



# Forschung an der Fakultät für Technische Chemie, Verfahrenstechnik und Biotechnologie

## Analytische Methoden mit sensorischer Unterstützung

### *Analytical Methods in Combination with Sensory Investigations*

Gerüche und Geruchseindrücke haben die Menschheit seit grauer Vorzeit in ihren Bann gezogen. Nicht nur die positiven Veränderungen beim Kochen und Garen von Lebensmitteln, sondern auch der Wohlgeruch bestimmter Pflanzen und Öle spielte schon seit Jahrtausenden eine bedeutende Rolle. Schon in den alten Schrifttafeln der Assyrer wird von der Verwendung von Weihrauch berichtet.

Der Geruchssinn ist in positiver wie auch in negativer Hinsicht bedeutungsvoll. In positiver Hinsicht gibt er Auskunft über die Frische und Unversehrtheit eines Lebensmittels, z.B. bei Fleisch und Fleischwaren, Gemüse, Gewürzen, Obst usw., andererseits weisen negative Gerüche vorwiegend auf beginnende, fortschreitende oder bereits gesundheitsgefährdende Veränderungen hin. Der Geruchssinn hat damit auch eine Schutzfunktion.

Geruchsempfindungen werden durch flüchtige und lösliche chemische Verbindungen, vorwiegend organischer Natur, hervorgerufen. Moleküle mit einem Molekulargewicht größer als 300 Dalton weisen keine Geruchsaktivität mehr auf. Die Schwierigkeit dabei ist, dass die meisten Geruchssensationen nicht von einzelnen Verbindungen hervorgerufen werden, sondern meist aus dem Gesamteindruck von komplexen Mischungen, die aus zahlreichen Einzelkomponenten bestehen können, entstehen. Unterschiedliche Aromastoffe vereinigen sich in Mischungen oftmals zu neuartigen Geruchseindrücken, die mit den Geruchsbeschreibungen der einzelnen Verbindungen nicht ident sind. Die flüchtige Fraktion von geröstetem Kaffee hat z. B. lediglich einen Anteil am Gesamtgewicht von nur 0,05%. Dennoch besteht dieses komplexe Gemisch aus über 850 identifizierten Verbindungen, von denen keine einzige Verbindung nach Kaffee riecht<sup>1</sup>.



Abb. 1: Am Schnüffeldetektor (©Leitner)

So ist der Mensch nicht in der Lage Mischungen, die aus mehr als vier oder fünf Geruchsstoffen bestehen, in die einzelnen Komponenten aufzulösen.<sup>2</sup> Diese Limitierung in der Fähigkeit einzelne, individuelle Substanzen in Gemischen geruchlich aufzulösen scheint ein generelles Phänomen der Geruchswahrnehmung zu sein, da dies

unabhängig von der Testperson und vom Geruchstoff ist.

Der Bereich „Gaschromatographie und sensorische Analyse“ des Institutes für Lebensmittelchemie und -technologie beschäftigt sich seit Bestehen des Institutes mit der Identifikation und Bestimmung von geruchsaktiven Substanzen. Diese spielen nicht nur in Lebensmitteln eine wesentliche Rolle, wo sie unter anderem für den Konsumenten ein Qualitätsmerkmal darstellen, sondern auch in vielen anderen Bereichen des täglichen Lebens, wo diese, wenn auch oft unbewusst zu einer Bevorzugung oder Ablehnung eines Produktes beitragen können.

Um das oftmals sehr komplexe Thema Geruch beschreiben zu können, bedienen wir uns bei unseren Arbeiten unterschiedlicher Techniken, die nachfolgend genauer beschrieben werden sollen.

#### Die sensorische Prüfung

Die sensorische Prüfung von Produkten ist das Beurteilen von Merkmalen mit allen fünf menschlichen Sinnen (Geruchs-, Geschmack-, Tast-, Gesichts- und Gehörsinn). Diese Prüfung wird nach mathematisch-statistischen Grundprinzipien geplant und durchgeführt. Die dazu eingesetzten Prüfer müssen eine sensorische Ausbildung haben und zusätzlich Mindestanforderungen nach einschlägigen Normen erfüllen. Diese Anforderungen werden durch regelmäßige Schulungen und Verkostungen überprüft und dokumentiert. Die Prüfungen werden dazu in unserem Sensoriklabor durchgeführt, welches 2004 eröffnet wurde und internationalen Standards entspricht. An dieser Stelle gilt es den gesamten Mitgliedern des Verkosterpanels meinen besonderen Dank auszusprechen, denn ohne deren hohes Maß an Motivation, Engagement und Disziplin wäre es nicht möglich, die vielfältigen Themen so erfolgreich zu bearbeiten.

Je nach Fragestellung sind die Prüfer in der Lage Unterschiede zwischen einzelnen Proben, aber auch quantitative Aussagen über bestimmte Merkmalseigenschaften (Intensität von Geruch, Konzentration eines Stimulus) reproduzierbar zu beschreiben. Tatsächlich kann man in diesem Fall vom „Prüfinstrument“ Mensch sprechen, der gerade im Bereich der Lebensmittelprüfung unverzichtbar ist, denn nur der geschulte Verkoster ist in der Lage Produkte in seiner Gesamtheit zu erfassen und zu beschreiben.

#### Gaschromatographie-Olfaktometrie (GCO)

Die GCO, oftmals auch als „GC-Sniffing“ bezeichnet, stellt gewissermaßen das Bindeglied zwischen sensorischen und analytischen Methoden dar. Dabei wird die menschliche Nase als sehr selektiver und empfindlicher Detektor für die Identifizierung geruchsaktiver Verbindungen verwendet. Es ist dies ein äußerst wichtiges Instrument in der Aromastoffanalyse, da man damit in der Lage ist, Gerüche von einzelnen Verbindungen oder aber auch von komplexen Gemischen zu beschreiben, die am „Sniffing Port“ abgerochen werden. Die Probenbestandteile komplexer Gemische werden im Gaschromatographen aufgetrennt und gelangen zeitlich versetzt zum Sniffing Port, wo sie als unterschiedliche Geruchseindrücke wahrgenommen werden. In der Praxis wird der Gasstrom aus der analytischen Trennsäule über einen variablen Splitter geteilt, wobei ein Teil des Probenstromes in einen herkömmlichen Detektor geleitet wird und der andere Teil wird in den „Schnüffeldetektor“ geleitet. Die Schwie-

<sup>1</sup> I. Flament, Coffee Flavor Chemistry, John Wiley 2001

<sup>2</sup> A. Jinks, D.G. Laing, The analysis of odor mixtures by humans: evidence for a configurational process, Physiology & Behaviour, 2001 (72), 51-63

rigkeit liegt darin, dass die Substanzen als schmale „Zeitfenster“ von wenigen Sekunden an die Nase des Prüfers gelangen. Dieser muss in der Zeit sowohl eine Geruchswahrnehmung haben und auch in der Lage sein diesen sofort zu beschreiben. Aufgrund von Ermüdungserscheinungen des olfaktorischen Organs, kann diese Tätigkeit nur über Intervalle von 15 Minuten, maximal 4-6 Mal pro Tag ausgeführt werden.

GCO ist eine sehr empfindliche Methode um geruchsaktive Verbindungen zu bestimmen. So können zum Beispiel in Abhängigkeit von der Person zwischen 50 und 500 Femtogramm (10-15 g) von  $\beta$ -Damascenon (Geruch nach gekochten Äpfeln) wahrgenommen werden. Aufgrund der geringen Mengen reicht die Nachweisempfindlichkeit der verwendeten Detektoren nicht aus, ein messbares Signal zu erhalten. Um diese Verbindungen mittels Massenspektrometrie identifizieren zu können, müssen weitere Anreicherungsschritte angewandt werden.

#### Analytische Methoden und Datenbanken

Die erste Herausforderung bei der Bestimmung von aromaaktiven Substanzen besteht in der Identifikation all der chemischen Verbindungen, die das erwünschte oder auch unerwünschte Aroma einer Probe ausmachen. Ist dies getan wird in einem zweiten Schritt nach zuverlässigen und reproduzierbaren Methoden gesucht, diese Substanzen zu quantifizieren. Die meisten verwendeten Analysemethoden basieren auf der Abtrennung der flüchtigen Fraktion von den nichtflüchtigen Bestandteilen, wobei dabei darauf geachtet werden muss, dass es zu keinen Verlusten und/oder Veränderungen beim Abtrennprozess kommt. Die Probenvorbereitung stellt den ersten und zugleich entscheidenden Schritt bei analytischen Arbeiten dar. Nur durch sorgfältige Auswahl und Vergleich unterschiedlicher Techniken können gute analytische Ergebnisse sichergestellt werden. Insbesondere beim Arbeiten mit leichtflüchtigen Substanzen muss sichergestellt sein, dass es während der Probenaufarbeitung zu keinen Verlusten kommt.

Zusätzlich müssen die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen im oder unter dem Bereich der sensorischen Wahrnehmungsschwelle liegen, denn nur dann ist eine analytische Erfassung hinsichtlich der Geruchsproblematik sinnvoll.

Als die Methode der Wahl eignet sich die hochauflösende Kapillargaschromatographie in Kombination mit massenselektiver Detektion. Lösungsmittelfreie Probenvorbereitungstechniken wie Festphasenmikroextraktion (Solid Phase Microextraction, SPME), Solid Phase Dynamic Extraction (SPDE) und ähnliche Techniken werden erfolg-



Abb 2.: Verkosterschulung im Sensoriklabor

reich eingesetzt. So können damit mikrobiell verursachte Fehlgerüche in Fruchtsäften quantitativ bestimmt werden. Als Ergänzung wird seit vielen Jahren in Kooperation mit anderen Institutionen an einer Aromastoffdatenbank gearbeitet. Diese umfasst momentan Informationen (Massenspektrum, Retentionsindices, Geruchsbeschreibung, Schwellenwerte, sowie relevante Literaturstellen) von über 800 geruchsaktiven Verbindungen, die es ermöglichen, unbekannte Substanzen schnell zu identifizieren und deren Geruchspotential abzuschätzen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass erst das Zusammenspiel von sensorischen und analytischen Methoden die komplexe Welt der geruchsaktiven Verbindungen beleuchten kann.

#### Analytical Methods in Combination with Sensory Investigations

*Scents and odours cast its spell over the human race since ancient times. Not only the positive changes during the preparation and cooking process of food, but also the fragrance of certain plants and oils played an important role since centuries.*

*Impressions of smell are induced by volatile, soluble mainly organic compounds, which react.*

*The research group "gas chromatography and sensory analysis" at the Institute of Food Chemistry and Technology deals with the identification of odour active substances. These components do not only play an important role as quality indicators for consumers in food stuff. In different parts of daily life they can also be responsible for a preference or disliking a certain product.*

*To describe the complex theme of smell we use a combination of different and complimentary techniques.*

#### Sensory Analysis

*Sensory analysis is judging certain properties of products using all five human senses (smell, taste, touch, sight and hearing). The testing is performed under the use of mathematical and statistical methods and is performed in a sensory lab. Depending on the type of test a given number of trained panellists which fulfil certain requirements in terms of sensitivity and reproducibility are used. In fact they can be used as "testing instruments".*

#### Gas Chromatography Olfactometry (GCO)

*This links the world of sensory and analytical techniques. The human nose is used a very sensitive and selective detector for the identification of odorous substances in complex samples. An extract of a sample which can contain up to several hundred components is separated on a gas chromatograph (GC). The effluent from the analytical column is split in two gas streams. One goes into a conventional detector, the other goes to a nose cone where the panellists perceive the impression of smell. By overlaying the chromatogram and the impression of smell odour active regions can be identified in the chromatogram.*

#### Analytical Methods and Databases

*Very often an extraction and concentration step is necessary to separate the volatile fraction from the sample matrix. In this case the analyst has to be sure that neither loss nor changes of the initial composition occur. In addition the limits of detection and quantification have to be at least in the range of the sensory threshold.*

*Solvent free methods like Solid Phase Microextraction (SPME), Solid Phase Dynamic Extraction (SPDE) and related methods can be used successfully. For example microbial induced off flavours in fruit juices can be quantified. In addition a database for aroma active compounds is under construction and contains information on more than 800 substances.*