



FORSCHUNGSKREIS DER
ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

F&E

Dokumentation

AiF 18039 N

**„Identifizierung von geruchsaktiven
Verbindungen in sensorisch einwandfreien
sowie fehlerhaften (Off-Flavour-) Rapsölen
und Entwicklung einer Analysenmethode zur
Verbesserung der Qualitätskontrolle“**

– Schlussbericht 2017 –

**Projekt der Industriellen
Gemeinschaftsforschung**



Forschungsstelle I:

Max-Rubner-Institut (MRI)
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Sicherheit und Qualität bei Getreide
Schützenberg 12
32756 Detmold

Tel: + 49 5231 741-420

Fax: + 49 5231 741-400

E-Mail: norbert.haase@mri.bund.de

Internet: www.mri.bund.de/de/institute/sicherheit-und-qualitaet-bei-getreide.html

Projektleiter:

Prof. Dr. Norbert Haase
Prof. Dr. Bertrand Matthäus
Dr. Ludger Brühl
Anja Bonte

Forschungsstelle II:

Technische Universität München
Department Chemie
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Lise-Meitner-Straße 34
85354 Freising

Tel.: + 49 8161 71-2932

Fax: + 49 8161 71-2970

E-Mail: peter.schieberle@lrz.tum.de

Internet: www.leb.chemie.tu-muenchen.de

Projektleiter:

Prof. Dr. Peter Schieberle
Dr. Michael Granvogl

Eine Publikation dieses Berichts oder der hierin aufgeführten Daten
ist ohne Zustimmung der Projektleitung nicht gestattet.

Bewilligungszeitraum: 1.2.2014 – 31.3.2017

... ein Projekt der *Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)*

gefördert durch/via:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Datum des Berichts: 12.6.2017

Zusammenfassung

Ziel des Forschungsvorhabens war es, aroma-aktive Verbindungen zu identifizieren, die einerseits für das typisch saatige und nussige Aroma von nativen, kaltgepressten Rapsölen verantwortlich sind und andererseits das stichig, modrige Aroma sensorisch auffälliger Rapsöle bestimmen. Auf Basis dieser Verbindungen sollten Markersubstanzen für die Klassifizierung von nativen, kaltgepressten Rapsölen in sensorisch guten und schlechten Rapsöle identifiziert werden, die dann mit Hilfe einer robusten und schnellen GC-MS Methode analysiert werden können.

Es wurde eine schonende Methode zur Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus Rapsöl auf Basis der Kurzwegdestillation in Kombination mit der Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) etabliert. Der Vergleich von einem exemplarisch guten und einem exemplarisch schlechten nativen, kaltgepressten Rapsöls zeigte, dass vor allem ein Konzentrationsanstieg von bestimmten Aromastoffen für die Ausbildung des stichig/modrigen Fehlgeruchs verantwortlich ist. Fünf aroma-aktive flüchtige Verbindungen konnten als Hauptverursacher für einen „stichig/modrigen“ Off-Flavor identifiziert werden. Diese Verbindungen wurden zum Teil auch bei der Untersuchung der Profile der flüchtigen Verbindungen im Rahmen eines Profiling Ansatzes von 43 nativen, kaltgepressten Rapsölen mittels dynamischer Headspace-GC-MS gefunden. Dabei zeigten 13 flüchtige Verbindungen signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen 20 sensorisch guten und 23 sensorisch schlechten Rapsölen. Mit Hilfe einer Linearen Diskriminanzanalyse wurde eine GC-MS-basierte Methode zur Klassifizierung sensorisch guter und sensorisch schlechter Rapsöle entwickelt die zur Unterstützung einer Qualitätskontrolle übernommen werden kann.

Die Untersuchungen zur Bildung flüchtiger Aromastoffe während der Lagerung zeigten einen großen Einfluss der Lagerbedingungen wie Feuchtigkeit und Temperatur auf das Profil der flüchtigen Verbindungen in den resultierenden Rapsölen. Eine sensorische Verschlechterung der Rapsöle war bei Lagerung bei 30°C und einer Saatfeuchte von 15%, ab dem dritten Tag der Saatlagerung wahrnehmbar. Ähnlich starke Veränderungen im Profil der flüchtigen Verbindungen waren auch während der Keimung von Rapssaat zu beobachten. Hier war das Attribut „gekeimt“ eindeutig ab dem dritten Tag der Keimung als sensorischer Defekt wahrnehmbar. Ein Einfluss von Rapssorte und Anbaustandort auf das Profil der flüchtigen Verbindungen wurde nicht gefunden.

Es wurde eine Methode zur Isolierung und Identifizierung des mikrobiellen Besatzes von Rapssaat etabliert. Von insgesamt 22 Bakterienstämmen und zwei Schimmelpilzgattungen konnten 29 bzw. 6 aroma-aktive flüchtige Verbindungen identifiziert werden. Elf der identifizierten flüchtigen Verbindungen aus dem Stoffwechsel der Mikroorganismen wurden bereits als flüchtige Verbindungen in Rapsölen beschrieben. Die Verbindungen Acetoin, 2-

und 3-Methylbutanal und Ethyl-2-Methylbutanoat wurden im Rahmen dieses Forschungsprojekts als Markersubstanzen für sensorisch schlechte Rapsöle identifiziert. Die Untersuchungen weisen somit auf einen deutlichen Zusammenhang zwischen einem mikrobiellen Besatz von Rapssaat und der sensorischen Qualität der resultierenden Rapsöle hin.

Im Rahmen des Projektes sollte aufgeklärt werden, welche Verbindung für das Auftreten eines fischigen Aromas während des Erhitzens von Rapsöl verantwortlich ist und mögliche Prekursoren sollten identifiziert werden. Bei Erhitzungsversuchen mit verschiedenen raffinierten, dampfgewaschenen und nativen, kaltgepressten Rapsölen konnte kein fischiger Geruch provoziert werden. Weitere Erhitzungsversuche unter Zugabe von FeCl_3 zur Initiierung einer beschleunigten Oxidation oder Sinapin und Lecithin als im Rapsöl vorkommende Verbindungen mit einer Aminogruppe im Molekül, führten ebenfalls nicht zum Auftreten eines fischigen Fehlromas. Während der Projektlaufzeit wurde aus der Industrie lediglich eine dampfgewaschene Probe mit fischigem Fehlroma zur Verfügung gestellt. Im Vergleich mit einer sensorisch einwandfreien dampfgewaschenen Probe zeigten 41 identifizierte flüchtige Verbindungen signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Proben. Aufgrund fehlender Vergleichsproben war eine Validierung der Ergebnisse jedoch nicht möglich. Mittels Kationenaustauschchromatographie konnte in der dampfgewaschenen Probe Trimethylamin quantifiziert werden, mit einem Gehalt, der sechsfach über der Geruchsschwelle in Öl liegt. Damit ist Trimethylamin die Ursache für den fischigen „Off-Flavor“ im gedämpften Rapsöl GOFF identifiziert, was in einem Omissionsexperiment eindeutig bestätigt wurde. Zusätzlich konnte eine HS-SPME-HRGC-MS basierte Methode zur Identifizierung von Trimethylamin entwickelt werden. Trimethylamin ist als Abbauprodukt von Sinapin oder Lecithin denkbar.

Somit wurden die im Projektantrag definierten Ziele erreicht. Es wurden Verbindungen identifiziert die für den typischen Geruch bzw. den off-Flavor von nativem, kaltgepresstem Rapsöl verantwortlich sind. Mit Hilfe dieser Verbindungen wurde eine robuste und schnelle Methode auf Basis der GC-MS-Analyse etabliert. Es konnte gezeigt werden, welche Auswirkungen Lagerung, Keimung oder auch eine Besiedelung mit Mikroorganismen auf das Profil der flüchtigen Verbindungen von Rapsöl haben. Die große Bedeutung optimaler Ernte- und Lagerbedingungen zum Erreichen eines qualitativ guten Rapsöls konnte somit im Rahmen dieser Arbeit noch einmal deutlich aufgezeigt werden, da sowohl die Lagerbedingungen als auch die Besiedelung von Rapssaat mit Mikroorganismen einen deutlichen Einfluss auf das Profil der flüchtigen Verbindungen und damit auf die sensorische Bewertung haben.

Ein Einfluss von Rapsorte und Anbaustandort auf das Profil der flüchtigen Verbindungen konnte nicht gefunden werden. Trimethylamin wurde als Schlüsselsubstanz für den fischigen Geruch von erhitzten Rapsölen identifiziert. Denkbar ist eine Freisetzung von Trimethylamin aus Lecithin oder Sinapin, während des Erhitzens, allerdings konnte dies in entsprechenden Versuchen nicht nachgewiesen werden.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Inhaltsverzeichnis	4
Verzeichnis der Formeln und Abkürzungen	6
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	10
1. Ergebnisse und Transferkonzept	13
1.1. Gegenüberstellung der Zielsetzung und Ergebnisse	13
1.2. Darstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen Nutzens der erzielten Ergebnisse	18
1.3. Publikationsliste	19
1.4. Einschätzung der Realisierbarkeit des Transferkonzepts	20
2. Darstellung der durchgeführten Arbeiten und Untersuchungen der Forschungsstelle 1: Max Rubner-Institut, Detmold	21
2.1. Material und Methoden	21
2.1.1. Probenmaterial	21
2.1.2. Standardsubstanzen	21
2.1.3. Gewinnung von nativem, kaltgepressten Rapsspeiseöl	22
2.1.4. Herstellung von Rapsöl mit negativen sensorischen Attributen	22
2.1.5. Sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle	22
2.1.6. GC-MS-Analyse nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle	24
2.1.7. Frittierversuche	26
2.1.8. GC-MS-Olfaktometrie (GC-MS-O)	28
2.1.9. Methodenüberprüfung zur Detektion von Pyrazinen in nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen	29
2.1.10. Lagerversuch von Rapssaat unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur	30
2.1.11. Keimung von Rapssaat	30
2.1.12. Einfluss von Rapsorte und Standort auf das Profil flüchtiger Verbindungen	31
2.1.13. Datenauswertung und Statistik	31
2.1.14. Mikroorganismen auf Rapssaat	39
2.2. Ergebnisse	42
2.2.1. Sensorische Bewertung von kaltgepressten Rapsölen	42
2.2.2. Rapsöle mit fischigem Fehlroma aus der Industrie	43
2.2.3. Frittierversuche	45
2.2.4. GC-Olfaktometrie	48
2.2.5. Dyn. HS-GC-MS-Profilung	55
2.2.6. Methodenentwicklung	63

2.2.7.	Methodenüberprüfung zur Detektion von Pyrazinen in nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen	65
2.2.8.	Lagerversuch von Rapssaat unter erhöhten Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen	66
2.2.9.	Keimung von Rapssaat	72
2.2.10.	Einfluss von Rapssorte und Standort auf das Profil flüchtiger Verbindungen	79
2.2.11.	Bestimmung von Mikroorganismen von Rapssaat	80
2. 3.	Zusammenfassung	89
3.	Darstellung der durchgeführten Arbeiten und Untersuchungen der Forschungsstelle 2: Technische Universität München	90
3.1.	Material und Methoden	91
3.1.1.	Entwicklung einer Isolierungsmethode der flüchtigen Verbindungen	91
3.1.2.	Entwicklung einer Isolierungsmethode für Trimethylamin	94
3.1.3.	Durchführung einer vergleichenden Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) als Screeningverfahren zur Erfassung der relevanten aromaaktiven Verbindungen in nativem Rapsöl	94
3.1.4.	Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen (laut vAEVA) mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren	96
3.1.5.	Quantifizierung aromaaktiver Verbindungen in nativem sensorisch einwandfreiem Rapsöl (NGS) und Rapsöl mit „Off-Flavor“ (NOF) mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) und Aromawertberechnung	97
3.1.6.	Aromasimulation und Erstellung eines vergleichenden Aromaprofils	117
3.2.	Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen	118
3.2.1.	Entwicklung einer Isolierungsmethode der flüchtigen Verbindungen	118
3.2.2.	Entwicklung einer Isolierungsmethode für Trimethylamin	120
3.2.3.	Headspace-Verdünnungsanalyse (vHVA) und vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA)	120
3.2.4.	Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren	121
3.2.5.	Quantifizierung aromaaktiver Verbindungen in den nativen Rapsölen NGS und NOF mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) und Aromawertberechnung (AW)	131
3.2.6.	Aromasimulation und Erstellung eines vergleichenden Aromaprofils	149
3.2.7.	Vergleich der nativen Rapsöle NGS, NOF und NOFS	154
3.2.8.	Vergleich der gedämpften Rapsöle GGS und GOFF	160
3.3.	Zusammenfassung	161
4.	Literaturverzeichnis	163
5.	Förderhinweise	166

Verzeichnis der Formeln und Abkürzungen

AP	Arbeitspaket
AW	Aromawert
ARDRA	Amplified Ribosomal DNA-Restriction Analysis
BEE	Besondere Ernteterminung
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
DGF	Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft e. V.
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e. V.
DNA	Desoxyribonucleic Acid
Dyn. HS	Dynamische Headspace
FD	Flavor Dilution
FeCl ₃	Eisen-III-chlorid
FS	Forschungsstelle
GAP	Glucosinolatbauprodukte
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GC-O	Gaschromatographie-Olfaktometrie
GGG	Gedämpfter Golden Standard
GLS	Glucosinolate
GOFF	Gedämpfter off-Flavor fischig
LB-Medium	Lysogeny Broth-Medium
LDA	Lineare Diskriminanzanalyse
MCSS	Moving Column Stream Switching
NGS	Nativer Goldener Standard
NIST	National Institute of Standards and Technology
NOF	Nativer Off-Flavor Standard

ODP	Olfactory Detection Port
PBS	Phosphate Buffered Saline, Phosphat-gepufferte Salzlösung
PCA	Principal Component Analysis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PT	Probentemperatur
RI	Retentionsindex
RT	Raumtemperatur
SAFE	Solvent Assisted Flavor Extraction
SIVA	Stabilisotopenverdünnungsanalyse
SPME	Solid Phase Micro Extraction
TY-Medium	Tryptone-Yeast-Medium
vAEVA	Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse
VOC	Flüchtige Verbindungen (Volatile Organic Compounds)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Blaues Sensorikglas mit Rapsöl und Uhrglasabdeckung	23
Abbildung 2:	Prüfbogen für die sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle gemäß Methode DGF-C-II 1 (14)	24
Abbildung 3:	Stickstoffhaltige Verbindungen, deren Abbau zu kurzkettigen, aromaaktiven Verbindungen führen kann	28
Abbildung 4:	Totalionenfluss (TIC)-Ansicht eines MeltDB Experimentes mit insgesamt 18 Proben	34
Abbildung 5:	Hauptkomponentenanalyse einer gedämpften Rapsölprobe mit fischigem Fehl aroma und einer unauffälligen gedämpften Rapsölprobe des gleichen Herstellers	43
Abbildung 6:	Identifizierte Verbindungen mit signifikant unterschiedlichen Gehalten aus gedämpften Rapsölen mit sensorisch unauffälligem Aroma (weiß) und fischigem Fehl aroma (schwarz)	44
Abbildung 7:	Zum Frittieren eingesetztes natives, kaltgepresstes Rapsöl (Probe 1) mit erhöhten Glucosinolatgehalten mit Frittiergut	47
Abbildung 8:	Frittierversuch mit Rapsölen unter Zugabe von Sinapinsäure	48
Abbildung 9:	Überlagerung der Chromatogramme eines sensorisch schlechten (schwarz) und sensorisch guten Rapsöls (blau)	49
Abbildung 10:	Hauptkomponentenanalyse (PCA) sensorisch guter und sensorisch schlechter Rapsölproben	59
Abbildung 11:	Der Biplot zeigt die flüchtigen Verbindungen, die an der Trennung der Rapsölproben beteiligt sind	61
Abbildung 12:	Hauptkomponentenanalyse (PCA) mit den 13 flüchtigen Verbindungen aus Tabelle 12, die signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen zeigten	62
Abbildung 13:	Klassifikationsparameter und Ergebnisse der Linearen Diskriminanzanalyse (LDA)	64
Abbildung 14:	Sensorische Bewertung der unter erhöhten Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen gelagerten Rapssaatproben der Lagertage 0, 3, 10 und 17 (T0, T3, T10 und T17)	66
Abbildung 15:	Veränderung im Profil der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle aus Saaten, die unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur gelagert wurden	68
Abbildung 16:	Keimung von Rapssaat im 4-tägigen Keimungsversuch	72
Abbildung 17:	Sensorische Bewertung der gekeimten Rapssaaten von Tag 0 (T0 = ungekeimt) bis Tag 4 (T4)	73
Abbildung 18:	Veränderung im Profil der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle aus nicht gekeimter (T0) und gekeimter Saat (T1-T4)	75
Abbildung 19:	Hauptkomponentenanalyse (PCA) der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle verschiedener Sorten und Standorte	79

Abbildung 20:	Bakterienkolonien vier verschiedener Rapssorten (A, B, C, D) in der Verdünnungsstufe 10 ⁻¹	80
Abbildung 21:	Bakterienkolonien mit geruchsrelevanter Aromabildung, die von vier verschiedenen Rapssorten A-D extrahiert und auf rapsschrothaltigem Agar kultiviert werden konnten	81
Abbildung 22:	Profile flüchtiger Verbindungen zwei verschiedener Bakterienstämme (C8 und D7), die von Rapssaat extrahiert und auf Nährmedium kultiviert wurden	82
Abbildung 23:	Schimmelpilzkolonien auf Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar von den Proben A – D	85
Abbildung 24:	Einzelkolonien verschiedener Mikroorganismen auf rapsschrothaltigem Schrägagar zur SPME-GC-MS-Analyse der flüchtigen Verbindungen	86
Abbildung 25:	Kurzwegverdampfer im Querschnitt (links) und Längsschnitt (rechts)	91
Abbildung 26:	Apparatur für die Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE)	92
Abbildung 27:	Responsgerade von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (Analyt) und [² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	99
Abbildung 28:	Schematische Darstellung des HRGC-HRGC/MS-Systems	111
Abbildung 29:	Schematische Darstellung der Funktionsweise des Doms beim MCSS	112
Abbildung 30:	Kalibriergerade von Trimethylamin gemessen mittels Ionenaustauschchromatographie	117
Abbildung 31:	Orthonasale Aromaprofilanalyse von NGS (rot) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)	150
Abbildung 32:	Orthonasale Aromaprofilanalyse von NOF (blau) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)	151
Abbildung 33:	Orthonasale Aromaprofilanalyse von NOFS (braun) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)	152
Abbildung 34:	Spiking Experiment zur sensorischen Validierung der analytischen Daten	153
Abbildung 35:	Orthonasale Aromaprofilanalyse von gedämpftem sensorisch einwandfreiem Rapsöl (hellblau) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)	153
Abbildung 36:	Orthonasale Aromaprofilanalyse von gedämpftem Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (violett) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)	154
Abbildung 37:	Clustering der der quantitativen Daten von NGS, NGS A-E, NOF, NOFS/NOFS H und NOFA-H in einer Heatmap	157
Abbildung 38:	Scores Plot der Hauptkomponentenanalyse	158
Abbildung 39:	Biplot der Hauptkomponentenanalyse	159
Abbildung 40:	Omissionsexperiment zur Überprüfung von Trimethylamin als Ursache für den fischigen „Off-Flavor“	161

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Gegenüberstellung der Projektziele und Projektergebnisse	13
Tabelle 2:	Messparameter und Einstellungen der verwendeten Analysegeräte zur dynamischen Headspace-GC-MS-Analyse	25
Tabelle 3:	Bestandteile des Alkan-Mix (c = 1 mg/kg) zur Erstellung der Retentionsindices	26
Tabelle 4:	Einstellungen zur Detektion von Pyrazinen mittels dyn.HS-GC-MS	30
Tabelle 5:	Verwendete Tools der Auswertesoftware MeltDB zur Auswertung der GC-MS Daten nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle	32
Tabelle 6:	Standardsubstanzen der MeltDB Referenzliste für flüchtige Verbindungen in Rapsöl	35
Tabelle 7:	Messparameter für die SPME-GC-MS-Analyse flüchtiger Verbindung von Bakterien	41
Tabelle 8:	Ergebnisse der sensorischen Bewertung frittiertes Pommes frites und der erkalteten Frittieröle nach erhitztem der Öle unter Zusatz von FeCl ₃	46
Tabelle 9:	Flüchtige Verbindungen mit Unterschieden in Konzentration oder Vorkommen zwischen einem sensorisch guten und einem sensorisch schlechten nativen kaltgepressten Rapsspeiseöl	51
Tabelle 10:	Einfluss von 13 flüchtigen Verbindungen auf die sensorische Qualität nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle	57
Tabelle 11:	Vorkommen der Verbindungen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölproben in den falsch zugeordneten Proben sowie im gesamten Datensatz	60
Tabelle 12:	Verbindungen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden ($\alpha=0,05$) zwischen sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen	63
Tabelle 13:	Mittelwerte \pm Standardabweichung und zugehörige Stichprobenumfänge (n_{80} , n_{100} , n_{120}) von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (S1) und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (S2) jeweils für die Konzentrationen (c) 100, 500 und 1000 bei 80, 100 und 120°C Proben temperatur (T)	65
Tabelle 14:	Substanzklassen der identifizierten Verbindungen aus nativen, kaltgepressten Rapsölen aus Rapssaaten, die unter erhöhter Feuchtigkeit (15%) und Temperatur (RT/30°C) gelagert wurde	67
Tabelle 15:	Flüchtige Verbindungen in nativen, kaltgepressten Rapsölen aus Saaten, die unter verschiedener Feuchtigkeit und Temperatur gelagert wurden	69
Tabelle 16:	Veränderung des unter dem Punkt "andere" bezeichneten rapssaatenuntypischen sensorischen Fehlers der gekeimten Rapssaatenproben von Tag (T) 0 bis T 4	74
Tabelle 17:	Substanzklassen der identifizierten Verbindungen aus nativen, kaltgepressten Rapsölen aus gekeimter Rapssaat	75

Tabelle 18:	Flüchtige Verbindungen in nativen, kaltgepressten Rapsölen aus gekeimten Saaten im Vergleich zu nicht gekeimter Saat	76
Tabelle 19:	Identifizierte Glucosinolate und Aminosäuren aus Proben des Keimungsversuchs	78
Tabelle 20:	NIST-Datenbankzuordnungen verschiedener Substanzpeaks aus den Chromatogrammen C8 und D7 der SPME-GC-MS-Analyse flüchtiger Verbindungen zwei verschiedener Bakterienstämme, die von Rapssaat extrahiert wurden	83
Tabelle 21:	Ergebnisse der DNA-Sequenzierung von 12 Bakterienstämmen, die von einer sensorisch guten Rapssaat (A) und zwei sensorisch schlechten Rapssaaten (B und D) extrahiert wurden	84
Tabelle 22:	Identifizierte Schimmelpilzgattungen der Rapssaaten A – C	85
Tabelle 23:	Aroma-aktive VOC, gebildet von Bakterien kultiviert auf Rapsschrotagar	87
Tabelle 24:	Qualitative Übersicht der durch Schimmelpilzstämmen produziert VOC, kultiviert auf Rapsschrotagar	88
Tabelle 25:	Aromastoffe, isotoopenmarkierte Standards, ausgewählte Massenspuren zur Quantifizierung, Responsfaktoren, Kapillarsäule(n) und Mess-Systeme zur Quantifizierung mittels Stabilisotoopenverdünnungassays	101
Tabelle 26:	Referenzaromastoffe für die Aromaprofilanalysen in NGS, NOF und NOFS	118
Tabelle 27:	Referenzaromastoffe für die Aromaprofilanalysen in GGS und GOFF	118
Tabelle 28:	Optimierte Prozessparameter der Kurzwegdestillation	119
Tabelle 29:	Statische Headspace-Verdünnungsanalyse des nativen Golden Standards	122
Tabelle 30:	Aromaaktive Verbindung, Geruchsqualität, Retentionsindices auf zwei verschiedenen stationären Phasen (DB-FFAP, DB-5) und FD-Faktoren in NGS und NOF Rapsöl sowie der Rapssaat NOFS auf dem NOF gepresst wurde	123
Tabelle 31:	Aromaaktive Verbindung, Geruchsqualität, Retentionsindices auf zwei verschiedenen Phasen (DB-FFAP, DB-5) und FD-Faktoren in GGS und GOFF Rapsöl	128
Tabelle 32:	Zur Quantifizierung eingesetzte satbilisotoopenmaarkierte Standards mit zugehörigen Massenspuren, Responsfaktoren sowie verwendete Kapillarsäulen und Systeme	131
Tabelle 33:	Konzentrationen der Aromastoffe im nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl (NGS)	133
Tabelle 34:	Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert von Schlüsselaromastoffen im nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl (NGS)	135
Tabelle 35:	Konzentrationen der Aromastoffe in nativem sensorisch stichig/modrigem Rapsöl (NOF)	136

Tabelle 36:	Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in nativem „Off-Flavor“- Rapsöl (NOF)	138
Tabelle 37:	Konzentrationen der Aromastoffe in stichig/modriger Rapssaat (NOFS)	140
Tabelle 38:	Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in stichig/modriger Rapssaat (NOFS)	141
Tabelle 39:	Konzentrationen der Aromastoffe in gedämpften „Golden Standard“- Rapsöl (GGS)	143
Tabelle 40:	Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in gedämpften „Golden Standard“- Rapsöl (GGS)	145
Tabelle 41:	Konzentrationen der Aromastoffe in gedämpftem, fischigem Rapsöl (GOFF)	146
Tabelle 42:	Konzentration von Trimethylamin bestimmt durch IEX und HS-SPME-HRGC-MS	148
Tabelle 43:	Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in gedämpftem, fischigem Rapsöl (GOFF)	148

1. Ergebnisse und Transferkonzept

1.1. Gegenüberstellung der Zielsetzung und Ergebnisse

Tabelle 1: Gegenüberstellung der Projektziele und Projektergebnisse

Projektziele	Projektergebnisse
AP 1 (FS 1) Sensorische Bewertung von erhitzten Rapsölproben	Während der Projektlaufzeit wurden Erhitzungsversuche mit verschiedenen raffinierten, dampfgewaschenen und nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen durchgeführt und die erhitzten Öle sensorisch bewertet. Keine der Proben bildete ein eindeutig fischiges Fehlroma während des Erhitzens oder nach dem Abkühlen.
AP 2 (FS 1) Sensorische Bewertung von nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen und Profiling	Im Projektzeitraum wurden insgesamt 275 native, kaltgepresste Rapsölproben durch die geschulte Prüfergruppe des MRI nach Methode DGF-C-II 1 (14) sensorisch bewertet und in Öle mit sensorisch guter bzw. schlechter Qualität kategorisiert. Ausgewählte Proben wurden zur Durchführung der Molekularen Sensorik an FS 2 weitergeleitet.
AP 3 (FS 1 + FS 2) Charakterisierung der für den fischigen Fehlgeruch verantwortlichen Geruchsstoffe	<p>Eine gedämpfte Rapsölprobe mit fischigem Fehlroma wurde an FS 1 mittels GC-MS analysiert und mit einer gedämpften sensorisch einwandfreien Rapsölprobe der gleichen Ölmühle verglichen. Insgesamt zeigten 21 identifizierte Verbindungen und 104 TAGs signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen dem sensorisch auffälligen und dem sensorisch unauffälligen Öl. Die Ergebnisse zeigten deutliche Unterschiede des gedämpften Rapsöls mit fischigem Geruch in den Konzentrationen einiger Alkohole, Aldehyde, Glucosinolat-abbauprodukte sowie sechs weiterer flüchtiger Verbindungen. Da es keine weiteren Zusendungen von Rapsölproben mit fischigem Fehlroma während der Projektlaufzeit gab, war eine Validierung der Ergebnisse nicht möglich. Zur Durchführung der Molekularen Sensorik wurde die Probe an FS 2 weitergeleitet.</p> <p>An der FS 2 wurde durch vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) mittels GC-Olfaktometrie (GC-O) ein</p>

	<p>Screening für die bedeutenden geruchsaktiven Verbindungen in gedämpften Rapsölen durchgeführt. Die Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen erfolgte anhand der Geruchsqualitäten mittels GC-O und den zugehörigen Retentionsindices auf zwei GC-Säulen verschiedener Polarität (DB-FFAP, DB-5) durch Abgleich mit einer internen Datenbank. Zusätzlich wurden Massenspektren im EI- und CI-Modus aufgenommen. 46 Aromastoffe wurden in einem sensorisch einwandfreie, gedämpften Rapsöl (GGS) und einem gedämpften Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (GOFF) mit der beschriebenen Methode analysiert. Es wurden nur geringfügige Unterschiede zwischen GGS und GOFF festgestellt und kein Hinweis auf den fischigen „Off-Flavor“ gefunden. Mittels Ionenaustauschchromatographie konnte Trimethylamin in der fischigen Probe (GOFF) identifiziert und quantifiziert werden. Eine HS-SPME-HRGC-MS basierte Methode zur Quantifizierung von Trimethylamin wurde entwickelt.</p> <p>Die Verbindungen mit den höchsten FD-Faktoren (bestimmt mittels vAEVA) bzw. die Verbindungen, deren FD-Faktoren sich zwischen GGS und GOFF deutlich unterschieden, wurden mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) quantifiziert. Auf Basis der ermittelten Konzentrationen und der jeweiligen Geruchsschwellen der Aromastoffe in Öl wurden die Aromawerte in beiden Proben berechnet, um damit eine Aussage zum Beitrag der einzelnen Aromastoffe zum Gesamtaroma treffen zu können. Die Verbindungen in GGS und GOFF mit einem Aromawert ≥ 1 wurden in den ermittelten Konzentrationen zu einem geruchsneutralen raffinierten Rapsöl dotiert und mit Hilfe eines trainierten Sensorikpanels in einem vergleichenden Aromaprofil mit dem sensorisch einwandfreien Rapsöl (GGS) bzw. dem fischigen Rapsöl (GOFF) anhand verschiedener Aromattribute bewertet. Beide gedämpfte Rapsöle zeigten eine hohe Übereinstimmung mit den jeweiligen</p>
--	--

	Rekombinaten.
AP 4 (FS 1 + FS 2) Untersuchung des Einflusses von Faktoren, die beim Erhitzen zu einem fischigen Fehlgeruch von Rapsöl führen	Es wurden Frittierversuche mit Pommes frites an ausgewählten raffinierten und nativen, sowie gedämpften kaltgepressten Rapsölproben unterschiedlicher sensorischer Qualität durchgeführt. Zusätzlich wurden Versuche zur Provokation eines fischigen Fehlromas durch Zugabe von FeCl ₃ , Sinapin/Sinapinsäure und Lecithin an ausgewählten Rapsölen durchgeführt. In keinem Fall konnte eindeutig ein fischiges Fehlroma festgestellt werden. Eine weitere Analyse dieser Öle an der FS 2 wurde daher nicht durchgeführt.
AP 5 (FS 1 + FS 2) Charakterisierung der Schlüsselaromastoffe in nativem, kaltgepressten Rapsöl sowie der für den stichig/modrigen Fehlgeruch verantwortlichen Verbindungen	Basierend auf den Ergebnissen des AP 2 wurden an der FS 1 flüchtige Verbindungen mittels dynamischer HS-GC-MS Analyse aus nativen, kaltgepressten Rapsölen extrahiert, analysiert und die Daten miteinander verglichen. Das Profiling der Daten wurde mit der Software MeltDB durchgeführt. Die Datenauswertung erfolgte mit Hilfe der Programme R und JMP [®] . Aus ausgewählten sensorisch guten und schlechten Rapsölen wurden 64 flüchtige Verbindungen mit Hilfe der GC-MS-Olfaktometrie detektiert und auf den Profiling-Datensatz von 20 sensorisch guten und 23 sensorisch schlechten Rapsölen übertragen. Eine Substanzidentifizierung erfolgte durch den Vergleich mit Standardsubstanzen oder Datenbankabfragen. 13 flüchtige Verbindungen zeigten in dem Datensatz von 43 Rapsölen einen signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen den sensorisch guten und den sensorisch schlechten Proben. In einem weiteren, die Arbeiten der FS 1 ergänzenden, Ansatz wurde an der FS 2 eine schonende und effiziente Methode zur Isolierung der Aromastoffe aus nativen Rapsölen durch Kombination einer Kurzwegdestillation mit anschließender Hochvakuumdestillation mittels Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) etabliert. Durch Optimierung des Prozesses konnten die benötigten Rapsölmengen (100 mL) bei gleicher Intensität halbiert werden. Durch vergleichende Aromaextraktver-

	<p>dünnungsanalyse (vAEVA) mittels GC-O wurde ein Screening für die bedeutenden geruchsaktiven Verbindungen in einem sensorisch einwandfreien nativen Rapsöl (NGS) sowie einem nativen Rapsöl mit stichig/modrigem Off-Flavor (NOF). Das Screening erfolgte ebenso wie die Identifizierung der aroma-aktiven Verbindungen, die Quantifizierung und Berechnung der Aromawerte sowie die Aromasimulation der beiden Proben entsprechend dem unter AP 3 beschriebenen Vorgehen an der FS 2. Zusätzlich zu dem stichig/modrigen Rapsöl (NOF) wurde die Saat (NOFS), aus der NOF gepresst wurde, untersucht, um den Einfluss des Pressprozesses auf die Ölqualität untersuchen. Die Analyse zeigte, dass die Saat bereits den charakteristischen „Off-Flavor“ enthält und damit der Pressvorgang als mögliche Ursache ausgeschlossen werden kann</p> <p>17 Verbindungen, die in NOF verglichen mit NGS deutlich angestiegen waren, wurden in weiteren 5 sensorisch guten und 8 sensorisch schlechten Rapsölproben quantifiziert, um Marker für den stichig/modrigen „Off-Flavor“ zu identifizieren. 2- und 3-Methylbuttersäure, 4-Methylphenol und 2-Phenylethanol konnten hier als Marker für den stichig/modrigen Fehlgeruch identifiziert werden.</p>
<p>AP 6 (FS 1 + FS 2) Entwicklung einer chromatographischen Methode auf Basis der identifizierten Geruchskomponenten</p>	<p>Auf Basis der aus dem AP 5 im Projektverlauf gewonnenen Daten, konnte im Rahmen einer Linearen Diskriminanzanalyse eine Formel entwickelt werden, mit deren Hilfe auch unbekannte Proben in die Kategorien der guten und schlechten Öle klassifiziert werden können.</p>
<p>AP 7 (FS 1) Untersuchung des Einflusses von Rapssorte, Anbaustandort, Erntezeitpunkt und Lagerbedingungen auf die gewünschten wertgebenden Aromastoffe bzw. die unerwünschten Fehl aromastoffe in nativem, kaltgepressten Rapsspeiseölen</p>	<p>Es wurde eine Methode zur Isolierung und Identifizierung des mikrobiellen Besatzes von Rapssaat etabliert. Von insgesamt 22 Bakterienstämmen und zwei Schimmelpilzgattungen konnten 29 bzw. 6 aroma-aktive flüchtige Verbindungen mittels SPME-GC-MS identifiziert werden. Mit einer Ausnahme waren alle Verbindungen als Metabolite von Bakterien und Schimmelpilzen bekannt. Elf der identifizierten</p>

	<p>flüchtigen Verbindungen aus dem Stoffwechsel der Mikroorganismen, wurden bereits als flüchtige Verbindungen in Rapsölen beschrieben. Die Verbindungen Acetoin, 2 und 3-Methylbutanal und Ethyl-2-Methylbutanoat, wurden im Rahmen dieses Forschungsprojekts bereits als Marker-substanzen für sensorisch schlechte Rapsöle identifiziert. Die Untersuchungen weisen somit auf einen deutlichen Zusammenhang zwischen einem mikrobiellen Besatz von Rapssaat und der sensorischen Qualität der resultierenden Rapsöle hin.</p> <p>Bei allen Lagerversuchen, die bei höherer Feuchtigkeit durchgeführt wurden, zeigten sich sehr schnelle Veränderungen im Profil der flüchtigen Verbindungen im Vergleich zur optimal gelagerten Saat. Bereits eine Temperatur von 30°C führte bei erhöhter Feuchtigkeit zu einer deutlich schnelleren Verschlechterung der sensorischen Qualität im Vergleich zur Lagerung bei Raumtemperatur. Im Lagerungsverlauf war eine deutliche Zunahme von flüchtigen Verbindungen auszumachen, die zum Teil zur Klassifizierung schlechter Öle herangezogen wurden (AP 5) und/oder aus der Stoffwechselfähigkeit von Mikroorganismen stammen können.</p> <p>Bei der Analyse zum Einfluss der Keimung auf die Rapsölqualität, wurde das Attribut „gekeimt“ von den Prüfern einheitlich ab dem dritten Keimungstag als Fehl aroma des resultierenden Rapsöls beschrieben und korrelierte zeitlich mit einem starken Anstieg der Abbauprodukte der Glucosinolate, die bei den Kreuzblütlern für die typische Schärfe verantwortlich sind.</p> <p>Bei der Analyse von Proben verschiedener Sorten und Standorte aus der Besonderen Ernteterminierung (BEE) von 2016, konnte kein eindeutiger Einfluss dieser Parameter auf das Profil der flüchtigen Verbindungen festgestellt werden.</p>
--	---

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises:

Für das Forschungsvorhaben 18039 N wurden folgende wissenschaftliche Mitarbeiter eingesetzt:

Wissenschaftliche Mitarbeiterin (01.02.2014 – 31.03.2017)

A.1	Gem. Einzelfinanzierungsplan	bisher abgerechnet	2017	kumuliert
HPA A FS1	30	26,1	2,7	28,8
HPA A FS 2	15	14,5	0,5	15

Die im Rahmen des Projektes durchgeführten Arbeiten entsprechen in vollem Umfang den im Antrag beschriebenen und später begutachteten und bewilligten Ansätzen und waren für die erfolgreiche Durchführung der Projektarbeiten notwendig und angemessen. Für dieses Projekt wurden keine Geräte seitens der Forschungsstelle angeschafft. Es wurden keine Leistungen Dritter für das Vorhaben in Anspruch genommen.

1.2. Darstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen Nutzens der erzielten Ergebnisse

Ein Ziel des Projektes war es, Markersubstanzen zu identifizieren, die für die Bewertung sensorisch guter und sensorisch schlechter Öle in der Qualitätssicherung herangezogen werden können, um die sensorische Prüfung zu unterstützen. Im Rahmen des Projektes sind verschiedene Substanzen identifiziert worden, die mit signifikant höheren Gehalten in sensorisch auffälligen kaltgepressten Rapsölen auftreten und somit als Marker für die Differenzierung sensorisch guter und schlechter Öle verwendet werden können. Dazu wurde auf Basis eines Datensatzes von 20 sensorisch gut und 23 sensorisch schlecht bewerteten Rapsölen mit Hilfe der Linearen Diskriminanzanalyse der Zusammenhang zwischen 13 flüchtigen Aromastoffen und der sensorischen Qualität abgeleitet.

Nach Etablierung der Methode ist es somit möglich, die Qualität des hergestellten Rapsöls zu bewerten, ohne zeit- und personalintensive sensorische Bewertungen durchführen zu müssen. Somit lassen sich relativ schnell und einfach fehlerhafte Chargen identifizieren, die dann nicht mehr in den Markt gelangen. Da natives, kaltgepresstes Rapsöl ein sehr gutes Image beim Verbraucher besitzt, wird durch die Verbesserung der Qualitätssicherung erreicht, dieses positive Image nachhaltig zu stärken und zu schützen.

Im Rahmen des Projektes wurde auch eine Methode etabliert, flüchtige Verbindungen von Rapssaat mittels Solid Phase Micro Extraction (SPME) zu extrahieren und anschließend mit Hilfe der Gaschromatographie zu trennen und die relevanten flüchtigen Verbindungen mit Massenspektrometrie zu detektieren. Somit ist es möglich, schon sehr früh fehlerhafte Chargen von Rapssaat aus der weiteren Produktion auszuschließen und so schon zu Beginn des Produktionsprozesses sicherzustellen, dass sensorisch fehlerhafte kaltgepresste Rapsspeiseöle nicht in den Markt gelangen.

Des Weiteren konnte in dem Projekt der Zusammenhang zwischen Rapslagerung bzw. Rapskeimung und der Bildung flüchtiger Aromastoffe gezeigt werden. Die Bildung flüchtiger Aromastoffe während der Lagerung bzw. Keimung beeinflusst die sensorische Qualität der Öle negativ. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen unterstützen die im Projekt AiF 13430 N gemachten Aussagen, dass eine sorgfältige Lagerung der Rapssaat für die Qualität von kaltgepresstem Rapsöl von entscheidender Bedeutung ist. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl eine erhöhte Rapsfeuchte als auch eine erhöhte Temperatur während der Lagerung sehr schnell zu dramatischen Qualitätseinbußen führt. Während der Keimung geht die Änderung des Profils der flüchtigen Verbindungen mit dem Abbau von Inhaltsstoffen wie Glucosinolaten oder Aminosäuren einher. Diese Ergebnisse zeigen noch einmal eindrücklich, dass ein sorgfältiges Saatmanagement von der Ernte bis zur Verarbeitung der Saat für die Herstellung von qualitativ hochwertigem Rapsöl dringend notwendig ist. Dies wird in vielen Ölmühlen bereits heute berücksichtigt.

1.3. Publikationsliste

Bonte, A., Brühl, L., Vosmann, K. and Matthäus, B. (2016), A chemometric approach for the differentiation of sensory good and bad (musty/fusty) virgin rapeseed oils on basis of selected volatile compounds analyzed by dynamic headspace GC-MS. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*. doi:10.1002/ejlt.201600259

Matheis, K.; Granvogl, M. (2016). Characterization of key odorants causing a fusty/musty off-flavor in native cold-pressed rapeseed oil by means of the sensomics concept approach. *J. Agric. Food Chem.* 64, 8168-8178.

Matheis, K.; Granvogl, M. (2016). Characterisation of the key aroma compounds in commercial native cold-pressed rapeseed oil by means of the sensomics approach. *Eur. Food Res. Technol.* 242, 1565-1575.

Geplante Publikationen:

- Bonte, A., Ma, F., Brühl, L., Matthäus, B. (2017): The effect of unfavorable storage conditions of *Brassica napus* seeds on volatile compound composition and sensory quality of virgin, cold-pressed rapeseed oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*
- Matheis, K.; Granvogl, M. (2017). Investigation of the fishy off-flavor in steam-treated rapeseed oil using sensomics. *J. Agric. Food Chem.*
- Matheis, K.; Granvogl, M. (2017). Multivariant analysis on native, cold-pressed rapeseed oils eliciting a fusty/musty "off-flavor" for development of a quick method for quality control. *Food Chem.*
- Schweiger, R.; Bonte, A., Pons, C., Wagner, C., Brühl, L., Müller, C., Matthäus, B. (2017): Metabolic changes during storage of *Brassica napus* seeds under moist conditions and consequences for the sensory quality of the resulting virgin oil. *J. Agric. Food Chem.*
- Wagner, C., Bonte, A., Brühl, L., Niehaus, K., Bednarz, H., Matthäus, B.: Contribution of microorganisms growing on rapeseed during storage to the profile of volatile compounds of virgin rapeseed oil (2017), *J. Sci. Food Agric.*

1.4. Einschätzung der Realisierbarkeit des Transferkonzepts

Die im Projekt erarbeiteten Ergebnisse zur Entwicklung einer Methode für die Bestimmung von flüchtigen Aromakomponenten auf Basis der dynamischen Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie lässt sich relativ einfach in Laboren der Überwachungsbehörden, in Handelslaboren, aber auch in Laboren der Industrie realisieren. Das dafür benötigte Equipment gehört heute bereits oftmals zur Standardausrüstung von Laboren. Der finanzielle Aufwand ist für größere Hersteller vertretbar, kleinere Betriebe, für die sich die Anschaffung eines solchen Analysesystems nicht rechnet, sollten hier mit Handelslaboren zusammenarbeiten. Die Etablierung der Methode in einem Labor ist innerhalb von zwei Monaten zu erreichen.

Im Projekt sind die relevanten Markersubstanzen sowie der statistische Zusammenhang zwischen den Verbindungen und der sensorischen Bewertung von kaltgepressten Rapsspeiseölen in einer Formel dargestellt worden. Diese können von interessierten Laboren übernommen und auf die vorhandenen Möglichkeiten adaptiert werden. Bei der dynamischen Headspace GC-MS handelt es sich um eine robuste und routinefähige Methode und auch die SPME-GC-MS für die Analyse der Rapssaaten ist in der Praxis etabliert. Damit steht den Herstellern von kaltgepresstem Rapsöl aber auch der weiterverarbeitenden Industrie eine wirksame Methode zur Verfügung, die Qualitätskontrolle wesentlich zu verbessern und effizienter zu gestalten. Durch die Korrelation der sensorischen Bewertung von Rapssaaten und kaltgepresstem Rapsöl mit den Ergebnissen der gaschromatographischen Analyse der flüchtigen Verbindungen, lässt sich die Bewertung

der Saaten und der Öle objektivieren. Dadurch ist es möglich, die sensorische Qualität der Produkte vergleichbarer zu machen.

Der Einfluss der Lagerbedingungen auf die Qualität von kaltgepresstem Rapsöl wird in der Praxis bereits heute von vielen Herstellern berücksichtigt. Die in dem Projekt erarbeiteten Ergebnisse zeigen noch einmal die Notwendigkeit der Umsetzung von Maßnahmen auf, die Qualität der Rapssaat von der Ernte bis zur Verarbeitung zu erhalten. Eine Umsetzung ist je nach Größe der Ölmühle oder des Lagerbetriebes mit Kosten für den Umbau der vorhandenen oder Neubau von Lagerkapazitäten verbunden, die ausreichend belüftet und ggf. auch gekühlt werden können.

Der Plan zum Ergebnistransfer ist dem Abschlussbericht als Anlage beigefügt.

2. Darstellung der durchgeführten Arbeiten und Untersuchungen der Forschungsstelle 1: Max Rubner-Institut, Detmold

2.1. Material und Methoden

2.1.1. Probenmaterial

Während des Projektzeitraums wurden sowohl Rapssaaten als auch native, kaltgepresste Rapsöle, gedämpfte, kaltgepresste Rapsöle und raffinierte Rapsöle von verschiedenen Ölmühlen über den Projektbegleitenden Ausschuss zur Verfügung gestellt. Weitere Proben wurden aus den jährlich stattfindenden Verkostungen der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft e. V. (DLG) und der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft e. V. (DGF) zur Verfügung gestellt. Rapssaat für Lagerversuche und die Besiedelung mit Mikroorganismen wurde von Partnern aus dem Projektbegleitenden Ausschuss bereitgestellt. Insgesamt wurden im Projektzeitraum 275 native, kaltgepresste Rapsöle analysiert, die teilweise aus zugesandten Rapssaaten selbst zu Rapsöl verpresst wurden oder in Form von Handelsware der FS 1 zugesandt wurden.

2.1.2. Standardsubstanzen

Standardsubstanzen zum Aufbau einer Referenzliste (Tabelle 6) wurden von den Firmen Sigma-Aldrich/ Merck (Darmstadt, Deutschland) bezogen.

2.1.3. Gewinnung von nativem, kaltgepressten Rapsspeiseöl

Rapsöl wurde mit einer Schneckenpresse (Komet, IBG Monforts & Reiners GmbH & Co, Mönchengladbach, Deutschland) aus Rapssaat gepresst. Die Ölpresse besteht aus Förderschnecke, Presszylinder und Presskopf (ohne Zusatzheizung) mit Düse. Die Schneckendrehzahl wurde auf 32 U/min eingestellt und eine 6 mm Düse in den Presskopf eingesetzt.

Das gewonnene Rapsöl wurde mit Hilfe eines Glasfaserfilters (13400-50-Q, Sartorius, Göttingen, Deutschland) von Schwebstoffen befreit, nachdem das Öl über Nacht im Kühlschrank durch Sedimentation vorgereinigt wurde. Bis zur weiteren Nutzung wurde das Rapsöl in Braunglasflaschen im Kühlschrank (4°C) gelagert.

2.1.4. Herstellung von Rapsöl mit negativen sensorischen Attributen

Um die Zusammensetzung der flüchtigen Verbindungen in sensorisch gut bzw. schlecht bewertetem Rapsöl besser erfassen und vergleichen zu können, wurde ein Rapsöl aus guter Saat wie unter 2.1.3. beschrieben hergestellt. Als Vergleich dazu wurde eine fehlerhaft, gelagerte Rapssaat mit vergorenem, stichig/modrigem Fehleroma im Verhältnis 50:50 mit der sensorisch guten Rapssaat gemischt und daraus wiederum ein Rapsöl gepresst. Dieses Rapsöl enthält die flüchtigen Verbindungen, die ein sensorisch gut bewertetes Rapsöl ausmachen und daneben auch Verbindungen, die in sensorisch als schlecht bewerteten Rapsölen vorkommen. Somit ist eine Zuordnung von Verbindungen, die typisch für sensorisch gut bzw. schlecht bewertete Rapsöle sind, möglich.

2.1.5. Sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle

Alle Rapsöle wurden von dem am MRI etablierten Rapsölpanel nach Methode DGF-C-II 1 (14) sensorisch bewertet. Die auf Raumtemperatur akklimatisierten Rapsöle wurden in ein blaues Sensorikglas (Abbildung 1) gefüllt (15 mL) und bis zur Verkostung mit einem Uhrglas abgedeckt.



Abbildung 1: Blaues Sensorikglas mit Rapsöl und Uhrglasabdeckung

Auf einer Skala von 0 (nicht wahrnehmbar) – 5 (sehr stark wahrnehmbar) wurde die Intensität der arttypischen Attribute „saatig“, „nussig“, „strohig/holzige“ und „adstringierend“ bewertet. Das Vorhandensein der artfremden Attribute „röstig/verbrannt“, „bitter“, „ranzig“, „stichig/modrig“ oder „andere“, wurde mit „ja“ oder „nein“ erfasst. Die sensorischen Eindrücke wurden von jeder Prüfperson in einem Prüfbogen notiert (Abbildung 2). Aus den Einzelergebnissen der Prüfer wurde der Median als Ergebnis der sensorischen Bewertung der Probe berechnet. Sensorisch einwandfreie Rapsöle mussten mindestens eine Saatigkeit von 1 aufweisen und ein artfremdes Attribut durfte nicht wahrgenommen werden. Das Vorhandensein der Attribute „strohig/holzige“ und „adstringierend“ wurde bis zu einer Intensität von 1 als arttypisch akzeptiert. Rapsöle, die ein oder mehrere artfremde Attribute aufwiesen, wurden als „sensorisch schlecht“ eingeteilt.

Tab. 3: Beschreibung für natives Rapsöl

Datum: **Prüfer:** **Probenbezeichnung:**

Arteigene Attribute	0	1	2	3	4	5
saatig						
nussig						
holzig, strohig ^{*)}						
adstringierend						
Artfremde Attribute	Nein		Ja			
röstig, verbrannt						
bitter						
ranzig						
stichig, modrig						
holzig, strohig > 1 ^{*)}						
Andere:						
^{*)} holzig, strohig > 1 sind artfremde Attribute						

0 = nicht wahrnehmbar
1 = gerade eben wahrnehmbar
2 = schwach wahrnehmbar
3 = deutlich, mittelstark wahrnehmbar
4 = stark wahrnehmbar
5 = sehr starkwahrnehmbar

Abbildung 2: Prüfbogen für die sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Rapspeiseöle gemäß Methode DGF-C-II 1 (14)

2.1.6. GC-MS-Analyse nativer, kaltgepresster Rapspeiseöle

Die GC-MS-Analyse wurde sowohl für die zugesendeten Handelsproben als auch für Rapsöle, die zum einen aus zugesendeten Saaten und zum anderen aus den Lagerversuchen mit Rapssaat hergestellt wurden, angewendet. Die Extraktion der flüchtigen Verbindungen erfolgte mittels dynamischer Headspace (PTA 3000, IMT Innovative Messtechnik GmbH, Vohenstrauß, Deutschland). Die Analyse wurde nach der Methode DGF-C-VI 20 (11) durchgeführt. Die Einstellungen der verwendeten Geräte sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Messparameter und Einstellungen der verwendeten Analysegeräte zur dynamischen Headspace-GC-MS-Analyse

Dynamische Headspace (dyn. HS)¹

	<u>Temperatureinstellungen [°C]</u>
Ventil	150
Verbindungskapillare	200
Probe	80
Kühlfalle Desorption	200
Kühlfalle Kühlung	-35

	<u>Weitere Einstellungen</u>
Austreibzeit	20 min.
Desorptionszeit	10 min.
Trägergasfluss (N ₂)	20 mL/min.
Kühlung zur Kryofokussierung	Peltier
Kühlfallen-Material	Tenax

Gaschromatograph (GC)²,

Fused Silica Kapillarsäule, CP-Sil 19, 0,32 mm ID, 60 m lang, 1µm Filmdicke

	<u>Ofenprogramm</u>
Equilibrierungszeit	30 s.
Isotherm	5 min. bei 40 °C
Gradient	3 C°/min. bis 245 °C
Isotherm	10 min. bei 245 °C

Massenspektrometer (MS)³

	<u>Einstellungen</u>
Transferlinientemperatur	200 °C
Ionenquellentemperatur	230°C
Ionisations-Modus	EI
Ionenpolarität	positiv
Scanbereich	35 - 300 m/z
Scanzeit	0,2 s.

¹PTA 3000 (Fa. IMT); ²Trace 1300 Series GC (Fa. Thermo Scientific); ³ISQ (Fa. Thermo Scientific)

Für die GC-MS-Analyse wurden 400 mg der Rapsölproben in ein 20 mL Headspace-Gläschen (IMT Innovative Messtechnik GmbH, Vohenstrauß, Deutschland) gefüllt und ca. 50 µL (3 Tropfen) eines Alkan-Standardmix (c = 1 mg/kg) zur Bildung der Retentionsindices (RI) zugegeben (Tabelle 3). Zur Bildung des RI ist eine gleichmäßige Verteilung der Alkane über den Chromatogrammbereich, in dem Substanzen identifiziert werden können, notwendig. Diese Verteilung ist mit Hilfe der in Tabelle 3 gelisteten Alkane gegeben.

Tabelle 3: Bestandteile des Alkan-Mix (c = 1 mg/kg) zur Erstellung der Retentionsindices

Alkan	Kohlenstoffkette	Retentionsindex (RI)
Pentan	C5	500
Heptan	C7	700
Octan	C8	800
Nonan	C9	900
Undecan	C11	1100
Tridecan	C13	1300

Die Gläschen wurden anschließend mit PTFE-Silikon-Septen (IMT Innovative Messtechnik GmbH, Vohenstrauß, Deutschland) luftdicht verschlossen und die Proben in je zwei Replikaten analysiert. Vor jeder gestarteten Sequenz wurde eine Luftprobe als Blindwert vermessen, um die Sauberkeit des Systems zu prüfen und die Vergleichbarkeit der Retentionszeiten zu verbessern.

2.1.7. Frittierversuche

Während der Projektlaufzeit wurden wiederholt Frittierversuche mit unterschiedlichen Rapsölen durchgeführt (A. – D.), um ein fischiges Fehl aroma zu provozieren:

A. Frittierversuche mit verschiedenen Rapsölen und Pommes frites als Frittiergut

Im Frittierversuch A wurden vier Mini-Fritteusen (Fassungsvermögen 1,2 Liter, AEG FFR 5551, Elektrolux Hausgeräte GmbH, Nürnberg) mit folgenden Rapsölen gefüllt:

1. Gedämpftes Rapsöl
2. Natives kaltgepresstes Rapsöl
3. Raffiniertes Rapsöl (frisch)
4. Raffiniertes Rapsöl (ein Jahr Kühlschranklagerung)

Die Öle wurden in der Fritteuse innerhalb einer Stunde auf 175°C erhitzt und dann 50 g Pommes frites jeweils einmal pro Stunde, über einen Zeitraum von sechs Stunden, 6 min. lang frittiert. Eine sensorische Bewertung des Frittierguts und des erkalteten Frittieröls bezüglich der Ausbildung eines fischigen Fehl aromas erfolgte durch mindestens vier Testpersonen.

B. Frittierversuche mit raffiniertem Rapsöl und Zugabe von FeCl₃ zur Provokation eines fischigen Aromas. Frittiergut: Pommes frites

Zur Provokation eines fischigen Fehl aromas wurden vier Mini-Fritteusen mit frischem raffiniertem Rapsöl befüllt. Den Rapsölen wurde eine alkoholische FeCl₃-Lösung (c=10 mg/mL) in folgenden Konzentrationen zugesetzt:

1. ohne Zusatz
2. 1 mg FeCl₃/1200 mL Öl (100 µL der Stammlösung)
3. 5 mg FeCl₃/1200 mL Öl (500 µL der Stammlösung)
4. 10 mg FeCl₃/1200 mL Öl (1000 µL der Stammlösung)

Die Rapsöle wurden an vier Tagen 1 x täglich auf 175°C erhitzt. Das Frittiergut wurde nach dem Erreichen der Frittier temperatur 6 min lang frittiert. Anschließend wurde die Fritteuse abgestellt und dann das heiße Öl, die fertigen Pommes frites sowie das erkaltete Frittieröl von mindestens vier Testpersonen auf die Bildung eines fischigen Fehl aromas olfaktorisch bewertet.

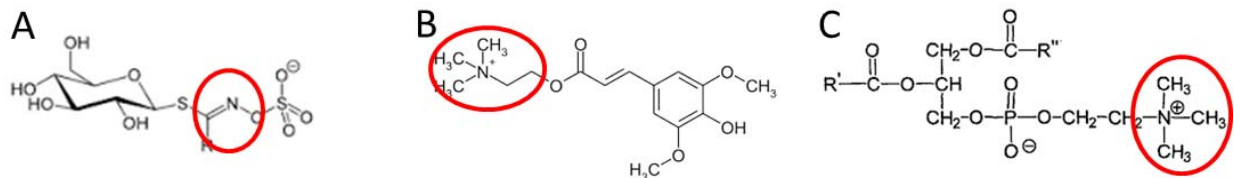
C. Frittierversuche mit Rapsölen aus glucosinolatreicher Rapssaat

Für den Frittierversuch C wurden drei Rapsöle (Probe 1, 2 und 3), hergestellt aus glucosinolatreichen Rapssaaten und wie unter Kapitel 2.1. beschrieben zu nativem Rapsöl verarbeitet, sensorisch bewertet und analysiert. Im Vergleich zur üblichen Handelsware wiesen die verwendeten Rapssaaten deutlich höhere Gehalte an Glucosinolaten auf (>100 µmol/g im Vergleich zu 18 – max. 25 µmol/g). Glucosinolate sind stickstoffhaltige Glycoside, bei denen es denkbar ist, dass sie unter Temperatureinwirkung zu Aminen umgebaut werden.

Lecithin und Sinapin enthalten in der Struktur stickstoffhaltige Amine (Abbildung 3), so dass auch hier unter Temperatureinwirkung die Freisetzung fischig riechender Amine denkbar ist. Um zu überprüfen, ob diese Verbindungen sich unter Erhitzen zu aroma-aktiven kurzkettigen Verbindungen abbauen und dadurch ein fischiges Fehl aroma verursachen, wurde den

Rapsölen aus glucosinolatreicher Rapssaat zusätzlich Lecithin (5%) und Sinapin (0,05%) bzw. Sinapinsäure (1%) zugegeben. Alle Rapsöle wurden in einer Fritteuse bei 175°C erhitzt und Pommes frites als Frittiergut eingesetzt. Anschließend erfolgte eine sensorische Bewertung des Frittierguts und der als Frittiermedium genutzten Rapsöle durch mindestens vier geschulte Personen.

Abbildung 3: Stickstoffhaltige Verbindungen, deren Abbau zu kurzkettigen, aroma-aktiven Verbindungen führen kann. A: Glucosinolate. B: Sinapin. C: Lecithin



D. Frittierversuche mit Rapsölen unter Zugabe von Sinapinsäure

Zur Provokation eines fischigen Fehlparomas wurde Sinapinsäure (1%) fünf verschiedenen Rapsölproben zugesetzt:

1. Raffiniertes Rapsöl
2. Natives Rapsöl, schlechte sensorische Qualität
3. Natives Rapsöl, gute sensorische Qualität
4. + 5. natives Rapsöl, schlechte sensorische Qualität, erhöhte Glucosinolatgehalte (>100 µmol/g)

Die Rapsöle wurden jeweils einmal mit und einmal ohne Zugabe von Sinapinsäure (1%) 2x über einen Zeitraum von 10 min. mit Pommes frites als Frittiergut bei 175°C erhitzt und anschließend von sieben geschulten Personen sensorisch bewertet.

2.1.8. GC-MS-Olfaktometrie (GC-MS-O)

Mit Hilfe der GC-MS-O wurde sichergestellt, dass im weiteren Verlauf der Arbeiten aroma-aktive flüchtige Verbindungen erfasst und diese für die Entwicklung einer Schnellmethode herangezogen werden konnten. Die Durchführung der Arbeiten mit unterschiedlichen Extraktionsmethoden an FS 1 und FS 2, führte insgesamt zu einer größeren Anzahl aroma-aktiver flüchtiger Verbindungen, wodurch sich die Arbeiten gegenseitig ergänzten.

Für die GC-MS-O-Analyse der FS 1 wurde die Probe mittels dynamischer Headspace extrahiert und die Trennung der Verbindungen mit einem Agilent 5975 GC-MS (Agilent

Technologies, Santa Clara, USA) durchgeführt. Hierzu wurden 3 g der Rapsölprobe im Autosampler auf 80 °C erhitzt, 15 min. im Trägergasstrom (Helium) überspült und so die flüchtigen Verbindungen auf ein Tenax-Adsorbens überführt. Die thermische Desorption erfolgte direkt im Anschluss an die Extraktion bei einer Temperatur von 200°C (splitless) über einen Zeitraum von 10 min. Mittels Kryo-Kühlung bei -65 °C wurden die flüchtigen Verbindungen während der Desorption aufgefangen und anschließend durch Aufheizen mit 12°C/s über einen Zeitraum von 3 min. bis zu einer Temperatur von 200°C auf die GC-Säule transferiert.

Die verwendete GC-Säule, das Temperaturprogramm sowie die Einstellungen des MS entsprechen den Angaben aus Tabelle 3. Der Split zwischen MS und dem Sniffing-Port (ODP, Gerstel, Mühlheim a. d. Ruhr, Deutschland) betrug 1:3. Die Empfindlichkeit des MS wurde bei diesen Messungen auf einen Gain-Faktor von 0.75 herabgesetzt. Mit Hilfe von mindestens fünf Testpersonen wurden die am Sniffing-Port ankommenden Verbindungen hinsichtlich Retentionszeit sowie Art und Intensität der Geruchswahrnehmung beschrieben und dokumentiert. Die wahrgenommenen Gerüche wurden mit den aufgezeichneten Chromatogrammen des GC-MS verglichen und den zum Zeitpunkt der Geruchswahrnehmung vorhandenen Peaks zugeordnet. Eine Substanz wurde als aroma-aktiv detektiert, wenn diese von mindestens drei Testpersonen olfaktometrisch wahrgenommen wurde. Anschließend erfolgte eine Datenbankabfrage der aroma-aktiven Verbindungen über die NIST 05 Datenbank.

2.1.9. Methodenüberprüfung zur Detektion von Pyrazinen in nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen

Die Detektion von Pyrazinen, die nach den Ergebnissen der FS 2 einen Beitrag zum Aroma kaltgepresster Rapsöle leisten (vgl. Kapitel 3.2.) gestaltete sich mit einer GC-MS-Methode aufgrund der sehr geringen Konzentrationen schwierig. Hinzu kam, dass die Verbindungen aufgrund ihrer hohen Aromaaktivität zwar olfaktometrisch von den Prüfern wahrgenommen werden konnten, aber im Chromatogramm nicht als Peak sichtbar waren. Es wurde daher überprüft, ob die Detektion von Pyrazinen mit geänderten Einstellungen der Methode zuverlässig durchgeführt werden kann. Hierzu wurden die in Tabelle 4 aufgelisteten Parameter überprüft.

Tabelle 4: Einstellungen zur Detektion von Pyrazinen mittels dyn.HS-GC-MS

	Proben- menge [g]	Purgezeit [min]	Proben- temperatur [°C]	Konzentration der Standards [µg/kg]
Normalbedingungen	0,4	20	80	-
Untersuchte Parameter	1; 1,5; 2	40; 60	100; 200	100; 500, 1000

Als Probenmaterial zur Überprüfung verschiedener Parametereinstellungen wurden raffinierten Rapsölen die Standardsubstanzen 2-Isopropyl-3-methylpyrazin (S1) und 2-Isobutyl-3-methylpyrazin (S2) zugegeben.

Zudem wurden insgesamt vier native Rapsöle auf das Vorkommen von Pyrazinen bei veränderten Parametereinstellungen überprüft. Es handelt sich dabei um zwei sensorisch gute Proben und zwei sensorisch fehlerhafte Probe (V2 und SP). In einer der sensorisch fehlerhaften Proben konnten bereits mit den Standardeinstellungen sechs Pyrazine Methylpyrazin, Ethylpyrazin, 2,3-Dimethylpyrazin, 2-Ethyl-5-methylpyrazin, 2-Ethyl-6-methylpyrazin und 2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazin detektiert werden.

2.1.10. Lagerversuch von Rapssaat unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur

In einem dreiwöchigen Lagerversuch wurde die Veränderung der flüchtigen Verbindungen in Rapssaat unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur überprüft. Je 500 g Saat wurden in 20 verschließbare Plastikbehälter gefüllt und mit 15% Feuchtigkeit bei Raumtemperatur (RT, 22°C; Lagerbedingung A) bzw. 15% Feuchtigkeit bei 30°C (Lagerbedingung B) gelagert. Nach 3, 10, und 17 Tagen wurde aus jedem Ansatz jeweils ein Behälter geöffnet, die Saat wie unter 2.1. beschrieben gepresst und das gewonnene Öl filtriert. Anschließend erfolgte eine sensorische Bewertung der Öle aus beiden Lagerversuchen. Die Messungen der flüchtigen Verbindungen erfolgte wie unter Kapitel 2.1.6. beschrieben. Die Auswertung erfolgte unter den in Tabelle 5 aufgeführten Parametern.

2.1.11. Keimung von Rapssaat

Zur Überprüfung, wie sich das Profil der flüchtigen Verbindungen während der Keimung von Rapssaat verändert, wurde ein viertägiger Keimungsversuch unter Tageslichteinfluss bei Raumtemperatur durchgeführt. Je 450 g Saat wurden auf vier mit Zellstoff ausgelegten Tablett einlagig aufgebracht. Die Saat wurde mit destilliertem Wasser befeuchtet und permanent feucht gehalten. An vier aufeinander folgenden Tagen wurde der Zellstoff von jeweils einer Saatprobe entfernt und die Saat 24 Stunden lang bei Raumtemperatur

getrocknet. Zum Pressen wurde die gekeimte Saat 1:1 mit nicht gekeimter Saat vermischt, um eine gute Pressbarkeit der Saat zu gewährleisten. Als Nullprobe wurde ein Öl aus der gleichen ungekeimten Saat gepresst. Nach der Filtration erfolgte die Messung der flüchtigen Verbindungen mittels dyn. HS-GC-MS- wie unter Kapitel 2.1. beschrieben. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Softwareplattform MeltDB, unter Anwendung der in Tabelle 5 beschriebenen Einstellungen. Die Ergebnisse wurden sowohl mit den Ergebnissen aus dem Versuch zur Lagerung unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur (Kapitel 2.2.10.), als auch denen des Bakterienversuchs verglichen (Kapitel 2.1.14.).

Parallel zu den Arbeiten an FS 1 wurden in einer Kooperation mit dem Lehrstuhl für Chemische Ökologie der Universität Bielefeld Analysen zum Gehalt der Glucosinolate und Aminosäuren aus Saatproben des Keimungsversuchs durchgeführt. Hierzu wurden von jedem Keimungstag Saatproben genommen und die Aminosäuren und Glucosinolate in diesen Proben mittels UHPLC-FLD und HPLC-DAD gemessen.

2.1.12. Einfluss von Rapssorte und Standort auf das Profil flüchtiger Verbindungen

Für die Überprüfung des Einflusses von Rapssorte und Standort auf das Profil der flüchtigen Verbindungen in resultierenden nativen Rapsölen wurden insgesamt acht Saatproben aus den Rückstellproben der Besonderen Erntermittlung (BEE), die jährlich am Max Rubner-Institut durchgeführt wird, analysiert. Es handelte sich dabei um die drei Sorten Avatar (AV), Raptor (RA) und PR 46W20 (PR). Die Sorten stammten von folgenden Standorten:

AV: Bayern (BY), Brandenburg (BB), Sachsen-Anhalt (SAN)

RA: Brandenburg (BB), Hessen (HE), Niedersachsen (NIS)

PR: Bayern (BY), Thüringen (TH)

Die Saatproben wurden entsprechend der unter Kapitel 2.1. beschriebenen Methoden zu nativen Rapsölen gepresst, verkostet, analysiert und ausgewertet.

2.1.13. Datenauswertung und Statistik

Datenauswertung

Die Datenauswertung der GC-MS-Daten erfolgte mit der von der Bioinformatics Resource Facility der Universität Bielefeld entwickelten Software-Plattform MeltDB (Neuweger et al., 2008, Kessler et al., 2013). Die Rohdatenformate der Messungen wurden dazu in das cdf-Datenformat konvertiert. Die Messungen der verschiedenen Versuche wurden in entsprechende Experimente zusammengefasst und abhängig von der jeweiligen

Fragestellung in verschiedene Untergruppen kategorisiert (z. B. sensorisch gut/schlecht; gekeimt/ungekeimt). Für die Lagerversuche wurden die Daten gleicher Lagertage in Untergruppen zusammengefasst, für die Profiling Analysen wurden die Öle anhand ihrer sensorischen Eigenschaften kategorisiert. Die Auswertung der jeweiligen Experimente erfolgte mit verschiedenen Algorithmen (Tools), die zuvor an das Untersuchungsmaterial angepasst wurden (Tabelle 5).

Für die Anpassungen wurde ein kleiner Testdatensatz von vier Chromatogrammen eingesetzt, an dem verschiedene Tools getestet wurden, damit hinsichtlich Peakdetektion, Profiling und Identifizierung das für diesen Datensatz bestmögliche Ergebnis erzielt werden konnte. Bei den Testläufen wurden bezüglich der Peakdetektion sowohl verschiedene Peakdetektionsmethoden (Warped Peak detection (Fredriksson et al., 2009) und XCMS Peak Detektion (Smith et al., 2006) als auch verschiedene Signal-to-Noise Einstellungen überprüft, um möglichst effizient Substanzpeaks vom Hintergrundrauschen herausfiltern zu können. Für das Profiling und die Peakidentifizierung wurden die geeigneten Retentionszeitfenster gesucht, in denen eine Trennung nahe beieinander liegender Peaks mit ähnlichen Massenspektren noch möglich war, aber gleichzeitig auch Retentionszeitverschiebungen gleicher Substanzen in den verschiedenen Proben noch erfasst werden konnten. Alle Daten wurden mit Hilfe der Software teilautomatisiert nach folgendem Schema analysiert:

Tabelle 5: Verwendete Tools der Auswertesoftware MeltDB zur Auswertung der GC-MS Daten nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle

Nr.	Tool
1	Warped GC-MS Peak Detection (SN 5 FWHM 6)
2	MeltDB Multiple Profiling (10 sec Window)
3	CosineGMD und Cosine NIST 2008
4	Reference list of aromatic compounds 2 und 3

Erläuterungen der Tools aus Tabelle 5:

1. Peak Detektion

Warped GC-MS Peak Detection (Fredriksson et al, 2009), Signal to Noise-Faktor (S/N) 5. Ein detektierter Peak wird in der TIC-Ansicht des Experiments mit einem blauen Punkt markiert (Abbildung 4).

Bildung des RI-Index

Der RI-Index basiert auf dem Alkanmix (Kapitel 2.1.6.), der den Proben vor der Analyse zugegeben wird. Die Zuweisung der entsprechenden Alkane erfolgt manuell an einem

Chromatogramm durch Zuordnung der zugehörigen Retentionszeit zu dem entsprechenden RI-Index aus Tabelle 4. Die Angaben für die Alkane werden automatisch auf alle Chromatogramme des Experiments übertragen. Der RI wird für alle mit dem Peak Detektion –Tool erfassten Peaks errechnet.

2. Profiling

Beim Profiling wird das Experiment nach Substanzen untersucht, die in mind. 80% aller Proben oder innerhalb einer Chromatogrammgruppe mit der gleichen substanztypischen Masse zur gleichen Retentionszeit auftreten. Diese Substanzen werden unter Angabe von Retentionszeit und substanzspezifischer Masse als TAG annotiert und mit einem grünen Punkt markiert (Abbildung 4). Die Erfassung von Peakbreite und Peakintensität der TAGs ermöglichen die Einbeziehung dieser nicht identifizierten Substanzen in die Datenauswertung.

3. Datenbankabfrage

Durch einen Abgleich mit der Golmer Metabolom Datenbank (Kopka et al., 2005) und der NIST 2008 (NIST) Datenbank werden für alle Substanzen Datenbankvorschläge hinterlegt, die eine Identifizierung von Substanzen, die nicht in der Referenzliste enthalten sind, ermöglicht.

4. Identifizierung mit Hilfe der Referenzliste

Mit Hilfe gemessener Standardsubstanzen wurde in MeltDB eine Referenzliste erstellt, die eine Identifizierung von Substanzen auf Basis der hinterlegten Angaben von Retentionszeit, Retentionsindex und den festgelegten substanzspezifischen Massen ermöglicht. Identifizierte Substanzen werden mit einem roten Punkt markiert (Abbildung 4). Abbildung 4 zeigt beispielhaft einen Ausschnitt aus einem MeltDB-Experiment mit 18 Proben.

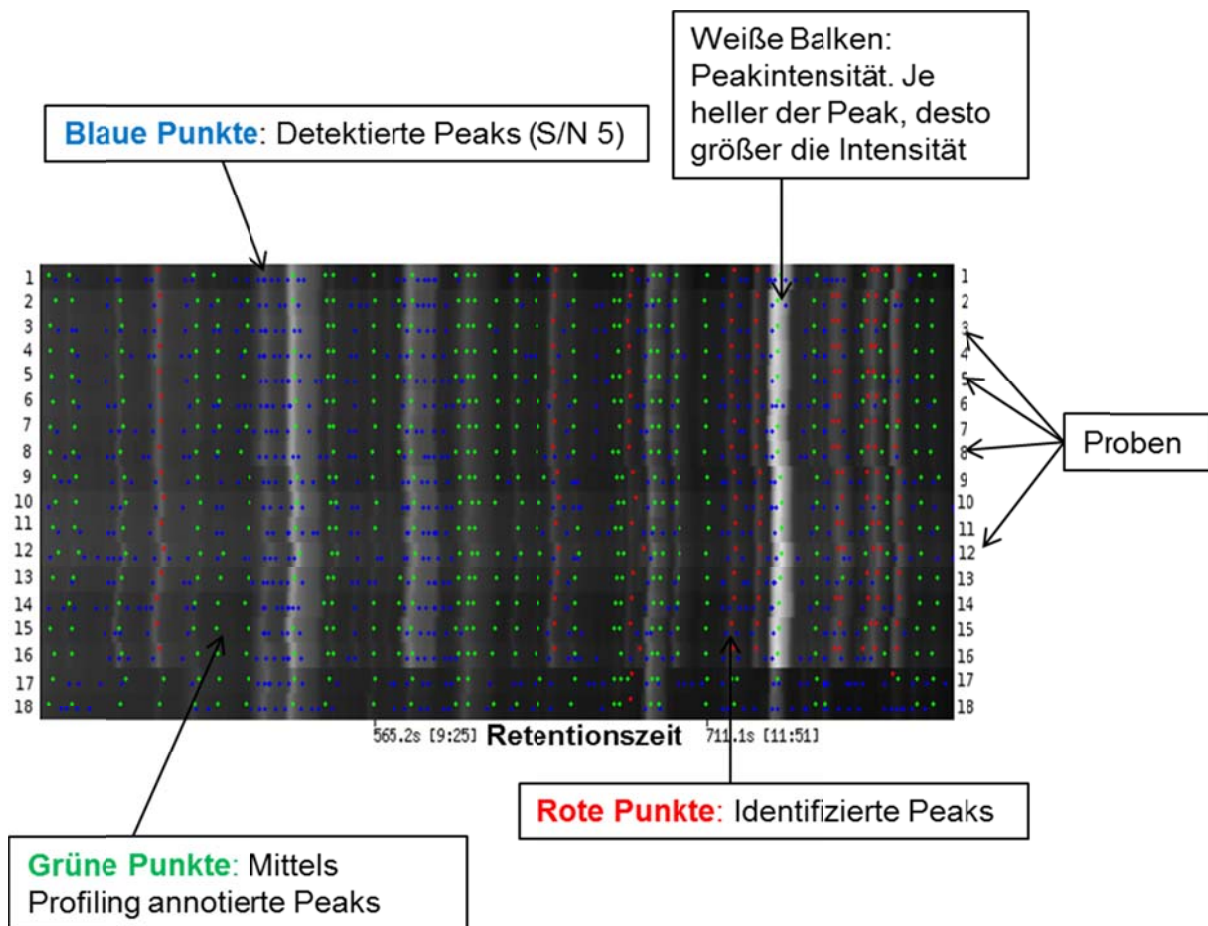


Abbildung 4: Totalionenfluss (TIC)-Ansicht eines MelTDDB Experimentes mit insgesamt 18 Proben. Blaue Punkte: Peaks, die mit der Peak Detektion bei einem Signal-to-Noise-Faktor 5 erfasst wurden. Grüne Punkte: Peaks, die mittels Profiling annotiert wurden. Diese Peaks treten in 80% aller Chromatogramme des Experiments oder in einer Chromatogrammgruppe zur gleichen Retentionszeit mit der gleichen substanzspezifischen Masse auf. Rote Punkte: Identifizierte Peaks durch Abgleich mit einer integrierten Standardliste

Referenzliste

Für die Datenauswertung der dyn. HS-GC-MS-Analysen wurde eine Referenzstandardliste erstellt, die derzeit 77 Substanzen umfasst. Die verwendeten Standardsubstanzen sind unter Angabe von Retentionszeit, Retentionsindex, den substanzspezifischen Massen und der für die Auswertung festgelegten quantifizierbaren Masse in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: Standardsubstanzen der MeltDB Referenzliste für flüchtige Verbindungen in Rapsöl

#	Referenz	RT [s] ^a	RI ^b	M _(S) (m/z) ^c	M _(Q) (m/z) ^d
1	Acetaldehyd	203,9	487,3	29, 43, 44	44
2	Ethanol	293,5	537,9	45, 46	45
3	Dimethylsulfid	294,5	540,2	45, 46, 47, 61, 62	62
4	2-Methylpropanal	417,5	608,3	39, 41, 43, 72	72
5	2-Methylfuran	437,7	622,7	53, 81, 82	82
6	1-Propanol	504,3	657,4	41, 42, 59, 60	59
7	2,3-Butandion	546,7	680,6	43, 86	86
8	3-Methylbutanal	696,7	734,6	44, 58, 71, 86	58
9	2-Methylbutanal	699,8	739,3	39, 41, 57, 58	58
10	2-Butennitril I	803,0	766,6	39, 41, 52, 64, 66, 67	67
11	2-Pentanon	821,6	775,5	43, 58, 71, 86	86
12	Pentanal	827,9	777,3	41, 44, 57, 58	58
13	1-Butanol	828,7	774,1	41, 43, 55, 56	56
14	2,3-Pentandion	864,8	789,3	43, 57, 100	57
15	Methylbutanoat	871,2	786,8	43, 55, 59, 71, 74, 87	74
16	2-Butennitril II	889,9	792,7	39, 41, 52, 64, 66, 67	67
17	Essigsäure	913,0	798,9	43, 45, 60	60
18	Butannitril	935,1	805,2	27, 29, 41	41
19	Dimethyldisulfid	946,3	812,3	45, 46, 47, 61, 64, 79, 94	94
20	2-Butennitril III	970,1	814,9	39, 41, 52, 64, 66, 67	67
21	Ethyl-2-methylpropanoat	981,2	817,3	43, 71, 88, 116	71

#	Referenz	RT [s] ^a	RI ^b	M _(S) (m/z) ^c	M _(Q) (m/z) ^d
22	Toluol	989,7	819,7	65, 91, 92	91
23	3-Methylbutanol	1063,8	843,3	41, 42, 43, 55, 57, 70	55
24	2-Methylbutanol	1090,7	846,8	41, 55, 56, 57, 70	70
25	Methylthiocyanat	1134,2	858,4	45, 46, 58, 72, 73	72
26	Acetoin	1160,3	865,8	43, 45, 88	88
27	Hexanal	1227,0	883,5	41, 43, 44, 56, 57, 72, 83	56
28	Ethyl-2-methylbutanoat	1298,9	907,3	41, 57, 74, 85, 102	102
29	Isopropylisothiocyanate	1416,8	935,8	41, 43, 60, 86, 101	101
30	3-Methylbutylacetat	1420,5	944,0	43, 55, 61, 70, 87	87
31	Pentylacetat	1426,0	943,1	43, 55, 61, 70, 73	70
32	1,2-Propandiol	1430,5	944,4	45, 61	45
33	2-Methylbutylacetat	1431,7	947,3	43, 55, 70, 73	70
34	α-Pinen	1484,0	954,4	77, 79, 91, 92, 93, 105, 121	93
35	Styrol	1491,7	963,3	51, 77, 78, 103, 104	104
36	Ethyl-4-pentenoat	1500,5	958,5	27, 29, 39, 54, 55, 83	83
37	Buttersäure	1524,2	965,2	60, 73	60
38	2,3-Butandiol I	1533,7	967,7	45, 57	57
39	2,3-Heptandion	1552,3	977,7	41, 43, 57, 85	85
40	2,3-Butandiol II	1577,8	980,0	45, 57	57
41	Heptanal	1591,5	989,3	41, 42, 43, 44, 55, 57, 70, 71, 81, 86, 96	81
42	Allylisothiocyanat	1615,2	995,1	39, 41, 72, 99	99
43	4-Heptenal	1631,5	995,2	39, 41, 42, 55, 67, 68, 83, 84	68

#	Referenz	RT [s] ^a	RI ^b	M _(s) (m/z) ^c	M _(Q) (m/z) ^d
44	β-Pinen	1683,5	1009,8	41, 69, 77, 79, 91, 93, 121, 136	93
45	5-Hexennitril	1689,9	1011,6	39, 41, 55, 67, 80	55
46	3-Methylbuttersäure	1697,0	1013,3	60, 78	87
47	2-Methylbuttersäure	1714,9	1018,3	41, 57, 74, 87	74
48	Hexannitril	1717,6	1018,8	41, 54, 55, 57, 68, 69, 82, 96	68
49	α-Phellandren	1789,2	1039,2	77, 91, 92, 93, 136	136
50	Dimethyltrisulfid	1829,2	1058,1	44, 47, 64, 79, 110, 126, 128	126
51	Pentansäure	1847,2	1054,9	60, 73	73
52	Ethylhexanoat	1855,2	1062,7	43, 55, 60, 61, 70, 71, 73, 88, 99, 101, 115, 117	88
53	Limonen	1875,4	1062,4	53, 67, 68, 79, 93, 107, 121, 146	68
54	1-Octen-3-on	1909,6	1072,3	55, 70, 83, 97	55
55	1-Heptanol	1924,7	1076,6	41, 42, 43, 55, 56, 57, 69, 70, 83, 103	70
56	1-Octen-3-ol	1938,0	1079,9	57, 72, 85	57
57	Octanal	1981,9	1092,5	41, 43, 44, 55, 56, 57, 69, 84	84
58	4-Isothiocyant-1-buten	2031,9	1106,9	72, 113	113
59	1-Isothiocyantbutan	2052,9	1112,9	41, 56, 57, 72, 114, 115	115
60	Heptannitril	2082,5	1122,6	41, 43, 54, 55, 68, 82, 83, 96	82
61	γ-Butyrolacton	2110,0	1137,9	41, 42, 56, 85, 86	86
62	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2179,4	1152,4	124, 137, 152	137
63	γ-Valerolacton	2253,7	1176,0	41, 56, 85, 100	56
64	2-Octenal	2268,4	1180,3	41, 55, 57, 69, 70, 82, 83	83

#	Referenz	RT [s] ^a	RI ^b	M _(s) (m/z) ^c	M _(Q) (m/z) ^d
65	Nonanal	2328,4	1199,1	41, 43, 44, 55, 56, 57, 68, 69, 70, 81, 82, 98	98
66	Guaiacol	2430,0	1241,5	53, 81, 109, 124	109
67	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	2474,5	1244,2	81, 94, 124, 151	124
68	Y-Hexalacton	2575,7	1275,8	42, 56, 57, 70, 85	85
69	Ethylbenzoat	2584,3	1285,6	51, 77, 105, 122, 150	105
70	2-Phenylethanol	2605,1	1284,7	65, 91, 92, 122	91
71	2,6-Nonadienal	2605,7	1285,0	41, 69, 70	69
72	Sotolon	2786,9	1352,7	43, 55, 57, 72, 83, 128	128
73	2,4-Nonadienal	2830,2	1354,4	67, 81, 138	81
74	1-Isothiocyanatheptan	3029,9	1416,8	41, 43, 55, 57, 72, 100, 114, 115, 124	115
75	2,4-Decadienal	3131,1	1448,2	41, 81	81
76	Y-Octalacton	3200,3	1469,3	85, 100	85
77	Benzylisothiocyanat	3321,3	1516,6	65, 91, 149	91

^aRetentionszeit (RT) in Sekunden

^bRetentionsindex nach Kováts

^cM_(s): Substanzspezifische Massen, m/z: Masse zu Zeit-Verhältnis

^dM_(Q): Masse, die zur Bestimmung der Peakfläche verwendet wird

Statistik Lager-, Standort- und Frittierversuche

Die statistische Auswertung der Lager-, Standort- und Frittierversuche erfolgte mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) über den gesamten Datensatz der einzelnen Experimente und einem t-Test mit sequenzieller Bonferroni-Holm-Korrektur (Bärlocher, 2008) zwischen den einzelnen Gruppen. Um einer Normalverteilung näher zu kommen, wurden die Daten logarithmiert ($\log(x+1)$). Es wurden nur die flüchtigen Verbindungen in die Datenauswertung einbezogen, die in mindestens 50 % der Replikate einer Probe enthalten waren.

Statistik Profiling

Die statistische Auswertung der Profiling-Analysen nativer Rapsspeiseöle erfolgte mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA), Boxplots und einem t-Test mit sequenzieller Bonferroni-Holm-Korrektur (Bärlocher, 2008) nach Logarithmierung ($\log(x+1)$) der Daten. Fehlende Werte wurden durch Gruppenmittelwerte ersetzt. Es wurden nur die flüchtigen Verbindungen in die Datenauswertung einbezogen, die in mind. 20 % der Proben des Datensatzes enthalten waren.

PCA und Lineare Diskriminanzanalyse (LDA) wurden auf Basis flüchtiger Verbindungen erstellt, die einen signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen sensorisch schlechten und sensorisch guten nativen Rapsölproben aufweisen. Die LDA basiert auf einer zwei-Gruppen Diskriminanzfunktion einer linearen Gleichung des Typs:

$$f(x) = c + (\beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \dots + \beta_n \cdot x_n)$$

$$f(x) < 0 = \text{gute Öle}$$

$$f(x) > 0 = \text{schlechte Öle}$$

wobei gilt:

$c + \beta$ = Regressionskoeffizient

x = Variable

LDA und PCA wurden mit Hilfe der Software JMP durchgeführt.

2.1.14. Mikroorganismen auf Rapssaat

Aufgrund einiger Hinweise in Veröffentlichungen über den Einfluss von Bakterien auf Lebensmitteln, wie z. B. bei Trüffeln (Splivallo et al., 2015) und Wein (Knight et al., 2015) wurden Untersuchungen zur Bestimmung der Bakterien- und Schimmelpilzbesiedelung von Rapssaat durchgeführt, um deren möglichen Einfluss auf die sensorische Qualität von Rapsölen zu überprüfen. Dieses Vorgehen wurde in der 2. Sitzung des Projektbegleitenden

Ausschusses vorgestellt und positiv aufgenommen. Im Rahmen des Forschungsantrags sind Lagerversuche mit Rapssaat vorgesehen und eine Besiedelung mit Mikroorganismen während der Lagerung, welche sich auf die sensorische Qualität auswirkt, wird als sehr wahrscheinlich angenommen.

A. Extraktion der Bakterien und Schimmelpilze von Rapssaat und Kultivierung auf Nährmedium

Bakterien

In Kooperation mit der Universität Bielefeld wurde eine Methode entwickelt, Bakterien von Rapssaat zu extrahieren. Für diese Arbeiten wurden Rapssaaten unterschiedlicher Qualität aus dem Projekt zur Verfügung gestellt. Von vier unterschiedlichen Rapssaatchargen wurden je 10 g Rapssaat mit 50 mL einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS-Puffer) in einen Stomacherbeutel gefüllt und für 30 s bei maximaler Intensität in einem Labor-Homogenisator (Stomacher) extrahiert.

Von dem Extrakt wurde pro Rapssorte eine Verdünnungsreihe mit phosphatgepuffertes Salzlösung (PBS) in den Stufen $10^0 - 10^{-6}$ angesetzt, auf zwei unterschiedlichen Agarplatten mit Nährlösung (Lysogeny broth (LB)- bzw. Trypton-Yeast-(TY)-Medium) ausplattiert und vier Tage bei 28°C inkubiert. Anschließend wurde von 25 Kolonien jeder Rapssaat ein Einzelkolonieausstrich auf LB-Medium durchgeführt und drei Tage bei 28°C inkubiert. Von den Einzelkolonien wurden 46 Kolonien auf einem rapsschrothaltigen Agar (Rapsschrot 10 g/l, Calciumchlorid-Dihydrat 0,4 g/L, Agar-Agar 14 g/L, VE-Wasser) erneut kultiviert, um zu überprüfen, ob diese mit Raps als Nährmedium ebenfalls wachsen. Diese Kultivierung auf rapsschrothaltigen Agar war in allen Fällen erfolgreich. Nach geruchssensorischer Überprüfung der auf Rapsagar kultivierten Bakterien wurden von den 46 Bakterienstämmen 22 Bakterienstämme aufgrund einer auffälligen Geruchsbildung, vergleichbar mit sensorisch schlechten Rapsölen, zur SPME-GC-MS Analyse verwendet.

Schimmelpilze

40 g Rapssaat wurden mit 360 g physiologischer Lösung (8,5 g/L NaCl, 1,0 g/L Pepton aus Casein) in einen Stomacherbeutel eingewogen und 180 s im Stomacher homogenisiert (Verdünnungsstufe 1). Es wurden vier Verdünnungsstufen im Verhältnis 1:10 erstellt. Je 1 mL der verdünnten Lösungen wurden mit 12 mL Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar in einer Petrischale vermischt. Die Platten wurden sieben Tage bei 25°C unter aeroben Bedingungen inkubiert und anschließend wurden die makroskopisch unterscheidbaren Kolonien durch Überimpfen auf Malzextrakt-Agar (MEA) und Dichloran-glycerol-Agar (DG18) isoliert. Nach erneuter siebentägiger Inkubation bei 25°C unter aeroben Bedingungen wurden die Reinkulturen zur SPME-GC-MS Messung verwendet bzw. zur Identifizierung

mikroskopiert. Die makroskopischen und mikroskopischen Merkmale erlauben eine Identifizierung der Gattung und in charakteristischen Fällen auch der Spezies.

Zur sicheren Identifizierung der Spezies wurden die Schimmelpilze auf verschiedene Nährböden nach der Methode der Dreipunktbeimpfung übertragen. Dazu wurden folgende Nährböden eingesetzt: MEA, MEA + 40 % Saccharose, MEA + 7,5 % NaCl, Cz-Dox-Agar, DG18, Potato-Dextrose-Agar, Hafermehl-Agar, Sabouraud-Dextrose-Agar, Creatin-Saccharose-Agar, CYA-Agar und YES-Agar.

Bei jeder Probe wurde das Wachstum des Myzels, die Größe in mm im Durchmesser und die Farbe des Myzels der Vorder- und Rückseite der Petrischale protokolliert. Bei Aspergillen wurde das Wachstum der Konidien bei den Temperaturen 25 °C, 30 °C und 37 °C auf Malzextrakt-Agar überprüft. Bei Penicillien waren unterschiedliches Wachstum der Myzelien auf der Vorder- und Rückseite auf CYA-Agar nach Inkubation bei 25 °C und 30 °C sowie die Intensität der Säure- bzw. Basenbildung auf Creatin-Saccharose-Agar wichtige Unterscheidungsmerkmale zur Identifizierung. Die sichere Identifizierung erfolgte mit Hilfe spezieller Fachliteratur (Samson, 2006, Samson, 2010).

B. SPME-GC-MS-Analyse der von der Rapssaat isolierten Mikroorganismen

Die SPME-GC-MS-Analyse der flüchtigen Verbindungen der von Rapssaat isolierten Mikroorganismen wurde nach geringen Anpassungen entsprechend der Methoden von (Cernava et al., 2015, Verginer et al., 2010) durchgeführt. Hierzu wurde ein Agar mit Rapsschrot und Calciumchlorid-Dihydrat versetzt, autoklaviert und 8 mL in ein 20 mL Headspace-Gläschen gefüllt. Zur Vergrößerung der Oberfläche des Agars wurden die Headspace-Gläschen nach Einfüllen des Agars mit einem 45° Winkel gelagert, so dass auch die Wand des Gläschens bedeckt wurde, ohne dass der Agar aus dem Gläschen auslaufen konnte. Mit einer sterilen Impföse wurden Bakterien und Schimmelpilze aus den Einzelkolonien in drei parallelen Linien ausgestrichen und mit steriler Watte verschlossen. Die Bakterienproben wurden fünf Tage und die Schimmelpilzproben sieben Tage bei 28°C inkubiert. Die Messung erfolgte nach den in Tabelle 7 aufgelisteten Parametern.

Tabelle 7: Messparameter für die SPME-GC-MS-Analyse flüchtiger Verbindung von Bakterien

	Einstellungen ¹
Inkubation	15 min bei 30 °C
Extraktion	60 min bei 30 °C, Eindringtiefe 22 mm
Desorption	300 s im Liner bei 270 °C, Eindringtiefe 44 mm

Kapillarsäule	Optima 5-ms, 30 m x 0,25 mm, Film 0,25 µm
Temperaturprogramm	40 °C (2 min), 5 °C/min bis 150 °C, 10 °C/min bis 300 °C (2 min)
Trägergas	Helium, 1,0 mL/min
Injektion	splitless
Ionenquelle	200 °C, -70 V
Massenbereich	50-350 u, 5 Spektren/s

[†]Gerstel Leco Pegasus IV, GCxGC-ToF-MS; SPME-Faser: PDMS/CAR/DVB (Divinylbenzol/Carboxen/Polydimethylsiloxan, 50/30 µm)

Ein weiterer Teil der Bakterien aus den ausplattierten Einzelkolonien aus Kapitel A wurde für eine DNA-Sequenzierung zur Identifizierung der Bakterienstämme verwendet. Extraktion und Kultivierung der Bakterien, sowie die Durchführung der Sequenzierung erfolgte im Rahmen des Projektmoduls „Proteom- und Metabolomforschung“ an der Universität Bielefeld. Die Identifizierung der Schimmelpilze erfolgte aufgrund der makro- und mikroskopischen Eigenschaften in der Arbeitsgruppe für Mikrobiologie des MRI Detmold.

2.2. Ergebnisse

2.2.1. Sensorische Bewertung von kaltgepressten Rapsölen

Während des Projektzeitraums wurden 275 native, kaltgepresste Rapsöle und 16 gedämpfte, kaltgepresste Rapsöle sensorisch bewertet. Von den nativen, kaltgepressten Rapsölen wurden 129 als sensorisch gut und 117 als sensorisch schlecht bewertet. Bei 29 der nativen, kaltgepressten Rapsöle fiel das Ergebnis der sensorischen Bewertung uneinheitlich aus und 54 der nativen Rapsöle wurden im Rahmen von Lagerversuchen sensorisch bewertet. Diese 83 nativen Rapsöle wurden nicht in die Datenanalyse größerer Datensätze und zur Methodenerstellen einbezogen.

Besonders im Rahmen der Zusendung von Rapsölen aus den Medaillenprüfungen der DLG und DGF wurden viele Rapsöle verschiedener Handelsanbieter eingesendet, die aber aus einer Rapsölcharge der gleichen Ölmühle entstammten. In diesen Fällen wurde für die Analyse größerer Datensätze und die Methodenentwicklung jeweils exemplarisch ein Rapsöl der entsprechenden Charge eingesetzt, um eine größtmögliche Vielfalt an nativen Rapsölen zu erhalten und eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden.

2.2.2. Rapsöle mit fischigem Fehl aroma aus der Industrie

Im Rahmen des Projektes wurden von verschiedenen Herstellern Rapsölproben eingesandt, die in der Qualitätssicherung der Hersteller als auffällige Probe mit fischigem Fehl aroma charakterisiert wurden. Bis auf eine gedämpfte Probe konnte dies von dem geschulten Panel der FS 1 nicht bestätigt werden, diese Proben wurden als ranzig, tranig oder firnisartig beschrieben. Die Attribute ranzig, tranig, firnisartig oder fischig liegen sensorisch nah beieinander. Dadurch wurden möglicherweise Proben von den Einsendern bereits als fischig bewertet, diese von der geschulten Prüfergruppe aber anderen o. g. Kategorien zugeordnet. Während der Projektlaufzeit stand daher lediglich eine Rapsölprobe mit fischigem Fehl aroma zur Analyse zur Verfügung. Dies zeigt, dass das Phänomen fischig riechender Rapsöle zur Projektbeantragung noch ein Problem darstellte, es während der Projektlaufzeit aber für die Hersteller und Anwender von Rapsöl schwierig war entsprechende Proben bereitzustellen.

Das fischig riechende Öl wurde mittels dyn. HS-GC-MS analysiert und die Daten mit einer sensorisch unauffälligen Probe des gleichen Herstellers verglichen. Die Hauptkomponentenanalyse zeigte eine deutliche Trennung der beiden Öle, die jeweils in 5-facher Wiederholung gemessen wurden (Abbildung 5).

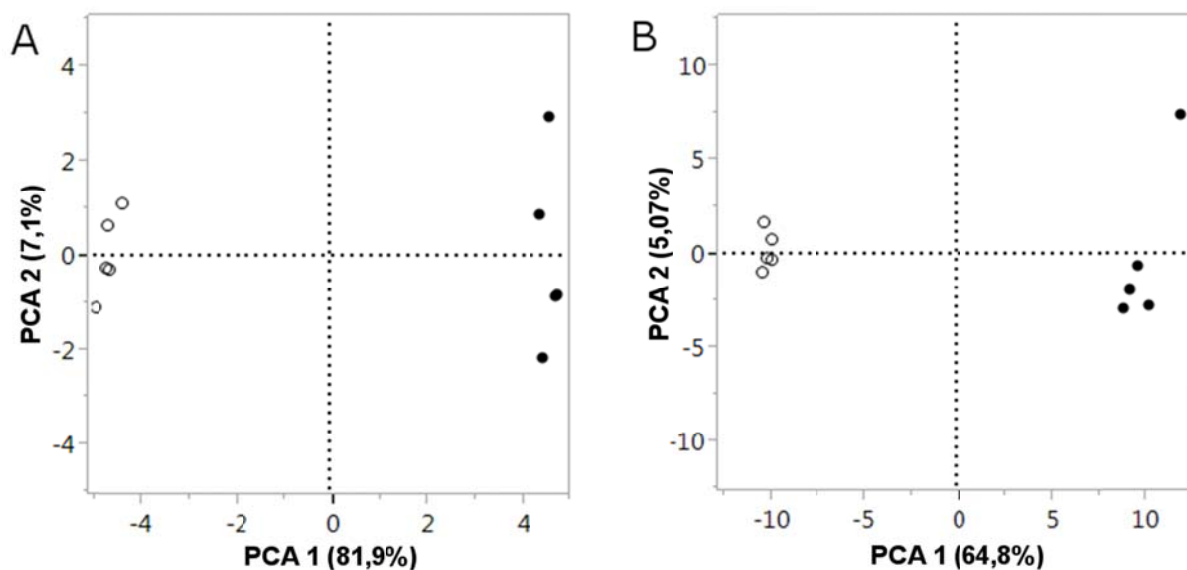


Abbildung 5: Hauptkomponentenanalyse einer gedämpften Rapsölprobe mit fischigem Fehl aroma und einer unauffälligen gedämpften Rapsölprobe des gleichen Herstellers. Weiß: Sensorisch unauffällige Probe. Schwarz: Probe mit fischigem Fehl aroma. A: Identifizierte Verbindungen. B: Nicht identifizierte Verbindungen (TAGs)

Insgesamt zeigten 21 identifizierte Verbindungen und 104 TAGs signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen dem sensorisch auffälligen und dem sensorisch unauffälligen Öl. Bei den identifizierten Verbindungen zeigten Toluol und α -Pinen und bei

den nicht identifizierten Verbindungen 21 TAGs höhere Werte in dem sensorisch unauffälligen gedämpften Rapsöl. Die Verbindungen γ -Hexalacton, γ -Octalacton, 2-Octenal, Essigsäure und Isopropylisothiocyanat kamen ausschließlich in der sensorisch auffälligen Rapsölprobe vor. Die folgenden Diagramme zeigen die Mittelwerte der relativen Peakflächen der identifizierten Verbindungen mit signifikant unterschiedlichen Gehalten (Abbildung 6).

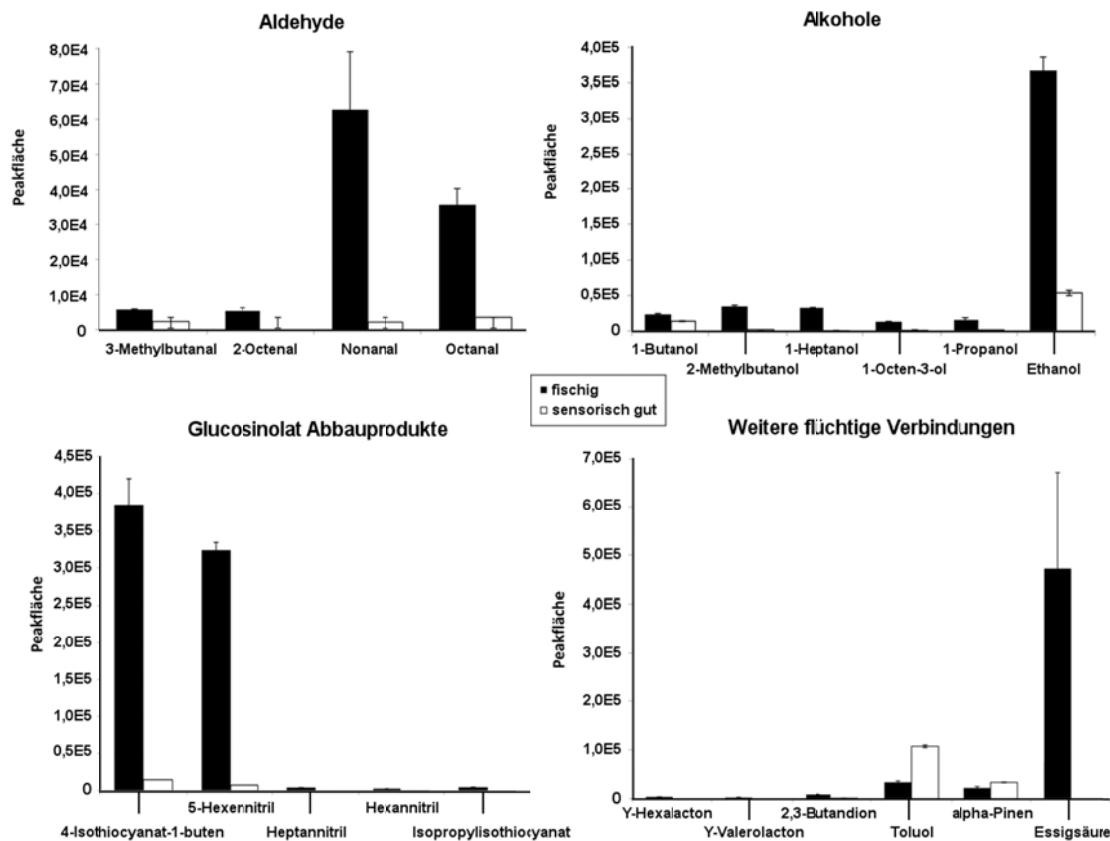


Abbildung 6: Identifizierte Verbindungen mit signifikant unterschiedlichen Gehalten aus gedämpften Rapsölen mit sensorisch unauffälligem Aroma (weiß) und fischigem Fehl aroma (schwarz)

Die Ergebnisse zeigten deutliche Unterschiede des gedämpften Rapsöls mit fischigem Geruch in den Konzentrationen einiger Alkohole, Aldehyde, Glucosinolat-Abbauprodukte sowie sechs weiterer flüchtiger Verbindungen. Ob diese Verbindungen aber als Markersubstanzen zur Detektion eines fischigen Fehl aromas dienen können, kann nur nach Analyse einer größeren Anzahl von Ölen mit fischigem Fehl aroma geklärt werden. Während der Projektlaufzeit wurden keine weiteren Rapsöle mit fischigem Fehl aroma der Forschungsstelle 1 zugesandt.

2.2.3. Frittierversuche

A. Frittierversuche mit verschiedenen Rapsölen und Pommes frites als Frittiergut

Die vier Rapsölproben (vgl. Kapitel 2.1.7.) wurden von vier Prüfern nach dem Frittieren hinsichtlich der Ausbildung eines fischigen Fehlromas beurteilt. Die Proben zeigten folgende Geruchseindrücke:

1. ranzig
2. saatig
3. unauffälliger Frittiergeruch
4. Frittiergeruch

Es konnte in keiner der erhitzten Ölproben die Ausbildung eines fischigen Fehlromas wahrgenommen werden.

Die erkalteten Rapsöle wurden am nächsten Morgen von 9 bzw. 10 Personen ebenfalls hinsichtlich der Ausbildung eines fischigen Fehlromas bewertet. In den Ölen Nr. 3 und Nr. 4 wurde von jeweils 3 Personen ein leichter fischartiger Geruch wahrgenommen. In Öl Nr. 2 wurde von 2 Personen ein fischiger Geruch wahrgenommen. Da die Mehrheit der Prüfer dieses fischige Fehlroma aber nicht bestätigen konnte, ist die Wahrnehmung eines fischigen Fehlroma durch einzelne Prüfer nicht als repräsentativ zu betrachten.

Der Versuch zeigte, dass es durch Erhitzen der unterschiedlichen Rapsöle nicht möglich war einen fischigen Geruch zu provozieren. Dies kann entweder daran liegen, dass der Versuchsansatz nicht geeignet war und Erhitzen allein zur Bildung eines fischigen Geruchs nicht ausreicht, oder daran, dass in den Rapsölen entsprechende Präkursoren nicht vorliegen.

B. Frittierversuche mit raffiniertem Rapsöl, Zusätzen von FeCl_3 und Pommes frites als Frittiergut

Für den viertägigen Frittierversuch wurde raffiniertes Rapsöl mit einer ethanolischen FeCl_3 -Lösung von jeweils 0, 1, 5 und 10 mg FeCl_3 /1,2 kg Öl versetzt und zum Frittieren von Pommes frites eingesetzt. Durch den Zusatz von FeCl_3 sollte eine beschleunigte Oxidation der Rapsöle erreicht werden, um zu sehen, ob dies zur Ausbildung eines fischigen Geruchs führt.

Die frittierten Pommes frites wurden von vier Prüfern nach dem Frittieren sensorisch bewertet. Anschließend wurden die Fritteusen abgestellt und zusätzlich das kalte Öl sensorisch bewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Ergebnisse der sensorischen Bewertung frittiertes Pommes frites und der erkalteten Frittieröle nach Erhitzen der Öle unter Zusatz von FeCl_3

Konzentration $\text{FeCl}_3/1,2 \text{ kg Öl [mg]}$				Versuchstag	Testmaterial	Prüferanzahl
0	1	5	10			
-	-	-	-	1	Frittierte Pommes frites	4
-	-	-	-	2	Kaltes Öl	4
-	-	-	I*	2	Frittierte Pommes frites	4
-	-	-	I	3	Frittierte Pommes frites	4
-	I	-	-	4	Kaltes Öl	3
-	-	-	-	4	Frittierte Pommes frites	3
I	III	I	I	5	Kaltes Öl	8

*Anzahl der Wahrnehmungen eines fischigen Fehlgeruchs durch die Prüfergruppe

In der Probe mit der höchsten FeCl_3 -Konzentration wurde an Tag 2 und 3 bei den frittierten Pommes frites und an Tag 4 bei dem erkalteten Öl ein fischiger Geruch von jeweils einem Prüfer wahrgenommen. In der Konzentration von 1 mg $\text{FeCl}_3/1,2 \text{ kg Öl}$ wurde an Tag 3 und 4 ein fischiger Geruch bei dem erkalteten Öl wahrgenommen. Am Tag 4 konnte dieser Geruchseindruck in dieser Konzentration von drei von acht Prüfern erfasst werden. Am Tag 4 wurde ein fischiger Geruch von einzelnen Prüfern in jeder Konzentrationsstufe wahrgenommen.

Insgesamt konnte nur von einzelnen Prüfern ein fischiger Geruch in den Proben wahrgenommen werden. Eine Häufung am Tag 4 ergibt sich aus der höheren Teilnehmerzahl an der sensorischen Bewertung. Das fischige Fehlgeruch konnte allerdings auch in diesem Versuch nicht von genügend Prüfern wahrgenommen werden, so dass die Einzelergebnisse hier ebenfalls nicht als repräsentativ anzusehen sind. Dies bedeutet, dass ein fischiger Geruch von Rapsöl durch eine beschleunigte Oxidation mittels FeCl_3 nicht erreicht wurde.

C. Frittierversuche mit Rapsölen aus Rapssaaten mit erhöhten Glucosinolatgehalten

Die sensorische Bewertung der drei nativen Rapsöle (1, 2 und 3) aus Rapssaat mit erhöhten Glucosinolatgehalten zeigte ein ungewohntes Aroma, im Vergleich zu der auf dem deutschen Markt typischen Handelsware. Probe 1 und 3 wiesen nur eine geringe Saatigkeit auf, in Probe 2 konnte keine Saatigkeit festgestellt werden. Das ebenfalls typische leicht nussige Aroma konnte in keiner der Proben detektiert werden. Alle drei Proben wiesen jedoch ein deutliches Fehlgeruch auf. Probe 1 zeigte ein firnissartiges, Probe 2 und 3 ein stark kohliges Fehlgeruch. Alle drei Proben wurden als sensorisch schlechte Proben bewertet.

Für den Frittierversuch wurden die drei Proben mit Lecithin und Sinapin/Sinapinsäure versetzt, mit Frittiergut erhitzt und auf Ausbildung eines fischigen Fehlromas hin orthonasal bewertet.



Abbildung 7: Zum Frittieren eingesetztes natives, kaltgepresstes Rapsöl (Probe 1) mit erhöhten Glucosinolatgehalten mit Frittiergut. 1: Frittiertes Rapsöl ohne Zusatz. L1: Frittiertes Rapsöl mit Lecithinzugabe (5%). S1: Frittiertes Rapsöl mit Sinapinzugabe (1%)

Visuell ist das Rapsöl nach Zugabe von Sinapin dunkler als das Rapsöl ohne Zusatz. Das Rapsöl mit Lecithinzugabe weist eine tiefbraune Färbung auf, die nicht mehr als rapsöltypisch bezeichnet werden kann (Abbildung 7, L1). Die olfaktorische Bewertung der Proben ergab, dass die Zugabe von Lecithin zu einem verbrannten, speckähnlichen Aroma führte. Ein fischiger Geruch stellte sich während des Erhitzens bei den Proben S2 und S3 ein, die mit Sinapinsäure versetzt wurden. Kein Frittiergut hat während des Frittiervorgangs ein fischiges Fehlroma angenommen.

Das alleinige Erhitzen der nativen Rapsöle mit erhöhten Glucosinolatgehalten hat nicht zu der Ausbildung eines fischigen Fehlromas geführt. Die Ergebnisse legen jedoch nahe, dass erhöhte Gehalte von Sinapinsäure zu einer Ausbildung dieses Fehlromas führen können. Zur Verifizierung wurde ein erneuter Frittierversuch verschiedener Rapsöle unter Zugabe von Sinapinsäure durchgeführt.

D. Frittierversuche mit Rapsölen unter Zugabe von Sinapinsäure

Die Rapsöle, die mit Sinapinsäure versetzt wurden, zeigten in allen Fällen eine deutlichere Trübung, als die unbehandelten Proben (Abbildung 8).

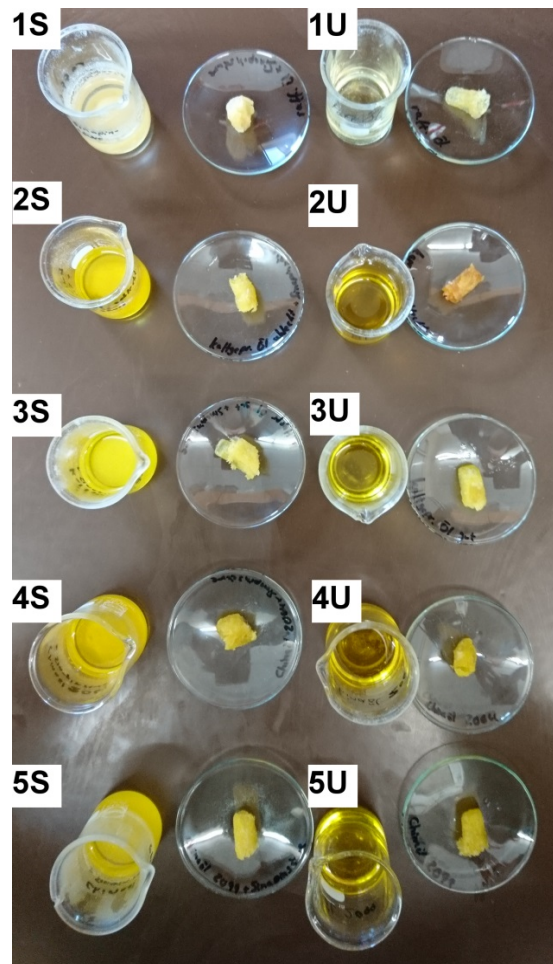


Abbildung 8: Frittierversuch mit Rapsölen unter Zugabe von Sinapinsäure. Olfaktorischer Vergleich verschiedener Rapsölen (1-5) mit (S) und ohne (U) Sinapinzugabe (1%) nach 2x 10 min. Erhitzen bei 180°C mit Frittiergut (Pommes frites). 1: Raffiniertes Rapsöl; 2: Natives Rapsöl mit schlechter sensorischer Qualität; 3: Natives Rapsöl mit guter sensorischer Qualität; 4 und 5: Natives Rapsöl mit schlechter Qualität und erhöhten Glucosinolatgehalten (>100 µmol/g im Vergleich zu 18 – max. 25 µmol/g)

In keiner Probe konnte während des Erhitzens, nach dem Erkalten oder am Frittiergut ein fischiges Fehl aroma festgestellt werden. Erhöhte Gehalte von Glucosinolaten und Sinapinsäure sind somit als Faktor zur fischigen Off-Flavor-Bildung auszuschließen. Die Ergebnisse aus Kapitel 2.2.3. C konnten somit nicht bestätigt werden.

2.2.4. GC-Olfaktometrie

Für die GC-Olfaktometrie wurde ein sensorisch gut bewertetes Rapsöl und ein sensorisch schlecht bewertetes Rapsöl, hergestellt wie unter Kapitel 2.1.4. beschrieben, verwendet. Durch das Mischen der sensorisch guten und der fehlerhaften Rapssaat waren beide Proben sehr gut vergleichbar. Die Veränderungen im Profil der flüchtigen Verbindungen, die durch die sensorisch schlechte Rapssaat hervorgerufen wurden, waren durch die Mischung

deutlich erkennbar. In Abbildung 9 sind die Chromatogramme der sensorisch guten (blaue Linie) und schlechten (schwarze Linie) Rapsölproben übereinandergelegt dargestellt. Insgesamt konnten 64 flüchtige Verbindungen detektiert werden. Schwarze Zahlen markieren Substanzpeaks mit deutlichen Konzentrationsunterschieden zwischen guter und schlechter Rapsprobe. Rote Zahlen markieren aroma-aktive flüchtige Verbindungen.

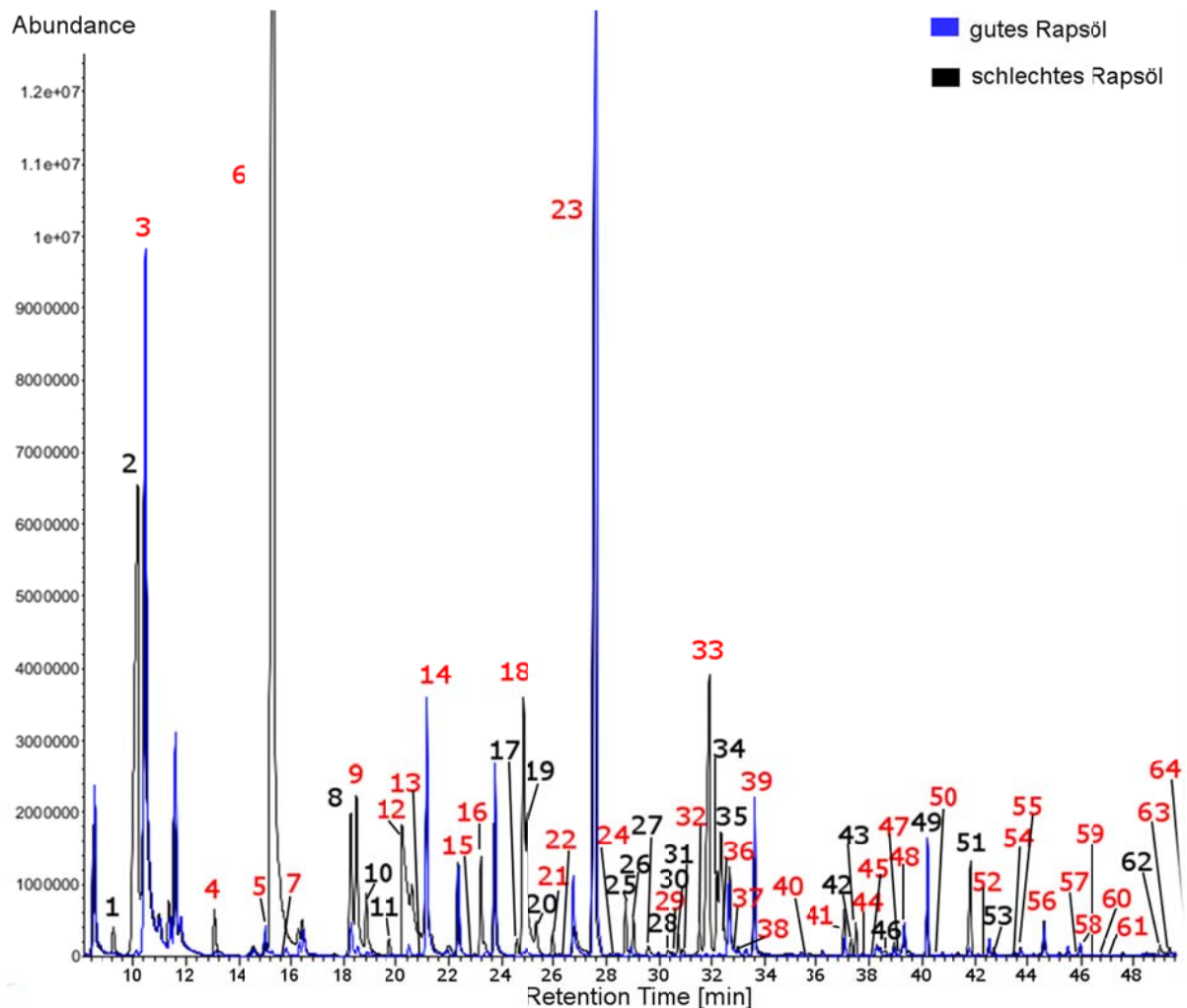


Abbildung 9: Überlagerung der Chromatogramme eines sensorisch schlechten (schwarz) und sensorisch guten Rapsöls (blau). Rote Zahlen: Aroma-aktive flüchtige Verbindungen. Schwarze Zahlen: Flüchtige Verbindungen mit deutlichem Konzentrationsunterschied zwischen guter und schlechter Probe. Die Beschreibung des entsprechenden Geruchseindrucks sowie die Namen der identifizierten flüchtigen Verbindungen sind in Tabelle 9 aufgeführt

Die detektierten und identifizierten flüchtigen Verbindungen lassen sich in vier verschiedene Gruppen einteilen (Tabelle 9):

Gruppe 1: Nicht aroma-aktive flüchtige Verbindungen, die deutliche Konzentrationsunterschiede zwischen guten und schlechten Rapsölen zeigen

22 flüchtige Verbindungen zeigen deutlich höhere Konzentrationen in der schlechten Rapsölprobe, weisen aber keine aroma-aktiven Eigenschaften auf. Lediglich 4-Isothiocyanat-1-buten (49) weist eine deutlich höhere Konzentration in der guten Rapsölprobe auf. Die Identifizierung erfolgte mit Hilfe der NIST Datenbankabfragen und Referenzsubstanzen der Standardliste.

Gruppe 2: Aroma-aktive Substanzen, die sowohl in gutem als auch in schlechtem Rapsöl wahrgenommen werden konnten

Insgesamt konnten 19 aroma-aktive flüchtige Verbindungen erfasst werden, die sowohl in sensorisch gutem als auch in sensorisch schlechtem Rapsöl wahrgenommen werden konnten. Einige aroma-aktive, flüchtige Verbindungen konnten nicht identifiziert werden, da sie eine geringe Peakintensität aufwiesen und das Massenspektrum vom Hintergrundrauschen so überlagert wurde, dass es nicht eindeutig zugeordnet werden konnte.

Gruppe 3: Aroma-aktive flüchtige Verbindungen, die ausschließlich im guten Rapsöl detektiert wurden

12 aroma-aktive flüchtige Verbindungen konnten ausschließlich in dem als sensorisch gut bewerteten Rapsöl wahrgenommen werden. Diese Substanzen zeigten eine so geringe Peakintensität, dass eine Identifizierung nicht möglich war.

Gruppe 4: Aroma-aktive flüchtige Verbindungen, die ausschließlich in der schlechten Rapsölprobe detektiert wurden

Weitere zehn aroma-aktive Substanzen konnten ausschließlich im schlechten Rapsöl wahrgenommen werden.

Tabelle 9: Flüchtige Verbindungen mit Unterschieden in Konzentration oder Vorkommen zwischen einem sensorisch guten und einem sensorisch schlechten nativen kaltgepressten Rapspeiseöl. Innerhalb der Gruppen sind die Verbindungen nach aufsteigendem Retentionsindex (RI) angeordnet. **Gruppe 1:** Nicht aroma-aktive flüchtige Verbindungen mit deutlichen Konzentrationsunterschieden zwischen guter und schlechter Rapsölprobe. **Gruppe 2:** Aroma-aktive Substanzen, die sowohl in gutem als auch in schlechtem Rapsöl wahrgenommen werden konnten. **Gruppe 3:** Aroma-aktive flüchtige Verbindungen, die ausschließlich im guten Rapsöl detektiert wurden. **Gruppe 4:** Aroma-aktive flüchtige Verbindungen, die ausschließlich in der schlechten Rapsölprobe detektiert wurden. U= unbekannt: Nur Geruchseindruck wahrnehmbar, kein Peak detektierbar

Gruppe	Nr. ^a	Name	RI ^b	Geruchseindruck ^d	Identifizierung ^e	
					NIST	Std
1	1	Diethylether	517		x	
	2	Ethanol	537			x
	8	2-Methylpropanol	733			x
	10 ^c	2-Methylbutanal	739			x
	11	2-Butenal	755		x	
	17 ^c	2-Methylpropylethanoat	838		x	
	19 ^c	2-Methylbutanol	844			x
	20	Acetoin	865			x
	25	Ethyl-2-methylbutanoat	907			x
	26	Ethyl-3-methylbutanoat	912		x	
	27 ^c	iso-Propanol	922		x	
	28	1,2-Propandiol	940			x
	30	3-Methylbutylacetat	943			x
	31	2-Methylbutylacetat	946			x
	34	Styrol	963			x
	35	2,3-Butandiol II	980			x
	42 ^c	Ethyl-5-hexenoat	1060			

Gruppe	Nr. ^a	Name	RI ^p	Geruchseindruck ^d	Identifizierung ^e
	43	Ethylhexanoat	1063		x
	46 ^c	1-Hexanol	1073		x
	49 ^d	4-Isothiocyanat-1-buten	1107		x
	51	γ-Butyrolacton	1140		x
	53 ^c	Ethylheptanoat	1164		x
	62 ^c	Ethylbenzoat	1286		x
2	3	Dimethylsulfid	542	modrig, käsig, vergammelt	x
	4	2-Methylpropanal	608	modrig, süßlich	x
	5	Butanal	661	unangenehm, käsig, schweißig	x
	9	3-Methylbutanal	734	käsig, Buttersäure	x
	14	Pentanal	778	käsig, modrig	x
	23	Hexanal	884	grün, Gras	x
	38	2,4-Dithiapentan	975	unangenehm, modrig	x
	39	Heptanal	990	grün, süß, Zitrone, blumig	x
	40	u		unangenehm	
	41 ^c	Dimethyl sulfoxid		Kompost, käsig, vergammelt	x
	44	Limonen	1062	würzig	x
	45	u		Pilz	
	47	u		metallisch, Orange, fruchtig, süß	
	48	Octanal	1093	grün, Zitrone, Gras	x
	52	u		grün, frisch, Erbse, saatig, Spargel, Gras	
	54	γ-Valerolacton	1175	Pilz, feuchte Erde	x

Gruppe	Nr. ^a	Name	RI ^b	Geruchseindruck ^d	Identifizierung ^e
	56	Nonanal	1199	seifig, Zitrone, süß	x
	63 ^c	2-Phenylethanol	1286	nussig, Roggen, Gummi	x
3	64	u		röstig, ranzig, kaltes Fett	
	7	u		Vanille, angenehm	
	13	u		käsig, modrig, Gummi	
		u		Gummi, süß	
	22	u		Gummi, süß	
	24	u		nicht näher beschrieben	
	29	u		nicht näher beschrieben	
4	6	Ethylacetat	671	süß, Klebstoff, Karamell	x
	12 ^c	Essigsäure	798	Essigsäure	x
	16 ^c	Ethyl-2-methylpropanoat	816	fruchtig, süß	x
	18	3-Methylbutanol	842	schweißig, käsig	x
	21 ^c	Ethylbutanoat	862	süß, fruchtig, Gummibärchen	x
	32 ^c	Ethyl-4-pentenoat	957	fruchtig, süß	x
	33	2,3-Butandiol I	967	Lösemittel, metallisch	x
	55	2-Octenal	1180	röstig	x
	57	U		süß, Zitrone, grün	
	60 ^c	Guaiacol	1241	modrig, eingelegtes Gemüse	x

^aDie Zahlen entsprechen den numerischen Peakzuordnungen aus Abbildung 5

^bRetentionsindex (RI) nach Kováts. Innerhalb der Gruppen sind die Verbindungen nach steigendem RI aufgelistet.

^cNicht für das Profiling (Kapitel 2.2.5.) verwendet, da Verbindung in weniger als 20% der Profiling-Proben identifiziert wurde

^dDer Geruchseindruck wurde von mindestens 3 von 5 Testpersonen beschrieben.

^eIdentifizierung über Vergleich der Massenspektren aus der NIST-Datenbank oder über den Vergleich mit Retentionszeit, Retentionsindex und Massenspektren von Standardsubstanzen (Std).

Die Analyse zeigte ein deutlich häufigeres Vorkommen von Esterverbindungen in der sensorisch schlechten Rapssaat. Die Esterverbindungen entstehen durch den Zusammenschluss von Alkoholen und organischen Säuren. 2-Methylpropylethanoat, Ethyl-2-methylbutanoat, Ethyl-3-methylbutanoat, 3-Methylbutylacetat, 2-Methylbutylacetat, Ethyl-5-hexenoat, Ethylhexanoat, Ethylheptanoat, Ethylbenzoat, wurden in der Gruppe 1 (Tabelle 9) detektiert und von der Testgruppe nicht als aroma-aktiv beschrieben. Diese Verbindungen zeigten ein deutlich höheres Vorkommen in der sensorisch schlechten Probe. Ethylacetat, Ethyl-2-methylpropanoat, Ethylbutanoat und Ethyl-4-pentenoat zählten hingegen zu den aroma-aktiven Estern, die ausschließlich in dem sensorisch schlechten Rapsöl gefunden werden konnten (Tabelle 9, Gruppe 4). Das gehäufte Vorkommen dieser Ester in der sensorisch fehlerhaften Rapsölprobe resultierte aus dem deutlich erhöhten Vorkommen von Ethanol mit einer relativen Peakfläche von 7,81 Area% in der sensorisch schlechten Probe im Gegensatz zu 5,63 Area% in der sensorisch guten Probe. (Abbildung 9, Peak Nr. 2). Diese hohen Ethanolgehalte können als Hinweis auf mikrobielle Gärungsprozesse einer falsch gelagerten Rapssaat angesehen werden (Morales et al., 2005) und entsprachen der sensorischen Wahrnehmung einer stark vergorenen Probe. Da auch Essigsäure (Abbildung 9, Peak 12) in dieser Probe ein sehr dominantes Auftreten zeigte (6,39 Area% in der sensorisch schlechten Probe versus 4,32 Area% in der sensorisch guten Probe), resultierte in der Kombination mit Ethanol ein ebenfalls sehr hohes Vorkommen von Ethylacetat mit einer relativen Peakfläche von 6,78 Area% in der sensorisch schlechten Probe im Vergleich zu 4,91 Area% in der sensorisch guten Probe (Abbildung 9, Peak 6). Morales et al. (2005) sehen in dem erhöhten Vorkommen von Estern in nativen, kaltgepressten Olivenölen zum einen ein Zeichen für überreife Früchte, zum anderen sind diese Verbindungen auch als Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen bekannt. Unter anderem werden Ethylbutanoat, 3-Methylbutanol, 2-Methylpropylbutanoat, Essigsäure, Ethanol und Ethylacetat dabei von Morales et al. (2005) als Degradationsprodukte eines mikrobiellen Stoffwechsels für sensorische Defekte bei nativen, kaltgepressten Olivenölen verantwortlich gemacht.

2.2.5. Dyn. HS-GC-MS-Profilung

Die in Kapitel 2.2.4. identifizierten flüchtigen Verbindungen dienten als Basis für die Profilinganalyse größerer Datensätze. Um zu überprüfen, ob diese Verbindungen generelle Markersubstanzen für sensorisch schlechte native Rapsölproben sind, wurden die flüchtigen Verbindungen aus Tabelle 9 für die Profilinganalyse eingesetzt. Um ein repräsentatives Ergebnis erzielen zu können, das der Heterogenität der handelsüblichen nativen, kaltgepressten Rapsölproben gerecht wird, wurden nur solche Verbindungen zur Analyse herangezogen, die in mind. 20% der Proben identifiziert werden konnten. Insgesamt konnten

31 flüchtige Verbindungen aus Kapitel 2.2.4. zur Analyse herangezogen werden (Tabelle 10).

Für die Datenanalyse wurden 43 native, kaltgepresste Rapsöle verwendet, die als eindeutig sensorisch gut oder sensorisch schlecht bewertet wurden. Für die statistische Analyse wurden fehlende Werte durch Gruppenmittelwerte ersetzt.

Tabelle 10: Einfluss von 13 flüchtigen Verbindungen auf die sensorische Qualität nativer, kaltgepresster Rapspeiseöle. Hervorgehoben: Verbindungen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden (Signifikanzniveau $\alpha_g=0,05$) zwischen sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen

i	Verbindung	RI	p-Wert ^a	α_i^b	Vorkommen ^c		Mittelwerte + SD ^d	
					gute Öle	Schlechte Öle	Gute Öle	Schlechte Öle
1	Acetoin	865	4,2111E-07	0,0016	6	16	1,48±0,82	2,75±0,55
2	3-Methylbutylacetat	943	6,2245E-07	0,0017	3	12	1,02±1,16	2,91±0,95
3	2-Methylbutylacetat	946	1,0571E-06	0,0017	4	13	1,19±1,09	2,88±0,84
4	Ethyl-3-methylbutanoat	912	3,2855E-06	0,0018	2	9	0,52±0,76	2,02±1,03
5	Ethylhexanoat	1063	1,2239E-05	0,0019	5	13	1,07±0,83	2,27±0,75
6	1,2-Propandiol	940	1,2455E-05	0,0019	6	16	2,06±1,33	3,62±0,65
7	Ethyl-2-methylbutanoat	907	2,3144E-05	0,0020	5	12	1,12±0,89	2,38±0,84
8	2,3-Butandiol I	967	4,8879E-05	0,0021	14	20	3,79±0,66	4,58±0,47
9	3-Methylbutanal	734	0,0004	0,0022	20	23	4,38±0,22	4,72±0,33
10	2,3-Butandiol II	980	0,0005	0,0023	5	11	1,85±1,42	3,4±1,33
11	Ethylbenzoat	1286	0,0007	0,0024	3	8	0,56±0,64	1,39±0,81
12	2-Methylpropanal	608	0,0014	0,0025	12	15	3,86±0,32	4,22±0,36
13	TAG 832s 69mz (2-Butenal)	755	0,0018	0,0026	20	23	4,15±0,23	4,52±0,45
14	Nonanal	1199	0,0112	0,0028	20	23	3,47±0,27	3,73±0,36
15	Ethanol	537	0,0225	0,0029	20	23	5,01±0,30	5,23±0,32
16	2-Octenal	1180	0,0084	0,0031	18	23	3,12±0,31	3,37±0,29
17	Octanal	1093	0,0507	0,0033	20	23	4,38±0,28	4,55±0,27
18	γ -Valerolacton	1175	0,0624	0,0036	19	23	3,63±0,89	4,00±0,20
19	3-Methylbutanol	842	0,0629	0,0038	20	23	4,76±0,27	4,94±0,34
20	Limonen	1062	0,0973	0,0042	14	17	3,68±0,73	4,06±0,70
21	2,4-Dithiapentan	975	0,1284	0,0045	20	23	3,88±0,58	3,62±0,51
22	Hexanal	884	0,1351	0,0050	20	23	6,15±0,53	6,38±0,48

i	Verbindung	RI	p-Wert ^a	α_i^b	Vorkommen ^c		Mittelwerte + SD ^d	
					gute Öle	Schlechte Öle	Gute Öle	Schlechte Öle
23	γ -Butyrolacton	1140	0,1460	0,0056	19	23	4,95±0,37	5,12±0,36
24	Heptanal	990	0,2313	0,0062	20	23	4,09±0,46	4,23±0,23
25	Pentanal	778	0,2457	0,0071	20	23	5,25±0,26	5,34±0,25
26	2-Methylpropanol	733	0,3056	0,0083	12	15	3,59±0,89	3,85±0,80
27	Dimethylsulfid	542	0,3741	0,0100	20	23	5,37±1,04	5,03±1,38
28	Butanal	661	0,3775	0,0125	20	23	4,24±0,29	4,32±0,32
29	Ethylethanoat	671	0,7249	0,0167	20	23	4,63±0,63	4,69±0,47
30	Ethylether	517	0,9022	0,0250	20	23	5,46±0,91	5,42±0,95
31	Styrol	963	0,9750	0,0500	20	23	3,97±0,23	3,98±0,21

^ap-Wert des Signifikanztests (t-Test). Die flüchtigen Verbindungen sind nach aufsteigendem p-Wert in der Tabelle angeordnet

^bPost hoc-Korrektur nach Bonferroni-Holm. $\alpha_i = \frac{\alpha_g}{k - i + 1}$; k=Stichprobenumfang; i=1,2,...k; α_g =globaler alpha Wert, Signifikanzniveau (0,05). Es findet sich ein signifikanter Konzentrationsunterschied der flüchtigen Verbindung, wenn der p-Wert einen geringeren Wert, als der α_i -Wert aufweist

^cVorkommen der flüchtigen Verbindungen in 20 sensorisch guten und 23 sensorisch schlechten nativen, kaltgepressten Rapsölproben

^dGruppenmittelwerte und Standardabweichung (SD) der 20 sensorisch guten und 23 sensorisch schlechten nativen, kaltgepressten Rapsölproben. Angabe der relativen Peakflächen (Area%) nach Logarithmierung.

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) der 31 identifizierten flüchtigen Verbindungen wird in Abbildung 10 gezeigt.

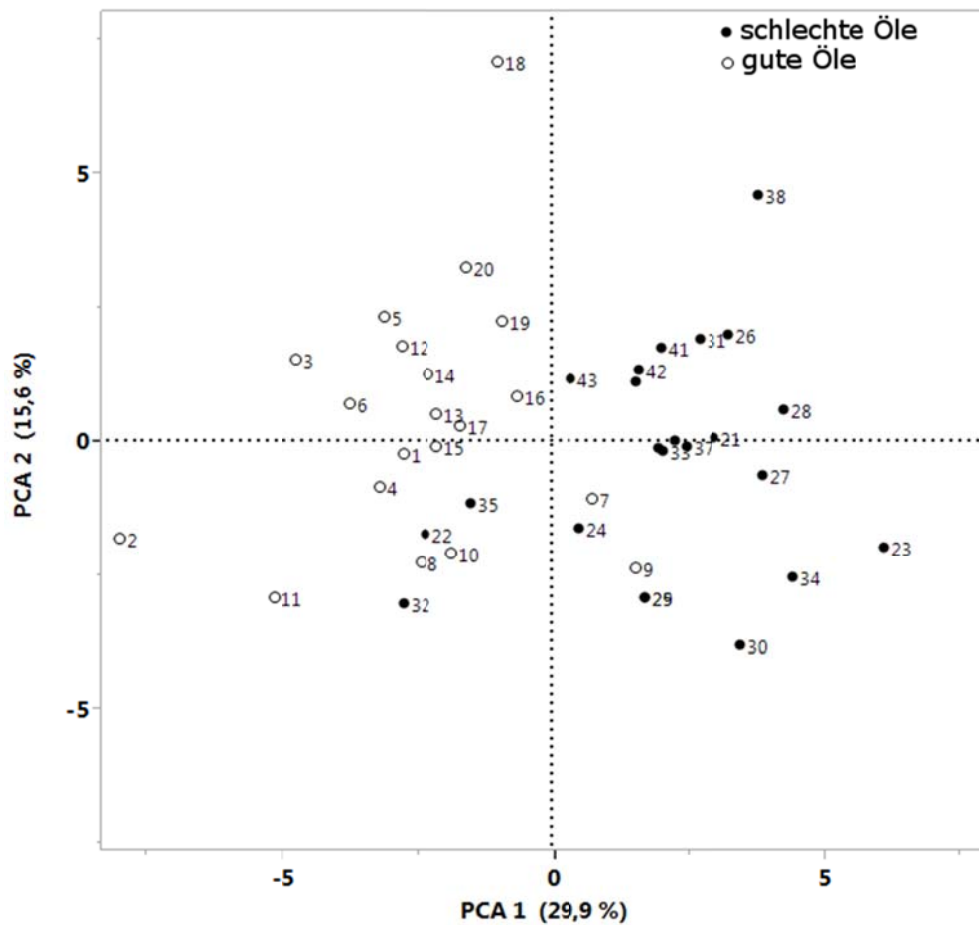


Abbildung 10: Hauptkomponentenanalyse (PCA) sensorisch guter und sensorisch schlechter Rapsölproben

Abgesehen von den Proben Nr. 22, 32 und 35 befinden sich alle als sensorisch schlecht bewerteten Proben im Bereich der positiven X-Achse und mit Ausnahme der Proben 7 und 9 befinden sich alle als sensorisch gut bewerteten Proben im Bereich der negativen X-Achse. Nach Einfügen der Gruppenmittelwerte für die fehlenden Werte (Missing Values) von Verbindungen, die nicht in allen Proben gefunden werden konnte, zeigte der Signifikanztest (t-Test) bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ für insgesamt 13 Substanzen signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den sensorisch guten und den sensorisch schlechten Ölen (Tabelle 10, Verbindung 1 – 13). Bei genauerer Betrachtung der in der Hauptkomponentenanalyse (Abbildung 10) „falsch“ zugeordneten Öle zeigte sich, dass in den als sensorisch gut bewerteten Ölen Nr. 7 und 9 Verbindungen detektiert wurden, die häufiger in sensorisch schlechten Ölen auftraten. Im Gegensatz dazu wurden einige Verbindungen, die häufiger in schlechten Ölen auftraten in den als sensorisch schlecht bewerteten Ölen Nr. 22, 32 und 35 nicht detektiert (Tabelle 11). Der sensorische Defekt

dieser Proben, wurde möglicherweise durch Verbindungen hervorgerufen, die mit den angewandten Methoden nicht aus den Ölen extrahiert werden konnten. Es ist auch denkbar, dass die Öle von der Prüfergruppe falsch zugeordnet wurden.

Die Fehler der in der Projektlaufzeit sensorisch bewerteten Rapsöle zeigten eine sehr starke Varianz, sowohl in der Art der Fehler als auch in der Ausprägung. Die PCA (Abbildung 10) veranschaulicht aber, dass es mit Hilfe der 31 ausgewählten Verbindungen dennoch möglich war, 87% der sensorisch fehlerhaften Rapsproben in eine gemeinsame Gruppe zu klassifizieren.

Tabelle 11: Vorkommen der Verbindungen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölproben in den falsch zugeordneten Proben sowie im gesamten Datensatz

i ^a	Verbindung	Auftreten in Öl Nr. ^d					Auftreten in Proben gesamt	
		7 ^b	9 ^b	22 ^c	32 ^c	35 ^c	gut	schlecht
1	Acetoin	X	X	X	X	X	6 (30%)	16 (70%)
2	3-Methylbutylacetat	-	X	-	-	-	3 (15%)	12 (52%)
3	2-Methylbutylacetat	X	X	-	-	-	4 (20%)	13 (57%)
4	Ethyl-3-methylbutanoat	-	-	-	-	-	2 (10%)	9 (40%)
5	Ethylhexanoat	X	X	-	-	-	5 (25%)	13 (57%)
6	1,2-Propandiol	-	X	X	-	X	6 (30%)	16 (70%)
7	Ethyl-2-methylbutanoat	X	X	-	-	-	5 (25%)	12 (52%)
8	2,3-Butandiol I	X	X	X	X	X	14 (70%)	20 (87%)
9	3-Methylbutanal	X	X	X	X	X	20 (100%)	23 (100%)
10	2,3-Butandiol II	-	X	X	X	-	5 (25%)	11 (48%)
11	Ethylbenzoat	X	-	-	-	X	3 (15%)	8 (35%)
12	2-Methylpropanal	-	-	X	-	X	12 (60%)	15 (65%)
13	TAG 832s 69mz (2-Butenal)	X	X	X	X	X	20 (100%)	23 (100%)

^alaufende Nummer

^bsensorisch gut bewertete Probe, die in der Hauptkomponentenanalyse den sensorisch schlechten Proben zugeordnet wurde

^csensorisch schlecht bewertete Probe, die in der PCA den sensorisch guten Proben zugeordnet wurden

^dDie Nummern der Öle entsprechen den Nummern in der PCA (Abbildung 6). **Rotes X:** Verbindung wurde flüchtige Verbindung kommt in sensorisch guter Probe nur selten vor ($\leq 30\%$). **Rotes -:** Flüchtige Verbindung tritt in sensorisch schlechten Proben häufig vor ($\geq 35\%$).

Insgesamt wurden nur 5 von 43 Proben (knapp 12%) in der Hauptkomponentenanalyse der falschen Gruppe zugeordnet. Diese Falschzuordnung ist anhand der Datenlage nachvollziehbar (Tabelle 11).

Der Biplot veranschaulicht, dass die Öle, die sich in der PCA im Bereich der positiven x-Achse und der negativen y-Achse befinden, vor allem von den Verbindungen beeinflusst wurden, die signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den sensorisch guten und sensorisch schlechten Ölen aufwiesen und die häufiger in den schlechten Ölen aufgetreten sind (Abbildung 11).

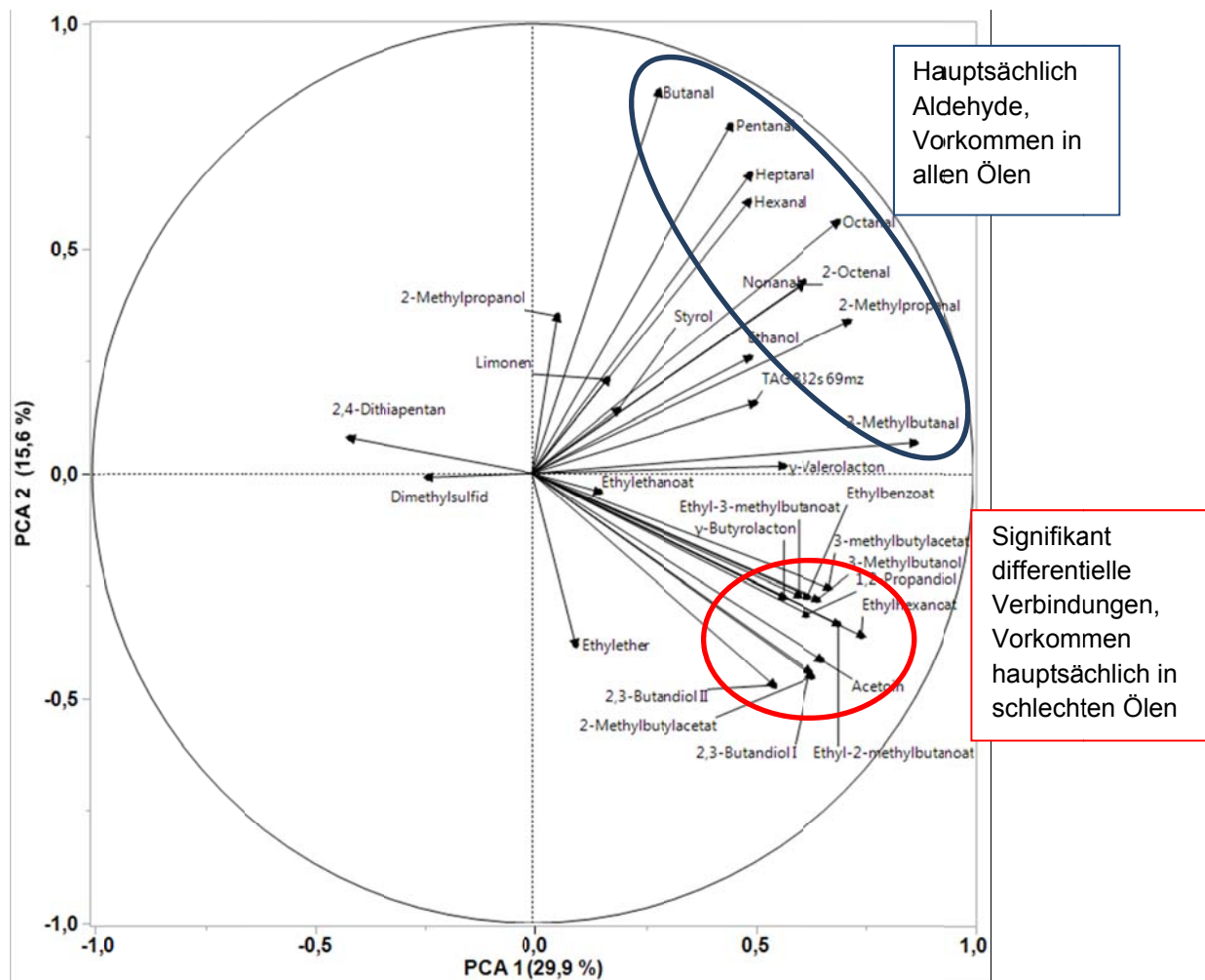


Abbildung 11: Der Biplot zeigt die flüchtigen Verbindungen, die an der Trennung der Rapsölproben beteiligt sind. Je länger der entsprechende Vektor, desto größer ist der Einfluss auf die Trennung

Die Öle, die sich in der PCA im positiven Bereich der x- und der y-Achse befinden, wurden stärker von verschiedenen Aldehyden beeinflusst, die sowohl in guten als auch in schlechten Rapsölen detektiert wurden und von denen lediglich die drei Verbindungen 3-Methylbutanal, 2-Methylpropanal und TAG 832s 69mz (2-Butenal) signifikant unterschiedliche Konzentrationen zwischen den beiden Gruppen aufweisen.

Wurde die Hauptkomponentenanalyse ausschließlich mit den 13 Verbindungen durchgeführt, die signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den sensorisch guten und sensorisch

schlechten Rapsölen aufwiesen (Tabelle 10), so zeigte sich, dass die Trennung ähnlich gut darstellbar ist, wie in Abbildung 11 (Abbildung 12). Durch die Fokussierung der Hauptkomponentenanalyse auf 13 signifikant unterschiedliche Verbindungen war es möglich, den Beitrag der beiden Hauptkomponenten (PCA 1 und PCA 2) zur Gesamtvarianz des Datensatzes von 45,5% in Abbildung 11 (31 Verbindungen) auf 63,4% in Abbildung 12 (13 signifikante Verbindungen) zu verbessern. Dieses Ergebnis ist eine Bestätigung für den großen Einfluss, den die 13 Verbindungen auf die Trennung der Gruppen sensorisch guter und schlechter Rapsöle ausüben.

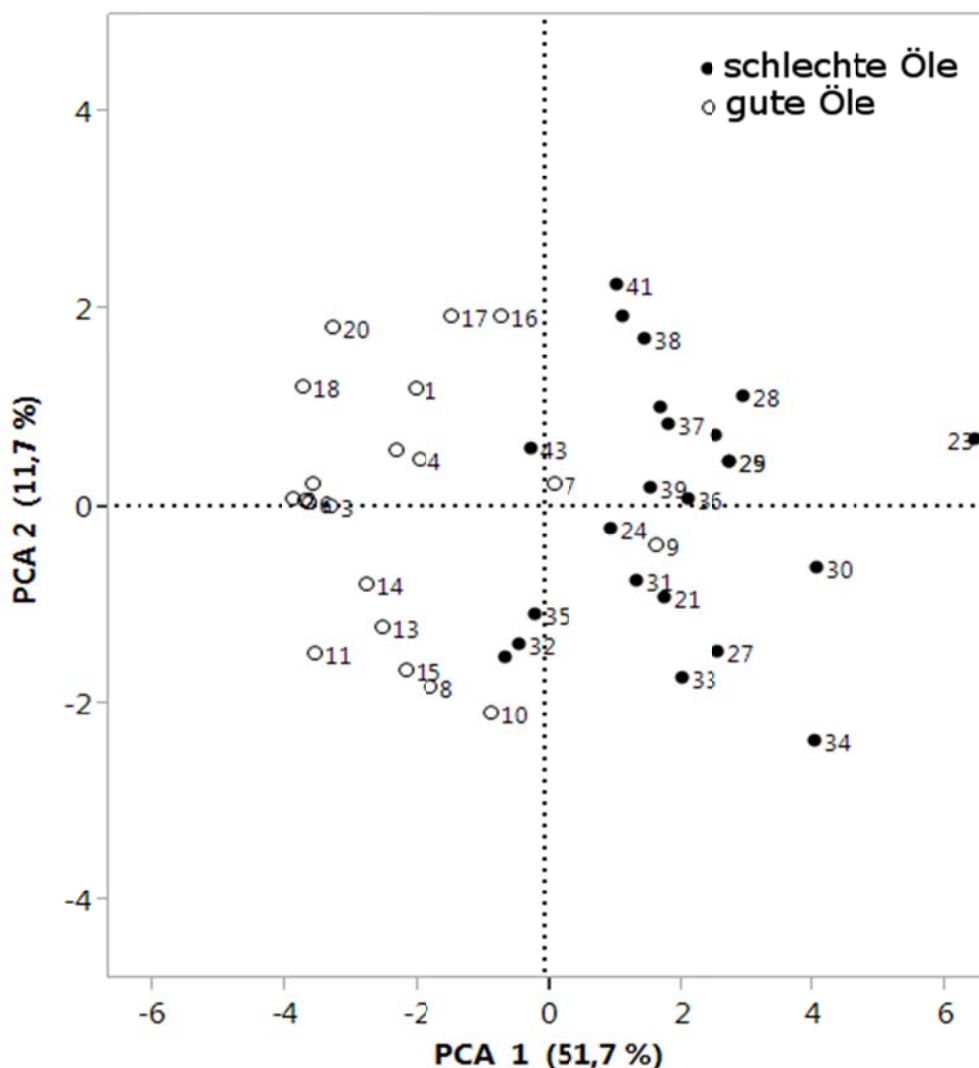


Abbildung 12: Hauptkomponentenanalyse (PCA) mit den 13 flüchtigen Verbindungen aus Tabelle 11, die signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen zeigten. 1 – 20: sensorisch gute Rapsöle (weißer Kreis). 21 – 43: Sensorisch schlechte Rapsöle (schwarzer Kreis)

In Abbildung 12 lassen sich wieder die „falsch“ zugeordneten Proben Nr. 7 und Nr. 9, sowie 22, 32 und 35 erkennen.

2.2.6. Methodenentwicklung

In der vergleichenden olfaktorischen und dyn. HS-GC-MS Analyse mit je einem sensorisch guten und schlechten nativen Rapsspeiseöl (Kapitel 2.2.4), wurden 31 flüchtige Verbindungen identifiziert, die in Bezug auf Vorkommen oder Konzentration Unterschiede zwischen den Gruppen sensorisch guter und schlechter Rapsöle aufwiesen. In einem Datensatz von 43 Proben guter und schlechter Qualität zeigten 13 dieser Verbindungen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 12). Auf Basis dieser 13 flüchtigen Verbindungen wurde mit dem Datensatz der 43 nativen Rapsölproben eine Lineare Diskriminanzanalyse erstellt. Die LDA weist jeder Variablen (x) einen Regressionskoeffizienten β zu, der den Einfluss der Variablen (x) auf den Datensatz repräsentiert. Die Berechnung erfolgte mit folgender Funktion:

$$f(x) = - 4,1406 + (\beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \dots + \beta_{13} \cdot x_{13})$$

$$f(x) < 0 = \text{gute Öle}$$

$$f(x) > 0 = \text{schlechte Öle}$$

Tabelle 12: Verbindungen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden ($\alpha=0,05$) zwischen sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen. RI = Retentionsindex. β = Regressionskoeffizient. LDA = Lineare Diskriminanzanalyse

Nr.	Verbindung (x)	RI	P-Wert	β (LDA)
1	Acetoin	865,8	$4,2 \times 10^{-7}$	0,7139
2	3-Methylbutylacetat	942,85	$6,2 \times 10^{-7}$	0,3006
3	2-Methylbutylacetat	943,96	$1,1 \times 10^{-6}$	0,5911
4	Ethyl-3-methylbutanoat	912,23	$3,3 \times 10^{-6}$	0,0885
5	Ethylhexanoat	1062,7	$1,2 \times 10^{-5}$	-0,5574
6	1,2-Propandiol	944,4	$1,2 \times 10^{-5}$	0,445
7	Ethyl-2-methylbutanoat	906,2	$2,3 \times 10^{-5}$	0,2776
8	2,3-Butandiol I	967,7	$4,9 \times 10^{-5}$	-0,1288
9	3-Methylbutanal	734,6	0,0004	-4,1364
10	2,3-Butandiol II	980,0	0,0005	0,2638
11	Ethylbenzoat	1285,6	0,0007	0,3369
12	2-Methylpropanal	657,4	0,0013	3,4439
13	TAG 832s 69mz (2-Butenal)	755,86	0,0018	0,9923

Die in Tabelle 12 dargestellten Regressionskoeffizienten zeigen, dass insbesondere 3-Methylbutanal und 2-Methylpropanal einen großen Einfluss auf die Kategorisierung der Proben im Rahmen der LDA haben. Beide Verbindungen wurden vor allem als Abbauprodukte von Mikroorganismen beschrieben.

Mit Hilfe der LDA war es möglich die sensorisch schlechten Öle zu 100% in die richtige Gruppe zu kategorisieren. Die sensorisch guten Öle konnten zu 95% der richtigen Gruppe zugeordnet werden (Abbildung 13). 19 weitere Proben wurden zur Validierung der Diskriminanzanalyse verwendet. Hier konnten vier von sechs sensorisch schlechten Ölen (66,6%) und 12 von 13 sensorisch guten Ölen (92,3%) in die richtige Gruppe kategorisiert werden (Abbildung 13).

Eigenwert	Kanonische Korrelation	Likelihood Verhältnis	Approx. F	Wahrscheinlichkeit F
3,7952	0,8896	0,2085	8,4663	<0,0001*
		Vorhersage Gruppenzugehörigkeit		Total
Training		●	●	
	●	23 (100%)	0 (0%)	23
	●	1 (5%)	19 (95%)	20
Validierung				
	●	4 (66,6%)	2 (33,4%)	6
	●	1 (7,7%)	12 (92,3%)	13

Abbildung 13: Klassifikationsparameter und Ergebnisse der Linearen Diskriminanzanalyse (LDA). Rot: Sensorisch schlechte native, kaltgepresste Rapsöle. Grün: Sensorisch gute native, kaltgepresste Rapsöle

Mit Hilfe der 13 Verbindungen war es somit möglich, sensorisch gute und sensorisch schlechte Öle zu differenzieren.

Diese Methode ist zwar nicht dazu geeignet ein Prüferpanel komplett zu ersetzen, ermöglicht aber eine Reduzierung der zu testenden Proben und kann dadurch zu einer Zeit- und Kostenersparnis für die Unternehmen beitragen. Außerdem kann die Methode bei Zweifelsfällen einer sensorischen Analyse durch die Untersuchung des Profils der flüchtigen Verbindungen Hinweise auf die sensorische Qualität von nativen Rapsölen geben.

2.2.7. Methodenüberprüfung zur Detektion von Pyrazinen in nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen

Probenmenge

Die Erhöhung der Probenmenge von 0,4 auf 1, 1,5 oder 2 g erzielte keine bessere Empfindlichkeit der Methode für Pyrazine. Bei einer Probenmenge >1 erhöhte sich das Hintergrundrauschen zunehmend, so dass die Peaks diffuser und uneindeutiger wurden.

Purgezeit

Bei einer Erhöhung der Purgezeit von 20 auf 40 min. bei einer Konzentration von 100 µg/kg und einer Probentemperatur von 80°C, konnten die Pyrazinpeaks nicht mehr detektiert werden. Eine Erhöhung der Purgezeit wirkt sich somit, ähnlich wie die Erhöhung der Probenmenge, negativ auf die Detektion der Pyrazine in nativen Rapsölen aus.

Konzentration und Probentemperatur

Die Ergebnisse zeigten, dass die Pyrazinpeaks unabhängig von der Ausgangskonzentration erst ab einer Temperatur von 120°C verlässlich mit der dyn. HS-GC-MS-Methode detektiert werden konnten. Bei niedrigeren Temperaturen lagen die Standardabweichungen zwischen den Replikaten teilweise über den Werten der Peakflächen (Tabelle 13).

Tabelle 13: Mittelwerte ± Standardabweichung und zugehörige Stichprobenumfänge (n_{80} , n_{100} , n_{120}) von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (S1) und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (S2) jeweils für die Konzentrationen (c) 100, 500 und 1000 bei 80, 100 und 120°C Probentemperatur (T)

	C [µg/kg]	Relative Peakfläche					
		T 80°C	n_{80}	T 100°C	n_{100}	T 120°C	n_{120}
S1	100	$2,1 \times 10^7 \pm 9,5 \times 10^6$	3	$6,6 \times 10^7 \pm 9,9 \times 10^7$	3	$3,3 \times 10^8 \pm 8,3 \times 10^6$	3
	500	$6,7 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^8$	4	$4,2 \times 10^8 \pm 5,8 \times 10^8$	3	$1,7 \times 10^9 \pm 1,7 \times 10^7$	3
	1000	$1,8 \times 10^8 \pm 3,4 \times 10^8$	4	$8,3 \times 10^8 \pm 1,3 \times 10^9$	3	$3,4 \times 10^9 \pm 7,5 \times 10^7$	3
S2	100	$2,1 \times 10^7 \pm 1,7 \times 10^7$	9	$2,4 \times 10^7 \pm 4,0 \times 10^7$	3	$5,6 \times 10^8 \pm 3,0 \times 10^7$	3
	500	$4,0 \times 10^7 \pm 3,7 \times 10^7$	5	$1,6 \times 10^8 \pm 2,7 \times 10^8$	3	$1,0 \times 10^9 \pm 3,7 \times 10^7$	3
	1000	$1,2 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^8$	5	$3,8 \times 10^8 \pm 6,3 \times 10^8$	3	$2,1 \times 10^9 \pm 1,8 \times 10^7$	3

Die Analyse von sensorisch guten und schlechten Handelsproben bei 120°C ergab lediglich eine Verbesserung der Pyrazinsubstanzepeaks in der sensorisch schlechten Probe SP, bei der bereits unter Standardbedingungen Pyrazine identifiziert werden konnten. In der sensorisch schlechten Probe V2 sowie den beiden sensorisch guten nativen Rapsölen konnten auch bei einer Probentemperatur von 120°C keine Pyrazine detektiert werden.

Es zeigte sich somit, dass die Pyrazine mit der dyn. HS-GC-MS Standardmethode zur Extraktion der flüchtigen Verbindungen in nativen Rapsölen nicht optimal erfasst werden können. Eine Erhöhung der Proben temperatur auf 120°C könnte mit weiteren chemischen Änderungen in den nativen Rapsölen einhergehen, die einen Abbau oder eine Neubildung von flüchtigen Verbindungen zur Folge haben kann.

2.2.8. Lagerversuch von Rapssaat unter erhöhten Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen

Die unter erhöhter Feuchtigkeit (15%) und verschiedenen Temperaturen (Raumtemperatur (RT) 22°C/30°C) in geschlossenen Plastikbehältern gelagerten Rapssaaten wurden nach entsprechender Lagerdauer zu nativen Rapsölen weiterverarbeitet. Die Datenauswertung erfolgte mit den Ergebnissen von Proben der Lagertage 0, 3, 10 und 17.

2.2.8.1. Sensorische Bewertung der gelagerten Rapssaatproben

Die sensorische Veränderung der Rapsöle aus den gelagerten Rapssaaten ist in Abbildung 14 dargestellt.

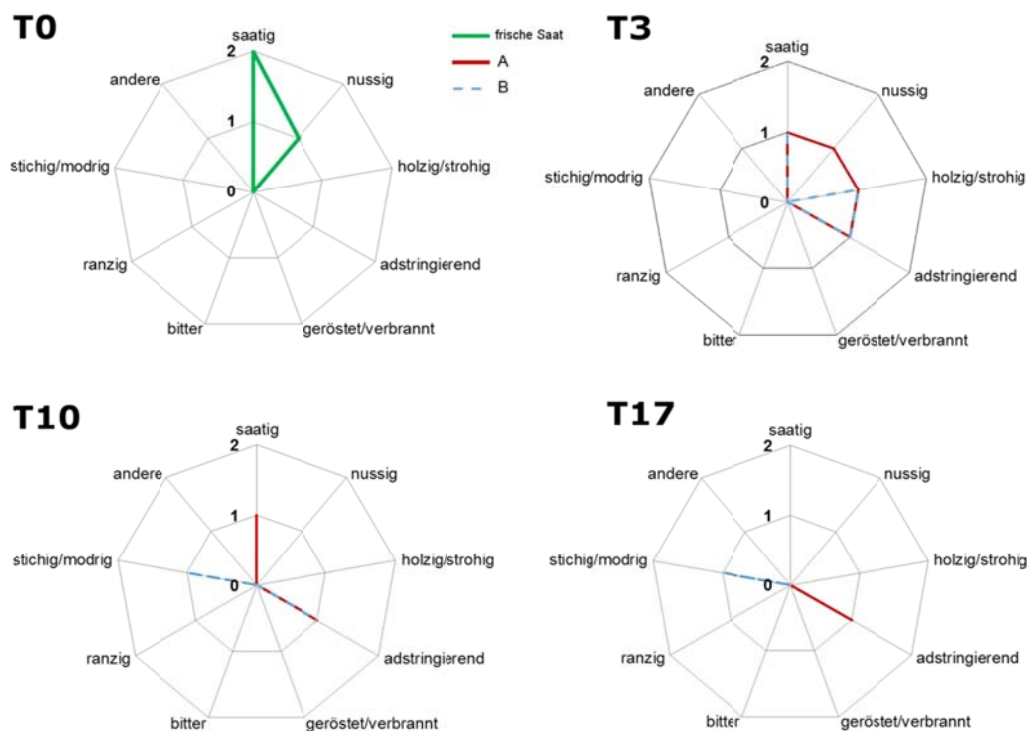


Abbildung 14: Sensorische Bewertung der unter erhöhten Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen gelagerten Rapssaatproben der Lagertage 0, 3, 10 und 17 (T0, T3, T10 und T17). Lagerbedingung A (rot): 15% Feuchtigkeit bei Raumtemperatur. Lagerbedingung B (blau): 15% Feuchtigkeit bei 30°C

Die frische Rapssaat (T0) zeigte ein typisches rapssaatiges und leicht nussiges Aroma. Unter beiden Lagerbedingungen nahm die Saatigkeit der Probe am 3. Tag der Lagerung (T3) deutlich ab. Das Aroma der Saat, die mit erhöhter Feuchtigkeit und erhöhter Temperatur gelagert wurde (Lagerbedingung B (LBB)), verschlechterte sich dabei schneller als bei der Saat, die ausschließlich unter erhöhter Feuchtigkeit gelagert wurde (Lagerbedingung A (LBA)). Während unter LBB am Tag 3 bereits die Nussigkeit verschwunden war und am 10. Tag zusätzlich keine Saatigkeit mehr wahrnehmbar war, waren diese Attribute unter LBA an diesen Tagen noch wahrnehmbar. Bei LBA wurde am Tag 3 zwar eine nachlassende Saatigkeit festgestellt, im Gegensatz zu LBB, wurde diese aber noch als gute Probe bewertet. Erst ab dem Tag 17 war unter LBA keine Saatigkeit mehr vorhanden. Das Fehl aroma „stichig/modrig“ trat unter LBB am 10. Tag hervor, während ein Fehlattribut zu diesem Zeitpunkt unter LBA noch nicht wahrgenommen wurde. Aufgrund der fehlenden Saatigkeit wurde LBA vom Prüferpanel ab Tag 17 als eindeutig sensorisch schlecht bewertet.

Durch die schnellere Verschlechterung der sensorischen Qualität unter LBB zeigten die Proben LBB 3 und LBA 7 sowie LBB 17 und LBA 10 ähnliche sensorische Eigenschaften.

2.2.8.2. Veränderung der Profile flüchtiger Verbindungen der unter erhöhten Feuchtigkeit und Temperaturbedingungen gelagerten Rapssaat

Flüchtige Verbindungen der nativen, kaltgepressten Öle aus gelagerter Saat

Die flüchtigen Verbindungen der nativen Rapsöle aus gelagerter Saat, wurden mittels dyn. HS-GC-MS analysiert. Insgesamt konnten 40 Verbindungen aus den in Tabelle 14 aufgelisteten Substanzklassen identifiziert werden. Weiterhin wurden 57 flüchtige Verbindungen detektiert, die bisher nicht identifiziert werden konnten.

Tabelle 14: Substanzklassen der identifizierten Verbindungen aus nativen, kaltgepressten Rapsölen aus Rapssaat, die unter erhöhter Feuchtigkeit (15%) und Temperatur (RT/30°C) gelagert wurde

Substanzklasse	Anzahl
Alkohole	12
Aldehyde	8
Nitrile	4
Ketone	3
Ester	3
Isothiocyanate	2
Lactone	2
Sonstige	6

Eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) zeigt eine deutliche Veränderung im Profil der flüchtigen Verbindungen von Rapsöl mit der Lagerungsdauer der Rapssaat und in Abhängigkeit von Feuchtigkeit und Temperatur während der Lagerung (Abbildung 15).

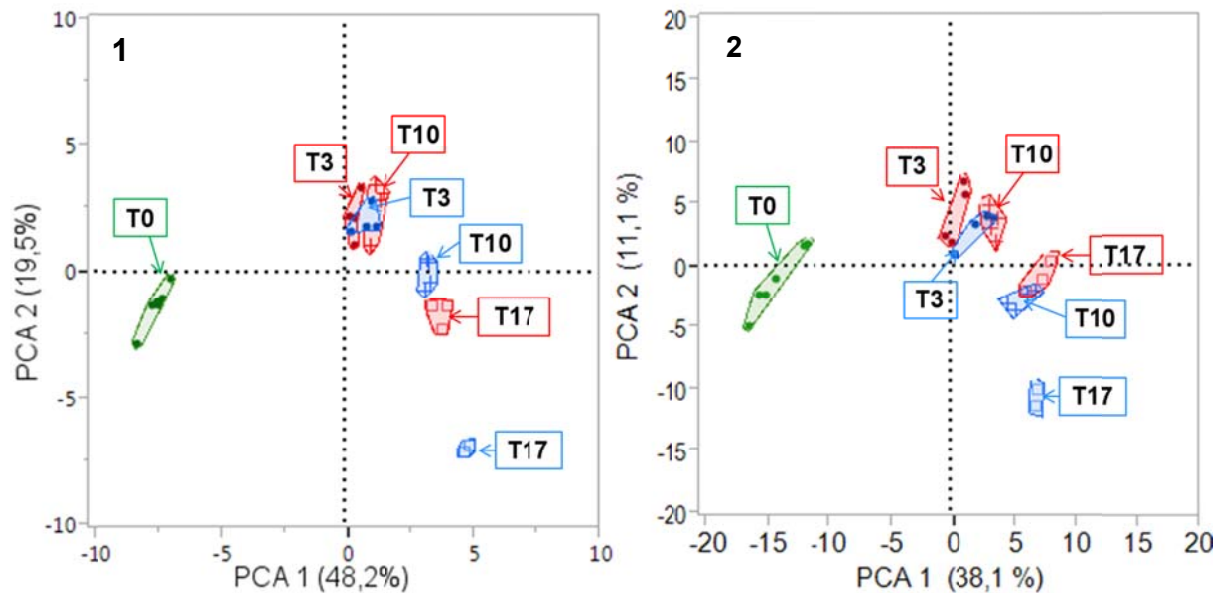


Abbildung 15: Veränderung im Profil der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle aus Saaten, die unter erhöhter Feuchtigkeit und Temperatur gelagert wurden. Darstellung der Proben vom Tag (T) 0 (grün), 3, 10 und 17 der Lagerung. Lagerbedingung A (rot): Feuchtigkeitsgehalt 15%, RT. Lagerbedingung B (blau): Feuchtigkeitsgehalt 15%, 30°C. 1: Identifizierte flüchtige Verbindungen. 2: Nicht-identifizierte flüchtige Verbindungen

Die Profile der flüchtigen Verbindungen veränderten sich im Laufe der Lagerung kontinuierlich. Während die Proben LBA T3, LBA T10 und LBB T3 noch eine größere Ähnlichkeit aufwiesen und daher in der PCA nah beieinander lagen, nahm der Abstand und somit die Veränderung in den Profilen der flüchtigen Verbindungen bei den Proben LBB T10/LBA T17 und noch deutlicher bei LBB T17 zu. Dieser Verlauf war sowohl bei den identifizierten als auch bei den nicht identifizierten Verbindungen eindeutig darstellbar. In beiden Fällen wiesen die Proben LBA T10/LBB T3 und LBA T17/LBB T10 eine hohe Ähnlichkeit im Profil der flüchtigen Verbindungen auf, was dem Ergebnis der sensorischen Wahrnehmung entsprach. Es zeigte sich zwar bereits nach drei Tagen eine sehr starke Änderung im Profil der flüchtigen Verbindungen zwischen der Ausgangsprobe und den gelagerten Proben, allerdings schienen diese Veränderungen bei den unter Raumtemperatur gelagerten Proben kaum Auswirkung auf die sensorische Qualität der nativen Rapsöle zu haben, da die Probe LBA T3 noch als sensorisch gut bewertet wurde.

In Tabelle 15 wurden die flüchtigen Verbindungen entsprechend ihrer Konzentrationsänderungen während der Lagerung in drei verschiedene Hauptgruppen eingeteilt: 1) in

Rapsöl aus frischer Saat nicht vorhanden, 2) Zunahme der Konzentration im Lagerungsverlauf und 3) Abnahme der Konzentration im Lagerungsverlauf.

Tabelle 15: Flüchtige Verbindungen in nativen, kaltgepressten Rapsölen aus Saaten, die unter verschiedener Feuchtigkeit und Temperatur gelagert wurden. Lagerbedingung A (LBA): Lagerung mit 15% Feuchtigkeit bei RT (22°C). Lagerbedingung B (LBB): Lagerung mit 15% Feuchtigkeit bei 30°C. K: keine Konzentrationsänderung während der Lagerung. FW: Fehlende Werte

KV ^a	Verbindung ^b	RI ^c	Veränderung ab Tag		Identifizierung ^d	
			LBA	LBB	NIST	Std
1	1,2-Propandiol ^f	942	3	3		x
	2,3-Butandiol I ^f	968	3	3		x
	2,3-Butandiol II ^f	978	3	3		x
	2-Butennitril II ^g	793	3	3		x
	Hexannitril ^g	1019	3	3		x
	Heptannitril ^g	1123	3	3		x
	2-Phenylethanol ⁱ	1285	3	3		x
	2-Methylisoborneol ^e	1298	3	3 ^l	x	
	3-Methyl-2-buten-1-ol ^e	886	17	3	x	
	3-Methyl-2-butenal ^e	904	17	3	x	
	Ethyl-3-methylbutanoat ^{e,f}	913	17	3	x	
	Ethyl-4-pentenoat ^e	959	FW	17		x
	2,6-Nonadienal ^h	1285	17	FW		x
2	Ethanol	535	3	3		x
	2,3-Butandion ^e	681	3	3		x
	Isopropylisothiocyanat ^g	936	3	3		x
	5-Hexennitril ^g	1009	3	3		x
	1-Octen-3-ol ^e	1079	3	3		x
	4-Isouthiocyanat-1-buten ^g	1107	3	3		x
	2-Pentanon ^e	776	7	3		x
	3-Methylbutanol ^e	842	k	7		x
	2-Methylbutanol ^e	847	k	7		x
	Acetaldehyd ⁱ	487	17	7		x
	Dimethyldisulfid ^{e,i}	812	17	7		x
	1-Butanol	772	3	3		x
	Ethyl-2-methylpropanoat	817	3	7		x

KV ^a	Verbindung ^b	RI ^c	Veränderung ab Tag		Identifizierung ^d	
			LBA	LBB	NIST	Std
3	2-Methylpropanal ^{f,i}	608	3	17		x
	2/3-Methylfuran ^e	622/641	3	3		x
	Toluol	820	3	3		x
	Hexanal ^h	883	3	3		x
	1-Heptanol	1075	10	3		x
	3-Methylbutanal ^{e,f,i,j}	735	17	k		x
	2-Methylbutanal ^{e,i,j}	739	17	17		x
	Octanal ^h	1093	17	3		x
	Nonanal ^{e,h}	1199	17	3		x

^aKonzentrationsverläufe während der Lagerung: 1) in frischer Saat nicht vorhanden, 2) Zunahme der Konzentration im Lagerungsverlauf 3) Abnahme der Konzentration im Lagerungsverlauf.

^bIdentifizierte Verbindung mit Quellenangaben e – j.

^cRetentionsindex (RI) nach Kováts.

^dIdentifizierung über Vergleich der Massenspektren aus der NIST-Datenbank oder über den Vergleich mit Retentionszeit, Retentionsindex und Massenspektren von Standardsubstanzen (Std).

^eaus Bakterienstoffwechsel möglich nach (Wagner, 2016).

^fzugehörig zur Gruppe der in sensorisch schlecht bewerteten Rapsölen signifikant vorkommenden 13 Verbindungen (nach Bonte et al., 2016).

^gGlucosinolatabbauprodukte (GAP).

^haus Abbau von ungesättigten Fettsäuren (nach Belitz et al., 2008).

ⁱaus Strecker-Abbau (nach Belitz et al., 2008).

^jhöhere Aromawerte in NOF-Probe nach Ergebnissen der FS 2.

^kNur in T3 vorhanden.

Es konnten 13 flüchtige Verbindungen identifiziert werden, die in Rapsöl aus frischer Saat nicht vorhanden sind (Tabelle 15, Konzentrationsverlauf (KV) 1). 1,2-Propandiol, 2,3-Butandiol I + II sowie Ethyl-3-methylbutanoat zeigten nach Bonte et al. (2016) signifikant höhere Konzentrationen in sensorisch fehlerhaften nativen Rapsölen. 2-Phenylethanol konnte in Rapsöl aus frischer Saat nicht detektiert werden und ist nach den Ergebnissen der FS 2 als eine der Schlüsselkomponenten für das Fehlroma „stichig/modrig“ anzusehen. Isothiocyanate und Nitrile zählen zu den Glucosinolatabbauprodukten (GAP) und dienen als Schutzsubstanzen der Pflanzen (Daxenbichler et al., 1991). Bei Zerstörung der Zellstruktur z. B. durch Schädlingsfraß oder Keimung wird das Enzym Myrosinase in die Lage versetzt, die Glucosinolate (GLS) in ihre Abbauprodukte zu spalten. Die GAP 2-Butennitril II, Heptannitril und Hexannitril konnten in dem nativen Öl der frischen Saat noch nicht detektiert werden, die Konzentration nahm aber bis zum T3 stark zu. 4-Isothiocyanat-1-buten, 5-Hexennitril und Isopropylisothiocyanat waren hingegen im Rapsöl aus frischer Saat zwar schon vorhanden, zeigten aber ebenfalls eine starke Konzentrationszunahme bis zum T3 (Tabelle 15, KV 1 und 2). Im weiteren Verlauf der Lagerung blieb die Konzentration der GAP auf hohem Niveau, stieg aber nicht weiter an und zeigte zwischen Ölen aus den bei RT gelagerten und den Ölen aus den bei 30°C gelagerten Saaten keinen Konzentrationsunterschied.

Ethyl-3-methylbutanoat, 3-Methyl-2-butenal, 3-Methyl-2-buten-1-ol, 2-Methylisoborneol sind Substanzen, die aus dem Stoffwechsel von Mikroorganismen stammen können (Kapitel 2.2.11.). Sie konnten in dem Rapsöl aus der frischen Saat nicht detektiert werden und zeigten, abgesehen von Methylisoborneol, in Ölen aus Saaten, die unter den Lagerbedingungen mit einer erhöhten Temperatur von 30°C gelagert wurden, eine deutlich schnellere Konzentrationszunahme als bei den Ölen der Proben, die bei RT gelagert wurden. Elf flüchtige Verbindungen zeigten eine Konzentrationszunahme im Lagerungsverlauf. Von diesen konnten sechs Substanzen ebenfalls dem Stoffwechsel von Mikroorganismen zugeordnet werden. 2-Methylbutanol, 3-Methylbutanol, Dimethyldisulfid und 2-Pentanon wiesen dabei in den Ölen aus Saaten, die bei 30°C gelagert wurden, wieder eine schnellere Konzentrationszunahme auf, als bei den Ölen aus Saaten, die bei RT lagerten. Diese schnellere Zunahme der Konzentration unter erhöhter Temperatur kann als ein Hinweis auf einen erhöhten mikrobiellen Abbau angesehen werden. 2,3-Butandion ist eine flüchtige Verbindung, die ebenfalls aus dem Stoffwechsel von Mikroorganismen stammen kann. Unter bestimmten Reaktionsbedingungen kann 2,3-Butandiol eine Vorstufe zur Bildung von Sotolon sein (Belitz et. al, 2008), das nach den Ergebnissen der FS 2 ebenfalls eine Schlüsselsubstanz zur Bildung des „stichig/modrigen“ Off-flavors darstellt.

Weitere elf flüchtige Verbindungen zeigten eine Abnahme der Konzentration mit der Lagerdauer. Dies war ein überraschendes Ergebnis, da ein Teil dieser Substanzen mit einer abnehmenden sensorischen Qualität von Rapsöl in Verbindung gebracht wird. Hexanal, Octanal und Nonanal sind als Abbauprodukte von ungesättigten Fettsäuren bekannt (Belitz et al., 2009), 2-Methylpropanal und 3-Methylbutanal zählen zu den 13 Verbindungen, die in Kapitel 2.2.5. signifikant höhere Konzentrationen in sensorisch schlechten Proben zeigten. 2- und 3-Methylbutanal wurden von der FS 2 ebenfalls als wichtige Aromakomponenten der NOF-Probe detektiert. In einer Überprüfung sieben weiterer Rapsöle mit „stichig/modrigem“ Fehl aroma und fünf sensorisch guten Rapsölen an der FS 2, konnte bei 2- und 3-Methylbutanal allerdings kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen den guten und den schlechten Rapsölen aufgezeigt werden. Die Konzentrationsabnahme der in Tabelle 16 unter KV 3 gelisteten flüchtigen Verbindungen, wurde daher auf chemische Abbauprozesse während der Lagerung zurückgeführt. Bei den Verbindungen, die aus dem Stoffwechsel von Mikroorganismen stammen können (2- und 3-Methylfuran, 2- und 3-Methylbutanal), ist zudem eine abnehmende Stoffwechseltätigkeit der Mikroorganismen durch gegenseitigen Konkurrenzdruck oder Sauerstoffmangel denkbar.

2.2.9. Keimung von Rapssaat

Die Keimung von Rapssaat erfolgte in einem 4-tägigen Keimungsversuch. Bereits ab dem ersten Tag (T1) war eine deutliche Keimung der Saat zu erkennen (Abbildung 16).



Abbildung 16: Keimung von Rapssaat im 4-tägigen Keimungsversuch. T: Tag

Um eine Pressung der Saat gewährleisten zu können, mussten die Proben nach dem Trocknen in einem Mischungsverhältnis von 1:1 mit ungekeimter Saat gemischt werden. Anschließend wurde eine sensorische Bewertung des Rapsöls aus der gekeimten Saat durchgeführt sowie eine Messung der flüchtigen Verbindungen mittels dyn. HS-GC-MS.

2.2.9.1. Sensorische Bewertung der gekeimten Rapssaat

Die Rapsöle aus den gekeimten Rapssaatproben wurden, wie in Kapitel 2.1. beschrieben, sensorisch bewertet. Die Ergebnisse zeigten eine deutliche Veränderung des Rapsaromas während der 4-tägigen Keimungszeit (Abbildung 17).

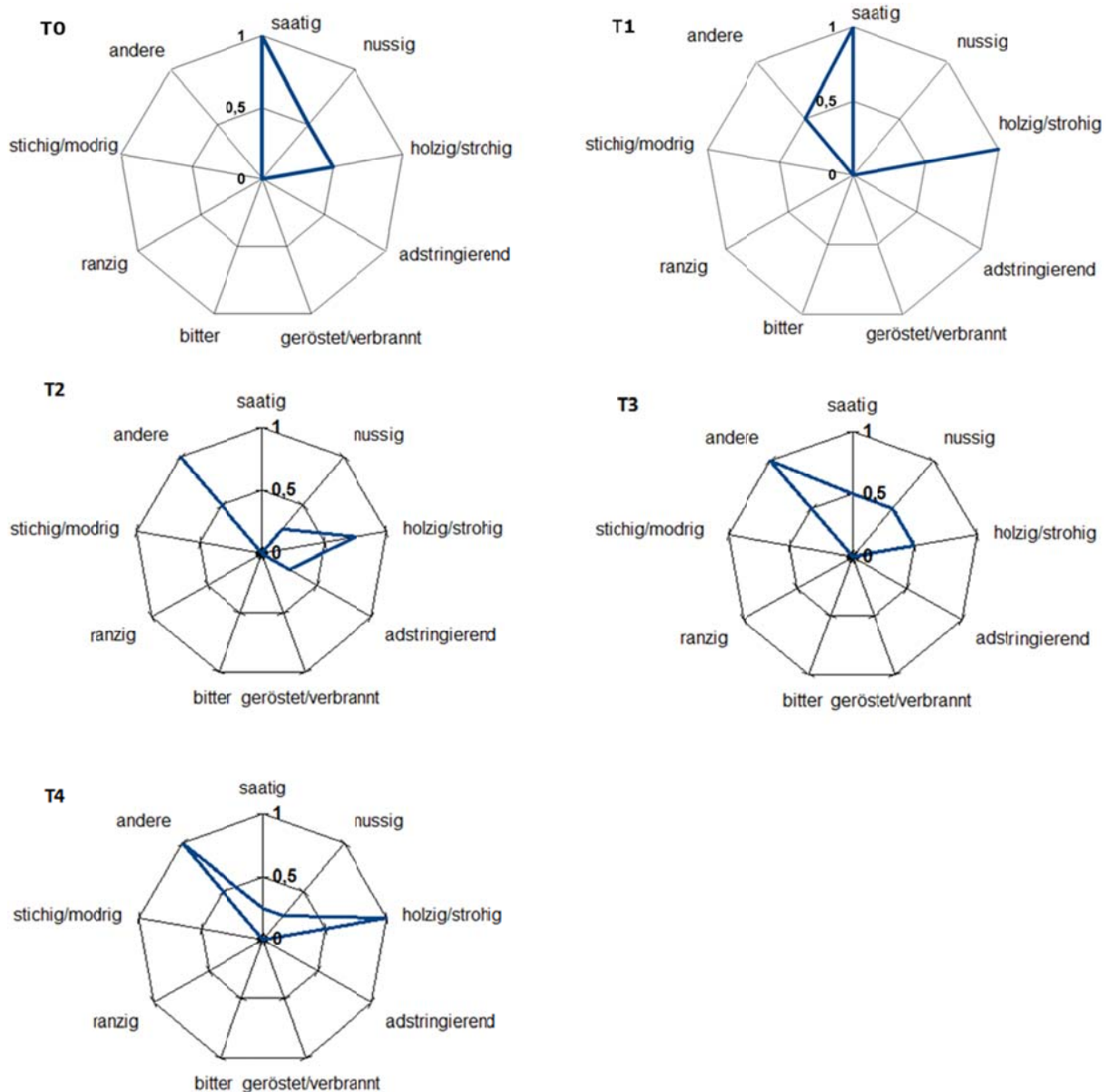


Abbildung 17: Sensorische Bewertung der gekeimten Rapssaaten von Tag 0 (T0 = ungekeimt) bis Tag 4 (T4)

Die Beschreibung der sensorischen Wahrnehmung „gekeimt“ wurde unter dem Punkt „andere“ erfasst, unter dem alle Fehlgerüche notiert wurden, die nicht den Attributen „röstig/verbrannt“, „bitter“, „ranzig“ oder „stichig/modrig“ zugeordnet werden konnten. Die ungekeimte Rapssaat (T0) zeigte ein typisches rapssaatiges und leicht nussiges Aroma (Abbildung 17). Die Veränderungen während der Keimungszeiten zeigten sich vor allem darin, dass die Saatigkeit ab dem 2. Keimungstag (T2) abnahm und dafür das Attribut „holzige/strohig“ verstärkt wahrgenommen wurde. Die Beschreibung von Fehlgerüchen trat bereits ab dem ersten Keimungstag (T1) auf, konnten aber von der Prüfergruppe nicht einheitlich beschrieben werden (Tabelle 16). Dies war vor allem dann der Fall, wenn die Probe ein nicht sehr intensives Fehlgeruch aufwies und sich am Übergang von einer

sensorisch guten zur sensorisch schlechten Probe, umgangssprachlich „auf der Kippe“, befand. Das Attribut „gekeimt“ wurde ab dem 2. Keimungstag beschrieben. Die Intensität des Attributs „gekeimt“ nahm ab dem 3. Keimungstag zu (Tabelle 16).

Tabelle 16: Veränderung des unter dem Punkt "andere" bezeichneten rapssaatuntypischen sensorischen Fehlers der gekeimten Rapssaatproben von Tag (T) 0 bis T 4

T	Beschreibung des Fehlers „andere“	Intensität ^a	Anzahl der Beschreibungen „gekeimt“
0	Meerrettich	1	0
1	Spülmittel	1	0
	leichte Schärfe	1	
	Stall	1	
2	gekeimt	1	2
	grüne Paprika	1	
3	Gekeimt	1-2	2
	grüne Paprika	1	
4	Gekeimt	1-3	3
	Kresse	1	

^aWahrnehmung der Intensität von 0 – 5 vom Testpanel bei der sensorischen Prüfung nach nach Methode DGF-C-II 1 (14).

2.2.9.2. Veränderung der Profile flüchtiger Verbindungen in Rapsölen aus gekeimter Saat in Abhängigkeit von der Keimungsdauer

Flüchtige Verbindungen der nativen, kaltgepressten Öle aus gekeimter Saat

Insgesamt konnten 40 Verbindungen aus den in Tabelle 17 aufgelisteten Substanzklassen detektiert werden. Es wurden weitere 34 nicht-identifizierte Substanzen detektiert.

Tabelle 17: Substanzklassen der identifizierten Verbindungen aus nativen, kaltgepressten Rapsölen aus gekeimter Rapssaat

Substanzklasse	Anzahl
Alkohole	9
Aldehyde	9
Nitrile + Isothiocyanate	9
Ketone	2
Organ. Schwefelverbindungen	5
Sonstige	6

Die PCA zeigte eine deutliche Änderung im Profil der flüchtigen Verbindungen zwischen dem Rapsöl aus frischer Saat und den Ölen aus gekeimter Saat ab dem 1. Keimungstag (Abbildung 18).

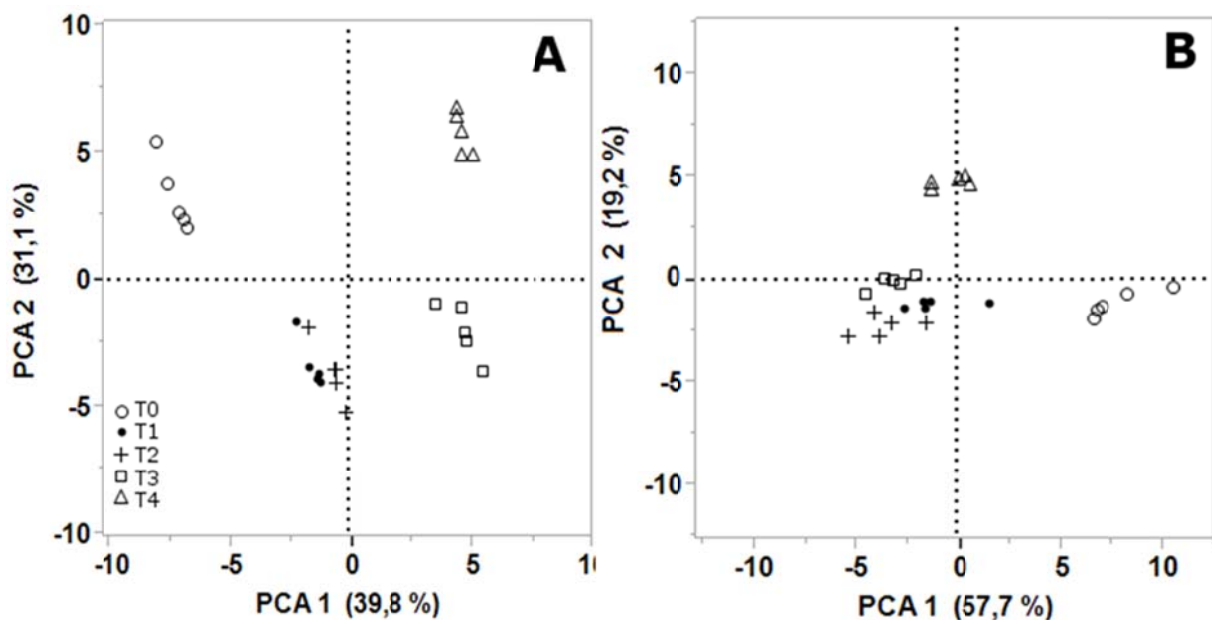


Abbildung 18: Veränderung im Profil der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle aus nicht gekeimter (T0) und gekeimter Saat (T1-T4). Zur Keimung wurde die Saat bei Raumtemperatur auf feuchtem Zellstoff gelagert. T: Keimungstag. A: Identifizierte flüchtige Verbindungen. B: Nicht identifizierte flüchtige Verbindungen

Während sich in der PCA die Keimungstage T1 und T2 nur geringfügig voneinander unterschieden, war vor allem bei den identifizierten Verbindungen eine deutliche Änderung im Profil der flüchtigen Verbindungen ab dem dritten Keimungstag zu beobachten. Die identifizierten flüchtigen Verbindungen sind in Tabelle 19 unter Angabe des KV während der Keimungszeit aufgelistet. Auch hier lassen sich wieder vier unterschiedliche KV während der Keimungsdauer darstellen (Tabelle 18).

Tabelle 18: Flüchtige Verbindungen in nativen, kaltgepressten Rapsölen aus gekeimten Saaten im Vergleich zu nicht gekeimter Saat. Die Lagerung erfolgte bei RT auf feuchtem Zellstoff

KV ^a	Verbindung ^b	RI ^c	Identifizierung ^d	
			NIST	Std
1	Dimethylsulfid ^{e,i}	542		x
	Toluol	820		x
	Hexanal ^h	884		x
	Styrol	963		x
	2-Heptanon	986	x	
	Campher	1279	x	
2	Butanal	661	x	
	1-Butanol	772		x
	Pentanal ^h	779		x
	3-Methylbutanol ^e	842		x
	2-Methylbutanol ^e	844		x
	1-Octen-3-ol ^e	1078		x
	Octanal ^h	1093		x
	3-Octen-2-on	1158	x	
Nonanal ^{e,h}	1199		x	
3	Carbonylsulfid	460	x	
	Methylenchlorid	575	x	
	Dimethyldisulfid ^{e,i}	813		x
	3-Pentennitril ^g	908	x	
	Isopropylisothiocyanat ^g	935		x
	α-Pinen	954		x
	Allylisothiocyanat ^g	997		x
	5-Hexennitril ^g	1011		x
	Dimethyltrisulfid ^{i,j}	1060		x
	Isothiocyanatbutan ^g	1073	x	
	Heptanol	1075		x
	4-Isothiocyanatbuten ^g	1107		x
	Cyclopentylisothiocyanat	1215	x	
2-Propenylthioacetoneitril ^g	1357	x		
4	2-Methylpropanal ^{f,i}	608		x
	3-Methylbutanal ^{e,f,i,j}	735 ^k	x	
	2-Methylpropanol	735 ^k		x
	2-Methylbutanal ^{e,i,j}	739		x
	Methylisothiocyanat ^g	857		x
	Dimethylsulfon	1200	x	

^aKonzentrationsverläufe während der Keimung: 1) starke Abnahme der Konzentration von ungekeimter Saat zum ersten Keimungstag; 2) starke Abnahme bis zum zweiten Keimungstag, erneuter Anstieg ab T3; 3) starker Anstieg ab dem dritten Keimungstag; 4) kontinuierliche Zunahme der Konzentration.

^bIdentifizierte Verbindung mit Quellenangaben e – j.

^cRetentionsindex (RI) nach Kováts.

^dIdentifizierung über Vergleich der Massenspektren aus der NIST-Datenbank oder über den Vergleich mit Retentionszeit, Retentionsindex und Massenspektren von Standardsubstanzen (Std).

^eaus Bakterienstoffwechsel möglich (nach Wagner, 2016).

^fzugehörig zur Gruppe der in sensorisch schlecht bewerteten Rapsölen signifikant vorkommenden 13 Verbindungen (nach Bonte et al., 2016).

^gGlucosinolatabbauprodukte (GAP).

^haus Abbau von ungesättigten Fettsäuren (nach Belitz et al., 2008)

ⁱaus Strecker-Abbau (nach Belitz et al., 2008)

^jhöhere Aromawerte in NOF-Probe nach Ergebnissen der FS 2.

Vor allem die Abbauprodukte der Glucosinolate zeigten ab dem dritten Keimungstag einen deutlichen Anstieg. Dieses Ergebnis entsprach der sensorischen Bewertung der entsprechenden nativen Öle und entsprach auch dem Ergebnis aus dem Lagerversuch (Kapitel 2.2.8.). Im Gegensatz zu dem Lagerversuch aus Kapitel 2.2.8. zeigten hier die flüchtigen Verbindungen 2- und 3-Methylbutanal, die sowohl von einem mikrobiellen Abbau als auch vom Strecker-Abbau der Aminosäuren stammen können, eine kontinuierliche Zunahme. Möglicherweise war eine bessere Sauerstoffverfügbarkeit bei dem Keimungsversuch der Grund, warum diese Verbindungen hier diese Zunahme zeigten. 2-Methylpropanal sowie 2- und 3-Methylbutanal wurden von FS 1 und FS 2 als relevante Verbindungen im Zusammenhang mit einer sensorischen Qualitätsabnahme nativer Rapsöle identifiziert. Wie auch schon im Lagerversuch zeigten einige flüchtige Verbindungen, wie Hexanal, Nonanal, Octanal, 1-Butanol und 1-Heptanol eine Konzentrationsabnahme vor allem von der frischen Saat hin zum ersten Lagerungstag. Obwohl eine Konzentrationserhöhung der Aldehyde mit einem Oxidationsprozess und somit einer sensorischen Qualitätsabnahme der nativen Rapsöle in Verbindung steht, so legen die Ergebnisse nahe, dass das typische Aroma nativer Rapsöle von diesen Substanzen gleichzeitig mitgeprägt wird. Eine Konzentrationsabnahme dieser Aldehyde geht somit ebenso mit einer sensorischen Qualitätsminderung der Rapsöle einher, wie eine starke Konzentrationszunahme.

Die parallel durchgeführten Analysen zur Bestimmung der Glucosinolate (GLS) und Aminosäuren durch die Universität Bielefeld zeigten, dass chemische Veränderungen in der Saat bereits in einem sehr frühen Stadium begonnen haben. So zeigte sich ein sehr schneller Anstieg der Aminosäuren ab dem ersten Keimungstag. Die Gesamtmenge der GLS wies zwar insgesamt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Keimungstagen auf, es gibt aber eine deutliche Verschiebung von der Gruppe der aliphatischen GLS, die eine deutliche Konzentrationsabnahme von T0 zu T2 zeigten, hin zu den Indolglucosinolaten, die ab dem dritten Keimungstag stark zunahmen. Die Verringerung der aliphatischen GLS ging somit mit dem vermehrten Auftreten der Glucosinolatabbauprodukte und der daraus resultierenden sensorischen Verschlechterung der Rapsöle während der Keimung oder Lagerung mit erhöhter Feuchtigkeit einher. Da die Abbauprodukte der Indolglucosinolate instabil sind (Fahey et al., 2001) konnten diese in den nativen Rapsölen nicht detektiert werden. Die Abbauprodukte der Indolglucosinolate sind von gesundheitlicher Bedeutung, da ihnen eine antikanzerogene Wirkung zugeschrieben wird (Broadbent and Broadbent, 1998). Alle identifizierten Glucosinolate und Aminosäuren sind in Tabelle 19 aufgelistet.

Tabelle 19: Identifizierte Glucosinolate und Aminosäuren aus Proben des Keimungsversuchs. Analyse mittels UHPLC-FLD und HPLC-DAD an der Universität Bielefeld, Abteilung für Chemische Ökologie

Glucosinolate		Aminosäuren
Trivialname	Gruppe	
Progoitrin	aliphatisch	Asparaginsäure
Glucoraphanin	aliphatisch	Glutaminsäure
Epiprogoitrin	aliphatisch	Asparagin
Glucoputranjivin	aliphatisch	Serin
Glucoalyssin	aliphatisch	Glutamin
Gluconapin	aliphatisch	Histidin
Glucobrassicinapin	aliphatisch	Glycin
Glucoberteroin	aliphatisch	Threonin
Gluconasturtiin	benzyl	β-Alanin
4-Hydroxyglucobrassicin	indolisch	Arginin
Glucobrassicin	indolisch	Alanin
4-Methoxyglucobrassicin	indolisch	GABA
Neoglucobrassicin	indolisch	Tyrosin
		Valin
		Methionin
		Tryptophan
		Phenylalanin
		Isoleucin
		Leucin
		Lysin
		Prolin

Auffällig war, dass sieben von acht identifizierten Abbauprodukten der Glucosinolate einen deutlichen Konzentrationsanstieg ab dem 3. Keimungstag aufwiesen und sich somit in die 3. Gruppe einordnen ließen (Tabelle 18, KV 3). Dies entsprach dem Ergebnis der sensorischen Bewertung der Proben, bei dem das Attribut „gekeimt“ ab dem dritten Tag verstärkt wahrgenommen werden konnte (vgl. Kapitel 2.2.9.1.).

Im Datensatz mit 43 Rapsölen (Kap. 2.2.5.), der für das Profiling verwendet wurde, konnten zwar ebenfalls Abbauprodukte der GLS identifiziert werden, allerdings zeigten diese Verbindungen keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen der sensorischen guten und sensorisch schlechten Rapsölproben. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass die Glucosinolatabbauprodukte zu einem Zeitpunkt verstärkt gebildet werden, an dem die Keimung bereits deutlich vorangeschritten war (vgl. Abbildung 16, T3/T4). Es ist davon auszugehen, dass Rapsöle aus Saaten in diesem Keimungsstadium nicht vermarktet werden.

2.2.10. Einfluss von Rapssorte und Standort auf das Profil flüchtiger Verbindungen

Alle Proben aus dem Probensatz zur Überprüfung von Rapssorte und Standort auf das Profil der flüchtigen Verbindungen, wurden zuvor von dem geschulten Prüferpanel als sensorisch gute Proben bewertet.

Die Analyse der flüchtigen Verbindungen verschiedener Rapssorten von unterschiedlichen Standorten zeigte ein sehr heterogenes Bild der Datengruppierung in der Hauptkomponentenanalyse (Abbildung 19).

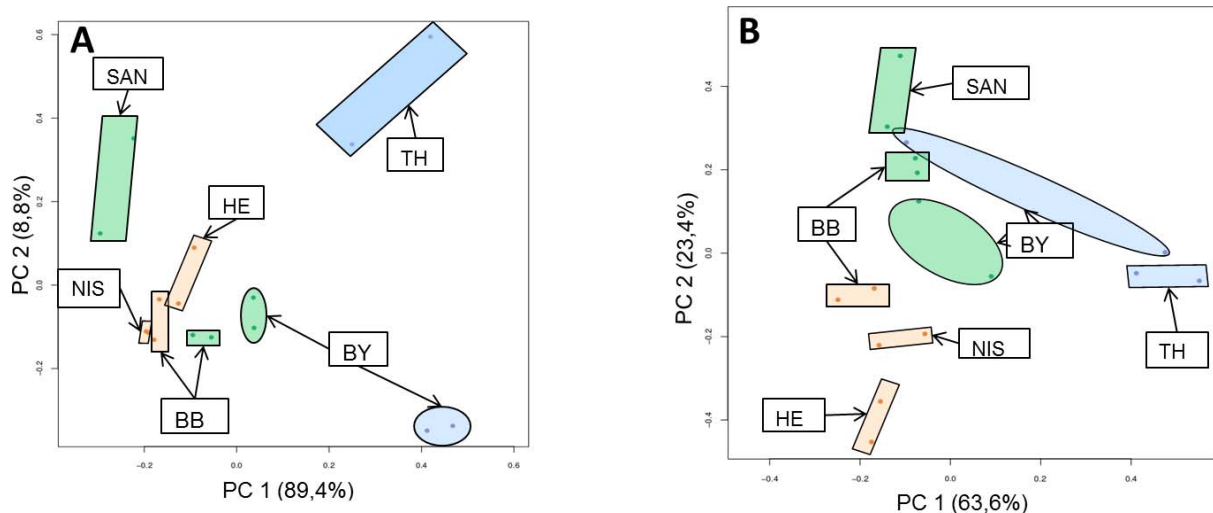


Abbildung 19: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der flüchtigen Verbindungen nativer, kaltgepresster Rapsöle verschiedener Sorten und Standorte. Grün: Avatar. Rot: Raptor. Blau: PR 46W20. BB: Brandenburg. BY: Bayern. HE: Hessen. NIS: Niedersachsen. SAN: Sachsen-Anhalt. TH: Thüringen. A: Identifizierte Verbindungen. B: Nicht-identifizierte Verbindungen

Es ließen sich keine eindeutigen Gruppierungen entsprechend der Sorte oder Standorte erkennen. Bei den identifizierten Verbindungen (Abbildung 19, A), gruppieren sich die Proben der Sorte Raptor zwar zueinander, nicht aber die Sorten Avatar und PR46W20. Die Proben des Standorts Brandenburg (BB) lagen nah beieinander und zeigten somit eine Ähnlichkeit im Profil der flüchtigen Verbindungen. Die Proben des Standortes Bayern (BY) lagen jedoch weit auseinander. Bei den nicht identifizierten Verbindungen ließ sich eine bessere Gruppierung der verschiedenen Sorten zueinander aufzeigen. Auch die Proben der Standorte BB und BY zeigten eine gewisse Nähe zueinander. Die Profile der flüchtigen Verbindungen wurden sowohl vom Standort, als auch von der jeweiligen Rapssorte zu einem gewissen Grad beeinflusst. Dieser Einfluss war aber nicht so groß, dass anhand des Profils der flüchtigen Verbindungen eine eindeutige Zuordnung zu einer Sorte oder einem Standort gegeben werden konnte. Eine weitergehende Auswertung der Daten in Form von Signifikanztests auf Basis der verschiedenen Sorten und Gruppen wurde daher nicht als zielführend betrachtet.

2.2.11. Bestimmung von Mikroorganismen von Rapssaat

2.2.11.1. Extraktion und Kultivierung der Bakterien

Von allen Rapssaaten wuchsen auf dem LB- und dem TY-Medium Bakterien im Bereich der Verdünnungsstufen 10^{-1} – 10^{-3} . Abbildung 20 zeigt die Bakterienkolonien der vier Rapssaaten (A, B, C und D) in der Verdünnungsstufe 10^{-1} .

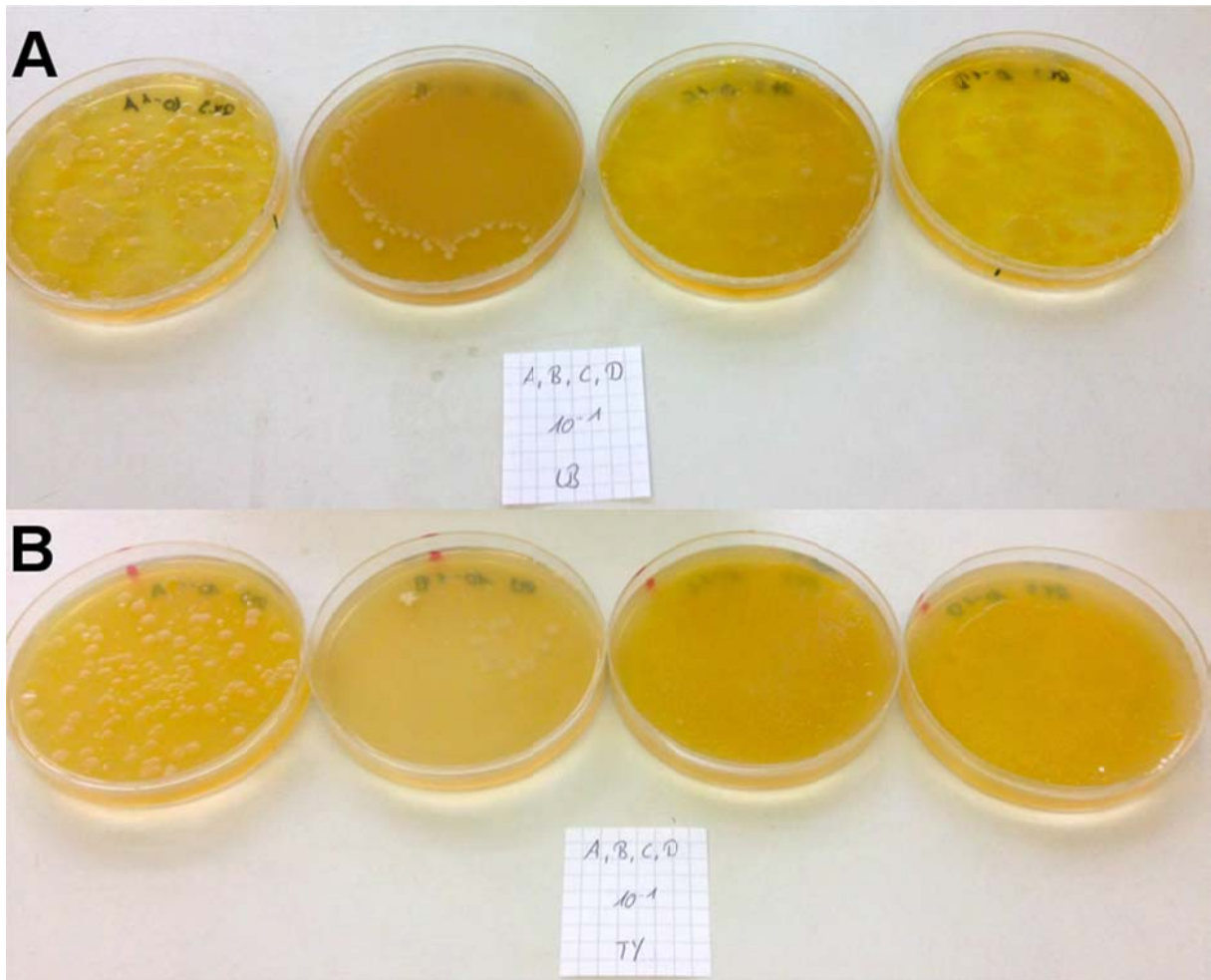


Abbildung 20: Bakterienkolonien vier verschiedener Rapssorten (A, B, C, D) in der Verdünnungsstufe 10^{-1} . A: Auf Agar mit Lysogeny broth (LB)-Medium. B: Auf Agar mit Trypton-Yeast-(TY)-Medium

Ausgewählte Bakterienkolonien wurden erneut auf einem Rapsschrotagar ausgestrichen, um zu überprüfen, ob diese mit Raps als Nährmedium ebenfalls wachsen. Abbildung 21 zeigt beispielhaft vier verschiedene Bakterienkolonien mit Aromarelevanz, die von den vier Rapssaaten A – D extrahiert und auf rapsschrothaltigem Agar kultiviert werden konnten.



Abbildung 21: Bakterienkolonien mit geruchsrelevanter Aromabildung, die von vier verschiedenen Rapssorten A-D extrahiert und auf rapsschrothaltigem Agar kultiviert werden konnten. A1: *Stenotrophomonas rhizophila*. B7: *Paenibacillus sp.* C8 und D7: Nicht identifiziert

In allen Fällen war ein gutes Wachstum der verschiedenen Bakterien zu erkennen.

2.2.11.2. SPME-GC-MS-Analyse der Bakterienstämme

Versuche, die Bakterien aus den Einzelkolonien in 20 mL Headspace-Gläschen auf Rapssaat zu kultivieren zeigten zum einen keine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und zum anderen bildete sich nach einer 3-wöchigen Inkubationszeit bei einigen Proben Schimmel auf der Saat. Es wurde daher dazu übergegangen, die Bakterien zur SPME-GC-MS-Analyse nicht auf Rapssaat aufzutragen, sondern direkt in einem Headspace-Gläschen auf rapsschrothaltigen Agar zu kultivieren. Die ersten Messungen zeigten dabei vielversprechende und reproduzierbare Ergebnisse. In Abbildung 22 sind Chromatogramme der nicht identifizierten Bakterienproben C8 und D7 dargestellt.

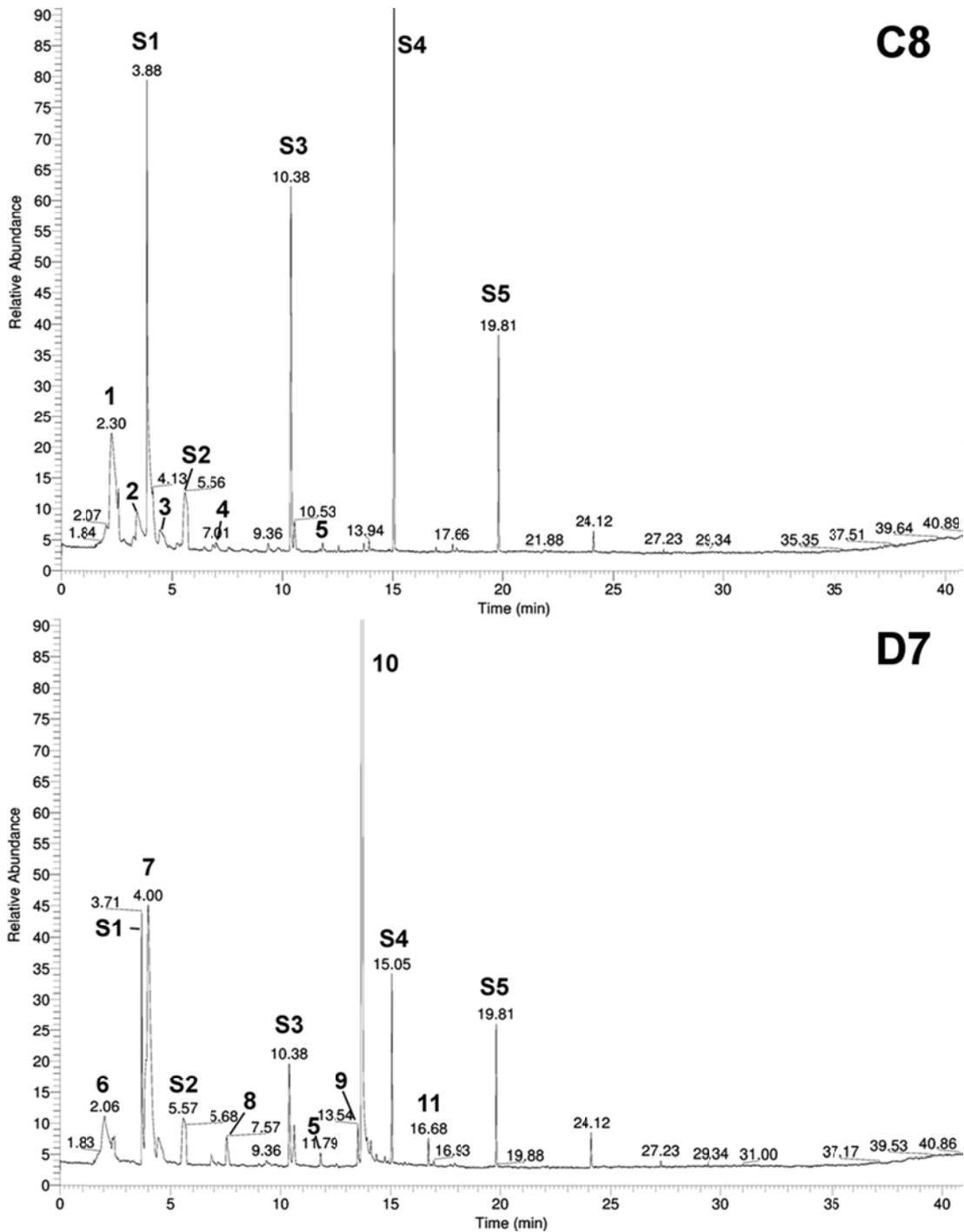


Abbildung 22: Profile flüchtiger Verbindungen zwei verschiedener Bakterienstämme (C8 und D7), die von Rapssaat extrahiert und auf Nährmedium kultiviert wurden. S1 – S5: Siloxane. 1-11 flüchtige Verbindungen s. Tabelle 20

S1 – S5 sind Siloxane, die aus dem Messsystem stammen. Eine erste Datenbankabfrage ordnete den Substanzpeaks 1 – 11 den in Tabelle 20 aufgelisteten flüchtigen Verbindungen zu.

Tabelle 20: NIST-Datenbankzuordnungen verschiedener Substanzpeaks aus den Chromatogrammen C8 und D7 der SPME-GC-MS-Analyse flüchtiger Verbindungen zwei verschiedener Bakterienstämme, die von Rapssaat extrahiert wurden

Nr.	Datenbankvorschlag
1	2,3-Butandion
2	Acetoin
3	2-Methylbutanol
4	Hexanol
5	2-Ethylhexanol
6	Dimethylsulfid
7	Pentanol + Dimethyldisulfid
8	Nonan
9	Undecadien
10	Undecen oder Undecanol
11	Dodecan

Nur die Verbindung 2-Ethylhexanol wurde in beiden Proben detektiert, ansonsten zeigten beide Bakterienproben ein unterschiedliches Profil der flüchtigen Verbindungen. Besonders interessant ist die Verbindung Acetoin (Tabelle 20, Nr. 2) aus Probe C8, da diese in dem GC-MS-Profil der verschiedenen Rapsöle signifikant häufiger in sensorisch schlechten Proben auftrat (vgl. Kapitel 2.2.5. Tabelle 10).

Acetoin ist als Stoffwechselprodukt von Mikroorganismen, insbesondere auch von Bakterien bekannt (Xiao and Xu, 2007) und könnte somit als Marker für eine schlechte Rapsölqualität infolge von mikrobieller Kontamination in Frage kommen. Dimethylsulfid ist eine aromaaktive flüchtige Verbindung, die in allen Rapsölen detektiert wurde, aber in dem analysierten Datensatz von 43 Rapsölproben keine signifikanten Konzentrationsunterschiede in den Peakflächen zwischen den Gruppen der sensorisch guten und sensorisch schlechten Proben zeigte. Dennoch zeigen die Ergebnisse zur Untersuchung der von Bakterienstämmen auf Rapsagar gebildeten flüchtigen Verbindungen, dass Dimethylsulfid eine Substanz des Metabolismus von Bakterien ist.

2.2.11.3. Identifizierung der Bakterienstämme

Zur Identifizierung der isolierten Bakterienstämme, wurde zunächst eine Amplified Ribosomal DNA-Restriction Analysis (ARDRA) Polymerase Chain Reaction (PCR) durchgeführt. Bei dieser Reaktion wurde ein genau definierter DNA-Bereich der Bakterien vervielfältigt. Mit Hilfe dieses DNA-Amplifikats erfolgte in einer Sequenzierung die Bestimmung der DNA-Nukleotidsequenz. Der Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)-Algorithmus ermöglichte

anschließend eine Identifizierung der Bakterien durch einen Abgleich der DNA-Nukleotidsequenz mit den in Datenbanken hinterlegten Sequenzen von Bakterien. Mit dieser Methode konnten 12 von Rapssaat isolierte Bakterienstämme identifiziert werden (Tabelle 21). Diese Arbeiten wurden ebenfalls im Rahmen des Projektmoduls „Proteom- und Metabolomforschung“ an der Universität Bielefeld durchgeführt. Die für das Rapsölprojekt aufgrund ihres auffälligen Geruchsaromas relevanten Bakterien sind in Tabelle 21 hervorgehoben.

Tabelle 21: Ergebnisse der DNA-Sequenzierung von 12 Bakterienstämmen, die von einer sensorisch guten Rapssaat (A) und zwei sensorisch schlechten Rapssaaten (B und D) extrahiert wurden. **Hervorgehoben:** Bakterien, die aufgrund ihrer aroma-aktivität einen Einfluss auf die Rapsölqualität haben können

Saatprobe	Bakterien-	
	einzelkolonie	Zuordnung
	Nr	
A	1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
A	2	<i>Paenibacillus</i> sp.
A	3	<i>Pseudomonas</i> sp.
A	5	<i>Stenotrophomonas</i> sp.; <i>Acetobacter</i> sp.
A	6	<i>Erwinia amylovora</i>; <i>Enterobacter cloacae</i>
A	7	<i>Pseudomonas veronii</i>
B	1	<i>Paenibacillus</i> sp.
B	2	<i>Bacillus</i> sp.; <i>Paenibacillus</i> sp.
B	4	<i>Paenibacillus</i> sp.
B	7	<i>Paenibacillus</i> sp.
D	1	<i>Pantoea agglomerans</i>
D	6	<i>Pseudomonas</i> sp.

Bei allen Bakterien handelte es sich um Bodenbakterien oder ubiquitär vorkommende Bakterien. *Stenotrophomonas rhizophila* ist ein Bakterium, das auf Pflanzen vorkommt und antimykotische Eigenschaften (Wolf et al., 2002) aufweist. Besonders interessant war, dass dieser Bakterienstamm auf der guten Rapssaat gefunden wurde. Während einige Rapssaaten, die für die ersten Versuche zu SPME-GC-MS-Messungen mit Bakterien beimpft wurden, nach 3-wöchiger Inkubationszeit zum Teil Schimmel aufwiesen, konnte bei *St. rhizophila* nach gleicher Inkubationszeit kein Schimmel nachgewiesen werden.

2.2.11.4. Identifizierung der Schimmelpilze

Die Schimmelpilze wurden auf Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar wie unter Kapitel 2.1.14 A beschrieben kultiviert. In Abbildung 23 sind die Schimmelpilzkolonien von drei verschiedenen Proben (A – C) in der Verdünnungsstufe 2 dargestellt.

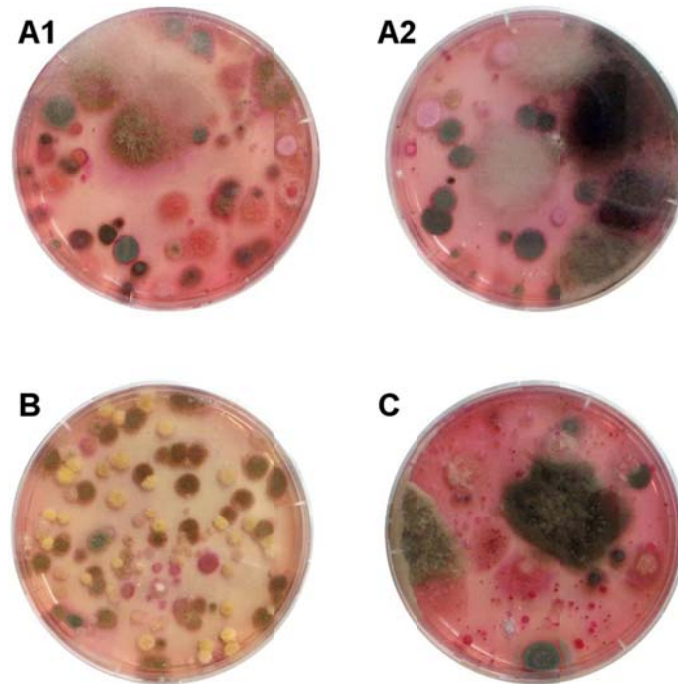


Abbildung 23: Schimmelpilzkolonien auf Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar von den Proben A – D, jeweils in Verdünnungsstufe 2

Die makroskopisch unterscheidbaren Schimmelpilze wurden isoliert und ihre Gattung und zum Teil die Spezies bestimmt. Es konnten insgesamt acht unterschiedliche Schimmelpilzgattungen identifiziert werden (Tabelle 22).

Tabelle 22: Identifizierte Schimmelpilzgattungen der Rapssaaten A – C. MEA: Malzextrakt-Agar

Rapssaat	Makroskopische Merkmale der Kolonien auf MEA	Identifizierte Gattungen bzw. Spezies
A1	Oliv- bis gelbgrün	<i>Aspergillus flavus</i> *
	Weißgrau	<i>Mucor plumbeus</i> *
	Blaugrün mit weißem Rand und gelber Unterseite	<i>Penicillium expansum</i> *
	Grüngrau-weiß mit oranger Unterseite	<i>Penicillium citrinum</i> *
A2	Schwarz	<i>Aspergillus niger</i>
	Gelbgrün mit braun-gelber Unterseite	<i>Aspergillus</i> sp.
	Weiß-rosa, schmierig	<i>Aureobasidium pullulans</i>
	Gelbgrün	<i>Eurotium</i> sp.
	Grün-weiß; grün mit gelber Unterseite	2 <i>Penicillium</i> spp.

Rapssaart	Makroskopische Merkmale der Kolonien auf MEA	Identifizierte Gattungen bzw. Spezies
B	Weiß, wattig Weiß-schwarz; dunkelgrau Weiß, schmierig Dunkelgrün mit schwarzer Unterseite Grün	<i>Acremonium strictum</i> 2 <i>Alternaria</i> spp. <i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.
C	Gelb, wattig; grüngelb Weiß mit gelblicher Schattierung; Grünlich	2 <i>Eurotium</i> spp. 2 <i>Aspergillus</i> spp.

*Sicher identifizierte Spezies

2.2.11.5. SPME-GC-MS-Analyse flüchtiger Verbindungen von Mikroorganismen

Es sind bisher keine Untersuchungen zur Besiedelung von Bakterien auf gelagerter Rapssaart bekannt, allerdings konnten mit Ausnahme von *Pseudomonas veronii* alle weiteren in Tabelle 22 gelisteten Bakterienarten bereits von anderen Teilen der Raps pflanze identifiziert werden (Croes et al., 2013, Granér et al., 2003, Kaiser et al., 2001). Schimmelpilze der Gattungen *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* und *Mucor* wurden bereits in einigen Arbeiten auf Rapssaaten identifiziert (Brazauskienė et al., 2006, Szopinska et al., 2007, Tańska et al., 2011).

Viele Mikroorganismen sind in der Lage aroma-aktive flüchtige Verbindungen zu produzieren. Um herauszufinden, ob die flüchtigen Verbindungen der von Rapssaart isolierten Mikroorganismen einen Einfluss auf die sensorische Qualität von nativen Rapsspeisenölen haben können, wurden die Einzelkolonien von 22 Bakterienstämmen und vier Pilzgattungen auf einem Schrägagar direkt in ein Probengläschen ausgestrichen und 5 bzw. 7 Tage bei 28°C inkubiert (Abbildung 24).

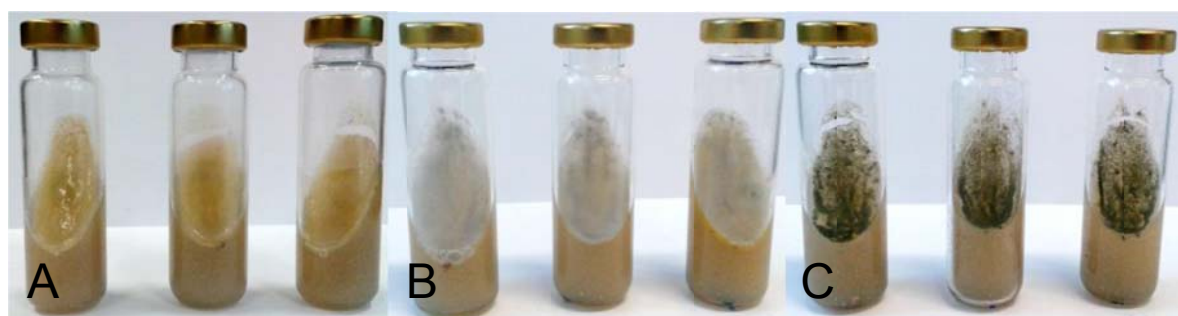


Abbildung 24: Einzelkolonien verschiedener Mikroorganismen auf rapsschrothaltigem Schrägagar zur SPME-GC-MS-Analyse der flüchtigen Verbindungen. A: Nicht identifiziertes Bakterium nach 5 Tagen Inkubation bei 28°C. B: *Mucor plumbeus* nach 7 Tagen Inkubation bei 28°C. C: *Aspergillus flavus* nach 7 Tagen Inkubation bei 28°C (nach Wagner, 2016)

Von den 22 Bakterienstämmen konnten insgesamt 29 flüchtige Verbindungen identifiziert werden. Literaturangaben zufolge besitzen 19 dieser Verbindungen eine Aromaaktivität (Tabelle 23).

Tabelle 23: Aroma-aktive VOC, gebildet von Bakterien kultiviert auf Rapsschrotagar (nach Wagner, 2016)

Nr.	Verbindung	RI ^a	Aromaaktivität ^b	Identifizierung ^c	
				NIST	Std
1	Dimethylsulfid (DMS)	545	Kohl ^{d, e}		x
2	2,3-Butandion	562	Butter ^{d, e}		x
3	2-Methylfuran	570	etherisch ^f		x
4	3-Methylbutanal	595	malzig ^{d, e}		x
5	2-Methylbutanal	602	Kakao, Mandel ^e		x
6	2-Pentanon	621	etherisch, fruchtig ^f		x
7	2,3-Pentandion	629	Sahne, Butter ^e		x
8	Acetoin	641	Sahne, Butter ^f		x
9	3-Methylbutanol	671	Malzig ^d		x
10	2-Methylbutanol	676	Zwiebel ^f		x
11	Dimethyldisulfid (DMDS)	680	Zwiebel, Kohl, faulig ^e		x
12	2,3-Heptandion	839	fruchtig, Butter, ölig ^f		x
13	Ethyl-2-methylbutanoat	851	fruchtig ^d		x
14	Tricyclen	920	blumig ^g	x	
15	2-Pentylfuran	990	grüne Bohnen ^h		x
16	Nonanal	1104	Zitrone, seifig ^d		x
17	2,3-Dimethyl-5-(1-Methylpropyl)-Pyrazin	1185	nussig ^f	x	
18	3-Methoxy-5-(2-Methylpropyl)-2-Propan-2-ylpyrazin	1333	vorhanden ⁱ	x	
19	2-Butan-2-yl-3-Methoxy-5-(2-Methylpropyl)-Pyrazin	1384	vorhanden ⁱ	x	

^aRetentionsindex (RI) nach Kováts.

^bAromaaktivität nach Beschreibung in der Literatur mit Quellenangaben: ^dPollner und Schieberle, 2016; ^eZhu et al, 2015; ^fFlavors and Fragrances Katalog Sigma Aldrich, 2011; ^gAlvarez et al., 2011) ^hGiri et al., 2011; ⁱDickschat et al., 2005; ^jidentifiziert über Standardmessungen.

^cIdentifizierung über Vergleich der Massenspektren aus der NIST-Datenbank oder über den Vergleich mit Retentionszeit, Retentionsindex und Massenspektren von Standardsubstanzen (Std). Da die Methode sich von der dyn. HS-GC-MS-Methode unterscheidet, variieren auch die RI der VOC zur Standardliste (Tabelle 7).

Von den vier analysierten Pilzgattungen *Aspergillus flavus*, *Mucor plumbeus*, *Penicillium expansum* und *Penicillium citrinum*, konnte eine Bildung flüchtiger Verbindungen nur für *Mucor plumbeus* und *Penicillium expansum* aufgezeigt werden (Tabelle 24).

Tabelle 24: Qualitative Übersicht der durch Schimmelpilzstämmen produziert VOC, kultiviert auf Rapsschrotagar (nach Wagner, 2016)

Pilzstamm	Verbindung	RI ^a	Aromaaktivität ^b	Identifizierung ^c		
				NIST	Std	
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-			
<i>Mucor plumbeus</i>	3-Methyl-2-buten-1-ol	752	grün, fruchtig ^d	x		
	3-Methyl-2-butenal	780	Kirsche ^d	x		
	Mehrere nicht identifizierte Peaks	1308	unbekannt			
		1328				
		1341				
		1358				
1368						
	1424					
	1434					
<i>Penicillium expansum</i>	2-Methyl-2-bornen	1019	Keine ^e	x		
	2-Methylisoborneol	1184	modrig-erdig ^f	x		
	Mehrere nicht identifizierte Peaks	968	unbekannt			
		994				
	1-Octen-3-ol	978	rohe Pilze ^f		x	
	Limonen	1104	Zitrone ^g		x	
<i>P. citrinum</i>	-	-	-			

^aRetentionsindex (RI) nach Kováts.

^bAromaaktivität nach Beschreibung in der Literatur mit Quellenangaben: ^dFlavors and Fragrances Katalog Sigma Aldrich, 2011; ^eMills et al., 1993; ^fKarahadian et al., 1985; ^gPollner und Schieberle, 2016.

^cIdentifizierung über Vergleich der Massenspektren aus der NIST-Datenbank oder über den Vergleich mit Retentionszeit, Retentionsindex und Massenspektren von Standardsubstanzen (Std). Da die Methode sich von der dyn. HS-GC-MS-Methode unterscheiden, variieren auch die RI der VOC zur Standardliste (Tabelle 6).

Mit Ausnahme von Tricyclen bei den Bakterien und 3-Methyl-2-butenal bei den Schimmelpilzen sind alle identifizierten aroma-aktiven VOC aus Tabelle 24 und Tabelle 25 als Metabolite von Bakterien bzw. Schimmelpilzen bekannt (Bañeras et al., 2013, Börjesson et al., 1993, Fischer et al., 1999, Fravel et al., 2002, Garbeva et al., 2014, Jeleń et al., 2003, Karahadian et al., 1985, Lee et al., 2012, Schulz and Dickschat, 2007, Tait et al., 2013). Zehn der flüchtigen Verbindungen, die von Bakterienstämmen identifiziert wurden, wurden auch als Bestandteile der VOC in nativen Rapsölen nachgewiesen (Bonte et al., 2016, Gracka et al., 2016, Matheis and Granvogl, 2016, Pollner and Schieberle, 2016, Wei et al., 2012, Zhou et al., 2013). Die Verbindungen Acetoin, Ethyl-2-methylbutanoat und 3-Methylbutanal wurden bereits in Kapitel 2.2.5. als flüchtige Verbindungen genannt, die in höheren Konzentrationen in sensorisch schlechten Ölen vorkommen. 2- und 3-Methylbutanal und Ethyl-2-methylbutanoat wiesen zudem in den Arbeiten der FS 2 einen deutlich höheren Aromawert in der NOF-Probe im Vergleich zur NGS-Probe auf, was darauf schließen lässt, dass diese Substanzen das Aroma des NOF-Rapsöls mit beeinflussen.

Von den sechs VOC der Schimmelpilze wurden Limonen und 1-Octen-3-ol in nativen, kaltgepressten Rapsspeiseölen nachgewiesen (Bonte et al., 2016, Gracka et al., 2016, Pollner and Schieberle, 2016). Allerdings sind mit Ausnahme von 3-Methyl-2-butenal alle weiteren Verbindungen der Tabelle 25 als Metabolite von Schimmelpilzen bekannt.

2- und 3-Methylbutanal sowie Dimethylsulfid zählen zu den Verbindungen, die neben einer mikrobiellen Bildung auch durch den Strecker-Abbau entstehen können (Belitz et al., 2008). Hierbei kommt es zu einer nichtenzymatischen Reaktion von α -Dicarbonylverbindungen mit Aminosäuren unter Bildung von Aldehyden, CO_2 und α -Aminoketonen. Der Strecker-Abbau ist ein Teil der Maillard-Reaktion und tritt vor allem unter drastischen Reaktionsbedingungen, wie z. B. hohen Temperaturen auf. Bei Zimmertemperatur können diese Reaktionen aber ebenfalls auftreten, allerdings mit deutlich längeren Reaktionszeiten, wie sie bei einer Lagerung oftmals vorhanden sind (Belitz et al., 2009). Während der Lagerung kann es zudem punktuell zu Temperaturerhöhungen durch Stoffwechselprozesse in nicht optimal gelagerter Saat kommen. Durch den Abbau von Kohlenhydraten entsteht Wärme, die dann die nichtenzymatische Reaktion fördern kann.

Nonanal kann ebenso durch die Lipidperoxidation der ungesättigten Ölsäure gebildet werden. Wie groß der Einfluss der Mikroorganismen auf das Vorkommen der VOC in nativen Rapsölen ist, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht aufgeklärt werden. Es ist aber sehr wahrscheinlich, dass das Aroma nativer Rapsspeiseöle von Mikroorganismen, welche die Rapssaat besiedeln, mit beeinflusst wird.

2. 3. Zusammenfassung

Im Rahmen des AP 1 wurden Erhitzungsversuche mit verschiedenen raffinierten, dampfgewaschenen und nativen, kaltgepressten Rapsölen durchgeführt. Keine der Proben bildete dabei ein eindeutiges fischiges Fehl aroma aus. Weitere Erhitzungsversuche unter Zugabe von FeCl_3 , Sinapin, Sinapinsäure und Lecithin führten ebenfalls nicht zur Provokation eines fischigen Fehl aromas (AP 4). Während der Projektlaufzeit wurde der FS 1 lediglich eine dampfgewaschene Probe mit fischigem Fehl aroma zugesendet. Im Vergleich mit einer sensorisch einwandfreien dampfgewaschenen Probe zeigten 41 identifizierte flüchtige Verbindungen signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Proben (AP3). Aufgrund fehlender Vergleichsproben war eine Validierung der Ergebnisse jedoch nicht möglich.

Insgesamt wurden 275 native, kaltgepresste Rapsöle sensorisch bewertet (AP 2). Unter den sensorisch schlechten Proben zeigte sich eine hohe Varianz in Art und Intensität der sensorischen Defekte. Mittels dynamischer Headspace-GC-MS und kombinierter Olfaktometrie, wurden aroma-aktive und nicht aroma-aktive flüchtige Verbindungen in

exemplarisch sensorisch guten und sensorisch schlechten Rapsölen identifiziert. Im Rahmen des Profiling Ansatzes wurden 31 dieser identifizierten flüchtigen Verbindungen auf das Vorhandensein in einem Datensatz von 20 sensorisch guten und 23 sensorisch schlechten Rapsölen überprüft (AP 5). 13 flüchtige Verbindungen zeigten dabei signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Mit Hilfe einer Linearen Diskriminanzanalyse wurde eine GC-MS-basierte Methode zur Klassifizierung sensorisch guter und sensorisch schlechter Rapsöle entwickelt (AP 6), die zur Unterstützung einer Qualitätskontrolle von Handelslaboren übernommen werden kann.

Die Untersuchungen zum Einfluss der Lagerbedingungen im Rahmen des AP 7 zeigten einen starken Einfluss von Feuchtigkeit und Temperatur während der Lagerung von Rapssaat auf das Profil der flüchtigen Verbindungen in den resultierenden Rapsölen. Eine sensorische Verschlechterung der Rapsöle war sowohl im Bereich der Keimung als auch der Lagerung bei 30°C und einem Feuchtigkeitsgehalt von 15%, ab dem dritten Tag der Saatlagerung wahrnehmbar.

Es wurde eine Methode zur Isolierung und Identifizierung des mikrobiellen Besatzes von Rapssaat etabliert. Von insgesamt 22 Bakterienstämmen und zwei Schimmelpilzgattungen konnten 29 bzw. 6 aroma-aktive flüchtige Verbindungen identifiziert werden. Mit einer Ausnahme waren alle Verbindungen als Metabolite von Bakterien und Schimmelpilzen bekannt. Elf der identifizierten flüchtigen Verbindungen aus dem Stoffwechsel der Mikroorganismen wurden bereits als flüchtige Verbindungen in Rapsölen beschrieben. Die Verbindungen Acetoin, 3-Methylbutanal, Ethyl-2-Methylbutanoat wurden im Rahmen dieses Forschungsprojekts als Markersubstanzen für sensorisch schlechte identifiziert. Die Untersuchungen weisen auf einen deutlichen Zusammenhang zwischen einem mikrobiellen Besatz von Rapssaat und der sensorischen Qualität der resultierenden Rapsöle hin. Die hohe Bedeutung optimaler Ernte- und Lagerbedingungen zum Erreichen eines qualitativ guten Rapsöls wird im Rahmen dieser Arbeit deutlich aufgezeigt.

3. Darstellung der durchgeführten Arbeiten und Untersuchungen der Forschungsstelle 2: Technische Universität München

Schwerpunkt der Forschungsstelle 2 ist vorrangig die Aufklärung der flüchtigen Verbindungen in Rapsöl, die für das Aroma von sensorisch einwandfreien Rapsölen („Golden Standards“) sowie für die Entwicklung des „Off-Flavors“ in nativen und gedämpften Rapsölen verantwortlich sind. Dies erfolgte zunächst durch ein Screening-Verfahren, der sog. vergleichenden Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA), kombiniert mit verschiedenen Identifizierungsexperimenten zur Aufklärung der wichtigsten aroma-aktiven

Verbindungen. Zudem sollte im Rahmen des Meilensteins 2 und 3 eine vAEVA und Identifizierung der gedämpften Rapsöle durchgeführt werden, die relevantesten aromaaktiven Verbindungen quantifiziert und anschließend ein Rekombinat erstellt werden.

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Entwicklung einer Isolierungsmethode der flüchtigen Verbindungen

Probenaufarbeitung

Natives Rapsöl (100 mL) wurde mit Diethylether (25 mL) versetzt und 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt um eine vollständig homogene Probe zu erhalten. Diese wurde anschließend zur Kurzwegdestillation verwendet.

Kurzwegdestillation

Zur Abtrennung der nichtflüchtigen von den flüchtigen Verbindungen wurde ein Kurzwegverdampfer (Abbildung 25) verwendet.

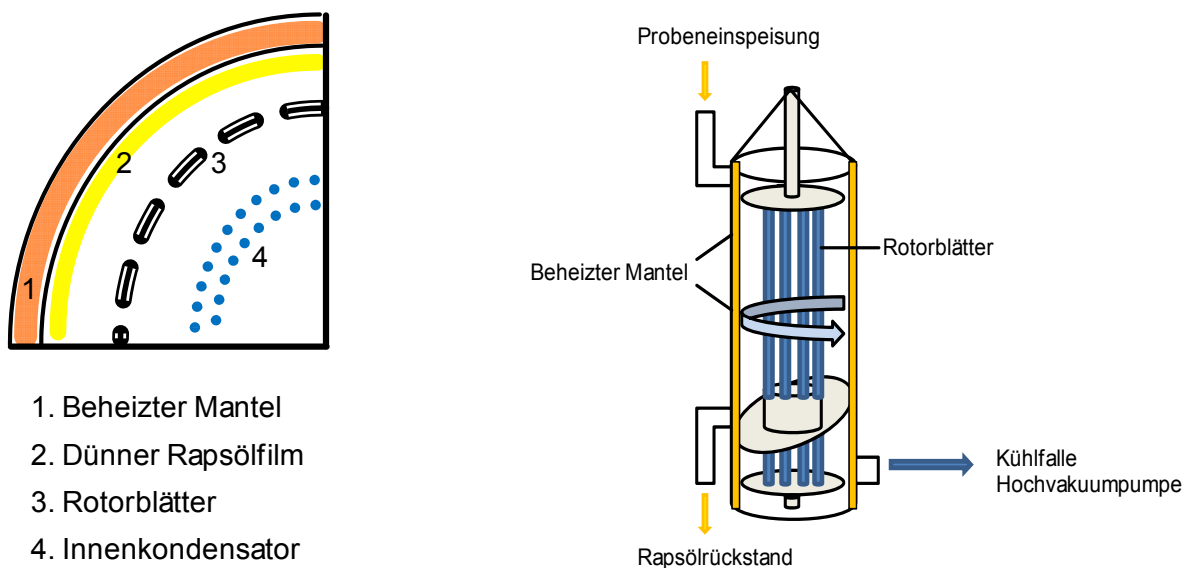


Abbildung 25: Kurzwegverdampfer im Querschnitt (links) und Längsschnitt (rechts)

Dabei wird die Probe (Öl/Diethylether-Mischung) kontinuierlich oberhalb des Heizmantels (1) eingespeist. Über einen Verteilerring mit Rotorblättern (3) wird das Öl gleichmäßig auf der Verdampferwand verteilt, die durch einen Doppelmantel beheizt wird. Die Flügel des Rotors ergreifen das Öl und breiten es als dünnen Film an der Heizwand aus. Vor jedem der Rotorblätter bildet sich eine Bugwelle, in der es zur intensiven Produktdurchmischung kommt, wodurch temperaturempfindliche Produkte vor Überhitzung und Belagbildung auf der

Heizfläche geschützt werden. Aus dem dünnen und hochturbulenten Flüssigkeitsfilm (2) verdampfen die flüchtigen Komponenten rasch und werden in der Kühlfalle ausgefroren. Während der nicht verdampfte Produktanteil am Inneren der Heizwand schraubenförmig abfließt, werden die kondensierten flüchtigen Stoffe in einer Kühlfalle, die mit flüssigem Stickstoff gekühlt ist, ausgefroren. Unmittelbar hinter der Kühlfalle befindet sich eine Hochvakuumpumpe, die es ermöglicht, die gesamte Destillation unter sehr schonenden Temperaturen (50 °C) durchzuführen und Artefaktbildung oder Abbau/Zersetzung flüchtiger Verbindungen weitestgehend zu vermeiden (Hickman, 1944, Topitsch, 2009).

Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE)

Zur Entfernung kleiner Ölrückstände, die nach der Kurzwegdestillation im Destillat vorhanden waren, wurde eine Hochvakuumdestillation (10^{-4} mbar) mit Hilfe der Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE)-Technik durchgeführt (Engel et al., 1999). Das nach Kurzwegdestillation erhaltene Destillat wurde portionsweise in einen Kolben, der sich in einem 40 °C warmen Wasserbad befindet, eingelassen. Die flüchtigen Verbindungen des Probenanteils werden dabei explosionsartig in die Gasphase überführt und in einem durch flüssigen Stickstoff gekühlten Kolben aufgefangen und dort sofort ausgefroren, während letzte Ölrückstände im Destillationsrundkolben zurückbleiben.

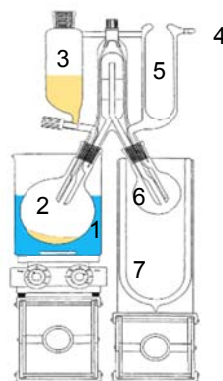


Abbildung 26: Apparatur für die Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) (Engel et al., 1999)

- | | | | |
|---|-------------------------|---|-----------------|
| 1 | Wasserbad | 5 | Kühlfalle |
| 2 | Destillationsrundkolben | 6 | Dewarrundkolben |
| 3 | Tropftrichter | 7 | Dewar |
| 4 | Hochvakuumpumpe | | |

Auftrennung in neutral/basische und saure Fraktion

Der durch Kurzwegdestillation und SAFE erhaltene Extrakt wurde bei Raumtemperatur aufgetaut und dreimal mit Natriumcarbonatlösung (0,5 mol/L; je 30 mL) ausgeschüttelt. Die

vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Diethylether (30 mL) gewaschen, während die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wurden. Die organische Phase enthält die neutral-basischen Verbindungen. Um die sauren Verbindungen aus der wässrigen Phase zu isolieren, wurde die Natriumcarbonat-Phase zunächst mit konzentrierter Salzsäure (37 %) auf pH 2-3 eingestellt und dreimal mit Diethylether (je 30 mL) ausgeschüttelt. Die vereinigten Phasen wurden ebenfalls über Natriumsulfat getrocknet und beide Fraktionen an einer Vigreux-Kolonne (60 cm x 1 cm) bei 40 °C auf ca. 3 mL eingengt und anschließend mit einer Mikrodestillationsapparatur auf ca. 100 µL konzentriert.

Da nach GC-O Analyse beider Extrakte keinerlei relevante Überlagerungen beobachtet werden konnten, wurde im Folgenden auf die Auftrennung in eine neutral/basische und saure Fraktion zu Identifizierungszwecken verzichtet.

Das Gesamtdestillat wurde dementsprechend nach Kurzwegdestillation und SAFE aufgetaut, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an einer Vigreux-Kolonne (60 cm x 1 cm) bei 40 °C auf ca. 3 mL eingengt. Das eingengte Destillat wurde mit einer Mikrodestillationsapparatur auf 100 µL konzentriert.

Überprüfung der Aufarbeitungs-/Isolierungsmethode auf Abbau und Neubildung von geruchsaktiven Verbindungen

Zur Überprüfung, ob bei der Aufarbeitung wesentliche Veränderungen im Aroma des zu analysierenden Rapsöls auftraten, wurden sowohl das sensorisch einwandfreie Rapsöl als auch das „Off-Flavor“-Rapsöl, wie unter 3.1.1 beschrieben, aufgearbeitet. Es wurden jeweils 100 mL des „Golden Standards“ und 70 mL des „Off-Flavor“-Öls zur Kurzwegdestillation eingesetzt. Das gewonnene Destillat wurde halbiert und an einer Mikrodestillationsapparatur auf ca. 20 µL (geringstmögliches Volumen, um den Ethergeruch bei der Sensorik zu minimieren) konzentriert und zur Hälfte dem geruchlosen Rückstand als Matrix zudotiert. Die verbleibende Hälfte des Destillats wurde zur SAFE eingesetzt und ebenfalls auf 20 µL eingengt und zur zweiten Hälfte des geruchlosen Rückstandes dotiert. Mit beiden dotierten Rückständen wurde jeweils ein/e Triangeltest/Dreiecksprüfung durchgeführt.

Der Triangeltest/Dreieckstest dient zur Feststellung geringfügiger Unterschiede durch sensorische Überprüfung von drei Proben. Dabei werden zwei identische Proben und eine abweichende mit einer dreistelligen Nummer versehen und in Dreierreihen aufgestellt, wobei es sechs verschiedene Varianten gibt (AAB, ABA, BAA, BBA, BAB, ABB). Das geschulte Panel muss die abweichende Probe erkennen und diese vermerken. Stellt der Panelist

keinen Unterschied der Proben fest, gilt das „forced-choice“ Prinzip, d.h. eine Probe muss trotzdem als abweichende gekennzeichnet werden.

Als Probenmaterial wurden die beiden Matrix-Rückstände mit zudotiertem Destillat (wie oben beschrieben) sowie das ursprünglich zur Bearbeitung eingesetzte Öl verwendet.

Die Auswertung des Triangeltests erfolgte über die Auswertungstabellen im Anhang der Amtlichen Sammlung §64 LFGB (Lebens-und Futtermittelgesetzbuch, L 00-90-7), für allgemeine Sensorik, nach der Verordnung DIN EN ISO 4120 für Sensorische Analyse Prüfverfahren (Dreiecksprüfung).

3.1.2. Entwicklung einer Isolierungsmethode für Trimethylamin

Es wurde eine Isolierungsmethode entwickelt und drei verschiedene Methoden getestet.

- A) Das fischige Rapsöl (180 g) mit Milliporewasser (2 x 30 mL, pH = 4 mit HCl) ausgeschüttelt. Der Extrakt wurde membranfiltriert und anschließend direkt zur Analyse eingesetzt.

- B) Das fischige Rapsöl (180 g) mit Milliporewasser (2 x 30 mL, pH 4 mit HCl extrahiert und der wässrige Rückstand am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt und der Rückstand in Milliporewasser (0,5 mL, pH = 4) aufgenommen.

- C) Nach Extraktion des Rapsöls (180 g) mit Milliporewasser (2 x 30 mL, pH = 4 mit HCl) wurde eine SAFE Destillation angeschlossen (Abtrennung von nicht-flüchtigen Kationen). Das Destillat wurde im Anschluss am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt und in Milliporewasser (0,5 mL, pH = 4) aufgenommen.

3.1.3. Durchführung einer vergleichenden Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) als Screeningverfahren zur Erfassung der relevanten aromaaktiven Verbindungen in nativem Rapsöl

Das gewonnene Aromadestillat wurde schrittweise im Verhältnis 1+1 (v+v) mit Diethylether verdünnt, bis am Sniffing-Port des Gaschromatographen kein Geruchseindruck mehr wahrzunehmen war (Schieberle and Grosch, 1987). Die jeweils höchste Verdünnungsstufe

eines Aromastoffs, bei der dieser noch wahrgenommen werden konnte, wird als sein Flavor Dilution-Faktor (FD-Faktor) (Schieberle and Grosch, 1988) bezeichnet.

Um die auf der polaren DB-FFAP-Säule evtl. co-eluierenden Aromastoffe einzeln zu erfassen, wurde zusätzlich eine unpolare DB-5 Säule zur hochauflösenden Gaschromatographie-Olfaktometrie (HRGC-O) eingesetzt.

Trennsäule

Fused-silica Kapillarsäule:

DB-5: 30 m x 0,25 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent, Waldbronn, Deutschland

DB-FFAP: 30 m x 0,25 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent, Waldbronn, Deutschland

Temperaturprogramm

DB-5: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)

DB-FFAP: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)

Vergleichende statische Headspace-Verdünnungsanalyse (vHVA)

Zur Identifizierung sehr leicht flüchtiger Verbindungen sowie hochflüchtigen Verbindungen, die bei der on-column Injektion mit dem Lösungsmittel co-eluieren, wurde die statische Headspace-Methode verwendet. Das Probenmaterial (30 mL) wurde in ein Headspace-Glas (120 mL) gegeben und anschließend mit einem gasdichten Septum verschlossen. Nach dreistündiger Äquilibrierung bei 35 °C wurde mit einer gasdichten Spritze ein Aliquot (10 mL) des Gasraumes entnommen und mittels HRGC-O sowie hochauflösender Gaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS) untersucht. Die Retentionsindices der geruchsaktiven Bereiche wurden durch Co-Chromatographie einer homologen Alkanreihe (C₅-C₈) bestimmt. Zur Verdünnungsanalyse wurde das entnommene Aliquot des Gasraumes sukzessive solange um den Faktor 0.5 verringert, bis am Sniffing-Port keine Substanz mehr olfaktorisch detektiert werden konnte.

$$FD = \frac{V_{max}}{V_{FD}}$$

V_{max} maximales Einspritzvolumen [mL]

V_{FD} Einspritzvolumen [mL], bei dem die Verbindung letztmals wahrgenommen wurde

Trennsäule

Fused-silica Kapillarsäule:

DB-5: 30 m x 0,25 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent, Waldbronn, Deutschland

Temperaturprogramm

DB-5: 0 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)

Für die Identifizierung der geruchsaktiven Verbindungen im Rapsöl wurde der Dampfraum wässriger Referenzlösungen analog der Probe untersucht. Stimmt die Retentionsindices, die Geruchsqualität bei ungefähr gleicher Intensität und das Massenspektrum im EI- (Elektronenstoß-Ionisation) und im CI- (Chemische Ionisation) Modus von Referenz und Probe überein, wurde eine Substanz als identifiziert betrachtet.

3.1.4. Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen (laut vAEVA) mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren

Um die bei der AEVA detektierten Geruchsqualitäten den dafür verantwortlichen Verbindungen zuzuordnen, wurden beim Vergleich mit Referenzsubstanzen folgende Kriterien berücksichtigt:

1. Bestimmung der Retentionsindices auf zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität (DB-FFAP, DB-5)
2. Bestimmung der Aromaqualität der Referenzsubstanz am Sniffing-Port in einer ähnlichen Konzentration wie in der Probe
3. Massenspektren im EI- (Elektronenstoß-Ionisation) und im CI- (Chemische Ionisation) Modus

Die Berechnung der Retentionsindices erfolgte durch Co-Chromatographie mit einer homologen Reihe der n-Alkane (DB-FFAP: C₆-C₂₆, 0,01 % in Pentan; DB-5: C₆-C₁₈, 0,01 % in Pentan). Anhand der Retentionszeit der Substanz und des unmittelbar vor und nach ihr eluierenden Alkans wurden die Retentionsindices durch lineare Interpolation bestimmt (Van den Dool and Kratz, 1963).

$$RI = \left(N + \frac{RT_A - RT_n}{RT_{n+1} - RT_n} \right) \times 100$$

RI:	Retentionsindex
N:	Anzahl der Kohlenstoffatome des vor dem Aromastoff eluierenden Alkans n
RT _A :	Retentionszeit des Aromastoffs
RT _N :	Retentionszeit des vor dem Aromastoff eluierenden Alkans n
RT _{n+1} :	Retentionszeit des nachfolgenden Alkans

Die Zuordnung der Retentionsindices der Analyten zu den Referenzsubstanzen erfolgte über eine interne Datenbank.

3.1.5. Quantifizierung aromaaktiver Verbindungen in nativem sensorisch einwandfreiem Rapsöl (NGS) und Rapsöl mit „Off-Flavor“ (NOF) mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) und Aromawertberechnung

3.1.5.1. Reinheitsüberprüfung stabilisotopenmarkierter Standards

Um einen Analyteneintrag durch den isotopenmarkierten Standard zu vermeiden, wurde die Reinheit des internen isotopenmarkierten Standards mittels GC-MS überprüft. Dabei durfte der Standard nicht mehr als 10 % der analogen unmarkierten Verbindungen enthalten. Anhand des Massenspektrums wurden zusätzlich geeignete Massenspuren zur Quantifizierung festgelegt sowie die Markierung der Standards überprüft. Bei nichteinheitlicher Markierung wurden mehrere Massenspuren zur Quantifizierung verwendet, wenn die Massenspur mehr als 10 % des Hauptpeaks ausmachte.

3.1.5.2. Konzentrationsbestimmung stabilisotopenmarkierter Standards

Die Konzentrationsbestimmung der isotopenmarkierten Standards erfolgte über hochauflösende Kapillargaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion (HRGC-FID) mit Methyloctanoat als internem Standard. Zum Ausgleich der verschiedenen FID-Responswerte von Methyloctanoat und des internen Standards wurden die unmarkierten Analyten der jeweiligen Verbindungen im Verhältnis 3+1, 1+1 und 1+3 mit Methyloctanoat versetzt und mittels hochauflösender Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion (HRGC-FID) vermessen. Dafür wurde Methyloctanoat (1 mL; Konzentration ca. 500 µg/mL)

mit 0,25 mL, 1 mL beziehungsweise 4 mL einer ähnlich konzentrierten Lösung des unmarkierten Referenzstoffes (Analyt) gemischt und auf ein definiertes Volumen (10 mL) aufgefüllt und analysiert. Aus den resultierenden Peakflächen wurde der Responsfaktor der jeweiligen Verbindung ermittelt.

$$Rf = \frac{c_A \cdot A_{MO}}{c_{MO} \cdot A_A}$$

Rf:	Responsfaktor
c_A :	Konzentration des Analyten
A_{MO} :	Peakfläche der Methyloctanoatlösung
c_{MO} :	Konzentration der Methyloctanoatlösung
A_A :	Peakfläche des Analyten

Anschließend wurde der stabilisotopenmarkierte Standard ebenfalls mit Methyloctanoatlösung dotiert und mittels HRGC-FID vermessen. Es wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Die Konzentrationsberechnung erfolgte auf Basis des ermittelten Responsfaktors, der Konzentration von Methyloctanoat und dem Peakflächenverhältnis.

$$c_{IS} = Rf \cdot \frac{c_{MO} \cdot A_{IS}}{A_{MO}} \cdot \frac{M_{IS}}{M_A}$$

c_{IS} :	Konzentration des stabilisotopenmarkierten Standards
RF:	Responsfaktor
c_{MO} :	Konzentration der Methyloctanoatlösung
A_{IS} :	Peakfläche der stabilisotopenmarkierten Standards
A_{MO} :	Peakfläche der Methyloctanoatlösung
M_{IS} :	Molekulargewicht des stabilisotopenmarkierten Standards
M_A :	Molekulargewicht des unmarkierten Analyten

3.1.5.3. Responsfaktoren und Quantifizierung

Zur Ermittlung der jeweiligen Responsfaktoren wurden Mischungen von Analyt und korrespondierenden stabilisotopenmarkiertem Standard im Verhältnis 5+1, 3+1, 1+1, 1+3 und 1+5 in Dichlormethan erstellt und mittels HRGC/HRGC-MS vermessen. Die Berechnung des Responsfaktors erfolgte über die Flächen der charakteristischen Massenspuren und die eingesetzten Konzentrationen.

$$Rf = \frac{c_A \cdot A_{IS}}{c_{IS} \cdot A_A}$$

- Rf: Responsfaktor
 A_A: Peakfläche der charakteristischen Massenspur des Analyten
 A_{IS}: Peakfläche der charakteristischen Massenspur des Analyten
 c_A: Konzentration des Analyten
 c_{IS}: Konzentration des stabilisotopenmarkierten Standards

Durch Auftragen des Verhältnisses A_{IS}/A_A gegen c_{IS}/c_A wurde eine Responsgerade erstellt, anhand deren Steigung der Responsfaktor abgelesen werden kann. Beispielhaft ist dies für die Responsgerade von 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin in Abbildung 27 gezeigt.

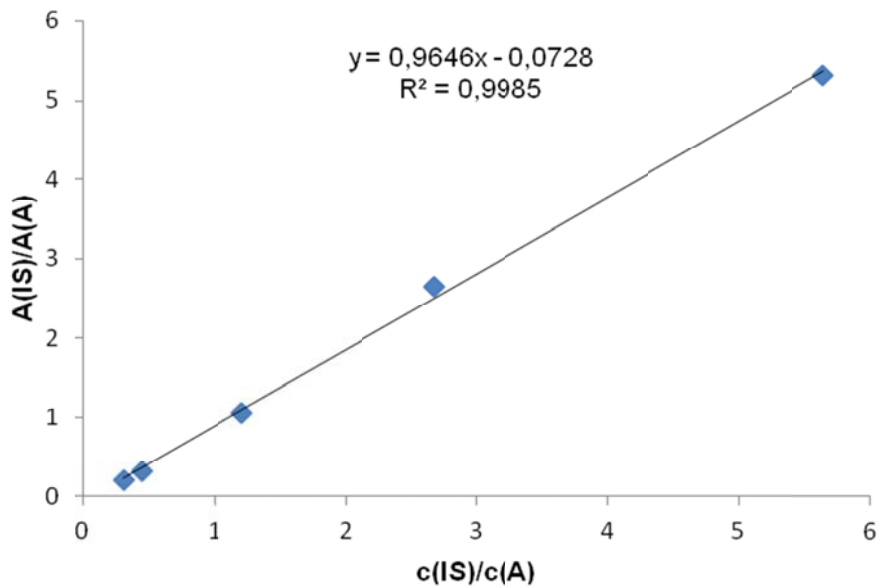


Abbildung 27: Responsgerade von 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin (Analyt) und [²H₃]-2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin (interner Standard)

Die Konzentrationsberechnung des Analyten erfolgte über die Konzentration des stabilisotopenmarkierten internen Standards, den ermittelten Responsfaktor und die Peakflächen der charakteristischen Massenspuren von Analyt und Standard nach folgender Formel:

$$C_A = Rf \cdot \frac{C_{IS} \cdot A_A}{A_{IS}}$$

C_A : Konzentration des Analyten

Rf : Responsfaktor

C_{IS} : Konzentration des stabilisotopenmarkierten Standards

A_A : Peakfläche der charakteristischen Massenspur des Analyten

A_{IS} : Peakfläche der charakteristischen Massenspur des stabilisotopenmarkierten Standards

Die zur Quantifizierung verwendeten HRGC-MS-Systeme, die ausgewählten Massenspuren und der gemittelte Responsfaktor von Analyt und Standard sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25: Aromastoffe, isotoopenmarkierte Standards, ausgewählte Massenspuren zur Quantifizierung, Responsfaktoren, Kapillarsäule(n) und Mess-Systeme zur Quantifizierung mittels Stabilisotopenverdünnungassays

Aromastoff	Stabillsotopenmarkierter Standard	Massenspuren (m/z)		R_f^a	Kapillar-säule(n) ^b	System ^c
		Analyt	Standard			
2-Acetylpyridin	[² H ₃]-2-Acetylpyridin	122	125	0,97	FFAP/ OV-1701	II
2-Acetylpyrazin	[² H ₃]-2-Acetylpyrazin	123	126	0,69	FFAP/ OV-1701	II
2-Aminoacetophenon	[² H ₃]-2-Aminoacetophenon	135	138	0,87	FFAP/ OV-1701	II
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	89	91	1,00	FFAP	I
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	167	170	0,65	FFAP/ OV-1701	II
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	[² H ₃₋₅]-(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	153	156-158	0,97	FFAP/ OV-1701	II
Dimethylsulfid	[² H ₆]-Dimethylsulfid	63	69	0,71	DB-5	III
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	127	133	0,95	FFAP/ OV-1701	II
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	[² H ₂]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	97	99	0,99	FFAP	IV
Essigsäure	[² H ₃]-Essigsäure	61	64	0,79	FFAP	I
Ethyl-2-methylbutanoat	[² H ₃]-Ethyl-2-methylbutanoat	131	134	0,83	FFAP/BGB 176	II
2-Ethyl-3,5-Dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	137	142	0,76	FFAP/ OV-1701	II
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	137	142	0,94	FFAP/ OV-1701	II
(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	110	112	1,00	FFAP/ OV-1701	II
(<i>Z</i>)-4-Heptenal	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-4-Heptenal	95	97	0,75	FFAP/ OV-1701	II
Hexanal	[² H ₂₋₄]-Hexanal	101	103-105	1,00	FFAP	I
1-Hexen-3-on	[² H ₂]-1-Hexen-3-on	98	100	0,66	FFAP/ OV-1701	II
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(<i>5H</i>)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(<i>5H</i>)-on	129	131	1,00	FFAP/ OV-1701	II
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(<i>2H</i>)-on	[¹³ C ₂]-4-Hydroxy-2,5-	129	131	1,00	FFAP/	II

Aromastoff	Stabilsotopenmarkierter Standard	Massenspuren (m/z)		R _f ^a	Kapillarsäule(n) ^b	System ^c
		Analyt	Standard			
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	dimethylfuran-3(2H)-on [² H ₃]-4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	153	156	0,96	OV-1701 FFAP/ OV-1701	II
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	167	170	0,87	FFAP/ OV-1701	II
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	153	156	0,96	FFAP/ OV-1701	II
Octanal	[² H ₂₋₄]-Octanal	129	131-133	0,88	FFAP/ OV-1701	II
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	125	128	1,00	FFAP/ OV-1701	II
2-Methylbutanal	[² H ₂]-2-Methylbutanal	87	89	0,96	FFAP/BGB 174	II
3-Methylbutanal	[² H ₂]-3-Methylbutanal	87	89	0,89	FFAP/BGB 174	II
2-Methylbuttersäure	[² H ₃]-2-Methylbuttersäure	103	112	0,69	FFAP/BGB 176	II
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	103	105	1,00	FFAP/BGB 176	II
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	109	116	0,75	FFAP/ OV-1701	II
Myrcen	[² H ₈]-Myrcen	137	143	1,00	FFAP/ OV-1701	II
(E,E)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-Nonadienal	139	141	0,91	FFAP/ OV-1701	II
(E,Z)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	139	141	0,89	FFAP/OV1 701	II
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	157	159	0,71	FFAP	I
(E)-2-Nonenal	[² H ₂]-Nonenal	141	143	0,75	FFAP/ OV-1701	II
(Z)-1,5-Octadien-3-on	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-on	125	127	0,95	FFAP/ OV-1701	II
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	143	145	0,66	FFAP	I
1-Octen-3-on	[² H ₂₋₄]-1-Octen-3-on	127	129-131	0,61	FFAP/ OV-1701	II

Aromastoff	Stabilsotopenmarkierter Standard	Massenspuren (m/z)		R _f ^a	Kapillarsäule(n) ^b	System ^c
		Analyt	Standard			
1-Penten-3-on	[² H ₂]-1-Penten-3-on	84	86	0,80	FFAP/ OV-1701	II
Phenyllessigsäure	[¹³ C ₂]-Phenyllessigsäure	137	139	0,91	FFAP/ OV-1701	II
2-Phenylethanol	[² H ₅]-Phenylethanol	105	110	0,70	FFAP	I
Trimethylamin	Triethylamin	59	86	5,70	DB-5	V

^aGemittelter Responsfaktor.

^bKapillarsäulenkombination bei Quantifizierung mittels HRGC/HRGC-MS.

^cGC-MS-Systeme zur Quantifizierung: **I** HRGC-MS, **II** HRGC/HRGC-MS, **III** HS-HRGC-MS, **IV** HRGC-MS (NCI-Ionisierung), **V** HS-SPME-HRGC-MS (EI)

3.1.5.4. Synthesen stabilisotopenmarkierter Standards

[4,5-²H₂]-*trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal

Die Synthese des [²H₂]-stabilisotopenmarkierten Standards [4,5-²H₂]-*trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal wurde durchgeführt wie bereits durch Lin et al. (1999) beschrieben und die Aufreinigung modifiziert.

Schritt 1:

In einem Zweihalskolben mit Rückflusskühler wurde LiAlH₄ (0,9 g) in THF (11 mL) suspendiert. 2-Octin-1-ol (2,2 g) wurde in THF (11 mL) gelöst, langsam unter Rühren zugetropft, unter Rückfluss erhitzt (1 h) und bei Raumtemperatur gelagert (12 h). Zur Aufreinigung wurde über einem Eisbad tropfenweise D₂O (5 mL) und H₂SO₄ (1 mol/L, 20 µL) zugegeben, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit Diethylether (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO₃⁻ und NaCl⁻ Lösung (jeweils 2 x 5 mL) gewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur abdestilliert, bis zum Rückstand eines farblosen Öls von [2,3-²H₂]-(*E*)-2-Octenol.

Schritt 2:

Mn(VII)O₂ (5 g) wurde in einer Lösung aus [2,3-²H₂]-(*E*)-2-Octenol (0,52 g) in Hexan (12 mL) suspendiert und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Feststoffrückstand wurde über ein Celit-Pad abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer (400 mbar) bei Raumtemperatur abdestilliert.

Schritt 3:

In einem Zweihalskolben wurde [2,3-²H₂]-(*E*)-2-Octenal (0,46 g) gelöst in Methanol (5 mL) vorgelegt, auf einem Eisbad gekühlt H₂O₂ (30 %, 1 mL) zugegeben und gerührt. Anschließend wurden NaOH (0,15 mmol) gelöst in Wasser zugegeben und weitergerührt (1 h). Danach wurde NaCl-Lösung (1 mol/l, 5 mL) zugegeben und die resultierende Suspension mit Dichlormethan (3 x 10 mL) extrahiert. Der Extrakt wurde über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und konzentriert.

Schritt 4:

[2,3-²H₂]-*trans*-2,3-Epoxyoctanal (0,23 g) in Heptan (10 mL) wurde in einem Rundkolben mit einer Suspension aus Formylmethyltriphenylphosphoran (0,59 g) in Heptan (10 mL) versetzt und 30 min unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wurde das abgeschiedene Phosphorinoxid abfiltriert und das Lösemittel abgedampft.

Schritt 5:

Das Produkt [4,5-²H₂]-*trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal wurde durch Säulenchromatographie an einer Glassäule (20 x 2 cm), die mit einer Diol-Phase in Pentan gepackt wurde, getrennt. Eluiert wurde mit Pentan/Diethylether (95+5, vol/vol), wobei Fraktionen von 20 mL gesammelt wurden. In den Fraktionen 9-12 wurde das Produkt sensorisch und massenspektrometrisch identifiziert.

RI (DB-FFAP) = 1997, RI (OV-1701) = 1553, RI (DB-5) = 1382.

MS (NCI, Isobutan), *m/z* (%): 99 (100), 168 ([M⁻]; 45).

[²H₃]-2-Acetylpyridin

[²H₃]-2-Acetylpyridin wurde nach der chemoselektiven Deuterierungsmethode für Ketone und Ester mittels Triacabicyclodecen (TBD) als Katalysator nach Sabot et al. (2007) synthetisiert. 1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en (TBD) (10 mol-%, 11,5 mg, 0,083 mmol) wurde in deuteriertem Chloroform (CDCl₃) (3 mL) vorgelegt und 2-Acetylpyridin (0,1 g, 0,83 mmol) hinzugegeben. Die Suspension wurde bei Raumtemperatur für 12 Stunden gerührt und anschließend die Reaktion mittels Salzsäure (HCl) (1 mL, 1 mol/L) gequenchet. Die organische Phase wurde erst mit Wasser und anschließend mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen (jeweils 2 x 2 mL), über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Im Anschluss wurde eine SAFE Destillation durchgeführt um nichtflüchtige Bestandteile wie Farbstoffe zu entfernen. Der Wasserstoff-Deuterium Austausch wurde mittels GC-MS überprüft, indem die Verhältnisse der vorliegenden Massenspuren des unmarkierten sowie einfach bis vierfach markierten Analyten bestimmt wurden. Nach 12 Stunden wurden 0,6 % unmarkierter Analyt detektiert, 2,3 % waren [²H₁]-markiert, 21,6 % [²H₂]-markiert, 69,0 % [²H₃]-markiert und 6,1 % lagen [²H₄]-markiert vor. Mit über zwei Drittel der [²H₃]-markierten Substanz war der Wasserstoff-Deuterium Austausch erfolgreich.

RI (DB-FFAP) = 1554, RI (OV-1701) = 1117, RI (DB-5) = 1031.

MS (EI), *m/z* (%): 96 (100), 78 (93), 80 (82), 124 (75, M⁺), 51 (72), 46 (45), 52 (44), 50 (38), 95 (27), 123 (20), 79 (15), 45 (12), 125 (10), 106 (8).

MS (CI, Methanol), *m/z* (%): 125 (100, [M+H]⁺), 124 (26), 126 (8).

3.1.5.5. Quantifizierung von *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal

Trans-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal mit hoher Elektronenbindungskapazität bzw. Elektronenaffinität wurde im negativen chemischen Ionisierungsmodus (NCI) mit externer Ionisierungsquelle an einem eindimensionalen HRGC-MS System analysiert.

Die negative chemische Ionisierung (NCI) bietet eine sehr selektive und sensitive Möglichkeit zur Detektion der Analyten durch Anlagerung von energieschwachen, thermischen Elektronen an das Molekölion mit hoher Elektronenaffinität, sowie weniger Fragmentierung als im positiven Modus. Durch Zusammenstoßen der Primärelektronen mit dem Cl-Gas werden niederenergetische, thermische Sekundärelektronen im Bereich von unter 1 eV gebildet.

3.1.5.6. Quantifizierung von Trimethylamin

Ionenaustauschchromatographie

Die Quantifizierung erfolgte mittels externer Kalibrierung. Dafür wurde eine Kalibriergerade mit fünf Messpunkten (0,5 – 20 mg/L) in Milliporewasser (pH 4) erstellt.

Headspace-Solidphase Microextraction-HRGC-MS (HS-SPME-HRGC-MS)

Für eine Quantifizierung mittels externer Kalibrierung wurde Trimethylaminhydrochlorid in Ethanol gelöst, 100 µL in 100 g raffiniertes Sonnenblumenöl dotiert, verdünnt und eine Kalibriergerade mit 5 Messpunkten (0,08 - 1,6 mg/kg) aufgenommen.

3.1.5.7. Kapillargaschromatographische Methoden zur Quantifizierung

Hochauflösende Gaschromatographie-Olfaktometrie (HRGC-O)

Die HRGC-O erfolgte an einem Gaschromatographen vom Typ „HRGC 5160“ (Carlo Erba Instruments, Hofheim, Deutschland). Für die simultane Aufzeichnung des Geruchseindrucks und des Chromatogramms wurde das Eluat am Ende der Hauptsäule über einen Y-Splitter zu gleichen Teilen aufgeteilt, wobei ein Teil zum beheizbaren Sniffing-Port (250 °C), der andere Teil zu einem Flammenionisationsdetektor (FID; 230 °C) geführt wurde. Die Aufzeichnung des FID-Signals erfolgte durch einen Schreiber (Servogor 120, BBC Goerz, Wien, Österreich).

Bedingungen

Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen	1 µL
Trägergas:	Helium (DB-FFAP: 75 kPa; DB-5: 65 kPa)

Fluss:	1,9 mL/min
Detektion:	FID (230 °C) Sniffing-Port (250 °C)
Brenngase FID:	Sauerstoff (100 kPa) Wasserstoff (70 kPa)
Make-up Gas:	Stickstoff (100 kPa)
Split:	Splitverhältnis 1:1 (v:v)
Schreiber:	Servogor 120, BBC Goerz
Schreiberabschwächung:	10 mV
Papiervorschub:	1 cm/min
Kapillarsäulen:	DB-5: 30 m x 0,32 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific DB-FFAP: 30 m x 0,32 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-FFAP: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min) DB-5: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 240 °C (5 min)

Konzentrationsbestimmung mittels HRGC-FID

Zur Konzentrationsbestimmung wurde ein System bestehend aus einem Autosampler (Triplus RSH) und einem Trace GC (beides Thermo Scientific, Dreieich, Deutschland) eingesetzt. Zur chromatographischen Trennung wurde eine DB-FFAP- oder eine DB-5-Kapillarsäule (beide 30 m x 0,32 mm ID 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent Technologies) verwendet.

Bedingungen:

Gaschromatograph:	Trace GC Ultra (Thermo Scientific)
Autosampler	TriPlus RSH (Thermo Scientific)
Trägergas:	Helium (95 kPa)
Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen:	2-4 µL

Detektor:	FID (250 °C)	
Brenngase FID:	Wasserstoff	
	Sauerstoff	
Make-up Gas:	Stickstoff	
Kapillarsäulen:	DB-5:	30 m x 0,32 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
	DB-FFAP:	30 m x 0,32 mm ID; 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-FFAP:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)
	DB-5:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 240 °C (5 min)

Es wurde das Standardtemperaturprogramm verwendet (40 °C - 2 min - 6 °C/min - 230 °C – 5 min) und teilweise den Problemstellungen angepasst.

Identifizierung von Aromastoffen mittels Massenspektren über HRGC-Sektorfeld-MS

Die Massenspektren zur Identifizierung wurden an einem Gaschromatographen 5890 Series II (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland) gekoppelt mit einem Sektorfeld-Massenspektrometer MAT 95S (Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) aufgenommen. Die Injektion der Probe (0,5 µL) erfolgte über einen cold-on-column Injektor. Die Ionisierungsenergie für die EI-Spektren betrug 70 eV, für die CI-Spektren 115 eV, mit Isobutan als Reaktandgas.

Bedingungen:

Gaschromatograph:	GC 5890 Series II (Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland)
Trägergas:	Helium (120 kPa)
Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen:	2 µL
Detektor:	Sektorfeldmassenspektrometer MAT-95 S (Finnigan, Bremen, Deutschland)
CI-Gas:	Isobutan
Ionisierungsenergie:	EI: 70 eV CI: 115 eV

Kapillarsäulen:	DB-5:	30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
	DB-FFAP:	30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-FFAP:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)
	DB-5:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 240 °C (5 min)

Quantifizierung mittels Headspace-HRGC-MS

Das System bestand aus einem Combi PAL Autosampler (CTC Analytics, Zwingen, Schweiz), kombiniert mit einem Trace Ultra GC (Thermo Scientific) und einem Saturn 2100 T Ionenfallen-Massenspektrometer (Varian, Darmstadt, Deutschland). Der Trace Ultra GC war mit einem cold-on-column Injektor, einer Kühlfalleneinheit 915 (Thermo Scientific), einer unbeschichteten Kapillare (40 cm x 0,53 mm ID), einer DB-5-Kapillarsäule (30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent Technologies), einem FID-Detektor (Thermo Scientific) und einem „Sniffing Port“ ausgestattet.

Das Temperaturprogramm wurde der Problemstellung angepasst, wobei üblicherweise folgendes Temperaturprogramm verwendet wurde:

0 °C (2 min), 6 °C/min, 230 °C (5 min).

Bedingungen:

Gaschromatograph:	Trace Ultra GC (Thermo Scientific)	
Autosampler:	PAL (CTC Analytics)	
Trägergas:	Helium (100 kPa)	
Injektion:	cold-on-column	
Injektionsvolumen:	2 µL	
Detektor:	Saturn 2100 T Ionenfallen Massenspektrometer (Varian)	
CI-Gas:	Methanol	
Ionisierungsenergie:	EI: 70 eV	
	CI: 70 eV	
Kapillarsäulen:	DB-5:	30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific

Temperaturprogramme: DB-5: 0 °C (2 min), 6 °C/min, 230 °C (5 min)

Quantifizierung mittels HRGC-MS

Zur Reinheitsüberprüfung und Quantifizierung von Aromastoffen über eindimensionale Gaschromatographie wurde ein Gaschromatograph Varian 431 gekoppelt mit einem Ion-Trap Massenspektrometer (220-MS, Varian) verwendet. Je nach Trennanforderung wurde eine polare DB-FFAP- oder eine unpolare DB-5-Kapillarsäule (beide 30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent Technologies) verwendet. Die Injektion erfolgte cold-on column durch einen Autosampler (COMBI PAL, Varian). Die Ionisierung erfolgte im CI-Modus bei 70 eV mit Methanol als Reaktandgas.

Bedingungen:

Gaschromatograph:	Varian 431 (Varian)
Autosampler:	PAL (CTC Analytics)
Trägergas:	Helium (120 kPa)
Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen:	2 µL
Detektor:	Varian 220-Ionenfallenmassenspektrometer
CI-Gas:	Methanol
Ionisierungsenergie:	EI: 70 eV CI: 70 eV
Kapillarsäulen:	DB-FFAP: 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-FFAP: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min) DB-5: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 240 °C (5 min)

Es wurde das Standardtemperaturprogramm verwendet (40 °C - 2 min - 6 °C/min - 230 °C – 5 min) und teilweise den Problemstellungen angepasst.

Quantifizierung mittels zweidimensionaler HRGC/HRGC-MS

Das erhaltene Aromadestillat wurde am zweidimensionalen System (HRGC/-HRGC-MS) im CI-Modus vermessen. In diesem System war ein Gaschromatograph mit einem MCSS-

System (Moving Column Stream Switching System; Thermo Scientific) ausgestattet und über eine Transferline mit einem zweiten Gaschromatographen gekoppelt. Als Detektor diente ein Ionenfallen-Massenspektrometer. Das MCSS-System besteht aus einem am Ende zugeschmolzenem Glasrohr, dem Dom, in dem 5 Kapillaren münden. Die Probe wurde über einen cold-on-column-Injektor (1) auf die erste Kapillarsäule (2) aufgegeben. Im Offline-Modus des MCSS-Systems konnte die Probe zusätzlich über einen Y-Splitter (UNI-FIT Y-Splitter, Chrompack, Frankfurt) gleichzeitig am FID (6) und am Sniffing-Port (6) detektiert werden. Durch Umschalten (2) in den Transfer-Modus des MSCC-Systems konnten nach der Trennung des Eluats in erster Dimension gezielt Bereiche „ausgeschnitten“ werden, die über die Transferline (8) zum zweiten Gaschromatographen überführt und dort mittels einer Stickstofffalle kryofokussiert wurden. Durch Thermodesorption wurden die fokussierten Verbindungen auf die zweite Kapillarsäule (11, DB—1701 oder chirale Säule) aufgegeben und getrennt. Die Detektion erfolgte massenspektrometrisch (13) im CI-Modus.

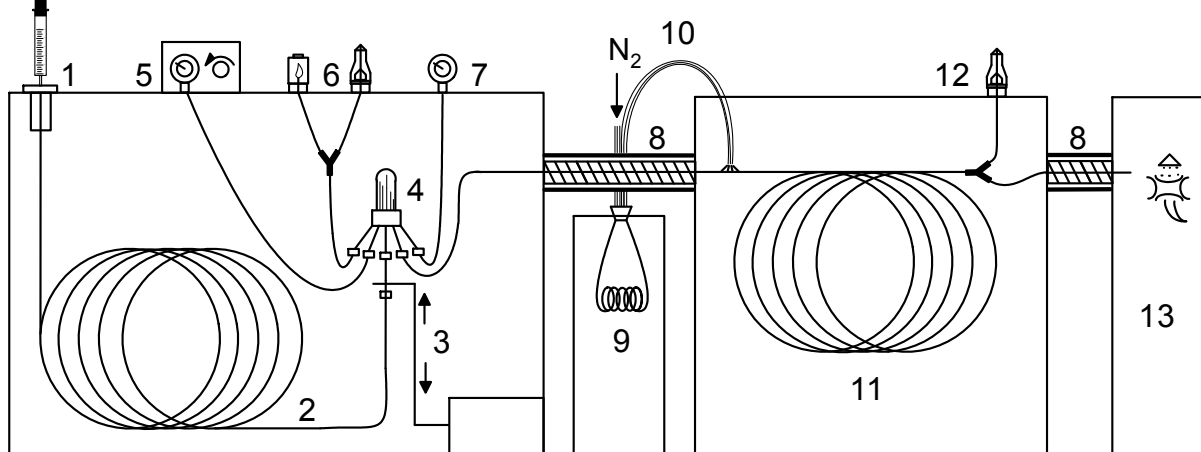


Abbildung 28: Schematische Darstellung des HRGC-HRGC/MS-Systems

Der Dom (4, Abbildung 28) vereint 5 Kapillarsäulen in einem zugeschmolzenem Glasrohr. Die erste Kapillare ist die Zuleitung des Trägergasdrucks, die zweite Kapillare ist das Säulenende der ersten Säule und ist vertikal beweglich. Die dritte mittig abgebildete Kapillare 3 ist der Einlass der Hauptsäule (11, Abbildung 28), während die vierte die Zuleitung zu den Detektoren (6, Abbildung 28) (FID, Sniffing-Port) und die fünfte Kapillare lediglich die Zuleitung zum Manometer (7, Abbildung 28) ist, wodurch der Druck im System geregelt wird. Sind die Kapillaren angeordnet wie in a) Abbildung 29 dargestellt, gelangt das komplette Eluat von der ersten Kapillarsäule (2, Abbildung 28) zu den Detektoren (6, Abbildung 28) Durch vertikales Herauffahren des Säulenendes der ersten Kapillarsäule (2, Abbildung 29 (b)) gelangen die Bereiche des Eluats auf die Hauptsäule (11, Abbildung 28).

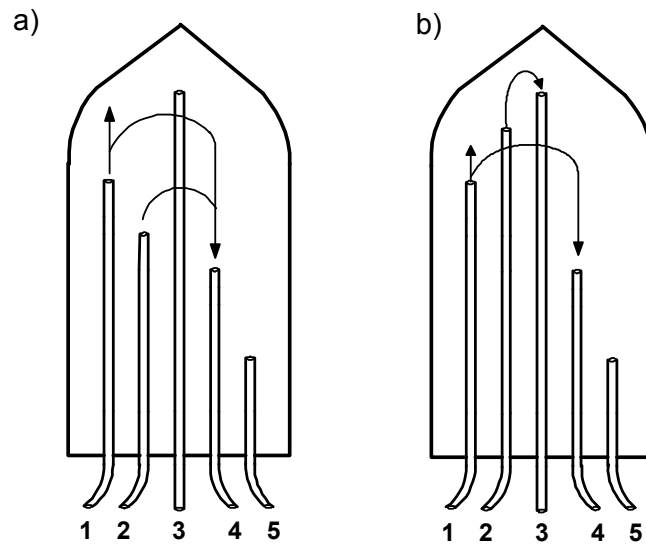


Abbildung 29: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Doms beim MCSS

Es wurde folgendes Standardtemperaturprogramm verwendet und an die Problemstellungen angepasst:

40 °C (2 min), 6 °C/min, 230 °C (5 min)

Bedingungen:

Gaschromatograph:	GC Trace 2000 Series (ThermoQuest, Egelsbach, Germany)
	Varian GC 3800 (Varian)
Autosampler:	Combi PAL (CTC Analytics)
Trägergas:	Helium (110 kPa)
MCSS:	MCSS (ThermoQuest)
Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen:	2 µL
Detektor:	1. FID
	2. Sniffing Port
	3. ITD Saturn 2000 (Varian)
CI-Gas:	Methanol
Ionisierungsenergie:	EI: 70 eV
	CI: 70 eV
Kapillarsäulen:	OV -1701: 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W

		Scientific, Agilent Technologies
	DB-FFAP:	30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific, Agilent Technologies
Temperaturprogramme:	DB-FFAP:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)
	DB-5:	40 °C (2 min), 6 °C/min auf 240 °C (5 min)

Es wurde das Standardtemperaturprogramm verwendet (40 °C - 2 min - 6 °C/min - 230 °C – 5 min) und teilweise den Problemstellungen angepasst.

HRGC-240 IT-MS (Flüssiginjektion)

Zur Quantifizierung von Verbindungen mit hoher Elektronenbindungskapazität bzw. Elektronenaffinität wie *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal wurde im negativen chemischen Ionisierungsmodus (NCI) mit externer Ionisierungsquelle am eindimensionalen System analysiert.

Bedingungen:

Gaschromatograph:	GC 7890B (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)
Autosampler:	GC-Sampler 80 (Agilent Technologies)
Trägergas:	Helium (120 kPa)
Injektion:	cold-on-column
Injektionsvolumen:	2 µL
Detektor:	240 Ion Trap GC/MS (Agilent Technologies)
CI-Gas:	Isobutan
Ionisierungsenergie	Negative Chemische Ionisierung (NCI) Elektronenenergie < 1 eV
Kapillarsäulen:	DB-FFAP: 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-FFAP: 40 °C (2 min), 6 °C/min auf 230 °C (5 min)

HRGC-240 IT-MS (SPME Injektion)

Zur Quantifizierung von Trimethylamin wurde am Einfachsystem mittels Solid Phase Microextraction (SPME) auf einer DB-5 (30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke; J&W Scientific) gemessen.

Bedingungen:

Gaschromatograph:	GC 7890B (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)
Autosampler:	GC-Sampler 80 (Agilent Technologies)
Trägergas:	Helium (120 kPa)
Injektion:	Solid Phase Microextraction
Fiber	StableFlex, Ga23, Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS), gray, 1cm, 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, PA)
Liner	SPME/GC inlet liner
Injektor	Agilent Multimode Inlet (Agilent Technologies)
Equilibrierungszeit	3 min
Equilibrierungstemperatur	40 °C
Extraktionszeit	3 min
Detektor:	240 Ion Trap GC/MS (Agilent Technologies)
Ionisierungsenergie	EI: 70 eV
Kapillarsäulen:	DB-5: 30 m x 0,25 mm ID, 1,00 µm Filmdicke; J&W Scientific
Temperaturprogramme:	DB-5: 40 °C (7 min), 20 °C/min auf 230 °C (5 min)

3.1.5.8. Geruchsschwellenbestimmung und Aromawertberechnung (AW)

Geruchsschwellenwertbestimmung

Um den Beitrag der quantifizierten Aromastoffe in den Rapsölen zum Gesamtaroma zu beurteilen wurden Geruchsschwellen zur Aromawertberechnung bestimmt. Zur Bestimmung der Geruchsschwelle eines Aromastoffs, wurde ein geruchsloses Sonnenblumenöl als Matrix verwendet. Die Geruchsschwellenbestimmung wurde nach Czerny et al. (2008) durchgeführt, indem zunächst der betreffende Aromastoff mittels HRGC-O auf die Reinheit

überprüft wurde, um Kontaminationen durch aromaaktive Verunreinigungen auszuschließen. Im Anschluss wurde eine Sensoriklösung hergestellt, deren Konzentration um das ca. 50-fache über der geschätzten Geruchsschwelle lag und diese schrittweise gravimetrisch 1+2 (v+v) mit Sonnenblumenöl verdünnt und letztlich dem Sensorikpanel als Dreiecksprüfung auf Unterscheidbarkeit (siehe 3.1.1) vorgesetzt. Beginnend mit der höchsten Konzentration sollten die Teilnehmer des Sensorikpanels die abweichende Probe identifizieren, wobei zur Berechnung der individuellen Geruchsschwelle die letzte noch richtig bewertete Probe und die erste falsch bewertete Probe herangezogen wurden.

$$IS = \sqrt{c_s \cdot c_{s+1}}$$

IS: individuelle Geruchsschwelle

c_s : Konzentration der letzten richtig identifizierten Probe

c_{s+1} : Konzentration der ersten nicht richtig identifizierten Probe

Aus der Summe der individuellen Geruchsschwellen aller Teilnehmer wurde die Geruchsschwelle des Aromastoffs in Öl berechnet.

$$GS = \sqrt{\prod_{i=1}^n IS}$$

GS: Geruchsschwelle des gesamten Sensorikpanels

n: Anzahl der Teilnehmer

IS: Geruchsschwelle des einzelnen Prüfers

Aromawertberechnung

Da der Beitrag einer Verbindung zum Gesamtaroma eines Lebensmittels nicht allein von der Konzentration abhängig ist, sondern zusätzlich von ihrer Geruchsschwelle, wurden Aromawerte (Verhältnis der im Öl ermittelten Konzentration eines Aromastoffs und dessen Geruchsschwelle in entsprechender Ölmatrix) berechnet.

$$AW = \frac{c_A}{GS}$$

AW: Aromawert

c_A : berechnete Konzentration des Aromastoffs in der Probe

GS: Geruchsschwelle des Aromastoffs in Öl

3.1.5.9. Ionenchromatographie: Kationenaustauscher (IEX = ion exchange)

Zur Identifizierung und Quantifizierung von Trimethylamin in gedämpftem Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (GOFF) wurde ein Kationenaustauscher verwendet.

Ionenchromatographie System	Dionex ICS-2000 Ionen Chromatographie System (Dionex, Idstein, Deutschland)
Eluent Generator	RIFCTM EluGen Cartridge; EGC II MSA (Dionex, Idstein)
Autosampler:	AS (Dionex, Sunnyvale, USA)
Detektor:	Leitfähigkeitsdetektor DS 6 Heated Conductivity Cell (Dionex, Idstein)
Supressor	CSRS 300 (2 mm, 6 mA; Thermo Scientific, Idstein, Deutschland)
Trennsäule	Dionex IonPac™ CS19 RFICTM (250 x 2 mm; Thermo Scientific, Idstein)
Fluss	0,25 mL/min
Eluent	7 mmol/L Methansulfonsäure
Gradient	Isokratisch, 30 min
Injektionsvolumen:	2 µL
Temperatur	30 °C
Datenerfassungsrate	5 Hz

Zur Quantifizierung wurde eine Stammlösung aus Trimethylaminhydrochlorid (100 mg/L) hergestellt und durch entsprechende Verdünnung eine Kalibriergerade mit sieben Kalibrierpunkten (0,5 – 80 mg/L) erstellt. Da bei einer externen Kalibrierung keine Verluste bei der Aufarbeitung berücksichtigt werden, wurde eine Doppelbestimmung für eine Wiederfindung mitgeführt. Dafür wurde eine definierte Menge Trimethylaminhydrochlorid in Ethanol gelöst und zu raffiniertem, geruchsneutralem Sonnenblumenöl dotiert (200 µg/kg). Die Wiederfindung wurde identisch aufgearbeitet wie die Probe und gemessen. Es wurde eine mittlere Wiederfindungsrate von 11,6 % ermittelt. Die Extraktionsrate von Trimethylamin aus der Ölmatrix mittels wässriger Extraktion im Säuren ist dementsprechend niedrig. Zudem treten Verluste des leichtflüchtigen Trimethylamins beim Einengen am Rotationsverdampfer auf, die durch Einrechnen der Wiederfindungsrate kompensiert werden.

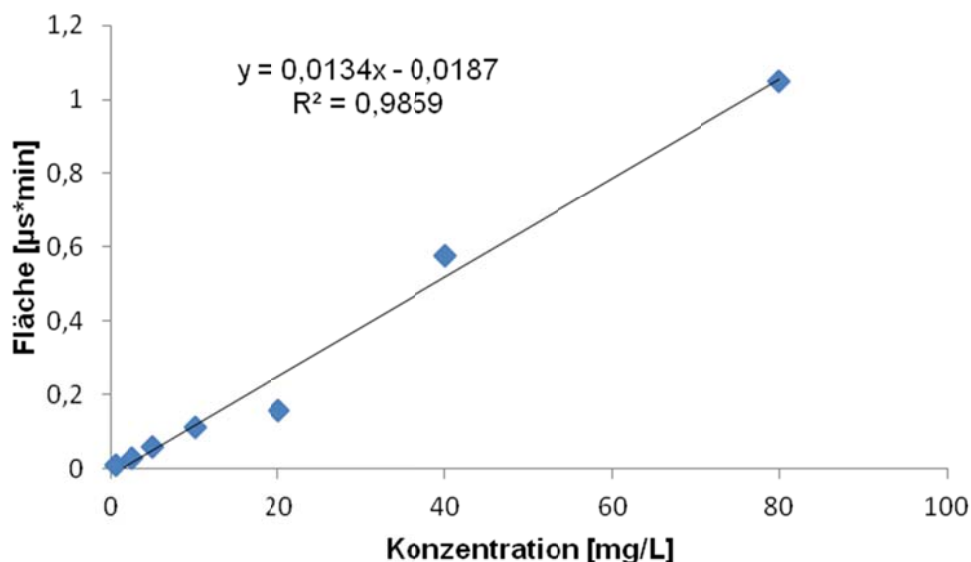


Abbildung 30: Kalibriergerade von Trimethylamin gemessen mittels Ionenaustauschchromatographie

3.1.6. Aromasimulation und Erstellung eines vergleichenden Aromaprofils

Für das Aromarekombinat wurden die aromaaktiven Verbindungen mit einem Aromawert ≥ 1 als Mischung erstellt und so verdünnt, dass Sie im Rekombinat den Konzentrationen der Aromastoffe im ursprünglichen Öl entsprach. Die Aromastoffe wurden mit Ethanol verdünnt, weswegen das maximale Volumen, in dem die Verbindungen zugegeben wurden, durch die Schwelle von Ethanol in Öl (830 $\mu\text{g}/\text{kg}$) begrenzt war. Als Matrix wurde desodoriertes, Rapsöl verwendet, damit diese so gut wie möglich mit der des nativen Rapsöls übereinstimmte. Die Ähnlichkeit von Originalöl und Rekombinat wurde auf einer Skala von 0-3 bewertet (3 = identisch, 2 = Lebensmittel erkannt, 1 = geringe Ähnlichkeit, 0 = keinerlei Ähnlichkeit).

Die Erstellung von Aromaprofilen erfolgte mit einem Sensorikpanel, bestehend aus 20 geschulten Teilnehmern, denen die Proben (NGS-Rapsöl, NOF-Rapsöl, NOFS-Rapssaat und die jeweiligen Rekombinate, je 3 mL/3 g) in Sensorikgläsern zur orthonasalen Prüfung vorgelegt wurden (siehe 3.1.5). Für die Charakterisierung wurden wässrige Referenzlösungen der in Tabelle 26 aufgeführten Aromastoffe gereicht, welche in einer vorigen Geruchsbeschreibung durch die Panelisten nach Häufigkeit der genannten Attribute ermittelt wurden. Die Konzentrationen der Referenzlösungen wurden so gewählt, dass sie etwa das zehnfache der Erkennungsschwelle des jeweiligen Aromastoffs in Wasser betragen. Die wahrgenommenen Geruchsintensitäten wurden auf einer siebenstufigen Skala von „0“ bis „3“ vom Sensorikpanel bewertet, wobei halbzahlige Zwischennoten möglich waren. „0“ bedeutete hierbei keine Geruchswahrnehmung, „1“ einen schwachen, „2“ einen deutlich wahrnehmbaren und „3“ einen sehr starken Geruchseindruck.

Tabelle 26: Referenzaromastoffe für die Aromaprofilanalysen in NGS, NOF und NOFS

Geruchseindruck	Referenz
Kohl	Dimethylsulfid
fettig/nussig	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin
erdig	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin
malzig	2-Methylbutanal
schweißig	2-Methylbuttersäure/Buttersäure
würzig	3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5 <i>H</i>)-on

Für die Charakterisierung der gedämpften Rapsöle GGS (gedämpftes Golden Standard Rapsöl) und GOFF (gedämpftes Off-Flavor Rapsöl fischig) wurden wässrige Referenzlösungen der in Tabelle 27 aufgeführten Aromastoffe gereicht, welche in einer vorigen Geruchsbeschreibung durch die Panelisten nach Häufigkeit der genannten Attribute ermittelt wurden.

Tabelle 27: Referenzaromastoffe für die Aromaprofilanalysen in GGS und GOFF

Geruchseindruck	Referenz
Kohl	Dimethylsulfid
fettig	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal/
Erbse, erdig	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin
essigsauer	Essigsäure
schweißig	2-Methylbuttersäure/Buttersäure
fischig	Trimethylamin

3.2. Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen

3.2.1. Entwicklung einer Isolierungsmethode der flüchtigen Verbindungen

Durch Optimierung des Aufarbeitungsprozesses basierend auf einer Kombination von Kurzwegdestillation und anschließender SAFE-Destillation (Engel et al., 1999) konnte eine Methode entwickelt werden, die zum einen schonend war und somit ein Abbau bzw. eine Neubildung von aromaaktiven Verbindungen verhinderte und zum anderen die benötigte Probenmenge verringerte, verglichen mit einer Isolierung, die ausschließlich über die Solvent Assisted Flavor Evaporation durchgeführt wurde.

So wurden zur Identifizierung Probenvolumina von 100 mL des sensorisch einwandfreien Öls („Golden Standard“) und 70 mL des „Off-Flavor“-Öls eingesetzt.

Überprüfung der Aufarbeitungs-/Isolierungsmethode auf Abbau und Neubildung von geruchsaktiven Verbindungen

Zur Überprüfung der gewählten Aufarbeitungsmethode für die Isolierung der Aromastoffe wurde sowohl das eingeeengte Destillat nach der Kurzwegdestillation als auch nach der Hochvakuumdestillation (SAFE) zum geruchlosen Rückstand dotiert und ein Triangeltest durchgeführt. Wenn während der Aufarbeitung unter den gewählten Parametern (Umdrehungszahl 600 U/min, Manteltemperatur 60 °C, Tropfgeschwindigkeit ca. 2 Tropfen/Sekunde) bei der Kurzwegdestillation und bei der SAFE (Wasserbad 40 °C) kein Abbau und/oder keine Artefaktbildung von Aromastoffen stattfindet bzw. bestimmte flüchtige Verbindungen nicht diskriminiert werden, sollte mittels Triangeltest kein Unterschied in der Geruchsqualität der zu vergleichenden Proben festgestellt werden können. Bei der Quantifizierung spielt ein Abbau von Aromastoffen eine untergeordnete Rolle, da dieser durch einen internen, stabilisotopenmarkierten Standard korrigiert wird. Jedoch sollte eine Artefaktbildung vermieden werden.

Nach der Kurzwegdestillation und der SAFE wurde bei Vergleich des nativen „Off-Flavor“-Rapsöls mit dem zudotierten Extrakt zur Matrix mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ **kein Unterschied** der Proben festgestellt.

Nach der Kurzwegdestillation und der SAFE wurde bei Vergleich des nativen sensorisch einwandfreien Rapsöls (Golden Standard) mit dem zudotierten Extrakt zur Matrix mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,1$ **kein Unterschied** der Proben festgestellt.

Somit konnte gezeigt werden, dass die Aufarbeitung einerseits schonend genug ist und dass andererseits auch alle wichtigen Aromastoffe erfasst werden.

In Tabelle 29 sind die Prozessparameter nach Optimierung des Isolierungsschrittes der flüchtigen Verbindungen für die Kurzwegdestillation aufgeführt.

Tabelle 28: Optimierte Prozessparameter der Kurzwegdestillation

Parameter der Prozessführung	
Manteltemperatur	50 °C
Eintropfgeschwindigkeit	2 Tropfen pro Sekunde
Rotorblattgeschwindigkeit	600 U/min

3.2.2. Entwicklung einer Isolierungsmethode für Trimethylamin

Durch Isolierung mittels Extraktion mit Milliporewasser (pH = 4) konnte keine ausreichende Konzentration erreicht werden, um Trimethylamin mit Ionenaustauschchromatographie und Leitfähigkeitsdetektor zu quantifizieren.

Die Isolierung mit Milliporewasser (pH =4) und anschließender Konzentrierung am Rotationsverdampfer ergab ähnliche Intensitäten für Trimethylamin wie die Isolierung mit voriger SAFE Destillation. Daher wurden die Proben mit Milliporewasser (pH = 4) ausgeschüttelt und im Anschluss zur Trockene eingedampft und in 0,5 mL Milliporewasser (pH = 4) aufgenommen und mittels Kationenaustauschchromatographie quantifiziert.

3.2.3. Headspace-Verdünnungsanalyse (vHVA) und vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA)

3.2.3.1. vHVA und vAEVA von nativen Rapsölen (NGS und NOF)

Bei der statischen Headspace-Verdünnungsanalyse wurden beim Startvolumen (10 mL) sechs geruchsaktive Verbindungen im sensorisch einwandfreien Rapsöl detektiert, während beim „Off-Flavor“-Rapsöl sieben geruchsaktive Komponenten wahrgenommen wurden.

Nach der Aromastoffisolierung (siehe 3.1.1) konnten durch Gaschromatographie-Olfaktometrie und anschließender Headspace-Verdünnungsanalyse (vHVA) sowie vergleichender Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) 56 geruchsaktive Regionen im sensorisch einwandfreiem, nativen Rapsöl (NGS) und 45 geruchsaktive Verbindungen im „Off-Flavor“-Rapsöl (NOF) mit einem Flavor-Dilution-Faktor (FD-Faktor) von mindestens 8 ermittelt werden.

Die für das Gesamtaroma relevanten Verbindungen zeichnen sich durch hohe FD-Faktoren aus, wobei zu beachten ist, dass die Verbindungen nicht durch Matrixeffekte, wie sie in der Probe vorliegen, zurückgehalten werden und die AEVA somit lediglich ein Screening-Verfahren darstellt.

3.2.3.2. vHVA und vAEVA von gedämpften Rapsölen (GGS und GOFF)

Bei der vergleichenden Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) wurden 44 geruchsaktive Regionen in sensorisch einwandfreiem gedämpftem Rapsöl (GGS) und 45 in gedämpftem Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ detektiert. Es wurden bei beiden Ölen weniger aromaaktive

Verbindungen detektiert als beim nativen Rapsöl, was unter anderem auf den Dämpfungsprozess zurückgeführt werden kann.

Für das sensorisch einwandfreie, gedämpfte Rapsöl (GGS) und das gedämpfte, fischige „Off-Flavor“-Rapsöl (GOFF) wurde jeweils eine Headspace-Verdünnungsanalyse mit einem Startvolumen von 10 mL Öl durchgeführt. Es konnten keine aromaaktiven Regionen wahrgenommen werden, die nicht schon bereits mittels vAEVA detektiert wurden. Dies kann durch den Prozessschritt der kurzen Dämpfung des Rapsöls erklärt werden, bei dem die leichtflüchtigen Geruchsstoffe entweichen können.

3.2.4. Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren

Durch den Vergleich des Golden Standards mit dem „Off-Flavor“-Öl können letztlich Rückschlüsse auf die Bildung unerwünschter Aromastoffe im „Off-Flavor“-Öl bzw. den Abbau erwünschter Aromastoffe, die im guten Rapsöl vorkommen, gezogen werden. Im Fall der untersuchten nativen Rapsöle ist die verstärkte Bildung unerwünschter Inhaltsstoffe sowie die Neubildung von Aromastoffen wahrscheinlich, da sich die Öle sowohl in der Aromastoffzusammensetzung unterschieden als auch in den FD-Faktoren der gleichen aromaaktiven Verbindungen.

3.2.4.1. Native Rapsöle NGS, NOF und Rapssaat NOFS

Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse (vHVA)

Die Headspace-Verdünnungsanalyse und die Identifizierung der Schlüsselaromastoffe vom nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl (NGS) sind in Tabelle 29 aufgeführt. Verbindung **1** wurde als Acetaldehyd, Verbindung **2** als Dimethylsulfid und Verbindung **3** als Methylpropanal identifiziert. In NGS wies Dimethylsulfid den höchsten FD-Faktor von 8 auf, gefolgt von Acetaldehyd mit FD 4. Methylpropanal (**3**, malzig) wies lediglich einen FD-Faktor von 1 auf, das in NOF mit einem FD-Wert von 4 den höchsten FD-Faktor darstellt. Einen FD-Faktor von 2 hatten die Komponenten Acetaldehyd (**1**, stechend, frisch) und **2** (Kohl) in NOF. Die Rapssaat NOFS zeigte relativ niedrige FD-Faktoren für Acetaldehyd (FD = 1), Dimethylsulfid (FD = 2) und Methylpropanal (FD = 2).

Tabelle 29: Statistische Headspace-Verdünnungsanalyse des nativen Golden Standards

Nr. ^a	Verbindung ^b	Geruchsqualität ^c	RI (DB-5) ^d	FD Faktor ^e		
				NGS	NOF	NOFS
1	Acetaldehyd	stechend, grün	< 500	4	2	1
2	Dimethylsulfid	Spargel	505	8	2	2
3	Methylpropanal	malzig	576	1	4	2

^aNummerierung gemäß der Elutionsreihenfolge an einer DB-5-Säule.

^bIdentifizierung der Verbindung durch Vergleich der entsprechenden Referenzsubstanzen nach folgenden Kriterien: Geruchsqualität bei gleicher Intensität und Retentionsindices (RIs) sowie MS-Spektren im EI- und CI-Modus.

^cGeruchsqualität der Verbindung am Sniffing-Port.

^dRetentionsindex auf einer DB-5-Säule.

^eFlavor Dilution-Faktor, berechnet als Verhältnis von höchst analysiertem Volumen zu geringst analysiertem Volumen, in dem ein Aromastoff wahrnehmbar war (DB-5-Säule).

Unterschiede gemäß FD-Faktoren (vHVA) in NGS und NOF

Nach vHVA konnten bzgl. der FD-Faktoren folgende Unterschiede zwischen den nativen Ölen (NGS/NOF) festgestellt werden. Dimethylsulfid (**2**) wies mit 8 einen höheren FD-Faktor im NGS-Rapsöl als im NOF-Rapsöl auf sowie Acetaldehyd (**1**), das einen FD-Faktor von 4 aufweist im Gegensatz zu NOF (FD 2). Die Verbindungen Methylpropanal (**3**) zeigte in NOF-Rapsöl einen erhöhten FD-Faktor von 4, während in NGS lediglich ein FD-Faktor von 1 bestimmt wurde.

Aromaextraktverdünnungsanalyse NGS, NOF und NOFS

In Tabelle 30 sind die identifizierten Verbindungen, die am Sniffing-Port des Gaschromatographen detektierten Geruchsqualitäten, die Retentionsindices auf zwei Säulen verschiedener Polarität (DB-5; DB-FFAP) und deren zugehörige FD-Faktoren bei der vAEVA zusammengefasst.

Mit der vAEVA von NGS wurden 56 geruchsaktive Verbindungen mit $FD \geq 8$ detektiert. In NOF wurden lediglich 45 geruchsaktive Regionen wahrgenommen ebenso in der Rapsaat NOFS aus dem NOF gepresst wurde.

Tabelle 30: Aromaaktive Verbindung, Geruchsqualität, Retentionsindices auf zwei verschiedenen stationären Phasen (DB-FFAP, DB-5) und FD-Faktoren in NGS und NOF Rapsöl sowie der Rapssaat NOFS auf dem NOF gepresst wurde

Nr. ^a	Verbindung ^b	Geruchsqualität ^c	RI ^d		FD Faktor ^e		
			DB-FFAP	DB-5	NGS	NOF	NOFS
4	3-Methylbutanal	malzig	941	652	32	128	256
5	2-methylbutanal	malzig	943	652	32	128	256
6	Methyl 2-methylbutanoat	fruchtig	1001	755	8	<8	<8
7	Ethyl 2-methylbutanoat	fruchtig	1013	847	<8	512	128
8	Hexanal	grün	1020	802	32	16	8
9	Myrcen	Hopfen, Geranie	1137	986	64	<8	<8
10	Octanal	Citrus, grün	1291	1009	512	128	64
11	1-Octen-3-on	Pilz	1299	980	128	32	256
12	Dimethyltrisulfid	Kohl	1367	968	128	512	2048
13	(Z)-1,5-Octadien-3-on	Hopfen, Geranie	1377	983	32	8	8
14	(Z)-3-Hexen-1-ol	fettig, Gurke	1390	858	16	<8	<8
15	(E)-2-Octenal	nussig, röstig	1394	1053	8	<8	8
16	1-Octen-3-ol	Pilz	1402	980	32	<8	<8
17	(Z)-6-Nonenal	Citrus,	1423	nd	32	32	<8
18	2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin	erdig, Erbse	1428	1095	2048	1024	1024
19	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	erdig, Erbse	1457	1078	32	128	64
20	2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	erdig, Erbse	1459	1078	32	128	32
21	2-sec-Butyl-3-methoxy-pyrazin	erdig, röstig	1491	1164	32	1024	256
22	2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin	Grüne Paprika	1516	1095	2048	2048	512
23	(E)-2-Nonenal	Gurke	1527	1147	32	32	16
24	Linalool	Citrus	1541	1105	32	64	64
25	2-Acetylpyridin	nussig, röstig	1550	nd	32	128	<8
26	1-Octanol	Citrus	1564	1073	32	64	32
27	(E,Z)-2,6-Nonadienal	Gurke	1577	nd	32	16	<8
28	Acetylpyrazin	Popcorn	1624	1022	<8	32	8
29	Buttersäure	schweißig	1636	821	32	16	32
30	(E)-2-Decenal	fettig, nussig	1643	1261	32	<8	32
31	2-Methylbuttersäure	schweißig	1665	860	32	256	1024
32	3-Methylbuttersäure	schweißig	1667	860	32	256	1024

Nr. ^a	Verbindung ^b	Geruchsqualität ^c	RI ^d		FD Faktor ^e		
			DB-FFAP	DB-5	NGS	NOF	NOFS
33	(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	fettig, grün	1686	1223	64	512	256
34	2-Propionylthiazol	röstig	1705	nd	512	64	32
35	Geranial	Citrus	1720	1272	64	8	8
36	Pentansäure	schweißig	1728	nd	8	<8	<8
37	(<i>E,Z</i>)-2,4-Decadienal	frittiert	1740	1223	64	64	64
38	unbekannt	stechend	1770	nd	32	<8	<8
39	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	frittiert	1795	1318	8	32	128
40	(<i>E</i>)- β -Damascenon	fruchtig, Bratapfel	1815	nd	8	<8	<8
41	<i>trans</i> -2,3-Epoxyundecanal	metallisch	1843	1245	64	32	16
42	2-Methoxyphenol	geräucherter Schinken, rauchig	1865	1086	32	2048	512
43	2-Phenylethanol	blumig, Honig	1916	1116	64	2048	128
44	γ -Octalacton	Kokosnuss	1922	1264	64	<8	32
45	Heptansäure	schweißig, grün	1949	nd	16	<8	128
46	<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	metallisch	2008	1382	512	64	32
47	γ -Nonalacton	Kokosnuss	2031	1350	64	32	64
48	4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2 <i>H</i>)-on	Karamell	2047	1069	64	32	16
49	δ -Nonalacton	Kokosnuss	2075	1366	64	<8	8
50	4-Methylphenol	fäkalisch	2078	1077	32	256	128
51	unbekannt	phenolisch	2097	nd	2048	512	1024
52	γ -Decalacton	Pfirsich, Kokosnuss	2154	1476	128	<8	<8
53	2-Methoxy-4-vinylphenol	rauchig	2183	1318	32	8	<8
54	3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5 <i>H</i>)-on	würzig	2206	1109	64	256	2048
55	2-Aminoacetophenon	foxy	2229	1300	2048	512	256
56	3-Propylphenol	rauchig, Leder	2284	nd	<8	32	<8
57	4-Vinylphenol	phenolisch	2368	1237	8	32	<8
58	Indol	fäkalisch	2472	1287	<8	8	<8
59	Phenyllessigsäure	Honig, Bienenwachs	2533	1261	32	<8	16
60	Vanillin	Vanille	2540	1406	32	<8	16

^aDie Nummerierung erfolgte gemäß Elutionsreihenfolge der Geruchsqualitäten von „Golden Standard“ und „Off-Flavor“-Öl auf einer DB-FFAP fortlaufend. Jede Verbindung entspricht einer Nummer, unabhängig vom untersuchten Öl.

^bIdentifizierung der Verbindung durch Vergleich der entsprechenden Referenzsubstanzen nach folgenden Kriterien: Geruchsqualität bei gleicher Intensität und Retentionsindices (RIs) auf zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität (DB-FFAP und DB-5) sowie MS-Spektren im EI- und CI-Modus.

^cGeruchsqualität der Verbindung am Sniffing-Port.

^dRetentionsindex.

^eFlavor Dilution-Faktor des Aromastoffs (DB-FFAP-Säule).

nd: not detected – nicht wahrgenommen.

Natives sensorisch einwandfreies Rapsöl (NGS)

Nativer „Golden Standard“

Bei der mit höchstem FD-Faktor von 2048 identifizierten Verbindung handelte es sich um 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (**18**, erdig, Erbse), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (**22**, grüne Paprika) und 2-Aminoacetophenon (**55**, foxy). Mit einem FD-Faktor von 512 wurden folgende Verbindungen identifiziert: Octanal (**10**, Citrus, grün), 2-Propionyl-2-thiazol (**34**, röstig) und *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (**46**, metallisch). Ein FD-Faktor von 128 wurde für 1-Octen-3-on (**11**, Pilz), Dimethyltrisulfid (**12**, Kohl), und γ -Decalacton (**52**, Pfirsich, Kokosnuss) ermittelt. Mit einem FD-Faktor von 64 konnten die Verbindungen Myrcen (**9**, Hopfen, Geranie), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (**33**, fettig, grün), Gernanial (**35**, Citrus), (*E,Z*)-2,4-Decadienal (**37**, frittiert), *trans*-2,3-Epoxyundecanal (**41**, metallisch), 2-Phenylethanol (**43**, blumig, Honig), γ -Octalacton (**44**, Kokosnuss), γ -Nonalacton (**47**, Kokosnuss), 4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(*2H*)-on (**48**, Karamell), δ -Nonalacton (**49**, Kokosnuss) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(*5H*)-on (**54**, würzig) identifiziert werden. Weitere Verbindungen mit FD-Faktoren < 64 sind in Tabelle 31 aufgelistet.

Natives stichig, würziges „Off-Flavor“ Rapsöl (NOF)

Es konnten folgende Verbindungen mit einem FD-Faktor von 2048 identifiziert werden: 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (**22**, grüne Paprika), 2-Methoxyphenol (**42**, geräucherter Schinken, rauchig), und 2-Phenylethanol (**43**, blumig, Honig) gefolgt von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (**18**, erdig, Erbse) und 2-*sec*-Butyl-3-methoxypyrazin (**21**, erdig, röstig) mit einem FD-Faktor von 1024. Einen FD-Faktor von 512 zeigten Ethyl-2-methylbutanoat (**7**, fruchtig), Dimethyltrisulfid (**12**, Kohl), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (**33**, fettig, grün) und 2-Aminoacetophenon (**55**, foxy). Einen FD-Faktor von 256 wiesen die Verbindungen 2-Methylbuttersäure (**31**, schweißig), 3-Methylbuttersäure (**32**, schweißig) 4-Methylphenol (**50**, fäkalisch) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(*5H*)-on (**54**, würzig) auf, gefolgt von 2-Methylbutanal (**4**, malzig), 3-Methylbutanal (**5**, malzig), Octanal (**10**, Citrus), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (**19**, erdig, Erbse), 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (**20**, erdig, Erbse) und 2-Acetylpyridin (**25**, nussig, röstig) mit einem FD-Faktor von 128. Mit einem FD-Faktor von 64 wurden Linalool (**24**, Citrus), 1-Octanol (**26**, Citrus) 2-Propionylthiazol (**34**, röstig), (*E,Z*)-2,4-Decadienal (**37**, frittiert), und *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (**50**, metallisch) identifiziert. Weitere Verbindungen mit FD-Faktoren < 64 sind in Tabelle 31 aufgelistet.

Rapssaat (NOFS) aus der NOF gepresst wurde

Dimethyltrisulfid (**12**, Kohl) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(*5H*)-on (**54**, würzig) wurden mit dem höchsten FD-Faktor von 2048 identifiziert, gefolgt von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin

(**18**, erdig, Erbse), 2-Methylbuttersäure (**31**, schweißig) und 3-Methylbuttersäure (**32**, schweißig) mit einem FD-Faktor von 1024. 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (**22**, grüne Paprika) und 2-Methoxyphenol (**42**, geräucherter Schinken, rauchig), wiesen einen FD-Faktor von 512 auf. Einen FD-Faktor von 256 zeigten 2-Methylbutanal (**4**, malzig), 3-Methylbutanal (**5**, malzig), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (**21**, erdig, röstig), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (**33**, fettig, grün) und 2-Aminoacetophenon (**55**, foxy) gefolgt von einem FD-Faktor von 128 für Ethyl-2-methylbutanoat (**7**, fruchtig), (*E,E*)-2,4-Decadienal (**39**, frittiert), 2-Phenylethanol (**43**, blumig, Honig), Heptansäure (**45**, schweißig, grün) und 4-Methylphenol (**50**, fäkalisch). Weitere Verbindungen mit FD-Faktoren < 64 sind in Tabelle 30 aufgelistet.

3.2.4.2. Gedämpfte Rapsöle GGS und GOFF

In Tabelle 31 sind die identifizierten Verbindungen der gedämpften Öle GGS und GOFF, die am Sniffing-Port des Gaschromatographen detektierten Geruchsqualitäten, die Retentionsindices auf zwei Säulen verschiedener Polarität (DB-5; DB-FFAP) und deren zugehörige FD-Faktoren bei der vAEVA zusammengefasst.

Tabelle 31: Aromaaktive Verbindung, Geruchsqualität, Retentionsindices auf zwei verschiedenen Phasen (DB-FFAP, DB-5) und FD-Faktoren in GGS und GOFF Rapsöl

Nr. ^a	Verbindung ^b	Geruchsqualität ^c	RI ^d		FD-Faktor ^e	
			DB-FFAP	DB-5	GGS	GOFF
1	1-Penten-3-on	stechend, tranig	1036	nd	-	8
2	Hexanal	grün	1078	802	32	32
3	1-Hexen-3-on	Gummi, stechend	1093	767	32	4
4	Ethyl-3-methylpentanoat	fruchtig	1155	nd	8	-
5	(Z,Z)-3,6-Nonadienal	grün, fettig	1227	nd	32	16
6	(Z)-4-Heptenal	talig	1232	910	4	32
7	Octanal	Citrus, grün	1291	1009	16	8
8	1-Octen-3-on	Pilz	1299	980	256	64
9	Dimethyltrisulfid	Kohl	1367	968	64	128
10	(Z)-1,5-Octadien-3-on	Geranie, Hopfen	1377	983	16	64
11	(Z)-3-Hexen-1-ol	fettig, Gurke	1390	858	32	64
12	2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	erdig, Erbse	1428	1095	256	512
13	Essigsäure	Essig	1474	nd	8	128
14	2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	erdig, röstig	1491	1164	32	64
15	2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	grüne Paprika	1516	1195	32	32
16	(E)-2-Nonenal	Gurke	1527	1147	256	256
17	1-Octanol	Citrus	1564	nd	16	64
18	(E,E)-2,4-Heptadienal	fettig, blumig	1565	nd	8	4
19	(E,Z)-2,6-Nonadienal	Gurke	1571	1152	64	32
20	(Z)-2-Decenal	fettig	1587	nd	16	128
21	Buttersäure	schweißig	1636	821	64	1024
22	(E)-2-Decenal	fettig, nussig	1643	1261	16	128
23	2-Methylbuttersäure	schweißig	1667	860	128	256
24	3-Methylbuttersäure	schweißig	1667	860	128	256
25	(E,E)-2,4-Nonadienal	fettig, grün	1686	1223	64	64
26	2-Propionylthiazol	röstig	1705	nd	64	32
27	(E,Z)-2,4-Decadienal	frittiert	1740	1293	64	16

Nr. ^a	Verbindung ^b	Geruchsqualität ^c	RI ^d		FD-Faktor ^e	
			DB-FFAP	DB-5	GGS	GOFF
28	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	frittiert	1795	1318	256	512
29	unbekannt	metallisch, seifig, Citrus	1805	nd	256	256
30	<i>trans</i> -2,3-Epoxyundecanal	Citrus, metallisch	1843	1396	16	8
31	Ethyl-3-phenylpropanoat	blumig	1849	nd	8	4
32	2-Phenylethanol	blumig, Honig	1916	1116	256	256
33	γ -Octalacton	Kokos	1922	1264	16	32
34	Heptansäure	ranzig, schweißig	1949	nd	32	16
35	(<i>E</i>)-2-Tridecenal	metallisch	1957	1555	16	16
36	<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	metallisch	2008	1382	2048	2048
37	γ -Nonalacton	Pfirsich, Kokos	2031	1350	256	128
38	δ -Nonalacton	Kokos	2075	1366	16	32
39	4-Methylphenol	fäkalisch	2078	1083	256	256
40	unbekannt	phenolisch	2097	nd	256	128
41	γ -Decalacton	Pfirsich	2154	1476	256	64
42	Eugenol	Nelke	2158	1316	4	8
43	3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5 <i>H</i>)-on	würzig	2206	nd	512	512
44	2-Aminoacetophenon	foxy	2229	nd	32	8
45	3-Propylphenol	rauchig, Leder	2284	nd	8	32
46	Phenylelessigsäure	Honig	2533	1256	512	128
47	Vanillin	Vanille	2540	1414	128	128

^aDie Nummerierung erfolgte gemäß Elutionsreihenfolge der Geruchsqualitäten von „Golden Standard“ und „Off-Flavor“-Öl auf einer DB-FFAP fortlaufend. Jede Verbindung entspricht einer Nummer, unabhängig vom untersuchten Öl.

^bIdentifizierung der Verbindung durch Vergleich der entsprechenden Referenzsubstanzen nach folgenden Kriterien: Geruchsqualität bei gleicher Intensität und Retentionsindices (RIs) auf zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität (DB-FFAP und DB-5) sowie MS-Spektren im EI- und CI-Modus.

^cGeruchsqualität der Verbindung am Sniffing-Port.

^dRetentionsindex.

^eFlavor Dilution-Faktor des Aromastoffs (DB-FFAP-Säule).

nd: not detected – nicht wahrgenommen.

Gedämpftes, sensorisch einwandfreies Rapsöl (GGS)

Bei der mit höchstem FD-Faktor von 2048 identifizierten Verbindung handelte es sich um *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (**36**, metallisch), gefolgt von 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-5(2*H*)-on (**43**, würzig) und Phenyllessigsäure (**46**, Honig) mit einem FD-Faktor von 512. Mit einem FD-Faktor von 256 wurden folgende Verbindungen identifiziert: (*Z,Z*)-3,6-Nonadienal (**5**, grün, fettig), 1-Octen-3-on (**8**, Pilz), 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (**12**, erdig, Erbse), (*E*)-2-Nonenal (**16**, Gurke), 2-Methylbuttersäure (**23**, schweißig), 3-Methylbuttersäure (**24**, schweißig), 2-Propionylthiazol (**26**, röstig), (*E,E*)-2,4-Decadienal (**28**, fettig, frittiert), 2-Phenylethanol (**32**, blumig, Honig), γ -Nonalacton (**37**, Pfirsich, Kokos), 4-Methylphenol (**39**, fäkalisch) und γ -Decalacton (**41**, Pfirsich). Die Verbindung Vanillin (**47**, Vanille) wies einen FD-Faktor von 128 auf, gefolgt von (*Z*)-3-Hexenol (**11**, fettig, Gurke), (*E,Z*)-2,6-Nonadienal (**19**, Gurke), (*Z*)-2-Decenal (**20**, fettig), Buttersäure (**21**, schweißig), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (**25**, fettig) und (*E,Z*)-2,4-Decadienal (**27**, frittiert), alle mit einem FD-Faktor von 64. Weitere identifizierte Verbindungen mit einem FD-Faktor ≤ 32 sind in Tabelle 31 aufgeführt.

Gedämpftes, fischiges „Off-Flavor“ Rapsöl (GOFF)

Bei der mit höchstem FD-Faktor von ≥ 2048 identifizierten Verbindung handelte es sich erneut um *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (**36**, metallisch), gefolgt von Buttersäure (**21**, schweißig) mit einem FD-Faktor von 1024. Mit einem FD-Faktor von 512 wurden folgende Verbindungen identifiziert: 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (**12**, erdig, Erbse), (*E,E*)-2,4-Decadienal (**28**, fettig, frittiert) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-5(2*H*)-on (**43**, würzig). Die Verbindungen (*E*)-2-Nonenal (**16**, Gurke, fettig), 2-Methylbuttersäure (**23**, schweißig), 3-Methylbuttersäure (**24**, schweißig), 2-Phenylethanol (**32**, blumig, Honig) und 4-Methylphenol (**39**, fäkalisch) wiesen einen FD-Faktor von 256 auf. Mit einem FD-Faktor von 128 konnten die Verbindungen (*Z,Z*)-3,6-Nonadienal (**5**, grün, fettig), (*Z*)-1,5-Octadien-3-on (**10**, Geranie, Hopfen), (*Z*)-3-Hexenol (**11**, fettig, Gurke), (*Z*)-2-Decenal (**20**, fettig), (*E*)-2-Decenal (**22**, fettig, nussig), 2-Propionylthiazol (**26**, röstig), γ -Nonalacton (**37**, Pfirsich, Kokos), 3-Propylphenol (**45**, rauchig, Leder), Phenyllessigsäure (**46**, Honig) und Vanillin (**47**, Vanille), und mit einem FD-Faktor von 64, 1-Octen-3-on (**8**, Pilz), 2-*sec*-Butyl-3-methoxypyrazin (**14**, erdig, röstig), 1-Octanol (**17**, Citrus), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (**25**, fettig, frittiert) und γ -Decalacton (**41**, Pfirsich) identifiziert werden.

Unterschiede gemäß FD-Faktoren in GGS und GOFF

Nach vAEVA konnten bzgl. der FD-Faktoren folgende Unterschiede zwischen den gedämpften Ölen (GGS/GOFF) festgestellt werden. Es wurden sieben Aromastoffe detektiert, die sich in ihren FD-Faktoren um mindestens drei Verdünnungsstufen

unterschieden. Nur ein Aromastoff (Propyl-3-methylpropanoat, **4**) war im gedämpften, sensorisch einwandfreien Rapsöl (GGS) in einer höheren Verdünnung detektiert worden. Die Aromastoffe 1-Penten-3-on (**1**), (Z)-4-Heptenal (**6**), (Z)-1,5-Octadien-3-on (**10**), Buttersäure (**21**), (E)-2-Decenal (**22**) und 3-Propylphenol (**45**) zeigten mindestens 3-fach höhere FD-Faktoren in GOFF.

Keine der am Sniffing-Port einzeln detektierten Geruchsqualitäten im fischigen „Off-Flavor“-Rapsöl konnte als „fischig“ beschrieben werden. Daher muss der fischige Gesamteindruck des gedämpften Rapsöls (GOFF) durch Kombination aus verschiedenen Aromastoffen in einem bestimmten Verhältnis resultieren oder der betreffende Aromastoff wird durch die Isolierungsmethode bzw. Analysenmethode nicht erfasst.

3.2.5. Quantifizierung aromaaktiver Verbindungen in den nativen Rapsölen NGS und NOF mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) und Aromawertberechnung (AW)

Die AEVA lieferte ein erstes Screening über die Wichtigkeit einzelner Aromastoffe im Rapsöl. Um jedoch die Relevanz eines Aromastoffs für das Gesamtaroma beurteilen zu können, sind exakte quantitative Daten erforderlich. Es wurden gemäß AEVA zunächst die Aromakomponenten quantifiziert, die einen hohen FD-Faktor aufwiesen. Die Quantifizierung erfolgte mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA). Dazu wurden Isotopologe des betreffenden Aromastoffs als interner Standard eingesetzt (Tabelle 32).

Tabelle 32: Zur Quantifizierung eingesetzte stabilisotopenmarkierte Standards mit zugehörigen Massenspuren, Responsfaktoren sowie verwendete Kapillarsäulen und Systeme

Aromastoff	Stabilisotopenmarkierter Standard	Massenspuren (m/z)		R _f ^a	Kapillarsäulen ^b	System ^c
		Analyt	Standard			
2-Acetylpyridin	[² H _{2,4}]- 2-Acetylpyridin	122	124-126	0,97	DB-FFAP/ OV-1701	II
Acetylpyrazin	[² H ₃]-Acetylpyrazin	123	126	0,69	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Aminoacetophenon	[² H ₃]-2-Aminoacetophenon	135	138	0,87	DB-FFAP/ OV-1701	II
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	89	91	1,00	DB-FFAP	I
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	167	170	0,65	DB-FFAP/ OV-1701	II
(E,E)-2,4-Decadienal	[² H _{2,4}]- (E,E)-2,4-Decadienal	153	155-157	0,97	DB-FFAP/ OV-1701	II
Dimethylsulfid	[² H ₆]-Dimethylsulfid	63	69	0,71	DB-5	III
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	127	133	0,95	DB-FFAP/ OV-1701	II
Ethyl-2-methylbutanoat	[² H ₃]-Ethyl-2-methylbutanoat	131	134	0,83	DB-FFAP/ BGB176	II
2-Ethyl-3,5-	[² H ₅]- 2-Ethyl-3,5-	137	142	0,76	DB-FFAP/	II

Aromastoff	Stabilsotopenmarkierter Standard	Massenspuren (m/z)		R _f ^a	Kapillarsäulen ^b	System ^c
		Analyt	Standard			
dimethylpyrazin	dimethylpyrazin				OV-1701	
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin ^d	137	142	0,94	DB-FFAP/ OV-1701	II
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	[² H ₂]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	97	99	0,99	DB-FFAP	IV
Hexanal	[² H _{2,4}]-Hexanal	101	103-105	1,00	DB-FFAP	I
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran(5 <i>H</i>)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran(5 <i>H</i>)-on	129	131	1,00	DB-FFAP/ OV-1701	II
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3-(2 <i>H</i>)-on	[¹³ C ₂]-4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3-(2 <i>H</i>)-on	129	131	1,00	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin	167	170	0,87	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazin	153	156	0,96	DB-FFAP/ OV-1701	II
Octanal	[² H _{2,4}]-Octanal	129	131-133	0,88	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	125	128	1,00	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Methylbutanal	[² H ₂]-2-Methylbutanal	87	89	0,96	DB-FFAP/ BGB174	II
3-Methylbutanal	[² H ₂]-3-Methylbutanal	87	89	0,89	DB-FFAP/ BGB174	II
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	103	112	0,69	DB-FFAP/ BGB176	II
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	103	105	1,00	DB-FFAP/ BGB176	II
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	109	116	0,75	DB-FFAP/ OV-1701	II
Myrcen	[² H ₆]-Myrcen	137	143	1,00	DB-FFAP/ OV-1701	II
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-Nonadienal	139	141	0,91	DB-FFAP/ OV-1701	II
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	139	141	0,89	DB-FFAP/ OV1701	II
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	157	159	0,71	DB-FFAP	I
(<i>E</i>)-2-Nonenal	[² H ₂]-Nonenal	141	143	0,75	DB-FFAP/ OV-1701	II
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	143	145	0,66	DB-FFAP	I
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	127	129-131	0,61	DB-FFAP/ OV-1701	II
2-Phenylethanol	[² H ₅]-Phenylethanol	105	110	0,70	DB-FFAP	I

^aGemittelte Responsefaktoren (RF) aus den Verhältnissen Analyt und Standard: 1+5, 1+3, 1+1, 3+1, 5+1.

^bKapillarsäulenkombination bei Quantifizierung mittels zweidimensionaler HRGC-MS

^cGC-Systeme zur Quantifizierung: I HRGC-MS, II HRGC-HRGC-MS, III HS-HRGC-MS, IV HRGC-MS (NCI), V HS-SPME-HRGC-MS

^dZur Quantifizierung von 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin wurde [²H₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin als stabilisotopenmarkierter Standard verwendet.

3.2.5.1. Sensorisch einwandfreies natives Rapsöl (NGS)

Die ermittelten Konzentrationen der Aromastoffe im nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl sind in Tabelle 33 zusammengefasst und basieren auf Mittelwerten von

Mehrfachbestimmungen unterschiedlicher Chargen. Die höchste Konzentration wurde für Hexanal mit 511 µg/kg bestimmt, gefolgt von Octanal (383 µg/kg) und γ-Nonalacton (278 µg/kg). 2-Aminoacetophenon, Buttersäure, Dimethylsulfid, 2-Methylbutanal, 3-Methylbutanal, 3-Methylbuttersäure, (E)-2-Nonenal, (E,E)-2,4-Nonadienal, (E,Z)-2,6-Nonadienal, γ-Octalacton und 2-Phenylethanol wurden im Konzentrationsbereich von 10 bis 100 µg/kg ermittelt. Einen Gehalt im Bereich zwischen 1 und 10 µg/kg wiesen die Analyten 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, (E,E)-2,4-Decadienal, Dimethyltrisulfid, *trans*-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal, 4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin, Myrcen, 1-Octen-3-on und auf. Zehn Aromastoffe befanden sich in Konzentrationsbereichen < 1 µg/kg: 2-Acetylpyridin, Acetylpyrazin, 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin, 2-Ethyl-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin, Ethyl-2-methylbutanoat, 2-Methoxyphenol, 2-Methylbuttersäure, 4-Methylphenol und Sotolon.

Tabelle 33: Konzentrationen der Aromastoffe im nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl (NGS)

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
Hexanal	[² H _{2,4}]-Hexanal	511	457-558	4
Octanal	[² H _{2,4}]-Octanal	383	360-401	5
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	278	270-285	4
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	53,8	51,3-56,3	2
(E,E)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]- (E,E)-2,4-Nonadienal	52,9	50,8-59,1	5
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	52,2	50,4-53,5	3
3-Methylbutanal	[² H ₂]-3-Methylbutanal	32,8	28,8-36,5	3
(E)-2-Nonenal	[² H ₂]- (E)-2-Nonenal	30,9	28,1-32,8	3
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	25,1	23,8-25,8	3
2-Phenylethanol	[² H ₅]-2-Phenylethanol	24,3	21,1-28,7	4
(E,Z)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]- (E,Z)-2,6-Nonadienal	20,9	18,2-23,2	4
Dimethylsulfid	[² H ₆]-Dimethylsulfid	18,5	16,5-20,0	4
2-Aminoacetophenon	[² H ₃]-2-Aminoacetophenon	17,1	16,3-18,2	3
2-Methylbutanal	[² H ₂]-2-Methylbutanal	16,9	13,7-21,3	3
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	[² H ₂]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	9,75	8,80-10,7	2
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on	[¹³ C ₂]-4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	8,96	8,61-9,63	5
(E,E)-2,4-Decadienal	[² H _{2,4}]- (E,E)-2,4-Decadienal	4,49	4,17-4,90	3
Myrcen	[² H ₆]-Myrcen	5,49	5,10-5,74	4
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	3,90	3,58-4,54	4

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	3,29	3,05-3,61	5
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	1,54	1,47-1,61	2
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	1,10	1,06-1,15	3
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	0,54	0,46-0,65	3
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	0,46	0,38-0,53	7
2-Acetylpyridin	[² H ₂₋₄]-2-Acetylpyridin	0,40	0,32-0,47	2
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin ^d	0,28	0,24-0,31	2
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,18	0,16-0,19	5
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	0,18	0,16-0,19	3
Ethyl-2-methylbutanoat	[² H ₃]-Ethyl-2-methylbutanoat	0,14	0,13-0,15	2
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,07	0,06-0,07	2
Acetylpyrazin	[² H ₃]-Acetylpyrazin	0,04	0,03-0,04	2
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	0,03	0,02-0,03	2

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cAnzahl der Bestimmungen.

^dZur Quantifizierung von 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin wurde [²H₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin als stabilisotopenmarkierter Standard verwendet.

Die Aromarelevanz einer Verbindung ist nicht ausschließlich von ihrer Konzentration abhängig, sondern zusätzlich von ihrer Geruchsschwelle in der entsprechenden Matrix. Der Aromawert (AW) ist definiert als Quotient aus der Konzentration eines Geruchsstoffs und dessen Geruchsschwelle. Folglich tragen Verbindungen mit einem Aromawert ≥ 1 zum Gesamtroma des nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöls bei.

In Tabelle 34 sind neben den ermittelten Konzentrationen, die Geruchsschwellen in Öl sowie die Aromawerte aufgelistet. Den höchsten Aromawert von 330 wies die Verbindung 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin auf, gefolgt von Dimethyltrisulfid (37), Buttersäure (7), Dimethylsulfid (7), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (5), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (3), Octanal (3), Hexanal (2), 3-Methylbutanal (2), (E,E)-2,4-Nonadienal (2) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on (2). Die Konzentrationen der verbleibenden quantifizierten Aromstoffe lagen unterhalb ihrer jeweiligen Geruchsschwellen.

Tabelle 34: Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert von Schlüsselaromastoffen im nativen, sensorisch einwandfreien Rapsöl (NGS)

Verbindung	Konzentration [µg/kg]^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg]^b	AW^c
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	3,29	0,01	330
Dimethyltrisulfid	1,10	0,03	37
Buttersäure	53,8	7,9	7
Dimethylsulfid	18,5	2,6	7
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,18	0,04	5
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	1,54	0,46	3
Octanal	383	135	3
Hexanal	511	300	2
3-Methylbutanal	32,8	15	2
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	52,9	30	2
Sotolon	0,46	0,23	2
2-Acetylpyridin	0,40	500	< 1
Acetylpyrazin	0,03	16	< 1
2-Aminoacetophenon	17,4	21	< 1
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	4,49	70	< 1
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	9,75	12	< 1
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,07	1,7	< 1
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,28	76	< 1
Ethyl-2-methylbutanoat	0,14	0,4	< 1
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(<i>2H</i>)- on	8,96	27	< 1
2-Methoxyphenol	0,18	1,8	< 1
2-Methylbutanal	16,9	34	< 1
2-Methylbuttersäure	0,02	110	< 1
3-Methylbuttersäure	27,9	320	< 1
4-Methylphenol	0,71	2,3	< 1
Myrcen	5,49	1800	< 1
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	20,9	65	< 1
γ-Nonalacton	278	1284	< 1
(<i>E</i>)-2-Nonenal	30,9	140	< 1
γ-Octalacton	52,2	282	< 1
1-Octen-3-on	3,90	61	< 1
2-Phenylethanol	24,3	490	< 1

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bOrthonasale Geruchsschwelle in Öl.

^cAromawert: Quotient aus Konzentration und orthonasaler Geruchsschwelle.

3.2.5.2. Natives Rapsöl mit stichig, würzigem „Off-Flavor“ (NOF)

Nachdem die AEVA erste Anhaltspunkte gegeben hat, welche Verbindungen für das Aroma von NOF wichtig sein sollten, wurden die Konzentrationen dieser Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse bestimmt.

Die ermittelten Konzentrationen der Aromastoffe im NOF-Rapsöl sind Tabelle 35 zusammengefasst und basieren auf Mittelwerten von Mehrfachbestimmungen unterschiedlicher Aufarbeitungen. Die höchste Konzentration wurde für Hexanal (695 µg/kg) analysiert, gefolgt von sieben Geruchsstoffen mit einer Konzentration > 100 µg/kg: 3-Methylbuttersäure (562 µg/kg), 2-Methylbuttersäure (344 µg/kg), 2-Methylbutanal (336 µg/kg), 2-Phenylethanol (210 µg/kg), 3-Methylbutanal (166 µg/kg), Octanal (147 µg/kg) und 2-Methoxyphenol (138 µg/kg). Im Bereich zwischen 10-100 µg/kg wurden Dimethyltrisulfid (88,4 µg/kg), γ-Nonalacton (80,3 µg/kg), (*E*)-2-Nonenal (74,8 µg/kg), Ethyl-2-methylbutanoat (56,9 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Nonadienal (43,1 µg/kg), Buttersäure (37,1 µg/kg), γ-Octalacton (29,3 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Decadienal (26,0 µg/kg), Myrcen (20,5 µg/kg), 2-Aminoacetophenon (18,7 µg/kg), 2-Acetylpyridin (15,3 µg/kg), 4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2*H*)-on (14,1 µg/kg), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5*H*)-on (13,4 µg/kg), *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (12,4 µg/kg), (*E,Z*)-2,6-Nonadienal (11,5 µg/kg) und 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (10,1 µg/kg) quantifiziert. Gehalte zwischen 1-10 µg/kg wurden für 2-*sec*-Butyl-3-methoxypyrazin (8,56 µg/kg), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (6,67 µg/kg), Dimethylsulfid (6,10 µg/kg), 4-Methylphenol (5,82 µg/kg), 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (2,94 µg/kg), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (2,64 µg/kg), 1-Octen-3-on (1,28 µg/kg) und Acetylpyrazin (0,84 µg/kg) bestimmt. Mit diesen Konzentrationen wurde unter Zuhilfenahme der orthonasalen Geruchsschwellen in Öl die Aromawerte für die verschiedenen Verbindungen berechnet (Tabelle 36).

Tabelle 35: Konzentrationen der Aromastoffe in nativem sensorisch stichig/modrigem Rapsöl (NOF)

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
Hexanal	[² H _{2,4}]-Hexanal	695	750-758	2
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	562	540-575	3
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	344	316-377	3
2-Methylbutanal	[² H ₂]-2-Methylbutanal	336	308-365	3

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
2-Phenylethanol	[² H ₅]-2-Phenylethanol	210	192-232	3
3-Methylbutanal	[² H ₂]-3-Methylbutanal	166	143-187	4
Octanal	[² H _{2,4}]-Octanal	147	134-160	2
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	138	131-144	3
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	88,4	83,5-97,9	4
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	80,3	75,8-84,6	3
(E)-2-Nonenal	[² H ₂]- (E)-2-Nonenal	74,8	71,1-78,5	2
Ethyl-2-methylbutanoat	[² H ₃]-Ethyl-2-methylbutanoat	59,9	56,3-63,5	2
(E,E)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]- (E,E)-2,4-Nonadienal	43,1	41,4-44,8	2
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	37,1	34,9-38,1	3
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	29,3	26,1-32,1	3
(E,E)-2,4-Decadienal	[² H _{2,4}]- (E,E)-2,4-Decadienal	26,0	24,2-27,8	4
Myrcen	[² H ₆]-Myrcen	20,5	19,7-20,3	2
2-Aminoacetophenon	[² H ₃]-2-Aminoacetophenon	18,7	18,7-18,8	2
2-Acetylpyridin	[² H _{2,4}]-2-Acetylpyridin	15,3	14,8-15,7	2
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on	[¹³ C ₂]-4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on	14,1	13,9-14,2	2
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	13,4	13,3-13,4	2
trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	[² H ₂]-trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	12,4	11,1-13,7	2
(E,Z)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]- (E,Z)-2,6-Nonadienal	11,5	11,4-11,5	2
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	10,1	9,86-10,3	2
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	8,56	8,42-8,72	2
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	6,67	6,50-7,00	3
Dimethylsulfid	[² H ₆]-Dimethylsulfid	6,11	5,74-6,67	4
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	5,82	5,23-6,75	5
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2,94	2,83-3,14	3
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	2,64	2,53-2,75	2
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	1,28	1,23-1,33	2
Acetylpyrazin	[² H ₃]-Acetylpyrazin	0,84	0,73-0,95	2

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cAnzahl der Bestimmungen.

In Tabelle 36 sind neben den Konzentrationen auch die Geruchsschwellen in Öl sowie die Aromawerte aufgelistet. Den höchsten Aromawert von 2900 wies die Verbindung Dimethyltrisulfid auf, gefolgt von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (AW 294), Ethyl-2-methylbutanoat (150), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (92), 2-Methoxyphenol (77), Sotolon (58), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (18), 3-Methylbutanal (11), 2-Methylbutanal (10), Buttersäure (5), 4-Methylphenol (3), 2-Methylbuttersäure (3), Hexanal (3), 3-Methylbuttersäure, Dimethylsulfid, 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (alle 2), Octanal und (*E,E*)-2,4-Nonadienal (beide 1) berechnet. Die Konzentrationen der verbleibenden quantifizierten Aromastoffe lagen unterhalb ihrer jeweiligen Geruchsschwellen.

Tabelle 36: Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in nativem „Off-Flavor“- Rapsöl (NOF)

Verbindung	Konzentration [µg/kg]^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg]^b	AW^c
Dimethyltrisulfid	88,4	0,03	2900
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	2,94	0,01	294
Ethyl-2-methylbutanoat	59,9	0,4	150
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	3,67	0,04	92
2-Methoxyphenol	138	1,8	77
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5 <i>H</i>)- on	3,18	0,23	58
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	8,56	0,46	18
3-Methylbutanal	166	15	11
2-Methylbutanal	336	34	10
Buttersäure	37,1	7,9	5
4-Methylphenol	8,12	2,3	3
2-Methylbuttersäure	344	110	3
Hexanal	754	300	3
3-Methylbuttersäure	562	320	2
Dimethylsulfid	6,11	2,6	2
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	2,64	1,7	2
Octanal	139	135	1
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	35,0	30	1
Acetylpyrazin	0,84	16	< 1
2-Acteylpyridin	15,3	500	< 1
2-Aminoacetophenon	18,7	21	< 1
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	26,0	70	< 1

Verbindung	Konzentration [µg/kg] ^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg] ^b	AW ^c
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	10,1	76	< 1
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on	14,1	27	< 1
Myrcen	20,5	1800	< 1
(E,Z)-2,6-Nonadienal	11,5	65	< 1
γ-Nonalacton	80,3	1280	< 1
(E)-2-Nonenal	74,8	140	< 1
γ-Octalacton	29,3	282	< 1
1-Octen-3-on	1,28	61	< 1
2-Phenylethanol	210	490	< 1
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	12,4	13	< 1

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bOrthonasale Geruchsschwelle in Öl.

^cAromawert: Quotient aus Konzentration und orthonasaler Geruchsschwelle.

3.2.5.3. Rapssaat (NOFS), aus der NOF gepresst wurde

Die ermittelten Konzentrationen der Aromastoffe in der stichig/modrigen Rapssaat NOFS sind in Tabelle 37 zusammengefasst und basieren auf Mittelwerten von Mehrfachbestimmungen unterschiedlicher Aufarbeitungen. Die höchste Konzentration wurde für 3-Methylbuttersäure (1090 µg/kg) analysiert, gefolgt von sechs Geruchsstoffen mit einer Konzentration > 100 µg/kg: 2-Methylbuttersäure (795 µg/kg), Hexanal (741 µg/kg), 2-Phenylethanol (423 µg/kg), 2-Methylbutanal (317 µg/kg), 3-Methylbutanal (140 µg/kg) und Octanal (139 µg/kg). Im Bereich zwischen 10-100 µg/kg wurden γ-Nonalacton (94,7 µg/kg), 2-Methoxyphenol (64,9 µg/kg), Dimethyltrisulfid (55,0 µg/kg), (E,Z)-2,6-Nonadienal (51,0 µg/kg), γ-Octalacton (40,8 µg/kg) Buttersäure (30,8 µg/kg), 4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-on (25,8 µg/kg), (E,E)-2,4-Nonadienal (25,3 µg/kg), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on (23,2 µg/kg), Ethyl-2-methylbutanoat (22,5 µg/kg), Myrcen (15,1 µg/kg), *trans*-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal (13,0 µg/kg), 2-Aminoacetophenon (11,6 µg/kg), und 2-Acetylpyridin (10,0 µg/kg) quantifiziert. Gehalte zwischen 1-10 µg/kg wurden für 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (8,94 µg/kg), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (7,60 µg/kg), 4-Methylphenol (6,83 µg/kg), (E)-2-Nonenal (5,85 µg/kg), 1-Octen-3-on (4,79 µg/kg), Dimethylsulfid (4,23 µg/kg), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (2,75 µg/kg), 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (1,40 µg/kg) und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (1,10 µg/kg) bestimmt. Lediglich Acetylpyrazin wies mit 0,57 µg/kg eine Konzentration < 1 µg/kg auf. Mit diesen Konzentrationen wurden unter Zuhilfenahme der orthonasalen Geruchsschwellen in Öl die Aromawerte für die verschiedenen Verbindungen berechnet (Tabelle 39).

Tabelle 37: Konzentrationen der Aromastoffe in stichig/modriger Rapssaat (NOFS)

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	1090	1050-1120	3
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	795	765-852	3
Hexanal	[² H _{2,4}]-Hexanal	741	728-765	3
2-Phenylethanol	[² H ₅]-2-Phenylethanol	423	391-445	3
2-Methylbutanal	[² H ₂]-2-Methylbutanal	317	300-334	2
3-Methylbutanal	[² H ₂]-3-Methylbutanal	140	138-142	2
Octanal	[² H _{2,4}]-Octanal	139	134-144	2
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	94,7	93,3-96,0	2
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	64,9	63,0-68,1	3
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	55,0	50,5-60,1	3
(E,Z)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]- (E,Z)-2,6-Nonadienal	51,0	50,7-51,2	2
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	40,8	35,5-43,3	4
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	30,8	29,8-31,7	2
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	[¹³ C ₂]- 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	25,8	24,0-27,8	2
(E,E)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]- (E,E)-2,4-Nonadienal	25,3	24,4-26,2	2
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	23,2	21,5-24,9	2
Ethyl-2-methylbutanoat	[² H ₃]-Ethyl-2-methylbutanoat	22,5	22,1-23,1	3
Myrcen	[² H ₆]-Myrcen	15,1	14,6-15,5	2
trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	[² H ₂]-trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	13,0	10,6-15,3	2
2-Aminoacetophenon	[² H ₃]-2-Aminoacetophenon	11,6	11,0-12,2	2
2-Acetylpyridin	[² H _{2,4}]-2-Acetylpyridin	10,0	9,70-10,3	2
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	8,94	8,74-9,20	3
(E,E)-2,4-Decadienal	[² H _{2,4}]- (E,E)-2,4-Decadienal	8,58	7,88-9,27	2
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	7,60	7,59-7,61	2
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	6,83	6,18-7,57	3
(E)-2-Nonenal	[² H ₂]- (E)-2-Nonenal	5,85	5,67-6,02	3
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	4,79	4,50-5,08	2
Dimethylsulfid	[² H ₆]-Dimethylsulfid	4,23	4,05-4,42	2
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	2,75	2,72-2,77	2
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	1,40	1,35-1,44	3

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	1,10	1,01-1,17	3
Acetylpyrazin	[² H ₃]-Acetylpyrazin	0,57	0,51-0,63	2

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cAnzahl der Bestimmungen.

In Tabelle 38 sind neben den Konzentrationen auch die Geruchsschwellen in Öl sowie die Aromawerte aufgelistet. Den höchsten Aromawert von 1900 wies die Verbindung Dimethyltrisulfid auf, gefolgt von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (AW 140), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5*H*)-on (100), Ethyl-2-methylbutanoat (57), 2-Methoxyphenol (36), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (28), 2-Methylbutanal (9), 3-Methylbutanal (9), 2-Methylbuttersäure (7), 2-*sec*-Butyl-3-methoxypyrazin (6), Buttersäure (4), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (4), Hexanal (3), 3-Methylbuttersäure (3), 4-Methylphenol (3), Dimethylsulfid (2), Octanal und (*E,E*)-2,4-Nonadienal (beide 1). Die Konzentrationen der verbleibenden quantifizierten Aromastoffe lagen unterhalb ihrer jeweiligen Geruchsschwellen.

Tabelle 38: Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in stichig/modriger Rapssaat (NOFS)

Verbindung	Konzentration [µg/kg] ^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg] ^b	AW ^c
Dimethyltrisulfid	55,0	0,03	1900
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	1,40	0,01	140
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5 <i>H</i>)-on	23,2	0,23	100
Ethyl-2-methylbutanoat	25,3	0,4	57
2-Methoxyphenol	64,9	1,8	36
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	1,10	0,04	28
2-Methylbutanal	317	34	9
3-Methylbutanal	140	15	9
2-Methylbuttersäure	795	110	7
2- <i>sec</i> -Butyl-3-methoxypyrazin	2,75	0,46	6
Buttersäure	30,8	7,9	4
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	7,60	1,7	4
Hexanal	741	300	3
3-Methylbuttersäure	1090	320	3

Verbindung	Konzentration [µg/kg] ^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg] ^b	AW ^c
4-Methylphenol	6,83	2,3	3
Dimethylsulfid	4,23	2,6	2
Octanal	139	135	1
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	25,3	30	1
Acetylpyrazin	0,57	16	< 1
2-Acteylpyridin	10,0	500	< 1
2-Aminoacetophenon	11,6	21	< 1
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	8,58	70	< 1
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	12,9	13	< 1
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	8,94	76	< 1
4-Hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2 <i>H</i>)- on	25,8	27	< 1
Myrcen	15,1	1800	< 1
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	51,0	65	< 1
γ-Nonalacton	94,7	1280	< 1
(<i>E</i>)-2-Nonenal	5,85	140	< 1
γ-Octalacton	40,8	282	< 1
1-Octen-3-on	4,79	61	< 1
2-Phenylethanol	423	490	< 1

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bOrthonasale Geruchsschwelle in Öl.

^cAromawert: Quotient aus Konzentration und orthonasaler Geruchsschwelle.

3.2.5.4. Gedämpftes sensorisch einwandfreies Rapsöl (GGS)

Es wurden 32 aromaaktive Verbindungen mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse quantifiziert. Die ermittelten Konzentrationen der Aromastoffe in sensorisch einwandfreiem gedämpftem Rapsöl (GGS) sind in Tabelle 39 zusammengefasst und basieren auf Mittelwerten von Mehrfachbestimmungen unterschiedlicher Aufarbeitungen. Die höchste Konzentration wurde für (*E,E*)-2,4-Decadienal (511 µg/kg) analysiert, gefolgt von zwei Geruchsstoffen mit einer Konzentration > 100 µg/kg: Hexanal (403 µg/kg) und Essigsäure (327 µg/kg). Im Bereich zwischen 10-100 µg/kg wurden γ-Nonalacton (94,8 µg/kg), (*E*)-2-Decenal (46,2 µg/kg), *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (34,5 µg/kg), Buttersäure (24,5 µg/kg), (*E,Z*)-2,6-Nonadienal (14,9 µg/kg) bestimmt. Gehalte zwischen 1-10 µg/kg wurden für 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (8,56 µg/kg), 2-Phenylethanol (7,15 µg/kg), γ-Octalacton (7,05 µg/kg), 3-Methylbuttersäure (6,09 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Heptadienal (6,03 µg/kg), (*E*)-2-

Nonenal (5,11 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Nonadienal, 2-Methylbuttersäure (2,46 µg/kg), Phenyllessigsäure (1,95 µg/kg), 1-Hexen-3-on (1,68 µg/kg), (*Z*)-4-Heptenal (1,41 µg/kg), 1-Octen-3-on (1,25 µg/kg), 4-Methylphenol (1,24 µg/kg) und Dimethyltrisulfid (0,21 µg/kg) quantifiziert. Für acht Verbindungen wurden Konzentrationen < 1 µg/kg bestimmt: 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (0,69 µg/kg), 1-Penten-3-on (0,59 µg/kg), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (0,50 µg/kg), 2-Methoxyphenol (0,50 µg/kg), 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (0,15 µg/kg), (*Z*)-1,5-Octadien-3-on (0,08 µg/kg), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (0,04 µg/kg), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (0,03 µg/kg) und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2-(5*H*)-on (0,01 µg/kg). Mit diesen Konzentrationen wurde unter Zuhilfenahme der orthonasalen Geruchsschwellen in Öl die Aromawerte für die verschiedenen Verbindungen bestimmt.

GGs wurde analog zu GOFf mittels Ionenaustauschchromatographie sowie HS-SPME-HRGC-MS durch externe Kalibrierung auf Trimethylamin untersucht, lag jedoch unterhalb der Detektionsgrenze.

Tabelle 39: Konzentrationen der Aromastoffe in gedämpften „Golden Standard“-Rapsöl (GGs)

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	[² H ₃₋₅]-(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	511	497-525	2
Hexanal	[² H ₂₋₄]-Hexanal	403	376-430	2
Essigsäure	[² H ₃]-Essigsäure	327	317-336	2
γ-Nonalacton	[² H ₂]-γ-Nonalacton	94,8	90,7-98,8	2
(<i>E</i>)-2-Decenal	[² H ₂]-(<i>E</i>)-2-Decenal	46,2	45,7-47,7	2
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	[² H ₂]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	34,5	31,8-37,2	2
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	24,5	22,5-26,6	3
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	14,9	13,0-16,8	2
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	[² H ₃]-4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	8,56	8,55-8,57	2
2-Phenylethanol	[² H ₅]-Phenylethanol	7,15	7,09-7,21	2
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	7,05	6,82-7,27	2
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	6,09	5,31-6,65	3
(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	6,03	5,96-6,07	2
(<i>E</i>)-2-Nonenal	[² H ₂]-(<i>E</i>)-2-Nonenal	5,11	5,10-5,11	2
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	2,80	2,50-3,00	3
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	2,46	1,28-1,30	2

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
Phenylelessigsäure	[¹³ C ₂]-Phenylelessigsäure	1,95	1,74-2,15	2
1-Hexen-3-on	[² H ₂]-1-Hexen-3-on	1,68	1,66-1,70	2
(Z)-4-Heptenal	[² H ₂]- (Z)-4-Heptenal	1,41	1,36-1,46	2
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	1,25	1,21-1,29	3
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	1,24	1,07-1,40	2
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	1,05	0,85-1,15	2
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,69	0,64-0,74	3
1-Penten-3-on	[² H ₂]-1-Penten-3-on	0,59	0,53-0,62	2
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	0,50	0,45-0,55	2
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	0,50	0,48-0,52	2
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin ^d	0,15	0,14-0,19	3
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,04	0,04	2
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,03	0,03-0,04	3
(Z)-1,5-Octadien-3-on	[² H ₂]- (Z)-1,5-Octadien-3-on	0,07	0,07-0,08	3
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on	0,01	0,01-0,01	2

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cAnzahl der Bestimmungen.

^dZur Quantifizierung von 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin wurde [²H₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin als stabilisotopenmarkierter Standard verwendet.

In Tabelle 40 sind neben den Konzentrationen auch die Geruchsschwellen in Öl sowie die Aromawerte aufgelistet. Den höchsten Aromawert von 69 wies die Verbindung 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin auf, gefolgt von (*E,E*)-2,4-Decadienal und Dimethyltrisulfid (beide AW 7), Buttersäure und *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (beide 3), (*E*)-2-Decenal, 1-Hexen-3-on und (Z)-1,5-Octadien-3-on (alle 2). Den niedrigsten AW von 1 wiesen die 3 Aromastoffe 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin, Hexanal und 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin auf. Die Konzentrationen der verbleibenden quantifizierten Aromastoffe lagen unterhalb ihrer jeweiligen Geruchsschwellen.

Tabelle 40: Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in gedämpften „Golden Standard“-Rapsöl (GGS)

Verbindung	Konzentration [µg/kg]^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg]^b	AW^c
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,69	0,01	69
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	511	70	7
Dimethyltrisulfid	0,21	0,03	7
Buttersäure	24,5	7,9	3
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	34,5	13	3
(<i>E</i>)-2-Decenal	46,3	22	2
1-Hexen-3-on	1,68	0,78	2
(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-on	0,08	0,04	2
2- <i>sec</i> -Butyl-3-methoxypyrazin	0,48	0,46	1
Hexanal	403	403	1
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,04	0,04	1
Essigsäure	327	350	< 1
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,03	1,7	< 1
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,15	76	< 1
(<i>Z</i>)-4-Heptenal	1,41	4,4	< 1
(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	6,03	710	< 1
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(<i>5H</i>)-on	0,01	0,23	< 1
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	8,56	150	< 1
2-Methoxyphenol	0,50	1,8	< 1
2-Methylbuttersäure	2,46	110	< 1
3-Methylbuttersäure	6,09	320	< 1
4-Methylphenol	1,24	2,3	< 1
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	2,75	30	< 1
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	14,9	65	< 1
γ-Nonalacton	94,8	1280	< 1
(<i>E</i>)-2-Nonenal	5,11	140	< 1
γ-Octalacton	7,05	282	< 1
1-Octen-3-on	1,25	61	< 1
2-Phenylethanol	7,15	490	< 1
1-Penten-3-on	0,59	1,6	< 1
Phenyllessigsäure	1,95	26	< 1

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bOrthonasale Geruchsschwelle in Öl.

^cAromawert: Quotient aus Konzentration und orthonasaler Geruchsschwelle.

3.2.5.5. Gedämpftes Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (GOFF)

Es wurden 32 aromaaktive Verbindungen mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse quantifiziert. Die ermittelten Konzentrationen der Aromastoffe in dem gedämpften Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (GOFF) sind in Tabelle 41 zusammengefasst und basieren auf Mittelwerten von Mehrfachbestimmungen unterschiedlicher Aufarbeitungen. Die höchste Konzentration wurde für Essigsäure (1160 µg/kg), gefolgt von Buttersäure (690 µg/kg) und Hexanal (168 µg/kg) analysiert. Im Bereich zwischen 10-100 µg/kg wurden γ -Nonalacton (96,3 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Decadienal (48,7 µg/kg), 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (29,6 µg/kg), 2-Phenylethanol (27,2 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Heptadienal (25,5 µg/kg), 3-Methylbuttersäure (19,7 µg/kg), (*E,Z*)-2,6-Nonadienal (18,1 µg/kg), *trans*-4,5-Epoxy-(*E*)-2-decenal (16,7 µg/kg), (*E*)-2-Decenal (14,3 µg/kg) und Phenylelessigsäure (13,9 µg/kg) gefunden. Gehalte zwischen 1-10 µg/kg wurden für γ -Octalacton (8,27 µg/kg), 2-Methylbuttersäure (7,77 µg/kg), (*E,E*)-2,4-Nonadienal, (*E*)-2-Nonenal (2,73 µg/kg), 1-Penten-3-on (1,48 µg/kg), (*Z*)-4-Heptenal (1,43 µg/kg), 4-Methylphenol (1,22 µg/kg) und 1-Hexen-3-on (1,19 µg/kg) ermittelt. Für neun Verbindungen wurden Konzentrationen < 1 µg/kg bestimmt: 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (0,69 µg/kg), 1-Octen-3-on (0,63 µg/kg), 2-Methoxyphenol (0,60 µg/kg), Dimethyltrisulfid (0,48 µg/kg), 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (0,20 µg/kg), 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (0,16 µg/kg), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (0,09 µg/kg), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5*H*)-on (0,05 µg/kg), (*Z*)-1,5-Octadien-3-on (0,04 µg/kg) und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (0,03 µg/kg). Mit diesen Konzentrationen wurde unter Zuhilfenahme der orthonasalen Geruchsschwellen in Öl die Aromawerte für die verschiedenen Verbindungen bestimmt.

Tabelle 41: Konzentrationen der Aromastoffe in gedämpftem, fischigem Rapsöl (GOFF)

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
Essigsäure	[² H ₃]-Essigsäure	1660	1550-1740	3
Buttersäure	[² H ₂]-Buttersäure	690	814-839	2
Hexanal	[² H ₂₋₄]-Hexanal	168	165-168	2
γ -Nonalacton	[² H ₂]- γ -Nonalacton	96,3	92,4-96,3	2
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	[² H ₃₋₅]-(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	46,7	47,8-49,5	2
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	[² H ₃]-4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	29,6	28,4-20,7	2
2-Phenylethanol	[² H ₅]-Phenylethanol	27,2	26,6-28,2	3

Verbindung	Interner Standard	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungsbereich ^b	n ^c
(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	25,5	24,7-26,1	3
3-Methylbuttersäure	[² H ₂]-3-Methylbuttersäure	19,7	19,0-20,5	2
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	18,1	16,6-19,6	2
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	[² H ₂]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	16,7	15,4-17,9	2
(<i>E</i>)-2-Decenal	[² H ₂]-(<i>E</i>)-2-Decenal	14,3	13,8-14,8	2
Phenyllessigsäure	[¹³ C ₂]-Phenyllessigsäure	13,9	12,9-14,9	2
γ-Octalacton	[² H ₂]-γ-Octalacton	8,29	7,98-8,61	2
2-Methylbuttersäure	[² H ₉]-2-Methylbuttersäure	7,77	7,57-7,93	2
(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	[² H ₂]-(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	5,52	5,46-5,58	2
(<i>E</i>)-2-Nonenal	[² H ₂]-(<i>E</i>)-2-Nonenal	2,73	2,72-2,74	2
1-Penten-3-on	[² H ₂]-1-Penten-3-on	1,48	1,45-1,50	3
(<i>Z</i>)-4-Heptenal	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-4-Heptenal	1,43	1,39-1,45	2
4-Methylphenol	[² H ₇]-4-Methylphenol	1,22	1,27-1,38	2
1-Hexen-3-on	[² H ₂]-1-Hexen-3-on	1,19	1,07-1,30	2
2- <i>sec</i> -Butyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2- <i>sec</i> -Butyl-3-methoxypyrazin	0,69	0,67-0,73	2
1-Octen-3-on	[² H _{2,4}]-1-Octen-3-on	0,63	0,63-0,74	2
2-Methoxyphenol	[² H ₃]-2-Methoxyphenol	0,60	0,52-0,67	2
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]-Dimethyltrisulfid	0,48	0,43-0,54	2
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,20	0,19-0,21	2
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin ^d	0,16	0,15-0,17	2
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	[² H ₃]-2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,09	0,08-1,00	2
(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-on	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-on	0,09	0,08-0,09	2
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(<i>5H</i>)-on	[¹³ C ₂]-3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(<i>5H</i>)-on	0,05	0,04-0,05	2
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₅]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,03	0,02-0,03	2

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cAnzahl der Bestimmungen.

^dZur Quantifizierung von 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin wurde [²H₃]-2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin als stabilisotopenmarkierter Standard verwendet.

Durch Ionenaustauschchromatographie wurde Trimethylamin in einem gedämpften Rapsöl mit fischigem Geruch nachgewiesen und mittels externer Kalibrierung quantifiziert. Zusätzlich

wurde eine HS-SPME-HRGC-MS basierte Methode entwickelt, um das hochflüchtige Trimethylamin zu quantifizieren. Dafür wurde Triethylamin als interner Standard verwendet. Die Mittelwerte beider Methoden stimmten sehr gut überein und lagen deutlich über der Geruchsschwelle von Trimethylamin (AW = 6) in Öl, wodurch das Amin zum Gesamtaroma von GOFF beiträgt.

Tabelle 42: Konzentration von Trimethylamin bestimmt durch IEX und HS-SPME-HRGC-MS

	Konzentration [µg/kg] ^a	Schwankungs- bereich [µg/kg] ^b	Wdf. ^c	n ^d	Geruchs- schwelle [µg/kg] ^e	AW
IEX	29,7	27,4-32,1	11,6 %	2	5	6
SPME	34,1	32,9-35,1	-	4	5	7
Mittelwert _{ges} (IEX+SPME)/2	31,9				5	6

^aMittelwerte von Doppelbestimmungen.

^bNiedrigster und höchster Wert aus n Bestimmungen.

^cDoppelbestimmung einer Wiederfindungsrate von Trimethylamin aus Ölmatrix bei identischer Aufarbeitung.

^dAnzahl der Bestimmungen.

^eGeruchsschwelle Trimethylamin in Sonnenblumenöl.

In Tabelle 43 sind neben den Konzentrationen auch die Geruchsschwellen in Öl sowie die Aromawerte aufgelistet. Den höchsten Aromawert von 88 wies Buttersäure auf, gefolgt von 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin (AW 20), Dimethyltrisulfid (16), Trimethylamin (6), Essigsäure (5), 1-Hexen-3-on (2), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (2), (Z)-1,5-Octadien-3-on (2) sowie 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin und *trans*-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal (beide 1) auf. Die Konzentrationen der verbleibenden quantifizierten Aromastoffe lagen unterhalb ihrer jeweiligen Geruchsschwellen.

Tabelle 43: Konzentration, Geruchsschwelle in Öl und Aromawert in gedämpftem, fischigem Rapsöl (GOFF)

Verbindung	Konzentration [µg/kg] ^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg] ^b	AW ^c
Buttersäure	690	7,9	88
2-Isopropyl-3-methoxypyrazin	0,20	0,01	20
Dimethyltrisulfid	0,48	0,03	16
Trimethylamin	31,9	5	6
Essigsäure	1660	350	5
1-Hexen-3-on	1,19	0,78	2
2-Isobutyl-3-methoxypyrazin	0,09	0,04	2
(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,09	0,04	2
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin	0,69	0,46	1

Verbindung	Konzentration [µg/kg] ^a	Geruchsschwelle in Öl [µg/kg] ^b	AW ^c
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	16,7	13	1
(E,E)-2,4-Decadienal	48,7	70	< 1
(E)-2-Decenal	14,3	22	< 1
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	0,02	1,7	< 1
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin	0,20	76	< 1
Hexanal	168	403	< 1
(Z)-4-Heptenal	1,43	4,4	< 1
(E,E)-2,4-Heptadienal	25,5	710	< 1
3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)- on	0,05	0,23	< 1
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	29,6	150	< 1
2-Methoxyphenol	0,60	1,8	< 1
2-Methylbuttersäure	7,77	110	< 1
3-Methylbuttersäure	19,7	320	< 1
4-Methylphenol	1,22	2,3	< 1
(E,E)-2,4-Nonadienal	5,52	30	< 1
(E,Z)-2,6-Nonadienal	18,1	65	< 1
γ-Nonalacton	96,3	1280	< 1
(E)-2-Nonenal	2,73	140	< 1
γ-Octalacton	8,29	282	< 1
1-Octen-3-on	0,63	61	< 1
1-Penten-3-on	1,48	1,6	< 1
Phenyllessigsäure	13,9	26	< 1
2-Phenylethanol	27,2	490	< 1

^aMittelwert der Konzentrationen aus n Bestimmungen.

^bOrthonasale Geruchsschwelle in Öl.

^cAromawert: Quotient aus Konzentration und orthonasaler Geruchsschwelle.

3.2.6. Aromasimulation und Erstellung eines vergleichenden Aromaprofils

3.2.6.1. Aromasimulation NGS

Zur Verifizierung sowohl der Identifizierung als auch der quantitativen Daten wurde das Aroma von nativem, sensorisch einwandfreiem Rapsöl in einem sogenannten Rekombinat simuliert. Dazu wurden alle Aromastoffe, die einen Aromawert ≥ 1 aufwiesen, in ihrem ermittelten Gehalt einer nativen, desodorierten Rapsölmatrix zudosiert. Sowohl das Rekombinat als auch das native Rapsöl wurden einer sensorischen Aromaprofilanalyse

unterzogen, bei der die Intensitäten verschiedener Geruchsattribute in beiden Proben bewertet wurden. Wie die vergleichende Aromaprofilanalyse (Abbildung 31) zeigt, stimmten die einzelnen Geruchsqualitäten des Rekombinates mit dem des Rapsöls sehr gut überein. Es wurden jeweils die Attribute Kohl und nussig/fettig am dominantesten bewertet, gefolgt von erdig, malzig, würzig und schweißig.

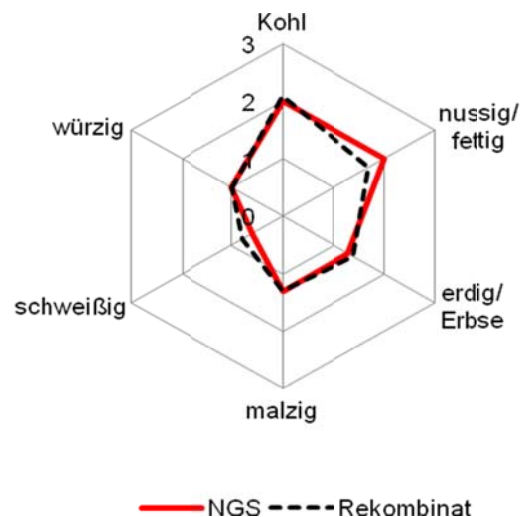


Abbildung 31: Orthonasale Aromaprofilanalyse von NGS (rot) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)

3.2.6.2. Aromasimulation NOF

Wie die vergleichende Aromaprofilanalyse (Abbildung 32) zeigt, sind die sensorisch bestimmten Intensitäten der Geruchsqualitäten des Rekombinates mit dem des Rapsöls nahezu identisch. Wie im Rapsöl wurden die Attribute würzig und malzig am dominantesten bewertet, gefolgt von nussig/fettig, erdig/Erbse und schweißig. Leichte Abweichungen konnten bei der Geruchsqualität Kohl festgestellt werden, die im Rekombinat weniger ausgeprägt war, als im Rapsöl (NGS). Somit wurde der Geruch des Rekombinates durch die Panelteilnehmer eindeutig als Rapsöl mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ bewertet.

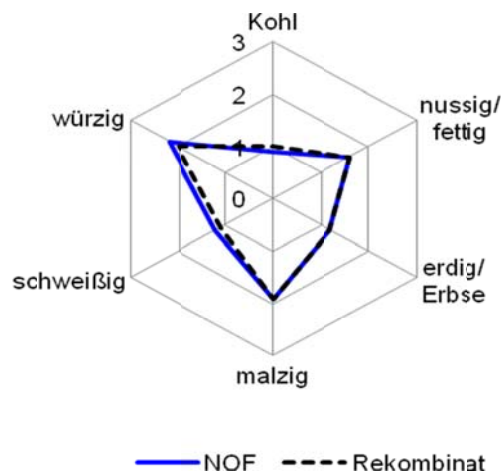


Abbildung 32: Orthonasale Aromaprofilanalyse von NOF (blau) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)

3.2.6.3. Omissionsexperiment

In NOF zeigten 18 Verbindungen einen $AW \geq 1$ und lagen damit über ihrer spezifischen Geruchsschwelle in Öl. Sie tragen somit zum Gesamtaroma bei. Bei der Aromawertberechnung werden Matrixeffekte, die einen hohen Einfluss auf die Aromafreisetzung haben (Bothe et al., 2003, Rothe et al., 1972), berücksichtigt. Jedoch bedeutet ein hoher Aromawert nicht immer, dass dieser Aromastoff den größten Einfluss auf das Gesamtaroma hat, da auch synergistische, additive oder suppressive Effekte auftreten (Blank et al., 1992, Guadagni et al., 1963, Laing et al., 1984). Um zu überprüfen, welche der 18 Verbindungen mit $AW \geq 1$ tatsächlich zur Ausbildung des charakteristischen stichig/modrigen „Off-Flavors“ beitragen, wurden sogenannte Omissionsexperimente durchgeführt, bei denen systematisch einzelne oder Kombinationen mehrerer Aromastoffe im Rekombinat weggelassen. Das jeweilige Rekombinat, bei dem einzelne oder mehrere Aromastoffe fehlen, wurde in einer Dreiecksprüfung auf Unterschiedlichkeit mit dem vollständigen Rekombinat verglichen.

In einer Dreiecksprüfung mit ca. 20 Teilnehmern, bei dem ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ festgelegt wurde, konnte unter Anwendung des „forced choice“ Prinzips kein Unterschied zwischen dem vollständigen Rekombinat und einem Rekombinat ohne Pyrazine, 2-/3-Methylbutanal und Ethyl-2-methylbutanoat festgestellt werden. Demnach ist die Kombination aus Dimethyltrisulfid, 2-Methoxyphenol, 4-Methylphenol, 2-/3-Methylbuttersäure und 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on für die Ausbildung des charakteristischen stichig/modrigen „Off-Flavors“ verantwortlich.

3.2.6.4. Aromasimulation NOFS

Wie die vergleichende Aromaprofilanalyse (Abbildung 33) zeigt, sind die sensorisch bestimmten Intensitäten der Geruchsqualitäten des Rekombinats mit dem der stichig/modrigen Rapssaat nahezu identisch. Wie in der Rapssaat wurden die Attribute würzig und malzig am dominantesten bewertet gefolgt von nussig/fettig, erdig/Erbse und schweißig. Leichte Abweichungen konnten bei der Geruchsqualität nussig/fettig festgestellt werden, die im Rekombinat weniger ausgeprägt war, als in der Rapssaat (NOFS). Somit wurde der Geruch des Rekombinats durch die Panelteilnehmer eindeutig als Rapssaat mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ bewertet.

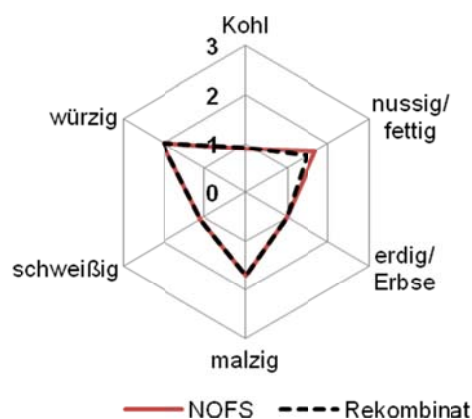


Abbildung 33: Orthonasale Aromaprofilanalyse von NOFS (braun) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)

3.2.6.5. Spiking Experiment

Zur weiteren sensorischen Validierung der analytisch gewonnenen Daten wurde ein Spiking Experiment durchgeführt. Dazu wurden 12 Verbindungen (2-Methylbuttersäure (angestiegen um den Faktor 11500), 2-Methoxyphenol (778), Ethyl-2-methylbutanoat (428), Dimethyltrisulfid (82), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (38), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (20) 3-Methylbuttersäure (19), 2-Methylbutanal (20), 4-Methylphenol (11), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on (29), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (6), und 2-Methylbutanal (5)), die in NOF um das mindestens 5-fache angestiegen waren und einen AW ≥ 1 aufwiesen, in den entsprechenden Konzentrationen zu NGS zudosiert. Vier Verbindungen (Buttersäure, Dimethylsulfid, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin und Octanal), die lediglich leicht erhöht vorlagen in NGS und einen AW ≥ 1 hatten, wurden zu NOF zudosiert. Wenn alle aromarelevanten Verbindungen richtig und vollständig identifiziert und quantifiziert wurden, muss für beide gespikten Proben ein identischer Geruchseindruck entstehen. Beide Proben wurden sensorisch in einem Aromaprofil anhand von sechs Attributen als annähernd identisch bewertet (Abbildung 34).

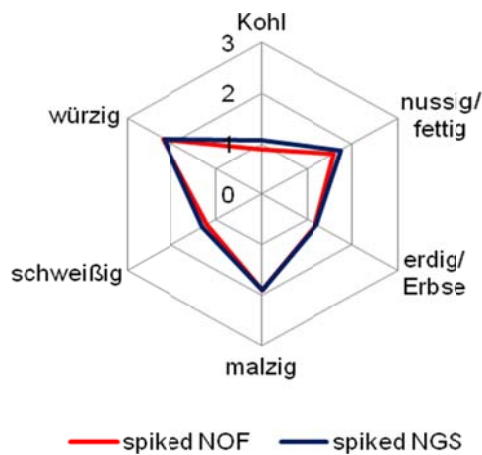


Abbildung 34: Spiking Experiment zur sensorischen Validierung der analytischen Daten

3.2.6.6. Aromasimulation GGS

Die vergleichende Aromaprofilanalyse (Abbildung 35) zeigt, dass die sensorisch bestimmten Intensitäten der Geruchsqualitäten des Rekombinats mit denen des gedämpften Rapsöls eine hohe Übereinstimmung zeigen. Wie in GGS wurde das Attribut fettig am dominantesten bewertet, gefolgt von erdig/Erbse und kohlig. Aufgrund der nahezu identischen Aromaprofile wurde sensorisch bestätigt, dass die Schlüsselaromastoffe von GGS erfolgreich charakterisiert wurden.

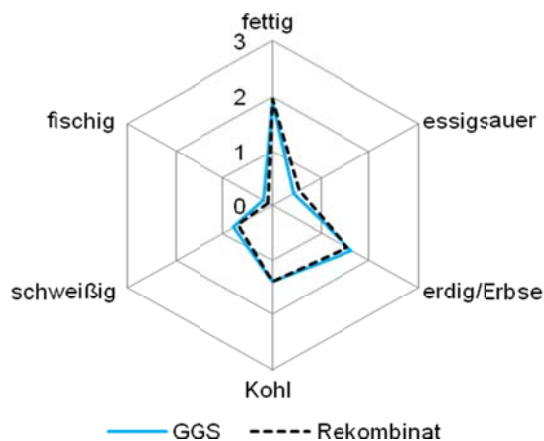


Abbildung 35: Orthonasale Aromaprofilanalyse von gedämpftem sensorisch einwandfreiem Rapsöl (hellblau) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)

3.2.6.7. Aromasimulation GOFF

Die vergleichende Aromaprofilanalyse (Abbildung 36) zeigt, dass die sensorisch bestimmten Intensitäten der Geruchsqualitäten des Rekombinats mit denen des gedämpften Rapsöls mit fischigem „Off-Flavor“ nahezu identisch sind. Wie in GOFF wurde das fischige Attribut am

dominantesten bewertet, gefolgt von schweißig und fettig. Es sind nur geringe Abweichungen zwischen Rekombinat und Originalöl GOFF vom Sensorikpanel festgestellt worden, wodurch die analytischen Daten sensorisch validiert wurden.

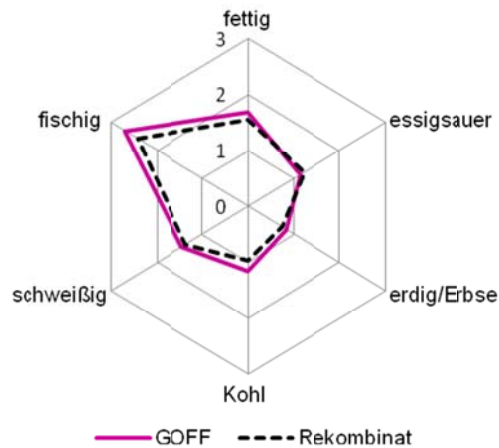


Abbildung 36: Orthonasale Aromaprofilanalyse von gedämpftem Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ (violett) und Rekombinat (schwarz gestrichelt)

3.2.7. Vergleich der nativen Rapsöle NGS, NOF und NOFS

3.2.7.1. Vergleich von sensorisch einwandfreiem, nativem Rapsöl (NGS) und nativem Rapsöl mit stichig/würzigem „Off-Flavor“ (NOF)

Die Charakterisierung der Schlüsselaromastoffe in NGS und NOF zeigte hauptsächlich Unterschiede für 16 Verbindungen, die in NOF mindestens um den Faktor fünf erhöht waren. Die höchsten Verhältnisse zwischen NOF und NGS wurden für 2-Methylbuttersäure (11500), 2-Methoxyphenol (778), Ethyl-2-methylbutanoat (428), Dimethyltrisulfid (82), 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (38), 2-Acetylpyridin (36), 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin (36), 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5*H*)-on (29), Acetylpyrazin (21), 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin (20), 2-Methylbutanal (20), 3-Methylbuttersäure (19), 4-Methylphenol (11), 2-Phenylethanol (9), 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin (6), (*E,E*)-2,4-Decadienal (6) und 3-Methylbutanal (5) ermittelt. 16 Verbindungen waren daher mindestens fünffach erhöht in NOF.

Betrachtet man zusätzlich die spezifischen Geruchsschwellen in Öl, so liegen 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazin, 2-Acetylpyridin, Acetylpyrazin und 2-Phenylethanol unterhalb ihrer Schwellen in beiden Ölen und ergeben daher einen AW < 1 und tragen nicht zum charakteristischen Gesamtaroma von NGS und NOF bei. Von den 12 aromaaktiven Analyten, zeigten 7 einen AW ≥ 1 in NOF, aber < 1 in NGS (Ethyl-2-methylbutanoat, 2-Methoxyphenol, 2-Methylbutanal, 2-Methylbuttersäure, 4-Methylphenol, 2-Ethyl-3,5-

dimethylpyrazin und 3-Methylbuttersäure). Die restlichen fünf Verbindungen hatten in beiden Rapsölen $AWs \geq 1$, aber waren in NOF deutlich erhöht: Dimethyltrisulfid, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazin, 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on, 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazin und 3-Methylbutanal. Dimethyltrisulfid zeigte einen deutlichen Anstieg in NOF, die Intensität der Geruchsqualität in der Aromaprofilanalyse von NOF wurde jedoch niedriger bewertet als in NGS. Dies ist dadurch zu erklären, dass lediglich 11 Verbindungen zum Gesamtaroma von NGS beitragen. Den größten Beitrag leisten dabei mit Abstand 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin ($AW = 330$) und Dimethyltrisulfid (37). Dementsprechend ist der Beitrag von Dimethyltrisulfid zum Gesamtaroma von NGS höher, als bei NOF, bei dem 18 Verbindungen zum Gesamtaroma beitragen und allesamt höhere AWs zeigten. Im Gegensatz dazu waren nur vier Verbindungen (Dimethylsulfid, 2-Isopropyl-3-methoxypyrazin und Octanal) in NGS leicht erhöht.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die Bildung des stichig/modrigem „Off-Flavors“ maßgebend durch einen Anstieg von Aromastoffen verursacht wird, die hauptsächlich auf mikrobiellem Weg gebildet werden.

3.2.7.2. Vergleich von nativem Rapsöl mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ (NOF) und der zugehörigen Rapssaat (NOFS)

Beim Vergleich der Aromawerte von NOF und NOFS ist auffällig, dass dieselben 18 Verbindungen einen $AW \geq 1$ aufwiesen und damit auch ähnliche Aromaprofile resultieren. Während die Verbindungen Buttersäure, Dimethylsulfid, 4-Methylphenol, (*E,E*)-2,4-Nonadienal, Octanal und die Streckeraldehyde 2- und 3-Methylbutanal in gleichen Konzentrationen vorlagen, war die Gruppe der Pyrazine leicht erniedrigt im Vergleich zum NOF. Lediglich 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin zeigte zusammen mit 3-Hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-on sowie 2- und 3-Methylbuttersäure einen leicht erhöhten Gehalt in NOFS.

3.2.7.3. Statistische Auswertung weiterer sensorisch einwandfreier nativer Rapsöle NGS/NGS A-E und stichig/modriger nativer Rapsöle NOF/NOF A-H sowie NOFS/NOFS H

Clustering der Daten in einer Heatmap

Es wurde zur Visualisierung der Daten eine Clusterheatmap erstellt, deren zweidimensionale Definitionsmenge als Farben dargestellt und die Zeilen und Spalten der Matrix so permutiert, dass sie nach ihrer Ähnlichkeit paarweise geclustert werden. Die hierarchischen

Zusammenhänge zwischen den Variablen (Proben und Analyten) werden am Grafikrand als Dendrogramm dargestellt. Die Farbskala stellt die Konzentrationen der Analyten in µg/kg dar, wobei niedrige Konzentrationen weiß bis hellgelb dargestellt sind und sich höhere Konzentrationen im Bereich orange und rot befinden.

Es ist ersichtlich, dass auf der linken Seite alle nativen Rapsöle mit den erwünschten sensorischen Eigenschaften (NGS, NGS A-E) geclustert wurden, während auf der rechten Seite alle nativen Rapsöle (NOF, NOF A-H) mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ sowie die Saaten NOFS und NOFS H, aus denen NOF und NOF H gepresst wurden, geclustert wurden. Zusätzlich weist die Rapssaat NOFS, aus der das Rapsöl NOF gepresst wurde, einen sehr ähnlichen Farbcode auf, genauso wie NOFS H und NOF H. Zusammenfassend wurde die Unterschiedlichkeit in den ausgewählten Verbindungen der Rapsöle mit den erwünschten sensorischen Eigenschaften und derer mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ bestätigt und darüber hinaus ein deutlicher Anstieg einiger Verbindungen in allen „Off-Flavor“ Ölen nachgewiesen.

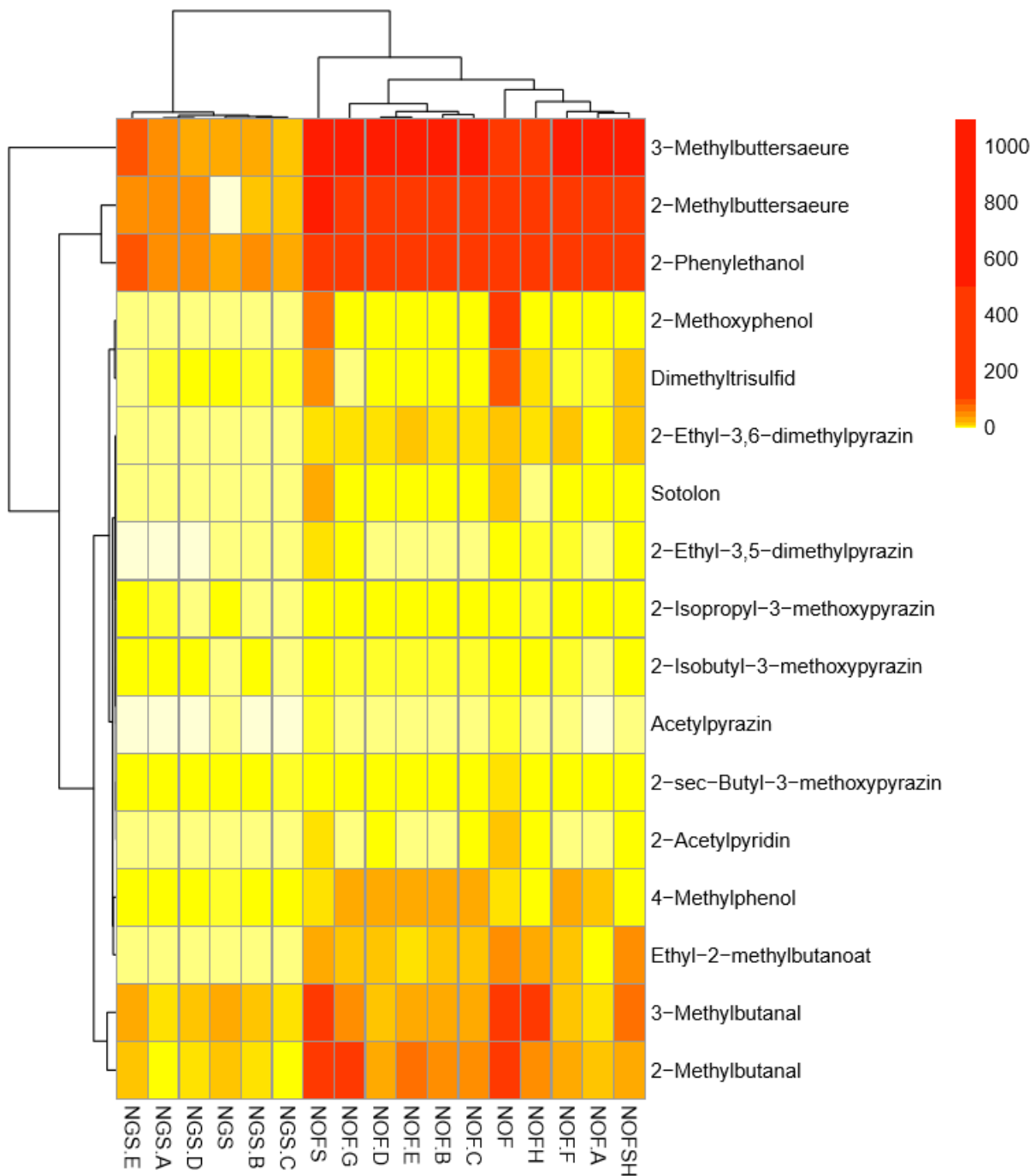


Abbildung 37: Clustering der der quantitativen Daten von NGS, NGS A-E, NOF, NOFS/NOFS H und NOFA-H in einer Heatmap

Statistische Auswertung mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Die Hauptkomponentenanalyse (Englisch: principal component analysis; PCA) ist ein Verfahren der multivariaten Statistik zur Veranschaulichung und Reduktion von großen Datensätzen. Diese mehrdimensionalen Daten werden durch Transformation des Koordinatensystems gemäß ihrer Varianzen und Bedeutung sortiert. Durch eine Reduktion können sich wichtige Varianzen und letztlich Unterschiede zwischen Datensätzen wie für verschiedene native Rapsöle extrahiert und klassifiziert werden. Mit den 17 untersuchten

Verbindungen, von denen 16 in NOF angestiegen waren, wurde eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Im Score Plot (Abbildung 38) ist eine deutliche Trennung aller stichig/modrigen „Off-Flavor“ Rapsöle NOF/NOFA-H von den sensorisch einwandfreien Rapsölen NGS/NGSA-E ersichtlich. Während die sensorisch einwandfreien Öle sehr konzentriert auftreten und damit eine sehr hohe Ähnlichkeit aufweisen, ist bei den stichig/modrigen Rapsölen eine gewisse Streuung zu beobachten, die mit Hilfe des Biplots zu erklären ist.

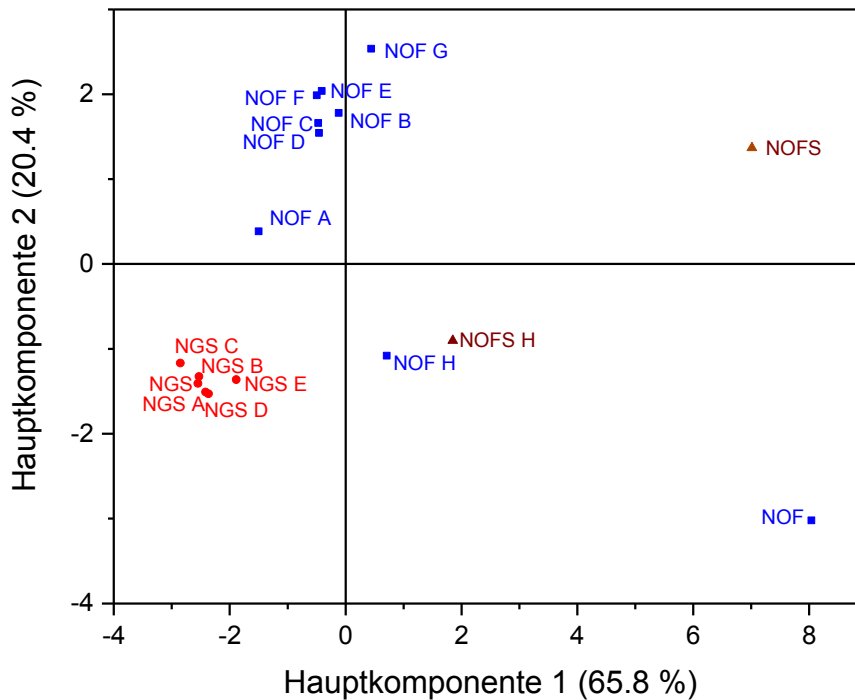


Abbildung 38: Scores Plot der Hauptkomponentenanalyse

Im Biplot (Abbildung 39) ist ersichtlich, dass 86,2 % der Gesamtvarianz durch die Hauptkomponenten 1 und 2 beschrieben werden. Den Hauptanteil an Varianz wird durch die Hauptkomponente 1 mit 65,8 % wiedergegeben. Die Hauptkomponente 1 enthält im positiven Bereich die Verbindungen, die in allen „Off-Flavor“ Rapsölen (NOF und NOF A-H) angestiegen waren und damit bedeutet der negative Bereich der Hauptkomponente 1, dass die dort lokalisierten Öle (NGS und NGS A-E), wenig von diesen Verbindungen charakterisiert werden. Verbindungen wenig charakterisierten. Dementsprechend sind in diesem Bereich hauptsächlich die sensorisch einwandfreien Rapsöle und zeigen untereinander wenig Streuung. Das „Off-Flavor“-Rapsöl NOF, an dem das Konzept der Molekularen Sensorik beispielhaft durchgeführt wurde, zeigt demnach die höchsten Konzentrationen dieser Verbindungen, da es im höchsten positiven Bereich der

Hauptkomponente 1 liegt genauso wie die Saat NOFS, aus der NOF gepresst wurde. Bezogen auf die Hauptkomponente 1 sind diese Proben sehr ähnlich, da sie nur gering verschoben sind. Durch die Hauptkomponente 2 werden 20,4 % der Varianz beschrieben. Die Rapsöle, die im oberen positiven Bereich liegen, werden hauptsächlich durch die Komponenten 4-Methylphenol, 3-Methylbuttersäure, 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2-Phenylethanol und 2-Methylbuttersäure beschrieben. Dementsprechend sind diese Verbindungen in den Rapsölen NOF B-G höher konzentriert als beispielsweise in den NGS-Rapsölen oder in NOF. In NOF ist dafür v.a. 2-Isobutyl-3-methoxy-pyrazin stark erhöht sowie 2-Methoxyphenol und daher im negativen Bereich der Hauptkomponente.

Auch wenn die „Off-Flavor“ Proben (NOF und NOF A-H) eine größere Streuung aufweisen, die auf geringfügige Unterschiede in den Konzentrationen zurückzuführen sind, da die Proben zwar alle einen generellen stichig/modrigen „Off-Flavor“ haben aber in leicht verschiedenen Ausprägungen, können diese alle von den sensorisch einwandfreien Proben (NGS und NGS A-E) anhand der ausgewählten 17 Verbindungen mittels PCA getrennt und unterschieden werden.

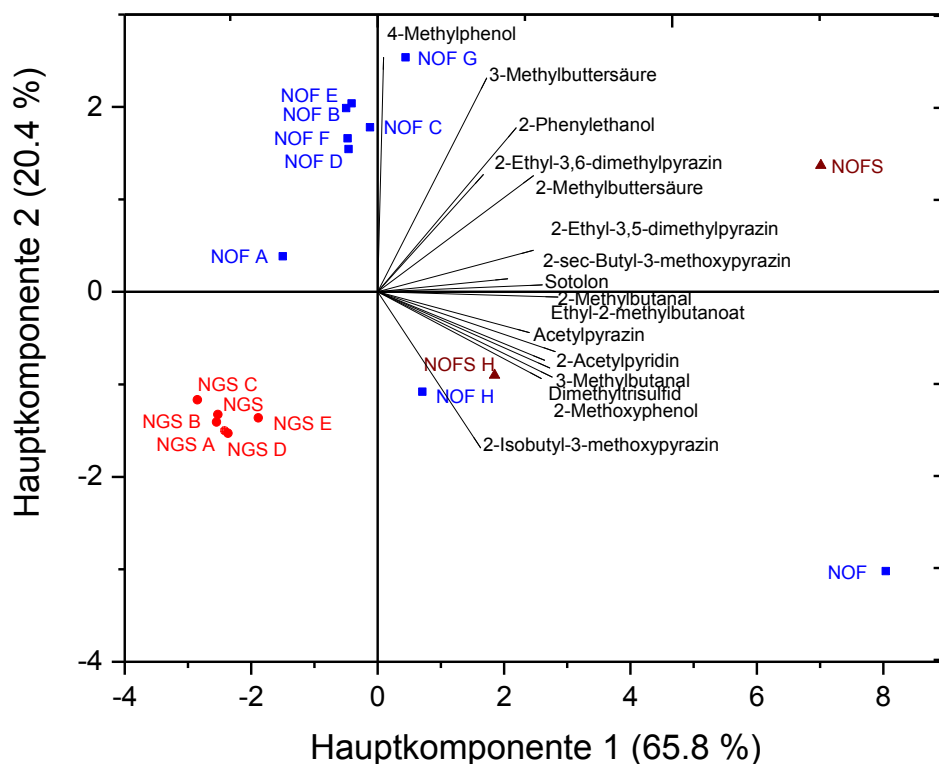


Abbildung 39: Biplot der Hauptkomponentenanalyse

3.2.8. Vergleich der gedämpften Rapsöle GGS und GOFF

3.2.8.1. Quantitative Daten

Es wurden 32 Verbindungen sowohl in GGS als auch in GOFF untersucht. Der Vergleich der quantitativen Daten zeigte nur wenige Verbindungen, die sich in beiden Ölen um mindestens den Faktor fünf unterschieden. Lediglich (*E,E*)-2,4-Decadienal war in GGS zehnfach erhöht und in GOFF stiegen die Verbindungen Buttersäure (Faktor 28), Dimethyltrisulfid (5), und Essigsäure (5) an.

Das Aroma beider Öle wurde simuliert und die Aromastoffe, die über ihren spezifischen Geruchsschwellen lagen, wurden in ihren natürlich vorkommenden Konzentrationen zu einer geruchlosen Ölmatrix zudosiert. In GOFF konnte mit den quantifizierten Verbindungen kein fischiger Geruch hervorgerufen werden. In Anbetracht dessen, dass sich das sensorisch einwandfreie Rapsöl (GGS) in der vAEVA und in quantitativen Daten nur geringfügig von dem fischigen (GOFF) unterscheidet, scheinen andere Komponenten für den fischigen Geruch verantwortlich zu sein, als die, die bei der vAEVA mit hohem FD-Faktor bestimmt wurden.

3.2.8.2. Fischiger „Off-Flavor“

Eine weitere Verbindung, die den fischigen Geruch in GOFF verursachen kann, ist das Trimethylamin. Es ist bereits bekannt, dass Rapssaat als Futter bei einer bestimmten Hühnerrasse mit Gendefekt zu fischig riechenden Eiern führt (Goh et al., 1979). Das fischig riechende Trimethylamin wird im Organismus normalerweise durch Monooxygenasen in der Leber zum geruchslosen Trimethyl-N-oxid umgesetzt und kommt vermutlich aus dem in Rapssaat enthaltenen Sinapin, das einen Cholinrest trägt.

Durch Ionenaustauschchromatographie wurde Trimethylamin in einem gedämpften Rapsöl mit fischigem Geruch nachgewiesen und quantifiziert. Zusätzlich wurde eine HS-SPME-HRGC-MS basierte Methode entwickelt, um das hochflüchtige Trimethylamin zu quantifizieren. Die Mittelwerte beider Methoden stimmen sehr gut überein und lagen deutlich über der Geruchsschwelle von Trimethylamin in Öl und somit trägt Trimethylamin zum Gesamtaroma von GOFF bei.

Durch ein Omissionsexperiment, bei dem alle aromaaktiven Verbindungen mit einem Aromawert ≥ 1 zu einer geruchlosen Ölmatrix zudosiert wurden und lediglich Trimethylamin weggelassen wurde, konnte nachgewiesen werden, dass es sich um die Ursache für den

fischigen Fehlgeruch handelt. Im Aromaprofil wurde vom Panel keinerlei Fischigkeit mehr festgestellt, verglichen mit der Originalprobe, die eine Fischigkeit von 2.7 aufwies.

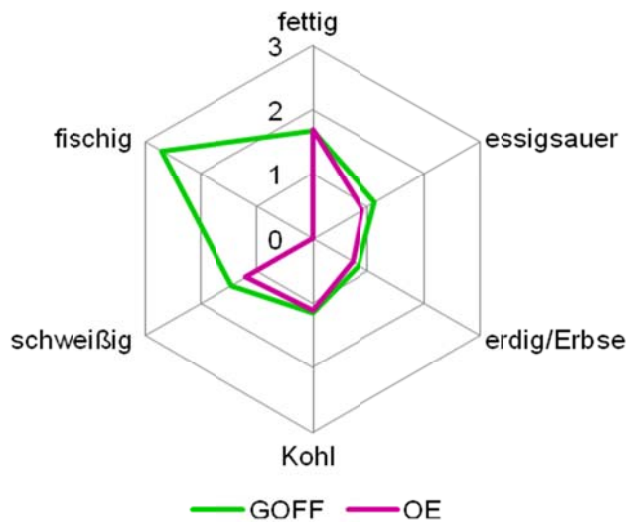


Abbildung 40: Omissionsexperiment zur Überprüfung von Trimethylamin als Ursache für den fischigen „Off-Flavor“

3.3. Zusammenfassung

Im Zuge des AP 5.1 (MS 3) wurde eine schonende Isolierungsmethode der flüchtigen Verbindungen aus Rapsöl etabliert. Durch Headspace-Verdünnungsanalyse (vHVA) sowie vergleichender Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) konnten 56 Aromastoffe im sensorisch einwandfreien, nativen Rapsöl (NGS) und 45 Aromastoffe im „Off-Flavor“-Rapsöl (NOF) mit einem Flavor Dilution-Faktor (FD-Faktor) von mindestens 8 ermittelt werden (AP 5.2, MS 3), von denen der Hauptteil mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren im EI- und CI-Modus identifiziert werden konnte (AP 5.3, MS 3). Die Quantifizierung der Aromastoffe mit den höchsten FD-Faktoren im sensorisch einwandfreien (NGS) und „Off-Flavor“-Rapsöl (NOF) durch Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) wurde abgeschlossen (AP 5.4, MS 3) und infolgedessen ein Rekombinat erstellt (AP 5.5, MS 3), das mit dem Originalöl eine sehr gute sensorische Übereinstimmung zeigte (AP 5.5, MS 3). Zusätzlich wurden die Schlüsselaromastoffe in der Rapssaat NOFS, aus der NOF gepresst wurde, vollständig identifiziert und quantifiziert sowie die analytischen Daten mittels Aromasimulation erfolgreich bestätigt (AP 5.6, MS 3). Der Vergleich von NGS und NOF zeigte, dass hauptsächlich ein Anstieg von Aromastoffen, die durch mikrobiellen Abbau entstehen, für die Ausbildung des stichig/modrigen Fehlgeruchs verantwortlich ist. Zusätzlich wurde durch Untersuchung der Rapssaat NOFS gezeigt, dass diese bereits den

charakteristischen „Off-Flavor“ enthält und damit der Pressvorgang als mögliche Ursache ausgeschlossen werden kann und vielmehr die Lagerbedingungen (Temperatur und Feuchte) und dadurch bedingte Abbaureaktionen durch Mikroorganismen für die Ausbildung des stichig/modrigen Geruchs verantwortlich sind. Die Untersuchung weiterer nativer Rapsöle mit sensorisch guten Eigenschaften sowie weiterer nativer Rapsöle mit stichig/modrigem „Off-Flavor“ ergab 2- und 3-Methylbuttersäure, 4-Methylphenol und 2-Phenylethanol als generelle Marker für den stichig/modrigen Fehlgeruch. Alle Verbindungen zeigten einen deutlichen Anstieg in den „Off-Flavor“ Rapsölen verglichen mit den sensorisch einwandfreien Rapsölen.

Im Rahmen des AP 3.1 (MS 2) wurden bei der vergleichenden Aromaextraktverdünnungsanalyse (vAEVA) 46 Aromastoffe im sensorisch einwandfreiem, gedämpften Rapsöl (GGS) und im gedämpften Rapsöl mit fischigem „Off-Flavor“ mittels Geruchsqualität, Retentionsindices und Massenspektren im EI- und CI-Modus identifiziert (AP 3.2, MS 2). Zusätzlich wurden 32 Verbindungen mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse quantifiziert. Es wurden nur geringfügige Unterschiede zwischen GGS und GOFF festgestellt und kein Hinweis auf den fischigen „Off-Flavor“ gefunden. Die Probe wurde mittels Kationenaustauschchromatographie auf Trimethylamin untersucht. Trimethylamin wurde in GOFF im Gegensatz zu GGS identifiziert sowie quantifiziert und liegt sechsfach über der Geruchsschwelle in Öl. Damit ist Trimethylamin die Ursache für den fischigen „Off-Flavor“ im gedämpften Rapsöl GOFF, was zusätzlich in einem Omissionsexperiment eindeutig bestätigt wurde. Zusätzlich konnte eine HS-SPME-HRGC-MS basierte Methode zur Identifizierung von Trimethylamin entwickelt werden.

4. Literaturverzeichnis

- ALVAREZ, R. Q., PASSARO, C. C., LARA, O. G. & LONDONO, J. L. 2011. Relationship between chromatographic profiling by HS- SPME and sensory quality of mandarin juices: effect of squeeze technology. *Procedia Food Science*, 1, 1396-1403.
- BAÑERAS, L., TRIAS, R., GODAYOL, A., CERDÁN, L., NAWRATH, T., SCHULZ, S. & ANTICÓ, E. 2013. Mass spectrometry identification of alkyl-substituted pyrazines produced by *Pseudomonas* spp. isolates obtained from wine corks. *Food Chemistry*, 138, 2382-2389.
- BÄRLOCHER 2008. *Biostatistik*, Thieme Verlag.
- BELITZ, H. D., GROSCH, W. & SCHIEBERLE, P. 2009. *Food Chemistry*, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.
- BLANK, I., SEN, A. & GROSCH, W. 1992. Sensory study on the character-impact flavour compounds of dill herb (*Anethum graveolens* L.) *Food Chemistry*, 43, 337-343.
- BONTE, A., BRÜHL, L., VOSMANN, K. & MATTHÄUS, B. 2016. A chemometric approach for the differentiation of sensory good and bad (musty/fusty) virgin rapeseed oils on basis of selected volatile compounds analyzed by dynamic headspace GC-MS. *European Journal of Lipid Science and Technology*,
- BÖRJESSON, T., STÖLLMAN, U. & SCHNÜRER, J. 1993. Off-odorous compounds produced by molds on oatmeal agar: identification and relation to other growth characteristics *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 8.
- BOTHE, F., DETTMER, K. & ENGEWALD, W. 2003. Determination of perfume oil in household products by headspace solid-phase microextraction and fast capillary gas chromatography. *Chromatographia*, 57, S199-S206.
- BRAZAUSKIENE, I., PETRAITIENE, E. & MANKEVICIENE, A. 2006. Effects of genotype and environmental factors on rape seed contamination with mycotoxins and mycotoxin-producing fungi. *Ekologija*, 3, 7.
- BROADBENT, T. A. & BROADBENT, H. S. 1998. 1 - 1. The chemistry and pharmacology of indole-3-carbinol (indole-3-methanol) and 3-(methoxymethyl)indole. [Part I]. *Current Medicinal Chemistry*, 5.
- CERNAVA, T., ASCHENBRENNER, I. A., GRUBE, M., LIEBMINGER, S. & BERG, G. 2015. A novel assay for the detection of bioactive volatiles evaluated by screening of lichen-associated bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 6.
- CROES, S., WEYENS, N., JANSSEN, J., VERCAMPT, H., COLPAERT, J. V., CARLEER, R. & VANGRONVELD, J. 2013. Bacterial communities associated with *Brassica napus* L. grown on trace element-contaminated and non-contaminated fields: a genotypic and phenotypic comparison. *Microbial Biotechnology*, 6, 371-384.
- CZERNY, M., CHRISTLBAUER, M., CHRISTLBAUER, M., FISCHER, A., GRANVOGL, M., HAMMER, M., HARTL, C., HERNANDEZ, N. M. & SCHIEBERLE, P. 2008. Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology*, 228 (2), 265-273.
- DAXENBICHLER, M. E., SPENCER, G. F., G., C. D., ROSE, G. B., BRINKLER, A. M. & POWELL, R. G. 1991. Glucosinolate composition of seeds from 297 species of wild plants. *Phytochemistry*, 30.
- DICKSCHAT, J. S., REICHENBACH, H., WAGNER-DÖBLER, I. & SCHULZ, S. 2005. Novel Pyrazines from the Myxobacterium *Chondromyces crocatus* and Marine Bacteria. *European Journal of Organic Chemistry*, 19, 4141-4153.
- ENGEL, W., BAHR, W. & SCHIEBERLE, P. 1999. Solvent assisted flavour evaporation – a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209, 237-241.
- FAHEY, J. W., ZALCMANN, A. T. & TALALAY, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 5-51.

- FISCHER, G., SCHWALBE, R., MÖLLER, M., OSTROWSKI, R. & DOTT, W. 1999. Species-specific production of microbial volatile organic compounds (MVOC) by airborne fungi from a compost facility. *Chemosphere*, 39, 795-810.
- FLAVORS AND FRAGRANCES Katalog. 2011. Sigma-Aldrich
- FRAVEL, D. R., CONNICK, W. J., GRIMM, C. C. & LLOYD, S. W. 2002. Volatile Compounds Emitted by Sclerotia of *Sclerotinia minor*, *Sclerotinia sclerotiorum*, and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3761-3764.
- FREDRIKSSON, M. J., PETERSSON, P., AXELSSON, B.-O. & BYLUND, D. 2009. An automatic peak finding method for LC-MS data using Gaussian second derivative filtering. *Journal of Separation Science*, 32, 3906-3918.
- GARBEVA, P., HORDIJK, C., GERARDS, S. & DE BOER, W. 2014. Volatiles produced by the mycophagous soil bacterium *Collimonas*. *FEMS Microbiology Ecology*, 87, 639-649.
- GIRI, A., OSAKO, K. & OHSHIMA, T. 2011. Effects of hypobaric and temperature-dependent storage on headspace aroma-active volatiles in common squid miso. *Food Research International*, 44 (3), 739-747.
- GOH, Y. K., CLANDININ, D. R., ROBBLEE, A. R. & DARLINGTON, K. 1979. THE EFFECT OF LEVEL OF SINAPINE IN A LAYING RATION ON THE INCIDENCE OF FISHY ODOR IN EGGS FROM BROWN-SHELLED EGG LAYERS. *Canadian Journal of Animal Science*, 59, 313-316.
- GRACKA, A., JELEŃ, H. H., MAJCHER, M., SIGER, A. & KACZMAREK, A. 2016. Flavoromics approach in monitoring changes in volatile compounds of virgin rapeseed oil caused by seed roasting. *Journal of Chromatography A*, 1428, 292-304.
- GRANÉR, G., PERSSON, P., MEIJER, J. & ALSTRÖM, S. 2003. A study on microbial diversity in different cultivars of *Brassica napus* in relation to its wilt pathogen, *Verticillium longisporum*. *FEMS Microbiology Letters*, 224, 269-276.
- GUADAGNI, D. G., BUTTERY, R. G., OKANO, S. & BURR, H. K. 1963. Additive Effect of Sub-Threshold Concentrations of Some Organic Compounds Associated with Food Aromas. *Nature*, 200, 1288-1289.
- HICKMAN, K. 1944. High-vacuum short-path distillation-a review. *Chemical Reviews*, 34.
- JELEŃ, H. H., MAJCHER, M., ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R., WIEWIÓROWSKA, M. & WAŚOWICZ, E. 2003. Determination of Geosmin, 2-Methylisoborneol, and a Musty-Earthy Odor in Wheat Grain by SPME-GC-MS, Profiling Volatiles, and Sensory Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7079-7085.
- KAISER, O., PÜHLER, A. & SELBITSCHKA, W. 2001. Phylogenetic Analysis of Microbial Diversity in the Rhizosphere of Oilseed Rape (*Brassica napus* cv. Westar) Employing Cultivation-Dependent and Cultivation-Independent Approaches. *Microbial Ecology*, 42, 136-149.
- KARAHADIAN, C., JOSEPHSON, D. B. & LINDSAY, R. C. 1985. Volatile compounds from *Penicillium* sp. contributing musty-earthy notes to Brie and Camembert cheese flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, 339-343.
- KESSLER, N., NEUWEGER, H., BONTE, A., LANGENKAMPER, G., NIEHAUS, K., NATTKEMPER, T. W. & GOESMANN, A. 2013. MeltDB 2.0-advances of the metabolomics software system. *Bioinformatics*, 29, 2452-9.
- KNIGHT, S., KLAERE, S., FEDRIZZI, B. & GODDARD, M. R. 2015. Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: evidence for a microbial aspect to terroir. *Scientific Reports*, 5, 14233.
- KOPKA, J., SCHAUER, N., KRUEGER, S., BIRKEMEYER, C., USADEL, B., BERGMÜLLER, E., DÖRMANN, P., WECKWERTH, W., GIBON, Y., STITT, M., WILLMITZER, L., FERNIE, A. R. & STEINHAUSER, D. 2005. GMD@CSB.DB: the Golm Metabolome Database. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 21, 1635-1638.
- LAING, D. G., PANHUBER, H., WILLCOX, M. E. & PITTMAN, E. A. 1984. Quality and intensity of binary odor mixtures. *Physiology & Behavior*, 33, 309-319.
- LEE, B., FARAG, M. A., PARK, H. B., KLOEPPER, J. W., LEE, S. H. & RYU, C. M. 2012. Induced resistance by a long-chain bacterial volatile: elicitation of plant systemic

- defense by a C13 volatile produced by *Paenibacillus polymyxa*. *PLoS One*, 7, e48744.
- MATHEIS, K. & GRANVOGL, M. 2016. Characterization of Key Odorants Causing a Fusty/Musty Off-Flavor in Native Cold-Pressed Rapeseed Oil by Means of the Sensomics Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 8168-8178.
- MILLS, O. E., CHUNG, S. Y. & JOHNSEN, P. B. 1993. Dehydration products of 2-methylisoborneol are not responsible for off-flavor in the channel catfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (10), 1690-1692.
- MORALES, M. T., LUNA, G. & APARICIO, R. 2005. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, 91, 293-301.
- NEUWEGER, H., ALBAUM, S. P., DONDRUP, M., PERSICKE, M., WATT, T., NIEHAUS, K., STOYE, J. & GOESMANN, A. 2008. Metdb: A Software Platform for the Analysis and Integration of Metabolomics Experiment Data. *Bioinformatics*, 24, 2726-32.
- POLLNER, G. & SCHIEBERLE, P. 2016. Characterization of the Key Odorants in Commercial Cold-Pressed Oils from Unpeeled and Peeled Rapeseeds by the Sensomics Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 627-636.
- ROTHER, M., WÖLM, G., TUNGER, L. & SIEBERT, H. J. 1972. Schwellenkonzentrationen von Aromastoffen und ihre Nutzung zur Auswertung von Aromaanalysen. *Food / Nahrung*, 16, 483-495.
- SABOT, C., KUMAR, K. A., ANTHEAUME, C. & MIOSKOWSKI, C. 2007. Triazabicyclodecene: An Effective Isotope Exchange Catalyst in CDC13. *The Journal of Organic Chemistry*, 72 (13), 5001-5004.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S. & SENKSPIEL, K. 2006. *Aspergillus in Innenräumen, ein Farbatlas der häufigsten Arten*, Utrecht, Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- SAMSON, R. A., HOUBRAKENS, J., THRANE, U., FISVAD, J. C. & ANDERSEN, B. 2010. Food and indoor fungi. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- SCHIEBERLE, P. & GROSCH, W. 1987. Evaluation of the flavour of wheat and rye bread crusts by aroma extract dilution analysis. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 185, 111-113.
- SCHIEBERLE, P. & GROSCH, W. 1988. Identification of potent flavor compounds formed in an aqueous lemon oil/citric acid emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 797-800.
- SCHULZ, S. & DICKSCHAT, J. S. 2007. Bacterial volatiles: the smell of small organisms. *Nat Prod Rep*, 24, 814-42.
- SMITH, C. A., WANT, E. J., O'MAILLE, G., ABAGYAN, R. & SIUZDAK, G. 2006. XCMS: Processing Mass Spectrometry Data for Metabolite Profiling Using Nonlinear Peak Alignment, Matching, and Identification. *Analytical Chemistry*, 78, 779-787.
- SPLIVALLO, R., DEVEAU, A., VALDEZ, N., KIRCHHOFF, N., FREY-KLETT, P. & KARLOVSKY, P. 2015. Bacteria associated with truffle-fruited bodies contribute to truffle aroma. *Environmental Microbiology*, 17, 2647-2660.
- SZOPINSKA, D., TYLKOWSKA, K. & STACH, A. 2007. Relationships between seed development stage, germination, occurrence and location of fungi in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.) seeds and the presence of *Alternaria* and *Cladosporium* spp. spores in the air. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Series Agronomy*, 10.
- TAIT, E., PERRY, J. D., STANFORTH, S. P. & DEAN, J. R. 2013. Identification of Volatile Organic Compounds Produced by Bacteria Using HS-SPME-GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 52, 363-373.
- TAŃSKA, M., KONOPKA, I., KORZENIEWSKA, E. & ROTKIEWICZ, D. 2011. Colour of rapeseed (*Brassica napus*) surface and contamination by fungi during storage of dry and wet seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 2265-2273.
- TOPITSCH, A. 2009. Verfahren und Vorrichtung zur Abtrennung von Verunreinigungen aus Fett und/oder Öl. DE 102008007843 A1.

- VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, P. D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatographie*, 11.
- VERGINER, M., LEITNER, E. & BERG, G. 2010. Production of Volatile Metabolites by Grape-Associated Microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8344-8350.
- WAGNER, C. 2016. *Beitrag von Mikroorganismen zur Bildung aroma-aktiver Verbindungen bei der Lagerung von Rapssaat*. Master, Westfälische Wilhelm-Universität Münster.
- WEI, F., YANG, M., ZHOU, Q., ZHENG, C., PENG, J.-H., LIU, C.-S., HUANG, F.-H. & CHEN, H. 2012. Varietal and processing effects on the volatile profile of rapeseed oils. *LWT - Food Science and Technology*, 48, 323-329.
- WOLF, A., FRITZE, A., HAGEMANN, M. & BERG, G. 2002. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 1937-1944.
- XIAO, Z. & XU, P. 2007. Acetoin Metabolism in Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 33, 127-140.
- ZHOU, Q., YANG, M., HUANG, F., ZHENG, C. & DENG, Q. 2013. Effect of pretreatment with dehulling and microwaving on the flavor characteristics of cold-pressed rapeseed oil by GC-MS-PCA and electronic nose discrimination. *Journal of Food Science*, 78, C961-70.
- ZHU, J., CHEN, F., WANG, L., NIU, Y. YU, D., SHU, Ch., CHEN, H., WANG, H. & XIAO, Z.: Comparison of Aroma-Active Volatiles in Oolong Tea Infusions Using GC–Olfactometry, GC–FPD, and GC–MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (34), 7499-7510.

5. Förderhinweise

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft

* Vom FEI veranlasste Maßnahmen

**Von Forschungsstelle(n) auszufüllen bzw. zu veranlassen sowie während des Vorhabens jährlich zu aktualisieren

Stand: 02.06.2017

Transfermaßnahmen des FEI	geplant	durchgeführt
<ul style="list-style-type: none"> Einstellung von Projektinformationen auf der FEI-Website* und in die öffentlich zugängliche FEI-Internet-Projektdatenbank* 	ab Laufzeitbeginn mit jährlichen Aktualisierungen* 3. Quartal 2016*	3. Quartal 2014* 3. Quartal 2015*
<ul style="list-style-type: none"> Jährliche Veröffentlichung (jeweils im 1. Quartal) von Projektinformationen im FEI-Forschungsreport* und im FEI-Jahresbericht* 	ab Laufzeitbeginn* 1. Quartal 2016* 1. Quartal 2017*	1. Quartal 2015*
<ul style="list-style-type: none"> Jährliche Veröffentlichung (jeweils im 1. Quartal) von FEI-Projekturzberichten* und FEI-Projektdokumentationen* 	ab Laufzeitbeginn* 1. Quartal 2016* 1. Quartal 2017*	1. Quartal 2015*
<ul style="list-style-type: none"> Vorstellung der Ergebnisse im Rahmen der FEI-Jahrestagungen* 	nach Vorhabenende* ab 2016*	
<ul style="list-style-type: none"> Einbeziehung bzw. Beteiligung folgenden Branchenfachverbands bzw. FEI-Mitgliedsverbands als Informationsmultiplikator gegenüber der potenziellen Nutzergruppe (u.a. mit Projektberichterstattung in Gremien- und Arbeitskreissitzungen des Verbands): - Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen (UFOP) - Verband der ölsaatenverarbeitenden Industrie Deutschlands (OVID) - Bundesverband der Dezentralen Ölmühlen (BDOel) 	ab Laufzeitbeginn*	ab Projektbeginn
<ul style="list-style-type: none"> Erstellung ausführlicher (kalenderjährlicher) Projekt(zwischen)-berichte und jährliche Weitergabe dieser Berichte* (jeweils im 1. Quartal) über den <u>o.g.</u> Branchenfachverband an alle interessierten Unternehmen* 	ab Laufzeitbeginn* 1. Quartal 2016*	1. Quartal 2015*
<ul style="list-style-type: none"> Dauerhafte Bereitstellung aller relevanten Projektinformationen, Berichte und Sitzungsprotokolle für den beteiligten Branchenverband sowie die Unternehmen des Projektbegleitenden Ausschusses über den „FEI-Service“ (FEI-Extranet)* 	ab Laufzeitbeginn* mit jährl. Aktualisierungen	3. Quartal 2014* 3. Quartal 2015*
<ul style="list-style-type: none"> Regelmäßige (mind. 1x jährliche) Sitzungen des Projektbegleitenden Ausschusses (PA) des FEI und kontinuierliche Berichterstattung gegenüber den hierin vertretenen Unternehmen und Verbänden* 		1. Sitzung: 26.2.2015 2. Sitzung: 29.10.2015 3. Sitzung: 23.5.2016 4. Sitzung: 27.10.2016

Transfermaßnahmen der Forschungsstelle(n)	geplant	durchgeführt
<ul style="list-style-type: none"> Publikation der Ergebnisse in folgenden wissenschaftlichen Fachzeitschriften bzw. Branchenzeitschriften während der Laufzeit sowie spätestens innerhalb von 6 Monaten nach Vorhabenabschluss: 		
<ul style="list-style-type: none"> - European J. Lipid Sci. Technol. - J. Amer. Oil Chem. Soc. - Inform - J. Agric. Food Chem. 	Während der Laufzeit sowie spätestens innerhalb von 6 Monaten nach Vorhabenschluss	

Transfermaßnahmen der Forschungsstelle(n)	geplant	durchgeführt
Bonte, A., Brühl, L., Vosmann, K. and Matthäus, B. (2016): A chemometric approach for the differentiation of sensory good and bad (musty/fusty) virgin rapeseed oils on basis of selected volatile compounds analyzed by dynamic headspace GC-MS		Eur. J. Lipid Sci. Technol., doi:10.1002/ejlt.201600259
Matheis, K.; Granvogl, M. (2016): Characterisation of the key aroma compounds in commercial native cold-pressed rapeseed oil by means of the sensomics approach		Eur. Food. Res. Technol. 242, 1565-1575.
Matheis, K.; Granvogl, M. (2016): Characterization of key odorants causing a fusty/musty off-flavor in native cold-pressed rapeseed oil by means of the sensomics approach		J. Agric. Food Chem. 64, 8168-8178.
Bonte, A., Ma, F., Brühl, L., Matthäus, B.: The effect of unfavorable storage conditions of Brassica napus seeds on volatile compound composition and sensory quality of virgin, cold-pressed rapeseed oils	Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2017	
Matheis, K.; Granvogl, M.: Investigation of the fishy off-flavor in steam-treated rapeseed oil using sensomics	J. Agric. Food Chem., 2017	
Matheis, K.; Granvogl, M.: Multivariate analysis on native, cold-pressed rapeseed oils eliciting a fusty/musty "off-flavor" for development of a quick method for quality control	Food Chem., 2017	
Schweiger, R.; Bonte, A., Pons, C., Wagner, C., Brühl, L., Müller, C., Matthäus, B.: Metabolic changes during storage of <i>Brassica napus</i> seeds under moist conditions and consequences for the sensory quality of the resulting virgin oil	J. Agric. Food Chem., 2017	
Wagner, C., Bonte, A., Brühl, L., Niehaus, K., Bednarz, H., Matthäus, B.: Contribution of microorganisms growing on rapeseed during storage to the profile of volatile compounds of virgin rapeseed oil	J. Sci. Food Agric., 2017	
<ul style="list-style-type: none"> • Vorstellung der Ergebnisse (durch Vorträge/Posterpräsentationen) voraussichtlich auf folgenden Veranstaltungen: 		<i>(Angabe der bibliografischen Daten)**</i>
Brühl, L., Bonte, A., Matthäus, B.: Volatile aroma compounds as markers for the sensorial quality of virgin rapeseed oil	<i>ab Laufzeitbeginn</i>	14. – 17.9.2014 12 th Euro Fed Lipid Congress, Montpellier, France.
Bonte, A.: Profiling flüchtiger Verbindungen in nativen, kaltgepressten Rapspeiseölen zur Identifizierung Off-Flavor verursachender Aromastoffe		27. – 28.11.2014 XI. Kaufmann-Tage, Heidelberg

Transfermaßnahmen der Forschungsstelle(n)	geplant	durchgeführt
<p>Bonte, A., Matthäus, B., Brühl, L.: Unterstützung der Qualitätskontrolle nativer, kaltgepresster Rapsspeiseöle mit Hilfe der Charakterisierung flüchtiger Aromastoffe</p>		<p>15.-17.2.2015 Workshop: Sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Speiseöle – Olivenöl, Rapsöl und andere Öle – Montabaur</p>
<p>Bonte, A., Brühl, L., Matthäus, B.: A Profiling Method to Detect Volatile Compounds as Markers for the Quality of Virgin, Cold-pressed Rapeseed Oils</p> <p>Granvogl, M., Matheis, K., Schieberle, P.: Characterization of Key Aroma Compounds in Native Cold-Pressed Rapeseed Oil</p>		<p>27.-30.9.2015 Euro Fed Lipid Congress, Florenz</p>
<p>Granvogl, M.; Matheis, K.: Unraveling the off-flavor formation of native cold-pressed rapeseed oil using the molecular sensory science concept</p>		<p>21.-25.08.2016 252nd American Chemical Society National Meeting, Philadelphia, PA; USA</p>
<p>Matheis, K.; Granvogl, M.: Charakterisierung von Schlüsselaromastoffen in nativem Rapsöl</p>		<p>12.-14.09.2016 45. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Freising</p>
<p>Matthäus, B.; Bonte, A.; Brühl, L.: GC-MS-based Profiling Method for the Differentiation of Sensory Good and Bad Virgin Cold-Pressed Rapeseed Oils</p> <p>Matthäus, B.; Brühl, L.; Bonte, A.; Niehaus, K.; Bednarz, H.; Wagner, C.: Contribution of different Bacteria on the Formation of Volatile Compounds during Storage of Rapeseeds</p> <p>Matheis, K.; Granvogl, M.: Characterization of Key Odorants causing a Fusty/Musty “Off-flavour” in Native Cold-pressed Rapeseed Oil by means of Sensomics Approach</p>		<p>18.-21.9.2016 Euro Fed Lipid Congress, Ghent</p>
<p>Matthäus, B.; Li, P.: Dynamic head-space GC-MS of volatile compounds as tool for the authenticity of vegetable oils</p>		<p>29. - 30.11.2016 Sino-German Workshop on Traceability and Food Metabolomics, Beijing</p>
<p>Matheis, K.; Granvogl, M.: Elucidation of the fusty/musty off-flavour in native cold-pressed rapeseed oils for the development of a quick methods for quality control</p> <p>Bonte, A.; Schweiger, R.; Pons, C.; Fei, M.; Wagner, C.; Brühl, L.; Müller, C.; Matthäus, B.: Metabolic Changes During Storage of Rapeseeds and Consequences for the Quality of the Resulting Virgin Cold-Pressed Oil</p>		<p>15. – 17.2.2017 Chemical Reactions in Food, Prague</p>

Transfermaßnahmen der Forschungsstelle(n)	geplant	durchgeführt
Granvogl, M.; Matheis, K.: Fusty/musty Off-flavor in native cold-pressed rapeseed oil: sensomics, principal component analysis, development of a quick method for quality control		30.04.-03.05.2017 AOCS Annual Meeting, Orlando, FL, USA
Fortbildungsveranstaltung für die Industrie	<i>nach Vorhabenende</i>	
Bonte, A.; Matthäus, B., Brühl, L.: Unterstützung der Qualitätskontrolle nativer, kaltgepresster Rapspeiseöle mit Hilfe der Charakterisierung flüchtiger Aromastoffe		15.-17.2.2015 DGF-Workshop „Sensorische Bewertung nativer, kaltgepresster Speiseöle“, Montabaur
Matthäus, B.; Bonte, A.; Brühl, L.: Volatile Compounds as Mean for the Quality Assessment of Vegetable Oils		10. – 12.4.2016 DGF-Symposium „Authenticity of Olive Oil and other Vegetable Oils“, Nürnberg
Bonte, A.: Analytische Möglichkeiten zur Bestimmung von Einflussfaktoren auf die sensorische Qualität nativer, kaltgepresster Rapspeiseöle		9.-10.3.2017 13. Ölmüllertage , Straubing
– Beratung interessierter Unternehmen (außerhalb des PA) durch die Forschungsstelle	<i>nach Vorhabenende</i>	
• Übernahme der Ergebnisse in die akademische Lehre bzw. berufliche Aus- und Weiterbildung, u.a. im Rahmen folgender Veranstaltungen:	<i>nach Vorhabenende</i>	
Vorlesungen des Studiengangs Lebensmittelchemie		Technische Universität München
Forschungsprojekte und Praktika für Studierende der Abteilung für Proteom- und Metabolomforschung und der Abteilung für Chemischen Ökologie		Universität Bielefeld
– Bau eines Demonstrators bzw. Funktionsmusters, der für Demonstrationszwecke nach Projektende bei der Forschungsstelle verbleibt	<i>nach Vorhabenende</i>	
• Übernahme der Ergebnisse in folgende Normen:		
• Standards (DIN, ISO, IDF)**	<i>nach Vorhabenende</i>	
–		



*Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.
Godesberger Allee 142-148 · 53175 Bonn
Telefon: +49 228 3079699-0
Telefax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de*

*Weiterführende Informationen:
www.fei-bonn.de*

