

Studien über technologiebedingte Veränderungen der Aromaprofile von Fruchtsäften

Dissertation zur Erlangung
des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Sandra Eiß
aus Fürth

Würzburg 2007

Eingereicht am:
bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:

2. Gutachter:

der Dissertation

1. Prüfer:

2. Prüfer:

3. Prüfer:

des öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Februar 2003 bis August 2005 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. P. Schreier am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie der Universität Würzburg durchgeführt. Ihm danke ich für sein mir entgegengebrachtes Vertrauen und für die Freiheit, die Arbeit nach meinen Vorstellungen zu gestalten. Mit wertvollen Hilfestellungen hat er mich an entscheidenden Punkten unterstützt und gefördert.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. Frank Heckel bedanken; für die Einführung in die Geheimnisse der GC-MS-Analytik hätte ich mir keinen besseren Lehrer und Kollegen wünschen können.

Besonderer Dank gilt Herrn Michael Kempf, Frau Silvia Kleinhenz, Herrn Christopher Heppel, Frau Carolin Hamberger, Herrn Steffen Lorenz sowie Frau Christine Hertzog, die mich jeweils im Rahmen ihres Fortgeschrittenenpraktikums tatkräftig unterstützt und somit zum Gelingen dieser Arbeit wesentlich beigetragen haben.

Die Zusammenarbeit mit Frau Christina Preston und Herrn Markus Appel an der IRMS verlief manchmal turbulent, aber trotzdem oder gerade deswegen möchte ich die Zeit nicht missen, vielen Dank!

Ein ganz besonderes Dankeschön geht an Frau Lena Grünewald; ohne ihre Unterstützung und Einweisung in die Probenvorbereitungstechniken der Aroma-Analytik hätte die Arbeit nicht in diesem Zeitrahmen fertig gestellt werden können. Nicht zu vergessen Frau Eva-Maria Rumpel und Frau Theresia Feuerbach, die mir als CTAs zeitweise hilfreich zur Seite standen.

Auch bei den Teilnehmern an den sensorischen Untersuchungen - Herrn M. Appel, Frau A. Erb, Frau L. Grünewald, Herrn Dr. F. Heckel, Herrn W. Hümmer, Frau K. Kahle, Herrn M. Kempf, Frau Dr. A. Meisner, Frau C. Preston, Frau H. Reder, Frau E.-M. Rumpel, Herrn Dr. M. Taupp, Herrn Dr. T. Wickert - möchte ich mich herzlich für das Engagement und das Durchhaltevermögen bedanken.

Ich möchte noch mal all denen „Danke“ sagen, die im Arbeitskreis zu der guten Atmosphäre beigetragen haben und immer ein offenes Ohr für mich hatten. Vor allem bedanke ich mich bei Frau Kathrin Kahle, Herrn Wolfgang Hümmer und Frau Christina Preston für die

entstandene Freundschaft sowie bei Herrn Dr. Michael Kraus und Herrn Dr. Marcus Taupp für die schöne Zeit in Erlangen. Danke auch allen Korrekturlesern dieser Arbeit und dem ‚Organisator‘ Michael Kempf.

Dank geht auch an das Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit via FEI (Forschungskreis der Ernährungs-industrie e.V.) und AiF (Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen "Otto von Guericke" e.V., Köln). Der Schutzgemeinschaft der Fruchtsaftindustrie e.V. (SGF), Nieder-Olm, sei auch an dieser Stelle für die Bereitstellung von ihr als authentisch beurteilten Proben gedankt.

An die erste Stelle gehört eigentlich der Dank an meine Eltern und meine Schwester Claudia, die mich meinen eigenen Weg haben finden lassen und mich in allen Formen jederzeit unterstützt haben.

“The world is a looking-glass, and gives back to every man the reflection of his own face.
Frown at it, and it will in turn look sourly upon you;
laugh at it and with it, and it is a jolly kind companion;
and so let all young persons take their choice.”

– *William Makepeace Thackeray, aus 'Vanity Fair'*

Inhaltsverzeichnis:

Veröffentlichungen	V
Erläuterungen	VIII
Verzeichnis der Abkürzungen	IX
Zusammenfassung	XI
Summary	XIV
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Kenntnisstand	3
2.1 Fruchtsaftherstellung	3
2.1.1 Wichtige Herstellungsschritte und Begriffsklärung	3
2.1.2 Einflüsse auf das Aromaprofil während der Fruchtverarbeitung	6
2.1.3 Rechtliche Regelungen	6
2.2 Überblick über Botanik, Verwertung und Aromaprofil einzelner Früchte	8
2.2.1 Ananas.....	8
2.2.2 Passionsfrucht	10
2.2.3 Pfirsich	13
2.2.4 Orange.....	15
2.2.5 Apfel	21
2.3 Analyse von flüchtigen Inhaltsstoffen	25
2.3.1 Gaschromatographische Methoden.....	25
2.3.2 Stabilisotopenanalytik	26
2.4 Sensorik	30
3 Ergebnisse und Diskussion	33
3.1 Ananas.....	33
3.1.1 Aromaprofil Ananas.....	33
3.1.1.1 Frischfrucht.....	33

3.1.1.1.1	Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie-(HRGC-MS)-Analytik ..	33
3.1.1.1.2	Headspace-Analytik.....	36
3.1.1.1.3	Nacherntestudie	41
3.1.1.2	Saft	47
3.1.1.3	Aroma	48
3.1.1.4	Saftkonzentrat	50
3.1.1.5	Konfitüren.....	51
3.1.2	2-Ethylhexansäure.....	52
3.2	Aromaprofil Passionsfrucht.....	55
3.2.1	Saft	55
3.2.2	Aroma.....	56
3.2.3	Saftkonzentrat	57
3.3	Aromaprofil Pfirsich.....	59
3.3.1	Püree und Püreekonzentrat.....	59
3.3.2	Saftkonzentrate.....	61
3.3.3	Aroma.....	61
3.4	Orange.....	63
3.4.1	Aromaprofil Orange.....	63
3.4.1.1	Saft	63
3.4.1.2	Aroma	65
3.4.1.3	Saftkonzentrat	66
3.4.1.4	Essenz- und Schalenöl.....	67
3.4.2	Synthese von ¹³ C-markierten Verbindungen als Standards zur Stabilisotopen- Verdünnungsanalyse (SIVA).....	70
3.4.2.1	Synthese von ¹³ C-markiertem Limonen.....	71
3.4.2.2	Synthese von zweifach ¹³ C-markiertem α-Terpineol.....	72
3.4.2.3	Praktische Anwendungen der Syntheseprodukte als Standards in der Stabil- isotopenverdünnungsanalyse (SIVA)	73
3.4.2.3.1	Kosmetikproben	73
3.4.2.3.2	Orangensäfte	77
3.5	Apfel.....	80
3.5.1	Aromaprofil Apfel.....	80
3.5.1.1	Saft	80

3.5.1.2	Aroma	82
3.5.1.3	Saftkonzentrat	83
3.5.2	2/3-Methyl-1-butanol und 2/3-Methyl-1-butylacetat	83
3.5.3	Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)	85
3.6	Sensorik	91
4	Experimentalteil	101
4.1	Untersuchungsmaterial	101
4.1.1	Früchte	101
4.1.2	SGF- und Industrie-Probenmaterial	101
4.1.3	Handelsware	102
4.1.3.1	Fruchtsäfte für die Aromaanalyse	102
4.1.3.2	Babynahrung und Fruchtsäfte für die Analyse von 2-Ethylhexansäure	103
4.1.3.3	Kosmetikproben für die Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse	103
4.2	Chemikalien	103
4.3	Verbrauchsmaterialien Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)	104
4.4	Geräte	104
4.4.1	Kapillargaschromatographie (HRGC)	104
4.4.2	Headspace-Kapillargaschromatographie (HS-HRGC)	104
4.4.3	Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS)	105
4.4.3.1	HRGC-MS System 1	105
4.4.3.2	HRGC-MS System 2	106
4.4.4	Multidimensionale Gaschromatographie-Massenspektrometrie (MDGC-MS)	106
4.4.5	Kapillargaschromatographie-Isotopenverhältnismassenspektrometrie (HRGC-IRMS)	107
4.4.6	Elementaranalysatoren	108
4.4.7	Kernresonanzspektroskopie (NMR)	108
4.4.8	sonstige Geräte	109
4.5	Allgemeine Arbeitsvorschriften	109
4.5.1	Probenvorbereitung	109
4.5.1.1	Früchte	109
4.5.1.2	Säfte, Konzentrate und Aromen	109

4.5.1.3	Essenz- und Schalenöle	109
4.5.1.4	2-Ethylhexansäure	109
4.5.2	Extraktion.....	110
4.5.2.1	Simultane Destillation-Extraktion (SDE).....	110
4.5.2.2	Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE)	110
4.5.2.3	Headspace-Analysen und Headspace-Festphasen-Mikroextraktion (Headspace-SPME).....	110
4.6	Identifizierung und Quantifizierung	111
4.7	Synthesen	112
4.7.1	¹³ C-markiertes Limonen.....	112
4.7.1.1	Synthese von 4-Acetyl-1-methylcyclohexen	112
4.7.1.2	Synthese von Methyltriphenylphosphoniumiodid	112
4.7.1.3	Wittig-Reaktion zu ¹³ C-markiertem Limonen.....	113
4.7.2	¹³ C-markiertes α-Terpineol.....	114
4.7.2.1	Bildung des Grignard-Reagenz.....	114
4.7.2.2	Synthese des 4-Methylcyclohex-3-en-1-carbonsäuremethylesters	115
4.7.2.3	Grignard-Reaktion zu zweifach markiertem α-Terpineol	115
4.7.3	Standardkalibrierung.....	116
4.8	Sensoriktests	117
4.8.1	Materialien für Sensoriktests	117
4.8.2	Panel	117
4.8.3	Durchführung.....	118
4.8.4	Auswertung	118
5	Strukturmatrix.....	120
6	Literatur	125
7	Anhang	147

Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits an folgenden Stellen veröffentlicht:

Originalpublikationen:

Elss, Sandra; Kempf, Michael; Heppel, Christopher; Hamberger, Carolin; Lorenz, Steffen; Schreier, Peter. Synthesis of ^{13}C -labelled limonene and its use for stable isotope dilution assay in cosmetics. *Anal. Chim. Acta*, submitted.

Elss, Sandra; Kleinhenz, Silvia; Schreier, Peter. Odour and taste thresholds of potential carry-over/ off-flavor compounds in orange and apple juice. *LWT-Food Sci. Tech.*, online veröffentlicht am 25.01.2007.

Stingel, Dana; Feldmeier, Peter; Richling, Elke; Kempf, Michael; Elss, Sandra; Labib, Samira; Schreier, Peter. Urinary 2-ethyl-3-oxohexanoic acid as major metabolite of orally administered 2-ethylhexanoic acid in human. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2007**, 52, 301-306.

Herbach, Kirsten M.; Stintzing, Florian C.; Elss, Sandra; Preston, Christina; Schreier, Peter; Carle, Reinhold. Isotope ratio mass spectrometrical analysis of betanin and isobetanin isolates for authenticity evaluation of purple pitaya-based products. *Food Chem.* **2006**, 99, 204-209.

Elss, Sandra; Preston, Christina; Appel, Markus; Heckel, Frank; Schreier, Peter. Influence of technological processing on apple aroma analysed by high resolution gas chromatography mass spectrometry (HRGC-MS) and on-line gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-C/P-IRMS). *Food Chem.*, **2006**, 98, 269-276.

Elss, Sandra; Preston, Christina; Hertzog, Christine; Heckel, Frank; Richling, Elke; Schreier, Peter. Aroma profiles of pineapple fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and pineapple products. *LWT-Food Sci. Tech.*, **2005**, 38, 263-274.

Elss, Sandra; Grünewald, Lena; Richling, Elke; Schreier, Peter. Occurrence of 2-ethylhexanoic acid in foods packed in glass jars, *Food Add. Cont.*, **2004**, 21, 811-814.

Tauer, Andreas; Elss, Sandra; Frischmann, Matthias; Tellez, Patricia; Pischetsrieder, Monika. Influence of Thermally Processed Carbohydrate/Amino Acid Mixtures on the Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 2042-2046.

Preston, Christina; Richling, Elke; Elss, Sandra; Appel, Markus; Heckel, Frank; Hartlieb, Ariane; Schreier, Peter. On-line gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-C/P-IRMS) of pineapple (*Ananas comosus*) volatiles, *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 8027-8031.

Elss, Sandra; Preston, Christina; Hertzog, Christine; Richling, Elke; Schreier, Peter. Über das Aromaprofil der Ananas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). Eine Nachernte-Studie. *Flüssiges Obst*, **2003**, 70, 734-737.

Posterbeiträge:

Kleinhenz, Silvia; Elss, Sandra; Kempf, Michael; Schreier, Peter. Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte von potentiellen carry-over/off-flavour Komponenten in Orangen- und Apfelsaft. GDCh-Regionaltagung Bayern, Würzburg, 13. März **2007**.

Stingel, Dana; Feldmeier, Peter; Richling, Elke; Elss, Sandra; Schreier, Peter. Kontamination von Lebensmitteln mit 2-Ethylhexansäure - Studien zur Metabolisierung und Ausscheidung. 35. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Dresden, 18.- 20. September **2006**.

Elss, Sandra; Preston, Christina; Appel, Markus; Heckel, Frank; Schreier, Peter. Technologiebedingter Einfluss auf das Apfelaromaprofil: HRGC-MS und HRGC-C/P-IRMS-Studien. 34. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Hamburg, 19.-21. September **2005**.

Preston, Christina; Elss, Sandra; Kohlhepp, Stefanie; Appel, Markus; Heckel, Frank; Schreier, Peter. Stabilisotopenanalytik: Erfassung und Bewertung von technologie-bedingten Isotopeneffekten von Aromastoffen. 34. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Hamburg, 19.-21. September **2005**.

Herbach, Kirsten M.; Stintzing, Florian C.; Elss, Sandra; Preston, Christina; Schreier, Peter; Carle, Reinhold. Authenticity evaluation of purple pitaya-based products by stable isotope ratio determination of betanin and isobetanin isolates. 34. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Hamburg, 19.-21. September **2005**.

Elss, Sandra; Richling, Elke; Preston, Christina; Appel, Markus; Heckel, Frank; Schreier, Peter. Ananas-Aromastoffe: Aromaprofil und Stabilisotopen-Analytik. 32. Deutscher Lebensmittelchemikertag, München, 08.-11. Oktober **2003**.

Vortrag:

Elss, Sandra; Richling, Elke; Schreier, Peter. Technologiebedingte Veränderungen des Profils flüchtiger Inhaltsstoffe von Fruchtsäften. VdF-Professoren-Meeting, Freising, 05./06. November **2003**.

Preis

Wissenschaftlicher Verbraucherschutzpreis 2006

1. Preis für die Arbeit „Occurrence of 2-ethyl hexanoic acid in foods packed in glass jars“
(www.lgl.bayern.de/presse/2006/28-06.htm)

Erläuterungen

- Ausgewählte Aromastoffe sind mit fettgedruckten arabischen Zahlen chronologisch nach Nennung im Text durchnummeriert. Die unter Abschnitt 5 aufgeführte Strukturmatrix fasst die Verbindungen im Überblick zusammen.
- Die abgebildeten Spektren und Chromatogramme wurden unter Verwendung der Originaldaten erstellt
- Gesetzlich geschützte eingetragene Warenzeichen sind im Text durch den Zusatz „®“ gekennzeichnet

Verzeichnis der Abkürzungen

2-EHA	2-Ethylhexansäure
Abb.	Abbildung
AEVA	Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse
AIJN	Europäischer Fruchtsaftverband (Association of the industry of juices and nectars from fruits and vegetables of the European Union)
AIR	Internationaler Standard: Luft-Stickstoff
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMVEL	Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft
CAM	Crassulacean Acid Metabolism – Crassulaceen-Säurestoffwechsel
df	Filmdicke der stationären Phase (GC)
DEHA	Diethylhexyladipat
DEHP	Di-(2-ethylhexyl)-phthalat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DVB	Divinylbenzol
EA	Elemental Analyzer, Elementaranalysator
EA-IRMS	Elemental Analyzer-Isotope Ratio Mass Spectrometry
EA-C/P-IRMS	Elemental Analyzer-combustion/pyrolysis-Isotope Ratio Mass Spectrometry
EFSA	European Food Safety Authority - Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit
EI	Electron Ionization – Elektronenstoß-Ionisation
FMC	Food Machinery Corporation
FruchtsaftV	Fruchtsaft-Verordnung
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
GC	Gaschromatograph, Gaschromatographie
GC-C/P-IRMS	Gas Chromatography-combustion/pyrolysis-Isotope Ratio Mass Spectrometry
GC-IRMS	Gaschromatographie direkt gekoppelt mit Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GC-O	Gaschromatographie-Olfaktometrie
HRGC	High Resolution Gas Chromatography – Kapillargaschromatographie
HRGC-MS	Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie
HS	Headspace
HS-HRGC	Headspace- Kapillargaschromatographie
IAEA	International Atomic Energy Agency – Internationale Atomenergiebehörde
i.d.	inner diameter – innerer Durchmesser

IRMS	Isotope Ratio Mass Spectrometry – Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
LLE	Liquid liquid extraction – Flüssig-Flüssig-Extraktion
MDGC	Multidimensionale Gaschromatographie
MDGC-MS	Multidimensionale Gaschromatographie-Massenspektrometrie
MS	Mass Spectrometry, Mass Spectrometer – Massenspektrometrie, Massenspektrometer
<i>m/z</i>	Masse-Ladungsverhältnis
n.b.	nicht bestimmbar
NBS	National Bureau of Standards
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
o.d.	outer diameter – äußerer Durchmesser
PDB	Pee Dee Belemnite
PDMS	Polydimethylsiloxan
PPAR-alpha	Peroxisomen-Proliferator-aktivierender Rezeptor alpha
ppm	parts per million
RSK-Werte	Richtwerte, Schwankungsbreiten und Kennzahlen für Fruchtsäfte
RT	Retention Time – Retentionszeit
SAFE	Solvent Assisted Flavour Evaporation
SD	Standard Deviation – Standardabweichung
SDE	Simultane Destillation-Extraktion
SGF	Schutzgemeinschaft der Fruchtsaftindustrie e.V., Nieder-Olm
SIM	Selected Ion Monitoring
SIVA	Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse
SMOW	Standard Mean Ocean Water
SNIF-NMR [®]	Site-specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy – Stellungsspezifische Isotopenanalyse mittels NMR
SPME	Solid Phase Micro Extraction – Festphasen-Mikroextraktion
Tab.	Tabelle
TASTE	Thermally Accelerated Short Time Evaporator, Hochkurzzeitverdampfer
THF	Tetrahydrofuran
V	Volt
Vs	Voltsekunden (Einheit für die Peakfläche)
V-PDB	Vienna Pee Dee Belemnite
V-SMOW	Vienna Standard Mean Ocean Water
WLD	Wärmeleitfähigkeitsdetektor

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, technologiebedingte Veränderungen im Profil flüchtiger Inhaltsstoffe während der Fruchtsaftverarbeitung aufzuzeigen. Gleichzeitig sollte eine Bewertung von artfremden ‚carry over‘-Aromastoffen erfolgen und deren Einfluss auf das Aromaprofil eines Fruchtsaftes beurteilt werden. Hierzu wurden aus unterschiedlichen Phasen der Fruchtsaferstellung und -verarbeitung authentische Proben (Direktsäfte, Wasserphasen/Recovery-Aromen, Saftkonzentrate) von der Schutzgemeinschaft der Fruchtsaftindustrie (SGF) zur Verfügung gestellt. Ergänzt wurde diese Palette durch industrielle Halb- und Fertigwaren, um Abweichungen vom geforderten authentischen Profil zu definieren. Es kamen dabei für die Fruchtsaftverarbeitung wesentliche Fruchtarten (Apfel, Orange, Ananas, Pfirsich und Passionsfrucht) zur Anwendung.

Die Bestimmung der Aromaprofile erfolgte anhand validierter qualitativer und quantitativer Aromastoffanalytik. Nach Abtrennung und Anreicherung der Aromastoffe mittels Simultaner Destillation-Extraktion (SDE) wurden die Extrakte per Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS) analysiert. Durch den Einsatz sensorischer Untersuchungen wurden Schwellenwerte von ausgewählten ‚carry over‘-Aromastoffen und ‚off-flavour‘-Komponenten in fünf verschiedenen Matrices (Modellösungen sowie Apfel- und Orangensäfte) ermittelt. Zusammenfassend lässt sich an Einzelergebnissen festhalten:

- Das bei Ananasfrüchten erhaltene Aromaprofil entsprach weitgehend Literaturangaben. Während bei den geprüften Recovery-Aromen partiell gute Übereinstimmung mit dem Aromaprofil der Frucht gefunden wurde, war bei den Handelssäften aus Konzentrat meist nur die jeweils bei den entsprechenden Saftkonzentraten ermittelte, praktisch nur von Furaneol[®] determinierte Aromastoffzusammensetzung zu finden. Die geprüften Direktsäfte – sieht man von ihren vergleichsweise hohen Acetoinanteilen ab – zeigten fruchtähnliche Aromaprofile.
- Um das vollständige Ananas-Aromaprofil von Ananasfrüchten zu erfassen, wurden zusätzlich Headspace-Analysen durchgeführt. Hierbei wurde auch die Aromastoffverteilung im Quer- und Längsschnitt der Früchte näher untersucht: Die Konzentration an flüchtigen Verbindungen nimmt vom inneren Fruchtkörper zum Rand hin ab.
- Bei Nach-Ernte-Studien von Ananasfrüchten sind zeit- und sortenabhängig Änderungen des Esterprofils festgestellt worden. Deutlich wurde dies insbesondere bei der Sorte MD2 anhand der Anteile an Methyl- und Ethyl-2-methylbutanoat:

Einer zeitabhängigen Zunahme des Ethylesters entsprach eine Abnahme des Methylesters, wohingegen bei der Sorte Smooth Cayenne beide Ester in gleichem Verhältnis kontinuierlich zunahmen. Die bei diesen beiden Sorten erhaltenen Ergebnisse zeigen die Schwierigkeiten einer zuverlässigen Bewertung des Reifezustands von Ananasfrüchten ausschließlich anhand der Mengenverhältnisse von Estern, wie dies kürzlich vorgeschlagen worden ist.

- 2-Ethylhexansäure (2-EHA) wurde als technologiebedingte Kontaminante in Fruchtsäften und Babynahrung festgestellt. In 80% bzw. 73% der geprüften Babynahrung- und Fruchtsaftproben – darunter auch „Bio“-Produkte – wurde die Substanz nachgewiesen. Die im Tierversuch als teratogen eingestufte Verbindung migriert aus den Deckel-Dichtungen der Glasverpackungen in das Lebensmittel. Es wurden Gehalte von 0,25 bis 3,2 mg/kg und 0,01 bis 0,59 mg/l 2-Ethylhexansäure in den belasteten Babynahrungs- und Fruchtsaftproben ermittelt.
- Die untersuchten Passionsfrucht-Recovery-Aromen zeigten ein fast deckungsgleiches Bild mit dem Aromaprofil der „single strength“-Säfte. Selbst das Passionsfruchtkonzentrat enthielt neben Furfural noch wesentliche Anteile charakteristischer Passionsfrucht-Aromakomponenten. Ein ähnliches Bild lieferten die analysierten Pfirsichproben.
- Orangensaft-Fertigprodukte wiesen im Vergleich zu authentischen „single strength“-Proben einen niedrigeren Gehalt an Aromastoffen auf. Empfindliche Aromastoffe wie Ethyl-2-methylbutanoat und Z-3-Hexenal sind in den analysierten Handelsproben nicht mehr detektiert worden.
- Die Verbindungen Ethylbutanoat, Hexanal und Z-3-Hexenal wurden nur im Essenzöl von Orangen nachgewiesen, nicht aber in Schalenölproben. Allerdings waren Ethylbutanoat nur in 64%, Hexanal nur in 67% und Z-3-Hexenal nur in 55% aller als authentisch deklarierten Essenzölproben nachweisbar. Eine eindeutige Unterscheidung von (wertvollem) Orangen-Essenzöl und (geringwertigerem) Orangen-Schalenöl ist derzeit ausschließlich anhand von HRGC-MS ermittelter Aromaprofile nicht möglich.
- Um ¹³C-markierte Standards zur Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) zu erhalten, wurden entsprechende Synthesen für die wichtigen Komponenten des Orangenaromas, Limonen und α -Terpineol, durchgeführt. Mittels SIVA ist es

möglich, diese Verbindungen in Orangensäften, aber auch z.B. in Kosmetika exakt zu quantifizieren (Limonen zählt zu den Duftstoffen, die allergenes Potential besitzen und ab einem bestimmten Gehalt in Kosmetika gekennzeichnet werden müssen).

- Als Hauptkomponenten des Aromaprofils von Apfelsäften und Recovery-Aromen sind die Verbindungen 1-Butanol, 1-Hexanol, *E*-2-Hexenal, *E*-2-Hexenol und Butylacetat bestätigt worden. Das produzierte Saftkonzentrat enthält neben Erhitzungsprodukten wie Furfural keine charakteristischen Apfelaromastoffe mehr.
- Das ubiquitäre Auftreten in allen industriell frisch gepressten Apfelsäften von 3-Methyl-1-butanol und dessen Acetat, beides bekannte Indikatoren für Gärprozesse, scheint technologisch schwer vermeidbar zu sein. Die große Spanne von minimal 0,01 mg/l bis hin zu maximalen 2,1 mg/l 3-Methyl-1-butanol in Apfelsaft macht aber deutlich, dass sich der Gehalt an fermentativ gebildeten Komponenten während der Fruchtsaftverarbeitung durchaus gering halten kann. Eine legislative Regulierung zum Vorkommen dieser Stoffe in Apfelsaft ist erforderlich.
- Bei der destillativen Recovery-Aroma-Gewinnung aus Apfelsäften zeigte sich die Tendenz einer leichten Abreicherung der $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Saft zu korrespondierendem Destillat. Anhand von Korrelationen der ermittelten $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Daten von 1-Hexanol, *E*-2-Hexenal und *E*-2-Hexenol wird deutlich, dass eine Authentizitätsbewertung aber von diesem marginalen Effekt nicht berührt wird.
- Die detektierten Spuren an Fremdaromen zeigen, dass es unter der technologisch üblichen Produktions- und Reinigungspraxis zu Kontaminationen von artfremden Aromastoffen im Verlauf der Fruchtsaftherstellung kommen kann. Die Kombination aus ermittelten Schwellenwerten von „carry-over“-Aromastoffen und deren tatsächliches Auftreten in Fruchtsäften zeigte, dass keine sensorische Beeinträchtigung der Produkte vorliegt. Ein höheres Potential, Produkte negativ zu beeinflussen, bergen die in Orangensäften in relevanten Gehalten nachgewiesenen „off-flavour“-Komponenten α -Terpineol und Carvon.

Summary

The aim of this study was to elucidate technologically caused changes in the profile of volatile components during fruit juice processing. In addition, the occurrence of 'carry-over' aroma compounds foreign to the species and their influence on the aroma profile should be evaluated. For this, authentic samples from different stages of the fruit juice processing, i.e. 'single strength'-juices, water phases/recovery aromas, and fruit juice concentrates, were provided by the Schutzgemeinschaft der Fruchtsaftindustrie (SGF). Included were also industrial semi-finished products and fruit juices purchased in supermarkets, to define variations from the authentic profile. The most important species used for fruit juice processing (apple, orange, pineapple, peach, and passion fruit) were considered.

The determination of aroma profiles was carried out by a validated qualitative and quantitative aroma analysis. Aroma compounds were separated and enriched by simultaneous distillation-extraction (SDE) and subsequently analysed by high resolution gas chromatography-mass spectrometry (HRGC-MS). Using sensory tests the thresholds of selected 'carry-over'-compounds and off-flavour-components in five different matrices were determined. Summarizing, the following informations were acquired:

- The obtained aroma profile of pineapple fruits corresponded to a large extent with that described in the literature. Whereas the recovery aromas accorded, in part, with the profile of the fresh fruit, the pineapple juices made from concentrate showed an aroma profile that was similar to the aroma composition of juice concentrates. These were essentially dominated by furaneol[®]. The commercial 'single strength'-juices under study exhibited, apart from high amounts of acetoin, fruit-like aroma profiles.
- To cover the complete pineapple aroma profile of pineapple fruits, in addition, headspace gas chromatographic analyses were carried out. In the course of these studies, the distribution of aroma compounds in the cross- and longitudinal section of pineapple fruits was also investigated: The concentration of volatile components decreased from the core of the fruit to the peel.
- Time- and cultivar-depending changes in the profile of esters were observed in a HRGC-MS post harvest study of pineapple fruits. These differences were visible by checking the methyl and ethyl 2-methylbutanoates: in the course of ripening of the cultivar MD2 the amount of ethyl ester increased with simultaneous decrease of the

methyl ester. Both esters increased proportionately during the ripening of the variety Smooth Cayenne. These results revealed the difficulties of evaluating the ripening state of pineapple fruits only by considering the ratio of esters, as proposed recently.

- 2-Ethylhexanoic acid (2-EHA) was found as technological contaminant in fruit juices and baby foods. In 80% of the baby food and 73% of the fruit juice samples under study – among them products labelled 'organic' – this substance was identified. Being known as teratogenic and potent carcinogenic compound for rodents, 2-EHA migrates from the plastic askets inside the metal lids into the food. The amounts of 2-EHA ranged from 0.25 to 3.2 mg/kg and 0.01 to 0.59 mg/l in the contaminated baby foods and fruit juices, respectively.
- The passion fruit recovery aromas under study showed an aroma profile which was identical to that of the 'single strength'-juices. Besides furfural the passion fruit concentrate still contained characteristic passion fruit aroma. A comparable result was obtained in our study of peach samples.
- Commercial orange juices contained lower amounts of aroma compounds compared to authentic 'single strength'-juices. Sensitive volatile components like ethyl 2-methylbutanoate and Z-3-hexenal were not detected in the commercial orange juices under study.
- The substances ethyl butanoate, hexanal and Z-3-hexenal were determined only in orange essence oil but not in any orange peel oil. However, ethyl butanoate was identified in 64%, hexanal in 67% and Z-3-hexenal in 55% of all authentic SGF essence oils. An unambiguous differentiation between the high priced orange essence oil and the less valuable orange peel oil is not possible on the basis of HRGC-MS data to date.
- In order to obtain ¹³C-labeled standards for the stable isotope dilution assay, syntheses for important orange flavour compounds, i.e. limonene and α-terpineol were carried out. By means of these standards it was possible to quantify these substances in orange juices and cosmetics (limonene is one of the aroma compounds classified as allergenic and has to be declared on cosmetics containing a defined amount).

- The components 1-butanol, 1-hexanol, *E*-2-hexenal, *E*-2-hexenol, and butyl acetate were verified as main constituents of the aroma profile of apple juices and recovery aromas. Besides heating products such as furfural, the profile of the juice concentrates contained no characteristic apple aroma compounds.
- The ubiquitous occurrence of 3-methyl 1-butanol and its acetate, both known indicators for fermentation processes, seems to be technologically hard to avoid in industrial 'single strength'-juices. The wide range from 0.01 to 2.1 mg/l shows that the yield of 3-methyl 1-butanol can be minimized during fruit juice processing. Legislative regulations to determine limits of the presence of 3-methyl 1-butanol and its acetate in apple juice are necessary.
- Using distillative recovery of apple juice aroma the slight trend of a depletion of $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ values was observed from apple juice to the corresponding recovery aroma. The correlation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - and $^2\text{H}/^1\text{H}$ -values of 1-hexanol, *E*-2-hexenal, and *E*-2-hexenol showed that the authenticity assessment by stable isotope ratio-mass spectrometry is not affected by this negligible effect.
- The detected traces of 'carry-over' components indicate that contaminations of aroma compounds can occur under normal fruit juice production conditions. However, the combination of determined thresholds and the real amounts of the substances in fruit juices showed that the commercial products are not influenced in their sensory quality. 'Off-flavour' components of orange juices, i.e. α -terpineol and carvon, possess with their relevant amounts an increased potential to affect the taste and odour of commercial products.

1 Einleitung und Zielsetzung

Aufgrund ihrer attraktiven sensorischen Eigenschaften sind Fruchtsäfte ein beliebtes Getränk. In Deutschland lag der Pro-Kopf-Verbrauch an Fruchtsäften und Fruchtnektar im Jahr 2005 bei rund 40 Litern; das von der Industrie produzierte Gesamtvolumen an Fruchtsaft, Fruchtnektar und Fruchtsaftgetränken belief sich auf 4 Milliarden Liter. Für den deutschen Verbraucher ist Apfelsaft der beliebteste Fruchtsaft, mit einem jährlichen Pro-Kopf-Verbrauch von 12,4 Litern liegt er noch deutlich vor Orangensaft mit knapp 9 Litern. Bei einem jährlichen Umsatz von 3,5 Milliarden Euro stellt die Fruchtsaftbranche einen wichtigen Marktanteil in der Lebensmittelindustrie dar (Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie e.V.).

Genauso wie sich die Technologie der Fruchtsaftherstellung in den letzten Jahrzehnten weiterentwickelt hat und somit eine bessere Qualität garantieren kann, hat sich auch die Analytik von Fruchtsäften verbessert. Hinsichtlich der Aromaprofile wurden zahlreiche Studien durchgeführt, die allerdings in vielen Fällen nur den Labormaßstab widerspiegeln. Für die Beurteilung von flüchtigen Inhaltsstoffen in Fruchtsäften ist aber insbesondere der technologisch-industrielle Stand von Interesse. Um eine grundlegende Bewertungs-Datenbank für die Aromaprofile von Fruchtsäften zu erhalten, ist es wichtig, zunächst ein umfassendes und möglichst repräsentatives Bild von Fruchtsaft-Aromaprofilen aufzuzeichnen und dabei folgende Fragestellungen zu berücksichtigen:

- Wie verändert sich das Profil flüchtiger Inhaltsstoffe während der Fruchtvorbereitung?
- Treten bei der Fruchtsaftherstellung ‚carry-over‘-Effekte/Kontaminationen fruchtfremder Aromakomponenten auf?
- Welchen Einfluss besitzen Reife-, Ernte- und Nacherntebedingungen auf das Aromaprofil?

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, diese Fragen anhand ausgewählter, einschlägiger Beispiele soweit als möglich zu beantworten. Hierzu wurden authentische Proben (Säfte, Saftkonzentrate und Recovery-Aromen jeweils einer Produktionslinie) von den für die Fruchtsaftindustrie wichtigen Früchten, d.h. Apfel, Orange, Ananas, Pfirsich und Passionsfrucht, analysiert und mit industriellen Halbwaren verglichen. Zusätzlich wurde exemplarisch mit Ananasfrüchten eine Nacherntestudie durchgeführt.

Außer der genannten Fragen stellt die Authentizitätsbewertung einen bedeutsamen Faktor dar. Laut Gesetz müssen bei der Rückverdünnung von Fruchtsäften aus Konzentrat die im Vorfeld abgetrennten Aromadestillate zugesetzt werden. Zum Nachweis, ob die flüchtigen Komponenten tatsächlich ‚ex-fruit‘ sind, bietet sich die Stabilisotopen-Massenspektrometrie als eleganter Lösungsweg an. Zu klären war daher auch, in wiefern

durch die Fruchtverarbeitung Isotopeneffekte auftreten und somit diese eine Authentizitätsbewertung beeinflussen.

Ein wichtiger Themenbereich, der in diesem Zusammenhang nicht fehlen darf, ist die Frage nach der sensorischen Relevanz. Im Hinblick auf mögliche ‚carry-over‘-Komponenten, d.h. Kontaminationen sowie von unerwünschten so genannten ‚off-flavour‘-Produkten (ein Fehlroma verursachende Verbindungen), war anhand sensorischer Tests zu klären, inwieweit das Auftreten dieser Stoffe einen Einfluß auf das Endprodukt und somit auf die sensorische Akzeptanz der betroffenen Produkte hat.

2 Kenntnisstand

2.1 Fruchtsaftherstellung

2.1.1 Wichtige Herstellungsschritte und Begriffsklärung

Die wichtigsten Schritte der großtechnischen Saftherstellung sind in Abbildung 2-1 schematisch dargestellt. Für die Fruchtsaftherstellung werden frische oder durch Kälte haltbar gemachte gesunde Früchte herangezogen, die nicht gegoren und im geeigneten Reifegrad sind. Durch eine vielfältige Auswahl an technologischen Möglichkeiten kann durch Pressen und Entsaften aus Kern-, Stein- und Beerenobst oder Südfrüchten der so genannte ‚Frischsaft‘ (‚single strength Saft‘) gewonnen werden.

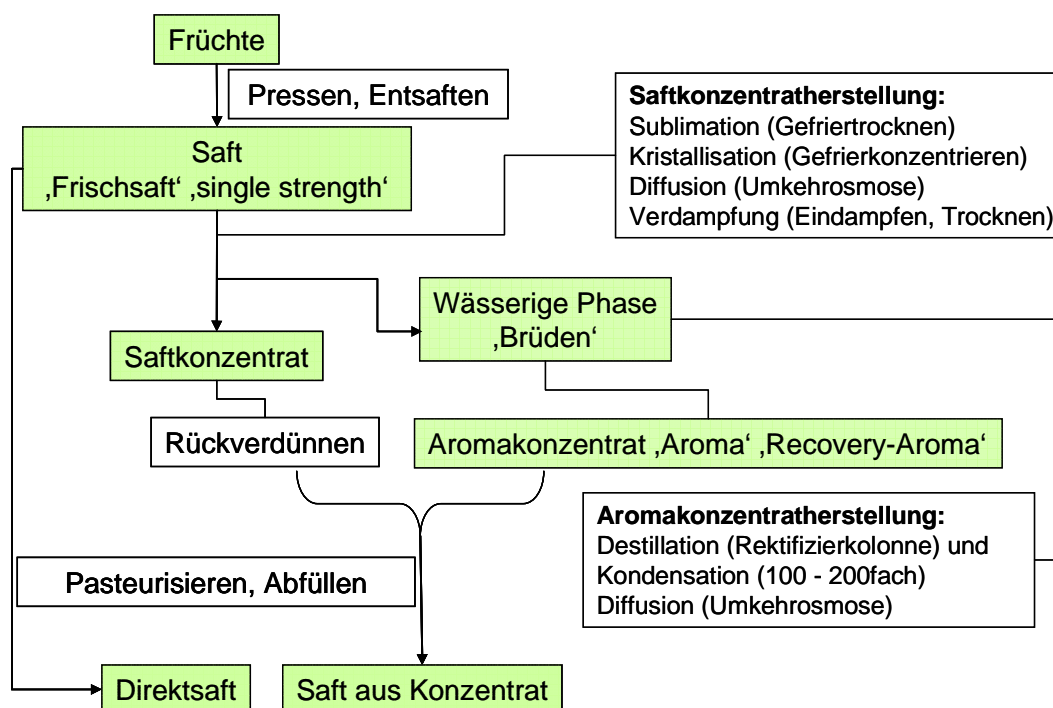


Abbildung 2-1 Schema der Saftherstellung mit Bezeichnungen der einzelnen Zwischenstufen und Produkte (in Anlehnung an Schobinger, 2001).

Nach dem Waschen und Sortieren des Rohmaterials und gegebenenfalls Entsteinen, Entstielen oder Entrappen werden die Früchte zerkleinert. Dazu werden hauptsächlich mechanische Prozesse wie unterschiedliche Obstmühlen, aber auch thermische oder enzymatische Verfahren angewandt. Die Entsaftung selbst beruht in den meisten Fällen noch immer auf einem Pressvorgang. Aufgrund der unterschiedlichen Anforderungen bei

Kernobst, Steinfrüchten, Beerenfrüchten etc. wurden je nach Fruchtart, teilweise sogar gattungsspezifisch, individuelle Techniken zur Saftgewinnung entwickelt. Geeignete Kombinationen aus Vorentsftung, Zerkleinerungsgrad und Druck spielen eine maßgebende Rolle. Zur detaillierten Information über weitere Möglichkeiten der Entsaftung per kontinuierlichen und diskontinuierlichen Verfahren sowie Extraktionsmethoden wird auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Tressler und Joslyn, 1983, Ashurst, 1995, Schobinger, 2001).

Bei der Stabilisierung von Säften stehen zwei wichtige Gesichtspunkte im Vordergrund, die Farb- und die Trubstabilisierung. Durch enzymatische und nicht-enzymatische Bräunungsreaktionen kommt es zu unerwünschten Farbänderungen. Die Inaktivierung von ‚Phenoloxidasen‘ und das Arbeiten unter Sauerstoffausschluss hemmen das Auftreten von enzymatischen Bräunungsreaktionen, zusätzlich kann die Zugabe von L-Ascorbinsäure eine längerfristige Oxidation minimieren. Um Trubstabilisierung zu gewährleisten, werden im Saft die fruchteigenen pektolytischen Enzyme inaktiviert. Gleichzeitig wird mit Hilfe von individuell angepassten ‚Enzymcocktails‘ der Pektinabbau gezielt gesteuert. Weitere Möglichkeiten zur Entfernung von Trubstoffen und anderen unerwünschten Saftinhaltsstoffen bieten der Einsatz von Schönungs- und Adsorptionsmitteln sowie die mechanische Klärung. Bentonit, Gelatine und Kieselsol sind aus der Weintechnologie bekannte Schönungsmittel, die auch in der Saftherstellung für die Erzeugung klarer Säfte verwendet werden. Aufgrund ihrer großen Porosität/Oberfläche sind Aktivkohle und verschiedene Adsorberharze großtechnisch eingesetzte Adsorptionsmittel, die im Gegensatz zu den oben genannten Schönungsmitteln Trubstoffe physikalisch binden und diese dadurch vom Saft abtrennen. Die Klärung der Säfte erfolgt mit Hilfe unterschiedlicher Filtrationsanlagen oder Separatoren.

Zur Haltbarmachung stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung. Neben der klassischen Pasteurisation und anderen durch Temperaturänderung hervorgerufenen Konservierungsmethoden wie Sterilisation und Gefrierkonservierung werden Hochdruckverfahren und die Lagerung unter inerter Schutzgasatmosphäre eingesetzt. Allerdings stellt hierbei die Pasteurisation nach wie vor den weitaus bedeutendsten Verarbeitungsschritt in der Industrie dar. Einerseits müssen Mikroorganismen, die zum Verderb des Produktes führen, abgetötet und andererseits Enzyme inaktiviert werden. Die Auswahl der geeigneten Temperatur und Erhitzungsdauer stellt eine veränderliche Größe dar, die auf den jeweiligen Saft abgestimmt werden muss. Je nach Saftart ergibt sich eine Spannbreite im Temperaturbereich von etwa 60-90°C und Variation in der Kontaktzeit. Grundsätzlich gilt, dass - verglichen mit klaren Produkten - Fruchtfleisch-haltige Säfte aufgrund des erhöhten Enzym- und Keimgehaltes längere Kontaktzeiten benötigen. Mit Hilfe von Plattenwärmetauschern ist es möglich, im Hochtemperatur-Kurzzeitverfahren eine möglichst schnelle

und somit schonende Pasteurisation durchzuführen. Diese erste Haltbarmachung erzeugt lagerfähige Fruchtsäfte, die in sterilen Tanks gelagert werden können. Eine zweite Haltbarmachung, die zu einem lagerfähigen Endprodukt führt, wird großtechnisch entweder über Heißabfüllung, Kaltsterilabfüllung oder durch Berieselungspasteurisation erzielt. Ein über derartige Schritte hergestelltes Enderzeugnis kommt unter der Bezeichnung „Direktsaft“ in den Handel (Ashurst, 1995, Schobinger, 2001).

Eine vornehmlich genutzte Möglichkeit ist neben der Produktion von Direktsäften die Herstellung von Fruchtsäften aus Konzentrat. Saftkonzentrate können lange gelagert und leichter transportiert werden, gerade für beispielsweise die Orangensaftproduktion eine einfache Alternative, die Produkte ganzjährig herzustellen und die Konzentrate kostengünstiger aus den Erzeugerländern nach Deutschland zu importieren. Grundsätzlich wird angestrebt, im Laufe der Konzentration möglichst wenige Änderungen in der chemischen, ernährungsphysiologischen und sensorischen Zusammensetzung zu verursachen. Auch heute wird immer noch dem Großteil aller Säfte per Verdampfen im Vakuum der wesentliche Wasseranteil entzogen. Andere Wege des Wasserentzugs stellen Sublimations- (Gefriertrocknen), Kristallisations- (Gefrierkonzentrierung) und Diffusionsvorgänge (Umkehrosmose) dar. Diese Technologien erzielen - bezogen auf die Zusammensetzung der flüchtigen Inhaltsstoffe - die besten Ergebnisse bei der Konzentrierung, die Umkehrosmose erweist sich zusätzlich noch als energetisch günstiger. Bislang spielen diese Vorgänge großtechnisch jedoch noch eine untergeordnete Rolle.

Um während der thermischen Konzentrierung nicht die wertvollen flüchtigen Aromastoffe des Saftes zu verlieren, wird dieser einer Eindampfung mit Aromagewinnung unterzogen. Dabei wird der Saft entaromatisiert und das Destillat auf das vier- bis sechsfache eingeeengt, diese wässrige Aromaphase wird unter der Bezeichnung ‚Brüden‘ gehandelt. Im Anschluss wird aus der Wasserphase das eigentliche Aromakonzentrat oder ‚Recovery-Aroma‘ per Rektifikation gewonnen; es erfolgt eine Konzentration im Kondensat auf das 100- bis 200fache. Dieser Konzentrationsschritt kann auch in Form von Adsorptions- oder Extraktionsprozessen erfolgen, im üblichen großtechnischen Einsatz werden diese Verfahren allerdings nur für spezielle Produktionen eingesetzt. Als besonders schonend für die empfindlichen flüchtigen Inhaltsstoffe hat sich die Anreicherung der Fruchtsaftaromen mit Umkehrosmose (Diffusion) herausgestellt.

Getrennt können Saftkonzentrate und die fruchteigenen Recovery-Aromen nun individuell gelagert und zum Zurückmischen des Saftes herangezogen werden. Für die Rückverdünnung von Saftkonzentraten wird Trinkwasser herangezogen; die je nach Fruchtart auf 60-75° Brix konzentrierten Halbwaren müssen hierbei auf den spezifischen Brix-Grad von etwa 11-17 eingestellt werden (Beispiel Orangensaft 11.5° Brix, Apfelsaft 12.0° Brix, Ananassaft 12.8° Brix, Traubensaft 17.0° Brix). Vor der Abfüllung muss noch

entsprechend der Anreicherung das entzogene Recovery-Aroma rückgeführt werden; 100 Liter trinkfertiger Saft enthalten einen Liter eines hundertfach aufkonzentrierten Aromakonzentrats. Nach dem Pasteurisieren gelangen diese Säfte als „Fruchtsäfte aus Konzentrat“ in den Handel (Ashurst, 1995, Schobinger, 2001).

2.1.2 Einflüsse auf das Aromaprofil während der Fruchtverarbeitung

Fruchtsäfte besitzen im Vergleich zu den intakten Früchten oftmals ein verändertes Aromaprofil (Morton und MacLeod, 1986). Neben den primären Aromastoffen werden durch Zerkleinerungsvorgänge während der Saftherstellung Enzyme freigesetzt, es kommt zur vermehrten Bildung sog. sekundärer (technologiebedingter) Aromastoffe. Hydrolasen erhöhen durch Spaltung von Fruchtestern den Anteil an den beteiligten Alkoholen und Säuren, mit Hilfe von Luftsauerstoff entstehen über enzymatisch-oxidative Vorgänge charakteristische Aldehyde und daraus deren korrespondierende Alkohole und Säuren (Drawert und Tressl, 1970). Glykosidisch gebundene und somit schwerflüchtige Verbindungen können durch pH-abhängige oder enzymatische Hydrolyse in flüchtige, aromaaktive Komponenten gespalten werden (Krammer *et al.*, 1991). Ebenso kann ein Anteil der primären Aromastoffe während der Aufarbeitung und den weiteren Herstellungsschritten verloren gehen. Gleichzeitig können durch unsachgemäße Behandlung unerwünschte Stoffe gebildet werden. Gärprozesse, Oxidationen und thermale Einflüsse sind Faktoren, die sich negativ auf das Enderzeugnis auswirken können. Mit erhöhter Temperatur, etwa bei der Pasteurisation, steigt auch die Bildung von unerwünschten Maillardprodukten, die den Saft farblich und geschmacklich beeinflussen. Durch das vorherrschende saure Milieu in Fruchtsäften ist das Wachstum von vor allem Hefen, Milchsäurebakterien und Schimmelpilzen zu vermeiden, die unerwünschte Stoffwechselprodukte hervorbringen. Bei der Verarbeitung von überreifem und fauligem Obst können auch beispielsweise ‚Gärungsalkohole‘ von vornherein in den Produktionsablauf eingebracht werden. Zusätzlich können im Verlauf der Lagerung empfindliche Aromastoffe abgebaut oder in sensorisch unattraktive oder störende Komponenten umgewandelt werden.

2.1.3 Rechtliche Regelungen

Rechtlich werden die Anforderungen an Fruchtsäfte in Deutschland in der Fruchtsaftverordnung (FruchtsaftV) geregelt. Zusätzlich existieren Leitsätze für Fruchtsäfte (LMLFruchtsaft), die die allgemeine Verkehrsauffassung für Fruchtsäfte widerspiegeln. Die FruchtsaftV definiert die Begriffe von Fertigerzeugnissen zum unmittelbaren Gebrauch,

hierunter fallen Fruchtsäfte und Fruchtnektare. Fruchtsaftgetränke oder Limonaden sind in den Leitsätzen für Erfrischungsgetränke (LMLErfrGetr) geregelt. Einen Überblick über die Mindest-Fruchtsaftgehalte der einzelnen Produkte liefert Tabelle 2-1. Zur Beurteilung von Fruchtsäften werden die vom Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie e.V. ermittelten und veröffentlichten RSK-Werte herangezogen. Durch eine Vielzahl analysierter Proben wurden Richtwerte, Schwankungsbreiten und Kennzahlen festgelegt, die auch EU-weit als Bewertungsgrundlage der Authentizität von Frucht- und Gemüsesäften dienen. Der europäische Fruchtsaftverband AIJN hat als eigene Veröffentlichung den AIJN-Code of Practice (AIJN-CoP) herausgegeben, um eine Beschreibung des einheitlichen Handelsbrauchs zur Verfügung zu stellen. Es werden neben Qualitätsanforderungen an Fruchtsäfte auch Beurteilungskriterien von Identität und Authentizität geliefert.

Tabelle 2-1 Übersicht über Fruchtsaftgehalte von fruchtsafthaltigen Getränken

	Fruchtsaftgehalt
Fruchtnektar, Beispiele	
Apfel	mindestens 50%
Orange	mindestens 50%
Ananas	mindestens 50%
Pfirsich	mindestens 50%
Passionsfrucht	mindestens 25%
Fruchtsaftschorlen, Beispiele	mind. der Saftgehalt der jeweiligen Nektare
Apfel	mindestens 50%
Johannisbeere	mindestens 25%
Sauerkirsche	mindestens 35%
Fruchtsaftgetränk	
Kernobst oder Trauben	mindestens 30%
Zitrusfrüchte	mindestens 6%
andere Fruchtarten	mindestens 10%
safthaltige Limonaden	
Kernobst oder Trauben	mindestens 15%
Zitrusfrüchte	mindestens 3%
andere Fruchtarten, Mischungen	mindestens 5%

2.2 Überblick über Botanik, Verwertung und Aromaprofil einzelner Früchte

2.2.1 Ananas

Die Ananaspflanze (*Ananas comosus* L.), auch bekannt unter älteren Bezeichnungen wie *Ananas sativa* L., *Bromelia ananas* L. oder *Bromelia comosa* L., gehört zur Familie der Bromeliaceae, eine mehr als 2000 Spezies umfassende Familie. Aus etwa 100 Einzelblüten reift eine Ananasfrucht als fleischiger Beerenfruchtverband oberhalb des rosettenartigen Sprosses heran.

Brasilien und Paraguay gelten als die Ursprungsländer der Ananaspflanzen, Indianer verbreiteten sie in den tropischen Teilen von Süd- und Mittelamerika. Columbus ist es zu verdanken, dass diese wohlschmeckenden Südfrüchte ihren Weg erst nach Spanien und von dort aus im Zuge der Kolonialisierung bis in den südost-asiatischen Raum fanden (Nagy, 1980). Heute zählen zu den Hauptanbaugebieten der jährlich insgesamt 13 Millionen Tonnen Ananasfrüchte neben Thailand (16%) und den Philippinen (12%) auch Brasilien (10%), Indien (7%), Nigeria (6%) und Indonesien (4%) (Ti, 2000). Tropische und subtropische Regionen mit sandigen, nährstoffreichen Böden in geringen Höhen und Temperaturen von 20-45°C bieten ideale Voraussetzungen für die Kultivierung von Ananaspflanzen.

Im internationalen Handel werden die Ananassorten in vier Hauptgruppen eingeteilt: Smooth Cayenne, Red Spanish, Queen und Abacaxi. Jede Hauptgruppe besteht wiederum aus zahlreichen Einzelzüchtungen und regionalen Sonderformen (Nagy, 1980). Die wohl bekannteste Varietät Smooth Cayenne mit ihrem hellgelben Fruchtfleisch, dem mild-säuerlichen Aroma und dem geringen Faseranteil erreicht ein Gewicht von bis zu 4,5 kg und spielt als Frischfrucht sowie in der verarbeitenden Industrie die leitende Rolle. Im Gegensatz dazu werden Früchte der Sorte Queen vor allem frisch verzehrt. Die erhöhte Resistenz gegenüber Krankheiten macht die Früchte lagerfähig, das feine Aroma und das leuchtend gelbe Fruchtfleisch wird vom Verbraucher geschätzt. Ein Durchschnittsgewicht von weniger als 1 kg macht den Einsatz von Ananasfrüchten der Sorte Queen in der Industrie nicht rentabel. Weniger Säure und im Vergleich zu Smooth Cayenne der erhöhte Zuckergehalt in Kombination mit einem tief gelben Fruchtfleisch sind die Kennzeichen der in Hawaii gezüchteten Sorte MD2. Die bis zu 2,5 kg schweren Früchte nehmen als Frischware auf dem Deutschen Markt den Zweiten Platz hinter Smooth Cayenne ein.

Etwa ein Drittel der Weltproduktion an Ananasfrüchten wird industriell weiterverarbeitet. Hiervon macht die Konservierung von Ananasstücken/-scheiben in Dosen den größten Anteil aus; bei dieser Produktion stellt Ananassaft ein Nebenprodukt dar. Für die technologische Verarbeitung zu große oder zu kleine Früchte, der Mittelstrunk, das Fruchtfleisch an der Schale, beschädigte Ananasscheiben, und der beim Zerkleinern ausfließende Saft werden als Ausgangsstoffe herangezogen. Mittels Hammermühlen und

Schneckenpressen wird der Saft gewonnen, eine erhöhte Saftausbeute kann ein Zusatz von Enzymen (Pektinasen, Hemicellulasen und Cellulasen) bewirken. Um oxidative Farb- und Aromaveränderungen zu vermeiden, wird der Ananassaft in einem Entlüftungstank aufgefangen und mit Stickstoff überströmt. Zur Haltbarmachung kann der Saft entweder pasteurisiert, abgefüllt und als Ananasdirektsaft vermarktet werden, oder es wird ein Saftkonzentrat hergestellt. Verdampfer mit Aromarückgewinnungsanlagen sind hier die übliche Wahl; aufgrund des geringen Feststoffanteils ist es technisch einfach, haltbare Ananassaftkonzentrate mit 60 bis 72° Brix zu erzeugen.

Die Untersuchung von Ananas-Aromastoffen wurde in den letzten Jahrzehnten intensiv durchgeführt (Haagen-Smit *et al.*, 1945b, Creveling *et al.*, 1968, Flath und Forrey, 1970, Naef-Mueller und Willhalm, 1971, Ohta *et al.*, 1987, Takeoka *et al.*, 1989, Takeoka *et al.*, 1991, Wu *et al.*, 1991, Umano *et al.*, 1992, Teai *et al.*, 2001, Tokitomo *et al.*, 2005) und in Übersichten zusammengefasst (Flath, 1980, Engel *et al.*, 1990, Berger, 1991). Das Aromaprofil von Ananasfrüchten ist gekennzeichnet von einem hohen Ester-Anteil. Etwa 80% der Aromastoffe sind Ester unterschiedlicher Art, im Vordergrund stehen die aromaintensiven Fruchtester Methyl- und Ethyl-2-methylbutanoat (**1,2**). Daneben sind vor allem Hydroxyester wie Methyl-/Ethyl-3-hydroxybutanoat (**3,4**), Methyl-/Ethyl-3-hydroxyhexanoat (**5,6**) und Methyl-/Ethyl-3-hydroxyoctanoat (**7,8**) und ihre korrespondierenden Acetoxyester wichtige Bestandteile der Esterfraktion. Zu den charakteristischen flüchtigen Verbindungen zählen auch die von Haagen-Smit *et al.* erstmals identifizierten schwefelhaltigen Ester Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**) und Ethyl-3-(methylthio)-propanoat (**10**) (Haagen-Smit *et al.*, 1945a). In hohen Konzentrationen weisen diese Verbindungen einen zwiebelartigen, in geringen einen fruchtigen, ananasartigen Aromaeindruck auf (Burdock, 2004). In Abbildung 2-2 sind die Strukturen dieser Ester zusammen mit weiteren Ananas-typischen Komponenten abgebildet. Rodin *et al.* beschrieben erstmalig die an Karamell erinnernde Verbindung 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (**11**), besser bekannt unter dem Handelsnamen Furaneol[®] (Rodin *et al.*, 1965). Der Methylether von Furaneol[®] (**11**), Methoxyfuraneol oder Mesifuran (**12**), besitzt einen höheren Aromaschwellenwert und wurde zusammen mit Furaneol[®] (**11**) in Ananasfrüchten, aber auch in Erdbeeren oder Mangos beschrieben (Pickenhagen *et al.*, 1981).

Weitere wichtige Ananas-Aromakomponenten sind γ - und δ -Lactone (Engel *et al.*, 1990) sowie verschiedene Sesquiterpene. Die Studie von Berger *et al.* zeigte, dass sich zahlreiche Sesquiterpene wie α -Copaen (**13**), α -Patchoulen (**14**) oder α -Muurolen (**15**) im Aromaprofil von frischen Ananasfrüchten per GC-MS-Analytik nachweisen lassen und dass diese Minorkomponenten durchaus zu dem fruchtig-würzigen Geruch frischer Ananas beitragen (Berger *et al.*, 1983). Zusätzlich konnte die Gruppe um Berger weitere aromaaktive Verbindungen in Ananasfrüchten identifizieren. Die im Spurenbereich (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

enthaltenen Kohlenwasserstoffe 1-(*E,Z*)-3,5-Undecatrien (**16**) und 1-(*E,Z,Z*)-3,5,8-Undecatetraen (**17**) besitzen ein wohlriechendes Aroma und extrem niedrige Geruchsschwellenwerte (Berger *et al.*, 1985).

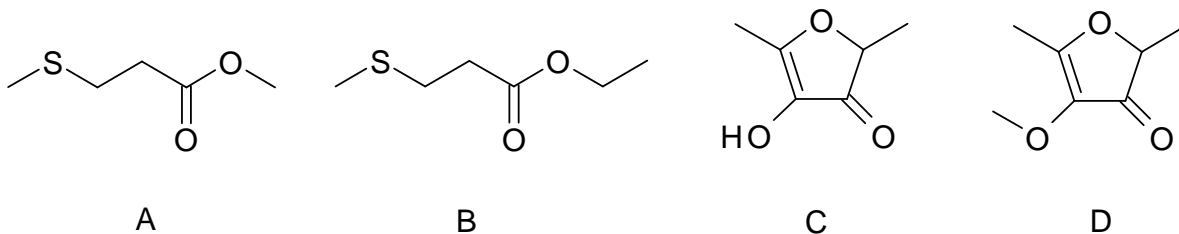


Abbildung 2-2 Strukturen von Methyl-3-(methylthio)propanoat (**9**, A), Ethyl-3-(methylthio)propanoat (**10**, B), 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (Furaneol[®], **11**, C) und 2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanon (Methoxyfuraneol, **12**, D).

Mit Hilfe von Aromaextraktverdünnungsanalysen wurden kürzlich von Tokitomo *et al.* die aromaintensivsten Verbindungen des Ananasaromaprofils frischer Früchte und somit deren Beitrag zum Gesamtaromaeindruck ermittelt (Tokitomo *et al.*, 2005). Als ‚Schlüsselaromastoffe‘ unter Berücksichtigung ihres Vorkommens sowie des spezifischen Aromawerts wurden in absteigender Reihenfolge die Verbindungen Furaneol[®] (**11**), Ethyl-2-methylpropanoat (**18**), Ethyl-2-methylbutanoat (**2**), Methyl-2-methylbutanoat (**1**) und 1-(*E,Z*)-3,5-Undecatrien (**16**) festgelegt. Durch sensorische Test wurden die Aromastoffe Furaneol[®] (**11**) und Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) als eindeutige so genannte ‚flavour impact compounds‘, also für das charakteristische Aroma verantwortliche Hauptnoten von Ananasaroma bestätigt.

2.2.2 Passionsfrucht

Bedeutende Vertreter der Passifloraceae sind die purpurnen Früchte von *Passiflora edulis* Sims. und die gelben Varianten von *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. Neben mehr als 400 bekannten Spezies der Art *Passiflora* liefern diese beiden Pflanzen die wichtigsten Ausgangsfrüchte zur Passionsfruchtsaftherstellung. Mit ihrem Ursprung in Brasilien verbreitete sich die lianenartige Pflanze über die südliche Halbkugel. Heute werden vor allem in Kenia, Südafrika und Australien die purpurfarbenen Früchte, in Brasilien, Hawaii, Sri Lanka und den Fidschi-Inseln die gelben Früchte angebaut (Nagy, 1980). Die aufgrund ihrer lederartigen Schalen auch als „Lederbeeren“ bezeichneten Früchte enthalten einen verschleimten Arillus mit Kernen und Pulpe, der zur Saftherstellung gewonnen wird (Franke,

1997). Zur Saftgewinnung werden bevorzugt die kleineren, intensiv violett gefärbten Passionsfrüchte eingesetzt, da diese einen intensiveren und fruchtigeren Geschmack aufweisen und weniger Säure enthalten als die größeren gelben Passionsfrüchte. Andererseits erweisen sich die Pflanzen der gelben Passionsfrucht als resistenter gegenüber Pilzen und liefern eine höhere Ausbeute an Früchten (Casimir *et al.*, 1981, Landgraf, 1978). Der Saftgehalt in den Früchten wird jeweils mit bis zu 35% angegeben. Bei der Saftgewinnung werden unterschiedliche Verfahren zur Extraktion der Pulpe angewandt. Entweder werden die Früchte geschnitten und die Fruchtteile im Zentrifugalensafter gewonnen, oder durch Quetschen mit rotierenden Kegeln oder Walzen werden die festen Schalen der Früchte zum Platzen gebracht und so die austretende Pulpe erhalten. Diese Saft-Kerne-Mischung wird mit Hilfe von Passiermaschinen, ausgerüstet mit Lochscheiben abnehmender Porung, schrittweise in die Kern- und Saftfraktion getrennt; auch andere Partikel und Fasern werden hierbei entfernt (Casimir *et al.*, 1981, Schobinger, 2001).

Dass die violetten Passionsfrüchte im Vergleich zu der gelben Variante einen höheren Anteil an charakteristischen Aromastoffen besitzen, zeigte sich auch bei den bisher durchgeführten Aromastudien. Chen *et al.* analysierten per Headspace-Technik die unterschiedlichen Gehalte in violetten und gelben Passionsfrüchten und konnten die mengenmäßig erhöhten Anteile an Aromakomponenten des Passionsfruchtaromas von *Passiflora edulis* Sims. aufzeigen (Chen *et al.*, 1982). Das Aroma von Passionsfrüchten wird aus einer komplexen Mischung von über 200 Aromaverbindungen gebildet. Hauptsächlich Ester, aber auch Alkohole, Ketone, Aldehyde und vor allem bestimmte Terpene tragen zum passionsfrucht-typischen Aroma bei (Murray *et al.*, 1972, Winter und Kloeti, 1972). Zu den Hauptkomponenten zählen die Ethyl- und Hexylester von kurzkettigen aliphatischen Säuren wie Essig-, Butter- und Hexansäure, die zu dem tropisch-fruchtigen Aromaeindruck beitragen. Wesentliche Anteile liefern auch die Terpene *trans*-Ocimen (**19**), β -Myrcen (**20**), Limonen (**21**) und Linalool (**22**). In der Literatur werden vielfältige Untersuchungen bezüglich der schwefelhaltigen Aromakomponenten beschrieben. Eine ausführliche Übersicht über die Identifizierung zahlreicher S-haltiger Verbindungen in gelben Passionsfrüchten gibt die Arbeit von Werkhoff *et al.* (1998). Aufgrund der sehr geringen Geruchsschwellenwerte und der damit verbundenen hohen Aromaintensität tragen sie schon in geringen Konzentrationen mit ihrem fruchtigen und für tropische Früchte typischen Aroma bei. Mercapto-Ester besitzen im Vergleich zu den korrespondierenden Methylthio-Estern niedrigere Schwellenwerte, in höheren Konzentrationen rufen die S-haltigen Verbindungen hingegen einen unerwünschten schwefeligen Eindruck hervor (Engel und Tressl, 1991).

Als weitere besondere Inhaltsstoffe des Passionsfruchtaromas wurden in den siebziger Jahren verschiedene Vertreter der Gruppe der Edulane und Megastigmatriene identifiziert. Das Grundgerüst dieser Verbindungen sind Carotinoidpigmente, die im Zuge

der Aromastoffbiosynthese zu aromaintensiven Strukturen umgebaut werden. Edulane, bislang nur in der violetten Passionsfrucht als Spurenkomponente nachgewiesen, tragen mit ihrem blumigem, rosenartigem Aromaeindruck wesentlich zum Passionsfruchtaroma der reifen Früchte bei (Whitfield und Last, 1986, Herderich und Winterhalter, 1991). Da die Edulane sehr hitzeempfindlich sind, werden sie im Verlauf der Fruchtsaftherstellung leicht abgebaut. Auch die als Megastigmatriene bezeichneten Derivate des Cyclohexens werden durch säurekatalytische Oxidation beim Pasteurisieren des frischen Passionsfruchtsafts degradiert. Erstmals entdeckt und identifiziert von Murray *et al.*, 1972, wurde den Isomeren dieser Gruppe mit rosen- und himbeerartigem Aroma ein signifikanter Beitrag zum Aroma von frischen Passionsfrüchten zugeschrieben (Anselmi *et al.*, 2000). Abbildung 2-3 zeigt Strukturen von einem Megastigmatrien und Edulanen, die in violetten Passionsfrüchten identifiziert wurden.

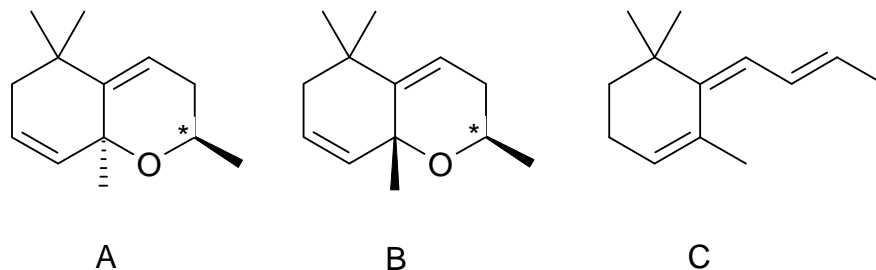


Abbildung 2-3 Strukturen von Edulan I (**23**, A), Edulan II (**24**, B) und 6-(But-2'-enyliden)-1,5,5-trimethyl-1-cyclohexen (**25**, C). Es wurden verschiedene Stereoisomere von C aufgeklärt (Anselmi *et al.*, 2000).

Bislang wurden nur wenige Studien bezüglich der Aromaprofil-Änderung im Verlauf der Reifung und Nachernte durchgeführt. In grünen, unreifen Früchten wurden vor allem Monoterpene, aliphatische Alkohole und Carbonylverbindungen nachgewiesen (Casimir *et al.*, 1977-1978). Während der Reifung werden diese Verbindungen, wie z.B. Linalool (**22**) oder Hexanal (**26**), abgebaut und aliphatische Ester sowie aus Carotinoid-Vorstufen entstehende Aromastoffe neu gebildet. In einer Nacherntestudie konnten Narain und Bora zeigen, dass innerhalb von 15 Tagen Lagerung unterschiedliche Reaktionen ablaufen (Narain und Bora, 1992). Die mengenmäßig in vollreifen Passionsfrüchten vorherrschenden Fruchtester Ethylbutanoat (**27**), Ethylhexanoat (**28**) und Hexylbutanoat (**29**) nahmen rapide und kontinuierlich ab, andere Komponenten wie das unerwünschte Ethylacetat (**30**) oder 2-Heptanon (**31**) hingegen stiegen in ihren Konzentrationen. Auch wurde bislang nur wenig über die Analyse von industriellen Halbwaren wie Passionsfruchtsaftkonzentrate oder wässrige Aromakonzentrate in der Literatur beschrieben. 2002 gelang es Jordan *et al.*

2-Methylbutylhexanoat (**32**) aus einer kommerziellen Aromaphase von gelben Passionsfrüchten erstmalig zu identifizieren und per Aromaextraktionsverdünnungsanalyse (AEVA) als sehr aromaintensive Verbindung zu bestimmen (Jordan *et al.*, 2002). Versuche zur schonenden Konzentratherstellung durch osmotische Evaporation wurden von Shaw *et al.*, 2001, durchgeführt und zeigten einen Verlust von 39% der flüchtigen Inhaltsstoffe bei Passionsfruchtsaftkonzentraten.

2.2.3 Pfirsich

Die Früchte der Art *Prunus persica* (L.) BATSCH var. *persica* gehören zu der Familie der Rosaceae. Ursprünglich aus China stammend - auch heute noch das größte Erzeugerland von Pfirsichen - hat diese Steinfrucht nach und nach Europa und die USA erobert (Franke, 1997). Hauptsächlich werden die empfindlichen Früchte als Frischobst oder Konserven verzehrt, aber auch Pfirsichkonfitüren oder Pfirsichgetränke werden produziert. Aus Pfirsichen wird hierzu großtechnisch Pfirsichpüree oder Pfirsichmark gewonnen und zu Fruchtnektaren und Fruchtsaftgetränken für den Handel weiterverarbeitet. Fruchtmark stellt im eigentlichen Sinn flüssiges Obst dar, unter Nektar versteht man die Suspension der Pulpe im Serum. Da Pfirsiche reich an Fruchtfleisch sind, liefern sie relativ stabile Nektare, deren Pulpe/Serum-Verhältnisse > 1 sind. Als „Pfirsichnektar“ ist dem Verbraucher allerdings ein Getränk aus Wasser, Zucker und einem Mindest-Fruchtanteil von 50% ein Begriff (Handschuh, 1996, Ding und Weger, 1997, Unterholzner, 1999).

Die Herstellung von Fruchtmark oder Fruchtmarkkonzentraten beginnt mit dem Waschen der Früchte. Besonders geeignet für die Nektarherstellung sind qualitativ hochwertige Pfirsichsorten wie unter anderem ‚Elberta‘, ‚Redheaven‘, oder ‚Suncrest‘. Nach dem Entsteinen werden die Pfirsichhälften weiter zerkleinert und liegen dann als Fruchtmaische vor. Um Enzymaktivitäten und mikrobiologische Prozesse zu inhibieren, wird diese Maische möglichst zügig erhitzt. Pfirsichmaischen werden noch im heißen Zustand in einer mehrstufigen Passiermaschine passiert und erst im Anschluss abgekühlt. Wichtig ist, vorhandenen Sauerstoff per Entlüftungsanlage aus dem Pfirsichmark auszutreiben, um Oxidationen oder mikrobiologischen Verderb während der Lagerung zu unterbinden. Unter Sauerstoffausschluss wird das Pfirsichmark abgefüllt und gegebenenfalls pasteurisiert. Die Ausbeute an Pfirsichmark aus Pfirsichfrüchten beträgt 75-85% (Unterholzner, 1999). Auch aus Fruchtmark lassen sich Konzentrate herstellen, die entweder durch Phasentrennung von Serum und Pulpe oder durch thermische Verfahren produziert werden. Für die industrielle Herstellung von pfirsichhaltigen Getränken spielen diese Konzentrate keine wesentliche Rolle.

Schon seit vielen Jahren steht das charakteristische Pfirsicharoma im Mittelpunkt verschiedener Aromastudien. Was in den zwanziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts

als Pionierarbeit von Power und Chesnut begonnen wurde, haben – dann mit verbesserten technischen Möglichkeiten - vor allem Sevenants und Jennings erfolgreich weitergeführt (Power und Chesnut, 1920, Jennings und Sevenants, 1964, Sevenants und Jennings, 1966). Ihnen gelang es, wichtige ‚flavour impact compounds‘ von Pfirsichen erstmals zu identifizieren, auch wenn damals die maßgebende Rolle einzelner Komponenten noch nicht erfasst wurde. Zu nennen sind hierbei die Lactone, allen voran γ -Hexalacton (**33**), γ -Octalacton (**34**), γ -Decalacton (**35**) und δ -Decalacton (**36**), die mit ihrem teils fruchtigen und kokosnussartigen, teils an Pfirsich erinnernden Aromaeindruck zu den bedeutendsten Inhaltsstoffen von Pfirsichfrüchten gehören (Abbildung 2-4). Seitdem wurde das Aromaprofil von Pfirsichen umfassend bearbeitet und durch die Identifikation neuer Verbindungen ergänzt (Broderick, 1966, Do *et al.*, 1969, Spencer *et al.*, 1978, Narain *et al.*, 1990, Rizzolo *et al.*, 1995). Insbesondere Aldehyde wie Benzaldehyd (**37**) oder C₆-Aldehyde (Hexanal **26**, *E*-2-Hexenal **38**) runden mit Terpenen wie Linalool (**22**) und zahlreichen fruchtigen Estern das charakteristische Pfirsicharoma ab.

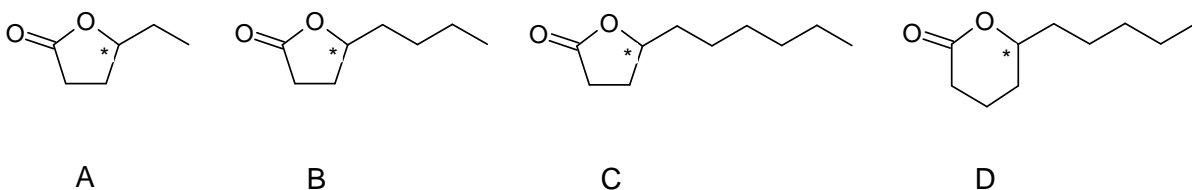


Abbildung 2-4 Strukturen von γ -Hexalacton (**33**, A), γ -Octalacton (**34**, B), γ -Decalacton (**35**, C) und δ -Decalacton (**36**, D).

Horvat *et al.* lieferten einen Vergleich von flüchtigen Pfirsichinhaltsstoffen in unterschiedlichen Varietäten, vier kommerziell erhältliche Sorten und zwei Züchtungen (Horvat *et al.*, 1990). Es wurden in dieser Studie die wesentlichen Hauptkomponenten des Pfirsicharomas bestätigt, zusätzlich hat man die mengenmäßige Verteilung einzelner Lactone an der Gesamtlacton-Komposition aufgezeigt. Sortenabhängig reicht der Anteil am Hauptlacton γ -Decalacton (**35**) von 47.4 bis zu 98.1%, die Sorte ‚Monroe‘ enthält fast ausschließlich γ -Decalacton (**35**) in der Lactonfraktion. Auch der Verlauf der Reifung von zwei Pfirsichsorten anhand ausgewählter Aromaverbindungen wurde verfolgt. Während die Gehalte an γ -Decalacton (**35**) und δ -Decalacton (**36**) vom grünen über den halbreifen zum vollreifen Zustand kontinuierlich in beiden Varietäten zunahm, wurde ein gegenläufiger Effekt bei Aldehyden beobachtet. Die Sorte ‚Cresthaven‘ bildete im Verlauf der Reifung steigende Gehalte an den C₆-Aldehyden Hexanal (**26**) und *E*-2-Hexenal (**38**), bei der Sorte ‚Monroe‘ nahmen diese Verbindungen von grün nach vollreif ab. Auch Do *et al.* untersuchten

das Pfirsicharoma im Zuge der Reifung (Do *et al.*, 1969). Der Gesamtgehalt an Aromastoffen nahm erwartungsgemäß während des Reifungsprozesses zu. Dass der hohe Gehalt an Alkoholen, Aldehyden und Estern in grünen Pfirsichfrüchten einen Trend zur Abnahme bei fortschreitender Reifung am Baum aufwies, zeigten Visai und Vanoli, 1997. Per Headspace analysierten sie das Pfirsicharomaprofil in verschiedenen Reifestadien und präsentierten die unterschiedlichen Verhaltensmuster ausgewählter Verbindungen, unter anderem auch die Konzentrationsabnahme von Benzaldehyd (**37**) und Linalool (**22**) während der Reifung. Aufgrund der Analysenmethode mit Headspace-Gaschromatographie erwiesen sich die gesammelten Daten über die schwerflüchtigen Lactone als nicht literaturkonform.

Erste Arbeiten bezüglich der Authentizitätsbewertung von Pfirsicharomen wurden kürzlich in unserem Arbeitskreis von Tamura *et al.* durchgeführt; erstmals wurden $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von γ -Decalacton (**35**) und δ -Decalacton (**35**) aus Pfirsichfrüchten bestimmt und den Daten synthetischer und natürlicher Referenzen gegenübergestellt (Tamura *et al.*, 2005).

2.2.4 Orange

Die aus China stammende Orange (*Citrus sinensis* (L.) OSBECK) gehört als Zitruspflanze zur Familie der Rutaceae (Rautengewächse). Schon 2000 v. Chr. wurden Orangenpflanzen dort kultiviert, erst im 15. Jahrhundert gelangte sie nach Europa. Heute findet der Hauptanbau in Brasilien (18.263.000 t) und den USA (11.730.000 t), gefolgt von Mexiko (3.970.000 t), Indien (3.070.000 t), Spanien (2.900.000 t) und China (1.893.000 t) statt (Angaben für das Jahr 2004 aus Handelsblatt, 2005). Unterschieden werden einzelne Sorten anhand Erscheinungsbild und Reifegrad. Wichtige Sorten für die Safterstellung sind Pera Valencia (in Brasilien) sowie Valencia Late als Vertreter der Blondorangen. Die Früchte können nach unterschiedlichen Prinzipien entsaftet werden (Ranganna *et al.*, 1983b, Schobinger, 2001). Im FMC-Extraktor werden die Orangen oben und unten kreisrund eingeschnitten und mit Hilfe von passgenauen Körben so zusammengepresst, dass Saft und Pulpe nach unten abfließen. Beim Verfahren nach Brown werden die Orangenfrüchte in der Maschine halbiert, bevor sie gleichzeitig von rotierenden Stempeln ausgepresst werden. Einen Überblick über die folgenden Schritte der weiteren Orangensaftnebenprodukte zeigt Abbildung 2-5. Aus Orangenschalen wird ein Schalenöl extrahiert, der Gehalt an Schalenöl liegt je nach Sorte zwischen etwa 4-7 kg pro Tonne verarbeiteter Saftorangen (Kesterson *et al.*, 1978). Die Öldrüsen der Zitrusfrüchte sind in der äußeren epidermalen Zellschicht, dem Flavedo, lokalisiert. Je nach Entsaftungsmethode wird entweder bei dem Auspressen der Frucht parallel durch Aufsprühen von Wasser (FMC-Verfahren) oder im Vorfeld durch Anritzen der Schale und Auswaschen (Brown-Verfahren) eine Ölemulsion gewonnen. Per

Entschlammungszentrifuge und anschließender Reinigung im Klärseparator wird reines kaltgepresstes Schalenöl mit hohem Terpenanteil erhalten.

Durch den Einsatz von TASTE-Hochkurzzeitverdampfern ist es möglich, Orangensaftkonzentrate zu produzieren. Dabei werden die flüchtigen Aromastoffe in einer lipophilen Phase, dem Essenzöl, und einer hydrophilen Phase, dem Aroma, abgetrennt und weiter konzentriert. Im Vergleich zum Schalenöl weist die Essenzölfraction eine blumig-fruchtigere Note und somit einen wünschenswerteren Aromaeindruck auf. Schalenöle besitzen durch ihre ‚harte‘ Terpennote einen negativen Einfluss auf die sensorische Qualität des Saftes. Vergleicht man die Ausbeuten an Schalen- und Essenzöl im Herstellungsprozess (Abb. 2-5), so wird deutlich, dass man pro Charge 60-70fach höhere Mengen an Schalenöl erhält. Dementsprechend teuer sind die wertvollen Essenzöle, so dass der Nachweis von Verschnitt oder komplettem Ersatz durch Schalenöl bei der Saftmischung oder Aromatisierung anderer Lebensmittel gewährleistet sein sollte.

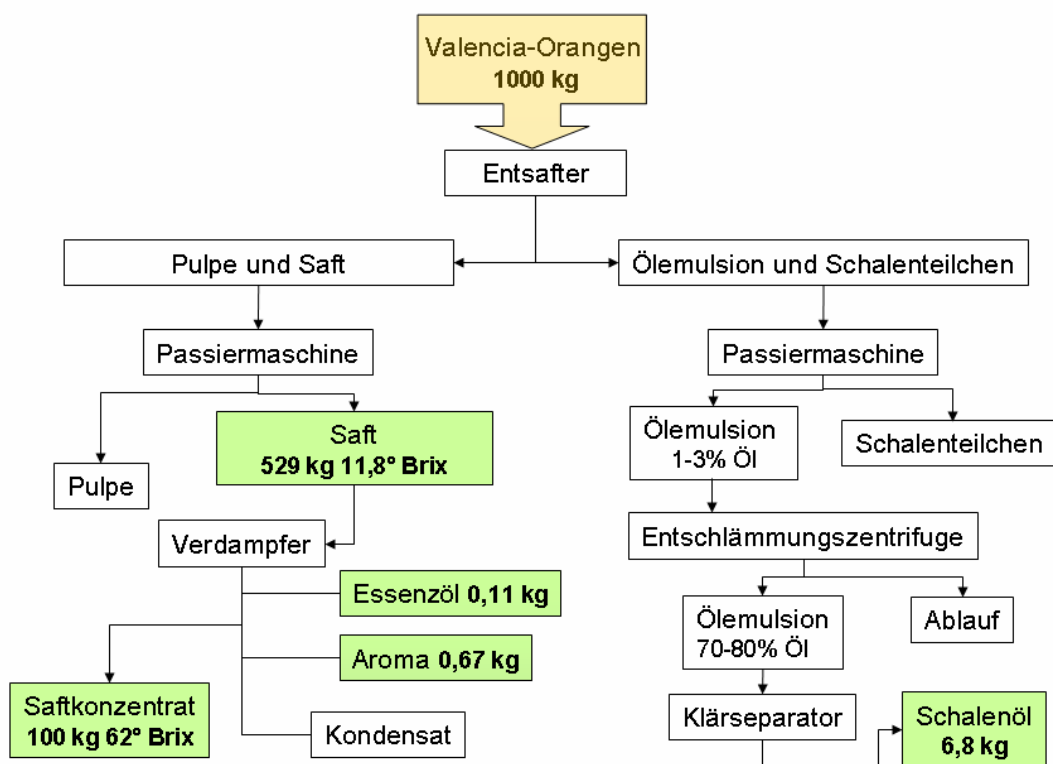


Abbildung 2-5 Schema der Herstellung von Orangensaft und Orangensaftthalwaren (in Anlehnung an Schobinger, 2001). Ausbeuten der einzelnen Produkte bei Einsatz einer Tonne Valencia-Orangen sind angegeben.

Schon früh im letzten Jahrhundert sind die Unterschiede im Aromaprofil von Orangensäften in den Mittelpunkt der Aromaforschung gerückt. Gerade die abweichenden Aromaprofile von Orangensaft verglichen mit Schalenöl, Essenzöl oder Wasserphasen-Aroma waren von Interesse. 1925 identifizierten Hall und Wilson verschiedene hydrophile und lipophile flüchtige Inhaltsstoffe nach Destillation des Orangensaftes und Abtrennung der einzelnen Phasen (Hall und Wilson, 1925). Vor allem in den fünfziger Jahren erhielt man auf dem Gebiet des Orangensaftaromas durch die Arbeiten von Rice *et al.*, 1952, Swift, 1952, Morgan *et al.*, 1953, oder Kirchner und Miller, 1957, weitere Einblicke. Nachfolgende Analysen wurden von Ranganna *et al.*, 1983a, Shaw *et al.*, 1983, Govindarajan *et al.*, 1984, Moshonas und Shaw, 1987, Moshonas und Shaw, 1994, Moshonas und Shaw, 1995, Jordan *et al.*, 2001, Brat *et al.*, 2003, Hognadottir und Rouseff, 2003, sowie Plotto *et al.*, 2004, durchgeführt. Zu den charakteristischen Aromastoffen des Orangenaromaprofils zählen neben den Terpenen vor allem aliphatische Aldehyde der Reihe von Hexanal (**26**) bis Dodecanal (**39**) sowie die erstmals 1965 identifizierte Verbindung β -Sinensal (**40**, Abb. 2-6, Stevens *et al.*, 1965). Aber auch Fruchttester (Ethylbutanoat **27**, Ethyl-2-methylbutanoat **2**, Ethylhexanoat **28**, Ethyl-3-hydroxyhexanoat **6**) und wenige Alkohole (1-Hexanol **41**, Z-3-Hexenol **42**, 1-Octanol **43**) runden das Aroma ab.

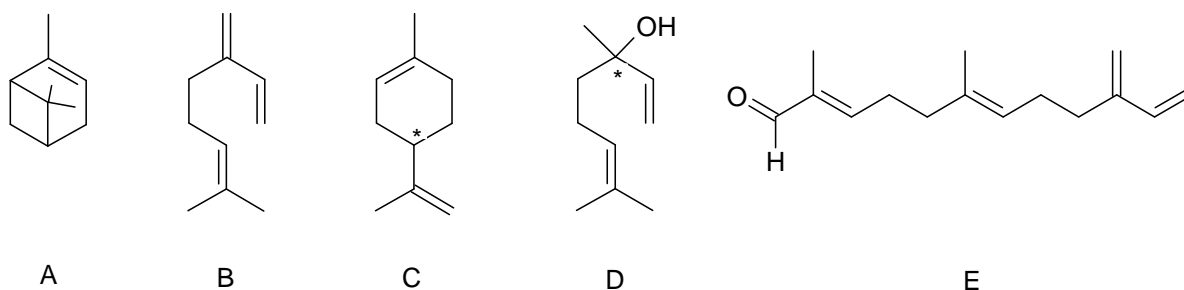


Abbildung 2-6 Strukturen von α -Pinen (**44**, A), β -Myrcen (**20**, B), Limonen (**21**, C), Linalool (**22**, D) und β -Sinensal (**40**, E).

Kennzeichnend für das Orangen-Aromaprofil ist der hohe Terpen-Anteil. Terpene sind Kohlenwasserstoffe mit der Grundstruktur $C_{10}H_{16}$ sowie deren Hydrierungs- und Dehydrierungsderivate, im weiteren Sinne fallen auch die von Terpenen abgeleiteten Alkohole, Aldehyde, Estern oder Ketone unter diese Bezeichnung. Terpene besitzen meist als Grundstruktur das Isopren, durch Dimerisierung entsteht das entsprechende Kohlenstoff-Grundgerüst. Mono- und Sesquiterpene werden von der Pflanze nach einem grundsätzlichen Schema biosynthetisiert (Eisenreich *et al.*, 1998). Wichtige Schlüsselverbindung für die Monoterpensynthese ist das Geranylpyrophosphat, für Sesquiterpene das

um eine Einheit verlängerte Farnesylpyrophosphat. Geranylpyrophosphat wird aus Isopentenylpyrophosphat (IPP) und deren isomere Verbindung 3,3-Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) aufgebaut. Neben dem klassischen Biosyntheseweg dieser Monoterpen-Vorstufen aus Acetyl-CoA über Mevalonsäure ist ein alternativer Bildungsweg (Desoxyxylulosephosphat, DOXP-Weg) aus Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat zu DMAPP und IPP beschrieben (Rohmer, 1999). Die Monoterpen-Cyclasen katalysieren eine Cyclisierungsreaktion mit Geranylpyrophosphat zu einem hochreaktiven Carbokation, dem α -Terpinylkation. Aus diesem Zwischenprodukt werden vielgestaltige mono-, bi- oder heterocyclische Terpene gebildet (Abb. 2-7). Die Steuerung der Reaktionsprodukte ist bedingt durch die Spezifität der jeweils beteiligten Cyclasen (George-Nascimento und Cori, 1971, Perez *et al.*, 1990).

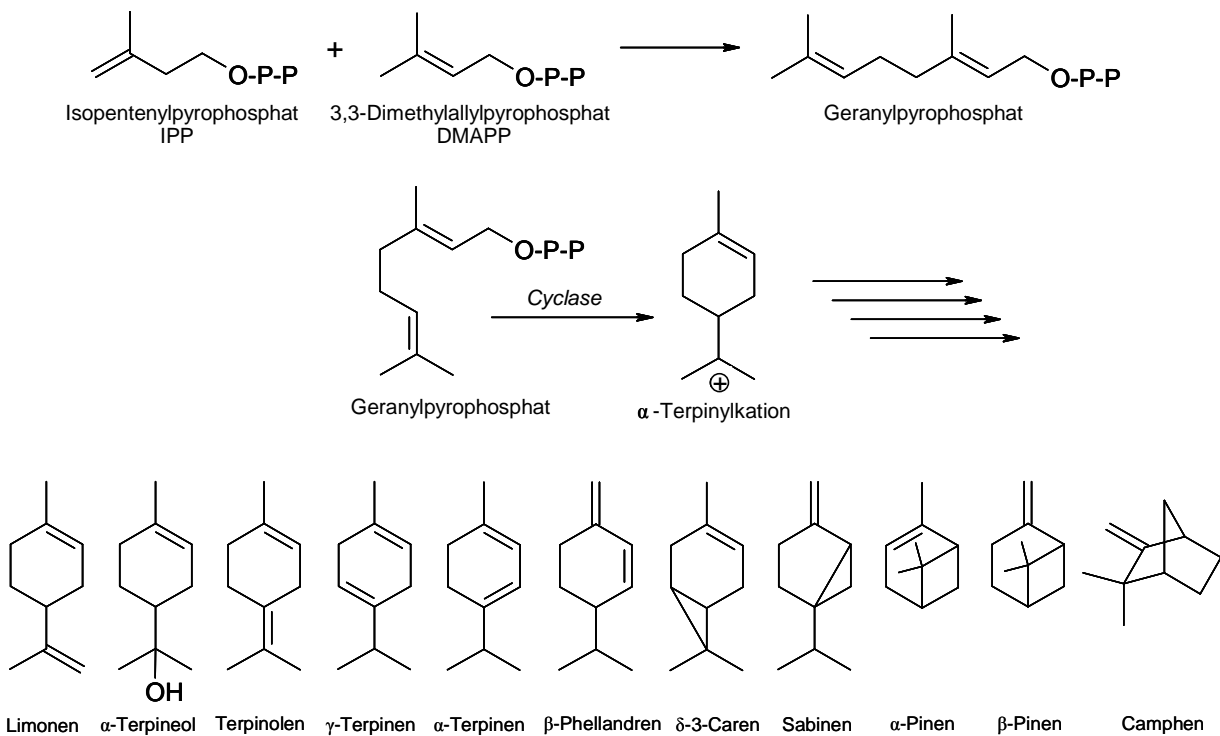


Abbildung 2-7 Stark vereinfachtes Schema der Biosyntheseschritte von verschiedenen Terpenen des Orangenaromaprofils (Detailangaben, s. Parliment *et al.*, 1986, Eisenreich *et al.*, 1998, Rohmer, 1999, Stromgaard und Nakanishi, 2004)

Limonen (**21**) wird heutzutage industriell als Lösungsmittel oder Lackinhaltsstoff eingesetzt; aufgrund der charakteristischen Zitrusnote wird dieses Terpen auch als Duftgeber in Lebensmitteln sowie Kosmetika verwendet. In den letzten Jahren wurden Limonen (**21**) in hohen Konzentrationen als hautreizend, die Limonen-1,2-oxide und die

Hydroperoxide hiervon als Hautsensibilisierer eingestuft (Karlberg *et al.*, 1994, Karlberg und Dooms-Goossens, 1997, IARC, 1999, Matura *et al.*, 2005). Diese potentiellen Kontaktallergene sind zusammen mit anderen Autoxidationsprodukten von Limonen (**21**) in Abbildung 2-8 dargestellt. In vielen Fällen traten Hautirritationen erst nach langen berufsbedingten Expositionen auf, aber eine europaweite Studie mit Dermatitispatienten zeigte, dass 3% der Betroffenen gegenüber Limonen (**21**) sensibilisiert sind (Matura *et al.*, 2002). Aus diesem Grund gehört Limonen (**21**) zu den Aromastoffen, die in der EU-Richtlinie 2003/15/EG vom 27.2.2003 als potentiell Allergie auslösend gelistet sind. Diese Stoffe müssen seit März 2005 ab einem Gehalt von 0.001% in "leave-on"- und 0.01% in "rinse-off"-Produkten in der Liste der Bestandteile von Kosmetika deklariert werden.

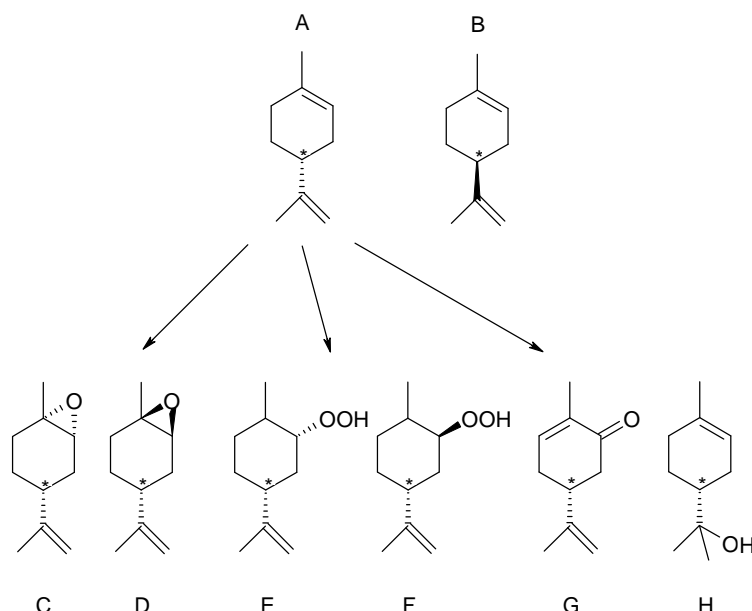


Abbildung 2-8 Strukturen von (R)-Limonen (A) und (S)-Limonen (B). Dargestellt sind Oxidationsprodukte des R-Enantiomers: *cis*-Limonen-1,2-oxid (C), *trans*-Limonen-1,2-oxid (D), *cis*-Limonen-2-hydroperoxid (E), *trans*-Limonen-2-hydroperoxid (F) sowie die in Orangensaft als ‚off-flavour‘ auftretenden Verbindungen Carvon (G) und α -Terpineol (H).

Die Ursache für einen Qualitätsabfall des typischen Orangenaromas im Verlauf der Verarbeitung ist in einer Abnahme charakteristischer Aromakomponenten begründet, wie beispielsweise von dem einen Frische-Eindruck vermittelnden Z-3-Hexenal (**47**) sowie in der enzymatischen oder thermischen Neubildung von flüchtigen Verbindungen. Eine Zusammenstellung von Kirchner und Miller liefert einen ersten Überblick über die Veränderung des Anteils wertgebender Aromastoffe im Verlauf der Orangensafttherstellung (Kirchner und Miller, 1957). Durch die vor allem von Büttner erweiterten Ergebnisse wurden wichtige

Aromastoffe in frisch gepresstem Orangensaft im Vergleich zu Orangensaft aus Konzentrat charakterisiert (Buettner, 1998). Aromawerte von Aromastoffen in frisch gepresstem Saft von Valencia Late Orangen wurden ermittelt und so (*S*)-Ethyl-2-methylbutanoat (**2**), Ethylbutanoat (**27**), *Z*-3-Hexenal (**47**) und Ethyl-2-methylpropanoat (**18**) als aromaintensivste Verbindungen festgehalten (Buettner und Schieberle, 2001). Eine Auswahl dieser Aromawerte in Korrelation mit den Konzentrationen in Orangenfrüchten der Varietät Valencia Late ist in Tabelle 2-2 gegenübergestellt. Weiterführend wurden in den Dissertationen von Averbek (2002) und Meier (2002) mit Hilfe von Aromaverdünnungsanalysen und Rekombinationsversuchen der Einfluss von Verfahrenstechnik sowie Lagerung und Abfüllung auf qualitätsbestimmende Aromastoffe in Orangensaft untersucht.

Tabelle 2-2 Konzentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$] und daraus berechneter Aromawert (Konzentration/Geruchsschwelle) wichtiger Aromastoffe in frisch gepresstem Orangensaft (Valencia Late) nach Buettner und Schieberle, 2001.

Verbindung	Konzentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Aromawert ¹
(<i>S</i>)-Ethyl-2-methylbutanoat	48	8000
Ethylbutanoat	1192	1192
<i>Z</i> -3-Hexenal	187	747
Ethyl-2-methylpropanoat	9	440
Acetaldehyd	8305	332
(<i>R</i>)-Limonen	85598	228
(<i>R</i>)- α -Pinen	308	62
β -Myrcen	594	42
Hexanal	197	19
Ethylhexanoat	63	13
Linalool	81	13
Decanal	45	9
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	1136	4
Octanal	25	3
Nonanal	13	3

¹berechnet anhand orthonasaler Geruchsschwellen in Wasser

Besonderes Augenmerk bei Studien zu Qualitätsabnahmen im Aromaprofil bei der Orangensaftherstellung und -lagerung lagen vor allem auf den prominentesten Vertretern der thermisch induzierten Produkte wie Furfural (**48**), 5-(Hydroxymethyl)-furfural (**49**, HMF) und 4-Vinylguajacol (**50**). Durch die Temperatureinflüsse im Verarbeitungsprozess werden diese auch zu den ‚heated off-flavour‘ zählenden Komponenten im Zuge von Maillardreaktionen neu gebildet (Tatum *et al.*, 1975, Moshonas und Shaw, 1989, Nagy *et al.*, 1989, Lee und Nagy, 1996). Umlagerungen und Abbau von Aromastoffen führen zu weiteren, meist unerwünschten Produkten; Carvon (**45**) und α -Terpineol (**46**) werden als Indikatoren für die Alterung von Orangensäften herangezogen. Weitere Stoffe, die bei der Konzentrierung auftreten, sind Nootkaton (**51**), *trans*-Carveol (**52**) oder *trans*-2,8-Menthadien-1-ol (**53**, Schreier *et al.*, 1979). Nisperos-Carriedo und Shaw analysierten anhand ausgewählter Verbindungen die Änderungen im Aromaprofil von frisch gepresstem Orangensaft, Direktsaft und Orangensaft aus Konzentrat. Hierbei ergab sich, dass im Vergleich zu Frischsäften in Säften aus Konzentrat höhere Anteile an Terpenkohlenwasserstoffen, Linalool (**22**), Octanal (**54**) sowie Decanal (**55**) gefunden wurden. Dieses Phänomen wurde auf die Zugabe von Schalenölen bei der Herstellung der Konzentratsäfte zurückgeführt (Nisperos-Carriedo und Shaw, 1990).

2.2.5 Apfel

Neben Pfirsich, Pflaume, Kirsche oder Birne und Quitte zählt der Apfel *Malus domestica* zu der Familie der Rosengewächse (Rosaceae). Die genaue Abstammung des Kulturapfels ist nicht bekannt, diskutiert werden Kreuzungen aus Holzapfel (*Malus sylvestris*) und anderen Wildarten wie dem Asiatischen Wildapfel (*Malus sieversii*). Äpfel werden vor allem als Obst roh verzehrt oder zu Most, Wein oder Apfelsaft verarbeitet. Die größten Weltproduzenten im Jahr 2004 waren China mit 20.503.000 t, die USA mit 4.290.000 t, Polen mit 2.500.000 t und Frankreich mit 2.400.000 t. Deutschland belegt Rang neun mit einem jährlichen Ertrag an 1.600.000 t Äpfeln (Handelsblatt, 2005). Die Saftverarbeitung erfolgt aufgrund der guten Lagerfähigkeit von Äpfeln fast ganzjährig, die einzelnen Verarbeitungsschritte sind Kapitel 2.1.1. zu entnehmen.

Mit der Aufklärung der Zusammensetzung des Apfelaromas wurde früh im 20. Jahrhundert begonnen. Erste Schritte hierbei unternahmen Power und Chesnut bei der Identifizierung von Estern der Ameisen-, Essig- und Hexansäure sowie Acetaldehyd (**56**) als Hauptbestandteile des Apfelaromaprofils (Power und Chesnut, 1920). In den folgenden Jahren hat man weitere wichtige Bestandteile aufgeklärt. Meigh identifizierte wertgebende Aldehyde und Ketone sowie Alkohole und Ester papierchromatographisch (Meigh, 1956, Meigh, 1957). Durch Einführung der gaschromatographischen Trennmethode, vor allem in Kombination mit Massendetektion, wurde eine Vielzahl von Studien zum Apfelaroma

betrieben (Koch und Schiller, 1964, MacGregor *et al.*, 1964, Flath *et al.*, 1967, Drawert *et al.*, 1969, Flath *et al.*, 1969, Duerr, 1981, Kakiuchi *et al.*, 1986). Verschiedene Übersichten über das Apfelaromaprofil fassen den damaligen Stand der Forschung anschaulich zusammen (Dimick und Hoskin, 1983, Paillard, 1990).

Das Aromaprofil von Äpfeln ist durch sehr leichtflüchtige Inhaltsstoffe gekennzeichnet. In den Vordergrund treten vor allem die als „Grünnoten“ zusammengefassten Aldehyde Hexanal (**26**), *E*-2-Hexenal (**38**) und *Z*-3-Hexenal (**47**) sowie deren korrespondierenden Alkohole. Aufgrund ihres grasigen, fruchtig-grünen, frischen Aromaeindrucks und aufgrund ihres ubiquitären Vorkommens in zerkleinertem grünen Pflanzenmaterial wird *E*-2-Hexenal (**38**) auch als ‚Blätteraldehyd‘, *Z*-3-Hexenol (**42**) als ‚Blätteralkohol‘ bezeichnet. Biosynthetisch wird diese Gruppe von flüchtigen Verbindungen durch den Abbau von den Prekursoren α -Linolen- (*Z*-3-Hexenal **47**, *E*-2-Hexenal **38**, *Z*-3-Hexenol **42** und *E*-2-Hexenol **57**) und Linolsäure (Hexanal **26**, Hexanol **41**) über deren (13)-*S*-Hydroperoxide gebildet (Hatanaka, 1996, Barbeni *et al.*, 1997, Hatanaka, 1999). Von den vier beteiligten Enzymen bzw. Enzymsystemen spielen die Lipoxygenase und Hydroperoxidlyase die tragende Rolle. *E*-2-Hexenal (**38**) entsteht aus Isomerisierung von *Z*-3-Hexenal (**47**). Die Umwandlung zu den korrespondierenden Alkoholen erfolgt mit Hilfe von Alkoholdehydrogenase (ADH). Einen Überblick über die Biosynthese der Grünnoten liefert Abbildung 2-9.

Mit niedrigen Geruchsschwellen stellen neben Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) Hexanal (**26**) und das apfeltypische *E*-2-Hexenal (**38**) impact-Verbindungen des Apfelaromas dar (Flath *et al.*, 1967). Da Substanzen wie *E*-2-Hexenal (**38**) nicht primär in den Apfelfrüchten vorliegen, sondern erst bei Zerkleinerung der Zellstrukturen unter Sauerstoffkontakt gebildet werden, zählen diese Komponenten zu den sog. sekundären Aromastoffen. Drawert *et al.* befassten sich näher mit der Kinetik dieses Aromastoffs und zeigten, dass sich schon 20 Minuten nach Zerkleinerung des Pflanzenmaterials ein Maximum an *E*-2-Hexenal (**38**) einstellt (Drawert *et al.*, 1968, Drawert *et al.*, 1976).

Ester stellen auch bei Äpfeln den qualitativ höchsten Anteil am Aroma. Wichtige Vertreter sind hierbei Ethylbutanoat (**27**), Ethyl-2-methylbutanoat (**2**), Butylacetat (**58**) und Hexylacetat (**59**). Je nach Sorte liegt ein höherer oder niedrigerer Anteil in den Früchten vor, so wurde in Hatsuaki-Früchten ein deutlich höherer Gehalt als in der Varietät Fuji festgestellt (Kakiuchi *et al.*, 1986). Auch Mehinagic *et al.*, 2006, bestätigen dieses Phänomen bei den Sorten Golden Delicious, Braeburn und Fuji. Dass die Esterproduktion in Apfelfrüchten bevorzugt in der Schale der Äpfel stattfindet, wurde von Guadagni in einem Vergleich von Aromastoffen in der Schale, geschälten sowie in ganzen Äpfeln nachgewiesen (Guadagni *et al.*, 1971). Zusätzlich kommt bei einer klimakterischen Frucht wie dem Apfel dem richtigen Ernte- und Verarbeitungszeitpunkt eine bedeutende Rolle zu. Während Golden Delicious Äpfel erst drei Wochen nach der kommerziellen Reife die maximalen

Gehalte an Butylacetat (**58**), 2-Methylbutylacetat (**60**) oder auch Z-3-Hexenol (**42**) und 1-Hexanol (**41**) ausbilden, nehmen die Gehalte dieser Verbindungen in Fuji Äpfeln zu diesem Zeitpunkt wieder ab (Mehinagic *et al.*, 2006).

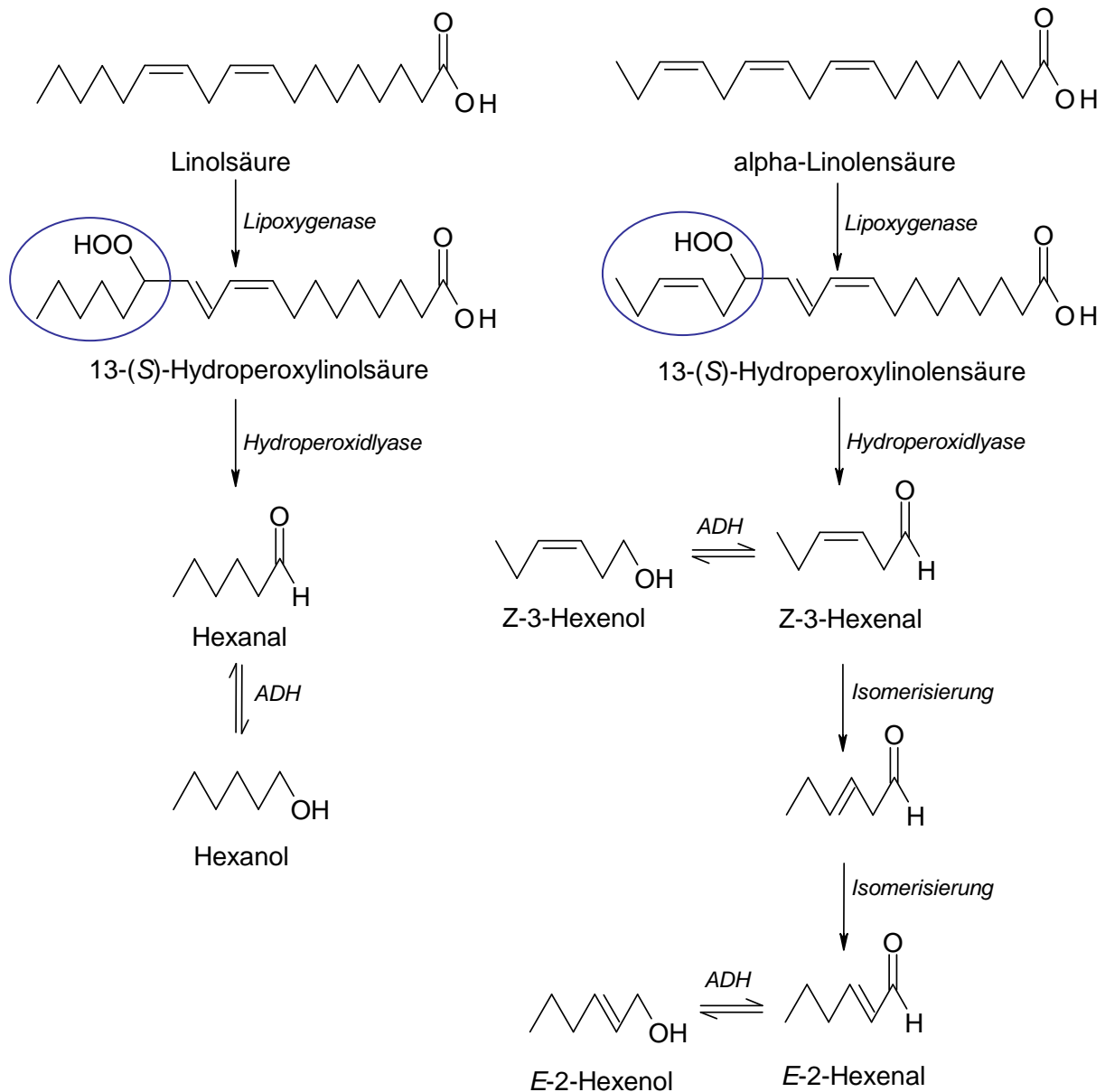


Abbildung 2-9 Vereinfachtes Schema der Biosynthese von „Grünnoten“ aus Linol- und Linolensäure nach Hatanaka, 1999 (ADH: Alkoholdehydrogenase).

Andere charakteristische Inhaltsstoffe des Apfelaromaprofils sind Alkohole, zu denen neben den mengenmäßig überwiegenden 1-Butanol (**61**) und 1-Hexanol (**41**) auch C₈-Alkohole wie 1,3-Octandiol (**62**) und 5-(Z)-Octen-1,3-diol (**63**) zählen (Abb. 2-10). Diese

apfeltypischen Aromastoffe werden stark sortenabhängig in variablen Gehalten als sekundäre Aromastoffe gebildet. Aufgrund ihrer Struktur können sie als Vorläufer für die Neubildung von aromaaktiven Acetalen aus der Reaktion mit fruchteigenen Aldehyden dienen (Brunerie *et al.*, 1998).

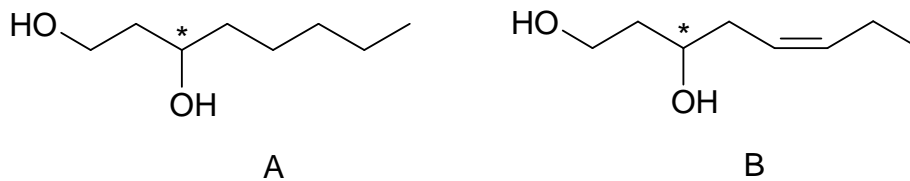


Abbildung 2-10 Strukturen von 1,3-Octandiol (**62**, A) und 5-(Z)-Octen-1,3-diol (**63**, B).

Während der Verarbeitung der rohen Früchte zu Apfelsaft wirken verschiedene Faktoren ein, die das Saftaromaprofil beeinflussen können. Am Beispiel von frisch gepressten Jonagold Äpfeln sowie rückverdünntem Apfelsaft aus Konzentrat demonstrierten Kato *et al.*, welche Bedeutung Erhitzungstemperatur und -dauer haben (Kato *et al.*, 2003; Shimoda *et al.*, 2003). Durch sensorische Bewertungen nach den Kriterien wie „fruchtig“, „frisch“, „süß“ oder „grün“ wurden unter Berücksichtigung von gaschromatographischen Daten optimale Erhitzungsparameter für die jeweilige Saftart ermittelt. Der Einfluss von Enzymbehandlung, Mikrofiltration und Pasteurisation wurde von Su und Wiley näher betrachtet (Su und Wiley, 1998). An verschiedenen Stellen der Apfelsaftproduktion wurden die Gehalte von sechs wesentlichen Apfelaromastoffen verfolgt. Als Ergebnis wurde eine Abnahme aller betrachteten Verbindungen nach der ersten Enzymbehandlung und eine weitere Verringerung der Estergehalte (mit Ausnahme von Ethylbutanoat **27**) im Verlauf der folgenden Verarbeitungsschritte festgestellt. Pektinasezusatz, Mikrofiltration und Pasteurisation bewirkten hingegen eine Zunahme an den Grünnoten Hexanal (**26**) und *E*-2-Hexenal (**38**) im Vergleich zu dem Ausgangswert im unbehandelten Frischsaft. Es wurde daraus gefolgert, dass durch den Temperatureinfluss die an der Abspaltung der Grünnoten beteiligten Enzyme aktiviert und gleichzeitig weitere Hydroperoxide der entsprechenden Fettsäuren gebildet werden. Dieser durchaus positive Effekt der Apfelverarbeitung wurde in anderen Studien bezüglich der Aromaprofil-Änderungen im Verlauf der Saft- und Saftkonzentratherstellung teilweise bestätigt (Peredi *et al.*, 1981). Grundsätzlich wurde eine Abnahme an flüchtigen Apfelinhaltsstoffen in unterschiedlichen Untersuchungen, selbst bei Verwendung der schonenden Konzentration mit Umkehrosiose, beobachtet (Chou *et al.*, 1991). Das Verhalten einzelner Aromastoffe während der Fermentation von Apfelmaische bis hin zu Apfelbrand wurde von Schreier *et al.* detailliert aufgezeigt (Schreier *et al.*, 1978).

Der in der verwendeten Sorte ‚Jonathan‘ erst nach der Destillation nachgewiesene Aromastoff β -Damascenon (**64**) besitzt ein hohes Aromapotential. Steinhaus *et al.* zeigten, dass die an Bratapfel erinnernde Komponente aufgrund des berechneten Aromawerts neben Hexanal (**26**) und 1-Octen-3-on (**65**) zu den Schlüsselaromastoffen in der Varietät Golden Delicious zählt (Steinhaus *et al.*, 2005). Zu ‚off-flavour‘-Komponenten, die nicht durch technologischen Einfluss, sondern von Mikroorganismen in Apfelsaft-Fertigprodukten gebildet werden, gehören die Verbindungen Guajacol (**66**), Dibromphenol (**67**), Geosmin (**68**) oder 2-Methylisoborneol (**69**), die mit ihrem erdigen, medizinischen Aromaeindruck in Apfelsäften unerwünscht sind (Zierler *et al.*, 2004, Siegmund und Poellinger-Zierler, 2006).

2.3 Analyse von flüchtigen Inhaltsstoffen

2.3.1 Gaschromatographische Methoden

Verbindungen, die über die Nase als aromaaktive Substanz wahrgenommen werden, müssen verschiedene Kriterien erfüllen. Sie müssen flüchtig sein, um beim Einatmen oder retronasal zu den Riechrezeptoren der Nase zu gelangen. Ein geeignetes Lipophilie/Hydrophilie-Verhältnis vorausgesetzt, können sie die Nasenschleimhaut passieren. Die Flüchtigkeit dieser Moleküle macht man sich bei der Analyse zu nutze. Thermische Extraktion unter Zuhilfenahme von geeigneten Lösungsmitteln oder Adsorption an entsprechende Trägermaterialien erlauben eine gezielte Anreicherung von Aromastoffen. Die Aromagewinnung durch Simultane Destillation-Extraktion (SDE), Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE), Headspace-Analytik (HS), Solvent Assisted Flavour Evaporation (SAFE) oder Solid-Phase-Mikro-Extraction (SPME) sind nur einige Beispiele.

Die Auftrennung der so erhaltenen, komplex zusammengesetzten Aromastoffgemische erfolgt vorteilhaft mittels Gaschromatographie. Verschiedene stationäre Phasen werden je nach Fragestellung eingesetzt. Spezielle Phasen wie modifizierte Cyclodextrine ermöglichen die Enantiomerentrennung chiraler Verbindungen. Durch den Einsatz von multidimensionaler Gaschromatographie (MDGC) können so (*R*)- und (*S*)-Enantiomere eines Aromastoffes separiert und Aussagen über die Authentizität einer Komponente getroffen werden. Racemische Gemische weisen auf synthetische Aromaverbindungen hin, wohingegen bei natürlichen Stoffen meist ein Enantiomer bevorzugt biosynthetisiert wird und so ein stoffspezifisches Enantiomerenverhältnis vorliegt (Mosandl, 2004).

Die Detektion von Aromastoffen nach der Auftrennung kann vielfältig erfolgen. Das Massenspektrometer besitzt den Vorteil, auch bei komplexen Mischungen flüchtiger Inhaltsstoffe Daten zu liefern, die durch Abgleich mit einer umfassenden (unter den eigenen Versuchsbedingungen erarbeiteten) Massenspektren-Bibliothek weitgehend aufzuklären

sind. Es können mögliche Verunreinigungen und Überlagerungen bei einem vollständigen Screening des erhaltenen Chromatogramms entdeckt und Minorkomponenten identifiziert werden. Durch die Möglichkeit der Aufnahme von Totalionenchromatogrammen oder durch ‚Selected Ion Monitoring‘ (SIM) können entweder möglichst viele Verbindungen aufgezeichnet oder spezielle Massenspuren einzelner Komponenten verfolgt werden.

Gerade für die Analyse von Aromastoffen spielt die Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O) eine wichtige Rolle. Hierbei werden über sensorische Wahrnehmung nur geruchsaktive Substanzen über einen sog. Sniffingport beurteilt. Allerdings sind bei komplexen Mischungen, geringen Gehalten an Aromastoffen unter dem Erkennungsgrenzwert sowie beim Vorhandensein möglicher Verunreinigungen schnell Grenzen in der Detektion gesetzt. In Kombination mit der Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse (AEVA) bietet die GC-O die Möglichkeit, die sensorische Relevanz einzelner Aromastoffe für das Gesamtaroma zu ermitteln.

2.3.2 Stabilisotopenanalytik

Die Authentizitätsbestimmung von Aromastoffen hat in den letzten Jahren durch die Etablierung der Multielement-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS) einen wesentlichen Schritt nach vorne gemacht. Die Bestimmung der Stabilisotopenverhältnisse von Kohlenstoff, durchgeführt im Verbrennungs- (C)-Modus, erfuhr weitreichende Ergänzung durch die jüngst eingeführte Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ - und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisse im Pyrolyse-(P)-Modus (Hör, 2001, Ruff, 2001). Mit Hilfe dieser Informationen ist es möglich, unter Einbeziehung statistischer Probenzahlen und dem Vergleich mit authentischen Referenzen Aussagen über die Herkunft von Aromastoffen zu treffen. Die auf chirale Verbindungen beschränkte Authentizitätsbewertung mit Hilfe der MDGC-Analytik ist somit um ein Vielfaches erweitert worden.

Grundlage der Stabilisotopen-Verhältnismessung stellen die unterschiedlichen Anteile der jeweiligen Isotope am natürlichen Vorkommen eines Elements dar. Durch entsprechende Methoden werden die zu analysierenden Substanzen in ein Messgas überführt, von dem das Verhältnis der Isotope bestimmt wird. Unter Beziehung auf einen international festgelegten Standard (V-PDB, *Vienna Pee Dee Belemnite* (ein fossiles Calciumcarbonat), V-SMOW, *Vienna Standard Mean Ocean Water* oder AIR, Luft-Stickstoff) können die so ermittelten Werte übergreifend verglichen werden. Tabelle 2-3 liefert einen Überblick für die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff.

Tabelle 2-3 Überblick über das natürliche Vorkommen einzelner stabiler Isotope mit der jeweiligen Überführung in das entsprechende Messgas sowie die zugehörigen Standards der Internationalen Atomenergiebehörde (IAEA).

Element	natürliches Vorkommen [%]	Überführung in das Messgas	internationaler Standard
Kohlenstoff			
^{12}C	98.8920	Analyt $\xrightarrow[\text{CuO}]{\text{Oxidation}}$ $^{13}\text{CO}_2 + ^{12}\text{CO}_2$	V-PDB
^{13}C	1.1080		
Wasserstoff			
^1H	99.9855	Analyt $\xrightarrow[> 1200^\circ\text{C}]{\text{Pyrolyse}}$ $^2\text{H}^1\text{H} + ^1\text{H}^1\text{H}$	V-SMOW
^2H	0.0145		
Sauerstoff			
^{16}O	99.7587	Analyt $\xrightarrow[> 1200^\circ\text{C}]{\text{Pyrolyse}}$ $\text{C}^{18}\text{O} + \text{C}^{16}\text{O}$	V-SMOW
^{17}O	0.0374		
^{18}O	0.2039		
Stickstoff			
^{14}N	99.6337	Analyt $\xrightarrow[\text{CuO}]{\text{Oxidation}}$ $^{15}\text{N}^{14}\text{N} + ^{14}\text{N}^{14}\text{N}$	AIR
^{15}N	0.3663		

Die Ergebnisse werden in Form eines δ -Wertes mit der Einheit ‰ angegeben. Der δ -Wert berechnet sich aus den extrem kleinen Änderungen in den Isotopenverhältnissen des Gehaltes an schwerem Isotop zu leichtem Isotop von Probe und Standard nach folgender Formel:

$$\delta \text{ [‰]} = \left(\frac{R_{\text{Probe}} - R_{\text{Standard}}}{R_{\text{Standard}}} \right) \times 1000 \quad \text{mit } R = \frac{\text{Gehalt}_{\text{schweres Isotop}}}{\text{Gehalt}_{\text{leichtes Isotop}}}$$

Der Aufbau eines IRMS-Systems soll anhand des in unserem Arbeitskreis verwendeten Gerätes näher erläutert werden. In Abbildung 2-11 ist die Kopplung von HRGC zur on-line Messung sowie von Elementaranalysatoren (zur off-line Messung) mit dem Stabilisotopen-Massenspektrometer dargestellt.

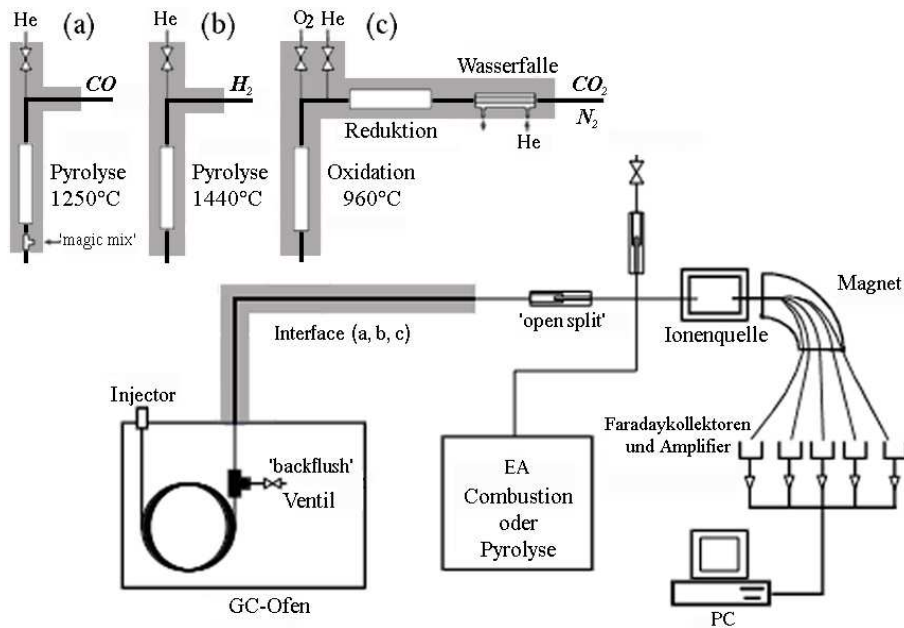


Abbildung 2-11 Schematische Darstellung des von uns verwendeten HRGC-IRMS-Systems: Das Gerät besteht aus einem Gaschromatographen, der über ein entsprechendes „Combustion“- (C)- oder Pyrolyse- (P)-Interface (a,b oder c für die Analyse von Sauerstoff, Wasserstoff oder Kohlenstoff) an ein Stabilisotopen-Massenspektrometer gekoppelt ist; zusätzlich sind Elementaranalysatoren für den C- und P-Modus angeschlossen.

Nach der Auftrennung von Aromastoffen in einer GC-Kapillarsäule gelangen die Analyten in das entsprechende Interface. Für Kohlenstoff- und Stickstoffbestimmungen wird ein mit Nickel-, Platin- und Kupferoxid gefülltes Keramikrohr als Oxidationsreaktor eingesetzt. Die Reduktion der bei der Überführung entstandenen Stickoxide erfolgt im anschließenden Reduktionsreaktor vollständig zu N_2 . Für Wasserstoff- und Sauerstoffmessungen wird ein Pyrolyseofen als Interface verwendet. Bei 1250°C entsteht Sauerstoff in einem Keramikrohr, das ein Platinrohr als Katalysator und im Kern einen Nickelfaden enthält. Für die Entstehung von Wasserstoff reicht eine Temperatur von 1440°C in einem Keramikrohr ohne Katalysator aus, um eine vollständige Überführung des Probenmaterials zu bewirken. In Elementaranalysatoren wird die Probe direkt als Reinsubstanz in den Reaktor zur vollständigen Verbrennung oder Pyrolyse gegeben. Für Kohlenstoff- und Stickstoffbestimmungen wird ein mit Wolframoxid und Kupferteilen bestücktes Quarzrohr eingesetzt, mit Hilfe einer Wasserfalle aus Magnesiumperchlorat wird ein Übertritt von gebildetem Wasser in die Ionenquelle verhindert. Die Proben werden in Zinnkapseln zugeführt. Zur Pyrolyse werden Keramikrohre mit eingesetztem Glaskohlenstoffrohr, befüllt mit nickelbelegter Kohle und Glaskohlenstoffsplittern, herangezogen. Die nachgeschaltete

Wasserfalle enthält zusätzlich anionisches Adsorptionsmaterial (Carbosorb), um Spuren von CO₂, Sauerstoff usw. zu binden. Hier werden Silberkapseln zur Probenaufgabe verwendet.

Für die on-line Bestimmung von Isotopenwerten sind verschiedene Routinekontrollen und Standardisierungen notwendig, um verlässliche Ergebnisse zu produzieren. Neben der off-line Kontrolle von Reinsubstanzen per EA sind tägliche Stabilitätschecks eine Grundvoraussetzung. Die Verwendung zertifizierter Referenzgase, die Überprüfung dieser Referenzgase mit Standards der IAEA und die zusätzliche Kontrolle mit laborinternen Aromenstandards garantieren gesicherte, reproduzierbare Messergebnisse. Zur Bestimmung muss eine statistische Anzahl von Messungen durchgeführt werden, nach Berechnung des Mittelwerts und der zugehörigen Standardabweichung sollte diese im Routinebetrieb für $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte ± 0.1 ‰, für $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ -Werte ± 0.5 ‰, für $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte ± 5 ‰ und für $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte ± 0.5 ‰ nicht überschreiten.

Kohlenstoff spielt in der Biosphäre hauptsächlich in der Form von CO₂ eine Rolle. Die Fixierung von CO₂ im Verlauf der Photosynthese ist der grundlegende Schritt der Kohlenstoffatom-Aufnahme in biologisches Material. Bei unterschiedlichem Einbau von CO₂ lassen sich auch unterschiedliche Kohlenstoffwerte im Pflanzenmaterial und somit beispielsweise auch in den biosynthetisierten Aromastoffen per IRMS bestimmen. So wurden für so genannte C₃-Pflanzen, die über den C₃-Cyclus CO₂ fixieren (Carboxylierung von Ribulosediphosphat unter Bildung von zweimal 3-Phosphoglycerat), $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von -34 bis -24 ‰ ermittelt. C₄-Pflanzen (Carboxylierung von Phosphoenolpyruvat zu Oxalacetat) hingegen liefern $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von -16 bis -10 ‰. Die letzte und weniger verbreitete Pflanzengruppe unterliegt dem Crassulaceen-Säurestoffwechsel (CAM, *Crassulacean Acid Metabolism*); hier hat man ¹³C/¹²C-Verhältnisse in einer Spannbreite von -30 bis -12 ‰ nachgewiesen (Winkler *et al.*, 1983).

Der Wasserkreislauf als Quelle von Wasserstoffatomen weist eine wesentlich komplexere Zusammensetzung auf. Über Verdunstungsprozesse, Kondensation und Niederschlag treten Isotopenfraktionierungen in den ²H/¹H-Verhältnissen auf. Der Wasserdampf ist im Vergleich zum Wasser immer abgereicherter im schweren Isotop. Global gesehen spielen klimatische Verhältnisse wie Temperatur und geographische Effekte eine bedeutende Rolle. Die Entfernung zur Meeresküste oder auch die Höhenlage tragen entscheidend zum vorherrschenden $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wert bei. Nicht zuletzt finden in der Pflanze Transpirationsvorgänge statt, die Einfluss auf die Anreicherung von Deuterium im Pflanzenmaterial nehmen. Ein photosyntheseabhängiger Effekt wie bei Kohlenstoff kann bei C₃-, C₄- oder CAM-Pflanzen im ²H/¹H-Verhältnis nicht beobachtet werden, bislang wurden lediglich leichte Tendenzen dokumentiert.

Die on-line Bestimmung von $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten bringt einige Probleme mit sich. Durch Aufarbeitung des Probenmaterials kann es zu einem Austausch von Wasserstoffatomen des

Analyten mit denen von zugesetztem Wasser oder anderen Lösungsmitteln kommen. Hierzu sind parallel Modell-Aufarbeitungen durchzuführen, um mögliche Diskriminierungen während der Aufarbeitung und Probenlagerung auszuschließen.

Die Authentizitätsbewertung von Aromastoffen per IRMS wurde anhand der Erarbeitung von Datengrundlagen in den letzten Jahren weiter vorangetrieben. Aufgrund der Tatsache, dass nach wie vor eine extreme Preisspanne zwischen synthetischen und natürlichen Aromastoffen existiert, ist eine eindeutige Zuordnung für die Lebensmittelkontrolle sehr wichtig. Für einige Schlüsselaromastoffe wurden bislang Multielement-Isotopenwerte ermittelt, darunter Vanillin (Kaunzinger *et al.*, 1997), Benzaldehyd (**37**, Ruff *et al.*, 2000), *E*-2-Hexenal (**38**), *E*-2-Hexenol (**57**) und Decanal (**55**, Hör *et al.*, 2001b), Linalool (**22**, Bilke und Mosandl, 2002), Citral (Hör *et al.*, 2001a), α -Ionon (Sewenig *et al.*, 2005), γ - und δ -Decalacton (**35,36** Tamura *et al.*, 2005) sowie die charakteristischen Birnenester (Kahle *et al.*, 2005).

Eine weitere Methode zur Messung von stabilen Isotopen stellt die stellungsspezifische Isotopen-Analyse mittels Kernresonanzspektroskopie (SNIF-NMR[®]) dar. Natürliche Produkte besitzen eine charakteristische stellungsspezifische natürliche Isotopenfraktionierung, die Verteilung von schweren und leichten Isotopen innerhalb des Moleküls lassen Rückschlüsse auf geographische oder botanische Einflüsse zu. Anwendung findet vor allen die quantitative ²H-NMR-Spektroskopie; Nachteile sind allerdings die hohe Probenmenge, eine ausreichende Reinheit und ein hoher Kostenaufwand für die Geräte. Auf die SNIF-NMR[®]-Methode wird im Verlauf der Arbeit nicht weiter eingegangen.

2.4 Sensorik

Unter Sensorik versteht man den Einsatz menschlicher Sinnesorgane zu Prüf- oder Messzwecken (DIN 10950). Eine sensorische Analyse umfasst die Planung, Durchführung und Auswertung von sensorischen Prüfungen (Meilgaard *et al.*, 1999). Einen Überblick über die menschlichen Sinnesorgane und deren Sinneseindrücke und Empfindungen liefert Tabelle 2-4. Meistens sind verschiedene Sinneseindrücke an einem sensorischen Gesamteindruck beteiligt. Für den sensorischen Gesamteindruck eines Fruchtsafts spielt neben dem Aussehen (Farbe als optischer Eindruck) und der Textur (Makro- und Mikrostruktur als haptischer Eindruck) vor allem das so genannte ‚Flavour‘ eine Rolle. Als Flavour wird der Gesamteindruck der chemischen Sinne, gebildet aus Geschmack und Aroma (vollständiger Geruchseindruck), bezeichnet. Geruchsstoffe gelangen einerseits beim Einatmen durch die Nase zu in der Riechschleimhaut lokalisierten Rezeptorzellen, sie können aber auch über die retronasale Wahrnehmung aus der Mundhöhle während dem Ausatmen vom Geruchssinn detektiert werden. Durch den Kauvorgang werden oftmals

gebundene Geruchsstoffe freigesetzt, die parallel zu den freien flüchtigen Verbindungen das Aroma eines Lebensmittels prägen (Ziegler und Ziegler, 1998, Meilgaard *et al.*, 1999).

Tabelle 2-4 Die menschlichen Sinnesorgane mit den jeweiligen Sinneseindrücken und den dafür verantwortlichen Rezeptoren (nach Burdach, 1990, und Lawless und Heymann, 1998).

Sinnesorgan und Sinne		Sinneseindruck	Empfindung	Rezeptoren
Auge	Gesichtssinn	optisch	Helligkeit, Dunkelheit, Farbe	4 optische Rezeptor- arten (2×10^8)
Nase	Geruchssinn	olfaktorisch	Gerüche	etwa 1000 Chemo- rezeptoren (4×10^6)
Zunge	Geschmackssinn	gustatorisch	Grundgeschmacks- arten (süß, sauer, salzig, bitter und umami)	etwa 2000 Ge- schmacksknospen, je 40-60 Rezeptoren
Ohr	Gehörsinn	akustisch	Ton, Klang, Geräusche	akustische Rezeptoren (3×10^4)
	Hautsinn	haptisch	Druck, Berührung	Mechanorezeptoren
	Temperatursinn		Kälte, Wärme	Thermorezeptoren (10^5)
	Schmerzsin		somatischer, visceraler und Tiefen-Schmerz	Nocirezeptoren (3×10^6)

Die sensorische Untersuchung von Lebensmitteln wird entsprechend der vorausgehenden Fragestellung umgesetzt. Für die Ermittlung von Abweichungen beispielsweise im Aromaprofil von Lebensmitteln ist die Bestimmung der jeweiligen Schwellenwerte erforderlich. Als Reizschwelle wird diejenige Konzentration bezeichnet, bei der ein Reiz gerade noch wahrgenommen wird. Wenn ein Unterschied zwischen zwei Proben erkannt wird, ohne dass sich jedoch diese Änderung genauer beschreiben lässt, so spricht man bei der eingesetzten

Konzentration von der Unterschiedsschwelle. Sobald der Unterschied wahrgenommen und stoffspezifisch beschrieben wird (z.B. salzig), so spricht man bei dieser Konzentration von der Erkennungsschwelle. Die Sättigungsschwelle hingegen ist dann erreicht, wenn ein Konzentrationsunterschied bei steigendem Gehalt registriert wird. Um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten, ist eine gezielte Planung unerlässlich. Die Auswahl der Panelteilnehmer kann von ungeschulten Laien, geschulten Prüfern, produktspezifisch geschulten Sachverständigen bis zu ausgebildeten Sensorikern reichen. Das entsprechend zusammengestellte Panel darf während der Prüfung nicht durch andere Reize abgelenkt werden, geeignete Räumlichkeiten und Abschirmungen zu den anderen Testpersonen sind Voraussetzung. Ebenso ist es den Teilnehmern nicht gestattet, unmittelbar vor den sensorischen Tests zu rauchen, stark gewürzte Lebensmittel oder Alkohol zu sich zu nehmen sowie stark parfümierte Kosmetik zu tragen.

Für die sensorische Analyse sind die Prüfverfahren in vier Gruppen eingeteilt, die hedonischen Prüfungen, die bewertenden Prüfungen, die beschreibende Prüfungen und die Unterschiedsprüfungen. Die hedonische Prüfung stellt eine rein subjektive Beurteilung in Form einer Beliebtheitsprüfung dar. Bei Rangordnungs- oder Klassifikationsprüfungen werden die Proben insgesamt oder hinsichtlich einzelner Merkmale bewertet. Um möglichst genaue, wertneutrale Beschreibungen einer Probe zu erhalten, werden beschreibende Prüfungen in Form von Profilprüfungen oder einfach beschreibenden Prüfungen durchgeführt. Für die Ermittlung von Unterschieden zwischen zwei Proben werden Unterschiedsprüfungen wie der Dreieckstest, Duo-Trio-Prüfungen oder paarweise Vergleichsprüfungen angewandt. Gerade für das Bestimmen von Schwellenwerten hat sich die Methode der Dreiecksprüfungen bewährt, da hier die abweichende Probe eines Dreiecks, also von drei Proben, herauszufinden ist. Zwei Proben sind völlig identisch, die dritte unterscheidet sich bezüglich eines Merkmals und soll von den Panelteilnehmern identifiziert werden. Eine statistische Auswertung ist die Grundlage von verlässlichen Ergebnissen der sensorischen Analyse (Meilgaard *et al.*, 1999).

Die Einführung von ‚elektronischen Nasen‘ (‚electronic nose‘; ‚e-nose‘) verspricht mittelfristig einen adäquaten Ersatz von zeit- und kostenaufwändigen sensorischen Tests. Auch für die Detektion von für die menschliche Nase geruchlosen flüchtigen Verbindungen oder etwa reizende Gase ist ein Einsatz denkbar. Allerdings müssen die Apparaturen produktspezifisch konditioniert sein, bislang wird noch kein breites Aromenspektrum abgedeckt. Für einzelne Fragestellungen, wie beispielsweise die Unterscheidung von Orangensaft-Fertigprodukten, wurden erste zuverlässige Ergebnisse erzielt (Benedetti *et al.*, 2004).

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Ananas

3.1.1 Aromaprofil Ananas

3.1.1.1 Frischfrucht

3.1.1.1.1 Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie-(HRGC-MS)-Analytik

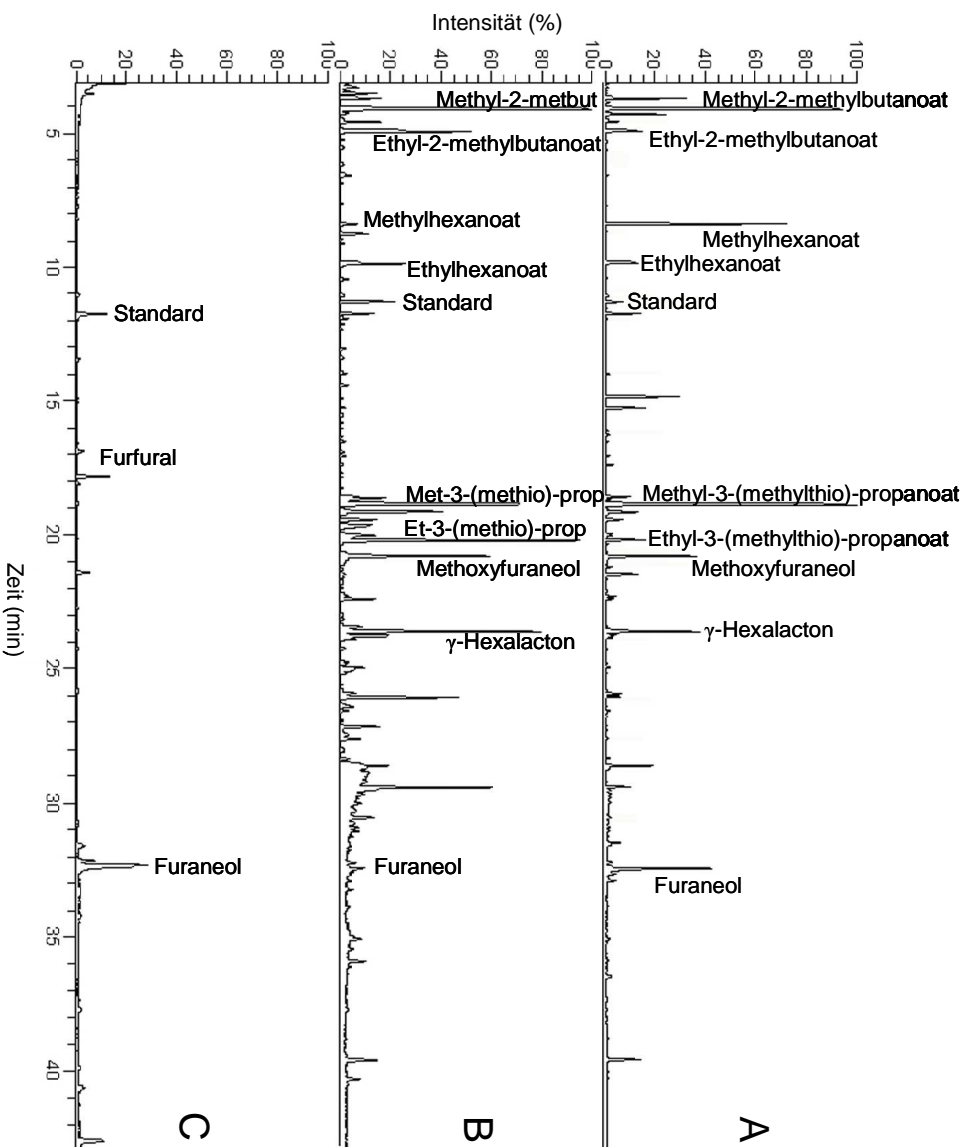


Abbildung 3.1-1 Repräsentative Totalionenchromatogramme der Aromastoffe eines Ananassaftes (A), eines Ananas-Recovery-Aromas (B) und eines Ananassaftkonzentrates (C) der Varietät MD2. Ausgewählte Verbindungen sind angegeben.

Typische Bestandteile des Ananas-Aromaprofils sind unterschiedliche Ester wie Methyl-2-methylbutanoat (**1**) oder Methylhexanoat (**72**), schwefelhaltige Komponenten wie

Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**) sowie Hydroxy- und Acetoxy-Ester. Dies konnten wir mit unseren Studien bestätigen; auch deren entsprechende Ethyl-Ester sind vertreten (Abbildung 3.1-1). Komponenten wie Furaneol® (**11**) sowie dessen Methoxy-Derivat (Mesifuran, **12**) tragen ebenfalls zum charakteristischen Geruchs- und Geschmackempfinden bei (Rodin *et al.*, 1965, Flath, 1980, Takeoka *et al.*, 1989, Engel *et al.*, 1990, Takeoka *et al.*, 1991, Wu *et al.*, 1991, Teai *et al.*, 2001).

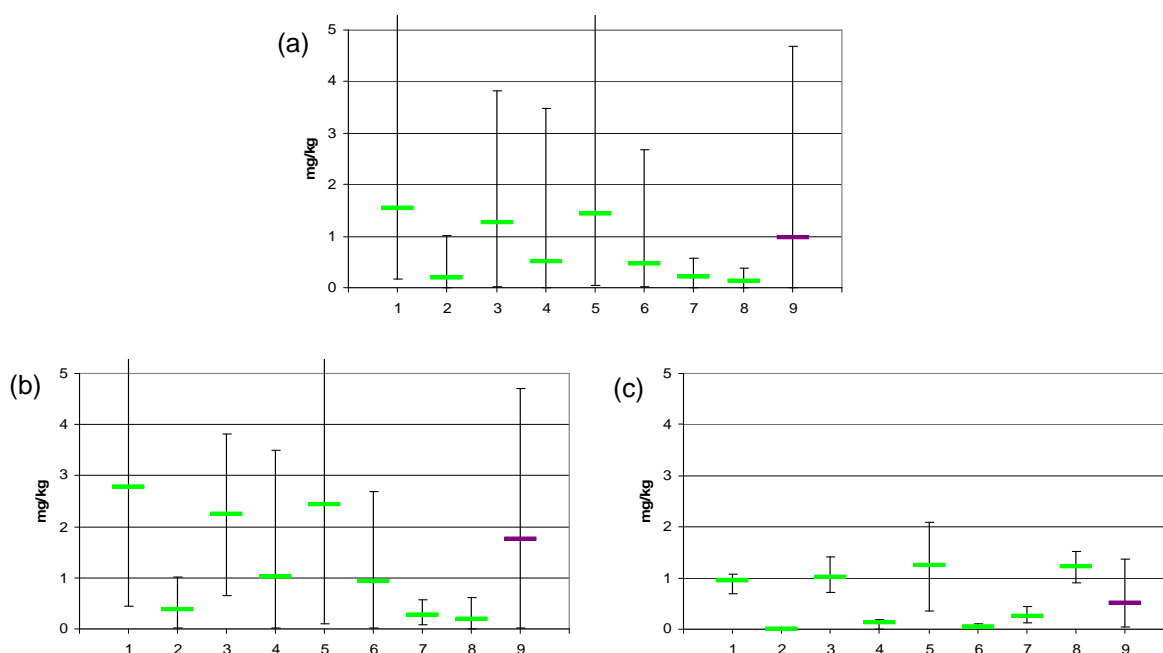


Abbildung 3.1-2 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromastoffe in (a) Ananasfrüchten gesamt (n=19) und (b) Ananasfrüchten der Sorte MD2 (n=8) sowie (c) Ananasfrüchten der Sorte Smooth Cayenne (n=4). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Methyl-2-methylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Methylhexanoat **4** Ethylhexanoat **5** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **6** Ethyl-3-(methylthio)-propanoat **7** Methyl-3-hydroxyhexanoat **8** Methyl-3-acetoxyhexanoat **9** Furaneol®

Im Rahmen unserer Studien wurden zahlreiche frische Ananasfrüchte im Hinblick auf deren Aromastoffkomposition untersucht. Für einen umfassenden Überblick wurden verschiedene Sorten (MD2, Smooth Cayenne, Victoria, Babyananas) sowie unterschiedliche Herkünfte (Costa Rica, Elfenbeinküste, Ghana, Honduras, Philippinen, La Réunion, Südafrika, Thailand) ausgewählt. Die mittleren Gehalte deren Aromakomponenten werden in Abbildung 3.1-2a und in Tabelle A-1 im Anhang gezeigt, aufgeschlüsselte Ergebnisse für

die Sorten MD2 und Smooth Cayenne finden sich entsprechend in Abbildung 3.1-2b und c. Die Aromaprofile sind qualitativ sehr ähnlich, allerdings liegen die Gehalte in der Sorte Smooth Cayenne niedriger als bei MD2. Diese Tatsache macht sich vor allem bei den leichtflüchtigen Estern sowie dem als klassisches „Ananas-Lacton“ bezeichneten Furaneol® (**11**) bemerkbar (Rodin *et al.*, 1965, Willhalm *et al.*, 1965).

Die im Rahmen dieser Studie erarbeiteten quantitativen Hauptkomponenten stellten bezogen auf alle untersuchten Früchte die Verbindungen Methyl-2-methylbutanoat (**1**, 0,2 bis 6,0 mg/l), Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**, 0,04 bis 7,1 mg/l), Mesifuran (**12**, 0,02 bis 9,2 mg/l), Methylhexanoat (**72**, 0,02 bis 3,8 mg/l) und Furaneol® (**11**, 0,01 bis 4,7 mg/l) dar. Um die erhaltenen Daten besser beurteilen zu können, wurden diese in Tabelle 3.1-1 Literaturangaben gegenübergestellt.

Tabelle 3.1-1 Gegenüberstellung von selbstermittelten Gehalten an ausgewählten Ananas-Aromakomponenten und Literaturdaten unter Berücksichtigung der Sorte.

Studie	1	2	3	4	5
Sorte	MD2	SC^a	k.A.	MD2	k.A.
Einheit	mg/l	mg/l	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Methyl-2-methylbutanoat	2,8	0,9	0,2	1,2	0,07
Ethyl-2-methylbutanoat	0,4	0,01	0,2	0,2	-
Methylhexanoat	2,2	1,0	1,1	-	-
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	2,4	1,2	1,1	-	-
Mesifuran	3,3	0,05	0,3	-	-
Methyl-3-acetoxyhexanoat	0,2	1,2	0,06	-	1,1
Furaneol®	1,8	0,5	0,04	26,8	0,7

^aSC = Smooth Cayenne

k.A. = keine Angabe

1 = eigene Studie; n=9, Mittelwert

2 = eigene Studie; n=4, Mittelwert

3 = Teai *et al.*, 2001

4 = Tokitomo *et al.*, 2005

5 = Wu *et al.*, 1991

Aus dieser Zusammenstellung wird deutlich, wie stark die Gehalte an Aromastoffen von der jeweiligen Ananassorte abhängen. Abweichungen zeigen sich vor allem in den Gehalten der Ester Methyl-2-methylbutanoat (**1**) und Methyl-3-acetoxyhexanoat (**70**), aber auch in den den Verbindungen Mesifuran (**12**) und Furaneol® (**11**). Als Übereinstimmung wird durchgehend der schwefelhaltige Ester Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**) als Hauptkomponente des Ananasaromaprofils beschrieben, so auch bei der Varietät ‚Perolera‘ (Sinuco *et al.*, 2004). Ebenso bestätigten Ito *et al.*, dass im Vergleich der Sorten ‚Marian-Gold‘ (MD2-Abkömmling) und Smooth Cayenne, die Varietät ‚Marian-Gold‘ quantitativ doppelt so hohe Aromagehalte aufweist, allerdings ermittelte diese Gruppe in beiden Fällen Furaneol® (**11**) als Hauptkomponente (Ito *et al.*, 2006).

3.1.1.1.2 Headspace-Analytik

Einige Studien über das Aromaprofil von Ananas wurden mit Hilfe der Headspace-GC-Analytik durchgeführt (Takeoka *et al.*, 1989, Shaw *et al.*, 2002). Diese Auftrennungen wurden lediglich mittels Flammenionisationsdetektor (FID) detektiert; bei unseren Untersuchungen erfolgten die Identifizierung und Zuordnung der Komponenten mit Hilfe von SPME-Fasern und GC-MS (gemäß Abschnitt 4.5.2.3). Gerade weil sehr viele leichtflüchtige Aromakomponenten zum charakteristischen Ananasaroma beitragen, wurden parallel zur HRGC-MS-Analytik auch Headspace-Messungen von den Ananasfrüchten durchgeführt. Mit dem Vorteil, ohne Lösungsmittelpeak und ohne vorherige Extraktion alle besonders leichtflüchtigen Verbindungen zu erfassen, wurden die mittels HRGC-MS gesammelten Daten ergänzt. Zusätzlich zu den via HRGC-MS erfassten Verbindungen wurde Acetaldehyd (**56**) mit 0 bis 13 mg/kg, Ethanol mit 0 bis 0,6 mg/kg, Methylacetat (**71**) mit 0 bis 13 mg/kg, Ethylacetat (**30**) mit 0 bis 17 mg/kg und Methyl-2-methylpropanoat mit 0 bis 2,5 mg/kg bestimmt. In Tabelle 3.1-2 sind die entsprechenden Daten bezogen auf kg Ananasfrischfrucht zusammengestellt. Für die großen Konzentrationsunterschiede lassen sich verschiedene Gründe anführen. Die Analyse per HS-HRGC benötigt weder ein Pürieren des Probenmaterials, Extraktion mit Lösungsmitteln oder Destillationsschritte. Das feine Zerkleinern verursacht eine verstärkte Einwirkung der pflanzeigenen Enzyme und den Kontakt mit Luftsauerstoff, zusätzlich wird die Oberfläche vergrößert und somit auch die Möglichkeit der Abdampfung leichtflüchtiger Komponenten. Verluste während der Aufarbeitung durch unvollständige Extraktion können weiterhin zu geringeren Ausbeuten führen. Ebenso birgt die Einwirkung von hohen Temperaturen die Gefahr, empfindliche Aromastoffe zu zerstören. Zusätzlich wird über die Quantifizierung per FID und MS-Detektor ein für jede Verbindung spezifischer Fehler begründet.

Tabelle 3.1-2 Gehalte [mg/kg] an leichtflüchtigen Ananasaromastoffen ermittelt mit HS-HRGC-FID (a) und kombiniert mit bereits durch HRGC-MS bestimmten Daten aus Tabelle A-1 im Anhang (b). Minimal- und Maximalwerte sind in Klammern angegeben.

Verbindung	(a)	(b)
	mg/kg Fruchtfleisch (n=11)	mg/kg* Fruchtfleisch (n=19)
Acetaldehyd	1,1 (0-13)	-
Ethanol	0,1 (0-0,6)	-
Methylacetat	1,0 (0-13)	-
Ethylacetat	3,9 (0-17)	-
Methyl-2-methylpropanoat	0,5 (0-2,5)	-
Ethylpropanoat	0,25 (0-1,7)	0,02 (0-0,09)
Ethyl-2-methylpropanoat	0,1 (0-0,6)	tr (0-0,02)
Propylacetat	0,1 (0-0,5)	0,3 (0-2,5)
Methylbutanoat	1,4 (0-3,9)	0,3 (tr-1,3)
Methyl-2-methylbutanoat	9,7 (0-38)	1,1 (0,1-4,2)
Ethylbutanoat	0,5 (0-2,6)	0,07 (0-0,3)
Methylpentanoat	0,35 (0-2,6)	0,02 (0-0,06)
Ethyl-2-methylbutanoat	1,7 (0-8,6)	0,3 (0-1,6)
Methylhexanoat	6,0 (0,4-28)	1,9 (0,03-5,4)
Ethylhexanoat	1,8 (0-8,0)	0,7 (0-5,0)

*Umrechnungsfaktor=0,7 (1 kg Fruchtfleisch entsprechen 700 ml Ananassaft)

tr = > 0,01 mg/l

Analog zu den Ergebnissen unserer Studien bestätigen auch Lamikanra und Richard, 2004, das Auftreten von Methyl-2-methylbutanoat (**1**), Methylhexanoat (**72**) und Ethylhexanoat (**28**) als Hauptkomponenten von Ananasfrüchten. Die Quantifizierung erfolgte hierbei per SPME. Zusätzlich beschrieben diese Autoren jedoch auch Methyl- sowie Ethyl-5-hexenoat (**73,74**) als quantitativ überwiegende Verbindungen; dies wurde im Rahmen unserer Untersuchungen nicht beobachtet. Takeoka *et al.* untersuchten mit Hilfe dynamischer Headspace-Analytik das Aromaprofil ganzer intakter Ananasfrüchte der Sorte Smooth Cayenne. Hierbei wurden als Hauptkomponenten (in absteigender Reihenfolge) die Aromastoffe Methylhexanoat (**72**), Methyl-2-methylbutanoat (**1**), Methyl-octanoat (**75**) und

Ethylacetat (**30**) ermittelt (Takeoka *et al.*, 1989). Diese Ergebnisse stimmen mit den hier vorgestellten Daten gut überein.

Aus Tabelle 3.1-2 wird ersichtlich, dass mit abnehmender Leichtflüchtigkeit die Abweichungen zwischen den per Headspace- gegenüber der HRGC-MS-Analytik ermittelten Gehalten geringer werden. Ein allgemeingültiger Trend ist allerdings nicht zu erkennen, da allein während der Probenmaterialzerkleinerung unterschiedliche Verluste der einzelnen Komponenten beobachtet wurden (Abb. 3.1-3). Gegenübergestellt sind die Gehalte ausgewählter Aromastoffe aus frischen Ananasfruchtfleischstücken mit den Mengen dieser Aromaverbindungen in daraus frisch hergestelltem Ananassaft. Die daraus berechneten – teilweise erheblichen – Verluste wurden aus Mehrfachbestimmungen ermittelt und weisen keine Abhängigkeit mit Struktur oder Flüchtigkeit auf.

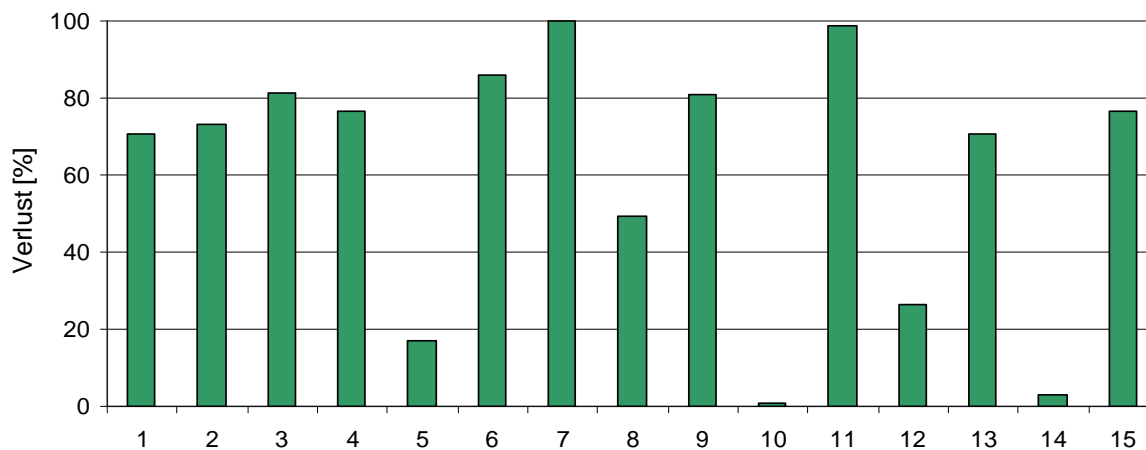


Abbildung 3.1-3 Durchschnittliche Verluste in [%] an Ananasaromastoffen (1-15) im Vergleich von frischen Stücken aus Ananasfrüchten der Sorte MD2 (n=8) zu daraus frisch hergestelltem Ananassaft (n=4). Die Proben wurden jeweils sofort nach Zubereitung mittels HS-HRGC vermessen.

1 Acetaldehyd **2** Ethanol **3** Methylacetat **4** Ethylacetat **5** Methyl-2-methylpropanoat **6** Ethylpropanoat **7** Propylacetat **8** Methylbutanoat **9** Ethyl-2-methylpropanoat **10** Methyl-2-methylbutanoat **11** Ethylbutanoat **12** Ethyl-2-methylbutanoat **13** Methylpentanoat **14** Methylhexanoat **15** Ethylhexanoat

Nicht nur die Aufarbeitungsart, sondern auch die Rohstoffe können einen Unterschied in der Aromakomposition begründen. Allerdings lieferte hier die Headspace-Analyse ein deckungsgleiches Ergebnis mit der HRGC-MS-Bestimmung. Auch hier war das qualitative und quantitative Verteilungsschema der Aromastoffe ähnlich, mit der Einschränkung dass

insgesamt die Konzentration der Aromastoffe bei der Varietät Smooth Cayenne in einem niedrigeren Bereich als bei der Sorte MD2 lag (Abb. 3.1-4).

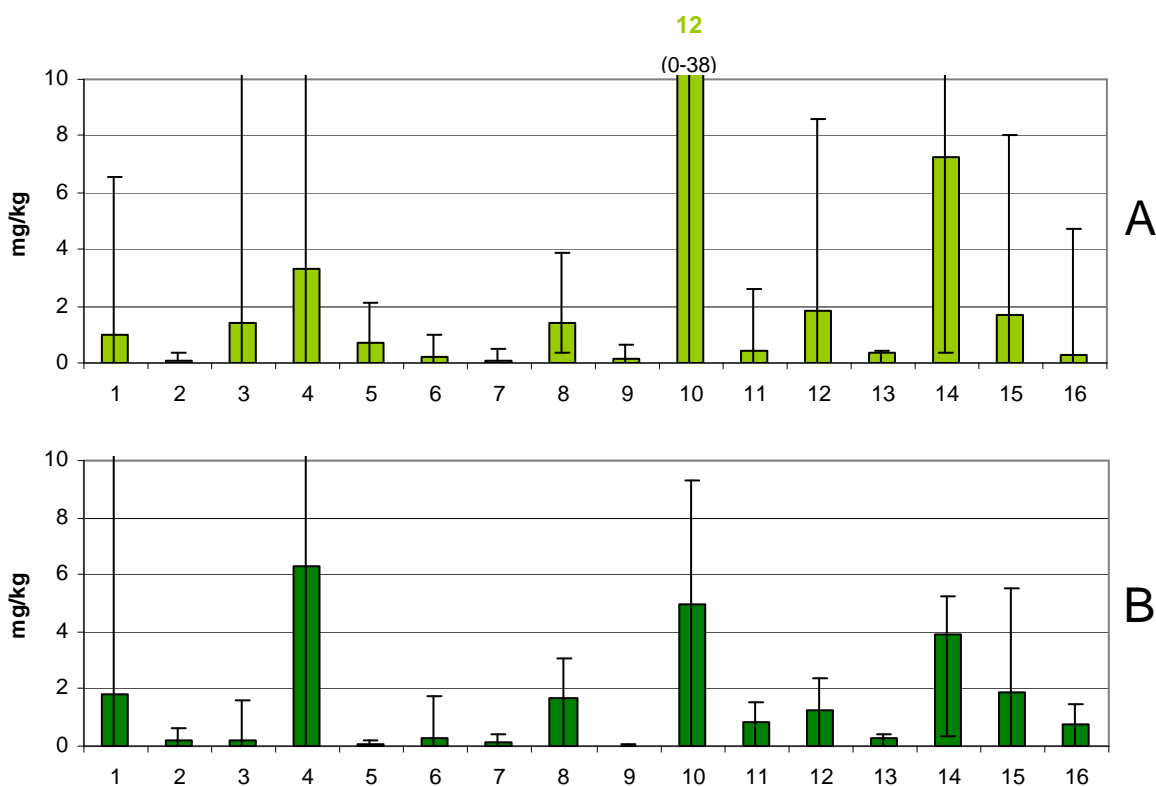


Abbildung 3.1-4 Übersicht über die mittels HS-GC-FID ermittelten Gehalte [mg/kg] an Ananasaromastoffen (1-16) in den Varietäten MD2 (A, n=7) und Smooth Cayenne (B, n=3). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Acetaldehyd **2** Methanol **3** Methylacetat **4** Ethylacetat **5** Methyl-2-methylpropanoat **6** Ethylpropanoat **7** Propylacetat **8** Methylbutanoat **9** Ethyl-2-methylpropanoat **10** Methyl-2-methylbutanoat **11** Ethylbutanoat **12** Ethyl-2-methylbutanoat **13** Methylpentanoat **14** Methylhexanoat **15** Ethylhexanoat **16** Ethyloctanoat

Die Verteilung der Aromastoffe innerhalb des Ananasfruchtkörpers wurde von uns erstmals anhand von Headspace-Messungen unterschiedlicher Ananasstücke geprüft, Literaturdaten sind diesbezüglich bislang nicht verfügbar. Hierzu wurden Quer- und Längsschnitte von insgesamt elf Früchten angefertigt und genormte Fruchtfleischstücke aus verschiedenen Segmenten analog Abbildung 4-1 in Kapitel 4.5.2.3 zur Analyse entnommen. Die Untersuchung der Stücke im Querschnitt ergab, wie in Abbildung 3.1-5 graphisch dargestellt ist, dass bei den analysierten Früchten eine Tendenz der Aromastoffanreicherung vom Rand bis hin zum zentralen Strunk besteht. Besonders gut sichtbar wird dies bei den

Verbindungen Methyl-2-methylbutanoat (**1**) oder auch Methylhexanoat (**72**), allerdings ist die Zunahme an Aromastoffgehalten nicht grundsätzlich bei allen Verbindungen konstant. Die Verdunstungs- und Verdampfungsprozesse von Früchten spielen sich gerade am äußeren Rand, der Schale, ab, somit war die durchschnittlich niedrigste Konzentration an Aromastoffen in dieser Region zu erwarten.

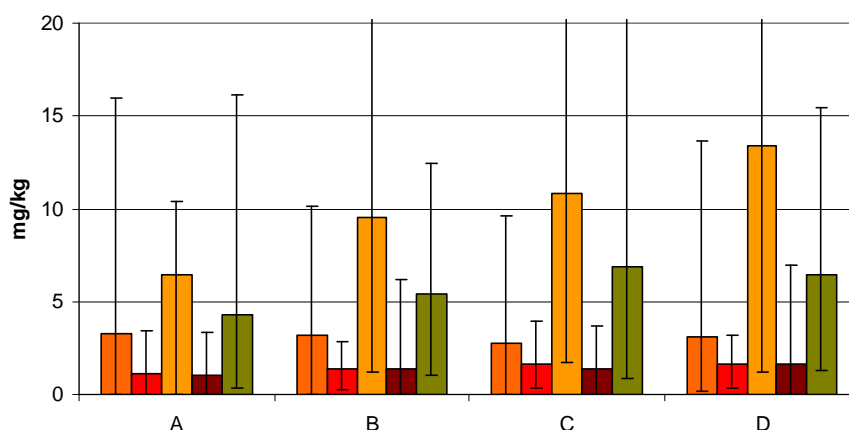


Abbildung 3.1-5 Übersicht über die per HS-GC-FID ermittelten Gehalte [mg/kg] an den ausgewählten Ananasaromastoffen Ethylacetat (■), Methylbutanoat (■), Methyl-2-methylbutanoat (■), Ethyl-2-methylbutanoat (■) und Methylhexanoat (■) in frischen Ananasfruchtfleischstücken (jeweils n=11) aus dem Rand (A), aus der Mitte (B), aus dem Innenstück (C) und aus dem Strunk (D). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

Der Blick auf die Aromastoffverteilung in Abbildung 3.1-6 zeigt, dass im Rahmen der Schwankungsbreiten keine Tendenz für An- oder Abreicherungen von Aromakomponenten innerhalb des Längsschnitts vorliegt. Die heterogene Verteilung dieser repräsentativen Verbindungen ließ kein grundlegendes Schema für alle Ananasaromastoffe erkennen; die jeweils durchschnittliche Höchstkonzentration wurde beispielsweise für Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) im Stück „unten“, für Ethylacetat (**30**) im Bereich „unten-mitte“ und für Methylbutanoat im Stück „mitte-oben“ ermittelt. Bei Methyl-2-methylbutanoat (**1**) und Methylhexanoat (**72**) war aufgrund der hohen Abweichung zwischen Minimal- und Maximalwert auch in der Längsschnittverteilung kein signifikanter Unterschied zu beobachten.

Derartige Studien liefern wichtige Anhaltspunkte für die industrielle Verarbeitung, insbesondere die Verwertung der einzelnen Teile von Ananasfrüchten. Beispielsweise kann der faserige Strunk, ein Abfallprodukt bei der Herstellung von konservierten Ananasscheiben

und -stücken aufgrund seiner Aromastoffgehalte zur Gewinnung von Ananasaromen herangezogen werden.

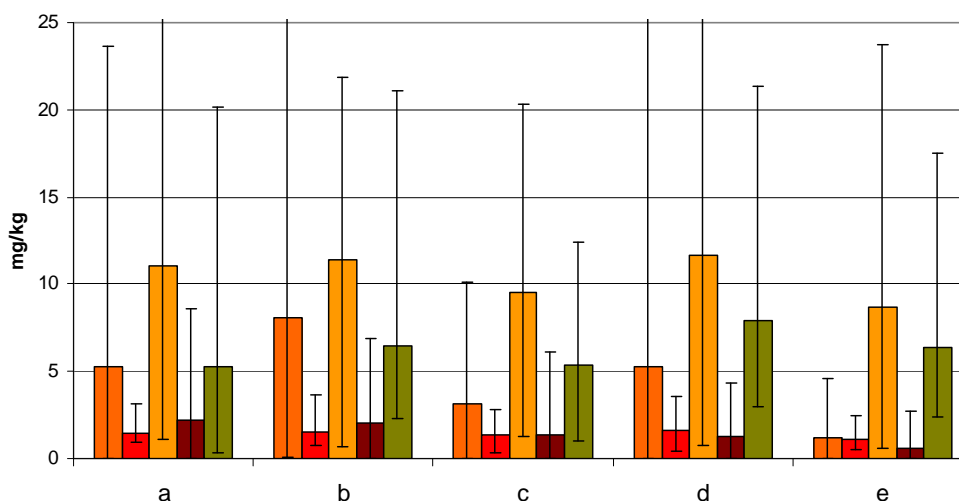


Abbildung 3.1-6 Übersicht über die mittels HS-GC-FID ermittelten Gehalte [mg/kg] an den ausgewählten Ananasaromastoffen Ethylacetat (■), Methylbutanoat (■), Methyl-2-methylbutanoat (■), Ethyl-2-methylbutanoat (■) und Methylhexanoat (■) in frischen Ananasfruchtstücken (jeweils n=11) aus den Abschnitten unten (a), unten-mitte (b), mitte (c), mitte-oben (d) und oben (e). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

3.1.1.1.3 Nacherntestudie

Im Mittelpunkt von bereits durchgeführten Reife- und Lagerstudien stand vor allem die veränderte Aktivität verschiedener Enzyme der Ananas (Cazzonelli *et al.*, 1998, The *et al.*, 2001, Dahler *et al.*, 2002, Rosenthal *et al.*, 2002, Zhou *et al.*, 2002, Lamikanra und Watson, 2003). Umano *et al.* zeigten die unterschiedlichen Gehalte flüchtiger Inhaltsstoffe von grünen und reifen Ananasfrüchten auf, Lamikanra beschreibt das Auftreten von Aromaverlusten bei Ananasfrüchten infolge enzymatischer Hydrolyse (Umano *et al.*, 1992, Lamikanra, 2002). Unbeachtet blieb bislang die Fragestellung, wie sich das Aromaprofil im Laufe der Lagerung bzw. fortschreitenden Reifung verschiebt und ob anhand ausgewählter Indikatorverbindungen der Reifegrad einer Ananasfrucht bestimmt werden kann. Zu diesem Zweck wurden die flüchtigen Aromastoffe von zwei unterschiedlichen Ananassorten (Smooth Cayenne und MD2) in definierten Zeitabschnitten untersucht (Stadium 0= grün bis reif, Stadium 1= vollreif, Stadium 2= überreif bis verdorben) und gegenübergestellt.

Schon rein visuell konnte ein Unterschied zwischen den beiden Varietäten Smooth Cayenne und MD 2 während der Reifung beobachtet werden: Die Sorte Smooth Cayenne, gekennzeichnet durch ein hellgelbes Fruchtfleisch und eine fein-säuerliche Note, zeigte schon nach wenigen Tagen braune Stellen im Fruchtkörper, der gewonnene Saft verfärbte sich im Verlauf der Extraktion von gelb nach braun. Im Gegensatz dazu veränderte sich das leuchtend gelbe Fruchtfleisch der MD2 Ananas kaum, auch der extrahierte Saft behielt den gelben Farbton der frischen Frucht. Ein unterschiedliches Verhaltensmuster wurde auch bei Betrachtung einiger Veränderungen an Aromagehalten im Zuge der Reifung festgestellt.

Im Vergleich zu den untersuchten Ananasfrüchten im grün bis reifen Zustand wiesen die Früchte im Stadium 1 einen erwartungsgemäß höheren Gehalt im Rahmen der natürlichen Schwankungsbreiten nahezu aller gemessenen Verbindungen auf. Der Anteil an Furaneol® (**11**) beispielsweise stieg in beiden Ananasvarietäten im Verlauf der Lagerung drastisch an, wohingegen sich das hohe Gehaltsniveau von Methoxyfuraneol (**12**), einer Hauptkomponente des Aromaprofils von Ananasfrüchten der Sorte MD2, im zeitlichen Verlauf kaum veränderte. Charakteristische Ananasinhaltsstoffe beider Varietäten wurden herausgegriffen und deren Gehalte im Verlauf der Lagerung in Abbildung 3.1-7 graphisch aufgetragen.

Als Indikator für das erste Einsetzen von Zersetzungs- und Verderbnisprozessen dient das Auftreten von Gärungsalkoholen und deren Acetaten (Seymour *et al.*, 1993), diese Verbindungen wurden mit roten Farbtönen in Abbildung 3.1-11 markiert. 2-Methyl-1-propanol (**76**), 2/3-Methyl-1-butylacetat (**60,77**), 2/3-Methyl-1-butanol (**78,79**) oder 2-Phenylethanol (**80**) sind in frischen Ananasfrüchten im Stadium 0 gar nicht oder lediglich in geringen Mengen nachgewiesen worden, während der Lagerung traten hingegen beachtliche Gehalte auf. Dieser Vorgang wurde in Korrelation mit der Anzahl der Hefen bei Ananas von Spanier *et al.*, 1998, beschrieben. Auch der Anteil an Acetoin, einem mikrobiellen Stoffwechselprodukt, steigt in Korrelation mit der Zeit an. Allerdings wurde in einigen Frischfrüchten schon im grün bis reifen Zustand ein erhöhter Acetoingehalt festgestellt.

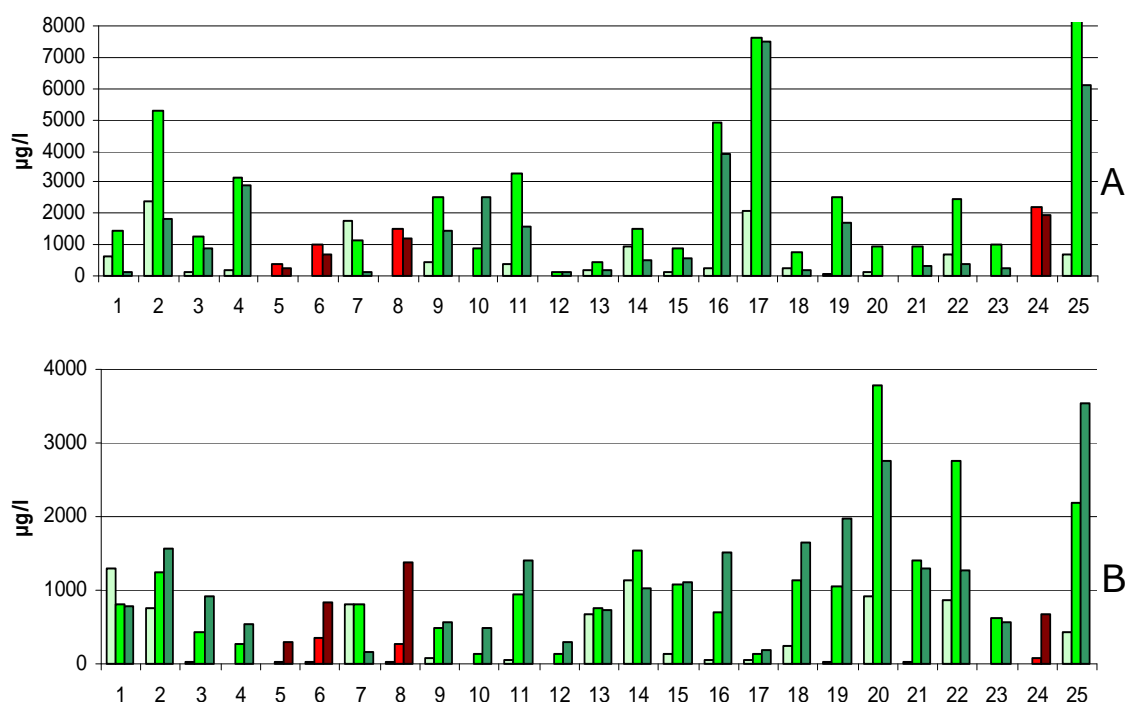


Abbildung 3.1-7 Änderung des Gehalts [$\mu\text{g/l}$] von ausgewählten Ananas-Aromastoffen während der Lagerung (Stadium 0 \square / \square , Stadium 1 \blacksquare / \blacksquare , Stadium 2 \blacksquare / \blacksquare) in den Varietäten MD2 (A) und Smooth Cayenne (B).

1 Methylbutanoat **2** Methyl-2-methylbutanoat **3** Ethylbutanoat **4** Ethyl-2-methylbutanoat **5** 2-Methyl-1-propanol **6** 2/3-Methylbutylacetat **7** Methylhexanoat **8** 2/3-Methyl-1-butanol **9** Ethylhexanoat **10** Acetoin **11** Methyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat **12** Methyl-3-hydroxybutanoat **13** Dimethylmalonat **14** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **15** Methyl-3-acetoxybutanoat **16** Ethyl-3-(methylthio)-butanoat **17** Methoxyfuraneol **18** Methyl-3-hydroxyhexanoat **19** Ethyl-3-hydroxyhexanoat **20** Methyl-3-acetoxyhexanoat **21** Ethyl-3-acetoxyhexanoat **22** Methyl-5-acetoxyhexanoat **23** Ethyl-5-acetoxyhexanoat **24** 2-Phenylethanol **25** Furaneol[®]

Die Zunahme im Verlauf der Lagerung an kurzkettingen Alkoholen in Ananasfrüchten wie beispielsweise Ethanol, gebildet durch alkoholische Gärung, wurde per Headspace-Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor (HS-HRGC-FID) bestimmt. In Abbildung 3.1-8 wird gezeigt, dass es in den Sorten MD2 sowie Smooth Cayenne zu einem starken Anstieg an Ethanol während der Lagerung kam. Im Rahmen der Schwankungsbreiten wurde aber kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Varietäten in der Zunahme des Alkohols festgestellt.

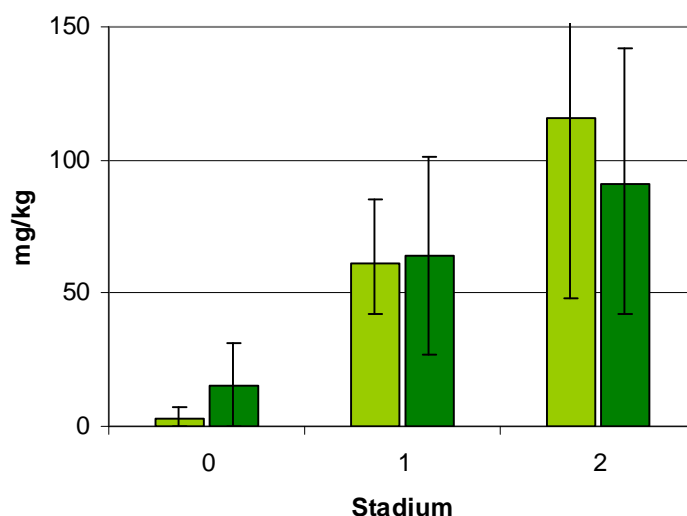


Abbildung 3.1-8 Mittels HS-HRGC-FID ermittelte Ethanolgehalte [mg/kg] in Ananassorten der Varietät MD2 (■, n=8) und Smooth Cayenne (■, n=8) bei drei Reifestadien grün-reif (0), vollreif (1) und überreif-verdorben (2). Mittel-, Minimal- und Maximalwerte sind angegeben.

Da Ester mit über 80% den Hauptanteil am Ananasaromaprofil bilden, wurde das sortenabhängige Verhalten repräsentativer Esterpaare genauer betrachtet. Die erhaltenen Ergebnisse dieser Paarungen, jeweils bestehend aus Methyl- und Ethylestern der gleichen Säure, sind in den Abbildungen 3.1-9 bis 3.1-12 graphisch dargestellt. Die oben genannte Ethanolzunahme während der Lagerung/Reifung begünstigt durch Hydrolyse oder Umesterung die Entstehung neuer Ethylester. Dieses Phänomen wird dadurch erkennbar, dass bei allen analysierten Esterpaaren eine Zunahme des Ethylesters in Bezug auf Stadium 0 zu verzeichnen war. Dass dies aber keine lineare Wechselwirkung, sondern vielmehr einen dynamischen Prozess darstellt, wird bei genauer Beobachtung der ausgewählten Beispiele Methyl-/Ethylhexanoat, Methyl-/Ethyl-3-(methylthio)-propanoat, Methyl-/Ethyl-3-acetoxyhexanoat und Methyl-/Ethyl-2-methylbutanoat deutlich (Abb. 3.1-10 bis 3.1-12). Bei der Sorte MD2 wurde durchgehend eine Umkehr des Methyl-/Ethyl-Esterverhältnisses zugunsten des Ethylesters festgestellt. Teilweise schon im Stadium der Vollreife (Stadium 1) überwog mengenmäßig der Ethylester die korrespondierende Methylverbindung. Bei der Varietät Smooth Cayenne wurde auch bei der Paarung Methyl-/Ethylhexanoat (Abb. 3.1-9) in Stadium 2 ein Überschuss an Ethylester verzeichnet. Die drei anderen korrespondierenden Estergruppen wiesen in Stadium 1 einen höheren Methyl ester-Gehalt auf, der sich auch bis zum Stadium 2 nicht mehr signifikant veränderte.

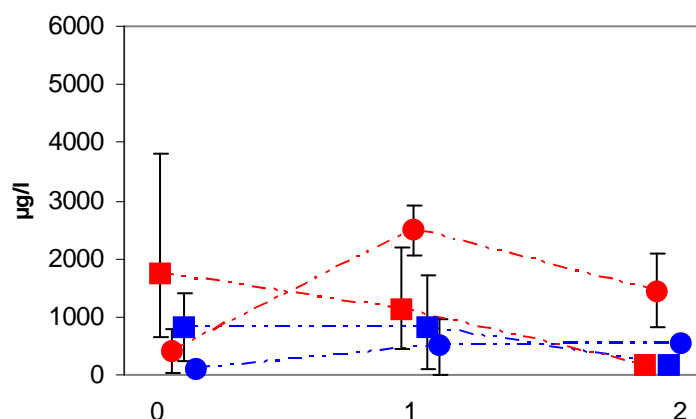


Abbildung 3.1-9 Veränderung der Gehalte [$\mu\text{g/l}$] an Methylhexanoat (MH) und Ethylhexanoat (EH) während der drei Stadien grün-reif (0), vollreif (1) und überreif-verdorben (2) in beiden Varietäten Smooth Cayenne (■ MH, ● EH) und MD 2 (■ MH, ● EH). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

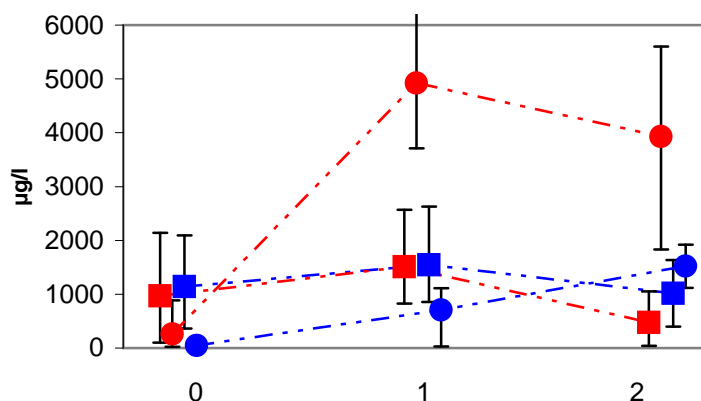


Abbildung 3.1-10 Veränderung der Gehalte [$\mu\text{g/l}$] an Methyl-3-(methylthio)-propanoat (MMP) und Ethyl-3-(methylthio)-propanoat (EMP) während der drei Stadien grün-reif (0), vollreif (1) und überreif-verdorben (2) in beiden Varietäten Smooth Cayenne (■ MMP, ● EMP) und MD 2 (■ MMP, ● EMP). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

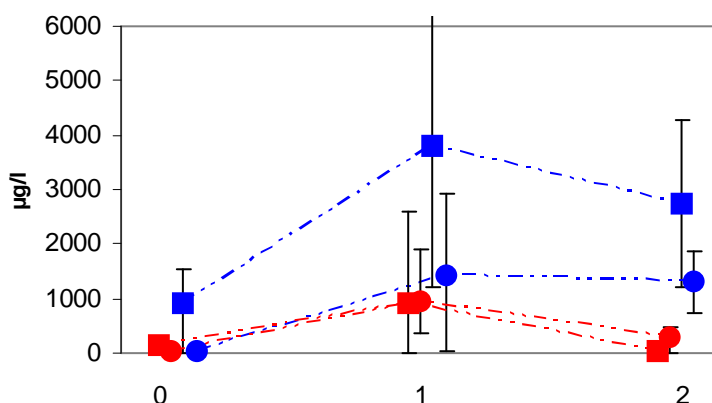


Abbildung 3.1-11 Veränderung der Gehalte [$\mu\text{g/l}$] an Methyl-3-acetoxyhexanoat (MA) und Ethyl-3-acetoxyhexanoat (EA) während der drei Stadien grün-reif (0), vollreif (1) und überreif-verdorben (2) in beiden Varietäten Smooth Cayenne (■ MA, ● EA) und MD 2 (■ MA, ● EA). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

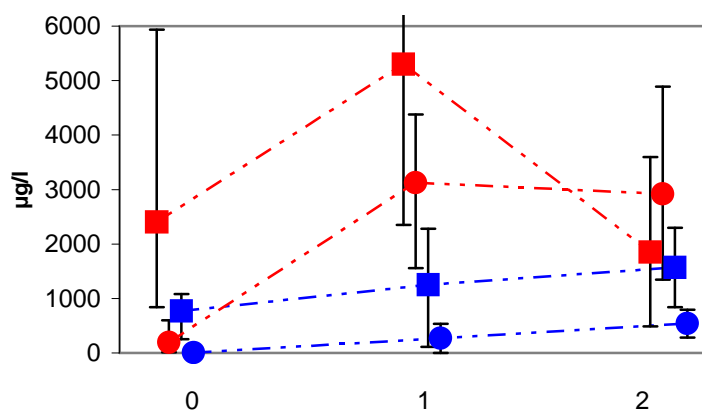


Abbildung 3.1-12 Veränderung der Gehalte [$\mu\text{g/l}$] an Methyl-2-methylbutanoat (MMB) und Ethyl-2-methylbutanoat (EMB) während der drei Stadien grün-reif (0), vollreif (1) und überreif-verdorben (2) in beiden Varietäten Smooth Cayenne (■ MMB, ● EMB) und MD 2 (■ MMB, ● EMB). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

Als Fazit der Nacherntestudie lässt sich feststellen, dass es bei der Lagerung zu zeit- und sortenabhängigen Änderungen des Esterprofils kommt. Dabei wiesen die genauer betrachteten Ester ein eigenes Verhaltensmuster auf; ein grundlegendes Schema wurde nicht erkannt. Zum jetzigen Zeitpunkt ist eine eindeutige Bewertung des Reifegrades von Ananasfrüchten - oder eine Qualitätsbeurteilung bezüglich der Rohware von Ananasprodukten - ausschließlich anhand der Esteranalytik verfrüht. Nach Untersuchung einer

statistisch ausreichenden Probenzahl von industriell relevanten Rohwaren besteht die Möglichkeit, einen zuverlässigen Beurteilungskatalog, auch unter Einbezug des Ananas-Aromaprofils, zu erhalten.

3.1.1.2 Saft

Nicht nur die Früchte, auch durch die SGF bereitgestellten ‚single strength‘-Ananassäfte sowie Handelsäfte wurden mittels HRGC-MS analysiert. In Abbildung 3.1-13 und in Tabelle A-2 im Anhang sind die erzielten Ergebnisse zusammengestellt. Bei Betrachtung dieser Daten fällt auf, dass die ‚single strength‘-Säfte der SGF (Abb. 3.1-13a), verglichen mit den frischen Früchten, deutliche Aroma-Einbußen aufweisen; sämtliche leicht- und schwerflüchtigen Aromastoffe sind nur in geringeren Mengen enthalten. Die Aromaprofile der kommerziellen Ananasedirektsäfte decken sich dagegen eher mit den ermittelten Aromaprofilen der Frischfrüchte, hierbei ist allerdings die Schwankungsbreite der einzelnen Säfte teilweise sehr groß.

Im Gegensatz dazu waren in den kommerziellen Ananassäften aus Konzentrat kaum noch Ananas-typische Aromakomponenten vorhanden, lediglich Spuren einiger Ester sowie Furaneol® (**11**) wurden detektiert (Abb. 3.1-13b und c). Essentielle Aromastoffe wie z.B. die Ester Methyl-2-methylbutanoat (**1**), Methylhexanoat (**72**) oder Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**) – Hauptkomponenten in Ananasfrüchten – waren in den Handelssäften aus Konzentrat nur in sehr geringen Mengen (<0,03 mg/l) nachweisbar. Als Hauptkomponente vieler Saftproben wurde das Erhitzungsprodukt Furfural (**48**) identifiziert (in ‚single strength‘-Säfte bis zu 5,3 mg/l, in Handelsproben bis zu 2,0 mg/l). Inwieweit diese Verbindung in den Ananassäften ursprünglich vorhanden oder erst durch die Aufarbeitung und Extraktion per Simultaner Destillation-Extraktion (SDE) zusätzlich gebildet wurde, ist nicht mit Sicherheit festzustellen. Einen Hinweis liefert jedoch die Tatsache, dass in Ananasfrüchten im Rahmen unserer Untersuchungen kein Furfural (**48**) gefunden wurde. Die partiell große Ähnlichkeit des Aromaprofils von Ananassäften aus Konzentrat mit demjenigen Aromaprofil des ursprünglichen Saftkonzentrats selbst lässt den Schluss zu, dass in einigen Fällen bei der Rückmischung der Ananassäfte kein Recovery-Aroma zugesetzt wurde und somit nur verdünntes Konzentrat vorlag.

Die Analyse von konserviertem ‚single strength‘-Ananassaft durch Ohta et al. ergab als Hauptkomponenten Essigsäure, Ethanol und Acetoin. Diese drei Verbindungen sind keine charakteristischen Ananas- ‚impact compounds‘ und weisen auf ein qualitativ minderwertiges Produkt hin (Ohta *et al.*, 1987). Andere Literaturdaten bezüglich industriell hergestellter Ananassäfte liegen nicht vor.

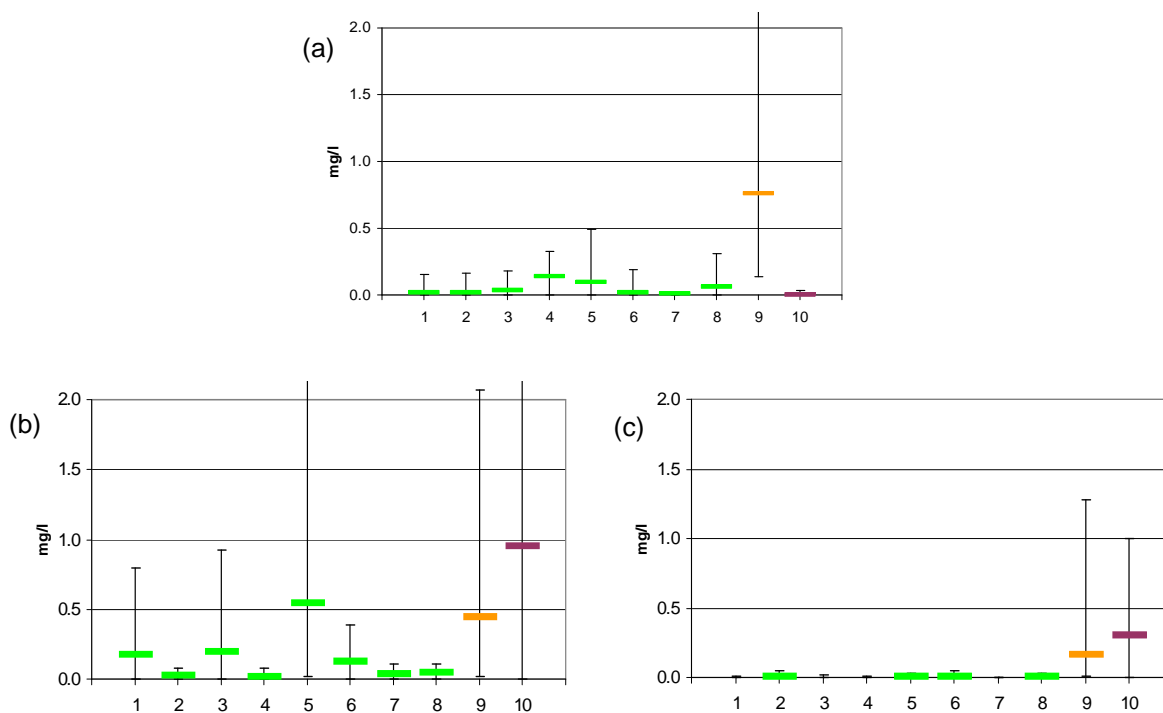


Abbildung 3.1-13 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromakomponenten in (a) ‚single strength‘-Ananassaft (SGF, n=10), (b) Ananasdirektsaft (Handelsware, n=6) und (c) Ananassaft aus Konzentrat (Handelsware, n=11). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Methyl-2-methylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Methylhexanoat **4** Ethylhexanoat **5** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **6** Ethyl-3-(methylthio)-propanoat **7** Methyl-3-hydroxyhexanoat **8** Methyl-3-acetoxyhexanoat **9** Furfural **10** Furaneol®

3.1.1.3 Aroma

Die für Ananas-Recovery-Aromen erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 3.1-14 sowie in Tabelle A-3 im Anhang zusammengefasst. Die Hauptkomponenten in SGF-Proben zeigten teilweise sehr hohe Gehalte an Methylhexanoat (**72**, 0-1732 mg/l), Ethylhexanoat (**28**, 0-1110 mg/l), Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**, 5,3-750 mg/l), Ethyl-3-(methylthio)-propanoat (**10**, 0,5-700 mg/l) und Methyl-2-methylbutanoat (**1**, 0-600 mg/l). In keiner dieser Recovery-Aromen wurden schwerflüchtige Lactone, Mesifuran (**12**) oder Furaneol® (**11**) detektiert; charakteristische Hydroxy- oder Acetoxyester fanden sich, wenn überhaupt, nur in geringen Mengen (Tabelle A-3a). Aufgrund der geringen Probenanzahl sind hier die Schwankungsbereiche zwischen Minimal- und Maximalwert sehr groß, eine abschließende Bewertung ist nicht möglich.

Vergleicht man die von der SGF bereitgestellten Ananas-Recovery-Aromen mit denen der Industrie, so erkennt man, dass bei den Handelsproben der Esteranteil mengenmäßig überwiegt, allerdings waren im Bereich der Ester in den SGF-Recovery-Aromen im Durchschnitt höhere Gehalte nachzuweisen. In den industriellen Recovery-Aromen bewegten sich die Höchstwerte in niedrigeren Bereichen, so wurden die Hauptkomponenten Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**) mit 1 bis 58 mg/l, Methyl-2-methylbutanoat (**1**) mit 0 bis 74 mg/l und Ethyl-2-methylbutanoat mit 0,6 bis 41 mg/l bestimmt. Interessanterweise fanden sich in diesen Recovery-Aromen noch wesentliche Teile von Lactonen (γ -Hexalacton **33** 0,5-74 mg/l, γ -Octalacton **34** 0-19 mg/l) und den ananastypischen Verbindungen Mesifuran (**12**, 1-58 mg/l) und – überraschend für eine nicht-destillierbare Verbindung – Furaneol® (**11**, 0-7,5 mg/l).

Die großen Unterschiede innerhalb der untersuchten Ananas-Recovery-Aromen können durch die verarbeiteten Rohmaterialien (Sorte, Reifegrad) und die angewandte Technologie begründet sein. Angesichts der teilweise sehr hohen Aromastoffgehalte ist die Industrie offensichtlich in der Lage, qualitativ hochwertige Ananas-Aromaphasen zu produzieren. Ramteke *et al.* zeigten, dass nach 80%iger Verdampfung etwa 90% aller Ananas-Ester, d.h. der Hauptanteil des Aromaprofils, abgetrennt sind (Ramteke *et al.*, 1990). Vielversprechend erscheint eine schonenende Methode der Aromagewinnung, wie beispielsweise durch Umkehrosiose. Das Problem der Produktion hochwertiger Ananas-Recovery-Aromen ist wohl eher wirtschaftlich als technologisch begründet.

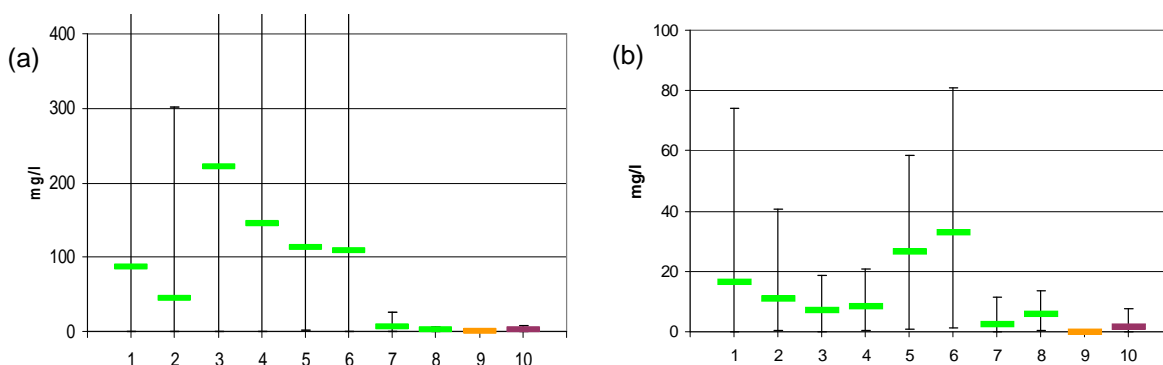


Abbildung 3.1-14 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromastoffe in (a) Ananas-Recovery-Aromen (SGF, n=3) und (b) Ananas-Recovery-Aromen (Industrie, n=8). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Methyl-2-methylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Methylhexanoat **4** Ethylhexanoat **5** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **6** Ethyl-3-(methylthio)-propanoat **7** Methyl-3-hydroxyhexanoat **8** Methyl-3-acetoxyhexanoat **9** Furfural **10** Furaneol®

3.1.1.4 Saftkonzentrat

Von der SGF bereitgestellte Ananassaftkonzentrate enthielten, wie Abbildung 3.1-15 zeigt, neben Erhitzungsprodukten wie Furfural (**48**, 1,42-4,02 mg/kg) oder 4-Vinylguajacol (**50**, 0,41-0,76 mg/kg) praktisch keine ananastypischen Komponenten; Anteile des charakteristischen Esterprofils fanden sich lediglich in Spuren (Tabelle A-4 im Anhang). Methyl-2-methylbutanoat (**1**), Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) oder Methylhexanoat (**72**) wurde in keiner Probe detektiert. Der Vergleich von industriellen Ananassaftkonzentraten mit den SGF-Proben zeigte eine gute Übereinstimmung. Auffällig war allerdings der erhöhte Furaneol[®]-Gehalt (**11**) in den Industrie-Konzentraten. Erwartungsgemäß enthielten die SGF-Proben nur geringe Furaneol[®]-Anteile (**11**), da die Proben aus oben gezeigten furaneolarmen ‚single strength‘-Säften produziert worden sind. Die hohen Furaneol[®]-Gehalte (**11**) von 0 bis 13,4 mg/kg bei sonst vergleichbar niedrigen Aromastoffanteilen in den industriellen Ananaskonzentraten sind wissenschaftlich schwer erklärbar. Eine Abhängigkeit von Temperatur und Sauerstoffgehalt in Bezug auf die Bildung von Maillardprodukten wie 5-(Hydroxymethyl)-furfural (**49**, HMF) ist nachgewiesen (Fontana *et al.*, 1993). Inwieweit sich Furaneol[®] (**11**) technologisch bedingt im Verlauf der Konzentratherstellung bildet, ist momentan nicht abzuschätzen. Da in den SGF-Konzentraten keine gesteigerten Furaneolgehalte (**11**) ermittelt wurden, sollte eine allein technologisch bedingte Ursache auszuschließen sein.

Die Möglichkeit, per osmotischer Evaporation qualitativ hochwertige Ananassaftkonzentrate ohne Hitzeeinwirkung herzustellen, wurde von Shaw *et al.* untersucht. Hierbei wurden Ananassaftkonzentrate von 51°Brix erzeugt, die noch einen Anteil von 62% der ursprünglich im Saft vorhandenen Aromastoffe enthielten. Als Nachteile für die großtechnische Anwendung werden der hohe Kostenaufwand und längere Konzentrationsdauer angeführt (Shaw *et al.*, 2002).

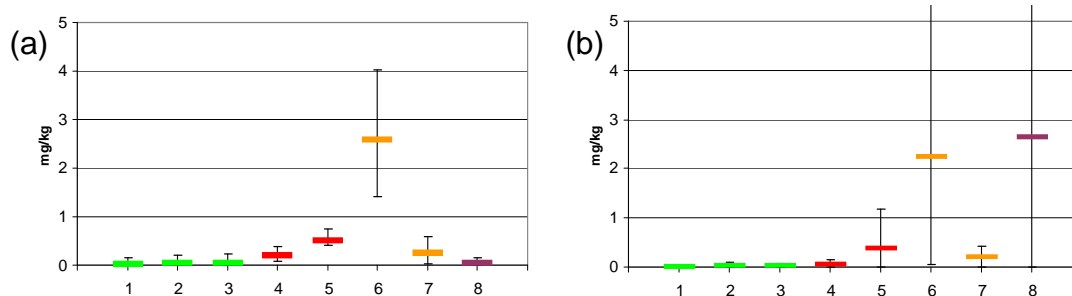


Abbildung 3.1-15 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Ananassaftkonzentrat (SGF, n=5) und (b) in Ananassaftkonzentrat (Industrie, n=6). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylhexanoat **2** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **3** Methyl-3-acetoxyhexanoat
4 2-Methyl-3-buten-2-ol **5** 4-Vinylguajacol **6** Furfural **7** Phenylacetaldehyd **8** Furaneol®

3.1.1.5 Konfitüren

Ein analoges Bild wie bei den Ananassaftkonzentraten lieferten die noch zusätzlich analysierten Aromaprofile von Ananaskonfitüren. Auch hier wurden mit Abstand als Hauptkomponenten Erhitzungsprodukte (Furfural **48** 0,08-0,58 mg/kg, 5-(Hydroxymethyl)-furfural **49** 0,15-1,1 mg/kg) bestimmt. Als charakteristische Ananasester fanden sich ausschließlich Ethylhexanoat (**28**), Methyl-3-(methylthio)-propanoat (**9**), Methyl-3-hydroxyhexanoat (**5**) und Methyl-3-acetoxyhexanoat (**70**) in Spuren bis zu <0,02 mg/kg in wenigen Proben. Eine Übersicht über die ermittelten Gehalte liefern Abbildung 3.1-16 sowie Tabelle A-5 im Anhang.

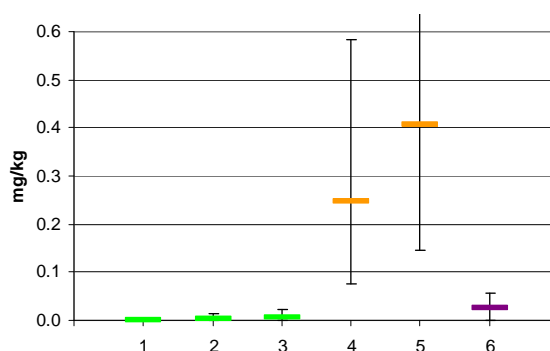


Abbildung 3.1-16 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromakomponenten in Ananaskonfitüren (Industrie, n=6). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylhexanoat **2** Methyl-3-(methylthio)-propanoat **3** Methyl-3-acetoxyhexanoat **4** Furfural
5 5-(Hydroxymethyl)-furfural **6** Furaneol®

3.1.2 2-Ethylhexansäure

In einer der untersuchten Ananassaft-Handelsproben wurde von uns 2-Ethylhexansäure (2-EHA) als chemische Kontaminante mit einem Gehalt von 0,5 mg/l gefunden. Bei einem erweiterten Screening anderer Fruchtsäfte sowie Babynahrung in Glasverpackungen mit Metallschraubdeckeln wurde in 80% bzw. 73% der Fälle diese Substanz nachgewiesen. Dabei bewegten sich die ermittelten Gehalte an 2-EHA in Babynahrung von 0,25 bis 3,2 mg/kg (Mittelwert 0,55 mg/kg) sowie von 0,01 bis 0,59 mg/l (Mittelwert 0,18 mg/l) in den belasteten Fruchtsäften dieser Studie (Abbildung 3.1-17 A und B).

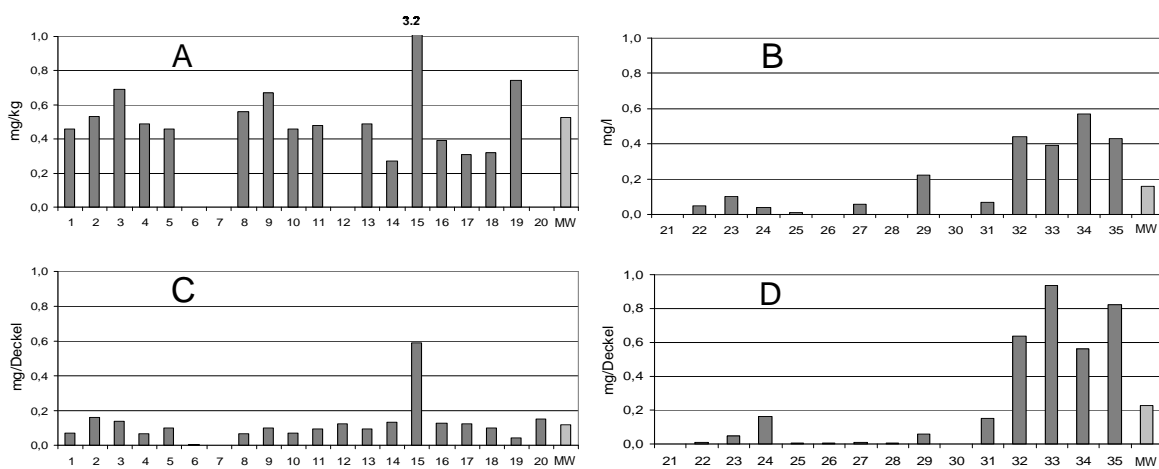


Abbildung 3.1-17 Gehalte von 2-EHA in SDE-Extrakten von Babynahrung (A, Probennummern 1-20) und Fruchtsäften (B, Probennummern 21-35) im Vergleich zu Extrakten der entsprechenden Deckeln (C, D). Die jeweiligen Mittelwerte (MW) sind angegeben. Probennummern 1, 2, 4, 6-12, 15-19, 21, 23, 30-35 waren als Bioprodukte gekennzeichnet. Verschlussarten:

1-16 Standard Twist-off-Deckel von Babynahrung (Durchmesser 5 cm)

17-20 Weithals-Twist-off-Deckel (Durchmesser 7cm)

21-31 Weithals-Flaschenverschluss (Durchmesser 4 cm)

32-35 Standardschraubverschluss (Durchmesser 3 cm).

In Abbildung 3.1-18 ist das Totalionenchromatogramm einer Gemüsezubereitung demjenigen eines Extrakts der zugehörigen Deckeldichtung gegenübergestellt. Einzelanalysen von Lebensmitteln und den zugehörigen Schraubdeckeldichtungen ergaben, dass es sich um eine Migration der als Stabilisatoren eingesetzten Salze der 2-EHA aus der Deckelbeschichtung in die Nahrungsmittel handelt. Die ermittelten Gehalte an 2-EHA in der

Dichtmasse der Metaldeckel betragen zwischen 0,01 und 0,94 mg/Deckel (3.1-17 C und D). Aufgrund der angewandten Extraktion in wässrigem Medium (ohne Erfassung von Extraktionsausbeuten) kann davon ausgegangen werden, dass die 2-EHA nicht vollständig überführt wurde und somit der tatsächliche Gehalt an 2-EHA pro Deckel deutlich über den hier angegebenen Werten liegt.

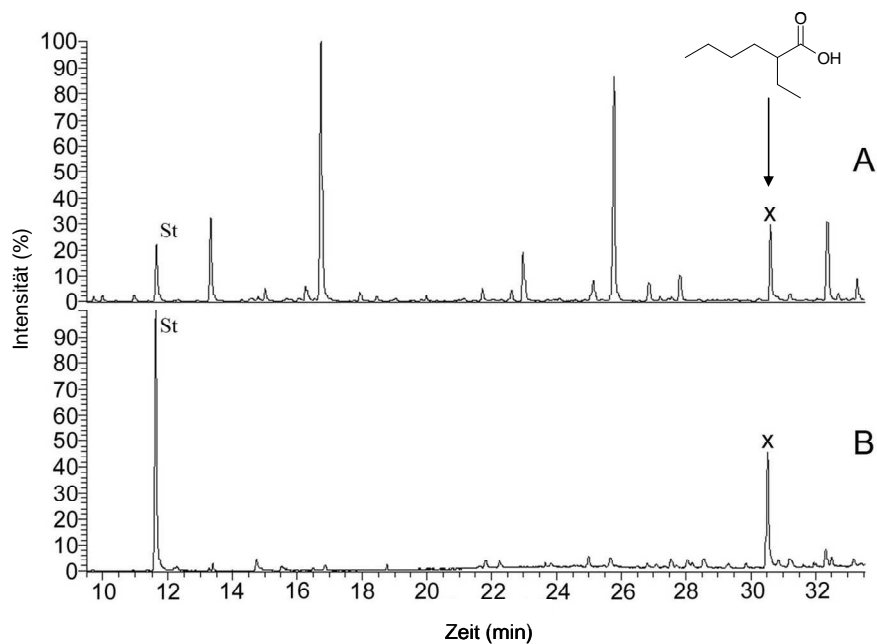


Abbildung 3.1-18 GC-MS-Trennung (Totalionenchromatogramme, TIC) von SDE-Extrakten einer Babynahrungsprobe (A, Gemüsebrei) und des zugehörigen Deckels (B). St = interner Standard, X= 2-Ethylhexansäure (2-EHA).

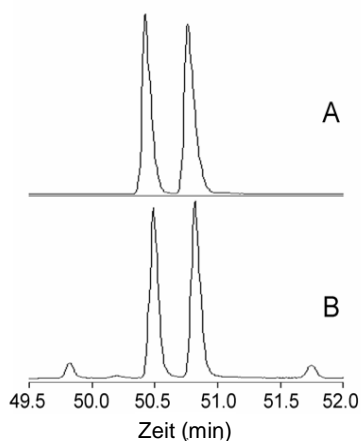


Abbildung 3.1-19 MDGC-MS-Trennung (Totalionenchromatogramm, TIC) einer synthetischen 2-Ethylhexansäure-Referenz (A) und racemischer 2-Ethylhexansäure aus einer Fruchtsaftprobe (B).

Die anschließende MDGC-MS-Analyse belegte das Vorkommen von 2-EHA in racemischer Form und damit als nicht-natürliche Kontaminante (Abbildung 3.1-19). Die teratogene Eigenschaft von 2-EHA wurde im Tierversuch bestätigt (BGChemie, 2000). Laut Literatur kommt 2-EHA als ein aktiver Hauptmetabolit des vielfach diskutierten Diethylhexyladipat (DEHA) und Di-(2-ethylhexyl)-phthalat (DEHP) vor (Wahl *et al.*, 2001). In Tierversuchen mit Ratten wurden die Metabolisierungsprodukte dieser Weichmacher als Agonisten am Peroxisomen-Proliferator-aktivierenden Rezeptor alpha (PPAR-alpha) und somit als potentiell cancerogen für Nagetiere eingestuft (Lampen *et al.*, 2003).

Die 2-EHA-freien Proben dieser Studie belegen, dass 2-EHA offensichtlich technologisch vermeidbar ist; die potentielle Gesundheitsgefahr für den Verbraucher und das Vorkommen von 2-EHA in Lebensmitteln – darunter auch Bioprodukte – sollten begrenzt werden.

Somit reiht sich 2-EHA neben Semicarbazid und ESBO (epoxidiertes Sojabohnenöl) sowie den unterschiedlichen Phthalaten ein in die Liste möglicher Stoffe, mit denen Lebensmittel kontaminiert sein können. Während für ESBO und Phthalate bereits Grenzwerte gesetzlich festgelegt sind und Azodicarbonamid, potentieller Lieferant für das als schwach krebserregend eingestufte Semicarbazid, durch die Richtlinie 2004/1/EG zum 2. August 2005 europaweit verboten wurde, fehlen noch abschließende Regelungen in Bezug auf 2-EHA (BfR, 2005, BMVEL, 2005, EFSA, 2003). Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat am 20. Juli 2004 eine Stellungnahme mit vorläufiger Risikoeinschätzung der Substanz 2-EHA abgegeben (BfR, 2004). Darin wird deutlich, dass nur eine geringe akute Toxizität von der unerwünschten Kontaminante ausgeht, allerdings sind weitere Untersuchungen bezüglich der in Lebensmitteln vorhandenen Expositionsmengen notwendig, um eine vollständige Risikobewertung durchzuführen. In der Mitteilung des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL) vom 04. Februar 2005 wurde verlautbart, dass auch bei weiteren Untersuchungen unter anderem 2-EHA in Babygläschen gefunden wurde (BMVEL, 2005). Des Weiteren sollte seitens der Wirtschaft ein Verzicht auf 2-EHA bis Mitte 2005 in Deutschland erfolgen; ein bis 31. Dezember 2006 geplantes europaweites Abkommen sieht vor, dass 2-EHA nach einer Übergangsfrist bis 1. Januar 2008 nicht mehr verwendet werden darf.

3.2 Aromaprofil Passionsfrucht

3.2.1 Saft

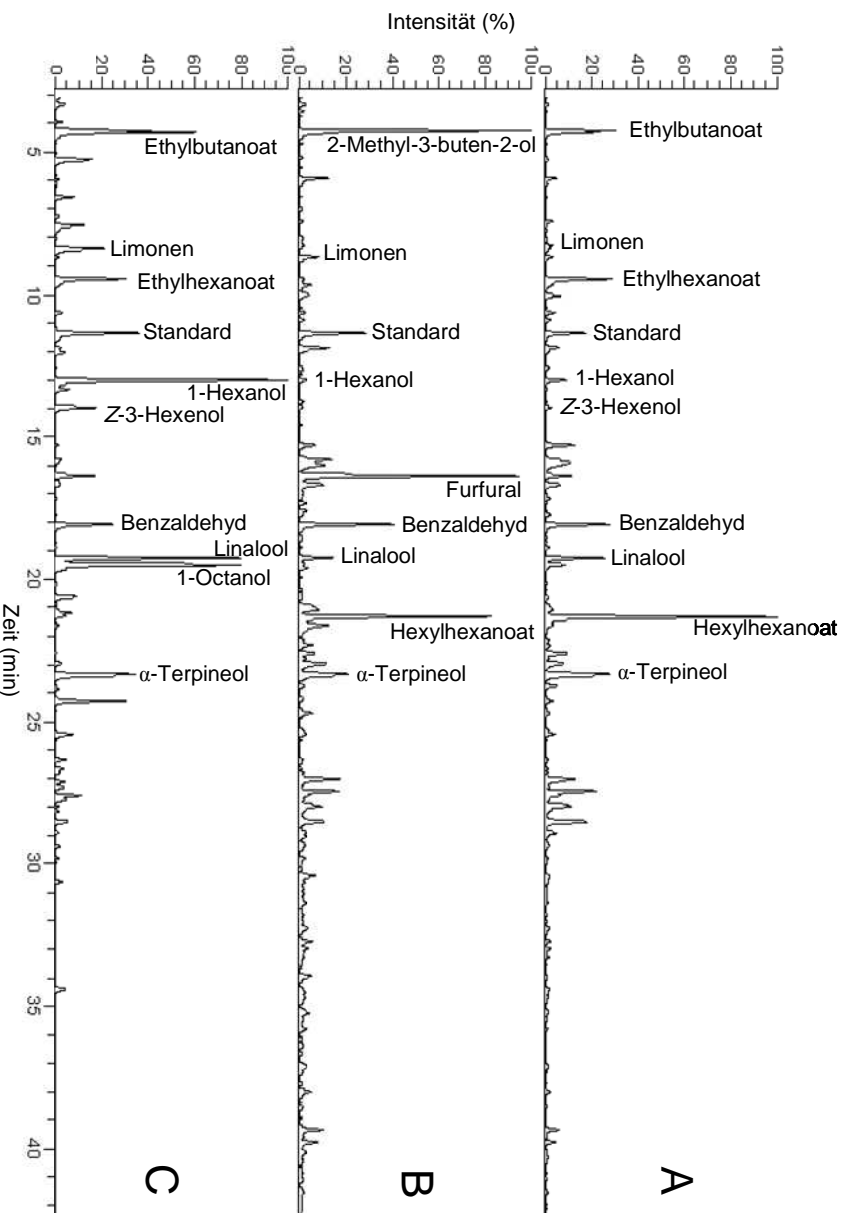


Abbildung 3.2-1 Repräsentative Totalionenchromatogramme (TIC) der Aromastoffe eines Passionsfruchtsaftes (A), eines Passionsfruchtsaftkonzentrates (B) und eines Passionsfrucht-Recovery-Aromas (C). Ausgewählte Verbindungen sind angegeben.

Das Aromaprofil der Passionsfrucht ist gekennzeichnet durch eine komplexe Mischung aus Estern, Aldehyden, Alkoholen und Terpenen. Mengenmäßige Hauptkomponenten sind hierbei – in Übereinstimmung mit Literaturangaben – Ethylbutanoat (**27**), Ethylhexanoat (**28**), Benzaldehyd (**37**), 1-Hexanol (**41**), Z-3-Hexenol (**42**) und Linalool (**22**, Abb. 3.2-1, Chen *et al.*, 1982, Werkhoff *et al.*, 1998). Abbildung 3.2-2 und Tabelle A-6 im Anhang liefern einen Einblick in das Aromaprofil von ‚single strength‘-Passionsfruchtsäften, wie sie von der SGF bereitgestellt worden sind. Diese Ergebnisse zeigen sehr gute Übereinstimmung mit den von Jordan *et al.*, 2002, ermittelten Gehalten an Aromakomponenten in unbehandeltem Saft der gelben Passionsfrucht. Angaben zu der

Aromastoffverteilung in frisch bereitetem Saft der violetten Passionsfrucht liefern die Daten von Brat *et al.*, 2000. Als Hauptkomponenten wurden hier die Verbindungen Hexylhexanoat (**81**), Hexylbutanoat (**29**), Limonen (**21**) und Ethylbutanoat (**27**) identifiziert. Benzaldehyd (**37**) oder 1-Hexanol (**41**) spielen dahingegen im Vergleich zu der vorliegenden Studie eine eher untergeordnete Rolle. Der Einfluss auf das Aromaprofil von Passionsfruchtsäften der Varietät *Passiflora edulis f. flavicarpa* durch Pasteurisierung und Lagerung wurde von Sandi *et al.* dokumentiert (Sandi *et al.*, 2004). Die Abnahme wichtiger Ester wie Ethylbutanoat (**27**), Ethylhexanoat (**28**), Hexylbutanoat (**29**) sowie Hexylhexanoat (**81**) bei gleichzeitiger Zunahme des Furfuralgehaltes - je nach Pasteurisationsbedingungen - zeigt, dass die technologische Behandlung Auswirkungen auf das Aromaprofil des Endproduktes hat.

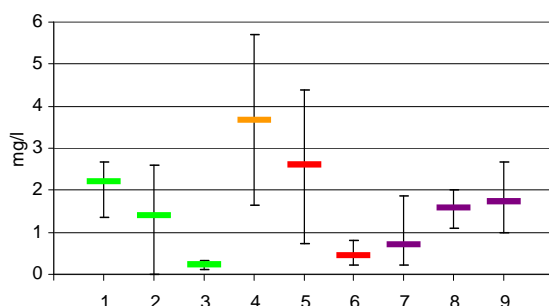


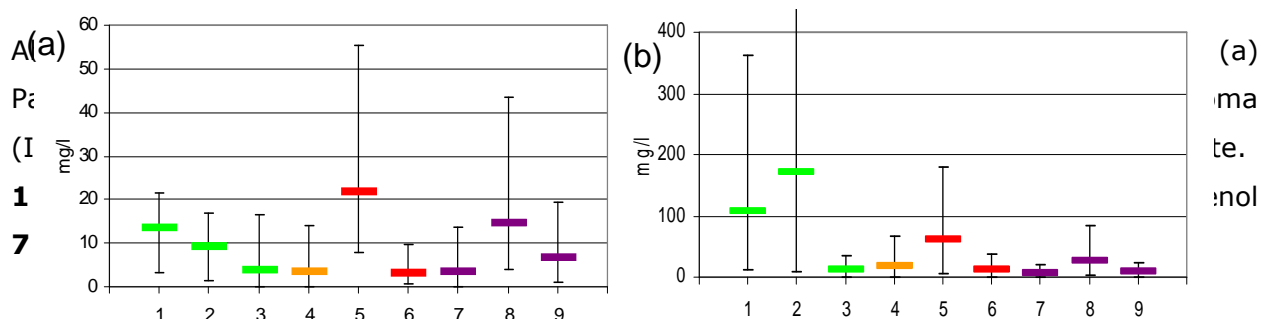
Abbildung 3.2-2 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromastoffe in (a) Passionsfruchtsaft (single strength SGF, n=4). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Ethylhexanoat **3** Benzylacetat **4** Benzaldehyd **5** 1-Hexanol **6** Z-3-Hexenol
7 Limonen **8** Linalool **9** α -Terpineol

3.2.2 Aroma

Beim direkten Vergleich der Profile von Säften und daraus gewonnenen Recovery-Aromen (Tabelle A-7 im Anhang, Abb.3.2-3a) erkennt man eine sehr gute gegenseitige Übereinstimmung; mit Ausnahme von Benzaldehyd (**37**) finden sich die aufgezeigten Aromakomponenten in zehnfacher Konzentration in dem Recovery-Aroma wieder. In industriellen Passionsfrucht-Recovery-Aromen (Abb. 3.2-3b) wurden hohe Anreicherungen der besonders leichtflüchtigen Esterfraktion festgestellt. Gerade die Aufkonzentrierung von Ethylbutanoat (**27**) und Ethylhexanoat (**28**) wurde auch schon von einer Arbeitsgruppe bei Passionsfruchtsaft im Vergleich zum wässrigen Aromaextrakt (gewonnen durch destillative Prozesse) beschrieben (Jordan *et al.*, 2002). Auch die von Brat *et al.* durchgeführte

Anreicherung von flüchtigen Komponenten in einer Essenz bestätigte eine Dreifachkonzentrierung von Benzaldehyd (**37**) im Vergleich zum Direktsaft (Brat *et al.*, 2000).



3.2.3 Saftkonzentrat

Außer dem Erhitzungsprodukt Furfural (**48**) enthielt das Passionsfruchtkonzentrat noch wesentliche Anteile charakteristischer Passionsfrucht-Aromakomponenten. So wurden neben Ethylhexanoat (**28**) und Benzaldehyd (**37**) noch aromawirksame Mengen der Passionsfrucht-typischen Terpenfraktion nachgewiesen (Abb. 3.2-4, Tabelle A-8 im Anhang). Diese Daten stimmen mit in der Literatur vorhandenen Angaben überein. In einer Studie von Shaw *et al.*, 2001, untersuchte man die Abnahme flüchtiger Aromastoffe während der Konzentratherstellung mittels Osmotischer Evaporation und stellte fest, dass nach Dreifachkonzentration durchschnittlich noch 61% der Aromastoffe vorhanden waren. Bei den Untersuchungen von Yu und Chiang war nach Vorbehandlung und Konzentration durch Ultrafiltration und Evaporation lediglich ein Anteil von 30% der ursprünglich im Saft enthaltenen Aromastoffe im Saftkonzentrat (40° Brix) enthalten. Allein durch die Vorbehandlungsschritte wie Pektinasezusatz, Zentrifugation und Pasteurisation wurde eine Aromastoff-Abnahme von 20% beobachtet. Die Rekombination ergab ein im Vergleich zum Frischsaft hinsichtlich sensorischer Eigenschaften geringwertigeres Produkt (Yu und Chiang, 1986).

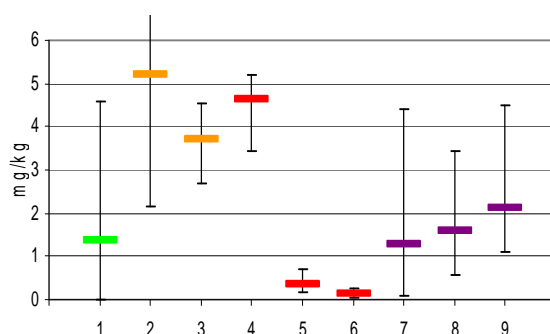


Abbildung 3.2-4 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromakomponenten in Passionsfruchtsaftkonzentrat (SGF, n=4). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylhexanoat **2** Furfural **3** Benzaldehyd **4** 2-Methyl-3-buten-2-ol **5** 1-Hexanol
6 Z-3-Hexenol **7** Limonen **8** Linalool **9** α -Terpineol

3.3 Aromaprofil Pfirsich

3.3.1 Püree und Püreekonzentrat

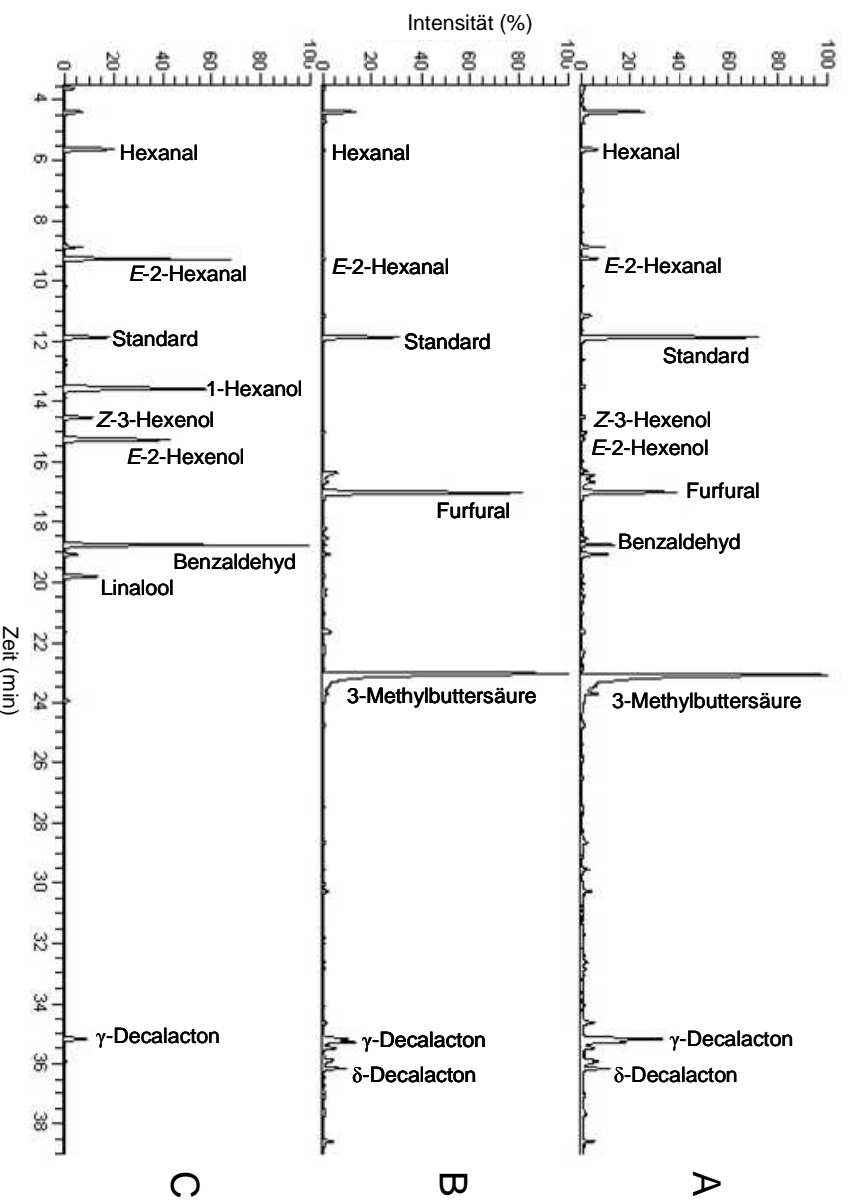


Abbildung 3.3-1 Repräsentative Totalionenchromatogramme der Aromastoffe eines Pfirsichpürees (A), eines Pfirsichpüreekonzentrates (B) und eines Pfirsich-Recovery-Aromas (C). Ausgewählte Verbindungen sind angegeben.

Der Hauptanteil des Pfirsicharomaprofils setzt sich unter anderem aus C₆-Aldehyden und verschiedenen Lactonen zusammen, die mengenmäßig überwiegende Verbindung stellt 3-Methylbuttersäure (**82**) dar (Sevenants und Jennings, 1966, Horvat *et al.*, 1990, Rizzolo *et al.*, 1995). Wie aus Abbildung 3.3-1 ersichtlich ist, werden bei der Konzentrierung von Pfirsichpüree zu Konzentrat noch alle wesentlichen Aromakomponenten erhalten und angereichert, das Pfirsich-Recovery-Aroma besteht dagegen vor allem aus dem leichter flüchtigen Anteil des Aromaprofils. In Abbildung 3.3-2 sowie in Tabelle A-9 im Anhang ist aufgezeigt, dass qualitativ und quantitativ die Aromastoffverteilung der in unserer Studie analysierten Pfirsichpüreekonzentrate eine sehr gute Übereinstimmung mit den Aromakomponenten des Pfirsichpürees vor dem Konzentrierungsschritt aufwies.

Vergleicht man die Gehalte von Pfirsicharomakomponenten mit Literaturangaben über Pfirsichfrüchte, so fällt auf, dass es je nach Sorte zu einer weiten Streuung in der quantitativen Aromaverteilung kommt. Horvat *et al.* untersuchten sechs verschiedene Pfirsichvarietäten, die ermittelten Spannbreiten liegen beispielsweise von 0,01 bis 0,26 mg/kg für *E*-2-Hexenal (**38**), von 0,04 bis 0,15 mg/kg für Linalool (**22**), von 0,03 bis 0,16 mg/kg für γ -Decalacton (**35**) und von 0 bis 0,03 mg/kg für δ -Decalacton (**36**, Horvat *et al.*, 1990). *E*-2-Hexenol (**57**) wurde von Horvat *et al.* insgesamt nur in Spuren detektiert. Die Gehalte für *E*-2-Hexenol (**57**), eine Komponente, die von Osaki *et al.* neben γ - und δ -Decalacton (**35,36**), Linalool (**22**) und β -Damascenon (**64**) als ‚impact compound‘ der Sorte ‚Hakuhou‘ beschrieben wurde (Osaki *et al.*, 2001), fanden sich in den hier untersuchten Pfirsichpürees bei 0,05 bis 0,11 mg/kg. *E*-2-Hexenol (**57**) kann als ein Indikator für das Reifestadium von Pfirsichfrüchten angesehen werden, so wie dies von Lavilla *et al.* für die Sorte ‚Royal Glory‘ vorgeschlagen wurde (Lavilla *et al.*, 2002).

Die Gehalte an Lactonen übersteigen mit durchschnittlich 1,07 mg/kg für γ -Decalacton (**35**) und 0,2 mg/kg für δ -Decalacton (**36**) die von Horvat *et al.*, 1990, veröffentlichten Werte in Pfirsichfrüchten. Eine mögliche Steigerung der Lactongehalte aufgrund von Enzymbehandlung im Laufe der Püreeherstellung wurde von Riu-Aumatell *et al.* untersucht und ergab, dass es zu keiner signifikanten Zunahme dieser Aromastoffe durch Pektinasezusatz kommt (Riu-Aumatell *et al.*, 2005). Demzufolge liegt die Ursache der höheren Lactongehalte eher an den verarbeiteten Pfirsichsorten sowie deren Reifegrad und sind weniger technologisch bedingt. Der Anstieg von Lactonen im Zuge der Reifung wurde von Farmer *et al.*, 2003, bei Pfirsichfrüchten beobachtet.

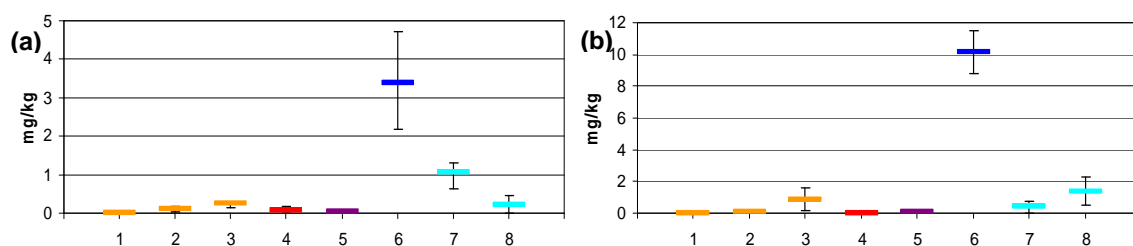


Abbildung 3.3-2 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Pfirsichpüree (SGF, n=4) und (b) Pfirsichpüreekonzentrat (SGF, n=2). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Hexanal **2** *E*-2-Hexenal **3** Benzaldehyd **4** *E*-2-Hexenol **5** Linalool **6** 3-Methylbuttersäure
7 γ -Decalacton **8** δ -Decalacton

3.3.2 Saftkonzentrate

Die analysierten Pfirsichsaftkonzentrate (SGF und Industrie) zeigten ein deckungsgleiches Bild. Alle Aromakomponenten mit Ausnahme von 3-Methylbuttersäure (**82**, vgl. Abbildung 3.3-3) lagen in niedrigeren Konzentrationen vor als in den Püreekonzentraten (Tabelle A-10 im Anhang). Für diese Säure wurden sogar noch höhere Konzentrationen (bis zu 27 mg/kg) ermittelt. In den Proben der SGF wurden keine schwerflüchtigen Verbindungen wie γ - oder δ -Decalacton (**35,36**) detektiert. Literaturdaten zu Aromaprofilen von industriell hergestelltem Pfirsichkonzentrat sind bislang nicht vorhanden.

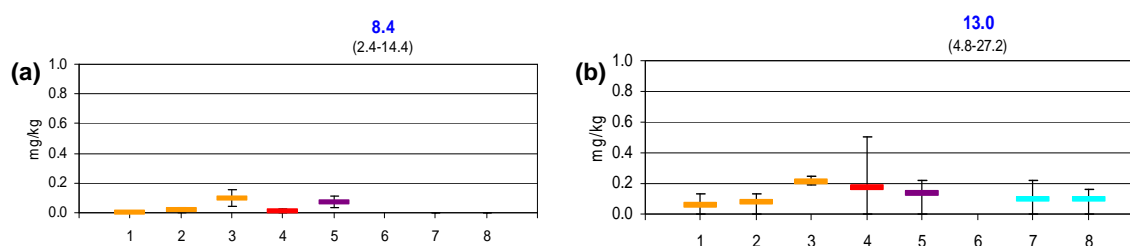


Abbildung 3.3-3 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Pfirsichsaftkonzentrat (SGF, n=2) und (b) Pfirsichsaftkonzentrat (Industrie, n=3). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Hexanal **2** E-2-Hexenal **3** Benzaldehyd **4** E-2-Hexenol **5** Linalool **6** 3-Methylbuttersäure **7** γ -Decalacton **8** δ -Decalacton

3.3.3 Aroma

Wie Abbildung 3.3-4 zeigt, fand erwartungsgemäß bei der Gewinnung von wässrigen Aromakonzentraten eine Anreicherung der leichtflüchtigen Verbindungen statt. Auch sind noch in verhältnismäßig geringeren Gehalten die charakteristischen Lactone des Pfirsicharomas in den Pfirsich-Recovery-Aromen vertreten. Eine partiell größere Konzentration an Aromastoffen findet sich bei den von der Industrie zugesandten Proben in Bezug auf das SGF-Material (Tabelle A-11 im Anhang). Während die Verbindungen 3-Methylbuttersäure (**82**), Benzaldehyd (**37**) und γ -Decalacton (**35**) die Hauptkomponenten in den industriellen Pfirsichwasserphasen darstellten, überwog der Aldehydanteil in den Recovery-Aromen, die von der SGF zur Verfügung gestellt wurden.

Auch für industrielle Pfirsich-Recovery-Aromen sind keine Literaturdaten veröffentlicht. Im Jahr 1964 nutzten Jennings und Sevenants selbsthergestellte wässrige Aromaphasen, um Pfirsicharomastoffe zu identifizieren. Hierbei wurden keine Angaben zur

Quantität der analysierten Komponenten gemacht (Jennings und Sevenants, 1964, Sevenants und Jennings, 1966).

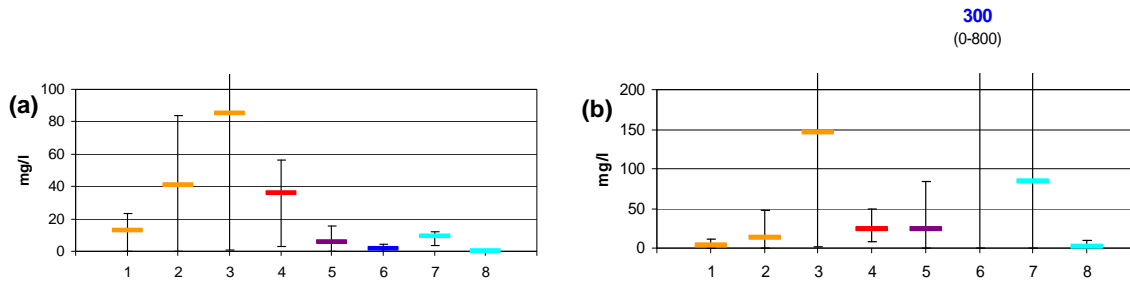


Abbildung 3.3-4 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Pfirsich-Recovery-Aroma (SGF, n=3) und (b) in Pfirsich-Recovery-Aroma (Industrie, n=4). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Hexanal **2** E-2-Hexenal **3** Benzaldehyd **4** E-2-Hexenol **5** Linalool **6** 3-Methylbuttersäure
7 γ -Decalacton **8** δ -Decalacton

Zu einer abschließenden Beurteilung war auch hier die Probenanzahl unzureichend; aufgrund der insgesamt sehr geringen Analysenzahl können nur vorläufige Erkenntnisse geliefert werden.

3.4 Orange

3.4.1 Aromaprofil Orange

3.4.1.1 Saft

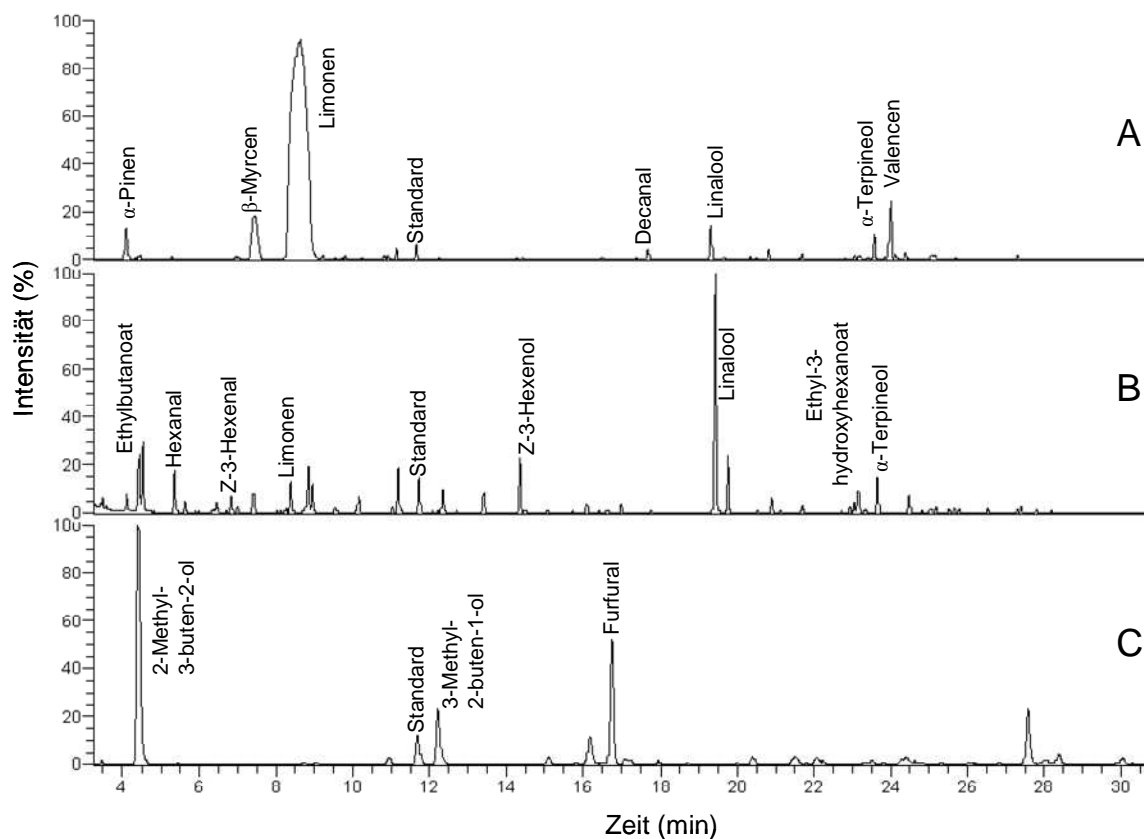


Abbildung 3.4-1 Repräsentative Totalionenchromatogramme der Aromastoffe eines Orangensaftes (A), eines Orangen-Recovery-Aromas (B) und eines Orangensaftkonzentrates (C). Ausgewählte Verbindungen sind angegeben.

Zum charakteristischen Orangen-Aromaprofil (Abb. 3.4-1) gehören neben der Hauptkomponente Limonen (**21**) weitere Monoterpene wie zum Beispiel α -Pinen (**44**) oder β -Myrcen (**20**), leichtflüchtige Ester und zahlreiche Aldehyde (C_6 - C_{12}) (Kirchner und Miller, 1957, Schreier *et al.*, 1977, Shaw und Wilson, 1980). Die Einzelgehalte der bestimmten Orangensaft-Aromastoffe (single strength SGF) finden sich in Tabelle A-12 im Anhang, eine repräsentative Auswahl ist in der Abbildung 3.4-2 dargestellt. Limonen (**21**) stellt mit einem durchschnittlichen Gehalt von 290 mg/l bei weitem die Hauptkomponente des Aromaprofils dar. Andere Monoterpene wie β -Myrcen (**20**, 1,05-56 mg/l) und α -Pinen (**44**, 0,02-27 mg/l), das Sesquiterpen Valencen (**83**, 1,9-73 mg/l) sowie die Terpen-Alkohole

α -Terpineol (**46**, 0-79 mg/l) und Linalool (**22**, 0,03-22 mg/l) sind mengenmäßig überwiegende Bestandteile des Aromaprofils der SGF-Säfte.

Vergleicht man an dieser Stelle kommerziellen Orangensaft (Abbildung 3.4-2b und c) mit den authentischen ‚single strength‘-Säften (Abbildung 3.4-2a), so fällt auf, dass die Verteilung der ausgewählten Aromastoffe übereinstimmt, lediglich die Gehalte sind bei der Handelsware deutlich niedriger. Allein der Limonengehalt ist in Bezug auf die ‚single strength‘-Säfte in kommerziellen Direktsäften um 50%, der Handelsware aus Konzentrat sogar um 70% geringer. Dieser Trend lässt sich auf eine Vielzahl von orangentypischen Verbindungen (vgl. Tabelle A-12 im Anhang) übertragen. Besonders deutlich wird dies vor allem bei der Terpenfraktion und einigen Minorkomponenten; so war in keiner der Handelsproben Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) oder Z-3-Hexenal (**47**) nachweisbar (EIMS-Detektionslimit: 1 μ g/l). Allerdings gilt zu berücksichtigen, dass es sich bei Z-3-Hexenal (**47**) um eine sehr labile Komponente handelt, die aber gerade für den Frischegeschmack eines Saftes wichtig ist (Meier, 2002). Hohe Terpenanteile im ‚single strength‘-Saft können technologisch bedingt sein, der Pressdruck während der Saftgewinnung ist hierbei entscheidend. Durch erhöhten Druck gelangt ein höherer Anteil der terpenreichen Schalenölfraction in den Saft; gesteigerte Gehalte von Limonen (**21**) und Linalool (**22**) bei gleich bleibendem Anteil an Estern wurden in Abhängigkeit von der Stärke der Pressung nachgewiesen (Meier, 2002).

Insgesamt ergänzen die ermittelten Gehalte an Orangenaromastoffen in großtechnisch gewonnenen Orangensäften die bereits für im Labormaßstab handgepressten Orangensäfte erarbeiteten Daten. In zahlreichen Studien wurden Aromastoffe von Orangensäften quantifiziert, die hier präsentierten Ergebnisse stimmen weitestgehend mit Literaturangaben überein (Schreier *et al.*, 1977, Moshonas und Shaw, 1995, Tonder *et al.*, 1998, Buettner und Schieberle, 2001). Das beobachtete Phänomen, dass in Orangensäften aus Konzentrat höhere Gehalte an Octanal (**54**), Decanal (**55**) und Linalool (**22**) im Vergleich zu unpasteurierten Frischsäften gefunden wurden, hat sich in unserer Studie nicht bestätigt (Nisperos-Carriedo und Shaw, 1990). Ebenso wird mit den vorgestellten Daten widerlegt, dass bei gleichzeitiger Abnahme an Limonen (**21**) und Linalool (**22**), bedingt durch Pasteurisation und Lagerung, die Gehalte der ‚off-Flavour‘-Komponenten α -Terpineol (**46**) und 4-Terpinenol (**84**) in Orangensäften steigen. Diese Parameter werden von Pérez-López *et al.* zur Qualitätsbeurteilung von industriell hergestelltem Mandarinsaft vorgeschlagen (Perez-Lopez *et al.*, 2006).

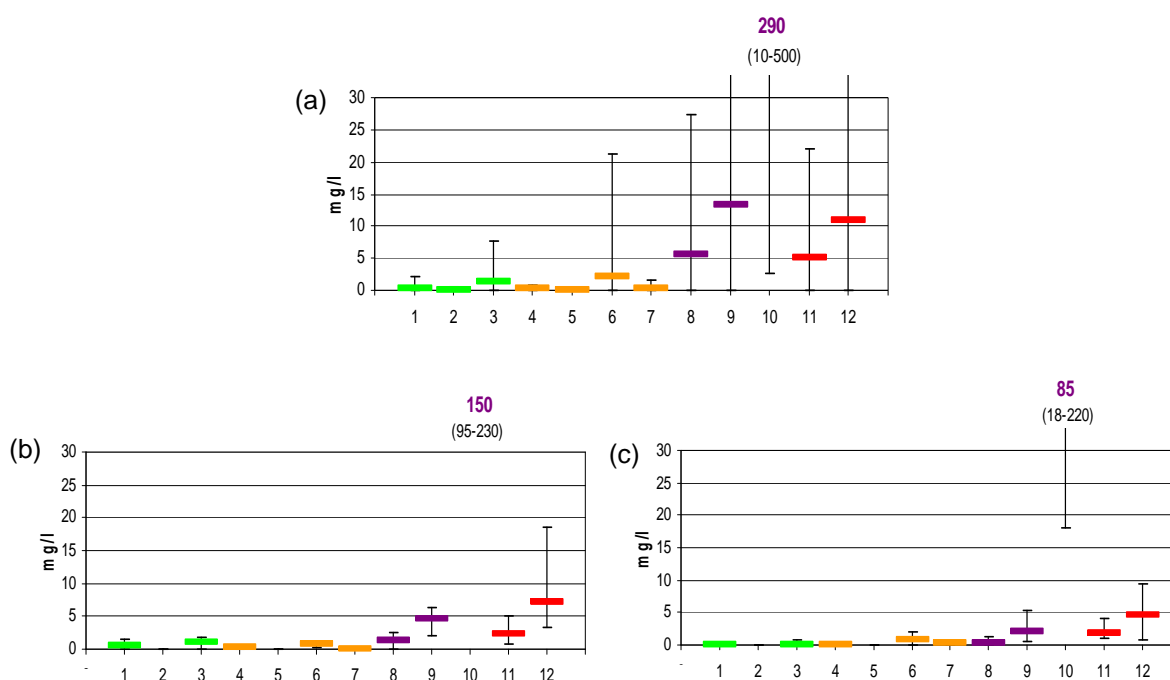


Abbildung 3.4-2 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromastoffe in (a) Orangensaft (single strength SGF, n=54), (b) kommerziellem Orangendirektsaft (n=7) und (c) kommerziellen Orangensaft aus Konzentrat (n=11). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Ethyl-3-hydroxyhexanoat **4** Hexanal
5 Z-3-Hexenal **6** Decanal **7** β -Sinensal **8** α -Pinen **9** β -Myrcen **10** Limonen **11** Linalool
12 α -Terpineol

3.4.1.2 Aroma

Das Aromaprofil der untersuchten Orangen-Recovery-Aromen (SGF) wies als Hauptkomponenten die Verbindungen Linalool (**22**, 0-907 mg/l), α -Terpineol (**46**, 0-287 mg/l), Ethyl-3-hydroxyhexanoat (**8**, 0-114 mg/l) und Z-3-Hexenol (**42**, 2-104 mg/l) auf (Abbildung 3.4-3 und Tabelle A-13 im Anhang). Die von Meier, 2002, ermittelten Gehalte in Wasserphasen von Orangen der Varietät Pera Rio stimmen mit den Daten dieser Studie sehr gut überein. Es werden nicht nur neben Acetaldehyd (**56**) die Verbindungen Linalool (**22**), Z-3-Hexenal (**47**), Hexanal (**26**), Octanal (**54**) und Ethylbutanoat (**27**) als Hauptkomponenten aufgeführt, sondern die quantifizierten Mittelwerte von einigen Komponenten wie beispielsweise Hexanal (**26**, Meier:19 mg/kg; eigene Studie: 17.2 mg/l) und Ethylbutanoat (**27**, Meier: 13 mg/kg; eigene Studie: 12,6 mg/l) bestätigen die hier präsentierten Ergebnisse. Vergleichbare Resultate wurden bei Versuchen mit unterschied-

lichen technologischen Bedingungen, d.h. Recovery-Aroma-Gewinnung durch Destillation, Ultrafiltration mit Evaporation und Membran-Pervaporation, veröffentlicht (Moshonas und Shaw, 1990, Johnson *et al.*, 1996, She und Hwang, 2006).

Bei der Gegenüberstellung der Recovery-Aromen von SGF (Abbildung 3.4-3a) und Industrie (Abbildung 3.4-3b) fällt auf, dass vor allem der in den authentischen SGF-Proben ermittelte hohe Terpenanteil in den industriellen Wasserphasen nicht gefunden wurde. Im Herstellungsprozess von Recovery-Aromen wird üblicherweise die lipophile – praktisch nur aus Terpenen bestehende - Essenzölfraktion von der wässrigen Aromenfraktion per Zentrifuge abgetrennt (Schobinger, 2001).

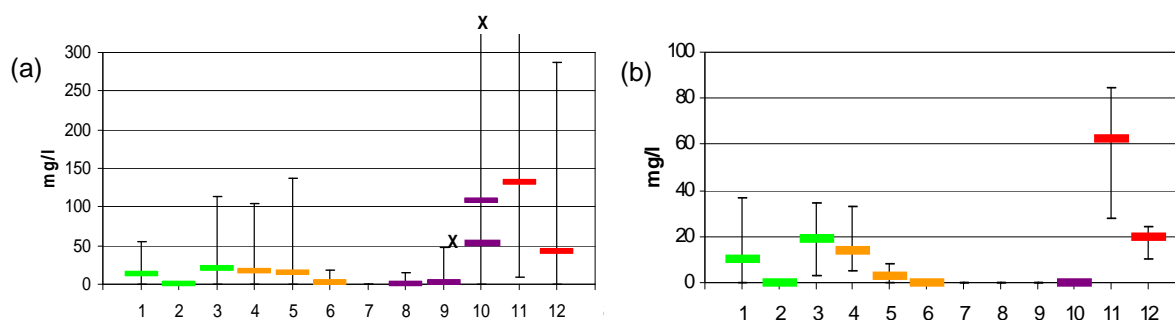


Abbildung 3.4-3 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Orangen-Recovery-Aroma (SGF, n=33) und (b) Orangen-Recovery-Aroma (Industrie, n=7). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Ethyl-3-hydroxyhexanoat **4** Hexanal
5 Z-3-Hexenal **6** Decanal **7** β -Sinensal **8** α -Pinen **9** β -Myrcen **10** Limonen **11** Linalool
12 α -Terpineol

x =Durchschnittlicher Limonengehalt gebildet aus allen Werten (—) und mit Vernachlässigung eines Ausreissers (x—)

3.4.1.3 Saftkonzentrat

Die Analyse der Orangensaftkonzentrate zeigte erwartungsgemäß, dass vor allem thermisch bedingte Bestandteile wie Furfural (**48**, 0,3-30 mg/kg) oder 4-Vinylguajacol (**50**, 0-13 mg/kg) in diesen enthalten sind (Abbildung 3.4-4, Tabelle A-14 im Anhang). Es wurden aber auch teilweise noch wesentliche Reste der Hauptkomponenten Limonen (**21**, bis zu 112 mg/kg), Valencen (**83**, bis zu 79 mg/kg) oder *trans*-Carveol (**52**, bis zu 40 mg/kg) ermittelt. Die Mengen an gefundenen leichtflüchtigen Aldehyden (Hexanal **26**,

Decanal **55**) in den Konzentraten (SGF) bewegten sich in einem vernachlässigbaren Rahmen (<1 mg/kg). Die analysierten Orangensaftkonzentrate (SGF) weisen demzufolge erwartungsgemäß nur partiell charakteristische Reste des ursprünglichen Orangenaromaprofils auf. Um Konzentrate mit einem Anteil von 68% der Aromakomponenten des Ausgangssaftes zu erzeugen, bietet sich die osmotische Evaporation als technologische Alternative an (Shaw *et al.*, 2001).

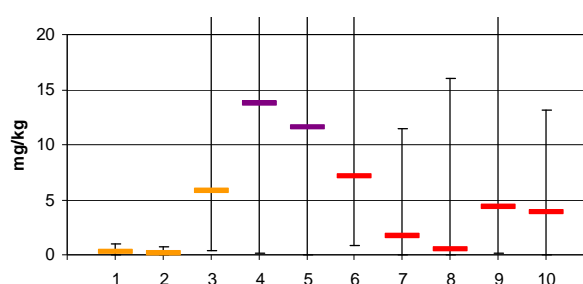


Abbildung 3.4-4 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromastoffe in Orangensaftkonzentrat (SGF, n=54). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Hexanal **2** Decanal **3** Furfural **4** Limonen **5** Valencen **6** 2-Methyl-3-buten-2-ol **7** 3-Methyl-2-buten-1-ol **8** α -Terpineol **9** *trans*-Carveol **10** 4-Vinylguajacol

3.4.1.4 Essenz- und Schalenöl

Die Ölfractionen, die im Verlauf der Orangensafttherstellung als Nebenprodukte anfallen, beinhalten aufgrund des lipophilen Charakters vor allem unpolare Terpene, aber auch Aldehyde und Alkohole. Als wichtige ‚impact‘ Verbindungen mit orangentypischen Aroma wurden für Essenzöle Linalool (**22**) und Nonanal (**86**) von Chida *et al.* identifiziert, Rouseff *et al.* benannten unter anderem Linalool (**22**) und Ethylbutanoat (**27**, Rouseff *et al.*, 2005, Chida *et al.*, 2006). Der Beitrag zur Aromaqualität von Valencen (**83**), einer Hauptkomponente der Ölfractionen, ist dagegen aufgrund der zu geringen Konzentration fraglich (Elston *et al.*, 2005). In den von der SGF bereitgestellten Essenzölproben wurden mit durchschnittlichen Gehalten von 1050 mg/ml Limonen (**21**), mit 28,7 mg/ml β -Myrcen (**20**), mit 10 mg/ml α -Pinen, mit 8,4 mg/ml Linalool (**22**) sowie mit 8,3 mg/ml Valencen (**83**) als Hauptkomponenten bestimmt. Diese Ergebnisse entsprechen Literaturangaben (Meier, 2002, Hognadottir und Rouseff, 2003).

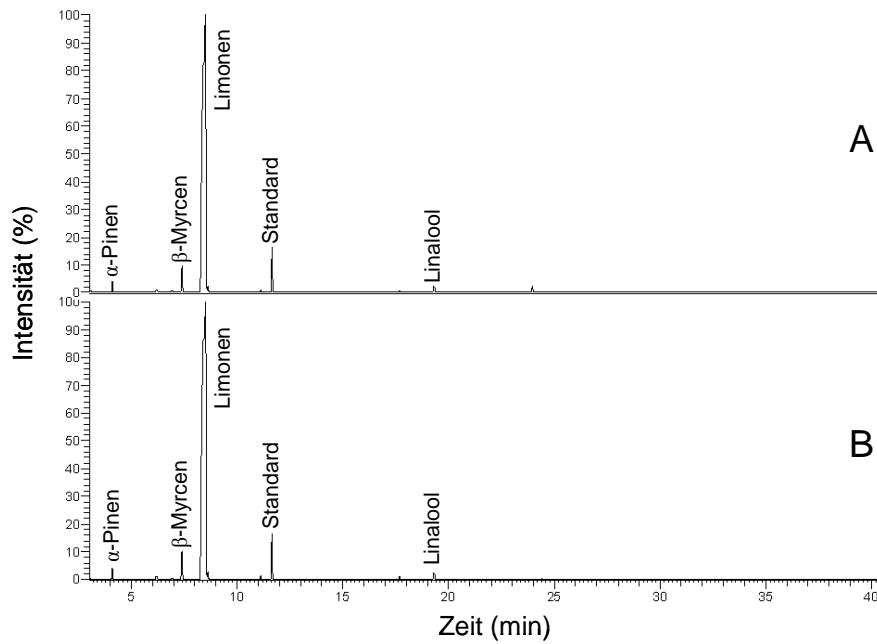


Abbildung 3.4-6 Repräsentative Totalionenchromatogramme der Aromastoffe eines Orangenessenzöls (A), und eines Orangenschalenöls (B). Ausgewählte Hauptkomponenten sind angegeben.

Vergleicht man die Aromastoffzusammensetzungen von Orangen-Essenzölen mit Orangen-Schalenölen, so sind diese beiden Fraktionen in Hinblick auf ihre Hauptkomponenten sehr ähnlich (Abbildung 3.4-6). Wie Abbildung 3.4-7a und b sowie Tabelle A-15 (im Anhang) zeigen, liegen die Gehalte an beispielsweise α -Pinen (**44**), β -Myrcen (**20**), Linalool (**22**), α -Terpineol (**46**), β -Sinensal (**40**) oder Decanal (**55**) mengenmäßig jeweils in der gleichen Größenordnung. Betrachtet man aber die Verbindungen Ethylbutanoat (**27**), Hexanal (**26**) und Z-3-Hexenal (**47**), so fällt auf, dass diese nur im Essenzöl von Orangen enthalten sind, nicht aber im Schalenöl. Im Umkehrschluss daraus zu folgern, dass man anhand dieser drei Verbindungen - oder anhand nur einer von diesen - Essenz- von Schalenöl unterscheiden kann, ist zum jetzigen Zeitpunkt allerdings verfrüht. Von den in dieser Studie untersuchten Proben enthielt zwar keine Schalenölfraction diese drei Verbindungen, allerdings waren Ethylbutanoat (**27**) nur in 64%, Hexanal (**26**) nur in 67% und Z-3-Hexenal (**47**) nur in 55% aller SGF-Essenzölproben nachweisbar. Das Fehlen dieser Komponenten lässt unter diesen Voraussetzungen keine definitive Aussage zu.

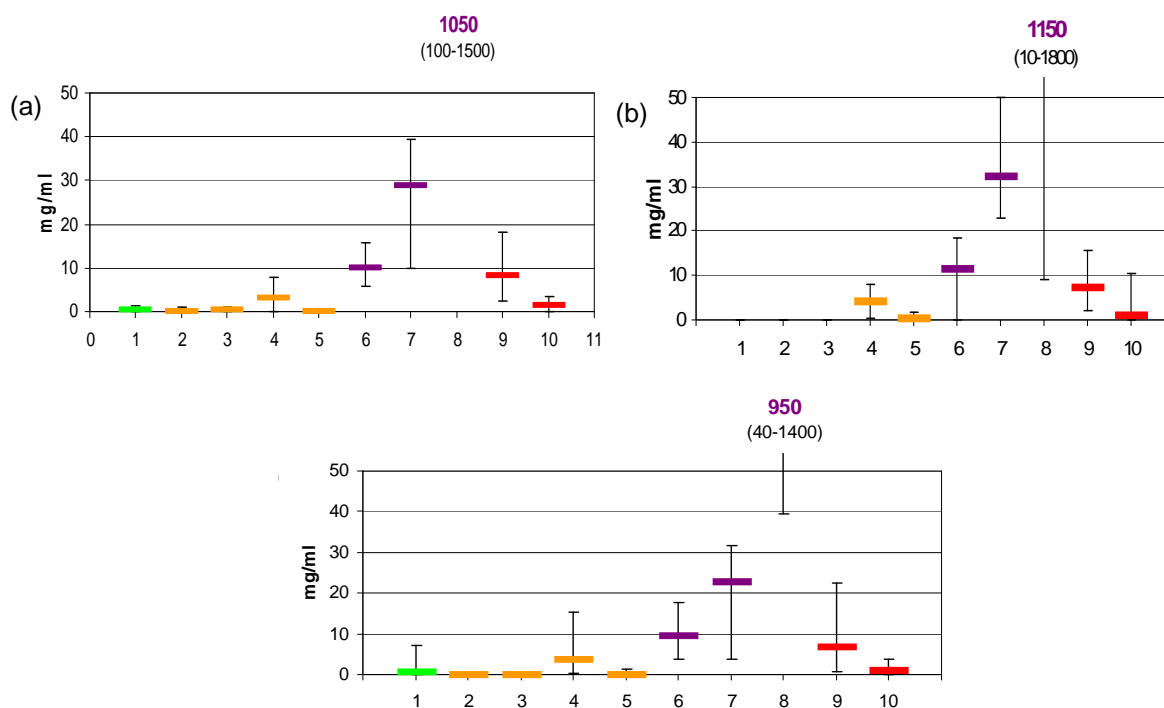


Abbildung 3.4-7 Mengenmäßige Verteilung [mg/ml] ausgewählter Aromastoffe in (a) Essenzöl (SGF, n=42), (b) Schalenöl (SGF, n=56) und (c) Essenzöl (Industrie, n=45). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Hexanal **3** Z-3-Hexenal **4** Decanal **5** β -Sinensal **6** α -Pinen **7** β -Myrcen
8 Limonen **9** Linalool **10** α -Terpineol

Die Gehalte an Aromastoffen in Essenzölen der Industrie (Abbildung 3.4-7c) stimmten sehr gut mit den in den SGF-Proben ermittelten Mengen (Abbildung 3.4-7a) überein. Allerdings fiel in den Handelsproben das prozentuale Vorkommen der Komponenten Ethylbutanoat (**27**), Hexanal (**26**) und Z-3-Hexenal (**47**) noch geringer aus. Lediglich 20% dieser Proben enthielten Ethylbutanoat (**27**), dafür aber in Gehalten bis zu 7,3 mg/ml. Die Aldehyde Hexanal (**26**) und Z-3-Hexenal (**47**) waren nur in 60% bzw. 9% der untersuchten Proben nachweisbar.

Eine Unterscheidung zwischen Essenz- und Schalenöl nur anhand des HRGC-MS-Aromaprofils ist aufgrund der aktuellen Datensituation nicht möglich. Die on-line HRGC-Stabilisotopen-Analytik ermöglicht eine Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ - und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisse von beispielsweise Ethylbutanoat (**27**) aus beiden Fraktionen. Ein unterschiedlicher Wassergehalt in Fruchtkörper und Schale kann durch Verdunstungsprozesse abweichende $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOV}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOV}}$ -Werte hervorrufen und somit zu einer Zuordnung von Essenz- und

Schalenöl beitragen. Insofern sollte zukünftig der HRGC-IRMS-Analytik auch in diesem Bereich vermehrte Aufmerksamkeit gewidmet werden.

3.4.2 Synthese von ^{13}C -markierten Verbindungen als Standards zur Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse (SIVA)

Als Quantifizierungsmethode von leichtflüchtigen Aromastoffen ist die gaschromatographische Bestimmung mit internem Standard eine gute Wahl. Gerade für die Gesamtanalyse einer komplexen Aromastoffzusammensetzung erleichtert die Detektion mit einem Massenspektrometer die Zuordnung und Auswertung der einzelnen Peaks. Zur exakten Quantifizierung einer bestimmten Komponente greift man vor allem in den letzten Jahren vermehrt zur Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse (SIVA). Hier wird der Probe die entsprechende stabilisotopenmarkierte Verbindung, die man analysieren möchte, als interner Standard zugesetzt, man „verdünnt“ die Probe. Die markierte Substanz besitzt die gleichen physikalisch-chemischen Eigenschaften und verhält sich analog zum Analyt während der gesamten Analyse. Der Vergleich von herkömmlicher Quantifizierungsmethode mit internem Standard und der SIVA ist in Abbildung 3.4-8 graphisch dargestellt. Am Beispiel der Quantifizierung von Limonen (**21**) in Kosmetika und Orangensäften sowie α -Terpineol (**46**) in Orangensäften wurden beide Methoden im Folgenden geprüft und verglichen.

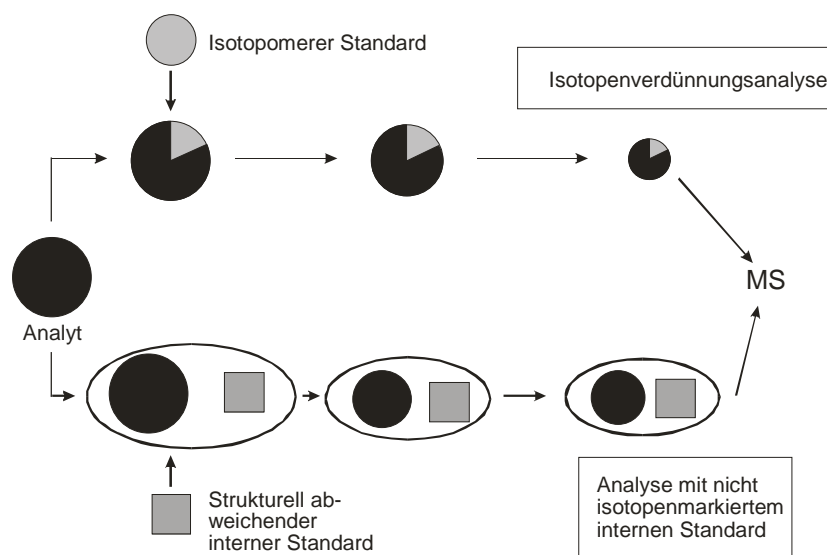


Abbildung 3.4-8 Prinzip der Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse im Vergleich zur herkömmlichen Methode des internen Standards (nach Rychlik, 2002).

3.4.2.1 Synthese von ^{13}C -markiertem Limonen

Limonen (**21**) wird im industriellen Maßstab aus Zitruschalenölen gewonnen. Literaturangaben zur Synthese von Limonen (**21**) gehen üblicherweise von Umlagerungen von Terpenen wie beispielsweise α -Pinen (**44**) aus (Lemee *et al.*, 1995, Conceicao Cruz Costa *et al.*, 1996, Besun *et al.*, 2002, De Stefanis *et al.*, 2003). Zur Einführung einer ^{13}C -Markierung in Limonen (**21**) musste eine andere Methode gefunden werden. Zuerst wurden alle Syntheseansätze unmarkiert durchgeführt, um im Anschluss daran die effektivste Synthese mit markierten Edukten auszuführen.

Verschiedene Möglichkeiten der Limonensynthese wurden geprüft, zu Beginn wurde eine Horner-Emmons-Reaktion mit 4-Acetyl-1-methylcyclohexen und Diethylmethylphosphonat zu Limonen (**21**) eingesetzt. 4-Acetyl-1-methylcyclohexen wurde dabei nach Angaben von Veselovskii *et al.* erhalten (Veselovskii *et al.*, 1988). Diethylmethylphosphonat wurde mit Butyllithium zu Diethylmethylphosphoniumylid aktiviert, so dass diese nucleophile Struktur mit dem Keton reagieren kann. Dieser Ansatz führte lediglich zu einer sehr geringen Umsetzung der Ausgangsprodukte. Van Schaik *et al.* zeigten, dass das entstehende Ylid sehr thermolabil ist (Van Schaik *et al.*, 1983). Die Wiederholung der Synthese unter Stickstoffkühlung auf -70°C führte allerdings ebenso nur zu einer geringen Umsetzung zu Limonen (**21**).

Im Folgenden wurde eine Eliminierung der Hydroxylgruppe von α -Terpineol (**46**, vgl. Abschnitt 3.4.2.2) durchgeführt. Hierzu wurden verschiedene Strategien verfolgt; die säurekatalysierte Reaktion lieferte eine Ausbeute von 18% Limonen (**21**). Als Nebenprodukte wurden zahlreiche Terpene, darunter die schwer von Limonen (**21**) separierbaren Komponenten α -Terpinen, γ -Terpinen und α -Terpinolen erhalten.

Für erfolgreiche basenkatalysierte Eliminierung wird eine gute Abgangsgruppe benötigt. Weder Benzoat noch Tosylat konnten in relevanten Mengen als Abgangsgruppe in α -Terpineol (**46**) eingebracht werden. Weitere Versuche, mit Hilfe von Thionylchlorid nach Rudolff, 1961, und via Aluminiumoxid, modifiziert nach Bestmann *et al.*, 1986, führten zu vielversprechenden Limonenausbeuten von 26,5 und 40%. Aber auch hier traten sehr viele unerwünschte Terpene als Nebenprodukte auf.

Die Synthese wurde letztendlich in Anlehnung an Vorschriften von Vig *et al.*, 1966, Veselovskii *et al.*, 1988, und Cui *et al.*, 2001, durchgeführt. In Abbildung 3.4-9 ist das Syntheschema von einfach ^{13}C -markiertem Limonen (**21**) dargestellt. Mit Hilfe einer Festphasensynthese an getrocknetem Kieselgel wurde aus Isopren und Methylvinylketon der erste Baustein 4-Acetyl-1-methylcyclohexen gebildet. Baustein 2, ^{13}C -markiertes Triphenylphosphoniumiodid, wurde aus der Reaktion zwischen stabilisotopen-markiertem Methyliodid und Triphenylphosphin erhalten. Methyliodid als Markierungsreagenz ist eine günstige und einfache Komponente zum Einbau des ^{13}C -Isotops. Beide Bausteine wurden in einer

klassischen Wittigreaktion eingesetzt, und nach Umsetzung und Reinigung mittels Säulenchromatographie wurde eine Ausbeute von 34,5% an einfach ^{13}C -markiertem Limonen erhalten.

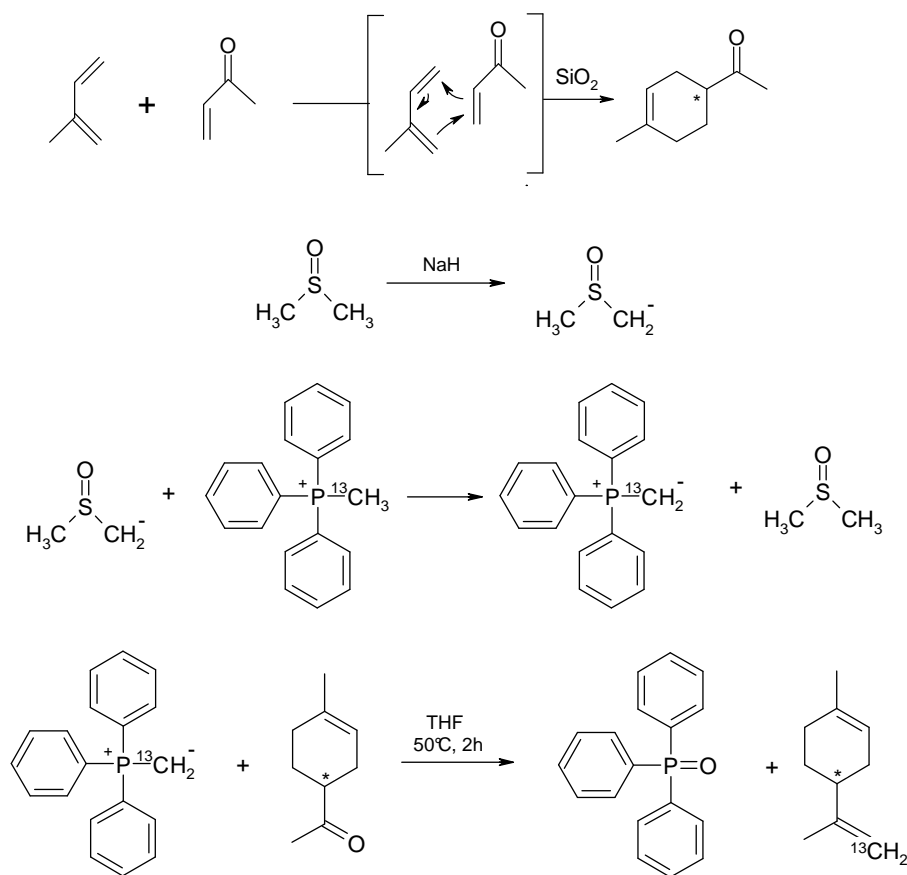


Abbildung 3.4-9 Syntheschema von ^{13}C -Limonen (vereinfacht).

3.4.2.2 Synthese von zweifach ^{13}C -markiertem α -Terpineol

Wie in Abbildung 3.4-10, wurde ^{13}C -markiertes α -Terpineol (**46**) mittels Grignard-Reaktion synthetisiert (Becker *et al.*, 2000). Zuerst wurde aus Magnesiumspänen in Diethylether und ^{13}C -markiertem Methyljodid das Grignardreagenz hergestellt. Als Baustein 2 fungierte Methyl-4-methylcyclohex-3-en-1-carboxylat, ein aus Methylacrylat und Isopren gebildetes Diels-Alder-Produkt (Renslo *et al.*, 1997). Dieser Baustein wurde zu dem Grignardreagenz zugefügt und nach dem Erhitzen wurde mit Eis hydrolysiert. Die verwendete Grignard-Reaktion hat den Vorteil, in einem Schritt an zwei Stellen ein ^{13}C -Isotop in das gewünschte Molekül einzubringen. Nach Extraktion und säulenchromatographischer

Reinigung wurde die Ausbeute von zweifach ^{13}C -markiertem α -Terpineol (**46**) mit 68% bestimmt.

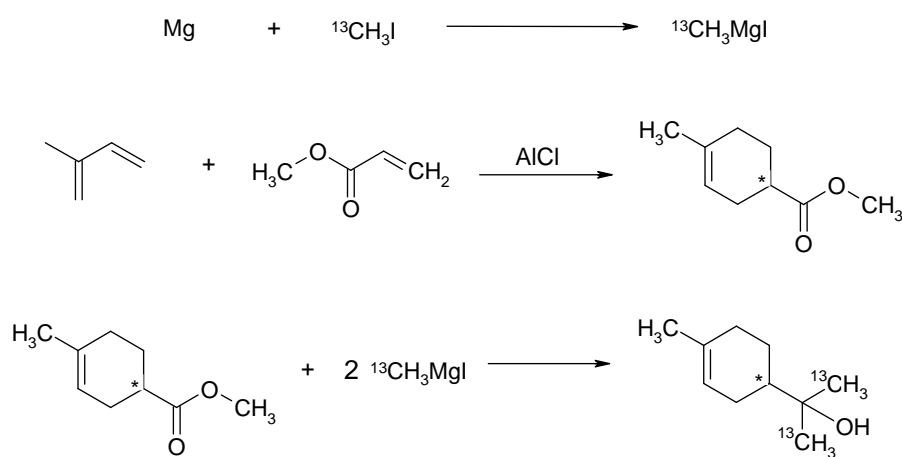


Abbildung 3.4-10 Syntheschema von zweifach ^{13}C - α -Terpineol (vereinfacht)

3.4.2.3 Praktische Anwendungen der Syntheseprodukte als Standards in der Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA)

3.4.2.3.1 Kosmetikproben

Aus den oben genannten Produkten wurden Standardlösungen eingewogen und vor der SDE-Aufarbeitung den Proben zugefügt. Limonengehalte wurden zunächst in neun verschiedenen Kosmetika bestimmt. Jeweils mindestens drei Analysen wurden traditionell mit 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard und dann mit ^{13}C -markiertem Limonen (**21**) durchgeführt und die Standardabweichung (STABWN) berechnet. In Tabelle 3.4-1 sind die erhaltenen Ergebnisse beider Bestimmungsmethoden für die bearbeiteten Kosmetikproben gegenübergestellt. Zusätzlich wurden alle Werte in Abbildung 3.4-11 und 3.4-13 graphisch aufgetragen.

Die Limonengehalte in den mittels (SIVA) untersuchten Kosmetikproben lagen zwischen 17 und 968 mg/kg. Mit zunehmenden Gehalten ist auch die Standardabweichung gestiegen. Es fällt auf, dass im Vergleich mit den parallel durchgeführten Analysen mit 2-Methyl-1-pentanol die herkömmliche Quantifizierung mit internem Standard durchwegs höhere Ergebnisse lieferte (Abbildung 3.4-11). Um zu belegen, dass mittels SIVA exakte Quantifizierungen möglich sind, wurde mit Hilfe von Aufsatzversuchen der Limonengehalt einer Probe eindeutig bestimmt. Hierfür wurde zu Probe Nr. 5 (Duschgel, 101 mg/kg) 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg und 200 mg/kg Limonen (**21**) zugesetzt und in

Doppelbestimmung extrahiert und gemessen. Abbildung 3.4-12 zeigt die erhaltene Gerade. Diese Analysen belegen zusätzlich, dass Linearität in dem Bereich von 100 bis 300 mg/kg Limonen (**21**) gegeben ist. Um in dieser Spannweite zu bleiben und somit auch für hohe Limonengehalte verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, wurden die Proben mit deutlichen Werten oberhalb dieser Grenze (Probe Nr. 8 Seife und Nr. 9 Bodylotion) jeweils mit geviertelten Ansätzen (Einwaage: 25 g) durchgeführt.

Tabelle 3.4-1 Gehalt an Limonen [mg/kg], ermittelt mit Hilfe von Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse (SIVA; n=3, A) sowie traditionell mit internem Standard 2-Methyl-1-pentanol (n=3, B) in ausgewählten Kosmetika 1-9. Standardabweichung (STABWN) ist angegeben.

Probennr.		Limonen [mg/kg]	
		A	B
1	Bodylotion	17 ± 0,3	26 ± 1,1
2	Feuchtigkeitsscreme	47 ± 0,4	75 ± 2,1
3	Deodorant	74 ± 1,1	90 ± 6,2
4	Shampoo	79 ± 1,1	118 ± 2,2
5	Duschgel	101 ± 0,7	158 ± 1,5
6	Duschgel	235 ± 1,5	282 ± 7,6
7	Shampoo	301 ± 3,4	330 ± 3,7
8	Seife	418 ± 1,9	437 ± 28,9
9	Bodylotion	968 ± 3,6	1068 ± 11,1

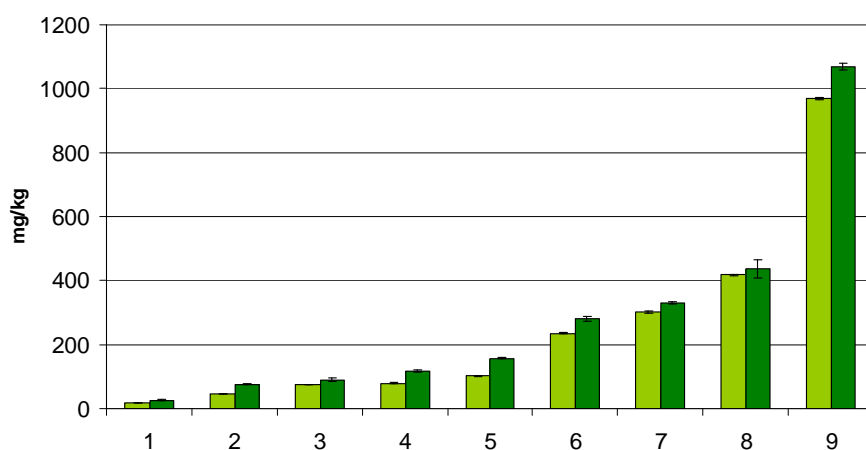


Abbildung 3.4-11 Gehalte an Limonen in mg/kg (n=3) ermittelt mit SIVA (■) und mit internem Standard 2-Methyl-1-pentanol (■) in Kosmetikproben 1-9.

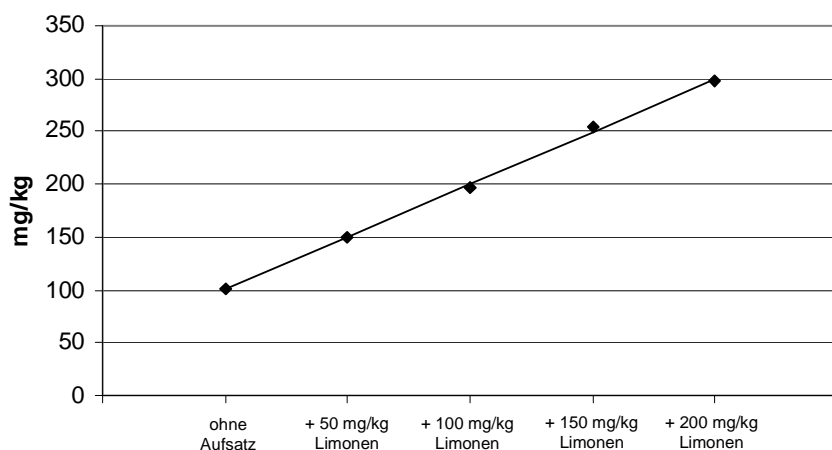


Abbildung 3.4-12 Aufsatzversuch zur Ermittlung des absoluten Limonengehalts in Kosmetikprobe Nr. 5 (Duschgel). Zugabe von Limonen (**21**) in jeweils 50 mg/kg-Schritten. Die per SIVA bestimmten ermittelte Limonengehalte (je n=2) sind angegeben, Bestimmtheitsmaß der Geraden $R^2 = 0,9981$.

Die Abweichungen der ermittelten Absolutgehalte beider Quantifizierungen können verschiedene Ursachen haben. Kosmetikproben stellen eine heterogene Gruppe an komplexen Matrices dar. Während der SDE dieser Ausgangsmaterialien kam es abhängig von der Produkteigenschaft teilweise zu starker Schaumbildung. Durch dieses Schäumen ist das Übergehen der flüchtigen Verbindungen behindert, eine vollständige Extraktion kann nicht garantiert werden. Das unterschiedliche Verhalten von dem internen Standard

2-Methyl-1-pentanol und Limonen (**21**) bei der Aufarbeitung kann die Diskrepanzen beider eigentlich identischen Werte verursachen. Einen großen Einfluss haben auch andere Aufarbeitungsfaktoren auf das einzelne Ergebnis einer Analyse. Durch unterschiedliche Probenmengen, Dosierungsfehler bei der Standardzugabe, veränderte Extraktionsdauer oder den Einsatz verschiedener Geräte (z.B. Extraktionsapparatur, Heizpilz) können Abweichungen in Einzelergebnissen auftreten.

Zusätzlich ist die massenspektrometrische Quantifizierung nur halbquantitativ, d.h. durch den unterschiedlichen Molekülaufbau der beiden Standardsubstanzen 2-Methyl-1-pentanol und ^{13}C -markiertem Limonen (**21**) kommt es zu abweichender Fragmentierung und somit zu unterschiedlicher Bilanzierung bei der daraus resultierenden Peakflächenberechnung.

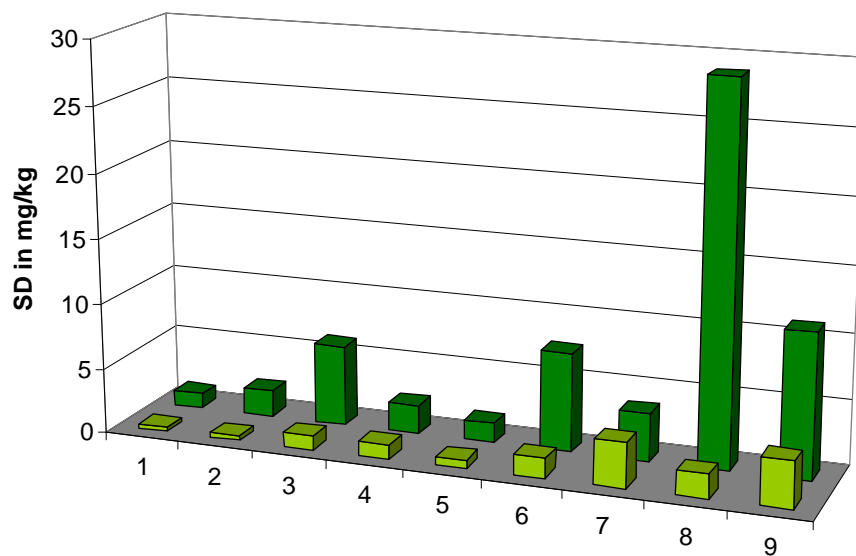


Abbildung 3.4-13 Standardabweichungen (STABWN) in mg/kg für ermittelte Limonengehalte (n=3) in Kosmetikproben 1-9; Quantifizierung mit ^{13}C -markiertem Limonen (■, SIVA) und 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard (■).

Die Standardabweichungen bei mit SIVA ermittelten Limonengehalten sind in allen Kosmetikproben niedriger als mit der herkömmlichen Methode, ohne Berücksichtigung von Probe Nr. 7 ist der Unterschied signifikant (Abbildung 3.4-13, Tabelle 3.4-1). Insgesamt stehen den – für die hier untersuchten Limonengehalte von bis zu 1000 mg/kg sehr niedrigen - Standardabweichungen der SIVA von $\pm 0,3$ mg/kg bis maximal nur $\pm 3,6$ mg/kg die Standardabweichungen der Quantifizierung mit 2-Methyl-1-pentanol von $\pm 1,1$ mg/kg

bis $\pm 28,9$ mg/kg gegenüber. Gerade bei höheren Gehalten wie in Probe Nr. 8 und Nr. 9 sind mit 1,9 mg/kg und 3,6 mg/kg die Standardabweichungen der SIVA wesentlich geringer als für die 2-Methyl-1-pentanol-Bestimmung (28,9 mg/kg bzw. 11,1 mg/kg).

3.4.2.3.2 Orangensäfte

Genauso wie in den Kosmetikproben wurden von 16 kommerziellen Orangensäften die Gehalte an Limonen (**21**) und α -Terpineol (**46**) mit SIVA und der klassischen Quantifizierungsmethode bestimmt. In Abbildung 3.4-14 und 3.4-16 werden die ermittelten Gehalte von Limonen (**21**) und α -Terpineol (**46**) sowie in Abbildung 3.4-15 und 3.4-17 deren Standardabweichungen in Orangendirektsäften (A-E) und in Orangensäften aus Konzentrat (F-Q) präsentiert.

Die Limonengehalte in den untersuchten Orangensäften lagen nach analyse per SIVA zwischen 28 und 516 mg/l (2-Methyl-1-pentanol-Methode: von 41 bis 367 mg/l). Bis auf Ausnahme von Probe D wurden nach Quantifizierung mit ^{13}C -markiertem Limonen (**21**) verglichen mit der herkömmlichen Methode jeweils niedrigere Mittelwerte dieses Terpens erhalten. Mit steigenden Gehalten an Limonen (**21**) stieg auch die Abweichung der Gehalte zwischen beiden Methoden. Die extreme Abweichung in umgekehrter Hinsicht bei Probe D ist mit dem allgemein deutlich höheren Limonengehalt dieses Orangensaftes zu begründen, da durch das ungünstige Standard-Analyt-Verhältnis die genaue Gehaltsbestimmung erschwert ist.

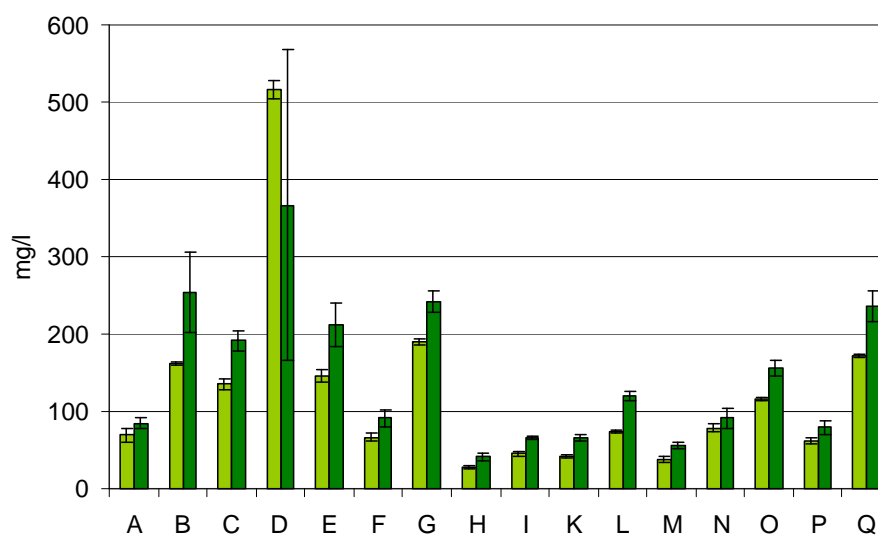


Abbildung 3.4-14 Gehalte an Limonen in mg/kg (n=3) ermittelt mit SIVA (■) und mit internem Standard 2-Methyl-1-pentanol (■) in Orangensaftproben A-Q.

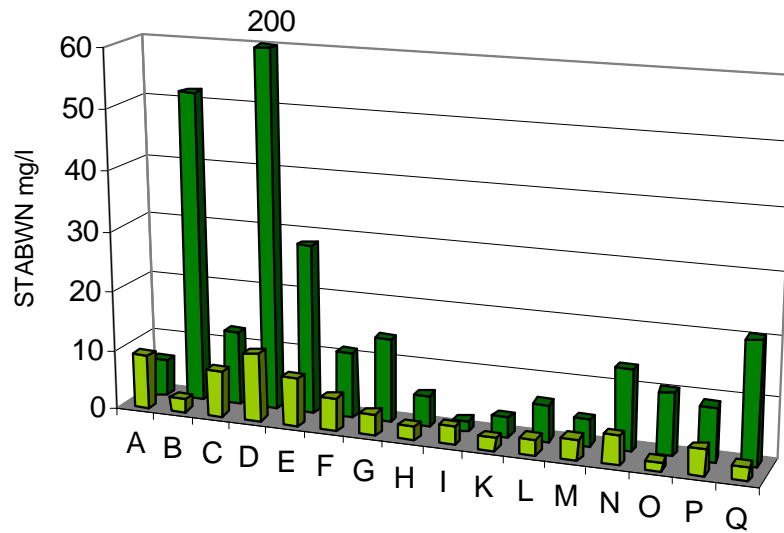


Abbildung 3.4-15 Standardabweichungen (STABWN) in mg/l für ermittelte Limonengehalte ($n=3$) in Orangensaftproben A-Q; Quantifizierung mit ^{13}C -markiertem Limonen (■, SIVA) und 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard (■).

α -Terpineol (**46**), das Oxidationsprodukt von Limonen (**21**), wurde in vorliegenden Orangensaftproben mit Gehalten von 0,9 mg/l bis 9,5 mg/l mittels SIVA bestimmt. Die gleichzeitig quantifizierten Gehalte mit 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard bewegten sich in einem vergleichbaren Rahmen (1,7 mg/l bis 7,6 mg/l). Auch hier wurden fast durchgehend höhere Werte mit der herkömmlichen Methode erzielt, nur Probe D und P bildeten die Ausnahmen.

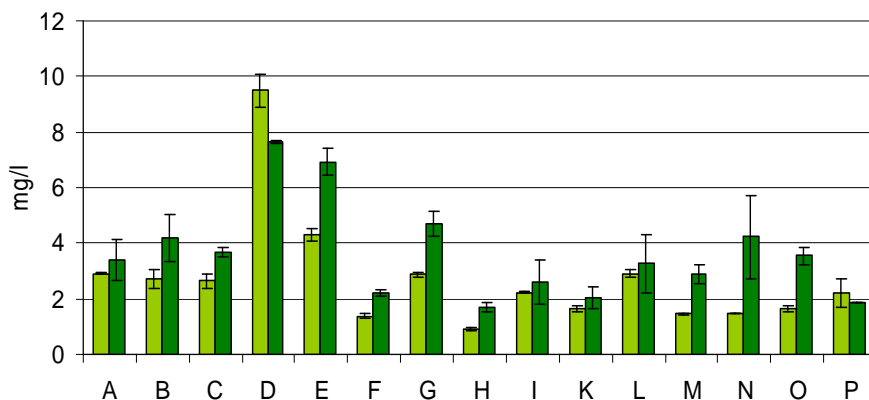


Abbildung 3.4-16 Gehalte an α -Terpineol in mg/kg ($n=3$) ermittelt mit SIVA (■) und mit internem Standard 2-Methyl-1-pentanol (■) in Orangensaftproben A-Q.

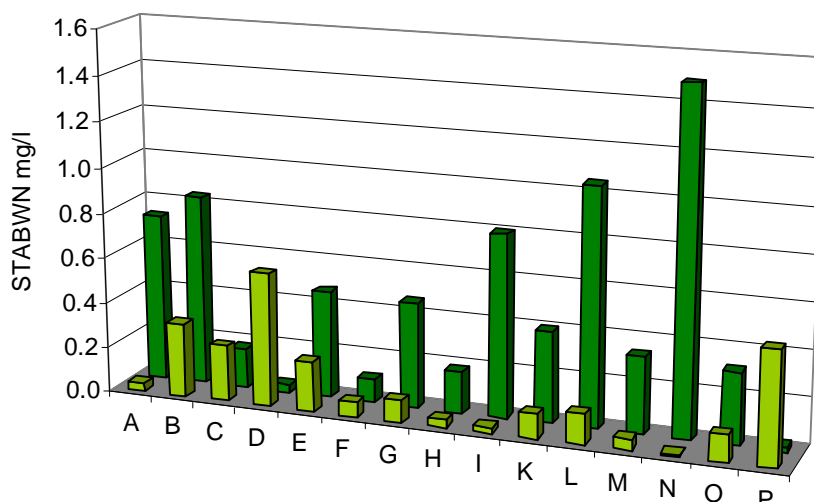


Abbildung 3.4-17 Standardabweichungen in mg/l für ermittelte α -Terpineolgehalte ($n=3$) in Orangensaftproben A-P; Quantifizierung mit ^{13}C -markiertem α -Terpineol (■, SIVA) und 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard (■).

Betrachtet man die Standardabweichungen für Limonen- und α -Terpineol-Gehalte in Orangensäften, so sieht man eine deutliche Tendenz. Analog zu den Limonenbestimmungen in Kosmetika liegen auch hier – bis auf Saft A und I bei Limonen (**21**) und Saft C, D und P bei α -Terpineol (**46**) – die Standardabweichungen der SIVA signifikant unter denen der Quantifizierung mit 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard. Für Limonen (**21**) entsprechen die per SIVA erzielten Standardabweichungen von 1,4 mg/l bis 10,3 mg/l einer Abweichung von durchschnittlich $\pm 3,8\%$. Im Gegensatz dazu stehen 1,8 mg/l bis 201 mg/l als Standardabweichungen nach Limonenbestimmung mit 2-Methyl-1-pentanol (Durchschnitt $\pm 17\%$).

Ein ähnliches Bild liefern die Standardabweichungen von α -Terpineol (**46**). Die mit Hilfe von SIVA ermittelten Werte liegen zwischen 0,01 mg/l und 0,59 mg/l, das entspricht einer mittleren Abweichung von $\pm 6,3\%$. Auf der anderen Seite reichen die Standardabweichungen bei der Quantifizierung von α -Terpineol (**46**) mit 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard von 0,02 mg/l bis 1,49 mg/l, entsprechend $\pm 13,6\%$ im Durchschnitt.

Die Quantifizierung mit SIVA stellt eine exakte und authentische Methode dar, die besonders für komplexe Matrices wie Kosmetika geeignet ist. Mit einfachen und günstigen Synthesen der Stabilisotopen-markierten Standardsubstanzen ist sie die Methode der Wahl.

3.5 Apfel

3.5.1 Aromaprofil Apfel

3.5.1.1 Saft

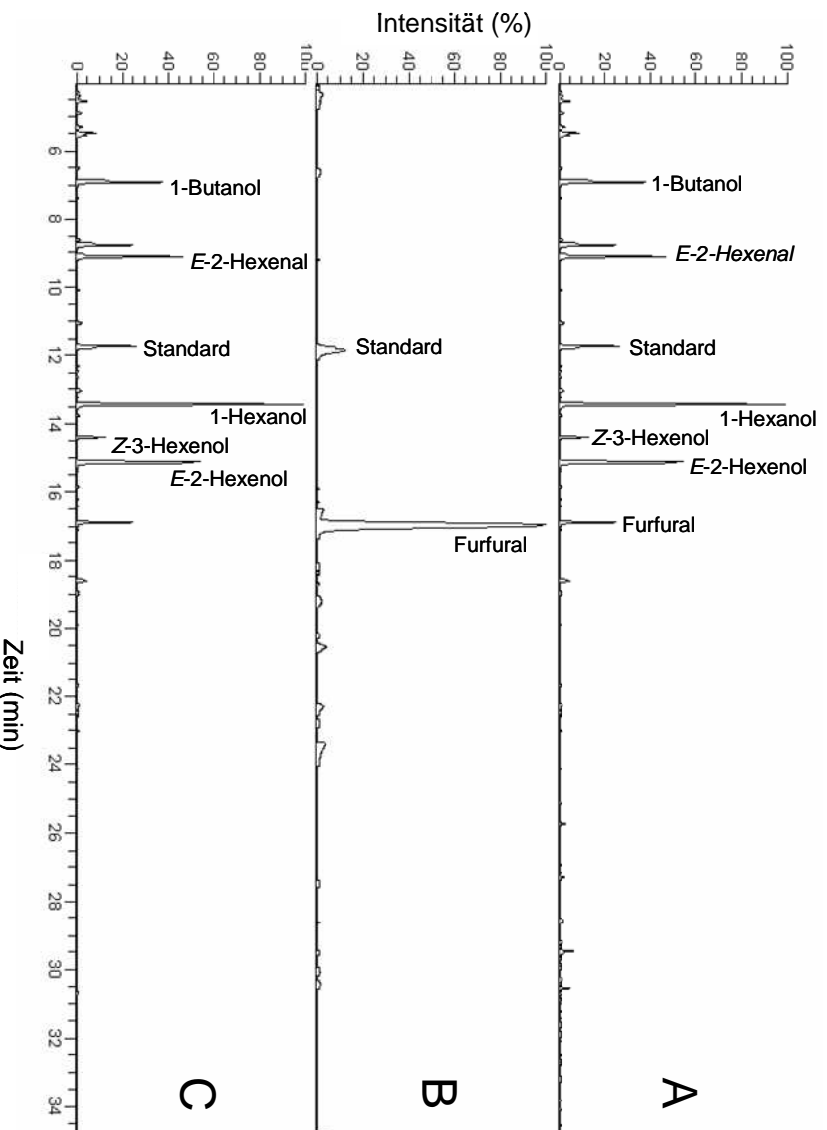


Abbildung 3.5-1 Repräsentative Totalionenchromatogramme eines Apfelsaftes (A), eines Apfelsaftkonzentrates (B) und eines Apfel-Recovery-Aromas (C). Ausgewählte Verbindungen sind angegeben.

Seit Jahren ist bekannt, dass das charakteristische Apfelaroma durch einen großen Anteil an leichtflüchtigen Estern und insbesondere sog. C₆-Grünnoten gekennzeichnet ist (Paillard, 1990). Als Hauptkomponenten des Apfelaromas wurden von uns analog Literaturangaben (Flath *et al.*, 1967, Dimick und Hoskin, 1983) die Verbindungen 1-Hexanol (**41**), 1-Butanol (**61**), *E*-2-Hexenal (**38**), *E*-2-Hexenol (**57**) und Butylacetat (**58**) bestätigt (Abbildung 3.5-1). In den ‚single strength‘-Säften der SGF wurden mit durchschnittlichen Gehalten über 1mg/l die Alkohole 1-Hexanol (**41**, 2,9 mg/l), 1-Butanol (**61**, 2,6 mg/l) und *E*-2-Hexenol (**57**, 1,1 mg/l) als quantitativ dominierende Aromastoffe ermittelt. Die C₆-Aldehyde Hexenal (**26**) und *E*-2-Hexenal (**38**) wurden in mittleren Gehalten von 0,2 und

0,9 mg/l bestimmt, wichtige charakteristische und aromaintensive Apfelaromastoffe wie Ethyl-2-methylbutanoat (**2**, 0,05 mg/l) und β -Damascenon (**64**, 0,04 mg/l) wurden in entsprechend geringeren Mengen quantifiziert. In Tabelle A-16 im Anhang sind alle Ergebnisse der untersuchten Apfelsäfte (SGF und Handelsware) aufgelistet.

Die Analyse kommerzieller Apfelsäfte lieferte ein vergleichbares Bild; auch hier trat das apfeltypische Aromaprofil auf (Abbildung 3.5-2b und c). Verglichen mit den single strength-Säften (Abbildung 3.5-2a) lagen die gefundenen Mengen an Aromakomponenten bei den kommerziellen Apfelsäften eher in den unteren Gehaltsbreiten; so wurden die durchschnittlichen Gehalte von 1-Hexanol (**41**) mit 1,8 und 1,4 mg/l, von *E*-2-Hexenol (**57**) mit 0,4 und 0,3 mg/l sowie von *E*-2-Hexenal (**38**) jeweils mit 0,3 mg/l für kommerzielle Direktsäfte und Apfelsäfte aus Konzentrat ermittelt. Grundsätzlich zeigten die Aromaprofile der im Handel erworbenen Apfeldirektsäfte und Apfelsäfte aus Konzentrat eine auffällig gute Übereinstimmung.

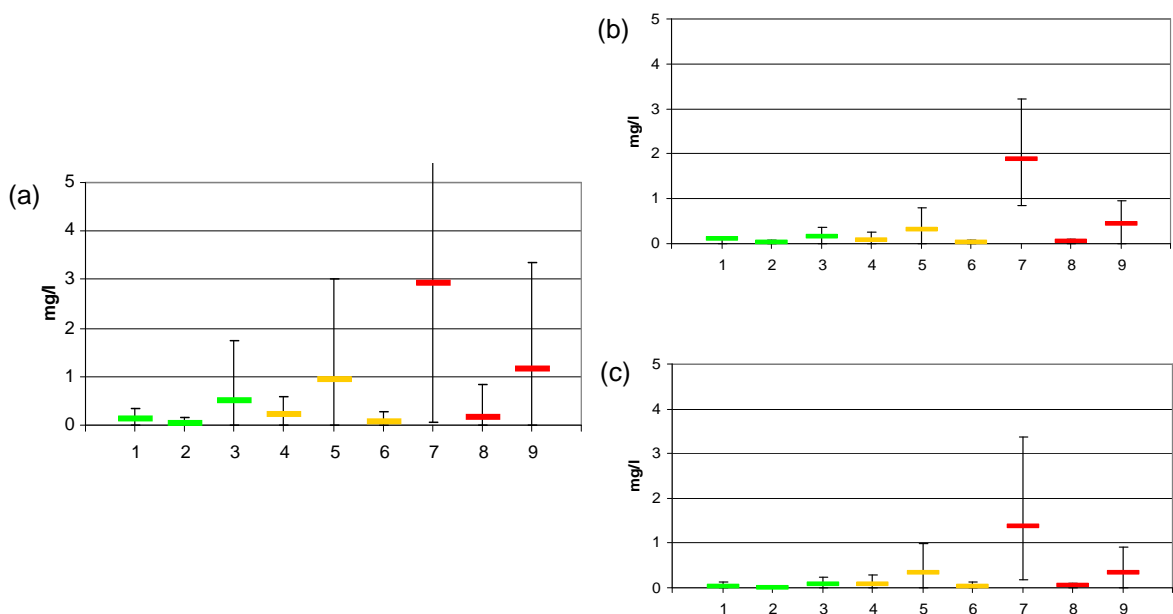


Abbildung 3.5-2 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromastoffe in (a) Apfelsäften (single strength SGF, n=33), (b) kommerziellen Apfeldirektsäften (n=19) und (c) kommerziellen Apfelsäften aus Konzentrat (n=8). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Butylacetat **4** Hexenal **5** *E*-2-Hexenal
6 Benzaldehyd **7** 1-Hexanol **8** *Z*-3-Hexenol **9** *E*-2-Hexenol

3.5.1.2 Aroma

Bei einem Vergleich der in den Abbildungen 3.5-2a und 3.5-3a aufgeführten Ergebnisse wird deutlich, dass bei der Konzentration der Aromastoffe von Saft zu korrespondierendem Recovery-Aroma eine gleichmäßige Anreicherung der flüchtigen Komponenten stattfindet. Wichtige Aromastoffe des Apfels wie essentielle Ester (Ethylbutanoat **27**, Ethyl-2-methylbutanoat **2**) oder C₆-Aldehyde (Hexanal **26**, *E*-2-Hexenal **38**) und deren korrespondierende Alkohole finden sich in konzentrierter Form in den Recovery-Aromen; es wurde dabei eine Anreicherung um etwa das 100fache beobachtet. In Tabelle A-17 (im Anhang) sind alle ermittelten Gehalte an Aromastoffen in Recovery-Aromen zusammengefasst. Die Hauptkomponenten waren – wie schon in den ‚single strength‘-Säften der SGF – mit durchschnittlichen Gehalten von 264 mg/l 1-Hexanol (**41**), 166 mg/l 1-Butanol (**61**), 116 mg/l *E*-2-Hexenal (**38**) und 103 mg/l *E*-2-Hexenol (**57**).

Bei den Recovery-Aromen lieferten die direkt von Firmen analysierten Halbwaren (Abbildung 3.5-3b) sowohl qualitativ als auch quantitativ ein mit den SGF-Proben deckungsgleiches Bild (Abbildung 3.5-3a). Teilweise lagen die ermittelten Maximalwerte der Industrie-Proben deutlich über den der Recovery-Aromen der SGF (Bsp. 1-Hexanol **41**, 1-Butanol (**61**), Hexanal **26**, *E*-2-Hexenal **38**), die Mittelwerte dahingegen pendeln sich jedoch auf einer gemeinsamen Ebene ein.

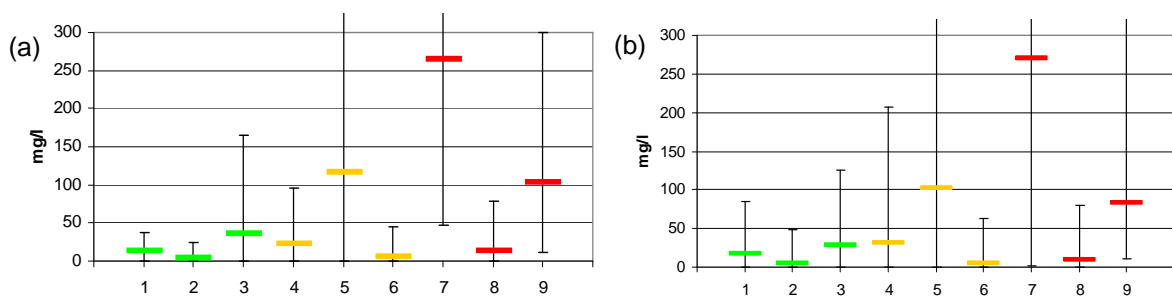


Abbildung 3.5-3 Mengenmäßige Verteilung [mg/l] ausgewählter Aromakomponenten in (a) Apfel-Recovery-Aromen (SGF, n=34) und (b) Apfel-Recovery-Aromen (Handelsware, n=27). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Ethylbutanoat **2** Ethyl-2-methylbutanoat **3** Butylacetat **4** Hexanal **5** *E*-2-Hexenal **6** Benzaldehyd **7** 1-Hexanol **8** *Z*-3-Hexenol **9** *E*-2-Hexenol

3.5.1.3 Saftkonzentrat

Anhand der repräsentativen Chromatogramme in Abbildung 3.5-1 erkennt man deutlich, dass praktisch alle charakteristischen Apfelaromakomponenten aus dem Saft in die wässrige Aromaphase übergehen, im Konzentrat verbleiben somit keine leichtflüchtigen Verbindungen. Bei der Herstellung von Apfelsaftkonzentrat können nahezu alle wertgebenden Aromastoffe mit der Wasserphase aufgefangen werden. Zurück bleibt eine mehr oder weniger geruchsarme Matrix, deren Hauptbestandteile neben apfeltypischen, schwer destillierbaren Verbindungen wie 1,3-Octandiol (**62**) vor allem Erhitzungsprodukte wie Furfural (**48**) sind (Abbildung 3.5-4; Tabelle A-18). Beim Vergleich der authentischen SGF-Proben mit industriellen Handelswaren ergab sich eine gute Übereinstimmung; allerdings war der Furfuralgehalt bei den Industrie-Proben im Durchschnitt erhöht. Die quantifizierten Mengen an 1-Hexanol (**41**, 0,03-4,6 mg/kg) und 1-Butanol (**61**, 0,04-3,2 mg/kg) in den Apfelsaftkonzentraten der Industrie erscheinen auffällig, es kann sich hierbei um nicht separierte Reste der Hauptkomponenten des Apfelsaftaromaprofils handeln. Diese Alkohole können aber auch durch die Hitzeeinwirkung aus glykosidisch gebundenen Formen im Verlauf der Konzentratherstellung freigesetzt worden sein (Schwab und Schreier, 1990).

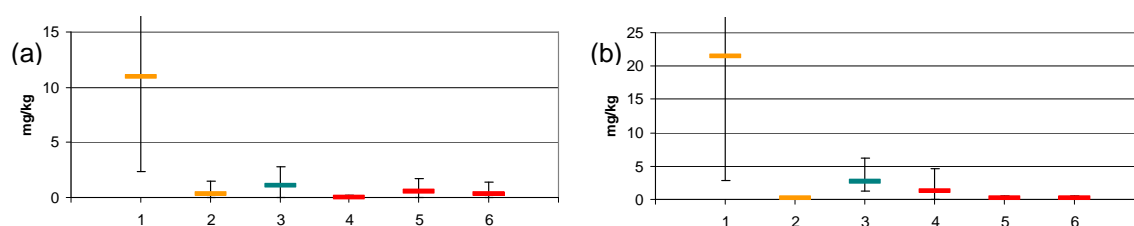


Abbildung 3.5-4 Mengenmäßige Verteilung [mg/kg] ausgewählter Aromastoffe in (a) Apfelsaftkonzentrat (SGF, n=37) und (b) Apfelsaftkonzentrat (Industrie, n=4). Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

1 Furfural **2** Phenylacetaldehyd **3** 2-Methylbuttersäure **4** 1-Hexanol **5** 1,3-Octandiol
6 4-Vinylguajacol

3.5.2 2/3-Methyl-1-butanol und 2/3-Methyl-1-butyacetat

Zusätzlich zur standardmäßigen HRGC-MS-Analytik flüchtiger Komponenten mit einer DB Wax-Trennsäule wurden die Apfel-Recovery-Aromen auch auf einer RH 1701-Säule untersucht. Im Gegensatz zu DB Wax erlaubt diese Phase die Trennung von 2- und 3-Methyl-1-butanol (**78,78**) und deren Acetate. Die 3-Methyl-verzweigten Verbindungen sind im Gegensatz zu den 2-Methyl-substituierten Apfel-untypisch und sind als Gärungsprodukte anzusehen (Schumacher *et al.*, 1998). In Übereinstimmung mit Schumacher *et al.*

wurde von uns mittels enantio-MDGC-MS-Analyse das Vorliegen von 2-Methyl-1-butanol (**78**) in Apfelproben in nahezu enantiomerenreiner (*S*)-Form (> 98% (*S*)) gefunden.

In Abbildung 3.5-5 sind alle für die Gehalte an 2-/ 3-Methyl-1-butanol (**78,79**) sowie deren korrespondierenden Acetate in Apfel-, ‚single-strength‘-Säften (SGF), kommerziellen Apfelsäften sowie Recovery-Aromen (SGF) und der Industrie ermittelten Ergebnisse dargestellt. Die Gehalte an anderen Gärungsalkoholen wie 2-Methyl-1-propanol (**76**) oder 2-Phenylethanol (**80**) sind den Tabellen (A-16 und A-17) im Anhang zu entnehmen.

In allen analysierten Säften ließen sich die nicht natürlich im Apfel vorkommenden 3-Methyl-verzweigten Komponenten nachweisen. Schon in den ‚single strength‘-Proben der SGF ist 3-Methyl-1-butanol (**79**) durchgehend mit Gehalten von 0,01 bis 2,1 mg/l gefunden worden, 55% der Proben enthielten mehr als 0,1 mg/l (Abbildung 3.5-5a). Mit durchschnittlich 0,2 mg/l lag der Wert hier im gleichen Bereich wie bei den analysierten kommerziellen Direktsäften und Säften aus Konzentrat mit ebenfalls jeweils durchschnittlich 0,2 mg/l (Abbildung 3.5-5b und c).

Die Analyse von Apfel-Recovery-Aromen der SGF mittels RH 1701 ergab, dass teilweise sehr hohe Konzentrationen an 3-Methyl-1-butanol (**79**) enthalten waren (von 1,5 bis zu 135 mg/l bei SGF-Proben, Abbildung 3.5-5d); analog dazu trat auch 3-Methylbutylacetat (**77**) auf. Apfeltypisch sind gemäß einschlägiger Literatur jedoch nur 2-Methyl-1-butanol (**78**) und 2-Methylbutylacetat (**60**). Von den untersuchten 31 Proben enthielten zwölf Proben mehr als 10 mg/l 3-Methyl-1-butanol (**79**), sieben davon sogar mehr als 50 mg/l. Mit durchschnittlich mehr als 50 mg/l 3-Methyl-1-butanol (**79**) lag der Anteil dieses Gärungsalkohols bei den industriellen Halbwaren (von 1,0 bis 500 mg/l, Abbildung 3.5-5e) noch über dem Gehalt der SGF-Proben. Dabei war auch wie schon bei den SGF-Aromen in jedem industriellen Apfel-Recovery-Aroma 3-Methyl-1-butanol (**79**) detektierbar; 15 von 27 Proben enthielten mehr als 10 mg/l, zwei sogar mehr als 100 mg/l.

Das Vorkommen des Apfelfrucht-untypischen und als ‚unerwünscht‘ klassifizierten 3-Methyl-1-butanols (**79**, Dürr und Schobinger, 1981) sowie seines Esters dürfte technologiebedingt auf partielle Gärung des Rohmaterials zurückzuführen sein. Aufgrund des ubiquitären Auftretens dieser Indikatoren für Gärprozesse erscheinen diese Stoffe im Endprodukt technologisch schwer vermeidbar. Die große Spanne von minimal 0,01mg/l bis hin zu maximalen 2,1 mg/l Apfelsaft macht aber deutlich, dass sich der Gehalt an fermentativ gebildeten Komponenten während der Fruchtsaftverarbeitung durchaus gering halten läßt. Aktuell fehlt es an ausreichender (technologischer und analytischer) Information zur rechtlichen Beurteilung des Auftretens der 3-Methyl-verzweigten Komponenten, eine legislative Regulierung zum Vorkommen dieser Stoffe in Apfelsaft ist erforderlich.

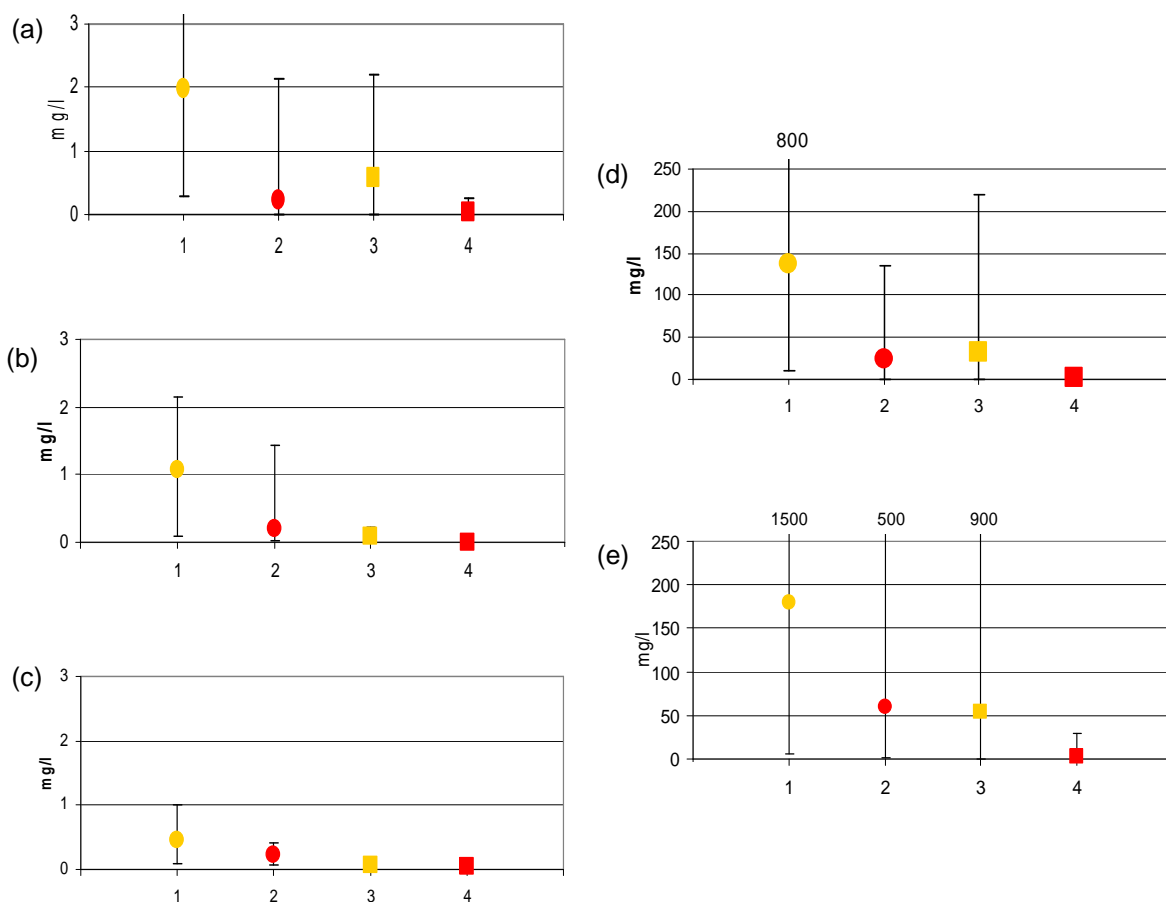


Abbildung 3.5-5 Per HRGC-MS ermittelte Gehalte an **1** 3-Methyl-1-butanol, **2** 2-Methyl-1-butanol, **3** 3-Methylbutylacetat und **4** 2-Methylbutylacetat [mg/l] in (a) Apfelsäften (single strength SGF, n=31), (b) kommerziellen Apfeldirektsäften (n=19), (c) kommerziellen Apfelsäften aus Konzentrat (n=8) sowie (d) Apfel-Recovery-Aromen (SGF, n=31) und (e) industriellen Apfel-Recovery-Aromen (n=23) getrennt auf einer RH 1701-Säule. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwerte.

3.5.3 Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)

Für Authentizitätsbewertungen ist die Analyse stabiler Isotope die Methode der Wahl (Schmidt *et al.*, 1998, Rossmann, 2001). Allerdings können verschiedene Faktoren die Isotopen-Verhältnisse beeinflussen. Es ist bekannt, dass geographische Einflüsse, (bio)chemische oder physikalische Prozesse verschiedene Arten von Isotopeneffekten verursachen (Hoefs, 1973, Fritz und Fontes, 1980, Winkler *et al.*, 1983). Gerade bei der

Fruchtsaftverarbeitung ergeben sich im Herstellungsprozess vielfache Möglichkeiten der Isotopenfraktionierung (Griffiths, 1998). Aus diesem Grund ist es wichtig, das Ausmaß der technologisch bedingten Isotopendiskriminierungen zu kennen, um eine gesicherte Authentizitätsbewertung von Aromastoffen durchzuführen. Im Verlauf der Fruchtverarbeitung wird Fruchtsaft mittels thermischer Behandlung in Fruchtsaftkonzentrat und wässrige Aromaphase getrennt. Letztere enthält die flüchtigen Aromastoffe und kann via Destillation, Gefrierkonzentrierung oder Membranprozessen zu einem wertvollen Aromakonzentrat angereichert werden. Bei allen Schritten dieser industriellen Verarbeitung sind Isotopendiskriminierungen denkbar. Um dies zu überprüfen, wurde ein Großteil der schon in Abschnitt 3.1 hinsichtlich des Aromaprofils analysierten Apfelsäfte mit ihren korrespondierenden Recovery-Aromen (SGF) anschließend mittels HRGC-C/P-IRMS vermessen. Über die Art der Fruchtaromengewinnung lagen bei den zugesandten Proben keine näheren Angaben vor, die industriell bedeutendste Anreicherungsverfahren für Aromakonzentrate ist aber nach wie vor die Destillation. Als repräsentative Vertreter des Apfelaromaprofils wurden drei typische Aromakomponenten, *E*-2-Hexenal (**38**), 1-Hexanol (**41**) und *E*-2-Hexenol (**57**), untersucht (Paillard, 1990). Jeweils die $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte dieser Verbindungen in Apfelsäften sowie daraus produzierten Apfel-Recovery-Aromen wurden bestimmt. Die Daten von *E*-2-Hexenal (**38**) und 1-Hexanol (**41**) ergänzen sehr gut die schon früher ermittelten Werte dieser Verbindungen in Apfelfrüchten (Ruff, 2001).

In Abbildung 3.5-6 sind die ermittelten Resultate der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - (Abbildung 3.5-6a) und $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Messungen (Abbildung 3.5-6b) von *E*-2-Hexenal (**38**) je für die zusammengehörenden Apfelsäfte und Recovery-Aromen paarweise aufgetragen. Wie aus der Graphik hervorgeht, war keine signifikante Änderung im $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert durch den technologischen Prozess zu beobachten. Im $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wert zeigte sich jedoch - mit wenigen Ausnahmen - ein Trend zu einer leichten Abreicherung um durchschnittlich 10‰. Dies wird auch bei der Korrelation der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Werte (Abbildung 3.5-7) deutlich. Aus dieser Abbildung wird ferner ersichtlich, dass eine analytische Differenzierung des authentischen Materials vom synthetischen und von als ‚natürlich‘ deklarierten Referenzen möglich ist. Das Heranziehen von $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte ($\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = -39,1$ bis $-31,5$ ‰) allein gibt bereits eine gute Grundlage zur Unterscheidung von synthetischem Material ($\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = -36,1$ bis $-25,4$ ‰), reicht aber aufgrund von Überlappung der Daten nicht aus.

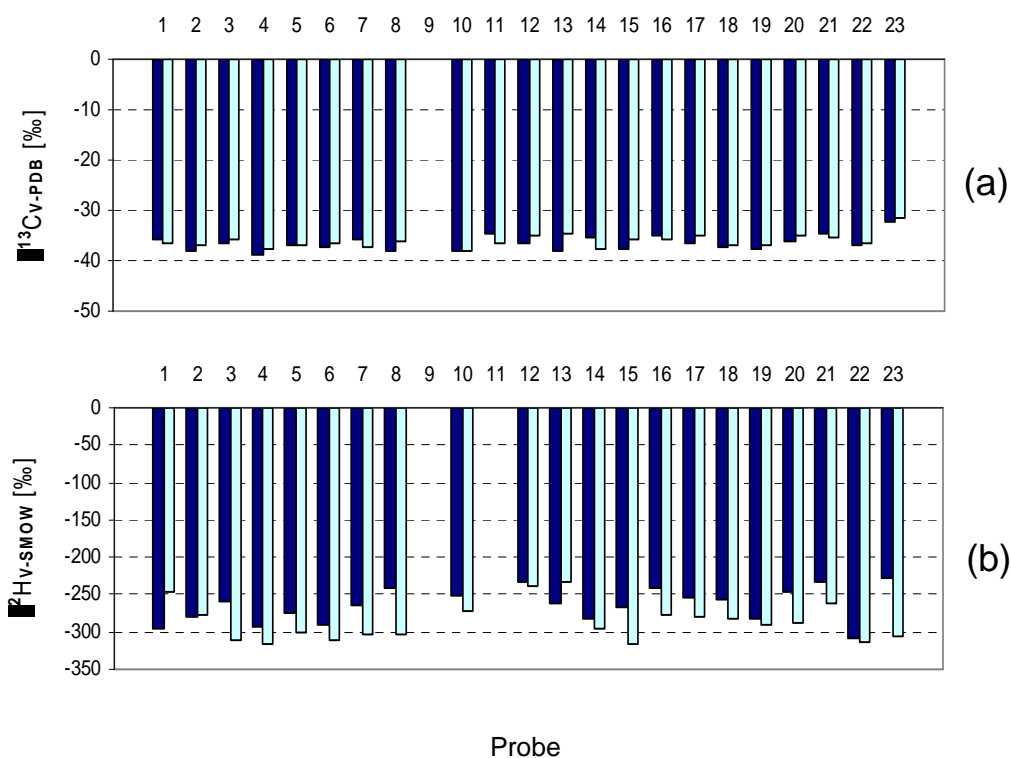


Abbildung 3.5-6 Ergebnisse der $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - (a) und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Messungen (b) von *E*-2-Hexenal in Apfelsäften (■) und daraus gewonnenen Apfel-Recovery-Aromen (□).

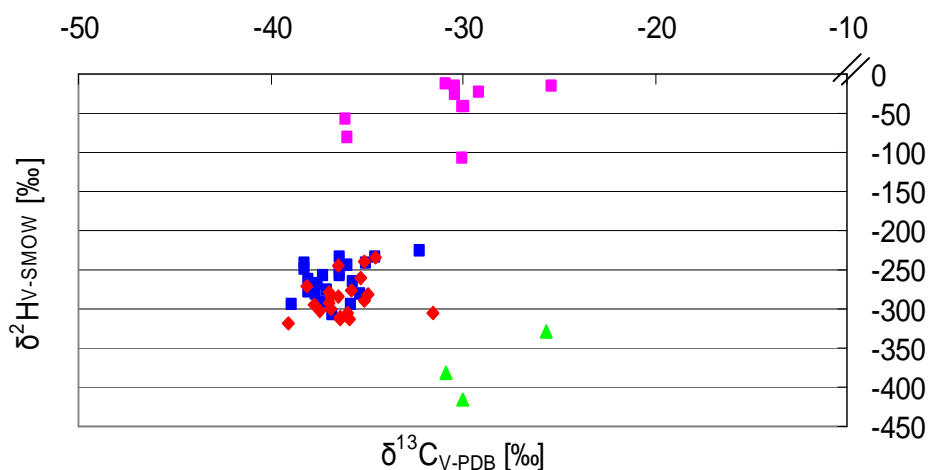


Abbildung 3.5-7 Korrelation mittels HRGC-IRMS bestimmter $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ - Werte von *E*-2-Hexenal aus Apfelsäften (■), Apfel-Recovery-Aromen (◆), als ‚natürlich‘ deklarierter Referenzen (▲) und synthetischer Referenzen (■)

Vergleicht man die bei *E*-2-Hexenal (**38**) erhaltenen mit denen bei 1-Hexanol (**41**) erzielten Ergebnisse, so zeigt sich ein ähnliches Bild. Die Kohlenstoff-Isotopenverhältnisse werden auch bei 1-Hexanol (**41**) durch technologische Verarbeitungsschritte nicht auffallend beeinflusst (Abbildung 3.5-8a). Ein anderes Bild ergaben die $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte (Abbildung 3.5-8b). Mit wenigen Ausnahmen reicherten sich im Herstellungsprozess von Apfel-Recovery-Aromen 1-Hexanol-Moleküle mit leichteren Wasserstoffisotopen an, wie dies auch bei *E*-2-Hexenal (**38**) der Fall war.

Korreliert man beide Werte, wie graphisch in Abbildung 3.5-9 gezeigt ist, wird dieses Faktum verdeutlicht. Während die $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte sich für Apfelsaft zwischen -42,4 bis -39,6‰ und für Apfel-Recovery-Aromen zwischen -42,5 bis -38,4‰ im gleichen Bereich bewegen, sind die $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der Recovery-Aromen abgereichert (Saft -176 bis -74‰, Ausnahme -237‰; Recovery-Aroma -215 bis -99‰, Ausnahme -25‰). Die Authentizitätsbewertung von Apfelproben anhand von 1-Hexanol (**41**) stellt daher kein Problem dar.

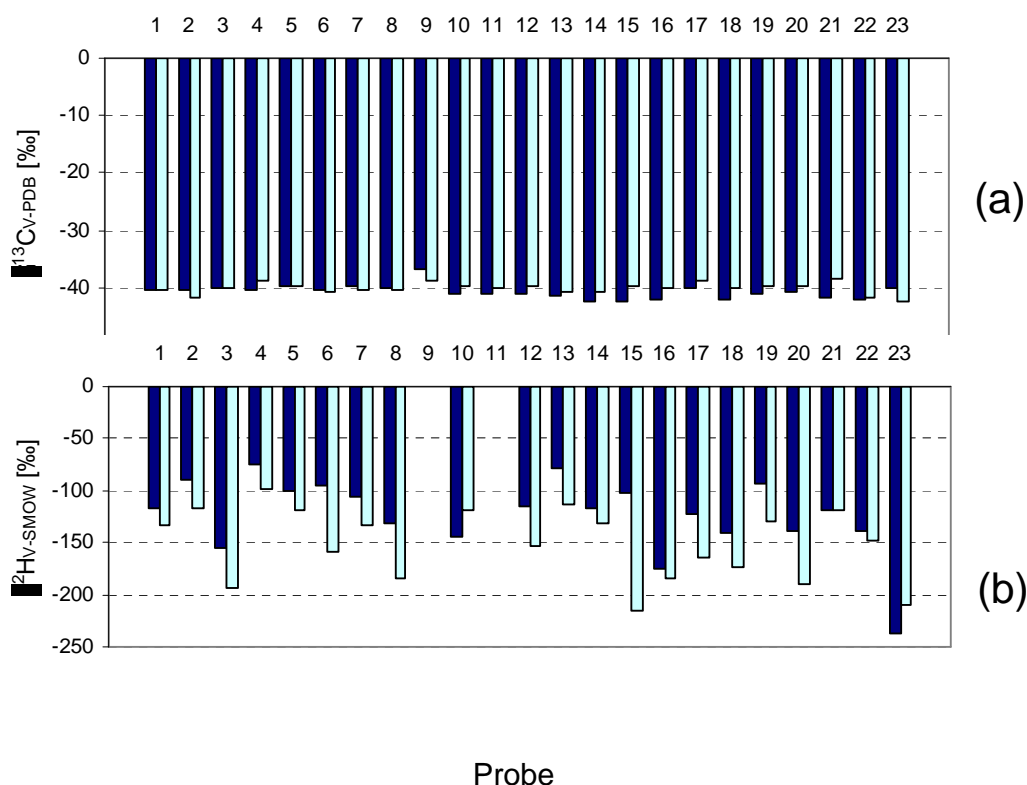


Abbildung 3.5-8 Ergebnisse der $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - (a) und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Messungen (b) von 1-Hexanol in Apfelsäften (■) und daraus gewonnenen Apfel-Recovery-Aromen (■).

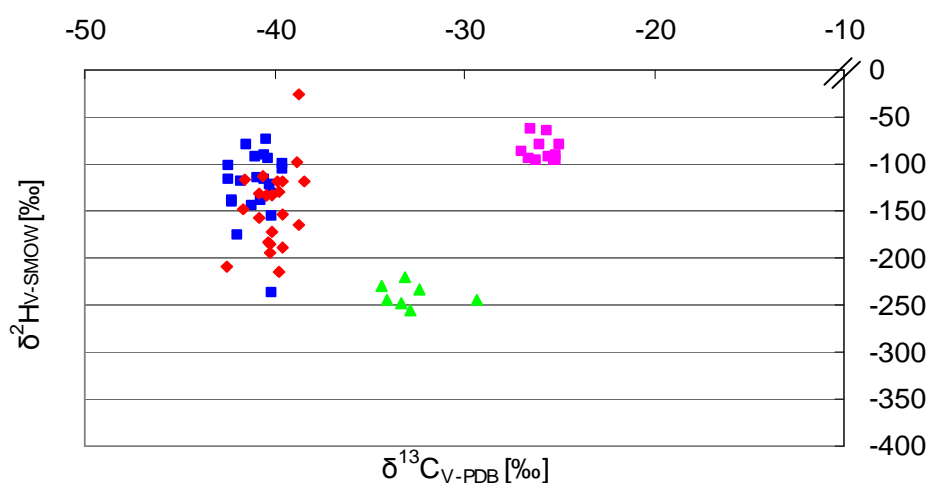


Abbildung 3.5-9 Korrelation mittels HRGC-IRMS bestimmter $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ - Werte von 1-Hexanol aus Apfelsäften (■), Apfel-Recovery-Aromen (◆), als ‚natürlich‘ deklarierter Referenzen (▲) und synthetischer Referenzen (■).

Für *E*-2-Hexenol (**57**) in Apfelsäften und Apfel-Recovery-Aromen wurden $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte im Bereich von -43,3 bis -40,1‰ (Ausnahme: -37,3‰) bzw. -42,2 bis -38,7‰ (Ausnahme: -36,8‰) ermittelt; sie sind in Abbildung 3.5-10a paarweise korreliert aufgetragen. Eine leichte Tendenz zur Anreicherung im Kohlenstoff-Isotopenverhältnis als Folge des Destillationsschrittes ist bei der Mehrheit der vermessenen Proben von Apfelwasserphasen erkennbar. Kein einheitliches Resultat lieferten die ermittelten $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Apfelsaft und korrespondierendem Recovery-Aroma (Abbildung 3.5-10b). Bei $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten mit einer Spanne von -278 bis -219‰ (Ausnahme: -157‰) für *E*-2-Hexenol (**57**) in Apfelsäften und von -289 bis -225‰ in Apfel-Recovery-Aromen war kein signifikanter Isotopeneffekt detektierbar. In Form einer Korrelation von $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ - und $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten, wie in Abbildung 3.5-11 graphisch gezeigt, wird gut erkennbar, dass im direkten Vergleich zu synthetischen (und möglicherweise ‚natürlichen‘ Referenzen) eine Authentizitätsbewertung von *E*-2-Hexenol (**57**) aus Apfelproben möglich ist.

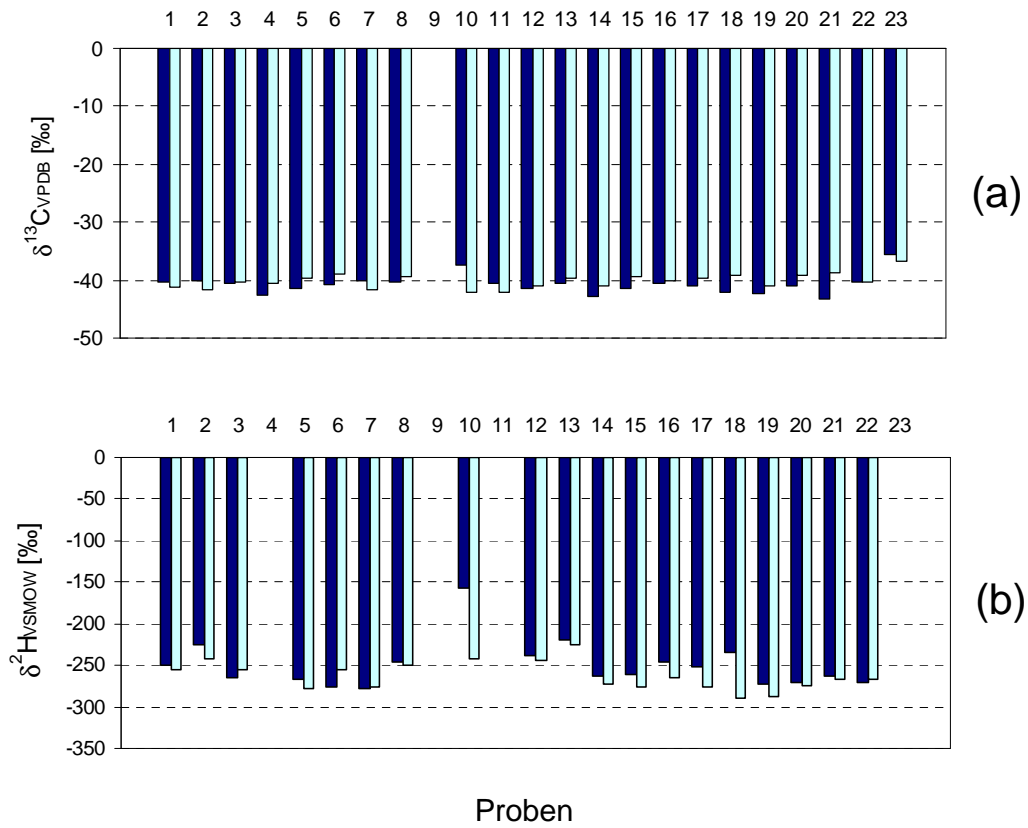


Abbildung 3.5-10 Ergebnisse der $\delta^{13}C_{V-PDB}$ - (a) und δ^2H_{V-SMOW} -Messungen (b) von *E*-2-Hexenol in Apfelsäften (■) und daraus gewonnenen Apfel-Recovery-Aromen (□).

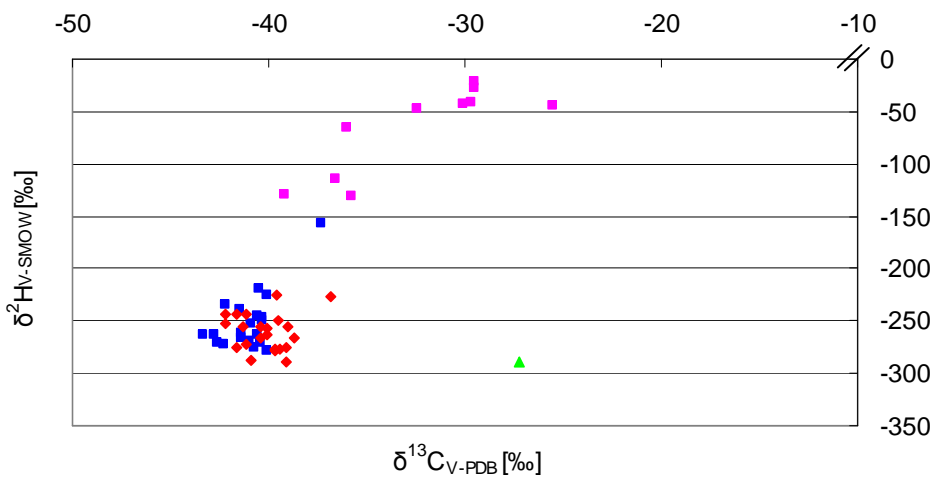


Abbildung 3.5-11 Korrelation mittels HRGC-IRMS bestimmter $\delta^{13}C_{V-PDB}$ - und δ^2H_{V-SMOW} -Werte von *E*-2-Hexenol aus Apfelsäften (■), Apfel-Recovery-Aromen (◆), als ‚natürlich‘ deklarierter Referenzen (▲) und synthetischer Referenzen (■).

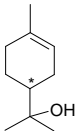
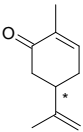
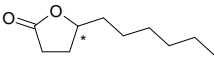
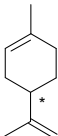
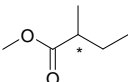
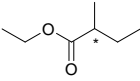
Bei der destillativen Recovery-Aroma-Gewinnung aus Apfelsäften zeigt sich die Tendenz einer leichten Abreicherung in den $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten von Saft zu korrespondierendem Destillat. Im $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis traten keine Abweichungen auf. Anhand von Korrelationen der ermittelten Kohlenstoff- und Wasserstoffdaten von *E*-2-Hexenal (**38**), 1-Hexanol (**41**) und *E*-2-Hexenol (**57**) wird deutlich, dass eine Authentizitätsbewertung von diesem marginalen Effekt jedoch nicht berührt wird.

3.6 Sensorik

Im Verlauf der Fruchtsaftherstellung kann es an verschiedenen Stellen zur Entstehung unerwünschter Oxidations- oder Erhitzungsprodukte kommen. Hierfür sind beispielsweise das Zerkleinern der Früchte und Maischen sowie sämtlich thermische Behandlungen vom Verdampfer für Konzentratgewinnung bis hin zum Pasteurisieren nach der Abfüllung zu nennen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit von Aroma-Kontamination im Herstellungsprozess, wenn hochkonzentrierte Recovery-Aromen verwendet und dadurch Spuren der Aromafractionen innerhalb verschiedener Produktionslinien verschleppt werden. Mit Hilfe der HRGC-MS ist es vergleichsweise einfach, solche ‚carry-over‘-Komponenten im Aromaprofil zu entdecken, allerdings wird hierbei die entscheidende Frage – nämlich nach der sensorischen Relevanz dieser Verschleppungen oder sekundär gebildeten Verbindungen für das fertige Produkt und somit für den Konsumenten – nicht beantwortet. Nur mit sensorischen Analysen sind die Einflüsse auf Geruch und Geschmack dieser Faktoren bewertbar. Neben der Bestimmung von ‚flavour impact compounds‘ in Orangen und Äpfeln (Jepsen, 1978, Govindarajan *et al.*, 1984, Poll, 1985, Lea und Ford, 1990, Bettini *et al.*, 1998, Okayasu und Naito, 2001, Bult *et al.*, 2002) ist die Sensorik vor allem auch für die Ermittlung von Saftqualität oder Zusätzen zu Getränken die Methode der Wahl (Kluba *et al.*, 1993, Wang *et al.*, 2000, Yonezawa und Fushiki, 2002).

Für unsere Studie wurden – wie in Tabelle 3.6-1 gezeigt – als charakteristische Komponenten des Aromaprofils industriell bedeutsamer Früchte folgende exemplarische Verbindungen ausgewählt (die immer wieder auch im industriellen Bereich als potentielle ‚carry-over‘-Produkte detektiert werden): Limonen (**21**, Orange), γ -Decalacton (**35**, Pfirsich) sowie Methyl-2-methylbutanoat (**1**) und Ethyl-2-methylbutanoat (**2**, Apfel, Ananas). Vertreter der ‚off-flavour‘-Komponenten sind Carvon (**45**) und α -Terpineol (**46**), beides seit langem als während der Alterung von Orangensaft gebildete Produkte von Limonen (**21**) bekannte Substanzen (Haug, 2003, Pino, 1982, Popken *et al.*, 1999).

Tabelle 3.6-1 Sensorisch untersuchte Verbindungen in verschiedenen Matrices und deren mögliche Herkunft als ‚carry-over‘-Produkte in Fruchtsäften.

Aroma	Strukturformel	Herkunftsmöglichkeit
α -Terpineol		H ₂ O-Anlagerung an Limonen
Carvon		Oxidationsprodukt von Limonen (<i>R</i>)-Isomer: Pfefferminz (<i>S</i>)-Isomer: Kümmel
γ -Decalacton		Pfirsich
Limonen		Orange
Methyl-2-methylbutanoat		Apfel, Ananas
Ethyl-2-methylbutanoat		Apfel, Ananas

Limonen (**21**) ist – mit Abstand – die Hauptkomponente im Aroma von Orangen und Orangensäften; die durchschnittlich in zahlreichen Orangensäften sowie Saftkonzentraten und Orangen-Recovery-Aromen ermittelten Gehalte an Limonen (**21**) sowie α -Terpineol (**46**) und Carvon (**45**) sind in Tabelle 3.6-2 aufgelistet. Grundsätzlich stimmen die erhaltenen Ergebnisse mit Literaturdaten überein (Kirchner und Miller, 1957, Shaw, 1986, Nisperos-Carriedo und Shaw, 1990, Moshonas und Shaw, 1994), allerdings sind die Maximalwerte höher als die in der Literatur beschriebenen. Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) ist im μg -Bereich als natürliche Komponente in Orangensäften vertreten, Methyl-2-methylbutanoat (**1**) oder γ -Decalacton (**35**) hingegen treten gegebenenfalls auch als ‚carry-over‘ während der Fruchtsaftherstellung auf.

Tabelle 3.6-2 Mittels HRGC-MS-Analytik ermittelte Gehalte (Mittelwerte) an Limonen, α -Terpineol und Carvon in ‚single strength‘-Orangensäften (**A**, n=54), Orangen-Recovery-Aromen (**B**, n=40), Orangensaftkonzentraten (**C**, n=52) sowie kommerziellen Orangendirektsäften (**D**, n=7) und kommerziellen Orangensäften aus Konzentrat (**E**, n=11). Minimal- und Maximalwerte sind jeweils in Klammern angegeben.

	A	B	C	D	E
	[mg/l]	[mg/l]	[mg/kg]	[mg/l]	[mg/l]
Limonen	300 (3-780)	90 (0-1750)	14 (0,1-110)	154 (96-229)	112 (18-230)
α -Terpineol	11 (0,2-79)	38 (0,3-300)	0,5 (0-16)	7,2 (3,3-19)	5,5 (0,8-19)
Carvon	0,07 (0-1,4)	7,4 (0-200)	tr (0-0,2)	0,2 (0-0,5)	0,2 (0-0,5)

tr= $\leq 0,01$

Die in Tabelle 3.6-3 präsentierten Daten zeigen die Ergebnisse von sensorisch relevanten Apfelaromastoffen in Säften, Konzentraten und Recovery-Aromen. In drei von 37 analysierten ‚single strength‘-Apfelsäften wurden geringe Mengen an Limonen (**21**) detektiert (maximal 0,2 mg/l), α -Terpineol (**46**) wurde in zwei Proben nachgewiesen (maximal 0,05 mg/l). Auch in 25% der Apfelsaftkonzentrate wurden Gehalte an diesen Verbindungen bis zu 0,2 mg/kg gefunden. Vergleichbare Ergebnisse lieferten die Analysen der 63 Recovery-Aromen, zwei Proben enthielten Limonen (**21**, maximal 2.3 mg/l), sieben α -Terpineol (**46**, maximal 4,2 mg/l). Obwohl die Gehalte an Limonen (**21**) mit maximal 0,1 mg/l für kommerzielle Apfelsäfte in der gleichen Spannweite wie die der ‚single strength‘-Säfte lagen, wurde in dreiviertel der untersuchten Handelswaren dieses Terpen identifiziert. Zusätzlich wurden Spuren von γ -Decalacton (**35**) in wenigen Recovery-Aromen (Industrie) nachgewiesen.

Tabelle 3.6-3 Mittels HRGC-MS-Analytik ermittelte Gehalte (Mittelwerte) an Methyl-2-methylbutanoat und Ethyl-2-methylbutanoat in ‚single strength‘-Apfelsäften (**A**, n=37), Apfel-Recovery-Aromen (**B**, n=63), Apfelsaftkonzentraten (**C**, n=43) sowie kommerziellen Apfeldirektsäften (**D**, n=19) und kommerziellen Apfelsäften aus Konzentrat (**E**, n=8). Minimal- und Maximalwerte sind in Klammern angegeben.

	A	B	C	D	E
	[mg/l]	[mg/l]	[mg/kg]	[mg/l]	[mg/l]
Methyl-2-methylbutanoat	tr (0-0,05)	0,1 (0-2)	nd	tr (0-tr)	tr (0-tr)
Ethyl-2-methylbutanoat	0,04 (0-0,15)	4,2 (0-50)	tr (0-tr)	0,03 (0-0,07)	0,01 (0-0,04)

tr= ≤ 0,01

nd= nicht detektiert

Um die Relevanz potentieller Kontaminationen mit diesen Substanzen zu ermitteln, wurden sensorische Untersuchungen ausgeführt. Mit Hilfe von Dreiecksprüfungen in aufsteigenden Analyt-Konzentrationen wurden Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte der ausgewählten Substanzen in einer Zucker/ Säure-Modelllösung, Saftäquivalenten ohne Aroma sowie Handelssäften ermittelt. Wenn man die so erhaltenen Schwellenwerte für α -Terpineol (**46**, Tabelle 3.6-4) mit den mittels HRGC-MS bestimmten Gehalten (Tabelle 3.6-2) verknüpft, so wird deutlich dass der α -Terpineolgehalt in mehreren Orangensaftproben über den signifikanten Schwellenwerten liegt. Im Gegensatz zu dem von Rychlik *et al.*, 1998, bestimmten Geruchsschwellenwert in reinem Wasser (350 $\mu\text{g/l}$) bewegten sich die in unserer Studie erarbeiteten Schwellenwerte für α -Terpineol (**46**) in den unterschiedlichen Matrices in einem zehnfach höheren Bereich (Tabelle 3.6-4). Erst ab Zusätzen von α -Terpineol (**46**) in mg/l-Konzentrationen wurden signifikante Schwellenwerte bestimmt; diese sensorisch wenig effektive Aromakomponente rief bei sehr hohen Konzentrationen zwischen 7 bis 11 mg/l bei den Panelteilnehmern einen „moosigen, schimmligen“ Geruchs- und Geschmackseindruck hervor. Interessanterweise lagen die ermittelten Geschmacks- noch unter den Geruchsschwellenwerten. Die untersuchten ‚single strength‘-Orangensäfte enthielten mit einem mittleren Gehalt von 11 mg/l dieses unerwünschten Oxidationsprodukts sensorisch relevante Konzentrationen, sieben von achtzehn kommerzielle

Orangensäfte wiesen kritische Werte von >5 mg/l auf, drei davon sogar über 9 mg/l α -Terpineol (**46**). Lediglich ein einziges Handelsprodukt wurde mit einem vernachlässigbaren Gehalt von <1 mg/l α -Terpineol (**46**) ermittelt.

Tabelle 3.6-4 Für α -Terpineol in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	3000 (5,00)	1200 (5,00)
	7000 (1,60)	4000 (1,60)
		6000 (0,40)
		7000 (0,01)
Apfelsaftäquivalent ohne Aroma	3000 (5,00)	1800 (5,00)
	9000 (0,40)	7000 (0,40)
	11000 (0,08)	9000 (0,01)
Kommerzieller Apfelsaft	3000 (5,00)	3000 (0,40)
	5000 (1,60)	5000 (0,08)
	7000 (0,40)	9000 (0,01)
Orangensaft- äquivalent ohne Aroma	5000 (1,88)	5000 (0,39)
	11000 (0,39)	9000 (0,05)

Carvon (**45**), ein Oxidationsprodukt von Limonen (**21**) und Indikator für Alterungsprozesse in Orangensaft, erscheint in zwei Konfigurationen mit unterschiedlichen Geruchs- und Geschmackseindrücken: (*R*)-Carvon mit einer Pfefferminz- und (*S*)-Carvon mit einer Kümmel-Note. Verglichen mit α -Terpineol (**46**) wurde Carvon (**45**) nur in 20% der ‚single strength‘-Orangensäfte und einem Drittel der Recovery-Aromen gefunden; in einem kommerziellen Orangensaft wurden 0,5 mg/l dieses ‚off-flavours‘ quantifiziert (Tabelle 3.6-2). Wie in Tabelle 3.6-5 aufgelistet, wurde der Zusatz von Carvon (**45**) in den Matrices Zucker/ Säure-Modelllösung und Orangensaftäquivalent ohne Aroma sensorisch getestet. Die erhaltenen, signifikanten Schwellenwerte dieser Verbindung lagen bei einem Minimalwert von über 0,5 mg/l (Geruch) und 0,4 mg/l (Geschmack). Genauso wie bei

α -Terpineol (**46**) lagen die Geschmacksschwellenwerte in einem niedrigeren Bereich als die Geruchsschwellenwerte.

Tabelle 3.6-5 Für Carvon in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	170 (1,88)	140 (6,65) 170 (0,01)
Orangensaft- äquivalent	400 (6,65) 500 (1,88)	200 (6,65) 300 (1,88)
ohne Aroma	600 (0,39)	400 (0,05) 500 (0,01)

Eine wichtige ‚carry-over‘-Verbindungen in sowohl Orangen- als auch Apfelsaft ist das schwerflüchtige γ -Decalacton (**35**), eine charakteristische Komponente des Aromas von Pfirsichen, Aprikosen oder auch Erdbeeren (Sevenants und Jennings, 1966, Crouzet *et al.*, 1990, Zabetakis und Holden, 1997, Burdock, 2004). Die bei unseren sensorischen Analysen ermittelten Ergebnisse sind in Tabelle 3.6-6 zusammengestellt. Der aus der Literatur verfügbare Geruchsschwellenwert für γ -Decalacton (**35**) in Wasser ist mit 11 $\mu\text{g/l}$ (Rychlik *et al.*, 1998) sogar höher als der von uns in der Zucker/Säure-Modelllösung ermittelte Wert. Zusätzlich wurden in den Orangenmatrices - im Gegensatz zu den Apfelsaftlösungen - vergleichsweise niedrigere signifikante Geruchs- und Geschmacksschwellen detektiert (je 15 $\mu\text{g/l}$ für Orange und 25 bzw. 20 $\mu\text{g/l}$ für Apfel). Aufgrund der als süßlich, fruchtig und pfirsich-artig charakterisierten Verbindung (Burdock, 2004) wurde vom Testpanel ein Zusatz teilweise als positiv vermerkt. Die Mehrheit der Panelteilnehmer beschrieben die mit γ -Decalacton (**35**) versetzten Proben als „milder“, verglichen mit den eher säuerlichen Säften bzw. deren aromafreien Äquivalenten.

Tabelle 3.6-6 Für γ -Decalacton in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	3,0 (8,82)	4,0 (8,82)
	5,0 (0,85)	5,0 (0,85)
	10 (0,18)	6,0 (0,18)
		20 (0,00)
Apfelsaftäquivalent ohne Aroma	20 (10,35)	20 (3,47)
	25 (3,47)	
Orangensaft- äquivalent ohne Aroma	10 (6,65)	15 (0,05)
	15 (0,39)	20 (0,00)
	20 (0,01)	
	25 (0,00)	
Kommerzieller Orangensaft	20 (6,65)	15 (1,88)
	25 (0,39)	20 (0,39)
	30 (0,05)	25 (0,05)

Neben γ -Decalacton (**35**) wurde von uns vor allem Limonen (**21**) als ‚carry-over‘ Komponente in einigen Apfelsäften identifiziert. Aus diesem Grund wurde Limonen (**21**) als Zusatz in Zucker/ Säure Modelllösung, Apfelsaft und Apfelsaftäquivalent ohne Aroma im Panel olfaktorisch und gustatorisch überprüft (Tabelle 3.6-7). Die so erhaltenen Ergebnisse sind – verglichen mit Literaturdaten für Schwellenwerte von Limonen (**21**) in Wasser – erwartungsgemäß höher ausgefallen (Buttery *et al.*, 1971, Ahmed *et al.*, 1978a, Ahmed *et al.*, 1978b). Bei einem statistischen Signifikanzniveau von $\leq 0,1\%$ lag der Geschmacksschwellenwert für Limonen (**21**) in Apfelsaftäquivalent ohne Aroma bei 0,7 mg/l, in kommerziellem Apfelsaft bei 1,2 mg/l. Dies bedeutet, dass der höchste, mittels HRGC-MS gemessene Wert einer Limonenkontamination mit 0,2 mg/l mindestens sechs Mal unter dieser Grenze liegt. Unter Berücksichtigung der in Tabelle 3.6-7 aufgeführten Ergebnisse sind die oben genannten Limonenkonzentrationen in Apfelsäften ohne Effekt und somit sensorisch vernachlässigbar.

Tabelle 3.6-7 Für Limonen in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	400 (1,88) 500 (0,05) 700 (0,01)	500 (1,88) 700 (0,05)
Apfelsaftäquivalent ohne Aroma	700 (0,01)	700 (0,01)
Kommerzieller Apfelsaft		1000 (6,65) 1200 (0,05)

Zusätzlich wurden weitere mögliche ‚carry-over‘-Aromastoffe in den unterschiedlichen Matrices getestet. Methyl-2-methylbutanoat (**1**) und Ethyl-2-methylbutanoat (**2**), zwei wesentliche Komponenten des Ananas-Aromas (Berger, 1991), sind als typisch „fruchtige, apfel-ähnliche“ Geruchsstoffe beschrieben (Burdock, 2004). Wie in Tabelle 3.6-3 gezeigt ist, waren die ermittelten Gehalte von Methyl-2-methylbutanoat (**1**) in ‚single strength‘- und kommerziellen Apfelsäften sehr niedrig. Allerdings wurden auf Grund der hohen Aromaaktivität dieser Verbindungen signifikante Geruchs- und Geschmacksschwellen schon ab $1 \mu\text{g/l}$ bestimmt (Tabelle 3.6-8). Diese Ergebnisse stimmen gut mit Literaturdaten überein, der Geruchsschwellenwert (in Wasser) wird von Rychlik *et al.*, 1998, mit $0.25 \mu\text{g/l}$ angegeben.

Sogar noch höhere Aromaaktivität zeigte Ethyl-2-methylbutanoat (**2**). Ab einem Zusatz von $0,4 \mu\text{g/l}$ zu dem Orangensaftäquivalent ohne Aroma sowie der zehnfachen Menge zu Orangensaft-Handelsware wurde dieser vom Testpanel erkannt (Tabelle 3.6-9). Beide Ester intensivierten den charakteristischen Apfeleindruck in den Apfelsaftmatrices, bei steigenden Konzentrationen an Ethyl-2-methylbutanoat (**2**) wurde von einigen Panelteilnehmern ein „ananasartiger“ Geruch und Geschmack angegeben.

Tabelle 3.6-8 Für Methyl-2-methylbutanoat in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	0,9 (1,88)	0,9 (1,88)
	1,2 (0,39)	1,2 (0,39)
	1,8 (0,01)	1,5 (0,01)
		1,8 (0,00)
Apfelsaftäquivalent ohne Aroma	1,5 (10,35)	1,2 (10,35)
	2,3 (0,17)	1,5 (3,47)
		1,8 (0,88)
		2,3 (0,02)

Tabelle 3.6-9 Für Ethyl-2-methylbutanoat in verschiedenen Matrices ermittelte Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte ($\mu\text{g/l}$); in Klammern ist die statistische Signifikanz P angegeben.

Matrix	Geruchsschwelle ($\mu\text{g/l}$)	Geschmacksschwelle ($\mu\text{g/l}$)
Zucker-Säure- Modelllösung	0,25 (0,39)	0,25 (0,39)
	0,30 (0,05)	0,30 (0,05)
	0,40 (0,01)	0,50 (0,01)
	0,50 (0,00)	0,75 (0,00)
Apfelsaftäquivalent ohne Aroma	0,35 (0,39)	0,60 (1,88)
	0,85 (0,05)	0,85 (0,05)
	2,0 (0,01)	2,0 (0,01)
	4,0 (0,00)	4,0 (0,00)
Orangensaft- äquivalent ohne Aroma	0,30 (6,65)	0,30 (6,65)
	0,40 (1,88)	0,40 (0,05)
	0,60 (0,39)	1,20 (0,01)
	0,80 (0,05)	1,40 (0,00)
	1,20 (0,01)	
	1,60 (0,00)	

Kommerzieller	3,0 (8,82)	4,0 (8,82)
Orangensaft	4,0 (3,08)	5,0 (0,85)
	5,0 (0,85)	7,0 (0,03)
	6,0 (0,18)	
	7,0 (0,00)	

Aufgrund ihrer chemischen Zusammensetzung und der technologischen Bedingungen sind verschiedene, weniger erwünschte Verbindungen unvermeidbar. α -Terpineol (**46**) und Carvon (**45**) sind solche potentielle ‚off-flavour‘-Verbindungen, die in frischem bzw. nicht überlagertem Orangensaft bis zu einem gewissen Grad auftreten können, ohne als negativ beurteilt zu werden.

In Orangensaftproben des Handels wurden keine ‚carry-over‘-Komponenten entdeckt, in Apfelsäften wurden unterschiedliche nicht apfel-typische Verbindungen nachgewiesen. Die im Rahmen dieser Studie erhaltenen Daten stellen eine nützliche Grundlage dar, um den sensorischen Effekt von ‚carry-over‘-Aromastoffen in Fruchtsäften zu bewerten. Solange durch ‚carry over‘ von Aromastoffen keine olfaktorischen oder gustatorischen Auswirkungen auf das Produkt festzustellen sind, sollen solche Spuren an artuntypischen Aromen in Fruchtsäften unbeanstandet bleiben.

4 Experimentalteil

4.1 Untersuchungsmaterial

4.1.1 Früchte

Die im Folgenden genannten Früchte wurden über die Firma Schraud & Baunach, Würzburg, sowie örtliche Supermärkte bezogen. Ananasfrüchte von den Philippinen und aus Thailand wurden freundlicherweise von der Firma Symrise Pte. Ltd., Singapur zur Verfügung gestellt.

Frucht	Sorte	Anzahl	Herkunft
Ananas	MD2	n=7	Costa Rica
	MD2	n=1	Honduras
	MD2	n=1	Philippinen
	Smooth Cayenne	n=3	Elfenbeinküste
	Smooth Cayenne	n=1	Ghana
	Baby	n=1	Südafrika
	Victoria	n=2	La Réunion
	keine Angabe	n=1	Philippinen
	keine Angabe	n=1	Südafrika
	keine Angabe	n=1	Thailand

4.1.2 SGF- und Industrie-Probenmaterial

Nachfolgende Tabelle liefert einen Überblick über die Anzahl der Halbwaren, die zum einen von der SGF und zum anderen von der Industrie als Probenmaterial bereitgestellt wurden. Die SGF-Proben wurden direkt an der Verarbeitungsstätte gezogen und sind als authentisch zu betrachten. Saftkonzentrate, Recovery-Aromen und Essenzöle wurden großzügig von den Firmen Wild Flavors (Berlin), Wesergold (Rinteln), Mainfrucht (Gochsheim), Faethe Labor (Paderborn) sowie Döhler (Darmstadt) zur Verfügung gestellt.

		SGF	Industrie
Ananas	Saft (single strength)	n=10	-
	Saftkonzentrat	n=5	n=6
	Recovery-Aroma	n=3	n=8
Orange	Saft (single strength)	n=54	-
	Saftkonzentrat	n=54	n=1
	Recovery-Aroma	n=33	n=7
	Essenzöl	n=42	n=45
	Schalenöl	n=56	-
Apfel	Saft (single strength)	n=33	-
	Saftkonzentrat	n=37	n=4
	Recovery-Aroma	n=34	n=27

4.1.3 Handelsware

4.1.3.1 Fruchtsäfte für die Aromaanalyse

In örtlichen Supermärkten wurden verschiedene kommerzielle Fruchtsäfte eingekauft. Die nachfolgende Auflistung zeigt die Anzahl der aufgearbeiteten Fertigprodukte (Direktsäfte und Säfte aus Konzentrat).

Ananas	Direktsaft	n=6
	Saft aus Konzentrat	n=11
Orange	Direktsaft	n=11
	Saft aus Konzentrat	n=7
Apfel	Direktsaft	n=19
	Saft aus Konzentrat	n=8

4.1.3.2 Babynahrung und Fruchtsäfte für die Analyse von 2-Ethylhexansäure

Für den Nachweis von 2-Ethylhexansäure wurden die aufgelisteten Probenzahlen im öffentlichen Handel bezogen und eingesetzt. Es handelte sich durchgehend um Glasverpackungen mit Metallschraubdeckeln, dabei wurden verschiedene Hersteller und Inhalte (z.B. Frucht- und Gemüsezubereitungen sowie vollständige Gerichte bei Babynahrung, unterschiedliche Fruchtsorten bei Säften) berücksichtigt.

	Gesamtanzahl	davon als „Bioprodukt“ gekennzeichnet
Babynahrung	n=20	n=15
Fruchtsäfte	n=15	n=8

4.1.3.3 Kosmetikproben für die Stabilisotopen-Verdünnungsanalyse

Als Untersuchungsmaterialien für die SIVA wurden neun verschiedene Kosmetikproben ausgewählt und jeweils mehrere Packungen einer Charge in Supermärkten und Drogerien bezogen. Analysiert wurden Shampoo (n=2), Bodylotion (n=2), Duschgel (n=2), Deodorant (n=1), Seife (n=1) und Feuchtigkeitscreme (n=1). Als Saftmatrix dienten Orangensäfte, die unter 4.1.3 mit aufgelistet sind.

4.2 Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien und Reagenzien wurden von den Firmen Acros (Geel, Belgien), Avocado (Karlsruhe), Fluka (Deisenhofen), Lancaster (Mühlheim), Merck (Darmstadt), Roth (Karlsruhe), Sigma Aldrich (Steinheim) bezogen. Für die Stabilisotopen-Markierungen von Limonen und α -Terpineol wurde ^{13}C -markiertes Methyljodid von der Firma Euriso-top GmbH (Saarbrücken) eingesetzt. Lösungsmittel wurden zusätzlich über Füllkörperkolonnen rektifiziert. Reinstgase stammten von den Firmen Linde (Unterschleißheim) und Messer Griesheim (Frankfurt).

Internationale Isotopen-Standards stammten von der Internationalen Atomenergiebehörde (IAEA, Wien, Österreich) oder dem früheren National Bureau of Standards (NBS, Gaithersburg, Maryland, USA), das jetzt unter der Bezeichnung N.I.S.T. (National Institute of Standards and Technology) geführt wird. Von der Firma Messer Griesheim (Frankfurt) stand ein zertifiziertes CO_2 -Gas mit definiertem Isotopenverhältnis ($\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ -Wert = -24.9‰) zur Verfügung. Ebenso wurde ein H_2 -Gas (Reinheitsgrad 6.0) mit einem definierten $\delta^2\text{H}_{\text{SMOW}}$ -Wert von -255‰ von dieser Firma bezogen.

4.3 Verbrauchsmaterialien Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)

Das für Messungen mit den Elementaranalysatoren nötige Zubehör wurde von der Firma HEKATech (Wegberg) bezogen. Für $\delta^2\text{H}$ -Messungen handelte es sich dabei um Nickelwolle, Glaskohlenstoffsplitter, nickelbelegte Kohle, Silberkapseln (2 x 5 mm) und Silberkartuschen (3,5 x 5 mm, 5 x 9 mm). Für $\delta^{13}\text{C}$ -Messungen wurden Zinnkartuschen (3,5 x 5 mm, 5 x 9 mm) und gepackte CNS-Reaktoren (HEKATech, Wegberg) benötigt. Die Wasserfallen wurden mit Quarzwolle und Magnesiumperchlorat gefüllt, für $\delta^2\text{H}$ -Messungen wurden zusätzlich Quarzsplitter und Carbosorb (Adsorptionsmittel für CO_2) eingesetzt. Die für den Anschluss der Peripherie-Geräte an das Massenspektrometer verwendeten Bauteile wurden von der Firma CZT (Kriftel) bezogen; alle Ersatz- und Zusatzteile des Massenspektrometers stammten von der Firma ThermoQuest (Egelsbach).

4.4 Geräte

4.4.1 Kapillargaschromatographie (HRGC)

HRGC 1	HP 5890 Series II (Hewlett Packard)
Injektor	Slit/Splitlessinjektor (Split 1:20), Temperatur 220°C
Autosampler	HP 7613 GC/SFC Injector
Trennsäule	J&W DB-Wax (30 m x 0.32 mm, df = 0.25 µm)
Trägergas	2,0 ml/min; Helium 5.0
Make-up-Gas	30 ml/min Stickstoff 5.0
Brenngase	30 ml/min Wasserstoff 5.0, 300 ml/min gereinigte Luft
Temperaturprogramm	50°C, 3 min isotherm, 10°C/min, 200°C, 2 min isotherm
Detektor	Flammenionisationsdetektor FID

Datenaufnahme und Datenauswertung mittels HP Chem Station.

4.4.2 Headspace-Kapillargaschromatographie (HS-HRGC)

HRGC 2	Fisons Instruments Mega 2 Series (ThermoElectron, Dreieich)
Injektor	Slit/Splitlessinjektor (Split 1:20), Temperatur 220°C
Autosampler	Fisons Instruments HS 850 Headspace Autosampler

Trennsäule	Säule 1: J&W DB-WAX (30 m x 0,53 mm, df = 1 µm) Säule 2: RH 1701 (60 m x 0,25 mm, df = 0,25 µm)
Trägergas	2,0 ml/min; Helium 5.0
Make-up-Gas	Stickstoff 5.0
Brenngase	Wasserstoff 5.0, gereinigte Luft
Temperaturprogramm	60°C, 3 min isotherm, 5°C/min, 200°C, 2 min isotherm
Detektor	Flammenionisationsdetektor FID
Headspaceparameter	Inkubationstemperatur 60°C, Inkubationszeit 10 min, Schüttelintervall 3 s, Injektionspritzentemperatur 70°C, Injektionsvolumen 2 ml
Kryofokussierung	Kühlung mit flüssigem Stickstoff bei -120°C, Aufheizen innerhalb von 25 s auf 180°C

Datenaufnahme und Datenauswertung mittels Chrom Card for Windows Version 1.21.

4.4.3 Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS)

4.4.3.1 HRGC-MS System 1

HRGC 3	Agilent 6890 GC System (Agilent Technologies, Wilmington, USA)
Injektor	Slit/Splitlessinjektor (Split 1:20), Temperatur 220°C
Autosampler	Agilent 7683 Series Injector
Trennsäule	J&W DB-Wax (30 m x 0.25 mm, df = 0.25 µm)
Trägergas	2.0 ml/min Helium 5.0, constant flow
Kopplung	Transferline 250°C
Temperaturprogramm	50°C, 3 min isotherm, 4°C/min, 220°C, 10 min isotherm
MS 1	Agilent 5973 Mass Selective Detector MSD (Agilent Technologies, Wilmington, USA)
Ionenquelle	Elektronenstoßionisation (EI) mit 70 eV; Temperatur 150°C Quellendruck: $1 \cdot 10^{-5}$ mbar; Kathodenstrom: 1,5 mA
Photomultiplier	1300 V
Massenbereich	38-450 u

Datenaufnahme und Datenauswertung mittels Xcalibur.

4.4.3.2 HRGC-MS System 2

HRGC 4	Fisons Instruments GC 8060 (ThermoElectron, Dreieich)
Injektor	Slit/Splitlessinjektor (Split 1:20), Temperatur 220°C
Autosampler	Fisons Instruments AS 800
Trennsäule	Säule 1: J&W DB-WAX (30 m x 0,25 mm, df = 0,25 µm) Säule 2: RH 1701 (60 m x 0,25 mm, df = 0,25 µm)
Trägergas	2,0 ml/min; Helium 5.0
Kopplung	Transferline 300°C
Temperaturprogramm	60°C, 1°C/min, 90°C, 10°C/min, 270°C, 10 min isotherm
MS 2	Fisons Instruments MD 800 (ThermoElectron, Dreieich)
Ionenquelle	Elektronenstoßionisation (EI) mit 70 eV; Temperatur 220°C Quellendruck: $1 \cdot 10^{-5}$ mbar; Kathodenstrom: 1,5 mA
Photomultiplier	350 V
Massenbereich	38-450 u

Datenaufnahme mittels HP Chem Station, nach Konvertierung mit File Converter
Datenauswertung mittels Xcalibur.

4.4.4 Multidimensionale Gaschromatographie-Massenspektrometrie (MDGC-MS)

Ofen 1

HRGC 5	Fisons Instruments GC 8160 (ThermoElectron, Dreieich)
Injektor	Slit/Splitlessinjektor (Split 1:20), Temperatur 220°C
Trennsäule (achiral)	J&W DB-WAX (30 m x 0,25 mm, df = 0,25 µm)
Detektor	Flammenionisationsdetektor, Temperatur 250°C
Trägergas	Säulenkopfdruck 165 kPa, Helium 5.0
Make-up-Gas	Stickstoff 5.0
Brenngase	Wasserstoff 5.0, gereinigte Luft
Temperaturprogramm Ofen 1	60°C, 10°C/min, 240°C (2-EHA) 50°C, 10°C/min, 240°C (3-Methyl-1-butanol)
Transferkapillare	unbelegt und deaktiviert, 0.25 mm i.d., Temperatur 200°C
Säulenkopplung	Moving Column Switching System, MCSS, elektrisch betrieben, eingebaut in einem Glasdom (deaktiviert,

	inert) in Ofen 1, mechanische, ventillose Säulenkopplung
Domdruck	72 kPa
Mitteldruck	85 kPa

Ofen 2**HRGC 6**

	Fisons Instruments GC 8130 (ThermoElectron, Dreieich)
Trennsäule (chiral)	Säule 1: 2,6- <i>O</i> -Dimethyl-3- <i>O</i> -pentyl- β -cyclodextrin-Phase (2-EHA) Säule 2: 2,3-Diethyl-6- <i>t</i> -butyl-dimethyl- β -cyclodextrin-Phase (3-Methyl-1-butanol)
Temperaturprogramm Ofen 2	80°C, 20 min isotherm, 2°C/min, 200°C (2-EHA) 50°C, 20 min isotherm, 2°C/min, 200°C (3-Methyl-1-butanol)
Detektor	MS 2, über beheizte Transferline gekoppelt

4.4.5 Kapillargaschromatographie-Isotopenverhältnismassenspektrometrie (HRGC-IRMS)

IRMS

	Finnigan MAT Delta ^{plus} XL (ThermoElectron, Dreieich)
Ionenquelle	Kathodenspannung: 3 kV
Detektor	Kollektorsystem (Faraday-Cups) zur Detektion der Massen m/z 2 und 3 ($\delta^2\text{H}$ -Analysen); H_2 m/z 44, 45 und 46 ($\delta^{13}\text{C}$ -Analysen); CO_2
Massenbereich	2-70 u

HRGC 7

	Hewlett Packard 6890 Series
Injektor	Split/Splitlessinjektor, Temperatur 250°C
Injektionsvolumen	1 μl splitless-Injektion
Autosampler	CTC A 200 S (Zwingen, Schweiz)
Trennsäule	J&W DB-WAX (60 m x 0,32 mm, $df= 0,25 \mu\text{m}$)
Trägergas	$\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^2\text{H}$ -Analysen: 3 ml/min Helium 5.3
Temperaturprogramm	50°C; 5°C/min; 220°C (10 min isotherm)

Interface 1 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)

Oxidationsreaktor (Al_2O_3 , 0,5 mm i.d., 1,5 mm o.d., 320 mm), 3 Drähte (Kupfer, Nickel, Platin, je 240 mm x 0,125 mm), Temperatur 960°C
Reduktionsreaktor (Al_2O_3 , 0,5 mm i.d., 1,5 mm o.d.,

	320 mm), 3 Kupferdrähte (0,125 mm o.d.), Temperatur 600°C
Interface 2 (²H/¹H)	Pyrolysereaktor (Al ₂ O ₃ ; 0,5 mm i.d., 320 mm), Temperatur 1440°C
Wassereparator	δ ¹³ C-Analysen: Nafion®-Membran (Permapure, Toms River, NJ, 0,6 mm i.d., 0,8 mm o.d., 20 cm in Glasrohr)
Kopplung	'offene Kopplung' via 'open split'

4.4.6 Elementaranalysatoren

EA 1: δ ¹³ C-Analysen	Euro Vector EA 3000 (Mailand, Italien)
Oxidationsreaktor	Quarzrohr gefüllt mit Kupfer, Quarzwolle und Wolframoxid; Temperatur: 1000°C
Carrier-Druck	90 kPa
Sauerstoff-Volumen	8 Sekunden
Sauerstoffdruck	15 kPa
EA 2: δ ² H-Analysen	HT Sauerstoff Analysator (HEKATech, Wegberg)
Pyrolysereaktor	Keramikrohr; Glaskohlenstoffrohr gefüllt mit Nickelwolle, Glaskohlenstoffsplittern und Nickelkohle; Temperatur: 1460°C
Carrier-Druck	80 kPa
Autosampler	Eurocap
Trägergas	70 bzw. 80 ml/min Helium 5.3
Trennsäule	Molekularsieb
Ofentemperatur	95°C
Detektor	Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD)
Kopplung an IRMS	'offene Kopplung' via 'open split'

4.4.7 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Gerät	Bruker NMR (400/100 Hz)
Lösungsmittel	CDCl ₃ (Merck, Darmstadt)

4.4.8 sonstige Geräte

Waagen	Mettler PL 300, Mettler PN 163, Analysenwaage Mettler H 10 W (Mettler Waagen GmbH, Gießen)
Kühlzentrifuge	Typ J2-21, Beckman (Rotor JA10)
Mixer	Stabmixer (Braun) Mixi 700
Haushaltsensafter	Krups

4.5 Allgemeine Arbeitsvorschriften

4.5.1 Probenvorbereitung

4.5.1.1 Früchte

Ananasfrüchte wurden geschält, geschnitten und im Mixer püriert. Das so erhaltene Fruchtmus wurde in einer Kühlzentrifuge mit 3000x *g* eine halbe Stunde zentrifugiert (durchschnittliche Ausbeute 70% frischer Ananassaft) und der wässrige Überstand mit internem Standard (500 µg 2-Methyl-1-pentanol) direkt zur LLE eingesetzt.

4.5.1.2 Säfte, Konzentrate und Aromen

Jeweils 200 bis 1000 ml Saft, 250 g Saftkonzentrat oder 25 ml Aroma wurden mit demineralisiertem Wasser auf 2 Liter aufgefüllt, mit internem Standard (500 µg 2-Methyl-1-pentanol) versetzt und zur SDE eingesetzt.

4.5.1.3 Essenz- und Schalenöle

10 µl etherisches Öl wurden mit 500 µg 2-Methyl-1-pentanol als internem Standard versetzt, mit einem Gemisch aus Pentan/ Dichlormethan (2+1, v/v) auf 1 ml aufgefüllt und direkt per GC-MS vermessen.

4.5.1.4 2-Ethylhexansäure

Für die Simultane Destillation-Extraktion der im Hinblick auf eine Kontamination durch 2-Ethylhexansäure zu untersuchenden Proben wurden jeweils 850-950 Babynahrung einer Charge und 1000 ml Fruchtsaft eingesetzt. Nach dem Verdünnen mit demineralisiertem Wasser auf 2 Liter Volumen und dem Versetzen mit 2-Methyl-1-pentanol (500 µg) wurde der Ansatz per SDE extrahiert. Parallel hierzu wurden die zugehörigen Deckel der Verpackungen analysiert. Zu diesem Zweck wurden die Gummierungen der Deckel herausgelöst und in kleinen Stücke (mit etwa 2-3 mm² Oberfläche) geschnitten. War die

Beschichtung nur unvollständig vom Metalldeckel zu entfernen, so wurde der gesamte Deckel zerkleinert. Das komplette Material wurde mit 500 ml demineralisiertem Wasser sowie internem Standard versetzt und zur SDE eingesetzt.

Zur Quantifizierung der 2-EHA wurden Kalibrierkurven erstellt. Hierzu wurden Konzentrationen von 0.25 bis 5 mg/kg 2-EHA-freiem Probenmaterial sowie jeweils 500 µg 2-Methyl-1-pentanol als interner Standard zugesetzt. Nach Extraktion und GC-MS-Analytik wurden die Quotienten aus Peakfläche 2-EHA geteilt durch Peakfläche 2-Methyl-1-pentanol gegen die Analytkonzentration aufgetragen. Die Linearität der Kalibriergeraden wurde mit einer Reproduzierbarkeit von 92% bestätigt.

4.5.2 Extraktion

4.5.2.1 Simultane Destillation-Extraktion (SDE)

Die zu analysierenden Proben werden in einer modifizierten Likens-Nickerson-Apparatur einer zweistündigen simultanen Destillation-Extraktion unterzogen. Als Lösungsmittel diente ein Gemisch aus 150 ml Pentan – Diethylether (1+1, v/v). Anschließend wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und an einer Vigreux-Kolonnen bei 40°C schonend auf etwa 1 ml eingengt.

4.5.2.2 Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE)

Etwa 500 ml trüber Fruchtsaft wurde mit demineralisiertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und zur Flüssig-Flüssig-Extraktion eingesetzt. Innerhalb 48 h bei 35°C wurde die Matrix mit einem Gemisch aus 210 ml Pentan/ Dichlormethan (2+1, v/v) extrahiert. Anschließend wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und mittels Vigreux-Kolonnen bei 40°C schonend abdestilliert.

4.5.2.3 Headspace-Analysen und Headspace-Festphasen-Mikroextraktion (Headspace-SPME)

Für die Headspace-Analysen wurden genormte Ananasstücke von 2,5 g mit Hilfe eines Apfelausstechers aus einer frischen Ananasscheibe gestochen, in ein Headspace-Vial (20ml) gegeben und grob zerkleinert. Die einzelnen Bezeichnungen der Stücke für die Aromabestimmung im Längs- und Querschnitt sind Abbildung 4-1 zu entnehmen. Alternativ wurden 2 ml frisch hergestellter Ananassaft eingesetzt. Der Ansatz wurde mit einem Rührfisch sowie Standard (100 µg Ethyl-3-methyl-2-butenoat) versetzt und sofort verschlossen. Diese Proben wurden direkt zur Headspace-GC-Analytik oder zur Festphasen-Mikroextraktion herangezogen.

Zusätzlich für die Temperierung während der Inkubation mit einer DVB/Carboxen/PDMS-StableFlex-Faser (Supelco, Bellefonte, USA) wurden die Headspace-Gläschen in einem

Aluminiumblock für 30 Minuten auf 60°C geheizt. Die thermische Desorption im Injektor des HRGC-MS-Systems (Splittless-Betrieb) erfolgte unmittelbar nach Inkubation.

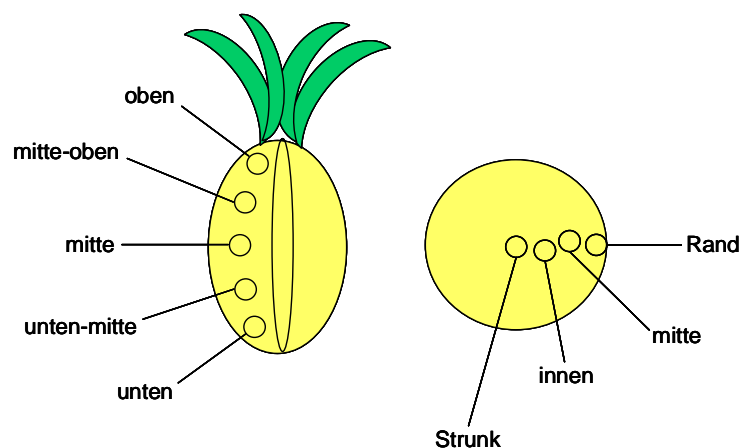


Abbildung 4-1 Längs- und Querschnitt der Ananasfrucht, die einzelnen Bezeichnungen der Entnahmeorte der Probenstücke sind angezeigt.

4.6 Identifizierung und Quantifizierung

Die Identifizierung der analysierten Verbindungen erfolgte mit Hilfe authentischer Referenzsubstanzen und Retentionszeitenvergleich, bei HRGC-MS-Chromatogrammen zusätzlich durch Vergleich der jeweiligen Massenspektren. Soweit nicht anders angegeben, wurde anhand der Peakfläche des internen Standards in Bezug auf die Peakfläche des Analyten die Konzentration des Analyten ermittelt. Es wurde die gesamte Peakfläche des Totalionenchromatogramms berücksichtigt. In der Regel wurden Response-Faktoren mit $F=0$ bedingt durch die Vielzahl der Verbindungen angenommen.

4.7 Synthesen

4.7.1 ^{13}C -markiertes Limonen

4.7.1.1 Synthese von 4-Acetyl-1-methylcyclohexen

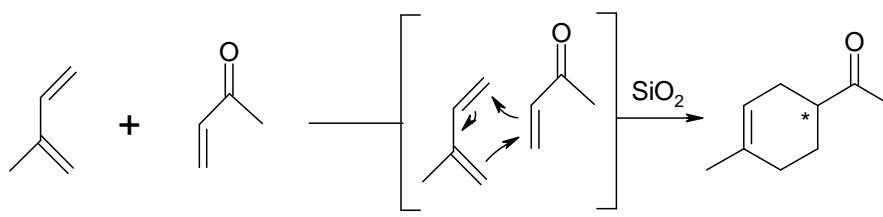


Abbildung 4-2 Diels-Alder-Reaktion zu 4-Acetyl-1-methylcyclohexen.

Die Durchführung erfolgte gemäß Veselovskii *et al.*, 1988. Eine äquimolare Menge an Isopren (5.0 g) und Methylvinylketon (5.2 g) wurden in einem Erlenmeyerkolben gemischt und im Eisbad bei 0°C gekühlt. Mindestens die zehnfache Menge an trockenem Kieselgel (0.2 – 0.5 mm, 6 Stunden bei 200°C im Trockenschrank getrocknet) wurde zugegeben und kräftig geschüttelt, anschließend wurde der Ansatz noch etwa 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das entstandene Produkt wurde mit Diethylether extrahiert und das Lösemittel im Anschluss schonend entfernt. Nach einer fraktionierten Destillation wurde 4-Acetyl-1-methylcyclohexen mit einer Ausbeute von 74% erhalten.

4.7.1.2 Synthese von Methyltriphenylphosphoniumiodid

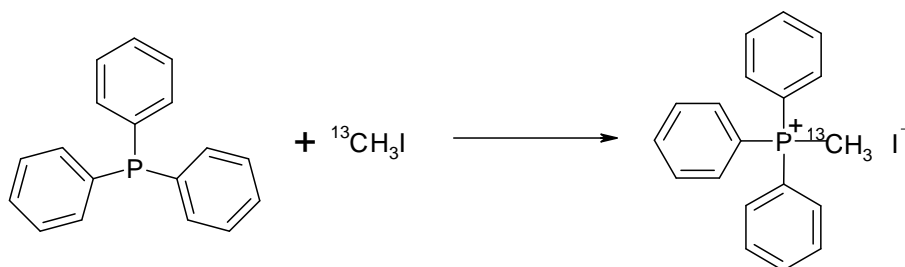


Abbildung 4-3 Synthese des Methyltriphenylphosphoniumiodids.

Zur Lösung von 12.04 g Triphenylphosphin (50 mmol) in 30 ml trockenem Toluol wurden 5.0 g ^{13}C -markiertes Methyljodid (35 mmol) in 13 ml trockenem Toluol langsam zugetropft, dabei wurde mit einem Eisbad gekühlt. Die Lösung wurde nun bei Raumtemperatur für 8 Stunden gerührt. Die entstandenen Kristalle des Phosphoniumsalzes wurden abfiltriert und vorsichtig mit trockenem Toluol gewaschen. Nach dem Lyophilisieren betrug die Ausbeute an markiertem Methyltriphenylphosphoniumiodid 96% (Cui *et al.*, 2001).

4.7.1.3 Wittig-Reaktion zu ^{13}C -markiertem Limonen

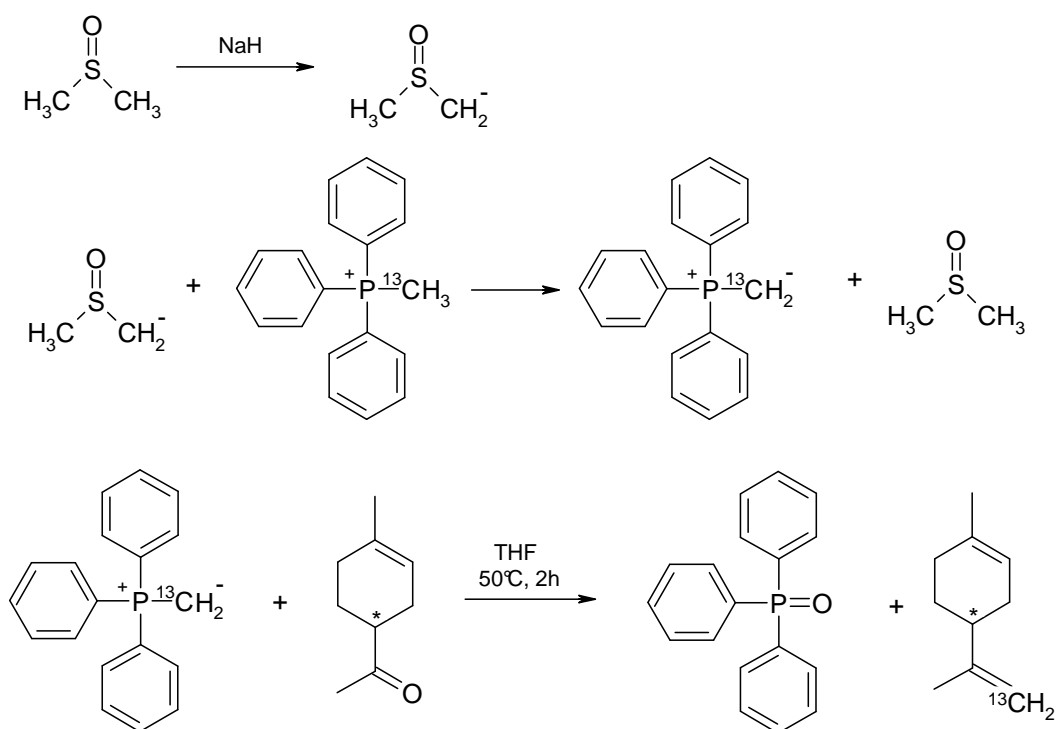


Abbildung 4-4 Wittig-Reaktion zu ^{13}C -markiertem Limonen.

1.7 g Natriumhydrid wurden unter Stickstoffatmosphäre zu 15 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) gegeben, um das Natrium-Methylsulphonylcarbanion zu bilden. Die Lösung wurde auf einem Eisbad gekühlt, unter Rühren wurden 14.4 g ^{13}C -markiertes Methyltriphenylphosphoniumiodid in 30 ml DMSO zugegeben. Ab Auftreten der rötlichen Farbe des Methyleneosulphoranions wurde nochmals 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurden 4.0 g 4-Acetyl-1-methylcyclohexen, gelöst in 33 ml Tetrahydrofuran (THF), zugefügt und es wurde nochmals zwei Stunden bei 50°C gerührt. Danach wurde

durch Zugabe einer äquimolaren Menge demineralisiertem Wasser das Wittig-Reagenz zerstört (Vig *et al.*, 1966). Diese Lösung wurde für 20 Stunden mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) mit Diethylether extrahiert. Nach dem Trocknen der Etherphase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel an einer Vigreux-Kolonnen schonend entfernt und das Endprodukt per Säulenchromatographie weiter aufgereinigt. Hierfür wurde eine Chromatographiesäule mit trockenem Kieselgel (0.2 – 0.5 mm) befüllt und mit Pentan gesättigt. Die aufgegebene Probe wurde dreimal mit je 150 ml Pentan eluiert. Fraktion 1 und 2 enthielten ^{13}C -markiertes Limonen; diese Fraktionen wurden nach Vereinigung über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und mittels Vigreux-Kolonnen bei 40°C schonend abdestilliert. Letzte Lösemittelreste wurden vorsichtig unter Stickstoffstrom entfernt. Nach Aufreinigung wurde ^{13}C -markiertes Limonen in einer Ausbeute von 34.5% erhalten. Die synthetisierte Substanz wurde anhand unmarkierter Referenz per ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 Hz) und HRGC-MS-Messung bestätigt.

HRGC-EI-MS (70 eV)

m/z (%) = 67 (46), 68 (100), 69 (62), 77 (16), 78 (11), 79 (27), 80 (27), 81 (14), 91 (15), 92 (39), 93 (66), 94 (46), 95 (28), 108 (26), 122 (27), 137 (26)

^1H -NMR = 1,51, 1,81 (m, 2H), 1,67 (s, 3H), 1,75 (s, 3H), 1,94-2,1 (m, 4H), 2,33 (s, 1H), 4,72 (s, 2H), 5,41 (s, 1H)

4.7.2 ^{13}C -markiertes α -Terpineol

4.7.2.1 Bildung des Grignard-Reagenz

In einem 500 ml Dreihalskolben mit Tropftrichter, Rückflusskühler, Calciumchloridrohr und Magnetprüher wurden 0.93 g Magnesiumspäne mit 50 ml getrocknetem Diethylether übergossen. Unter Rühren wurde etwa 1/20 von 5.0 g (35 mmol) ^{13}C -markiertem Methyljodid, gelöst in 125 ml Diethylether, versetzt. Zum Anspringen der Reaktion wurde mit einem Wasserbad leicht erwärmt und etwas Brom zugefügt. Bei auftretender Trübung wurde bei nur gelinde siedendem Ether die restliche Methyljodidlösung zugetropft. Anschließend wurde mit einem Wasserbad zum leisen Sieden erhitzt, bis das Magnesium nach etwa 30 Minuten vollständig gelöst war (Becker *et al.*, 2000).

4.7.2.2 Synthese des 4-Methylcyclohex-3-en-1-carbonsäuremethylesters

8.6 g Methylacrylat und 6.8 g Isopren wurden in 150 ml Toluol gelöst. Diese Lösung wurde nach Zugabe von 1.5 g Aluminiumchlorid als Katalysator 15 Stunden bei 145°C gerührt und gleichzeitig unter Rückfluss erhitzt, anschließend das Lösungsmittel am Vakuumverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde mit Diethylether extrahiert, die so erhaltenen organischen Phasen wurden nach Vereinigung bei 20 mmHg eingengt (Renslo *et al.*, 1997). Die Ausbeute des farblosen Öls betrug 31%.

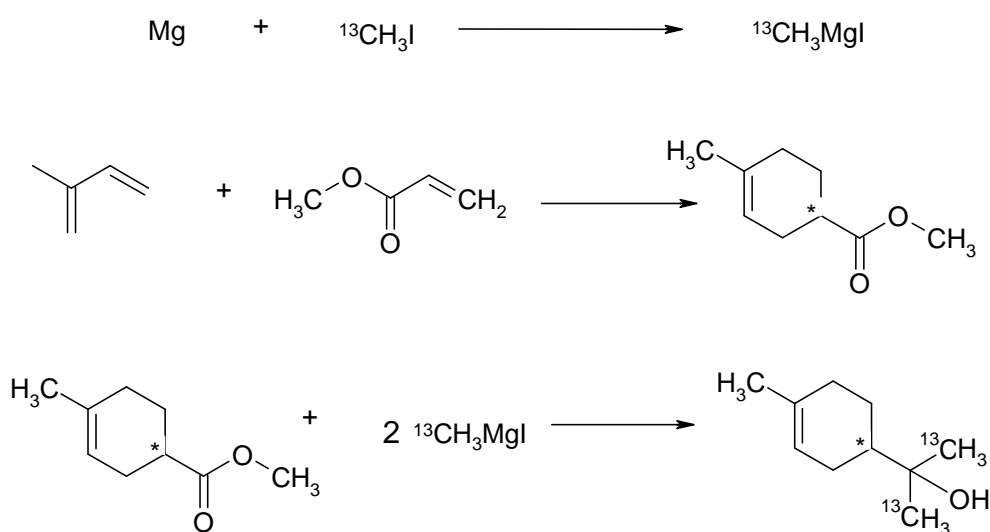
4.7.2.3 Grignard-Reaktion zu zweifach markiertem α -Terpineol

Abbildung 4-5 Reaktionsmechanismus für die Bildung von zweifach ^{13}C -markiertem α -Terpineol.

Es wurde eine Grignard-Reaktion nach Becker *et al.*, 2000, durchgeführt. Zum ^{13}C -markierten Grignard-Reagenz wurden 2.97 g (19.3 mmol) 4-Methylcyclohex-3-en-1-carbonsäuremethylester gelöst in 20 ml Diethylether zugetropft. Anschließend wurde für zwei Stunden unter Rühren auf dem Wasserbad erhitzt, nach dem Abkühlen wurde mit Hilfe von 50 g zerstoßenem Eis hydrolysiert. Es wurde so lange gesättigte Ammoniumchlorid-lösung zugegeben, bis der entstandene Niederschlag verschwunden ist. Die organische Phase wurde abgetrennt, die wässrige Phase nochmals mit Diethylether gewaschen. Nach Vereinigung der Etherphasen wurde zuerst mit 20 ml gesättigter Natriumbisulfitlauge, dann mit 20 ml Natriumhydrogensulfatlösung und schließlich zweimal mit je 10 ml demineralisiertem Wasser gewaschen. Mit Natriumsulfat wurde getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel mittels Vigreux-Kolonnen abdestilliert. Das so erhaltene Produkt wurde per Säulenchromatographie aufgereinigt. Analog Abschnitt 4.6.1.1 wurde auch hier eine

Kieselgelsäule mit Pentan als Fließmittel gewählt. Eluiert wurde jeweils mit 150 ml Volumen in 5%-Schritten von anfangs 100% Pentan zu 100% Diethylether. Fraktion 5, 6 und 7 (entsprechend 80/20, 75/25 und 70/30% Pentan/Diethylether) enthielten ^{13}C -markiertes α -Terpineol; diese Fraktionen wurden nach Vereinigung über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und mittels Vigreux-Kolonnen bei 40°C schonend abdestilliert. Letzte Lösemittelreste wurden vorsichtig unter Stickstoffstrom entfernt. Nach Aufreinigung wurde ^{13}C -markiertes α -Terpineol in einer Ausbeute von 68% erhalten. Die synthetisierte Substanz wurde anhand unmarkierter Referenz per $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 Hz) und HRGC-MS-Messung bestätigt.

HRGC-EI-MS (70 eV)

m/z (%) = 61 (76), 67 (21), 79 (19), 81 (38), 92 (40), 93 (100), 122 (23), 138 (28)

$^1\text{H-NMR}$ = 1.60 (s, 3H), 1.67-2.68 (m, 7H), 3.42 (s, 3H), 5.30 (s, 1H)

4.7.3 Standardkalibrierung

Von den markierten Syntheseprodukten wurde eine bestimmte Menge genau eingewogen und auf ein definiertes Volumen mit reinem Ethanol aufgefüllt. Die Verdünnung sollte etwa 500 $\mu\text{g/ml}$ entsprechen. Um die absolute Konzentration in der Standardlösung zu erhalten wurde jeweils eine Kalibrierkurve mit den Punkten 0.2 g/l, 0.4 g/l, 0.5 g/l, 0.6 g/l, 0.8 g/l und 0.9 g/l unmarkiertem Limonen bzw. α -Terpineol (Dreifachbestimmung, Abbildung 4-6 und 4-7) angefertigt. Vermessung der Werte erfolgte mit dem HRGC-FID-System unter Kapitel 4.4.1. Für den ^{13}C -markierten Limonenstandard wurde ein Gehalt von 266,57 $\mu\text{g/ml}$ und für den ^{13}C -markierten α -Terpineolstandard ein Gehalt von 246,68 $\mu\text{g/ml}$ bestimmt.

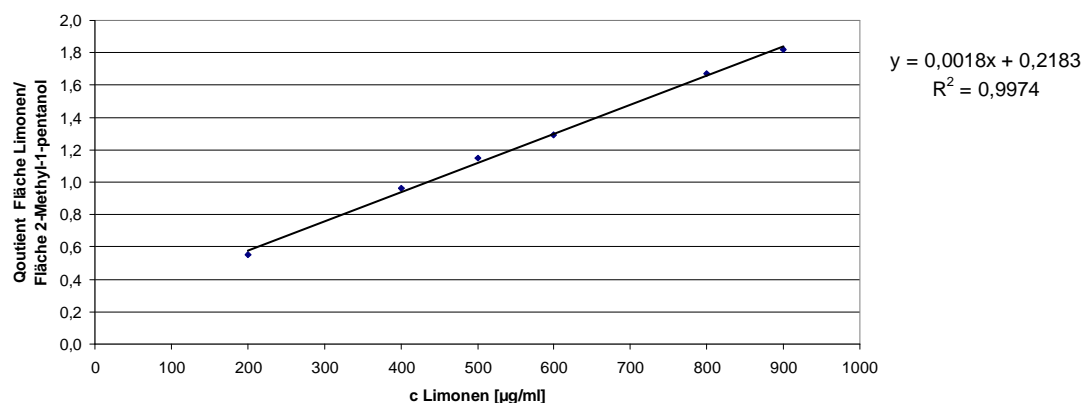


Abbildung 4-6 Kalibriergerade für die Bestimmung des Absolutgehaltes an ^{13}C -markiertem Limonen in der Standardlösung. Kalibrierpunkte sind Mittelwerte aus einer Dreifachbestimmung.

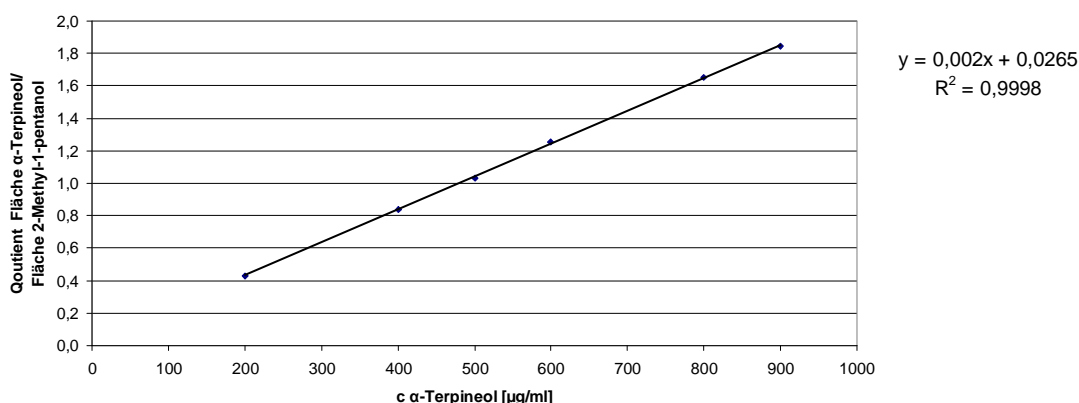


Abbildung 4-7 Kalibriergerade für die Bestimmung des Absolutgehaltes an ^{13}C -markiertem α -Terpineol in der Standardlösung. Kalibrierpunkte sind Mittelwerte aus einer Dreifachbestimmung.

4.8 Sensoriktests

4.8.1 Materialien für Sensoriktests

Für die Sensoriktests wurden alle analysierten synthetischen Aromakomponenten mit Hilfe von Kieselgel-Säulenchromatographie aufgereinigt, um eine per HRGC-MS bestimmte Reinheit $>99\%$ zu erhalten.

Als Matrices wurden fünf verschiedene Testlösungen ausgewählt, die teilweise selbst hergestellt wurden. Die Zucker/Säure-Lösung bestand aus 1.5 g Zitronensäure und 10.5 g Saccharose pro Liter abgekochtem Leitungswasser. Orangen- und Apfelsaftkonzentratlösungen ohne Aroma wurden aus jeweils 160 g Orangensaftkonzentrat (65° Brix) und 150 g Apfelsaftkonzentrat (70° Brix) mit 840 und 850 ml abgekochtem Leitungswasser rückverdünnt. Beide Saftkonzentrate wurden von den Firmen Wild (Heidelberg) und Mainfrucht (Gochsheim) in ausreichender Menge zur Verfügung gestellt. Kommerzielle Orangen- und Apfelsäfte hergestellt aus Konzentrat wurden im örtlichen Supermarkt bezogen. Alle Testlösungen wurden täglich frisch bereitete und als 50 ml Proben in weißen 200 ml Polyesterbechern den Panelteilnehmern angeboten.

4.8.2 Panel

Das Panel setzte sich zusammen aus neun weiblichen und sechs männlichen gesunden Nichtrauchern im Alter von 22-29 Jahren. Alle Teilnehmer wurden mit Hilfe eines sechsstufigen Auswahltests in Anlehnung an relevante Teile von § 35 LMBG 00.90.10 / DIN 10950 aus 20 Freiwilligen bestimmt.

4.8.3 Durchführung

Die gesamte Testdurchführung wurde in Anlehnung an Meilgaard *et al.* 1999 gestaltet. Das trainierte Testpanel erhält laut dieser Methode sechsmal drei Proben derselben Matrix, von denen allerdings nur jeweils einer der drei Proben die zu prüfende Substanz zugesetzt wurde. Die Aromakomponente ist jeweils in einer anderen Konzentration zugegeben. Diese Methode zur Ermittlung von Reizschwellen wurde in der Praxis für diese Arbeit variiert: Die Dreiecke wurden so angeordnet, dass die Konzentrationen der abweichenden Proben von Dreieck zu Dreieck anstieg. Außerdem wurde ein siebtes Dreieck an beliebiger Stelle hinzugefügt, dessen drei Proben die gleichen Lösungen enthielten. Die Testperson, die die niedrigste Konzentration richtig erkannte, führte noch zwei weitere Dreieckstests mit noch niedrigeren Analyt-Konzentrationen durch. Jeder Proband, der die höchste Konzentration nicht richtig identifizieren konnte, sollte ebenfalls zwei weitere Dreieckstests durchführen. Diese enthielten noch höhere Konzentrationen. Aus den für jede Testperson ermittelten Reizschwellen wurde der Mittelwert gebildet, wobei es sich dann um die Reizschwelle für das gesamte Panel handelte.

Die speziell codierten Proben wurden erst auf geruchliche und dann auf geschmackliche Veränderungen von den Testpersonen überprüft. Ein Muster der Prüfbögen findet sich im Anhang unter A-19 und A-20.

4.8.4 Auswertung

Bei der Auswertung von Schwellentests nach Meilgaard *et al.* 1999 ist es üblich, die Reizschwellen eines jeden Prüfungsteilnehmers zu ermitteln, selbst wenn einzelne Personen in weiteren Tests bei anderen Konzentrationen geprüft würden. Aus den so ermittelten Werten für jedes Panelmitglied wird der Mittelwert gebildet, der als Reizschwelle für das gesamte Panel angenommen wird. In vorliegendem Fall wurde folgende Methode der Auswertung verwendet: Die Prüfungen eines Stoffes auf den Schwellenwert in einer bestimmten Matrix wurden beendet, sobald mehr als die Hälfte der Prüfpersonen (d.h. sieben von zwölf) den Aromastoff in einem Dreieck erkannt haben. Die Prüfung wurde in Tabellenform ausgewertet. Ein Beispiel dieser Auswertung findet sich im Anhang unter A-21. Aufgrund dieser Werte wurden die persönlichen Reizschwellen jedes Panel-Teilnehmers festgesetzt. Dabei musste kein Augenmerk darauf gelegt werden, dass dieser für jeden bestimmbar ist. Wichtig war nur, dass die niedrigste Konzentration nicht schon von mehr als der Hälfte des Panels und die höchste Konzentration nicht von weniger als der Hälfte der Panelteilnehmer erkannt wurde. Diese Reizschwellen werden zur weiteren Auswertung herangezogen. Dadurch wurde vermieden, dass klar ersichtliche Zufallstreffer bzw. zufällige

Nicht-Treffer gewertet werden. Für die Konzentrationen, bei denen mehr als 50% der Prüfpersonen ihre Reizschwelle erreicht haben, wurden die Irrtumswahrscheinlichkeiten berechnet. Unter der Irrtumswahrscheinlichkeit versteht man die Wahrscheinlichkeit, mit der man das Ergebnis des sensorischen Tests ausschließlich durch Erraten der Urteile nach dem Zufallsprinzip erhalten hätte. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wird nach folgender Formel berechnet:

$$f(x \geq k | n) = \sum_{j=k}^n \left[\frac{n!}{(j! \cdot (n-j)!)} \cdot p^j \cdot q^{n-j} \right]$$

$f(x \geq k | n)$: Wahrscheinlichkeit, dass der Erfolgsfall bei n Versuchen mindestens k mal eintritt

k : Häufigkeit des eingetretenen Ereignisses

n : Anzahl der Versuche

p : Wahrscheinlichkeit, dass das Ereignis eintritt

q : Wahrscheinlichkeit, dass das Ereignis nicht eintritt

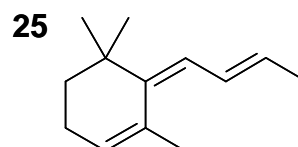
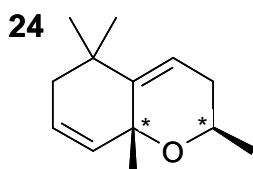
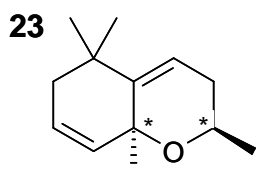
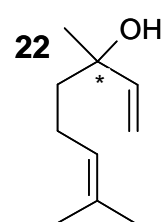
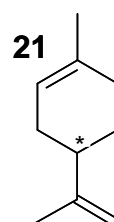
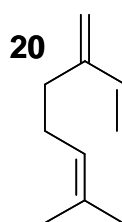
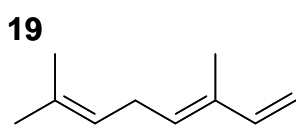
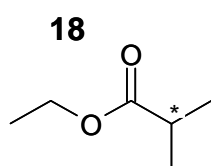
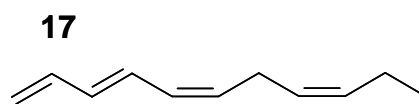
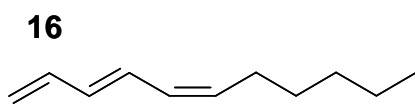
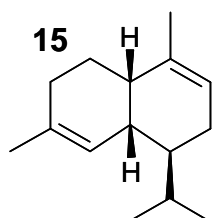
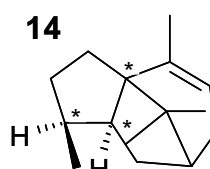
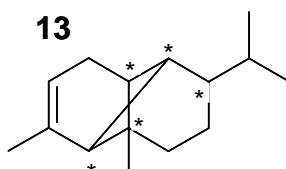
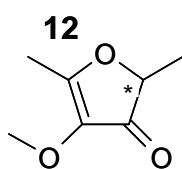
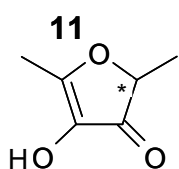
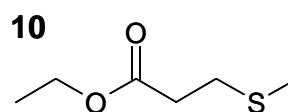
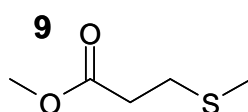
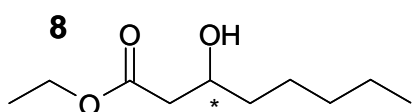
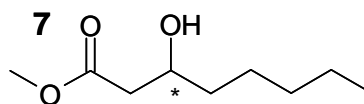
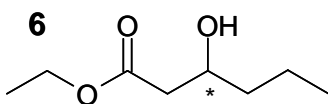
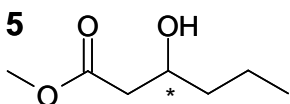
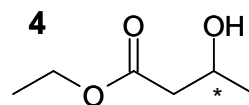
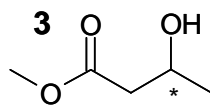
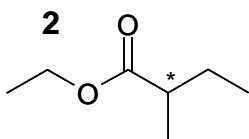
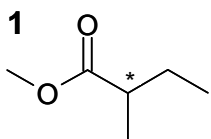
Für Dreieckstests liegt die Wahrscheinlichkeit, dass das Ereignis eintritt, bei $1/3$, also 33,3%. Die Wahrscheinlichkeit, dass das Ereignis nicht eintritt, liegt bei $2/3$ (~66,667%). Die Irrtumswahrscheinlichkeit wird auch als Signifikanz bezeichnet. Es ist üblich, eine maximale Irrtumswahrscheinlichkeit, auch Signifikanzniveau genannt, festzulegen. Ergebnisse, deren Irrtumswahrscheinlichkeit über der festgelegten Schranke liegen, werden abgelehnt. Aus diesem Sachverhalt haben sich häufig verwendete Signifikanzniveaus als Standard manifestiert. So werden die Schranken von 5%, 1% und 0,1% als signifikant, hoch signifikant und sehr hoch signifikant bezeichnet.

5 Strukturmatrix

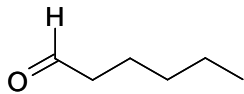
Strukturformeln ausgewählter Aromastoffe, chronologisch geordnet nach Nennung im Text. Chiralitätszentren sind gekennzeichnet.

1	Methyl-2-methylbutanoat	26	Hexanal
2	Ethyl-2-methylbutanoat	27	Ethylbutanoat
3	Methyl-3-hydroxybutanoat	28	Ethylhexanoat
4	Ethyl-3-hydroxybutanoat	29	Hexylbutanoat
5	Methyl-3-hydroxyhexanoat	30	Ethylacetat
6	Ethyl-3-hydroxyhexanoat	31	2-Heptanon
7	Methyl-3-hydroxyoctanoat	32	2-Methylbutylhexanoat
8	Ethyl-3-hydroxyoctanoat	33	γ -Hexalacton
9	Methyl-3-(methylthio)-propanoat	34	γ -Octalacton
10	Ethyl-3-(methylthio)-propanoat	35	γ -Decalacton
11	Furaneol	36	δ -Decalacton
12	Methoxyfuraneol	37	Benzaldehyd
13	α -Copaen	38	<i>E</i> -2-Hexenal
14	α -Patchoulen	39	Dodecanal
15	α -Muurolen	40	β -Sinensal
16	1,- <i>E/Z</i> -3,5,-Undecatrien	41	1-Hexanol
17	1,- <i>E/Z/Z</i> -3,5,8,-Undecatetraen	42	<i>Z</i> -3-Hexenol
18	Ethyl-2-methylpropanoat	43	1-Octanol
19	trans-Ocimen	44	α -Pinen
20	β -Myrcen	45	Carvon
21	Limonen	46	α -Terpineol
22	Linalool	47	<i>Z</i> -3-Hexenal
23	Edulan I	48	Furfural
24	Edulan II	49	5-(Hydroxymethyl)-furfural
25	6-(But-2'-enyliden)-1,5,5-trimethyl-1-cyclohexen	50	4-Vinylguajacol

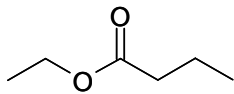
51	Nootkaton	81	Hexylhexanoat
52	trans-Carveol	82	3-Methylbuttersäure
53	trans-2,8-Menthadien-1-ol	83	Valencen
54	Octanal	84	4-Terpinenol
55	Decanal	85	Nonanal
56	Acetaldehyd		
57	<i>E</i> -2-Hexenol		
58	Butylacetat		
59	Hexylacetat		
60	2-Methylbutylacetat		
61	1-Butanol		
62	1,3-Octandiol		
63	1,3-Oct-5-endiol		
64	β -Damascenon		
65	1-Octen-3-on		
66	Guajacol		
67	Dibromphenol		
68	Geosmin		
69	2-Methylisoborneol		
70	Methyl-3-acetoxyhexanoat		
71	Methylacetat		
72	Methylhexanoat		
73	Methyl-5-hexenoat		
74	Ethyl-5-hexenoat		
75	Methyloctanoat		
76	2-Methyl-1-propanol		
77	3-Methylbutylacetat		
78	2-Methyl-1-butanol		
79	3-Methyl-1-butanol		
80	2-Phenylethanol		



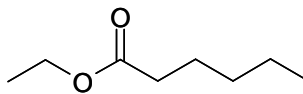
26



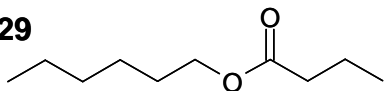
27



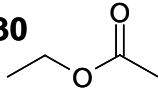
28



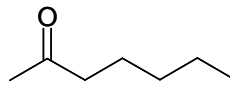
29



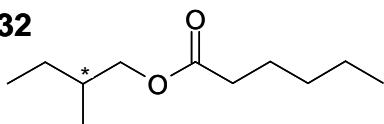
30



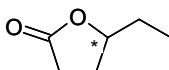
31



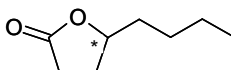
32



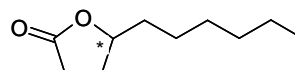
33



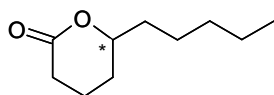
34



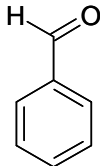
35



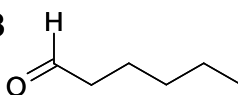
36



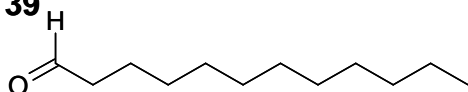
37



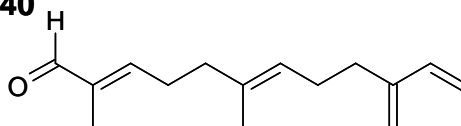
38



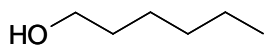
39



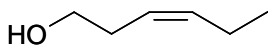
40



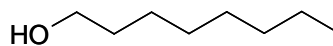
41



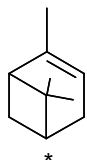
42



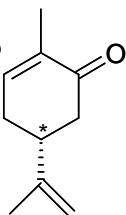
43



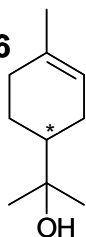
44



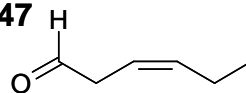
45



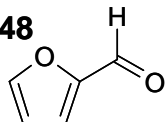
46



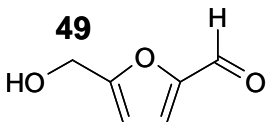
47



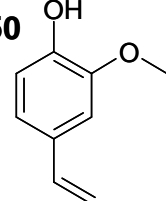
48



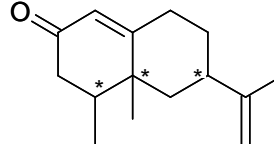
49



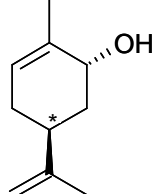
50



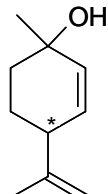
51



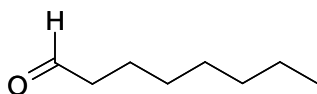
52



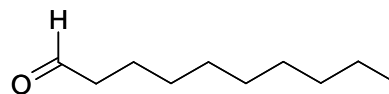
53

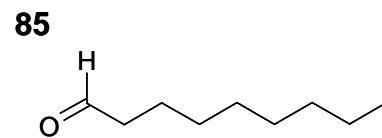
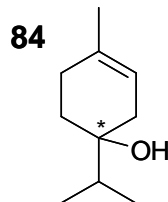
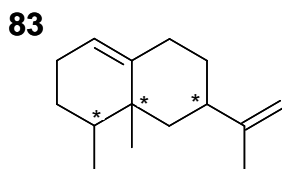
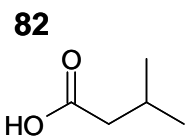
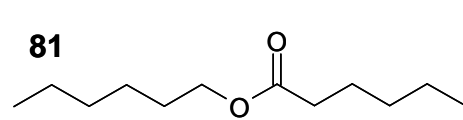
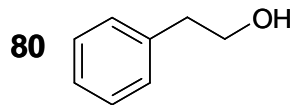
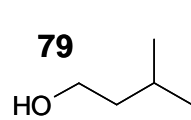
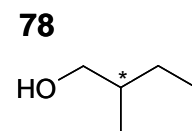
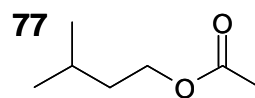
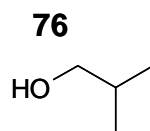
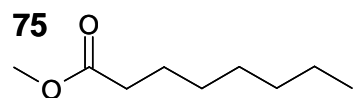
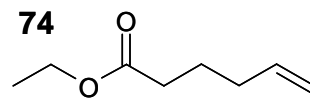
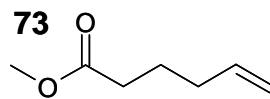
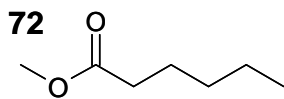
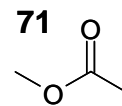
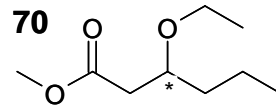
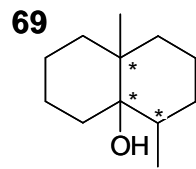
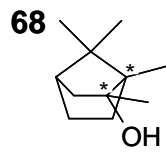
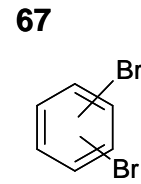
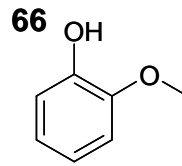
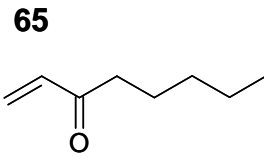
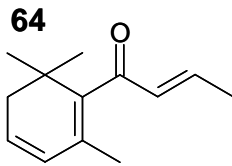
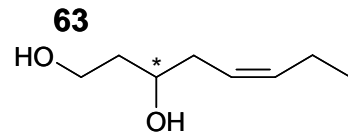
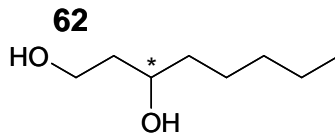
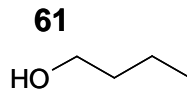
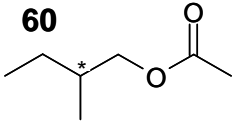
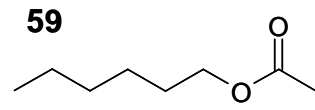
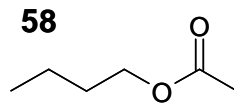
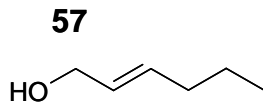
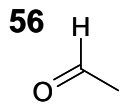


54



55





6 Literatur

- Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. Effect of nonvolatile orange juice components, acid, sugar, and pectin on the flavor threshold of D-limonene in water. *J. Agric. Food Chem.* **1978a**, *26*, 192-194.
- Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. Flavor and odor thresholds in water of selected orange juice components. *J. Agric. Food Chem.* **1978b**, *26*, 187-191.
- Anselmi, C.; Centini, M.; Fedeli, P.; Paoli, M. L.; Segal, A.; Scesa, C.; Pelosi, P. Unsaturated hydrocarbons with fruity and floral odors. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1285-1289.
- Ashurst, P. R., *Production and Packaging of Non-carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*, Blackie Academic & Professional: Glasgow, 1995.
- Averbeck, M. Zum Einfluss von Lagerung und Abfüllung auf qualitätsbestimmende Aromastoffe in Orangensaft aus Konzentrat. Dissertation, Technische Universität München, 2002.
- Barbeni, M.; Cisero, M.; Fuganti, C. Natural Abundance ²H Nuclear Magnetic Resonance Study of the Origin of (Z)-3-Hexenol. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 237-241.
- Becker, H.; Beckert, R.; Domschke, G.; Fanghänel, E.; Habicher, W.; Metz, P.; Pavel, D.; Schwetlick, K. E., *Organikum*, vol 21. Wiley-VCH: Weinheim, 2000.
- Benedetti, S.; Pompei, C.; Mannino, S. Comparison of an electronic nose with the sensory evaluation of food products by triangle test. *Electroanalysis* **2004**, *16*, 1801-1805.
- Berger, R. G., Pineapple. In *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, Maarse, H., Ed. Marcel Dekker: New York, 1991; p 296.
- Berger, R. G.; Drawert, F.; Kollmannsberger, H.; Nitz, S.; Schraufstetter, B. Novel volatiles in pineapple fruit and their sensory properties. *J. Agric. Food Chem.* **1985**, *33*, 232-235.

- Berger, R. G.; Drawert, F.; Nitz, S. Sesquiterpene hydrocarbons in pineapple fruit. *J. Agric. Food Chem.* **1983**, *31*, 1237-1239.
- Bestmann, H. J.; Kobold, U.; Vostrowsky, O. Gas-phase dehydration of p-menthenols by reaction gas-chromatography. Correlation of the elimination products with heats of formation from force-field calculations. *Lieb. Ann. Chem.* **1986**, 234-41.
- Besun, N.; Ozkan, F.; Gunduz, G. Alpha-pinene isomerization on acid-treated clays. *Applied Catalysis, A: General* **2002**, *224*, 285-297.
- Bettini, M. F. M.; Shaw, P. E.; Lancas, F. M. Sensory and analytical evaluations of Brazilian orange juices and aromas. *Fruit Processing* **1998**, *8*, 283-287.
- BfR, 2-Ethylhexansäure in glasverpackter Babynahrung und in Fruchtsäften, Stellungnahme vom 20.07.2004.
- BfR, Übergang von Weichmachern aus Schraubdeckel-Dichtmassen in Lebensmittel, Stellungnahme Nr. 010/2005 des BfR vom 14.02.2005.
- BGChemie, 2-Ethylhexansäure, CAS-Nr. 149-57-5. Toxikologische Bewertungen Nr. 275, 2000. <http://www.bgchemie.de/files/95/ToxBew275-L.pdf>.
- Bilke, S.; Mosandl, A. Authenticity assessment of lavender oils using GC-P-IRMS: 2H/1H isotope ratios of linalool and linalyl acetate. *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *214*, 532-535.
- BMVEL, Noch immer Semicarbazid und 2-Ethylhexansäure in Deckeln von Babygläschen, Mitteilung des BMVEL vom 04.02.2005.
- Brat, P.; Brillouet, J. M.; Reynes, M.; Cogat, P. O.; Olle, D. Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 6210-6214.
- Brat, P.; Rega, B.; Alter, P.; Reynes, M.; Brillouet, J.-M. Distribution of volatile compounds in the pulp, cloud, and serum of freshly squeezed orange juice. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3442-3447.

- Broderick, J. J. What is important in peach flavor? *Am. Perfumer Cosmet.* **1966**, *81*, 43-5.
- Brunerie, P.; Beuerle, T.; Schreier, P.; Schwab, W. C8-diols as precursors of new flavoring acetals in apples. *Natural Product Analysis: Chromatography, Spectroscopy, Biological Testing, [Symposium], Wuerzburg, Germany, Sept. 1997* **1998**, 345-351.
- Buettner, A. Wichtige Aromastoffe in frisch gepressten Citrusfruchtsäften aus verschiedenen Orangenvarietäten (*citrus sinensis* (L.) Osbeck) sowie Grapefruit (*citrus paradisi* Macf.). Dissertation, Technische Universität München, 1998.
- Buettner, A.; Schieberle, P. Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from Valencia Late and Navel oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2387-2394.
- Bult, J. H. F.; Schifferstein, H. N. J.; Roozen, J. P.; Boronat, E. D.; Voragen, A. G. J.; Kroeze, J. H. A. Sensory evaluation of character impact components in an apple model mixture. *Chem. Senses* **2002**, *27*, 485-494.
- Burdach, K., *Geschmack und Geruch. Gustatorische, olfaktorische und trigeminale Wahrnehmung*, Hans Huber Verlag: Bern, 1990.
- Burdock, G. A., *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*, CRC Press: Boca Raton, 2004.
- Buttery, R. G.; Seifert, R. M.; Guadagni, D. G.; Ling, L. C. Characterization of additional volatile components of tomato. *J. Agric. Food Chem.* **1971**, *19*, 524-529.
- Casimir, D. J.; Kefford, J. F.; Whitfield, F. B. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Adv. Food Res.* **1981**, *27*, 243-295.
- Casimir, D. J.; Shaw, K. J.; Whitfield, F. W. Volatile flavor constituents - passion fruit. *Div. Food Res. Rep. res. (Australian C.S.I.R.O.)* **1977-1978**, 17-18.
- Cazzonelli, C. I.; Cavallaio, A. S.; Rotella, J. R. Cloning and characterization of ripening-induced ethylene biosynthetic genes from non-climacteric pineapple (*Ananas comosus*) fruits. *J. Plant Physiol.* **1998**, *25*, 513-518.

- Chen, C. C.; Kuo, M. C.; Hwang, L. S.; Wu, J. S. B.; Wu, C. M. Headspace components of passion fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* **1982**, *30*, 1211-1215.
- Chida, M.; Yamashita, K.; Izumiya, Y.; Watanabe, K.; Tamura, H. Aroma impact compounds in three Citrus oils: cross-matching test and correspondence analysis approach. *J. Food Sci.* **2006**, *71*, S54-S58.
- Chou, F.; Wiley, R. C.; Schlimme, D. V. Reverse osmosis and flavor retention in apple juice concentration. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 484-487.
- Conceicao Cruz Costa, M.; Johnstone, R. A. W.; Whittaker, D. Catalysis of gas and liquid phase ionic and radical rearrangements of α - and β -pinene by metal(IV) phosphate polymers. *J. Mol. Catal. A: Chemical* **1996**, *104*, 251-259.
- Creveling, R. K.; Silverstein, R. M.; Jennings, W. G. Volatile Components of pineapple. *J. Food Sci.* **1968**, *33*, 284-287.
- Crouzet, J.; Etievant, P.; Bayonove, C., Stoned fruit: apricot, plum, peach, cherry. In *Developments in Food Science. The Flavour of Fruits. Food Flavours Part C*, Morton, I. D., MacLeod, A. J., Eds. Elsevier: Amsterdam, 1990.
- Cui, J.; Zeng, L.; Su, J.; Lu, W. Synthesis of polyhydroxysterols (I): synthesis of 24-methylenecholest-4-en-3 β ,6 β -diol, a cytotoxic natural hydroxylated sterol. *Steroids* **2001**, *66*, 33-38.
- Dahler, J. M.; Underhill, S. J. R.; Zhou, Y.; Glies, J. E. Biochemical changes associated with chilling in pineapple fruit. *Acta Horticulturae* **2002**, *575*, 603-610.
- De Stefanis, A.; Perez, G.; Tomlinson, A. A. G.; Ursini, O.; Lilla, E. Chirality of products in acid-catalyzed rearrangement of α -pinene. *React. Kinet. Catal. Lett.* **2003**, *78*, 267-273.
- Dimick, P. S.; Hoskin, J. C. Review of apple flavor - state of the art. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1983**, *18*, 387-409.
- Ding, T.; Weger, E. Fruchtpürees - frische Früchte für die Lebensmittelindustrie. *Fluessiges Obst* **1997**, *64*, 619-621.

-
- Do, J. Y.; Salunkhe, D. K.; Olson, L. E. Isolation, identification, and comparison of the volatiles of peach fruit as related to harvest maturity and artificial ripening. *J. Food Sci.* **1969**, *34*, 618-621.
- Drawert, F.; Heimann, W.; Emberger, R.; Tressl, R. Bianges in the organic acids of jonathan apples during cool storage in relation to the development of breakdown. *Phytochem.* **1968**, *7*, 881-883.
- Drawert, F.; Heimann, W.; Emberger, R.; Tressl, R. Gas chromatographic investigation of plant aromas. II. Concentration, separation, and identification of apple flavor components. *Chromatographia* **1969**, 57-66.
- Drawert, F.; Kuchenbauer, F.; Brueckner, H.; Schreier, P. The quantitative composition of natural and technologically altered plant aromas. I. Structure and operation of a pilot plant for the production of fruit and vegetable juices in order to preserve the natural aroma. *Chemie, Mikrobiologie, Technologie der Lebensmittel* **1976**, *5*, 27-32.
- Drawert, F.; Tressl, R. Modern physicochemical methods and their application to the problem of biogenesis of aromatic substances. I. Modern physicochemical methods in arom research. II. Application of physicochemical methods to problems of biogenesis of aromatic substances. *Ernaehrungs-Umschau* **1970**, *17*, 392-400.
- Duerr, P. The composition of apple juice aroma and its correlation to sensory data. *LWT-Edition* **1981**, *6*, 365-369.
- Dürr, P.; Schobinger, U., The contribution of some volatiles to the sensory quality of apple and orange juice odour. In *Flavour '81*, Schreier, P., Ed. Walter de Gruyter: New York, 1981; pp 179-193.
- EFSA, EFSA gives update on semicarbazide, Pressemitteilung vom 15.10.2003.
- Eisenreich, W.; Schwarz, M.; Cartayrade, A.; Arigoni, D.; Zenk, M. H.; Bacher, A. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms. *Chem. & Biol.* **1998**, *5*, R221-R233.

- Elston, A.; Lin, J.; Rouseff, R. Determination of the role of valencene in orange oil as a direct contributor to aroma quality. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20*, 381-386.
- Engel, K. H.; Heidlas, J.; Tressi, R., The flavor of tropical fruits (banana, melon, pineapple). In *Developments in Food Science 3C*, 1990; pp 195-219.
- Engel, K. H.; Tressl, R. Identification of new sulfur-containing volatiles in Yellow Passion Fruits (*Passiflora Edulis* f. *flavicarpa*). *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 2249-2252.
- Farmer, L. J.; Bailleul, A.; Cheung, C.; Hagan, T. D. J.; Gordon, A. Aroma volatiles in peaches and nectarines and their contribution to sensory quality. *Flavour Research at the Dawn of the Twenty-First Century, Proceedings of the Weurman Flavor Research Symposium, 10th, Beaune, France, June 25-28*, **2003**, 488-493.
- Flath, R. A., Pineapple. In *Tropical and Subtropical Fruits. Composition, Properties and Uses*, Nagy, S., Shaw, P. E., Eds. AVI: Westport, 1980; pp 157-183.
- Flath, R. A.; Black, D. R.; Forrey, R. R.; McDonald, G. M.; Mon, T. R.; Teranishi, R. Volatiles in Gravenstein apple essence identified by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, *7*, 508-512.
- Flath, R. A.; Black, D. R.; Guadagni, D. G.; McFadden, W. H.; Schultz, T. H. Identification and organoleptic evaluation of compounds in Delicious apple essence. *J. Agric. Food Chem.* **1967**, *15*, 29-35.
- Flath, R. A.; Forrey, R. R. Volatile components of Smooth Cayenne pineapple. *J. Agric. Food Chem.* **1970**, *18*, 306-309.
- Fontana, A. J.; Howard, L.; Criddle, R. S.; Hansen, L. D.; Wilhelmsen, E. Kinetics of deterioration of pineapple concentrate. *J. Food Sci.* **1993**, *58*, 1411-17.
- Franke, W., *Nutzpflanzenkunde: nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen*, Thieme: Stuttgart; New York, 1997.
- Fritz, P.; Fontes, J. C., *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry, 1. The Terrestrial Environment*, Elsevier: Amsterdam, 1980.

-
- George-Nascimento, C.; Cori, O. Terpene biosynthesis from geranyl and neryl pyrophosphates by enzymes from orange flavedo. *Phytochem.* **1971**, *10*, 1803-10.
- Govindarajan, V. S.; Ranganna, S.; Ramana, K. V. R. Citrus fruits. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. C. Quality evaluation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1984**, *20*, 73-122.
- Griffiths, H., *Stable isotopes. Integration of biological, ecological and geochemical processes*, Bios Scientific Publishers: Oxford, 1998.
- Guadagni, D. G.; Bomben, J. L.; Hudson, J. S. Factors influencing the development of aroma in apple peels. *J. Agric. Food Chem.* **1971**, *22*, 110-115.
- Haagen-Smit, A. J.; Kirchner, J. G.; Deasy, C. L.; Prater, A. N. Chemical studies of pineapple (*Ananas sativas* Lindl). II. Isolation and identification of a sulfur-containing ester in pineapple. *J. Am. Chem. Soc.* **1945a**, *67*, 1651-1652.
- Haagen-Smit, A. J.; Kirchner, J. G.; Prater, A. N.; Deasy, C. L. Chemical studies of pineapple (*Ananas sativas* Lindl). I. The volatile flavor and odor constituents of pineapple. *J. Am. Chem. Soc.* **1945b**, *67*, 1646-1650.
- Hall, J. A.; Wilson, C. P. Volatile constituents of Valencia orange juice. *J. Am. Chem. Soc.* **1925**, *47*, 2575-2584.
- Handelsblatt, *Die Welt in Zahlen*, Scherz Verlag: Frankfurt am Main, 2005.
- Handschuh, B. Püree- und Nektarherstellung. *Fluessiges Obst* **1996**, *63*, 128-129.
- Hatanaka, A. Biosynthesis of so-called "green odor" emitted by green leaves. *Comprehens. Nat. Prod. Chem.* **1999**, *1*, 83-115.
- Hatanaka, A. The fresh green odor emitted by plants. *Food Rev. Int.* **1996**, *12*, 303-350.
- Haug, M. E. Sensoric stability of citrus and other juice containing beverages. *Fluessiges Obst* **2003**, *70*, 72-76.

- Herderich, M.; Winterhalter, P. 3-Hydroxy-retro- α -ionol: a natural precursor of isomeric edulans in purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 1270-1274.
- Hoefs, J., *Stable Isotope Geochemistry*, Springer: Berlin, 1973.
- Hognadottir, A.; Rouseff, R. L. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2003**, *998*, 201-211.
- Hör, K. Authentizitätskontrolle von Aromastoffen: $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Analytik mittels on-line Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (HRGC-IRMS) als Baustein einer Multielement-Isotopenverhältnisanalyse. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2001.
- Hör, K.; Ruff, C.; Weckerle, B.; König, T.; Schreier, P. $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratio analysis of flavor compounds by on-line gas chromatography-pyrolysis-isotope ratio mass spectrometry (HRGC-P-IRMS); Citral. *Flavour Fragr. J.* **2001a**, *16*, 344-348.
- Hör, K.; Ruff, C.; Weckerle, B.; König, T.; Schreier, P. Flavor authenticity studies by $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratio determination using on-line gas chromatography pyrolysis isotope ratio mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2001b**, *49*, 21-25.
- Horvat, R. J.; Chapman, G. W., Jr.; Robertson, J. A.; Meredith, F. I.; Scorza, R.; Callahan, A. M.; Morgens, P. Comparison of the volatile compounds from several commercial peach cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 234-237.
- IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. **1999**, *73*, 307-327.
- Ito, Y.; Arakawa, N.; Takamura, A.; Morimitsu, Y.; Kubota, K. Potent odorants in sweetie pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr. var. Marian-gold (MG3)). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* **2006**, *53*, 121-129.
- Jennings, W. G.; Sevenants, M. R. Volatile components of peach. *J. Food Sci.* **1964**, *29*, 796-801.

-
- Jepsen, O. M. Sensory and analytical value of the volatile substances in apple juices. *Fluessiges Obst* **1978**, *45*, 420-424.
- Johnson, J. R.; Braddock, R. J.; Chen, C. S. Flavor losses in orange juice during ultrafiltration and subsequent evaporation. *J. Food Sci.* **1996**, *61*, 540-543.
- Jordan, M. J.; Goodner, K. L.; Shaw, P. E. Characterization of the aromatic profile in aqueous essence and fruit juice of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims F. *Flavicarpa* Degner) by GC-MS and GC/O. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1523-1528.
- Jordan, M. J.; Tillman, T. N.; Mucci, B.; Laencina, J. Using HS-SPME to determine the effects of reducing insoluble solids on aromatic composition of orange juice. *LWT--Food Sci. Tech.* **2001**, *34*, 244-250.
- Kahle, K.; Preston, C.; Richling, E.; Heckel, F.; Schreier, P. On-line gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-C/P-IRMS) of major volatiles from pear fruit (*Pyrus communis*) and pear products. *Food Chem.* **2005**, *91*, 449-455.
- Kakiuchi, N.; Moriguchi, S.; Fukuda, H.; Ichimura, N.; Kato, Y.; Banba, Y. Volatile compounds of various cultivars of apple fruits. *J. Jap. Soc. for Hort. Sci.* **1986**, *55*, 280-289.
- Karlberg, A.-T.; Dooms-Goossens, A. Contact allergy to oxidized D-limonene among dermatitis patients. *Contact Dermatitis* **1997**, *36*, 201-206.
- Karlberg, A.-T.; Shao, L. P.; Nilsson, U.; Gafvert, E.; Nilsson, J. L. Hydroperoxides in oxidized d-limonene as potent contact allergens. *Arch. Dermat. Res.* **1994**, *286*, 97-103.
- Kato, T.; Shimoda, M.; Suzuki, J.; Kawaraya, A.; Igura, N.; Hayakawa, I. Changes in the odors of squeezed apple juice during thermal processing. *Food Res. Intern.* **2003**, *36*, 777-785.
- Kaunzinger, A.; Juchelka, D.; Mosandl, A. Progress in the Authenticity Assessment of Vanilla. 1. Initiation of Authenticity Profiles. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1752-1757.

- Kesterson, J. W.; Braddock, R. J.; Crandall, P. G. Recovery of citrus by-products and specialty products from Florida citrus, In *Trans. Citrus Eng. Conf. Fla. Sec. Amer. Soc. of Mech. Eng. XXIV*, Lakeland, Florida, 1978; pp 34-54.
- Kirchner, J. G.; Miller, J. M. Volatile water-soluble and oil constituents of Valencia orange juice. *J. Agric. Food Chem.* **1957**, *5*, 283-291.
- Kluba, R.; deBanchs, N.; Fraga, A.; Jansen, G.; Langstaff, S.; Meilgaard, M.; Nonaka, R.; Thompson, S.; Verhagen, L.; et al. Sensory threshold determination of added substances in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **1993**, *51*, 181-183.
- Koch, J.; Schiller, H. Apple aroma. *Z. Lebensmittel-Untersuch. -Forsch.* **1964**, *125*, 364-368.
- Krammer, G.; Winterhalter, P.; Schwab, M.; Schreier, P. Glycosidically bound aroma compounds in the fruits of Prunus species: apricot (*P. armeniaca*, L.), peach (*P. persica*, L.), yellow plum (*P. domestica*, L. ssp. *syriaca*). *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 778-81.
- Lamikanra, O. Role of esterified compounds in the development of staleness in fresh-cut fruit, In *Abstract of Papers, 224th ACS National Meeting*, Boston, MA, USA, August 18-22, 2002.
- Lamikanra, O.; Richard, O. A. Storage and ultraviolet-induced tissue stress effects on fresh-cut pineapple. *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 1812-1816.
- Lamikanra, O.; Watson, M. A., Biochemical changes associated with fresh-cut fruit processing and storage. In *ACS Symposium Series 836*, Cadwallander, K. R., Weenen, H., Eds. American Chemical Society: Washington, 2003; pp 52-68.
- Lampen, A.; Zimnik, S.; Nau, H. Teratogenic phthalate esters and metabolites activate the nuclear receptors PPARs and induce differentiation of F9 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2003**, *188*, 14-23.
- Landgraf, H. Anbau und Verarbeitung der Passionsfrucht in Brasilien. *Fluessiges Obst* **1978**, *45*, 225-231.

-
- Lavilla, T.; Recasens, I.; Lopez, M. L.; Puy, J. Multivariate analysis of maturity stages, including quality and aroma, in "Royal Glory" peaches and "Big Top" nectarines. *J. Sci. Food Agric.* **2002**, *82*, 1842-1849.
- Lawless, H. T.; Heymann, H., *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices*, Chapman & Hall: New York, 1998.
- Lea, A. G. H.; Ford, G. D. Instrumental and sensory characterization of commercial apple juices. *Internationale Fruchtsaft-Union, Wissenschaftlich-Technische Kommission, [Berichte]* **1990**, *21*, 87-101.
- Lee, H. S.; Nagy, S. Chemical degradative indicators to monitor the quality of processes and stored citrus products. *ACS Symposium Series* **1996**, *631*, 86-106.
- Lemee, L.; Ratier, M.; Duboudin, J.-G.; Delmond, B. Flash vacuum thermolysis of terpenic compounds in the pinane series. *Synt. Comm.* **1995**, *25*, 1313-1318.
- MacGregor, D. R.; Sugisawa, H.; Matthews, J. S. Apple juice volatiles. *J. Food Sci.* **1964**, *29*, 448-455.
- Matura, M.; Goossens, A.; Bordalo, O.; Garcia-Bravo, B.; Magnusson, K.; Wrangsjö, K.; Karlberg, A.-T. Oxidized citrus oil (R-limonene): a frequent skin sensitizer in Europe. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2002**, *47*, 709-714.
- Matura, M.; Skoeld, M.; Boerje, A.; Andersen, K. E.; Bruze, M.; Frosch, P.; Goossens, A.; Johansen, J. D.; Svedman, C.; White, I. R.; Karlberg, A.-T. Selected oxidized fragrance terpenes are common contact allergens. *Contact Dermatitis* **2005**, *52*, 320-328.
- Mehinagic, E.; Royer, G.; Symoneaux, R.; Jourjon, F.; Prost, C. Characterization of odor-active volatiles in apples: influence of cultivars and maturity stage. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 2678-2687.
- Meier, R. Verfahrenstechnisch induzierte Veränderungen in wertgebenden Aromastoffen von Orangensaft und Orangensaftfraktionen. Dissertation, Technische Universität München, 2002.

- Meigh, D. F. Volatile compounds produced by apples. I. Aldehydes and ketones. *J. Sci. Food Agric.* **1956**, *7*, 396-410.
- Meigh, D. F. Volatile compounds produced by apples. II. Alcohols and esters. *J. Sci. Food Agric.* **1957**, *8*, 313-326.
- Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T., *Sensory evaluation techniques*, CRC Press: Boca Raton, Florida, 1999.
- Morgan, D. A.; Veldhuis, M. K.; Eskew, R. K.; Phillips, G. W. M. The recovery of essence from Florida orange juices. *Food Technol.* **1953**, *7*, 332-336.
- Morton, I. D.; MacLeod, A. J., *Food Flavours Part B. The Flavour of Beverages*, Elsevier: Amsterdam, 1986.
- Mosandl, A. Authenticity assessment: A permanent challenge in food flavor and essential oil analysis. *J. Chromatogr. Sci.* **2004**, *42*, 440-449.
- Moshonas, M. G.; Shaw, P. E. Changes in composition of volatile components in aseptically packaged orange juice during storage. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 157-161.
- Moshonas, M. G.; Shaw, P. E. Flavor and compositional comparison of orange essences and essence oils produced in the United States and in Brazil. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 799-801.
- Moshonas, M. G.; Shaw, P. E., Fresh orange juice flavor: A quantitative and qualitative determination of the volatile constituents. In *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence*, Charalambous, G., Ed. Elsevier: Amsterdam, 1995; pp 1479-1492.
- Moshonas, M. G.; Shaw, P. E. Quantitative analysis of orange juice flavor volatiles by direct-injection gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 161-165.
- Moshonas, M. G.; Shaw, P. E. Quantitative Determination of 46 Volatile Constituents in Fresh, Unpasteurized Orange Juices Using Dynamic Headspace Gas Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 1525-1528.

-
- Murray, K. E.; Shipton, J.; Whitfield, F. B. Chemistry of food flavor. I. Volatile constituents of passionfruit, *Passiflora edulis*. *Aust. J. Chem.* **1972**, *25*, 1921-1933.
- Naef-Mueller, R.; Willhalm, B. Volatile part of pineapple. *Helv. Chim. Acta* **1971**, *54*, 1880-1890.
- Nagy, S., *Tropical and subtropical fruits*, AVI: Westport, Connecticut, 1980.
- Nagy, S.; Rouseff, R. L.; Lee, H. S. Thermally degraded flavors in citrus juice products. *ACS Symposium Series* **1989**, *409*, 331-345.
- Narain, N.; Bora, P. S. Post-harvest changes in some volatile flavor constituents of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *J. Sci. Food Agric.* **1992**, *60*, 529-530.
- Narain, N.; Hsieh, T. C. Y.; Johnson, C. E. Dynamic headspace concentration and gas chromatography of volatile flavor components in peach. *J. Food Sci.* **1990**, *55*, 1302-1307.
- Nisperos-Carriedo, M. O.; Shaw, P. E. Comparison of volatile flavor components in fresh and processed orange juices. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 1048-1052.
- Ohta, H.; Kinjo, S.; Osajima, Y. Glass capillary gas chromatographic analysis of volatile components of canned Philippine pineapple juice. *J. Chromatogr.* **1987**, *409*, 409-412.
- Okayasu, H.; Naito, S. Sensory characteristics of apple juice evaluated by consumer and trained panels. *J. Food Sci.* **2001**, *66*, 1025-1029.
- Osaki, K.; Yukawa, C.; Zhong, X.; Iwabuchi, H. Peaches (*Prunus persica* Batsch) and their volatile components. *Foods & Food Ingr. J. Jap.* **2001**, *195*, 44-60.
- Paillard, N. M. M., The flavor of apples, pears and quinces. In *Developments in Food Science*, Morton, I. D., MacLeod, A. J., Eds. Elsevier: Amsterdam, 1990; Vol. 3C, pp 1-41.

-
- Parliment, T. H.; Croteau, R.; Editors, *ACS Symposium Series, Vol. 317: Biogenesis of Aromas.*, 1986.
- Peredi, K.; Vamos-Vigyazo, L.; Kiss-Kutz, N. Flavor losses in apple juice manufacture. *Nahrung* **1981**, *25*, 573-582.
- Perez-Lopez, A. J.; Saura, D.; Lorente, J.; Carbonell-Barrachina, A. A. Limonene, linalool, α -terpineol, and terpinen-4-ol as quality control parameters in mandarin juice processing. *Eur. Food Res. Tech.* **2006**, *222*, 281-285.
- Perez, L. M.; Pauly, G.; Carde, J. P.; Belingheri, L.; Gleizes, M. Biosynthesis of limonene by isolated chromoplasts from *Citrus sinensis* fruits. *Plant Physiol. Biochem.* **1990**, *28*, 221-9.
- Pickenhagen, W.; Velluz, A.; Passerat, J. P.; Ohloff, G. Estimation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (FURANEOL) in cultivated and wild strawberries, pineapples, and mangoes. *J. Sci. Food Agric.* **1981**, *32*, 1132-1134.
- Pino, J. Correlation between sensory and gas-chromatographic measurements on orange volatiles. *Acta Alimentaria* **1982**, *11*, 1-9.
- Plotto, A.; Margaria, C. A.; Goodner, K. L.; Goodrich, R.; Baldwin, E. A. Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: Terpenes and aldehydes. *Flavour Fragr. J.* **2004**, *19*, 491-498.
- Poll, L. The influence of apple ripeness and juice storage temperature on the sensory evaluation and composition (volatile and non-volatile components) of apple juice. *LWT--Food Sci. Tech.* **1985**, *18*, 205-211.
- Popken, A. M.; Dechent, H. M.; Gurster, D. Investigations on the origin of carvone in orange juices as an off-flavor component. *Fruit Processing* **1999**, *9*, 338-341.
- Power, F. B.; Chesnut, V. K. The odorous constituents of apples. Emanation of acetaldehyde from the ripe fruit. *J. Am. Chem. Soc.* **1920**, *42*, 1509-1526.

- Ramteke, R. S.; Eipeson, W. E.; Patwardhan, M. V. Behavior of aroma volatiles during the evaporative concentration of some tropical fruit juices and pulps. *J. Sci. Food Agric.* **1990**, *50*, 399-405.
- Ranganna, S.; Govindarajan, V. S.; Ramana, K. V. R. Citrus fruits - varieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. A. Chemistry. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1983a**, *18*, 313-386.
- Ranganna, S.; Govindarajan, V. S.; Ramana, K. V. R. Citrus fruits - varieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. B. Technology. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1983b**, *19*, 1-98.
- Renslo, A. R.; Weinstein, R. D.; Tester, J. W.; Danheiser, R. L. Concerning the Regiochemical Course of the Diels-Alder Reaction in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4530-4533.
- Rice, R. G.; Keller, G. J.; Beavens, E. A. Flavor fortification of California frozen orange concentrate. *Food Technol.* **1952**, *6*, 35-39.
- Riu-Aumatell, M.; Lopez-Tamames, E.; Buxaderas, S. Assessment of the Volatile Composition of Juices of Apricot, Peach, and Pear According to Two Pectolytic Treatments. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 7837-7843.
- Rizzolo, A.; Lombardi, P.; Vanoli, M.; Polesello, S. Use of capillary gas chromatography/sensory analysis as an additional tool for sampling technique comparison in peach aroma analysis. *J. High Resolut. Chromatogr.* **1995**, *18*, 309-314.
- Rodin, J. O.; Himel, C. M.; Silverstein, R. M.; Leeper, R. W.; Gortner, W. A. Volatile flavor and aroma components of pineapple. I. Isolation and tentative identification of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3[2H]-furanone. *J. Food Sci.* **1965**, *30*, 280-284.
- Rohmer, M. The discovery of a mevalonate-independent pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria, algae and higher plants. *Natural Prod.Rep.* **1999**, *16*, 565-574.

- Rosenthal, A.; Ledward, D.; Defaye, A.; Gilmour, S.; Trinca, L. Effect of pressure, temperature, time and storage on peroxidase and polyphenol oxidase from pineapple. *Progr. Biotechnol.* **2002**, *19*, 525-532.
- Rossmann, A. Determination of stable isotope ratios in food analysis. *Food Rev. Int.* **2001**, *17*, 347-381.
- Rouseff, R.; Valim, M. F.; Monte, G. P. GC-O and GC-FID comparison between early-mid season and Valencia orange essence oil. *ACS Symposium Series* **2005**, *908*, 129-137.
- Rudolf, E. v. A simple reagent for the specific dehydration of terpene alcohols. *Canadian J. Chem.* **1961**, *39*, 1860-4.
- Ruff, C. Authentizitätskontrolle von Aromastoffen: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Analytik mittels on-line Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (HRGC-IRMS) als Baustein einer Multielement-Isotopenverhältnisanalyse. Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2001.
- Ruff, C.; Hoer, K.; Weckerle, B.; Schreier, P.; König, T. $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratio analysis of flavor compounds by on-line gas chromatography pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-P-IRMS): benzaldehyde. *J. High Resolut. Chromatogr.* **2000**, *23*, 357-359.
- Rychlik, M. Stabilisotopenverdünnungsanalyse in der Lebensmittelanalytik – Neuentwicklungen und Einsatz in der Lebensmittelchemie, Toxikologie und Ernährungswissenschaft. Habilitation, Technische Universität München, 2002.
- Rychlik, M.; Schieberle, P.; Grosch, W., *Compilation of Odor Thresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food Odorants*, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie und Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München: Garching, 1998.
- Sandi, D.; Chaves, J. B. P.; Gomes de Sousa, A. C.; Ferreira, J.; Parreiras, M.; Coelho da Silva, M. T.; Constant, P. B. L. Hunter color dimensions, sugar content and volatile compounds in pasteurized yellow passion fruit juice (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) during storage. *Brazilian Archives Biol. Tech.* **2004**, *47*, 233-245.

-
- Schmidt, H. L.; Rossmann, A.; Werner, R. A., Stable isotope ratio analysis in quality control of flavorings. In *Flavorings*, Ziegler, E., Ziegler, H., Eds. Wiley-VCH: Weinheim, 1998; pp 539-594.
- Schobinger, U., *Frucht- und Gemüsesäfte*, Ulmer: Stuttgart, 2001.
- Schreier, P.; Drawert, F.; Heindze, L. Über die qualitative Zusammensetzung natürlicher und technologischer veränderter pflanzlicher Aromen VI. Verteilung und Veränderung von Aromastoffen bei der thermischen Konzentrierung von Orangensaft. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1979**, *6*, 71-77.
- Schreier, P.; Drawert, F.; Junker, A.; Mick, W. The quantitative composition of natural and technologically changed aromas. II. Aroma compounds in oranges and their changes during juice processing. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **1977**, *164*, 188-193.
- Schreier, P.; Drawert, F.; Schmid, M. Changes in the composition of neutral volatile components during the production of apple brandy. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 728-736.
- Schumacher, K.; Asche, S.; Heil, M.; Mittelstaedt, F.; Dietrich, H.; Mosandl, A. Methyl-branched flavor compounds in fresh and processed apples. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 4496-4500.
- Schwab, W.; Schreier, P. Glycosidic conjugates of aliphatic alcohols from apple fruit (*Malus silvestris* Mill. cult. Jonathan). *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 757-763.
- Sevenants, M. R.; Jennings, W. G. Volatile components of peach. II. *J. Food Sci.* **1966**, *31*, 81-86.
- Sewenig, S.; Bullinger, D.; Hener, U.; Mosandl, A. Comprehensive Authentication of (E)- $\alpha(\beta)$ -Ionone from Raspberries, Using Constant Flow MDGC-C/P-IRMS and Enantio-MDGC-MS. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 838-844.
- Seymour, G. B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A., *Biochemistry of Fruit Ripening*, Kluwer Academic: Dordrecht, 1993.

-
- Shaw, P. E., The flavour of non-alcoholic fruit beverages. In *Food Flavours. Part B. The flavour of Beverages*, Morton, I. D., MacLeod, A. J., Eds. Elsevier: Amsterdam, 1986; pp 337-368.
- Shaw, P. E.; Lebrun, M.; Dornier, M.; Ducamp, M. N.; Courel, M.; Reynes, M. Evaluation of concentrated orange and passionfruit juices prepared by osmotic evaporation. *LWT-- Food Sci. Tech.* **2001**, *34*, 60-65.
- Shaw, P. E.; Lebrun, M.; Ducamp, M.-N.; Jordan, M. J.; Goodner, K. L. Pineapple juice concentrated by osmotic evaporation. *J. Food Quality* **2002**, *25*, 39-49.
- Shaw, P. E.; Wilson, C. W., III. Importance of selected volatile components to natural orange, grapefruit, tangerine, and mandarin flavors. *ACS Symposium Series* **1980**, *143*, 167-190.
- Shaw, P. E.; Wilson, C. W., III; Berry, R. E. Some important flavor compounds in mandarin, grapefruit and orange juices and peel essential oils, In *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1983; pp 911-914.
- She, M.; Hwang, S.-T. Recovery of key components from real flavor concentrates by pervaporation. *J. Membr. Sci.* **2006**, *279*, 86-93.
- Shimoda, M.; Kato, T.; Suzuki, J.; Kawaraya, A.; Igura, N.; Hayakawa, I. Changes in the odors of reconstituted apple juice during thermal processing. *Food Res. Int.* **2003**, *36*, 439-445.
- Siegmund, B.; Poellinger-Zierler, B. Odor Thresholds of Microbially Induced Off-Flavor Compounds in Apple Juice. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 5984-5989.
- Sinuco, D. C.; Morales, A. L.; Duque, C. Free and glycosidically bound volatile components from pineapple (*Ananas comosus* L.) var. Perolera. *Revista Colombiana de Quimica* **2004**, *33*, 47-56.
- Spanier, A. M.; Flores, M.; James, C.; Lasater, J.; Lloyd, S.; Miller, J. A., Fresh-cut pineapple (*Ananas* sp.) flavor. Effect of storage. In *Food Flavors: Formation*,

-
- Analysis, and Packaging Influences*, Contis, E. T., Ed. Elsevier: Amsterdam, 1998; Vol. 40, pp 331-343.
- Spencer, M. D.; Pangborn, R. M.; Jennings, W. G. Gas chromatographic and sensory analysis of volatiles from cling peaches. *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26*, 725-732.
- Steinhaus, M.; Bogen, J.; Schieberle, P. Schlüsselaromastoffe in Apfelsaft - *Malus domestica* Borkh. cv. Golden Delicious. *Lebensmittelchemie* **2005**, *59*, 91.
- Stevens, K. L.; Lundin, R. E.; Teranishi, R. Volatiles from oranges. 3. The structure of sinensal. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1690-1692.
- Stromgaard, K.; Nakanishi, K. Chemistry and biology of terpene trilactones from *Ginkgo biloba*. *Angew. Chem.* **2004**, *43*, 1640-1658.
- Su, S. K.; Wiley, R. C. Changes in apple juice flavor compounds during processing. *J. Food Sci.* **1998**, *63*, 688-691.
- Swift, L. J. Flavor changes in stored canned orange juice. *Citrus Ind.* **1952**, *33*, 9,17,20-22.
- Takeoka, G.; Buttery, R. G.; Flath, R. A.; Teranishi, R.; Wheeler, E. L.; Wieczorek, R. L.; Guentert, M. Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *ACS Symposium Series* **1989**, *388*, 223-237.
- Takeoka, G. R.; Buttery, R. G.; Teranishi, R.; Flath, R. A.; Guentert, M. Identification of additional pineapple volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 1848-1851.
- Tamura, H.; Appel, M.; Richling, E.; Schreier, P. Authenticity assessment of γ - and δ -decalactone from *Prunus* fruits by gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (GC-C/P-IRMS). *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5397-5401.
- Tatum, J. H.; Nagy, S.; Berry, R. E. Degradation products formed in canned orange juice during storage. *J. Food Sci.* **1975**, *40*, 707-709.

- Teai, T.; Claude-Lafontaine, A.; Schippa, C.; Cozzolino, F. Volatile compounds in fresh pulp of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) from French Polynesia. *J. Essent. Oil Res.* **2001**, *13*, 314-318.
- The, P. M. P.; Dea de Carvalho, V.; Patto de Abreu, C. M.; de Pontes Nunez, R.; Pinto, N. A. V. D. Modifications on the enzymic activity of pineapple cultivar Smooth Cayenne related to storage temperature and stage of maturation. *Ciencia de Agrotecnologia* **2001**, *25*, 364-370.
- Ti, T. C. The global pineapple economy FAO keynote address. *Acta Horticulturae (ISHS)* **2000**, *529*, 4-52.
- Tokitomo, Y.; Steinhaus, M.; Buettner, A.; Schieberle, P. Odor-active constituents in fresh pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) by quantitative and sensory evaluation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 1323-1330.
- Tonder, D.; Petersen, M. A.; Poll, L.; Olsen, C. E. Discrimination between freshly made and stored reconstituted orange juice using GC odor profiling and aroma values. *Food Chem.* **1998**, *61*, 223-229.
- Tressler, D. K.; Joslyn, M. A., *Fruit and Vegetable Juice Processing Technology*, Avi Publishing Company: Westport, Connecticut, 1983.
- Umano, K.; Hagi, Y.; Nakahara, K.; Shoji, A.; Shibamoto, T. Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 599-603.
- Unterholzner, O. Herstellung, Qualität und Verwendung von Fruchtmarm. *Fluessiges Obst* **1999**, *66*, 62-68.
- Van Schaik, T. A. M.; Henzen, A. V.; Van der Gen, A. A Horner-Wittig solution to the synthesis of ketene O,O-acetals. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1303-6.
- Veselovskii, V. V.; Gybin, A. S.; Lozanova, A. V.; Moiseenkov, A. M.; Smit, W. A.; Caple, R. Dramatic acceleration of the Diels-Alder reaction by adsorption on chromatography adsorbents. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 175-178.

- Vig, O. P.; Matta, K. L.; Singh, G.; Raj, I. Terpenoids. X. Synthesis of β -bisabolene and dipentene. *J. Indian Chem. Soc.* **1966**, *43*, 27-31.
- Visai, C.; Vanoli, M. Volatile compound production during growth and ripening of peaches and nectarines. *Sci. Horticult.* **1997**, *70*, 15-24.
- Wahl, H. G.; Hong, Q.; Stube, D.; Maier, M. E.; Haring, H. U.; Liebich, H. M. Simultaneous analysis of the di(2-ethylhexyl)phthalate metabolites 2-ethylhexanoic acid, 2-ethyl-3-hydroxyhexanoic acid and 2-ethyl-3-oxohexanoic acid in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2001**, *758*, 213-219.
- Wang, L.; Kim, D.; Lee, C. Y. Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4227-4232.
- Werkhoff, P.; Guentert, M.; Krammer, G.; Sommer, H.; Kaulen, J. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1076-1093.
- Whitfield, F. B.; Last, J. H., The flavour of the passion fruit - a review. In *Progress in Essential Oil Research*, Brunke, E. J., Ed. de Gruyter: Berlin, 1986; pp 3-48.
- Willhalm, B.; Stoll, M.; Thomas, A. F. 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-2,3-dihydrofuran-3-one. *Chem. Ind.* **1965**, *18*, 1629-1630.
- Winkler, F. J.; Schmidt, H. L.; Wirth, E.; Latzko, E.; Lenhart, B.; Ziegler, H. Temperature, pH and enzyme-source dependence of the bicarbonate carbon isotope effect on the phosphoenolpyruvate carboxylase reaction. *Physiologie Vegetale* **1983**, *21*, 889-895.
- Winter, M.; Kloeti, R. Aroma of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Helv. Chim. Acta* **1972**, *55*, 1916-1921.
- Wu, P.; Kuo, M. C.; Hartman, T. G.; Rosen, R. T.; Ho, C. T. Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 170-172.
- Yonezawa, T.; Fushiki, T. Testing for taste and flavour of beer. *Mol. Meth. Plant Anal.* **2002**, *21*, 29-45.

Yu, Z. R.; Chiang, B. H. Passion fruit juice concentration by ultrafiltration and evaporation. *J. Food Sci.* **1986**, *51*, 1501-5.

Zabetakis, I.; Holden, M. A. Strawberry flavour: analysis and biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* **1997**, *74*, 421-434.

Zhou, Y.; Dahler, J. M.; Underhill, S. J. R.; Wills, R. B. H. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chem.* **2002**, *80*, 565-572.

Ziegler, E.; Ziegler, H., *Flavourings: production, composition, applications, regulations*, Wiley VCH: Weinheim, 1998.

Zierler, B.; Siegmund, B.; Pfannhauser, W. Determination of off-flavor compounds in apple juice caused by microorganisms using headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *520*, 3-11.

7 Anhang

Tabelle A-1. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in Ananasfrischfrüchten verschiedener Sorten (n=19). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Ethylpropanoat	0,03	0-0,13
Ethyl-2-methylpropanoat	tr	0-0,03
Propylacetat	0,35	0-3,5
Methylbutanoat	0,49	0,01-1,8
Ethyl-2-propenoat	0,02	0-0,13
Methyl-2-methylbutanoat	1,5	0,16-6
2-Methyl-3-buten-2-ol	tr	0-tr
Ethylbutanoat	0,1	0-0,48
Ethyl-2-methylbutanoat	0,19	0-1,1
Ethyl-3-methylbutanoat	0,03	0-0,5
Butylacetat	tr	0-0,01
2-Methyl-1-propanol	tr	0-0,02
Methylpentanoat	0,03	0-0,08
3-Pentanol	tr	0-tr
Diethylcarbonat	0,01	0-0,06
2-Pentanol	tr	0-0,02
2-/3-Methylbutylacetat	0,07	0-0,62
Ethylpentanoat	0,01	0-0,05
Methylhexanoat	1,3	0,02-3,8
Limonen	tr	0-tr
2-/3-Methyl-1-butanol	0,04	0-0,38
Ethylhexanoat	0,5	0-3,5
1-Pentanol	tr	0-0,01
Z-Ocimen	tr	0-tr
3-Methyl-2-buten-1-ylacetat	tr	tr
Methyl-Z-3-hexenoat	tr	tr
Methyl-E-3-hexenoat	tr	tr
Hexylacetat	tr	tr
3-Hydroxy-2-butanon	tr	0-tr
Methyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	tr	0-0,02
Methylheptanoat	tr	tr
Ethyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	tr	0-tr
Ethyl-E-3-hexenoat	0,02	0-0,1
Methyl-2-hydroxypropanoat	tr	tr
3-Methyl-2-buten-1-ol	tr	tr
Ethylheptanoat	tr	0-0,02
Ethyl-2-hydroxypropanoat	tr	0-tr
1-Hexanol	tr	0-tr
Methyl-3-hydroxy-3-methylbutanoat	0,01	0-0,08
Z-3-Hexenol	tr	0-tr
Methyloctanoat	0,05	0-0,23

7 Anhang

Nonanal	0,01	0-0,2
Methyl-(methylthio)-acetat	0,02	0-0,12
Methyl-Z-3-octenoat	0,02	0-0,08
Ethyl-octanoat	0,04	0-0,45
Ethyl-(methylthio)-acetat	tr	0-0,01
Methyl-E-3-octenoat	tr	0-0,01
Methyl-3-hydroxybutanoat	0,02	0-0,05
Ethyl-Z-3-octenoat	0,01	0-0,08
Dimethylmalonat	0,38	0,02-1,2
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	1,5	0,04-7,1
Methyl-3-acetoxybutanoat	0,12	0-0,38
Ethyl-3-(methylthio)-propanoat	0,47	0,02-2,7
Ethyl-3-acetoxybutanoat	tr	0-0,06
2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanon	1,5	0,02-9,2
Dimethylsuccinat	tr	0-0,01
Methyldecanoat	tr	0-0,02
γ -Butyrolacton	0,1	0-0,7
3-(Methylthio)-propylacetat	tr	0-0,04
Methyl-Z-4-decenoat	tr	0-0,06
Methyl-3-hydroxyhexanoat	0,21	tr-0,57
Ethyldecanoat	tr	0-0,05
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,08	0-0,46
γ -Hexalacton	0,72	0-3,6
Methyl-3-acetoxyhexanoat	0,46	0-1,5
3-(Methylthio)-1-propanol	0,01	0-0,1
Ethyl-5-oxohexanoat	tr	0-0,01
Ethyl-3-acetoxyhexanoat	0,06	0-0,34
Ethylphenylacetat	tr	0-tr
δ -Hexalacton	0,25	0-1,5
Methyl-5-acetoxyhexanoat	0,7	0,02-1,7
γ -Heptalacton	0,02	0-0,13
Ethyl-5-acetoxyhexanoat	0,06	0-0,32
Methyl-5-hydroxyhexanoat	0,05	0-0,2
δ -Heptalacton	tr	0-0,06
Methyl-3-hydroxyoctanoat	tr	0-0,03
γ -Octalacton	0,09	0-0,41
2-Phenylethanol	tr	0-0,08
Methyl-5-acetoxyoctanoat	0,06	0-0,4
δ -Octalacton	0,1	0-0,78
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon	0,96	tr-4,7
Ethyl-5-acetoxyoctanoat	tr	0-0,02
γ -Decalacton	tr	0-0,02
δ -Decalacton	0,02	0-0,16
4-Vinylguajacol	tr	0-0,03
Soleron	0,02	0-0,08
γ -Dodecalacton	0,01	0-0,06
δ -Dodecalacton	tr	0-0,05

tr = < 0,01 mg/l

Tabelle A-2. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Ananassaft (single strength SGF, n=10), (b) Ananasdirektsaft (Handelsware, n=6) und (c) Ananassaft aus Konzentrat (Handelsware, n=11). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)		(c)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Ethylpropanoat	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
3-Methyl-2-butanon	tr	0-0,02	nd	nd	tr	0-tr
2-Pentanon	tr	0-0,04	tr	0-0,02	tr	0-tr
Propylacetat	nd	nd	0,17	0-0,7	nd	nd
Methylbutanoat	0,02	0-0,09	0,06	0-0,25	tr	0-tr
Ethyl-2-propenoat	nd	nd	0,03	0-0,16	0,02	0-0,12
Methyl-2-methylbutanoat	0,02	0-0,2	0,18	0-0,8	tr	0-tr
2-Methyl-3-buten-2-ol	0,03	0-0,07	tr	0-0,02	tr	0-0,04
Ethylbutanoat	nd	nd	0,03	0-0,09	tr	0-0,01
Ethyl-2-methylbutanoat	nd	nd	0,03	0-0,08	0,01	0-0,05
Butylacetat	nd	nd	tr	tr	tr	tr
2-Methyl-1-propanol	0,03	0-2,4	0,01	tr-0,01	tr	0-0,03
Methylpentanoat	nd	nd	tr	0-0,01	nd	nd
Diethylcarbonat	nd	nd	tr	0-tr	nd	nd
2-Pentanol	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
2-/3-Methylbutylacetat	nd	nd	tr	0-0,01	tr	0-tr

7 Anhang

1-Butanol	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-0,01
Methylhexanoat	0,03	0-0,2	0,2	tr-0,9	tr	0-0,02
Limonen	nd	nd	tr	0-0,01	0,04	0-0,14
2-/3-Methyl-1-butanol	0,5	0-4,7	0,05	0,02-0,1	0,02	0-0,15
Ethylhexanoat	0,01	0-0,33	0,03	0-0,08	tr	0-tr
1-Pentanol	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
3-Hydroxy-2-butanon	nd	nd	0,85	0,03-1,8	0,06	tr-0,23
Methyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	nd	nd	0,03	0-0,1	tr	0-tr
Methylheptanoat	nd	nd	nd	nd	tr	0-tr
Ethyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
3-Methyl-2-buten-1-ol	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
Ethyl-2-hydroxypropanoat	nd	nd	tr	0-0,01	tr	0-tr
1-Hexanol	tr	0-0,06	tr	0-0,01	tr	0-tr
Methyl-3-hydroxy-3-methylbutanoat	nd	nd	0,01	0-0,04	nd	nd
Z-3-Hexenol	nd	nd	0,01	0-0,04	nd	nd
Methyloctanoat	nd	nd	tr	0-0,04	nd	nd
Nonanal	nd	nd	tr	0-0,02	tr	0-tr
Methyl-(methylthio)-acetat	nd	nd	0,01	0-0,05	nd	nd
3-(Methylthio)-propanal	0,02	0-0,05	0,02	tr-0,05	tr	0-0,06
Furfural	0,76	0,14-5,3	0,45	0,02-2,0	0,17	tr-1,3
Essigsäure	0,06	0,01-0,2	0,06	0-0,33	0,03	0-0,34
Methyl-3-hydroxybutanoat	nd	nd	0,02	0-0,07	tr	0-tr
2,5-Dimethyl-3(2H)-furanon	nd	nd	0,06	0-0,24	0,15	tr-0,75
Furylmethylketon	0,02	0-0,25	tr	0-0,02	tr	0-0,03
Dimethylmalonat	0,02	0-0,08	0,11	0-0,40	tr	0-tr

2,3-Butandiol	nd	nd	0,04	0-0,13	0,08	0-0,50
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	0,1	0-0,5	0,55	0,03-2,2	0,01	tr-0,03
Methyl-3-acetoxybutanoat	nd	nd	0,04	0-0,1	tr	0-tr
Ethyl-3-(methylthio)-propanoat	nd	nd	0,13	0-0,4	0,01	0-0,05
5-Methylfurfural	0,08	0-0,8	nd	nd	tr	0-0,04
Ethyl-3-acetoxybutanoat	nd	nd	tr	0-tr	nd	nd
2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanon	tr	0-0,01	0,11	0-0,4	tr	0-0,01
γ -Butyrolacton	nd	nd	0,08	0-0,20	0,03	0-0,06
Methylbenzoat	nd	nd	tr	0-tr	nd	nd
Buttersäure	nd	nd	tr	0-0,02	tr	0-tr
Phenylacetaldehyd	0,02	0-0,08	0,03	0-0,17	0,01	0-0,13
Methyl-3-hydroxyhexanoat	nd	nd	0,04	0-0,11	tr	0-tr
Furfurylalkohol	0,02	0-0,02	tr	0-0,03	tr	0-0,02
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,02	0-0,07	0,03	0-0,05	tr	0-tr
γ -Hexalacton	nd	nd	0,23	0-0,87	0,02	tr-0,05
Methyl-3-acetoxyhexanoat	0,06	0-0,3	0,05	0-0,11	tr	0-0,3
3-(Methylthio)-1-propanol	nd	nd	0,03	0-0,09	0,01	0-0,08
Ethyl-3-acetoxyhexanoat	nd	nd	0,01	0-0,04	tr	0-tr
δ -Hexalacton	nd	nd	0,08	0-0,36	0,02	0-0,04
Methyl-5-acetoxyhexanoat	0,05	0-0,25	0,09	0-0,25	tr	0-tr
Ethyl-5-acetoxyhexanoat	nd	nd	0,01	0-0,02	tr	0-tr
γ -Octalacton	tr	0-0,03	0,07	0-0,37	tr	0-0,01
2-Phenylethanol	0,07	0-0,5	0,04	0-0,06	0,01	0-0,07
Methyl-5-acetoxyoctanoat	nd	nd	tr	0-0,01	tr	0-tr
δ -Octalacton	nd	nd	0,03	0-0,13	tr	0-0,02

7 Anhang

Maltol	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-tr
3-Hydroxy-(2H)-pyran-2-on	nd	nd	0,33	0-1,7	nd	nd
4,4-Dimethyl-4-hydroxy-2(3H)-furanon	nd	nd	tr	0-0,03	0,02	0-0,09
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon	tr	0-0,03	1,0	0-3,5	0,3	0-1,0
γ -Decalacton	nd	nd	0,01	0-0,06	tr	tr
δ -Decalacton	nd	nd	tr	0-0,02	nd	nd
4-Vinylguajacol	0,07	0-0,2	0,04	0-0,23	0,02	0-0,19
γ -Dodecalacton	nd	nd	tr	0-tr	tr	0-0,02
4-Vinylphenol	nd	nd	0,07	tr-0,19	0,03	0-0,20
δ -Dodecalacton	nd	nd	tr	0-0,01	tr	0-tr
5-(Hydroxymethyl)-furfural	nd	nd	0,09	0-0,45	0,02	0-0,06

tr = < 0,01 mg/l

nd = nicht detektiert

Tabelle A-3. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Ananas-Recovery-Aromen (SGF, n=3) und (b) Ananas-Recovery-Aromen (Industrie, n=8). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Ethylpropanoat	0,11	0-0,35	0,97	0-3,5
Ethyl-2-methylpropanoat	nd	nd	0,36	0-1,5
3-Methyl-2-butanon	nd	nd	nd	nd
2-Pentanon	nd	nd	nd	nd
Propylacetat	nd	nd	2,1	0-9,2
Methylbutanoat	27	0-72	2,7	0-10,4
Ethyl-2-propenoat	nd	nd	0,02	0-0,1
Methyl-2-methylbutanoat	200	0-600	16,6	0-74
2-Methyl-3-buten-2-ol	3,9	0-12	0,35	0-1,7
Ethylbutanoat	36	0-110	5,1	0,2-12,6
Ethyl-2-methylbutanoat	100	0-300	11	0,6-41
Ethyl-3-methylbutanoat	nd	nd	0,2	0-1,0
Butylacetat	nd	nd	0,05	0-0,22
2-Methyl-1-propanol	150	24-400	0,6	0-1,6
Methylpentanoat	nd	nd	0,13	0-0,35
3-Pentanol	nd	nd	nd	nd
Diethylcarbonat	7,8	0-23	0,07	0,02-1,2
2-Pentanol	0,3	0-0,8	nd	nd
2-/3-Methylbutylacetat	81	0-240	2,5	0,06-4,1
1-Butanol	nd	nd	0,13	0-0,4
Ethylpentanoat	nd	nd	0,22	tr-0,43
Ethyl-2-butenolat	4,0	0-12	0,14	0-0,5
Methylhexanoat	577	0-1732	7,2	0,08-18,5
Limonen	4,5	0-11,8	0,02	0-0,08
2-/3-Methyl-1-butanol	49	0-95	4,6	0,2-8,6
Ethylhexanoat	370	0-1110	8,6	0,27-21
Z-Ocimen	nd	nd	0,6	0-2,9
3-Methyl-2-buten-1-ylacetat	nd	nd	0,16	0-0,38
Methyl-Z-3-hexenoat	nd	nd	0,12	0-0,35
Methyl-E-3-hexenoat	nd	nd	0,19	0-0,54
Hexylacetat	nd	nd	tr	0-0,03
3-Hydroxy-2-butanon	nd	nd	1,7	0,95-2,9
Methyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	3,8	0-11,4	4,4	0,29-18
Methylheptanoat	nd	nd	tr	0-0,04
Ethyl-2-hydroxy-2-methylbutanoat	nd	nd	0,63	0-2,5
Ethyl-E-3-hexenoat	nd	nd	0,28	0-0,72
Methyl-2-hydroxypropanoat	nd	nd	0,02	0-0,1
3-Methyl-2-buten-1-ol	nd	nd	0,1	0-0,25
Ethylheptanoat	4,9	0-15	nd	nd
Ethyl-2-hydroxypropanoat	nd	nd	0,04	0-0,18
1-Hexanol	0,14	0-0,42	0,34	0,01-1,4
Methyl-3-hydroxy-3-methylbutanoat	nd	nd	0,39	0-1,8
Z-3-Hexenol	0,76	0-1,5	0,57	0-2,7
Methyloctanoat	26	0-77	0,09	0-0,27

7 Anhang

Nonanal	nd	nd	0,16	0-0,8
Methyl-(methylthio)-acetat	nd	nd	0,31	0-1,1
3-(Methylthio)-propanal	nd	nd	nd	nd
Methyl-Z-3-octenoat	nd	nd	nd	nd
Ethyl-octanoat	36	0-107	0,07	0-0,33
Ethyl-(methylthio)-acetat	nd	nd	0,42	0,03-1,5
Essigsäure	1,1	0-2,2	nd	nd
Methyl-3-hydroxybutanoat	nd	nd	0,17	0-0,62
Ethyl-Z-3-octenoat	11	0-34	nd	nd
Dimethylmalonat	nd	nd	5,5	0-25
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	255	5,3-750	27	1-58
Methyl-3-acetoxybutanoat	nd	nd	3,1	0-14
Ethyl-3-(methylthio)-propanoat	235	0,5-700	33	1,4-81
Ethyl-3-acetoxybutanoat	nd	nd	3,5	0-17
2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanon	nd	nd	14	1-58
γ -Butyrolacton	nd	nd	0,07	0-0,36
3-(Methylthio)-propylacetat	7,1	0-21	0,3	0-0,45
Methyl-Z-4-decenoat	3,2	0-9,6	0,23	0-1,2
Methyl-3-hydroxyhexanoat	9,0	0-27	2,7	0,1-11
Ethyldecanoat	6,1	0-18	nd	nd
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	1,2	0-3,7	2,5	0,1-7,1
γ -Hexalacton	nd	nd	16	0,5-74
Methyl-3-acetoxyhexanoat	11	0-18	5,9	0,3-13
3-(Methylthio)-1-propanol	nd	nd	0,35	0-1,4
Ethyl-5-oxohexanoat	nd	nd	0,5	0-2,4
Ethyl-3-acetoxyhexanoat	3,4	0-5,9	1,9	0,03-5,5
Ethylphenylacetat	nd	nd	0,04	0-0,16
δ -Hexalacton	nd	nd	0,9	0-4,3
Methyl-5-acetoxyhexanoat	3,5	0-6,9	1,0	0-2,9
γ -Heptalacton	nd	nd	1,2	0-6,2
Ethyl-5-acetoxyhexanoat	nd	nd	3,8	0,2-13
Methyl-5-hydroxyhexanoat	nd	nd	1,4	0-7,0
Methyl-3-hydroxyoctanoat	nd	nd	0,62	0-3,1
γ -Octalacton	nd	nd	10,3	0-19
2-Phenylethanol	nd	nd	0,38	0-1,9
Methyl-5-acetoxyoctanoat	nd	nd	0,62	0-3,0
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon	nd	nd	1,6	0-7,5
γ -Decalacton	nd	nd	1,2	0-5,9
δ -Decalacton	nd	nd	0,01	0-0,04
γ -Dodecalacton	nd	nd	1,1	0-5,6
δ -Dodecalacton	nd	nd	tr	0-0,03

tr = < 0,01 mg/l

nd = nicht detektiert

Tabelle A-4. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in Ananassaftkonzentrat (SGF, n=6) und (b) Ananassaftkonzentrat (Industrie, n=6). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
2-Methyl-3-buten-2-ol	0,21	0,08-0,38	0,06	0-0,16
2-Methyl-1-propanol	0,05	0-0,27	tr	0-0,02
2/3-Methyl-1-butanol	0,09	0-0,43	0,01	0-0,07
Limonen	0,05	0-0,22	tr	0-0,02
Ethylhexanoat	0,03	0-0,15	tr	0-tr
Ethenyl-2-methyl-2-propenoat	0,30	0-1,3	0,12	0-0,35
Acetoin	0,01	0-0,03	0,06	0-0,14
6-Methyl-5-hepten-2-on	0,01	0-0,03	tr	0-tr
3-(Methylthio)-propanal	0,13	0,05-0,22	0,09	0,01-0,17
Furfural	2,6	1,4-4,0	2,23	0,05-6,5
Essigsäure	0,42	0-1,87	0,25	0-0,73
2,5-Dimethyl-3(2H)-furanon	0,22	0-0,77	0,54	0,02-1,6
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	0,05	0-0,21	0,03	0-0,11
α -Copaen	0,04	0-0,17	0,01	0-0,06
5-Methylfurfural	0,06	0-0,18	0,04	0-0,012
Phenylacetaldehyd	0,27	0,02-0,59	0,19	tr-0,43
γ -Hexalacton	nd	nd	0,06	0-0,26
Methyl-3-acetoxyhexanoat	0,05	0-0,23	0,01	0-0,08
δ -Hexalacton	nd	nd	0,07	0-0,034
3-Hydroxy-3(2H)-pyranon	0,01	0-0,06	0,01	0-0,08
Pantolacton	nd	nd	0,06	0-0,18
Furaneol [®]	0,06	0-0,15	2,6	0-13,4
4-Vinylguajacol	0,52	0,41-0,76	0,39	0-1,18
4-Vinylphenol	0,06	0-0,28	0,24	0,03-0,64
5-(Hydroxymethyl)-furfural	nd	nd	0,11	0-0,35

tr = < 0,01 mg/kg

nd = nicht detektiert

Tabelle A-5. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in Ananas-konfitüren (Handelsware, n=6). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
Propylacetat	0,06	0-0,11
3-Pentanol	0,01	0-0,04
2-Pentanol	0,03	tr-0,13
Ethylhexanoat	tr	0-tr
Acetoin	0,04	tr-0,14
2-Methyl-2(3H)-furanon	tr	0-0,03
Furfural	0,25	0,08-0,58
2,5-Dimethyl-3(2H)-furanon	0,02	tr-0,05
Methyl-3-(methylthio)-propanoat	tr	0-0,02
γ -Butyrolacton	0,01	tr-0,02
Methyl-3-hydroxyhexanoat	tr	0-0,02
Furfurylalkohol	0,06	0,02-0,1
γ -Hexalacton	0,01	0-0,04
Methyl-3-acetoxyhexanoat	tr	0-0,02
δ -Hexalacton	tr	0-0,02
Furaneol [®]	0,02	0-0,06
5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,4	0,15-1,1

tr = < 0,01 mg/kg

Tabelle A-6. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in Passionsfruchtsaft (SGF, n=4). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Ethylbutanoat	2,2	1,4-2,7
2-Methyl-3-buten-2-ol	1,5	1,2-2,2
Butylacetat	tr	0-0,02
Hexanal	0,02	0-0,03
2-Methyl-1-propanol	0,10	0-0,26
1-Butanol	0,08	0,05-0,1
Limonen	0,7	0,5-1,2
<i>E</i> -2-Hexenal	0,11	0-0,28
Ethylhexanoat	1,4	0-2,6
Hexylacetat	0,34	0-0,63
1-Hexanol	2,6	0,75-4,4
<i>Z</i> -3-Hexenol	0,44	0,21-0,81
Hexylbutanoat	1,2	0,5-2,1
Ethyl-octanoat	0,43	0-0,79
Essigsäure	0,24	0-0,94
Furfural	1,1	0,85-1,6
Benzaldehyd	3,7	1,7-5,7
Linalool	1,6	1,08-2,0
1-Octanol	0,74	0,46-1,0
Hexylhexanoat	5,7	1,2-7,9
Phenylacetaldehyd	0,11	0,07-0,15
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,22	0-0,65
α -Terpineol	1,7	1,0-2,7
1-Decanol	0,29	0,19-0,44
β -Citronellol	0,05	0-0,19
Nerol	0,07	0-0,13
β -Damascenon	0,04	0-0,06
Geraniol	0,19	0-0,33
β -Ionon	0,14	0,12-0,17
Ethylcinnamat	0,15	0,14-0,16

tr = <0,01mg/l

Tabelle A-7. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Passionsfrucht-Recovery-Aroma (SGF, n=6) und (b) in Passionsfrucht-Recovery-Aroma (Industrie, n=4). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Ethylbutanoat	14	3,0-21	109	13-360
2-Methyl-3-buten-2-ol	3,0	0-16	0,05	0-0,2
Butylacetat	0,05	0-0,18	1,3	0-4,5
Hexanal	0,01	0-0,08	0,8	0-2,9
2-Methyl-1-propanol	2,6	0,64-7,0	1,0	0-2,5
1-Butanol	1,3	0-4,0	0,6	0-1,5
Limonen	3,6	0-14	5,1	0-19
<i>E</i> -2-Hexenal	0,18	0-0,40	0,1	0-0,4
Ethylhexanoat	9,3	1,5-17	170	9,3-600
Hexylacetat	0,72	0-2,3	18	1-63
1-Hexanol	21,8	8,5-56	60	6,2-180
<i>Z</i> -3-Hexenol	3,7	0,8-10	12	0,8-37
Hexylbutanoat	0,24	0-0,8	48	0-180
Ethyl-octanoat	0,21	0-0,6	24	0-88
Essigsäure	0,05	0-0,3	nd	nd
Furfural	2,2	0-9,1	0,1	0-0,4
Benzaldehyd	3,5	0,09-14	18	0,6-66
Linalool	15	3,9-44	26	1,8-85
1-Octanol	14	1,6-44	26	2,8-76
Hexylhexanoat	0,20	0-1,2	117	1,0-420
Phenylacetaldehyd	0,28	0-1,1	0,2	0-0,3
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,15	0-0,6	15	0,6-54
α -Terpineol	6,9	1,0-19	9,0	1,2-24
1-Decanol	1,4	0-5,1	1,6	0-3,5
β -Citronellol	0,24	0-1,1	8,0	0-31
Nerol	0,71	0-2,0	1,5	0-4,0
β -Damascenon	0,19	0-0,08	0,25	0-0,75
Geraniol	2,0	0,3-5,4	5,7	0-19
Furaneol®	7,0	0-42	10,4	0-42
β -Ionon	nd	nd	3,4	0-13,5
Ethylcinnamat	nd	nd	3,6	0-13

nd = nicht detektiert

Tabelle A-8. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in Passionsfruchtsaftkonzentrat (SGF, n=4). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
Ethylbutanoat	0,13	0-0,51
2-Methyl-3-buten-2-ol	4,6	3,5-5,2
Hexanal	0,04	0,03-0,07
2-Methyl-1-propanol	0,01	0-0,03
1-Butanol	0,02	0-0,03
Limonen	1,3	0,08-4,4
<i>E</i> -2-Hexenal	0,28	0-0,59
Ethylhexanoat	1,4	0-4,6
Hexylacetat	0,16	0-0,45
1-Hexanol	0,37	0,19-0,70
<i>Z</i> -3-Hexenol	0,12	0,05-0,25
Hexylbutanoat	1,4	0-2,48
Ethyl-octanoat	0,97	0-3,88
Furfural	5,2	2,2-8,5
Benzaldehyd	3,7	2,7-4,5
Linalool	1,6	0,58-3,4
1-Octanol	0,26	0,02-0,87
Hexylhexanoat	12,1	0,36-22,7
Phenylacetaldehyd	0,73	0,25-1,4
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,10	0-0,42
α -Terpineol	2,1	1,1-4,5
1-Decanol	0,44	0-1,3
β -Citronellol	0,01	0-0,04
Nerol	0,12	0,07-0,20
β -Damascenon	0,03	0-0,07
Geraniol	0,42	0,08-1,1
β -Ionon	0,22	0,16-0,37
Ethylcinnamat	0,02	0-0,07

Tabelle A-9. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromaomponenten in (a) Pfirsichpüree (SGF, n=4) und (b) Pfirsichpüreekonzentrat (SGF, n=2). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
2-Methyl-3-buten-2-ol	0,04	0-0,08	nd	nd
Hexanal	nd	nd	0,02	0-0,05
<i>E</i> -2-Hexenal	0,12	0,04-0,18	0,03	0-0,05
1-Hexanol	0,10	0,04-0,26	0,04	0-0,07
<i>Z</i> -3-Hexenol	0,12	0,05-0,28	nd	nd
Nonanal	0,06	0,03-0,08	nd	nd
<i>E</i> -2-Hexenol	0,08	0,05-0,11	0,06	0,06-0,06
Essigsäure	0,16	0-0,36	nd	nd
Furfural	1,3	0,56-2,1	0,68	0,67-0,69
Benzaldehyd	0,26	0,14-0,34	8,0	6,6-9,5
Linalool	0,03	0,01-0,07	0,89	0,15-1
Phenylacetaldehyd	0,05	0,03-0,06	0,09	0,07-0,11
3-Methylbuttersäure	3,4	2,2-4,7	10	8,8-11
γ -Hexalacton	0,08	0-0,12	0,06	0-0,12
β -Damascenon	tr	0-0,02	0,03	0-0,05
γ -Octalacton	0,04	0-0,06	0,02	0-0,04
γ -Decalacton	1,1	0,64-1,3	0,38	0-0,77
δ -Decalacton	0,20	0-0,46	1,4	0,48-2,3
γ -Dodecalacton	0,08	0-0,17	0,13	0-0,26

nd = nicht detektiert

Tabelle A-10. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Pfirsichsaftkonzentrat (SGF, n=2) und (b) Pfirsichsaftkonzentrat (Industrie, n=3). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannweiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
2-Methyl-3-buten-2-ol	0,07	0,02-0,1	0,5	0-1,3
Hexanal	tr	tr-0,01	0,06	0-0,14
<i>E</i> -2-Hexenal	0,02	0-0,03	0,08	0-0,13
1-Hexanol	0,01	0-0,03	0,17	0-0,47
<i>Z</i> -3-Hexen-1-ol	nd	nd	0,07	0-0,2
Nonanal	nd	nd	0,03	0-0,05
<i>E</i> -2-Hexenol	0,01	0-0,02	0,17	0-0,5
Essigsäure	0,5	0,2-0,9	0,8	0,5-1,4
Furfural	17	8-26	62	3-170
Benzaldehyd	0,1	0,04-0,15	0,2	0,18-0,24
Linalool	0,07	0,03-0,1	0,13	0-0,2
Phenylacetaldehyd	0,3	0,2-0,3	0,6	0,04-1,4
3-Methylbuttersäure	8,3	2,4-14	13	4,8-27
γ -Hexalacton	nd	nd	0,02	0-0,05
β -Damascenon	0,02	0-0,03	0,01	0-0,03
γ -Decalacton	nd	nd	0,1	0-0,2
δ -Decalacton	nd	nd	0,1	0-0,2

tr = > 0,01mg/l

nd = nicht detektiert

Tabelle A-11. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Pfirsich-Recovery-Aroma (SGF n=3) und (b) in Pfirsich-Recovery-Aroma (Industrie, n=4). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannweiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Butylacetat	nd	nd	20	0-78
Hexanal	12,4	0-24	2,9	0-11
2-Methyl-1-propanol	nd	nd	7,5	0,5-17
1-Butanol	nd	nd	46	0,3-172
2-/3-Methyl-1-butanol	nd	nd	29	5,5-67
<i>E</i> -2-Hexenal	41	0-84	13	0-48
1-Hexanol	54	0,85-87	61	19-118
<i>Z</i> -3-Hexenol	9,8	2,7-14	31	2,3-100
Nonanal	0,21	0-0,60	0,04	0-0,14
<i>E</i> -2-Hexenol	36	2,7-57	24	8-49
Essigsäure	0,13	0,40	1,4	0-5
Furfural	0,93	0-2,0	11,3	1,2-23
Benzaldehyd	85	0,4-133	146	2,2-480
Linalool	5,4	0,2-15	24	0-84
Phenylacetaldehyd	0,30	0-0,91	nd	nd
3-Methylbuttersäure	1,6	0-4,4	300	0-1090
γ -Hexalacton	0,12	0-0,6	50	0-193
β -Damascenon	0,06	0-0,17	1,0	0-4,4
γ -Octalacton	0,12	0-0,31	0,7	0-2,8
β -Ionon	0,08	0,20	0,1	0-0,35
γ -Decalacton	9,0	4,0-12	84	0-295
δ -Decalacton	0,05	0-0,2	2,3	0-9
γ -Dodecalacton	0,34	0-0,86	7,2	0-25

nd = nicht detektiert

Tabelle A-12. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Orangensaft (single strength SGF, n=54), (b) Orangendirektsaft (Handelsware, n=7) und (c) Orangensaft aus Konzentrat (Handelsware, n=11). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)		(c)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
2-Methyl-3-buten-2-ol	0,61	0-4,4	0,91	0-1,8	0,93	0-1,8
α -Pinen	5,5	0,02-27	1,2	0-2,4	0,38	0-1,3
Ethylbutanoat	0,21	0-2,00	0,47	0-1,6	0,06	0-0,25
Ethyl-2-methylbutanoat	0,01	0-0,61	nd	nd	nd	nd
Hexanal	0,27	0-0,90	0,13	0-0,36	0,02	0-0,05
Sabinen	0,09	0-0,67	nd	nd	tr	0-0,01
Z-3-Hexenal	tr	0-0,02	nd	nd	nd	nd
δ -3-Caren	0,92	0-2,8	0,38	0-0,97	0,17	0,05-0,50
β -Myrcen	16,3	1,1-56	4,6	2,0-6,3	2,1	0,63-5,3
Limonen	290	2,6-781	154	96-229	86	18-220
γ -Terpinen	0,92	0,02-7,0	0,35	0,19-0,51	0,15	0,06-0,29
Octanal	1,5	0-5,5	0,49	0-1,0	0,22	0-0,64
3-Methyl-2-buten-1-ol	0,36	0,11-2,1	0,19	0-0,27	0,19	0,01-0,25
Z-3-Hexenol	0,21	0-2,5	0,06	0-0,10	tr	0-0,02
Nonanal	0,29	0-1,7	0,13	0-0,23	0,10	0-0,31
Furfural	1,1	0,14-10	1,8	0,78-4,0	0,99	0,02-2,8
Citronellal	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Decanal	2,1	0-21	0,76	0,36-1,2	0,88	0,08-2,0
Linalool	4,9	0,03-22	2,3	0,72-5,0	1,9	1,02-4,0
4-Terpinenol	3,0	0,04-19	1,6	0,95-2,0	0,78	0,41-1,4
Undecanal	0,04	0-0,73	nd	nd	0,01	0-0,9
β -Terpineol	1,7	0-11	1,0	0,48-2,2	0,52	0,02-1,2
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	1,4	0-7,7	0,96	0-1,8	0,09	0-0,17
α -Terpineol	10,8	0-79	7,2	3,3-18,6	4,5	0,81-9,5
Dodecanal	0,14	0-1,6	0,07	0-0,16	0,12	0-0,36
Valencen	11,6	1,9-73	6,7	3,8-9,4	2,4	0-5,8

7 Anhang

Carvon	0,07	0-1,4	0,19	0-0,50	0,14	0-0,33
δ-Cadinen	1,2	0-4,9	0,47	0-0,77	0,67	0-1,4
Perillaldehyd	0,20	0-2,7	0,12	0-0,37	0,14	0-0,28
Nerol	0,21	0-3,1	0,06	0-0,15	0,08	0-0,16
<i>trans</i> -Carveol	0,92	0,22-6,4	0,65	0,40-0,89	0,63	0,10-0,85
Geraniol	0,38	0-3,7	0,21	0,11-0,51	0,16	0,06-0,37
<i>cis</i> -Carveol	0,19	0-0,81	0,14	0,03-0,24	0,17	0-0,27
4-Vinylguajacol	0,69	0-2,8	0,93	0,37-2,2	0,69	0-1,7
β-Sinensal	0,21	0-1,5	0,10	0-0,28	0,15	0-0,35
Nootkaton	1,4	0,21-6,2	0,97	0,75-1,2	0,34	0-0,70

tr = <0,01mg/l

nd = nicht detektiert

Tabelle A-13. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Orange-Recovery-Aromen (SGF, n=33) und (b) Orange-Recovery-Aromen (Industrie, n=7). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
2-Methyl-3-buten-2-ol	35,6	0-180	23,3	10-38
α -Pinen	0,42	0-14	nd	nd
Ethylbutanoat	12,6	0-55	10,2	0-37
Ethyl-2-methylbutanoat	0,04	0-0,63	0,01	0-0,07
Hexanal	17,2	0-104	13,8	5,3-33
Sabinen	0,56	0-16	nd	nd
Z-3-Hexenal	14,7	0-136	3,00	0-8,4
δ -3-Caren	nd	nd	nd	nd
β -Myrcen	2,1	0-48	nd	nd
Limonen	109	0-1746	0,16	0-0,84
γ -Terpinen	nd	nd	nd	nd
Octanal	12,2	0-65	6,8	0,80-16
3-Methyl-2-buten-1-ol	0,50	0-5,0	1,3	0-5,8
Z-3-Hexenol	18,0	2,0-104	8,5	4,2-13
Nonanal	1,05	0-10	0,32	0-0,67
Furfural	0,76	0-3,9	0,22	0-1,5
Citronellal	0,22	0-2,3	nd	nd
Decanal	1,4	0-18	0,16	0-0,97
Linalool	132	0-907	62,7	28-84
4-Terpinenol	9,2	0,60-39	6,2	3,3-10
Undecanal	nd	nd	nd	nd
β -Terpineol	0,28	0-2,4	0,30	0-0,94
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	20,8	0-114	18,9	2,9-34
α -Terpineol	42,3	0-287	19,9	11-25
Dodecanal	nd	nd	nd	nd
Valencen	1,2	0-21	nd	nd
Carvon	8,7	0-193	1,2	0-3,2
δ -Cadinen	nd	nd	nd	nd
Perillaldehyd	1,8	0-5,7	1,3	0,45-2,3
Nerol	2,7	0-26	1,2	0,49-2,0
<i>trans</i> -Carveol	7,2	0-86	3,1	1,6-5,4
Geraniol	2,0	0-27	1,2	0,70-2,3
<i>cis</i> -Carveol	2,3	0-36	0,67	0,30-1,1
4-Vinylguajacol	nd	nd	nd	nd
β -Sinensal	nd	nd	nd	nd
Nootkaton	0,60	0-6,7	0,27	0-1,5

nd = nicht detektiert

Tabelle A-14. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in Orangensaftkonzentraten (SGF, n=54). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
2-Methyl-3-buten-2-ol	7,2	0,80-38
α -Pinen	0,10	0-1,9
Hexanal	0,23	0-0,9
δ -3-Caren	0,03	0-0,60
β -Myrcen	0,33	0-5,8
Limonen	13,7	0,11-112
γ -Terpinen	0,02	0-0,27
Octanal	0,07	0-0,27
3-Methyl-2-buten-1-ol	1,7	0-12
Nonanal	0,02	0-0,11
Furfural	5,8	0,30-30
Decanal	0,17	0-0,69
Linalool	0,15	0-4,3
β -Terpineol	0,02	0-0,68
Ethyl-3-hydroxyhexanoat	0,06	0-1,2
α -Terpineol	0,50	0-16
Valencen	11,6	0-79
δ -Cadinen	1,04	0-10
Perillaldehyd	0,06	0-0,46
<i>trans</i> -Carveol	4,3	0,17-40
<i>cis</i> -Carveol	0,51	0-1,6
4-Vinylguajacol	3,9	0-13
β -Sinensal	0,05	0-1,06
Nootkaton	1,1	0-4,1

Tabelle A-15. Ermittelte Gehalte [mg/ml] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Essenzöl (SGF, n=42), (b) Schalenöl (SGF, n=56) und (c) Esenzöl (Industrie, n=45). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)		(c)	
	Mittelwert mg/ml	Spannbreite mg/ml	Mittelwert mg/ml	Spannbreite mg/ml	Mittelwert mg/ml	Spannbreite mg/ml
α -Pinen	10,0	5,9-15,8	11,4	0-18	9,5	3,9-17,6
Ethylbutanoat	0,33	0-1,3	nd	nd	0,52	0-7,3
Hexanal	0,16	0-0,5	nd	nd	0,16	0-0,50
Sabinen	4,4	0-6,6	6,0	0-17	3,6	1,1-5,5
Z-3-Hexenal	0,17	0-0,8	nd	nd	0,03	0-0,21
δ -3-Caren	1,7	0-3,5	2,2	0-21	1,5	0-2,5
β -Myrcen	28,7	10-39,5	32	23-50	22,8	3,8-31,8
Limonen	1050	100-1500	1150	10-1800	950	40-1400
γ -Terpinen	0,73	0-22	0,10	0-3,0	0,06	0-1,1
Octanal	2,7	0-7,2	2,9	0-7,3	2,2	0,38-6,6
Nonanal	0,59	0-1,1	0,77	0-5,4	0,55	0-1,8
Citronellal	0,72	0-1,8	0,88	0-1,5	0,69	0-3,70
Decanal	3,2	0-7,8	4,0	0-8	3,7	0,30-15
Linalool	8,4	2,5-18	7,2	2-16	6,6	0,80-22
4-Terpinenol	0,30	0-1,8	0,02	0-0,6	0,13	0-2,6
Undecanal	0,05	0-0,3	0,10	0-0,3	0,06	0-1,2
α -Terpineol	1,2	0-3,6	1,1	0-10	1,1	0-3,9
Dodecanal	0,09	0-0,4	0,40	0-1,2	0,22	0-2,7
Valencen	8,3	0-30	0,54	0-3,4	8,5	0-34
Carvon	0,49	0-19	nd	nd	0,07	0-3,0
δ -Cadinen	0,59	0-4,4	0,88	0-3,1	1,4	0-4,2
Perillaldehyd	0,32	0-1,7	0,25	0-3,8	0,14	0-1,3
Nerol	0,02	0-0,1	0,02	0-0,11	0,03	0-0,40
<i>trans</i> -Carveol	0,55	0-12	0,01	0-0,20	0,53	0-5,0
Geraniol	0,01	0-0,1	0,01	0-0,2	0,02	0-0,3
<i>cis</i> -Carveol	0,22	0-4,5	0,01	0-0,2	0,23	0-2,7
β -Sinensal	0,05	0-0,5	0,20	0-1,6	0,07	0-1,20
Nootkaton	0,16	0-1,5	0,06	0-0,35	0,21	0-1,0

nd = nicht detektiert

Tabelle A-16. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Apfelsaft (single strength SGF, n=33), (b) Apfeldirektsaft (Handelsware, n=19) und (c) Apfelsaft aus Konzentrat (Handelsware, n=8). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)		(c)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Propylacetat	0,03	0-0,11	0,02	0-0,05	0,01	0-0,04
1-Propanol	0,11	0-0,30	0,1	0-0,6	0,05	0-0,2
Ethylbutanoat	0,14	0-0,33	0,1	0-0,2	0,04	0-0,1
Ethyl-2-methylbutanoat	0,05	0-0,15	0,03	0-0,07	0,01	0,04
Butylacetat	0,49	0-1,7	0,1	tr-0,4	0,09	0-0,2
Hexanal	0,23	0-0,58	0,09	0-0,3	0,08	0-0,3
2-Methyl-1-propanol	0,19	0-0,46	0,08	0-0,2	0,1	0-0,4
1-Butanol	2,6	0,1-4,7	1,8	1,0-3,2	0,9	0,03-3,6
<i>E</i> -2-Hexenal	0,92	0-3,0	0,3	0-0,8	0,3	0-1,0
Hexylacetat	0,13	0-0,70	0,05	0-0,1	0,04	0-0,1
1-Hexanol	2,9	0,06-5,9	1,8	0,8-3,2	1,4	0,2-3,4
<i>Z</i> -3-Hexenol	0,14	0-0,85	0,04	0,01-0,1	0,04	0-0,1
<i>E</i> -2-Hexenol	1,14	0,01-3,4	0,4	tr-1,0	0,3	0-0,9
Essigsäure	0,44	0-5,3	0,03	0-0,3	0,05	0-0,2
Furfural	1,6	0-25	1,2	0,1-7,7	2,0	0,8-5,6
Benzaldehyd	0,06	0-0,29	0,02	tr-0,08	0,03	0-0,1
Buttersäure	0,15	0-1,2	0,02	0-0,2	0,02	0-0,09
Phenylacetaldehyd	0,05	0-1,1	0,01	0-0,02	0,04	0-0,1
2-Methylbuttersäure	0,69	0-5,9	0,1	0-0,6	0,3	0,03-0,9
β -Damascenon	0,04	0-0,14	0,02	0-0,03	0,04	tr-0,1
2-Phenylethanol	0,15	0-2,3	0,09	0-0,2	0,06	0-0,2
1,3-Octandiol	0,20	0-5,5	0,09	0-0,3	0,2	0-0,8
4-Vinylguajacol	0,04	0-0,83	0,03	tr-0,08	0,07	0-0,2

tr = < 0,01 mg/l

Tabelle A-17. Ermittelte Gehalte [mg/l] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Apfel-Recovery-Aromen (SGF, n=34) und (b) Apfel-Recovery-Aromen (Industrie, n=27). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind jeweils die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l	Mittelwert mg/l	Spannbreite mg/l
Propylacetat	4,9	0-27	1,56	0-6,5
1-Propanol	13	0-43	9,0	0-27
Ethylbutanoat	12	0-37	18	0-85
Ethyl-2-methylbutanoat	4,0	0-25	4,5	0-49
Butylacetat	35	0-165	28	0-125
Hexanal	22	0-95	32	0-207
2-Methyl-1-propanol	22	0-175	16	0-74
1-Butanol	166	17-373	208	0-1130
<i>E</i> -2-Hexenal	116	0-466	102	0-610
Hexylacetat	10	0-35	12	0-134
1-Hexanol	264	47-685	270	1,0-1235
<i>Z</i> -3-Hexenol	14	0-79	10	0,66-79
<i>E</i> -2-Hexenol	103	0-299	84	10-390
Essigsäure	0,43	0-2,3	0,06	0-0,88
Furfural	1,0	0-21	0,12	0-2,8
Benzaldehyd	4,9	0-45	4,7	0-64
Buttersäure	nd	tr	0,09	0-0,99
Phenylacetaldehyd	0,56	0-4,2	0,59	0-15
2-Methylbuttersäure	0,46	0-4,6	2,8	0-44
β -Damascenon	0,79	0-4,6	0,14	0-2,5
2-Phenylethanol	0,41	0-3,3	3,4	0-37
1,3-Octandiol	nd	nd	nd	nd
4-Vinylguajacol	nd	nd	nd	nd

tr = < 0,01 mg/l

nd = nicht detektiert

Tabelle A-18. Ermittelte Gehalte [mg/kg] an ausgewählten Aromakomponenten in (a) Apfelsaftkonzentrat (SGF, n=37) und (b) Apfelsaftkonzentrat (Industrie, n=4). Zusätzlich zu den Mittelwerten sind die Spannbreiten angegeben.

Verbindung	(a)		(b)	
	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg	Mittelwert mg/kg	Spannbreite mg/kg
1-Propanol	0,01	0-0,18	0,01	0-0,04
Ethylbutanoat	tr	0-0,1	tr	0-tr
Butylacetat	tr	0-0,03	tr	0-0,01
Hexanal	0,02	0-0,11	tr	0-0,02
1-Butanol	0,09	0-0,48	0,86	0,04-3,2
<i>E</i> -2-Hexenal	0,02	0-0,14	0,13	0-0,51
1-Hexanol	0,05	0-0,26	1,2	0,03-4,6
<i>Z</i> -3-Hexenol	nd	tr	0,02	0-0,07
<i>E</i> -2-Hexenol	tr	0-0,06	0,24	0-0,96
Essigsäure	0,12	0-0,82	0,22	0-0,46
Furfural	10,9	2,4-56	21,4	2,9-48
Benzaldehyd	0,04	0-0,28	0,02	0-0,03
Buttersäure	0,01	0-0,08	0,13	0,04-0,26
Phenylacetaldehyd	0,36	0-1,5	0,19	0,07-0,37
2-Methylbuttersäure	1,0	0-2,8	2,7	1,2-6,3
β-Damascenon	0,19	0-0,58	0,05	0-0,12
1,3-Octandiol	0,55	0-1,7	0,13	0-0,54
4-Vinylguajacol	0,35	0-1,4	0,24	0,07-0,52

tr = < 0,01 mg/kg

nd = nicht detektiert

Anhang A-19

Prüfmuster: Aromen in wässriger Lösung**Datum:** _____**Prüfperson:** _____**Prüfaufgabe:** Prüfen Sie die vorgelegten Prüfproben durch **Riechen**. Notieren Sie die Nummer der Probe, die sich von den anderen beiden unterscheidet und beschreiben sie den Unterschied.

Proben-Nummern	Nummer der Probe, die sich von den beiden anderen unterscheidet bzw. kein Unterschied (k.U.)	Bemerkung
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		

Anhang A-20

Prüfmuster: Aromen in wässriger Lösung

Datum: _____

Prüfperson: _____

Prüfaufgabe: Prüfen Sie die vorgelegten Prüfproben durch **Schmecken**. Notieren Sie die Nummer der Probe, die sich von den anderen beiden unterscheidet und beschreiben sie den Unterschied.

Proben-Nummern	Nummer der Probe, die sich von den beiden anderen unterscheidet bzw. kein Unterschied (k.U.)	Bemerkung
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		
...../...../.....		

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Dissertation „Studien über technologiebedingte Veränderungen der Aromaprofile von Fruchtsäften“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher oder anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Erlangen, den

Sandra Eiß

Lebenslauf

Name	Sandra Elß
Anschrift	Geschwister-Scholl-Straße 3, 91058 Erlangen
Geburtsdatum	5. Juli 1978
Geburtsort	Fürth
Familienstand	ledig
Schulbildung	09/1985 bis 07/1989 Grundschule Veitsbronn 09/1989 bis 05/1998 Wolfgang-Borchert-Gymnasium Langenzenn
Studium	11/1998 bis 10/2002 Studium der Lebensmittelchemie an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen Abschluss: erstes Staatsexamen für Lebensmittelchemiker
Promotion	02/2003 bis 08/ 2005 Promotionsstudium an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Praktikum	12/2005 bis 05/2006 Praktikum am Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Erlangen Abschluss: zweites Staatsexamen zum staatlich geprüften Lebensmittelchemiker
Beruflicher Weg	seit 12/2006 Sachbearbeiterin am Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Erlangen im Sachbereich Spezielle Analytik, Bereich Pestizid-Rückstände