abb. 23) und somit für die Beeinflussbarkeit des Bittergeschmacks hydrolysierter Lecithine die bestmögliche Optimierung aufzeigt.

Das Referenzlecithin unterscheidet sich dabei im Bittergeschmack (Abb. 55) sehr hoch signifikant (13 von 18 Urteilen) bzw. hoch signifikant (12/18) von den Lysolecithinen (Enzym A und B) und wird signifikant (11/13) bzw. hoch signifikant (11/12) bevorzugt. Der Intensitätsunterschied zwischen Referenz und Standardhydrolysat

beträgt 2,7 Skalenpunkte, der zwischen der Referenz und dem durch Enzym B hydrolysierten Lecithin jedoch nur 1,0 Skalenpunkte. Dieser Unterschied wird durch das dritte Dreieck, in dem die hydrolysierten Lecithine (Enzym A und B) gegeneinander verkostet wurden, bestätigt. Das durch das „neuartige Enzym B“ hydrolysierte Lecithin schmeckt signifikant (10/18) weniger bitter als das Standardhydrolysat (Enzym A) und wird signifikant (9/10) bevorzugt. Der Intensitätsunterschied beträgt 1,5 Skalenpunkte.

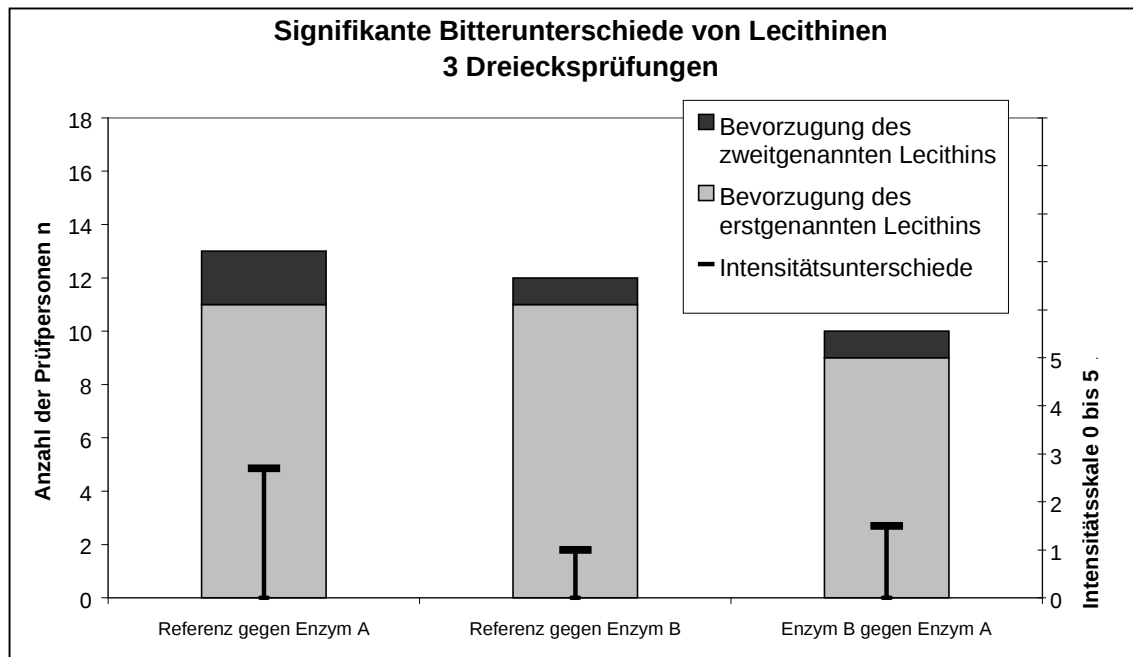


Abb.55: Erweiterte Dreiecksprüfungen von entöltem nicht-hydrolysiertem Lecithin (Referenz), mit Enzym A hydrolysiertem, entöltem Lecithin (Standard) und mit Enzym B hydrolysiertem, entöltem Lecithin (neuartig) in 3,5%iger H-Milch (n=18)

Die Verwendung von Enzym B bringt eine entscheidende Verbesserung hydrolysierter Lecithine im Bittergeschmack.

Die im weiteren durchgeführten Untersuchungen zu Enzym C brachten keine Verbesserung im Geschmack, da bei vermindertem Bittergeschmack ein erhöhter metallischer Geschmack auftrat. Dieser beim Hydrolysat von Enzym C auftretende Metallgeschmack wurde beim Hydrolysat von Enzym B nicht festgestellt. Vielmehr wurden Metall- und Bittergeschmack durch den Einsatz von Enzym B in gleicher Weise minimiert, was Abbildung 56 anhand der Geschmacksprofile verdeutlicht. Neben der Minderung dieser Geschmackseigenschaften wurde die Intensität der Attribute pappig und nussig erhöht, was einen erhöhten Anteil an Acetonkondensationsprodukten erwarten lässt.

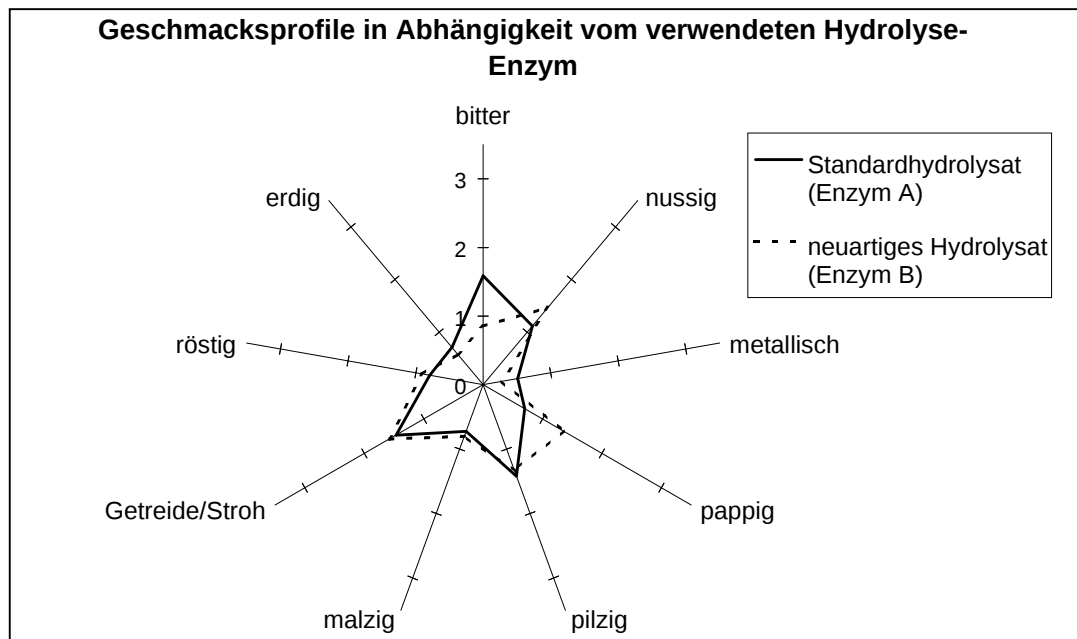


Abb.56: Geschmacksprofile des herkömmlichen (Enzym A) und des „neuartigen“ (Enzym B) hydrolysierten, entölten Lecithins 40% HG (1%ig in 3,5%iger H-Milch, n=20)

Der Einfluß der FFA auf den Bittergeschmack, der bei den ölhaltigen hydrolysierten Lecithinen erheblich ist und sich deutlich zwischen den Lecithinen unterscheidet, ist durch die Entölung stark minimiert. Tabelle 21 zeigt die ermittelten Gehalte an FFA in den ölhaltigen und entölten mit Enzym A und B hydrolysierten Lecithinen.

Tabelle 21: FFA-Gehalte der in den Enzym-Versuchen hergestellten hydrolysierten Lecithine in g/100g Lecithin (n=3)

FFA	Lecithin Enzym A (Standard)		Lecithin Enzym B (neuartig)	
	ölhaltig	entölt	ölhaltig	entölt
16:0	0,57	0,12	0,69	0,25
18:0	0,13	0,04	0,20	0,10
18:1ω9	0,58	0,06	0,57	0,22
18:1ω7	0,04	<0,01	0,05	<0,01
18:2ω6	6,56	0,36	4,01	0,46
18:3ω3	0,88	0,05	0,61	0,06

Das durch Enzym B hydrolysierte und entölte Lecithin zeigt, trotz der im Vergleich zum Standardhydrolysat (Enzym A) leicht erhöhten Gehalte an freier Linol- und Linolensäure (Anhang 8.7.3.2, Tabelle 46), einen signifikant geringeren Bittergeschmack (Abb. 55 und 56). Die Ursache dieser Verminderung liegt folglich nicht in den FFA-Gehalten begründet.

5.3.3.2 Einfluß von Calciumchlorid

Calciumchlorid wird aufgrund der Wirkungen auf die Aktivität des Standard-Hydrolyseenzym eingesetzt (vergleiche 3.2.5.1). Inwieweit dieser Zusatz durch Bildung von z.B. Calcium-Komplexen oder Calcium-Verbindungen ein potentieller Verursacher von Bittergeschmack sein kann, wurde sensorisch durch erweiterte Dreiecksprüfungen untersucht. Diese Untersuchungen erfolgten insbesondere aufgrund der Tatsache, daß die durch das neuartige Enzym B (siehe 5.3.3.1) hergestellten und weniger bitter schmeckenden Lysolecithine keiner CaCl_2 -Zugabe zur Aktivitätssteigerung bedürfen.

Es wurden mit dem gleichen Enzym hydrolysierte Lecithine gegeneinander verkostet, die mit und ohne 0,3%igem CaCl_2 -Zusatz hergestellt wurden. Dabei wurden keine signifikanten Unterschiede im Bittergeschmack festgestellt. Des weiteren wurden ohne CaCl_2 hydrolysierte gegen nicht-hydrolysierte Lecithine verkostet. Hierbei wurden die gleichen signifikanten Unterschiede im Bittergeschmack festgestellt, die zwischen nicht-hydrolysierten und hydrolysierten Lecithinen bereits festgestellt wurden.

Der Einsatz von CaCl_2 in Konzentrationen bis 0,3% erzielte in allen durchgeführten Untersuchungen keinen Einfluß auf den Bittergeschmack.

5.3.4 Einfluß von oxidierten Fettsäuren, Hydroxyfettsäuren, fraktionierten Phospholipiden und Kohlenhydraten/Glykolipiden

Oxidierte und Hydroxy-Fettsäuren

Weitere FFA wie z.B. Hydroxyfettsäuren erzielten hinsichtlich des Bittergeschmacks der untersuchten Lecithine keine Bedeutung.

Neben den identifizierten FFA wurden keine weiteren Substanzen in den mittels GC/FID untersuchten FFA-Fractionen detektiert. Die von BAUR et al. (1977) als bitter identifizierten Hydroxyfettsäuren liegen mit den Schwellenwerten von 0,6 bis $0,9\mu\text{mol/ml}$ in etwa der gleichen Größenordnung wie die unter 5.3.1.1 bestimmten Bitterschwellen von freier Linolsäure und Linolensäure, was bedeutet, daß Hydroxyfettsäuren zumindest in ähnlichen Konzentrationsbereichen wie die freie Linolsäure und Linolensäure auftreten müßten, um einen Bittergeschmack in Sojalecithinen entfalten zu können.

Da in den Modelluntersuchungen (5.3.1.4) durch Zugabe von ungesättigten FFA zur doppelt entölten Lecithin-Matrix der Bittergeschmack der Sojalecithine vollständig reproduziert wurde, sind in der Aceton-löslichen Fraktion keine weiteren bitter schmeckenden Substanzen zu erwarten.

Fraktionierte Phospholipide

Sämtliche untersuchten Phospholipid-Fraktionen zeigten (mit Ausnahme der PC/LPC-angereicherten Fraktion) keinen erhöhten Bittergeschmack im Vergleich zu dem Ausgangsprodukt. Im Gegensatz zu Untersuchungen von SESSA et al. (1974, 1976) führten Anreicherungen von PC-haltigen Phospholipiden nicht zu einem erhöhtem Bittergeschmack. Die mit >90% angereicherte, nicht-hydrolysierte Lecithin-Fraktion wies in Profilprüfungen keinen erhöhten Bittergeschmack auf, was dagegen spricht, daß fraktionierte PC-reiche Phospholipide aufgrund gebundener oxidierte Fettsäuren einen Bittergeschmack aufweisen.

Die Ursache des Bittergeschmacks von PC/LPC-angereicherten Fraktionen (>95%) ist im wesentlichen in den hohen Gehalten an FFA (>4g/100g Lecithin) zusammen mit der veränderten Polarität dieser Lecithine (siehe 5.3.1.2) begründet.

Kohlenhydrate/Glykolipide

Durch Profilprüfungen wurde ebenfalls festgestellt, daß die nach PARDUN (1982, 1989) für den Bittergeschmack möglicherweise verantwortlichen Kohlenhydrate und Glykolipide wahrscheinlich keinen direkten Einfluß auf die Bitterintensität haben. Hierzu wurde eine aus nichthydrolysiertem Lecithin gewonnene Kohlenhydrat/Glykolipid-Fraktion sensorisch in Emulsion (1%ig in 3,5%iger H-Milch) untersucht. Diese Fraktion wies keinen Bittergeschmack auf (0,2 Skalenpunkte) und liefert demnach keinen Beitrag zum Bittergeschmack.

Zu beachten ist, daß in der untersuchten Fraktion die bei enzymatischer Hydrolyse aufgrund der Bedingungen aus dieser Substanzklasse eventuell entstehenden (Hydrolyse-) Produkte nicht erfaßt werden und somit nicht endgültig ausgeschlossen werden kann, daß diese Substanzklasse möglicherweise einen Beitrag zum Bittergeschmack liefert.

6. Diskussion

6.1 Vorbemerkungen

6.1.1 Ausgangssituation

Bisherige Untersuchungen zum Aroma (KIM et al.1984) als auch zum Geschmack (SESSA et al., 1974, 1976) von Sojalecithinen gaben nur wenige Hinweise auf das tatsächliche Flavor der heutzutage im wesentlichen in der Nahrungsmittelindustrie verwendeten Sojalecithine. Es war bisher weitgehend unbekannt, welche Verbindungen im einzelnen für das Flavor von verschiedenen behandelten Sojalecithinen und Sojalecithinprodukten verantwortlich sind und welchen Beitrag diese Verbindungen zum Gesamtflavor leisten. Deshalb waren auch Rückschlüsse, welche Verarbeitungsbedingungen zu welchen Veränderungen in der Zusammensetzung des Lecithin-Flavors führen, nur schwer vollziehbar und eine zielgerichtete Optimierung von Sojalecithinen hinsichtlich ihrer Flavoreigenschaften für entsprechende Anwendungsgebiete nicht auf wissenschaftlicher sondern lediglich auf empirischer Basis möglich.

Aus diesen Gründen (vergleiche 2.) wurde vor den analytischen Untersuchungen, die sich vornehmlich mit der Identifizierung, Quantifizierung und sensorischen Bewertung von flavorrelevanten Verbindungen beschäftigten, eine systematische sensorische Charakterisierung des Status quo des Flavors heutiger Sojalecithine vorgenommen (siehe 5.1). Das Erfassen und „Katalogisieren“ sensorisch meßbarer Eindrücke in Kombination mit analytisch-apparativen Ergebnissen zu den Flavor-Ursachen ermöglichen es nun, Prozeßführungen bei der Lecithin-Herstellung/Modifizierung in einen direkten kausalen Zusammenhang zur Bildung von Flavor- bzw. off-Flavor-auslösenden Substanzen zu stellen. Hierdurch ergeben sich insbesondere im Hinblick auf die Nutzung und Anwendbarkeit von Sojalecithinen speziell für innovative Produkte neue Perspektiven.

Die Diskussion der Ergebnisse ist im folgenden in die Teilbereiche Aroma und Geschmack gegliedert. Hierbei werden jeweils Substanzklassen sowie bedeutende Einzelsubstanzen in ihrer sensorischen Relevanz für das entsprechende Sojalecithin-aroma charakterisiert. Dabei erfolgt eine Beurteilung des Einflusses verschiedener

Lecithin-Modifikationen auf das Flavor und ein Ausblick in die Möglichkeiten der weiteren Optimierung des Lecithin-Flavors, die auf diesen Ergebnissen aufbauen.

6.1.2 Sensorische Charakterisierung; Status quo

Sensorische Beschreibungen von Sojalecithinen erfolgten bisher i.d.R. durch wenige und das Flavor dieser Lecithine nicht ausreichend definierende Attribute wie bohnenartig, heuig, lecithinartig und unangenehm (KIM et al.1984) oder bohnen-, grasartig und bitter (SESSA et al., 1974, 1976; SESSA und PLATTNER, 1979; SESSA, 1985). Hierbei wurde im wesentlichen auf Beschreibungen des Flavors der Sojabohne zurückgegriffen (DOI et al., 1980; WHITFIELD und LAST, 1991).

Eine Objektivierung der Auswahl der Produktbeschreibungen wurde durch beschreibende sensorische Prüfverfahren erzielt. Neben den oben genannten Attributen brachte die der Profilprüfung (E-DIN 10967, 1998; ISO 11035, 1994; MEILGAARD et al., 1991) vorangeschaltete Einfach Beschreibende Prüfung (DIN 10964, 1996) Eigenschaften wie z.B. strohig, getreideartig, röstig, nussig, kratzig oder auch pilzig hervor, denen für bestimmte Lecithine eine teilweise herausragende Bedeutung zukommt (Abb. 15 bis 26). Diese Beschreibungen stehen hierbei häufig in einem direkten Zusammenhang zu Produkten der Aromastoffbildung (siehe 5.2.3 Tabelle 10) wie sie in vielen Publikationen aus dem Bereich der Aromaforschung in verschiedensten Lebensmitteln beschrieben werden. So können bspw. pilzige Gerüche Verbindungen wie u.a. 1-Octen-3-on und 1-Octen-3-ol aus der Peroxidation ungesättigter Fettsäuren zugeschrieben werden (ULLRICH und GROSCH, 1987; OTT et al., 1997), während röstige, erdige Noten einer Reihe von Pyrazinen zugeordnet werden können (CERNY und GROSCH, 1993, 1994). Hierbei ist jedoch zu beachten, daß z.B. aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen, welche häufig als synergistische bzw. antagonistische Effekte beschrieben werden (SIEK et al., 1969), nicht zwingend eine bestimmte Geruchseigenschaft eines Lebensmittels auf entsprechend gleichartig riechende Substanzen zurückzuführen ist.

Die Aufnahme von Flavorprofilen läßt nun unter Berücksichtigung der oben genannten Aspekte eine Reihe von Rückschlüssen auf Ursachen der einzelnen Merkmale und Merkmalseigenschaften vom Sojalecithin-Flavor zu und ermöglicht einen direkten Vergleich verschiedener Proben in ihren sensorischen Ausprägungen. Abhängig sind die Ergebnisse hierbei im wesentlichen von der Qualität des Sensorik-

Panels, d.h. von der Schulung, den Eignungsanforderungen und den (sensorischen) produktspezifischen Kenntnissen/Erfahrungen der jeweiligen Prüfpersonen sowie deren Anzahl. Um die Qualität der sensorischen Ergebnisse zu maximieren und, wie im Falle der erweiterten Dreiecksprüfungen, Aussagen über Signifikanzniveaus treffen zu können, wurden bei den durchgeführten sensorischen Untersuchungen 18 bis 20 speziell ausgebildete Prüfpersonen eingesetzt. Die Schulung und Eignungsprüfung erfolgte hierbei in Anlehnung an entsprechende DIN- und ISO-Normen (DIN 10961, 1996; ISO 8586-2, 1994) mit den in 4.2.1 beschriebenen Schwerpunkten.

6.2 Das Aroma von Sojalecithinen

6.2.1 Identifizierung, Charakterisierung und Bildung von Aromastoffen

6.2.1.1 Identifizierung von Aromastoffen

In den untersuchten, verschieden modifizierten Sojalecithinen wurden insgesamt 63 Aromastoffe am Sniff-Detektor eines Gaschromatographen nach Isolierung aus der Matrix mittels Vakuumdestillation sowie statischer Headspace (5.2.2) wahrgenommen und mittels der unter 4.3.3 beschriebenen Methoden identifiziert. Diese 63 Aromastoffe lassen sich wie folgt in Substanzklassen aufteilen: 20 Aldehyde, 11 Ketone, 11 N-Verbindungen, 8 flüchtige Säuren, 4 Alkohole, 3 Lactone, 2 S-Verbindungen, 2 Furane und 2 Acetonkondensationsprodukte.

55 dieser 63 Aromastoffe wurden hierbei erstmalig im Aroma von Sojalecithinen beschrieben. Untersuchungen von KIM et al. (1984) über flüchtige Verbindungen im entölten Lecithin zielten auf die Majorkomponenten der flüchtigen Fraktion. Von der Mehrzahl dieser Verbindungen geht jedoch in den entsprechenden Konzentrationen, in denen sie im Lecithin auftreten, keine Aromawirksamkeit aus, weshalb nur acht der von KIM et al. (1984) identifizierten Substanzen in den untersuchten Lecithinen geruchlich erfaßt wurden. Nur die Verbindungen Hexanal, Mesityloxid, 1-Octen-3-ol, 1-Octen-3-on und Isophoron haben z.T. eine erhöhte sensorische Bedeutung.

Weiterführende Untersuchungen, die neben den von KIM et al. (1984) erzielten Ergebnissen Vergleiche mit der Aromastoff-Identifizierung dieser Arbeit ermöglichen, liegen in der Literatur zum Sojalecithin-Aroma nicht vor. Deshalb ist insbesondere

der Vergleich mit Aromastoff-Untersuchungen zum Sojaöl, respektive von Fettfraktionen als einem der Hauptbestandteile des Sojalecithins, sinnvoll (vergl. Tab. 2).

Im Gegensatz zu oxidierten ungesättigten Fettsäuren oder Pflanzenölen wie Sojaöl, in denen Aldehyde in großer Anzahl nachweisbar sind (ULLRICH und GROSCH, 1987; SELKE und FRANKEL, 1987; GUTH und GROSCH, 1990b; MAHUNGU et al., 1994; LEE et al., 1995), stellten JEWEL und NAWAR (1980) in ihren Untersuchungen fest, daß Aldehyde in Phospholipiden sofortige Reaktionen mit den Aminogruppen der Phospholipid-spezifischen Reste (u.a. Ethanolamin) eingehen und somit keine sensorische Bedeutung erfahren. Diese Ergebnisse können in Sojalecithinen (20 mittels GC/O wahrgenommene und identifizierte Aromastoffe) nicht bestätigt werden. Im Gegenteil, es wurde in sämtlichen untersuchten Lecithinen diese Vielzahl an Aldehyden identifiziert, die einen z.T. erheblichen Einfluß auf das Aroma haben (siehe 5.2.8).

6.2.1.2 Charakterisierung der Aromastoffe über GC/O

Die Methoden der AEVA (ULLRICH und GROSCH, 1987; HOLSCHER und STEINHART, 1992; GROSCH, 1994) und der CHARM-Analyse (ACREE et al., 1984; SCHLÜTER et al., 1996; POLLIEN et al., 1997) stellen erprobte Untersuchungsverfahren mittels GC/O dar, welche eine Charakterisierung und Vorauswahl der Bedeutung der einzelnen flüchtigen Verbindungen ermöglichen. Die Kombination von AEVA und CHARM ermöglicht neben der Erkennung eines Geruches zudem die Berücksichtigung der Einflüsse der Intensität und der Dauer der olfaktorischen Wahrnehmungen.

Basierend auf beiden olfaktometrischen Methoden sind es insbesondere die Verbindungen 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin und (*E*)- β -Damascenon, welche sowohl die höchsten FD-Werte bei der AEVA als auch CHARM-Werte erzielten (siehe 5.2.4). Neben diesen beiden Verbindungen (mit FD-Werten bis zu 2^{13} und CHARM-Werten bis zu 8000) zeigen mehr als 30 weitere Verbindungen (Abb. 32 bis 34) hohe olfaktorische Bedeutung durch GC/O. Das läßt darauf schließen, daß das Aroma von Sojalecithinen durch eine Vielzahl von verschiedenen riechenden Substanzen gebildet wird und es nicht character impact compounds sind, die das Gesamt-Aroma prägen bzw. widerspiegeln, wie z.B. in gelagerten Sojaölen (GUTH und GROSCH, 1989, 1990a, 1990b), bei denen der Aromastoff 3-Methyl-2,4-nonandion für den strohartigen Reversionsgeschmack verantwortlich ist.

Gibt es auch keine character impact compounds für das Gesamt-Aroma von Sojalecithinen, so können doch gewisse Aromanoten, wie z.B. röstig und erdig, ganz bestimmten Verbindungen zugeordnet werden, wie z.B. das röstig-popcornartig riechende 2-Acetyl-1-pyrrolin dem Röstgeruch der Weißbrotkruste (SCHIEBERLE und GROSCH, 1992; RYCHLIK und GROSCH, 1996). Als character impact compound für den Röstgeruch und -geschmack kann bei den ölhaltigen hydrolysierten Sojalecithinen bereits aufgrund der GC/O-Untersuchungen der oben beschriebene Aromastoff 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin angenommen werden, was durch die Aromawerte nach Quantifizierung und Schwellenwert-Bestimmung des entsprechenden Aromastoffes bestätigt wird (vergleiche Abb.32 und 38).

6.2.1.3 Bildung von Aromastoffen

Der Bildung von Aromastoffen in Sojalecithinen können grundsätzlich Lipid-oxidationen, MAILLARD-Reaktionen, STRECKER-Abbaureaktionen sowie Reaktionen des verwendeten Lösungsmittels bei der Modifizierung der Lecithine zugrunde liegen (vergleiche 3.3.2). Die Abbildungen 5 bis 12 zeigen hierbei eine Auswahl von für diese Reaktionen postulierten Bildungswegen (DEGROOT et al., 1973; FRANKEL, 1982; GROSCH, 1982; KIM et al., 1984; HO und CARLIN, 1989; GUTH und GROSCH, 1991; BALTES, 1993; CERNY und GROSCH, 1994; MOTTRAM, 1994).

Die Bildung von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin läßt sich jedoch nicht ohne weiteres aus diesen Mechanismen ableiten. Eine MAILLARD-Reaktion vorausgesetzt, dienen im wesentlichen die Aminoalkohole als Stickstoffquelle in Sojalecithinen (speziell Ethanolamin). Reduzierende Zucker werden nach hydrolytischer Spaltung aus den im Sojalecithin enthaltenen Glykolipiden bzw. Kohlenhydraten freigesetzt. Der in Abbildung 61 dargestellte Bildungsweg wird für den potenten Aromastoff 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin vorgeschlagen. Im ersten Schritt wird Phosphatidylethanolamin zwischen der Phosphorsäure und dem Ethanolaminrest hydrolysiert. Im Anschluß reagiert im Gegensatz zu den bekannten Mechanismen (HO und CARLIN, 1989; MOTTRAM, 1994), in denen durch STRECKER-Abbaureaktionen Aminosäuren decarboxyliert werden, das frei vorliegende Ethanolamin mit α -Dicarbonylverbindungen zu einer Schiff'schen Base. Im zweiten Schritt entsteht unter Transaminierung ein α,β -Aminoketon, das mit einem zweiten α,β -Aminoketon in bekannter Weise zu einem Dihydropyrazin cyclisiert (HO und CARLIN, 1989; BALTES,

1993; CERNY und GROSCH, 1994). Durch Reaktion des Dihydropyrazins mit Aldehyden werden schließlich trialkylierte Pyrazine gebildet, in diesem Fall durch Reaktion mit Acetaldehyd der Aromastoff 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin.

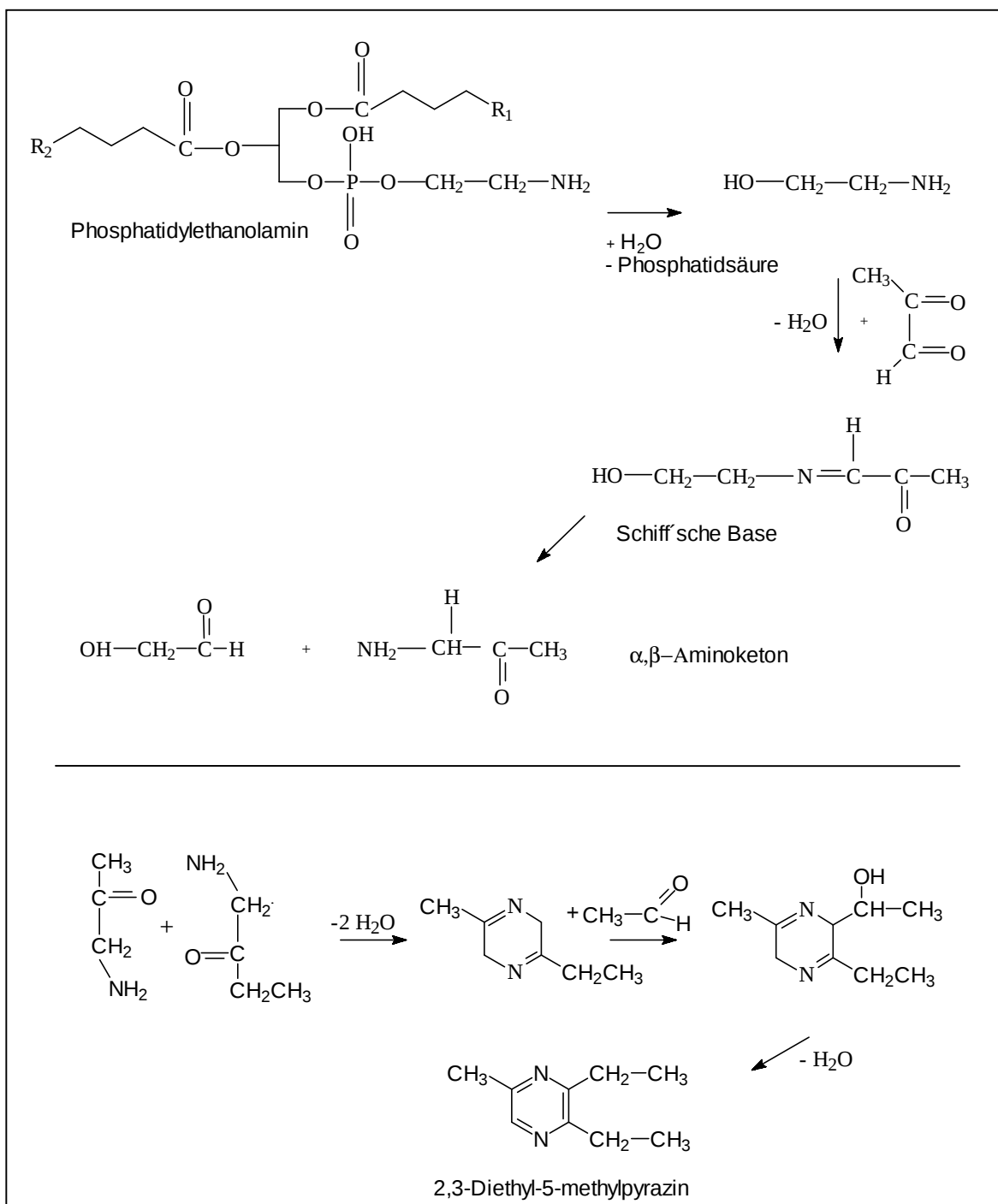


Abb.61: Postulierter Bildungsweg von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin in Sojalecithinen aus Phosphatidylethanolamin

6.2.2 Bedeutung der Aromastoffe

Die Relevanz einzelner Aromastoffe wird üblicherweise durch ihre Aromawerte, d.h. dem Quotienten aus Gehalt und Schwellenwert, nach dem Konzept von ROTHE und THOMAS (1963) bestimmt. Dieses Konzept (4.3.5), das für Aromastoffe des Brotes entwickelt wurde, hat sich für eine Vielzahl von Lebensmitteln zur Einschätzung der Bedeutung von Einzelsubstanzen auf das Gesamtaroma bewährt, z.B. für Kaffee (SEMMEYROCH et al., 1995), Popcorn (SCHIEBERLE, 1995; BUTTERY et al., 1997), Fleisch (GUTH und GROSCH, 1994) oder Wein (GUTH, 1997).

6.2.2.1 Schwellenwerte von Aromastoffen

Die Qualität der Aromawert-Ergebnisse und damit deren Aussagefähigkeit ist u.a. ganz entscheidend abhängig von der verwendeten Matrix, in der die Schwellenwerte bestimmt werden und die der eigentlichen Probenmatrix möglichst nah kommen sollte. Da für die Matrix Wasser eine große Zahl an nasalen und retronasalen Schwellenwerten in der Literatur zur Verfügung steht, wird häufig auf diese zurückgegriffen. Für stark lipophile Lebensmittel, wie Sojaöl (ULLRICH und GROSCH, 1988), Butter (SIEK et al., 1969) oder Käse (PREININGER und GROSCH, 1994) werden Schwellenwerte in Pflanzen- oder Paraffinöl als Matrix bestimmt, wobei die Zahl der publizierten Schwellenwerte deutlich geringer als in der Wassermatrix ausfällt. Werden weitere Matrices gewählt, die der Originalprobe eher oder genau entsprechen, wie z.B. Stärke für Untersuchungen zum Brotaroma (RYCHLIK und GROSCH, 1996) oder Buttermilch für off-Flavor Untersuchungen der Buttermilch (HEILER und SCHIEBERLE, 1996) so ist man ausschließlich auf eigene Schwellenwertbestimmungen angewiesen. Das bietet zum einen den Vorteil, die Qualität der Schwellenwerte, die in vielfältiger Weise vom sensorischen Panel (u.a. Schulung, Eignung, Anzahl der Prüfpersonen) und der Aufgabenstellung (z.B. Definition der Schwelle: Reiz-/Erkennungsschwelle; nasal/retronasal) abhängen, beurteilen zu können, zum anderen ist man jedoch darauf angewiesen, sämtliche Schwellen selbst zu bestimmen. Für bestimmte Fragestellungen, die beispielsweise eine Fehlnote betreffen und zum Teil nur Untersuchungen weniger bzw. einzelner Aromastoffe erfordern, erweist sich das als sinnvoll, für Untersuchungen eines Gesamtaromas jedoch als wenig zweckmäßig.

Im Hinblick auf die in dieser Arbeit formulierten Zielsetzungen (siehe 2.) wurde für die Schwellenwerte auf die Modellmatrix Pflanzenöl zurückgegriffen. Diese bietet den Vorteil, von einigen für das Aroma der Sojalecithine bedeutenden Aromastoffen (z.B. (Z)-1,5-Octadien-3-on) nasale und retronasale Schwellenwerte (siehe 5.2.7 Tabelle 17) aus der Literatur (z.B. GUTH und GROSCH 1990b) übernehmen zu können. Zudem lässt sich die Qualität selbst bestimmter Schwellenwerte durch den Vergleich mit Literaturdaten nachweisen.

Die Schwellenwerte von potenten Aromastoffen, die einen entscheidenden Beitrag zum Sojalecithinaroma leisten, wurden durch die unter 5.2.7 beschriebenen Schwellenwertprüfungen selbst bestimmt und auszugsweise durch erweiterte Dreiecksprüfungen bestätigt. So wurde bspw. der ermittelte nasale Schwellenwert von 0,13µg/kg Öl für (Z)-1,5-Octadien-3-on in einer Dreiecksprüfung gegen Öl als Blindprobe abgerochen. 9 von 18 Prüfpersonen erkannten die Merkmalseigenschaft des Aromastoffs (metallisch). Unter Berücksichtigung des Signifikanzniveaus ($p=0,05$), welches bei 10 von 18 Prüfpersonen in der Dreiecksprüfung bei einseitiger Fragestellung erreicht wird (vergleiche 8.4.9, Tabelle 35), erweisen sich die Bestimmungsmethode und das eingesetzte Panel zur Ermittlung der Schwellenwerte als sehr präzise und tauglich. Der retronasale Schwellenwert von (Z)-1,5-Octadien-3-on, der mit 0,03µg/kg Öl in gleicher Konzentration wie von GUTH und GROSCH (1990b) bestimmt wurde, verdeutlicht das.

Die Notwendigkeit der einheitlichen Bestimmung von Schwellenwerten zeigen Literaturdaten von bspw. 2-Methylbutanal. Hierbei reicht der nasale Schwellenwert je nach Publikation von 2,2µg/kg Öl (REINERS und GROSCH, 1998) über 10µg/kg Öl (WAGNER und GROSCH, 1998) bis 140µg/kg Öl (GUADAGNI et al., 1972). Eigene Untersuchungen ergaben Gehalte von 38µg/kg Öl als nasalen Schwellenwert.

6.2.2.2 Quantifizierungsmethode

Die Quantifizierung der Aromastoffe erfolgte nach Isolierung durch Vakuumdestillation über interne Standards (IS) anhand von charakteristischen Target (TI)- und Qualifier (QI)-Ionen (5.2.5) mittels GC/MS-EI im SIM-Modus. Über Korrekturfaktoren wurden die Wiederfindungen der Analyten denen der IS angeglichen. Die Gehalte errechneten sich dann jeweils über externe Kalibriergraden der entsprechenden Substanzen.

Die Auswahl der geeigneten TI und QI ist dabei nicht nur von den Molekülbruchstücken, die sich charakteristischer Weise bei der GC/MS-EI bei 70eV ergeben, abhängig, sondern ebenso von den Begleitsubstanzen der flüchtigen Fraktion, die z.T. identische Bruchstücke bilden und somit die Quantifizierung der Analyten stören können (BUDZIKIEWICZ, 1992). Aus diesem Grund wurden aus dem Pool ionisierter Molekülbruchstücke (m/z), die die jeweiligen Substanzen bei 70eV bilden, gezielt diejenigen ausgewählt, die eine Quantifizierung der Aromastoffe in der Matrix Sojalecithin ermöglichen. Die Notwendigkeit der Abstimmung auf die Matrix zeigt sich insbesondere dann, wenn nicht auf charakteristische ionisierte Molekülmassen (m/z) zurückgegriffen werden kann, wie sie z.B. bei den Pyrazinen entstehen (z.B. 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin mit TI 135 und QI 136 und 56), sondern wenn, wie bspw. bei den Fettoxydationsprodukten, eine Vielzahl von Bruchstücken entsteht, die für eine Reihe von Substanzen charakteristisch sind (z.B. (*E*)-2-Nonenal mit TI 83 und QI 55 und 96). Diesem analytischen Problem, das in erster Linie bei Substanzen wie den Aromastoffen, die in sehr niedrigen Konzentrationen im Vergleich zur Begleitmatrix vorkommen, auftritt, kann bspw. mit der Anwendung von GC/MS-CI unter Verwendung von Isotopenstandards entgegengewirkt werden (SCHIEBERLE und GROSCH, 1987; GUTH und GROSCH, 1990b, 1993; SCHIEBERLE, 1995).

In den in dieser Arbeit durchgeführten Quantifizierungen erfolgte die Absicherung der Ergebnisse, soweit die Gehalte über Bruchstückionen der Molekülmasse ermittelt wurden, die auch von einigen (Stör-)substanzen gebildet werden, durch die Bestimmung der Gehalte über TI an zwei verschiedenen polaren Kapillarsäulen (8.5.5), also über die Charakteristik zweier RI-Werte der Analyten. Zudem wurden die Ergebnisse über das jeweilige charakteristische Verhältnis von TI zu QI verifiziert (vergleiche 5.2.5 Tabelle 11 und 8.7.1). Durch die Bestimmung der Gehalte über Korrekturfaktoren, mit denen über Modellversuche das Verhältnis der Wiederfindung von Analyt und IS ermittelt wird (BUTTERY et al., 1994; BUTTERY und LING, 1995), wurde zudem die Genauigkeit der Bestimmung der Aromastoffgehalte maximiert. Die für die Quantifizierung der Aromastoffe angewandte Methode ermöglichte hierbei in Abhängigkeit des Analyten Bestimmungen von Gehalten ab 0,1µg/kg Lecithin.

6.2.2.3 Aromastoffgehalte

Die Gehalte der Aromastoffe der untersuchten Lecithine liegen in einem Bereich von 0,1µg/kg Lecithin u.a. für 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin bis zu 58mg/kg Lecithin für

Essigsäure (vergleiche 5.2.6). Mit Ausnahme der flüchtigen Säuren, die in Gehalten im mg/kg-Bereich von Bedeutung sind, sind Verbindungen im µg/kg-Bereich für das Aroma der Sojalecithine verantwortlich.

a) Aldehyde

Die identifizierten Aldehyde lassen sich in kurzkettige, verzweigte, in gesättigte und in ungesättigte Aldehyde unterteilen. Gesättigte unverzweigte Aldehyde haben mit Gehalten von bis zu 688 µg/kg für den Aromastoff Hexanal eine untergeordnete Bedeutung für das Lecithinaroma. Im Gegensatz dazu weisen die Gehalte der sehr leicht flüchtigen kurzkettigen, verzweigten Aldehyde 2-Methylpropanal (bis zu 232 µg/kg) sowie 2-Methylbutanal (bis zu 389 µg/kg) und 3-Methylbutanal (bis zu 58 µg/kg) auf eine z.T. erhebliche Bedeutung am Sojalecithin-Aroma hin. Vergleiche mit Gehalten dieser Verbindungen in Kaffee (bspw. 2-Methylpropanal mit bis zu 1380 µg/kg Kaffeegetränk, SEMMELROCH und GROSCH, 1996), in denen diesen Aldehyden eine hohe Bedeutung zukommt, verdeutlichen bei den ermittelten Gehalten deren Einfluß auf das Aroma der Sojalecithine. Dies bestätigen auch Untersuchungen von REINERS und GROSCH (1998), die in Olivenöl Gehalte an 2- und 3-Methylbutanal bis 102 µg/kg bzw. 70 µg/kg bestimmten.

Trotz z.T. erheblicher FD-Faktoren bzw. CHARM-Werte kommen ungesättigte Aldehyde nur in verhältnismäßig niedrigen Konzentrationen von untergeordneter sensorischer Bedeutung in Sojalecithinen vor. Mit Ausnahme der PC/LPC-angereicherten Fraktion, in der (*E,E*)-2,4-Decadienal aufgrund des Gehaltes von 1565 µg/kg als character impact compound der Fettnote dieses Lecithins zu bezeichnen ist (vergleiche Abb.18), sind die weiteren identifizierten ungesättigten Aldehyde in vergleichsweise niedrigen Konzentrationen in den untersuchten Lecithinen anzutreffen. Hervorzuheben sind lediglich (*E*)-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal, (*E,Z*)-2,6-Nonadienal und (*Z*)-4-Heptenal mit Gehalten bis 19 µg/kg, 21 µg/kg sowie 4,9 µg/kg. Die beiden erstgenannten Aldehyde liegen im Vergleich mit gelagerten Sojaölen (bis 12 µg/kg und 2,6 µg/kg, GUTH und GROSCH, 1990b) in etwas höheren Konzentrationen vor, im Vergleich zu hitzebehandelter Margarine ((*E*)-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal mit 1130 µg/kg, GASSENMEIER und SCHIEBERLE, 1990b) jedoch in deutlich niedrigeren Konzentrationen.

b) Ketone

Eine Reihe der identifizierten Ketone leisten in den ermittelten Konzentrationen einen bedeutenden, z.T. entscheidenden Beitrag zum Aroma der Sojalecithine. (*Z*)-1,5-Octadien-3-on, welches in den untersuchten Lecithinen in gleichmäßig hohen Konzentrationen von 0,4 bis 1,6µg/kg enthalten ist, zeigt hierbei deutlich erhöhte Gehalte im Vergleich zu Untersuchungsergebnissen von gelagertem Sojaöl (bis 0,6µg/kg, GUTH und GROSCH, 1990b). Ebenso haben die im Sojalecithin gefundenen ungesättigten Ketone 1-Octen-3-on (2,9µg/kg bis 16µg/kg), (*E*)-β-Damascenon (bis 45µg/kg) und 1-Nonen-3-on (0,6 bis 3,1µg/kg) aufgrund ihrer Gehalte einen hohen Einfluß auf das Gesamt-Aroma. Während 1-Octen-3-on als bekanntes Fettoxydationsprodukt in einer Reihe fetthaltiger Lebensmittel in niedrigeren Konzentrationen bestimmt wurde, wie z.B. Butter (0,5µg/kg WIDDER und GROSCH, 1994), Popcorn (5µg/kg, BUTTERY et al., 1997) oder Pommes Frites (6,9µg/kg WAGNER und GROSCH, 1998) handelt es sich bei 1-Nonen-3-on um einen pilzartig riechenden Aromastoff, der bisher erst in wenigen Lebensmitteln, wie z.B. in Joghurt (OTT et al., 1997), identifiziert wurde. (*E*)-β-Damascenon ist ein bekannter Aromastoff, der in bspw. Kaffeepulver (200µg/kg, SEMMELROCH et al., 1995) in deutlich höheren Konzentrationen auftritt als im Sojalecithin.

Speziell in gelagerten Sojaölen wurde 3-Methyl-2,4-nonandion als character impact compound des strohartigen Reversionsgeschmacks mit Konzentrationen bis zu 721µg/kg ermittelt (GUTH und GROSCH, 1991). Die in Sojalecithinen gefundenen deutlich geringeren Gehalte von konstant 14 bis 33µg/kg sprechen jedoch dafür, daß diese Verbindung nicht allein für den strohig/getreideartigen Geruch und Geschmack von Sojalecithinen verantwortlich sein kann. Diese für das Sojalecithin-Aroma entscheidende Geruchsnote setzt sich vielmehr aus einer Reihe von Aromastoffen zusammen (vergleiche 5.2.9).

c) Pyrazine

Die aromawirksamen Pyrazine 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (DEMP) und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (EDMP), welche unter Temperatureinfluß gebildet werden (GROSCH 1993b), liegen in hydrolysierten Sojalecithinen in etwas höheren Gehalten vor (DEMP bis 66µg/kg, EDMP bis 55µg/kg) als in einer Vielzahl von thermisch behandelten Lebensmitteln, wie z.B. Kaffee (bis 9,3 bzw. 35µg/l, SEMMELROCH und

GROSCH, 1994), Pommes Frites (bis 43 bzw. 57µg/kg, WAGNER und GROSCH, 1998) oder gebratenem Fleisch (bis 27 bzw. 5,4µg/kg, CERNY und GROSCH, 1993).

Neben den Pyrazinen wurde 2-Pentylpyridin als Stickstoff-haltiger Aromastoff in für das Aroma bedeutenden Konzentration bis zu 85µg/kg hydrolysiertes Sojalecithin gefunden. Studien zum Aroma von geröstetem Sesam (SCHIEBERLE, 1996) ergaben bereits bei Gehalten von 19µg/kg einen bedeutenden Aromabeitrag.

d) Flüchtige Säuren

In der Substanzklasse der flüchtigen Säuren kommen insbesondere Essigsäure (4,6 bis 56mg/kg), Valeriansäure (0,15 bis 2,2mg/kg), Buttersäure (0,33 bis 1,8mg/kg) und 3-Methylbuttersäure (bis 0,38mg/kg) in für das Aroma von Sojalecithinen bedeutenden Konzentrationen vor. Die Gehalte der flüchtigen Säuren liegen dabei zum Teil in Größenordnungen, in denen sie in fettreichen Lebensmitteln wie z.B. Käse (Buttersäure 10,1mg/kg, MILO und REINECCIUS, 1997) oder verschiedenen Buttersorten (Buttersäure um 3mg/kg, SCHIEBERLE et al., 1997) als character impact compounds bezeichnet werden oder wie in Olivenöl (Essigsäure bis 10,5mg/kg, GUTH und GROSCH, 1993) einen nicht unerheblichen Beitrag zum Aroma leisten.

e) Sonstige Verbindungen

Neben den oben genannten Substanzklassen sind bei Sojalecithinen Aceton-kondensationsprodukte von sensorischer Bedeutung. Von KIM et al. (1984) wurde Isophoron als die Substanz beschrieben, welche für das unangenehme, heu- und bohnenartige Aroma von entölten Sojalecithinen verantwortlich ist. Isophoron wurde von KIM et al. (1984) jedoch nicht quantifiziert, so daß keine eindeutigen Vergleiche mit dem Aroma der von KIM et al. (1984) verwendeten Aceton-entölten Lecithine gezogen werden können. Die heutzutage mit Aceton entölten Sojalecithine weisen aufgrund der ermittelten Gehalte an Isophoron (von 0,28 bis 1,6mg/kg Aceton-entöltes Sojalecithin) nur noch auf einen zumeist geringen Beitrag dieser Substanz am Gesamtaroma entölter Lecithine hin.

In hydrolysierten ölhaltigen Produkten wurde des weiteren der pilzartig riechende Aromastoff 1-Octen-3-ol in Konzentrationen bis zu 1,6mg/kg quantifiziert. Untersuchungen von BUTTERY und LING (1995) ergaben schon für Gehalte von 0,07mg/kg einen Einfluß von 1-Octen-3-ol auf das Aroma von Tortillas.

6.2.2.4 Modelluntersuchungen

Durch Modelluntersuchungen (5.2.9), in denen die Aromastoffe, welchen aufgrund ihrer Aromawerte eine hohe Bedeutung zukommt, in den ermittelten Konzentrationen der Modellmatrix Öl zugesetzt wurden, wurden die Ergebnisse der Gesamtmethode zur Aromastoffbestimmung bestätigt. Da sowohl das Geruchs- als auch das Geschmacksprofil von Modell und Originallecithin eine große Ähnlichkeit aufweisen, ist es mit Hilfe der 25 im Modell verwendeten Aromastoffe möglich, in den entsprechenden Konzentrationen das Aroma hydrolysiertes Sojalecithins zu simulieren. Die Methode der abschließenden Modelluntersuchung des Aromas, die für eine Reihe von Lebensmittelmittelaromen, Fehlparomen oder Aromaknoten erfolgreich angewendet wurde (u.a. WIDDER und GROSCH, 1994; SEMMELROCH und GROSCH, 1996; MASANETZ et al., 1998), ermöglicht es hierbei, das Aroma eines Lebensmittels eindeutig auf eine beschränkte Zahl an Aromastoffen zurückzuführen, in diesem Fall die 25 im Modell verwendeten Aromastoffe. Einzelne Aromastoffe bzw. Aromastoffgruppen können dabei aufgrund ihrer Geruchseigenschaften bestimmte Aromaknoten des Lebensmittels verursachen (SCHIEBERLE und HOFMANN, 1996). So korrelieren bspw. die Aromawerte der beiden Pyrazine 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin mit den Intensitäten der Aromaqualitäten röstig und erdig. Diese Korrelation Aromaknoten/Aromawert ist jedoch nicht immer auf einzelne Aromastoffe, die die entsprechende Geruchsqualität besitzen, zurückführbar. So werden die getreide- und strohartigen Noten des Sojalecithins wahrscheinlich von einer Reihe Substanzen mit verschiedenen Geruchsqualitäten wie 2-Methylpropanal, 3-Methyl-2,4-nonandion, 2-Methylbutanal und 2-Pentylpyridin in Kombination mit einigen flüchtigen Säuren verursacht. Effekte wie z.B. Synergismen oder Antagonismen von Aromastoffen untereinander sind hierbei zu berücksichtigen (SIEK et al., 1969).

6.2.2.5 Aromawerte in Abhängigkeit der Lecithin-Behandlung

Die Relevanz, respektive Bedeutung der jeweiligen Aromastoffe am Aroma der verschieden behandelten Sojalecithine, ist unter 5.2.8 (Abb. 36 bis 40 und Tabelle 18) in Form der Aromawerte der Einzelverbindungen sowie Substanzklassen dargestellt. Die Veränderung der jeweiligen Bedeutung der Aromastoffe durch

entsprechende Lecithin-Modifikationen ergibt sich hierbei aus unterschiedlich hohen Aromawerten von Einzelsubstanzen unter Berücksichtigung der Summe aller Aromawerte. Signifikante Veränderungen der Aromastoffgehalte durch entsprechende Prozeßführungen sind in den Tabellen 39 bis 41 (Anhang 8.7.2) dargestellt. Dabei gilt es zu berücksichtigen, daß die statischen Auswertungen von Gehalten bzw. Gehaltsunterschieden keine eindeutigen Aussagen über eventuelle Auswirkungen auf das Aroma der Proben zulassen. Dies liegt einerseits an der geringen Stichprobenzahl (in diesem Fall $n = 3$ bis 4), die aufgrund der zum Teil aufwendigen Analytik der Bestimmung von Aromastoffen untersucht wird. I.d.R. beruhen Aromastoff-Ergebnisse und daraus gezogene Schlußfolgerungen, die in der Literatur zu finden sind, auf Doppelbestimmungen (SCHIEBERLE et al., 1993; GUTH, 1997; MILO und REINECCIUS, 1997; REINERS und GROSCH, 1998). Zum anderen ist es nicht möglich, ausschließlich aufgrund (signifikant) unterschiedlicher Gehalte auf Aromaunterschiede zu schließen, da die Bedeutung einer Substanz für das (Gesamt-) Aroma entscheidend von der sensorischen Wahrnehmbarkeit verschiedener Konzentrationen abhängt, d.h. von der Unterschiedsschwelle des entsprechenden Aromastoffes im vorliegenden Konzentrationsbereich. So sind z.B. sehr hoch signifikante Steigerungen für den Gehalt an 2-Pentylfuran von $305\mu\text{g/kg}$ bis $1326\mu\text{g/kg}$ durch den Prozeß der enzymatischen Hydrolyse für das Aroma dieser Lecithine von untergeordneter Bedeutung (vergleiche 8.7.2). Die statistische Beurteilung der Veränderung der Gehalte durch verschiedene Behandlungen anhand von Signifikanzniveaus kann somit nur in Verbindung mit sensorischen Ergebnissen in der Aromaforschung zu aussagekräftigen Schlußfolgerungen führen.

a) Beeinflußbarkeit des Aromas durch enzymatische Hydrolyse

Im Standardlecithin sind es in erster Linie vier Substanzklassen, die für das Aroma von Bedeutung sind: kurzkettige, verzweigte Aldehyde, ungesättigte Ketone, Pyrazine sowie flüchtige Säuren (vergleiche Abb. 38).

Durch den Prozeß der Hydrolyse werden die Aromawerte (AW) von 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (DEMP), (*E*)- β -Damascenon und 1-Octen-3-ol bis um den Faktor 10 erhöht. Neben der Erhöhung der Aromawerte dieser Verbindungen ist eine generelle Erhöhung der Summe der Aromawerte in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad jedoch nicht zu beobachten. Sowohl das Lecithin mit 40% HG als auch dasjenige mit 75% HG erzielen im Vergleich zum Standardlecithin (rAW~350) retronasale AW-Summen

von knapp 500 (Abb. 36). Die Hydrolyse bewirkt folglich lediglich eine moderate Intensivierung des Gesamt-Aromas, welche sich insbesondere in der Rösnote niederschlägt (Abb. 16 und 24). Hierbei ist DEMP ein Aromastoff, der durch die veränderten Bedingungen bei stärkerer Hydrolyse in höherer Konzentration gebildet wird, während 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (EDMP) in beiden hydrolysierten Lecithinen (40% und 75% HG) in gleichen Konzentrationen auftritt und vermutlich durch den Prozeß der Trocknung dieser Lecithine entsteht.

Neben der Mehrzahl potenter Aromastoffe, die durch die Hydrolyse keine Veränderung erfahren, nehmen die Aromawerte der kurzkettigen, verzweigten Aldehyde 2-Methylpropanal und 2-Methylbutanal um etwa 50% ab.

b) Beeinflußbarkeit des Aromas durch Entölung

Die Entölung von Sojalecithinen bewirkt zunächst eine generelle Halbierung der AW-Summen (Abb. 36), wobei die Abnahme unabhängig vom verwendeten Extraktionsmittel (Aceton bzw. Propan) ist. Betrachtet man jedoch die Bedeutung einzelner Substanzklassen, so ergeben sich zwischen den mit unterschiedlichen Lösemitteln entölten Lecithinen grundsätzliche Unterschiede.

Während die Gruppe der Ketone in ihrer sensorischen Bedeutung durch beide Arten der Entölung nicht gemindert wird (speziell (Z)-1,5-Octadien-3-on, 1-Octen-3-on und 3-Methyl-2,4-nonandion), bewirkt die Aceton-Entölung die fast vollständige Entfernung der Pyrazine sowie die Absenkung der Gehalte an Aldehyden und Säuren auf etwa ein Drittel der Ausgangs aromawerte (Abb. 37). Insbesondere verringert sich die Bedeutung der Aromastoffe DEMP, EDMP, 2-Methylpropanal, 2-Methylbutanal und Essigsäure für das Gesamt-Aroma. Im Gegensatz dazu können Acetonkondensationsprodukte bei der Entölung eine höhere Bedeutung erlangen (Abb. 39) wie bspw. beim entölten Standardlecithin Isophoron (rAW=50). Die hohen Standardabweichungen der untersuchten unterschiedlichen Chargen (Tabelle 40, 8.7.2) deuten dabei auf die Abhängigkeit der Bildung des Isophorons ($\pm s=38\%$) von der Prozeßführung der Aceton-Entölung.

Der Vorteil der Propan-Entölung, keine Acetonkondensationsprodukte zu bilden, wird im wesentlichen durch den entscheidenden Nachteil aufgehoben, daß die für unangenehme Geruchseigenschaften verantwortlichen flüchtigen Säuren (Essigsäure, Valeriansäure und Buttersäure) eine exponierte Stellung einnehmen. Dieser Nachteil kommt in besonders hohem Maße bei den nichtflüchtigen FFA (vergleiche

5.3.1.3.2) zur Geltung. Des weiteren sind im Gegensatz zur Aceton-Entölung in Propan-entölten Lecithinen noch Pyrazine in sensorisch relevanten Konzentrationen vorhanden.

c) Beeinflußbarkeit des Aromas durch Fraktionierung

Die Ethanol-Fraktionierung Aceton-entölter, hydrolysierter Lecithine bewirkt für die Ethanol-unlösliche Fraktion im Gegensatz zur Ethanol-löslichen Fraktion etwa eine Halbierung der AW-Summe (Abb. 36). Insbesondere verringert sich die Bedeutung der Ketone (*Z*)-1,5-Octadien-3-on und 1-Octen-3-on sowie der flüchtigen Säuren Essigsäure und Valeriansäure. Neben einer Verdopplung der Aromawerte für 2-Methylpropanal steigt in erster Linie Mesityloxid in der sensorischen Bedeutung der Ethanol-unlöslichen Fraktion, wobei Mesityloxid wahrscheinlich aus Restgehalten an Aceton im entölten Lecithin gebildet wird.

In der Ethanol-löslichen Fraktion sind es ebenfalls die Ketone (*Z*)-1,5-Octadien-3-on und 1-Octen-3-on, die in ihrer sensorischen Bedeutung abnehmen. Jedoch nehmen die Aromawerte von (*E*)- β -Damascenon, 2-Methylpropanal, Essigsäure, Valeriansäure und speziell von 1-Octen-3-ol bis um das 7-fache zu.

Bei der säulenchromatographisch angereicherten PC/LPC-Fraktion steigt die sensorische Bedeutung der Fettoxydationsprodukte (Aldehyde und Ketone) z.T. erheblich. Während die vermehrte Bildung zahlreicher Aldehyde (u.a. (*E,E*)-2,4-Nonadienal oder Nonanal) aufgrund ihrer hohen Schwellenwerte in Öl für das Aroma der Fraktion ohne Bedeutung ist, ist der Aromastoff (*E,E*)-2,4-Decadienal mit einem rAW von 38 als Ursache der Fettnote dieser Fraktion anzusehen (Abb. 18). Zudem ist in dieser Fraktion neben anderen Ketonen die sensorische Relevanz von 3-Octen-2-on deutlich erhöht. Als Ursache für diese in den untersuchten Lecithinen einzigartige Verlagerung hin zu Aldehyden und Ketonen als annähernd ausschließlich bedeutende Substanzklassen für das Aroma wird die durch die SC erzielte Reinheit dieser Fraktion und damit einhergehend die Entfernung der natürlich vorkommenden Antioxidantien des Sojalecithins aus der Fraktion angesehen.

6.3 Der Geschmack von Sojalecithinen

Der Geschmack von Sojalecithinen wird neben den unter 6.2 diskutierten retronasalen Eindrücken ganz entscheidend durch Wahrnehmungen auf der Zunge und im Rachenraum geprägt, die als unangenehm und bitter beschrieben werden (SESSA, 1985). Hierbei können eine Vielzahl von Verbindungsklassen potentiell für diesen Bittergeschmack verantwortlich sein. Eine Aufzählung dieser in der Literatur diskutierten Substanzen mit Bittergeschmack wurde bereits unter 3.3.3 vorgenommen. Im folgenden wird diskutiert, inwieweit einzelne dieser potentiell bitter schmeckenden Substanzklassen sowie Einzelsubstanzen tatsächlich und, wenn ja, mit welcher Intensität am Bittergeschmack von (hydrolysierten) Sojalecithinen beteiligt sind.

6.3.1 Einfluß der freien Fettsäuren

Der Einfluß der FFA auf den Bittergeschmack, der in Lebensmitteln erstmalig in Mohnsamen erkannt wurde (GROSCH und LASKAWY, 1984), wurde in Sojalecithinen nach dem in Abbildung 43 dargestellten Arbeitsschema nachgewiesen und durch Modellversuche (5.3.1.4) bestätigt.

Die Gehalte einzelner FFA stehen dabei in direkter Korrelation zum Bittergeschmack der untersuchten Emulsionen. Die sensorischen Untersuchungen der Bitterschwellenwerte wurden aus den in 5.3.1.1 dargelegten Gründen in 3,5%iger H-Milch durchgeführt. Die Wechselwirkungen, die zwischen Milchproteinen und Sojalecithin-Bestandteilen stattfinden, sind hierbei erwünscht. Nur durch diese Wechselwirkungen ist es möglich, sämtliche verschieden polaren Lecithine zu dispergieren bzw. zu emulgieren und somit deren Bittergeschmack in der gleichen Matrix untersuchen zu können. Der Einfluß der Milch auf den Bittergeschmack ist dabei jedoch gering, was Vergleiche mit Untersuchungen von WIESER et al. (1984), in denen der Bittergeschmack von FFA emulgiert mit Sucrosepalmitat/-stearat bestimmt wurde, zeigen. Die von WIESER et al. (1984) bestimmten Schwellenwerte liegen etwa um den Faktor zwei höher (z.B. Linolsäure 4-6µmol/l) als die in dieser Arbeit ermittelten, die in Tabelle 19 angegeben sind.

Die Schwellenwert-Untersuchungen ergaben, daß ganz besonders die mehrfach ungesättigten FFA einen entscheidenden Beitrag zum Bittergeschmack der Sojalecithine liefern und zudem durch ihren Neben- und Nachgeschmack zu metallischen und nussigen Geschmacksqualitäten beitragen und ein kratziges, adstringierendes Mundgefühl verursachen. Gesättigte FFA hingegen leisten in den sensorisch untersuchten und im Lecithin vorkommenden Konzentrationen keinen Beitrag zum Bittergeschmack, die freie Ölsäure einen untergeordneten (Tabelle 19). Die mehrfach ungesättigten FFA Linol- und Linolensäure haben im Lecithin in etwa die gleiche Bedeutung für den Bittergeschmack. Während der Schwellenwert von freier Linolensäure mit 0,012 g/100g etwa um den Faktor 6 niedriger liegt als der von Linolsäure (0,70g/100g), tritt die freie Linolsäure in um etwa diesen Faktor 6 höheren Konzentrationen in den untersuchten Lecithinen auf (vergleiche Abb.47 bis 50).

Die Hydrolyse von Sojalecithinen mit Phospholipase A₂-Lösungen (3.2.5.1) setzt vor allem die an der C₂-Position veresterten mehrfach ungesättigten FFA frei. Während die Fettsäureverteilung der Phospholipidfraktion mit etwa 55% (Relativ%) Linolsäure angegeben wird (WEBER, 1976; PARDUN, 1989; MACRAE et al., 1993; SCHNEIDER, 1997; VERLEYSSEN und SANDRA, 1997), erhöht sich dieser Anteil durch die Hydrolyse auf bis zu 73% in der Fraktion der FFA. Ähnlich verhält es sich mit der Linolensäure, die von etwa 6% in der Fettsäureverteilung der Phospholipidfraktion auf bis zu 10% in der Fraktion der FFA ansteigt (vergleiche Tabelle 5 und Abb. 51). Die enzymatische Hydrolyse setzt somit verstärkt die für den Bittergeschmack verantwortlichen mehrfach ungesättigten FFA frei.

In Abbildung 46 sind die Summen der FFA in den untersuchten Lecithinen dargestellt. Speziell die hydrolysierten Lecithine weisen hohe Gehalte an FFA bis zu 14g/100g Lecithin (75% HG) auf. Linolsäure kommt in Gehalten zwischen 6g/100g (40% HG) und fast 10g/100g (75% HG) in hydrolysierten Lecithinen vor, während die freie Linolensäure durch Hydrolyse von 0,1g/100g in den Rohlecithinen über 0,9g/100g (40% HG) auf bis zu 1,4g/100g Lecithin (75% HG) ansteigt. Diese Gehalte bewirken in den ölhaltigen hydrolysierten Lecithinen einen Bittergeschmack, der bereits in 0,1%igen Lösungen wahrnehmbar ist (Abb.29) und in 1%igen Lecithin-Lösungen durchschnittliche Bitterintensitäten von bis zu 3,3 Skalenpunkten erreicht, was einem starken bis sehr starken Bittergeschmack entspricht (Abb. 24).

Die Entölung mit Aceton führt zu einer Reduzierung der FFA-Anteile auf kleiner 1g/100g, wobei zusätzlich die mehrfach ungesättigten FFA bevorzugt entfernt werden (Abb.51 und 52). Durch weitere Entölungsschritte (im Labormaßstab durchgeführte zweite Aceton-Kaltentölung, 8.2.1.8) können trotz dieser niedrigen Gehalte durchaus weitere Verminderungen der FFA-Gehalte ($<0,1\text{g}/100\text{g}$, Abb.46) einhergehend mit einer signifikanten Verminderung im Bittergeschmack erzielt werden.

Im Gegensatz zur Aceton-Entölung bewirkt die Propan-Entölung nur eine Halbierung der FFA-Gehalte (Abb. 46). Somit ist diese Art der Entölung zur Verbesserung des Lecithin-Geschmacks als ungeeignet anzusehen.

Der Bittergeschmack von (hydrolysierten) Lecithinen, der sich durch die im Produktionsmaßstab durchgeführte klassische Aceton-Entölung bereits deutlich auf eine Intensität von etwa 1,5 Skalenpunkte (schwacher bis mittelintensiver Bittergeschmack) reduzieren läßt (Abb. 24 und 25), erfährt eine weitere Minderung durch die Ethanol-Fraktionierung auf Intensitäten, die einem schwachen Bittergeschmack entsprechen (Abb. 26). Dies gilt (trotz etwas unterschiedlicher FFA-Gehalte) sowohl für die Ethanol-lösliche als auch für die unlösliche Fraktion.

Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurde die These aufgestellt, daß neben den Gehalten an FFA zusätzlich die Polarität des entsprechenden Lecithins respektive der Emulsion einen entscheidenden Einfluß auf die Bitterschwellen von FFA haben. Die veränderten Schwellenwerte von freier Linolsäure bei Zusätzen von verschiedenen polaren Lecithinen (Tabelle 20) bestätigen diese Aussage. Während 1%ige Lecithin-Zusätze (geschmacksneutral, doppelt entölt) mit hoher Polarität (hydrolysiertes Lecithin) den Bitterschwellenwert signifikant von 0,07 auf 0,05g/100g Matrix senken, erhöhen weniger polare Lecithine (nichthydrolysiertes Reinlecithin) diesen Schwellenwert signifikant auf 0,09g/100g Matrix. Verdeutlicht wird dieser Effekt durch Konzentrations-/Intensitätsdiagramme (Abb. 45). Bei einer Linolsäure-Konzentration von 0,10g/100g Matrix steigt die Intensität des Bittergeschmacks signifikant von der Emulsion mit dem weniger polaren Zusatz, über die ohne Lecithin-Zusatz bis hin zur Emulsion mit dem stark polaren Lecithin-Zusatz jeweils um etwa einen Skalenpunkt, was einer Intensitätssteigerung von einem schwachen zu einem mittelstarken bis zu einem starken Bittergeschmack entspricht.

Der Bittergeschmack der FFA wird folglich durch zwei Parameter verursacht, zum einen durch den Gehalt der jeweiligen (mehrfach) ungesättigten FFA, zum anderen durch die Emulsion, in der die FFA vorliegen, d.h. also durch die Polarität des Sojalecithins, welche diese FFA beinhaltet.

Der Bittergeschmack hydrolysierter Sojalecithine läßt sich jedoch weder durch die Entfernung der FFA durch Aceton-Entölung noch durch Fraktionierungen mit Ethanol vollständig beseitigen, sondern lediglich entscheidend vermindern, soweit es ölhaltige, hydrolysierte Lecithine betrifft.

6.3.2 Einfluß der Hydrolyse-Bedingungen

Eine signifikante Minderung des Bittergeschmacks von hydrolysierten, entölten Sojalecithinen wurde durch Änderung der Hydrolyseparameter erzielt. Durch den Einsatz eines neuartigen Phospholipase A₂-Enzyms wurden hydrolysierte Lecithine hergestellt, die in den entölten Versionen zwar vergleichbare Konzentrationen an FFA wie die herkömmlich hydrolysierten und entölten Lecithine enthielten (Tabelle 21), jedoch sehr hoch signifikant weniger bitter schmeckten (vergleiche 5.3.3 und Abb. 55).

Diese entscheidende Optimierung des Bittergeschmacks von hydrolysierten Lecithinen, die in 1%iger Lösung des Lecithins in 3,5%iger H-Milch eine Minderung der Bitterintensität auf durchschnittlich weniger als einen Skalenpunkt (erkennbarer Bittergeschmack) bewirkt (Abb. 56), hat bisher ungeklärte Ursachen. Es sind weder die im Lecithin enthaltenen FFA noch Reaktionsprodukte von CaCl₂, das dem herkömmlichen Hydrolyse-Ansatz zur Aktivitätserhöhung des Enzyms zugesetzt wird (EP PATENT 0260573A2, 1988) und im neuen Ansatz mit dem neuartigen Enzym fehlt (siehe 5.3.3.2), die diese Veränderung im Bittergeschmack bewirken.

Als Ursache dieser einschneidenden Verbesserung des Bittergeschmacks hydrolysierter Sojalecithine werden verminderte enzymatische Nebenaktivitäten des neuartigen Enzyms vermutet. Diese Möglichkeit ist durchaus wahrscheinlich, da Sojalecithine zum einen nicht unerhebliche Proteingehalte (bis 0,31%) aufweisen können (MÜLLER et al., 1998), zum anderen eine Reihe von Untersuchungen den Bittergeschmack nicht nur von L-Aminosäuren (WIESER und BELITZ, 1975) sondern auch von aus Sojaproteinen gebildeten N-terminalen hydrophoben Peptiden

bestätigen (PEDERSEN, 1994; WALTERS und ROY, 1996). So wird bspw. das Peptid Arg-Pro-Phe-Phe als 25mal stärker bitter beschrieben als Coffein (ROY, 1990).

6.3.3 Einfluß weiterer Substanzklassen

Neben den bereits beschriebenen Ursachen des Bittergeschmacks wurde als dritte, bitter schmeckende Komponente die Fraktion der flüchtigen Verbindungen nachgewiesen. Abbildung 54 zeigt die nicht unerhebliche Intensität (1,7 Skalenpunkte), mit der die flüchtigen Verbindungen des hydrolysierten Lecithins (75% HG) bitter schmecken.

Hierbei sind es u.a. heterocyclische Stickstoff-haltige Verbindungen, die für diesen Bittergeschmack der flüchtigen Fraktion verantwortlich sein können. Die Schwellenwertbestimmung des Aromastoffes 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin, die zur Ermittlung der Konzentration der retronasalen Geruchserkennung durchgeführt wurde, ergab bereits ab Konzentrationen von 1 µg DEMP/kg Öl einen wahrnehmbaren Bittergeschmack dieser Lösung. MAGA (1992) beschreibt ebenfalls DEMP mit einem neben der Geruchsnote bestehenden Bittergeschmack, der jedoch nicht weiter definiert wird. Untersuchungen von PABST et al. (1984, 1985, 1988) zeigen eine Vielzahl an Bitterstoffen auf, die z.B. durch Erhitzen von Prolin und Saccharose entstehen können und teilweise einen um bis zu Faktor 15 niedrigeren Schwellenwert als Coffein aufweisen.

Die weiteren in der Aufstellung unter 3.3.3 beschriebenen potentiellen Bitterkomponenten sind sehr wahrscheinlich für den Bittergeschmack der Sojalecithine von untergeordneter Bedeutung. Während der Einfluß oxidierter und Hydroxy-Fettsäuren (BAUR et al., 1977; BAUR und GROSCH, 1977; MOLL et al., 1979) aufgrund der hohen Schwellenwerte dieser Substanzen (vergleiche 5.3.6) zu vernachlässigen ist, wiesen PC-angereicherte Fraktionen (SESSA et al., 1974, 1976) und Glykolipid-Fractionen in den durchgeführten sensorischen Untersuchungen (5.3.6) ebenfalls keine Bedeutung für den Bittergeschmack auf.

6.4 *Schlußfolgerungen, Ausblick*

Durch die Kombination sensorischer und apparativ-analytischer Verfahren, welche in dieser Arbeit sowohl für die Untersuchungen des Geschmacks als auch des Geruchs von verschiedenen behandelten Sojalecithinen angewendet wurden, wurden die Ursachen des Flavors von Sojalecithinen in weiten Bereichen identifiziert und deren sensorische Bedeutung charakterisiert.

Hierbei werden neben der Aufklärung des Flavors eine Reihe an Möglichkeiten beschrieben, wie Geruch und Geschmack durch verschiedene Prozeßführungen der Lecithinbehandlung und -verarbeitung beeinflusst wird. Durch Veränderungen der Hydrolyseparameter in Form des Einsatzes neuartiger Enzyme können hydrolysierte Sojalecithine mit signifikant vermindertem Bittergeschmack hergestellt werden.

Speziell der Bittergeschmack von Sojalecithinen in wasserreichen, polaren Anwendungen bedarf jedoch weiterer Optimierungen, um auch in diesen Anwendungsgebieten die potentielle Ausbildung von off-Flavor zu vermeiden. Da nach der weitgehenden Aufklärung der Zusammensetzung des Flavors durch weitere „neuartige“ Prozeßänderungen keine grundlegenden Verbesserungen in den sensorischen Eigenschaften hydrolysierter Lecithine zu erwarten sind, liegen erfolgversprechende Ansatzpunkte vielmehr im Bereich der Unterdrückung und Maskierung des Bittergeschmacks. Wie bspw. durch Zugabe von Lipoproteinen (KATSURAGI und KURIHARA, 1993; EP PATENT Nr. 0631787A2, 1995) der Bittergeschmack möglicherweise unterdrückt werden kann, so ist auch ein sogenanntes „Einkapseln“ von bestimmten Lecithinstrukturen denkbar, soweit es dabei zu keiner entscheidenden Verminderung der technologischen Eigenschaften kommt.

7. Zusammenfassung

In den in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zur Entwicklung und Beeinflußbarkeit des Flavors von Sojalecithinen wurden Roh- und Standardlecithine, enzymatisch hydrolysierte sowie durch verschiedene Verfahren entölte und fraktionierte Sojalecithine eingesetzt.

Im ersten Schritt wurden diese Sojalecithine u.a. durch Profilprüfungen sensorisch charakterisiert, d.h. durch entsprechende Beschreibungen von Geruch, Mundgefühl und Geschmack kombiniert mit der Bestimmung der Intensitäten dieser Attribute in ihrer Flavorausprägung definiert. Als Hauptdeskriptoren erweisen sich die Merkmals-eigenschaften strohig, getreideartig, röstig und nussig für den Geruch sowie zusätzlich bitter, kratzig, adstringierend und metallisch für das Mundgefühl und den Geschmack von Sojalecithinen.

Im zweiten Schritt wurden die den Deskriptoren zugrunde liegenden flavorrelevanten Verbindungen durch hierfür geeignete Verfahren identifiziert, quantifiziert sowie in ihrer sensorischen Bedeutung charakterisiert.

Hinsichtlich des Aromas wurden in den untersuchten Sojalecithinen 63 geruchsaktive Verbindungen mittels GC/O, GC/MS und RI identifiziert. 55 dieser Aromastoffe wurden dabei erstmalig als Bestandteile des Sojalecithinaromas beschrieben. Durch AEVA und modifizierte CHARM-Analysen wurden diese 63 Verbindungen olfaktorisch vorcharakterisiert und 56 Aromastoffe davon mittels GC/MS quantifiziert. Über die Bestimmung von nasalen und retronasalen Aromawerten wurde die sensorische Relevanz dieser geruchsaktiven Substanzen erfaßt. Durch Kombination der 25 potentesten Aromastoffe ließ sich das Aroma der Sojalecithine in Modellsystemen vollständig simulieren. Hierbei nehmen u.a. die Substanzen 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (röstig, erdig), 2-Methylpropanal (malzig, strohig), (*Z*)-1,5-Octadien-3-on (metallisch), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (röstig, erdig), 1-Octen-3-on (pilzig) und (*E*)- β -Damascenon (apfelartig) aufgrund ihrer hohen Aromawerte eine exponierte Stellung ein.

Der Geschmack der (hydrolysierten) Lecithine ist in erster Linie durch die Merkmalseigenschaft bitter gekennzeichnet. Hauptursachen dieses Bittergeschmacks sind die ungesättigten FFA, die Fraktion der flüchtigen Verbindungen

sowie Produkte, die durch Nebenaktivitäten der zur Hydrolyse eingesetzten Enzyme entstehen. Die Bedeutung der freien Fettsäuren am Bittergeschmack wurde hierbei vollständig aufgeklärt. Freier Linol- und Linolensäure kommen speziell in ölhaltigen Lecithinen eine entscheidende Bedeutung zu. Freie Linolensäure weist mit 0,012g/100g Emulsion den niedrigsten Bitterschwellenwert aller in Sojalecithin bedeutenden FFA auf, wobei der Bittergeschmack sowohl von den FFA-Gehalten als auch von der Polarität des Lecithins abhängt.

Im dritten Schritt wurde die technologische Beeinflußbarkeit des Sojalecithin-Flavors im Hinblick auf eine generelle Minderung des Einflusses des Sojalecithin-Flavors in Anwendungen erforscht. Hierzu wurde der Einfluß verschiedener Prozeßführungen der Lecithin-Veredelung bzw. -Modifizierung (Entölung, Fraktionierung, Hydrolyse) auf Flavor-bestimmende Substanzen untersucht. Eine entscheidende Optimierung des für eine Reihe von Anwendungen limitierenden Bittergeschmacks von hydrolysierten Sojalecithinen wurde durch die Verwendung einer neuartigen, kommerziell nutzbaren Enzymlösung für die Hydrolyse erzielt. Die mit diesem neuartigen Enzym hydrolysierten und im Anschluß entölten Sojalecithine zeichnen sich durch sehr hoch signifikante Minderungen des Bittergeschmacks im Vergleich zu herkömmlich hydrolysierten, entölten Sojalecithinen aus.

7. Summary

In the present thesis the investigations of the development and manoeuvrability of the flavor of soybean lecithins were carried out by using raw, standardized, enzymatically hydrolyzed, (by different processes) deoiled, and fractionated soybean lecithins for analysis.

First, the soybean lecithins were characterized by the sensory methods profile and triangle tests. The appropriate attributes of the lecithin flavor were defined in combination with their intensities for the odor, the tactile impressions, and the taste. The following attributes are the main descriptors of the flavor of soybean lecithins: strawy, grain-like, roasty, and nutty for the odor, and additionally bitter, irritant, astringent, and metallic for the mouth feeling and the taste.

Second, the flavor-active compounds that the descriptors are based on were identified and quantified, and their sensory relevance was determined by appropriated methods.

With regard to the aroma, 63 odor-active compounds were identified in the investigated soybean lecithins by using GC/O, GC/MS and RI. Fifty-five of these odorants were described as components of the soybean lecithin aroma for the first time. By the two olfactory methods AEDA and modified CHARM all identified compounds were pre-characterized at a sniff-detector. Fifty-six potent odorants were quantified by GC/MS. By the calculation of nasal and retronasal odor activity values (OAV) the sensory relevance of each odorant was determined. A simulation of the original soybean lecithin aroma was achieved very well in model mixture experiments by the combination of the 25 most potent odorants with the highest OAVs. The following compounds showed the highest OAVs: 2,3-diethyl-5-methylpyrazine (roasty, earthy), 2-methylpropanal (malty, strawy), (*Z*)-1,5-octadien-3-one (metallic), 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine (roasty, earthy), 1-octen-3-one (mushroom-like), and (*E*)- β -damascenone (apple-like).

The essential description of (hydrolyzed) soybean lecithins regarding the taste was their bitterness. This bitterness is caused mainly by the unsaturated FFA, the fraction of volatiles, and products of side-activities of the enzymes used for hydrolysis. The sensory importance of FFA and their contribution to the bitter taste of soybean

lecithins was revealed completely. Free linoleic and linolenic acid showed the highest impact on the bitterness, especially in oil-containing lecithins. Free linolenic acid had the lowest bitter taste threshold (0.012g/100g emulsion) of all FFA of significance in soybean lecithins. In addition to the ascertainment that polyunsaturated FFA taste bitter in emulsions, it was determined that this bitterness depends on the polarity of the used lecithin, too.

Third, the technological manoeuvrability of the flavor of soybean lecithin was investigated with regard to a general reduction of the influence of its flavor in applications. For this, the influence of various processes of the lecithin refining and modification (deoiling, fractionation, hydrolysis) on the flavor was investigated. A significant optimization of the flavor of hydrolyzed lecithins was achieved by using new commercially utilizable enzyme solutions. Using these novel enzymes for hydrolysis combined with a subsequent acetone deoiling a significant minimization of the bitter taste, which is the limiting factor of many new and innovative lecithin applications, is achievable.

8. Anhang

8.1 Untersuchungsmaterial

Bei den untersuchten Sojalecithinen handelt es sich um Rohlecithine und Sojalecithinprodukte, welche von der Firma LUCAS MEYER GmbH & Co (Hamburg, Deutschland) zur Verfügung gestellt wurden.

3 Rohlecithine unterschiedlicher Lieferanten

Standardlecithin

Aceton-entöltes Standardlecithin

hydrolysiertes Lecithin (40% Hydrolysegrad)

Aceton-entöltes Lecithin (40% Hydrolysegrad)

hydrolysiertes Lecithin (75% Hydrolysegrad)

Propan-entöltes Lecithin (75% Hydrolysegrad)

Ethanol-unlösliche Fraktion des Aceton-entölten Lecithins (40% HG)

Ethanol-lösliche Fraktion des Aceton-entölten Lecithins (40% HG)

PC-angereichertes (> 90%) Produkt

PC/LPC/GPC-angereichertes (>90%) Produkt des Aceton-entölten Lecithins (40% HG)

8.2 Arbeitsmethoden, Versuchsbedingungen

8.2.1 Aufarbeitungsmethoden

8.2.1.1 Vakuumdestillation

- ca. 25 g Sojalecithin mit 60 ml Diethylether vermischen, je 0,5 ml der internen Standardlösungen zupipettieren und quantitativ in einen Dosiertrichter mit integriertem MARIOTTE'schen Rohr überführen
- Gefäß mit 15 ml Diethylether spülen und ebenfalls überführen
- Dosiertrichter auf Fallrohr der Hochvakuumdestillationsapparatur setzen, Dreihalskolben auf 30° C temperieren
- unter einem Vakuum zwischen 0,0005 und 0,001 Torr Lecithin-Ether-Lösung durch Drehen des Innenschliffs tropfenweise innerhalb von 1,5 h durch das Fallrohr in den Kolben dosieren
- Dosiertrichter mit 10 ml Diethylether nachdestillieren und Vakuumdestillation eine halbe Stunde fortsetzen
- Kondensat der Stickstoff-gekühlten Kühlfallen (siehe Abb. 31) dreimal mit je 50 ml wäßriger Natriumcarbonatlösung (0,5 mol/l) ausschütteln

-
- Etherphase anschließend dreimal mit je 15 ml gesättigter Natriumchloridlösung neutral waschen
 - Etherphasen vereinigen und durch einen hydrophobierten Faltenfilter (SCHLEICHER & SCHUELL; 597 HY ½ Faltenfilter (Ø=150mm)) trocknen (neutral/basische Fraktion)
 - vereinigte wäßrige Phasen mit Salzsäure ad pH=2 ansäuern
 - anschließend dreimal mit je 40ml Diethylether ausschütteln
 - vereinigte Etherphasen zur Trocknung durch hydrophobierten Faltenfilter filtrieren (saure Fraktion)
 - beide Aromaextrakte unter Verwendung einer Vigreuxkolonne (40×1cm) und einer Mikrodestillationsapparatur (10×0,5cm) auf etwa 0,3ml einengen
 - Extrakten je 5µl der Volumenstandards zusetzen
 - neutral/basisches und saures Aromakonzentrat jeweils zur GC einsetzen

8.2.1.2 Simultane Destillation/Extraktion

- ca. 25g Sojalecithin einwiegen, mit 300ml dest. Wasser, einem Tropfen Silikonentschäumer und Salzsäure ad pH=1 versetzen
- befüllten 500-ml-Rundkolben an die Likens-Nickersen-Apparatur anschließen
- 30ml Diethylether als organische Phase einsetzen
- Lecithin-Wasser-Matrix durch ein Ölbad, Etherphase durch ein Wasserbad zum Sieden bringen
- während der Extraktion wäßrige Phase mit einem Magnetrührer rühren
- Intensivkühler während der Extraktion mit Ethanol auf -10° C kühlen
- Etherphase analog 8.2.1.1 in neutral/basische und saure Fraktion ausschütteln und auf 0,3ml einengen

8.2.1.3 Statische Headspace

- 1,0g Sojalecithin in ein 5ml-Headspacevial einwiegen und mit einer Bördelkappe verschließen
- Vial programmgesteuert über Headspaceinjektor (HSI) auf 60° C temperieren

- durch das HSI-System vollautomatisch mit einer programmgesteuerten gasdichten 1-ml-Gasspritze dreimal je 800µl Dampfraum über dem erhitzten Sojalecithin abziehen und in das mit flüssigem Stickstoff gekühlte Glasverdampferrohr des Kaltaufgabesystems (KAS) injizieren lassen
- nach Aufheizung der im Glasverdampferrohr vorhandenen Komponenten und anschließender splitloser Überführung auf die Kapillarsäule, Trägergasstrom am Sniff-Detektor des GC olfaktometrisch untersuchen

8.2.1.4 Externe Dynamische Headspace

- 10,0g Sojalecithin in ein Purgegefäß (doppelwandiges temperierbares 200ml-Gefäß mit zwei Öffnungen: eine zum Einleiten des Inertgases Stickstoff, die zweite zum Ableiten des Gasstromes durch ein Tenax[®]-Röhrchen) einwiegen
- Purgegefäß mit Inertgas-Zufuhr und Tenax[®]-Röhrchen versehen und auf 40° C temperieren
- Outflow am freien Ende des Tenax[®]-Röhrchens auf 15ml/min einstellen
- insgesamt 500ml Gasvolumen durch das Tenax[®]-Röhrchen fließen lassen
- an das Tenax[®]-Röhrchen adsorbierte Aromastoffe mittels Thermodesorptions-system (TDS) über ein Kaltaufgabesystem (KAS) auf die Kapillarsäule eines GC bringen und analysieren

8.2.1.5 Isolierung und Derivatisierung der freien Fettsäuren

Herstellung der Lecithinlösungen für die SPE

Ca. 820mg Sojalecithin (8.1) in einen 10ml-Meßkolben genau einwiegen, in Chloroform lösen und bis zur Eichmarke auffüllen.

Festphasenextraktion der Sojalecithine

- Konditionierung der Aminopropylfestphasen mit 3ml n-Hexan
- Aufgabe von 300µl der Lecithinlösung (ca. 25mg Lecithin) auf die Festphase
- Elution der Mono-, Di- und Triacylglycerine (Fraktion 1) mit 4ml Chloroform/-Isopropanol (2:1; v/v)
- Elution der FFA mit 4ml Diethylether/Eisessig (98:2; v/v)
- Elution der Phospholipide mit 4ml Methanol

Derivatisierung der Freien Fettsäuren zu FSME

- Quantitatives Überführen der SPE-Fraktion 2 in ein Pyrexglas
- Einengen der Lösung unter Stickstoff bis zur Trockne
- Zugabe von 1,5ml Bortrifluorid-Methanol-Komplex-Lösung
- Lösung im gasdicht verschlossenen Pyrexglas unter Stickstoff bei 90° C im Ölbad 13 min erhitzen, in kaltem Wasser abkühlen
- Zugabe von 1ml n-Hexan und 2ml dest. Wasser
- Zugabe von 0,5ml interner Standardlösung (= 239,8µg C₁₇-ME) in n-Hexan
- Extraktion der FSME in n-Hexanphase durch 10minütiges Ausschütteln
- Gaschromatographische Bestimmung der FSME aus der Hexan-Phase

8.2.1.5.1 Überprüfung der FFA-Bestimmung**Prüfung der Fraktionen der Festphasenextraktion mittels HPTLC**

Die vollständige Trennung durch SPE (8.2.1.5) in freie Fettsäuren, Mono-, Di- und Triacylglycerine sowie in Phospholipide wurde dünnschichtchromatographisch bestätigt (HPTLC-Bedingungen siehe 8.5.7, Laufmittel A).

Prüfung der SPE-Fraktion 2 (FFA) mittels HPLC/ELSD

Die Fraktion 2 der SPE wurde neben der DC mittels HPLC/ELSD auf Reinheit überprüft. Dazu wurde das Eluat der FFA-Fraktion (4ml Diethylether/Eisessig) unter Stickstoffstrom bis zur Trockne eingengt und in 1ml Dichlormethan/Methanol (1:1, v/v) gelöst. Bezogen auf die Gesamtarea des Chromatogramms ergibt sich eine Reinheit der Fraktion größer 98% (HPLC-Bedingungen siehe 8.5.8).

Prüfung der Derivatisierung der FFA zu FSME

Die quantitative Derivatisierung der freien Fettsäuren durch Bortrifluorid-Methanol-komplex-Lösung zu FSME wurde mittels HPTLC (Bedingungen siehe 8.5.7, Laufmittel A) und durch GC/FID über die Ermittlung der Wiederfindungsrate überprüft. Dazu wurden 0,5ml einer Ölsäurestandardlösung (11,1mg/10ml Hexan) nach 8.2.1.5 verestert (Doppelbestimmung).

Überprüfung der Gesamtmethode der FFA-Bestimmung

Zur Herstellung des Modellsystems wurde das entölte Standardlecithin nochmals (nach 8.2.1.8) kalt entölt und als neutrallipid- und fettsäurefreie Phospholipid-

Leermatrix mit Standardsubstanzen dotiert. Der FFA-Restgehalt der entölten Matrix wurde nach 8.2.1.5 bestimmt und lag bei <1,5% bezogen auf die zudotierten Fettsäuren. Das Modellsystem wurde mit Chloroform auf 2ml aufgefüllt.

Modellsystem		Restfettsäuregehalt der Leermatrix
entöltes Standard-Lecithin (doppelt entölt)	69,3mg	
Ölsäure	8,6mg	0,020mg
Linolsäure	7,1mg	0,091mg
Linolensäure	15,2mg	0,013mg
Triacylglycerin	87,4mg	
Diacylglycerin	3,2mg	
Monoacylglycerin	10,6mg	
Σ	201,4mg	

8.2.1.6 HPLC-ELSD-Trennung

Zur Identifizierung der Inhaltsstoffe aus den Sojalecithinen und zur Überprüfung der Reinheit der SPE-Fractionen wurden 60mg der Lecithine in 10ml Dichlormethan gelöst und mittels HPLC-ELSD (8.5.8) detektiert und fraktioniert. Die einzelnen Fraktionen wurden mit Hilfe eines Fraktionssammlers aufgefangen und dünnschichtchromatographisch untersucht.

8.2.1.7 HPTLC-Trennung

Die Trennung einzelner Phospholipid-Fractionen, von FFA sowie Neutrallipiden erfolgte dünnschichtchromatographisch mittels der unter 8.5.7 beschriebenen Bedingungen.

8.2.1.8 Doppelte Lecithin-Entölung

Um eine FFA-arme Phospholipidleermatrix zu erhalten, wurden die entölten kommerziellen Lecithine (40% und 75% HG) einer weiteren, manuellen Entölung mit frisch destilliertem, kaltem Aceton unterzogen. So wurden doppelt entölte Lecithinprodukte erhalten.

Auf die Möglichkeit der Soxhlett-Extraktion wurde verzichtet, da es durch die Behandlung der Lecithine mit erhitztem Aceton zu einer Intensivierung des nussigen

Geschmacks kommt, was u.a. auf die Bildung der Acetonkondensationsprodukte Mesityloxid und Isophoron zurückzuführen ist.

Durchführung

- Einwiegen von 10g der Lecithinprodukte in einen 50ml-Schüttelzylinder
- Extraktion mit jeweils 25ml dest. Aceton durch zweiminütiges Ausschütteln bis der Aceton-Überstand klar und ungefärbt ist (i.d.R. 8×)
- jeweiliges Abziehen der überstehenden Acetonlösung
- Trocknen des Lecithinrückstands unter Stickstoffstrom
- Mörsern des Lecithinrückstands zu feinem Pulver
- zweistündiges Trocknen des doppelt entölten Lecithins im Exsikkator

8.2.1.9 Säurezahl der Aceton-löslichen Lecithin-Phase

U.a. um die nach 8.2.1.5 erhaltenen Ergebnisse der FFA-Gehalte zu prüfen, wurde die Säurezahl (SZ) aus der nach 8.2.1.8 erhaltenen Acetonextraktionslösung bestimmt. Aus der SZ der Acetonphase kann hierbei der Gesamtgehalt an FFA ermittelt werden. Dazu wird die Acetonphase im 200ml-Meßkolben mit dest. Aceton bis zur Eichmarke aufgefüllt, und ein definiertes Volumen dieser Lösung mit 0,1N Kaliumhydroxidlösung titriert. Als Indikator dient ethanolische Phenolphthalein-Lösung.

8.2.2 Sensorische Analysen

Herstellung der Lecithin-Lösungen

- Einwaage von 10,0g Lecithin in eine 1L-Flasche mit Schraubverschluß
- Auffüllen mit 3,5%iger H-Vollmilch auf 500g Gesamtgewicht 2h vor der Verkostung
- manuelles Schütteln der Flaschen (30s)
- Quellen des Lecithins unter Lichtausschluß (90min), Auffüllen ad 1000g
- Homogenisierung mittels Ultra-Turrax bei 7000U/min (30s)
- Abfüllen der Lösungen (jeweils 15ml) in 20ml-Probenbecher direkt vor der Verkostung

Herstellung von Lecithin-Modellen in 3,5%iger H-Milch für Untersuchungen zum Bittergeschmack

Die Herstellung der Lösungen erfolgte analog der Herstellung der Lecithin-Lösungen. Zusätzlich wurden jedoch Fettsäuren und Sojaöl zudosiert.

a) Nachbau des Lecithins mit 40% Hydrolysegrad

doppelt entöltes Lecithin (40% HG)	2866,3mg	57,34%
Sojaöl	1696,9mg	33,95%
C _{18:0}	7,7mg	0,15%
C _{18:1ω9}	36,1mg	0,72%
C _{18:2ω6}	345,0mg	6,90%
C _{18:3ω3}	46,6mg	0,93%
Summe	4998,6mg	

b) Nachbau des entölten Lecithins mit 75% Hydrolysegrad

doppelt entöltes Lecithin (75% HG)	4333,1mg	86,12%
Sojaöl	379,0mg	7,53%
C _{18:0}	8,0mg	0,16%
C _{18:1ω9}	31,1mg	0,62%
C _{18:2ω6}	245,3mg	4,88%
C _{18:3ω3}	34,9mg	0,69%
Summe	5031,4mg	

Herstellung eines Aromastoff-Modells für Sojalecithine

Es wurde folgender Nachbau des Aromas vom Lecithin mit 40% HG hergestellt:

Aromastoff	[μ g]
2-Methylpropanal	209
3-Methylbutanal	42
2-Methylbutanal	425
Hexanal	360
(E)-2-Nonenal	16
(E,E)-2,4-Decadienal	15
(E)-4,5-Epoxy-(E)-decenal	3
2-Heptanon	3280
1-Octen-3-on	9
1-Nonen-3-on	3
(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,8
3-Methyl-2,4-nonandion	20
(E)- β -Damascenon	41
2-Acetylpyrazin	34
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	59
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	53
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	54
2-Pentylpyridin	64
1-Octen-3-ol	874
γ -Nonalacton	1090
Essigsäure	51200
Buttersäure	1000
3-Methylbuttersäure	377
Valeriansäure	2100
geruchsneutrales Pflanzenöl	ad 1000g

8.2.2.1 Profilprüfung

Zur Profilprüfung wurden die Sojalecithine direkt sowie als Lösung nach 8.2.2 eingesetzt. Abbildung 57 zeigt das entwickelte Formblatt für Profilprüfungen.

Profilprüfung Sojalecithine		
Prüfgut:		
Name des Prüfers:		
Platznr.:		
Datum:		
Die vor Ihnen stehenden Original-Proben sollen nach dem vorliegenden Formblatt nach Geruch, die in Milch verdünnten Proben nach Mundgefühl/Textur und Geschmack entsprechend der vorgegebenen Attribute beurteilt werden. Den einzelnen Attributen soll ein Wert auf der Intensitätsskala von 0 bis 5 zugeordnet werden. 0 = nicht vorhanden 1 = schwach erkennbar 2 = erkennbar 3 = gut erkennbar 4 = sehr gut erkennbar 5 = dominierend		
Geruch	Mundgefühl/Textur	Geschmack
bohnen-artig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	Nach-geschmack ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	bitter ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
nussig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	adstrin-gierend ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	nussig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
frisch/grün ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	klebrig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	fettig, ölig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
Popcorn ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	belegt d. Zunge ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	frisch/grün ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
röstig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	kratzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	me-tallisch ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
fettig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	pappig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
Getreide ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		pilzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
Stroh/Heu ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		malzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
erdig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		Getreide ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
ranzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		ranzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
stechend ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		röstig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
fischig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		erdig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5		süß ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
		sauer ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5
		salzig ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5

Abb.57: Formblatt für Profilprüfungen von Sojalecithinen

8.2.2.2 Erweiterte Dreiecksprüfung

Dem Panel wurden bei der erweiterten Dreiecksprüfung stets drei Dreiecke mit je drei codierten Prüfproben vorgesetzt. Aus der Darreichungsform waren Probeninhalte nicht ersichtlich. Als Proben wurden u.a. nach 8.2.2 hergestellte Lecithin-Lösungen sowie nach 8.2.2.3.2 hergestellte Aromastoff-Lösungen eingesetzt. Abbildung 58 zeigt das entwickelte Formblatt für erweiterte Dreiecksprüfungen.

Erweiterte Dreiecksprüfung (Forced Choice)				
Prüfgut:				
Prüfmerkmal:				
Datum:				
Prüfperson:				
Platz-Nr.:				
Jeder Prüfer bekommt jeweils 3 codierte Proben, von denen 2 gleich sind und eine verschieden. Die Anordnung und Codierung ist bei jedem Prüfer verschieden. Die Proben werden von links nach rechts verkostet. Rückkosten ist erlaubt. Es sollen folgende Fragen beantwortet werden: Prüffragen: 1. Welches ist die abweichende Probe ? Sie müssen sich für eine Probe entscheiden ! 2. Welche Probe wird bevorzugt ? 3. Warum wird bevorzugt ? 4. Wie groß ist der Unterschied zwischen Einzel- und Doppelprobe ?				
Nummern der 3 Proben in vorliegender Reihenfolge	Nummer der abweichenden Probe	Bevorzugung Einzelprobe E oder Doppelprobe D	Beschreibung der Merkmals- eigenschaften d. Bevorzugung	Intensität des Unterschiedes bitte ankreuzen
... ..	...	...		☐ keinen ☐ sehr schwach ☐ schwach ☐ mittel ☐ stark ☐ sehr stark
... ..	...	...		☐ keinen ☐ sehr schwach ☐ schwach ☐ mittel ☐ stark ☐ sehr stark
... ..	...	...		☐ keinen ☐ sehr schwach ☐ schwach ☐ mittel ☐ stark ☐ sehr stark

Abb.58: Formblatt für erweiterte Dreiecksprüfungen von Sojalecithinen

8.2.2.3 Schwellenwertprüfung

8.2.2.3.1 Bestimmung von Geschmacksschwellen

Herstellung der FFA-Lösungen

Die freien Fettsäurelösungen zur sensorischen Verkostung wurden aus schutzgasverpackten FFA-Ampullen (Fa. SIGMA-ALDRICH, Deisenhofen, Deutschland) der jeweiligen Fettsäure hergestellt (Lagerung bei -20° C). Die Reinheit der jeweiligen FFA betrug hierbei mehr als 99,9%.

- Herstellung der höchstkonzentrierten Fettsäurelösung als Stammlösung 1h vor der Verkostung mit 3,5%iger H-Milch
- Homogenisierung der Lösung durch 60s Ultra-Turrax bei 7000 U/min
- Herstellung der entsprechenden Verdünnungen aus der Stammlösung in 100ml-Braunglasflaschen, Homogenisierung durch 1minütiges Schütteln
- Aufbewahrung der Fettsäurelösungen unter Lichtausschluß
- Abfüllen der Lösungen (jeweils 5ml) in 20ml-Einweg-Kunststoff-Probenbecher direkt vor der Verkostung

Formblatt

Abbildung 59 zeigt das vom Prüfer auszufüllende Formblatt der Schwellenwertprüfung des Bittergeschmacks.

Schwellenwertprüfung			
Prüfgut:	FFA in Milch		
Name des Prüfers:			
Platznr.:			
Datum:			
Die vor Ihnen stehenden Proben werden von links nach rechts auf Bittergeschmack untersucht. Hierzu wird die Probe vollständig verkostet. Dem Bittergeschmack wird ein Wert auf der Intensitätsskala von 0 bis 5 zugeordnet. 0 = nicht vorhanden 1 = schwach erkennbar 2 = erkennbar 3 = gut erkennbar 4 = sehr gut erkennbar 5 = dominierend Des weiteren wird bei jeder Probe der Nach- oder Beigeschmack beschrieben. Attribute für diese Beschreibung sind z.B.: brennend stechend kratzig metallisch walnußartig Weitere Beschreibungen sind möglich!			
Probennummer	Bittergeschmack		Beschreibung Bei-/ Nachgeschmack
	Ja (+) / Nein (-)	Intensität	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	

Abb.59: Formblatt zur Schwellenwertprüfung Bittergeschmack

8.2.2.3.2 Bestimmung von nasalen und retronasalen Geruchsschwellen

Herstellung der Aromastoff-Lösungen

- Herstellung der höchstkonzentrierten Aromastoff-Lösung als Stammlösung in geruchsneutralem, raffiniertem Pflanzenöl unter Verwendung von 100µl Ethanol als Lösungsvermittler
- Homogenisierung der Lösung durch Magnetrührer, 30min bei 500 U/min

- Vorverkosten von 1:10 Verdünnungsstufen der Stammlösung von 5 Prüfern in einer Reihe aufsteigender Konzentrationen (nasal und retronasal)
- Ermittlung des Konzentrationsbereiches für die Hauptverkostung
- Herstellen der entsprechenden 1:1 Verdünnungen aus der Stammlösung in 100ml-Braunglasflaschen, Homogenisierung durch 1minütiges Schütteln
- Abfüllen der Lösungen (jeweils 5ml) in verschließbare 10ml-Braunglasflaschen
- Nasale Schwellenprüfung von 5 Aromastofflösungen in aufsteigender Konzentration gegen die Blindprobe
- Retronasale Schwellenprüfung von 5 Aromastofflösungen in aufsteigender Konzentration gegen die Blindprobe
- Beispielhafte Überprüfung der ermittelten Schwellenwerte durch erweiterte Dreiecksprüfungen (8.2.2.2)

Formblatt

<u>Schwellenwertprüfung nasaler Geruch</u>			
Prüfgut:	Aromastoff in Öl		
Name des Prüfers:			
Platznr.:			
Datum:			
Die vor Ihnen stehenden Proben werden von links nach rechts auf Auftreten eines von der Blindprobe abweichenden Geruchs untersucht. Hierzu wird das Probenfläschchen geöffnet und direkt an der Öffnung der Flasche abgerochen. Tritt ein Geruch abweichend der Blindprobe auf, so wird dieser beschrieben. Wechselt der Geruch, wird dieser erneut beschrieben. Dem Geruch wird ein Wert auf der Intensitätsskala von 0 bis 5 zugeordnet.			
	0	=	nicht vorhanden
	1	=	schwach erkennbar
	2	=	erkennbar
	3	=	gut erkennbar
	4	=	sehr gut erkennbar
	5	=	dominierend
Probennummer	Nasaler Geruch		Beschreibung
	Ja (+) / Nein (-)	Intensität	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	
		☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ 0 1 2 3 4 5	

Abb.60: Formblatt zur nasalen Schwellenwertprüfung von Aromastoffen

8.2.2.4 AEVA

Die AEVA des neutral/basischen Aromakonzentrates wurde von zwei produktgeschulten und mit der GC/O vertrauten Prüfern an je zwei verschiedenen Kapillarsäulen (BGB-1701 und BGB-FFAP) durchgeführt. Die AEVA des sauren Aromakonzentrates wurde von den beiden Prüfpersonen an der BGB-FFAP-Säule durchgeführt:

- Durch Verdünnen des Aromakonzentrats Konzentrationsreihen von 2^0 bis 2^{-14} erstellen
- Aromakonzentrat olfaktorisch am sniff-Detektor untersuchen
- sämtliche Verdünnungsstufen in zufälliger und der Prüfperson unbekannter Reihenfolge abriechen
- jeweils Geruch und Retentionszeit der Substanzen notieren, die bei der jeweiligen Verdünnungsstufe olfaktorisch wahrgenommen werden
- Verfahren bis zu einer Verdünnungsstufe bemessen, bei der kein Aromastoff mehr olfaktorisch wahrgenommen werden kann
- Verdünnungsstufe, bei der der jeweilige Aromastoff zuletzt am sniff-Detektor wahrgenommen wurde, als dessen Flavor-Dilution-Faktor (FD-Faktor) notieren
- Ergebnisse der AEVA als Diagramm darstellen, in dem der FD-Faktor über den Retentionsindex aufgetragen wird (FD-Diagramm, siehe 5.2.4.1)

8.2.2.5 Modifizierte CHARM-Analyse

a.) modifizierte CHARM-Analyse des neutral/basischen Aromaextraktes

Die modifizierte CHARM-Analyse wurde von einem Panel, bestehend aus acht sensorisch geschulten Prüfern, an einer BGB-1701-Säule durchgeführt:

- Aromakonzentrat sowie drei Verdünnungsstufen (1:10; 1:100; 1:1000) mittels GC/O untersuchen
- bei Wahrnehmung eines Aromastoffes ein Signal durch Drücken eines Tasters erzeugen und Taster so lange gedrückt halten, wie der Geruch wahrnehmbar ist
- Beschreibung des wahrgenommenen Geruchs vornehmen; hierbei steht folgende Tafel mit Geruchsbeschreibungen, die während der Identifikationsphase der Aromastoffe ermittelt wurden, als Orientierungshilfe zur Verfügung:

Tabelle 22: Orientierungstafel mit Attributen für die modifizierte CHARM-Analyse

röstig	fettig	fruchtig	stinkig	blumig	Gemüse
erdig	strohig	grün	schweflig	Geranie	pilzig
Popcorn	pappig	Eisbonbon	fischig	metallisch	Gurke
schweißig	Karton	Apfelsine	käsigt	Holunder	Kartoffel
Erbse	Schokolade	Honig	Urin	Anis	Liebstockel
Paprika	Butter	Apfel	brenzlich	Lakritz	
	Fritierfett	Kokos	essigsauer		

b.) modifizierte CHARM-Analyse des sauren Aromaextraktes

Die Durchführung der modifizierten CHARM-Analyse des sauren Extraktes unterschied sich lediglich darin von a.), daß neben dem Aromakonzentrat eine 1:10 und eine 1:100 Verdünnung ausschließlich an einer DB-WAX-Säule abgerochen wurden.

8.3 Standardzusammensetzungen

8.3.1 Aromastoffquantifizierung

8.3.1.1 Volumenstandardsubstanzen

Um schwankende Volumina der Aromakonzentrate bei der Quantifizierung zu berücksichtigen, wurden den Konzentraten zwei Volumenstandards folgender Konzentration zugesetzt:

Tabelle 23: Konzentrationen der Volumenstandards

Standardsubstanz	Standard ad 50 ml Diethylether [mg]	Standardkonzentration [µg / 5 µl]
n-Decan	64,2	6,42
BHT *	61,7	6,17

* diente zudem zur Stabilisierung des Konzentrates

Den Extrakten aus 8.2.1.1 wurden je 5 µl der Volumenstandards zugesetzt.

8.3.1.2 Interne Standard-Lösungen

Tabelle 24: Interne Standard-Lösungen

Standardsubstanz	Standard ad 50 ml Diethylether [mg]	Standardkonzentration [µg / 0,5 ml]
5-Methyl-2-hexanon	2,90	29,0
2-Ethylpyrazin	2,42	24,2
p-Anisaldehyd	2,02	20,2
Isobuttersäure	2,49	24,9

Jeweils 0,5 ml der internen Standards wurden vor der Vakuumdestillation nach 8.2.1.1 der Lecithin-Diethylether-Mischung zugesetzt.

8.3.1.3 Externe Kalibrierstandard-Lösungen

a) Aldehyde-Stammlösung

Tabelle 25: Zusammensetzung der Stammlösung der Aldehyde

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
1	2-Methylpropanal	114,7
3	3-Methylbutanal	93,2
4	2-Methylbutanal	115,7
7	Hexanal	94,6
11	Heptanal	109,6
21	Octanal	101,4
31	Nonanal	92,3
20	Benzaldehyd	102,2
30	Phenylacetaldehyd	87,1
12	(Z)-4-Heptenal	110,2
29	(E)-2-Octenal	116,0
40	(E)-2-Nonenal	92,4
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	106,2
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	103,6
49	(E,E)-2,4-Decadienal	101,1
IS	5-Methyl-2-hexanon	107,9
IS	p-Anisaldehyd	91,9

b) Ketone-Stammlösung

Tabelle 26: Zusammensetzung der Stammlösung der Ketone

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
2	2,3-Butandion	102,6
5	2,3-Pentandion	92,1
10	2-Heptanon	108,6
16	1-Octen-3-on	104,9
23	3-Octen-2-on	93,5
27	1-Nonen-3-on	91,0
37	3-Nonen-2-on	92,5
51	(E)- β -Damascenon	106,4
IS	5-Methyl-2-hexanon	90,3
IS	p-Anisaldehyd	93,0

c) N-haltige Substanzen-StammlösungTabelle 27: Zusammensetzung der Stammlösung der N-haltigen Substanzen

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
9	2-Methylpyrazin	96,1
22	2-Acetylpyrazin	106,4
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	95,2
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	110,9
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	103,9
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	99,8
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	108,3
43	2-Pentylpyridin	106,6
IS	2-Ethylpyrazin	108,7

d) Alkohole, Lactone, Furane-StammlösungTabelle 28: Zusammensetzung der Stammlösung der Alkohole, Lactone, Furane

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
17	1-Octen-3-ol	94,5
28	1-Nonen-3-ol	99,1
39	2-Phenylethanol	113,3
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	109,8
15	2-Pentylfuran	98,4
50	γ -Octalacton	101,5
53	γ -Nonalacton	111,5
54	γ -Decalacton	107,4
IS	5-Methyl-2-hexanon	106,5
IS	p-Anisaldehyd	112,8

e) S-haltige Substanzen-StammlösungTabelle 29: Zusammensetzung der Stammlösung der S-haltigen Substanzen

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
6	Dimethyldisulfid	93,1
13	Diethyldisulfid	106,4
IS	5-Methyl-2-hexanon	95,8

f) Säuren-StammlösungTabelle 30: Zusammensetzung der Stammlösung der flüchtigen Säuren

lfd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
A	Essigsäure	100,8
B	Propionsäure	91,0
C	Buttersäure	108,1
D	3-Methylbuttersäure	109,2
E	2-Methylbuttersäure	103,4
F	Valeriansäure	97,4
G	Crotonsäure	97,7
H	Hexansäure	107,2
IS	Isobuttersäure	106,7

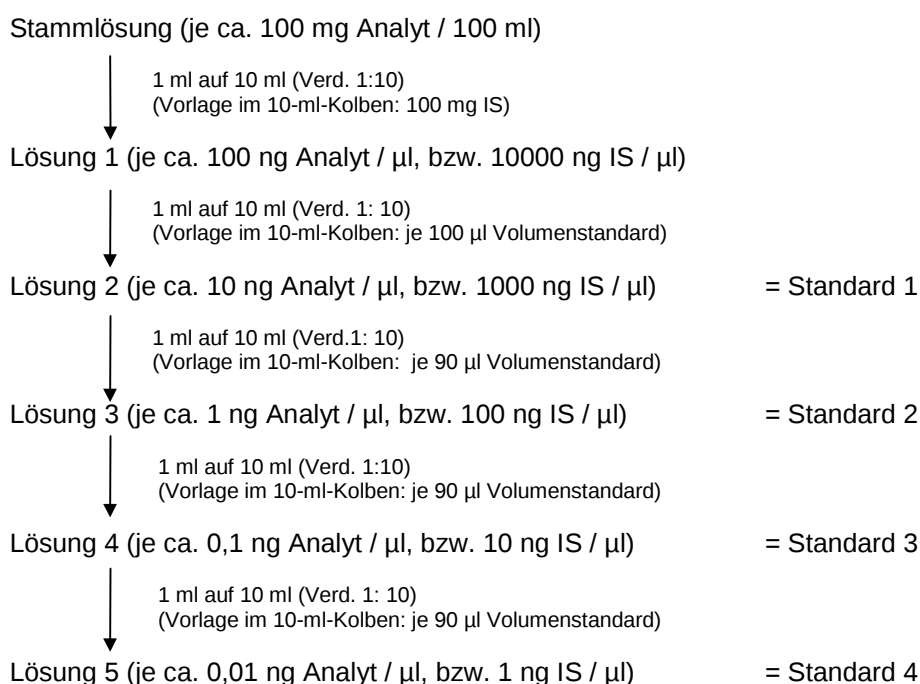
g) Acetonkondensationsprodukte-StammlösungTabelle 31: Zusammensetzung der Stammlösung der Acetonkondensationsprodukte

Ifd. Nr.	Verbindung	Einwaage [mg/100ml]
8	Mesityloxid	115,1
44	Isophoron	107,6
IS	5-Methyl-2-hexanon	99,2

h) Stammlösung weiterer SubstanzenTabelle 32: Zusammensetzung der Stammlösung von Substanzen, die nicht als Reinsubstanz, sondern als Lösung in Diethylether bzw. n-Pentan in unterschiedlichen Konzentrationen vorlagen

Ifd. Nr.	Verbindung	Einwaage [$\mu\text{g/ml}$]
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	2,8
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	4,0
46	3-Methyl-2,4-nonandion	6,6
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	1,6
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	9,9
IS	5-Methyl-2-hexanon	1026
IS	p-Anisaldehyd	1002

Von der jeweiligen Stammlösung wurden gemäß des folgenden Pipettierschemas vier bis fünf Standardlösungen mit Aromastoff-Gehalten von je etwa 0,01 bis 10 ng/ μl hergestellt. Der interne Standard wurde, da er in einer um Faktor 100 größeren Konzentration vorliegen sollte, dem ersten Verdünnungsschritt zugegeben.



Aufgrund hoher Gehalte wurden die Konzentrationen der Standardlösungen flüchtiger Säuren um den Faktor 100 höher gewählt. Je 10ml aller Standardlösungen enthielten jeweils 100µl der Volumenstandards.

8.3.2 SDE-Standards und Modellmatrix

SDE-Standards und Modellmatrix wurden zur Bestimmung der Wiederfindungsrate bei der Isolierung von Aromastoffen mittels SDE verwendet.

Die Modellmatrix setzte sich wie folgt zusammen:

- 25g reines Pflanzenfett, z.T. gehärtet
- 300 ml dest. Wasser
- je 0,5ml der in der Tabelle 33 aufgeführten Standardlösungen

Tabelle 33: Standards zur Ermittlung der Abhängigkeit der Wiederfindungsrate von der Dauer der Extraktion (SDE)

Standardsubstanz	Standard ad 100 ml Diethylether [mg]	Standardkonzentration [µg / 0,5 ml]
Standard 1		
2-Ethylpyrazin	112,4	562,0
2-Ethyl-3-methylpyrazin	91,7	458,5
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	99,0	495,0
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	107,7	538,5
2-Acetylpyrazin	98,2	491,0
Standard 2		
3-Methylbutanal	96,5	482,5
2,3-Butandion	98,1	490,5
Hexanal	98,2	491,0
Octanal	108,9	544,5
(E)-2-Nonenal	95,9	479,5
(E,Z)-2,6-Nonadienal	101,4	507,0
(E,E)-2,4-Decadienal	99,3	496,5
(E)-β-Damascenon	110,8	554,0
Standard 3		
Buttersäure	110,6	553,0
3-Methylbuttersäure	101,6	508,0
Valeriansäure	107,1	535,5

8.3.3 Bestimmung der Geschmacksstoffe

8.3.3.1 Phospholipidstandardsubstanzen

Die Phospholipidstandardsubstanzen wurden von der Firma SIGMA-ALDRICH (Deisenhofen, Deutschland) bezogen.

Glycerophosphatidylcholin	GPC
Glycerophosphatidylethanolamin	GPE
β -Lysophosphatidylcholin	LPC
β -Lysophosphatidylethanolamin	LPE
L- α -Lysophosphatidylinosit	LPI
L- α -Lysophosphatidsäure	LPA-C _{18:1ω9}
Phosphatidylcholin	PC
Phosphatidylethanolamin	PE
Phosphatidylglycerol	PG
Phosphatidylinosit	PI
L- α -Phosphatidsäure	PA
N-Acyl-Phosphatidylethanolamin	APE

8.3.3.2 Fettsäure- und Neutrallipid-Standardsubstanzen

Die Fettsäure- und Neutrallipid-Standardsubstanzen wurden von der Firma SIGMA-ALDRICH (Deisenhofen, Deutschland) bezogen.

Palmitinsäure	C _{16:0}
Stearinsäure	C _{18:0}
Ölsäure	C _{18:1ω9}
cis-Vaccensäure	C _{18:1ω7}
Linolsäure	C _{18:2ω6}
Linolensäure	C _{18:3ω3}
Trilinolein (C _{18:2ω6})	Triacylglycerin
1,3-Dilinolein (C _{18:2ω6})	Diacylglycerin
1-Monolinolen-Glycerid (C _{18:3ω3})	Monoacylglycerin

8.3.3.3 FSME-Standardgemisch

Sämtliche verwendeten FSME-Standardsubstanzen wurden von der Firma SIGMA-ALDRICH (Deisenhofen, Deutschland) bezogen. Zur Identifizierung der FSME und Bestimmung der Korrekturfaktoren für die Quantifizierung wurde folgendes Standardgemisch hergestellt:

Palmitinsäuremethylester	C _{16:0} -ME	5,26mg
Margarinsäuremethylester	C _{17:0} -ME	10,61mg
Stearinsäuremethylester	C _{18:0} -ME	11,81mg
cis-Vaccensäuremethylester	C _{18:1ω7} -ME	10,38mg
Ölsäuremethylester	C _{18:1ω9} -ME	33,95mg
Linolsäuremethylester	C _{18:2ω6} -ME	20,24mg
Linolensäuremethylester	C _{18:3ω3} -ME	26,09mg

Das FSME-Standardgemisch wurde mit 30,1mg BHT versetzt und mit n-Hexan auf 50ml aufgefüllt. Diese Lösung wurde zur Messung unverdünnt eingesetzt.

8.4 Berechnungen und statistische Auswertungen

8.4.1 Retentionsindex

Der Retentionsindex (RI) berechnet sich nach dem Retentionsindexsystem von VAN DEN DOOL und KRATZ (1963) wie folgt:

$$RI = 100 \times n + 100 \times \frac{t_{(A)} - t_{(n)}}{t_{(n+1)} - t_{(n)}}$$

mit:

- n = Anzahl der C-Atome des letzten n-Alkans vor der unbekannten Substanz
- t_(A) = Retentionszeit der unbekannten Substanz
- t_(n) = Retentionszeit des letzten n-Alkans vor der unbekannten Substanz
- t_(n+1) = Retentionszeit des nächsten n-Alkans nach der unbekannten Substanz

Der n-Alkane-Standard enthielt je 100ng/μl von C₇ (Heptan) bis C₂₁ (Heneicosan).

8.4.2 Ermittlung der CHARM-Werte

Die Anzahl der Prüfer, die den jeweiligen Aromastoff wahrgenommen und eine gleichartige Geruchsbeschreibung vorgenommen haben, die Verdünnungsstufe, bei der der Geruch noch erkannt wurde sowie die Dauer der Signale gehen in die Gewichtung der Aromastoffe ein.

Für die Wahrnehmungsdauer und somit für die Breite der durch den Taster erzeugten Signale wurden folgende Faktoren festgesetzt, die in die Berechnung der CHARM-Werte eingehen:

Signalbreite > 0 bis 3 mm	⇒ Faktor 1
Signalbreite > 3 bis 6 mm	⇒ Faktor 2
Signalbreite > 6 bis 10 mm	⇒ Faktor 3
Signalbreite > 10 mm	⇒ Faktor 4

Am Beispiel des Aromastoffs 1-Octen-3-on wird gezeigt, wie die CHARM-Werte ermittelt wurden. Es sind für alle Prüfer die jeweiligen Signalbreiten in mm und die sich daraus ergebenden Faktoren angegeben.

Prüfer	Verdünnungsstufe			
	unverdünnt	1:10	1: 100	1: 1000
Prüfer 1	7 mm $\Rightarrow$ 3	5 mm $\Rightarrow$ 2	---	---
Prüfer 2	3 mm $\Rightarrow$ 1	3 mm $\Rightarrow$ 1	1 mm $\Rightarrow$ 1	---
Prüfer 3	4 mm $\Rightarrow$ 2	2 mm $\Rightarrow$ 1	1 mm $\Rightarrow$ 1	---
Prüfer 4	3 mm $\Rightarrow$ 1	3 mm $\Rightarrow$ 1	2 mm $\Rightarrow$ 1	---
Prüfer 5	10 mm $\Rightarrow$ 3	6 mm $\Rightarrow$ 2	2 mm $\Rightarrow$ 1	---
Prüfer 6	5 mm $\Rightarrow$ 2	2 mm $\Rightarrow$ 1	2 mm $\Rightarrow$ 1	---
Prüfer 7	4 mm $\Rightarrow$ 2	3 mm $\Rightarrow$ 1	---	---
Prüfer 8	8 mm $\Rightarrow$ 3	8 mm $\Rightarrow$ 3	---	---

$$(17 \times 1) + (12 \times 10) + (5 \times 100) + (0 \times 1000)$$

$$\Rightarrow \text{CHARM-Wert} = \underline{637}$$

CHARM-Werte wurden nur für die Substanzen ermittelt, bei denen mindestens 3 Prüfer den Geruch beim Abriechen des unverdünnten Konzentrates gleichartig beschrieben haben.

8.4.3 Berechnungen zur Quantifizierung der Aromastoffe

8.4.3.1 Berechnung der Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsraten der internen Standards berechnen sich wie folgt:

$$\text{Wf [\%]} = \frac{C_K [\text{ng}/\mu\text{l}] \times V [\mu\text{l}] \times 100 [\%]}{m_{\text{IS}} [\mu\text{g}] \times 1000}$$

mit:

$C_K [\text{ng}/\mu\text{l}]$	=	aus der Kalibrierfunktion ermittelter IS-Gehalt in der Probe
$m_{\text{IS}} [\mu\text{g}]$	=	Masse des eingesetzten internen Standards in μg
$V [\mu\text{l}]$	=	Volumen des Aromastoffkonzentrates (300 μl)
1000	=	Umrechnungsfaktor der Standardkonzentration von μg auf ng

Einberechnung des Volumenstandards:

Die Auswertung der MS-Daten erfolgte über extern erstellte Kalibriergraden und berücksichtigte in den ermittelten Gehalten jeweils das Volumen des Aromastoffkonzentrates durch Verwendung der Volumenstandard-Substanzen als interne Standards der Kalibrierungen.

8.4.3.2 Berechnung der Korrekturfaktoren

Die Korrekturfaktoren (K_f) der Aromastoffe für die Quantifizierung berechnen sich aus den Wiederfindungen (W_f) der jeweiligen Aromastoffe in den Modell-Destillationen (siehe 8.7.1).

$$K_f = \frac{100}{W_f}$$

8.4.3.3 Berechnung des Gehaltes an Analyten in der Probe

Der Gehalt eines Analyten in der Probe berechnet sich wie folgt:

$$\text{Gehalt } [\mu\text{g/kg}] = \frac{C_A [\text{ng}/\mu\text{l}] \times K_f \times V [\mu\text{l}] \times 100 [\%]}{W_f [\%] \times E [\text{g}]}$$

mit:

- $C_A [\text{ng}/\mu\text{l}]$ = aus der Kalibrierfunktion ermittelter Aromastoffgehalt in der Probe
- K_f = Korrekturfaktor
- $V [\mu\text{l}]$ = Volumen des Aromastoffkonzentrats (300 μl)
- $W_f [\%]$ = Wiederfindung in %
- $E [\text{g}]$ = Probeneinwaage in g

8.4.4 Auswertung der FFA-Quantifizierung

Die absoluten Gehalte an FFA in den jeweiligen Lecithinen wurden nach folgender Formel bestimmt:

$$\text{Fettsäuregehalt } [\text{g}/100\text{g}] = \frac{A_{\text{FSME}} \times K_f \times 239,8 [\mu\text{g}] \times U \times 100}{A_{\text{C17-ME}} \times E [\mu\text{g}]}$$

mit:

- A = Fläche
- K_f = Faktor zur Korrektur der ermittelten Peakflächen der FSME
- 239,8 = Absolutgehalt an C_{17} -ME in n-Hexan-Phase (bei 0,5ml Standardzugabe)
- E = Einwaage des Lecithins (vergleiche 8.2.1.5)
- U = Umrechnungsfaktor der Molekulargewichte der FSME in Fettsäuren

Fettsäure	U
C16:0	0,948
C18:0	0,953
C18:1 ω 9	0,953
C18:1 ω 7	0,953
C18:2 ω 6	0,952
C18:3 ω 3	0,952

Mittels der absoluten Gehalte der Fettsäuren sowie der Lecithineinwaage wurde der prozentuale Anteil der Fettsäuren als Gewichtsprozent berechnet [g/100g Lecithin]. Ferner wurde die Relativverteilung der Fettsäuren, bezogen auf 100% Gesamt- FFA, berechnet [%].

8.4.5. Berechnung der SZ und des Gesamt-FFA-Gehalts

Berechnung der SZ:

$$SZ = \frac{(V - B) \times N \times 56,11 \times Vf}{E}$$

mit:

- V = Volumen an verbrauchter 0,1N KOH-Lösung
- B = Acetonblindverbrauch
- N = Titer der KOH-Lösung (N = 0,08636)
- Vf = Verdünnungsfaktor
- E = Einwaage des Lecithinproduktes
- 56,11g/mol = Molare Masse (KOH)

Berechnung des FFA-Gehaltes aus der SZ:

$$FFA [\%] = \frac{SZ \times M_{FFA}}{56,11 \times 10}$$

mit:

- SZ = Säurezahl
- 56,11g/mol = Molare Masse (KOH)
- M_{FFA} = mittlere Molare Masse der freien Fettsäuren des jeweiligen Lecithins
(berechnet aus den Werten der GC-Bestimmung)
- M_{FFA} (entöltes hydrolysiertes Lecithin 40%HG) = 276,3g/mol
- M_{FFA} (entöltes hydrolysiertes Lecithin 75%HG) = 278,1g/mol

8.4.6 Ausreißertest nach DIXON

Die Quantifizierungsergebnisse der Aromastoffe und FFA beruhen auf 3-fachen und 4-fachen Bestimmungen, die der Profilprüfungen auf 20 Bestimmungen. Mittels DIXON wurden die Ausreißer identifiziert und im weiteren nicht in die Mittelwertbildung einbezogen.

Folgende Prüfgrößen müssen erreicht oder überschritten werden, um den Meßwert als Ausreißer nach DIXON (DIN 53804) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% (p=0,05) anzusehen:

Stichproben- Umfang	Tabellierte Prüfgrößen	Prüfwerte für Ausreißer ¹	
		nach unten	nach oben
n= 3	0,941	$(x_2-x_1)/(x_n-x_1)$	$(x_n-x_{n-1})/(x_n-x_1)$
n= 4	0,765	$(x_2-x_1)/(x_n-x_1)$	$(x_n-x_{n-1})/(x_n-x_1)$
n= 20	0,450	$(x_3-x_1)/(x_{n-1}-x_1)$	$(x_n-x_{n-2})/(x_n-x_2)$

¹ Normalverteilte Stichprobe vom Umfang n (i = 1,2,...n)

8.4.7 T-Test

Für Quantifizierungsergebnisse wurde der T-Test (zweiseitig, heteroskedastisch) durchgeführt. Es wurden die Signifikanzniveaus $p=0,05$ (signifikant), $p=0,01$ (hoch signifikant) und $p=0,001$ (sehr hoch signifikant) zugrunde gelegt.

8.4.8 Berechnung von Schwellenwerten

Die Schwellenwerte wurden als geometrisches Mittel der Gesamturteile (Prüfergruppe) berechnet:

$$\bar{E} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n E_i} \quad \text{mit :} \quad E = \sqrt{c_e \cdot c_e - 1}$$

n = Anzahl der Prüfpersonen

E_i = Erkennungsschwelle für die einzelne Prüfperson

$\prod_{i=1}^n E_i$ = Produkt aus n Werten E_i

c_e = Konzentration erstmaliger Erkennung [g/kg]

$c_e - 1$ = Konzentration vor erstmaliger Erkennung [g/kg]

sofern $c_e - 1$ = den Wert 0 annimmt, entspricht die Erkennungsschwelle c_e

8.4.9 Berechnung von Signifikanzniveaus bei Dreiecksprüfungen

Die Mindestanzahl richtiger Antworten der einseitigen Fragestellung der abweichenden Probe ergibt sich für die entsprechenden Signifikanzniveaus aus Tabelle 35:

Tabelle 35: Signifikanzniveaus der Dreiecksprüfung (Abweichende Probe)

Anzahl d. Antworten	Mindestanzahl richtiger Antworten bei einem Signifikanzniveau von		
	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,01$	$\alpha = 0,001$
18	10	12	13

Die Mindestanzahl richtiger Antworten der zweiseitigen Fragestellung der bevorzugten Probe ergibt sich für die entsprechenden Signifikanzniveaus aus Tabelle 36:

Tabelle 36: Signifikanzniveaus der erweiterten Dreiecksprüfung (Bevorzugung)

Anzahl d. Antworten	Mindestanzahl richtiger Antworten bei einem Signifikanzniveau von		
	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,01$	$\alpha = 0,001$
10	9	10	-
11	10	11	11
12	10	11	12
13	11	12	13
14	12	13	14
15	12	13	14
16	13	14	15
17	13	15	16
18	14	15	17

8.5 Geräte und Meßbedingungen

8.5.1 Vakuumdestillationsapparatur

Pumpen: Edwards EDM 2 Drehschieberölpumpe
Edwards EO 40/55 Öldiffusionspumpe

Vakuum: zwischen 0,0005 und 0,001 Torr

8.5.2 Simultane Destillation Extraktion

pH-Meter: Gerät: Schott / Mainz pH-Meter CG 801
Eichung: Standard-Pufferlösungen pH=7 und pH=4 der Fa. Ingold, Deutschland

Kältepumpe: Gerät: mgw Lauda
Kühlflüssigkeit Ethanol
Temperatur der Kühlflüssigkeit -10° C

8.5.3 Statischer Headspace-Injektor

Gerät: Gerstel-Headspace-Injektor HSI 1

Kaltaufgabesystem KAS3: Splitlos-Zeit: 60s
Anfangstemperatur: -150° C
Aufheizrate: 12,0° C/s
Endtemperatur: 350° C
Endzeit: 2min

Vial:	5 ml
Mikroliterspritze:	1 ml
Probenvorbereitung:	Kühlfalltemp.: 60° C
	Turret-Temperatur: 60° C
	Spritzentemperatur: 60° C
	Vorwärmzeit: 3,0min
	Equilibrationszeit: 1,0min
	Postwashes: 5
Probeninjektion:	Füllvolumen: 1000µl
	Füllposition: 10,0mm
	Füllgeschwindigkeit: 5000µl/min
	Purge-Geschw.: 5000µl/min
	Injektionsvolumen: 800µl
	Injektionsposition: 25,0mm
	Injektionsgeschw.: 1000µl/min
	Injektionen pro Lauf: 3

8.5.4 Externe Dynamische Headspace und Thermodesorption

P&T-System:	Purgegefäß:	200ml Doppelwandgefäß
	Purgegas:	Stickstoff
	Trap:	Tenax [®] -Röhrchen
	Temperatur:	40° C
	Out-Flow:	15ml/min
	Purgedauer:	33min
	Purgevolumen:	500ml
TDS-System:	Gerstel-TDS2-System	
	Mode:	sample remove
	Flow:	splitless
	Anfangstemperatur:	30° C
	Aufheizrate:	60° C/min
	Endtemperatur:	300° C
	Endzeit:	3min
Kaltaufgabesystem KAS3:	Splitlos-Zeit:	60s
	Anfangstemperatur:	-150° C
	Aufheizrate:	12,0° C/s
	Endtemperatur:	350° C
	Endzeit:	2min

8.5.5 Gaschromatographische Systeme

a) GC/FID 1

Gerät:	Carlo Erba Instrumentatione (Typ 4200)
Säulenspezifikation:	Stationäre Phase: DB-WAX

	Länge:	60m
	Innendurchmesser:	0,25mm
	Filmdicke:	0,5µm
Temperaturprogramm:	34° C 3min isotherm 5° C/min bis 230° C 230° C 10min isotherm	
Injektion:	splitlos	
Detektoren:	a.) Flammenionisationsdetektor (FID) b.) sniff-Detektor mit separater Heizung 1:1 Split mit deaktiviertem Quarz-Y-Stück	
Injektortemperatur:	220° C	
Detektortemperatur:	250° C	
Brenngase:	Luft/Wasserstoff	
Trärgas:	Helium	
Make-up-Gas:	Stickstoff	
Integrator:	Merck Hitachi D-2000 Chromato-Integrator	
Schreiber:	W+W electronic Inc. (eingesetzt zur CHARM-Analyse)	
Injektionsvolumina:	je 2µl der Aromakonzentrate	
Flußrate:	1,2ml/min	

c) GC/MS

Gerät:	GC Hewlett Packard 5890 Serie II	
Säulenspezifikation:	Stationäre Phase:	BGB-1701 BGB-FFAP
	Länge:	jeweils 60m
	Innendurchmesser:	jeweils 0,25mm
	Filmdicke:	jeweils 0,5µm
Temperaturprogramm:	BGB-1701-Säule	40° C 3min isotherm 5° C/min bis 220° C 25° C/min bis 280° C 280° C 5min isotherm
	BGB-FFAP-Säule	50° C 3min isotherm 5° C/min bis 230° C 230° C 15min isotherm
Injektor:	Gerstel-Kaltaufgabesystem 3 (KAS 3) mit septumfreiem Aufgabekopf und N ₂ -Kühleinrichtung	
Controller:	C 505	
Kaltaufgabesystem:	Probenaufgabe:	manuell
	Splitlos-Zeit:	0,5min
	Equilibrationszeit:	2,0min
	Anfangstemperatur:	-60° C

	Aufheizrate:	10° C/s
	Endtemperatur:	250° C
	Endzeit:	1,0min
Detektoren:	a.) massenselektiver Detektor MS HP 5971 A	
	b.) Gerstel-sniff-Detektor	
	mit Pneumatik und Make-up-Gas-Befeuchter	
	3:1 Split (MS:sniff) mit Graphpack-3D/2-Eluatstromteiler	
Detektortemperaturen:	MSD	280° C
	sniff-Detektor:	250° C
MS-Aufzeichnungs-Modus:	a.) Totalionenstrom (TI)	
	Mass range:	40-225m/z
	Threshold:	150
	b.) Selected Ion Monitoring (SIM)	
Ionisierungsverfahren:	Elektronen(stoß)ionisation (EI)	
	angelegte Potentialdifferenz	70 EV
Trärgas:	Helium	
Injektionsvolumina:	je 1µl der Aromakonzentrate	
Flußrate:	1,0ml/min	

8.5.6 Festphasenextraktion

Festphase:	Aminopropyl (Bond Elut, 500ml, Fa. Aldrich)
Konditionierung:	3ml n-Hexan
Elutionsmittel:	A: 4ml Chloroform / Isopropanol (2:1; v/v)
	B: 4ml Diethylether / Eisessig (98:2; v/v)
	C: 4ml Methanol

8.5.7 HPTLC

Stationäre Phase:	Kieselgel 60 F ₂₅₄ HPTLC, 10×10cm, der Firma MERCK
Mobile Phasen:	A: Hexan / Diethylether / HAc (70:30:1; v/v/v)
	B: DCM / MeOH / H ₂ O / HAc (25:17:1:0,8; v/v/v/v)
	C: DCM / MeOH / H ₂ O (25:10:1; v/v/v)
Detektion:	UV
	Sprühreagenz nach DITTMER und LESTER (1964)

Laufmittel A diente der Trennung der einzelnen Lipidklassen (Fettsäuren, Neutrallipide, Phospholipide), Laufmittel B und C zur Trennung der einzelnen Phospholipidgruppen.

8.5.8 HPLC-ELSD

Gerät: LKB 2249 Gradient Pump
 Probenaufgabeventil: Rheodyne Typ 7125
 Injektion: Probenschleife 100µl
 Trennsäule: Spherisorb Si 3µm, 125×4,6mm (Firma CS)
 Vorsäule: Spherisorb Si 3µm, 10×4,6mm (Firma CS)
 Mobile Phase: A: DCM
 B: MeOH / H₂O / HAc (88 : 11,5 : 0,5; v/v/v)
 Flußrate: 2,0ml/min
 Druck: ca. 90-140bar

Gradient:			
	t [min]	A [%]	B [%]
	0	88	12
	15	83	17
	25	70	30
	25,1	0	100
	31	0	100
	31,1	100	0
	36	100	0

Temperatur: 23° C
 Regeneration: Nach Fraktionierung: Spülen mit 10ml THF
 Spülen mit 10ml DCM
 Integrator: Merck-Hitachi D 2000
 Fraktionssammler: Gilson M 201, manueller Modus
 Split: 0,95:1,05 (Detektor / Fraktionssammler)

ELSD-Detektor: Streulichtdetektor ACS 750/14 mass detector

Evaporator Set: 50° C
 Time Constant: 5s
 PM Sensivity: 1
 Externer Druck: 2,5bar Preßluft
 Interner Druck: 1,4bar
 Signal Ausgang: Computer Output
 Grundrauschen: ca. 200µV
 Safety Circuit: Pump A Stop

8.6 Toxizitätenliste der verwendeten Chemikalien

Tabelle 37: Toxizitätenliste der verwendeten Chemikalien

Substanz	Gefahren-symbol	R-Sätze	S-Sätze	MAK-Wert [mg/m ³]
Aceton	F	11	9-16—23.2-33	1200
2-Acetylpyrazin	-	-	24/25	-
2-Acetyl-1-pyrrolin	-	-	-	-
p-Anisaldehyd	-	-	-	-
Benzaldehyd	Xn	22	24	-
BHT	Xn	22-36	24	-
Bortrifluorid-Methanol-Komplex	T, F	11-23/25-34	16-26-36-44	-
2,3-Butandion	F; Xn	11-22	9-16-33	-
Buttersäure	C	34	26-36	-
Chloroform	Xn	47-20/22-38-40-48	53-36/37	50
Crotonsäure	C	22-34	26	-
(E)-β-Damascenon	-	-	-	-
(E,E)-2,4-Decadienal	-	-	-	-
γ-Decalacton	Xi	-	-	-
n-Decan	-	10	-	-
Dichlormethan	Xn	20-40	23.2-24/25-36/37	350
Diethyldisulfid	F; Xi	10-36/37/38	26-36	-
Diethylether	F+	12-19	9-16-29-33	1200
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	-	-	24/25	-
Dimethyldisulfid	F; Xn	11-20-36/37/38	16-33	-
(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	-	-	-	-
(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	-	-	-	-
Essigsäure	C	10-35	2-23.2-26	25
Ethanol	F	11	7-16	1900
2-Ethyl-3,5(6)-dimethylpyrazin	Xi	36/37/38	24/25	-
2-Ethylpyrazin	-	10	-	-
Heptanal	-	10	-	-
2-Heptanon	Xn	10-22	23.2	-
n-Hexan	Xn; F	11-20-48	9-16-24/25-29-51	180
Hexanal	-	10	-	-
Hexansäure	Xi	36	24-26	-
Isobuttersäure	C	21/22-34	26	-
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	Xi	-	-	-
Isophoron	Xi	36/37/38	26	11
Isopropanol	F	11	7-16	500
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	-	-	-	-
Kaliumhydroxid	C	35	2-26-37/39	-
Mesityloxid	Xn	10-20/21/22	25	100
Methanol	T, F	11-23/25	2-7-16-24	270
2-Methylbutanal	Xi; F	11-36/37/38	16-33	-
3-Methylbutanal	Xi; F	36/37/38	26	-
2-Methylbuttersäure	C	34	26	-
5-Methyl-2-hexanon	-	10	23.2	-
3-Methyl-2,4-nonandion	-	-	-	-
Natriumcarbonat	Xi	36	22-26	-
Natriumchlorid	-	-	-	-
Natriumsulfat	-	-	-	-
(E,E)-2,4-Nonadienal	-	-	-	-
(E,Z)-2,6-Nonadienal	-	-	-	-
Nonanal	Xi	38	-	-

(E)-2-Nonenal	Xi; F	36/37/38	26-36/37/38	-
1-Nonen-3-on	-	-	-	-
3-Nonen-2-on	-	-	-	-
(Z)-1,5-Octadien-3-on	-	-	-	-
Octanal	-	10	-	-
(E)-2-Octenal	Xi; F	36/37/38	26-36/37/38	-
1-Octen-3-ol	Xn	22	-	-
1-Octen-3-on	Xi	10-36/38	16-24/25	-
3-Octen-2-on	-	-	-	-
2,3-Pentandion	F	11	16	-
2-Pentylpyridin	Xn; F	-	-	-
Phenylacetaldehyd	Xn; F	22-36/37/38-43	26-36	-
2-Phenylethanol	Xn	20/21/22	-	-
Propionsäure	C	10-34	2-23.2-26	30
Salzsäure, rauchend	C	34-37	2-26	7
Tetrahydrofuran	Xi, F	11-19-36/37	16-29-33	150
Valeriansäure	C	34	26-36	-

8.7 Einzelergebnisse

8.7.1 MS-Daten der Aromastoffe

Tabelle 38: MS-Daten der Identifizierung der Aromastoffe

lfd. Nr.	Verbindung	MS-Daten [m/z] (%)
	Aldehyde	
	verzweigt	
1	2-Methylpropanal	43 (100), 41 (72), 72 (57)
3	3-Methylbutanal	44 (100), 41 (89), 43 (78), 58 (47), 86 (7,1)
4	2-Methylbutanal	57 (100), 58 (62), 41 (58), 86 (13)
	gesättigt (aromatisch)	
7	Hexanal	44 (100), 56 (87), 41 (77), 57 (66), 72 (23), 82 (19)
11	Heptanal	41 (100), 43 (87), 44 (74), 70 (79), 55 (59), 86 (17), 96 (15)
21	Octanal	43 (100), 41 (98), 57 (76), 44 (71), 55 (64), 84 (42), 100 (11), 110 (8,2)
31	Nonanal	41 (100), 57 (97), 43 (76), 56 (62), 55 (52), 44 (50), 69 (40), 98 (30)
20	Benzaldehyd	105 (100), 77 (97), 106 (94), 51 (47)
30	Phenylacetaldehyd	91 (100), 92 (23), 65 (19), 120 (18)
	ungesättigt	
12	(Z)-4-Heptenal	41 (100), 55 (75), 68 (67), 84 (54), 67 (51), 83 (31), 94 (14)
29	(E)-2-Octenal	41 (100), 55 (90), 70 (76), 83 (52), 57 (47), 69 (43), 42 (37), 82 (25), 97 (15)
38	(Z)-2-Nonenal	41 (100), 70 (51), 83 (38), 42 (33), 45 (33), 56 (24), 84 (19), 96 (13), 111 (3,9)
40	(E)-2-Nonenal	41 (100), 43 (83), 55 (80), 70 (76), 83 (57), 69 (50), 44 (35), 96 (16)
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	81 (100), 41 (23), 67 (15), 138 (7,9)
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	41 (100), 70 (75), 69 (61), 67 (19)
47	(E,Z)-2,4-Decadienal	81 (100), 67 (27), 83 (23), 95 (16), 82 (15), 152 (8,8)
49	(E,E)-2,4-Decadienal	81 (100), 41 (23), 44 (14), 67 (13), 82 (11), 55 (10), 95 (10), 152 (6,6)
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	68 (100), 81 (40), 53 (33), 95 (19), 69 (19), 125 (5,2)
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	68 (100), 81 (39), 55 (30), 69 (18), 139 (2,8)
	Ketone	
2	2,3-Butandion	43 (100), 86 (20), 42 (7)
5	2,3-Pentandion	43 (100), 57 (43), 100 (18)
10	2-Heptanon	43 (100), 58 (56), 71 (15), 41 (12)
16	1-Octen-3-on	55 (100), 70 (89), 97 (21), 43 (20)
23	3-Octen-2-on	55 (100), 43 (58), 111 (39), 41 (24), 97 (17), 69 (14)

19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	55 (100), 41 (29), 69 (7,0), 95 (6,6), 109 (5,8)
33	(E,E)-3,5-Octadien-2-on	95 (100), 43 (98), 81 (56), 124 (19)
27	1-Nonen-3-on	70 (100), 55 (88), 43 (21), 83 (14), 111 (12), 97 (8)
37	3-Nonen-2-on	55 (100), 43 (57), 125 (29), 41 (24), 97 (22), 71 (16), 69 (15)
46	3-Methyl-2,4-nonandion	43 (100), 99 (42), 71 (28), 72 (15), 41 (15), 55 (12), 170 (2,2)
51	(E)- β -Damascenon	69 (100), 121 (55), 41 (25), 105 (21), 91 (19), 190 (13)
	Alkohole	
17	1-Octen-3-ol	57 (100), 41 (28), 43 (25), 55 (25), 54 (20), 72 (19), 67 (16), 81 (11)
28	1-Nonen-3-ol	57 (100), 41 (35), 44 (28), 43 (26), 72 (22), 67 (22), 113 (6,4)
39	2-Phenylethanol	91 (100), 92 (43), 122 (26), 65 (19)
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	41 (100), 79 (65), 69 (49), 77 (41), 67 (40), 68 (38), 93 (30)
	N-Verbindungen	
9	2-Methylpyrazin	94 (100), 67 (53), 53 (17), 42 (11)
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	43 (100), 42 (38), 41 (37), 83 (37), 111 (16), 68 (16), 69 (10)
18	2-Ethyl-5-methylpyrazin	121 (100), 122 (72), 56 (25), 94 (15), 120 (8)
22	2-Acetylpyrazin	43 (100), 122 (80), 80 (66), 52 (59), 53 (49), 79 (41), 94 (39)
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	135 (100), 136 (70), 42 (31), 56 (16), 108 (15), 107 (13)
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	135 (100), 136 (70), 56 (32), 42 (20), 108 (13)
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	150 (100), 135 (87), 149 (64), 56 (43), 121 (31), 151 (11)
35	3,5-Diethyl-2-methylpyrazin	149 (100), 150 (79), 122 (15), 135 (13), 56 (10), 151 (8)
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	137 (100), 152 (36), 124 (25), 95 (12)
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	124 (100), 94 (24), 151 (16), 81 (15), 165 (1,5), 166 (1,4)
43	2-Pentylpyridin	93 (100), 106 (23), 120 (23)
	S-Verbindungen	
6	Dimethyldisulfid	94 (100), 79 (56), 45 (41)
13	Diethyldisulfid	122 (100), 66 (79), 94 (59)
	Acetonkondensate	
8	Mesityloxid	83 (100), 55 (84), 98 (49), 43 (40)
44	Isophoron	82 (100), 138 (16), 54 (13)
	Lactone/Furane	
15	2-Pentylfuran	81 (100), 82 (20), 138 (15), 53 (14)
50	γ -Octalacton	85 (100), 57 (9), 55 (8), 56 (8), 142 (0,2)
53	γ -Nonalacton	85 (100), 55 (9), 56 (7), 57 (7), 128 (2,2), 156 (0,3)
54	γ -Decalacton	85 (100), 55 (10), 128 (8,5), 57 (7)
	Säuren	
A	Essigsäure	43 (100), 45 (100), 60 (56), 42 (17)
B	Propionsäure	74 (100), 45 (83), 73 (64), 57 (38)
C	Buttersäure	60 (100), 73 (38), 42 (24), 41 (24), 45 (21), 43 (18), 55 (10), 88 (2,7)
D	3-Methylbuttersäure	60 (100), 45 (34), 74 (27), 87 (23)
E	2-Methylbuttersäure	74 (100), 57 (71), 87 (27)
F	Valeriansäure	60 (100), 73 (39), 41 (21), 45 (16), 43 (14), 42 (13), 55 (13)
G	Crotonsäure	86 (100), 41 (77), 68 (43), 69 (40), 60 (39), 45 (37)
H	Hexansäure	60 (100), 73 (47), 41 (30), 45 (22), 87 (14)
I	3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	83 (100), 55 (88), 43 (81), 57 (72), 128 (62)
	Interne Standards	
	n-Decan	57 (100), 43 (94), 71 (38), 85 (19), 142 (8,2)
	BHT	205 (100), 220 (21)
	5-Methyl-2-hexanon	43 (100), 58 (43), 71 (10), 114 (3,8)
	2-Ethylpyrazin	107 (100), 108 (60), 80 (25), 53 (17)
	p-Anisaldehyd	135 (100), 136 (72), 77 (31), 92 (17)
	Isobuttersäure	43 (100), 41 (55), 73 (51), 88 (12)

8.7.2 Ergebnisse der Aromastoffquantifizierung

Tabelle 39: Aromastoffgehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede durch Hydrolyse

Ild. Nr.	Substanzklassen Aromastoffe	Aromastoff-Gehalte [µg/kg Lecithin]							
		Standard-lecithin (n=4)		Lecithin 40% HG (n=4)			Lecithin 75% HG (n=3)		
		MW ¹⁾	±s ²⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾
	Aldehyde								
	verzweigt								
1	2-Methylpropanal	232	31	191	28	-	110	4,6	*
3	3-Methylbutanal	58	2,7	38	5,2	**	16	3,2	***
4	2-Methylbutanal	350	15	389	51	-	145	5,1	***
	gesättigt (aromatisch)								
7	Hexanal	328	30	329	34	-	293	0,5	-
11	Heptanal	45	5,0	19	2,6	-	30	4,1	-
21	Octanal	38	5,1	18	5,3	*	33	6,6	-
31	Nonanal	124	16	54	17	**	90	6,7	-
20	Benzaldehyd	23	3,3	20	4,4	-	20	2,8	-
30	Phenylacetaldehyd	2,5	0,1	9,2	1,7	**	3,2	0,3	*
	ungesättigt								
12	(Z)-4-Heptenal	4,2	1,3	0,1	0,1	*	1,8	0,1	-
29	(E)-2-Octenal	19	3,4	23	6,4	-	15	2,6	-
40	(E)-2-Nonenal	49	6,7	15	10	**	30	6,5	*
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	6,3	0,7	5,1	0,1	-	4,7	1,1	-
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	14	1,8	5,8	2,2	**	9,9	2,4	-
49	(E,E)-2,4-Decadienal	14	2,2	14	1,2	-	12	1,1	-
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	0,3	0,1	0,2	0,2	-	0,2	0,1	-
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	2,7	0,6	2,8	0,6	-	3,7	0,9	-
	Ketone								
	gesättigt								
2	2,3-Butandion	21	2,7	14	3,4	*	10	5,1	*
5	2,3-Pentandion	4,7	0,7	14	2,7	**	5,9	1,0	-
10	2-Heptanon	1560	76	1900	203	-	1140	32	**
46	3-Methyl-2,4-nonandion	21	4,0	20	1,7	-	23	3,1	
	ungesättigt								
16	1-Octen-3-on	13	2,7	7,9	1,4	*	11	1,8	
23	3-Octen-2-on	91	14	83	4,1		87	11	
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	1,3	0,1	1,6	0,2	-	1,0	0,2	-
27	1-Nonen-3-on	2,9	0,3	3,0	0,5	-	3,1	0,2	-
37	3-Nonen-2-on	35	4,8	63	4,9	***	68	10	**
51	(E)-β-Damascenon	6,8	2,7	38	0,9	***	45	1,7	***
	N-Verbindungen								
9	2-Methylpyrazin	141	6,5	174	2,1	**	226	13	**
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	0,4	0,1	0,3	0,1	-	0,2	0,1	-
22	2-Acetylpyrazin	40	4,5	31	3,3	-	36	2,0	-
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	29	4,2	90	4,5	***	125	12	***
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	34	5,0	54	2,6	*	55	4,7	**
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	8,6	1,1	49	2,4	***	66	7,7	***
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,9	0,1	0,6	0,1	*	0,9	0,1	-
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	1,1	0,2	1,9	0,3	*	3,0	0,4	**

12	(Z)-4-Heptenal	3,1	1,3	-	2,8	0,8	*	4,9	1,0	*
29	(E)-2-Octenal	17	1,7	-	27	6,4	-	20	5,8	-
40	(E)-2-Nonenal	31	7,2	-	92	6,9	***	28	5,3	-
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	11	1,7	-	6,7	0,1	*	7,1	0,5	*
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	10	0,5	-	21	2,2	**	9,0	1,0	-
49	(E,E)-2,4-Decadienal	18	3,5	-	8,1	3,0	-	18	2,8	*
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	0,2	0,1	-	<0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	-
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	4,7	0,3	*	3,7	0,3	-	6,8	1,8	*
Ketone										
gesättigt										
2	2,3-Butandion	3,1	0,7	**	2,9	0,6	*	28	3,0	**
5	2,3-Pentandion	7,3	2,9	-	4,0	1,0	**	10	1,5	*
10	2-Heptanon	33	1,1	***	64	0,8	**	84	4,0	***
46	3-Methyl-2,4-nonandion	33	4,5	-	22	1,5	-	26	3,6	-
ungesättigt										
16	1-Octen-3-on	6,3	0,6	*	16	1,2	**	7,1	1,8	-
23	3-Octen-2-on	313	60	**	447	16	***	117	10	*
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	1,4	0,2	-	1,4	0,3	-	1,6	0,3	-
27	1-Nonen-3-on	0,6	0,1	*	1,6	<0,1	*	2,9	0,1	-
37	3-Nonen-2-on	3,3	0,5	*	11	0,4	***	12	1,8	**
51	(E)- β -Damascenon	0,6	0,2	*	11	1,5	***	15	3,7	**
N-Verbindungen										
9	2-Methylpyrazin	10	2,8	***	10	0,6	***	36	6,8	***
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	0,2	0,1	-	<0,1	<0,1	-	0,4	0,2	-
22	2-Acetylpyrazin	3,5	1,0	**	3,2	0,2	***	6,7	0,7	***
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,9	0,3	***	0,9	0,4	***	16	2,1	***
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,9	0,1	***	0,5	<0,1	***	5,2	0,7	***
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	0,7	0,1	***	0,5	<0,1	***	9,7	1,3	***
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,1	0,0	*	0,1	<0,1	***	0,3	0,1	**
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,2	0,1	*	0,5	0,1	**	0,2	0,1	***
43	2-Pentylpyridin	20	8,7	**	10	0,4	***	9,7	0,5	***
Alkohole										
17	1-Octen-3-ol	23	12	*	264	29	***	337	11	**
28	1-Nonen-3-ol	6,6	2,4	***	16	2,8	**	16	2,8	**
39	2-Phenylethanol	4,0	0,5	***	2,4	0,2	***	18	0,2	**
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	1,3	0,5	**	2,6	0,5	*	3,1	0,2	*
S-Verbindungen										
6	Dimethyldisulfid	0,5	0,2	-	3,5	1,4	-	3,0	0,8	-
13	Diethyldisulfid	120	21	-	32	3,9	-	19	2,4	**
Acetonkondensate										
8	Mesityloxid	848	358	-	149	9,0	**	1,5	0,4	-
44	Isophoron	1614	616	-	279	4,9	***	7,6	2,4	*
Lactone/Furane										
15	2-Pentylfuran	7,2	1,9	***	25	3,2	***	53	8,2	***
50	γ -Octalacton	12	5,0	-	14	1,1	***	21	1,7	*
53	γ -Nonalacton	34	21	***	75	7,5	***	110	33	*
54	γ -Decalacton	44	3,7	*	311	9,0	**	2,2	0,6	**
Säuren										
A	Essigsäure	4600	1700	***	12800	750	*	58200	100	***
B	Propionsäure	986	33	***	1480	206	**	2380	320	-
C	Buttersäure	420	213	**	414	81	**	1280	215	-
D	3-Methylbuttersäure	72	17	***	118	14	***	170	20	**
E	2-Methylbuttersäure	95	25	**	149	39	*	199	35	-
F	Valeriansäure	992	217	**	945	190	**	1480	230	-
G	Crotonsäure	1330	494	-	924	62	-	666	175	
H	Hexansäure	2440	554	**	1980	58	***	3590	290	**

- 1) Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON
 2) Standardabweichung
 3) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aromastoffs vom Standardlecithin zum entölten Standardlecithin (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)
 4) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aromastoffs vom Lecithin 40% HG zum entölten Lecithin 40% HG (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)
 5) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aromastoffs vom Lecithin 75% HG zum entölten Lecithin 75% HG (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)

Tabelle 41: Aromastoffgehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede durch Fraktionierung

Ifd. Nr.	Substanzklassen Aromastoffe	Aromastoff-Gehalte [µg/kg Lecithin]								
		Ethanol-unlösliche Fraktion (n=3)			Ethanol-lösliche Fraktion (n=4)			PC/LPC-reiche Fraktion (n=3)		
		MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
	Aldehyde verzweigt									
1	2-Methylpropanal	55	4,0	**	53	11	*	113	17	*
3	3-Methylbutanal	26	5,2	-	39	8,8	-	15	2,5	-
4	2-Methylbutanal	8,1	1,4	*	76	5,2	-	4,1	0,4	*
	gesättigt (aromatisch)									
7	Hexanal	286	25	***	271	27	***	600	48	-
11	Heptanal	17	3,5	**	9,9	4,9	***	52	3,2	-
21	Octanal	15	0,7	***	24	8,7	-	41	1,7	-
31	Nonanal	47	1,0	-	52	12	-	131	11	**
20	Benzaldehyd	4,7	0,5	**	9,0	0,2	**	8,8	0,4	**
30	Phenylacetaldehyd	9,2	4,5	-	14	5,6	-	1,6	0,5	**
	ungesättigt									
12	(Z)-4-Heptenal	<0,1	<0,1	*	<0,1	<0,1	*	<0,1	<0,1	*
29	(E)-2-Octenal	18	3,8	-	27	2,0	-	61	6,4	**
40	(E)-2-Nonenal	43	10	**	11	2,7	***	31	5,7	***
45	(E,E)-2,4-Nonadienal	2,8	0,6	**	4,2	1,7	-	59	2,8	**
41	(E,Z)-2,6-Nonadienal	11	2,0	**	2,5	0,7	**	9,7	0,7	*
49	(E,E)-2,4-Decadienal	15	3,4	-	24	3,1	**	1565	155	**
48	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-nonenal	<0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	-
52	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	0,4	0,2	***	2,7	0,2	**	19	2,8	*
	Ketone									
	gesättigt									
2	2,3-Butandion	11	0,3	***	15	2,6	**	21	2,6	**
5	2,3-Pentandion	11	1,8	*	15	3,2	**	56	3,5	**
10	2-Heptanon	23	0,4	***	262	2,2	***	21	2,2	***
46	3-Methyl-2,4-nonandion	18	2,8	-	14	1,5	**	21	2,6	-
	ungesättigt									
16	1-Octen-3-on	9,1	2,0	*	2,9	0,3	**	13	0,5	*
23	3-Octen-2-on	41	14	***	62	1,9	***	1501	71	**
19	(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,6	0,2	-	0,4	0,1	*	0,5	0,2	*
27	1-Nonen-3-on	1,7	0,4	-	1,7	0,2	-	2,4	0,4	-
37	3-Nonen-2-on	6,3	0,7	**	13	2,3	-	35	1,3	***
51	(E)-β-Damascenon	4,0	1,0	*	35	4,4	***	11	3,2	-
	N-Verbindungen									
9	2-Methylpyrazin	14	6,9	-	13	0,6	*	6,9	1,1	*
14	2-Acetyl-1-pyrrolin	<0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	-	<0,1	<0,1	-

22	2-Acetylpyrazin	4,4	0,5	-	5,1	0,3	-	3,3	0,1	-
25	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,4	0,1	-	2,8	0,8	-	0,8	0,3	-
26	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,3	<0,1	-	1,9	0,7	-	0,3	<0,1	-
34	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	0,1	<0,1	-	0,7	<0,1	-	0,2	<0,1	-
24	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,2	<0,1	-	0,4	0,1	*	0,2	<0,1	-
36	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	<0,1	<0,1	**	0,1	<0,1	*	0,2	0,1	*
43	2-Pentylpyridin	0,1	0,1	***	3,7	0,8	***	8,0	1,0	-
Alkohole										
17	1-Octen-3-ol	14	2,1	**	1882	249	**	37	9,8	**
28	1-Nonen-3-ol	4,3	1,5	*	8,1	3,0	-	8,0	1,8	*
39	2-Phenylethanol	2,8	0,4	-	9,6	2,0	*	1,3	0,5	-
42	(E,Z)-2,6-Nonadienol	0,9	0,4	*	0,8	0,3	*	2,7	0,1	-
S-Verbindungen										
6	Dimethyldisulfid	18	4,1	*	8,5	2,8	*	2,1	1,0	-
13	Diethyldisulfid	2,9	0,2	**	4,7	1,8	**	2,6	0,1	**
Acetonkondensate										
8	Mesityloxid	4456	78	***	1518	22	***	96	11	**
44	Isophoron	8,0	1,5	***	319	65	-	82	5,3	***
Lactone/Furane										
15	2-Pentylfuran	3,4	1,3	**	23	6,6	-	10	0,6	*
50	γ -Octalacton	9,8	1,7	-	66	16	*	20	1,5	**
53	γ -Nonalacton	63	9,4	-	123	32	-	41	4,3	**
54	γ -Decalacton	7,9	0,7	*	30	7,8	**	12	0,7	*
Säuren										
A	Essigsäure	5300	250	*	19700	2020	*	16200	2120	
B	Propionsäure	531	129	**	1540	190	-	1620	189	-
C	Buttersäure	326	128	-	1280	73	***	654	119	-
D	3-Methylbuttersäure	23	4,7	**	122	16	-	20	3,5	**
E	2-Methylbuttersäure	14	2,6	*	120	19	-	41	5,4	-
F	Valeriansäure	147	19	*	1090	214	-	322	40	*
G	Crotonsäure	10	4,1	**	513	92	**	12	1,4	**
H	Hexansäure	280	26	*	1340	161	**	668	139	**

1) Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

2) Standardabweichung

3) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aomastoffs vom entölten Lecithin 40% HG zur Ethanol-unlöslichen Fraktion (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)

4) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aomastoffs vom entölten Lecithin 40% HG zur Ethanol-löslichen Fraktion (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)

5) Signifikanzniveau der Veränderung der Gehalte des jeweiligen Aomastoffs vom entölten Lecithin 40% HG zur PC/LPC-angereicherten Fraktion (T-Test mit $p=0,05^*$; $p=0,01^{**}$; $p=0,001^{***}$; $p>0,05$)

8.7.3 FFA-Quantifizierung

8.7.3.1 Ergebnisse der Methodenüberprüfung

a) Wiederfindung nach Derivatisierung der FFA zu FSME (8.2.1.5.1)

Tabelle 42: Wiederfindung der Ölsäure nach Derivatisierung (n=2)

Gehalt Ölsäure je Ansatz [µg]	Ergebnis nach Derivatisierung [µg]	Wiederfindung [%]
555	528,6	95,2
555	530,8	95,6
		Ø = 95,4%

b) Wiederfindung der Gesamtmethode der FFA-Bestimmung

Zur Ermittlung der Wiederfindung wurde eine Doppelbestimmung der FFA des Modellsystems (8.2.1.5.1) durchgeführt. Dazu wurden je 300µl Modellsystem nach 8.2.1.5 fraktioniert und verestert. Folgende Wiederfindungen wurden mittels GC/FID bestimmt:

Tabelle 43: Wiederfindungen der FFA-Bestimmung im Modellsystem

FFA	Gehalt im Ansatz [µg]	Bestimmung 1 [µg] → Wf [%]	Bestimmung 2 [µg] → Wf [%]	Ø Wf [%]
Ölsäure	1293	1111,30 → 85,9%	1115,69 → 86,3%	86,1%
Linolsäure	1079	1071,85 → 99,3%	1078,66 → 100,0%	99,7%
Linolensäure	2282	2188,50 → 95,9%	2211,05 → 96,9%	96,4%

8.7.3.2 Ergebnisse der FFA-Quantifizierung

Die Tabellen 44 bis 50 enthalten die Ergebnisse der Bestimmungen der FFA der Rohlecithine, der kommerziellen Sojalecithine und der durch veränderte Verfahrenswegen hergestellten Sojalecithine. Es wurden jeweils Dreifachbestimmungen durchgeführt.

In den Tabellen sind jeweils die Absolutgehalte der freien Fettsäuren in g/100g Lecithin angegeben. Es wurden die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichungen ($\pm s$) berechnet. Absolutgehalte kleiner 0,003g/100g wurden nicht quantifiziert und als Spuren (sp) bezeichnet. Die Veränderungen in den FFA-Gehalten sind nach T-Test anhand von Signifikanzniveaus (SN) dargestellt.

Tabelle 44: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von Rohlecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g Lecithin]								
	Rohlecithin 1 (n=3)			Rohlecithin 2 (n=3)			Rohlecithin 3 (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
C16:0	0,14	0,012	-	0,21	0,067	-	0,30	0,146	-
C18:0	0,04	0,006	-	0,06	0,015	-	0,08	0,020	-
C18:1ω9	0,08	0,012	-	0,15	0,053	-	0,19	0,100	-
C18:1ω7	0,01	0,001	-	0,02	0,006	-	0,02	0,010	-
C18:2ω6	0,36	0,030	-	0,45	0,170	-	0,68	0,340	-
C18:3ω3	0,07	0,006	-	0,07	0,021	-	0,09	0,041	-
Σ	0,70	0,062	-	0,96	0,327	-	1,37	0,656	-

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA von Rohlecithin 1 und 2 (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA von Rohlecithin 2 und 3 (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁵⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA von Rohlecithin 1 und 3 (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 45: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von hydrolysierten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g Lecithin]								
	Standard-Lecithin (n=3)			Lecithin 40% HG (n=3)			Lecithin 75% HG (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
C16:0	0,43	0,023	**	0,57	0,000	***	1,29	0,017	***
C18:0	0,12	0,006	-	0,13	0,006	***	0,27	0,006	***
C18:1ω9	0,82	0,025	**	0,68	0,012	***	1,21	0,006	***
C18:1ω7	0,04	0,006	-	0,04	0,000	**	0,09	0,006	***
C18:2ω6	2,08	0,046	***	6,56	0,150	***	9,65	0,170	***
C18:3ω3	0,20	0,006	***	0,88	0,017	***	1,36	0,029	***
Σ	3,71	0,103	***	8,86	0,159	***	13,87	0,217	***

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom Standardlecithin und Lecithin 40% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom Lecithin 40% HG und Lecithin 75% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁵⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom Standardlecithin und Lecithin 75% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 46: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von entölten, hydrolysierten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g Lecithin]								
	Standardlecithin Aceton-entölt (n=3)			Lecithin 40% HG Aceton-entölt (n=3)			Lecithin 75% HG Propan-entölt (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
C16:0	0,09	0,006	**	0,12	0,006	**	0,67	0,017	**
C18:0	0,03	0,000	-	0,04	0,006	***	0,15	0,006	***
C18:1ω9	0,02	0,006	**	0,06	0,006	**	0,58	0,006	**
C18:1ω7	sp			sp			0,04	0,006	
C18:2ω6	0,12	0,007	***	0,36	0,012	**	4,52	0,170	***
C18:3ω3	0,02	0,000	*	0,05	0,006	***	0,66	0,029	***
Σ	0,28	0,015	***	0,61	0,023	**	6,62	0,217	**

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Standardlecithin und entölten Lecithin 40% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 40% HG und entölten Lecithin 75% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁵⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Standardlecithin und entölten Lecithin 75% HG (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 47: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von fraktionierten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g Lecithin]								
	Ethanol-unlösliche Fraktion (n=3)			Ethanol-lösliche Fraktion (n=3)			PC/LPC-reiche Fraktion (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
C16:0	0,17	0,006	***	0,28	0,010	***	0,18	0,009	**
C18:0	0,05	0,000	-	0,08	0,000	**	0,09	0,005	***
C18:1ω9	0,16	0,006	***	0,19	0,000	***	0,42	0,021	***
C18:1ω7	0,01	0,006		0,01	0,006		sp		
C18:2ω6	0,49	0,021	**	1,19	0,006	***	3,17	0,040	***
C18:3ω3	0,09	0,000	**	0,15	0,000	**	0,36	0,014	***
Σ	0,96	0,032	***	1,91	0,021	***	4,12	0,085	***

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 40% HG und der Ethanol-unlöslichen Fraktion (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 40% HG und der Ethanol-löslichen Fraktion (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁵⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 40% HG und der PC/LPC angereicherten Fraktion (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 48: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von doppelt entölten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g Lecithin]					
	Lecithin 40% HG doppelt entölt (n=3)			Lecithin 75% HG doppelt entölt (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾
C16:0	0,03	0,006	***	0,08	0,015	***
C18:0	0,02	0,010	-	0,03	0,006	***
C18:1ω9	0,01	0,000	**	0,02	0,000	**
C18:1ω7	sp			sp		
C18:2ω6	0,03	0,006	***	0,04	0,006	***
C18:3ω3	0,004	0,0007	**	0,01	0,000	***
Σ	0,09	0,015	***	0,18	0,015	**

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 40% HG und dem doppelt entölten Lecithin 40% (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom entölten Lecithin 75% HG und dem doppelt entölten Lecithin 75% (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 49: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von durch verschiedene Enzyme hydrolysierten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g hydrolysiertes Lecithin]				
	Enzym A (n=3)		Enzym B (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾
C16:0	0,57	0,000	0,69	0,036	*
C18:0	0,13	0,006	0,20	0,021	*
C18:1ω9	0,68	0,012	0,57	0,031	*
C18:1ω7	0,04	0,000	0,05	0,000	***
C18:2ω6	6,56	0,150	4,01	0,150	***
C18:3ω3	0,88	0,017	0,61	0,020	***
Σ	8,86	0,159	6,13	0,257	***

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom mit Enzym A (Standard) und Enzym B hydrolysierten Lecithin (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

Tabelle 50: FFA-Gehalte, Standardabweichungen und durch T-Test ermittelte signifikante Unterschiede von durch verschiedene Enzyme hydrolysierten und entölten Lecithinen

Freie Fettsäuren	FFA-Gehalte [g/100g hydrolysiertes, entöltes Lecithin]								
	Enzym A (n=3)			Enzym B (n=3)			Enzym C (n=3)		
	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ³⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁴⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾	SN ⁵⁾
C16:0	0,12	0,006	**	0,25	0,015	-	0,27	0,12	***
C18:0	0,04	0,006	**	0,10	0,010	-	0,11	0,12	***
C18:1ω9	0,06	0,006	***	0,22	0,010	-	0,22	0,10	***
C18:1ω7	sp			sp			sp		
C18:2ω6	0,36	0,012	**	0,46	0,015	***	0,21	0,10	***
C18:3ω3	0,05	0,006	*	0,06	0,000	*	0,03	0,006	*
Σ	0,61	0,023	***	1,08	0,035	**	0,85	0,031	***

¹⁾ Mittelwert, bereinigt von Ausreißern nach DIXON

²⁾ Standardabweichung

³⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom mit Enzym A (Standard) und Enzym B hydrolysierten und entölten Lecithin (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁴⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom mit Enzym B und Enzym C hydrolysierten und entölten Lecithin (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

⁵⁾ Signifikanzniveau des Unterschiedes der Gehalte der jeweiligen FFA vom mit Enzym A (Standard) und Enzym C hydrolysierten und entölten Lecithin (T-Test mit p=0,05*; p=0,01**; p=0,001***; p>0,05)

8.7.3.3 Überprüfung der FFA-Bestimmung durch SZ

Die Säurezahlen der entölten Lecithine (40% und 75% HG) wurden aus je drei Entöhlungen bestimmt.

Tabelle 51: Ergebnisse der Bestimmung der FFA aus der SZ

	Lecithin entölt 40% HG (n=3)		Lecithin entölt 75% HG (n=3)	
	MW ¹⁾	±s ²⁾	MW ¹⁾	±s ²⁾
SZ	1,63	0,09	14,70	0,05
FFA-Gehalt [g/100g]	0,80	0,06	7,29	0,03

9. Literaturverzeichnis

Abeel, S.M.; Vickers, A.K.; Decker, D.: Trends in purge and trap. J. Chromatogr. Sci. 1994, 32, 328-338.

Acree, T.E.; Barnard, J.; Cunningham, D.G.: A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. Food Chem. 1984, 14, 273-286.

Aitzetmüller, K.: HPLC and phospholipids. Part 1: general considerations. Fette, Seifen, Anstrichm. 1984, 86, 318-321.

Ames, J.M.; MacLeod, G.: Volatile components of an unflavored textured soy protein. J. Food Sci. 1984, 49, 1552-1557.

Badings, H.T.: Cold storage defects in butter and their relation to the autoxidation of unsaturated fatty acids. Ned. Melk-Zuiveltijdschr. 1970, 24, 147-156.

Baltes, W.: Maillardreaktionen in Lebensmitteln. Lebensmittelchemie 1993, 47, 9-14.

Barcarolo, R.; Casson, P.: Modified capillary GC/MS system enabling dynamic headspace sampling with on-line cryofocussing and cold on-column injection of liquid samples. J.High Resolut. Chromatogr. 1997, 20, 24-28.

Baur, C.; Grosch, W.: Untersuchung über den Bittergeschmack von Di-, Tri- und Tetrahydroxyfettsäuren. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1977, 165, 82-84.

Baur, C.; Grosch, W.; Wieser, H.; Jugel, H.: Enzymatic oxydation of linoleic acid: formation of bitter tasting fatty acids. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1977, 164, 171-176.

Becart, J.; Chevalier, C.; Biesse, J.P.: Quantitative analysis of phospholipids by HPLC with a light scattering evaporating detector – application to raw materials for cosmetic use. HRC&CC 1990, 13, 126-129.

Beck'sche Textausgaben: Lebensmittelrecht, Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München, z.Zt. aktuelle Fassung.

Blank, I.; Sen, A.; Grosch, W.: Potent odorants of the roasted powder and brew of arabica coffee. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1992, 195, 239-245.

Blunk, H.C.; Steinhart, H.: Separation of phospholipids in bovine tissue with disposable silica gel extraction columns. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1990, 190, 123-125.

Bollmann, H.: DRP Patent Nr. 382912 (1921)

Bonacker, U.: The significance of phosphatidylcholine for the lipid metabolism. Lucas Meyer Publikation Nr.6, Lucas Meyer, Hamburg, 1988.

Budzikiewicz, H.: Massenspektrometrie, VCH, Weinheim, 1992.

Buttery, R.G.; Ling, L.C.: Volatile flavor components of corn tortillas and related products. *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 1878-1882.

Buttery, R.G.; Ling, L.C.; Stern, D.J.: Studies of popcorn aroma and flavor volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 837-843.

Buttery, R.G.; Stern, D.J.; Ling, L.C.: Studies on flavor volatiles of some sweet corn products. *J. Agric. Food Chem.* 1994, 42, 791-795.

Buttery, R.G.; Turnbaugh, J.G.; Ling, L.C.: Contribution of volatiles to rice aroma. *J. Agric. Food Chem.* 1988, 36, 1006-1009.

Cerny, C.; Grosch, W.: Evaluation of potent odorants in roasted beef by aroma extract dilution analysis. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1992, 194, 322-325.

Cerny, C.; Grosch, W.: Quantitation of character-impact odour compounds of roasted beef. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1993, 196, 417-422.

Cerny, C.; Grosch, W.: Precursors of ethyldimethylpyrazine isomers and 2,3-diethyl-5-methylpyrazine formed in roasted beef. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1994, 198, 210-214.

Cherry, J.P.; Gray, M.S.: A review of lecithin chemistry and glandless cottonseed as a potential commercial source. *JAOCs* 1981, 58, 903-913.

Chiu, E.M.; Kuo, M.C.; Bruechert, L.J.; Ho, C.T.: Substitution of pyrazines by aldehydes in model systems. *J. Agric. Food Chem.* 1990, 38, 58-61.

Christie, W.W.: Chromatographic analysis of phospholipids. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1985a, 181, 171-182.

Christie, W.W.: Rapid separation and quantification of lipid classes by high performance liquid chromatography and mass (light-scattering) detection. *J. Lipid Res.* 1985b, 26, 507-512.

Curvers, J.; Noy, T.; Cramers, C.; Rijks, J.: Possibilities and limitations of dynamic headspace sampling as a pre-concentration technique for trace analysis of organics by capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.* 1984, 289, 171-182.

De Groot, J.J.; Garssen, G.J.; Vliegthart, J.F.; Bolgingh, J.: The detection of linoleic acid radicals in the anaerobic reaction of lipoxygenase. *Biochim. Biophys. Acta* 1973, 326, 279-284.

Deutsches Institut für Normung e.V., Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), DIN 10950-10967.

DGF: Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1994.

Dijksterhuis, G.: On triangle tests and latin squares: a method of producing test plans. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1996, 29, 146-150.

Dittmer, J.C., Lester, R.L.: A simple, specific spray for the detection of phospholipids on thin-layer chromatograms. *J. Lipid Res.* 1964, 5, 126-127.

Doi, Y.; Tsugita, T.; Kurata, T.; Kato, H.: Changes of headspace volatile components of soybeans during roasting. *Agric. Biol. Chem.* 1980, 44, 1043-1047.

Dravnieks, A.; O'Donnell, A.: Principles and some techniques of high-resolution headspace analysis. *J. Agric. Food Chem.* 1971, 19, 1049-1056.

DT Patent 1692567: Verfahren zur Herstellung von wasserlöslichen und/oder wasserdispergierbaren Phosphatidemulgatoren (1967).

DT Patent 1900959: Verfahren zur Herstellung von Pflanzenphosphatiden mit universeller Emulgierkraft (1970).

DT Patent 2063128: Verfahren zur Herstellung von Phosphatidemulgatoren für Öl-in-Wasser und Wasser-in-Öl Emulsionen durch partielle Hydrolyse von natürlichen und modifizierten Pflanzenphosphatiden (1971).

EP Patent 0260573A2: Verfahren zur Herstellung eines hydrolysierten Lecithins, sowie Anwendung des hydrolysierten Lecithins (1988).

EP Patent Nr. 0631787A2: Method for suppressing bitter taste of oral preparation (1995).

Feldheim, W.: Lecithin und Lipidstoffwechsel. *Medizin und Ernährung* 1996, 5, 11-12.

Flider, F.J.: The manufacture of soybean lecithins, in: *Lecithins*. AOCS Monogr., AOCS, Champaign, 1985, 21-37.

Fliedner, I.; Wilhelmi, F.: Grundlagen und Prüfverfahren der Lebensmittelsensorik. Behr's Verlag, Hamburg, 1993.

Frankel, E.N.: Volatile lipid oxidation products. *Prog. Lipid Res.* 1981, 22, 1-12.

Frankel, E.N.: Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *JAOCS* 1984, 61, 1908-1912.

Frijters, J.E.: A critical analysis of the odour unit number and its use. *Chem. Senses and Flavour* 1978, 3, 227-233.

Gassenmeier, K.; Schieberle, P.: Formation of the intense flavor compound trans-4,5-epoxy-(E)-2-decenal in thermally treated fats. *JAOCS* 1994, 71, 1315-1319.

Ghosh, M.; Bhattacharyya, D.K.: Soy lecithin-monoester interchange reaction by microbial lipase. *JAOCS* 1997, 74, 761-763.

Grosch, W.: Lipid degradation products and flavour, in: Food flavours part a. introduction. Morton, I.D.; Macleod, A.J. (Eds.), Elsevier Sci. Pub., New York, 1982.

Grosch, W.: Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. Trends Food Sci. Technol. 1993a, 4, 68-73.

Grosch, W.: Neuere Entwicklungen in der Aromaforschung. Lebensmittelchemie 1993b, 47, 129-134.

Grosch, W.: Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). Flavour Fragrance J. 1994, 9, 147-158.

Grosch, W.: Welche Verbindungen bevorzugt der Geruchssinn bei erhitzten Lebensmitteln? Lebensmittelchemie 1998, 52, 143-146.

Grosch, W.; Laskawy, G.: Untersuchungen über die Beteiligung von Linolsäure am Bittergeschmack von Mohnsamen (*Papaver somniferum*). Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1984, 178, 257-259.

Guadagni, D.G.; Buttery, R.G.; Turnbaugh, J.G.: Odour thresholds and similarity ratings of some potato chips compounds. J. Sci. Food Agric. 1972, 23, 1435-1444.

Guth, H.: Identification of character impact odorants of different white wine varieties. J. Agric. Food Chem. 1997, 45, 3022-3026.

Guth, H.; Grosch, W.: 3-Methylnonane-2,4-dione - an intense odour compound formed during flavour reversion of soya-bean oil. Fat Sci. Technol. 1989, 91, 225-230.

Guth, H.; Grosch, W.: Comparison of stored soya-bean and rapeseed oils by aroma extract dilution analysis. Lebensm. Wiss. Technol. 1990a, 23, 59-65.

Guth, H.; Grosch, W.: Deterioration of soya-bean oil: quantification of primary flavour compounds using a stable isotope dilution assay. Lebensm. Wiss. Technol. 1990b, 23, 513-522.

Guth, H.; Grosch, W.: Detection of furanoid fatty acids in soya-bean oil - cause for the light-induced off-flavour. Fat Sci. Technol. 1991, 93, 249-255.

Guth, H.; Grosch, W.: Quantitation of potent odorants of virgin olive oil by stable-isotope dilution assay. JAOCS 1993, 70, 513-518.

Guth, H.; Grosch, W.: Identification of the character impact odorants of stewed beef juice by instrumental analysis and sensory studies. J. Agric. Food Chem. 1994, 42, 2862-2866.

Ha, E.Y.; Morr, C.V.; Seo, A.: Isoflavone aglucones and volatile organic compounds in soybeans; effects of soaking treatments. J. Food Sci. 1992, 57, 414-417.

Hachenberg, H.; Beringer, K.: Die Headspace-Gaschromatographie als Analysen- und Meßmethode, Vieweg Verlag, Wiesbaden, 1996.

Heiler, C.; Schieberle, P.: Studies on the metallic off-flavour in buttermilk: identification of potent aroma compounds. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1996, 29, 460-464.

Hildebrand, D.H.; Terao, J.; Kito, M.: Phospholipids plus tocopherols increase soybean oil stability. *JAOCS* 1984, 61, 552-555.

Ho, C.T.; Carlin, J.T.: Formation and aroma characteristics of heterocyclic compounds in foods, in: *Flavor chemistry, trends and developments*. Teranishi, R. (Ed.), ACS, Washington, 1989.

Holscher, W.; Steinhart, H.: Investigation of roasted coffee freshness with an improved headspace technique. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1992, 195, 33-38.

Honig, D.H.; Rackis, J.J.; Sessa, D.J.: Isolation of ethyl- α -D-galactopyranoside and pinitol from hexane-ethanol extracted soybean flakes. *J. Agric. Food Chem.* 1971, 19, 543-545.

Huang, A.S.; Hsieh, O.A.; Chang, S.S.: Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste of defatted soybean flour. *J. Food Sci.* 1981, 47, 19-23.

International Organization for Standardization (ISO): ISO 4120; 5121; 5495; 5496; 6658; 8586-2; 8587; 11035.

Jellinek, G.: *Sensorische Lebensmittelprüfung. Lehrbuch für die Praxis*, D&PS Verlag, Pattensen, 1981.

Jewel, N.E.; Nawar, W.W.: Thermal oxidation of phospholipids ; 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphoethanolamine. *JAOCS* 1980, 57, 398-401.

Kalbrenner, J.E.; Warner, K.; Eldridge, A.C.: Flavors derived from linoleic and linolenic acid hydroperoxides. *Cereal Chem.* 1974, 51, 406-416.

Kaluzny, M.A.; Duncan, L.A.; Merritt, M.V.; Epps, D.E.: Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns. *J. Lipid Res.* 1985, 26, 135-140.

Katsuragi, Y.; Kurihara, K.: Specific inhibitor for bitter taste. *Nature* 1993, 365, 213-214.

Kerscher, R.; Grosch, W.: Comparative evaluation of potent odorants of boiled beef by aroma extract dilution and concentration analysis. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1997, 204, 3-6.

Kim, H.; Ho, C., Chang; S.S.: Isolation and identification of volatile flavor compounds in commercial oil-free soybean lecithin. *JAOCS* 1984, 61, 1235-1238.

Kobayashi, A.; Tsuda, Y.; Hirata, N.; Kubota, K.; Kitamura, K.: Aroma constituents of soybean [*glycine max* (L.) *merril*] milk lacking lipxygenase isoenzymes. J. Agric. Food Chem. 1995, 43, 2449-2452.

Kolb, B.; Liebhardt, B.; Ettre, L.S.: Cryofocussing in the combination of gas chromatography with equilibrium headspace sampling. Chromatographia 1986, 21, 305-311.

Kubickova, J.; Grosch, W.: Quantification of potent odorants in camembert cheese and calculations of their odor activity values. Int. Dairy J. 1998, 8, 17-23.

Lange, R.: Lecithinmarkt im Wandel. ZSW 1997, 50.

Lea, C.H.: Methods for determining peroxides in lipids. J. Sci. Food Agric. 1952, 3, 586-594.

Lee, I.; Fatemi, S.H.; Hammond, E.G.; White, P.J.: Quantitation of flavor volatiles in oxidized soybean oil by dynamic headspace analysis. JAOCS 1995, 72, 539-546.

Likens, S.T.; Nickerson, G.B.: Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. Am. Brew. Chem. Proc. 1964, 5.

MacLeod, G.; Ames, J.: Soy flavor and its improvement. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1988, 27, 219-400.

Macrae, R.; Robinson, R.K.; Sadler, M.J.: Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition: fatty acids. Academic Press, London, 1993.

Maga, J.A.: Pyrazine update. Food Rev. Int. 1992, 8, 479-558.

Mahungu, S.M.; Hansen, S.L.; Artz, W.E.: Quantitation of volatile compounds in heated trilinolein by static headspace-capillary gas chromatography / infrared spectroscopy-mass spectrometry. JAOCS 1994, 71, 1169-1171.

Masanetz, C.; Guth, H.; Grosch, W.: Fishy and hay-like off-flavours of dry spinach. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1998, 206, 108-113.

Masuda, H.; Mihara, S.: Olfactive properties of alkylpyrazines and 3-substituted 2-alkylpyrazines. J. Agric. Food Chem. 1988, 36, 584-587.

McGill, A.S.; Hardy, R.: Artefact production in the Likens-Nickerson apparatus when used to extract the volatile flavorous components of cod. J. Sci. Food Agric. 1977, 28, 89-92.

McGill, A.S.; Hardy, R.; Burt, J.R.: Hept-cis-4-enal and its contribution to the off-flavor in cold stored cod. J. Sci. Food Agric. 1974, 25, 1477-1489.

Meijboom, P.W.: Relationship between molecular structure and flavour perceptibility of aliphatic aldehydes. JAOCS 1964, 41, 326-328.

Meijboom, P.W.; Jongenotter, G.A.: Flavor perceptibility of straight chain, unsaturated aldehydes as a function of double-bond position and geometry. *JAOCS* 1981, 58, 680-682.

Meilgaard, M.; Civille, G.V.; Carr, B.T.: *Sensory evaluation techniques*. CRC Press, Florida, 1991.

Milo, C.; Reineccius, G.A.: Identification and quantification of potent odorants in regular-fat and low-fat mild cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 3590-3594.

Mistry, B.S.; Min, D.B.: Oxidized flavor compounds in edible oils, in: *Off-flavors in foods and beverages*. Charalambous G. (Ed.), Elsevier Sci. Pub., New York, 1992.

Moll, C.; Biermann, U.; Grosch, W.: Occurrence and formation of bitter-tasting trihydroxy fatty acids in soybeans. *J. Agric. Food Chem.* 1979, 27, 239-243.

Morrison, W.H.: Sunflower Lecithin. *JAOCS* 1981, 58, 902-903.

Morrison, W.R.; Smith, L.M.: Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* 1964, 5, 600-608.

Mottram, D.S.: Flavor compounds formed during maillard reaction, in: *Thermally generated flavors*. Parliment, T.H. (Ed.), ACS, Washington, 1994.

Mourey, T.H.; Oppenheimer, L.E.: Principles of operation of an evaporative light-scattering detector for liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1984, 56, 2427-2434.

Müller, U.; Weber, W.; Hoffmann, A.; Franke, S.; Lange, R.; Vieths, S.: Commercial soybean lecithins: a source of hidden allergens? *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1998, 207, 341-351.

Ney, K.H.: Bitterness of lipids. *Fette, Seifen, Anstrichm.* 1979, 81, 467-469.

Nieuwenhuyzen, W.: Lecithin production and properties. *JAOCS* 1976, 53, 425-427.

Nieuwenhuyzen, W.: The industrial uses of special lecithins: a review. *JAOCS* 1981, 58, 886-888.

Nieuwenhuyzen, W.; Szuhaj, B.F.: Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions. *Fett/Lipid* 1998, 100, 282-291.

Olsson, N.U.: Advances in planar chromatography for the separation of food lipids. *J. Chromatogr.* 1992, 624, 11-19.

Ott, A.; Fay, L.B.; Chaintreau, A.: Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 850-858.

Pabst, H.M.; Ledl, F.; Belitz, H.D.: Bitterstoffe beim Erhitzen von Prolin und Saccharose. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1984, 178, 356-360.

Pabst, H.M.; Ledl, F.; Belitz, H.D.: Bitterstoffe beim Erhitzen von Saccharose Maltose und Prolin; 2. Mitteilung. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1985, 181, 386-390.

Pabst, H.M.; Ledl, F.; Belitz, H.D.: Bitterstoffe beim Erhitzen von Prolin und Saccharose; 3. Mitteilung. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1988, 186, 311-314.

Pardun, H.: Fortschritte in der Gewinnung und Verarbeitung von Pflanzenlecithinen. Fette, Seifen, Anstrichm. 1982, 84, 1-11.

Pardun, H.: Pflanzenlecithine als Hilfsmittel in der Lebensmittelindustrie. Seifen, Fette, Öle, Wachse 1985, 14, 409-413, 503-505.

Pardun, H.: Pflanzenlecithine - wertvolle Hilfs- und Wirkstoffe? Fat Sci. Technol. 1989, 91, 45-58.

Pedersen, B.: Removing bitterness from protein hydrolysates. Food Technol. 1994, 10, 96-98.

Pietsch, A.; Lorenz, R.L.: Rapid separation of the major phospholipid classes on a single aminopropyl cartridge. Lipids 1993, 28, 945-947.

Pinnel, V.; Vandegans, J.: GC-MS headspace analysis of the volatile components of soya oil without heating the sample. J. High Resolut. Chromatogr. 1996, 19, 263-266.

Pollien, P.; Ott, A.; Montigon, F.; Baumgartner, M.; Munoz-Box, R.; Chaintreau, A.: Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. J. Agric. Food Chem. 1997, 45, 2630-2637.

Preiniger, M.; Grosch, W.: Evaluation of key odorants of the neutral volatiles of emmentaler cheese by the calculation of odour activity values. Lebensm. Wiss. Technol. 1994, 27, 237-244.

Rackis, J.J.; Honig, D.H.; Sessa, D.J.; Moser, H.A.: Lipxygenase and peroxidase activities of soybeans as related to the flavor profile during maturation. Cereal Chem. 1972, 49, 586-597.

Reiners, J.; Grosch, W.: Odorants of virgin olive oils with different flavor profiles. J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 2754-2763.

Roberts, D.D.; Acree, T.E.: Effects of heating and cream addition on fresh raspberry aroma using a retronasal aroma simulator and gas chromatography olfactometry. J. Agric. Food Chem. 1996, 44, 3919-3925.

Rothe, M.: Einführung in die Aromaforschung, Akademie Verlag, Berlin, 1978.

Rothe, M.; Thomas, B.: Aromastoffe des Brotes. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1963, 119, 302-310.

Roy, G.M.: The application and future implications of bitterness reduction and inhibition in food products. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1990, 29, 59-71.

Runge, G.; Steinhart, H.; Schwarz, F.J.; Kirchgessner, M.: Amounts of volatile sulfur compounds in the edible part of carp (*Cyprinus capio* L.) fed different fat and α -tocopherol acetate dietary supplements. Agribiol. Res. 1990, 43, 183-189.

Rychlik, M.; Grosch, W.: Identification and quantification of potent odorants formed by toasting of wheat bread. Lebensm. Wiss. Technol. 1996, 29, 515-525.

Schieberle, P.: Quantitation of important roast-smelling odorants in popcorn by stable isotope dilution assays and model studies on flavor formation during popping. J. Agric. Food Chem. 1995, 43, 2442-2448.

Schieberle, P.: Odour-active compounds in moderately roasted sesame. Food Chem. 1996, 55, 145-152.

Schieberle, P.; Gassenmeier, K.; Guth, H.; Sen, A.; Grosch, W.: Character impact odour compounds of different kinds of butter. Lebensm. Wiss. Technol. 1993, 26, 347-356.

Schieberle, P.; Grosch, W.: Identifizierung von Aromastoffen aus der Krume von Roggenbrot - Vergleich mit den Aromastoffen der Kruste. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1984, 178, 479-483.

Schieberle, P.; Grosch, W.: Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crusts using a stable isotope dilution assay. J. Agric. Food Chem. 1987, 35, 252-257.

Schieberle, P.; Grosch, W.: Changes in concentrations of potent crust odourants during storage of white bread. Flavour Fragrance J. 1992, 7, 213-218.

Schieberle, P.; Hofmann, T.: Untersuchungen zum Einfluß von Herstellungsparametern auf den Aromabeitrag intensiver Aromastoffe in Cystein/Kohlenhydrat-Reaktionsmischungen. Lebensmittelchemie 1996, 50, 105-108.

Schlüter, S.; Steinhart, H.; Schwarz, F.J.; Oberle, M.; Kirchgeßner, M.: Einfluß der Fütterung auf das Aroma von gedünstetem Karpfenfilet (*Cyprinus carpio* L.). Lebensmittelchemie 1996, 50, 109-112.

Schneider, M.: Lecithine - Gewinnung, Eigenschaften und Bedeutung für die industrielle Anwendung. Fat Sci. Technol. 1992, 94, 524-533.

Schneider, M.: Lecithine - hochfunktionelle Zusatzstoffe für Nahrungsmittel. ZFL 1996, 47, 8-10.

Schneider, M.: Phospholipids, in: Lipid technologies and applications. Gunstone, F.D.; Padley, F.B (Eds.), Marcel Dekker, New York, 1997.

Schneider, M.: Industrial production of phospholipids - lecithin processing. Lipid Technol. 1997, 51, 109-116.

Scholfield, C.R.: Composition of soybean lecithin. JAOCS 1981, 58, 889-892.

Schreier, P.: Isolierung von Aromastoffen - Entscheidender Schritt bei der Analyse von Lebensmittelaromen. Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 1987, 41, 25-34.

Scocca, P.M.: Utilization of lecithin. JAOCS 1976, 53, 428-429.

Selke, E.; Frankel, E.N.: Dynamic headspace capillary gas chromatographic analysis of soybean oil volatiles. JAOCS 1987, 64, 749-753.

Semmelroch, P.; Grosch, W.: Studies on character impact odorants of coffee brews. J. Agric. Food Chem. 1996, 44, 537-543.

Semmelroch, P.; Laskawy, G.; Blank, I.; Grosch, W.: Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. Flavour Fragrance J. 1995, 10, 1-7.

Sen, A.; Laskawy, G.; Schieberle, P.; Grosch, W.: Quantitative determination of β -damascenone in foods using a stable isotope dilution assay. J. Agric. Food Chem. 1991, 39, 757-759.

Sessa, D.J.: Biochemical aspects of lipid-derived flavors in legumes. J. Agric. Food Chem. 1979, 27, 234-239.

Sessa, D. J.: Role of phospholipids in flavor problems, in: Lecithins. AOCS Monogr., AOCS, Champaign, 1985, 347-374.

Sessa, D.J.; Plattner, R.D.: Novel furaldehydes from oxidized soy phospholipids. J. Agric. Food Chem. 1979, 27, 209-210.

Sessa, D.J.; Warner, K.; Honig, D.H.: Soybean phosphatidylcholine develops bitter taste on autoxidation. J. Food Sci. 1974, 39, 69-72.

Sessa, D.J.; Warner, K.; Rackis, J.J.: Oxidized phosphatidylcholins from defatted soybean flakes taste bitter. J. Agric. Food Chem. 1976, 24, 16-21.

Siegmund, B.; Leitner, E.; Mayer, I.; Farkas, P.; Sadecka, J.; Pfannhauser, W.; Kovac, M.: Untersuchungen zur Problematik der Extraktion von Aromastoffen mit der simultanen Destillation-Extraktion nach Likens-Nickerson. Dtsch. Lebenm. Rundsch. 1996, 92, 286-290.

Siek, T.J.; Albin, I.A.; Sather, L.A.; Lindsay, R.C.: Taste thresholds of butter volatiles in deodorized butteroil medium. J. Food Sci. 1969, 34, 265-267.

Simpson, T.D.: Fatty acid profile analysis of membrane phospholipids of isolated soybean lipid bodies. JAOCS 1989, 66, 1309-1311.

Smouse, T.H.; Chang, S.S.: A systematic characterization of the reversion flavor of soybean oil. JAOCS 1967, 44, 509-514.

Stolyhwo, A.; Colin, H.; Martin, M.; Guiochon, G.: Study of the qualitative and quantitative properties of the light-scattering detector. *J. Chromatogr.* 1983, 288, 253-269.

Sucan, M.; Russel, K.G.: A novel system for purge and trap with thermal desorption: optimization using tomato juice volatile compounds. *J. High Resolut. Chromatogr.* 1997, 20, 310-314.

Thiele, O.W.: *Lipide, Isoprenoide mit Steroiden*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1979.

Ullrich, F.; Grosch, W.: Identification of the most volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1987, 184, 277-282.

Ullrich, F.; Grosch, W.: Flavour deterioration of soya-bean oil: identification of intense odour compounds formed during flavour reversion. *Fat Sci. Technol.* 1988, 90, 332-336.

Unilever: *Lecithin und Gentechnik*. Unilever-Report, 5/1997.

USDA: Official statistics. Foreign agricultural service; cotton, oilseeds, tobacco and seeds division, 1998.

Van den Dool, H.; Kratz, P.D.: A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 1963, 11, 463-471.

Van der Meeren, P.; Vanderdeelen, J.; Huyghebaert, M.; Baert, L.: Partial resolution of molecular species during liquid chromatography of soybean phospholipids and effect on quantitation by light-scattering. *Chromatographia* 1992, 34, 557-562.

Verleysen, K.; Sandra, P.: Analysis of phospholipids in lecithins. Separation according to hydrophobicity by lowering the temperature. *J. High Resolut. Chromatogr.* 1997, 20, 337-339.

Wagner, R.K.; Grosch, W.: Key odorants of french fries. *JAOCS* 1998, 75, 1385-1392.

Walters, D.E., Roy, G.: Taste interactions of sweet and bitter compounds, in: *Flavor-food interactions*. McGorin, R.J.; Leland, J.V. (Eds.), ACS, Washington, 1996.

Weber, E.J.: Compositions of commercial corn and soybean lecithins. *JAOCS* 1981, 58, 898-901.

Whitfield, F.B.; Last, C.: Vegetables, in: *Volatile compounds in foods and beverages*. Maarse, H. (Ed.), Marcel Dekker Inc., New York, 1991.

Widder, S.; Grosch, W.: Study on the cardboard off-flavour formed in butter. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1994, 198, 297-301.

Wieser, H.; Belitz, H.D.: Zusammenhänge zwischen Struktur und Bittergeschmack bei Aminosäuren und Peptiden. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1975, 159, 65-72.

Wieser, H.; Stempfl, W.; Grosch, W.; Belitz, H.D.: Untersuchungen über den Bittergeschmack von Emulsionen höherer Fettsäuren. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1984, 179, 447-449.

Wiley, M.G.; Przetakiewicz, M; Takahashi, M.; Lowenstein, J.M.: An extended method for separating and quantitating molecular species of phospholipids. Lipids 1992, 27, 295-301.

Yandrasitz, J.R.; Berry, G.; Segal, S.: High-performance liquid chromatography of phospholipids with UV-detection: optimization of separations on silica. J. Chromatogr. 1981, 225, 319-328.

Lebenslauf

von

Andreas Stephan

Persönliche Angaben

Familienstand: verheiratet mit Frau Irina Flohr-Stephan
eine Tochter: Alena Maria Stephan

Staatsangehörigkeit: deutsch

Geburtsdatum: 16. März 1969

Geburtsort: Buchholz i.d.N.

Schulbildung

1975 bis 1978

Vor- und Grundschule in den Schulen Prassekstraße, Hamburg und
Am Schulteich, Seevetal

1979 bis 1988

Gymnasium Meckelfeld, Seevetal

Schüleraustausch Oundle, England und Decatur, USA

Mai 1988

Abschluß der allgemeinen Hochschulreife

Okt. 1988 bis Mai 1990

Zivildienst in der Altenhilfe des Bezirksamtes Harburg, Hamburg

Hochschulstudium

Okt. 1990 bis April 1995

Studium der Lebensmittelchemie an der Universität Hamburg

Lebensmittelchemische Vorprüfung

Sept. 1992

Erste lebensmittelchemische Staatsprüfung

April 1995

Diplom in Lebensmittelchemie

Thema: Entwicklung einer Trennmethode für Phospholipide mittels HPLC/ELSD

Verleihung des „Innovations-Preis der Union Deutsche Lebensmittelwerke 1995“

Jan. 1996

Zweite lebensmittelchemische Staatsprüfung

Sept. 1996

Erlaubnis zum Führen der Berufsbezeichnung Lebensmittelchemiker

Praktika

Mai 1995 bis Okt. 1995

GBA - Gesellschaft für Bioanalytik, Hamburg

Nov. 1995 bis April 1996

HI - Hygiene Institut, Hamburg

Berufserfahrung

seit Okt. 1996

Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Universität Hamburg

Sept. 1999

Abschluß der Promotion in Lebensmittelchemie

Thema: Entwicklung und Beeinflußbarkeit des Flavors von Sojalecithinen

Seevetal, 30.09.1999

Vorträge und Veröffentlichungen

Vorträge

Stephan, A; Steinhart, H.: Optimierung der Flavor-Eigenschaften von Lecithinen für „Functional Drinks“, Deutscher Lebensmittelchemikertag, Hamburg, 13.-15.09.1999.

Stephan, A; Steinhart, H.: Influence of industrial phospholipid processing on the aroma of commercial soybean lecithins, 9th Weurman Flavour Research Symposium, München, 22.-25.06.1999.

Stephan, A; Steinhart, H.: Principal causes of bitterness of soybean lecithins and their sensory influence on selected applications, COST ACTION 96, Oslo, 20.-21.05.1999.

Stephan, A; Steinhart, H.: Einfluß von Sojalecithinen auf den Bittergeschmack von Emulsionen, Regionalverbandstagung Nord, Hamburg, 19.-20.04.1999.

Stephan, A; Steinhart, H.: Influence of commercial soybean lecithins on the bitter taste of emulsions, COST ACTION 96, Athen, 24.-26.09.1998.

Stephan, A; Steinhart, H.: Identifizierung, Quantifizierung und sensorische Charakterisierung wichtiger Aromastoffe von kommerziellen Sojalecithinen, Deutscher Lebensmittelchemikertag, München, 14.-16.09.1998.

Poster

Stephan, A.; Steinhart, H.: Strategies for the reduction of the bitter taste of modified soybean lecithins and their food applications, COST ACTION 96, Udine, 23.-24.09.1999.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Beitrag freier Fettsäuren zum Bittergeschmack von Sojalecithinen, Deutscher Lebensmittelchemikertag, München, 14.-16.09.1998.

Publikationen

Stephan, A.; Steinhart, H.: Strategies for the reduction of the bitter taste of modified soybean lecithins and their food applications, Proceedings of the COST ACTION 96 Meeting, Udine, 23.-24.09.1999, in press.

Stephan, A; Bücking, M; Steinhart, H.: Novel analytical tools for food flavors. Food Res. Int. (1999), submitted.

Stephan, A; Steinhart, H.: Quantification and sensory studies of character impact odorants of different treated soybean lecithins. J. Agric. Food Chem. (1999), in press.

Stephan, A; Steinhart, H.: Identification of character impact odorants of different soybean lecithins. J. Agric. Food Chem. 47 (1999) 2854-2859.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Influence of industrial phospholipid processing on the aroma of commercial soybean lecithins, Proceedings of the 9th Weurman Flavour Research Symposium, München, 22.-25.06.1999, submitted.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Principal causes of bitterness of soybean lecithins and their sensory influence on selected applications, Proceedings of the COST ACTION 96 Meeting, Oslo, 20.-21.05.1999, in press.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Influence of commercial soybean lecithins on the bitter taste of emulsions, in: Interactions of food matrix with small ligands influencing flavour and texture: Volume 4. Guichard, E. (Ed.), European Communities, Luxembourg (1999) 136-142.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Einfluß von Sojalecithinen auf den Bittergeschmack von Emulsionen, Lebensmittelchemie 53 (1999) 87-88.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Beitrag freier Fettsäuren zum Bittergeschmack von Sojalecithinen, Lebensmittelchemie 53 (1999) 4.

Stephan, A.; Steinhart, H.: Identifizierung, Quantifizierung und sensorische Charakterisierung wichtiger Aromastoffe von kommerziellen Sojalecithinen, Lebensmittelchemie 52 (1998) 152.