Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 87 (1996)

Heft: 3

Artikel: Die Kombination instrumenteller und sensorischer Methoden zur Identifizierung aromaaktiver Verbindungen in Fleisch = The combination of instrumental and sensorial methods for the identification of aroma-active compounds in meat

Autor: Siegmund, Barbara / Leitner, Erich / Siegl, Harald

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982085

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 14.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **87**, 296–306 (1996)
Eingegangen 22. April 1996. Angenommen 29. April 1996

Die Kombination instrumenteller und sensorischer Methoden zur Identifizierung aromaaktiver Verbindungen in Fleisch*

The Combination of Instrumental and Sensorial Methods for the Identification of Aroma-active Compounds in Meat

Key words: Flavour compounds, Identification, Instrumental analytics, Sensorial methods, Meat products

Barbara Siegmund, Erich Leitner, Harald Siegl, Ingo Mayer und *Werner Pfannhauser*
Technische Universität Graz, Institut für Bio- und Lebensmittelchemie, Graz

Einleitung

Die Aromaforschung hat in den letzten Jahren einen starken Aufschwung genommen, die Aromastoffanalytik konnte sich als Mittel zur Verbesserung der sensorischen Qualität von Lebensmitteln etablieren. Vor allem im Convenience-Food-Bereich treten häufig Probleme bezüglich des Aromas der Produkte auf. Die geschmacklichen und geruchlichen Eigenschaften der «Ready-to-eat»-Produkte entsprechen oft nicht denen eines frisch bereiteten Gerichtes (Ausbildung eines Fehlgeruches oder -geschmackes; «Off-Flavour»). Gründe dafür können z. B. in der thermischen Belastung des Lebensmittels während der Zubereitung oder der Trocknung des Gerichtes liegen, auch unvermeidbare Lagerungsperioden während des Produktionsweges können die sensorische Qualität des Gerichtes negativ beeinflussen. Ein weiteres Problem ist die Ausbildung des sogenannten «Warmed-Over-Flavour» (WOF), die Generierung eines Fehlaromas, welches häufig nach dem Wiedererwärmen von Fertigprodukten beobachtet werden kann.

Mit Hilfe der instrumentellen Analytik in Kombination mit sensorischen Methoden ist es möglich, Aromakomponenten zu identifizieren und deren Einfluss auf das Gesamtaroma des Lebensmittels abzuschätzen. Bei den meisten Lebensmit-

* Das Poster wurde präsentiert an der 107. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Löwenberg (bei Murten), September 1995.

teln ist nicht eine einzelne geruchsaktive Verbindung («character impact compound») für die Ausbildung des Aromas verantwortlich. In den meisten Fällen ist es ein komplexes Gemisch vieler flüchtiger Verbindungen, die in Kombination das Aroma des Lebensmittels ausbilden. Es bedarf daher aufwendiger analytischer Arbeit, die aromapotenten Verbindungen zu isolieren, eindeutig zu identifizieren und ihren Beitrag zum Gesamtaroma zu verifizieren.

In dieser Arbeit soll anhand von verschiedenen Fleisch und Fleischprodukten aufgezeigt werden, wie gross die Komplexität und die Schwierigkeiten bei der Analyse von Aromastoffen mit Hilfe von instrumentell-analytischen Methoden in Kombination mit sensorischen Techniken sind. Abbildung 1 gibt einen Überblick über den Analysenablauf von der Ausgangsprobe bis zur Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen und der Abschätzung deren Einflusses auf die Ausbildung des Aromas des untersuchten Lebensmittels. Die einzelnen Schritte werden im folgenden detailliert beschrieben.

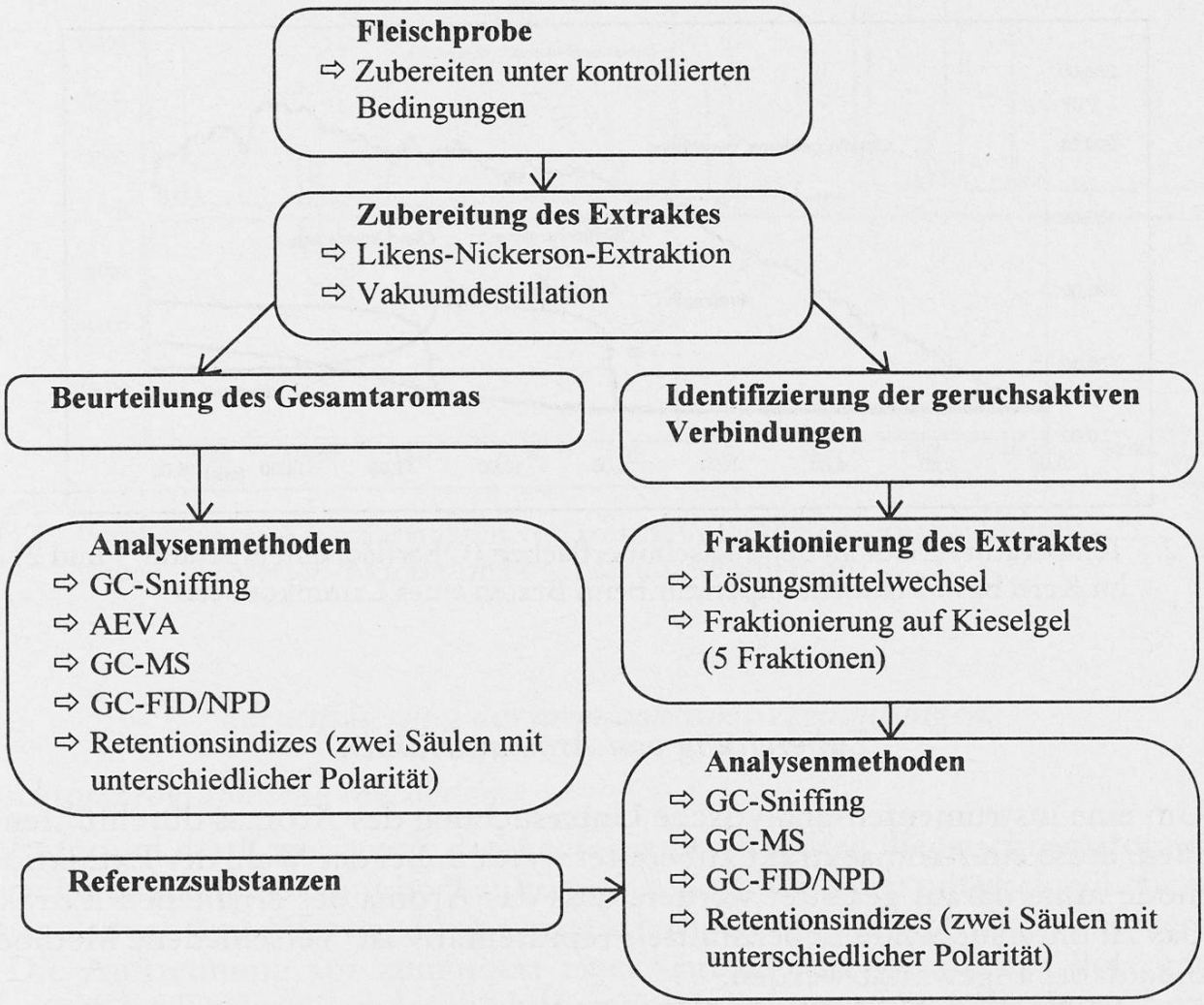

Abb. 1. Schematische Darstellung des Analysenvorganges zur Identifizierung von aromaaktiven Verbindungen

Methoden

Zubereiten der Fleischprobe

Bei der Zubereitung von Fleisch ist von grosser Bedeutung, dass unter kontrollierten Bedingungen gearbeitet wird, um von vergleichbaren Proben ausgehen zu können. Garungszeiten müssen genau eingehalten werden; beim Braten von Fleischstücken ist es ratsam, nicht nur die Bratzeiten und -temperaturen zu normieren, sondern darüberhinaus auch den Verlauf der Temperaturen an den Fleischoberflächen (z. B. an der Ober- und Unterseite des zu bratenden Fleischstückes), im Kern und der Oberfläche der Pfanne zu verfolgen, wie es z. B. in Abbildung 2 anhand des Bratvorganges eines Koteletts dargestellt ist. Die Temperaturmessung erfolgte dabei mit vier Temperaturfühlern, die an den beschriebenen Punkten befestigt wurden.

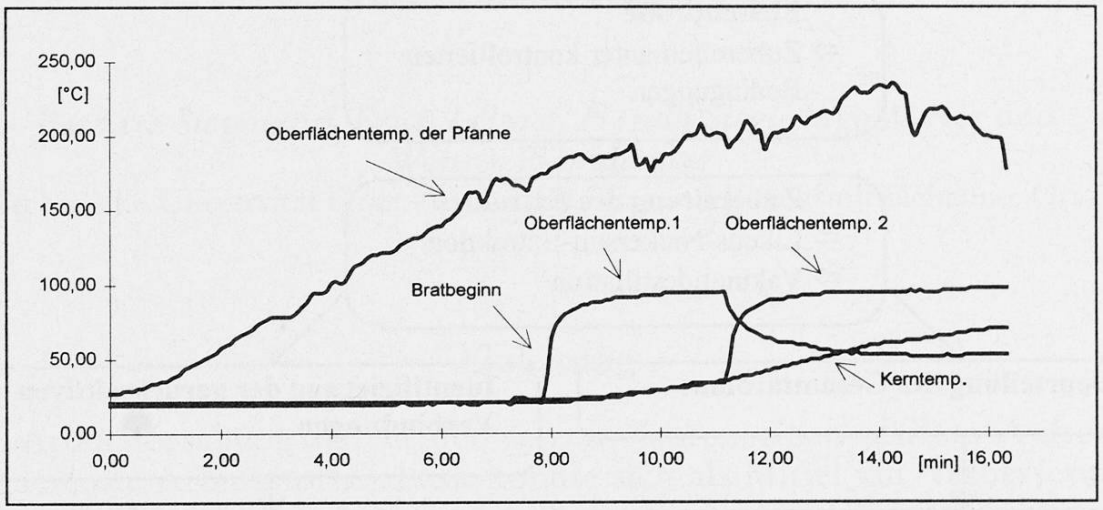

Abb. 2. Temperaturverlauf an den Fleischoberflächen (Oberflächentemperatur 1 und 2) und im Kern bzw. Pfannentemperatur beim Braten eines Lammkoteletts

Zubereitung von Aromaextrakten

Um eine instrumentell-analytische Untersuchung des Aromas durchführen zu können, muss ein Aromaextrakt zubereitet werden. Bei der Wahl der Extraktionsmethode muss darauf geachtet werden, dass das Aroma des erhaltenen Extraktes für das zu untersuchende Lebensmittels repräsentativ ist. Verschiedene Methoden können dabei angewandt werden.

Eine häufig eingesetzte Methode zur Isolation von Aromastoffen ist die simultane Destillations-Extraktion (SDE) nach *Likens-Nickerson* (1). Diese relativ einfache Methode eignet sich ausgezeichnet für die Extraktion von Halbfertigprodukten für die Convenient Food-Industrie, die bei der Zubereitung einem Kochvorgang unterzogen werden, da auch bei der Extraktion ein Kochvorgang simuliert

wird (2). Die SDE ist aufgrund der guten Reproduzierbarkeit ebenfalls gut geeignet, vergleichende Untersuchungen durchzuführen, z. B. wenn Veränderungen von Konzentrationsverhältnissen während des Prozesses verfolgt werden sollten.

Likens-Nickerson-Extrakte von gebratenem Fleisch liefern jedoch ein unbefriedigendes sensorisches Profil. Durch das mehrstündige Kochen während der Probenvorbereitung werden Aromastoffe gebildet, die einen «suppigen» Geruchseindruck erzeugen. In solchen Fällen ist eine Vakuumdestillation als Isolationsmethode für Aromastoffe vorzuziehen. Die beiden Gaschromatogramme in Abbildung 3 zeigen einen Vergleich von Aromaextrakten von rohem Putenfleisch, erhalten mittels *Likens-Nickerson*-Extraktion bzw. Vakuumdestillation. Die Bildung von flüchtigen Substanzen durch den Kochprozess während der SDE ist dabei deutlich zu erkennen.

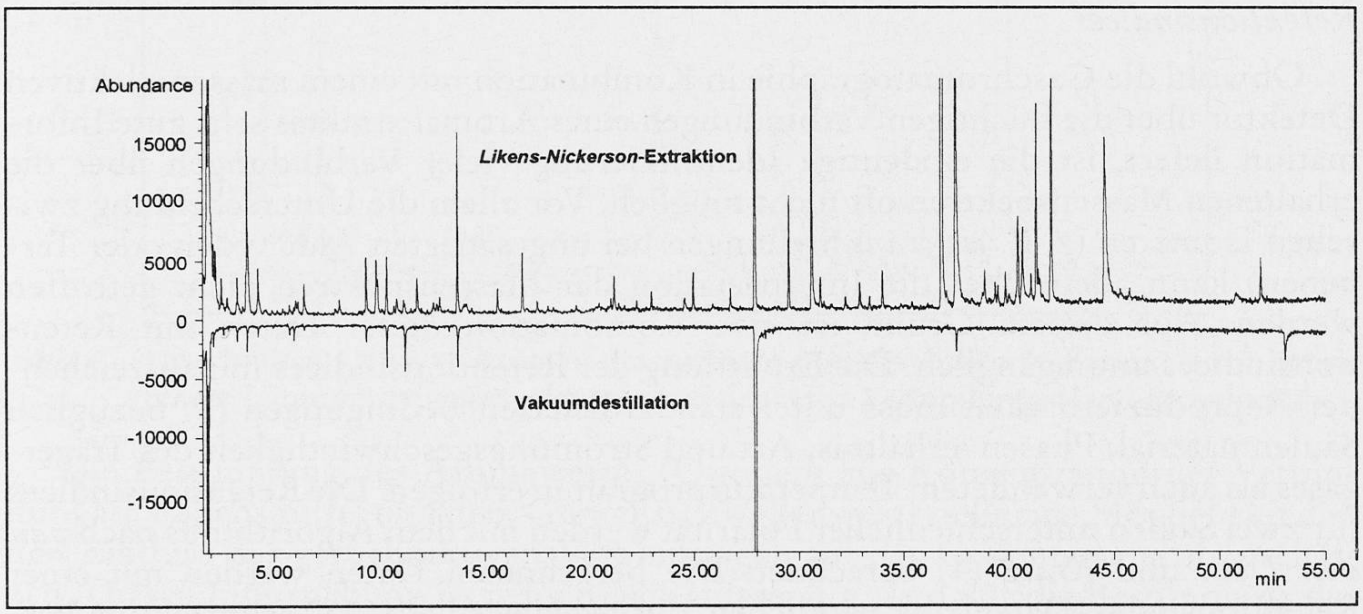

Abb. 3. Vergleich von Aromaextrakten von rohem Putenfleisch, erhalten mittels *Likens-Nickerson*-Extraktion bzw. Vakuumdestillation

Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen

Gaschromatographische Methoden

Aufgrund der Komplexität der Aromaextrakte sollten die gaschromatographischen Untersuchungen mit hochauflösenden Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität als auch unter Verwendung verschiedener Detektoren durchgeführt werden.

Die Auftrennung auf zumindest zwei Säulen unterschiedlicher Polarität ist aufgrund der Koelutionen der flüchtigen Verbindungen notwendig. Die Chromatogramme der beschriebenen Experimente wurden auf HP Ultra 1 und HP Ultra 2 aufgenommen. Weiters kann es von Vorteil sein, Kapillarsäulen mit unterschiedlichem Durchmesser bzw. mit unterschiedlicher Schichtdicke der stationären Phase zu verwenden.

Der Einsatz eines massenselektiven Detektors ist aufgrund der Vielfalt der zu identifizierenden Verbindungen unumgänglich. Üblicherweise werden die Analyten mittels Elektronenstossionisation (EI) bei einer Energie von 70 eV ionisiert. Daneben sollte zur Absicherung der Ergebnisse auch chemische Ionisation (CI) eingesetzt werden, um wertvolle Information über das Molekulargewicht zu erhalten. Zur Identifizierung der Substanzen werden die erhaltenen EI-Massenspektren mit Spektren aus Spektrenbibliotheken verglichen.

Ergänzende Informationen liefern Detektionen mit klassischen GC-Detektoren Flammenionisationsdetektor (FID) und Stickstoff-Phosphor-selektivem Detektor (NPD). Neben der universellen Detektion des FID liefert der NPD wertvolle Zusatzinformation über die meist aromapotenten N-hältigen Heterocyclen, wie z. B. Pyrazine oder Pyridine.

Retentionsindices

Obwohl die Gaschromatographie in Kombination mit einem massenselektiven Detektor über die flüchtigen Verbindungen eines Aromaextraktes sehr gute Information liefert, ist die eindeutige Identifizierung vieler Verbindungen über die erhaltenen Massenspektren oft nicht möglich. Vor allem die Unterscheidung zwischen Isomeren (z. B. *cis/trans* Stellungen bei ungesättigten Aldehyden oder Terpenen) kann allein über die Interpretation der Massenspektren nicht getroffen werden. Aus diesem Grund ist eine Kombination dieser Daten mit Retentionsindices unumgänglich. Die Ermittlung der Retentionsindices mit ausreichender Reproduzierbarkeit muss unter standardisierten Bedingungen (3) bezüglich Säulenmaterial, Phasenverhältnis, Art und Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases als auch verwendetem Temperaturprogramm erfolgen. Die Retentionsindices für zwei Säulen unterschiedlicher Polarität werden mit dem Algorithmus nach *van den Dool* und *Kratz* (4) berechnet. Die berechneten Daten werden mit einer Retentionsindex-Datenbank verglichen, die gegenwärtig ca. 750 aromaaktive Verbindungen enthält.

Gaschromatographie-Olfaktometrie

Zur Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen wird die Gaschromatographie-Olfaktometrie («GC-Sniffing») eingesetzt. Hierbei wird das Trägergas an einen «Sniffing-Port» geleitet, wo die menschliche Nase als «Geruchsdetektor» dient. Zusätzlich kann der Trägergasstrom vor dem «Sniffing-Port» geteilt und simultan an einem herkömmlichen Detektor vermessen werden. Um ein Austrocknen der Nasenschleimhäute zu verhindern, wird befeuchtete Luft zugeführt. Zur Identifizierung der geruchsaktiven Verbindungen werden die olfaktorischen Eindrücke mit den Geruchsbeschreibungen von Reinsubstanzen und Daten aus der Literatur verglichen.

Aromaextraktions-Verdünnungsanalyse

Ein besonderes Problem in der Aromastoffanalytik sind die unterschiedlichen Geruchsschwellenwerte der flüchtigen Verbindungen der Aromaextrakte. Unter

dem Geruchsschwellenwert versteht man jene Konzentration, bei der eine Verbindung gerade noch geruchlich wahrnehmbar ist. Häufig sind Substanzen mit niederen Geruchsschwellenwerten massgeblich für die Ausbildung des Gesamtaromas verantwortlich. In Abbildung 4 sind geruchsaktive Verbindungen gekennzeichnet; es ist dabei deutlich ersichtlich, dass Verbindungen mit niederem Geruchsschwellenwert noch deutlich sensorisch wahrgenommen werden können, wenngleich der gaschromatographische Detektor kein Signal mehr liefert.

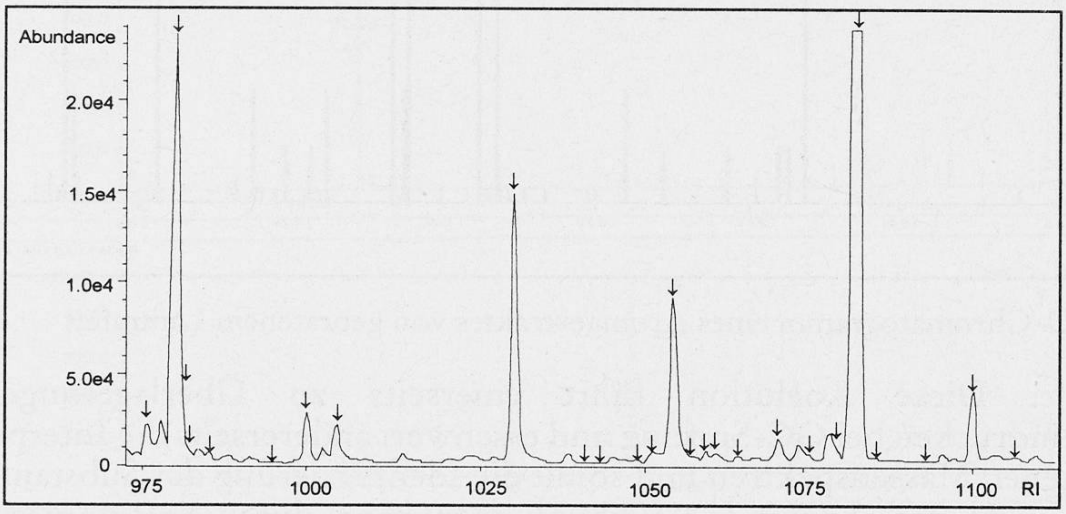

Abb. 4. Ausschnitt aus einem Chromatogramm eines *Likens-Nickerson*-Extraktes von gebratenem Lammfett; die mit «↓» gekennzeichneten Verbindungen sind geruchsaktiv

Die Bestimmung des Aromawertes (Quotient aus Konzentration der Verbindung im Lebensmittel und dem Geruchsschwellenwert) stellt eine Möglichkeit dar, den Einfluss der geruchsaktiven Verbindungen auf das Gesamtaroma abzuschätzen. Diese Untersuchung ist jedoch sehr aufwendig, da dafür die Bestimmung der Geruchsschwellenwerte jeder Substanz in der jeweiligen Matrix notwendig ist, und wird daher nur selten durchgeführt.

Eine häufig angewandte Methode, die die Bestimmung der Aromarelevanz einer geruchsaktiven Verbindung vereinfacht, ist die Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) (5, 6). Um mit dieser Methode die Substanzen mit der grössten Aromaaktivität zu ermitteln, wird der erhaltene Extrakt mittels GC-Sniffing untersucht. Der Probenextrakt wird dabei solange verdünnt, bis kein Geruchseindruck mehr wahrgenommen wird. Der Verdünnungsfaktor (*Flavour-Dilution, FD-Faktor*) entspricht dabei jenem Verdünnungsschritt, bei dem die Substanz olfaktometrisch nicht mehr wahrgenommen werden kann. Je grösser der FD-Faktor einer Verbindung ist, desto grösser ist auch ihr Einfluss auf das Gesamtaroma der untersuchten Probe. Abbildung 5 zeigt ein FD-Chromatogramm eines Aromaextraktes von gebratenem Lammfett als Ergebnis einer Aromaextraktverdünnungsanalyse.

Fraktionierung

Durch die Komplexität der Extrakte, die oft mehrere hundert flüchtige Verbindungen enthalten, kommt es zu Koelutionen auf der gaschromatographischen

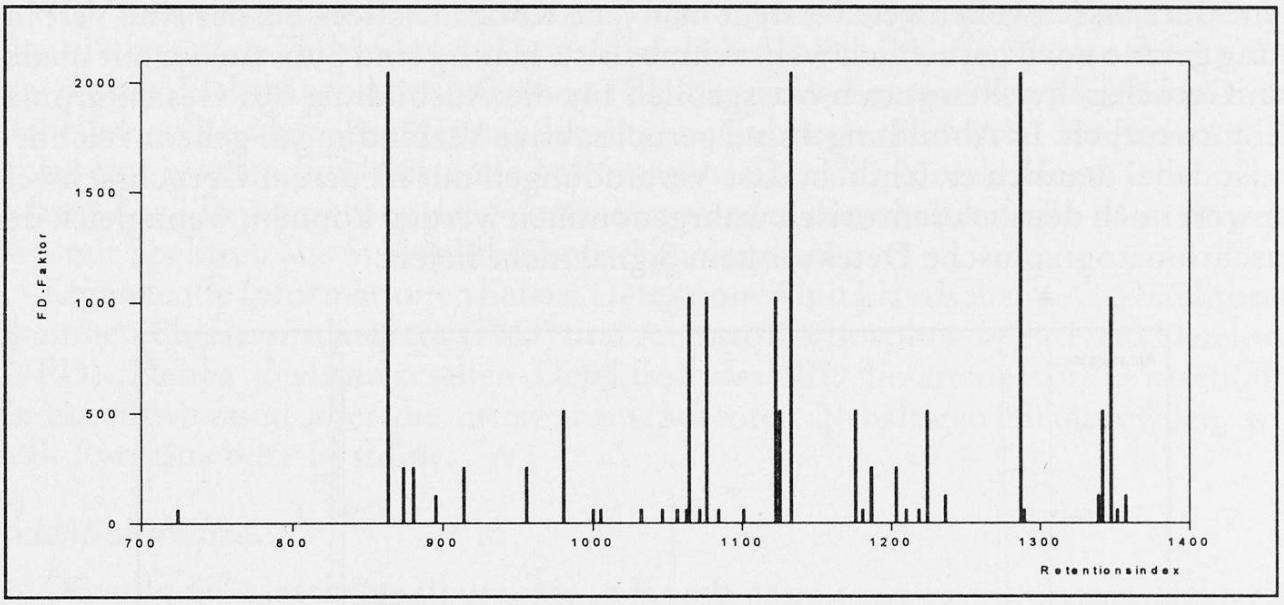

Abb. 5. FD-Chromatogramm eines Aromaextraktes von gebratenem Lammfett

Trennsäule. Diese Koelution führt einerseits zu Überlagerungen von Geruchseindrücken bei GC-Sniffing und erschwert andererseits die Interpretation der erhaltenen Massenspektren und somit die Identifizierung der Substanzen.

Die Anzahl der eluierenden Verbindungen kann durch Fraktionierung des Aromaextraktes auf Festphasenextraktionskartuschen mit Kieselgel als stationärer Phase reduziert werden. Eine Lösungsmittelelution mit steigender Polarität liefert fünf Fraktionen, die mittels GC-MSD als auch GC-Sniffing untersucht werden. Tabelle 1 liefert einen Überblick über die eluierenden Substanzklassen in den

Tabelle 1. Überblick über das Elutionsverhalten von Aromastoffen bei Fraktionierung auf Kieselgel; Mehrfachnennungen von einzelnen Substanzklassen in verschiedenen Fraktionen ist bedingt durch die unterschiedliche Elution in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster der jeweiligen Verbindung

Fraktion	Elutionsmittel	eluierende Substanzklassen
I	n-Petan	n-Alkane, alkylierte Furane, alkylierte Aromaten, Terpene
II	80% n-Petan 20% Diethylether	Aldehyde, Ketone, alkylierte Pyrazine, Phenole, Terpene
III	30% n-Pentan 70% Diethylether	Alkohole, Aldehyde mit aromatischen Gruppe, acylierte M- oder O-Fünfringe, Phenole, alkylierte Pyrazine
IV	Diethylether	alkylierte Pyrazine, alkylierte Pyridine, Lactone
V	50% Diethylether 50% Methanol	alkylierte Pyrazine, alkylierte Pyridine, Lactone

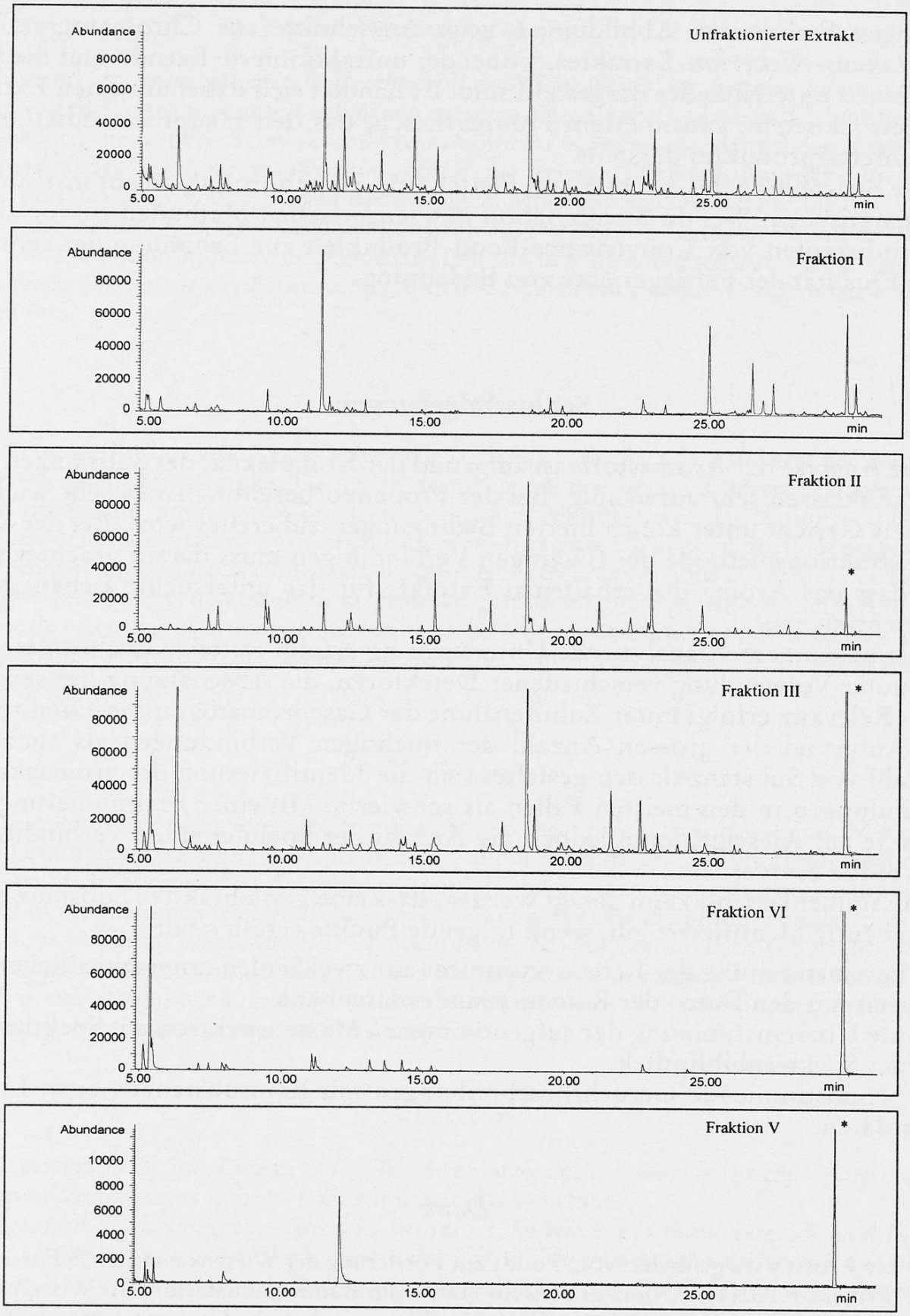

Abb. 6. Ausschnitte aus Chromatogrammen eines unfraktionierten Aromaextraktes von getrocknetem extrudiertem Hühnerfleisch bzw. der einzelnen Fraktionen («*»: Ether-Stabilisator)

jeweiligen Fraktionen. Abbildung 6 zeigt Ausschnitte aus Chromatogrammen eines *Likens-Nickerson*-Extraktes, wobei der unfraktionierte Extrakt und die fünf Fraktionen untereinander dargestellt sind. Es handelt sich dabei um einen Extrakt von getrocknetem, extrudiertem Hühnerfleisch, das den Hauptbestandteil eines Suppenfertigproduktes darstellt.

Die Beurteilung des Aromas von Fleisch und Fleischprodukten auf instrumentell-analytischem Weg in Kombination mit sensorischen Methoden ist vor allem für Produzenten von Convenience-Food-Produkten zur Erhöhung der sensorischen Qualität der Fertiggerichte von Bedeutung.

Schlussfolgerungen

Die Analyse der Aromastoffe ist aufgrund der Komplexität der Substanzen und Substanzklassen sehr aufwendig. Bei der Probenvorbereitung ist es sehr wichtig, dass das Gericht unter kontrollierten Bedingungen zubereitet wird. Bei der Wahl der Extraktionsmethode der flüchtigen Verbindungen muss darauf geachtet werden, dass das Aroma des erhaltenen Extrakts für das untersuchte Lebensmittel repräsentativ ist.

Die instrumentell-analytische Untersuchung erfolgt mittels Gaschromatographie unter Verwendung verschiedener Detektoren, die Abschätzung der sensorischen Relevanz erfolgt unter Zuhilfenahme der Gaschromatographie-Olfaktometrie. Aufgrund der grossen Anzahl der flüchtigen Verbindungen als auch der Vielzahl von Substanzklassen gestaltet sich die Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen in den meisten Fällen als schwierig. Mit einer Fraktionierung der Extrakte auf Kieselgel kann jedoch die Anzahl der koeluierenden Verbindungen stark reduziert werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine geruchsaktive Substanz dann als eindeutig identifiziert gilt, wenn folgende Punkte erfüllt sind:

1. Übereinstimmung der Retentionsindices auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität mit den Daten der Retentionsindexdatenbank.
2. Gute Übereinstimmung der aufgenommenen Massenspektren mit Spektren aus einer Spektrenbibliothek.
3. Übereinstimmende Geruchsbeschreibungen mit Reinsubstanzen bzw. Literaturdaten.

Dank

Diese Arbeit wird gefördert vom Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung (FWF Projekt P 10041, «Aroma in Fleisch») und vom Bundesministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst (GZ 45.376/2-IV/6/95, «Flavour of cooked hen meat used in convenient broth formulations»).

Zusammenfassung

Anhand von verschiedenen Beispielen soll die Komplexität der Aromastoffanalytik von Fleisch- und Fleischprodukten aufgezeigt werden. Diese Arbeit gibt einen Überblick über die Schritte, die notwendig sind, um Aromastoffe zu isolieren, zu identifizieren und ihren Einfluss auf das Gesamtaroma des Produktes zu verifizieren. Die Bedeutung der Zubereitung des Produktes unter kontrollierten Bedingungen, Möglichkeiten zur Isolierung der Aromastoffe, der Einsatz von verschiedenen gaschromatographischen Detektoren und die Bedeutung von Retentionsindices zur Identifizierung sowie Möglichkeiten zur Verifizierung der sensorischen Relevanz der Aromastoffe mittels Gaschromatographie-Olfaktometrie werden diskutiert.

Résumé

La complexité de l'analyse des arômes de la viande et de plats de viande est démontrée au moyen de plusieurs exemples. Ce travail donne un résumé sur les différentes étapes analytiques nécessaires pour l'isolation et l'identification des substances aromatiques et pour la vérification de leur influence sur l'arôme du produit examiné. L'importance de la préparation du produit sous conditions contrôlées, les différentes techniques pour l'isolation des arômes, l'emploi de différents détecteurs de la chromatographie en phase gazeuse et l'importance des indices de rétention pour l'identification aussi bien que les méthodes pour la vérification de la signifiance sensorielle des arômes en utilisant la chromatographie en phase gazeuse et l'olfactométrie, sont discutés.

Summary

The complexity of flavour analysis of meat and meat products is shown on the basis of several examples. This paper gives an overview about the different analytical steps which are necessary to isolate and identify aroma compounds and to verify their influence on the overall flavour of the examined product. The importance of preparing the product under controlled conditions, different techniques for isolation of the flavour compounds, the application of different gaschromatographic detectors and the importance of retention indices for identification as well as methods for verifying the sensorial relevance of the aroma compounds using gaschromatography-olfactometry are discussed.

Literatur

1. *Nickerson, G.B.* and *Likens, S.T.:* Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. J. Chromatogr. **21,** 1–5 (1966).
2. *Siegmund, B., Leitner, E., Mayer, I., Farkaš, P., Sádecká, J., Pfannhauser, W.* und *Kovác, M.:* Untersuchungen zur Problematik der Extraktion von Aromastoffen mit der simultanen Destillations-Extraktion nach *Likens-Nickerson.* Dtsch. Lebensm.-Rdsch., in Druck.
3. *Farkaš, P., Le Quéré, J.L., Maarse, H.* and *Kovac, M.:* The standard GC retention index library of flavour compounds, in Trends in Flavour Research. Elsevier Science, 145–149 (1994).

4. *Van den Dool, H.* and *Kratz, P.D.:* A generalisation of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid chromatography. J. Chromatogr. **11,** 463–471 (1963).
5. *Grosch, W.:* Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. Trends Food Sci. Techn. **4,** 68–73 (1993).
6. *Grosch, W.:* Neuere Entwicklungen in der Aromaforschung. Lebensmittelchemie **47,** 129–134 (1993).

Dr. Erich Leitner
Barbara Siegmund, Dipl.-Ing.
Technische Universität Graz
Institut für Biochemie
und Lebensmittelchemie
Bereich Lebensmittelchemie
Petersgasse 12/II
A-8010 Graz