

4. BENGIS, R. O., u. R. J. ANDERSON: J. biol. Chem. **97**, 99 (1932).
5. KAUFMANN, H. P., u. R. S. HAMSAGAR: Fette u. Seifen **64**, 206 (1962).
6. BAUER, K. H., u. R. NEU: Fette u. Seifen **45**, 229 (1938).
7. — — Fette u. Seifen **49**, 419 (1942).
8. RHOADES, J. W.: CBI Inc. Publ. **1958**, Nr. 34.
9. — — J. agric. Food Chem. **8**, 2, 136 (1960).
10. ZLATKIS, A., u. M. SIVETS: Food Res. **25**, 395 (1960).
11. HEISS, R.: Verp. Rdsch. **2**, techn.-wiss. Beilage S. 1 (1955).
12. ELUERE u. INOFF: Emballages Nr. 163, S. 95 (1956).
13. BENGIS, R. O.: Industr. Engng. Chem. **28**, 290 (1936).
14. PRESCOTT, S. C., R. L. EMERSON u. L. V. PEAKES, jr.: Food Res. **2**, 1 (1937).
15. — — R. B. WOODWARD u. R. HEGGIE: Food Res. **2**, 165 (1937).
16. BUCHNER, N., u. R. HEISS: Verp.-Rdsch. **10** (1959), techn.-wiss. Beilage, S. 10 u. 73.
17. HUGHES, E. B., u. R. F. SMITH: J. Soc. Chem. Ind. **68**, 11, 322 (1949).
18. SHUMAN, A. C., u. L. W. ELDER: Industr. Engng. Chem. **35**, 778 (1943).
19. HÖPFNER, W.: Diese Z. **66**, 238 (1933).

Aromastoffe des Brotes

Versuch einer Auswertung chemischer Geschmacksanalysen mit Hilfe des Schwellenwertes

Von

M. ROTHE und **B. THOMAS***

*Mitteilung aus dem Institut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke der
Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 18. August 1962)

Im Mittelpunkt der Qualitätsbeurteilung von Lebensmitteln durch den Verbraucher stand und steht die sinnesphysiologische Geschmacksprüfung. Organoleptische Tests des Betrachtens, Schmeckens und Riechens bildeten auch die ausschließliche Basis der Qualitätsbestimmung durch entsprechende Kontrollorgane, solange die modernen Hilfsmittel der Analytik noch nicht verfügbar waren. Erst mit der Einführung moderner Analysemethoden traten neben die organoleptische Beurteilung mehr und mehr chemische und physikalische Methoden, mit denen es möglich wurde, einzelne Qualitätseigenschaften, die in Abhängigkeit von organoleptisch wahrnehmbaren Veränderungen der Lebensmittel variierten, teilweise sehr genau zu fixieren. Die gute Reproduzierbarkeit derartiger Analyseverfahren führte zwangsläufig zu einer gewissen Zurückdrängung der vielen subjektiven Schwankungen unterliegenden organoleptischen Geschmacksbewertung und gab vereinzelt auch Anlaß zu einer Überbewertung nebenrangiger Qualitätsfaktoren (Verwendung des Säuregrades als Wertzahl für den Brotgeschmack).

Erst in jüngster Zeit sind bei der Beurteilung von Lebensmitteln wieder Bemühungen zu erkennen, deren Bestreben es ist, einer Weiterentwicklung in der genannten Richtung Einhalt zu gebieten und dem Geschmack die ihm zukommende zentrale Bedeutung zurückzugeben. In diesem Zusammenhang zeichnen sich zwei Entwicklungsrichtungen ab, die auf eine Verbesserung und Sicherung der Geschmacksbewertung abzielen. Man versucht

* Jetzt Technische Universität Berlin-Charlottenburg.

a) eine Erweiterung der Kenntnisse über die am Geschmack beteiligten Substanzen durch Vervollständigung der chemischen Analyse mit Hilfe moderner Untersuchungstechnik, um die Voraussetzung für einen eindeutigen chemisch-analytischen Test zu schaffen;

b) eine Ordnung, Standardisierung und damit Objektivierung der organoleptischen Feststellungen.

Die letztere Richtung genießt den Vorzug einfacherer Durchführbarkeit unter einem Aufwand, der bei der praktischen Orientierungsprüfung vertretbar ist. Durch systematische Schulung der Prüfer, Abschirmung störender Nebeneinflüsse, statistische Auswertung der Ergebnisse oder durch getrennte Erfassung einzelner Geschmacksrichtungen (Profilmethode) ist man in der Lage, zu besser gesicherten Aussagen zu gelangen (1, 2, 3). Dennoch bleibt das Ergebnis natürlich von individuellen Schwankungen nicht frei und erreicht nicht immer das gewünschte Maß an Reproduzierbarkeit.

Demgegenüber scheint die chemisch-analytische Bestimmung des Gehaltes an Geschmacksstoffen zu einem eindeutigeren und objektiven Ergebnis zu führen. Leider bleiben aber selbst die modernen Analysenverfahren gegenüber der Vielseitigkeit und Empfindlichkeit unserer Geruchsorgane einseitig und unbeweglich. Der Geschmack ist der physiologische Ausdruck des gleichzeitigen Reizes einer Vielzahl chemischer Einzelkomponenten, und vorläufig fehlt der Schlüssel, um hier zu einem summarischen Endwert zu gelangen. Erschwerend wirken insbesondere

die große Zahl von Einzelsubstanzen, die am Geschmack beteiligt sind und die Schwierigkeit einer Auslese der besonders wirksamen Komponenten;

die teilweise extrem niedrige Konzentration einzelner Geschmacksstoffe, die ihrer Trennung und Bestimmung hindernd im Wege steht;

die hohe Flüchtigkeit der meisten Aromastoffe, welche ihre quantitative Erfassung erschwert;

die Unsicherheit des organoleptischen Tests als einziger Gegenkontrolle.

Entsprechenden Schwierigkeiten begegneten wir auch bei dem Versuch einer Feststellung des Brotgeschmackes mittels chemisch-analytischer Methoden. Nachdem es in früheren Arbeiten gelungen war, eine Vielzahl geruchswirksamer Einzelkomponenten im Brot zu identifizieren und summarisch zu bestimmen, rückte mehr und mehr die Frage in den Vordergrund, wie die gewonnenen Einzelwerte in eine Beziehung zum organoleptischen Geschmackseindruck gebracht werden können.

Geruchsstoffe als entscheidende Geschmacksträger

Zweifellos führt die alleinige Behandlung der Fragestellung von der chemischen Seite in eine Sackgasse, weil es auch eine physiologische Seite des Problems gibt. Die letztere kommt u. a. darin zum Ausdruck, daß der organoleptisch empfundene Geschmackseindruck beim Verzehr eines beliebigen Lebensmittels durch mehrere gleichzeitige Einzelempfindungen bestimmt wird, wobei Geruchsempfindungen, Geschmacks- und Tastempfindungen, bei einigen Lebens- oder Genußmitteln auch Reiz- und Temperaturempfindungen, eine Rolle spielen. Die chemisch-analytische Geschmacksanalyse kann aber nur unter der Voraussetzung zum Erfolg führen, daß alle diese Faktoren gleichzeitig berücksichtigt und auf einen Nenner gebracht werden.

Diese selbst bei Einsatz modernster Analysenverfahren fast unlösbar erscheinende Aufgabe läßt sich durch die hypothetische Voraussetzung etwas vereinfachen, daß man als den physiologisch *entscheidenden* Geschmacksfaktor die Geruchsempfindung ansieht und annimmt, daß die übrigen Empfindungen lediglich geeignet sind, den von den Geruchsstoffen bestimmten Grundgeschmack zu variieren. Auf diese Weise konzentriert sich das Problem zunächst auf die Untersuchung solcher Substanzen, welche die Geruchsempfindung verursachen.

Besonders geruchswirksame Verbindungen werden allgemein als Aromastoffe bezeichnet. Unter dieser Bezeichnung sind Substanzen zu verstehen, die flüchtig sind und in sehr geringer Konzentration typische, angenehme Geruchsempfindungen auslösen. Selbstverständlich ist uns bewußt, daß die Beschränkung des Geschmacksproblems auf die geruchswirksamen Aromastoffe eine Hypothese darstellt. Eine alte Erfahrungstatsache besagt, daß am gesamten Geschmackseindruck von Brot die eigentlichen Geschmacksempfindungen (sauer, salzig, bitter) ebenso mitbeteiligt sind wie auch bestimmte Tastempfindungen. Es gibt viele Beispiele, die zeigen, auf welche Weise die Wirkung vorhandener Aromastoffe durch überstarkes oder mangelhaftes Hervortreten bestimmter Geschmacks- und Tastempfindungen soweit überdeckt werden kann, daß ein negativer Gesamteindruck resultiert:

Einseitig grell-saure Geschmacksempfindung beim Verzehr von Roggenbrot mit überhöhtem Gehalt an flüchtigen Säuren;
fader Geschmack eines salzfrei hergestellten Brotes;
unangenehmer Geschmackseindruck durch Verbrennen der Krustenbezirke und als deren Folge ungewohnte Anreicherung von Bitterstoffen;
unangenehme Empfindungen beim Verzehr von feuchtgewordenem Knäckebrot oder Zwieback infolge Fehlens der normalen Knusprigkeit;
Ablehnung von altbackenem Weißbrot, wie beim zuletztgenannten Beispiel infolge Nichtvorhandenseins der gewohnten Tastempfindung.

Trotz der hieraus hervorgehenden Bedeutung von Geschmacks- und Tastempfindungen für den Gesamteindruck dürften die Geruchsstoffe für den spezifischen Geschmack eines Lebensmittels verantwortlich sein und damit den Angelpunkt des gesamten Fragenkomplexes darstellen. Ein Lebensmittel, das frei von Geruchs- bzw. Aromastoffen ist, wird man nicht als aromatisch oder auch nur wohlschmeckend ansprechen können. Eine chemisch-analytische Geschmacksanalyse wird daher in erster Linie auf der Bestimmung der Geruchs- oder Aromastoffe aufzubauen haben.

Gehalt verschiedener Brotsorten an Carbonylverbindungen

Eine Aussage über die Aromastärke eines Lebensmittels ist *dann* relativ einfach, wenn dessen Geschmack durch einen *einzig*en Aromastoff hervorgerufen wird. Bei Vorliegen einer Vielzahl von Geschmacksstoffen wirkt nicht nur die Trennung und quantitative Bestimmung der Aromastoffe erschwerend, sondern auch die Auswertung des erhaltenen Zahlenmaterials. Entsprechende Verhältnisse liegen auch im Brot vor, dessen Geschmack durch eine Kombination sehr verschiedenartiger Geruchs- und Geschmacksstoffe hervorgerufen wird.

So waren von uns in früheren Arbeiten zahlreiche Carbonylverbindungen im Brot nachgewiesen worden, von denen auf Grund ihrer intensiven Geruchseigenschaften vermutet werden konnte, daß sie auf den Geschmack Einfluß nehmen (4, 5, 6, 7). Es handelte sich um Acetaldehyd, Isobutyraldehyd, 2-Methylbutyraldehyd, 3-Methylbutyraldehyd, Aceton, Acetoin, Diacetyl, Methylglyoxal, Methional, Phenylacetaldehyd und Furfurol.

Von diesen nebeneinander vorliegenden Verbindungen sind 3 durch relativ spezifische Methoden direkt bestimmbar, und zwar

Acetoin und *Diacetyl* durch die sehr empfindliche Farbreaktion mit Kreatin/KOH (8),

Furfurol durch die Reaktion mit Anilinacetat (9, 10, 11).

Die übrigen Substanzen geben keine spezifische Reaktion von ausreichender Empfindlichkeit, die geeignet wäre, eine Bestimmung der minimalen Konzentrationen ohne störende Beeinflussung durch die übrigen Begleitstoffe zu ermöglichen. Zur quantitativen Bestimmung ist daher hier eine vorangehende Trennung erforderlich,

die auf papierchromatographischem Wege weitgehend gelingt. Abb. 1 zeigt ein Chromatogramm der in Roggenbrotkruste vorliegenden Carbonylverbindungen, die nach Isolierung durch Wasserdampfdestillation als Dinitrophenylhydrazone auf mit Dimethylformamid imprägniertem Papier getrennt worden sind.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß eine ausreichende Trennung bei Aceton, Isobutyraldehyd und der Summe der Methylbutyraldehyde (als Isovaleraldehyd deklariert) gelingt. Nach Elution lassen sich die genannten Substanzen spektralphotometrisch beim jeweiligen Absorptionsmaximum bestimmen. Desgleichen gelingt die Bestimmung von Methylglyoxal trotz der meist auftretenden Schwanzbildung vom Startfleck des Chromatogramms weg. In dem in Frage kommenden Bereich unterhalb des Startfleckes liegen außer Methylglyoxal noch die Bereiche von Hydroxymethylfurfural, Acetoin sowie ein Oxydationsprodukt des Methionals. Eine Ausschaltung dieser ohnehin in sehr geringer Menge vorliegenden Störsubstanzen gelingt jedoch in einfacher Weise durch Messung der Extinktion beim Absorptionsmaximum des Methylglyoxal-Dinitrophenylhydrazon, das von dem aller übrigen Dinitrophenylhydrazone abweicht.

Der als Aceton deklarierte Fleck kann auch mit Crotonaldehyd identisch sein oder doch zusätzlich Crotonaldehyd enthalten. Berechnung und spätere Auswertung erfolgten jedoch auf der Basis des Acetons. Die späteren Feststellungen hinsichtlich des unterschweligen Vorkommens von Aceton werden hiervon nicht berührt, da sich der gefundene Acetonwert bei Vorhandensein von Crotonaldehyd nur um dessen Anteil verringern würde.

Acetaldehyd, Phenylacetaldehyd und Methional besitzen als Dinitrophenylhydrazone mit allen geprüften Fließmitteln annähernd gleiche R_f -Werte. Eine für die quantitative Bestimmung erforderliche klare Trennung der 3 Substanzen gelingt auch bei sehr langer Laufzeit nicht, weil Acetaldehyd gegenüber den beiden anderen Substanzen stark dominiert. Die Tatsache, daß der im Chromatogramm von Brotkrume und -kruste auftretende Fleck mengenmäßig fast ausschließlich durch Acetaldehyd hervorgerufen wird, war uns Veranlassung, die Gesamttextinktion dieses Fleckes auf Acetaldehyd zu berechnen. Eine derartige Berechnungsweise beeinflußt die späteren Konzentrationsangaben für Acetaldehyd kaum und ist für die noch zu behandelnde Auswertung ohne Bedeutung.

Die Elution der einzelnen Dinitrophenylhydrazone aus dem Chromatogramm gelingt bei keiner der untersuchten Substanzen quantitativ. Eine weitgehende Extraktion ist mit siedendem Methanol möglich; bei allen Substanzen war hier nach Ablauf von 30 min der gesamte extrahierbare Anteil ausgezogen. Um von den bei der Chromatographie auftretenden Verlusten unabhängige Konzentrationsangaben machen zu können, war es erforderlich, für jede einzelne Substanz die mittlere Rückgewinnungsrate aus dem Papier zu ermitteln. Hierzu wurden je 10 Einzelbestimmungen durchgeführt, wobei unterschiedliche Konzentrationen der reinen Dinitrophenylhydrazone aufgetragen und nach Chromatographie spektralphotometrisch bestimmt wurden. Es ergaben sich mittlere Rückgewinnungsraten zwischen 75 und 95%. Der sich aus den gefundenen Werten ergebende Verlustanteil wurde später den Gehaltswerten zugeschlagen.

Von den im Brot nachgewiesenen 11 Carbonylverbindungen lassen sich folglich 7 getrennt bestimmen; außerdem gelingt die summarische Bestimmung der beiden Methylbutyraldehyde. Lediglich die Bestimmung von Methional und Phenylacetaldehyd war auf diesem Wege nicht möglich. In Tab. 1 sind die für Krume und Kruste verschiedener Brotsorten ermittelten Gehaltswerte aufgeführt.

Um bei der Ermittlung der Krustenkonzentration unabhängig von Bräunungsintensität und Krustenhärte arbeiten zu können, erfolgte die Probenahme jeweils in der Art, daß mittels eines Metallzylinders Krustenscheiben ausgestanzt und durch Abschaben der Krumenanteile auf ein

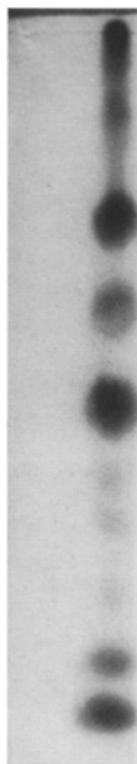


Abb. 1. Chromatogramm der in Vollkornbrot vorkommenden Carbonylverbindungen

konstantes Gewicht von 2 g gebracht wurden. Auf diese Weise wird von einer konstanten Fläche jeweils der gesamte Krustenbezirk erfaßt. Nur unter dieser Voraussetzung können sich vergleichbare Krustenwerte ergeben.

Tabelle 1. *Gehalt verschiedener Brotsorten an einzelnen Aromastoffen*
(bez. auf 100 g Frischsubstanz)

| Carbonylverbindung | Gehalt an Carbonylverbindungen beim | | | | | | |
|---------------------------|-------------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|-------------------------------|
| | Weißbrot (W 812) | | Graubrot (R 1150) | | Vollkornbrot (R 1790) | | Pumper- nickel (R 1790) |
| | Krume in µg | Kruste in µg | Krume in µg | Kruste in µg | Krume in µg | Kruste in µg | Krume in µg |
| Acetaldehyd | 201 | 1308 | 314 | 1600 | 500 | 1950 | 560 |
| Furfurol | 28 | 660 | 190 | 1730 | 280 | 2590 | 1130 |
| Isovaleraldehyd | 208 | 899 | 240 | 970 | 278 | 2110 | 300 |
| Methylglyoxal | 68 | 82 | 168 | 965 | 189 | 1350 | 780 |
| Aceton | 42 | 780 | 109 | 810 | 368 | 620 | 270 |
| Isobutyraldehyd | 33 | 197 | 70 | 400 | 78 | 1160 | 260 |
| Acetoin | 69 | 102 | 32 | 114 | 10 | 72 | 420 |
| Diacetyl | 21 | 143 | 20 | 128 | 14 | 129 | 74 |

Die Konzentrationsangaben für die geprüften 8 im Brot vorhandenen Aromastoffe ergeben im Prinzip für die meisten Substanzen die folgende Tendenz:

a) Eine zunehmende Erhöhung der Gehaltswerte in der Reihenfolge Weißbrot-Graubrot-Vollkornbrot-Pumpernickel (für Krume und Kruste);

b) Im Vergleich zur Krume wesentlich höhere Krustenwerte.

Diese Tendenz entspricht grob der bei der organoleptischen Beurteilung festzustellenden Entwicklung, denn auch bei der organoleptischen Analyse wird Pumpernickel den stärksten, Weißbrot den schwächsten Geschmackseindruck hinterlassen. Desgleichen ist der Geschmack der Kruste stets wesentlich intensiver als derjenige der entsprechenden Brotkrume.

Die Aussagekraft derartigen Konzentrationsangaben erscheint auf den ersten Blick dennoch sehr gering. Wenn man weiter berücksichtigt, daß diese Zahlen nur unter erheblichem Zeit- und Materialaufwand gewonnen werden konnten, so wird klar, daß man vom Ziel einer einfachen chemischen Aromatestung noch weit entfernt ist. Abgesehen von der Schwierigkeit der Auswertung des umfangreichen Zahlenmaterials in Richtung auf eine Parallele zum organoleptischen Test erhebt sich bei solchen Untersuchungen die Frage, ob die gefundenen, in außerordentlich niedrigen Konzentrationen vorliegenden Substanzen überhaupt am Aroma beteiligt sind.

Ein Beispiel möge diese Problematik veranschaulichen helfen: Es ist bekannt, daß die meisten Schwefelverbindungen über außerordentlich intensive Geruchseigenschaften verfügen, während Substanzen wie etwa Äthylalkohol zwar gleichfalls geruchswirksam sind, aber erst in wesentlich höheren Konzentrationen. Wenn also eine Schwefelverbindung — etwa Schwefelwasserstoff — auch in viel geringerer Menge vorliegt als Äthanol, so wird diese geringe Konzentration doch in der Lage sein, eine viel stärkere Geschmackswirkung zu erzeugen. Ein angenommener Gehalt von 0,1 mg pro 100 g an Alkohol in einem Lebensmittel wird zweifellos den Geschmack in weit geringerem Maße beeinflussen als die gleiche Konzentration von 0,1 mg/100 g an Schwefelwasserstoff. Aus diesem Beispiel wird ferner deutlich, daß eine summarische Bestimmung der Aromastoffe keine absolute Parallele zum Geschmackseindruck ergeben kann.

Um diese Abhängigkeit des Aromaeindrucks von unbekanntem physiologischen Faktoren zu überwinden, ist es nach unserer Meinung erforderlich, zumindest eine organoleptische Maßzahl in die Berechnungen einzubeziehen. Als am einfachsten bestimmbar organoleptische Maßzahl erschien uns die Geschmacksschwelle. Aus diesem Grunde wurde von allen im vorliegenden Zusammenhang interessanten Brotaromastoffen zugleich die Geschmacksschwelle ermittelt. Da die Bestimmung der Geschmacksschwelle in einem festen Material wie Gebäck schwierig, wenn nicht unmöglich ist, beschränkten wir uns zunächst auf die Schwellenwertbestimmung in Leitungswasser.

Auswertung der Gehaltswerte unter Einbeziehung der Geschmacksschwellen

Unter der Geschmacksschwelle verstehen wir diejenige Konzentration einer beliebigen Substanz, die so gering ist, daß sie bei einer Geschmacksprüfung von einer Gruppe von Testpersonen eben noch bemerkt wird. Eine geringfügige Weiterverdünnung dieser sogenannten Schwellenkonzentration hat zur Folge, daß die Mehrzahl der Prüfpersonen nicht mehr in der Lage ist, die Probe von reinem Wasser zu unterscheiden. Auch die eigentlichen Geruchsstoffe lassen sich in wäßriger Lösung durch eine entsprechende Geschmacksprobe testen.

Zur Bestimmung der Geschmacksschwellen wandten wir das Verfahren der sogenannten Dreiecksbestimmung (1, 2, 3) an. Hierbei werden dem Prüfer jeweils 3 Wasserproben zur Testung vorgelegt, von denen eine die zu prüfende Substanz enthält. Der Prüfer kann die 3 Proben in beliebiger Reihenfolge testen. Die Konzentration gilt als noch wahrnehmbar, wenn $\frac{2}{3}$ der Versuchspersonen die richtige Probe herausfinden. Bei der Bestimmung der Geschmacksschwellen muß eine Vielzahl von Einzelfaktoren berücksichtigt werden, auf die hier im einzelnen nicht eingegangen werden soll. Auf einen bedeutsamen Faktor sei aber besonders verwiesen:

Die überwiegend im Bereich von 10^{-8} bis 10^{-11} festgestellten Schwellenkonzentrationen sind analytisch nicht oder nicht mehr exakt zu bestimmen. Die beabsichtigte Konzentration läßt sich nur so festlegen, daß eine Stammlösung bekannter höherer Konzentration in bekanntem Verhältnis weiterverdünnung wird. Die extreme Verdünnung schließt aber die Gefahr der Verflüchtigung eines Teiles der meist leicht flüchtigen Substanzen ein. Diesen Faktor versuchten wir dadurch auszuschalten, daß eine Geschmacksschwelle nur dann als richtig anerkannt wurde, wenn sich bei wiederholten Prüfungen viermal der gleiche Wert ergab.

Für die im Brot interessierenden Aromastoffe ermittelten wir die in Tab. 2 wiedergegebenen Schwellenkonzentrationen.

Durch die Einbeziehung der Geschmacksschwellen in die Betrachtung wird die Voraussetzung für einen direkten Vergleich der chemischen Analysenwerte geschaffen. Bei gleichzeitiger Kenntnis der im untersuchten Lebensmittel analytisch festgestellten Konzentration an einem Aromastoff und seiner Geschmacksschwelle läßt sich folgende Beziehung aufstellen:

$$\text{Aromawert} = \frac{\text{gefundene Konzentration}}{\text{Schwellenkonzentration}}$$

Der Quotient aus beiden Konzentrationen liefert einen Ausdruck, der angibt, das Wievielfache der Schwellenkonzentration im untersuchten Produkt vorliegt. Wenn beispielsweise Diacetyl in der Krume von Graubrot in einer Menge von $20 \mu\text{g}$ pro 100 g (gleich einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-7}\%$) vorhanden ist und die Geschmacksschwelle von Diacetyl bei $2 \cdot 10^{-8}\%$ gefunden wurde, so ergibt sich

$$\text{Aromawert} = \frac{2 \cdot 10^{-7}}{2 \cdot 10^{-8}} = 10.$$

Der Wert von 10 sagt aus, daß Diacetyl in Graubrotkrume in einer Konzentration vorliegt, die dem zehnfachen Wert der Schwellenkonzentration entspricht. Die nach dieser Berechnungsweise für einzelne Aromastoffe erhaltenen Aromawerte stellen im Gegensatz zur Konzentrationsangabe Maßgrößen dar, die direkte Vergleiche zwischen verschiedenen Aromastoffen zulassen.

Auf eine entscheidende Voraussetzung für die Richtigkeit einer derartigen Berechnungsweise muß allerdings hingewiesen werden: Die Tatsache nämlich, daß die in die Berechnung einbezogenen Geschmacksschwellen unveränderliche Größen darstellen. Dies ist eine Annahme, keine feststehende Tatsache. Für die Geschmacksschwellen der eigentlichen Geschmacksstoffe ist z. B. bekannt, daß sie nur für die Reinsubstanz gelten, während bei Vorliegen verschiedener Geschmacksstoffe Verschiebungen der Schwellenkonzentration möglich sind (13, 14).

Tabelle 2. *Geschmacksschwellen* einiger im Brot vorkommender Aromastoffe* [Verdünnungsmittel: Leitungswasser; Wassertemperatur: +20° C, bei Acetaldehyd +10° C; Zahl der (geschulten) Prüferpersonen: 6; Art der Prüfung: Dreieckstest; Sicherung der Werte: Bei viermaliger Prüfung an verschiedenen Tagen gleicher Wert]

| Geprüfte Substanz | noch wahrnehmbare | Nicht mehr wahrnehmbare |
|--------------------------------|--------------------|-------------------------|
| | Konzentration | |
| | % | % |
| Isobutyraldehyd | $6 \cdot 10^{-10}$ | $4 \cdot 10^{-10}$ |
| 2-Methylbutyraldehyd | $3 \cdot 10^{-9}$ | $1 \cdot 10^{-9}$ |
| 3-Methylbutyraldehyd | $4 \cdot 10^{-9}$ | $2 \cdot 10^{-9}$ |
| Furfurol | $1 \cdot 10^{-8}$ | $8 \cdot 10^{-9}$ |
| Diacetyl | $2 \cdot 10^{-8}$ | $1 \cdot 10^{-8}$ |
| Methylglyoxal | $5 \cdot 10^{-7}$ | $3 \cdot 10^{-7}$ |
| Acetaldehyd | $6 \cdot 10^{-7}$ | $4 \cdot 10^{-7}$ |
| Acetoin | $1 \cdot 10^{-5}$ | $6 \cdot 10^{-6}$ |
| Aceton | $1 \cdot 10^{-4}$ | $5 \cdot 10^{-5}$ |

Bei der Schwierigkeit der organoleptischen Versuchsdurchführung erscheint der Versuch aussichtslos, die gegenseitige Beeinflussung der Schwellenwerte von in wechselnder Menge vorliegenden Aromastoffen festzustellen. Andererseits ist es unmöglich, ohne Berücksichtigung des Schwellenwertes als einer Maßzahl für die Geruchswirksamkeit zu einer Aussage über die Bedeutung einzelner Aromastoffe für den Geschmackseindruck eines Lebensmittels zu gelangen. Die Betrachtung des Schwellenwertes als einer konstanten Größe bleibt somit der einzige Ausweg.

Aus den in Tab. 1 wiedergegebenen Konzentrationen an einzelnen Aromastoffen im Brot und den aus

Tab. 2 abzulesenden Geschmacksschwellen errechnen sich die Aromawerte der Tab. 3.

In Tab. 1 waren die einzelnen Aromastoffe nach ihrer Konzentration geordnet. In diesem Falle führte Acetaldehyd die Reihe an, Diacetyl stand an letzter Stelle. Versucht man dagegen — wie in Tab. 3 —, die Aromastoffe nach ihren Aromawerten

Tabelle 3. *Aromawerte verschiedener Brotsorten für einzelne Aromastoffe*

$$\text{Aromawert} = \frac{\text{gefundene Konzentration}}{\text{Geschmacksschwelle}}$$

| Carbonylverbindung | Aromawerte beim | | | | | | |
|--|------------------|--------|-------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|
| | Weißbrot (W 812) | | Graubrot (R 1150) | | Vollkornbrot (R 1790) | | Pumpernickel (R 1790) |
| | Krume | Kruste | Krume | Kruste | Krume | Kruste | Krume |
| Isobutyraldehyd | 550 | 3280 | 1170 | 6670 | 1300 | 19330 | 4330 |
| Isovaleraldehyde | 595 | 2570 | 685 | 2770 | 795 | 6030 | 860 |
| Furfurol | 28 | 660 | 190 | 1730 | 280 | 2590 | 1130 |
| Diacetyl | 10 | 72 | 10 | 64 | 7 | 65 | 37 |
| Acetaldehyd | 3 | 22 | 5 | 27 | 8 | 33 | 9 |
| Methylglyoxal | 1 | 1 | 3 | 19 | 4 | 27 | 16 |
| Aceton | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Acetoin | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Summe der Aromawerte = Geschmacksintensität | 1187 | 6605 | 2063 | 11280 | 2394 | 28075 | 6382 |

* Als *Schwellenkonzentration* gilt die letzte noch wahrnehmbare Konzentration. Für die Summe der Methylbutyraldehyde wurde bei der späteren Auswertung (Tab. 3) der Mittelwert von $3,5 \cdot 10^{-9}$ eingesetzt; die Summe beider Verbindungen ist in Tab. 1 und 3 als Isovaleraldehyd deklariert.

zu ordnen, so ergibt sich eine völlig veränderte Reihenfolge, bei der man 3 Gruppen von Aromastoffen unterscheiden kann, und zwar

1. solche, die über extrem hohe Aromawerte verfügen;
2. solche, deren Aromawerte im Vergleich zu Gruppe 1 um etwa 2 Zehnerpotenzen tiefer liegen,
3. solche, deren Aromawert kleiner als 1 ist.

Diese Tabelle gestattet nun im Gegensatz zu den Konzentrationswerten einige wertvolle Schlüsse:

Aceton und Acetoin sind in allen untersuchten Produkten nur in Mengen vorhanden, die unter der Geschmacksschwelle dieser Substanzen bleiben. Das bedeutet, daß diese Stoffe geschmacklich im Brot überhaupt nicht wahrgenommen werden können. Auch die Beteiligung der zweiten Gruppe von Aromastoffen (Acetaldehyd, Methylglyoxal und Diacetyl) am Gesamtaroma ist wenig wahrscheinlich, da sie durchweg nur in Konzentrationen festgestellt wurden, die knapp oberhalb der Wahrnehmbarkeitsgrenze liegen.

Von den 8 in den verschiedenen Brotsorten bestimmten Aromakomponenten scheinen somit allein 3 für die Geschmacksbildung von Bedeutung: *Isobutyraldehyd*, *Isovaleraldehyd* und *Furfurol*. Diesen Substanzen wird in zukünftigen Arbeiten das besondere Interesse zu gelten haben. Die Beteiligung einiger weiterer, hier nicht zur Diskussion gestellter Verbindungen am Brotaroma ist zu vermuten.

Wenn die eingeschlagenen Wege der Diskussion und Auswertung analytischer Einzelwerte auch nicht voll zu befriedigen vermögen, so erscheinen sie uns doch geeignet, einige wertvolle Hinweise zu vermitteln:

1. Angesichts der Vielzahl von geschmackswirksamen Substanzen in den meisten Lebensmitteln vermittelt die kombinierte Auswertung von Schwellenkonzentration und gefundener Konzentration eine Möglichkeit zur Trennung hochwirksamer von wenig wirksamen Substanzen.
2. Für den speziellen Fall des Brotaromas ergeben sich beträchtliche Unterschiede zwischen den getesteten 8 Substanzen. Die Auswertung ermöglicht erstmals die Erkennung und Auslese der für den Geschmackseindruck entscheidenden Aromastoffe.

Zusammenfassung

Der Gehalt von 4 Brotsorten an 8 einzelnen Carbonylverbindungen wurde nach papierchromatographischer Trennung bzw. durch spezifische Farbreaktionen bestimmt, wobei sich Werte zwischen 0,01 und 2,5 mg/100 g ergaben. Im allgemeinen erhöht sich der Gehalt in der Reihenfolge Weißbrot — Roggenraubrot — Roggenvollkornbrot — Pumpernickel; im Krustenbereich finden sich stets bedeutend höhere Mengen als im Zentrum der Brote. Eine Auswertung des gewonnenen Zahlenmaterials gelang durch gleichzeitige Berücksichtigung der Geschmacksschwellen der getesteten Substanzen als einem Maß für die Geruchswirksamkeit. Auf Grund von Konzentration und Geruchswirksamkeit sind Isobutyraldehyd, Isovaleraldehyd und Furfurol als am Brotgeschmack mitbeteiligte Substanzen zu betrachten, die Mitwirkung von Acetaldehyd, Methylglyoxal und Diacetyl ist wenig wahrscheinlich, die von Aceton und Acetoin auszuschließen.

Literatur

1. CAIRNCROSS, S. E., u. L. SJÖSTRÖM: Food Technol. **4**, 308—311 (1950).
2. BENGTLSSON, K.: Wallerstein Lab. Commun. **16**, 231—250 (1953).
3. JELLINEK, G.: Ernährungs-Umsch. **8**, 198—204, 237—238 (1961).
4. THOMAS, B., u. M. ROTHE: Brot u. Gebäck **10**, 157—162 (1956).

5. THOMAS, B., u. M. ROTHE: Ernährungsforsch. **2**, 751—757 (1957).
6. ROTHE, M., u. B. THOMAS: Nahrung **3**, 1—17 (1959).
7. ROTHE, M.: Ernährungsforsch. **5**, 131—142 (1960).
8. TÄUFEL, K., u. R. POHLUDHEK-FABINI: Diese Z. **103**, 430—437 (1956).
9. RIFFART, H., u. H. KELLER: Diese Z. **68**, 113—138 (1934).
10. ADAMS, G. A., u. A. E. CASTAGNE: Canad. J. Res. **26 B**, 314—324 (1948).
11. ROTSCH, A.: Brot u. Gebäck **10**, 162—166 (1956).
12. HELM, E., u. B. TROLLE: Wallerstein Lab. Commun. **9**, 181—194 (1946).
13. HAHN, H., u. L. ULBRICH: Pflügers Arch. ges. Physiol. **250**, 357—384 (1948).
14. EHRENBERG, R., u. H. J. GÜTTES: Pflügers Arch. ges. Physiol. **251**, 664—671 (1949).

Über das Haferprotein

Von

JOHANNES MEIENHOFER*

*Mitteilung aus dem Institut für Mehl- und Eiweißforschung in Hannover
und dem Deutschen Wollforschungsinstitut an der Technischen Hochschule Aachen*

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. August 1962)

Einleitung

Über die Zusammensetzung und Struktur der Getreideproteine ist bis heute außergewöhnlich wenig bekannt. Das erscheint bei der großen volkswirtschaftlichen Bedeutung dieser Produkte zunächst überraschend, ist aber letztlich auf die besonders schlechten Löslichkeitseigenschaften der Getreideproteine und die großen Schwierigkeiten bei der Auftrennung der sehr komplexen Proteingemische in definierte Komponenten zurückzuführen. OSBORNE (1, 2) hat als erster derartige Auftrennungen mit Hilfe der klassischen Fraktionierungsmethoden auf Grund von Löslichkeitsdifferenzen, also Ein- und Aussalzen und Verwendung wäßrig-organischer Lösungsmittelgemische, durchgeführt. Beispielsweise wurde Weizenprotein in die vier Komponenten Albumin, Globulin, Gliadin und Glutenin zerlegt. Später stellte sich bei der Anwendung von verbesserten analytischen Methoden wie Ultrazentrifugieren, Elektrophorese, Chromatographie und Gegenstromverteilung heraus, daß alle diese Komponenten keinesfalls wohldefinierte einheitliche Substanzen darstellen, sondern sehr komplexe Gemische, vgl. BLISH (3).

Vor zehn Jahren begann HESS (4—11) ein völlig neuartiges Fraktionierungsverfahren am Weizenprotein zu entwickeln, das auf dem Dichteunterschied von Eiweiß ($\rho \sim 1,3$) und Stärke ($\rho \sim 1,5$) beruhte und sich den morphologischen Bau des Getreidekorns zunutze machte. Das Eiweiß befindet sich nämlich im Endosperm in den von den sphärischen Stärkekörnern begrenzten Räumen und bricht beim Vermahlen des Kornes teilweise heraus. Diese nach ihrem Aussehen Zwickelprotein (ZP) genannte Komponente wurde mittels eines Zentrifugalfeldes in wasserfreien organischen Lösungsmittelgemischen variabler Dichten (Benzol/Tetrachlorkohlenstoff) von sog. Haftprotein-Stärke getrennt (Schwere-Sink-Verfahren). Als Haftprotein (HP) wurde derjenige Eiweißanteil bezeichnet, der sich nicht durch mechanische Operationen von der Oberfläche der Stärkekörner abtrennen läßt. Der große Vorteil dieser Methode bestand darin, daß die Anwendung von wäßrigen Lösungsmitteln völlig vermieden wurde, denn dabei erleiden manche Getreideproteine tiefgreifende sekundäre

* Wir danken dem Bundeswirtschaftsministerium (Forschungsvorhaben J 274) und der Firma C. H. Knorr, Heilbronn, für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit.