

Maj-Britt Babbel

**Analytische und sensorische
Untersuchungen geruchsrelevanter
Verbindungen im Verlauf des Prozesses zur
Gewinnung von Rübenzucker**



Cuvillier Verlag Göttingen

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Allgemeine Lebensmitteltechnologie

**Analytische und sensorische Untersuchungen
geruchsrelevanter Verbindungen im Verlauf des
Prozesses zur Gewinnung von Rübenzucker**

Maj-Britt Babbel

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Wilfried Schwab
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Engel
2. Univ.-Prof. Dr. Peter Schieberle

Die Dissertation wurde am 16.08.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 21.11.2007 angenommen.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2007

Zugl.: (TU) München, Univ., Diss., 2007

978-3-86727-469-2

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2007

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2007

Gedruckt auf säurefreiem Papier

978-3-86727-469-2

FÜR MEINE ELTERN

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Markwart Kunz danke ich für die interessante Aufgabenstellung und die freundliche Unterstützung während des gesamten Forschungszeitraumes.

Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Engel danke ich für die Betreuung, die anregenden fachlichen Diskussionen und den mir gelassenen Freiraum bei der Anfertigung dieser externen Doktorarbeit.

Großer Dank gilt Herrn Dr. Hanjo Puke und Herrn Dr. Dierk Martin für die Unterstützung und Hilfestellung während des gesamten Arbeitszeitraumes und das Überlassen des Arbeitsplatzes.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Willi Kundel für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie, die zahlreichen fachlichen Diskussionen und die stets gute Zusammenarbeit.

Ich danke Herrn Tillmann Dörr sowie dem gesamten Sensorik-Panel für die gewissenhafte Durchführung der humansensorischen Analysen und Frau Margit Arenz für die stets schnelle Bereitstellung dieser Ergebnisse.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Frau Dr. Márti Dregus für die fachliche Unterstützung. Weiterhin bedanke ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe instrumentelle Analytik für ihre Hilfsbereitschaft, allen Mitarbeitern der Südzucker AG ZAFES sowie allen ehemaligen und jetzigen Mitarbeitern des Lehrstuhls für allgemeine Lebensmitteltechnologie für ihre freundliche Unterstützung.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die mich während des Studiums und im Besonderen während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützten.

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung	1
1.1 Zuckergewinnung aus Zuckerrüben – technologischer Überblick	1
1.2 Chemische und sensorische Eigenschaften und Qualitätsmerkmale von Weißzucker.....	3
1.3 Geruch von Weißzucker – Stand des Wissens	5
1.4 Zielsetzung der Arbeit.....	8
2 Grundlagen.....	10
2.1 Aromastoffe	10
2.2 Geruchsempfinden und Sensorik	11
2.3 Analytik von Aromastoffen.....	13
2.3.1 Anreicherung flüchtiger Verbindungen	13
2.3.1.1 Gasphasenextraktion.....	13
2.3.1.2 Festphasenmikroextraktion	14
2.3.2 Trennung von Aromastoffen	16
2.3.3 Identifizierung flüchtiger Verbindungen.....	16
2.3.4 Sensorische Bewertung von Aromastoffen	18
2.3.4.1 Olfaktometrie.....	18
2.3.4.2 Charakterisierung der sensorischen Bedeutung	19
2.3.5 Quantifizierung	21
2.3.5.1 Interne und externe Kalibrierung.....	21
2.3.5.2 Akzeptable Abweichung	22
3 Experimenteller Teil	24
3.1 Materialien und Reagenzien	24
3.1.1 Untersuchungsmaterial.....	24
3.1.2 Chemikalien, Referenz- und Standardsubstanzen	25
3.2 Sensorische Analyse von Weißzuckerproben.....	28
3.3 Identifizierung von Aromastoffen	29
3.3.1 Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels Festphasenmikroextraktion	29
3.3.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen.....	31
3.3.3 Aromaverdünnungsanalyse	32

3.4 Quantifizierung	32
3.4.1 SPME unter Einsatz eines internen Standards.....	33
3.4.2 Quantifizierung der flüchtigen organischen Säuren	33
3.4.3 Quantifizierung von Pyrazinen, Geosmin und 2-Methylisoborneol.....	34
3.4.4 System zur Luftprobennahme und Quantifizierung flüchtiger Verbindungen aus Luft	37
3.5 Kapillargaschromatographie (GC).....	40
3.5.1 Kapillargaschromatographie/Atomemissionsspektrometrie (GC/AED)	40
3.5.2 Kapillargaschromatographie/Olfaktometrie (GC/O)	41
3.5.3 Kapillargaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)	41
4 Ergebnisse und Diskussion	44
4.1 Etablierung der Festphasenmikroextraktion.....	44
4.1.1 Variation von Adsorptionszeit oder Probentemperatur	45
4.1.1.1 Dicksaft.....	45
4.1.1.2 Weißzucker	48
4.1.1.3 Rohsaft.....	50
4.1.2 Einsatz unterschiedlicher Zeit-Temperatur-Kombinationen.....	51
4.1.3 Vortemperieren von Weißzucker.....	54
4.1.4 Diskussion.....	56
4.1.5 Zusammenfassung	60
4.2 Identifizierung und Bewertung geruchsrelevanter Verbindungen	61
4.2.1 Rohsaft	61
4.2.2 Dünnsaft	64
4.2.3 Dicksaft	67
4.2.4 Weißzucker.....	71
4.3 Untersuchung geruchsrelevanter Verbindungen im Verlauf des Zuckergewinnungsprozesses.....	74
4.3.1 Ergebnisse	75
4.3.2 Diskussion.....	80
4.3.3 Zusammenfassung	86
4.4 Methodenentwicklung zur Quantifizierung ausgewählter Verbindungen.....	87
4.4.1 Quantifizierung mit Hilfe von 1-Octanol.....	87

4.4.2 Quantifizierung mit Hilfe isotoopenmarkierter Standards.....	90
4.4.2.1 Quantifizierung flüchtiger organischer Säuren.....	91
4.4.2.2 Quantifizierung von Pyrazinen, 2-Methylisoborneol und Geosmin	92
4.4.3 Zusammenfassung	94
4.5 Quantifizierung ausgewählter Verbindungen in Fabrikationssäften.....	95
4.6 Quantitative und sensorische Untersuchung von Weißzuckermustern unterschiedlicher Herkunft.....	97
4.6.1 Ergebnisse	97
4.6.2 Diskussion.....	104
4.7 Quantifizierung ausgewählter Verbindungen in der Umgebungsluft	109
4.7.1 Ergebnisse	109
4.7.2 Diskussion.....	111
5 Ausblick.....	113
6 Zusammenfassung.....	114
7 Literatur	116
8 Anhang	124

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AED	Atomemissionsdetektor
A(E)VA	Aroma(extrakt)verdünnungsanalyse
CHARM	Combined Hedonic and Response Measurement
DiS	Dicksaft
DüS	Dünnsaft
EI	Elektronenstoßionisation
FD-Faktor	Flavour-Dilution Faktor
FFAP	Free Fatty Acid Phase
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
GC/O	Gaschromatographie//Olfaktometrie
GS	Geruchsschwelle
HMF	Hydroxymethylfurfural
IBMP	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin
ICUMSA	International Committee for Uniform Methods of Sugar Analyses
ID	Innendurchmesser
IPMP	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin
IS	Interner Standard
IVS	Isovaleriansäure
KI	Kovats Index
LLE	Liquid/Liquid-Extraction
MS(D)	Massenspektrometrie (-ischer Detektor)
OD	Olfaktometrischer Detektor
PDMS	Polydimethylsiloxan
PTV	Programmable Temperature Vaporizer
RoS	Rohsaft
RSA	relative Standardabweichung
RT	Retentionszeit
SAFE	Solvent Assisted Flavour Evaporation
SBMP	2-sec-Butyl-3-Methoxypyrazin
SDE	Simultaneous Distillation Extraction
SIM	Single Ion Monitoring
SPE	Solid Phase Extraction
SPME	Solid Phase Microextraction
TIC	Total Ion Chromatogram
TMP	2,3,5-Trimethylpyrazin
TS	Trockensubstanz
VHS	Vacuumheadspace-Extraktion
WZ	Weißzucker
amu	Atomic mass unit (Atomare Masseneinheit)
ppb	Parts per billion ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ppm	Parts per million (mg/kg)
ppt	Parts per trillion (ng/kg)

1 EINLEITUNG

Zucker, wie Saccharose umgangssprachlich bezeichnet wird, wurde als Süßungsmittel schon vor mehr als 1000 Jahren von den Ägyptern aus Zuckerrohr gewonnen und damals in Europa als Luxusgut gehandelt. Versuche zur eigenständigen Gewinnung von Zucker aus der heimischen Runkelrübe wurden erst Ende des 18. Jahrhunderts unternommen, machten dieses Lebensmittel aber nun auch hierzulande zunehmend für jedermann bezahlbar. Mittlerweile werden in der EU ca. 20 Millionen Tonnen Rübenzucker pro Jahr produziert, etwa 4 Mio. Tonnen davon allein in Deutschland (Bartens und Mosolff, 2006).

Hauptbestandteil der Zuckerrübe ist neben Wasser (73-77 %) Saccharose mit einem Anteil von 13-18 %. Weitere lösliche Komponenten des Trockensubstanzanteiles sind Monosaccharide, anorganische Bestandteile, wie unter Anderem Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Sulfat, Phosphat und Stickstoffverbindungen. Das unlösliche Mark der Rübe wird durch Cellulose, Hemicellulosen, Pektine, Lignin und Proteine gebildet (van der Poel *et al.*, 1998).

1.1 Zuckergewinnung aus Zuckerrüben – technologischer Überblick

Zuckerrüben werden in Deutschland im Herbst geerntet und hauptsächlich in der Zeit von Oktober bis Dezember, während der so genannten *Rübenkampagne*, zu Zucker verarbeitet. Nach Waschen und Zerkleinerung der Rüben werden die Schnitzel in einer Maische auf ca. 70-75°C erwärmt, um die Pflanzenzellen aufzuschließen. Das Schnitzel-Saft-Gemisch wird anschließend in einen Extraktionsturm gefördert, wo der Zucker herausgelöst wird. Die *Extraktion* geschieht üblicherweise im Gegenstromverfahren mit heißem Wasser, das von oben aufgegeben wird. In den dabei gewonnenen *Rohsaft* gelangen fast 99 % des in den Rüben enthaltenen Zuckers. Die entzuckerten, gepressten und getrockneten Schnitzel finden als Viehfutter Verwendung.

Für die dunkelbraune bis schwarze Farbe des Rohsaftes ist die Melaninbildung während des Prozesses verantwortlich. Die im Rohsaft enthaltenen Nichtzuckerstoffe werden während der *Saftreinigung* durch Zusatz von Kalkmilch und Kohlendioxid ausgefällt und durch Filtration abgetrennt. Das gewonnene hellere Zwischenprodukt wird als *Dünnsaft* bezeichnet. Der Dünnsaft wird in einem mehrstufigen *Verdampfungsprozess* schonend

eingengt, bis der Trockensubstanzgehalt des nun als *Dicksaft* bezeichneten Produktes ca. 70-75 % beträgt. Im Anschluss wird der Dicksaft im Kochapparat bis zur Übersättigung eingengt und die Kristallisation des Zuckers durch Animpfen mit Saccharosekristallen (Slurry) ausgelöst (*Verdampfungskristallisation*). In Zentrifugen wird die Mutterlauge von den Kristallen abgetrennt. Nach dem Trocknen des Zuckers durch warme Luftströme und Absieben von Fein- und Grobanteilen erhält man den so genannten *Weißzucker* (Standardqualität, WZ-2)¹. Der Muttersirup (Grünablauf) wird einer weiteren Kristallisation unterworfen, wodurch man den *Rohzucker* erhält. Dieser kann unter anderem als Kristallfuß (Impfkristalle) für die Kristallisation des Weißzuckers verwendet werden. Ein Großteil wird allerdings aufgelöst und ergibt nach erneutem Auskristallisieren die *Raffinade* (WZ-1)². Aus dem Grünablauf der Raffinade wird wiederum WZ-2 gewonnen. Aus dem Grünablauf des Rohzuckers erhält man in einer weiteren Kristallisationsstufe das so genannte *Nachprodukt*.

Die durch Auflösung des Nachproduktes hergestellte *Kläre* wird wie die Rohzuckerkläre als Einzugsgut für die Raffinadekristallisation verwendet. Der Ablaufsirup der letzten Kristallisationsstufe (Nachprodukt) wird als *Melasse* bezeichnet. Die Melasse enthält die aus der Rübe stammenden und die im Prozess entstandenen Nichtzuckerstoffe sowie noch etwa 50 % Saccharose. Sie kann entweder an die Futtermittelindustrie abgegeben oder bei der Gewinnung von Ethanol, Hefe oder Zitronensäure als Gärsubstrat verwendet werden (Reinefeld und Thielecke, 1984; Gerhartz, 1994).

In einigen Zuckerwerken wird aus Kapazitätsgründen neben der Rübenkampagne eine so genannte *Dicksaftkampagne* durchgeführt. Dazu wird ein Teil des Dicksaftes aus der Rübenkampagne bis zur Weiterverarbeitung in Stahltanks eingelagert. Zuvor wird der Trockensubstanzgehalt auf 66-68% eingestellt, um vorzeitiges Auskristallisieren zu verhindern. Außerdem wird durch Zugabe von Natronlauge der pH-Wert auf 9,0-9,2 eingestellt, wodurch mikrobieller Verderb vermieden wird. Mit der Durchführung einer Dicksaftkampagne, die etwa einen bis vier Monate nach der Rübenkampagne beginnt, kann bei eingeschränkter täglicher Verarbeitungskapazität des Zuckerhauses eine bessere Auslastung der Kristallisationsanlagen erzielt werden. Gleichzeitig wird die Kristallisation des Zuckers gleichmäßiger über das Jahr verteilt und damit der Bedarf an Silolagerkapazität reduziert.

¹ VERORDNUNG (EG) Nr. 318/2006 DES RATES vom 20. Februar 2006 über die gemeinsame Marktorganisation für Zucker. (ABl. Nr. L 58 v. 28.02.2006, S. 1) Anhang I, Abschnitt II.

² RICHTLINIE 2001/111/EG DES RATES vom 20. Dezember 2001 über bestimmte Zuckerarten für die menschliche Ernährung (ABl. Nr. L 10 v. 12.01.2002, S. 53) Anhang A, Nr. 3.

1.2 Chemische und sensorische Eigenschaften und Qualitätsmerkmale von Weißzucker

Der gebräuchliche Handelszucker ist Saccharose, ein Disaccharid, in dem die Monosaccharidbausteine D-Glucose (Traubenzucker, Dextrose) und D-Fructose (Fruchtzucker) über eine 1,2-glycosidische Bindung verknüpft sind. Saccharose ist somit ein 2-O-β-D-Fructofuranosyl-1-O-α-D-glucopyranosid.

Wie die meisten Saccharide bildet auch Saccharose farblose monokline Kristalle. Je nach Reinheitsgrad können gelbliche Färbungen unterschiedlicher Intensität auftreten. Diese entstehen durch Produkte von Bräunungsreaktionen wie Karamellisierung oder Maillard Reaktion. Zur Karamellisierung kommt es vorzugsweise bei Temperaturen oberhalb von 120°C und bei pH-Werten unterhalb von 3 oder oberhalb von 9 unter Bildung von braun gefärbten, karamellartig riechenden, leicht bitter schmeckenden Produkten. In sauren Medien erfolgen Dehydratisierungsreaktionen, Furfuralderivate werden gebildet. Basen führen zu Isomerisierungs- und Fragmentierungsreaktionen von Saccharose (Kroh, 1994). Die Maillard Reaktion findet zwischen freien Aminokomponenten (von Proteinen oder Aminosäuren) und reduzierenden Zuckern statt. Art und Konzentration der Reaktanten sowie pH-Wert, Temperatur und Wassergehalt des Mediums beeinflussen die Reaktion. Produkte und Nebenprodukte der Maillard Reaktion, teilweise mit karamellartigem Aroma sind Furane, Pyrone, Cyclopentenone, Carbonyle, Diacetyl, Pyrazine, verschiedene Säuren, aber auch hochmolekulare, farbgebende Verbindungen, die als Melanoidine bezeichnet werden (Ames, 1992, Schieberle und Hofmann, 2002). Bei einer Untersuchung zur Farbbildung während Gewinnung und Lagerung von Zucker (Clarke *et al.*, 1995) wurden vorwiegend phenolische und flavonoide Verbindungen gefunden, die durch Melaninbildung (enzymatische Bräunung), Melanoidinbildung (Maillard Reaktion) und Karamellisierung entstanden. Während des Zuckergewinnungsprozesses sollten diese hochmolekularen Verbindungen allerdings im Rahmen der Verarbeitungs- und Reinigungsschritte weitgehend entfernt werden.

Die Qualität des europäischen Rübenweißzuckers wird durch Richtlinien und Verordnungen im Rahmen der EU-Zuckermarktordnung in verschiedene Kategorien eingeteilt. Die Hersteller gewährleisten diese hohe Qualität durch geeignete

Produktionsprozesse, deren korrekter Verlauf durch analytische Betriebskontrollen und teilweise auch durch Online-Messungen sichergestellt wird.

Die Untersuchungsmethoden zur analytischen Bestimmung der Zuckerqualität sind durch die "Internationale Kommission für einheitliche Methoden der Zuckeranalyse" (ICUMSA) international standardisiert. Die ICUMSA ist eine globale Vereinigung, die die Aktivitäten aller nationalen Komitees für Zuckeranalytik von mehr als dreißig Produktionsländern in Einklang bringt (Reinefeld und Thielecke, 1984). So existieren ICUMSA-Methoden zur Bestimmung von Parametern wie Brechungsindex, pH-Wert, Absorption bei 420 nm als Farbe in Lösung (50 %ige Zuckerlösung), Reinheit als Anteil Saccharose pro Gewichtseinheit Trockensubstanz und andere wichtige Eigenschaften wie Kristallgrößenverteilung, Farbtype, Gehalt an Invertzucker, Asche und Schwermetallen, Flocbildungstendenz und Leitfähigkeit (Pihlsgård, 1997).

Geschmack und Geruch des Zuckers sind zwei sensorische Qualitätsmerkmale, die im unmittelbaren Interesse des Endverbrauchers stehen.

Der Geschmack von Zucker ist rein süß. Die Süßkraft der Saccharose wird sogar als Bezugsstandard für Vergleiche mit anderen Zuckern, Süßstoffen und Zuckeraustauschstoffen zu 100 % oder 1 definiert (van der Poel *et al.*, 1998).

Neben der oben beschriebenen Bildung von farbgebenden Komponenten während der Zuckergewinnung ist auch die Entstehung einiger geruchsaktiver Stoffe zu verzeichnen.

Allgemein wird der sensorische Eindruck von Rohrzucker als honigartig, der von Rübenzucker als erdig, muffig, beide auch als karamellartig und mitunter als „grün-grasig“ beschrieben. Allerdings kann der typische Zuckergeruch nicht allgemein gültig beschrieben werden, zumal eine Vielzahl von chemischen Verbindungen, die als Produkte aus dem thermischen Verarbeitungsprozesses hervorgehen, jeweils in unterschiedlicher Anzahl und Konzentration an dessen Ausbildung beteiligt sein können.

Ist die Intensität des Zuckergeruchs zu stark, so kann es zur Ablehnung durch den Verbraucher kommen. Aufgrund der adsorptiven Eigenschaften der Oberflächenstruktur der Kristalle nimmt Zucker schnell den Geruch der Umgebung an, verliert ihn aber auch meist ebenso leicht wieder (Andres, 1953). Da ein zu ausgeprägter Eigengeruch des Rübenzuckers vom Verbraucher immer weniger akzeptiert wird, ist eine systematische Charakterisierung dieses Geruchsprofils notwendig, um die technologische Kontrolle dieses Qualitätsmerkmals zu ermöglichen.

1.3 Geruch von Weißzucker – Stand des Wissens

Die Tatsache, dass Weißzucker als natürliches Produkt einen charakteristischen Eigengeruch aufweist, ist den meisten Endverbrauchern nicht bewusst.

Die erste Veröffentlichung zum Geruch von Weißzucker datiert aus dem Jahr 1878 (Anonym, 1878). Schon damals wurde vermutet, dass geringste Mengen an Fremdstoffen den "salpetrigen Geschmack und den Knochengeruch" des Rübenzuckers hervorrufen. Man wusste, dass Zucker bei Lagerung an der Luft seinen Geruch abgab, ihn jedoch bei erneuter Lagerung in geschlossener Verpackung wiedererlangte. Die Autoren wiesen mehrfach darauf hin, dass an der Vernichtung oder Überdeckung des typischen Rübenzuckergeruches gearbeitet werden muss, um diesen Zucker in Konkurrenz zum Rohrzucker verkehrsfähig zu machen.

Für den charakteristischen Geruch des Zuckers ist eine Mischung flüchtiger Substanzen verantwortlich, die an den Zuckerkristallen haften oder in die Kristallmatrix eingeschlossen sind und allmählich nach außen diffundieren. Für diese flüchtigen Verbindungen gibt es während der Gewinnung des Zuckers aus der Zuckerrübe eine Reihe möglicher Quellen (Pihlsgård, 1997).

Nach Pihlsgård *et al.* (2000) sind die im Wesentlichen am Geruch von Zucker beteiligten Verbindungen Carbonsäuren wie Essig-, Propion-, Butter- und Isovaleriansäure, Aldehyde wie 2- und 3-Methylbutanal, Terpene, schwefelhaltige Verbindungen wie Dimethyldisulfid, verschiedene Pyrazine und Furane. Der typisch erdige Geruch von Zucker kann von den Zuckerrüben selbst bzw. der ihnen anhaftenden Erde stammen. Als Hauptkomponenten wurden Geosmin (*trans*-1,10-Dimethyl-*trans*-(9)-decalol), 2-Methylisoborneol oder Alkoxy-pyrazine, wie z.B. 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin identifiziert. Die Strukturformeln dieser Verbindungen sind in Abbildung 1-1 dargestellt.

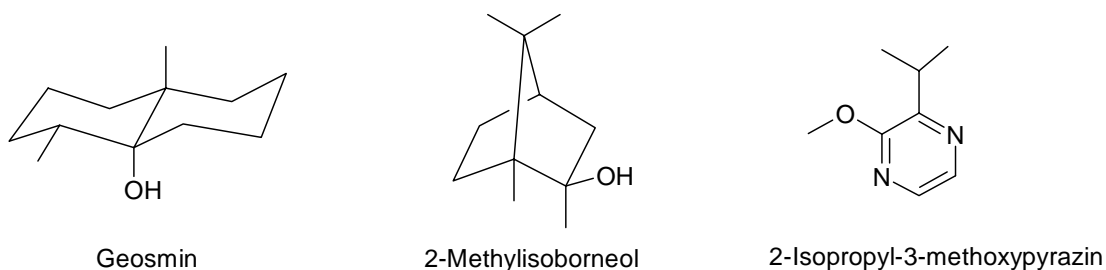


Abbildung 1-1: Strukturformeln von Geosmin, 2-Methylisoborneol und 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin.

Geosmin ist ein Metabolit von Bodenorganismen, der von Actinomyceten, v.a. von *Streptomyces*, gebildet wird (Gerber und Lechevalier, 1965; Pollak und Berger, 1996). In Pflanzenzellen können Geruchsstoffe durch Aktivitäten von Mikroorganismen und Enzymen entstehen, wie z.B. geruchsaktive Fettsäuren in den an der Rübe verbleibenden Kopf- und Blattanteilen. Des Weiteren können auch die Bestandteile der Rüben für die Bildung einiger Geruchsstoffe verantwortlich sein. Beim Abbau von Proteinen oder anderen stickstoffhaltigen Verbindungen kann z.B. Ammoniak entstehen.

Durch die Reaktion von stickstoff- und schwefelhaltigen Aminosäuren und anderen Stickstoff-Verbindungen mit reduzierenden Zuckern können Substanzen entstehen, die Gerüche nach Erdnuss, Schokolade, gerösteten Nüssen oder Fleisch aufweisen (Godshall *et al.*, 1984). Für röstige Noten sind in erster Linie die Pyrazine als Nebenprodukte der Maillard Reaktion, für süßliche, karamellartige die Zuckerabbau- und Karamellisierungsprodukte (Diacetyl, Furfural) verantwortlich (Monte und Maga, 1981). Weitere daraus entstehende Verbindungen sind Aldehyde (Acetaldehyd, Propionaldehyd, Butyraldehyd, Valeraldehyd, Acrolein), Ketone (Aceton, Methylalkylketon, Methylpropylketon), Furane (Furan, 2-Methylfuran, 2,5-Dimethylfuran) und Säuren (Ameisen-, Essig-, Propionsäure). Die Noten „grün“, „blumig“ oder andersartig „pflanzlich“ werden durch die Anwesenheit von Alkoholen und längerkettigen Aldehyden, v.a. Nonanal und Decanal hervorgerufen (Pihlsgård *et al.*, 2000).

Wie oben beschrieben, entstammen viele der bisher gefundenen Geruchskomponenten entweder der Zuckerrübe oder ihr anhaftenden Materialien, oder sie entstehen im Verarbeitungsprozess durch Karamellisierung, Maillard Reaktion, Strecker-Abbau oder durch mikrobielle Aktivitäten. Bei guter Prozessführung sollten diese Abbaureaktionen des Zuckers weitgehend verhindert und durch Reinigung und Umkristallisation die Entfernung der Nichtzuckerstoffe größtenteils gewährleistet werden (Godshall *et al.*, 1984). Die Vermeidung der Geruchsentstehung ist in der Praxis häufig dennoch nicht vollständig realisierbar. Geruchsstoffe, die im Sirup enthalten sind, können während der Kristallisation in die Kristalle eingeschlossen werden und können später während der Lagerung des Zuckers allmählich nach außen diffundieren. Die Zusätze von adsorbierenden Materialien, so wie der Einsatz von Ionenaustauschern und Aktivkohlefiltern erwiesen sich in Einzelfällen als erfolgreich, um die flüchtigen Verbindungen nachträglich zu entfernen und somit vom Zucker fernzuhalten (Pihlsgård *et al.*, 2000). Als ebenso hilfreich erwies sich das Waschen der Kristalle mit Methylenchlorid oder Methanol (Clarke *et al.*, 1995), da

sich die größte Menge an flüchtigen Verbindungen nach Pihlsgård (1997) an der Oberfläche der Kristalle befindet. Die Kristalle sind nach dem Zentrifugieren von einer Sirupschicht umgeben, in der sich Geruchsstoffe lösen und bei Trocknung einlagern können. Des Weiteren besitzen die Kristalle selbst adsorptive Eigenschaften, wobei die Geruchsstoffe unter anderem auch über Wasserstoff-Brückenbindungen an die Oberfläche gebunden sein können. Da das Waschen mit organischen Lösungsmitteln in der Praxis für die Zuckerherstellung nicht realisierbar ist, wurde versuchsweise stark riechender Zucker erfolgreich mit trockenen Luftströmen behandelt.

Analytik flüchtiger Verbindungen in Zucker

Neben Berichten zur Analytik flüchtiger Verbindungen in kristallinem Weißzucker gibt es in der Literatur zahlreiche Studien zum Geruch im Rahmen der Flüssigzuckerproduktion. Die Isolierung und Anreicherung der flüchtigen Komponenten aus Zucker oder Flüssigzucker erfolgte bisher meist mittels Gasphasenextraktion oder Purge & Trap (Pihlsgård *et al.*, 2001; Pihlsgård *et al.*, 2000; Pihlsgård *et al.*, 1999; Pihlsgård *et al.*, 1998; Godshall *et al.*, 1995; Marsili *et al.*, 1994). Ferner wurden Festphasenextraktion und Flüssig/Flüssig-Extraktion mittels Scheidetrichter für die Analytik eingesetzt (Pihlsgård 2000). Erst in neueren Veröffentlichungen von Batista *et al.* (2002) und Moore *et al.* (2003) wurde die Anreicherung flüchtiger Verbindungen aus kristallinem WZ mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) beschrieben. Moore *et al.* (2003) fanden bei Vergleichsuntersuchungen, dass sich die SPME besser zur Extraktion der flüchtigen Verbindungen eignet als die statische Headspace-Technik.

Die analytische Erfassung der in den Extrakten gewonnenen Substanzen erfolgte ausnahmslos mittels Gaschromatographie. Lediglich in einem Teil der Veröffentlichungen wurde über die Bestimmung der Geruchsrelevanz der isolierten flüchtigen Verbindungen mittels GC/Olfaktometrie (GC/O) berichtet.

Pihlsgård *et al.* (2000) analysierten bereits eine Reihe von Zwischenprodukten des Gewinnungsprozesses im Hinblick auf ihre flüchtigen Verbindungen, befassten sich jedoch dabei ausschließlich mit dem Geruch bei der Produktion von Flüssigzucker. In einer Folgestudie beschränkte sich diese Arbeitsgruppe auf drei Zwischenprodukte, deren flüchtige Komponenten erstmals mittels GC/O auf ihre Aromarelevanz untersucht wurden (Pihlsgård *et al.*, 2001).

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Der Geruch ist eines der Kriterien, anhand dessen die Qualität von Weißzucker beurteilt wird. Dabei wurde der Geruch in der Praxis bisher vorwiegend auf Basis humansensorischer Klassifizierungen bewertet. Der Nachteil dieser Charakterisierung ist ihre eingeschränkte Objektivität. Außerdem lassen diese Ergebnisse in den seltensten Fällen darauf schließen, welche genaue Ursache den jeweiligen Geruch oder Fehlgeruch hervorruft. Gezielte technologische Maßnahmen zur Vermeidung oder Beseitigung von gegebenenfalls unerwünschten Geruchsstoffen erfordern jedoch objektive und messbare Größen.

Wie die Literaturübersicht zeigt, gibt es bereits aufschlussreiche Angaben, welche Inhaltsstoffe maßgeblich für die Ausbildung von Geruch und Fehlgeruch von Zucker verantwortlich sind. Ein großer Teil der bisherigen Untersuchungen bezieht sich allerdings auf die Produktion von Flüssigzucker. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse sind aufgrund einer abweichenden Prozessführung nicht generell auf kristallinen Weißzucker übertragbar.

Des Weiteren sind die in der Literatur beschriebenen Analysemethoden zur Erfassung des Zuckergeruches nicht für ein größeres Probenaufkommen in der Routineanalytik der Prozesskontrolle geeignet.

Die Quantifizierung beschränkte sich bisher auf eine geringe Zahl flüchtiger Komponenten (Godshall *et al.*, 1995; Marsili *et al.*, 1994). Abgesehen von Ansätzen zur Semiquantifizierung von 30 Komponenten aus Zuckerlösungen (Kaipainen *et al.*, 1997) und zur Quantifizierung von Buttersäure aus kristallinem Weißzucker mittels SPME (Batista *et al.*, 2002) lagen quantitative Daten für ein breiteres Spektrum an Verbindungen und Erkenntnisse über die Beiträge einzelner Substanzen zum Geruchsprofil von Weißzucker bislang nicht vor.

Ziel dieser Arbeit war deshalb die Entwicklung von Methoden, die es erlauben, geruchsrelevante Aromastoffe aus Weißzucker zu isolieren (extrahieren), zu detektieren, zu identifizieren und zu quantifizieren. Von entscheidender Bedeutung war dabei, dass die analytischen Methoden schnell, einfach, reproduzierbar, empfindlich und routinetauglich sein sollten.

Das Spektrum der für den Geruch von Weißzucker verantwortlichen Verbindungen wird insbesondere durch die Technologie der Zuckergewinnung aus der Zuckerrübe beeinflusst. Aus diesem Grund sollten die entwickelten Verfahren sowohl auf das Endprodukt Zucker als auch auf die Zwischenprodukte des Gewinnungsprozesses anwendbar sein. Die erzielten Ergebnisse sollen Rückschlüsse auf mögliche Ursachen, Entstehungen und Eintragsquellen der geruchsrelevanten Verbindungen erlauben. Ergänzend zur Identifizierung der Verbindungen soll die Bewertung der jeweiligen Geruchsrelevanz während des Prozesses ermöglicht werden, um den Einfluss der Prozessstufen auf die Geruchsentwicklung zu klären. Dafür sollte die Aromaverdünnungsanalyse erstmals im Rahmen von Studien bezüglich des Geruches von Weißzucker angewandt werden.

2 GRUNDLAGEN

2.1 Aromastoffe

Als Aromastoffe werden allgemein flüchtige Verbindungen bezeichnet, die von der menschlichen Nase als geruchsaktiv empfunden werden. Der griechische Begriff Aroma steht für "Gewürz", das Geschmacks- und Geruchsstoffe als würzende oder geschmacksgebende Zutaten enthält. Nach DIN 10950 Teil 2 (1999) ist das Aroma definiert als der von den Geruchsnerven wahrgenommene Gesamteindruck (pro- und retronasal) an flüchtigen Verbindungen eines Lebensmittels. Der Begriff "Flavour" bezeichnet den oralen Gesamtsinnesindruck aus Geruchs-, Geschmacks- und Tastempfindungen, der beim Verzehr eines Lebensmittels entsteht (Schreier und Mosandl, 1985).

Das Gesamtaroma eines Lebensmittels wird im Allgemeinen durch das komplexe Zusammenspiel einer Vielzahl flüchtiger Substanzen hervorgerufen, wobei einzelne Komponenten nach Gerhard (1990) bereits im unteren ppb-Bereich wirksam sein können. In seltenen Fällen ist nur eine einzige chemische Verbindung, eine so genannte "character impact compound" für den Geruch ausschlaggebend. Beispiele hierfür sind 1-Octen-3-on (Pilz), Vanillin (Vanille), 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (Erbsenschote) oder Geosmin (Erde).

Der Zusammenhang zwischen dem Geruch einer Verbindung und ihrer chemischen Struktur ist bis heute nicht ausreichend geklärt. Bekannt ist jedoch, dass der Geruch einer Verbindung stärker durch den geometrischen Aufbau als beispielsweise durch funktionelle Gruppen beeinflusst wird (Young *et al.*, 1996). Da die Geruchsrezeptoren aus Proteinen aufgebaut sind, ist es nicht verwunderlich, dass sich die Enantiomere chiraler Verbindungen in Aromaqualität und Aromaintensität unterscheiden können (Boelens *et al.*, 1993; Koppenhoefer *et al.*, 1994; Asche, 1997; Brenna *et al.*, 2003).

Wie auch bei der Reizaufnahme durch andere menschliche Sinne, korreliert die Wahrnehmung eines Geruches nicht linear mit der Konzentration des Geruchsstoffes. Das Verhalten von Geruchsstoffkonzentration und Wahrnehmung kann mit Hilfe einer sigmoiden Funktion verdeutlicht werden (Abbildung 2-1) (Gardner und Bartlett, 1994).

Der Geruchsschwellenwert, unterhalb dessen eine Verbindung nicht mehr sensorisch wahrgenommen werden kann, ist stark von der jeweiligen Verbindung sowie von der

Prüfperson selbst abhängig. Im oberen Bereich der Kurve findet eine Sättigung der Rezeptoren statt. Eine weitere Erhöhung der Konzentration des Geruchsstoffes oberhalb dieses Grenzwertes hat keinen Einfluss mehr auf die Geruchswahrnehmung.

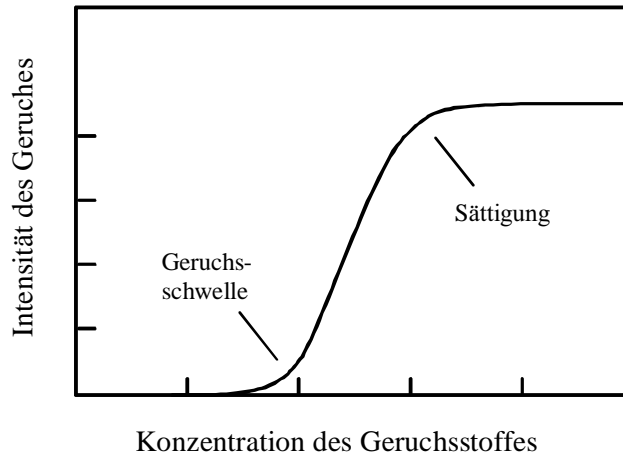


Abbildung 2-1: Schematische Darstellung des sigmoiden Zusammenhangs zwischen der wahrgenommenen Intensität eines Geruchsstoffes und seiner Konzentration.

2.2 Geruchsempfinden und Sensorik

Die sensorische Analyse ist ein komplexer Prozess und basiert auf der Geruchswahrnehmung aromaaktiver Komponenten durch geeignete Testpersonen. Nach DIN 10952 Teil 1 (1999) wird als Sensorik die Wissenschaft des Einsatzes menschlicher Sinne zu Prüf- und Messzwecken bezeichnet.

Der Geruchssinn gehört, wie der Geschmack, zu den so genannten niederen Sinnen. Demgegenüber stehen die höheren Sinne Hören, Sehen und Tasten. Die Geruchswahrnehmung kann *orthonasal*, also durch Einatmen durch die Nase, oder *retronasal*, über den Rachenraum, erfolgen. Die Reize werden dabei über Millionen von Zellen im *Riechepithel* aufgenommen, einem im oberen Bereich der Nase gelegenen Teil der Nasenschleimhaut. In jeder dieser Zellen ist eins von ca. 500 verschiedenen Genen, die der Mensch für die olfaktorischen Rezeptoren besitzt, aktiv, so dass auf der Oberfläche der Zellen nur jeweils ein ganz bestimmter Rezeptortyp vorhanden ist. Jeder Rezeptor kann mehrere Geruchsstoffe erkennen, während jeder Geruchsstoff gleichzeitig auf mehrere Arten von Rezeptoren wirkt. Daraus ergibt sich eine Vielzahl an Kombinationsmöglichkeiten für die Aktivierung verschiedener Rezeptoren und somit für die Weiterleitung von Geruchsinformationen. Die Nervenzellen leiten die Signale direkt an den *Bulbus olfactorius* weiter, einen direkt oberhalb des Riechepithels liegenden Teil des

Großhirns. Von dort wird die Geruchswahrnehmung einerseits in die Großhirnrinde, die den Geruch dem Bewusstsein meldet, und andererseits ins so genannte *Limbische System*, das Zentrum für Emotion und Gedächtnis, weitergeleitet. Somit kommt es beim Riechen häufig zu einer Vermischung von sensorischer Information mit emotionalen Inhalten und Erinnerungen. Diese Besonderheit des Geruchssinnes ermöglicht ein gezieltes Training bestimmter Personengruppen auf die unterschiedlichsten Arten von Gerüchen (Plattig, 1995; Herman 2002).

Die Empfindlichkeit gegenüber Gerüchen ist abhängig von der Natur des Geruches selbst wie auch von der jeweiligen Person. Jede sensorische Beurteilung gibt einen subjektiven Eindruck wieder, da die Geruchserfahrung eines Menschen nicht mit der eines anderen vergleichbar ist. Weiterhin gibt es für die menschliche Geruchswahrnehmung genetische, hormonelle, altersbedingte, aber auch tageszeit- und verfassungsabhängige Unterschiede (Gardner und Bartlett, 1999).

Die Ergebnisse einer Untersuchung von Gilbert und Wysocki (1987) zeigten, dass lediglich 1,2 % einer untersuchten Personengruppe an totaler *Anosmie*, dem kompletten Fehlen des Geruchssinnes litten. Viel häufiger waren dagegen spezifische Anosmien, d. h. Unempfindlichkeiten gegenüber einzelnen Geruchsstoffen.

Ist man einem Geruchsstoff im Übermaß ausgesetzt, so kann es zur Adaptation, d.h. dem vorübergehenden Verlust der Geruchswahrnehmung gegenüber diesem Stoff, kommen. Gefährliche Folgen kann dies bei giftigen Verbindungen wie Schwefelwasserstoff haben. Möglich ist auch eine so genannte Kreuz-Adaptation, die spezifische Verminderung der Geruchserkennung nach Zusatz eines zweiten Geruchsstoffes. Es ist erwiesen, dass die wahrgenommene Intensität einer Geruchsstoffmischung geringer ist als die Summe der Intensitäten der individuellen Verbindungen. In selteneren Fällen treten synergistische Effekte auf, wobei eine Verbindung die Geruchsausprägung einer anderen steigert (Gardner und Bartlett, 1999).

Die Humansensorik wird mittels eines Sensorikpanels, das meist aus 5 - 15 geschulten Prüfpersonen besteht, durchgeführt. Eine humansensorische Beurteilung ist in der Lebensmittelindustrie besonders bei der Entwicklung neuer Produkte oder der Anwendung neuer technologischer Verfahren von großer Bedeutung, da sie eine differenzierte Erfassung der sensorischen Veränderung ermöglicht und dem Hersteller bereits im Entwicklungsstadium die Akzeptanz oder Ablehnung durch den Verbraucher signalisiert (Pangborn, 1981).

2.3 Analytik von Aromastoffen

2.3.1 Anreicherung flüchtiger Verbindungen

Die geruchsaktiven Verbindungen, die die Qualität des Zuckers beeinflussen, liegen lediglich in Spurenmengen vor. Somit besteht der erste Schritt der Analytik darin, die flüchtigen Verbindungen in ausreichenden Mengen aus dem Zucker zu isolieren und anzureichern (Pihlsgård, 1997). Im Laufe der Jahre wurden effiziente und zuverlässige Methoden zur Extraktion und Anreicherung der relevanten flüchtigen Verbindungen aus einer Reihe von komplexen Lebensmittelmatrices entwickelt. Dazu zählen unter Anderem die Flüssig/Flüssig-Extraktion, z.B. mit Extraktoren nach Kutscher-Steudel (Gattermann und Wieland, 1972) oder nach Ludwig, die simultane Destillation-Extraktion nach Likens und Nickerson (1964), die Vakuumheadspace-Extraktion nach Joulain (1986) sowie die Solvent Assisted Flavour Evaporation (SAFE)-Methode nach Engel *et al.* (1999).

Die jeweilige Methode der Wahl wird von der Art und Komplexität der Matrix, der Natur der zu erwartenden Verbindungen und den beabsichtigten Untersuchungen bestimmt. Häufig müssen mehrere Anreicherungstechniken kombiniert werden, da sich das Aroma meist aus einer komplexen Mischung mehrerer chemischer Verbindungen unterschiedlicher Natur und Flüchtigkeit zusammensetzt (Núñez *et al.*, 1984).

2.3.1.1 Gasphasenextraktion

Werden Lebensmittel in dicht schließenden, nur zum Teil gefüllten Gefäßen aufbewahrt, so befinden sich im Dampfraum darüber, in dem so genannten *Headspace* (HS), die repräsentativen Geruchsstoffe. Abhängig von der Probenmenge, dem Volumen des Dampfraumes und der Temperatur dieses Systems stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht der flüchtigen Komponenten zwischen Probe und Headspace ein (Wyllie *et al.*, 1978). Direkte Analysen aus dem Headspace werden als *Gasphasen-Extraktion* bezeichnet. Wird durch Entnahme eines definierten Gasvolumens die Zusammensetzung des Kopfraums direkt untersucht, wird diese Technik als *statische HS-Extraktion* bezeichnet. Die Konzentrationen der flüchtigen Komponenten sind jedoch in vielen Fällen, wie auch bei der Untersuchung von Zucker zu gering für aussagekräftige Analysen. Des Weiteren kann sich bei wässrigen Proben Wasserdampf störend auf die üblicherweise mit dem gewonnenen Extrakt durchzuführenden chromatographischen Untersuchungen auswirken.

2.3.1.2 Festphasenmikroextraktion

Bei der Festphasen-Extraktion (SPE) werden die Analyten reversibel an eine stationäre Phase gebunden. Störende Komponenten werden von der stationären Phase mit einem Lösungsmittel ausgewaschen und die Analyten anschließend mit einem anderen Lösungsmittel eluiert. Somit ist keine Hitzebehandlung notwendig, und die Zeit der Isolierung ist, verglichen mit konventionellen Flüssigextraktionsverfahren, sehr kurz. Während bei der Flüssig/Flüssig-Extraktion nur wasserunlösliche Lösungsmittel verwendet werden können, um die Analyten zu isolieren, gibt es bei der SPE kaum Einschränkungen in der Wahl der Eluenten. Dadurch kann außerdem der Einsatz toxischer oder gesundheitsschädlicher Lösungsmittel vermindert werden (Pawliszyn, 1997).

Nach einem ähnlichen Prinzip funktioniert die Festphasenmikroextraktion (SPME). Die Adsorption der Analyten erfolgt an einer Fused Silica Faser (Stationäre Phase), die mit einer selektiven Adsorptionsphase beschichtet ist. Diese Fasern werden der Probe oder dem Headspace (HS) über der Probe ausgesetzt, was zu Adsorption und/oder Absorption der flüchtigen Komponenten an der Faserbeschichtung (Adsorptionsphase) führt (Costa Freitas *et al.*, 2001). Anschließend werden die Analyten thermisch von der Faser desorbiert und können direkt chromatographisch getrennt werden (Sigma-Aldrich, 1996). Je nach Art der zu untersuchenden Verbindungen können einzelne Parameter variiert werden, wie zum Beispiel Adsorptions- und Desorptionszeit, Desorptionstemperatur und Einstecktiefe der Faser in den GC Injektor, aber auch Temperatur und Menge der Probe oder Größe des Probengefäßes während der Adsorption (Jackson und Linskens, 2002). Je nach den physikalisch-chemischen Eigenschaften der zu extrahierenden Verbindungen kann man aus einer Vielzahl von Fasern auswählen, die sich durch die Länge der Faser oder Dicke und Polarität der Beschichtung unterscheiden.

Schematisch lässt sich die SPME aus dem Headspace wie folgt beschreiben (Pawlyszin, 1997): Eine flüssige Probe, die eine gelöste organische Verbindung enthält, befindet sich in einem geschlossenen Probengefäß. In den Dampfraum über der Probe wird eine Fused-Silica-Faser eingebracht, die mit einer dünnen Schicht eines organischen Polymers belegt ist. Bestimmte Verteilungsgleichgewichte stellen sich nun zwischen der wässrigen Phase und der Gasphase und zwischen der Gasphase und der Faserbeschichtung ein. Die flüssige Beschichtung der Faser beginnt, den organischen Analyten aus dem Headspace zu ad-/

absorbieren. Dabei durchläuft der Analyt eine Reihe von Transportprozessen zwischen der wässrigen Phase, der Gasphase und der Faserbeschichtung, bis das Gesamtsystem einen Gleichgewichtszustand erreicht hat. Der Aufbau ist in Abbildung 2-5 anhand eines vereinfachten Modells schematisch dargestellt.

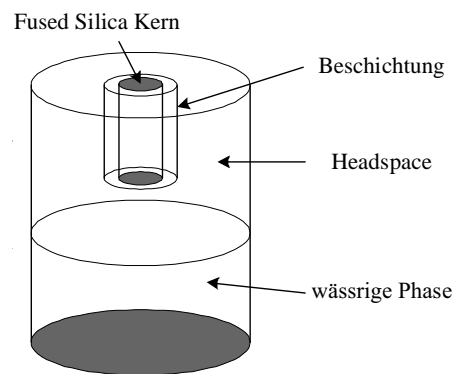


Abbildung 2-2: Schematische Darstellung der Headspace-SPME (Pawlyszin, 1997).

Nach abgeschlossener Extraktion wird die Faser, in deren Beschichtung die Analyten angereichert sind, in den Injektor des GC- (oder HPLC-) Systems eingesetzt. Während des Desorptionsvorganges, der durch Aufheizen veranlasst wird, diffundiert der Analyt aus der Beschichtung in den Strom des Trägergases. Dieser Vorgang ist unter idealen Bedingungen genau gegenläufig zum Adsorptionsvorgang. Zu Beginn der Desorption wird der Analyt aus der äußeren Schicht und später aus den tieferen Schichten der Adsorptionsphase entfernt. Dabei ist eine hohe lineare Flussrate erforderlich, damit der desorbierte Analyt sofort aus der Umgebung der Beschichtung entfernt wird. Nur dann werden Interaktionen mit der Faser und eine dadurch bedingte Verlangsamung des Desorptionsprozesses weitgehend vermieden (Pawlyszin, 1997).

2.3.2 Trennung von Aromastoffen

Nach der Anreicherung der flüchtigen Verbindungen ist eine effektive Auftrennung des gegebenenfalls sehr komplexen Gemisches zur Identifizierung der einzelnen Komponenten notwendig. Das üblichste Verfahren ist die Kapillargaschromatographie (GC), die eine wesentlich höhere Auflösung als andere Chromatographietechniken, wie z.B. die Flüssigkeitschromatographie (HPLC von High Performance Liquid Chromatographie) bietet. Zum anderen eignet sie sich besonders zur Analyse von Geruchskomponenten, da diese von ihrer Natur her flüchtig sind (Wampler, 2002).

Die für die GC eingesetzten Kapillarsäulen sind in einer Vielzahl von Dimensionen und Beschichtungen erhältlich. Die Beschichtungen unterscheiden sich in ihrer Polarität und Schichtdicke und können abgestimmt auf die Natur der zu analysierenden Verbindungen ausgewählt werden.

2.3.3 Identifizierung flüchtiger Verbindungen

Die Erfassung der getrennten Verbindungen erfolgt bei der GC mit Hilfe von instrumentellen Detektoren. Für die vorliegende Arbeit standen ein Flammenionisationsdetektor (FID), ein Atomemissionsdetektor (AED) und zwei massenspektrometrische Detektoren (MSD) zur Verfügung. Um mit diesen Methoden detektiert werden zu können, müssen die Verbindungen mindestens im Nanogramm-Bereich vorhanden sein. Nur selektive Detektoren, wie der Ion Trap MSD oder der AED sind nach Grimm *et al.* (2002) in der Lage, die Komponenten im Picogramm-Bereich zu detektieren.

Der FID wird wegen seiner Unempfindlichkeit gegenüber nicht brennbaren Gasen (H_2O , CO_2 , NO_x) universell und als Standarddetektor für die GC eingesetzt. Seine Empfindlichkeit ist jedoch deutlich niedriger als die anderer Detektoren, so dass er nicht für diese Arbeit verwendet werden konnte.

Der AED erlaubt eine selektive elementspezifische Erfassung der Komponenten. In einem ca. 3000 K heißen He-Plasma werden die gaschromatographisch getrennten Substanzen atomisiert. Die Atome befinden sich im angeregten Zustand und emittieren Licht in Form der charakteristischen Linienspektren im UV-VIS Bereich. Das Emissionsspektrum wird

über eine geeignete Optik erfasst, wobei in einem Chromatographielauf mehrere Elemente simultan ausgewertet werden können. Dies erlaubt beispielsweise eine direkte Unterscheidung von schwefel-, stickstoff- und kohlenstoffhaltigen Verbindungen. Die größte Empfindlichkeit besitzt der AED gegenüber schwefelhaltigen Komponenten.

Detektionsschwierigkeiten ergeben sich besonders bei komplexen Mischungen flüchtiger Verbindungen, da Coelutionen nicht auszuschließen sind. Besonders Detektoren, wie der bereits erwähnte FID oder AED, können bei der Identifizierung und insbesondere bei der Quantifizierung zu nicht befriedigenden Ergebnissen führen. Vorzuziehen sind hier mehrdimensionale Detektoren, die neben der Retentionszeit als erster und der Intensität als zweiter Dimension, auch über eine dritte Dimension verfügen, wie z.B. die Wellenlänge bei Absorptions-, Fluoreszenz- und Lichtstredetektoren in der HPLC. In der Gaschromatographie ist das Massenspektrometer der gebräuchlichste mehrdimensionale Detektor, dessen dritte Dimension das Verhältnis von Masse zu Ladung m/z ist. Der MSD (massenspektrometrischer Detektor) zeigt eine sehr effektive Kombination von Empfindlichkeit und Auflösung entlang dieser dritten Achse (Holland und Gardner, 2002).

Mit der GC/MS Analyse können Totalionenchromatogramme aufgenommen werden, wobei alle bei der Ionisierung entstehenden Fragmentionen über den kompletten Chromatographielauf aufgezeichnet werden (*full scan* Modus). Die maximalen Massen, die aufgezeichnet werden können, variieren je nach Auflösungsvermögen des jeweiligen Massenspektrometers. Für die Untersuchungen der Geruchsstoffe liegt der gewählte Massenbereich zwischen 35 und 290 amu, da bei flüchtigen Verbindungen ein niedriges Molekulargewicht zu erwarten ist. Je kleiner der Massenbereich ist, desto kürzer ist die jeweilige Scandauer und desto mehr Scanzyklen können pro Zeiteinheit durchgeführt werden. Den kleinsten Bereich stellt folglich die Aufnahme eines einzelnen Ions dar, was als *SIM* (Single Ion Monitoring) bezeichnet wird. Diese SIM Messungen sind allerdings nur möglich, wenn die zu bestimmenden Verbindungen und ihre Retentionszeiten bekannt sind, so dass die zu scannenden Massen definiert werden können. Die Anwendung von SIM Messungen bedeutet einen hohen Aufwand in der Methodenentwicklung. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass eine Menge an Information verloren geht, da nur ausgewählte Verbindungen untersucht werden. Unerwartete Signale, die durch mögliche Kontaminationen der Proben verursacht werden könnten, bleiben unbemerkt. Der große Vorteil liegt allerdings in der stark erhöhten Empfindlichkeit dieser Messungen, wodurch

der Nachweis und die Quantifizierung von Substanzen im Spurenbereich vereinfacht werden.

Die Ionisierung der Verbindungen kann chemisch oder durch Elektronenstoß erfolgen. Für die Analytik der meist niedermolekularen Geruchsstoffe wird üblicherweise die Elektronenstoßionisation (EI) mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV angewendet. Die Verbindungen zerfallen dabei in charakteristische Fragmentionen, die mit Referenzspektren der Literaturliteraturdatenbank und mit den Massenspektren von authentischen Standardsubstanzen verglichen werden können, wodurch die Identifizierung ermöglicht wird.

2.3.4 Sensorische Bewertung von Aromastoffen

2.3.4.1 Olfaktometrie

Mit den beschriebenen Anreicherungstechniken wird eine Vielzahl flüchtiger Verbindungen aus dem jeweiligen Lebensmittel erfasst. Um zu differenzieren, welche dieser Stoffe aktiv zum Aroma beitragen, müssen zunächst Methoden zur Charakterisierung der Geruchsrelevanz dieser Stoffe angewendet werden. Für Aromenanalytiker spielt folglich neben den instrumentellen Techniken die menschliche Nase eine wichtige Rolle, womit zunächst die Geruchsstoffe erkannt werden müssen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit einen Beitrag zum Gesamtaroma des untersuchten Lebensmittels leisten. In Kombination mit der instrumentellen Analytik wird üblicherweise der Trägergasstrom nach der gaschromatographischen Trennung über eine Splitvorrichtung aufgetrennt. Ein Teil des Eluates wird in den Detektor, im vorliegenden Fall in den AED, der andere Teil in den so genannten *olfaktometrischen Detektor* (OD) geleitet. Durch eine spezielle Vorrichtung (Sniffing Port) wird hier das Abriechen des aus der Kapillarsäule strömenden Gases ermöglicht. Dabei soll das Anfeuchten des Eluates das Austrocknen der Nasenschleimhaut der Testperson verhindern. Bei Wahrnehmung eines Geruches gibt der Prüfer ein Signal mit einem Taster, das elektronisch aufgezeichnet wird. Alle Signale zusammen ergeben das *Olfaktogramm* oder Aromagramm. Dieses Olfaktogramm wird per Computer mit dem Chromatogramm des instrumentellen Detektors überlagert, wodurch eine direkte Zuordnung der Signale zu den olfaktorischen Eindrücken ermöglicht wird.

Auch gering konzentrierte Geruchsstoffe, die instrumentell kein Signal ergeben, können so erfasst und der entsprechenden Stelle im Chromatogramm zugeordnet werden. Auf der anderen Seite können gegebenenfalls auch Verbindungen, die als großes Signal im Chromatogramm sichtbar sind, als sensorisch irrelevant identifiziert werden.

Identifizierung von Aromastoffen

Die Kombination von SPME und GC/O hat sich als nützliches und einfaches Werkzeug zur Aromenanalyse erwiesen (Deibler *et al.*, 2002). Die Identifizierung eines Geruchsstoffes erfolgt somit durch eine Kombination der Geruchsbeschreibung mittels GC/O in Zusammenhang mit der Bestimmung der entsprechenden Retentionsindices an mindestens zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität und der Ermittlung von Daten auf molekularer Basis der Substanzen, z.B. mittels Massenspektrometrie (Ullrich und Grosch, 1988).

2.3.4.2 Charakterisierung der sensorischen Bedeutung

Die GC/O-Analyse erlaubt eine allgemeine sensorische Beurteilung von flüchtigen Verbindungen. Zur Beurteilung der Aromarelevanz flüchtiger Bestandteile komplexer Gemische werden üblicherweise Aromaextraktverdünnungsanalysen (AEVA) nach Ullrich und Grosch (1987) oder CHARM-Analysen (Akronym für: combined hedonic and response measurement, oder auch zu verstehen als „charm“ (engl.) = Reiz) nach Acree *et al.* (1984) durchgeführt.

Aroma- (extrakt-) Verdünnungsanalyse

Bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse wird der Extrakt, beispielsweise durch LLE- oder VHS-Extraktion gewonnen, in mehreren Schritten mit jeweils gleichen Volumina Lösungsmittel verdünnt und GC-Olfaktometrisch analysiert, bis keine der Verbindungen mehr am Sniffing-Port wahrnehmbar ist. Dies führt zu einer Abstufung der Verbindungen bezüglich ihrer Geruchsstärke und damit Relevanz für den Gesamtgeruch.

Während der Sniffing-Analysen sollte die Beschreibung der Aromaqualitäten der einzelnen Substanzen registriert werden, da diese sich mit der Konzentration ändern können (Arctander, 1969).

Bei Anreicherung mittels Festphasenmikroextraktion (s. Abschnitt 2.3.1.2) ist nach Ulrich *et al.* (1998) eine derartige Abstufung durch Variation der Adsorptionszeit möglich, die Verdünnung wird z.B. durch die wiederholte Halbierung der Expositionszeit erreicht. Das Verfahren wird in diesem Fall als Aromaverdünnungsanalyse (AVA) bezeichnet.

Der *Flavour Dilution Factor* (FD-Faktor) gibt bei der AEVA definitionsgemäß an, mit wie vielen Teilen Lösungsmittel der Aromaextrakt verdünnt wurde, damit der Aromastoff gerade noch am Sniffing-Port wahrgenommen werden kann, d.h., bis seine Konzentration den Schwellenwert in Luft erreicht. Der FD-Faktor ist somit eine relative Größe zur Beurteilung der Aromawirksamkeit der einzelnen Verbindungen im Extrakt und wird als 2^n definiert, wobei n der Anzahl an Verdünnungen entspricht. Die Komponenten in der unverdünnten Probe besitzen demnach einen FD-Wert von 1 (Ullrich und Grosch, 1987). Bei der modifizierten AVA mittels Reduzierung der Extraktionszeit ist die Zeit der variable Faktor, so dass der FD-Faktor angibt, wie oft sie halbiert wird.

Das von Rothe und Thomas (1963) eingeführte Aromawertkonzept berücksichtigt neben dem Geruchsschwellenwert eines Aromastoffes auch dessen Konzentration in der jeweiligen Lebensmittelmatrix.

Bei Verdünnungsanalysen werden die relativen Intensitäten der Aromastoffe nach einer gaschromatographischen Trennung beurteilt, wobei eine Abgrenzung von wichtigen gegenüber unwichtigeren geruchsrelevanten Verbindungen ermöglicht wird. Dabei können Wechselwirkungen der Aromastoffe untereinander oder mit der jeweiligen Lebensmittelmatrix nicht berücksichtigt werden. Diese können in den meisten Fällen eine Schwächung der Wahrnehmung zur Folge haben, die sich bis zur völligen Maskierung ausweiten kann (DFL, 1999). Ebenso sind synergistische Effekte der Komponenten nicht auszuschließen. Um solche Phänomene zu erkennen und den Beitrag aromaaktiver Substanzen zu prüfen, werden Modellversuche zur Rekombination des Aromas mit den beteiligten Aromastoffen (Zusatz- bzw. Weglassversuche) durchgeführt (Grosch, 2001; Büttner und Schieberle, 2001; Hofmann *et al.*, 2001).

2.3.5 Quantifizierung

Die im Abschnitt 2.3.4 angeführten Methoden der GC/O dienen der Auswahl sensorisch relevanter Verbindungen. Der Vergleich erfolgt auf Basis ihrer Schwellenwerte in Luft, während die tatsächliche Matrix nicht berücksichtigt wird. Zudem sind GC/O-Analysen, wie auch humansensorische Charakterisierungen, subjektiv und von der jeweiligen Testperson und ihrer Verfassung abhängig. Bei der Untersuchung von Weißzuckern im Hinblick auf ihre Geruchsbelastung, wie auch bei der analytischen Beobachtung der prozesstechnischen Eingriffe zur Vermeidung oder Beseitigung dieses Geruches, sind somit zusätzlich quantitative Daten notwendig. Diese Objektivierung des Geruches lässt auch langfristig Vergleiche von Zuckerproben im Hinblick auf ihre geruchsrelevanten Inhaltsstoffe zu.

Zur Quantifizierung im Spurenbereich vorliegender Aromastoffe hat sich die Isotopenverdünnungsanalyse bewährt (Schieberle, 1995; Milo und Blank, 1998; Blank *et al.*, 1999). Isotopenmarkierte Standards zeigen, bis auf geringe Isotopeneffekte, die gleichen chemischen und physikalischen Eigenschaften, wie die authentischen Substanzen. Aufgrund dieser Ähnlichkeit erleiden sie während der Aufarbeitung dieselben Verluste, und sind demnach ideal als interne Standards zu verwenden. Die Isotopenmarkierung (^2H , ^{13}C) erlaubt bei der Gaschromatographie eine separate Auswertung mittels MS.

2.3.5.1 Interne und externe Kalibrierung

Der Nachteil der Isotopenverdünnungsanalyse besteht darin, dass die isotopomeren Standardsubstanzen stabil sein und vor der Quantifizierung synthetisiert werden müssen. Da eine Herstellung zeit- und kostenaufwändig und nicht in jedem Routinelabor durchführbar ist, bedient man sich häufig herkömmlicher Substanzen, die als interne Standards zugesetzt werden. Diese Verbindungen müssen den Analyten strukturell möglichst ähnlich sein, dürfen jedoch im Lebensmittel selbst nicht in erfassbaren Mengen enthalten sein. Diese Methode der internen Standardisierung wurde erfolgreich für die Quantifizierung von Aromastoffen eingesetzt, besonders wenn die zu bestimmenden

Verbindungen in hierfür ausreichend hohen Konzentrationen vorhanden waren (Schmid und Grosch, 1986; Guth und Grosch, 1993; Masanetz und Grosch, 1998).

Mittels SPME ist eine Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen ebenfalls möglich. Da die SPME jedoch auf Gleichgewichtsverteilungen der Komponenten zwischen Probe, Dampfraum und Faserbeschichtung basiert und somit die Verbindungen mehr oder weniger selektiv adsorbiert werden, muss für die Quantifizierung eine vorherige Kalibrierung unter Einbeziehung der Extraktionsbedingungen erfolgen.

Batista *et al.* (2002) stellten erste Ansätze zur Quantifizierung von Buttersäure aus kristallinem Weißzucker mittels SPME vor. Dafür wurde die SPME-Extraktion aus derselben Probe so lange wiederholt, bis keine Buttersäure mehr im Chromatogramm nachweisbar war. Die prozentuale Berechnung ergab, dass bei der ersten Extraktion in diesem Beispiel 38 % der enthaltenen Buttersäure extrahiert wurde. Über eine externe Kalibrierkurve wurde anschließend die absolute Menge an Buttersäure ermittelt.

Eine andere Möglichkeit ist die Kalibrierung über eine externe Standardreihe. Dafür werden einer geruchsfreien, der Probe möglichst ähnlichen Matrix die Standardsubstanzen in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt und eine Kalibriergerade aufgenommen. Der Zusatz eines internen Standards könnte bei den SPME-Extraktionen zu verbesserten Reproduzierbarkeiten führen. Eine derartige Verbesserung konnte in den Untersuchungen von Chung *et al.* (2002) nicht bestätigt werden.

Die Konzentrationen der Geruchsstoffe werden bei allen beschriebenen Methoden massenspektrometrisch durch Peakflächenvergleich ermittelt.

2.3.5.2 Akzeptable Abweichung

Chemische Analysen sind natürlicherweise mit Fehlern behaftet. Aus diesem Grund werden Mehrfachuntersuchungen durchgeführt, die Mittelwerte und dazugehörige Standardabweichungen der einzelnen Messungen liefern. Ein prinzipielles Problem der Spurenanalytik ist die Abnahme der relativen Analysenpräzision mit geringer werdender Konzentration der Verbindungen. Aus diesem Grund stellte Horwitz (1982) einen empirischen Zusammenhang anhand der Auswertung von 150 Ringversuchen auf. Hauptkomponenten, wie z.B. Zucker in Zuckerrüben lassen sich demzufolge mit sehr

geringem Variationskoeffizienten bestimmen. Dagegen weisen Wiederholmessungen von Geruchsstoffen in Zucker im ppb- oder sogar ppt-Bereich zwangsläufig höhere relative Standardabweichungen auf. Nach Horwitz (1982) beträgt die relative Standardabweichung RSA

$$\text{RSA} [\%] = 2^{(1-0,5\log c)}$$

wobei c die Konzentration des Analyten im System ist.

Die akzeptablen relativen Standardabweichungen von Spurenverbindungen betragen demnach bei Konzentrationen von

100 ppb:	RSA = 23%,
10 ppb:	RSA = 32%,
1 ppb:	RSA = 45%,
100 ppt:	RSA = 64%,
10 ppt:	RSA = 90%.

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 Materialien und Reagenzien

3.1.1 Untersuchungsmaterial

Aus verschiedenen Zuckerfabriken der Firma Südzucker AG wurden während der Rübenkampagnen 2002 und 2003 Proben aus dem Verarbeitungsprozess entnommen. Eine vereinfachte schematische Darstellung des Prozesses und der Probennahmen ist der Abbildung 3-1 zu entnehmen.

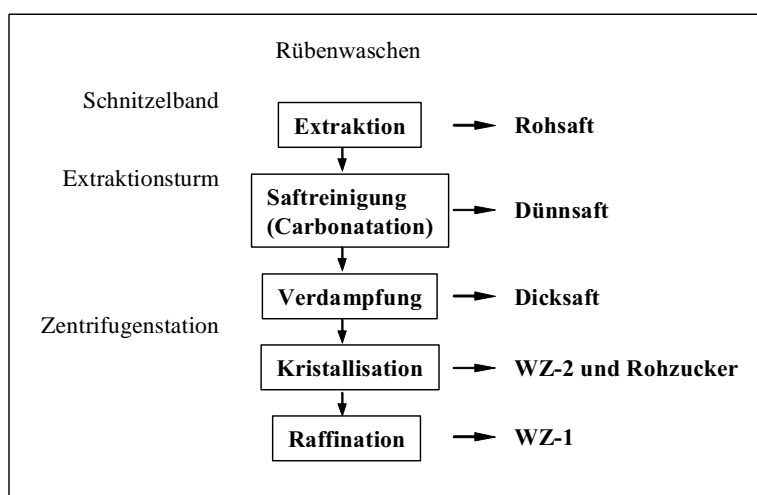


Abbildung 3-1: Stationen der Probenahme im Zuge der Gewinnung von Weißzucker.

Zusätzlich wurde eine große Zahl verschiedener Zuckerproben der Qualitäten WZ-1 und WZ-2 der Südzucker AG (Deutschland), von Agrana (Österreich), Saint Louis Sucre (Frankreich) und Raffinerie Tirlémontoise (Belgien) herangezogen.

Rohsaft (RoS) und Dünnsaft (DüS) wurden aufgrund der leichten Verderblichkeit gefroren (-18°C), Dicksaft (DiS) gekühlt ($+4^{\circ}\text{C}$) und Weißzucker (WZ) bei Raumtemperatur gelagert. Alle Proben wurden in geruchsneutralen Glasflaschen aufbewahrt.

In Tabelle 3-1 sind für verschiedene Probentypen Mittelwerte einiger analytischer Parameter aus der Kampagne 2003 zusammengefasst.

Tabelle 3-1: Zusammensetzungen und chemische Eigenschaften während des Prozesses der Zuckergewinnung entnommener Proben.

Probe	Gehalt an TS [g/100g]	pH	Invertzucker [g/100g Z]
Rohsaft	18,4	6,2	0,70
Dünnsaft	18,4	9,1	0,0025
Dicksaft	72,4	8,8	0,194
WZ-1	100	krist.	
WZ-2	100	krist.	

TS = Trockensubstanz; Z = Zucker

3.1.2 Chemikalien, Referenz- und Standardsubstanzen

Alle Chemikalien hatten, soweit nicht anders angegeben, p. A. Qualität.

Phosphorsäure (85%ige H_3PO_4 , reinst) Merck, Darmstadt

Methanol Merck, Darmstadt

Entionisiertes Wasser wurde mittels Membranfiltration (Millipore, Eschborn) gereinigt.

Tabelle 3-2: Referenz- und Standardsubstanzen für die Analyse von Geruchsstoffen aus Weißzucker und den Zwischenprodukten des Zuckergewinnungsprozesses.

Substanz	Hersteller/Lieferant
n-Alkane Mischung C5-C19	Fluka
n-Alkane Mischung C20-C40	Fluka
Acetophenon	Merck
α -Angelicalacton (5-Methyl-2(3H)-furanon)	Sigma Aldrich
Benzaldehyd	Merck
Bornylacetat	Frey & Lau
1-Butanol	Merck
Buttersäure	Merck
<i>d</i> ⁷ -Buttersäure	Sigma Aldrich
iso-Buttersäure	Merck
Butylhexanoat	Frey & Lau
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	Acros
iso-Butyraldehyd	Merck
<i>n</i> -Butyraldehyd	Merck
Campher	Frey & Lau
δ -Caren	Frey & Lau
Coumaran (Dihydrobenzofuran)	Frey & Lau
Crotonaldehyd (cis/trans-2-Butenal)	Frey & Lau
Decanal	Merck
1-Decanol	Merck

Fortsetzung **Tabelle 3-2**

Substanz	Hersteller/Lieferant
Diacetyl	Fluka
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	Sigma Aldrich
2,3-Diethylpyrazin	Sigma Aldrich
4,5-Dihydro-2-methyl-3(2H)furanon	Fluka
Dimethyldisulfid	Merck
2,5-/6-Dimethyl-3-ethylpyrazin	Sigma Aldrich
2,3-Dimethylpyrazin	Merck
2,5-Dimethylpyrazin	Merck
2,6-Dimethylpyrazin	Merck
Dimethylsulfid	Merck
Dimethylsulfoxid	Merck
Dimethyltrisulfid	Sigma Aldrich
1-Dodecanol	Merck
Essigsäure	Merck
Ethanol	Merck
2-Ethylcapronsäure	Merck
Ethylhexanoat	Frey & Lau
2-Ethyl-1-hexanol	Merck
2-Ethyl-3-methylpyrazin	Frey & Lau
2-Ethylpyrazin	Merck
Furaneol	Sigma Aldrich
Furfural	Fluka
Geosmin	Sigma Aldrich
Geranylaceton	Frey & Lau
Guajacol	Merck
1-Heptanol	Merck
3-Hepten-2-on	Frey & Lau
Hexan	Merck
Hexanal	Merck
1-Hexanol	Merck
Hexansäure	Merck
cis-2-Hexen-1-ol	Frey & Lau
Homofuraneol (Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3-2H-furan)	Frey & Lau
1-Hydroxy-2-propanon (Acetol)	Fluka
2-Isobutyl-3,5-/6-dimethylpyrazin	Frey & Lau
2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin	Acros
2-Isobutyl-3-methylpyrazin	Frey & Lau
Limonen	Acros
Linalool	Merck
Methional	Merck
2-Methylbutanal	Fluka
3-Methylbutanal	Merck
3-Methylbutanol (Isoamylalkohol)	Fluka
3-Methyl-3-buten-1-ol	Frey & Lau
3-Methyl-3-buten-2-ol	Frey & Lau
Methylhexanoat	Frey & Lau
2-Methylisoborneol	Sigma Aldrich

Fortsetzung **Tabelle 3-2**

Substanz	Hersteller/Lieferant
2-Methylisoborneol (Methyl- <i>d</i> ³)	Euriso-top*
Methylisobutylketon (4-Methyl-2-Pentanon)	Fluka
2-Methylpyrazin	Merck
Octanal	Merck
Heptanal	Merck
Nonanal	Merck
1-Nonanol	Merck
2-Nonanon	Frey & Lau
1-Octanol	Merck
2-Octanol	Frey & Lau
3-Octanol	Frey & Lau
2-Octanon	Frey & Lau
3-Octanon	Frey & Lau
1-Octen-3-ol	Sigma Aldrich
1-Octen-3-on	Sigma Aldrich
3-Octen-2-ol	Frey & Lau
Pentan	Merck
Pentanal	Merck
1-Pentanol	Merck
2-Pentanol	Merck
3-Pentanol	Merck
2-Penten-2-on	Frey & Lau
α -Pinen	Frey & Lau
β -Pinen	Frey & Lau
1-Propanol	Merck
2-Propanol	Merck
Propionsäure	Merck
Pyrazin	Merck
Pyridin	Sigma Aldrich
2,3,5-Trimethylpyrazin	Sigma Aldrich
α -Terpinen	Frey & Lau
2,3,5,6-Tetramethylpyrazin	Merck
2-Thiophencarboxaldehyd	Sigma Aldrich
Undecanal	Merck
trans-2-Undecenal	Sigma Aldrich
1-Undecanol	Merck
2-Undecanon	Frey & Lau
iso-Valeriansäure	Merck
<i>n</i> -Valeriansäure	Merck

* Von 2-Methylisoborneol (Methyl-*d*³) wurden 10,6 mg in 10 mL Methanol aufgenommen und bei -18°C gelagert.

3.2 Sensorische Analyse von Weißzuckerproben

Die Weißzuckerproben wurden anhand des in Abbildung 3-2 dargestellten Prüfschemas charakterisiert. Die Zucker wurden dabei durch die 5 Geruchsklassen *ammoniakartig*, *säuerlich*, *erdig*, *süß/karamellartig* und *sonstige Geruchsarten* auf einer Intensitätsskala von 0 bis 8 beschrieben.

Prüfmethode für Weißzucker - Feststoffmethode		
Klassifizierung Geruchsart		Geruchsintensität
ammoniakartiger Geruch	<ul style="list-style-type: none"> ◆ stechender Geruch ◆ Stallgeruch ◆ ammoniakartiger Geruch 	0 = kein Geruch
säuerlicher Geruch	<ul style="list-style-type: none"> ◆ leichter Buttersäuregeruch ◆ ranziger Geruch ◆ Iso-Valeriansäure ◆ Geruch nach Käse 	1 = außerordentlich schwacher Geruch
erdiger Geruch	<ul style="list-style-type: none"> ◆ krautiger Geruch ◆ muffiger Geruch ◆ modrig, fauliger Geruch ◆ alt, feucht (Keller-Geruch) ◆ Geruch nach Lehm, Torf ◆ Geruch nach Rübe ◆ pilzartiger Geruch 	2 = sehr schwacher Geruch
süß / karamellartiger Geruch	<ul style="list-style-type: none"> ◆ fruchtige Geruchsnote ◆ karamellartiger Geruch ◆ süß-karamellartiger Geruch 	3 = schwacher Geruch
sonstige Geruchsarten	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Verpackungsgeruch Papier/Pappe ◆ Verpackungsgeruch Kunststoff ◆ Geruch nach Lösungsmittel ◆ medizinischer Geruch 	4 = deutlicher Geruch
		5 = mittelstarker Geruch
		6 = starker Geruch
		7 = sehr starker Geruch
		8 = außerordentlich starker Geruch

Abbildung 3-2: Prüfschema zur sensorischen Charakterisierung von Weißzuckerproben.

Eine Weißzuckerprobe wurde jeweils von 8-12 Prüfpersonen eines Sensorikpanels charakterisiert. Für die Auswertung wurden alle Geruchsattribute berücksichtigt, die von mindestens der Hälfte der Prüfpersonen angegeben wurden. Die Intensität ergab sich als Mittelwert aus den Angaben dieser Personen.

3.3 Identifizierung von Aromastoffen

3.3.1 Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels Festphasenmikroextraktion

Die Festphasenmikroextraktion erfolgte mittels SPME-Faser (SUPELCO) 24 gauge, 2 cm; Beschichtung Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan (50/30 μ m, DVB/Car/PDMS). Die Faser war an der Faserhalterhalterung für manuelle oder automatisierbare Probennahme (SUPELCO) befestigt.

Probengefäße

40 mL-Vials, vorgereinigt (SUPELCO), für manuelle SPME. 20 mL-Headspace-Vials mit teflonkaschierter Dichtung, für automatisierte SPME. Zur Reinigung wurden Gläschen und Dichtungen zuvor bei 60-80°C über Nacht im Trockenschrank ausgeheizt.

Probenmaterial

	<u>manuelle SPME</u>	<u>automatisierte SPME</u>
Weißzucker (kristallin)	20 g	10 g
Weißzucker (Lösung) Wasser	15 g + 15 g gereinigtes Wasser	5 g + 5 g gereinigtes Wasser
Dicksaft Wasser	15 g + 15 g gereinigtes Wasser	5 g + 5 g gereinigtes Wasser
Dünnsaft	20 g	10 g
Rohsaft	20 g	10 g
Weißzucker (saure Lösung)	15 g WZ + 15 g gereinigtes Wasser + 1 mL H ₃ PO ₄ (60%).	

Durchführung

Manuelle Extraktion

Die Proben wurden jeweils in 40 mL Vials für die Analyse eingesetzt. Die Extraktion erfolgte bei einer Probentemperatur von 85°C (kristalliner Zucker) bzw. 60°C (wässrige Proben) während einer Zeit von 60 Minuten. Die flüssigen Proben wurden mit Hilfe eines Magnetrührers gerührt, um die Freisetzung der flüchtigen Verbindungen zu begünstigen. Für Gaschromatographie und Detektion vergleiche Abschnitt 3.5.

Automatisierte Extraktion

Die Proben wurden jeweils in 20 mL-Headspace-Vials für die Analyse eingesetzt. Die Extraktion erfolgte bei einer Probentemperatur von 85°C (kristalliner Zucker) bzw. 60°C (wässrige Proben) während einer Zeit von 60 Minuten.

Extraktion und Injektion erfolgten mit Hilfe des Autosamplers (CTC Combipal, Zwingen, CH). Für Gaschromatographie und MS-Detektion vergleiche Abschnitt 3.5.3.

Es wurde jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Optimierung der Anreicherung mittels SPME für Dicksaft und Weißzucker

Variation der Adsorptionszeit

Dicksaft:

Bei Raumtemperatur betrug die Anreicherungszeit 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten.

Bei 60°C betrug die Anreicherungszeit 5, 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten.

Weißzucker:

Bei 85°C betrug die Anreicherungszeit 5, 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten.

Variation der Probentemperatur:

Die Anreicherungszeit betrug jeweils 60 Minuten.

Dicksaft: Raumtemperatur (25-30°C), 40, 60 und 85°C.

Weißzucker: Raumtemperatur (25-30°C), 40, 60, 85, 100 und 120°C.

Lösung von Standardsubstanzen zur Untersuchungen unterschiedlicher Zeit-Temperatur-Kombinationen

Herstellen einer Mischung aus folgenden Standardsubstanzen: 3-Methylbutanal (0,7777 g), Dimethyldisulfid (0,0277 g), 2,5-Dimethylpyrazin (0,9935 g), 2-Ethyl-1-hexanol (0,0146 g), 2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin (0,0096 g).

Die eingewogenen Substanzen wurden mit Methanol auf 10 mL aufgefüllt und anschließend 1:10 verdünnt. Für die SPME wurden 3 µL dieser Lösung und 1,5 µL eines Geosmin-Standards (100 µg/mL) zu 25 mL gereinigtem Wasser gegeben. Die Proben temperatur während der Extraktion betrug zunächst 80°C und die Anreicherungszeit 30 Minuten. In weiteren Schritten wurde die Temperatur gesenkt (60, 40, 30°C) und die Anreicherungszeit verlängert (2, 8, 16 Stunden). Die Messungen erfolgten mittels GC/MS (Abschnitt 3.5.3).

3.3.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen

Die Identifizierung flüchtiger Verbindungen erfolgte mit Hilfe von Referenzsubstanzen sowie durch den Vergleich der kapillargaschromatographischen (Retentionszeit, Kovats-Index) und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben. Die jeweilige Identifizierungsgrundlage ist in den Tabellen im Ergebnisteil angegeben.

Bestimmung der Retentionsindices

Zur Bestimmung der Retentionsindices, (*Kovats Indices*, KI), wurden n-Alkane als Bezugsgrößen verwendet (Kovats, 1958).

Der Kovats Index KI ergibt sich aus:

$$KI = 100 \times N \frac{\log t_r(x) - \log t_r(n)}{\log t_r(N) - \log t_r(n)}$$

wobei n die Anzahl der C-Atome des kürzerkettigen Alkans

N die Anzahl der C-Atome des längerkettigen Alkans

$t_r(x)$ die Retentionszeit der zu untersuchenden Verbindung

$t_r(n)$ die Retentionszeit des kürzerkettigen Alkans und

$t_r(N)$ die Retentionszeit des längerkettigen Alkans ist.

3.3.3 Aromaverdünnungsanalyse

Die Aromaverdünnungsanalyse erfolgte analog Abschnitt 3.3.1. Die Extraktionszeit betrug zu Beginn 60 Minuten, die adsorbierten Verbindungen wurden im Injektor des GC-Systems thermisch desorbiert, danach kapillargaschromatographisch getrennt und simultan mittels AED (Abschnitt 3.5.1) und OD (Abschnitt 3.5.2) detektiert. Bei den darauf folgenden Analysen wurde die Anreicherungszeit jeweils halbiert, die Verdünnungsstufen n , die Extraktionszeiten und die sich daraus ergebenden FD-Faktoren (vgl. auch Abschnitt 2.3.4.2) sind in Tabelle 3-3 angegeben.

Tabelle 3-3: Anreicherungszeiten und sich daraus ergebende FD-Faktoren ($FD = 2^n$); n = Verdünnungsstufe.

n	Extraktionszeit	FD-Faktor
0	60 min	1
1	30 min	2
2	15 min	4
3	7 min 30 sec	8
4	3 min 45 sec	16
5	1 min 53 sec	32
6	56 sec	64
7	28 sec	128
8	14 sec	256
9	7 sec	512
10	3,5 sec	1024
11	1,8 sec	2048

3.4 Quantifizierung

Die flüchtigen Verbindungen wurden, sofern nicht anders angegeben, aus wässrigen Zuckerlösungen mit einem TS-Gehalt von 50% quantifiziert. Die Zuckerlösungen wurden täglich frisch mit demineralisiertem Wasser hergestellt. Für die Analyse wurden jeweils 10 g dieser Lösungen eingesetzt.

Die Quantifizierung erfolgte durch den Vergleich der Signalflächen von Analyten und Standards.

3.4.1 SPME unter Einsatz eines internen Standards

Ein mL 1-Octanol wurde in 9 mL Methanol gelöst und mit gereinigtem Wasser auf eine Konzentration von 10 ppb verdünnt. Von dieser Lösung wurden jeweils 2 μ L mit Hilfe einer Mikroliterspritze auf den kristallinen Zucker (10 g) aufgespritzt. Die Analyse erfolgte in 10facher Wiederholung.

3.4.2 Quantifizierung der flüchtigen organischen Säuren

Interner Standard: *d*⁷-Buttersäure 50 mg/10 mL Wasser, davon 1:100 Verdünnung.

Kalibrierung

Für die Kalibrierung wurden folgende Mengen Standardsubstanzen eingesetzt: Essigsäure (2,25 g), Propionsäure (0,30 g), Isobuttersäure (0,08 g), Buttersäure (0,17 g), Isovaleriansäure (0,08 g), Valeriansäure (0,08 g), Methylvaleriansäure (0,08 g), Hexansäure (0,08 g).

Von dieser Mischung wurden 140 mg in 100 g Wasser gelöst und 1:10 mit Wasser verdünnt (Stammlösung). Davon wurden je 0,025, 0,05, 0,075, 0,10, 0,20, 0,30, 0,40 und 0,50 mL für die Analyse eingesetzt.

Zur Kalibrierung wurde ein Weißzucker eingesetzt, der nach mehrmaligem Umkristallisieren keinen erkennbaren Geruch mehr aufwies.

Für die Aufstellung der Kalibriergeraden wurden jeweils 10 g Lösung dieses Zuckers mit der oben angegebenen Menge an Standardmischung, 100 μ L Phosphorsäure (85%) und 50 μ L Lösung des internen Standards in ein 20 mL Headspace-Gläschen pipettiert.

Bestimmung der flüchtigen organischen Säuren aus Weißzucker

Für die Analyse der flüchtigen organischen Säuren wurden jeweils 10 g Zuckerlösung mit 100 μ L Phosphorsäure (85%) und 50 μ L Lösung des internen Standards in 20 mL Headspace Gläschen pipettiert.

Analytik

Die SPME wurde analog Abschnitt 3.3.1 durchgeführt, jedoch mit 30 Minuten Extraktionszeit bei 60°C. Die Messungen erfolgten mittels automatisierter SPME/GC/MS im *full scan* Modus.

Wiederholbarkeit der Messungen

Zur Überprüfung der Wiederholbarkeit der Quantifizierung wurde ein Zucker 20 Mal aufgearbeitet. 10 Mal wurden 30,5 g und 10 Mal 61,0 g Weißzucker im Messkolben in Wasser gelöst und auf 100 mL aufgefüllt. Die Analyse erfolgte wie oben beschrieben.

3.4.3 Quantifizierung von Pyrazinen, Geosmin und 2-Methylisoborneol

Interner Standard: *d*³-2-Methylisoborneol 10,6 mg/10 mL in Methanol, davon eine 1:1000 Verdünnung.

Kalibrierung

Für die Kalibrierung wurden folgende Mengen an Standardsubstanzen eingesetzt:

Tabelle 3-4: Kalibrierung von Pyrazinen und Terpenen, Target- und Qualifier-Ionen.

	Stamm- lösung [mg/10mL]	Verdün- nung I [µg/mL]	Verdün- nung II	Target- Ion [m/z]	Qualifier-Ion [m/z]
2,5-Dimethylpyrazin	99,8	99,8	1:10	108,12	
2-Isopropyl-3- methoxy-pyrazin	104,6	104,6	1:100	152,2	137,15
2-sec-Butyl-3- methoxy-pyrazin	98,1	98,1	1:100	151,25	138,15
2-Isobutyl-3- methoxy-pyrazin	95,5	95,5	1:100	124,15	151,25
Geosmin*	-	100,0	-	112	138
2-Methylisoborneol*	-	100,0	-	95	107

*Geosmin und 2-Methylisoborneol wurden als Standardlösung (100 µg/mL) bezogen.

Für jede Verbindung wurde eine eigene Lösung hergestellt (Stammlösung) und verdünnt (Verdünnung I und Verdünnung II).

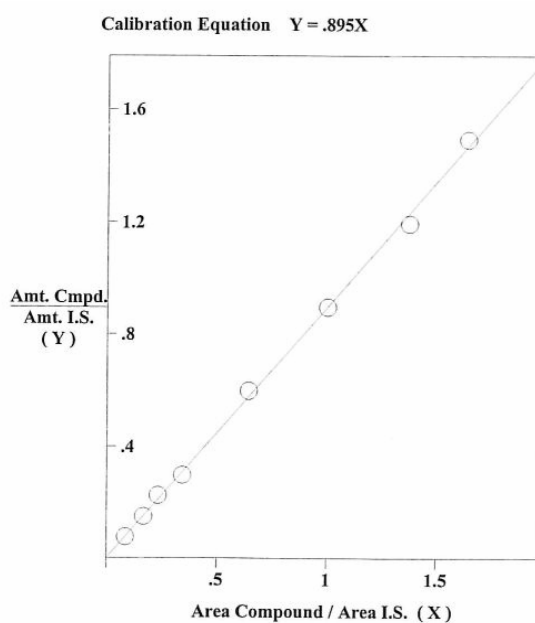
Für die Kalibrierung der quantitativen Analyse der Geruchssubstanzen in den Weißzuckern wurden von allen Verdünnungen II und der Geosminlösung jeweils 0,1 mL sowie von der 2-Methylisoborneollösung 0,2 mL in einen Messkolben pipettiert und mit Methanol auf 1,0 mL aufgefüllt (Lösung III). Von dieser Mischung wurden 1, 2,5, 5, 7,5 und 10 μ L für die Analyse eingesetzt.

Für die Kalibrierung der quantitativen Analyse der Geruchssubstanzen in den Säften wurden von den Stammlösungen und der Geosminlösung jeweils 0,1 mL sowie von der 2-Methylisoborneollösung 0,2 mL in einen Messkolben pipettiert und mit Methanol auf 1,0 mL aufgefüllt (Lösung IV). Von dieser Mischung wurden 1, 3, 5 und 10,0 μ L für die Analyse eingesetzt.

Für die Aufstellung der Kalibriergeraden wurden jeweils 10 mL Wasser mit der oben angegebenen Menge an Lösung III oder Lösung IV und 2 μ L Lösung des internen Standards in ein 20 mL Headspace Gläschen pipettiert.

Die Kalibriergeraden (Konzentration des Geruchsstoffes gegen Peakfläche) für Buttersäure, Geosmin und 2,5-Dimethylpyrazin sind in Abbildung 3-3 dargestellt.

a)



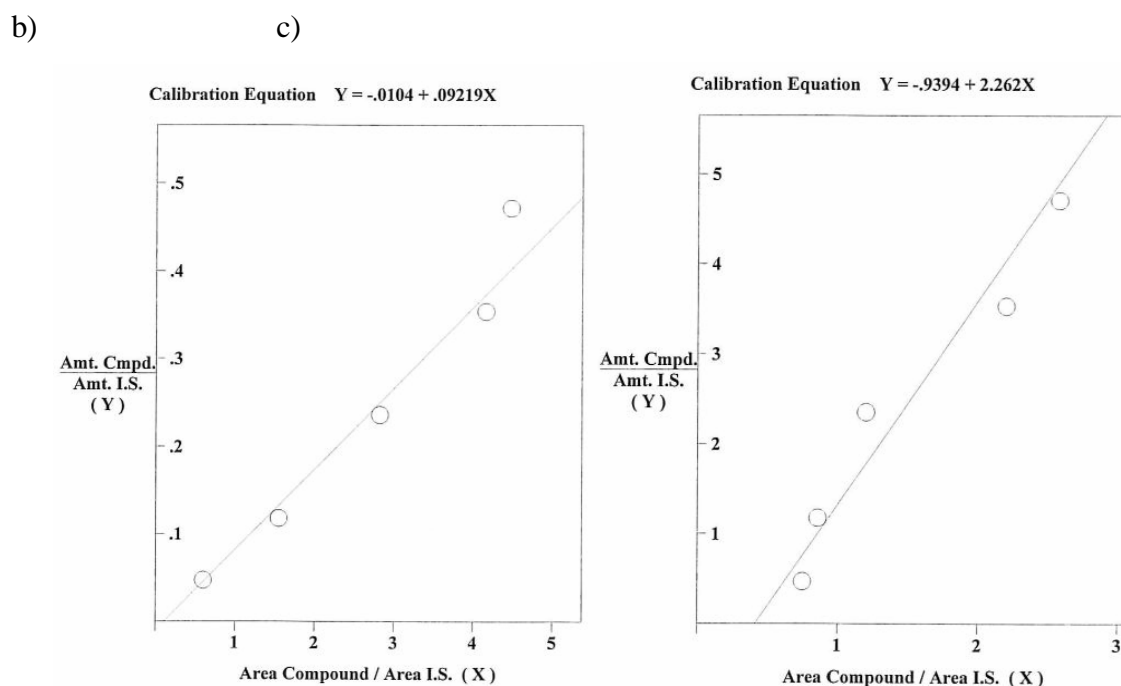


Abbildung 3-3: Kalibriergeraden zur Quantifizierung von a) Buttersäure, b) Geosmin und c) 2,5-Dimethylpyrazin.

Quantitative Bestimmung der Komponenten in Weißzucker

Für die Analyse wurden jeweils 10 g Zuckerlösung (5 g Zucker + 5 g gereinigtes Wasser) mit 2 μ L Lösung des internen Standards in 20 mL Headspace-Gläschen pipettiert.

Quantitative Bestimmung der Komponenten in Rohsaft, Dünnsaft und Dicksaft

Für die Analyse wurden jeweils 10 g Rohsaft, 10 g Dünnsaft oder 10 g Dicksaftlösung (50% TS) mit 2 μ L Lösung des internen Standards in 20 mL Headspace Gläschen pipettiert.

Analytik

Die Messungen erfolgten mittels automatisierter SPME/GC/MS im SIM-Modus (Selected Ion Monitoring Mode), um eine maximale Empfindlichkeit zu erreichen. Die SPME wurde analog Abschnitt 3.3.1 durchgeführt. Die Target-Ionen wurden aus den Fragmentierungsmustern jeder Verbindung ausgewählt, um eine mögliche Störung durch coeluiierende

Substanzen zu vermeiden. Zur Absicherung wurden zusätzlich für jede Verbindung ein bis zwei Qualifier-Ionen hinzugezogen (Tabelle 3-4).

Die Bestimmungsgrenze wurde nach DIN 32645 (1994) in grober Näherung als dreifacher Messwert der Nachweisgrenze ermittelt.

Wiederholbarkeit der Messungen

Die Überprüfung der Wiederholbarkeit der Quantifizierungen erfolgte durch eine 10-fache Bestimmung der Komponenten aus einem Weißzucker. Die Analyse erfolgte wie oben beschrieben.

3.4.4 System zur Luftprobennahme und Quantifizierung flüchtiger Verbindungen aus Luft

Probennahme

An verschiedenen Stellen einer Zuckerfabrik wurden während der Rübenkampagne Luftproben genommen. Dafür wurden mittels einer in Abbildung 3-3 schematisch dargestellten Apparatur jeweils 3 L Luft über einen mit dem Adsorbiermaterial Tenax GR gefüllten Septum-Liner gesaugt, woran die flüchtigen Verbindungen angelagert und angereichert wurden. Die Flussrate betrug 300 mL/min. Die Röhrchen entsprachen in ihrer Größe den Linern des Septuminjektors des Agilent GC6890 Gerätes, so dass sie nach erfolgter Anreicherung direkt in den Injektor eingesetzt, und die adsorbierten Substanzen der gaschromatographischen Analyse zugeführt werden konnten.

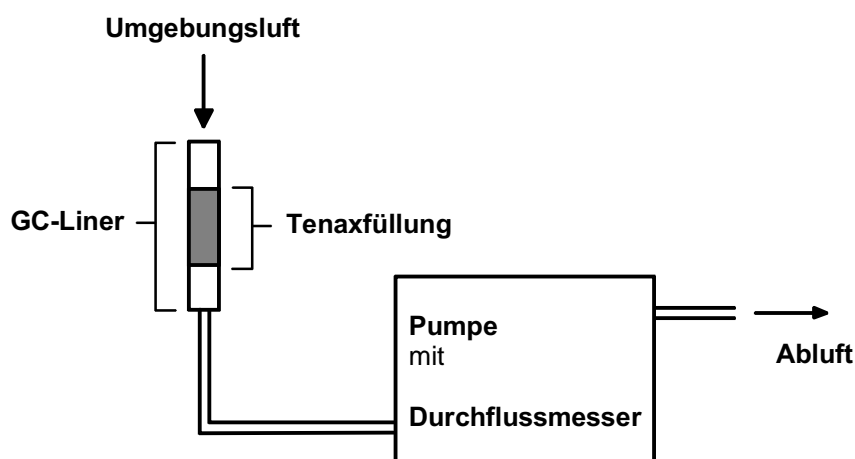


Abbildung 3-3: Vorrichtung zur Entnahme von Luftproben.

Kalibrierung für die Bestimmung von Pyrazinen und Terpenen

Aus den in Tabelle 3-4 angegebenen Einwaagen der Standardsubstanzen wurden Lösungen folgender Konzentrationen für die Kalibrierung zur Bestimmung der Pyrazine und Terpene hergestellt (Tabelle 3-5). Von beiden Lösungen wurde jeweils 1 μL für die Analyse eingesetzt.

Tabelle 3-5: Kalibrierlösungen für Pyrazine und Terpene bei der Luftprobennahme.

	Lösung I [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Lösung II [$\mu\text{g}/\text{mL}$]
2,5-Dimethylpyrazin	99,8	9,98
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	10,46	1,046
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	9,81	0,981
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	9,55	0,955
Geosmin	20	2
2-Methylisoborneol	10	1

Kalibrierung zur Bestimmung der flüchtigen organischen Säuren

Für die Kalibrierung zur quantitativen Bestimmung der flüchtigen organischen Säuren (FOS) wurden folgende Mengen eingesetzt (Tabelle 3-6).

Tabelle 3-6: Kalibrierlösungen der flüchtigen organischen Säuren zur Bestimmung nach der Luftprobennahme.

	Einwaage [g]	Stammlösg. I [mg/g]	Stammlösg. II [µg/mL]
Essigsäure	2,2623	716,7	7425
Propionsäure	0,2917	92,4	957
Isobuttersäure	0,0879	27,8	289
Buttersäure	0,1660	52,6	545
Isovaleriansäure	0,0887	28,1	291
Valeriansäure	0,0884	28,0	290
Methylvaleriansäure	0,0856	27,1	281
Hexansäure	0,0858	27,2	282
Summe	3,1564		

Für die Stammlösung I wurden die Säuren in den angegebenen Mengen zusammengemischt. Die Stammlösung II ergibt sich aus 10,360 mg Stammlösung I, mit Wasser auf 1 mL aufgefüllt. Für die Kalibrierung wurden 990 mg der Stammlösung I und jeweils 0,25, 0,5 und 0,75 mL der Stammlösung II mit Wasser auf 1 mL aufgefüllt. Von diesen Verdünnungen sowie der Stammlösung II wurde jeweils 1 µL für die Analyse eingesetzt.

Für die Kalibrierung wurde jeweils 1 µL der angegebenen Standardlösungen auf einen gereinigten mit Tenax GR gefüllten Septum-Liner gespritzt.

Analytik

Die adsorbierten Geruchsstoffe oder Standardsubstanzen wurden im Injektor des Gaschromatographen thermisch desorbiert (240°C) und direkt mittels GC/MS (Abschnitt 3.5.3) analysiert.

Bestimmung der Wiederfindungsrate

Für die Bestimmung der Wiederfindungsrate wurde in 10 Wiederholungen jeweils 1 µL der Standardlösungen der flüchtigen organischen Säuren bzw. der Lösung I (Tabelle 3-6) in das mit Tenax befüllte Röhrchen gespritzt. Im Anschluss wurden 3 L Laborluft analog der Probennahme durch das Röhrchen gesaugt. Die Analyse erfolgte wie oben beschrieben.

3.5 Kapillargaschromatographie (GC)

Die Auftrennung der Lösungsmittel- und SPME-Extrakte und die Detektion der Komponenten erfolgten mittels hochauflösender Gaschromatographie.

3.5.1 Kapillargaschromatographie/Atomemissionsspektrometrie (GC/AED)

Gerät: HP6890 GC System

Detektor: HP G2350A Atomemissionsdetektor;

Aufnahme bei 193nm (Kohlenstoff), 181nm (Schwefel) und 174nm (Stickstoff)

Trennsäule A OPTIMA-5 MS-Fused Silica Kapillarsäule, bezeichnet als DB-5
(5% Phenyl)-methylpolysiloxan; Macherey & Nagel, Düren)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

PTV-Injektor: 40°C, 0,1 min; 420°C/min auf 240°C, 30 min

Temperaturprogramm: 40°C, 1min, 6°C/min auf 150°C, 2min, 12°C/min auf 240°C,
11 Minuten isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 2,3 mL/min, Flussrate konstant, splitlos

Bei Analyse der Lösungsmittlextrakte: *solvent vent* zwischen 3,5 und 5 Minuten.

Trennsäule B FFAP-Fused Silica Kapillarsäule (Polyethylenglycol modifiziert mit Nitroterephthalsäure; Phenomenex, Aschaffenburg)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

PTV-Injektor: 40°C, 0,1 min; 420°C/min auf 220°C, 50 min

Temperaturprogramm: 40°C, 1 min isotherm, 5°C/min auf 180°C, 2 min isotherm,
10°C/min auf 220°C, 15 min isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 1,5 mL/min, Flussrate konstant, splitlos

Trennsäule C OPTIMA-Wax (Polyethylenglycol; Macherey & Nagel, Düren)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

PTV-Injektor: 40°C, 0,1 min; 420°C/min auf 240°C, 30 min

Temperaturprogramm: 40°C, 1min, 6°C/min auf 150°C, 2min, 12°C/min auf 240°C,
11 Minuten isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 2,3 mL/min, Flussrate konstant, splitlos

3.5.2 Kapillargaschromatographie/Olfaktometrie (GC/O)

Der Sniffing-Port (oder Olfaktometer) war an das GC/AED-Gerät gekoppelt. GC-Parameter wie in Abschnitt 3.5.1.

Das GC-Eluat wurde über eine Splittvorrichtung ("three-way zero dead-volume splitter", Gerstel GP-3D/2; Mühlheim/ Ruhr) im Verhältnis 2:1 geteilt. Ein Teil des Eluates wurde in das Olfaktometer, zwei Teile in den AED geleitet. Als Transferleitung dienten unbelegte Silica Kapillarsäulen von 90 cm (OD) und 110 cm (AED) Länge. Am Glas-Sniffing-Trichter wurde das Eluat angefeuchtet, um ein Austrocknen der Nasenschleimhaut der Prüfperson zu vermeiden (Gerstel Olfactory Detector Port ODP-2). Mit Hilfe eines Joysticks wurden Zeit, Dauer und Intensität der wahrgenommenen Gerüche aufgezeichnet. Das daraus entstehende Olfaktogramm (auch Aromagramm) wurde durch einen Computer aufgezeichnet und kann den mittels AED gewonnenen Daten überlagert werden. Während der Sniffing-Analyse wurden alle wahrgenommenen Gerüche protokolliert und später dem Olfaktogramm zugeordnet.

Die Steuerung des gesamten GC/AED/O-Systems, sowie die Auswertung erfolgten mit der HP ChemStation Software.

3.5.3 Kapillargaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)

Gerät I: HP5890 Serie B Plus

Detektor: HP5989B Engine Quadrupol Massenspektrometer

Transferleitung: 260°C

Ionenquelle: 200°C

Quadrupol: 100°C

Ionisierung: Elektronenstoßionisation (EI) mit 70 eV

Injektor: Optic 2 (AI Qualitek Ltd., Cambridge, UK)

(40°C, 15°C/sec auf 240°C)

Scanbereich: 35-290 amu

a) Trennsäule A OPTIMA-5 MS-Fused Silica Kapillarsäule, bezeichnet als DB-5

(Macherey & Nagel, Düren)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

Temperaturprogramm: 40°C, 1 min isotherm, 5°C/min auf 240°C, 10 min isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 1,2 bar, Flussrate konstant, splitlos

b) Trennsäule B FFAP-Fused Silica Kapillarsäule, (Phenomenex, Aschaffenburg)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

Temperaturprogramm: 40°C, 1 min isotherm, 5°C/min auf 220°C, 10 min isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 1,2 bar, Flussrate konstant, splitlos

Die Steuerung des GC/MS-Systems sowie die Auswertung erfolgten mit der HP ChemStation Software.

Gerät II: HP6890 GC System

Detektor: JMS-GCMATE II, Jeol Sektorfeld Massenspektrometer

Injektor: Optik 2 (AI Qualitek Ltd., Cambridge, UK)

Trärgas: Helium (4,6) 0,5 bar, Druck konstant, splitlos

Ofen: 40°C, 1 min, 5°C/min auf 220°C, 10 min isotherm

Transferleitung: 260°C

Ionenquelle: 100°C

Ionisierung: Elektronenstoßionisation (EI) mit 70 eV

Scanbereich: 35-290 amu

a) Trennsäule A OPTIMA-5 MS-Fused Silica Kapillarsäule, bezeichnet als DB-5

(Macherey & Nagel, Düren)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

Temperaturprogramm: 40°C, 1 min isotherm, 5°C/min auf 240°C, 10 min isotherm

Trärgas: Helium (4,6) 1,5 bar, Flussrate konstant, splitlos

b) Trennsäule B FFAP-Fused Silica Kapillarsäule, (Phenomenex, Aschaffenburg)

60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm Filmdicke

Temperaturprogramm: 40°C, 1 min isotherm, 5°C/min auf 220°C, 10 min isotherm

Trägergas: Helium (4,6) 1,2 bar, Flussrate konstant, splitlos

Die Steuerung des GC/MS-Systems, sowie die Auswertung erfolgten mit der TSS 2000 Software (Shrader Analytical and Consulting Lab). Das Injektionssystem wurde durch eine separate Optic Software gesteuert.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 Etablierung der Festphasenmikroextraktion

Die Prozess begleitende Analytik erfordert eine einfache Analysetechnik, die aussagekräftige und reproduzierbare Ergebnisse liefert, Quantifizierungen ermöglicht und bei Bedarf durch Automatisierung die Bewältigung eines großen Probenaufkommens in vertretbarer Zeit gewährleistet.

Für die bestehende Fragestellung wurden in Vorversuchen zunächst einige in der Aromanalytik verbreitete Techniken wie die Flüssig/Flüssig-Extraktion, die Vakuumheadspace-Extraktion, die Methode der Solvent Assisted Flavor Evaporation und die Festphasenmikroextraktion zur Extraktion und Anreicherung geruchsrelevanter Verbindungen aus Weißzucker, Dicksaft, Dünnsaft und Rohsaft getestet. Die Untersuchungen dienten einer ersten Orientierung und der Auswahl der bevorzugten Anreicherungs-methode.

Die Flüssig/Flüssig-Extraktion mittels eines Rotationsperforators erwies sich als geeignet für die Extraktion flüchtiger Verbindungen aus Weißzucker und Dicksaft. Bei Dünnsaft und Rohsaft bildeten sich hingegen Emulsionen, die keine klare Trennung von wässriger und organischer Phase während des Extraktionsvorganges ermöglichten.

Mit Hilfe der Vakuumheadspace-Extraktion und der Solvent Assisted Flavour Evaporation (SAFE) konnten aus den untersuchten Fabrikationssäften gaschromatographisch erfassbare Mengen flüchtiger Komponenten isoliert werden. Für die Untersuchung von Weißzucker ließen sich dagegen keine ausreichenden Anreicherungen erzielen.

Als Ergebnis dieser Voruntersuchungen wurde die Festphasenmikroextraktion als Technik zur Isolierung und Anreicherung flüchtiger Komponenten sowohl aus Zucker als auch aus den entsprechenden Fabrikationsvorstufen ausgewählt. Die Schritte zur Optimierung dieser Methode sind in den folgenden Abschnitten beschrieben.

4.1.1 Variation von Adsorptionszeit oder Probentemperatur

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) ist ein Extraktionsverfahren, das auf Gleichgewichtsverteilungen der flüchtigen Komponenten zwischen Probe und Dampfraum und zwischen Dampfraum und Faserbeschichtung basiert. Verschiedene Parameter können die Effizienz und Reproduzierbarkeit der Methode maßgeblich beeinflussen. Um die geeigneten Bedingungen für eine möglichst effektive Anreicherung zu ermitteln, wurden die Parameter Adsorptionszeit und Probentemperatur für die Anwendung der SPME auf die Fabrikationssäfte und auf Weißzucker optimiert.

4.1.1.1 Dicksaft

Dicksaft wurde als Vertreter flüssiger Proben für die Untersuchungen zur Optimierung der Extraktionsbedingungen mittels SPME eingesetzt. Zur Auswertung wurden flüchtige Verbindungen herangezogen, die verschiedenen Stoffklassen angehören und nach Vorversuchen als potentielle Geruchsstoffe in Dicksaft erkannt worden waren. Dabei handelte es sich um Dimethyldisulfid (DMDS), 2- und 3-Methylbutanal (MB), 2,5-Dimethylpyrazin (DMP) und 2,3,5-Trimethylpyrazin (TMP).

Variation der Adsorptionszeit

Bei konstanter Temperatur (30°C) wurde die Adsorptionszeit zwischen 30 und 120 Minuten variiert. Abbildung 4-1 zeigt die Veränderungen der relativen Peakflächen der ausgewählten Verbindungen in Abhängigkeit von der Zeit.

Die Verlängerung der Expositionszeit führte im Allgemeinen zu einer stärkeren Anreicherung der Verbindungen. Nach etwa 90 Minuten stellte sich für alle untersuchten Substanzen ein Gleichgewichtszustand zwischen Faser und Umgebung ein, und eine erhöhte Adsorption an die Faser war mit Verlängerung der Zeit nicht mehr zu beobachten. Bei den leichter flüchtigen Komponenten 2- und 3-Methylbutanal, die aufgrund von Coelution zusammen betrachtet werden, und Dimethyldisulfid war der Gleichgewichtszustand bereits nach einer Zeit von 30 Minuten annähernd erreicht.

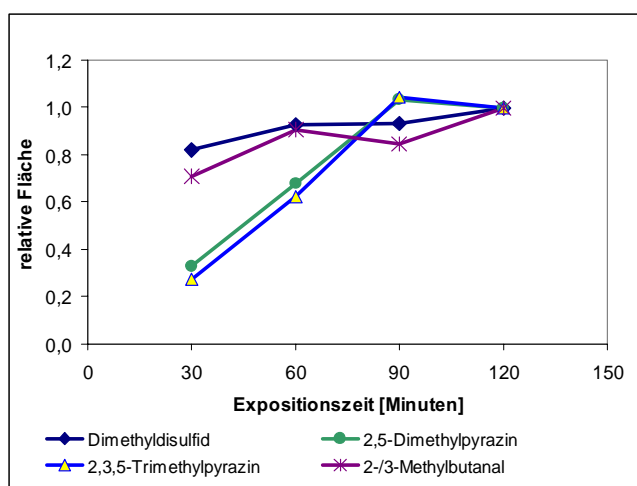


Abbildung 4-1: Veränderungen der nach SPME (Temperatur 30°C) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Dicksaft erhaltenen relativen Peakflächen in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

In weiteren Untersuchungen wurde mit einer Proben temperatur von 60°C gearbeitet und die Expositionszeit zwischen 5 Minuten und 120 Minuten variiert (Abbildung 4-2).

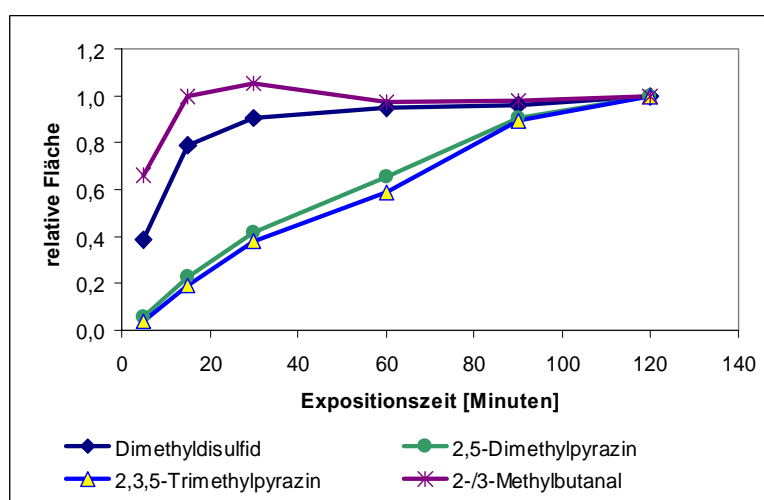


Abbildung 4-2: Veränderungen der nach SPME (Temperatur 60°C) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Dicksaft erhaltenen relativen Peakflächen in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

Die leicht flüchtigen Verbindungen 2-/3-Methylbutanal und Dimethyldisulfid erreichten bereits nach 15 bis 30 Minuten Extraktionszeit den Gleichgewichtszustand, während bei den Pyrazinen nach fast linearer Steigerung eine Annäherung an den Sättigungsbereich erst ab 90 Minuten zu erkennen war.

Variation der Proben­temperatur

Bei konstanter Extraktionszeit (60 min) wurde die Proben­temperatur zwischen Raumtemperatur und 85°C variiert. Abbildung 4-3 zeigt die Veränderungen der Peak­flächen der flüchtigen Verbindungen aus Dicksaft in Abhängigkeit von der Temperatur.

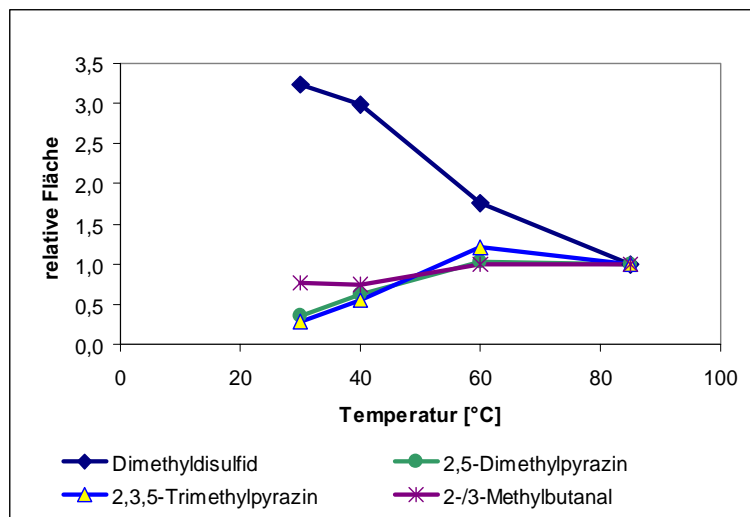


Abbildung 4-3: Veränderungen der nach SPME (Extraktionszeit 60 min) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Dicksaft erhaltenen relativen Peak­flächen in Abhängigkeit von der Proben­temperatur.

Bis zu einer Proben­temperatur von 60°C waren deutliche Intensitätssteigerungen der Signale für die Pyrazine zu beobachten. Weitere Temperaturerhöhung auf 85°C führte bereits zur leicht abnehmenden Adsorption an die Faser. Dimethyl­disulfid wurde mit steigender Temperatur vermindert angereichert, wofür entweder zunehmende Desorption von der Faser oder die Instabilität der Verbindung verantwortlich sein kann. Das Anreicherungsverhalten von 2-/3-Methyl­butanal wurde durch die Temperaturveränderung nicht signifikant beeinflusst.

4.1.1.2 Weißzucker

Aus Vorversuchen ging hervor, dass im Weißzucker, anders als im Dicksaft, kurzkettige organische Säuren das chromatographische Bild der flüchtigen Verbindungen dominieren. Aus diesem Grund wurden neben 2-/3-Methylbutanal, 2,5-Dimethylpyrazin und 2,3,5-Trimethylpyrazin für die Optimierung der Extraktionsparameter auch Essigsäure und Buttersäure herangezogen. Dimethyldisulfid wurde im Dampfraum kristallinen Zuckers nicht nachgewiesen.

Variation der Adsorptionszeit

Bei konstanter Temperatur (85°C) wurde die Adsorptionszeit zwischen 5 und 120 Minuten variiert. Abbildung 4-4 zeigt die relativen Veränderungen der Peakflächen der ausgewählten Verbindungen in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.

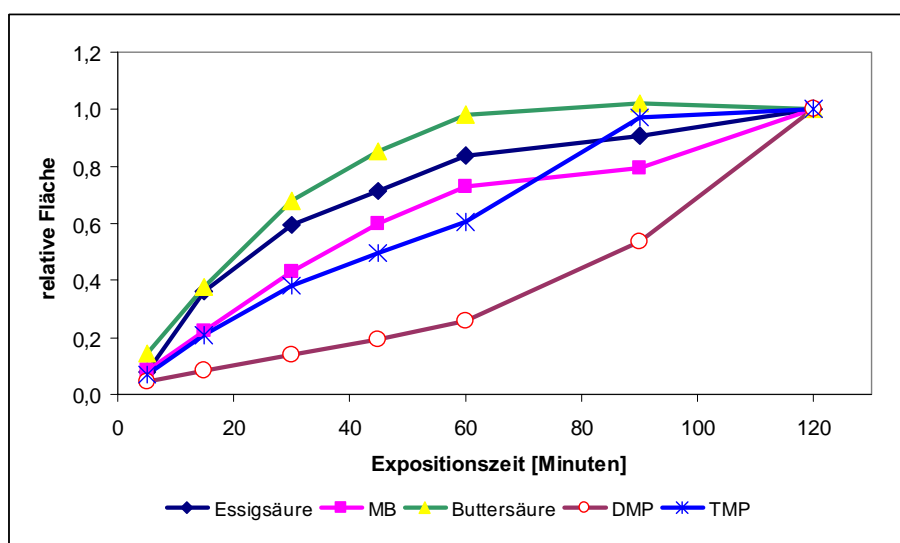


Abbildung 4-4: Veränderungen der nach SPME (Temperatur 85°C) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Weißzucker erhaltenen relativen Peakflächen in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

MB = 2-/3-Methylbutanal, DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, TMP = 2,3,5-Trimethylpyrazin.

Eine Verlängerung der Adsorptionszeit resultierte in verstärkter Anreicherung der Verbindungen. Im Bereich zwischen 5 und 60 Minuten war die Zunahme der Intensitäten der Signale in etwa linear, die Bestimmtheitsmaße bei der Anpassung von Regressionsgeraden in diesem Bereich (R^2) lagen zwischen 0,932 für Essigsäure und 0,998

für 2,5-Dimethylpyrazin. Mit Ausnahme der beiden Pyrazine zeigten die Regressionskurven ab 60 Minuten bereits den Beginn des Sättigungsbereiches an.

Variation der Proben temperatur

Der Einfluss der Temperatur auf die Festphasenmikroextraktion der flüchtigen Verbindungen aus Weißzucker wurde zwischen 25°C (Raumtemperatur) und 120°C untersucht. Die Anreicherungszeit betrug 60 Minuten. In Abbildung 4-5 sind die relativen Veränderungen der Peakflächen in Abhängigkeit von der Proben temperatur dargestellt.

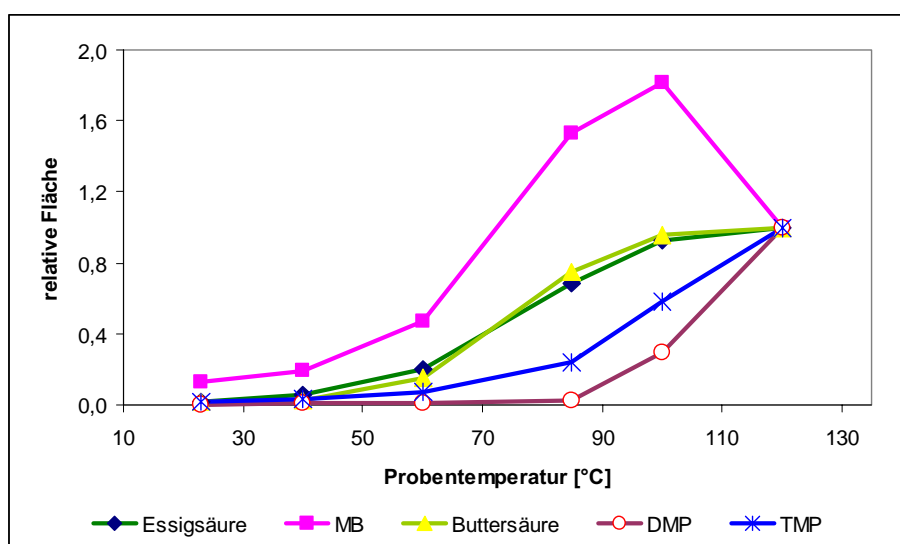


Abbildung 4-5: Veränderungen der nach SPME (Extraktionszeit 60 min) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Weißzucker erhaltenen relativen Peakflächen in Abhängigkeit von der Proben temperatur.

MB = 2-/3-Methylbutanal, DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, TMP = 2,3,5-Trimethylpyrazin.

Aus Abbildung 4-5 geht hervor, dass eine deutliche Steigerung der Signale erst im Bereich zwischen 60°C und 85°C stattfand. Während mit weiterer Temperaturerhöhung die Signalintensitäten der Pyrazine weiter anstiegen, war bei den organischen Säuren oberhalb von 85°C ein Abflachen des Anstiegs zu beobachten. Im Falle von 2- und 3-Methylbutanal nahm die Intensität zwischen 100°C und 120°C sogar ab, was mit der zunehmend überwiegenderen Desorption von der Faser in diesem Temperaturbereich zu erklären ist. Die optimale Proben temperatur liegt somit zwischen 85°C und 100°C.

Hydroxymethylfurfural (HMF) ist ein Produkt der Maillard Reaktion und kann auch sauer katalysiert aus Glucose oder Fructose gebildet werden (Kuster, 1975; van Dam *et al.*, 1986). Höhere Temperaturen begünstigen diese Reaktion. Da dies vermuten ließ, dass während der hier beschriebenen Untersuchungen infolge der thermischen Belastung bei der Extraktion aus Weißzucker die Bildung von HMF einsetzen könnte, wurden die SPME-Extrakte massenspektrometrisch auf das Vorliegen dieser Substanz untersucht. Bei einer Extraktionszeit von 60 Minuten waren ab einer Temperatur von 100°C messbare Mengen von HMF vorhanden, wobei die Bildung von HMF bis zur Temperatur von 120°C weiterhin zunahm (Tabelle 4-1).

Tabelle 4-1: Für HMF detektierte Signalintensitäten nach SPME von Weißzucker in Abhängigkeit von der Proben temperatur (Doppelbestimmungen mittels SPME/GC/MS).

	40°C	60°C	85°C	100°C	120°C
1.	n.d.	n.d.	n.d.	21236	61042
2.	n.d.	n.d.	n.d.	32771	31768

n.d. nicht detektierbar

4.1.1.3 Rohsaft

Ergänzend zu den beschriebenen Untersuchungen zur Änderung der Anreicherungszeit (zwischen 5 und 120 Minuten) wurde am Beispiel von Rohsaft die Extraktionszeit schrittweise halbiert, beginnend mit 60 Minuten bis zur kürzesten technisch realisierbaren Zeit von 1,8 Sekunden. Für die Auswertung wurden Verbindungen aus verschiedenen Stoffklassen mit unterschiedlichen Flüchtigkeiten herangezogen. Die relativen Peakflächen von Dimethylsulfid, 2-/3-Methylbutanal, 2,5-Dimethylpyrazin, Essigsäure, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, Dimethylsulfoxid und Geosmin, jeweils bezogen auf die Fläche bei 60 Minuten (3600 Sekunden), sind in Abbildung 4-6 dargestellt.

Die Flächenabnahme der betrachteten Verbindungen bei stetiger Halbierung der Extraktionszeit verläuft mit Ausnahme von zwei Komponenten über den gesamten Bereich weitgehend linear. Bei Dimethylsulfid und 2-/3-Methylbutanal wird bereits nach einer Adsorptionszeit von 225 Sekunden annähernd der so genannte *steady state*, das mögliche Maximum an extrahierbarer Menge, erreicht.

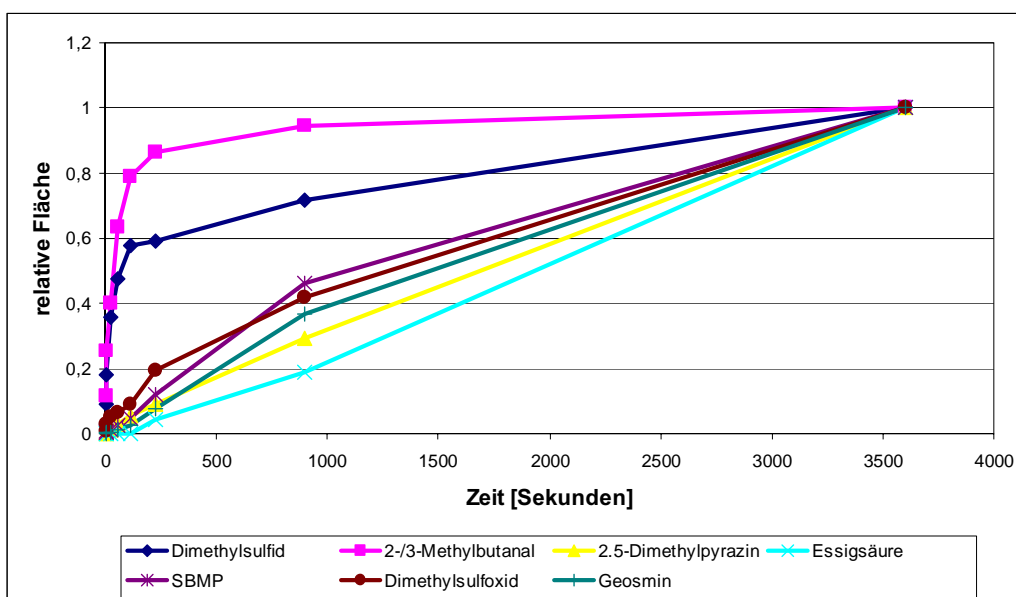


Abbildung 4-6: Veränderung der nach SPME (Temperatur 60°C) für ausgewählte flüchtige Verbindungen aus Rohsaft erhaltenen relativen Peakflächen in Abhängigkeit von der Expositionszeit. SBMP = 2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin.

4.1.2 Einsatz unterschiedlicher Zeit-Temperatur-Kombinationen

Nach der Optimierung der Einzelparameter Extraktionszeit und Proben­temperatur für die Matrices Weißzucker und Dicksaft, stellte sich die Frage, wie die Kombination dieser beiden Faktoren den Anreicherungsprozess beeinflusst. In weiteren Versuchsreihen wurde daher überprüft, ob der bei einer bestimmten Temperatur erhaltene Extrakt mit dem vergleichbar ist, der bei Raumtemperatur aus dem Dampfraum bei entsprechend längerer Adsorptionszeit gewonnen wird, und ob Sekundärreaktionen während des Anreicherungsprozesses auftreten.

Vergleich der Adsorptionen bei Raumtemperatur, 60°C und 85°C

Die Extraktion flüchtiger Verbindungen mittels SPME aus Weißzucker wurde bei 60°C und bei 85°C jeweils für eine Stunde durchgeführt, während als Adsorptionszeit für eine Anreicherung bei Raumtemperatur 16 Stunden gewählt wurden. Aufgrund des Rührens erwärmte sich die Probe von Raumtemperatur auf etwa 30°C.

Wie aus Abbildung 4-7 ersichtlich, hatte die Anreicherung der flüchtigen Verbindungen bei 85°C eine gesteigerte Empfindlichkeit für die untersuchten mittel bis schwer flüchtigen Komponenten zur Folge. Nur 2-/3-Methylbutanal wurde bei 85°C und bei Raumtemperatur in gleichem Maße angereichert.

Mittels GC-MS konnten keine hitzeinduzierte Neubildung und kein Abbau von Substanzen detektiert werden.

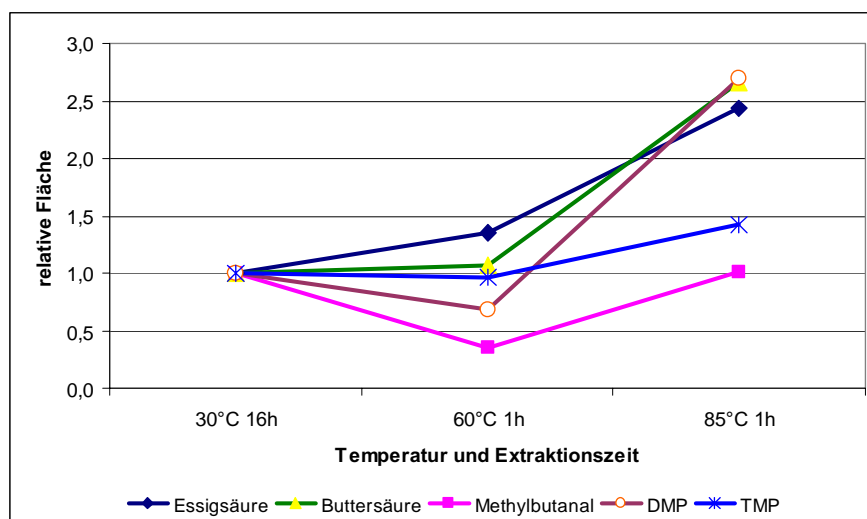


Abbildung 4-7: SPME/GC/AED von Weißzucker bei unterschiedlichen Kombinationen von Temperatur und Extraktionszeit.

Erhöhung der Temperatur bei gleichzeitiger Kürzung der Anreicherungszeit

Die Verteilung eines Geruchsstoffes zwischen der Gasphase und dem Adsorbentmaterial ist in großem Maße von der Temperatur abhängig. Dieser Abhängigkeit liegt die van't Hoffsche Gleichung oder die so genannte Q_{10} -Regel zugrunde, wonach sich, vereinfacht ausgedrückt, erfahrungsgemäß die Anreicherung bei einer Temperaturerhöhung um 10 K verdoppelt. Somit stellte sich die Frage, ob in Anlehnung an diese Regel die durch Verkürzung der Adsorptionszeit verursachte Verringerung der Signalintensitäten durch eine gleichzeitige Steigerung der Temperatur ausgeglichen werden kann. Zur Überprüfung der Anwendbarkeit der Q_{10} -Regel wurden als Bezugsbedingungen 80°C und 30 min gewählt, um bei 30°C nach 16 Stunden enden zu können.

Lösung von Standardsubstanzen

Die Analysen wurden zunächst mit einer Lösung von Standardsubstanzen (3-Methylbutanal, Dimethyldisulfid, 2,5-Dimethylpyrazin, 2-Ethyl-1-hexanol, 2-sec-Butyl-3-Methoxy-pyrazin und Geosmin) durchgeführt. Die Veränderungen der Signalintensitäten mit variierenden Kombinationen von Proben-temperatur und Anreicherungszeit sind in Abbildung 4-8 dargestellt.

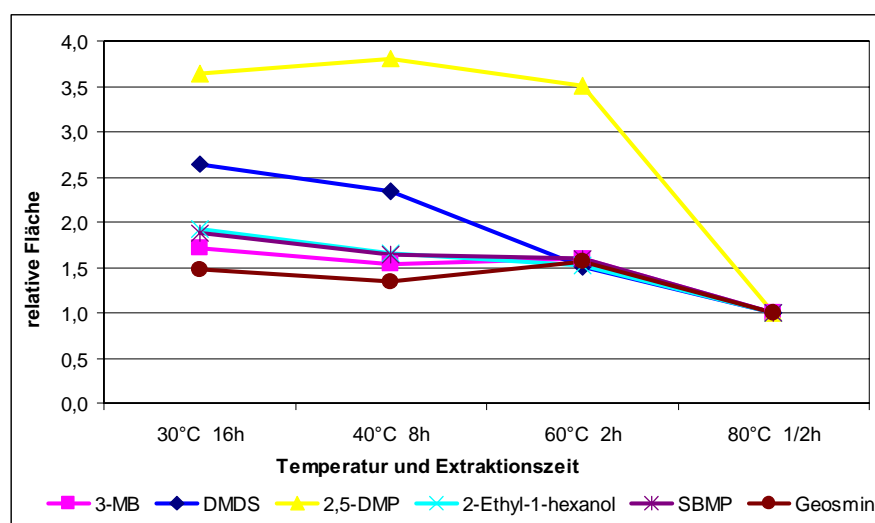


Abbildung 4-8: SPME/GC/MS von Standardsubstanzen aus wässriger Lösung bei unterschiedlichen Kombinationen von Temperatur und Extraktionszeit.

3-MB = 3-Methylbutanal, DMDS = Dimethyldisulfid, 2,5-DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, SBMP = 2-sec-Butyl-3-Methoxy-pyrazin.

Die jeweils höchsten Signalintensitäten wurden bei der Adsorptionszeit von 16 Stunden beobachtet. Folglich war diese Zeitspanne ausreichend, um die unter den gegebenen Bedingungen maximal mögliche Menge an Analyten zu extrahieren.

3-Methylbutanal, 2-Ethyl-1-hexanol, 2-sec-Butyl-3-Methoxy-pyrazin und Geosmin erfüllen über das gesamte Spektrum von Zeit- und Temperaturkombinationen annähernd die Q_{10} -Regel. 2,5-Dimethylpyrazin erfüllt diese Regel im Bereich zwischen 30 und 60°C. Vermutlich hatte sich während der Adsorptionszeit von 30 Minuten bei 80°C das Verteilungsgleichgewicht noch nicht eingestellt. Bei Dimethyldisulfid zeigten sich bereits ab 60°C Verluste bei der Anreicherung, was durch eine verstärkte Desorption von der Faser in diesem Temperaturbereich zu erklären ist.

Weißzucker

Für die Untersuchungen wurden zwei Zuckerproben ausgewählt, die unterschiedliche Geruchsqualitäten aufwiesen. Probe 1 roch säuerlich und muffig, während Probe 2 einen schwächeren muffigen und leicht karamellartigen Geruch aufwies.

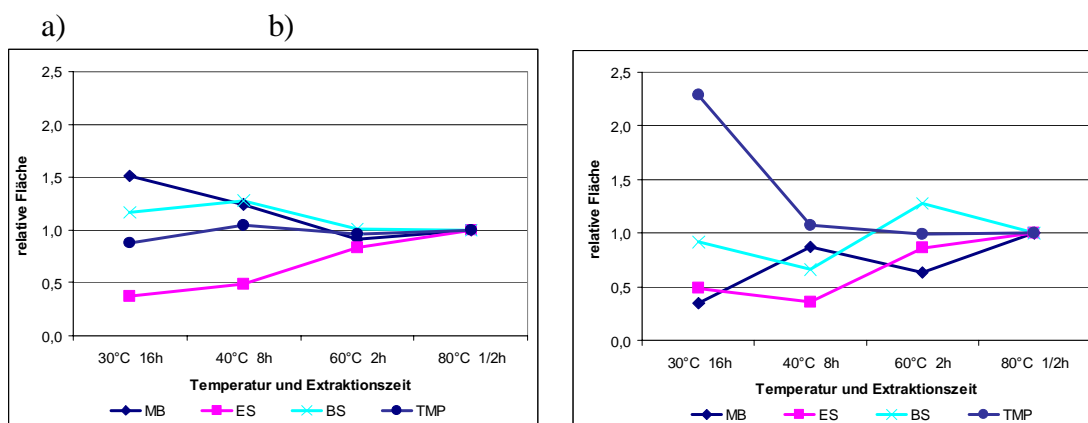


Abbildung 4-9: SPME/GC/AED von Weißzuckerproben bei unterschiedlichen Kombinationen von Temperatur und Extraktionszeit. (a) Probe 1, (b) Probe 2.

MB = 2- und 3-Methylbutanal, ES = Essigsäure, BS = Buttersäure, TMP = 2,3,5-Trimethylpyrazin.

Die Ergebnisse in Abbildung 4-9 zeigen, dass die betrachteten Verbindungen die Q_{10} -Regel über das gesamte Spektrum von Zeit- und Temperaturkombinationen annähernd erfüllen. 2,3,5-Trimethylpyrazin verhält sich dabei, mit Ausnahme eines Messpunktes in Probe 2, fast ideal. Im Vergleich zu den Standardlösungen sind größere Variationen zwischen den einzelnen Messpunkten zu beobachten, woraus der Einfluss der Matrix deutlich wird. Außerdem verdeutlichen die leicht abweichenden Ergebnisse von Probe 1 und Probe 2, dass zwei unterschiedliche Weißzucker matrices vorliegen, lediglich Essigsäure verhält sich in beiden Zuckern annähernd gleich.

4.1.3 Vortemperieren von Weißzucker

Weitere Untersuchungen wurden bezüglich denkbarer Veränderungen und Artefaktbildungen im Spektrum flüchtiger Verbindungen des Dampftraumes durch Temperaturerhöhungen durchgeführt. Dafür wurde ein Zucker jeweils eine Stunde auf eine bestimmte Temperatur (60°C, 80°C, 100°C, 120°C) erhitzt und anschließend abgekühlt. Um vergleichbare Extraktionsbedingungen zu gewährleisten, erfolgte die SPME jeweils bei Raumtemperatur während einer Zeit von 16 Stunden.

Die Veränderungen der Signalintensitäten von Essigsäure, Buttersäure, 2-/3-Methylbutanal, Hexanal, 2,5-Dimethylpyrazin, 2,3,5-Trimethylpyrazin, Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid sind in Abbildung 4-10 aufgezeigt.

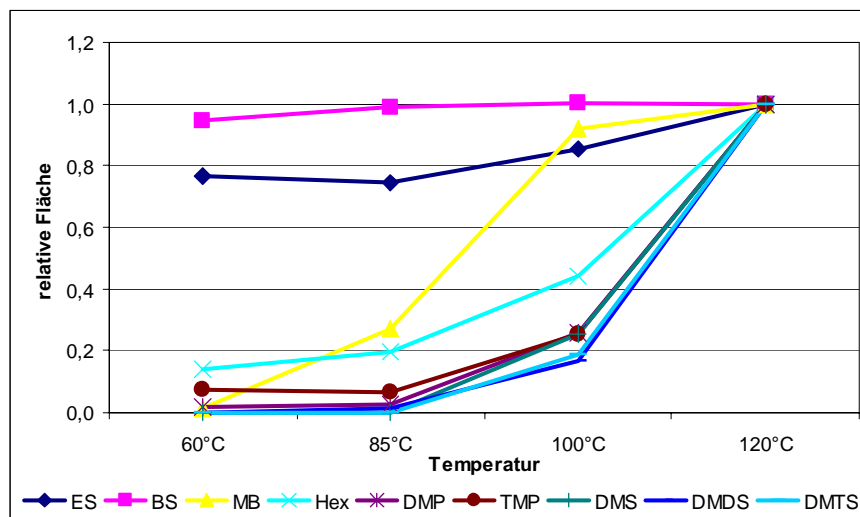


Abbildung 4-10: SPME Extraktion von Weißzucker (25°C, 16 Stunden). Veränderungen der Signalintensitäten in Abhängigkeit von der Vorbehandlungstemperatur.

ES: Essigsäure, BS: Buttersäure, MB: 2- und 3-Methylbutanal, Hex: Hexanal, DMP: 2,5-Dimethylpyrazin, TMP: 2,3,5-Trimethylpyrazin, DMS: Dimethylsulfid, DMDS: Dimethyldisulfid, DMTS: Dimethyltrisulfid.

Die Signalintensitäten von Essigsäure und Buttersäure veränderten sich mit Erhöhung der Vorwärmtemperatur kaum. Die Säuren lagen somit bereits bei 60°C in beinahe maximal möglicher Konzentration im Dampfraum vor und ihre Freisetzung wurde nur geringfügig durch höhere Temperaturen begünstigt. Die extrahierten Mengen von 2-/3-Methylbutanal, Hexanal und den Pyrazinen, die bei 60°C vergleichsweise niedrig waren, nahmen bis 120°C stark zu. Die Pyrazine wurden mit Erhöhung der Vorwärmtemperatur offensichtlich besser freigesetzt. Der deutliche Anstieg der extrahierten Menge von 2-/3-Methylbutanal zwischen 85°C und 100°C könnte auf den Siedepunkt dieser Verbindung, der mit 92°C in diesem Bereich liegt, zurückzuführen sein. Die Sulfide (hier gezeigt Dimethylsulfid, -disulfid und -trisulfid) waren erst ab einer Vorwärmtemperatur von 100°C mittels AED und am Sniffing-Port detektierbar.

Mit zunehmender Vorbehandlungstemperatur konnten verstärkt länger-kettige organische Säuren im Extrakt nachgewiesen werden. Die extrahierte Menge an Hexansäure nahm stetig zu; ab einer Vorwärmtemperatur von 100°C konnten auch Heptansäure und ab 120°C Octansäure detektiert werden. Die Bildung von Produkten der Maillard Reaktion

und Karamellisierungsreaktionen setzte bereits bei 100°C ein; nach einer Vorbehandlungstemperatur von 120°C waren Furfural, 5-Methylfurfural, Furfurylalkohol und Hydroxymethylfurfural detektierbar.

4.1.4 Diskussion

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) wurde als Isolierungs- und Anreicherungstechnik für die vorliegende Studie ausgewählt. Ein Vorteil der SPME gegenüber anderen Anreicherungstechniken ist, dass sie automatisierbar ist und dass in Kombination mit der Kapillargaschromatographie auf die Verwendung von Lösungsmitteln verzichtet werden kann. Dadurch wird eine Kontaminationsquelle ausgeschlossen und die Signale leichtflüchtiger Verbindungen werden in den Kapillargaschromatogrammen nicht durch Lösungsmittelpeaks überdeckt (Wampler, 2002). Je nach Art der Probe können mit einer Adsorptions-Faser bis zu 100 Analysen durchgeführt werden, bevor sie ausgewechselt werden muss. Im Vergleich zu den anderen beschriebenen Extraktionstechniken kann mit geringeren Probenmengen (5-30 g statt 50-100 g) gearbeitet werden; darüber hinaus nimmt eine Analyse einschließlich Chromatographie lediglich maximal 2 Stunden in Anspruch.

Die Parameter Extraktionszeit und Probentemperatur wurden für die Extraktion aus Weißzucker und Dicksaft optimiert. Nach Chung *et al.* (2002) kann eine Erhöhung der Extraktionstemperatur unterschiedliche Auswirkungen auf die SPME haben. Einerseits wird dadurch der Anteil der flüchtigen Verbindungen im Headspace über der Probe erhöht, so dass eine verstärkte Adsorption an die Faser die Folge sein kann. Auf der anderen Seite wird durch die Temperaturerhöhung auch das Verteilungsgleichgewicht zwischen Faser und Headspace verschoben, so dass in Konkurrenz zur Adsorption eine verstärkte Desorption erfolgen kann.

Die Untersuchungen veranschaulichten, dass sowohl die Temperatur als auch die Extraktionszeit die Ergebnisse der Festphasenmikroextraktion signifikant beeinflussen. Die größte Bedeutung kommt allerdings der physikalisch/chemischen Beschaffenheit der Probe selbst und dem Zusammenspiel der jeweils vorhandenen flüchtigen Komponenten zu. Prinzipiell müssten für jede zu untersuchende Matrix die einzelnen Parameter separat optimiert werden. Bei den untersuchten Dicksaftproben handelte es sich um Lösungen mit einem eingestellten Wassergehalt von 35%, Rohsaft ist im weitesten Sinne ein wässriger

Extrakt aus Rübenschnitzeln (ca 18% TS). Durch kontinuierliches Rühren der flüssigen Proben während der SPME wurde die Freisetzung flüchtiger Komponenten beschleunigt und ihr Übergang in die Gasphase erleichtert. So zeigten zum Beispiel die leicht flüchtigen Verbindungen aus Dicksaft und Rohsaft im Gegensatz zum kristallinen Weißzucker bereits nach wenigen Minuten Extraktionszeit das Erreichen des Sättigungsbereiches der Faser für diese Komponenten an. Außerdem beeinflusst der hohe Wassergehalt die Zusammensetzung des Dampftraumes und damit das Verhalten und die Flüchtigkeit der Verbindungen.

Der Wassergehalt des Weißzuckers ist dagegen sehr gering ($\leq 0,04\%$), und im Headspace befinden sich vorwiegend flüchtige organische Säuren. Aufgrund der Tatsache, dass die Kristalle bei der Headspace-SPME nicht bewegt werden können, diffundieren die Komponenten aus den unteren Bereichen der Probe nur langsam in den Dampfraum. Zudem zeigen die flüchtigen Komponenten grundsätzlich Wechselwirkungen mit den Zuckerkristallen auf, wodurch ihre Freisetzung maßgeblich beeinflusst wird. Die Kristalle besitzen, wie auch der viskose Dicksaft oder jede andere Lebensmittelmatrix selbst gewisse Adsorptionseigenschaften (Costa Freitas *et al.*, 2001), so dass eine bestimmte Mindesttemperatur notwendig ist, um die flüchtigen Verbindungen in den Dampfraum zu bewegen.

Neben dem Wassergehalt können während der Extraktion mittels SPME auch gegenseitige Einflüsse der Analyten ein Problem für die Ad- bzw. Absorption darstellen (Marsili, 2002). Allerdings spielen auch hier die Konzentrationen der Komponenten eine wichtige Rolle. Beispielsweise hatten in Studien von Roberts *et al.* (2000) Konzentrationen bis zu 1 ppm 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin nur wenig Einfluss auf die Extraktionsausbeute der anderen Komponenten (Guajacol, Dimethyltrisulfid, 3-Methylbutanal und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin) aus der Standardlösung. Um allerdings kompetitive Effekte zu vermeiden, empfehlen die Autoren, die Adsorptionszeit zu reduzieren. Kürzere Anreicherungszeiten wirken sich wiederum nachteilig auf die Extraktionsausbeute von mittel- bis schwerflüchtigen Verbindungen aus. Sowohl aus Dicksaft als auch aus Rohsaft wurden bei kürzeren Anreicherungszeiten bevorzugt die leicht flüchtigen Verbindungen extrahiert. Sobald der Gleichgewichtszustand dieser Komponenten zwischen Probe, Dampfraum und Faserbeschichtung erreicht war, blieben die extrahierten Mengen auch mit zunehmender Anreicherungszeit weitgehend konstant. Dagegen wurden die schwerer flüchtigen Verbindungen, wie z.B. die Pyrazine mit Verlängerung der Zeit zunehmend und effektiv

angereichert. Insbesondere diese schwerer flüchtigen Komponenten zeigten in beiden Matrices (Dicksaft und Rohsaft) ein lineares Anreicherungsverhalten an die Faser in Abhängigkeit von der Anreicherungszeit.

Bei Weißzucker war die Intensitätssteigerung der Signale aller Verbindungen bis zu einer Adsorptionszeit von 60 Minuten annähernd linear, bei längeren Expositionszeiten wurden bei fast allen Komponenten nur noch geringe Steigerungen festgestellt.

Diese Linearität ist die Grundlage für die im späteren Teil der Arbeit durchgeführten Verdünnungsanalysen.

Unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Zeitaufwandes für die beabsichtigte Automatisierung dieser Methodik wurde für weitere Untersuchungen eine Adsorptionszeit von 60 Minuten gewählt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen bei verschiedenen Anreicherungszeiten und Proben Temperaturen widerlegen die Vermutung von Moore *et al.* (2003), dass hohe Mengen an Essig-, Butter- und Isovaleriansäure im Dampfraum des Weißzuckers zur Absättigung der SPME-Faser führen. In den dort beschriebenen Studien wurden die flüchtigen Verbindungen aus Weißzucker mittels SPME unter Einsatz von etwa 0,75 g Probe pro Analyse bei einer Proben temperatur von 65°C und einer Extraktionsdauer von 15 Minuten extrahiert. In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die Kapazität einer SPME-Faser unter diesen Bedingungen noch nicht erschöpft sein kann, da unter Berücksichtigung der abweichenden Parameter (20 g Probe, 85°C Proben temperatur) nach 15 Minuten Extraktionszeit die betrachteten Verbindungen erst zu etwa einem Zehntel (2,5-Dimethylpyrazin) bis zu einem Drittel (Essigsäure und Buttersäure) der erreichten Maximalwerte extrahiert waren.

Neben der verlängerten Anreicherungszeit führten auch eine Erhöhung der Proben temperatur sowie beim Dicksaft zusätzliches kontinuierliches Rühren mit einem Magnet rührer zu einer verstärkten Freisetzung der flüchtigen Verbindungen. Dadurch verschoben sich die Gleichgewichtszustände bzw. wurden schneller erreicht, und eine verstärkte Adsorption der Komponenten an die Faser beschichtung war die Folge. Allerdings wurde das Anreicherungsverhalten der Komponenten deutlich von der jeweiligen Flüchtigkeit beeinflusst. So konnte bei weiterer Temperaturerhöhung die gesteigerte kinetische Energie vor Allem in Bezug auf die tiefer siedenden Substanzen ebenso zur Verschiebung des Gleichgewichtes von der Faser in den Dampfraum und damit

zur Desorption von der Faser führen. Beispielsweise könnte für die verminderte Anreicherung von Dimethyldisulfid mit steigender Temperatur eine zunehmende Desorption von der Faser die Ursache sein. Oder diese Komponente war im höheren Temperaturbereich instabil und wurde abgebaut.

Die Ergebnisse der Vortemperierversuche von Weißzucker zeigten, dass die typischen Produkte der Maillard Reaktion, wie Furfural, 5-Hydroxymethylfurfural und Furfurylalkohol sowie einige der aus dem Zuckergewinnungsprozess bekannten Geruchskomponenten, wie Pyrazine, Sulfide und Strecker-Aldehyde erst mit steigenden Temperaturen gebildet wurden. Auf der anderen Seite besteht die Möglichkeit, dass ein Teil dieser Verbindungen, wie auch Hexanal, zuvor in die Kristalle eingeschlossen waren und durch höhere Temperaturen in Richtung Kristalloberfläche diffundierten. Nach ihrer Freisetzung in die Gasphase belegen solche flüchtigen Komponenten vorzugsweise die Kristalloberfläche, wovon sie wieder leicht desorbiert werden und somit verbessert im Dampfraum nachweisbar sind.

Dagegen verlief die Diffusion der organischen Säuren zwischen den Zuckerkrystallen und dem Dampfraum stets gleichartig und wurde nicht signifikant von der Vorwärmtemperatur beeinflusst.

Das Proben-temperaturoptimum für die SPME von kristallinem Zucker lag zwischen 85°C und 100°C. Da jedoch bei 100°C bereits deutlich die Bildung von HMF als Beispiel eines hitzeinduzierten Nebenproduktes nachweisbar war, wurde als Kompromiss zwischen möglichst effektiver Anreicherung, geringer Diskriminierung der niedrig siedenden Verbindungen und Vermeidung hitzeinduzierter Sekundärreaktionen in den weiteren Untersuchungen mit einer Arbeitstemperatur von 85°C fortgeföhren.

Da bei Dicksaft aufgrund seiner Zusammensetzung vermehrt temperaturinduzierte Reaktionen zwischen den vorhandenen Komponenten stattfinden können, sollte die Arbeitstemperatur hier 60°C nicht überschreiten.

4.1.5 Zusammenfassung

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) erwies sich als eine einfach zu handhabende, schnelle und relativ preisgünstige Methode zur effektiven Anreicherung der flüchtigen Komponenten aus verschiedenen Mustern des Zuckergewinnungsprozesses.

Sowohl eine Erhöhung der Probentemperatur, als auch eine Verlängerung der Extraktionszeit führten zur verstärkten Anreicherung der flüchtigen Verbindungen.

Die Zeit von 60 Minuten erwies sich als ausreichend für die SPME. Bei der Bestimmung der Temperatur waren Faktoren wie die Vermeidung thermoinduzierter Sekundärreaktionen bei gleichzeitiger möglichst effektiver Anreicherung sowohl der tiefer als auch der mittel bis höher siedenden Komponenten zu beachten. Die Probentemperatur für Weißzucker wurde zu 85°C und für Dicksaft zu 60°C gewählt.

4.2 Identifizierung und Bewertung geruchsrelevanter Verbindungen

Zur Bewertung der Geruchsrelevanz der aus Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft und Weißzucker isolierten flüchtigen Substanzen wurde das von Ulrich *et al.* (1998) erstmals beschriebene Prinzip der Aromaverdünnungsanalyse (AVA) angewandt. Die Verdünnung wurde hierbei nicht durch das Mischen des Extraktes oder der Probe mit Lösungsmittel erzielt, sondern durch Verkürzung der Zeit, die die Faser dem Dampfraum über der Probe während der SPME ausgesetzt ist.

Wie in Abschnitt 4.1 gezeigt, erwies sich die Beziehung zwischen den Mengen an adsorbierten Verbindungen und der Adsorptionszeit bis 60 Minuten als annähernd linear. Basierend auf dieser Erkenntnis wurden Aromaverdünnungsanalysen durchgeführt, bei denen die Extraktionszeit, beginnend mit 60 Minuten, so lange halbiert wurde, bis bei der anschließenden GC/Olfaktometrie kein Geruchsstoff mehr am Sniffing-Port wahrnehmbar war.

In den folgenden Abschnitten werden die für die einzelnen Prozesszwischenstufen erhaltenen Ergebnisse beschrieben. Eine Tabelle mit identifizierten, jedoch nicht als geruchsaktiv eingestuften Komponenten der untersuchten Muster befindet sich im Anhang (Tabelle 8-1).

4.2.1 Rohsaft

Als Rohsaft wurde exemplarisch eine Probe aus einer deutschen Zuckerfabrik aus der Kampagne 2002/2003 ausgewählt. Die Geruchsstoffe wurden aus dieser Rohsaftprobe mittels SPME bei einer Proben temperatur von 60°C extrahiert. Die AVA sowie die GC/MS Analyse wurden unter Verwendung der unpolaren stationären Phase DB-5 durchgeführt. Die Ergebnisse wurden durch jeweils eine zusätzliche GC/O und GC/MS Analyse auf einer polaren stationären Phase (FFAP) abgesichert. Mit dieser Methode wurden 28 Peaks als geruchsaktive Komponenten detektiert (Abbildung 4-11, Tabelle 4-2); 21 davon wurden durch den Vergleich der Retentionsindices (KI), der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen identifiziert. Zwei Komponenten wurden durch den Vergleich der KI und der Geruchsqualitäten mit denen authentischer Referenzsubstanzen vorbehaltlich den in

Tabelle 4-2 angegebenen Strukturen zugeordnet, wobei die Signalintensitäten zu gering für die Absicherung anhand von massenspektrometrischen Daten waren.

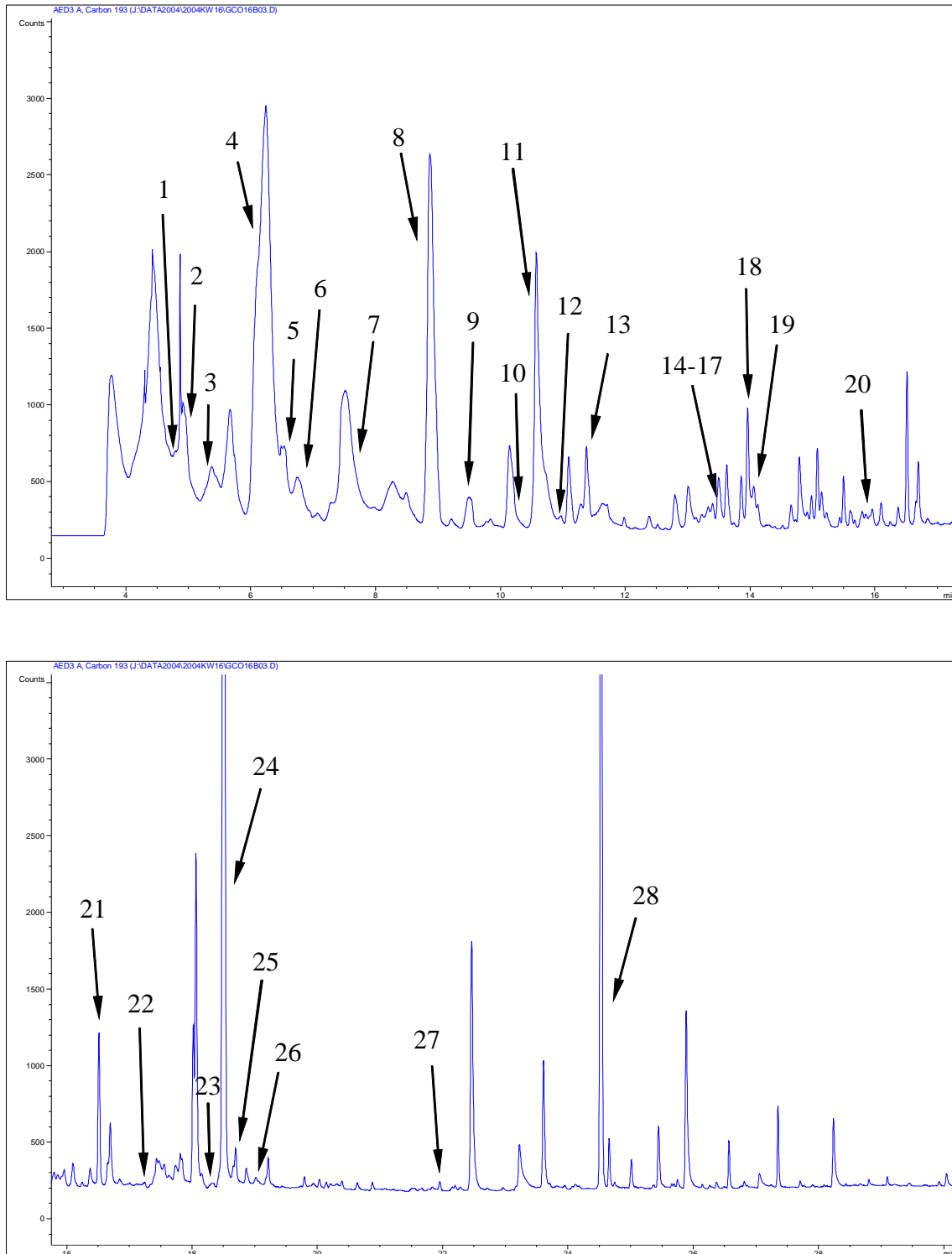


Abbildung 4-11: Kapillargaschromatographische Trennung der aus Rohsaft isolierten flüchtigen Verbindungen (SPME 60°C, 60 Minuten); Bedingungen s. Kapitel 3.5.

Tabelle 4-2: In Rohsaft mittels SPME und AVA erfasste geruchsaktive Verbindungen.

Nr.	KI _{DB-5}	KI _{FFAP}	Geruch	Verbindung	FD	Ident.
1	520	813	faulig	Dimethylsulfid	1024	1
2	550	852	süß, malzig	2-Methylpropanal	8	1
3	596	1001	Butter	Diacetyl	256	1
4	681	950	malzig	2-/3-Methylbutanal	256	1
5	710	1072	Butter	2,3-Pentandion	4	1
6	738	1116	leimartig,	2-Methyl-3-butenal	2	3
		1227	Klebstoff	2-/3-Methyl-1-butanol		1
7	755	1196	stechend, unangenehm	Pyridin	4	1
8	800	1095	grün	Hexanal	16	1
9	812	1637	Buttersauer	Buttersäure	16	1
10	840		süß, fruchtig	unbekannt	8	-
11	850	1252	fruchtig, ranzig	1-Hexanol	8	1
12	896	1475	Kartoffel	Methional	256	1
13	908	1345	nussig	2,5-Dimethylpyrazin	256	1
14	972	1398	faulig	Dimethyltrisulfid	2	1
15	974	1303	pilzartig	1-Octen-3-on	512	1
16	980	1453	pilzartig, metallisch	1-Octen-3-ol	8	2
17	982		süß, fruchtig	unbekannt	2	-
18	994	1296	süß, ranzig	Octanal	4	1
19	997	1413	erdig, nussig	2-Ethyl-5-methylpyrazin	16	1
		1426		2,3,5-Trimethylpyrazin		
20	1050	1475	erdig	2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin	64	1
21	1092	1445	Zuckerschote	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2048	1
22	1120		grün, grasig	unbekannt	2	-
23	1161		modrig, süßlich	unbekannt	4	-
24	1172	1514	Zuckerschote	2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	2048	1
25	1181	1546	Paprika	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	2048	1
26	1192	1604	erdig	2-Methylisoborneol	128	2
27	1312		blumig	unbekannt	2	-
28	1428	1847	erdig	Geosmin ^{a)}	- ^{a)}	1

KI_{DB-5} = Kovats Index auf DB-5-Kapillarsäule; KI_{FFAP} = Kovats Index auf FFAP-Kapillarsäule; Ident. = Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich (1) der KI, der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (2) der KI und der Geruchsqualität mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (3) der KI und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben.

^{a)}Geosmin wurde nur in der ersten Verdünnungsstufe am Sniffing-Port erfasst und konnte aufgrund der spezifischen Anosmie in den weiteren Verdünnungsstufen nicht ausgewertet werden.

Da Rohsaft im wesentlichen ein wässriger Extrakt der Zuckerrübenschnitzel ist, wurden hier vor Allem die aus der Zuckerrübe stammenden geruchsaktiven Inhaltsstoffe nachgewiesen, wie 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin mit FD-Faktoren von jeweils 2048, 2-Methylisoborneol (FD 128) und Geosmin. Weiterhin wurden schwefelhaltige Komponenten, wie Dimethylsulfid

(FD 1024) und Methional (FD 256) als stark und Dimethyltrisulfid (FD 2) als weniger stark geruchsaktiv ermittelt, während Dimethyldisulfid und Dimethylsulfoxid zwar vorhanden, jedoch nicht geruchsaktiv waren (siehe Tabelle 8-1). Auch Aldehyde wurden in Rohsaft identifiziert, wobei für 2- und 3-Methylbutanal (Coelution) ein FD-Faktor von 256 und für 2-Methylpropanal, Hexanal und Octanal niedrigere FD-Faktoren zwischen 4 und 16 ermittelt wurden. Weitere identifizierte Aldehyde, wie Benzaldehyd, Heptanal, Nonanal und Decanal erwiesen sich bei der angewandten Methode als nicht geruchsaktiv. Daneben wurden Ketone, wie 1-Octen-3-on (FD 512), Diacetyl (FD 256) und 2,3-Pentandion (FD 4) detektiert. Weitere Ketone und Alkohole, wie z.B. 2-Heptanon, 1-Butanol, 2-Ethyl-1-hexanol und 1-Octanol erwiesen sich als nicht geruchsaktiv. Auch kurzkettige organische Säuren wurden nachgewiesen, wobei lediglich Buttersäure am Sniffing-Port (FD 16) wahrgenommen wurde. Zudem wurden verschiedene Terpene, wie Limonen, α -Pinen, α -Fenchon, Menthol, δ -3-Caren und β -Chamigren identifiziert, jedoch nicht als geruchsaktiv eingestuft.

4.2.2 Dünnsaft

Als Dünnsaft wurde exemplarisch eine Probe aus einer deutschen Zuckerfabrik aus der Kampagne 2002/2003 ausgewählt. Aus dieser Dünnsaftprobe wurden die Geruchsstoffe mittels SPME bei einer Proben temperatur von 60°C extrahiert. Die AVA sowie die GC/MS Analyse wurden unter Verwendung der unpolaren stationären Phase DB-5 durchgeführt. Die Ergebnisse wurden durch jeweils eine zusätzliche GC/O und GC/MS Analyse auf einer polaren stationären Phase (FFAP) abgesichert. Mit dieser Methode wurden 41 Peaks als geruchsaktive Komponenten detektiert (Abbildung 4-12, Tabelle 4-3); 22 davon wurden durch den Vergleich der Retentionsindices (KI), der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen identifiziert. Vier Komponenten wurden durch den Vergleich der KI und der Geruchsqualitäten mit denen authentischer Referenzsubstanzen vorbehaltlich den in Tabelle 4-3 angegebenen Strukturen zugeordnet, die Signalintensitäten waren zu gering für die Absicherung anhand von massenspektrometrischen Daten.

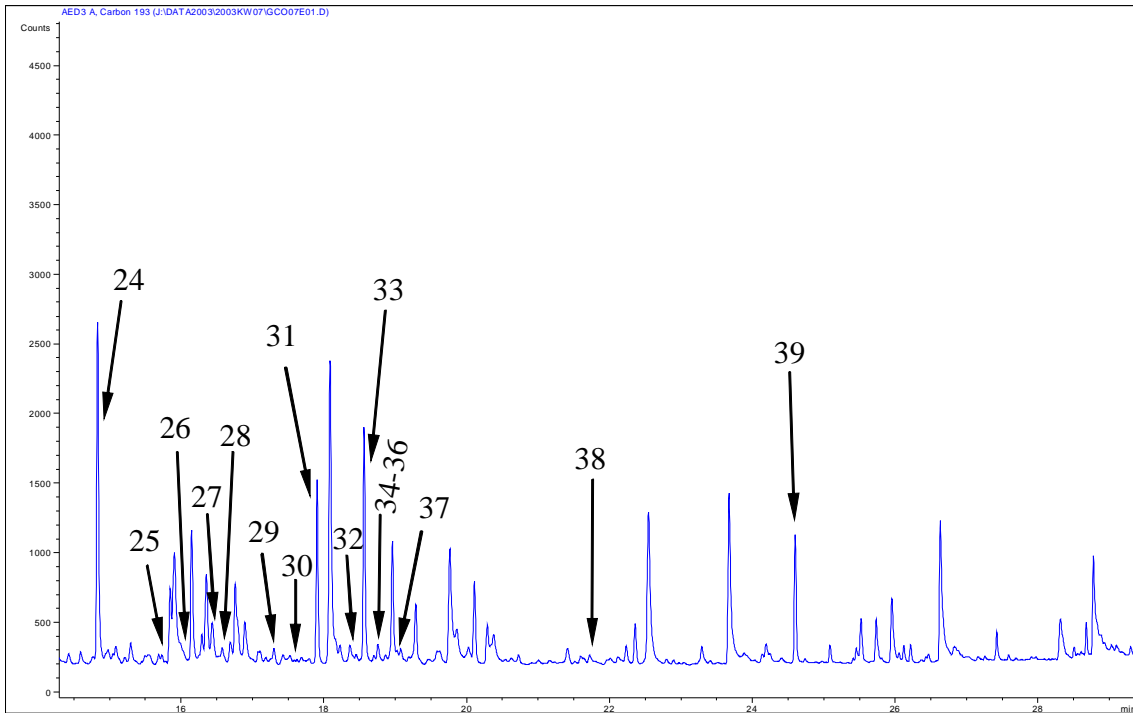
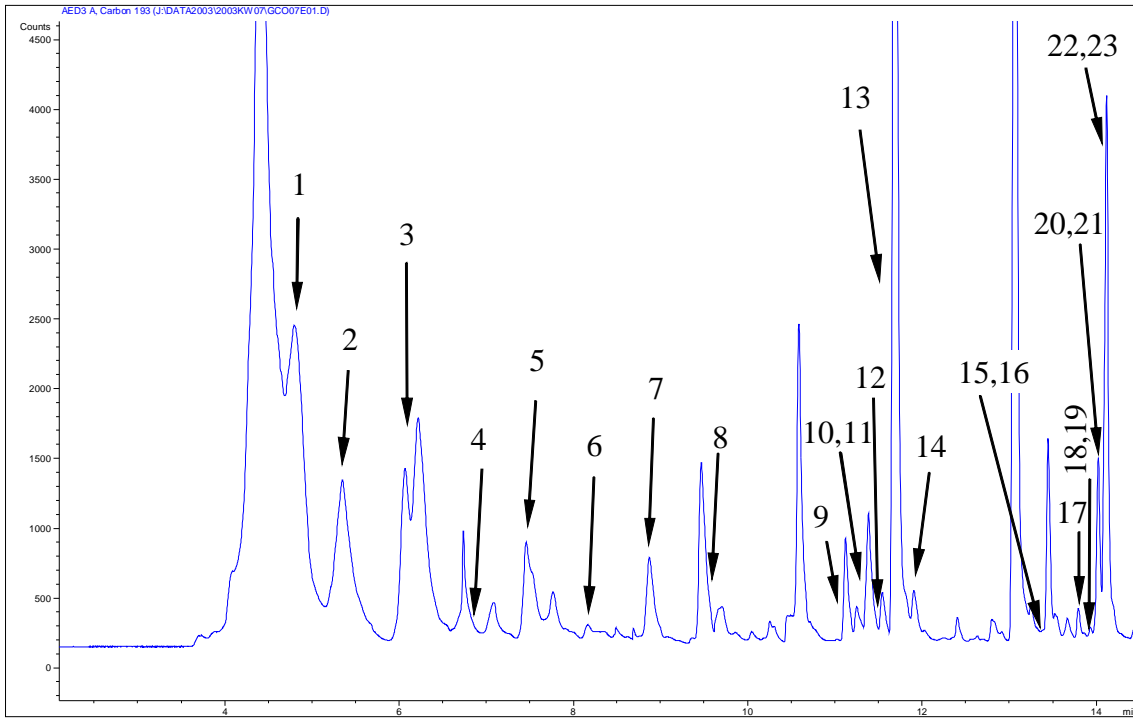


Abbildung 4-12: Kapillargaschromatographische Trennung der aus Dünnsaft isolierten flüchtigen Verbindungen (SPME 60°C, 60 Minuten); Bedingungen s. Kapitel 3.5.

Tabelle 4-3: In Dünnsaft mittels SPME und AVA erfasste geruchsaktive Verbindungen.

Nr.	KI _{DB-5}	KI _{FFAP}	Geruch	Verbindung	FD	Ident.
1	525	813	faulig	Dimethylsulfid	2048	1
2	601	999	Butter	Diacetyl	2048	1
3	664	848	malzig	2-/3-Methylbutanal	2048	1
4	709	1070	Butter	2,3-Pentandion	2	1
5	738	1111	leimartig,	2-Methyl-3-butenal	32	3
		1227	Klebstoff	2-/3-Methyl-1-butanol		1
6	750	1190	stechend, unangenehm	Pyridin	16	1
7	800	1090	grün	Hexanal	256	1
8	825	1147	grün, modrig	1-Pentanol	8	1
9	868		nussig	unbekannt	16	-
10	887		fruchtig, süß	unbekannt	32	-
11	891		käsig	unbekannt	8	-
12	896	1475	Kartoffel	Methional	16	1
13	908	1340	nussig	2,5/6-Dimethylpyrazin	64	1
14	916	1363	nussig	2,3-Dimethylpyrazin	16	1
15	972	1398	faulig	Dimethyltrisulfid	128	1
16	974	1303	pilzartig	1-Octen-3-on	64	2
17	976	1730	faulig, stumpf	3-Thiophencarboxaldehyd	2	3
18	980	1453	pilzartig	1-Octen-3-ol	4	2
19	985		süß, fruchtig	unbekannt	8	-
20	992	1707	faulig, stumpf	2-Thiophencarboxaldehyd	2	1
21	994	1296	süß, ranzig	Octanal	2	1
22	997	1420	erdig, nussig	2,3,5-Trimethylpyrazin	8	1
23	1010	1406	nussig	2-Ethyl-5-methylpyrazin	2	1
24	1044	1491	Rose	2-Ethyl-1-hexanol	4	1
25	1050	1460	erdig	2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin	1024	1
26	1076		Pilz, süßlich	3,5-Octadien-2-on	4	4
27	1081		nussig	unbekannt	2	-
28	1092	1445	Zuckerschote	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2048	1
29	1120		blumig	Rosenoxid	8	1
30	1126		grün	unbekannt	1	-
31	1141	1876	chemisch	Guajacol	2	1
32	1157	1503	erdig	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	64	3
33	1172	1514	Zuckerschote	2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	512	1
34	1175		süß	unbekannt	4	-
35	1177	1550	erdig	2,5-Diethyl-3-methylpyrazin	64	4
36	1181	1541	Paprika	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	512	2
37	1191	1606	erdig	2-Methylisoborneol	32	2
38	1243		süß, fruchtig	unbekannt	2	-
39	1428	1847	-	Geosmin ^{a)}	-	1
		1546	Paprika	2,5-Dimethyl-3-N-butylpyrazin	-	4
		1690	süß, nussig	2,5-Dimethyl-3-isopentylpyrazin	-	4

KI_{DB-5} = Kovats Index auf DB-5-Kapillarsäule; KI_{FFAP} = Kovats Index auf FFAP-Kapillarsäule; Ident. = Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich (1) der KI, der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (2) der KI und der Geruchsqualität mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (3) der KI und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben, (4) massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben.

^{a)}Geosmin konnte aufgrund der spezifischen Geruchsblindheit nicht ausgewertet werden.

Auch in Dünnsaft spielen die Methoxypyrazine, wie anhand der FD-Faktoren (2048 für 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin und 512 für 2-sec-Butyl- und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin) ersichtlich, immer noch eine für den Geruch entscheidende Rolle. Daneben wurden die sensorisch aktiven Alkylpyrazine 2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin (FD 1024), 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (FD 64), 2,5-Dimethylpyrazin (FD 64, Coelution mit 2,6-Dimethylpyrazin) sowie 2,3,5-Trimethylpyrazin (FD 8) identifiziert; weitere Alkylpyrazine wurden gefunden, erwiesen sich im Rahmen dieser Analyse jedoch nicht als geruchsaktiv. Dimethylsulfid war, wie bereits in Rohsaft, stark geruchsaktiv (FD 2048), darüber hinaus erlangten in Dünnsaft auch Diacetyl und 2-/3-Methylbutanal mit FD 2048 eine größere Bedeutung für den Geruch. Neben Dimethylsulfid wurden weitere schwefelhaltige Komponenten identifiziert: Dimethyltrisulfid (FD 128), Methional (FD 16) sowie 2- und 3-Thiophencarboxaldehyd (jeweils FD 2). Dimethyldisulfid und Dimethylsulfoxid wurden identifiziert, waren jedoch nicht geruchsaktiv. Auch 1-Octen-3-on (FD 64), Hexanal (FD 256) und Octanal (FD 2) erwiesen sich in Dünnsaft als geruchsaktiv. Daneben wurde eine Reihe weiterer Ketone, wie Aceton, 2-Butanon und 2-Heptanon und Aldehyde, wie Nonanal, Decanal und Benzaldehyd ohne Geruchsaktivität identifiziert (siehe Tabelle 8-1). Alkohole spielten in diesem Dünnsaft für den Geruch eine untergeordnete Rolle, z.B. wurde für 1-Octen-3-ol und 2-Ethyl-1-hexanol jeweils der FD-Faktor 4 ermittelt, während für weitere Alkohole, wie 1,2-Propandiol, 2,3-Butandiol und 1-Hexanol keine Geruchsaktivität ermittelt wurde.

4.2.3 Dicksaft

Als Dicksaft wurde exemplarisch eine Probe aus einer deutschen Zuckerfabrik aus der Kampagne 2002/2003 ausgewählt. In dieser Dicksaftprobe wurden die Geruchsstoffe mittels SPME bei einer Proben temperatur von 60°C extrahiert. Die AVA sowie die GC/MS Analyse wurden unter Verwendung der unpolaren stationären Phase DB-5 durchgeführt. Die Ergebnisse wurden durch jeweils eine zusätzliche GC/O und GC/MS Analyse auf einer polaren stationären Phase (FFAP) abgesichert.

Mit dieser Methode wurden 36 Peaks als geruchsaktive Komponenten detektiert (Abbildung 4-13, Tabelle 4-4); 20 davon wurden durch den Vergleich der Retentionsindices (KI), der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen identifiziert. Fünf Komponenten wurden durch

den Vergleich der KI und der Geruchsqualität mit denen authentischer Referenzsubstanzen vorbehaltlich den in Tabelle 4-4 angegebenen Strukturen zugeordnet, die Signalintensitäten waren zu gering für die Absicherung anhand von massenspektrometrischen Daten.

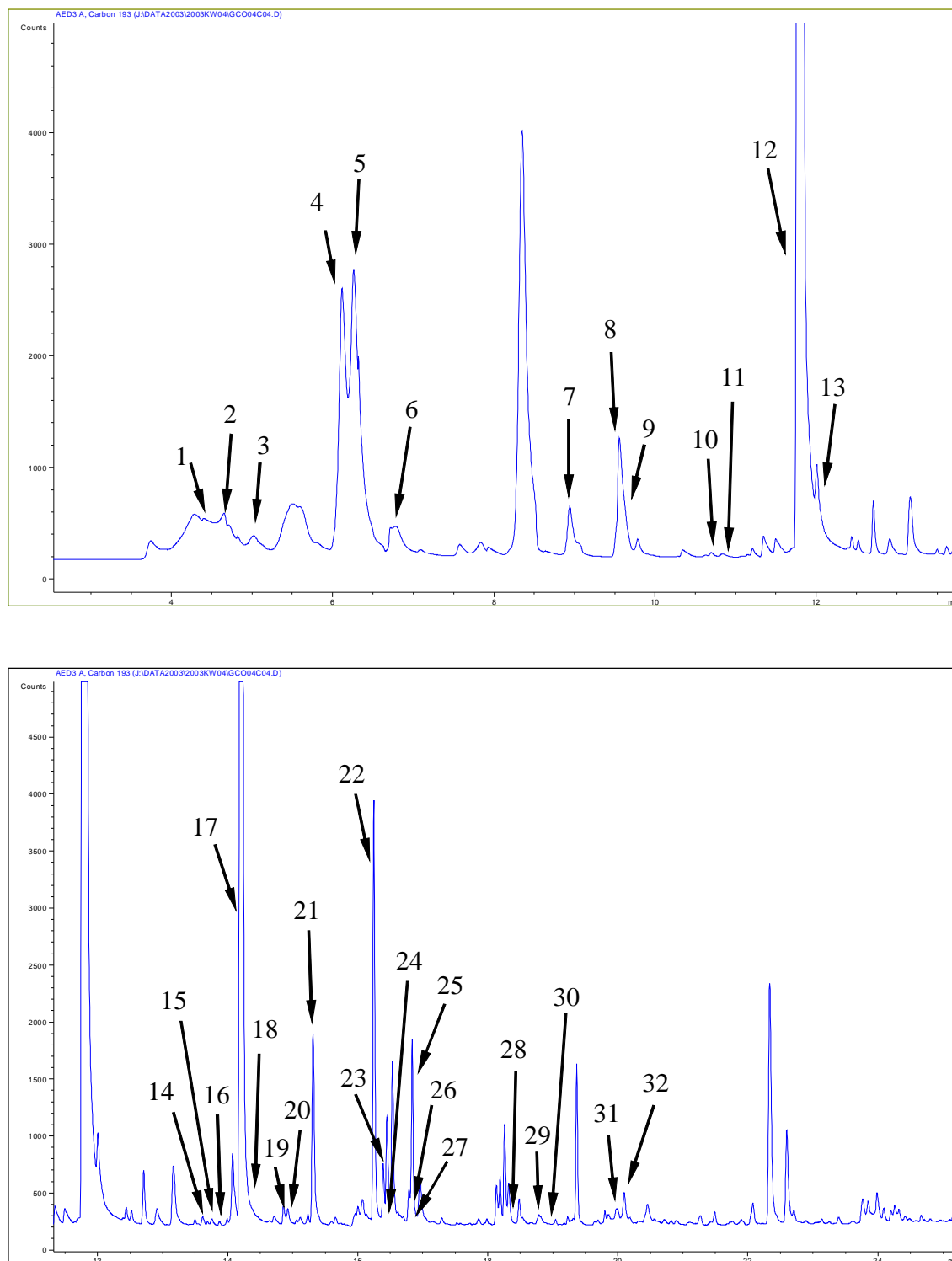


Abbildung 4-13: Kapillargaschromatographische Trennung der von Dicksaft isolierten flüchtigen Verbindungen (SPME 60°C, 60 Minuten).

Tabelle 4-4: In Dicksaft mittels SPME und AVA erfasste geruchsaktive Verbindungen.

Nr.	KI _{DB-5}	KI _{FFAP}	Geruchsqualität	Verbindung	FD	Ident.
1	520	813	faulig	Dimethylsulfid	32	1
2	550	856	malzig	2-Methylpropanal	2	1
3	610	940	Butter	Diacetyl	1024	1
4+5	668	950	malzig	3-/2-Methylbutanal	512	1
6	706	1048	Butter	2,3-Pentandion	4	1
7	804	1088	grün	Hexanal	4	1
8	825	-	Karamell, grün	Furfural	8	1
9	875	-	chemisch	unbekannt	4	-
10	886	-	Gemüse	unbekannt	16	-
11	980	1475	Kartoffel	Methional	32	1
12	910	1340	nussig	2,5/6-Dimethylpyrazin	32	1
13	918	1350	nussig	2-Ethylpyrazin	2	1
		1363		2,3-Dimethylpyrazin		
14	976	1398	faulig	Dimethyltrisulfid	16	1
15	980	1306	Pilz	1-Octen-3-on	64	2
16	985	1453	Pilz	1-Octen-3-ol	4	2
17	1000	1420	ranzig	2,3,5-Trimethylpyrazin	16	1
		1295		Octanal		
18	1005	1410	nussig	2-Ethyl-5/6/3-methylpyrazin	16	3
19	1016	-	erdig	unbekannt	4	-
20	1020	-	nussig	unbekannt	32	-
21	1044	1491	Rose	2-Ethyl-1-hexanol	8	1
22	1079	1459	nussig	2,6-Dimethyl-3-ethylpyrazin	1024	1
23	1090	1489	röstig	2,3,5,6-Tetramethylpyrazin	128	1
24	1096	1445	Zuckerschote	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	4	2
25	1100	1402	süßlich	Nonanal	8	1
26	1101	1472	erdig- modrig/nussig	2,5-Diethylpyrazin	512	1
27	1108	-	Erdnuss	unbekannt	16	-
28	1141	1894	chemisch	Guajacol	2	1
29	1165	-	erdig	unbekannt	256	-
30	1180	1510	Zuckerschote	2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	16	2
31	1190	1538	Paprika	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	16	2
32	1224	1456 ^{a)}	faulig	unbekannt ^{a)}	4	-
-	-	1503	nussig, erdig	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	-	1
-	-	1562	Paprika	2,5-Dimethyl-3-isobutylpyrazin	-	4
-	-	1616	nussig	unbekannt	-	-
-	-	1667	süß, nussig	2,3-Dimethyl-5-isopentylpyrazin	-	4
-	-	1752	erdig	unbekannt	-	-

KI_{DB-5} = Kovats Index auf DB-5-Kapillarsäule; KI_{FFAP} = Kovats Index auf FFAP-Kapillarsäule; Ident. = Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich (1) der KI, der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (2) der KI und der Geruchsqualität mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (3) der KI und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben, (4) massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben.

^{a)}Wahrscheinlich handelt es sich bei KI_{DB-5} 1224 und KI_{FFAP} 1456 um dieselbe Substanz, da beide Schwefel enthalten und der Geruch sehr ähnlich ist.

In Dicksaft erwiesen sich die Alkylpyrazine, wie 2,6-Dimethyl-3-ethylpyrazin (FD 1024), 2,5-Diethylpyrazin (FD 512) und 2,3,5,6-Tetramethylpyrazin (FD 128) als sensorisch dominierende Komponenten. Bei den nicht identifizierten Verbindungen mit KI_{DB-5} 1016, 1020, 1108, 1165 und KI_{FFAP} 1616 und 1752 handelt es sich wahrscheinlich ebenfalls um Alkylpyrazine, da sie die für diese Stoffklasse charakteristischen nussigen oder erdigen Geruchsnoten aufwiesen. Dagegen verloren in Dicksaft die Methoxypyrazine an Bedeutung, für 2-Isopropyl-, 2-Isobutyl- und 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin wurden lediglich FD-Faktoren zwischen 4 und 16 ermittelt. Für diese Verbindungen sowie für 1-Octen-3-on (FD 64) wurden mittels GC/MS keine messbaren Signale erhalten, die Identifizierung beruhte lediglich auf dem Vergleich der Retentionsindices und der typischen Geruchsqualitäten mit denen der Standardsubstanzen. Eine große Rolle für den Geruch des Dicksaftes spielten auch Diacetyl (FD 1024) und 2-/3-Methylbutanal (FD 512). Weitere Aldehyde, wie 2-Methylbutanal, Hexanal und Nonanal wurden mit FD-Faktoren zwischen 4 und 16 identifiziert, während für Benzaldehyd, Heptanal und Decanal keine Geruchsaktivität identifiziert wurde. Weiterhin wurden Dimethylsulfid und Dimethyltrisulfid als geruchsaktive Verbindungen mit FD-Faktoren von 32 bzw. 16 in der Dicksaftprobe wahrgenommen. Auch Dimethyldisulfid wurde mittels GC/AED und GC/MS nachgewiesen, war jedoch in der vorhandenen Menge im Extrakt nicht geruchsaktiv.

In Dicksaft wurde eine Reihe von Alkylpyrazinen detektiert. Ihre Strukturen unterscheiden sich teilweise nur geringfügig, so dass viele Pyrazine bei der chromatographischen Trennung zu ähnlichen Zeiten eluieren oder direkt coeluieren. Eine separate Wahrnehmung der oft ähnlichen Geruchseindrücke war daher am Sniffing-Port nicht möglich. Erst bei kürzeren Anreicherungszeiten konnte aufgrund der geringeren Konzentrationen eine zunehmende Differenzierung infolge der verbesserten Trennung erzielt werden. Zum Beispiel coeluierten die Substanzen 2,5-, 2,6-Dimethylpyrazin und 2-Ethylpyrazin und mit wenigen Sekunden Verzögerung auch 2,3-Dimethylpyrazin. Die Ähnlichkeit der Geruchseindrücke dieser Verbindungen machte eine Differenzierung und eine separate Betrachtung bei der Aromaverdünnungsanalyse unmöglich. Da 2,5-Dimethylpyrazin im Vergleich zu den anderen Komponenten die größte Signalintensität aufwies, wird repräsentativ für diese Gruppe in den folgenden Untersuchungen nur von 2,5-Dimethylpyrazin gesprochen.

Am Beispiel von 2,3,5-Trimethylpyrazin und Octanal wurde deutlich, wie wichtig die Verwendung von zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität ist. Auf der unpolaren Kapillarsäule wurde der Geruch von 2,3,5-Trimethylpyrazin durch den ranzigen Eindruck von Octanal (KI_{DB-5} 1000) überdeckt und konnte sensorisch nicht wahrgenommen werden. Dagegen erwies sich 2,3,5-Trimethylpyrazin bei GC/O auf der mit einer polaren Phase belegten Säule durchaus als geruchsaktiv. Da die AVA an der unpolaren Phase durchgeführt wurde, konnte für dieses Pyrazin kein separater FD-Faktor ermittelt werden.

4.2.4 Weißzucker

Für die Bestimmung geruchsrelevanter Inhaltsstoffe von Weißzucker wurde eine Probe mit deutlicher Geruchsbelastung herangezogen. Dafür wurde ein Weißzucker der Qualität 2 aus einer deutschen Zuckerfabrik aus der Kampagne 2002/2003 ausgewählt. Bei der sensorischen Charakterisierung durch das Sensorik-Panel bewerteten lediglich 4 von 9 Personen diesen Zucker als akzeptabel in Bezug auf seinen Geruch (Tabelle 4-5).

Tabelle 4-5: Sensorische Charakterisierung des zur SPME und AVA eingesetzten Weißzuckers der Qualität 2.

	Geruchsart	ja	nein	Intensität^{a)}	Bemerkungen
1	ammoniakartig	2		4,0	Stall
2	säuerlich	3		3,7	Buttersäure, ranzig, Käse
3	erdig	9		4,0	muffig, Kraut, Erde, Kondensat, Gewürz, Rübe
4	süß / karamellig	5		2,8	süß
5	sonstige Geruchsarten	2		3,5	Papier, Melasse, Kampagne
	<i>Zuckergeruch akzeptabel</i>	4	5		

^{a)}Die Intensitätsskala zeigt die Mittelwerte der Antworten von 9 Prüfpersonen und reicht von 0-8. In den Spalten "ja" und "nein" ist jeweils die Anzahl der dafür stimmenden Personen vermerkt.

In Anlehnung an die in Abschnitt 4.1 beschriebene Optimierung wurde die Festphasenmikroextraktion (Probentemperatur 85°C, beginnend mit 60 Minuten Anreicherungszeit) in Kombination mit GC/O und GC/MS angewandt. Die AVA und die GC/MS Analyse wurden unter Verwendung der polaren stationären Phase FFAP

durchgeführt (Abbildung 4-14). Die Ergebnisse wurden durch jeweils eine zusätzliche GC/O und GC/MS Analyse auf einer unpolaren stationären Phase (DB-5) abgesichert.

Mit dieser Methode wurden 28 Peaks als geruchsaktive Komponenten detektiert (Abbildung 4-14, Tabelle 4-5); acht davon wurden durch den Vergleich der Retentionsindices (KI), der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen identifiziert. Fünf Komponenten wurden durch den Vergleich der KI und der Geruchsqualitäten mit denen authentischer Referenzsubstanzen vorbehaltlich den in Tabelle 4-5 angegebenen Strukturen zugeordnet, die Signalintensitäten waren zu gering für die Absicherung anhand von massenspektrometrischen Daten.

In Abbildung 4-14 ist zusätzlich zum Kapillargaschromatogramm beispielhaft das durch GC/O erhaltene Aromagramm dargestellt.

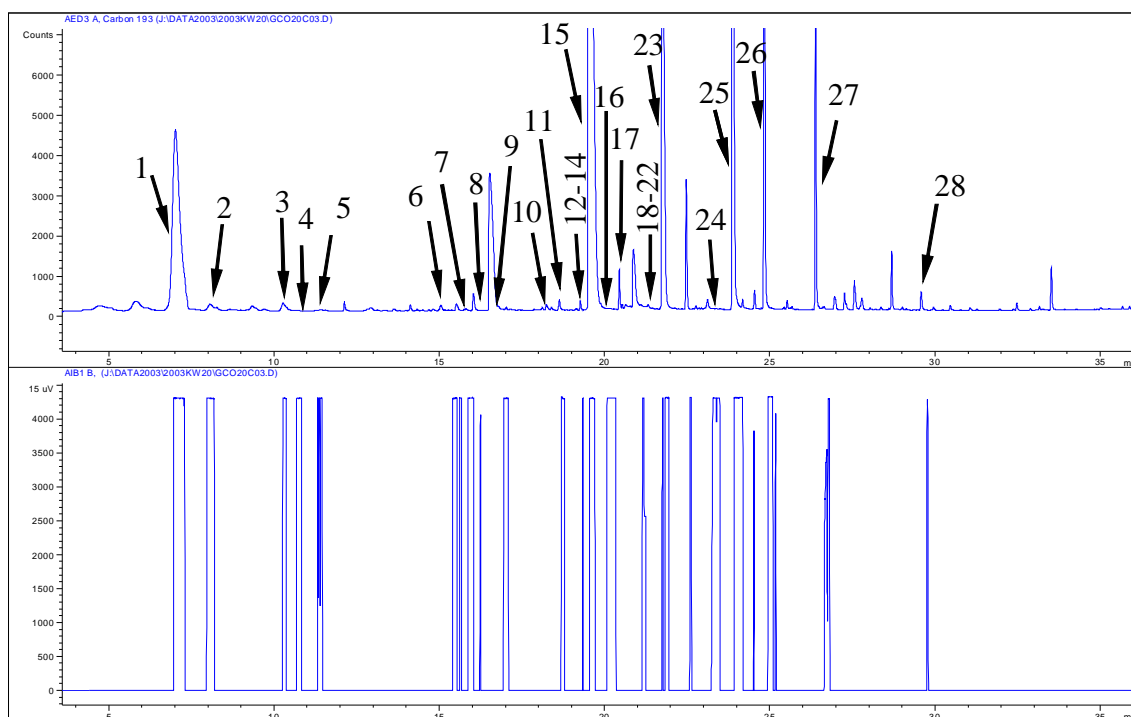


Abbildung 4-14: Chromatogramm und Aromagramm (SPME/GC/AED/O) von Weißzucker.

Im Weißzucker waren die höchsten beobachteten absoluten FD-Faktoren mit 64 deutlich niedriger als in den zuvor untersuchten Proben der Prozesszwischenstufen (2048 bei Rohsaft und Dünnsaft und 1024 bei Dicksaft). Als relativ geruchsintensivste Verbindungen in Weißzucker erwiesen sich die Ketone 1-Octen-3-on und Diacetyl mit FD 64. Auch für die flüchtigen organischen Säuren Essigsäure (FD 32), Buttersäure (FD 64) und

Isovaleriansäure (FD 32) wurden relativ hohe FD-Faktoren erreicht, während Propion-, Isobutter- und Hexansäure als nicht geruchsaktiv identifiziert wurden (siehe Tabelle 8-1).

Tabelle 4-6: In Weißzucker mittels SPME und AVA erfasste geruchsaktive Verbindungen.

Nr.	KI _{FFAP}	KI _{DB-5}	KI _{FFAP}	Verbindung	FD	Ident.
1	821	673	malzig	2-/3-Methylbutanal	16	1
2	899	574	Butter	Diacetyl	64	1
3	1095	801	grün, grasig	Hexanal	8	1
4	1116	781	leimartig	unbekannt	8	-
5	1137	881	grün	unbekannt	4	-
6	1299		fruchtig	unbekannt	4	-
7	1305	1003	zitrus, ranzig	Octanal	4	1
8	1315	974	pilzartig	1-Octen-3-on	64	2
9	1351	911	nussartig	2,5-/2,6-/2,3-Dimethylpyrazin	32	1
10	1402		süß	Nonanal	1	1
11	1421	1064	nussig	2,3,5-Trimethylpyrazin	1	1
11	1421	1064	nussig	2-Ethyl-3-methylpyrazin		1
12	1445	1096	Zuckerschote	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	4	2
13	1449	1100	nussartig	2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin	32	2
14	1453	972	pilzartig	1-Octen-3-ol	1	2
15	1457	647	essigsauer	Essigsäure	32	1
16	1478	899	Kartoffel	Methional	8	1
17	1492	1030	Rose	2-Ethyl-1-hexanol	1	1
18	1512	1100	nussartig	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazin	32	1
19	1524	1180	Zuckerschote	2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	8	2
20	1528	1190	Paprika	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	8	2
21	1537		erdig	unbekannt	2	-
22	1546		Paprika	2,5-Dimethyl-3-butylpyrazin	32	4
23	1549	760	sauer	Propionsäure	4	1
24	1616	1195	erdig	2-Methylisoborneol	1	2
25	1637	809	schweißig	Buttersäure	64	1
26	1679	855	schweißig	Isovaleriansäure	32	1
27	1694	869	schweißig	Valeriansäure	2	1
28	1887	1139	würzig/chemisch	Guajacol	1	2

KI_{FFAP} = Kovats Indices auf FFAP-Kapillarsäule; KI_{DB-5} = Kovats Indices auf DB-5-Kapillarsäule; Ident. = Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich (1) der KI, der Geruchsqualitäten und der massenspektrometrischen Daten mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (2) der KI und der Geruchsqualität mit denen authentischer Referenzsubstanzen, (3) der KI und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben, (4) und massenspektrometrischen Daten mit Literaturangaben.

Auch Alkylpyrazine, wie 2,5-/2,6/2,3-Dimethylpyrazin (Coelution) oder 2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin spielten mit einem FD-Faktor von 32 eine große Rolle für den Geruch des Zuckers, während, wie bereits in Dicksaft der Beitrag der Methoxypyrazine mit FD 4 (2-Isopropyl-3-methoxypyrazin) und FD 8 (2-Isobutyl- und 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin) deutlich geringer war. Weiterhin wurden Aldehyde, wie Methional (FD 8), Hexanal (FD 8) und Octanal (FD 4), als geruchsaktiv bzw. ohne Geruch, wie Nonanal, Decanal und Furfural, detektiert. Alkohole, wie 1,2-Propandiol und 2,3-Butandiol waren in diesen Untersuchungen nicht geruchsaktiv.

4.3 Untersuchung geruchsrelevanter Verbindungen im Verlauf des Zuckergewinnungsprozesses

Während der Zuckergewinnung aus der Zuckerrübe laufen eine Reihe chemischer und physikalischer Vorgänge ab, die zur Bildung und/oder zum Abbau von Geruchsstoffen führen können und somit zum Teil potentielle Quellen für Fehlgerüche darstellen. Während bei Rohsaft erdig, rübenartig und grün-fruchtig riechende Verbindungen dominieren, gewinnen nussartige, röstige Noten im weiteren Prozessverlauf an Bedeutung. Die Veränderung des Aromaspektrums in Abhängigkeit von der Verarbeitungsstufe sollte systematisch unter Anwendung von Aromaverdünnungsanalysen untersucht werden. Dafür wurden aus zwei verschiedenen Zuckerfabriken (A und B) Proben der Zwischenprodukte Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft sowie die Endprodukte Weißzucker-1 (WZ-1) und Weißzucker-2 (WZ-2) entnommen und für die Untersuchung eingesetzt.

Technisch ist es nicht realisierbar, direkte Verlaufproben aus dem Prozess zu entnehmen. Das bedeutet, dass einer Rohsaftprobe nicht der genau daraus gewonnene Dünnsaft, Dicksaft oder Weißzucker zugeordnet werden kann. Die hier untersuchten Proben wurden am selben Tag dem laufenden Prozess entnommen und unter Berücksichtigung von Verweilzeiten, möglichen Schwankungen und Rückvermischungen als repräsentativ für die einzelnen Stadien angesehen. Die in Tabelle 4-7 zusammengestellten Ergebnisse der Aromaverdünnungsanalysen zeigen folglich näherungsweise den Verlauf der Bildung bzw. Eliminierung geruchsaktiver Verbindungen im jeweiligen Werk.

4.3.1 Ergebnisse

Die SPME erfolgte bei einer Proben­temperatur von 60°C (Säfte) bzw. 85°C (Zucker), beginnend mit 60 Minuten Adsorptionszeit. Die Zeit wurde schrittweise halbiert. Die Gaschromatographische Analyse (GC/O und GC/MS) erfolgte unter Verwendung der polaren stationären Phase FFAP. Die Ergebnisse wurden durch jeweils eine zusätzliche GC/O und GC/MS Analyse auf einer unpolaren stationären Phase (DB-5) abgesichert.

In Rohsaft wurden vor Allem die aus der Zuckerrübe stammenden geruchsaktiven Inhaltsstoffe nachgewiesen. Die potentiell bedeutsamsten Aromastoffe des Rohsaftes sind Methoxypyrazine (2-Isopropyl-, 2-sec-Butyl- und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin), bei denen die mit dieser Methode höchsten FD-Faktoren von 2048 erreicht wurden, Terpene (2-Methylisoborneol), Geosmin, Aldehyde (2- und 3-Methylbutanal, Methional), Ketone (2,3-Butandion, 1-Octen-3-on) und Alkohole. Auch organische Säuren, wie Butter- und Isovaleriansäure wurden nachgewiesen.

Für die im weiteren Prozessverlauf an Bedeutung gewinnende Verbindung 2,5-Dimethylpyrazin wurden FD-Faktoren von 256 (Werk A) und 512 (Werk B) erreicht. Weitere Pyrazine konnten kaum nachgewiesen werden. Bezüglich der Sulfide wurde lediglich Dimethylsulfid, nicht aber Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid nachgewiesen.

Dünnsaft ist das Zwischenprodukt mit der größten Bandbreite an aromaaktiven Inhaltsstoffen. Einerseits sind Geruchsstoffe aus dem Rohsaft verblieben. Besonders bei den Verbindungen mit niedrigen Geruchsschwellen genügen geringe Spuren, um noch einen Geruchseindruck hervorzurufen. Andererseits wurden neue Geruchskomponenten während der Saftreinigung gebildet. Dazu zählen schwefelhaltige Verbindungen, wovon Dimethylsulfid mit einem FD-Faktor von jeweils 2048 und Dimethyltrisulfid mit FD-Faktoren von 512 bzw. 128 mittels AVA erfasst wurden. Diacetyl erreichte jeweils einen FD-Faktor von 1024, während Methional mit vergleichsweise niedrigen FD-Faktoren von 16 und 64 erfasst wurde.

Tabelle 4-7: FD-Faktoren geruchsrelevanter Verbindungen in Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft, WZ-1 und WZ-2 aus zwei Werken (A und B).

K _{FFAP}	K _{IDB-5}	Geruch	Verbindung	FD-Faktoren											
				RoS		DüS		DiS		WZ-1		WZ-2			
				A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
813	519	faulig/fischig	Dimethylsulfid	512	2048	2048	2048	64	128	-	-	1	-	1	
856	550	süß, malzig	2-Methylpropanal	4	16	16	32	128	2	-	-	2	32	2	
969	681	malzig	2-/3-Methylbutanal	128	256	512	2048	512	2048	64	512	128	1024	1024	
987	698	süß/Lösungsmittel	Pentanal	128	128	-	-	16	-	-	-	-	-	-	
1003	596	Butter / Karamell	Diacetyl	128	1024	1024	1024	512	1024	2	128	32	512	512	
1023	-	Lösungsmittel, Leim	Methylisobutylketon	128	64	1	32	128	32	-	-	-	-	-	
1050	767	süß	unbekannt	512	64	16	-	-	-	-	-	-	-	-	
1056	858	süß/fruchtig/bonbon	unbekannt	64	128	-	16	-	-	-	-	-	-	-	
1066	710	Butter / Karamell	2,3-Pentandion	8	-	1	2	-	8	-	2	-	-	2	
1076	-	fruchtig	unbekannt	32	64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1090	758	faulig	Dimethyldisulfid	-	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	
1099	804	grün/grasig	Hexanal	8	32	32	4	-	8	2	2	8	8	4	
1116	738	Lösungsmittel	2-Methyl-3-butenal	8	1	64	16	-	4	2	4	16	2	2	
1138	-	fruchtig/süß/grün	unbekannt	-	-	-	-	16	-	8	-	8	-	-	
1139	-	metallisch	unbekannt	-	16	8	64	-	4	1	8	-	16	-	
1172	-	unangenehm	Pyridin	1	-	16	8	16	16	-	1	2	-	-	
1227	737	Holz, Moos, Lösungsmittel	2-/3-Methylbutan-1-ol	4	8	-	8	-	2	-	-	-	-	-	
1243	825	modrig, papierartig	1-Pentanol	-	-	8	4	-	-	-	4	-	-	2	
1290	-	süß / fruchtig	unbekannt	-	-	128	32	-	4	2	16	4	4	4	

Fortsetzung Tabelle 4-7

K _{FFAP}	K _{IDB-5}	Geruch	Verbindung	FD-Faktoren														
				RoS			DüS			DiS			WZ-1			WZ-2		
				A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B			
1301	1000	fruchtig/ranzig	Octanal	2	4	-	-	2	8	8	128	2	4	4	4			
1311	976	Pilz	1-Octen-3-on	1024	32	128	32	4	4	4	256	64	512	512	512			
1356	910	nussig	2,5-Dimethylpyrazin	256	512	2048	512	128	2048	64	256	64	256	8	1024			
1388	933	metallisch/süß/Pilz	3-Octanol	128	32	1	8	-	-	8	-	-	-	4	-			
1393	974	faulig	Dimethyltrisulfid	-	-	512	128	512	16	-	-	1	-	-	32			
1413	998-1050	erdig/nussig	2-Ethyl-5/6-methylpyrazin	-	-	4	-	16	-	-	-	-	-	1	8			
1418	871	Pilz / metallisch	(Z)-2-Hexen-1-ol	4	4	2	8	-	-	2	2	2	-	-	2			
1426	1002	erdig/nussig	2,3,5-Trimethylpyrazin	-	32	-	32	16	16	16	-	8	-	-	32			
1440	1093	Zuckerschote	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2048	2048	2048	2048	4	4	4	64	1	4	4	-			
1450	980	alter Keller, metallisch, grün	1-Octen-3-ol	1	1	-	2	-	-	-	64	-	-	-	-			
1460	1041	erdig/nussig	2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazin	-	-	-	-	4	32	-	-	-	-	-	-			
1463	652	Essig	Essigsäure	-	-	-	-	-	-	-	128	128	8	512	-			
1474	1041	nussig/erdig	2,3-Dimethyl-5/6-ethylpyrazin	-	-	-	-	-	256	64	64	4	128	?	-			
1477	890	Kartoffel	Methional	64*	512	16*	64	128*	256	256*	256	256	128*	512	512			
1477	1087	erdig	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazin	64*	-	16*	16*	128*	16*	256*	256*	4*	128*	1	-			
1509	1154	muffig/erdig/nussig	2,3-Diethyl-6-methylpyrazin	-	-	-	-	-	16	64	64	4	16	1	1			

Fortsetzung Tabelle 4-7

K _{FFAP}	K _{IDB-5}	Geruch	Verbindung	FD-Faktoren											
				RoS		DüS		DiS		WZ-1		WZ-2			
				A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
1509	1173	Paprika/Zuckerschote	2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin	2048	2048	2048	2048	128	4	512	8	64	-		
1547	1181	Paprika	2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin	2048	1024	1024	1024	256	4	512	256	64	-		
1548	725	Ohne Geruch	Propionsäure	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2		
1604	1192	erdig	2-Methylisoborneol	128	64	64	8	-	-	64	-	-	-		
1601	-	nussig	unbekannt	-	-	-	-	8	16	-	8	-	1		
1637	812	Buttersauer	Buttersäure	32	4	-	-	-	-	64	256	512	1024		
1677	-	süß, zitrus, Erdnuss	2,5-Dimethyl-3-isopentylpyrazin	-	-	128	32	128	-	-	-	-	-		
1690	845	schweißig	Isovaleriansäure	1	1	-	-	-	-	128	512	512	512		
1707	996	schwefelhaltig	2-Thiophencarboxaldehyd	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-		
1884	1135	blumig, chemisch, würzig	Guajacol	16	16	32	4	2	4	1	-	-	-		
1997	-	würzig	unbekannt	-	-	16	16	2	2	-	-	-	-		

*Methional und 2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazin eluierten an der FFAP-Kapillarsäule kurz nacheinander, eine Differenzierung war nur schwer möglich.
RoS = Rohsaft, DüS = Dünnsaft, DiS = Dicksaft.

Die Inhaltsstoffe des Rohsaftes mit der vermutlich höchsten Bedeutung für den Geruch, in erster Linie die Methoxypyrazine, erreichten auch im Dünnsaft die höchsten FD-Faktoren von 2048 und 1024. 2-Methylisoborneol spielte dagegen eine untergeordnete Rolle und erreichte in Rohsaft und in Dünnsaft im Vergleich zu den anderen erdigen Komponenten lediglich FD-Faktoren von 64 (Werk A) und 8 (Werk B).

Die kurzkettigen organischen Säuren liegen im Dünnsaft aufgrund des pH-Wertes (9,2) nicht frei vor. Ihre latente Anwesenheit konnte jedoch nach Freisetzung durch Ansäuerung bestätigt werden.

In Dicksaft wurden mehrere nussartig riechende Alkylpyrazine detektiert, davon erreichte 2,5-Dimethylpyrazin in Werk B den höchsten FD-Faktor von 2048. Dagegen waren die Methoxypyrazine, wie auch 1-Octen-3-on in der Probe aus Werk B mit FD-Faktoren von 4 relativ schwach am Sniffing-Port erkennbar. Die Vermutung, dass diese Verbindungen in sehr geringen Mengen vorlagen, wurde dadurch bestätigt, dass sie mittels GC/MS nicht erfasst wurden. In dem Muster aus Werk A wurde der hier höchste FD-Faktor von 512 bei 2- und 3-Methylbutanal, bei Diacetyl und bei Dimethyltrisulfid erreicht. Daneben erwiesen sich 2-sec-Butyl- und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin mit FD-Faktoren von 128 und 256 als potentiell bedeutsam für den Geruch.

Bei den kristallinen Weißzuckern sind die organischen Säuren, v. a. Essigsäure, Buttersäure und Isovaleriansäure die bedeutsamsten geruchsaktiven Verbindungen. Propion-, n-Valerian- und Hexansäure konnten zwar nachgewiesen, jedoch nicht mittels GC/O detektiert werden, d. h., sie waren in Mengen unterhalb ihrer Geruchsschwellen in Luft in den Extrakten vorhanden. Der Geruch von Propionsäure könnte bei der olfaktometrischen Analyse der Weißzucker des Werkes A auch von dem relativ starken Geruchseindruck des auf der FFAP-Kapillarsäule coeluvierenden 2-Isobutyl-3-methoxypyrazins überdeckt worden sein. Im Weißzucker-2 des Werkes B, in dem das Methoxypyrazin nicht wahrgenommen wurde, wurde Propionsäure in den ersten Verdünnungsstufen mittels GC/O erfasst.

Bei den Zuckerproben des Werkes A traten erneut viele der im Rohsaft nachgewiesenen Komponenten in den Vordergrund. Das sind Methional, 2-Methylisoborneol, die Methoxypyrazine und 1-Octen-3-on, wobei die FD-Faktoren in den beiden Zuckerqualitäten (WZ-1 und WZ-2) jeweils unterschiedlich hohe Werte erreichten.

Während beim WZ-2 in erster Linie Butter- und Isovaleriansäure für den Geruch ausschlaggebend waren, spielten beim WZ-1 die Methoxypyrazine eine wesentlich wichtigere Rolle.

Die Methoxypyrazine besaßen dagegen für den Geruch der Weißzucker des Werkes B, mit Ausnahme von 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin bei WZ-1, kaum Bedeutung. Bezüglich der organischen Säuren war das Verhalten umgekehrt. So spielten Essig-, Butter- und Isovaleriansäure im Werk A nur eine untergeordnete Rolle, während sie im Werk B dominierten.

4.3.2 Diskussion

Grundsätzlich dienen die FD-Faktoren bei der Aromaverdünnungsanalyse der Bestimmung der relativen Beiträge verschiedener Verbindungen zum Geruch innerhalb einer Matrix. Der Vergleich von FD-Faktoren, die für Substanzen aus unterschiedlichen Proben ermittelt wurden, kann nur einen groben Anhaltspunkt liefern, inwiefern sich der Geruchsbeitrag der Verbindungen im Laufe des Prozesses verändert. Die Matrices Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft und Weißzucker können zu sehr unterschiedlichen Freisetzungen der flüchtigen Verbindungen führen. Einfluss darauf können zum Beispiel Aussalz- oder Rückhalteeffekte, Konkurrenzreaktionen zwischen den Komponenten, pH-Werte und die jeweiligen Gehalte an Wasser und Trockensubstanz nehmen.

Bei den hier beschriebenen Aromaverdünnungsanalysen wurden die relativen Intensitäten der Aromastoffe nach einer gaschromatographischen Trennung beurteilt. Wechselwirkungen der flüchtigen Verbindungen untereinander, die in den meisten Fällen eine Schwächung der Wahrnehmung zur Folge haben, welche sich bis zur völligen Maskierung ausweiten kann, werden dabei nicht erfasst (DFL, 1999). Um vollständig Klarheit darüber zu erlangen, welche der nachgewiesenen Verbindungen tatsächlich im gemeinsamen Zusammenspiel das Aroma hervorrufen, müssten Rekombinations- und Weglassexperimente durchgeführt werden.

Für *Diacetyl* wurden insbesondere in den Proben aus dem Werk B durchgehend hohe FD-Faktoren bestimmt. Daraus ist zu schließen, dass *Diacetyl* während des Prozesses nur bedingt eliminiert und wahrscheinlich stets neu gebildet wird. Diese Verbindung geht vermutlich im Zuckergewinnungsprozess als Nebenprodukt aus dem Zuckerabbau hervor, kann jedoch auch enzymatisch von *Lactobacillen* gebildet werden. Hofmann und Schieberle (1998) zeigen einen möglichen Reaktionsweg für die Bildung von *Diacetyl* aus α -Hydroxyacetaldehyd und Acetaldehyd als typisches Produkt der Maillard-Reaktion auf (Abbildung 4-15).

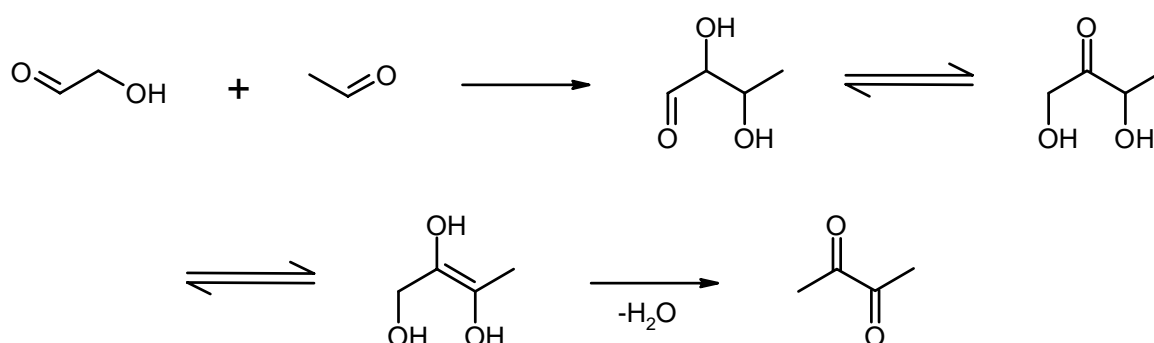


Abbildung 4-15: Möglicher Bildungsweg von *Diacetyl* aus α -Hydroxyacetaldehyd und Acetaldehyd (Hofmann und Schieberle, 1998).

Furfural wurde in Dünnsaft, Dicksaft und einigen Weißzuckern nachgewiesen, jedoch in den vorhandenen Konzentrationen nicht als geruchsaktiv eingestuft. *Furfural* hat einen karamellartigen Geruch (Godshall *et al.*, 1995), sein Geruchsschwellenwert liegt bei etwa 3000 ppb und ist damit im Gegensatz zu dem von *Diacetyl* (3 ppb) vergleichsweise hoch (Buttery und Ling, 1998). Während Kaipainen *et al.* (1997) in ihren Untersuchungen *Furfural* nicht in Zucker nachweisen konnten, fanden Marsili *et al.* (1994) relativ große Mengen, wodurch sogar eine Quantifizierung mittels HPLC möglich war. *Furfural* ist ein Produkt aus dem Zuckerabbau, weshalb darauf geachtet werden muss, dass diese Verbindung nicht als Artefakt während der Probenvorbereitung gebildet wird.

Methional war wie *Diacetyl* eine durchweg wichtige Geruchskomponente, lediglich in Dünnsaft konnte sie vernachlässigt werden. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass *Methional* während der Saftreinigung abgebaut und während der Verdampfung nachgebildet oder aufkonzentriert wird. Im Zucker ist der Geruchsbeitrag relativ hoch, was

darauf hindeutet, dass diese Verbindung während oder nach der Kristallisation weiter gebildet und/oder nicht weiter abgebaut wird. Methional entsteht aus der Aminosäure Methionin in Gegenwart von reduzierenden Zuckern durch Strecker-Abbau (Belitz *et al.*, 2001).

Dimethyldisulfid ist ein Abbauprodukt von Methional und wurde in allen Dünns- und Dicksäften nachgewiesen, war jedoch nur im Dicksaft des Werkes A geruchsaktiv. In Rohsaft wurde, im Gegensatz zu den Untersuchungen von Pihlsgård *et al.* (2000 und 2001) kein Dimethyldisulfid gefunden. Im Dampfraum des kristallinen Zuckers konnte Dimethyldisulfid nicht nachgewiesen werden, während diese Komponente aus wässriger Zuckerlösung durchaus zu bestimmen war. Da Methional in wässriger Lösung nicht stabil ist, könnte Dimethyldisulfid bei der Untersuchung von Zuckerlösungen direkt aus dem Abbau von Methional hervorgehen.

Dimethyltrisulfid trug im Werk A bei Dünnsaft und Dicksaft stark zum Geruch bei, während es bei den anderen Produkten am Sniffing-Port nicht wahrgenommen wurde. In den Säften aus Werk B ist es nur von untergeordneter Bedeutung; im WZ-2 erreichte der FD-Faktor noch einen Wert von 32. Trisulfide sind häufig Abbauprodukte von Eiweißen und gehen vermutlich aus schwefelhaltigen Aminosäuren, wie z.B. Cystein, hervor.

2,5-Dimethylpyrazin spielt, wie die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, offenbar allgemein eine wichtige Rolle für den Geruch im Zuckerfabrikationsprozess. Alkylpyrazine sind Stickstoffheterozyklen, die von Aminosäuren abgeleitet werden. Sie treten häufig in thermisch behandelten Lebensmitteln in erhöhten Konzentrationen auf und sind Nebenprodukte von nicht-enzymatischen Bräunungsreaktionen (Maillard Reaktion) oder auch des Strecker-Abbaus. 2,5-Dimethylpyrazin könnte demnach, ähnlich einer von Cerny und Grosch (1994) für alkylsubstituierte Pyrazine vorgeschlagenen Reaktion aus der Kondensation von 2 Molekülen Aminoacetone hervorgehen (Abbildung 4-16). Der Geruch von Pyrazinen kann nussig, röstig oder erdig sein (Hwang *et al.*, 1994, 1995; Maga, 1987).

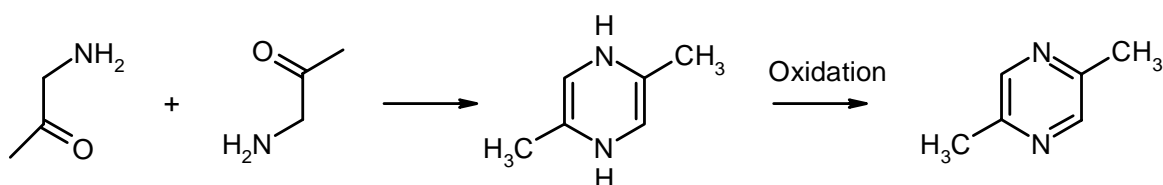


Abbildung 4-16: Möglicher nicht-enzymatischer Bildungsweg von 2,5-Dimethylpyrazin.

Dagegen werden *Alkoxyppyrazine* ausschließlich enzymatisch gebildet. 2-Isopropyl-3-methoxyppyrazin kann nach Bungert *et al.* (2001) zum Beispiel durch Biosynthese aus Glyoxalsäure und Valin gebildet werden. Die Isobutyl- und sec-Butyl-Seitenketten (R1, Abbildung 4-17) können sich von Leucin und Isoleucin ableiten (Murray *et al.*, 1970). Methoxyppyrazine sind natürliche Inhaltsstoffe der Zuckerrübe und können erdige/muffige Geruchsnoten hervorrufen (Parliment und Epstein, 1973; Murray und Whitfield, 1975).

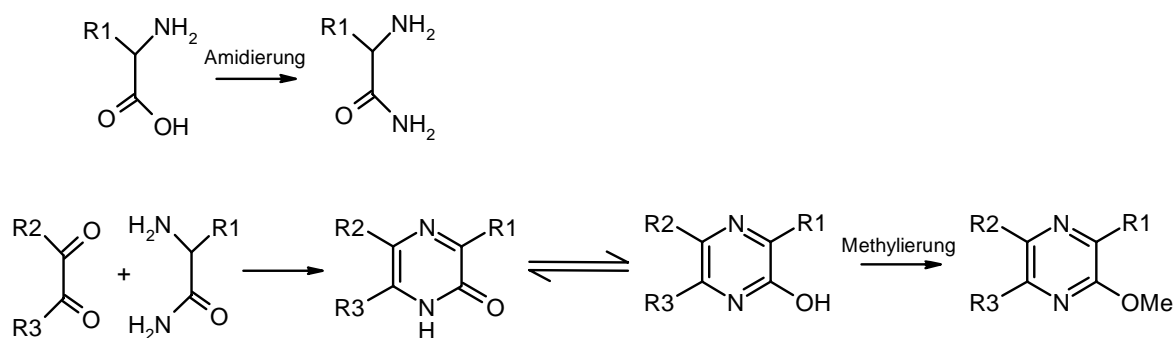


Abbildung 4-17: Mögliche Biosynthese von Alkylmethoxyppyrazinen nach Murray *et al.* (1970).

2- und 3-Methylbutanal erreichten in Dünn- und Dicksaft des Werkes B die höchsten FD-Faktoren, während ihre Bedeutung in den Säften aus A geringer war. Diese Verbindungen sind allgemein, wie auch 2-Methylpropanal, als Strecker-Aldehyde, also Produkte aus dem Strecker-Abbau von Aminosäuren (Valin, Isoleucin, Leucin; Abbildung 4-18) bekannt und somit in Lebensmitteln weit verbreitet (Hofmann *et al.*, 2000; Mutti, 2000). Möglich ist auch die enzymatische Bildung dieser Aldehyde, z.B. als Nebenprodukt bei der Biosynthese von Valin und Leucin (Hinrichsen und Andersen, 1994).

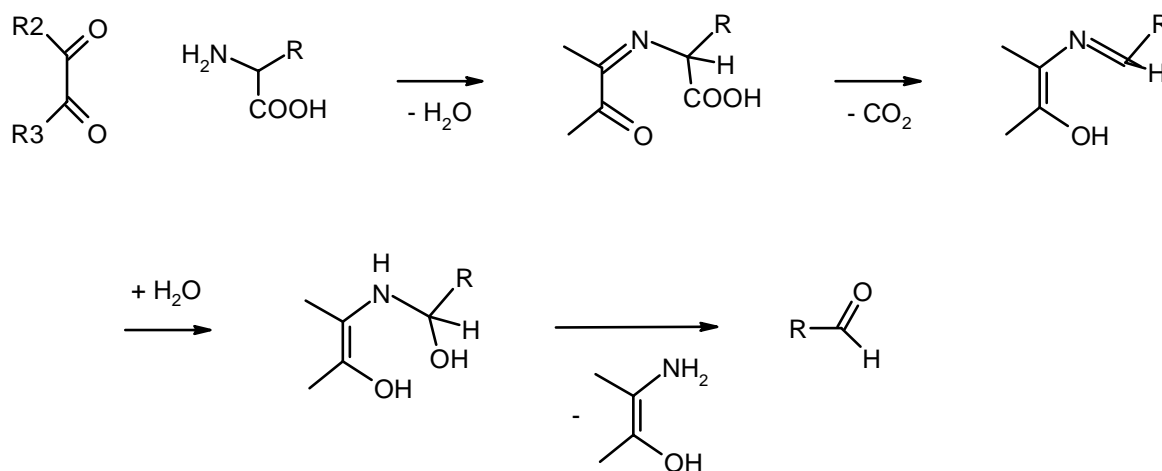


Abbildung 4-18: Strecker-Abbau von Aminosäuren nach Hofmann *et al.* (2000).

Nach Godshall *et al.* (1995) tragen neben 2- und 3-Methylbutanal weitere geruchsaktive Aldehyde, besonders Octanal, Nonanal und Decanal zum Geruch von Weißzucker bei. Diese Aldehyde entstehen aus enzymatischen Oxidationen von Fettsäuren. Nonanal wurde als die wichtigste Geruchskomponente dieser Stoffklasse benannt, während Pyrazine als weniger bedeutsam für den Gesamtgeruch eingestuft wurden. In der vorliegenden Studie wurden diese Aldehyde zwar in allen Zwischenprodukten nachgewiesen, waren jedoch mit wenigen Ausnahmen kaum geruchsaktiv (vgl. Tabelle 8-1).

Die pilzartig riechende Komponente *1-Octen-3-on* trug in den Proben aus A im Gegensatz zu den Proben aus B stark zur Geruchsbildung bei. *1-Octen-3-on* geht, wie generell C₈-Ketone, Aldehyde und Alkohole sowie 1-Alken-3-one aus der Oxidation ungesättigter Fettsäuren hervor (Karahadian *et al.*, 1985). Von Godshall *et al.* (1995) konnte die Anwesenheit dieser Komponenten in Zucker nicht bestätigt werden, während in der vorliegenden Arbeit *1-Octen-3-on*, *1-Octen-3-ol*, *3-Octanol*, *Octanal* mittels GC/O aufgrund ihrer charakteristischen Geruchseindrücke detektiert werden konnten. Nur in manchen Weißzuckerproben konnte *1-Octen-3-ol* auch mittels MS detektiert werden. *Octanal* dagegen war stets in ausreichenden Konzentrationen für die Identifizierung vorhanden.

Die Bedeutung der Methoxypyrazine sowie von Methional und *1-Octen-3-on*, ergibt sich in erster Linie aus ihren niedrigen Geruchsschwellen. Die mittleren Geruchsschwellenwerte liegen nach Young *et al.* (1996) zwischen 1,0 (2-Isopropyl-3-methoxypyrazin) und 0,2 ppt (2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin). Die Geruchsschwellenwerte für Methional wurden von Buttery und Ling (1998) zu 0,2 und 0,05 ppt angegeben.

Aufgrund dieser niedrigen Werte ist zu schließen, dass bereits kleinste Spuren der Verbindungen zu einer deutlichen Geruchsbildung führen können. Das bedeutet für die Studien an Weißzucker, dass diese Komponenten wesentlich zum Geruch oder Fehlgeruch beitragen können, obwohl sie möglicherweise unterhalb der Nachweisgrenze der instrumentellen Detektoren vorliegen.

Die *flüchtigen organischen Säuren*, besonders Essigsäure, Buttersäure und Isovaleriansäure waren für den Geruch der kristallinen Weißzucker ausschlaggebend. Sie sind Produkte mikrobieller Aktivität und können durch mikrobielle Infektion während der Rübenlagerung oder während des Prozesses gebildet werden (Godshall *et al.*, 1995; Marsili *et al.*, 1994).

2-Methylisoborneol leistete beim WZ-1 des Werkes A einen deutlichen Geruchsbeitrag, während die hauptsächlich in Rohsaft vorkommende Substanz ansonsten in Weißzucker nicht detektiert werden konnte. *2-Methylisoborneol* wird wie Geosmin enzymatisch von Mikroorganismen (z.B. Actinomyceten) oder endogen in Pflanzen gebildet (Gerber, 1979).

Geosmin ist eine viel diskutierte Komponente, die mitunter zum erdigen Geruch von Weißzucker beitragen kann (z.B. Marsili *et al.*, 1994). Im Zuge dieser Arbeit wurde festgestellt, dass bis zu einem Drittel der befragten Personen diese Verbindung sensorisch nicht wahrnahmen. Aufgrund dieser spezifischen Anosmie erscheint Geosmin nicht in den tabellarischen Darstellungen der Aromaverdünnungsanalysen. In der Literatur wurden keine Hinweise darauf gefunden, dass eine Geruchsblindheit gegenüber Geosmin bekannt wäre. In einer Studie von Young *et al.* (1996) waren z.B. alle 10 von 10 Testpersonen in der Lage, Geosmin im mittleren ppt-Bereich wahrzunehmen.

Geosmin ist ein Metabolit von Mikroorganismen, der zum Beispiel von Actinomyceten, aber auch von Blau-Grünalgen und bestimmten Pilzen gebildet wird (Gerber, 1965; Tabachek und Yurkowski, 1976; Mattheis und Roberts, 1992). Zunächst war die Herkunft von Geosmin nicht eindeutig geklärt. Es gab Überlegungen, ob Geosmin lediglich durch Bodenorganismen gebildet und durch die den Rüben anhaftende Erde in die Fabrik eingetragen wird, oder zuvor während der Rübenreifung aus der Erde in die Rübe gelangt. Die dritte Möglichkeit ist, dass Geosmin als Nebenprodukt des Rübenmetabolismus ein natürlicher Inhaltsstoff der Zuckerrübe ist (Marsili *et al.*, 1994). Lu *et al.* (2003)

untermauert durch ihre Studien an der roten Beete die Vermutung von Acree (1976) und Maga (1987), dass Rüben auch die Fähigkeit zur endogenen Geosminsynthese besitzen.

4.3.3 Zusammenfassung

Es konnte festgestellt werden, dass einige geruchsaktive Substanzen erst während des Zuckerfabrikationsprozesses gebildet werden, während andere Komponenten den Prozess von Anbeginn durchlaufen, und wieder andere in bestimmten Prozessschritten weitgehend entfernt werden. Ergänzend dazu zeigten die hier erzielten Ergebnisse eine vierte Möglichkeit auf, dass nämlich bereits eliminierte Geruchsstoffe im Nachhinein erneut in das Produkt eingetragen werden. Beispiele hierfür sind 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin und Geosmin.

Die Geruchsstoffe können in ihrer Art, Anzahl und Intensität von Probe zu Probe, aber auch von Werk zu Werk aufgrund möglicherweise prozesstechnischer und baulicher Unterschiede variieren. Ebenso gibt es, je nach Zeitpunkt der Probennahme, vermutlich Abweichungen der jeweiligen Geruchsprofile innerhalb eines Werkes, die auf mehrere Einflussfaktoren zurückzuführen sind. Eine besondere Bedeutung kommt hier der Zuckerrübe selbst zu, deren Gehalte an Zucker, Proteinen und Aminosäuren, aber auch an Mikroorganismen und damit organischen Säuren, von Parametern wie dem Fortschreiten der Kampagne, der Beschaffenheit des Anbaubodens, dem Klima und der Niederschlagsmenge, den Erntebedingungen oder den Lagerungsbedingungen der Rüben abhängen.

4.4 Methodenentwicklung zur Quantifizierung ausgewählter Verbindungen

Nach Identifizierung und Bewertung der potentiell bedeutsamen Geruchsstoffe in Weißzucker und Dicksaft sollten Methoden zur Quantifizierung ausgewählter Verbindungen entwickelt werden.

4.4.1 Quantifizierung mit Hilfe von 1-Octanol

Um flüchtige Verbindungen aus kristallinem Zucker reproduzierbar zu quantifizieren, wurde zunächst der Zusatz einer Lösung eines internen Standards vor der SPME untersucht. Im Vergleich zur ausschließlich externen Kalibrierung sollte dies zu einer verbesserten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse führen (Harmon, 2002).

Vor der Extraktion flüchtiger Verbindungen aus kristallinem Weißzucker mittels SPME wurde eine methanolisch/wässrige Lösung von 1-Octanol auf die Zuckerprobe aufgegeben. Für die Auswertung wurden die Signalflächen der Substanzen 2,5-Dimethylpyrazin, 2,3,5-Trimethylpyrazin, Essigsäure, Buttersäure sowie des internen Standards herangezogen (Tabelle 4-8).

Tabelle 4-8: Nach SPME erhaltene Peakflächen ausgewählter Verbindungen einer Weißzucker-Probe nach Zugabe einer methanolisch/wässrigen Lösung von 1-Octanol. Mittelwerte aus 10 Bestimmungen.

Verbindung	Peakfläche	Standard-abweichung	RSA ^{b)} [%]
1-Octanol ^{a)}	10606451	775665	7,3
Essigsäure	5760562	436306	7,6
Buttersäure	7017767	415230	5,9
2,5-Dimethylpyrazin	95340	20135	21,1
2,3,5-Trimethylpyrazin	65270	5263	8,1

^{a)}Interner Standard. ^{b)}RSA = relative Standardabweichung.

Die beobachteten Standardabweichungen deuteten zunächst darauf hin, dass die Methode reproduzierbar und praktikabel sein könnte. Um den Zusammenhang zwischen den Flächen des internen Standards und den zu quantifizierenden Komponenten zu überprüfen,

wurden die Peakflächen der Verbindungen gegen die Peakflächen des internen Standards aufgetragen (Abbildung 4-19).

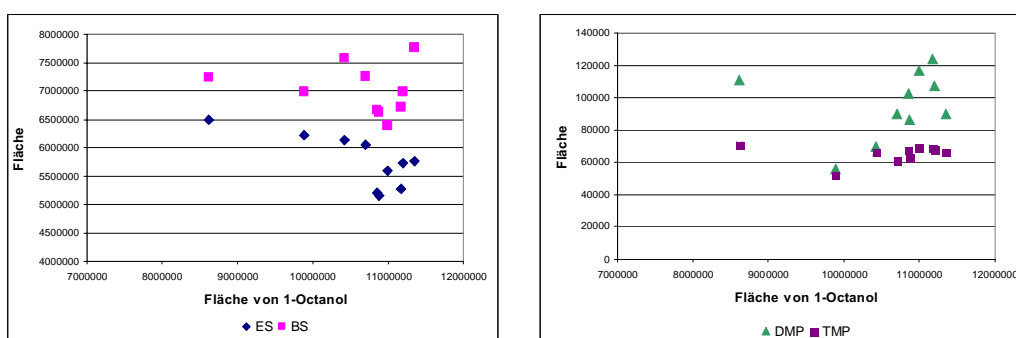


Abbildung 4-19: Peakflächen von Essigsäure (ES), Buttersäure (BS), 2,5-Dimethylpyrazin (DMP) und 2,3,5-Trimethylpyrazin (TMP) aus 10-facher SPME-Extraktion, jeweils gegen Peakfläche des Internen Standard aufgetragen.

Dabei wurde ersichtlich, dass kein linearer Zusammenhang zwischen den jeweils extrahierten Mengen an internem Standard und Analyt bestand. Offensichtlich veränderte das Aufgeben der methanolisch/wässrigen Lösung des Standards die Bedingungen für die SPME, insbesondere hinsichtlich des a_w -Wertes der kristallinen Probe.

Zur Klärung der Frage, inwiefern das Medium der Standardlösung die Extraktion der Geruchsstoffe beeinflusst, wurde der Weißzucker mittels SPME/GC/MS ohne Zugabe, nach Zugabe von 2 μ L Methanol, nach Zugabe von 2 μ L Wasser und nach Zugabe der methanolisch/wässrigen Lösung des internen Standards untersucht (Abbildung 4-20).

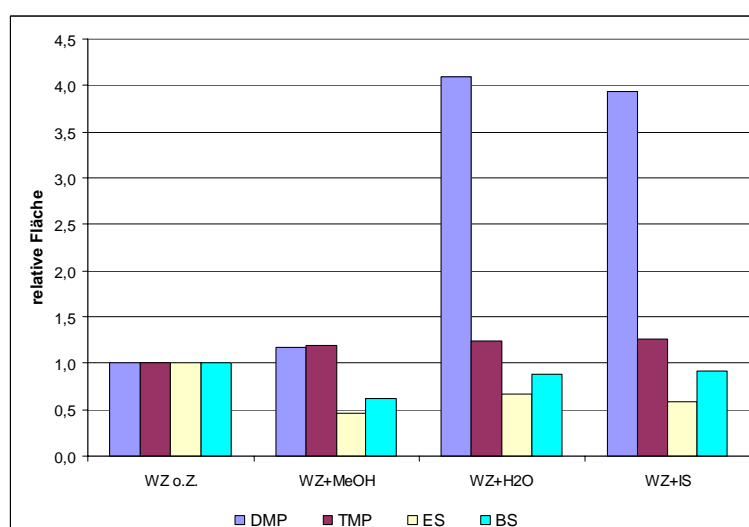


Abbildung 4-20: Veränderung der Signalintensitäten für 2,5-Dimethylpyrazin (DMP), 2,3,5-Trimethylpyrazin (TMP), Essigsäure (ES) und Buttersäure (BS) bei Zusatz von Methanol (MeOH), Wasser (H₂O) und einer methanolisch/wässrigen Lösung des internen Standards (IS) zu kristallinem Zucker (WZ); o.Z. = ohne Zugabe.

Der Zusatz von Methanol hatte auf die Extraktion der Pyrazine nur einen geringen Einfluss; die extrahierten Mengen an organischen Säuren waren jedoch bis auf die Hälfte reduziert. Bei den beiden Proben mit Zusatz von Wasser oder der methanolisch/wässrigen Lösung des internen Standards wurde lediglich Essigsäure deutlich diskriminiert, während Buttersäure mit Werten von 0,88 und 0,91 nur geringe Verluste bei der Extraktion zeigte. Die Verbindungen verhielten sich bei Zugabe von Wasser und der methanolisch/wässrigen Lösung des internen Standards (90µL/L Methanol in Wasser) erwartungsgemäß in etwa gleich. 2,3,5-Trimethylpyrazin verhielt sich bei allen Zugabeversuchen ähnlich und wurde ca. 1,2-fach bezogen auf den Versuch mit reinem Zucker extrahiert. 2,5-Dimethylpyrazin hingegen zeigte eine sehr starke Veränderung bei der Zugabe von Wasser und internem Standard, die Signalintensitäten stiegen auf das Vierfache an.

Mit diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die mittels SPME adsorbierte Menge an internem Standard ebenso variierte wie die der anderen Verbindungen, so dass nach einer Normierung der Flächen auf die Fläche des internen Standards keine Verbesserung der Standardabweichung zu erwarten war. Dieses Ergebnis ist in Einklang mit den von Chung *et al.* (2002) beschriebenen Studien. Zusätzlich zu den chemischen Eigenschaften des internen Standards beeinflussten auch die Technik der Zugabe sowie das Medium der Standardlösung die Extraktion aus dem Dampfraum über der kristallinen Probe.

4.4.2 Quantifizierung mit Hilfe isotopenmarkierter Standards

Für die Quantifizierung von Geruchsstoffen mittels SPME ist ein Bezugsstandard zusätzlich zur externen Kalibrierung notwendig, um Einflussgrößen auf die Extraktion, wie mögliche Alterung der Faser oder schwankende Empfindlichkeit der Analysengeräte, auszuschließen. Im Idealfall erfolgt die Quantifizierung einer Komponente durch Zusatz der entsprechenden isotopenmarkierten Standardsubstanz. Beispielsweise können mit Hilfe der Isotopenverdünnungsanalyse flüchtige Verbindungen im Spurenbereich sehr genau quantifiziert werden (Schieberle und Grosch, 1987; Schieberle, 1995). Da diese Vorgehensweise einen sehr hohen Zeit- und Kostenaufwand bedeutet, wurden die zu quantifizierenden flüchtigen Verbindungen aus Weißzucker zunächst nach Stoffklassen in Gruppen eingeteilt und für jede Gruppe ein repräsentativer isotopenmarkierter Vertreter ausgewählt.

Die erste Gruppe umfasst die relativ konzentrationsstarken kurzkettigen organischen Säuren Essig-, Propion-, Butter-, Isovalerian- und Valeriansäure. Für diese Substanzgruppe wurde isotopenmarkierte Buttersäure als interner Standard gewählt, da Buttersäure zu den bedeutsamsten Komponenten des Zuckergeruches zählt und sie sich mit mittlerer Kettenlänge als Kompromisslösung für diese Gruppe eignet.

Die zweite Gruppe umfasst die konzentrationschwächeren stark aromaaktiven Pyrazine 2,5-Dimethylpyrazin, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin sowie 2-Methylisoborneol und Geosmin. Zur Quantifizierung dieser Komponenten wurde kommerziell erhältliches isotopenmarkiertes 2-Methylisoborneol zugesetzt.

Im Lichte der in Kapitel 4.4.1 beschriebenen Ergebnisse stellte sich die Frage, ob eine Kalibrierung anhand von kristallinem Untersuchungsmaterial möglich ist. Auch Batista *et al.* (2002) hatten durch Zugaberversuche von definierten Wasservolumina zu kristallinem Zucker gezeigt, dass sich die Menge an mittels SPME extrahierter Buttersäure mit Erhöhung des Wassergehaltes verringerte. In der Praxis kann nicht gewährleistet werden, dass der natürliche Wassergehalt von kristallinem Zucker stets konstant ist³, so dass bei Quantifizierungen im Routinebetrieb Schwankungen in der Extraktionsausbeute von Geruchsstoffen resultieren können. In Anbetracht dieser Überlegungen wurde der Zucker für die Quantifizierungen in Wasser gelöst. Zuckerlösungen erlauben die einfache und

³ Der maximal zulässige Wassergehalt von kristallinem Zucker liegt bei 0,06% (VO (EG) 1262/2001; VO (EG) 1260/2001, Anhang 1), wobei die Südzucker AG einen internen Richtwert von maximal 0,04% festgelegt hat.

einheitliche Zugabe des internen Standards sowie die Zugabe von Geruchsstoffen für die externe Kalibrierung.

Für die externe Kalibrierung wurde ein Weißzucker eingesetzt, der nach mehrmaligem Umkristallisieren keinen erkennbaren Geruch mehr aufwies (siehe Abschnitt 3.4.2).

Die Quantifizierung der Geruchsstoffe erfolgte aus der für die AVA (Abschnitt 4.2.4) herangezogenen Weißzuckerprobe.

4.4.2.1 Quantifizierung flüchtiger organischer Säuren

Die Zuckerlösung (siehe Abschnitt 3.4) wurde mit Phosphorsäure angesäuert, um die Säuren für die Quantifizierung freizusetzen. Die Ergebnisse der Mehrfachbestimmungen sind in Tabelle 4-9 aufgezeigt.

Tabelle 4-9: Quantifizierung der flüchtigen organischen Säuren aus Weißzucker mittels SPME/GC/MS unter Verwendung isopenmarkierter Buttersäure als internem Standard. Mittelwerte aus 20 Bestimmungen.

	Essig- säure	Propion- säure	Buttersäure	Isovalerian- säure	Valerian- säure
Mittelwert [mg/kg]	7,58	0,64	0,83	0,11	0,22
RSA^{a)} [%]	6,8	4,8	6,2	4,0	8,9

^{a)}RSA = relative Standardabweichung

Die Bestimmungsgrenze für die kurzkettigen organischen Säuren wurde zu 0,01 mg/kg ermittelt. Wie aus Tabelle 4-9 ersichtlich ist, lagen die relativen Standardabweichungen für die Quantifizierung der flüchtigen organischen Säuren zwischen 4,0 % und 8,9 %. Diese Werte liegen deutlich unter den nach Horwitz (1982) (s. Abschnitt 2.3.5.2) akzeptablen Standardabweichungen von 11,8 % für Essigsäure und 22,3 % für Isovaleriansäure.

Diese Untersuchungen zeigten auch, dass die Proben nach Ansäuerung im wässrigen Medium über mehrere Stunden stabil und damit die ermittelten Säuregehalte konstant blieben, so dass die Messungen im Routinebetrieb mit Hilfe des Autosamplers über Nacht durchgeführt werden können.

4.4.2.2 Quantifizierung von Pyrazinen, 2-Methylisoborneol und Geosmin

Für die Bestimmung der Pyrazine und Terpene wurde eine Methode auf Basis von SIM-Messungen entwickelt, da die Empfindlichkeit des massenspektrometrischen Detektors im *full scan* Modus für die Erfassung dieser Komponenten nicht ausreichend war. Für jede Substanz wurden dafür die Retentionszeit, das Target-Ion und ein bis zwei Qualifier-Ionen ermittelt (siehe Abschnitt 3.4.2).

Quantifizierung in Fabrikationssäften

Die Komponenten Geosmin, 2-Methylisoborneol, 2,5-Dimethylpyrazin und die Methoxypyrazine wurden in den Zwischenprodukten des Zuckergewinnungsprozesses quantifiziert (Tabelle 4-10). Die Bestimmungsgrenzen lagen bei 2 ng/L bzw. 2 ng/kg.

Tabelle 4-10: Quantifizierung von 2,5-Dimethylpyrazin, Geosmin, 2-Methylisoborneol und drei Methoxypyrazinen in Rohsaft, Dünnsaft und Dicksaft mittels SPME/GC/MS unter Verwendung von isotopenmarkiertem 2-Methylisoborneol als internem Standard. Mittelwerte aus jeweils 10 Bestimmungen.

	DMP [µg/L]	Geosmin [µg/L]	MIB [ng/L]	IPMP [µg/L]	IBMP [µg/L]	SBMP [µg/L]
Rohsaft	315	2,5	7	0,5	0,11	5,87
RSA^{a)} [%]	9,1	16,4	6,4	10,7	12,5	9,1
Dünnsaft	628	0,2	- ^{b)}	0,13	0,03	1,66
RSA^{a)} [%]	4,8	17,3	-	8,5	11,0	10,5
	[µg/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]
Dicksaft	2710	-	-	-	-	-
RSA^{a)} [%]	4,2	-	-	-	-	-

DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, MIB = 2-Methylisoborneol, IPMP = 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, SBMP = 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, IBMP = 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin.

^{a)} RSA = relative Standardabweichung; ^{b)} unterhalb der Bestimmungsgrenze 2 ng/kg.

Die untersuchten Geruchsstoffe konnten in Rohsaft und Dünnsaft mit relativ geringen Abweichungen quantifiziert werden. 2,5-Dimethylpyrazine, Geosmin und die Methoxypyrazine waren in diesen Produkten im ppb-Bereich vorhanden, während 2-Methylisoborneol lediglich im Rohsaft im ppt-Bereich (7 ng/L) erfasst wurde. Im Dicksaft hingegen wurde nur 2,5-Dimethylpyrazin (2710 µg/kg) gefunden.

Quantifizierung in Weißzucker

Aus Weißzuckerlösungen (siehe Abschnitt 3.4) wurden 2,5-Dimethylpyrazin, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin, 2-Methylisoborneol und Geosmin quantifiziert, die Ergebnisse der Zehnfachbestimmung sind in Tabelle 4-11 dargestellt. Die Bestimmungsgrenze der Komponenten dieser Gruppe wurde zu 2 ng/kg für diese Methode ermittelt.

Tabelle 4-11: Quantifizierung von Pyrazinen und Terpenen aus Weißzucker mittels SPME/GC/MS. Zehnfachbestimmung zur Untersuchung der Wiederholbarkeit.

	DMP	IPMP	SBMP	IBMP	MIB	Geosmin
Mittelwert [ng/kg]	8001	-	-	-	-	37
RSA	17,0%	-	-	-	-	6,1%

DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, IPMP = 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, SBMP = 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, IBMP = 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin, MIB = 2-Methylisoborneol, RSA = relative Standardabweichung.

Trotz der niedrigen Konzentration war die Abweichung der in Weißzucker bestimmten Menge von Geosmin mit 6,1% sehr gering. Bei der Ermittlung der Kalibriergeraden wurde bereits im niedrigen Konzentrationsbereich eine lineare Abhängigkeit zwischen Konzentration und Signal beobachtet, so dass eine geringe Schwankung bei dieser Verbindung zu erwarten war (vgl. Abbildung 3-3b)).

Mittels GC/Olfaktometrie wurden alle drei Methoxypyrazine in diesem Weißzucker deutlich erfasst, während Geosmin - gegebenenfalls aufgrund der bereits erwähnten spezifischen Anosmie (Abschnitt 4.2.1) - und 2-Methylisoborneol am Sniffing-Port nicht erfasst wurden. Mittels GC/MS wurden diese Komponenten nicht detektiert (Tabelle 4-11), das heißt sie lagen in Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze vor.

Die im Rahmen dieser Studie ermittelte instrumentelle Bestimmungsgrenze von 2 ng/kg für Geosmin in Zucker liegt in etwa bei einem Zehntel der in einer früheren Untersuchung beschriebenen Grenze. So konnten Marsili *et al.* (1994) Geosmin instrumentell über den SIM-Modus eines Ion Trap Detektors nicht erfassen, bestätigten die Anwesenheit jedoch mittels GC/Olfaktometrie. Die Autoren folgerten, dass Geosmin in einer Konzentration unterhalb der von ihnen angegebenen instrumentelle Bestimmungsgrenze von 25 ppt im Weißzucker vorhanden sein musste.

4.4.3 Zusammenfassung

Die Zugabe eines konventionellen internen Standards (1-Octanol) führte bei exaktem Einhalten der Methode zu wiederholbaren Ergebnissen. Da allerdings lediglich ein interner Standard für alle Verbindungen zur Extraktion eingesetzt wurde, brachte eine Normierung der Messsignale auf diesen keine Vorteile für die Messungen. Zudem wirkte sich die Zugabe des internen Standards nachteilig auf die Extraktionsausbeute einiger zu bestimmender Verbindungen aus. Um diese experimentellen Schwierigkeiten zu umgehen, wurden isopenmarkierte Standardsubstanzen für die Analysen eingesetzt. Geosmin und Pyrazine wurden aus wässrigen Zuckerlösungen bestimmt, zur Messung der kurzkettigen organischen Säuren wurden die Lösungen zusätzlich angesäuert. Die zur Quantifizierung von Geruchsstoffen in Weißzucker und den Fabrikationssäften angewendeten Methoden führten zu reproduzierbaren Ergebnissen.

4.5 Quantifizierung ausgewählter Verbindungen in Fabrikationssäften

Mit der entwickelten Methode zur Quantifizierung wurden im nächsten Schritt Rohsaft-, Dünnsaft- und Dicksaftproben, die aus unterschiedlichen Werken zu verschiedenen Zeiten diverser Kampagnen entnommen worden waren, auf ihre Gehalte an 2,5-Dimethylpyrazin, Geosmin, 2-Methylisoborneol, 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin und 2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin untersucht (Tabelle 4-12).

Tabelle 4-12: Quantifizierung von Pyrazinen und Geosmin in Rohsaft, Dünnsaft und Dicksaft.

	Werk	Proben- nahme	DMP [µg/L]	Geosmin [µg/L]	MIB [ng/L]	IPMP [µg/L]	SBMP [µg/L]	IBMP [µg/L]
Rohsaft	A	Nov 2002	31	1,9	5	0,3	4,7	0,1
	A	Okt 2003	21	3,9	10	0,6	9,8	0,1
	D	Nov 2004	71	3,0	2	0,9	11,3	0,1
	D	Nov 2004	64	2,1	- ^{a)}	0,4	7,2	0,1
	D	Nov 2004	86	2,7	5	0,7	12,2	0,1
	B	Dez 2003	188	3,5	8	0,6	11,1	0,1
	C	Nov 2002	133	2,1	8	0,6	6,4	0,1
	E	Nov 2002	66	2,0	6	0,6	6,3	0,1
	F	Nov 2002	31	2,7	7	0,5	9,8	0,1
			[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]
Dünnsaft	A	Nov 2002	49	0,5	-	0,1	0,9	0,02
	A	Nov 2002	52	0,6	-	0,1	1,0	0,02
	D	Nov 2004	109	0,4	-	0,2	1,5	0,03
	D	Nov 2004	136	0,4	-	0,2	1,5	0,03
	D	Nov 2004	159	0,4	-	0,2	1,6	0,02
	C	Nov 2004	129	0,5	-	0,1	0,9	0,02
	C	Nov 2002	138	0,5	-	0,1	0,9	0,03
	E	Nov 2002	96	0,4	-	0,1	0,7	0,02
	F	Nov 2002	88	0,6	-	0,1	1,6	0,02
			[µg/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]
Dicksaft	D	Nov 2002	1800	-	-	-	-	-
	D	Dez 2004	2783	-	-	-	-	-
	A	Nov 2002	1375	-	-	-	-	-
	B	Nov 2002	2358	-	-	-	-	-
	B	Dez 2002	2450	-	-	-	-	-

DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, IPMP = 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin, SBMP = 2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin, IBMP = 2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin, MIB = 2-Methylisoborneol.

a) unterhalb der Bestimmungsgrenze 2 ng/L bzw. 2 ng/kg

Die Quantifizierung ausgewählter Geruchsstoffe aus den Zwischenstufen des Zuckergewinnungsprozesses zeigte, dass während der Saftreinigung ein Teil der betrachteten flüchtigen Verbindungen entfernt wurde; im Dünnsaft wurden, abgesehen von 2,5-Dimethylpyrazin, nur noch etwa 1/5 bis 1/10 der im Rohsaft bestimmten Mengen gefunden. Im weiteren Prozessverlauf, insbesondere während der Verdampfung, wurden diese Komponenten weitgehend eliminiert; in Dicksaft waren die Methoxyypyrazine, Geosmin und 2-Methylisoborneol bis zur instrumentellen Bestimmungsgrenze von 2 ng/L nicht mehr nachweisbar.

Pihlgård (2000) beschrieb dagegen, dass Geosmin sowie 2-Isopropyl-3-methoxyypyrazin während der Carbonatation vollständig eliminiert werden.

Die Konzentration von 2,5-Dimethylpyrazin nahm erwartungsgemäß im Laufe des Prozesses von Rohsaft über Dünnsaft zu Dicksaft stark zu, da diese Substanz primär thermisch gebildet wird.

Die Konzentration von 2,5-Dimethylpyrazin war in den im Dezember entnommenen Mustern am höchsten. Darüber hinaus war keine Abhängigkeit der quantitativen Werte von den verschiedenen Werken oder Zeitpunkten der Probennahme erkennbar.

In den Rohsäften wurden relativ hohe Mengen an Geosmin (1,9-3,5 µg/L) und 2-sec-Butyl-3-methoxyypyrazin (4,7-12,2 µg/L) nachgewiesen. Rohsaft verdankt in erster Linie diesen Komponenten seinen typisch erdigen, rübenartigen Geruch. Dies ist in Einklang mit den Ergebnissen aus den Aromaverdünnungsanalysen, wobei die Methoxyypyrazine als Hauptkomponenten des Rohsaftgeruches identifiziert wurden. Geosmin konnte aufgrund einer spezifischen Geruchsblindheit nicht ausgewertet werden.

Unter Berücksichtigung der Geruchsschwellen, die zu ca. 5 ng/L bzw. 2 ng/L in Wasser angegeben werden (Gerber, 1979; van Ruth und Roozen, 1994), wird deutlich, dass diese Komponenten selbst bei weitestgehender Eliminierung noch zum Geruch eines Produktes beitragen können.

4.6 Quantitative und sensorische Untersuchung von Weißzuckermustern unterschiedlicher Herkunft

Nach der Quantifizierung ausgewählter Geruchsstoffe in Weißzucker wurden mögliche Zusammenhänge zwischen diesen Daten und der sensorischen Charakterisierung von Weißzucker untersucht. Dafür wurden 70 Zuckerproben aus europäischen Werken der Südzucker AG (Deutschland), von Saint Louis Sucre (Frankreich), der Raffinerie Tirllemontoise (Belgien) und Agrana (Österreich) auf ihre Gehalte an flüchtigen organischen Säuren, Geosmin, der Methoxypyrazine und 2,5-Dimethylpyrazin untersucht. Parallel dazu wurden diese Proben durch das Sensorik-Panel der Südzucker AG ZAFES nach der in Abschnitt 3.2 beschriebenen Methode charakterisiert.

Die Probennahme aus den österreichischen, belgischen und französischen Werken erfolgte jeweils zur Mitte der Kampagne 2003. Aus den deutschen Werken wurden je ein Mal zu Beginn und zum Ende der Kampagne 2003 Proben entnommen. Zusätzlich wurden aus mehreren deutschen Werken einige Monate nach der Kampagne gelagerte Siloproben oder frisch produzierte Proben der Dicksaftkampagne 2004 entnommen. Der jeweilige Zeitraum der Probennahme ist in der Tabelle 4-13 angegeben.

4.6.1 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Quantifizierung sowie der humansensorischen Beschreibung der Zuckerproben sind in Tabelle 4-13 dargestellt.

Die Konzentrationen von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin und 2-Methylisoborneol lagen in den untersuchten Zuckerproben unterhalb der Bestimmungsgrenze von 2 ng/kg.

4 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 4-13: Quantifizierung ausgewählter Geruchsstoffe aus Weißzuckerproben und humansensorische Charakterisierung dieser Proben.

Werk	Probe	Land ^a	Proben- nahme ^b	DMP ng/kg	G ng/kg	ES mg/kg	PS mg/kg	BS mg/kg	IVS mg/kg	VS mg/kg	Intensität ^c			Bemerkung		
											am.	säuerl.	erdig		süß	sonst.
1	WZ-1	D	Ende	581	-	1,3	0,04	0,05	<0,01	<0,01	0	0	4,4	2,8	4	Erde, Keller, Kraut; süß; chemisch
1	WZ-1	D	Silo	1298	13	1,2	0,05	0,08	<0,01	<0,01	2,8	0	3,4	0	0	Stall; Keller, modrig, muffig Kalk, Staub
1	WZ-2	D	Ende	3672	-	1,3	0,03	0,20	0,05	<0,01	0	0	4,2	2,4	3	Erde, Rübe; süß; Verpackung
1	WZ-2	D	Silo	5435	-	2,8	0,08	0,17	0,02	0,01	0	2,8	2,9	3,6	0	modrig, muffig, rauchig, Melasse, Staub; süß, karamellig
1	Bio	D		2135	-	2,2	0,06	0,04	0,01	<0,01	0	0	3,3	2,6	3,4	süß, karamellig
2	WZ-1	D	Beginn	2517	7	0,6	0,01	0,03	0,01	<0,01	0	0	0	0	3,3	Gummi, Leder, Verpackung
2	WZ-1	D	Silo	1688	7	1,9	0,07	0,03	<0,01	<0,01	0	0	3	3,2	0	Kraut, Erde, staubig, muffig; karamellig, süß
2	WZ-2	D	Beginn	5123	-	3,8	0,04	0,24	0,04	<0,01	0	3,7	3,7	0	3,5	ranzig, organische Säuren; muffig; Verpackung
2	WZ-2	D	Silo	10541	-	4,5	0,08	0,17	0,02	<0,01	0	0	2,6	2,9	0	karamellig, süß
3	WZ-1	D	Beginn	1186	8	1,4	0,03	0,23	0,02	<0,01	3,5	0	3,7	2,9	0	Stall; Erde, muffig; süß
3	WZ-1	D	Ende	679	6	1,1	0,02	0,06	0,01	<0,01	0	0	3,5	2,8	0	muffig, alter Keller, Rübe; süß
3	WZ-1	D	Silo	947	-	1,6	0,05	0,14	0,01	<0,01	0	0	3,6	3,2	0	Melasse, Rüben, muffig; süß
3	WZ-1	D	Dicksaftk.	3533	-						0	3,6	3,9	2,0	4,0	Säure, Käse, ranzig, muffig, süß, Kunststoff
3	WZ-2	D	Beginn	4467	7	1,7	0,03	0,36	0,02	<0,01	0	3,4	3,3	3	0	Käse; Erde, muffig, Rübe; süß
3	WZ-2	D	Ende	7377	-	2,9	0,05	0,18	0,02	<0,01	2,7	0	3,4	0	0	Stall; Erde, muffig
3	WZ-2	D	Silo	8564	-	3,0	0,07	0,30	0,02	<0,01	0	0	3,3	2,7	0	Melasse, Kraut, Erde, muffig; karamellig, süß
3	WZ-2	D	Dicksaftk.	5352	-						3,7	3,6	3,1	2,0	0	Stall; Säure, Käse, ranzig; muffig, süß
4	WZ-2	D	Beginn	2410	14	1,6	0,03	0,06	0,02	<0,01	0	0	3,7	2,7	0	Erde, muffig, Kraut; süß, karamellig
4	WZ-2	D	Silo	4377	-	3,3	0,08	0,11	0,02	<0,01	0	2,5	3,3	2,4	2,6	alte Melasse, Staub, muffig; süß; Papier, Pappe

4 Ergebnisse und Diskussion

Fortsetzung Tabelle 4-13

Werk	Probe	Land ^a	Proben- nahme ^b	DMP ng/kg	G ng/kg	ES mg/kg	PS mg/kg	BS mg/kg	IVS mg/kg	VS mg/kg	Intensität ^c			Bemerkung		
											am.	säuerl.	erdig	stöß	sonst.	
4	WZ-2	D	Beginn	6566	5	3,2	0,06	0,13	0,04	<0,01	0	0	3,8	0	3,8	muffig, Keller, Kraut, Rübe; Lösungsmittel
5	WZ-1	D	Beginn	175	5	0,5	0,01	0,06	0,01	<0,01	0	0	3,5	0	3,5	Kraut, Melasse, muffig; Lösungsmittel, Minze, Verpackung
5	WZ-1	D	Ende	299	-	1,4	0,04	0,05	<0,01	<0,01	0	0	3,3	2,8	2,6	Kraut, Rübe; süß, karamellig
5	WZ-1	D	Silo	2566	14	1,4	0,04	0,08	<0,01	<0,01	0	0	3,5	3,7	0	Lösungsmittel
5	WZ-2	D	Beginn	15762	23	5,6	0,07	1,26	0,11	<0,01	0	0	3,5	0	3,5	Muffig; süß, karamellig
5	WZ-2	D	Ende	5885	-	5,1	0,09	0,36	0,04	0,01	0	3	3,6	0	0	Kraut, Melasse, muffig; Lösungsmittel, Minze, Verpackung
5	WZ-2	D	Silo	11508	-	6,0	0,13	0,60	0,03	<0,01	0	3,5	3,7	3	0	Käse; Kraut, Erde, Keller, modrig, muffig
6	WZ-1	D	Beginn	1010	10	0,5	0,01	0,03	0,01	<0,01	0	0	4,3	2,5	0	Käse; muffig; süß, karamellig
6	WZ-1	D	Ende	379	-	0,6	0,03	0,02	<0,01	<0,01	0	0	3,5	2,7	3,8	Kraut, Melasse; süß
6	WZ-1	D	Silo	802	8	1,8	0,03	0,02	<0,01	<0,01	0	0	3	2,7	0	stöß
6	WZ-2	D	Beginn	8025	13	2,3	0,03	0,13	0,03	<0,01	0	3,3	3,4	2,5	0	Staub, muffig; karamellig, stöß
6	WZ-2	D	Ende	2468	-	1,1	0,02	0,07	0,02	<0,01	0	0	3	3	2,3	Organ. Säure; süß
6	WZ-2	D	Silo	3033	-	2,8	0,04	0,13	0,02	<0,01	0	0	3,6	2,8	0	Melasse; süß, karamellig, fruchtig
7	WZ-2	D	Beginn	11279	13	2,6	0,04	0,12	0,03	<0,01	3	0	3,3	0	0	Kraut, alte Melasse, Pellets, muffig; süß, karamellig
7	WZ-2	D	Ende	7533	3	2,9	0,03	0,07	0,04	<0,01	0	2	3,6	2,9	0	Melasse; süß, karamellig, fruchtig
7	WZ-2	D	Silo	6550	7	2,3	0,08	0,15	0,02	<0,01	0	0	3,5	3,4	0	Kraut, Pellets, Erde, muffig; stöß
8	WZ-1	D	Beginn	880	37	0,4	0,02	0,01	<0,01	<0,01	0	0	4	0	0	Kraut, Erde, modrig; süß, karamellig
																Kraut, Pellets, Erde, muffig; stöß
																Erde, Kraut, Rübe, Keller, muffig

Fortsetzung Tabelle 4-13

Werk	Probe	Land ^a	Proben- nahme ^b	DMP	G	ES	PS	BS	IVS	VS	Intensität ^c			Bemerkung		
				ng/kg	ng/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	am.	säuerl.	erdig	süß	sonst.	
8	WZ-1	D	Ende	293	3	1,6	0,04	0,01	<0,01	<0,01	0	0	3,9	0	3,3	Erde, muffig; Rübe, Melasse; Chemisch, Lösungsmittel, Rauch
8	WZ-1	D	Silo	789	-	1,1	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	0	0	3,7	0	3,2	Rübe, Keller, alte Melasse, muffig; Lösungsmittel
8	WZ-1	D	Dicksaftk.	1052	-	1,3	0,03	0,01	<0,01	<0,01	0	0	0	0	4,2	Lösungsmittel, Ether, Medizin, chemisch
8	WZ-2	D	Beginn	4672	28	2,4	0,05	0,06	0,03	<0,01	0	0	3,3	0	3,3	muffig
8	WZ-2	D	Ende	2123	5	1,8	0,04	0,04	0,03	<0,01	0	0	3,8	0	0	muffig, Keller, Erde, alte Rübe
8	WZ-2	D	Silo	3066	-	2,7	0,06	0,05	0,01	<0,01	0	0	3,6	3,2	3	muffig, modrig; süß, karamellig; Verpackung, Papier
8	WZ-2	D	Dicksaftk.	2279	-	1,9	0,07	0,06	0,02	<0,01	0	0	4	2,3	3,5	Rübe, Keller, muffig; süß; Lösungsmittel
9	WZ-1	D	Beginn	1853	20	0,6	0,01	0,01	0,01	<0,01	0	0	4	0	0	Kraut, Rübe, Keller, muffig, alt
9	WZ-1	D	Ende	1053	6	0,6	0,03	0,01	0,01	0,01	0	0	4,2	0	0	Kraut, Rübe, muffig
9	WZ-1	D	Silo	409	-	1,3	0,05	0,01	<0,01	<0,01	2	0	3,2	3,2	0	muffig; süß karamellig
9	WZ-2	D	Beginn	18033	11	3,8	0,03	0,06	0,04	<0,01	4,3	0	3,8	2,7	3	Stall; muffig; süß
9	WZ-2	D	Ende	<2	-	1,7	0,04	0,04	0,03	<0,01	0	0	3,4	0	0	Kraut, muffig, Keller, Rübe
9	WZ-2	D	Silo	5853	-	4,4	0,11	0,05	0,02	0,01	2,3	0	4	3,5	3,3	muffig, Erde, Melasse; karamellig, süß; Maggi
10	WZ-1	D	Beginn	5369	20	0,5	0,01	0,03	<0,01	<0,01	0	0	3,9	0	0	Kraut, Rübe, Kalk, modrig
10	WZ-1	D	Ende	1187	-	1,5	0,04	0,02	<0,01	<0,01	0	0	3,8	0	3,2	muffig, Erde; Maggi, Papier
10	WZ-1	D	Silo	2599	6	1,7	0,02	0,04	<0,01	<0,01	0	0	3,2	3	0	Erde, Kraut; süß, karamellig
10	WZ-2	D	Beginn	24345	27	2,3	0,04	0,22	0,02	<0,01	0	0	4	0	0	Kraut, Rübe
10	WZ-2	D	Ende	6475	-	3,6	0,07	0,24	0,02	<0,01	0	3	3,5	2,6	3,4	Sauer; muffig, Melasse; süß; würzig, Verpackung
10	WZ-2	D	Silo	8236	-	4,1	0,05	0,36	0,02	<0,01	0	0	3,4	3	0	alte Melasse, muffig; süß, karamellig

Fortsetzung Tabelle 4-13

Werk	Probe	Land ^a	Proben- nahme ^b	DMP ng/kg	G ng/kg	ES mg/kg	PS mg/kg	BS mg/kg	IVS mg/kg	VS mg/kg	Intensität ^c			Bemerkung		
											am.	säuerl.	erdig		süß	sonst.
11	WZ-2	D	Beginn	4320	5	1,9	0,15	0,03	0,03	<0,01	0	0	3,8	0	2,8	Muffig; chemisch
11	WZ-2	D	Ende	2746	-	2,4	0,07	0,04	0,05	<0,01	0	0	4,4	0	0	Kraut, Melasse
11	WZ-2	D	Dicksaftk.	8222	-	3,1	0,11	0,03	0,04	<0,01	3,8	0	4,3	2,4	3,6	stechend; Kraut, Rübe, Melasse; süß; chemisch, Lösungsmittel
12	WZ-1	F	Mitte	3352	11	1,9	0,13	0,07	0,02	0,01	0	0	4,1	0	3	muffig, Keller
13	WZ-1	F	Mitte	10025	16	1,8	0,31	0,24	0,04	0,10	0	0	0	3,3	3,8	Süß; chemisch
13	WZ-2	F	Mitte	6115	25	3,5	0,53	0,39	0,05	0,18	0	0	3,7	3,3	4	Kraut; süß, fruchtig
14	WZ-2	A	Mitte	7254	4	1,4	0,03	0,05	0,07	<0,01	0	0	4,1	0	3	muffig, Erde, Kraut
15	WZ-2	F	Mitte	9402	3	1,9	0,20	0,13	0,03	0,02	0	0	4	0	3,3	Lösungsmittel
16	WZ-2	F	Mitte	16508	13	8,0	0,77	2,20	0,10	0,19	3,5	0	4,4	0	0	Stall; modrig, muffig Rübe
17	WZ-2	F	Mitte	8220	33	2,4	0,06	0,05	0,08	<0,01	0	0	4	3,2	0	Modrig; karamellig, süß
18	WZ-2	A	Mitte	5558	6	1,6	0,04	0,17	0,03	<0,01	0	0	3,2	0	0	modrig, Rübe
19	WZ-2	A	Mitte	1737	3	2,5	0,06	0,39	0,14	0,01	0	0	3,2	2,6	2,8	Rübe; karamellig, süß; Verpackung
20	WZ-1	B	Mitte	16393	3	11,2	0,77	2,50	0,12	0,05	3,5	3,5	3,8	0	0	Stall; ranzig, Käse, sauer; Rübe
21	WZ-1	B	Mitte	812	-	1,1	0,07	0,10	0,02	0,01	0	3,2	3,7	0	2,5	Käse; Kraut, Rübe, Keller, muffig, modrig
21	WZ-2	B	Mitte	2935	-	1,5	0,11	0,21	0,03	0,01	0	0	3,9	0	4,2	Lösungsmittel, Verpackung Rübe, alt Lösungsmittel

^a D = Deutschland, A = Österreich, B = Belgien, F = Frankreich.

^b Zeitraum der Probenahme: Beginn, Mitte oder Ende der Kampagne, Dicksaftkampagne oder Entnahme einer Siloprobe.

^c Für die Auswertung wurden alle Geruchsattribute berücksichtigt, die von mindestens der Hälfte der Prüfpersonen angegeben wurden, angegeben ist jeweils der Mittelwert aus diesen Angaben. am. = ammoniakalisch, säuerl. = säuerlich, sonst. = sonstiges.

DMP = 2,5-Dimethylpyrazin, G = Geosmin, ES = Essigsäure, PS = Propionsäure, IVS = Isovaleriansäure, BS = Buttersäure, VS = Valeriansäure

Grundsätzlich wurden in den Weißzuckern der Qualität 1 niedrigere Mengen an organischen Säuren ermittelt als in den Weißzuckern der Kategorie 2. Weiterhin zeigten sich Abweichungen in Abhängigkeit von den Standorten. Die Zucker aus belgischen und französischen Werken enthielten deutlich höhere Mengen an Propion- und Valeriansäure als die deutschen und österreichischen Proben. Hier lag Valeriansäure zumeist in Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,01 mg/kg (ppm) vor. Auch die Mengen an Isovaleriansäure waren in den Proben der deutschen Werke am niedrigsten.

Ebenso zeigten sich bei den Konzentrationen von 2,5-Dimethylpyrazin große Schwankungen in Abhängigkeit von den Standorten. Generell war diese Komponente in den Weißzuckern-2 in größeren Mengen vorhanden als in den Weißzuckern-1. Die höchsten Werte wurden in den Proben des Kampagnebeginns ermittelt. Während die Konzentrationen in den Mustern aus dem Ende der Kampagne vergleichsweise niedrig waren, konnte häufig eine höhere Konzentration in den Siloproben beobachtet werden.

Geosmin wurde im Gegensatz zu den Säuren und 2,5-Dimethylpyrazin zumeist in den Weißzuckern 1 in höheren Mengen als in den Weißzuckern 2 gefunden. In nahezu allen deutschen Proben war der Geosmingehalt zu Beginn der Kampagne deutlich höher als zum Ende und in den Siloproben. In den französischen Zuckerproben war Geosmin deutlich nachweisbar, in den belgischen und österreichischen Mustern dagegen lag die ermittelte Konzentration meistens im Bereich oder unterhalb der Bestimmungsgrenze.

In den Mustern aus der Dicksaftkampagne wurde kein Geosmin nachgewiesen.

Auffallend war, dass die Geruchseindrücke der WZ-1-Proben durch das Sensorik-Panel häufig mit höheren Intensitäten bewertet wurden als die der entsprechenden WZ-2-Proben.

Obwohl lediglich eine begrenzte Anzahl Geruchsstoffe quantifiziert wurde, wurde versucht, diese Daten in Zusammenhang mit den Daten aus der sensorischen Charakterisierung zu betrachten.

Zum Beispiel wurde Geosmin im WZ-1 des Werkes 8 aus dem Beginn der Rübenkampagne nachgewiesen, und dieser Zucker wurde durch das Panel als "erdig" mit mittlerer Intensität 4 (auf der Skala zwischen 0 und 8) charakterisiert. Die flüchtigen organischen Säuren waren in vergleichsweise geringen Mengen enthalten.

Der WZ-1 aus der Dicksaftkampagne dieses Werkes enthielt kein Geosmin, die organischen Säuren waren in geringen Mengen vorhanden und das Produkt wurde sensorisch mit den Attributen "Lösungsmittel, Ether, Medizin, chemisch" der Rubrik "Sonstiges" (Intensität 4) und somit relativ zuckeruntypisch beschrieben. Der Geruch "erdig" wurde bei dieser Probe nicht erkannt (Intensität 0). Anhand dieser beiden Beispiele ließe sich ein Zusammenhang zwischen dem Geosmingehalt und der als "erdig" beschriebenen Geruchsnote des Zuckers vermuten.

Andererseits wurde ein weiterer Zucker, der WZ-2 des Werkes 11 aus der Dicksaftkampagne, aufgrund der sensorischen Analyse als deutlich belastet eingestuft, da er mit 4 von den 5 Attributen bis zur Intensität von 4,3 ("erdig") und insgesamt als "stechend, Kraut, Rübe, Melasse; süß, chemisch, lösungsmittelartig" beschrieben wurde. Allerdings konnte in diesem Zucker kein Geosmin nachgewiesen werden, während der Gehalt an organischen Säuren im Vergleich zu den anderen Zuckern relativ hoch war.

Auch die Siloprobe aus dem Werk 9 wies geringe Konzentrationen von allen quantifizierten Geruchsstoffen und kein Geosmin auf, wurde jedoch vom Panel mit drei der fünf Attribute und den Intensitäten 2 (ammoniakalisch), 3,2 (erdig) und 3,2 (süß/karamellig) bewertet.

Dagegen wurde ein Weißzucker aus dem französischen Werk 17, der die vergleichsweise höchsten Konzentrationen aller quantifizierten Verbindungen enthielt, vom Panel lediglich im mittleren Bereich bewertet (3,5 für ammoniakalisch und 4,4 für erdig) und insgesamt als "stallartig; modrig, muffig und rübenartig" beschrieben.

Zur Überprüfung eines möglichen Zusammenhangs zwischen quantifizierten Geruchsstoffen und sensorischer Bewertung wurden die ermittelten Konzentrationen von Geosmin gegen die jeweils vom Panel angegebenen Intensitätswerte für das Attribut "erdig" aufgetragen (Abbildung 4-21). Es ist zu erkennen, dass kein Zusammenhang zwischen der Konzentration an Geosmin und der sensorischen Beschreibung "erdig" besteht.

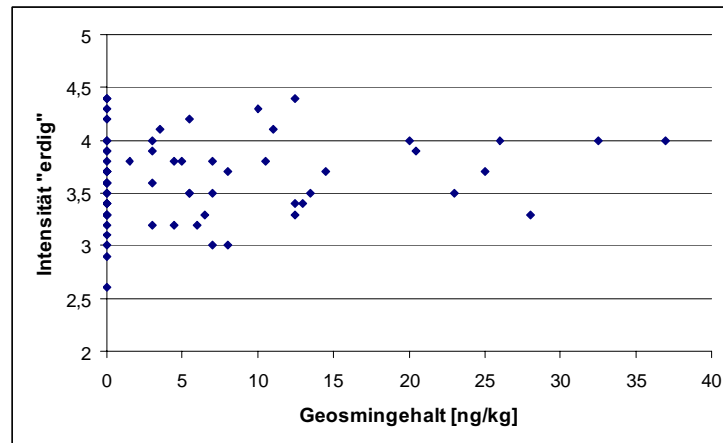


Abbildung 4-21: Zusammenhang zwischen Geosminkonzentration und der sensorischen Beschreibung "erdig" in verschiedenen Weißzuckermustern.

4.6.2 Diskussion

Schwankungen in den Gehalten der Geruchsstoffe in den einzelnen Zuckern und von Werk zu Werk ergeben sich natürlicherweise durch klimatische, mikrobielle oder lagerungstechnische Unterschiede, aber auch durch die jeweiligen werksspezifischen und prozesstechnischen Besonderheiten, wie zum Beispiel der Handhabung von Desinfektionsmaßnahmen während der Extraktion oder der Schwemmwasseraufbereitung. Eine Erklärung aller hier beschriebenen analytischen Beobachtungen wäre nur durch eine genauere Betrachtung der jeweiligen Gegebenheiten vor Ort möglich, die nicht Gegenstand dieser Arbeit war.

Die Konzentrationsunterschiede der Säuren sowie von 2,5-Dimethylpyrazin beim Vergleich von WZ-1 und WZ-2 stehen in Einklang mit der Tatsache, dass WZ-1 raffinierter Zucker ist und damit eine höhere Reinheit als für WZ-2 zu erwarten ist.

Die im Verlauf der Kampagne steigenden Konzentrationen von 2,5-Dimethylpyrazin sowie die höheren Konzentrationen dieser Komponente in den Proben aus der Dicksaftkampagne könnten sich dadurch erklären lassen, dieses Pyrazin und/oder seine Vorläufer mitunter während der Lagerung der Rüben beziehungsweise des Dicksaftes gebildet wird. Aufgrund der Zusammensetzung von Rübe und Dicksaft ist zu vermuten, dass während der Lagerung Maillard und Strecker Reaktion ablaufen.

Nachdem die Methoxypyrazine instrumentell auch im empfindlichen SIM-Modus nicht erfasst werden konnten, wurde Geosmin für die weiteren Studien als Repräsentant für Substanzen mit niedrigen Geruchsschwellenwerten gewählt.

In den Weißzuckern der Qualität 1 wurden häufig höhere Mengen an Geosmin gefunden als in den Weißzuckern 2 des jeweiligen Werkes. In Übereinstimmung damit wurden die WZ-1 auch durch das Sensorik-Panel häufig mit höheren Intensitäten bewertet, als die entsprechenden WZ-2. Diese Beobachtungen sind auch in Einklang mit den Ergebnissen aus den Verdünnungsanalysen, in denen bereits festgestellt wurde, dass insbesondere die Methoxypyrazine verstärkt in den Weißzuckern der Qualität 1 zu finden waren.

Diese Ergebnisse legen den Verdacht nahe, dass hauptsächlich WZ-1, der aufgrund der Herstelltechnologie als Raffinadezucker von höherer Reinheit ist, im Nachhinein wieder mit Geruchsstoffen belastet wird. Verantwortlich dafür können mit diesen Verbindungen belastete Kondensate, die als Deckwässer verwendet werden, oder die Trocknungsluft sein. Clarke *et al.* (1995) wiesen bereits auf die Problematik hin, geruchsbelastete Kondensate als Deckwasser zu verwenden und schlugen eine Aktivkohlebehandlung oder alternativ die Benutzung von Frischwasser vor. Ebenso wurde von den Autoren auf die Bedeutsamkeit der Qualität der Luft in der Zuckertrocknung aufmerksam gemacht.

Für den Neueintrag von Geruchsstoffen gelten Geosmin und die Methoxypyrazine als Schlüsselkomponenten. Diese Aromastoffe besitzen sehr niedrige Geruchsschwellen, einen rübenartigen, erdigen Geruch und stammen aus der Zuckerrübe selbst oder von der ihr anhaftenden Erde. Somit liegen diese Verbindungen während der Rübenkampagne in bestimmten Stationen des Werkes in der Umgebungsluft in erhöhten Konzentrationen vor. Hingegen ist die Luft der Fabrik während der Dicksaftkampagne weitgehend frei von diesen flüchtigen Substanzen, da eingelagerter Dicksaft das Anfangsprodukt dieses Prozesses ist und weder Zuckerrüben noch Zuckerrübenschnitzel präsent sind. Folglich kann Weißzucker, der während der Dicksaftkampagne gewonnen wird, nicht mit diesen Geruchsstoffen über die Werkluft oder auch Deckwässer rekontaminiert werden.

Würden diese Komponenten auf der anderen Seite den Zuckergewinnungsprozess überdauern, so müssten sie im gleichen Maße in den Zuckerproben aus der Dicksaftkampagne nachweisbar sein. Allerdings wurde im Rahmen der Quantifizierung festgestellt, dass Geosmin und die Methoxypyrazine während der Verdampfung weitgehend eliminiert werden (Abschnitt 4.5).

Tatsächlich wurde Geosmin in den Mustern aus der Rübenkampagne, insbesondere aus dem Beginn der Kampagne, nachgewiesen, während diese Verbindung in den Proben aus der Dicksaftkampagne nicht gefunden wurde.

Die Thematik der Rekontamination von Zucker mit Geruchsstoffen während des Zuckergewinnungsprozesses wird z.B. im Rahmen der Dissertation von Ruprecht (2005), aufbauend auf den hier beschriebenen Messmethoden, eingehend behandelt.

Der erdige Geruch des Rübenzuckers wurde von Marsili *et al.* (1994) mit Geosmin assoziiert, während Godshall *et al.* (1995), Colonna (1996) und Kaipainen *et al.* (1997) diese Komponente, wie auch 2-Methylisoborneol, nicht in Weißzucker und Pihlgård (2000) sie nicht in Flüssigzucker nachweisen konnten.

Ergänzend vermuteten Marsili *et al.* (1994) bereits, dass 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin neben Geosmin am Geruch des Zuckers beteiligt war. Da die Autoren diese Substanz jedoch nicht mittels GC/MS und mittels GC/O lediglich in einem Teil der Proben nachweisen konnten, wurde sie für die Betrachtung des Zuckergeruches vernachlässigt. Die Autoren folgerten schließlich, dass der Rübenzuckergeruch in erster Linie durch Essigsäure, Buttersäure, Isovaleriansäure und Geosmin hervorgerufen wird, wovon Isovaleriansäure als wichtigste Komponente herausgestellt wurde.

Die Bedeutung organischer Säuren für den Zuckergeruch wurde mehrfach in der Literatur beschrieben. Zum Beispiel beobachteten Godshall *et al.* (1995) stets erhöhte Konzentrationen von Essigsäure in stark geruchsbelasteten Zuckern und schlugen diese Säure als Markersubstanz für Fehlgeruch vor. Zur Bewertung dieses Aspektes sollten die Geruchsschwellenwerte der organischen Säuren betrachtet werden. Die Geruchsschwelle für Essigsäure wurde von Buttery und Ling (1998) zu 22000 nL/L in Wasser angegeben, während die Werte für Buttersäure mit 240 nL/L und Isovaleriansäure mit 250 nL/L deutlich niedriger lagen. Aufgrund der Geruchsschwellenwerte lässt sich folgern, dass Butter- und Isovaleriansäure vermutlich für den Geruch des Zuckers eine größere Rolle spielen als Essigsäure. Unter Berücksichtigung der ermittelten Konzentrationen, die Mengen an Buttersäure entsprachen in den untersuchten Proben etwa einem Zehntel der Mengen an Essigsäure, ist Buttersäure die größte Bedeutung zuzuschreiben.

Auch Moore *et al.* (2003) machten Buttersäure und Isovaleriansäure für Fehlgeruch in Zucker verantwortlich und vermuteten, dass ein halbquantitativer Schnelltest für diese beiden Säuren Hinweise auf einen nicht akzeptablen Zucker liefern könnte.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die kurzkettigen organischen Säuren am Geruch von Zucker beteiligt sind. Zucker mit deutlichen Mengen an Butter- und/oder Isovaleriansäure wurden zwar in einigen Fällen mit höheren Geruchsintensitäten bewertet, jedoch konnte kein allgemein gültiger Zusammenhang zwischen diesen Daten und starkem Geruch oder Fehlgeruch gefunden werden.

Mit diesen Ergebnissen wurde die Folgerung aus den Untersuchungen von Batista *et al.* (2002) bestätigt, dass die flüchtigen organischen Säuren nicht die einzige Quelle von Fehlgeruch in Zucker sind, dass aber dennoch ihre Konzentrationen Hinweise auf ein nicht akzeptables Produkt geben können.

Wie in Tabelle 4-13 zu erkennen, schwankten die durch Humansensorik ermittelten Intensitäten in den meisten Fällen lediglich zwischen den Werten 3 und 4, z.B. bei "erdig" zwischen 3,0 und 4,4. Aufgrund dieser schmalen Bandbreite und des Fehlens von Extremwerten war eine aussagekräftige und differenzierende Interpretation schwierig.

Bei Betrachtung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem sensorischen Attribut "erdig" und den ermittelten Konzentrationen an Geosmin und Methoxypyrazinen ist zu beachten, dass im Charakterisierungsschema der sensorischen Analyse (vgl. Abbildung 3-2, Abschnitt 3.2) unter dem Begriff "erdig" unter Anderem auch krautige, faulige, rübenartige und pilzartige Geruchseindrücke zusammengefasst werden. Jeder dieser Geruchseindrücke wird durch andere Komponenten hervorgerufen, wie z.B. faulig durch Sulfide und pilzartig durch 1-Alken-3-one (oder die entsprechenden Alkohole). Beispielsweise wäre auch denkbar, dass als "muffig" (unter dem Oberbegriff "erdig") das Zusammenspiel von Alkylpyrazinen mit den Strecker-Aldehyden 2- und 3-Methylbutanal empfunden wird. Aufgrund dieser Vielzahl an Auslegungsmöglichkeiten des Begriffes "erdig" konnte kein genereller Zusammenhang mit den Konzentrationen der oben erwähnten Geruchsstoffe gefunden werden.

Weiterhin wurde festgestellt, dass häufig Proben mit erhöhten Konzentrationen an Isovaleriansäure als "stallartig" (unter dem Oberbegriff "ammoniakalisch") bezeichnet

wurden. Dieses Beispiel verdeutlicht, dass die menschliche Nase nicht automatisch organische Säuren als "säuerlich" und nicht lediglich Ammoniak als "ammoniakalisch" empfindet.

Dagegen ist das subjektive Empfinden eines "süßen/ karamellartigen" Geruchseindrucks genauer definiert und erlaubt weniger Spielraum. Wahrscheinlich ist dieses Attribut zuverlässiger mit der Konzentration von Diacetyl und gegebenenfalls 2,3-Pentandion in Zusammenhang zu bringen, als "erdig" mit Geosmin.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die instrumentelle Analytik mit der Quantifizierung von Geruchsstoffen objektive Kriterien für die Bewertung eines Geruches liefert. Dennoch konnte bisher kein Zusammenhang zwischen analytisch charakterisierten Geruchsstoffen und den für die Sensorik gewählten Attributen gefunden werden. Das Zusammenspiel der Geruchskomponenten und der daraus resultierende Gesamtgeruch bleiben ein subjektives Phänomen.

Durch die analytische Quantifizierung der Schlüsselkomponenten können Erfolge der technologischen Maßnahmen zur Verminderung des Zuckergeruches gemessen, bewertet und mögliche Eintragsquellen von Geruchsstoffen ermittelt werden.

4.7 Quantifizierung ausgewählter Verbindungen in der Umgebungsluft

Bei der Betrachtung des Geruches von Weißzucker erfordert insbesondere die Ursachenermittlung die Untersuchung weiterer Einflussfaktoren. Deckwässer beispielsweise, welche direkt mit dem Zucker in Kontakt kommen, können durch die bereits beschriebenen Methoden auf ihre Gehalte an geruchsaktiven Komponenten untersucht werden. Wie im vorherigen Abschnitt dargestellt, könnte allerdings auch die Umgebungsluft für die Geruchsbelastung von Zucker eine Rolle spielen. Zum Beispiel wird Luft zum Trocknen des zentrifugenfeuchten Zuckers von verschiedenen Stellen innerhalb oder außerhalb des Werkes angesaugt. Zudem wird der Weißzucker auf seinem Transportweg (in die Silos) in vielen Werken ungeschützt durch einzelne Stationen der Fabrik geleitet. Da Weißzucker ein hohes Adsorptionspotential aufweist (Andres, 1953), ist die Anlagerung geruchsrelevanter Verbindungen aus der Umgebungsluft an die Zuckerkristalle nicht auszuschließen. Die umgebende Luft wurde deshalb auf ihre Gehalte an geruchsaktiven Verbindungen untersucht.

Für die Probennahme diente die in Abbildung 3-3 (Abschnitt 3.4.3) schematisch dargestellte Apparatur, mit deren Hilfe eine definierte Menge Luft über ein sich in einem Röhrchen befindendes Adsorbermaterial gesaugt wird. Diese Röhrchen wurden direkt in das Injektionssystem der Gaschromatographen eingesetzt, wo die Geruchsstoffe thermisch desorbiert und der gaschromatographischen Analyse zugeführt wurden.

4.7.1 Ergebnisse

Zunächst wurden die Wiederfindungsraten für die ausgewählten Geruchsstoffe ermittelt. Dafür wurden Lösungen von Standardsubstanzen auf das Adsorbermaterial gegeben und mit Laborluft analog der Probennahme verfahren. Die Wiederfindungsraten von 2,5-Dimethylpyrazin, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin, 2-Methylisoborneol, Geosmin, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Isovaleriansäure sind in Tabelle 4-14 aufgezeigt.

Tabelle 4-14: Wiederfindungsraten (WF) ausgewählter Verbindungen bei der Analyse von Luftproben (Zehnfachbestimmung).

Verbindung	WF [%]
2,5-Dimethylpyrazin	103 ± 3
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	104 ± 5
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	108 ± 4
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	104 ± 3
2-Methylisoborneol	n.d.
Geosmin	102 ± 2
Essigsäure	5 ± 3
Propionsäure	41 ± 7
Buttersäure	78 ± 10
Isovaleriansäure	84 ± 9
Valeriansäure	88 ± 8

n.d. nicht detektierbar

Aus der Tabelle geht hervor, dass die organischen Säuren mit steigender Kettenlänge zunehmend besser adsorbiert wurden. Essigsäure konnte mit dieser Methode nicht aus Luft bestimmt werden, die Wiederfindung lag lediglich bei 5 %. Auch zur Bestimmung von 2-Methylisoborneol war die Methode nicht geeignet. Die übrigen Komponenten wurden vollständig wieder gefunden.

Im nächsten Schritt wurde Luft aus verschiedenen Bereichen einer Zuckerfabrik während der Rübenkampagne entnommen und analysiert (Tabelle 4-15).

Tabelle 4-15: Quantitative Verteilung ausgewählter Geruchsstoffe in Luft (Doppelbestimmung).

	nahe Schnitzelband [µg/m³]	Verdampfstation [µg/m³]	Zentrifugenstation [µg/m³]
2,5-Dimethylpyrazin	17	10	205
IPMP	0,21	0,04	0,08
SBMP	6,00	2,20	2,48
IBMP	0,01	0,02	0,04
Geosmin	1,48	0,73	1,12
Propionsäure	23	22	68
Buttersäure	213	251	175
Isovaleriansäure	8	9	24
Valeriansäure	5	4	7

IPMP = 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, SBMP = 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, IBMP = 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin.

4.7.2 Diskussion

Grundsätzlich birgt die Messung flüchtiger Verbindungen in der Matrix Luft gewisse Schwierigkeiten. Die zu bestimmenden Stoffe müssen erfasst, soweit möglich angereichert und zum Analysensystem transportiert werden.

Die Methode der Festphasenmikroextraktion wäre für dieses Problem eine einfach zu handhabende Lösung. Die konditionierte Adsorptions-Faser kann an den entsprechenden Probenahmeorten für eine bestimmte Zeit ausgelegt werden, und im Anschluss erfolgt die gaschromatographische Analyse der adsorbierten Verbindungen. Die Anreicherungsmenge ist allerdings dahingehend limitiert, dass die Verbindungen nur bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustandes zwischen der Umgebung und der Faser an letzterer adsorbieren. Zudem kann die Quantifizierung der Geruchsstoffe nicht auf ein bestimmtes Luftvolumen bezogen erfolgen.

Aus diesen Gründen wurde ein anderes System eingesetzt, das es ermöglicht, Luft durch ein mit einem Adsorptionsmaterial gefülltes Röhrchen zu saugen, woran die Geruchsstoffe gebunden und angereichert werden (Abbildung 3-3). Der besondere Vorteil dieser Technik besteht darin, dass durch die Kontrolle der Flussrate und der Zeit definierte Volumina durch das Röhrchen gesaugt werden können und dadurch quantitative Aussagen möglich sind.

Das Adsorptionsmaterial Tenax GR ist ein poröses Polymerharz auf der Basis von 2,6-Diphenylenoxid, verbunden mit einem Graphitanteil von 30%, das sehr gute Adsorptionseigenschaften für viele organische Verbindungen aufweist. Die Adsorptionsausbeute ist jedoch von der jeweiligen Polarität und Molekülgröße der flüchtigen Komponenten abhängig, weshalb die Bestimmung der Wiederfindungsraten bei der Quantifizierung der in Luft vorhandenen Verbindungen notwendig war. Dabei wurde beobachtet, dass besonders kleine Moleküle, wie Dimethylsulfid, aber auch 2-Methylisoborneol kaum zurückgehalten wurden. Auch Essigsäure konnte nicht und Propionsäure nur bedingt durch dieses Systems angereichert werden. Dagegen wurden höhermolekulare Säuren sowie Pyrazine und Geosmin erfolgreich mit dieser Methode erfasst.

Wie erwartet, wurden die höchsten Konzentrationen an Geosmin und Methoxypyrazinen im Bereich des Schnitzelbandes und an 2,5-Dimethylpyrazin in der Nähe der Zentrifugenstation gemessen. Die höchsten Mengen an Säuren wurden, mit Ausnahme von

Buttersäure, im Bereich der Zentrifugenstation gemessen. Buttersäure wurde insgesamt in der Werksluft in deutlich höheren Mengen als die anderen organischen Säuren nachgewiesen. Aus diesen Ergebnissen lässt sich folgern, dass es eine entscheidende Rolle spielt, aus welchen Bereichen der Fabrik Luft zum Trocknen des zentrifugenfeuchten Zuckers entnommen wird.

Die hier dargestellten Ergebnisse der Luftprobenanalyse lieferten gute Anhaltspunkte bezüglich der Mengen der betrachteten Verbindungen, wobei zu beachten ist, dass die ermittelten Konzentrationen der flüchtigen Substanzen während der laufenden Produktion stark von den Belüftungsverhältnissen am jeweiligen Ort abhängen und Abweichungen von den ermittelten Konzentrationen möglich sind.

5 AUSBLICK

Die vorliegende Arbeit gibt einen Einblick in die Bedeutung geruchsrelevanter Komponenten von Zwischen- und Endprodukten des Zuckergewinnungsprozesses. Die erlangten Erkenntnisse bezüglich Art und Konzentrationen der vorhandenen Geruchskomponenten sollen mit den jeweiligen werks- und prozessspezifischen Gegebenheiten vor Ort abgeglichen und verifiziert werden.

Ein Teil der bedeutsamen Geruchsstoffe wurde erfolgreich quantifiziert, während für die Methoxy-pyrazine und 1-Octen-3-on die Bestimmungsgrenze der verwendeten Methode, die zu 2 ppt ermittelt wurde, nicht ausreichend war. Zur Bestimmung der Gehalte dieser Verbindungen sind weitere Untersuchungen notwendig. Auch für Methional muss nach einer geeigneten Methode für die Quantifizierung gesucht werden, da die Verbindung nur in geringen Mengen vorhanden und in wässriger Lösung instabil ist.

Die für ausgewählte Geruchsstoffe angewandte Quantifizierungsmethode sollte in nachfolgenden Studien auch für andere Verbindungen, wie Diacetyl, 2,3-Pentandion, 2-Methylpropanal, 2- und 3-Methylbutanal, Hexanal, Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid und insbesondere für weitere Alkylpyrazine in Weißzucker und den Zwischenprodukten des Fabrikationsprozesses eingesetzt werden.

Nach Quantifizierung dieser Komponenten wäre eine weitere Aufgabe, die Studien an der Korrelation von sensorischen und analytischen Daten anhand der multivariaten Datenbehandlung fortzusetzen. Dafür könnte das Auswertungsschema der sensorischen Bestimmung in weitere Attribute unterteilt werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Methoden auf Basis der Festphasenmikroextraktion (SPME) in Kombination mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie, Gaschromatographie-Atomemissionsspektrometrie und Gaschromatographie-Olfaktometrie entwickelt, mit deren Hilfe geruchsaktive Verbindungen in Weißzucker und in Zwischenprodukten des Zuckergewinnungsprozesses bestimmt werden können.

Die Festphasenmikroextraktion erwies sich als einfache, schnelle und zuverlässige Anreicherungsmethode. Die Einflussparameter Extraktionszeit und Proben temperatur wurden anhand von Dicksaft und Weißzucker optimiert. Für eine effektive Anreicherung der Komponenten unter Vermeidung thermoinduzierter Sekundärreaktionen wurde die Extraktionszeit auf jeweils 60 Minuten festgelegt. Die optimale Proben temperatur betrug 85°C bei Weißzucker und 60°C bei Dicksaft.

Mit Hilfe der Aromaverdünnungsanalyse (AVA) konnten die geruchsrelevanten Verbindungen ermittelt werden. Die "Verdünnungen" bei der AVA wurden durch wiederholte Halbierung der Extraktionszeit erzielt. Diese Art der Verdünnungsanalyse mittels SPME wurde erstmals im Zusammenhang mit Geruchsuntersuchungen auf Weißzucker und die Zwischenstufen des Fabrikationsprozesses angewendet.

Als aromaintensivste Verbindungen in Weißzucker wurden kurzkettige organische Säuren (Essig-, Propion, Butter, Isovalerian- und Valeriansäure), Stickstoffheterozyklen (Alkyl- und Methoxypyrazine), Ketone (Diacetyl, 1-Octen-3-on), Sulfide (Dimethyltrisulfid) sowie 2-Methylisoborneol und Geosmin detektiert. Andere Komponenten, die in früheren Studien im Zusammenhang mit Zuckergeruch genannt wurden, wie Furfural, Benzaldehyd und 2,3-Butandiol, erwiesen sich in den vorhandenen Konzentrationen als nicht geruchsaktiv.

Im Zuge dieser Arbeit wurden Methoden für die Quantifizierung ausgewählter Geruchsstoffe (2,5-Dimethylpyrazin, Geosmin, 2-Methylisoborneol, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin) entwickelt, die bei Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft und Weißzucker (zusätzlich Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Isovaleriansäure, Valeriansäure) angewandt wurden.

Die sensorische Charakterisierung von 70 Weißzuckerproben aus verschiedenen Rübenzuckerfabriken durch ein Panel wurde mit den Ergebnissen der quantitativen Analytik (Gehalte an organischen Säuren, 2,5-Dimethylpyrazin und Geosmin) verglichen. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen den bisher ermittelten quantitativen analytischen Daten und den sensorischen Beschreibungen war nicht erkennbar.

Weiterhin wurde gezeigt, dass die geruchsaktiven Verbindungen der umgebenden Luft den Geruch von Weißzucker stark beeinflussen. Die Luft, die zum Trocknen des Zuckers benötigt wird, kann von verschiedenen Stellen innerhalb oder außerhalb des Werkes angesaugt werden und damit sowohl qualitativ als auch quantitativ unterschiedliche Zusammensetzungen flüchtiger Verbindungen aufweisen. Aus der Luft können aromaaktive Verbindungen in das Produkt eingetragen werden. Beispiele hierfür sind 2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin, 2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin und Geosmin.

Die unterschiedlichen Geruchsbeiträge der Verbindungen im Zuge der Zuckerherstellung wurden durch gaschromatographisch-olfaktometrische Analyse von Rohsaft, Dünnsaft und Dicksaft sowie Weißzucker aufgezeigt. Es konnte festgestellt werden, dass die Rolle geruchsaktiver Verbindungen für das Zucker-Aroma entscheidend vom Zuckerfabrikationsprozess abhängt. Einige Komponenten werden während der Zuckergewinnung gebildet, andere durchlaufen die Prozesse von Anbeginn, und wieder andere werden in bestimmten Prozessschritten weitgehend entfernt. Dies führt zu einem veränderten Beitrag zum jeweiligen Aroma.

7 LITERATUR

- ACREE, T.E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D.G.: "A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents" *Food Chemistry* (1984) 14, S. 273-286.
- AMES, J.M.: "The Maillard Reaction". *Biochemistry of Food Proteins*, (1992), S. 99-153.
- ANDRES, P.: "Beitrag zur Frage: Kann Zucker riechen?" *Zeitschrift für die Zuckerindustrie* 8 (1953), S. 319-320.
- Anonym: "Über Geschmack und Geruch des Rübenzuckers". *Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Dt. Reichs* 28 (1878), S. 795-797.
- ARCTANDER, S.: "Perfume and Flavor Chemicals". Elizabeth, NJ, USA, (1969).
- ASCHE, W.: "Technik der Geruchserkennung". *CLB Chemie in Labor und Biotechnik* 48 (1997) 7, S. 302-304.
- BATISTA R.B.; GRIMM C.C.; GODSHALL M.A.: Semiquantitative determination of short-chain fatty acids in cane and beet sugars. *Journal of Chromatographic Sciences* 40 (2002), S.127-132.
- BARTENS, A.; MOSOLFF, P.: "Zuckerwirtschaft Europa". Verlag Dr. Albert Bartens, Berlin, 2006.
- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W., SCHIEBERLE, P.: "Lehrbuch der Lebensmittelchemie". 5. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2001.
- BLANK, I.; MILO, C.; JIANMING, L.; FAY, L.B.: "Quantification of aroma-impact components by Isotope Dilution Assay – recent developments". In *Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress*. Teranishi, R.; Wick, E. L.; Horstein, I. Ed., Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 1999, S. 63-74.
- BOELENS, M.H.; BOELENS, H.; VON GEMERT, L. J.: "Sensory properties of optical isomers". *Perf. Flav.* (1993) 18, S. 2-16.
- BRENNAN, W.E.; FUGANTI, C.; SERRA, S.: "Enantioselective perception of chiral odorants". *Tetrahedron- Assymetr.* (2003) 14, S. 1-42.
- BÜTTNER, A.; SCHIEBERLE, P.: "Evaluation of key aroma compounds in hand-squeezed grapefruit juice (*Citrus paradisi Macfayden*) by quantitation and flavor reconstitution experiments". *J. Agric. Food Chem.* (2001) 49, S. 1358-1363.
- BUNGERT, M.; JAHNS, T.; BECKER, H.: "2-Methoxy-3-(1'-methylpropyl)pyrazin, pea odour, from the marine bacterium *Halomonas venusta*". *Flavour Fragr. J.* 16 (2001), S. 329-333.
- BUTTERY, R.G.; LING, L.C.: "Additional Studies on Flavor Components of Corn Tortilla Chips". *J. Agric. Food Chem.* 46 (1998) 7, S. 2764-2769.

- CZERNY, M.; GROSCH, W. Z. *Lebensm. Unters. Forschung* 198 (1994), 210-214.
- CHUNG, H.-Y.; PARTRIDGE, J.; HARTE, B.: Discrimination of light oxidized off-flavors in milk and cheddar cheese using solid-phase microextraction – gas chromatography and the olfactory sensing technique. Michigan State University, USA, 2002.
- CLARKE, M.A.; GODSHAL, M.A.; BLANCO, R.S.; MIRANDA, X.M.: "Colour and odour in beet sugar manufacture and storage". *INT. SUGAR JNL.* 97 (1995) 1158B, S. 248-252.
- COLONNA, W. J.: "Odor in Beet Sugar: some causative Agents and preventative Measures". Proceedings of the Conference on Sugar Processing Research, New Orleans, 1996.
- COSTA FREITAS, A.M.; PARREIRA, C.; VILAS-BOAS, L.: "Comparison of two SPME Fibers for Differentiation of Coffee by Analysis of Volatile Compounds". *Chromatographia* 54 (2001) 9/10, S. 647-652.
- DAM, H.E. VAN; KIEBOOM, A.P.G.; BEKKUM, H. VAN: "The Conversion of Fructose and Glucose in Acidic Media: Formation of Hydroxymethylfurfural". *Starch/Stärke* 38 (1986), S. 95-101.
- DEIBLER, K.D.; LAVIN, E.H.; ACREE, T.E.: "Solid Phase Microextraction Application in GC/Olfactometry Dilution Analysis". In: *Analysis of Taste and Aroma* (ed. Jackson, J.F.; Linskens, H.F.), Springer Verlag (2002), S. 239-248.
- Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFL), Garching, Forschungsbericht 1999.
- Deutsches Institut für Normung e.V. (1999), Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), DIN 10950-10967.
- Deutsches Institut für Normung e.V. (1994), Chemische Analytik; Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze; Ermittlung unter Wiederholbedingungen; Begriffe, Verfahren, Auswertung, DIN 32645.
- ENGEL, W.; BAHR, W.; SCHIEBERLE, P.: "Solvent assisted flavour evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices". *Eur. Food Res. Technol.* (1999) 209; S. 237-241.
- GARDNER, J.W.; BARTLETT, P.N.: "A brief history of electronic noses". *Sens. Actuators B.* 18-19 (1994), S. 211-220.
- GARDNER, J.W.; BARTLETT, P.N.: "Electronic Noses Principles and Applications". Oxford University Press., Inc., New York, 1999.
- GATTERMANN-WIELAND: "Die Praxis des organischen Chemikers". Teil 1. Allgemeine Arbeitsanweisungen. Wieland, T.; Mayer, C. Eds.; 42. Aufl.; Walter de Gruyter Verlag, Berlin, Germany, 1972; S. 71-73.
- GILBERT, A.N.; WYSOCKI, C.J.: "The smell survey". *Natl Geogr.* 19 (1987), S. 514-525.

- GERBER, N. N.; Lechevalier, H.A.: "Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes." *Appl. Microbiol.* 13 (1965), S. 935-938.
- GERBER, N.N.: "Odorous substances from Actinomycetes". *Dev. in Ind. Microbiol.* 20 (1979), S. 225-238.
- GERHARD, U. (1990): *Gewürze in der Lebensmittelindustrie: Eigenschaften-Technologien-Verwendung*, Hamburg: Behr. [Diss. KIM]
- GERHARTZ, W.: "Ullmann's Encyclopedia of industrial chemistry". VCH Verlag, 1994, Weinheim.
- GODSHALL, M. A.; VINNET, C.H.; CHEW, V.: "Sensory analysis of brown Sugars and its Correlation with chemical Measurements". *Proceedings of the 1984 Sugar Processing Research Conference*, October 1984. New Orleans, Louisiana.
- GODSHALL, M. A.; GRIMM, C.; CLARKE, M. A.: "Sensory properties of white beet sugars". *INT. SUGAR JNL.* 97 (1995) NO. 1159B, S. 431-436.
- GRIFFITH, N.; HAMMOND. *J.Dairy Sci.* (1989) 72, S. 604.
- GRIMM, C.C.; LLOYD, ST.W.; MILLER, J.A.; SPANIER, A.M.: "The Analysis of Food volatiles Using Direct Thermal Desorption". In: *Flavor, Fragrance, and Odor Analysis* (Marsili, R., ed.) 2002, S. 55-74.
- GROSCH, W.: "Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission". *Chemical Sense* (2001) 26, S. 533-545.
- GÜNTERT, M.; KRAMMER, G.; SOMMER, S.; WERKHOFF, P.: "The Importance of the Vakuum Headspace Method for the Analysis of Fruit Flavors". *Book of Abstracts, 214th ACS National Meeting*, Las Vegas, NV, September 7-11 (1997). American Chemical Society, Washington, D. C..
- GUTH, H.; GROSCH, W.: In: *Progress in Flavour Precursor Studies* (Schreier P.; Winterhalter P., ed.), 1993, All Publ Corp, Carol Stream, S. 401-407.
- HARMON, A.D.: "Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Aromas and Flavors". In: *Flavor, Fragrance, and Odor Analysis* (Marsili, R., ed.) 2002, S. 75-106.
- HERMAN, S.J.: "Odor reception: structure and mechanism". *Cosmetics & Toiletries.* (2002) 117, S. 83-96.
- HINRICHSSEN, L.L.; ANDERSEN, H.J.: "Volatile Compounds and Chemical Changes in Cured Pork: The Role of three halotolerant Bacteria". *J. Agric. Food Chem.* (1994) 42, S. 1537-1542.
- HOFMANN, T.; CZERNY, M.; CALLIGARIS, S.; SCHIEBERLE, P.: "Model studies on the influence of coffe melanoidins on flavor volatiles of coffee beverages". *J. Agric. Food Chem.* (2001) 49, S. 2382-2386.

- HOFMANN, T.; SCHIEBERLE, P.: "Flavor contribution and formation of the intense roast-smelling Odorants 2-Propionyl-1-pyrroline and 2-Propionyltetrahydropyridine in Maillard-Type Reactions". *J. Agric. Food Chem.* (1998) 46, S. 2721-2726.
- HOFMANN, T.; MÜNCH, P.; SCHIEBERLE, P.: "Quantitative Model Studies on the Formation of Aroma-Active Aldehydes and Acids by Strecker-Type Reactions". *J. Agric. Food Chem.* (2000) 48, S. 434-440.
- HOLLAND, J.F.; GARDNER, B.D.: The Advantages of GC-TOFMS for Flavor and Fragrance Analysis. In: *Flavor, Fragrance, and Odor Analysis* (Marsili, R., ed.) 2002, S. 107-138.
- HORWITZ: "Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs". *Anal Chem* 54 (1982) 1, 67A-76A.
- HWANG, H.-I.; HARTMAN, T.G.; HO, C.-T.: "Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation". *J. Agric. Food Chem.* 43 (1995), S. 179-184.
- HWANG, H.-I.; HARTMAN, T.G.; ROSEN, R.T.; LECH, J.; HO, C.-T.: "Formation of pyrazines from the Maillard Reaction of glucose and lysine- α -amine- ^{15}N ". *J. Agric. Food Chem.* 42 (1994), S. 1000-1004.
- JACKSON, J.F.; LINSKENS, H.F.: *Analysis of Taste and Aroma*. Springer Verlag (2002).
- JOULAIN, D.: "Study of the fragrance given off by certain springtime flowers". In *Progress in Essential Oil Research*. Brunke, E.-J. Ed.; Walter de Gruyter, Berlin. 1986; S. 57-67.
- KAIPAINEN, A.; YLISUUTARI, S.; LUCAS, Q.; MOY, L.: "A new approach to odour detection". *INT. SUGAR JNL.* 99 (1997) 1184, S. 403-408.
- KARAHADIAN, C.; JOSEPHSON, D.B.; LINDSAY, R.C.: "Volatile Compounds from *Penicillium* sp. contributing musty-earthy notes to Brie and Camembert Cheese Flavours". *J. Agric. Food Chem.* (1985) 33, S. 339-343.
- KOPPENHOFER, B.; BEHNISCH, R.; EPPERLEIN, U.; HOLZSCHUH, H.; BERNREUTHER, A.; PIRAS, P.; ROUSSEL, C.: "Enantiomeric odor differences and gas chromatographic properties of flavours and fragrances". *Perf. Flav.* (1994) 19, S. 1-14.
- KOVATS, E.: "Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1. Retentionindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone". *Helv. Chim. Acta.* (1958) 41, S. 1915-1932.
- KROH, L.W.: "Caramelisation in food and beverages". *Food Chem.* 51 (1994), S. 373-379.
- KUSTER, B.F.M.: "The degradation of D-Fructose", Dissertation, TU Eindhoven (1975).
- LIKENS, S.T.; NICKERSON, G.B.: "Detection of Certain Hop Oil Constituents in Brewing products". *Am Soc. Brew. Chem. Proc.* (1964), S. 5-13.

- LU G.; EDWARDS C.G.; FELLMAN J.K.; MATTINSON D.S.; NAVAZIO J.: "Biosynthetic Origin of Geosmin in Red Beets (*Beta vulgaris* L.)". *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 4, S.1026-1029.
- MAGA, J.A.: "Musty/earthy aromas". *Foods Reviews International* 3 (1987) 3, S. 269-284.
- MARSILI, R.: "SPME Comparison Studies and what they reveal". In: Flavor, Fragrance, and Odor Analysis (Marsili, R., ed.) 2002, S. 205-227.
- MARSILI, R.T.; MILLER, N.; KILMER, G.J.; SIMMONS, R.E.: "Identification and Quantitation of the Primary Chemicals Responsible for the Characteristic Malodor of Beet Sugar by Purge and Trap GC-MS-OD Techniques". *J. Chromatogr. Sci.* 32 (1994), S. 165-171.
- MASANETZ, C.; GROSCH, W.: "Key odorants of Parsley Leaves (*Petroselinum crispum* [Mill.] Nym. ssp. *crispum*) by odour-Activity Values". *Flavour Fragr. J.* (1998) 13, S. 115-124.
- MATTHEIS, J.P.; ROBERTS, R.G.: "Identification of Geosmin as a volatile metabolite of *Penicillium expansum*". *Appl. Environ. Microbiol.* (1992) 58, S. 3170-3172.
- MILO, C.; BLANK, I.: "Quantification of impact odorants in food by isotope dilution assay: strength and limitations". In *Flavor analysis, Developments in Isolation and Characterization*. Mussinan, C.J., Morello, M.J. Eds.; American Chemical Society, Washington, DC. 1998; S. 250-259.
- MONTE, W.C.; MAGA, J.A.: "Flavour Chemistry of Sucrose". *Sugar Technol. Rev.* (1981) 8, S. 181-204.
- MOORE, S.J.; GODSHALL, M.A.; GRIMM, C.C.: "Comparison of two methods of volatile analysis for determining the causes of off-odors in white beet sugars – SPME and headspace". *International Sugar Journal* 105 (2003) 1253, S. 224-229.
- MURRAY, K.E.; SHIPTON, J.; WHITFIELD, F.B.: "2-Methoxypyrazines and the flavour of green peas (*Pisum sativum*)". *Chemistry and Industry* (1970) 7, S. 897-898.
- MURRAY, K.E.; WHITFIELD, F.B.: "The Occurrence of 3-Alkyl-2-methoxypyrazines in Raw Vegetables". *J. Sci. Fd Agric.* (1975) 26, S. 973-986.
- MUTTI, B.S.: "Aroma Frisch gekochter Kartoffeln – Einfluß von Sorte und Lagerung sowie Vergleich mit dem Aroma getrockneter Kartoffeln". TU München, Dissertation, 2000.
- NÚÑEZ, A.J.; BEMELMANS, J.M.H.; MAARSE, H.: "Isolation Methods for the Volatile Components of Grapefruit Juice. Distillation and Solvent Extraction Methods". *Chromatographia* 18 (1984) 3, S. 153-158.
- PANGBORN, R.M. (1981): A critical review of threshold. Intensity, and diskriptive analyses in flavour research; in: *Flavour* 81, ed. Schreier, P.; Berlin, Walter de Gruyter, S. 3-32.

- PARLIMENT, T.H.; EPSTEIN, M.F.: "Organoleptic properties of some Alkyl-substituted Alkoxy- and Alkylthio pyrazines". *J. Agric. Food Chem.* 21 (1973), S. 714-716.
- PAWLYSZIN, J.: "Solid Phase Microextraction – Theory and Practice". Viley-VCH, Waterloo, Canada, 1997.
- PIHLGÅRD, P.: "The Properties of Sugar Focusing on Odour and Flavours - a literature review". Department of Food Science, Chalmers University of Technology, Sweden, 1997.
- PIHLGÅRD, P.; LINGNERT, H.; LEUFVÉN, A.; LARSSON, M.: "Aroma analysis of liquid sugars". *INT. SUGAR JNL.* 100 (1998) 1197B, S. 431-436.
- PIHLGÅRD, P.; LARSSON, M.; LEUFVÉN, A.; LINGNERT, H.: "Chemical and Sensory Properties of Liquid Beet Sugar". *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 10, S. 4346-4352.
- PIHLGÅRD, P.; LARSSON, M.; LEUFVÉN, A.; LINGNERT, H.: "Volatile Compounds in the Production of Liquid Beet Sugar". *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 10, S. 4844-4850.
- PIHLGÅRD, P.; LEUFVÉN, A.; LINGNERT, H.: "Aroma Compounds in the Production of Liquid Beet Sugar". *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 8, S. 3875-3880.
- PIHLGÅRD, P.: "Aroma and Flavor in Liquid Beet Sugar Processing". Thesis, Department of Food Science, Chalmers University of Technology, Göteborg, Schweden, 2000.
- PLATTIG, K.-H.: "Spürnasen und Feinschmecker". *Die chemischen Sinne des Menschen.* Springer Verlag, Berlin, 1995.
- POLLAK, F.C.; BERGER, R.G.: Geosmin and Related Volatiles in Bioreactor-Cultured *Streptomyces citreus* CBS 109.60". *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 4, S. 1295-1299.
- VAN DER POEL, P.W.; SCHIWECK, H.; SCHWARTZ, T.: Sugar Technology - Beet and Cane Sugar Manufacture. Verlag Dr. Albert Bartens KG (1998).
- REINEFELD, E.; THIELECKE, K.: "Die Technologie des Zuckers". *Chemie in unserer Zeit* 18 (1984) 6, S. 181-190.
- ROBERTS, D.D.; POLLIEN, P.; MILO, C.: "Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds". *J. Agric. Food Chem* 48 (2000), S. 2430-2437.
- ROTHER, M.; THOMAS, B.: "Aroma of bread. Evaluation of chemical taste analysis with the aid of threshold value". *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* (1963) 119, S. 302-310.
- RUPRECHT, K.: Dissertation zum Thema "Technologische Maßnahmen zur Verminderung von Zuckergeruch", TU Berlin, in Arbeit bis voraussichtlich 2005.
- van RUTH S. M.; ROOZEN, J.P. *Food Chem* (1994) 51, S. 165-170.

- SCHMID, W.; GROSCH, W.: "Quantitative analysis of the volatile flavor compounds having high aroma values from sour (*Prunus cerasus* L.) and sweet (*Prunus avium* L.) cherry juices and jams". *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* (1986) 182, S. 39-44.
- SCHIEBERLE, P.: "New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors". In *Characterization of Food: Emerging Methods*. Gaonkar, A.G. Ed.; Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 1995, S. 403-431.
- SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W.: "Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crusts using a stable isotope dilution assay". *J. Agric. Food Chem.* (1987) 35, S.252-257.
- SCHIEBERLE, P.; HOFMANN, T.: "New results on the formation of important Maillard aroma compounds". *Special Publication - Royal Society of Chemistry* (2002), 277 (Advances in Flavours and Fragrances), S. 163-177.
- SCHREIER, P.; MOSANDL, A.: "Aromaforschung heute". *Chemie in unserer Zeit.* (1985) 19, S. 22-31.
- SCHULTZ, T. H.; FLATH, R. A.; MON, T. R.; EGGLEING, S. B.; TERANISHI, R.: "Isolation of volatile components from a model system". *J. Agric. Food Chem.* (1977) 25, S. 446-449.
- SIGMA-ALDRICH, 1996. (SPME-Informationsbroschüre)
- TABACHEK, J.-A.L.; YURKOWSKI, M.: "Isolation and identification of blue-green algae producing muddy odor metabolites, geosmin, and 2-methylisoborneol, in saline lakes in Manitoba". *J. Fish. Res. Board Can.* (1976) 33, S. 25-35.
- ULLRICH, F.; GROSCH, W.: "Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid". *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* (1987) 184, S. 277-282.
- ULLRICH, F.; GROSCH, W.: Flavor deterioration of soya-bean oil: identification of intense odour compounds formed during flavour reversion. *Fat Sci. Technol.* (1988) 90, S. 332-336.
- ULRICH, D.; KRUMBEIN, A.; SCHONHOF, I.; HOBERG, E. (1998): Comparison of two sample preparation techniques for sniffing experiments with broccoli. *Nahrung* 42, S. 392-394.
- VERORDNUNG (EG) Nr. 318/2006 DES RATES vom 20. Februar 2006 über die gemeinsame Marktorganisation für Zucker. (ABl. Nr. L 58 v. 28.02.2006, S. 1) Anhang I, Abschnitt II.
- VERORDNUNG (EG) Nr. 1262/2001 der Kommission vom 27. Juni 2001 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 1260/2001 des Rates betreffend den Ankauf und Verkauf von Zucker durch die Interventionsstellen. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften.

- WAMPLER, T.D.: "Analysis of Food Volatiles Using Headspace-Gas Chromatographic Techniques". In: Flavor, Fragrance, and Odor Analysis (Marsili, R., ed.) 2002, S. 25-54.
- WYLLIE, S.G.; ALVES, S.; FILSOOF, M; JENNINGS, W.G.: "Headspace Sampling: Use and Abuse". In: Dep. Food Sci. Technol., Univ. California, Davis, CA, USA. Ed.: Charalambous, George. Anal. Foods Beverages, [Proc. Symp.] (1978), Academic, New York, N. Y..
- YOUNG, W.F.; HORTH, H.; CRANE, R.; OGDEN, T.; ARNOTT, M.: Taste and Odour Threshold Concentrations of potential potable water contaminants. Wat. Res. 30 (1996) 2, S. 331-340.

8 ANHANG

Tabelle 8-1: Flüchtige Verbindungen in Rohsaft, Dünnsaft, Dicksaft und Weißzucker ohne Geruchsaktivität am Sniffing-Port nach SPME/GC/AED und SPME/GC/MS.

	Rohsaft	Dünnsaft	Dicksaft	Weißzucker
Ethanol	x	x		
Isoamylalkohol ^a	x			
1,2-Propandiol		x		x
1-Butanol	x	x		
2,3-Butandiol		x		x
1-Pentanol	x			
1-Hexanol		x		
1-Heptanol	x	x		
2-Ethyl-1-hexanol	x			x
1-Octanol	x			
1-Nonanol	x	x		
Dimethyldisulfid	x	x	x	
Dimethylsulfoxid	x	x		
Aceton		x		
2-Butanon		x		
1-Hydroxy-2-propanon ^a				x
2-Heptanon	x	x	x	
2-Octanon		x		
2-Nonanon	x			
Geranylaceton ^a	x	x		x
Acetophenon				
2-Pyrrolidinon ^a			x	x
Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanon				x
Ethylacetat	x			
Ethylbutanoat	x			
Methylbutyrat	x			
Butylbutyrat	x			
Heptanal	x	x	x	x
Nonanal	x	x		x
Decanal	x	x	x	x
Benzaldehyd	x	x	x	
p-Hydroxybenzaldehyd	x	x		
Zimtaldehyd	x			
Anisaldehyd		x		
Furfural		x		x
3-Furancarbox-aldehyd ^a		x		
2-Acetyl-5-methylfuran ^a		x		
Essigsäure	x			
Propionsäure				x
Isobuttersäure				x
Butensäure				x

Fortsetzung **Tabelle 8-1**

	Rohsaft	Dünnsaft	Dicksaft	Weißzucker
4-Hydroxybuttersäure ^a				X
Hexansäure				X
2-Methylpyrazin	X	X	X	X
2-Methylpyridin ^a		X		
2-Methyl-6-(1-propenyl)- Pyrazin(E) ^a				X
3-Isopentyl-2,5- dimethylpyrazin ^a				X
<i>Diverse Pyrazine</i>		X	X	X
Limonen	X	X	X	X
α -Pinen, 2- β -Pinen	X			
α -Fenchon ^a	X			
Sabinen ^a	X			
δ -3-Caren	X			
Myrcen ^a	X			
α -Terpinen	X			
β -Chamigren ^a	X			
Menthol	X			
Eucalyptol		X		
Geosmin	X	X		X

Alle Verbindungen wurden, soweit nicht anders angegeben, durch den Vergleich von Kovats Index und massenspektrometrischen Daten mit authentischen Referenzsubstanzen identifiziert.

^aDer Verbindung wurde anhand von massenspektrometrischen Daten vorläufig eine Struktur zugeordnet.

Posteröffentlichung aus der Dissertation

Babbel, M.-B.; Martin, D.; Puke, H.-J., Engel, K.-H.: "Bestimmung sensorisch relevanter Verbindungen in Weißzucker mittels SPME." Gemeinsame Jahrestagung der Regionalverbände Süd-West und Bayern der Lebensmittelchemischen Gesellschaft – FG in der GDCh, März 2003, Würzburg.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name: Maj-Britt Babbel
Geburtsdatum: 01.08.1977
Geburtsort: Karlskrona (Schweden)
Staatsangehörigkeit: deutsch

BILDUNGSGANG

1983 – 1987 Grundschule Langengeisling
1987 – 1996 Gymnasium Erding
1996 Zeugnis der allgemeinen Hochschulreife

10/1996 – 04/1999 Studium der Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München, Garching
10/1998 Vorprüfung für Lebensmittelchemiker

05/1999 – 09/2000 Studium der Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Berlin
10/2000 – 01/2001 Staatsprüfung für Lebensmittelchemiker Teil A

02/2001 – 10/2001 Diplomarbeit am Instituto del Frío, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid und an der TU Berlin zum Thema *Antiradical properties of Maillard Reaction Products and Melanoidins*

01/2002 Abschluss: Diplom-Lebensmittelchemikerin

PROMOTION UND BERUFSERFAHRUNG

11/2001 – 12/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Zentralabteilung für Forschung, Entwicklung und Services (ZAFES) der Südzucker AG Mannheim / Ochsenfurt in Obrigheim / Pfalz

11/2001 Beginn der Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. K.-H. Engel in der ZAFES der Südzucker AG Mannheim / Ochsenfurt zum Thema *Analytische und sensorische Untersuchungen geruchsrelevanter Verbindungen im Verlauf des Prozesses zur Gewinnung von Rübenzucker*

01/2005 – 12/2006 Technical Area Manager bei der Palatinit GmbH, Mannheim

seit 01/2007 Area Manager Sales and Technical Services PHARMA bei der Palatinit GmbH, Mannheim

