

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie
Garching bei München

Einfluss der Rohkaffeeverarbeitung auf Aromastoffveränderungen in gerösteten Kaffeebohnen sowie im Kaffeegetränk

Ingo Armin Teutsch

Vollständiger Ausdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. M. Schuster

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. P. Schieberle
2. Univ.-Prof. Dr. K.-H. Engel

Die Dissertation wurde am 25.10.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Chemie am 23.11.2004 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 2000 bis Januar 2003 unter Leitung von Herrn Professor Dr. P. Schieberle an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in Garching bei München durchgeführt.

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. P. Schieberle danke ich sehr herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, die wissenschaftliche Betreuung, die wertvollen Anregungen, Ratschläge und Diskussionen sowie für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin Herrn Dr. Michael Czerny für die zahlreichen, konstruktiven fachlichen Diskussionen und Hilfestellungen sowie die mir jederzeit gewährte Unterstützung.

Allen Mitarbeitern der Forschungsanstalt und des Instituts für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München, die mit Rat und Tat zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, danke ich für ihre Hilfsbereitschaft, die gute Zusammenarbeit und vor allem das angenehme Arbeitsklima.

Diesen Dank möchte ich auch noch einmal im Besonderen an meine Laborkollegen und -kolleginnen richten, sowie alle, die an den zahlreichen sensorischen Untersuchungen teilgenommen haben.

Bei Herrn Dr. G. Bytof und Dr. J. Wilkens bedanke ich mich für die Bereitstellung, Aufbereitung und Röstung von großen Teilen des benötigten Probenmaterials, sowie bei Herrn H. Merl für die Einführung in die Kunst der Kaffeerösterei.

Für eine wunderschöne Zeit außerhalb der Forschungsanstalt und die Entspannung, die mir das Tanzen während dieser Zeit gebracht hat, will ich Tanja einen liebevollen Dank aussprechen.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben und auf deren Unterstützung ich stets bauen konnte. Herzlichen Dank meinem Vater auch für die Durchsicht des Manuskripts.

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I	
Abbildungsverzeichnis	V	
Tabellenverzeichnis	VI	
Abkürzungsverzeichnis	VIII	
1	Einleitung	1
1.1	Kaffee	1
1.2	Die Kaffeepflanze	3
1.3	Rohkaffeetechnologie	5
1.4	Röstung	8
1.5	Herstellung des Kaffeegetränkes	10
1.6	Aromastoffe im Kaffee	11
1.6.1	Flüchtige Verbindungen und Aromastoffe im Rohkaffee	11
1.6.2	Flüchtige Verbindungen und Aromastoffe im Röstkaffee	15
1.6.3	Aromastoffe im Kaffeegetränk	22
1.6.4	Aromafehler	25
1.7	Problemstellung	27
2	Ergebnisse	29
2.1	Aromastoffe in Rohkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung	29
2.1.1	Sensorische Beurteilung	29
2.1.2	Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse	32
2.1.3	Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse	35
2.1.4	Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe	36
2.1.5	„Floaters“ und unreife Kirschen	37

2.2	Aromastoffe in Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung	41
2.2.1	Röstung	41
2.2.1.1	Röstbedingungen und Röstverlauf	41
2.2.1.2	Farbmessung zur Bestimmung des Röstgrades	43
2.2.2	Sensorische Beurteilung	45
2.2.3	Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse	49
2.2.4	Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse	51
2.2.5	Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe	54
2.2.6	Sensorische Experimente	57
2.2.7	Vergleichende Untersuchung freier Aminosäuren	58
2.3	Aromastoffe im Kaffeegetränk aus Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung	61
2.3.1	Sensorische Beurteilung	61
2.3.2	Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse	64
2.3.3	Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse	64
2.3.4	Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe	67
2.3.5	Sensorische Experimente	68
2.4	Bestimmung von Estergehalten in kommerziellen Kaffees unter Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)	69
2.4.1	Modellstudien zur Extraktion von Aromastoffen mit der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)	69
2.4.1.1	Selektivität	70
2.4.1.2	Einfluss der Extraktionsdauer	71
2.4.1.3	Einfluss der Aromastoffkonzentration	72
2.4.1.4	Einfluss von Lösungsmitteln	73
2.4.1.5	Aussalzeffekte	75
2.4.2	Quantitative Bestimmung in Kaffee	76
2.5	Diskussion	78

3	Experimenteller Teil	88
3.1	Untersuchungsmaterial	88
3.1.1	Rohkaffee	88
3.1.2	Röstkaffee	91
3.1.3	Bestimmung der Farbintensität	94
3.1.4	Bereitung von Roh- und Röstkaffeepulver	95
3.1.5	Bereitung des Kaffeegetränks	95
3.2	Chemikalien	96
3.2.1	Referenzaromastoffe	96
3.2.2	Stabil-isotopenmarkierte Aromastoffe	97
3.2.3	Sonstige Chemikalien	98
3.2.4	Synthese von [² H ₈] 3-Methyl-2-buten-1-thiol	100
3.3	Sensorische Methoden	102
3.3.1	Dreiecksprüfung (Triangel-Test)	102
3.3.2	Aromaprofilanalyse	103
3.3.3	Hedonische Prüfung	104
3.3.4	Additionsexperimente	104
3.4	Isolierung von Aromastoffen	105
3.4.1	Extraktionsverfahren	105
3.4.2	Hochvakuumdestillation	106
3.4.3	Fraktionierung	107
3.5	Identifizierung von Aromastoffen	108
3.5.1	Aromaextraktverdünnungsanalyse	108
3.5.2	Verdünnungsanalyse statischer Headspaceproben	110
3.5.3	Bestimmung der Retentionsindices	111
3.5.4	Massenspektrometrie	111

3.6	Quantitative Bestimmung	112
3.6.1	Isotopenverdünnungsanalyse	112
3.6.2	Aufarbeitung für die quantitative Bestimmung	115
3.6.3	Konzentrationsbestimmung isotope-markierter Verbindungen	115
3.7	Analytisch-instrumentelle Methoden	116
3.7.1	Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie	116
3.7.2	Massenspektrometrie	120
3.7.3	Präparative Gaschromatographie	124
3.8	Aminosäureanalyse	125
3.8.1	Isolierung der freien Aminosäuren	125
3.8.2	Analytisch-instrumentelle Bedingungen	127
3.8.3	Bestimmung des Wassergehalts	129
3.9	Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)	130
3.9.1	Twister [®]	130
3.9.2	Extraktion	131
3.9.3	Extraktion für die Isotopenverdünnungsanalyse	132
3.9.4	Analytisch-instrumentelle Bedingungen	132
4	Zusammenfassung	134
5	Literaturverzeichnis	136

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Coffea arabica	3
Abbildung 2:	Kaffeekirschen mit Blüten	3
Abbildung 3:	Morphologie der Kaffeekirsche	4
Abbildung 4:	Rohkaffeebohnen mit Pergamenthülle (1), in frischem Zustand (2), getrocknet (3)	5
Abbildung 5:	Wichtige Schritte bei der Rohkaffeeaufbereitung (nach Vincent, 1987)	7
Abbildung 6:	Probenröster Probat BRZ 4 mit vier Rösttrommeln (1), Absaugvorrichtung (2) und Abkühl-schalen (3)	9
Abbildung 7:	Aufgussverfahren für Kaffee (nach Deutscher Kaffeeverband, 2003)	10
Abbildung 8:	Aromaprofilanalysen von Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufberei-tung: nass, trocken und unbehandelt.	32
Abbildung 9:	Aromaprofilanalyse von Rohkaffee: „Floaters“ und „Verde“.	38
Abbildung 10:	Temperaturverlauf bei der Röstung von 100 g Rohkaffee auf einem Probenröster Probat BRZ 4	42
Abbildung 11:	Scan zur Bestimmung des Rotanteils einer Kaffeeprobe	43
Abbildung 12:	Verhältnis zwischen Einbrand und Rotanteil im Röstkaffeepulver	43
Abbildung 13:	Aromaprofilanalyse von Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung: nass, trocken und unbehandelt.	48
Abbildung 14:	Aromaprofilanalyse von Kaffeegetränken aus Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung: nass und trocken.	63
Abbildung 15:	Erhaltene relative Peakflächen bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.	71
Abbildung 16:	Logarithmische Darstellung der erhaltenen relativen Peakflächen bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde einer Aromastoffmischung in Abhängigkeit von der Kon-zentration der Analyten.	73
Abbildung 17:	Ablauf der Strecker-Reaktion nach Belitz et al. (2001) am Beispiel der Bildung von 3-Methylbutanal aus Leucin.	84
Abbildung 18:	CIE –L*a*b* - System nach DIN 6174	94
Abbildung 19:	MS-EI-Spektrum von [² H ₈] 3-Methyl-2-buten-1-thiol	101
Abbildung 20:	Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) an einer BÆNG [®] -Apparatur	107
Abbildung 21:	Prinzip einer Aromaextraktverdünnungsanalyse	109
Abbildung 22:	Isotopenverdünnungsanalyse: Massenchromatogramme der Bestimmung von 2-Furfuryl-thiol (m/z 81) anhand von [¹³ C ₂] 2-Furfurylthiol (m/z 83).	113
Abbildung 23:	Prinzip der Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie	116
Abbildung 24:	Schematischer Ablauf eines Temperaturprogramms	117
Abbildung 25:	Prinzip der HRGC/O statischer Headspaceproben	118
Abbildung 26:	Schematische Darstellung der multidimensionalen HRGC-MS.	122
Abbildung 27:	Schematische Darstellung des MCSS-Systems, (a) Passiver Modus: Das Säuleneluat ge-langt zum Detektor, (b) Aktiver Modus: Das Säuleneluat gelangt in die Transferkapillare	123
Abbildung 28:	Extraktion freier Aminosäuren aus Rohkaffee in Abhängigkeit von der Extraktionszeit und dem Extraktionsmittel: Wasser und Natriumacetatpuffer pH 2,2 exemplarisch dargestellt an den Aminosäuren Isoleucin, Glycin und Methionin (Standardabweichung als Fehlerbalken angegeben).	126
Abbildung 29:	Schematischer Aufbau und Abbildung eines Twister [®]	130

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Konzentrationen und Geruchsintensitäten flüchtiger Verbindungen des Rohkaffees nach <i>Holscher und Steinhart</i> (1995).	12
Tabelle 2:	Wichtige Aromastoffe in Rohkaffee nach <i>Czerny und Grosch</i> (2000).	14
Tabelle 3:	Konzentrationen und Aromawerte potenter Aromastoffen in Arabica- und Robusta-Röstkaffee nach <i>Semmelroch et al.</i> (1995) und <i>Semmelroch und Grosch</i> (1996).	18
Tabelle 4:	Wichtige Aromastoffe im Rekombinat eines Röstkaffeepulvers nach <i>Czerny et al.</i> (1999).	19
Tabelle 5:	Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Roh- und Röstkaffee nach <i>Czerny und Grosch</i> (2000).	21
Tabelle 6:	Konzentrationen von potenten Aromastoffen in Röstkaffeepulver und dem daraus hergestellten Kaffeetrink, sowie berechnete Extraktionsausbeuten nach <i>Mayer et al.</i> (2000).	24
Tabelle 7:	Ergebnisse von Triangel-Tests mit nass gegenüber trocken aufbereitetem Rohkaffee aus Peru und Brasilien.	30
Tabelle 8:	Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung oder -substanz.	31
Tabelle 9:	Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 8) in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	33
Tabelle 10:	Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	35
Tabelle 11:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	36
Tabelle 12:	Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Rohkaffee (Brasilien 2002) verschiedener Aussortierung bei der technologischen Aufbereitung: „Floaters“ und „Verde“, unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung oder -substanz.	38
Tabelle 13:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Rohkaffee (Brasilien 2002) verschiedener Aussortierung bei der technologischen Aufbereitung: „Floaters“ und „Verde“.	39
Tabelle 14:	Farbverschiebungswerte (CIE $-L^*a^*b$ nach DIN 6174) nach dem Spektralbereichsverfahren ($d/8^\circ$ nach DIN 5033) von Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	44
Tabelle 15:	Ergebnisse von Triangel-Tests mit nass gegenüber trocken aufbereitetem Röstkaffee aus Peru und Brasilien.	45
Tabelle 16:	Anzahl der Teilnehmer, die bei der Hedonischen Prüfung zwischen nass (Na) und trocken (Tr) aufbereitetem Röstkaffee das Gesamtaroma der entsprechenden Probe als höher eingestuft haben.	46
Tabelle 17:	Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung.	47
Tabelle 18:	Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 64) in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	50
Tabelle 19:	Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 128) in Röstkaffee (Brasilien 2000 und 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	52
Tabelle 20:	Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	53
Tabelle 21:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	55
Tabelle 22:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Röstkaffee (Brasilien 2001 und Brasilien 2000) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	56
Tabelle 23:	Ergebnisse von Triangel-Tests zwischen einem Röstkaffee (Peru 2001) nasser Aufbereitung und dem nass aufbereiteten Röstkaffee mit Zusatz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester bzw. 2- und 3-Methylbutanal.	57

Tabelle 24:	Gehalte freier Aminosäuren in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).	59
Tabelle 25:	Gehalte ausgewählter freier Aminosäuren in Rohkaffee (Peru 2001) im Vergleich zu den Gehalten damit korrelierender Aromastoffe (Streckeraldehyde) in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	59
Tabelle 26:	Gehalte ausgewählter, freier Aminosäuren in Rohkaffee (Tanzania 2002) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	60
Tabelle 27:	Ergebnisse von Triangel-Tests mit Kaffeegetränken aus nass gegenüber trocken aufbereitetem Röstkaffee aus Peru.	61
Tabelle 28:	Anzahl der Teilnehmer, die bei der hedonischen Prüfung zwischen Kaffeegetränken aus nass (Na) und trocken (Tr) aufbereitetem Röstkaffee das Gesamtaroma der entsprechenden Probe als höher eingestuft haben.	62
Tabelle 29:	Intensitäten einzelner Aromaqualitäten im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung.	63
Tabelle 30:	Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 32) im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	65
Tabelle 31:	Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	66
Tabelle 32:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).	67
Tabelle 33:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung (nass (Na) und trocken (Tr)) und dem daraus hergestellten Kaffeegetränk im Vergleich, sowie Extraktionsausbeuten der Verbindungen.	67
Tabelle 34:	Ergebnisse von Triangel-Tests zwischen Kaffeegetränken aus Röstkaffee (Peru 2001) nasser Aufbereitung und aus dem nass aufbereiteten Röstkaffee mit Zusatz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester.	68
Tabelle 35:	Relative Absorptionsfähigkeit einzelner Verbindungen unterschiedlicher Polarität bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) aus wässriger Lösung am Twister® (PDMS-Phase).	70
Tabelle 36:	Relative Extraktionsausbeuten in [%] bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) mit Zusätzen von Lösungsmitteln.	74
Tabelle 37:	Relative Extraktionsänderungen in [%] bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) mit Zusätzen von Natriumchlorid.	75
Tabelle 38:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001 und Brasilien 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), ermittelt unter Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE).	76
Tabelle 39:	Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee Peru 2001 verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), in Abhängigkeit von der Extraktionsmethode: Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) und Lösungsmittelextraktion.	76
Tabelle 40:	Konzentrationen von 2- und 3-Methylbutansäureethylester (MBE) im Kaffeegetränk aus verschiedenen kommerziell erhältlichen Röstkaffeepulvern.	77
Tabelle 41:	Röstbedingungen von Rohkaffee auf einem Probat Probenröster BRZ 4.	91
Tabelle 42:	Röstbedingungen von Rohkaffee auf einem Wirbelschichtröster (Hamburg).	93
Tabelle 43:	Untersuchte Röstkaffeeproben unterschiedlicher Hersteller und Herkunft.	93
Tabelle 44:	Aromaqualitäten und zugeordnete Aromastoffe.	103
Tabelle 45:	Responsefaktoren (RF) und ausgewählte Ionen (m/z) der Aromastoffe und der entsprechenden isopenmarkierten Standardverbindungen für die quantitative massenspektrometrische Analyse.	114
Tabelle 46:	Verwendete Temperaturprogramme nach Kapillarsäulen und Extraktfraktionen i.V.m. Aufheiz- und konstanten Temperaturphasen nach Abbildung 23.	118
Tabelle 47:	Ermittelte Aminosäuregehalte bei der Extraktion freier Aminosäuren aus Rohkaffee in Abhängigkeit von der Extraktionszeit und dem Extraktionsmittel.	125

Abkürzungsverzeichnis

AEVA	Aromaextraktverdünnungsanalyse
CI	Chemische Ionisation
EI	Elektronenstoßionisation
Exp.	Experiment
FD-Faktor	Flavor Dilution (Aromaverdünnung)
FFAP	Free Fatty Acid Phase
FID	Flammenionisationsdetektor
GABA	γ -Aminobuttersäure
GC	Gaschromatograph
HRGC	High Resolution Gaschromatographie
HRGC/O	High Resolution Gaschromatographie / Olfaktometrie
HVA	Headspaceverdünnungsanalyse
HVT	Hochvakuumtransfer
ID	Innendurchmesser
ITD	Ion-Trap-Detektor
IS-SPME	In-Sample Solid Phase Micro-Extraction
IVA	Isotopenverdünnungsanalyse
KAS	Kaltaufgabesystem
m/z	Massenzahl
MS	Massenspektrometrie
n.a.	nicht analysiert
n.d.	nicht detektierbar
Na	Nasse Aufbereitung (fermentiert)
NBF	Fraktion der Neutralstoffe und basischen Verbindungen
PTI/TCT	Purge-And-Trap-Injektor / Thermodesorption-Cold-Trap
RF	Responsefaktor
RI	Retentionsindex
SAFE	Solvent Assisted Flavour Extraction
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SF	Fraktion der sauren Verbindungen
SPME	Sorptive Phase Micro Extraction
TDS	Thermodesorptionssystem
Tr	Trockene Aufbereitung
Ub	Unbehandelt

1 Einleitung

1.1 Kaffee

Nach *Anlage Nr. 1 i.V.m. §§ 1 und 2 der Kaffeeverordnung vom 15.11.2001* wird der von der Frucht- und Samenschale befreite, ungeröstete Samen von Pflanzen der Gattung *Coffea* als Rohkaffee bezeichnet, gerösteter Rohkaffee in ungemahlenem oder gemahlenem Zustand mit einem Wassergehalt von höchstens 50 Gramm pro Kilogramm als Kaffee oder Röstkaffee. Aus gemahlenem Kaffee wird durch verschiedene Extraktionsverfahren mit heißem Wasser das Kaffeegetränk gewonnen, das ebenfalls als Kaffee bezeichnet wird (*Belitz et al., 2001*).

Rohkaffee enthält als mengenmäßig vorherrschende Inhaltsstoffe 6-7 % verwertbare Kohlenhydrate, ca. 13 % Fett, 12 % Wasser, 11 % Proteine, 40-50 % Ballaststoffe, pflanzliche Säuren, Alkaloide wie das Koffein, sowie Mineral- und Aromastoffe. Dabei weisen die Inhaltsstoffe des Kaffees beträchtliche Unterschiede zwischen den einzelnen *Coffea*-Arten, sowie den Varietäten innerhalb einer Art auf. Eine entscheidende Rolle spielt weiterhin die Herkunft, also Faktoren wie Breitengrad, Höhe, Neigung des Hanges, Bodenqualität, Klima und Anbauform. Durch den Röstprozess wird eine drastische Veränderung der Gehalte an Wasser (Abnahme auf 2-3 %) und verwertbaren Kohlenhydraten (Abnahme auf ca. 1,5 %), sowie eine Zunahme von Aromastoffen verzeichnet (*Souci et al., 2000; Belitz et al., 2001*).

Die Urheimat des Kaffeebaums dürfte im heutigen Äthiopien bzw. Jemen liegen, wo er vermutlich schon ab dem 8. Jahrhundert vom Menschen kultiviert wurde. Der Konsum von Kaffee wird allerdings erst durch ein arabisches Manuskript von 1587, das ein etwa 100 Jahre älteres Schriftstück zitiert, eindeutig belegt. Im 15. Jahrhundert verbreiteten dann Pilger, die das Heiligtum der Mohammedaner in Mekka besuchten, die Kunde vom neuen Getränk im arabischen Großreich, wodurch Kaffee sowohl in Arabien wie auch in Kleinasien, Syrien, Ägypten und im südöstlichen Europa eine zunehmend wichtige Rolle einnahm. Der Jemen blieb dabei bis zum Ende des Mittelalters bedeutendstes Anbaugebiet. Anfang des 17. Jahrhunderts erreichte der Kaffee über Venedig erstmals das westliche Europa und verbreitete sich innerhalb nur weniger Jahrzehnte europaweit. Aufgrund der steigenden wirtschaftlichen Bedeutung

wurde Kaffee von den europäischen Kolonialnationen ab dem 18. Jahrhundert in alle Gebiete der Erde gebracht, die für den Kaffeeanbau geeignet waren, u.a. Java, Indien, Französisch-Guayana und Brasilien (1726), dem heute wichtigsten Land für den Kaffeeanbau. Um 1850 war Kaffee endgültig zum Volksgetränk geworden. Die Kaffeeproduktion wurde seit diesem Zeitpunkt weiter gesteigert und industrialisiert, wobei 1903 der Kaffeepreis durch Überangebot das niedrigste je festgehaltene Niveau erreichte. Wichtige Entdeckungen waren weiterhin 1898 die Kaffeesorste Robusta im großen Kongobogen in Afrika, 1905 die Patentierung von koffeinfreiem Kaffee, sowie die Erfindung von löslichem Kaffee. (*Deutscher Kaffeeverband, 2003*)

Heute ist Kaffee eines der wichtigsten Welthandelsgüter. Die Weltproduktion an Rohkaffee steigerte sich von 36.000 Tonnen im Jahr 1750 auf 7,15 Mio. Tonnen im Jahr 2002, in welchem die bedeutendsten Kaffeeproduzenten die südamerikanischen Staaten Brasilien mit 40,6 % und Kolumbien mit 9,4 % waren, gefolgt von Vietnam mit 8,4 %, Indonesien mit 4,8 %, Indien mit 3,8 % und Mexiko mit 3,4 % der Weltproduktion. Die größten Kaffeimporteure sind die USA mit 26 % und Deutschland mit 19 % des Welthandels, gefolgt von Italien, Japan und Frankreich mit je 8-9 % (*ICO, 2003*). Der pro-Kopf-Verbrauch in Deutschland liegt bei 6,6 kg Rohkaffee bzw. ca. 160 l Kaffegetränk pro Jahr (*Deutscher Kaffeeverband, 2003*).

1.2 Die Kaffeepflanze

Die Gattung *Coffea* gehört zur Pflanzenfamilie der Rubiaceae (Krappgewächse) und besteht aus ca. 70 Arten. Von wirtschaftlicher Bedeutung sind jedoch fast ausschließlich die Varietäten *Coffea arabica* mit ca. 65-70 % der Weltkaffeeproduktion und *Coffea canephora* var. *robusta* mit rund 30 %. Zu nennen sind noch *Coffea liberica* und *Coffea excelsa*, beide aber von geringer Bedeutung. Aus den zwei bekanntesten *Coffea arabica* Varietäten, *Typica* und *Bourbon*, haben sich viele weitere Sorten entwickelt. Die wichtigsten sind: *Caturra* (Brasilien, Kolumbien), *Mundo Novo* (Brasilien), *Tico* (Mittelamerika) und *Blue Mountains* (Jamaica).



Abbildung 1: *Coffea arabica*

Die Kaffeepflanze (Abbildung 1) wird bis zu 4 Meter hoch, jedoch auf den Kaffeepflanzungen strauchförmig gehalten. Die Wurzel ist pfahlartig ausgebildet und reicht 1-2,5 m in den Boden mit zahlreichen, nahe an der Oberfläche verlaufenden Nährwurzeln. An den lang auslaufenden, rutenförmigen Zweigen sitzen kurzstielige, immergrüne, länglich-ovale Blätter. Sie fühlen sich lederartig an und sind an der Oberseite dunkelgrün, an der Unterseite heller. Die Blätter sind 8-15 cm lang und 4-6 cm breit.

Die fünfgliedrigen Blüten sind weiß und stehen gehäuft in den Blattachseln. Nach der Befruchtung entwickeln sich in 7-9 Monaten die elliptischen, zwei Samenkern enthaltenden, kirschenähnlichen Steinfrüchte des Kaffeebaums. Die Farbe dieser sog. „Kaffeeirschen“ wechselt während der Reifephase von grün über gelb nach rot und im überreifen Zustand zu schwarz. Aufgrund der langen Blütezeit der Pflanze erstreckt sich die Ernte, die meist per Hand erfolgt, über mehrere Monate und es kann passieren, dass der Kaffeebaum gleichzeitig Blüten und Früchte trägt (Abbildung 2).



Abbildung 2: Kaffeeirschen mit Blüten

Die reife Frucht hat eine rote Haut (exokarp), die ein weiches, weißgelbliches Fruchtfleisch, die Pulpe (mesokarp), umschließt (Abbildung 3). In ihr sind in der Regel zwei Samen enthalten, die üblicherweise als Kaffeebohnen bezeichnet werden. Sie liegen mit ihren Innenseiten flach aneinander gepresst und weisen mit den Rundungen nach außen. Jeder Same wird von einer dünnen, fest anhaftenden Schale geschützt, dem Silberhäutchen (testa) und von einer locker aufsitzenden, dünnen und blassgelben Hülle, der Pergamenthaut (endokarp), umgeben.

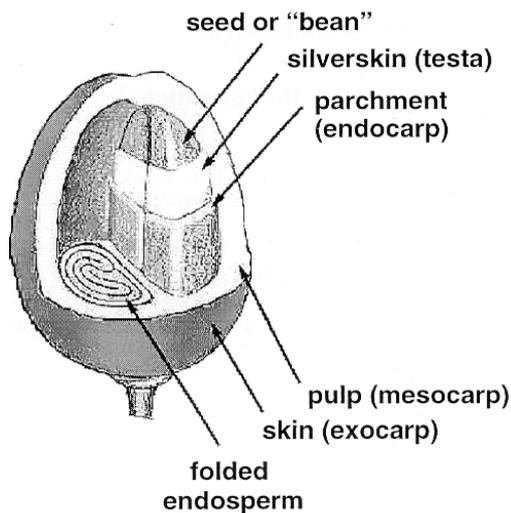


Abbildung 3: Morphologie der Kaffeekirsche

Der gekrümmte Keimling sitzt am unteren, dem Fruchtsiel zugekehrten Ende des Samens. Die Kaffeebohnen sind rundlich bis länglich, manchmal auch spitz zulaufend und ihre Farbe ist im frischen Zustand gelblichgrau bis blaugrau. *Coffea canephora* var. *robusta* besitzt im Gegensatz zu *Coffea arabica* runde Früchte, die nach 11 Monaten reif sind und ovale, etwas kleinere Samen liefern.

Für Wachstum und Ertrag der Kaffeepflanze sind Temperatur, Niederschlag, Bodenbeschaffenheit und die Höhenlage ausschlaggebend. Arabica wird zwischen 600 und 2000 m Höhe in einer Region zwischen dem 23.° nördlicher und 25.° südlicher Breite rund um den Globus angebaut. Die durchschnittlichen Temperaturen sollten dabei zwischen 18 und 25 °C, die durchschnittlichen Niederschlagsmengen zwischen 1000 und 1500 mm pro Jahr liegen. Robusta benötigt tropischere Bedingungen und kann daher nur in einem Gebiet von bis zu 10° nördlicher und südlicher Breite bei durchschnittlich 26 °C und mindestens 2000 mm Niederschlag pro Jahr, jedoch auch im Flachland angebaut werden. Die ersten Früchte können vier bis sieben Jahre nach Pflanzung der Kaffeesträucher geerntet werden, deren Ertrag bei ca. 200 bis 600 kg/ha liegt und nach 20-30 Jahren wieder abnimmt (*Deutscher Kaffeeverband, 2003; Maier, 1981*).

1.3 Rohkaffeetechnologie

Um aus dem Samen einen marktfähigen Kaffee herzustellen, muss die gesamte Umhüllung der eigentlichen Kaffeebohne entfernt werden. Die beiden technologisch genutzten Wege, um dieses Ziel zu erreichen, sind die sogenannte trockene und die nasse Aufbereitung. Bei beiden Aufbereitungsverfahren werden Fruchthaut, Fruchtfleisch und -schleim, Pergamenthaut und möglichst auch das Silberhäutchen, sowie der größte Teil des Wassers entfernt, sodass am Schluss die saubere und trockene Kaffeebohne übrig bleibt (Abbildung 4). Der so erhaltene Rohkaffee ist transport- und lagerfähig.

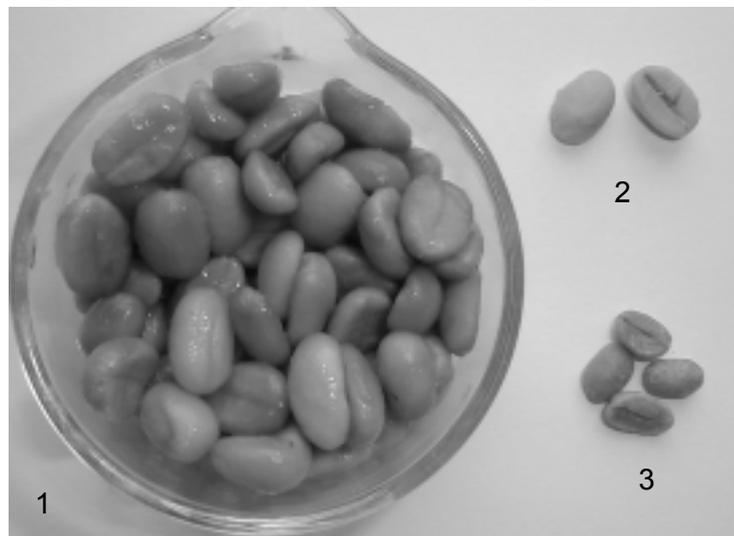


Abbildung 4: Rohkaffeebohnen mit Pergamenthülle (1), in frischem Zustand (2), getrocknet (3)

Die trockene Aufbereitung stellt aufgrund der einfacheren Handhabung und der geringeren Probleme hinsichtlich der Hygiene die häufiger eingesetzte Variante dar, während die nasse Aufbereitung technologisch aufwändiger ist.

Trockene Aufbereitung

Bei diesem Verfahren werden die ganzen Kaffeekirschen so lange in der Sonne getrocknet, bis die in ihnen enthaltenen Bohnen in der Schale rascheln und sich trocken und ohne Rückstände Herausschälen lassen. Zum Trocknen werden möglichst gleichmäßig reife Kaffeekirschen sofort nach der Ernte auf betonierten oder gepflast-

terten Trockenterrassen in nicht zu dicker Schicht ausgebreitet und wiederholt gewendet, um ein Faulen der Kirschen zu vermeiden. Die Trocknung dauert drei bis fünf Wochen und reduziert den Wassergehalt der Kirschen von 50-60 % auf eine Restfeuchte von 12 %. Anschließend werden die Bohnen in Schälmaschinen (z.B. konischen Schneckenwalzen), in denen das Schälgut entweder gegen einen Widerstand geschleudert oder durch Druck aufgebrochen wird, vom getrockneten Fruchtfleisch, der Pergamenthülle und dem Silberhäutchen getrennt. Der geschälte Kaffee wird entweder von Hand oder mit mechanischen bzw. elektronischen Sortiermaschinen nach Größe, Dichte und Farbe sortiert und unter der Bezeichnung „ungewaschener Kaffee“ (Dry) in den Handel gebracht (*Belitz et al.*, 2001; *Deutscher Kaffeeverband*, 2003). Der Vorgang ist in Abbildung 5 zusammengefasst dargestellt.

Nasse Aufbereitung

Bei der nassen Aufbereitung werden die frischen, reifen Kaffeekirschen entweder von Hand oder mechanisch von Verunreinigungen befreit, in Wassertanks oder Schwemmkanälen vorsortiert und anschließend dem Pulper zugeführt, der über ein Walzensystem den größten Teil des weichen Fruchtfleisches schonend abquetscht (Abbildung 5). Der entpulperte Kaffee, der noch die Silberhaut, die Pergamenthülle und eine Schleimschicht trägt, wird im Schwemmkanal und durch Siebung weiter sortiert und in ein Fermentationsbecken geleitet. Dort wird der an der Pergamenthaut haftende Restschleim in einem 12 bis 48 Stunden dauernden Gärungsprozess, dem sog. Fermentationsvorgang, durch kaffeeeigene Enzyme (gegebenenfalls auch unter Beteiligung von Mikroorganismen) gelöst und abgebaut. Schließlich wird der so gewonnene Kaffee, der auch als „Hülsen-“ oder „Pergamentkaffee“ bezeichnet wird, nach einem Waschvorgang, in dem alle noch verbliebenen Reste von der Pergamenthaut entfernt werden, auf ca. 12 % Restfeuchte entweder in der Sonne (10-15 Tage) oder mit Heißluft (bis 85 °C) in Maschinen (3-7 Tage) getrocknet und nachfolgend in Schälmaschinen von der Pergamenthülle und dem Silberhäutchen befreit. Der geschälte Kaffee wird von Hand, mit mechanischen oder elektronischen Sortiermaschinen nach Größe, Dichte und Farbe sortiert und unter der Bezeichnung „gewaschener Kaffee“ (Mild, oft auch noch als Pergamino bezeichnet) verkauft (*Belitz et al.*, 2001; *Deutscher Kaffeeverband*, 2003).

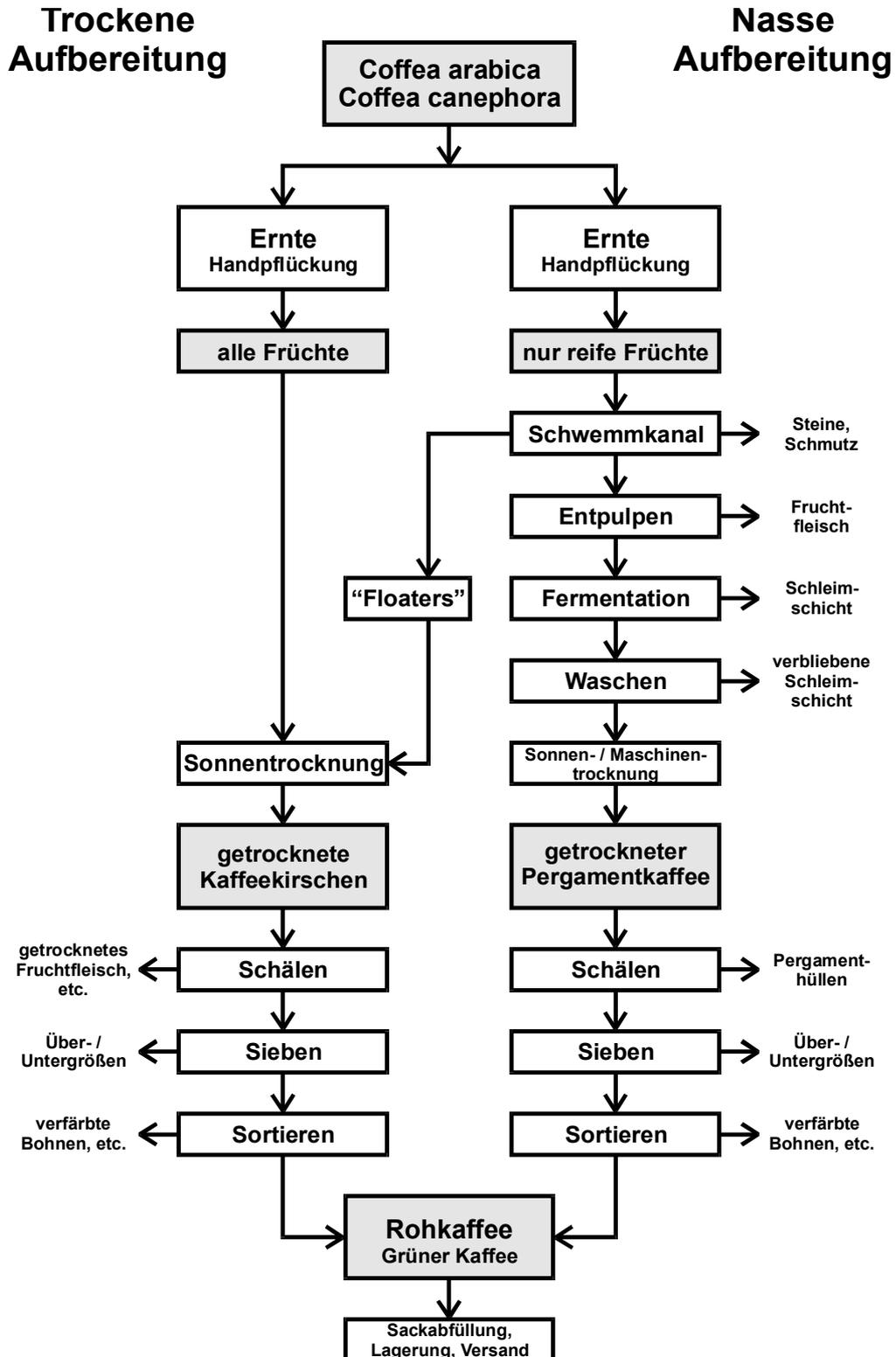


Abbildung 5: Wichtige Schritte bei der Rohkaffeearbeitung (nach Vincent, 1987)

1.4 Röstung

Unter Rösten versteht man das trockene Erhitzen der Kaffeebohnen, das durch die Abnahme bereits im Rohkaffee vorhandener und das Auftreten neuer Inhaltsstoffe gekennzeichnet ist. Der Röstprozess kann dabei in vier Hauptphasen unterteilt werden: Trocknung, Entwicklung, Zersetzung und Vollröstung. Zu Beginn gerinnt das Eiweiß und das in den Bohnen enthaltene Wasser verdampft (der Wassergehalt wird von 12 % auf 2-3 % reduziert). Danach tritt eine Bräunung der Bohne durch beginnende Maillard-Reaktionen auf (die Bohne verändert ihre Farbe während der Röstung von grün über gelb, gelbbraun und hellbraun bis hin zu dunkelbraun), und die thermische Zersetzung organischer Substanzen, z.B. von Saccharose oder Monosacchariden, setzt ein. Die sich bei den Vorgängen bildenden gasförmigen Produkte wie Wasserdampf und Kohlendioxid führen zu einer Volumenzunahme um 50-100 %, was in der „Sprengung der Bohne“ gipfelt, gekennzeichnet durch das „Knacken“ der Kaffeefurche. Karamellbildung und die Entwicklung des Kaffeearomas, an der eine Reihe chemischer Primär- und Sekundärreaktionen beteiligt sind, wie z.B. die Maillard-Reaktion, der Strecker-Abbau, der Abbau von Phenolsäuren, Lipoiden oder Thiamin, schließen den Röstprozess ab. Geröstet wird auf eine bestimmte Tönung (Farbe) der Kaffeebohne, die mit der optimalen Bildung des Kaffeearomas und dem Gewichtsverlust der Rohkaffeebohnen während des Röstens, auch „Einbrand“ genannt, korreliert. Dieser beträgt je nach Wassergehalt des Rohkaffees und Röstgrad 11 (heller Röstgrad) bis 20 % (sehr dunkle Kaffees, z.B. Espresso), d.h. je nach Röstung werden 110 bis 200 g flüchtige Bestandteile (einschließlich Wasser) je kg Rohkaffee freigesetzt.

Die Kaffeeröstung kann im diskontinuierlichen (chargenweisen) oder kontinuierlichen Betrieb erfolgen. Die Wärmeübertragung bei der Röstung erfolgt durch Kontakt der Bohnen mit den Wänden der Röstapparatur (Kontaktröstung) oder durch Heißluft (Konvektionsröstung) unter ständiger Umwälzung des Röstgutes. Die Dauer der Röstung ist dabei außer von den gegebenen Eigenschaften des Rohkaffees und des gewünschten Röstgrades, von der Art der Wärmeübertragung, der Rösttemperatur und der Chargengröße abhängig und variiert zwischen 1,5 und 10 Minuten bei Rösttemperaturen von 200-250 °C. Nach dem Röstvorgang werden die Bohnen mittels Luft oder Wasser rasch abgekühlt, um ein Nachrösten zu verhindern. Entstehende Dämpfe und Zellfragmente (das Silberhäutchen löst sich und fällt ab) werden während der

Röstung abgesaugt, aufgefangen und entsorgt. Abbildung 6 zeigt zur Veranschaulichung einen Probenröster, der im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurde.



Abbildung 6: Probenröster Probat BRZ 4 mit vier Rösttrommeln (1), Absaugvorrichtung (2) und Abkühlschalen (3)

Werden die Bohnen nicht bei der erforderlichen Temperatur oder nicht entsprechend lange geröstet, treten die Aromaöle nicht an die Oberfläche und der Kaffee bekommt einen "breiten" Geschmack. Wird bei zu großer Hitze oder zu lange geröstet, schmeckt der Kaffee dünn und verbrannt.

Handelsware wird durch Verschnitt (Blendung) von 4 bis 8 Kaffees vor oder nach der Röstung hergestellt. Je nach gewünschtem Geschmack und Aroma einer Kaffeemischung werden Kaffees unterschiedlicher Herkunft, Sorte und Qualität aufeinander abgestimmt (*Belitz et al.*, 2001; *Deutscher Kaffeeverband*, 2003).

1.5 Herstellung des Kaffeegetränkes

Kaffee lässt sich auf vielerlei Weise zubereiten. Die gebräuchlichsten Aufgussverfahren sind in Abbildung 7 dargestellt.



Abbildung 7: Aufgussverfahren für Kaffee (nach *Deutscher Kaffeeverband*, 2003)

Aroma und Geschmack des Kaffeegetränkes werden außer von der Qualität des Kaffeepulvers auch von anderen Faktoren beeinflusst: dem Aufgussverfahren und den Kaffeemaschinen, dem Mahlgrad, der Dosierung, der Qualität des Wassers, der Brühtemperatur und -zeit und der Standzeit (Aufbewahrung).

Gutes Kaffeewasser soll mineralreich und sauerstoffhaltig sein. Hartes, kalkhaltiges Wasser oder sehr viel Chlor im Trinkwasser sollen die Löslichkeit der Aromastoffe des Kaffees verringern. Die Temperatur des Wassers, das mit dem gemahlene Kaffee in Berührung kommt, sollte stets zwischen 90 und 96 °C liegen. Für eine Tasse Kaffee rechnet man 6-8 g Mahlgut, dessen Mahlgrad auf die Aufgussmethode abgestimmt sein muss (*Deutscher Kaffeeverband*, 2003).

1.6 Aromastoffe im Kaffee

Ein entscheidendes Qualitätskriterium eines Kaffees ist sein Aroma, was in Kombination mit der wirtschaftlichen Bedeutung von Kaffee dazu führte, dass Wissenschaftler schon seit über 150 Jahren versuchen, die Strukturen der flüchtigen, für das Aroma verantwortlichen Verbindungen aufzuklären, und dass somit Kaffee im Hinblick auf das Aroma eines der am besten untersuchten Lebensmittel ist.

1.6.1 Flüchtige Verbindungen und Aromastoffe im Rohkaffee

Im Vergleich zu Röstkaffee ist die Zahl der bisher veröffentlichten Arbeiten über das Aroma von Rohkaffee gering. Die ersten Untersuchungen zu diesem Thema wurden von *Rhoades* (1960) durchgeführt, der 16 flüchtige Verbindungen in Rohkaffee identifizierte, darunter Acetaldehyd, Propanal, Methylpropanal, 2-Methylbutanal, Methanthiol, Dimethylsulfid, 2,3-Butandion, Methanol und Ethanol. Neben Kohlenwasserstoffen, Aldehyden, Ketonen, sowie schwefel- und stickstoffhaltigen Verbindungen konnten *Merrit et al.* (1970) später auch eine Reihe von Methyl- und Ethylestern im Rohkaffee nachweisen, während *Vitzthum et al.* (1976) in einer umfassenden Arbeit über das Aroma von Rohkaffee weitere 51 Verbindungen erstmals identifizierten, zu denen auch dreizehn Pyrazine zählten.

Holscher und Steinhart (1995) nutzten erstmals die Kombination gaschromatographischer und olfaktometrischer Untersuchungen (HRGC/O) zur Evaluierung potenter Aromastoffe des Rohkaffees unter den flüchtigen Verbindungen, wobei sie elf Verbindungen mit besonders starker Geruchsintensität ermittelten (Tabelle 1).

Die Methode der Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie beruht dabei darauf, dass die Verbindungen eines Aromaextraktes durch Splitting des Trägergasstroms am Ende der Kapillarsäule in gleichen Teilen einem Flammenionisationsdetektor (FID) und einem beheizten Ausgang, dem sogenannten „Sniffing-Port“, zugeführt werden, an dem der Extrakt abgerochen werden kann. Auf diese Weise können dem FID-Chromatogramm zeitgleich bestimmte Geruchseindrücke zugeordnet und dadurch Aromastoffe unter den überwiegend geruchsinaktiven flüchtigen Verbindungen erfasst und charakterisiert werden (vgl. 3.7.1).

Tabelle 1: Konzentrationen und Geruchsintensitäten flüchtiger Verbindungen des Rohkaffees nach *Holscher und Steinhart (1995)*.

Verbindung	Gehalte in µg/kg	Intensität ^a
Hexanal	775	1
Heptanal	104	0
(E)-2-Hexenal	20	0
1-Octen-3-on	10	1
(E)-2-Heptenal	75	0
3-Methyl-2-buten-1-ol	530	0
Nonanal	75	2
(E)-2-Octenal	75	0
3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	< 5	3
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	k. A. ^b	3
1-Octen-3-ol	30	0
(E,E)-2,4-Heptadienal	20	0
Decanal	45	0
(Z)-2-Nonenal	8	3
Benzaldehyd	630	0
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	100	3
(E)-2-Nonenal	280	3
2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	175	3
(E,Z)-2,6-Nonadienal	10	3
Phenylacetaldehyd	445	3
2,4-Nonadienal-Isomer	< 5	1
2-/3-Methylbutansäure	3.200	3
(E,E)-2,4-Nonadienal	35	2
(E,Z)-2,4-Nonadienal	20	1
(E,E)-2,4-Decadienal	105	3
(E)-β-Damascenon	90	3

^a Geruchsintensität der Verbindungen bei der HRGC/O (0 : nicht wahrnehmbar; 1 : schwach; 2 : stark; 3 : sehr stark).

^b keine Angabe.

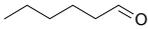
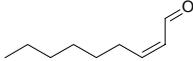
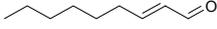
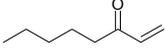
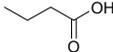
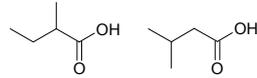
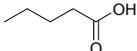
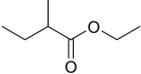
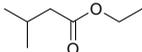
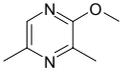
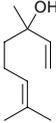
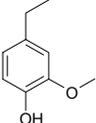
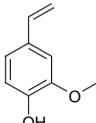
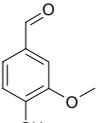
Holscher und Steinhart (1995) führten mit ihrer Arbeit gleichzeitig auch zum ersten mal eine umfangreiche Quantifizierung von Aromastoffen des Rohkaffees durch, wobei sie die Gehalte von 26 Verbindungen in einem kolumbianischem Rohkaffee bestimmten, unter denen sie zuvor über HRGC/O 17 geruchsaktive Verbindungen ermittelt hatten (Tabelle 1).

Czerny und Grosch (2000) wandten zur Charakterisierung der wichtigen Aromastoffe in Rohkaffee schließlich die Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) an, ein Auswahlverfahren (Screening-Methode), das auf diejenigen Inhaltsstoffe hinweist, die primär das Aroma eines Lebensmittels hervorrufen können (*Grosch*, 1994), unabhängig vom Injektionsvolumen und der Konzentration der Aromastoffe im Extrakt, die durch die Menge des aufgearbeiteten Lebensmittels, die Isolierungsmethode und den Konzentrierungsgrad bedingt ist. Zur Detektion der aromarelevanten Verbindungen werden dabei aus den Lebensmitteln Aromaextrakte gewonnen, diese in definierten Verhältnissen schrittweise verdünnt und jede Verdünnung mittels HRGC/O untersucht (*Schmid und Grosch*, 1986), bis keine geruchsaktiven Substanzen mehr wahrgenommen werden können. Der höchste Verdünnungsfaktor, bei dem eine Verbindung noch wahrgenommen werden kann, wird als dessen Flavour Dilution (FD)-Faktor bezeichnet (*Schieberle und Grosch*, 1988). Der unverdünnte Extrakt entspricht per Definition einem Verdünnungsfaktor von 1 (*Schieberle*, 1995) (vgl. 3.5.1).

Czerny und Grosch (2000) identifizierten auf diese Weise 18 Verbindungen mit hohen FD-Faktoren in Rohkaffee (Tabelle 2), darunter erstmals 2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin, 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon und 4-Ethyl-2-methoxyphenol. Als wichtigsten Aromastoff in Rohkaffee stellten sie dabei wie auch schon *Vitzthum et al.* (1976) und *Holscher und Steinhart* (1995) das erbsenartig riechende 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin heraus, während sie die hohe Aromapotenz von z.B. (E)- β -Damascenon (*Holscher und Steinhart*, 1995) nicht bestätigen konnten.

Ein Einfluss der Rohkaffeetechnologie auf das Aroma des Rohkaffees wurde bislang ausschließlich in Zusammenhang mit dem Auftreten von Fehlparfums untersucht (vgl. 1.6.4). In der Literatur sind weder Daten über Unterschiede zwischen dem Aroma von nasser und trockener Aufbereitung verfügbar, noch wurden wichtige Aromastoffe in unbehandeltem Rohkaffee bzw. eventuelle Aromaveränderungen während der Aufbereitungen beschrieben.

Tabelle 2: Wichtige Aromastoffe in Rohkaffee nach *Czerny und Grosch (2000)*.

Verbindung	Strukturformel	FD-Faktor ^a	Geruch ^b
Hexanal		16	grün
(Z)-2-Nonenal		64	fettig, nach Karton
(E)-2-Nonenal		128	fettig, nach Karton
1-Octen-3-on		16	nach Pilz
Butansäure		16	schweißig
2-/3-Methylbutansäure		32	schweißig
Pentansäure		16	schweißig
2-Methylbuttersäureethylester		256	fruchtig
3-Methylbuttersäureethylester		256	fruchtig
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd		64	nach gekochter Kartoffel
3-Isopropyl-2-methoxypyrazin		128	nach Erbse
2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin		512	erdig
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin		4096	nach Erbse
2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol		16	blütig
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon		64	würzig
4-Ethyl-2-methoxyphenol		64	süß, phenolisch
4-Vinyl-2-methoxyphenol		64	nach Nelke
4-Hydroxy-3-methoxy-benzaldehyd		128	nach Vanille

^a Flavour Dilution (FD)-Faktor einer Verbindung (Verdünnungsfaktor)^b Geruchsbeschreibung bei der HRGC/O

1.6.2 Flüchtige Verbindungen und Aromastoffe im Röstkaffee

Schon im 19. Jahrhundert wurden erste Untersuchungen zur Identifizierung flüchtiger Verbindungen aus Röstkaffee durchgeführt. So wies *Lampadius* (1832) bereits Essigsäure und Ammoniak in stark überbröstetem Kaffee nach, während *Bernheimer* (1880), *Jaeckle* (1898) und *Erdmann* (1902) später Aceton, Furfurylalkohol, Methylamin, Triethylamin, Pyrrol, Methansäure und Methylbutansäure identifizierten.

Die eigentliche Kaffeearomaforschung begann allerdings erst mit den Arbeiten von *Reichstein und Staudinger* (1926a; 1926b), die 29 flüchtige Verbindungen aus einem aus Röstkaffee gewonnenen Öl als stabile kristalline Derivate isolierten und identifizierten, darunter Acetaldehyd, 2-Methylbutanal, 2,3-Butandion, 2,3-Pentandion, Methanthiol, Dimethylsulfid, 2-Furfurylthiol, 2-Methoxyphenol, 4-Vinyl-2-methoxyphenol, sowie einige Alkylpyrazine. Die Autoren wiesen dem 2-Furfurylthiol eine große Bedeutung zu, da es als einzige der identifizierten Verbindungen in verdünnter wässriger Lösung an den Geruch von Kaffee erinnerte. *Johnston und Frey* (1938) bestätigten dieses Ergebnis und vertraten ebenfalls die Meinung, dass schwefelhaltige Verbindungen das typische Kaffeearoma prägen.

Die Entwicklung neuer Möglichkeiten der Strukturaufklärung, wie der Kernresonanzspektroskopie und der Gaschromatographie in Kopplung mit der Massenspektroskopie, ließ ab 1960 die Zahl der identifizierten flüchtigen Verbindungen in Röstkaffee beständig ansteigen und nahm von 70 (im Jahr 1960) auf heute 835 zu (*Nijssen et al.*, 1996), darunter stellen Furane (126), schwefelhaltige Verbindungen (100), Pyrazine (86), Ketone (85), Pyrrole (71) und Phenole (45) die mengenmäßig vorherrschenden Gruppen dar. Wichtige Beiträge zur Identifizierung leisteten Studien von *Gianturco und Friedel* (1963), *Gianturco et al.* (1963; 1964a; 1964b; 1966), *Bondarovich et al.* (1967), *Stoll et al.* (1967), *Stoffelsma et al.* (1968), *Vitzthum und Werkhoff* (1974; 1976), *Tressl und Silwar* (1981), sowie von *Flament* (1983). Den Gesamtgehalt flüchtiger Verbindungen in Röstkaffee bestimmten *Silwar et al.* (1987) mit ca. 800 mg/kg.

Eine Unterscheidung zwischen aromaaktiven und aromainaktiven Verbindungen wurde erstmals von *Holscher et al.* (1990) und *Blank et al.* (1992) mit Hilfe der Aromaextraktverdünnungsanalyse vorgenommen. Sie detektierten neben 2-Furfurylthiol,

das sie ebenfalls als Schlüsselaromastoff ansahen, über 60 geruchsaktive Verbindungen in Röstkaffee, von denen sie die meisten auch identifizieren konnten. Besonders verwiesen *Holscher et al.* (1990) dabei auf die erstmalige Identifizierung der schwefelhaltigen Verbindungen 3-Mercapto-3-methylbutylformiat, 2-Methyl-3-furanthiol, 3-Methyl-2-buten-1-thiol und 3-Mercapto-3-methyl-1-butanol, da diese nur in Spuren vorhanden waren und somit nur unter Anwendung der AEVA detektiert werden konnten. *Blank et al.* (1992) ermittelten durch Bestimmung der Geruchsschwellen in Luft auch die hohe Geruchsaktivität von 13 Verbindungen, die sie bei der AEVA mit den höchsten FD-Faktoren erhalten hatten: 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin, 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin, 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin, 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon, 5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon, 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon, 4-Ethyl-2-methoxyphenol, 4-Vinyl-2-methoxyphenol, (E)- β -Damascenon, 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, 2-Methyl-3-furanthiol und 2-Furfurylthiol.

Holscher und Steinhart (1992) sowie *Semmelroch und Grosch* (1995) wiesen zusätzlich die Bedeutung von Acetaldehyd, Propanal, Methylpropanal, 2- und 3-Methylbutanal, sowie 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion im Röstkaffee Aroma über die HRGC/O statischer Headspaceproben nach. Bei dieser wird ähnlich der AEVA das aus dem Gasraum über einem Lebensmittel entnommene Volumen stufenweise halbiert, bis über dem Sniffing-Port keine geruchsaktiven Substanzen mehr wahrgenommen werden können. Solche Verbindungen werden bei der AEVA aufgrund ihres unter bzw. geringfügig über dem Lösungsmittel liegenden Siedepunktes nicht erfasst bzw. diskriminiert (*Grosch*, 1996). *Czerny et al.* (1996) konnte die Liste aromapotenter Verbindungen in Röstkaffee schließlich durch 2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin und 2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin erweitern.

Eine Reihe von Arbeitsgruppen beschäftigte sich auch mit der Quantifizierung flüchtiger Verbindungen des Röstkaffees (*Rhoades*, 1960; *Radtke-Granzer und Piringner*, 1981; *Tressl*, 1979; *Tressl et al.*, 1978a; *Heinrich und Baltés*, 1987; *Silwar et al.*, 1987; *Tressl*, 1989). Mit der Stabilisotopenverdünnungsanalyse quantifizierten jedoch erstmals *Semmelroch et al.* (1995) und *Semmelroch und Grosch* (1996) 18 aromarelevante Verbindungen in Arabica- und Robusta-Kaffee, die aufgrund der Ergebnisse von *Blank et al.* (1992) ausgewählt wurden.

Das Prinzip der Stabilisotopenverdünnungsanalyse beruht auf der Verwendung dem Analytmolekül analoger, stabil-isotopenmarkierter (^2H , ^{13}C) interner Standards, deren Vorteile in den identischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften verglichen mit den Analyten liegen, wodurch sowohl identische Verluste bei Isolierung, Aufreinigung und Konzentrierung, als auch identische chromatographische Eigenschaften gewährleistet werden (*Gilbert, 1987*). Für die Konzentrationsbestimmung des Analyten werden die relativen Intensitäten charakteristischer Massenfragmente von Analyt und stabilisotopenmarkiertem Standard herangezogen.

Semmelroch und Grosch (1996) berechneten auf der Basis der quantitativen Daten in Verbindung mit den Geruchsschwellen der jeweiligen Referenzaromastoffe in Wasser (*Semmelroch, 1995*) weiterhin die Aromawerte (Tabelle 3). Mit diesen kann die Aromarelevanz einzelner Verbindungen unter Berücksichtigung der Lebensmittelmatrix bewertet werden (*Rothe und Thomas, 1963*). Dabei ist der Aromawert einer Verbindung definiert als Quotient ihrer Konzentration und ihrer Geruchsschwelle in einer bestimmten Matrix. Aromastoffe mit einem Aromawert größer gleich 1 liegen demnach in Konzentrationen vor, in denen sie geruchlich wahrgenommen werden und damit einen Beitrag zum Gesamtaroma leisten können. Ferner gibt der Aromawert an, um welchen Faktor eine Verbindung über ihrer Geruchsschwelle im Lebensmittel vorhanden ist (*Guadagni et al., 1966; Acree et al., 1984; Schieberle, 1991*).

Semmelroch und Grosch (1996) ermittelten anhand der berechneten Aromawerte (Tabelle 3) folgende Schlüsselaromastoffe: (E)- β -Damascenon, 2-Furfurylthiol, 3-Mercapto-3-methylbutylformiat und 3-Methyl-2-buten-1-thiol in beiden Sorten, sowie 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin in Arabica-Kaffee und 2-Methoxyphenol in Robusta-Kaffee. Der Robusta-Kaffee wies deutlich höhere Gehalte an Pyrazinen und Phenolen, sowie niedrigeren Konzentrationen von Furanonen, 2,3-Pentandion und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd auf.

Tabelle 3: Konzentrationen und Aromawerte potenter Aromastoffen in Arabica- und Robusta-Röstkaffee nach *Semmelroch et al.* (1995) und *Semmelroch und Grosch* (1996).

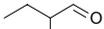
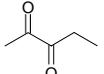
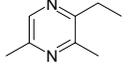
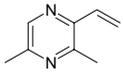
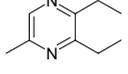
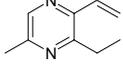
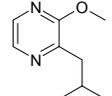
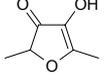
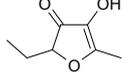
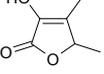
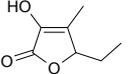
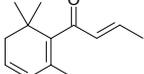
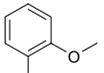
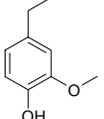
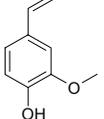
Verbindung	Gehalt in µg/kg		Aromawert	
	Arabica ^a	Robusta ^b	Arabica ^a	Robusta ^b
(E)-β-Damascenon	195	205	260.000	270.000
2-Furfurylthiol	1.080	1.730	110.000	170.000
3-Mercapto-3-methylbutylformiat	130	115	37.000	33.000
3-Methyl-2-buten-1-thiol	8,2	8,3	27.300	27.700
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	83	12	16.600	2.400
2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon	17.300	14.300	15.000	12.000
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	109.000	57.000	11.000	5.700
2,3-Butandion	50.800	47.800	3.390	3.190
4-Vinyl-2-methoxyphenol	64.800	178.000	3.200	8.900
2-Methoxyphenol	4.200	28.200	1.700	11.000
2,3-Pentandion	39.600	19.800	1.320	660
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	235	95	1.200	500
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	4.800	16.100	192	644
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	330	940	165	470
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	95	310	95	310
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	1.470	630	74	32
4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.630	18.100	32	362
5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon	160	85	21	11

^a Coffea arabica, Provenienz Columbia.

^b Coffea canephora var. robusta, Provenienz Indonesia.

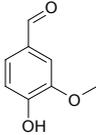
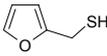
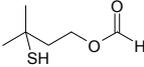
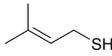
Czerny et al. (1999) gelang es schließlich, das Aroma von Röstkaffee anhand eines Aromamodells aus 28 Aromastoffen des gerösteten Kaffees (Tabelle 4) zu simulieren und mit Hilfe von sensorischen Tests die Bedeutung der einzelnen Aroma-Impact-Verbindungen für das Gesamtaroma zu bestimmen. Aufgrund der sensorischen Experimente wurden hauptsächlich 2-Furfurylthiol, 4-Vinyl-2-methoxyphenol, einige Alkylpyrazine, Furanone, Acetaldehyd, Propanal und die „malzig“ riechenden Streckeraldehyde als Schlüsselverbindungen ermittelt, während andere Schwefelverbindungen (z.B. 3-Methyl-2-buten-1-thiol, 3-Mercapto-3-methylbutylformiat) nur einen geringen Einfluss hatten.

Tabelle 4: Wichtige Aromastoffe im Rekombinat eines Röstkaffeepulvers nach Czerny *et al.* (1999).

Verbindung	Strukturformel	Geruch ^a
Acetaldehyd		fruchtig, stechend
Propanal		fruchtig
Methylpropanal		malzig
2-Methylbutanal		malzig
3-Methylbutanal		malzig
2,3-Butandion		nach Butter
2,3-Pentandion		nach Butter
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin		erdig, röstig
2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin		erdig, röstig
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin		erdig, röstig
2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin		erdig, röstig
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin		nach Erbse
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon		karamellartig
2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon		karamellartig
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon		würzig
5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon		würzig
(E)-β-Damascenon		nach gekochtem Apfel
2-Methoxyphenol		phenolisch
4-Ethyl-2-methoxyphenol		süß, phenolisch
4-Vinyl-2-methoxyphenol		nach Nelke

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Fortsetzung von **Tabelle 4**

Verbindung	Strukturformel	Geruch ^a
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd		nach Vanille
2-Methyl-3-furanthiol		nach Fleisch
Dimethyltrisulfid		nach Knoblauch
2-Furfurylthiol		nach Kaffee
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd		nach gekochter Kartoffel
3-Mercapto-3-methylbutylformiat		nach Katzenurin
3-Methyl-2-buten-1-thiol		schweflig
Methanthiol		schweflig

^a Geruchsbeschreibung bei der HRGC/O

Solche Aromamodelle werden zur Bestätigung der Aromarelevanz ermittelter Verbindungen in Bezug auf das Gesamtaroma herangezogen. Dabei wird die Äquivalenz der Aromaprofile des Lebensmittel und eines Aromamodells überprüft, das in einer dem Lebensmittel nachempfundenen Matrix das Gesamtaroma des Lebensmittels simuliert, basierend auf den nach dem Aromawertkonzept ermittelten Aromastoffen in den im Lebensmittel bestimmten Konzentrationen.

Für viele der Reaktionen, die zur Bildung von Aromastoffen während des Röstens führen, sind bereits Vorschläge gemacht (z.B. *Holscher und Steinhart*, 1994; *Reineccius*, 1996) und diese in Modellreaktionen verifiziert worden (*Baltes und Bochmann*, 1987; *Holscher et al.*, 1992; *Grosch et al.*, 1996; *Semmelroch und Grosch*, 1996; *Amrani-Hemaini et al.*, 1997). *Czerny und Grosch* (2000) untersuchten in diesem Zusammenhang die Veränderungen aromapotenter Verbindungen des Rohkaffees während der Röstung (Tabelle 5): 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, Furanone und Phenole wurden dabei durch den Röstprozess gebildet und stiegen in ihren Gehalten stark an; Pyrazine erwiesen sich z.B., wie schon von *Vitzthum et al.* (1976) postuliert, als thermisch sehr stabil. 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin, das damit potentiell zum Gesamtaroma von Röstkaffee beitragen kann (*Spadone und Liardon*, 1988;

Holscher und Steinhart, 1995), wird jedoch von anderen Aromastoffen des Röstkaffees maskiert, wie *Czerny et al.* (1999) in Aromamodellstudien zu Röstkaffee feststellten.

Tabelle 5: Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Roh- und Röstkaffee nach *Czerny und Grosch* (2000).

Verbindung	Gehalt in µg/kg ^a	
	Rohkaffee	Röstkaffee
2-Methylbutansäureethylester	2,4	3,9
3-Methylbutansäureethylester	22	14
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	22	213
2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin	0,5	1,1
3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	2,3	2,4
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	0,7	1.870
(Z)-2-Nonenal	< 0,3	< 0,3
(E)-2-Nonenal	12	19
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	97	97
4-Ethyl-2-methoxyphenol	21	4.060
4-Vinyl-2-methoxyphenol	117	39.000
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	82	3.290
(E)-β-Damascenon	< 0,3	255

^a Mittlerer Röstgrad, *Coffea arabica* var. *tippica*.

Weiterhin steigt der Gesamtgehalt aller flüchtigen Verbindungen mit der Röststärke um ca. das Doppelte an (*Kawakami et al.*, 1996). Die Konzentrationen schwefelhaltiger Verbindungen, z.B. Methanthiol (*Holscher und Steinhart*, 1992; *Mayer et al.*, 1999) oder 2-Furfurylthiol (*Parliament und Stahl*, 1994; *Mayer et al.*, 1999), sowie phenolische Verbindungen, z.B. 2-Methoxyphenol oder 4-Ethyl-2-methoxyphenol (*Tressl et al.*, 1978b; *Shibamoto et al.*, 1981; *Heinrich und Baltes*, 1987; *Mayer et al.*, 1999), nehmen kontinuierlich zu.

Auch für die leichtflüchtigen Carbonylverbindungen Acetaldehyd, Propanal, Methylpropanal, 2- und 3-Methylbutanal, 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion stellten sowohl *Rhoades* (1960) als auch *Mayer et al.* (1999) eine Zunahme mit der Röststärke fest, während *Shibamoto et al.* (1981), sowie *Holscher und Steinhart* (1992) im Ge-

gensatz dazu deutliche Konzentrationsabnahmen dieser Verbindungen mit zunehmendem Röstgrad verzeichneten, was sie mit der sensorischen Beobachtung korrelierten, dass das Kaffeearoma durch die Röstung von der Butternote, die durch beide Dione verursacht wird, zum verbrannten bzw. schwefligen Aroma wechselt.

Widersprüchlich sind auch die Ergebnisse über das Verhalten von Pyrazinen während der Röstung. Während *Yamanishi* (1981) eine kontinuierliche Zunahme für Pyrazin ermittelte, konnten *Mayer et al.* (1999) keine signifikanten Veränderungen in den Gehalten von verschiedenen Alkylpyrazinen (vgl. Tabelle 4, Nr. 8-11) bei unterschiedlichen Röstgraden feststellen.

Neben weiteren Untersuchungen über Aromastoffveränderungen in Abhängigkeit vom Röstgrad (z.B. *Hashim und Chaveron*, 1996; *Kawakami et al.*, 1996; *Wöhrmann et al.*, 1997) existiert auch eine Vielzahl an Arbeiten über die Differenzierung von Arabica- und Robusta-Kaffee, sowie verschiedener Provenienzen anhand ihrer Aromastoffgehalte (z.B. *Mayer et al.*, 1999), ebenso wie Arbeiten über den Einfluss von Lagerung und Verpackung auf das Röstkaffeearoma (z.B. *Czerny und Schieberle*, 2001). Eine Betrachtung von Aromastoffunterschieden zwischen Röstkaffees aus nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee wurde dagegen bislang nicht durchgeführt.

1.6.3 Aromastoffe im Kaffegetränk

Das Aroma des Kaffegetränks verändert sich bei seiner Herstellung deutlich gegenüber dem Aroma des Röstkaffees. Dabei findet eine Verschiebung des Geruchseindrucks von einer schweflig-röstigen in eine mehr karamellartige, phenolische und butterartige Note statt (*Mayer et al.*, 2000), die jedoch nicht durch die Bildung neuer Aromastoffe (*Deibler et al.*, 1998), sondern durch eine Konzentrationsverschiebung der vorhandenen aromapotenten Verbindungen durch die Extraktion (*Semmelroch und Grosch*, 1996) verursacht werden soll.

Ein Vergleich der Aromaextraktverdünnungsanalysen von Röstkaffee und dem daraus hergestellten Kaffegetränk (*Blank et al.*, 1992) zeigte, dass im Getränk die FD-Faktoren der Verbindungen 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-3(5H)-furanon, 4-Hydroxy-4,5-

dimethyl-3(2H)-furanon, 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd deutlich höher und die Verbindungen 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin, 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin, 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin, 2-Methyl-3-furanthiol 3-Mercapto-3-methylbutylformiat und 2-Furfurylthiol deutlich niedriger lagen. Sowohl *Semmelroch und Grosch* (1996) als auch *Mayer et al.* (2000) belegten diese Ergebnisse durch quantitative Daten und die Bestimmung der Extraktionsraten, die für Furanone, Phenole, Acetaldehyd, 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion sehr hoch (größer 75 %) und für relativ unpolare Verbindungen wie Pyrazine, (E)- β -Damascenon oder das instabile 2-Furfurylthiol sehr niedrig (kleiner 25 %) waren (Tabelle 6).

Semmelroch und Grosch (1996) gelang es auch, das Aroma des Kaffeegetränks unter Verwendung von 22 Verbindungen, die sie im Getränk von Arabica- und Robusta-Kaffee als aromarelevant detektiert (*Semmelroch und Grosch*, 1995) und deren Gehalte sie bestimmt hatten, in einem Aromamodell zu simulieren. *Mayer et al.* (2000) verwendete ein Aromamodell aus 24 Aromastoffen des Kaffeegetränks, um mit Hilfe von sensorischen Tests die Bedeutung der einzelnen Aroma-Impakt-Verbindungen für das Gesamtaroma herauszustellen. Die Autoren schlussfolgerten, dass das Getränkaroma hauptsächlich durch einige Alkylpyrazine, Furanone, Phenole, 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, 3-Mercapto-3-methylbutylformiat und 2-Furfurylthiol bestimmt wird.

Im Weiteren wird allgemein akzeptiert, dass die nasse Aufbereitung des Rohkaffees im Gegensatz zu der trockenen zu einer besseren Kaffeearomaqualität des Kaffeegetränks führt (*Illy und Viani*, 1995), ohne dass derzeit die genauen Ursachen oder die für den Unterschied verantwortlichen Aromakomponenten bekannt wären. Die traditionelle Erklärung für die geringere Qualität von trocken aufbereitetem Kaffee liegt dabei in der weniger sorgfältigen Ernte, Auswahl und Behandlung der Kaffeekirschen gegenüber der nassen Aufbereitung, was auf den ersten Blick eine schlüssige Erklärung zu sein scheint. Diese Sichtweise begründet jedoch nicht, warum der Kaffee aus nasser Behandlung bei sensorischer Untersuchung von Proben identischer Herkunft, die mit gleicher Sorgfalt parallel nass bzw. trocken aufbereitet wurden, dennoch eindeutig bessere Qualitäten erzielte (*Wootton*, 1963, 1966, 1973; *Chassevent et al.*, 1970; *Vincent et al.*, 1979).

Tabelle 6: Konzentrationen von potenten Aromastoffen in Röstkaffeepulver und dem daraus hergestellten Kaffeegetränk, sowie berechnete Extraktionsausbeuten nach *Mayer et al.* (2000).

Verbindung	Gehalt		Extraktionsausbeute ^a
	Pulver in µg/kg	Getränk in µg/l	
Acetaldehyd	120.000	4.700	73
Methylpropanal	24.000	760	59
2-Methylbutanal	26.000	870	62
3-Methylbutanal	17.000	570	62
2,3-Butandion	49.000	2.100	79
2,3-Pentandion	35.000	1.600	85
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	400	17	79
2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin	53	1,0	35
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	100	3,6	67
2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin	15	0,2	25
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	120	1,5	23
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	140.000	7.200	95
2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon	16.000	800	93
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	1.900	80	78
(E)-β-Damascenon	260	1,6	11
2-Methoxyphenol	2.400	120	65
4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.800	48	49
4-Vinyl-2-methoxyphenol	45.000	740	30
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	4.100	210	95
2-Furfurylthiol	1.700	17	19
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	250	10	74
3-Mercapto-3-methylbutylformiat	130	5,7	81
2-Methyl-3-furanthiol	60	1,1	34
3-Methyl-2-buten-1-thiol	13	0,6	85
Methanthiol	4.400	170	72

^a Berechnet aus der Verwendung von 54 g Kaffeepulver zur Herstellung von 1 l Kaffeegetränk.

1.6.4 Aromafehler

Zahlreiche Untersuchungen wurden auch zu verschiedenen, im Rohkaffee auftretenden Aromafehlern (off-flavours) durchgeführt, die sich auf das Aroma des daraus hergestellten Röstkaffees bzw. Kaffeegetränks übertragen können und insbesondere letzteres in seiner Qualität erheblich mindern.

So konnten *Spadone und Liardon* (1988) und *Spadone et al.* (1990) im Rohkaffee den Rio-off-flavour auf 2,4,6-Trichloranisol, das intensiv schimmelig riecht, zurückführen. *Cantergiani et al.* (2001) machten 2-Methylisoborneol und Geosmin neben 2,4,6-Trichloranisol für ein erdig-schimmeliges Fehl aroma in mexikanischem Kaffee verantwortlich, deren Auftreten sie mit der trockenen Aufbereitung der Kaffeebohnen verbanden, da sie die Verbindungen in nass aufbereitetem Rohkaffee nicht feststellen konnten.

Becker et al. (1988) zeigten, dass der in einigen Chargen von geröstetem, ostafrikanischem Kaffee auftretende Erbsengeruch-off-flavour, auch „potato taste“ (*Bouyjou et al.*, 1999) genannt, durch das bereits im Rohkaffee vorhandene an 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin verursacht wird, falls dessen Konzentrationen zu hoch sind.

Durch HRGC/O wurde auch das Aroma sogenannter „Stinker-Bohnen“ aufgeklärt (*Guyot et al.*, 1983). In den Fehl aromabohnen konnten im Vergleich zu einem off-flavour freien Rohkaffee zehn zusätzliche Verbindungen, insbesondere Ester identifiziert werden. 2-Methylbutansäureethylester und 3-Methylbutylacetat wurden dabei mit einem starken Geruchseindruck wahrgenommen und für das Fehl aroma verantwortlich gemacht. Auch *Bade-Wegner et al.* (1997) führten den vor allem bei der nassen Aufbereitung durch Überfermentation auftretenden Aromafehler von „Stinker-Bohnen“ auf 2- und 3-Methylbutansäureethylester, sowie Cyclohexansäureethylester zurück. Wie sie feststellten, nahmen diese Verbindungen zwar bei Röstung und Zubereitung des Kaffeegetränks in ihrer Konzentration ab, blieben jedoch aromawirksam, was sie durch Berechnung der Aromawerte zeigten. Weiterhin konnten sie belegen, dass erhöhte Bohnenfeuchtigkeit und Temperaturen die Bildung des off-flavours begünstigen, der nicht nur bei fehlerhafter nasser Aufbereitung (Überfermentation) entsteht, sondern auch zum ersten Mal bei trocken aufbereiteten Bohnen be-

schrieben wurde. Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, dass Mikroorganismen an der Bildung des off-flavours beteiligt sind.

Full et al. (1999) fanden heraus, dass ein durch Ester (2- und 3-Methylbutansäureethylester, Hexansäureethylester und 2-Methyl-(2)-butensäureethylester) verursachtes fruchtiges Fehlroma bei trocken aufbereiteten Bohnen durch die elektronische Aussortierung defekter Bohnen vor der Aufbereitung vermieden werden kann. Da bei nass aufbereiteten Bohnen bereits eine Sortierung im Schwemmkanal und den Pulpern stattfindet, trat bei diesen das Fehlroma nicht auf.

1.7 Problemstellung

Die Kaffeepflanze weist hinsichtlich der Samenkeimung folgende botanische Besonderheiten auf: Der Kaffeebohne wird eine intermediäre Stellung zwischen rekalzitran-ten und orthodoxen Samen zugeordnet, d.h. sie legen keine durch Reifetrocknung eingeleitete Samenruhe ein, und es erscheint somit sehr wahrscheinlich, dass die Keimung initiiert wird, noch während sich die Früchte im Endstadium der Fruchtentwicklung befinden. Folglich sollten geerntete Kaffeebohnen, die der Aufbereitung unterworfen werden, keine ruhenden Samen repräsentieren, sondern vielmehr sich entwickelnde Keimlinge. Wesentliche Kennzeichen eines Samens im Entwicklungszustand der Keimung sind eine erhöhte Respirationsrate, sowie die Mobilisierung der Speicherstoffe. Diese physiologischen Prozesse sollten somit eine Auswirkung auf die Konzentration der Aroma-Vorstufen haben - und damit auch auf die Kaffeequali-tät. Entsprechend scheinen vorhandene Diskrepanzen (*Vincent et al.*, 1979) zwi-schen unterschiedlich aufbereiteten Rohkaffees die Folge distinkter Entwicklungssta-dien im Verlauf der Kaffee-Samenkeimung zu sein, da die verschiedenartigen Aufbe-reitungsprozeduren geeignet sind, die Keimung in unterschiedlichem Ausmaß zu be-einflussen (*Bytof et al.*, 2000).

Unter Berücksichtigung dieser physiologischen und biochemischen Vorgänge, die in der lebenden Kaffeebohne während der Nachernte-Behandlung stattfinden, scheint eine Auswirkung der technologisch unterschiedlichen Aufbereitungen von Rohkaffee auf die Aromaqualität des Kaffees als sehr wahrscheinlich. In Verbindung mit der Feststellung, dass die nasse Aufbereitung das Kaffeearoma positiv beeinflussen soll (*Illy und Viani*, 1995), wäre auch eine Verbesserung der trockenen Aufbereitung von Interesse, um die Qualität solcher Art hergestellter Rohkaffeebohnen zu steigern. Zu diesem Zweck ist es jedoch notwendig, die genauen Auswirkungen und Ursachen der Qualitätsunterschiede zu kennen, d.h., die für einen Unterschied verantwortlichen Aromakomponenten.

Um diese Kenntnisse zu erlangen, sollen in dieser Arbeit die Qualitätsunterschiede von kontrolliert aufbereiteten Kaffeeproben aus unterschiedlichen Nacherntebehandlungen sowohl bei Rohkaffee als auch bei Röstkaffee (nach äquivalenter Röstung) bzw. dem Kaffeegetränk sensorisch und anhand von qualitativen und quantitativen Untersuchungen der Aroma-Impakt-Verbindungen objektiviert werden. Für ein besse-

res Verständnis der Veränderungen während der Aufbereitung sollten dabei auch Untersuchungen an unbehandeltem, d.h. nicht getrocknetem Rohkaffee und an bei der Aufbereitung ausgesonderten Kaffeebohnen vorgenommen werden.

Im Weiteren sollte im Zusammenhang mit der genannten Problematik die Verwendbarkeit der kürzlich in der Analytik flüchtiger Verbindungen eingeführten Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) in Verbindung mit der Aromastoffanalytik, im speziellen der Isotopenverdünnungsanalyse, getestet werden (vgl. 3.9). Diese Methode, deren Prinzip auf einer absorptiven Extraktion der zu untersuchenden Verbindungen an eine Polydimethylsiloxan-Phase (PDMS) beruht, sollte zur Quantifizierung von Aromastoffen im Kaffeegetränk genutzt werden können, um Unterschiede schnell, einfach und lösungsmittelfrei an größeren Probenmengen nachzuweisen.

2 Ergebnisse

Um die Unterschiede im Aroma von nass und trocken aufbereitetem Kaffee zu relativieren und die Entstehung bzw. Veränderung von Aromastoffen im Verlauf der Kaffeeverarbeitung zu verfolgen, wurde aus einer Kaffeecharge jeweils nass und trocken aufbereiteter Rohkaffee, Röstkaffee und Kaffeegetränk hergestellt. Alle Proben wurden durch Anwendung von sensorischen Methoden, vergleichenden Aromaverdünnungstechniken und der Bestimmung quantitativer Daten von Aroma-Impakt-Verbindungen charakterisiert und die ermittelten Ergebnisse miteinander verglichen. Für weitere Erkenntnisse über die Herkunft der in der Aufbereitung beruhenden Differenzen des Kaffeearomas wurde auch ein unbehandelter, d.h. weder nass noch trocken aufbereiteter Kaffee in die Untersuchungen mit einbezogen.

Alle angegebenen Daten beziehen sich dabei, falls nicht anders vermerkt, auf die hauptsächlich als Untersuchungsmaterial verwendeten Kaffeekirschen des Jahres 2001 aus Peru, die zu unbehandeltem Rohkaffee (**Peru 2001 Ub**) verarbeitet, sowie kontrolliert nass bzw. trocken aufbereitet (**Peru 2001**) und anschließend äquivalent geröstet wurden. Weitere Chargen aus den Jahren 2000 und 2001 von nass und trocken aufbereitetem Kaffee aus Brasilien (**Brasilien 2000** bzw. **Brasilien 2001**) standen zur Verifizierung der ermittelten Ergebnisse zur Verfügung.

2.1 Aromastoffe in Rohkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung

2.1.1 Sensorische Beurteilung

Am Beginn der Arbeiten wurden Dreiecksprüfungen durchgeführt, um die Unterscheidbarkeit der verschiedenen Aufbereitungen des Kaffees zu überprüfen. Zur Konkretisierung eines möglichen Aromaunterschieds wurden anschließend Aromaprofile der einzelnen Aufbereitungen erstellt und diese miteinander verglichen.

Prüfung auf Unterscheidbarkeit

Die sensorische Prüfung auf Unterscheidbarkeit wurde mit Hilfe von Dreiecksprüfungen (Triangel-Tests) durchgeführt. Das Sensorik-Panel musste dabei in jeweils zwei

voneinander unabhängigen Versuchsreihen an unterschiedlichen Tagen nach der „Forced-Choice-Technik“ die abweichende nass bzw. trocken aufbereitete Probe unter zwei jeweils trocken bzw. nass aufbereiteten Proben erkennen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: Ergebnisse von Triangel-Tests mit nass gegenüber trocken aufbereitetem Rohkaffee aus Peru und Brasilien.

Rohkaffee ^a	Teilnehmer	Richtig	Falsch	Signifikanz
Peru 2001	12	12	0	hoch signifikant, $\alpha < 0,001$
Brasilien 2000	10	10	0	hoch signifikant, $\alpha < 0,001$

^a Angegebene Daten entstammen jeweils zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

Sowohl nass und trocken aufbereitete Kaffees aus Peru, sowie auch aus Brasilien, konnten hoch signifikant ($\alpha < 0,001$) voneinander unterschieden werden, wobei die jeweils abweichende Probe von allen Teilnehmern richtig erkannt und die Abweichung als „sehr deutlich“ beschrieben wurde. Die Unterscheidbarkeit war damit für Rohkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung auch in verschiedenen Proben gegeben.

Eine Unterscheidung von unbehandeltem gegenüber nass oder trocken aufbereitetem Rohkaffee konnte aufgrund der geringen Menge an unbehandeltem Probenmaterial nicht im Triangel-Test überprüft werden.

Aromaprofilanalyse

Für die Aromaprofilanalyse der unterschiedlich aufbereiteten Rohkaffees fertigte das Sensorik-Panel im Vorfeld eine Stoffsammlung an, die alle von den 12 Teilnehmern in den Proben detektierten Aromaqualitäten umfasste. Alle mehrfach genannten Geruchseindrücke wurden anschließend mit Vergleichsaromastoffen korreliert und zur Erstellung des Aromaprofils in ihrer Intensität bewertet (Tabelle 8), wobei die Referenzverbindungen bei der Bewertung als Vergleiche zur Verfügung standen.

Tabelle 8: Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung oder -substanz.

Aromaqualität	Na	Tr	Ub	Referenzverbindung
fruchtig	0,2 ^a	1,8	0,6	2-Methylbutansäureethylester
nach Essig	0,1	1,8	0,5	Ethansäure
nach Honig	0,2	1,0	0,5	Phenylacetaldehyd
malzig	0,7	1,3	0,8	2-Methylbutanal
nach Kakao	0,2	1,3	0,4	Kakaobohnen
nach Gras	1,3	1,1	1,7	Hexanal
nach Paprika	1,8	1,2	2,1	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin
heuartig	1,7	1,1	1,5	Heu
erdig	0,9	0,5	0,9	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin
citrusartig	0,4	1,0	0,3	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol
schweißig	0,2	0,5	0,5	3-Methylbutansäure

^a Durchschnittliche Intensität auf einer Skala zwischen 0 (nicht wahrnehmbar) und 3 (stark wahrnehmbar).

Im Aromaprofil des nass aufbereiteten Rohkaffees traten besonders die paprika-, gras- und heuartige Note mit durchschnittlichen Intensitäten von 1,3 bis 1,8 hervor. Eine malzige und eine erdige Note war mit 0,7 bzw. 0,9 noch sehr schwach wahrnehmbar, während alle anderen Aromaeindrücke vom Sensorik-Panel kaum oder gar nicht detektiert werden konnten (kleiner 0,5).

Im Gegensatz dazu dominierten im trocken aufbereiteten Rohkaffee die Aromaqualitäten „fruchtig“ und „nach Essig“ mit einer Intensität von 1,8. Auch die Geruchseindrücke „citrusartig“ (1,0), „nach Honig“ (1,0), „malzig“ (1,3) und „nach Kakao“ (1,3) waren gut wahrzunehmen und bestimmten den Gesamtaromaeindruck mehr als die paprika-, gras- und heuartige Note, die im Vergleich zu nass aufbereitetem Rohkaffee um bis zu 36 % schwächer bewertet wurde. Ebenso war ein erdiger Geruchseindruck kaum mehr zu detektieren, wogegen eine schwache schweißige Note (0,5) festgestellt werden konnte.

Der unbehandelte Rohkaffee entsprach größtenteils dem nass aufbereiteten Rohkaffee, wobei gras- (1,7) und paprikaartig (2,1) gegenüber der heuartigen Note (1,5) noch stärker zum Vorschein kam. Die Aromaqualitäten „fruchtig“ und „nach Essig“ traten nicht deutlich auf.

Im Gesamtbild konnten die drei Proben gut voneinander unterschieden werden (Abbildung 8), wobei sich trocken aufbereiteter Rohkaffee durch sein fruchtiges, essig- und kakaoartiges Aroma deutlich vom heuartigen, nass aufbereiteten und dem ähnlich, aber mehr nach Gras riechenden, unbehandelten Rohkaffee abhob.

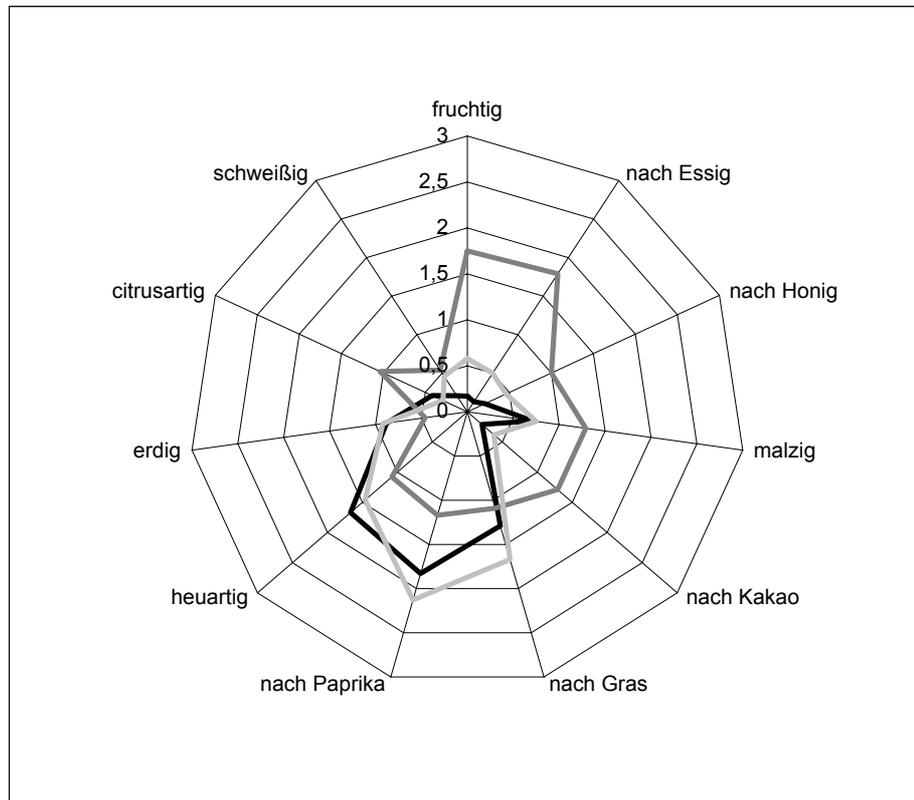


Abbildung 8: Aromaprofilanalysen von Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (—), trocken (—) und unbehandelt (—).

2.1.2 Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse

Um die in den Aromaprofilen festgestellten sensorischen Unterschiede auf eine substanzspezifische Basis zu bringen, wurden mit den Gesamtfractionen der Aromaextrakte des Rohkaffees parallel Aromaextraktverdünnungsanalysen durchgeführt, wobei die Ergebnisse der einzelnen Analysen auf den verwendeten unterschiedlichen Kapillarsäulen (DB-FFAP und DB-5) anschließend jeweils miteinander vereint wurden. Die in Tabelle 9 angegebenen Verbindungen konnten dabei durch Vergleich mit Referenzverbindungen anhand ihrer Retentionsindices (RI) auf zwei Kapillarsäulen

unterschiedlicher Polarität, ihrer Geruchsqualität und Massenspektren (MS-EI bzw. MS-CI) identifiziert werden.

Tabelle 9: Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 8) in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Nr.	Verbindung ^a	RI auf		Geruchsqualität	FD-Faktor ^d in		
		FFAP	DB-5		Na	Tr	Ub
1	2-Methylpropansäureethylester	965	748	fruchtig	< 1	64	2
2	2,3-Butandion	977	< 600	nach Butter	4	8	4
3	Unbekannt	1020	740	malzig	4	16	8
4	2-Methylbutansäureethylester	1048	851	fruchtig	1	128	4
5	3-Methylbutansäureethylester	1065	851	fruchtig	1	128	8
6	Hexanal	1081	800	nach Gras	32	16	16
7	Unbekannt	-	900	fruchtig	< 1	8	2
8	3-Methylpentansäureethylester	1183	960	fruchtig	< 1	8	< 1
9	1-Octen-3-on	1300	975	nach Pilz	32	16	32
10	3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	1428	1094	grün	64	128	64
11	2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin	1430	1056	erdig	64	128	128
12	Ethansäure	1448	628	nach Essig	< 1	32	< 1
13	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd ^c	1461	903	nach gekochter Kartoffel	4	1	256
14	(Z)-2-Nonenal ^b	1495	1148	fettig, grün	1	1	8
15	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	1521	1188	nach Paprika	128	256	256
16	(E)-2-Nonenal	1535	1158	fettig, grün	8	8	4
17	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	1545	1100	citrusartig	< 1	8	< 1
18	(E,Z)-2,6-Nonadienal	1586	1150	nach Gurke	8	8	8
19	Phenylacetaldehyd	1646	1040	nach Honig	4	4	64
20	2-/3-Methylbutansäure	1667	865	schweißig	4	4	32
21	Unbekannt	1718	1241	nach Anis	8	8	4
22	Unbekannt	1718	1312	nach Anis	16	16	8
23	(E)- β -Damascenon ^c	1821	1385	nach gekochtem Apfel	16	32	2
24	4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	2596	1396	nach Vanille	1	1	8

^a Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, MS-EI und der Geruchsqualität.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich ihrer Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen und ihrer Geruchsqualitäten mit identischen Referenzverbindungen identifiziert.

^c wie b, zusätzlich MS-CI.

^d Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 8 in mindestens einer Probe aufwiesen.

Als Ergebnis wurden bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse von nass aufbereitetem Rohkaffee zehn Substanzen mit hohen FD-Faktoren (≥ 8) detektiert. Den höchsten FD-Faktor wies 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin auf, dessen intensiver Geruch nach Paprika sich für den nass aufbereiteten Rohkaffee als charakteristisch zeigte. Bei den anderen Substanzen handelte es sich hauptsächlich um Verbindungen mit grünem (3-Isopropyl-2-methoxypyrazin), gras- (Hexanal), gurken- ((E,Z)-2,6-Nonadienal) oder paprikaartigem (3-Isobutyl-2-methoxypyrazin) Geruchseindruck. Weitere wichtige Aromaten waren eine erdige (2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin) und eine nach Pilz (1-Octen-3-on) riechende, sowie in schwächerem Maße zwei unbekannt anisartigen Verbindungen (21, 22) und (E)- β -Damascenon.

Auch im trocken aufbereiteten Rohkaffee konnten alle, schon im entsprechend nass aufbereiteten Rohkaffee mit hohen FD-Faktoren detektierten Verbindungen mit ähnlichen Intensitäten ermittelt werden. Abweichungen betrug dabei höchstens eine Verdünnungsstufe. Zusätzlich stachen jedoch weitere Verbindungen mit hohen FD-Faktoren (≥ 8) hervor, wie eine Reihe fruchtig riechender Ester, darunter 2-Methylpropansäureethylester, 2- und 3-Methylbutansäureethylester, sowie Ethansäure (nach Essig) und das citrusartige 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol.

Der unbehandelte Rohkaffee entsprach in seinen Geruchseindrücken und deren Intensitäten im Großen und Ganzen dem nass aufbereiteten Rohkaffee. Die für den trocken aufbereiteten Rohkaffee typischen fruchtigen Verbindungen, sowie Ethansäure, konnten nur sehr schwach oder gar nicht detektiert werden. Im Gegensatz zu den beiden Aufbereitungen wiesen jedoch das honigartige Phenylacetaldehyd, die schweißige 2-/3-Methylbutansäure und vor allem das nach gekochter Kartoffel riechende 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd hohe Intensitäten auf, während (E)- β -Damascenon kaum zu detektieren war. Insgesamt konnte also auch der unbehandelte Rohkaffee mit Hilfe der Aromaextraktverdünnungsanalyse gut von den beiden Aufbereitungen unterschieden werden.

2.1.3 Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse

In Ergänzung zu den Aromaextraktverdünnungsanalysen wurden Headspaceverdünnungsanalysen durchgeführt, um mögliche Unterschiede zwischen leichtflüchtigen geruchsaktiven Verbindungen zu ermitteln, die bei der AEVA nicht erfasst wurden. Die Identifizierung der detektierten Verbindungen erfolgte dabei ebenfalls durch Vergleich mit Referenzverbindungen anhand ihrer Retentionsindices (RI), ihrer Geruchsqualität und Massenspektren (MS-CI).

Die Ergebnisse (Tabelle 10) zeigten, dass im Vergleich zur AEVA keine weiteren geruchsaktiven, leichtflüchtigen Substanzen ermittelt werden konnten. Die mit hohen FD-Faktoren (≥ 8) detektierten Verbindungen bestätigten jedoch die bei der AEVA gefundenen Unterschiede sehr eindeutig. So wurden ausschließlich im trocken aufbereiteten Kaffee die fruchtig riechenden Ester 2- und 3-Methylbutansäureethylester, so wie 2-Methylpropansäureethylester und im unbehandelten Rohkaffee das nach gekochter Kartoffel riechende 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd gefunden, jeweils mit hohen Intensitäten, während 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin (grün) oder 1-Octen-3-on (nach Pilz) keine Unterschiede in den ermittelten FD-Faktoren aufwiesen.

Tabelle 10: Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Nr. ^a	Verbindung ^b	RI auf	Geruchsqualität	FD-Faktor ^c in		
		RTX-5, 60 m		Na	Tr	Ub
1	2-Methylpropansäureethylester	748	fruchtig	< 1	32	< 1
4	2-Methylbutansäureethylester	841	fruchtig	< 1	64	< 1
5	3-Methylbutansäureethylester	850	fruchtig	< 1	64	< 1
13	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	906	nach gekochter Kartoffel	< 1	< 1	64
9	1-Octen-3-on	975	nach Pilz	8	8	8
10	3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	1094	grün	64	64	64

^a Die Nummern beziehen sich auf Tabelle 9.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf der in der Tabelle angegebenen Kapillarsäule, MS-CI und der Geruchsqualität.

^c Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, erhalten durch Division des größten analysierten Headspace-Volumens von 20 ml durch das kleinste, in dem der Aromastoff bei der HRGC/O noch detektiert werden konnte. Aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 8 in mindestens einer Probe aufwiesen.

2.1.4 Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe

Um die bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse ermittelten Unterschiede quantitativ zu belegen, wurden für die quantitative Bestimmung mittels Isotopenverdünnungsanalyse alle aromaaktiven Substanzen ausgewählt, die bei der vergleichenden AEVA Unterschiede aufwiesen, sowie zusätzlich die Streckeraldehyde 2-Methylpropanal und 2- und 3-Methylbutanal, die in Anbetracht ihrer Bedeutung für das Röstkaffee Aroma und der deutlich erhöhten FD-Faktoren von 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd und Phenylacetaldehyd in der unbehandelten Probe auf eine mögliche Korrelation hin untersucht wurden.

Die Analyse von nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee (Tabelle 11) ergab Gehalte von 27 µg pro Kilogramm trocken aufbereitetem Rohkaffee (berechnet auf die Trockenmasse) für 2-Methylpropansäureethylester, 59 µg / kg für 2- und 287 µg / kg für 3-Methylbutansäureethylester, die damit um den Faktor 30-300 in Bezug auf die unterhalb der Bestimmungsgrenze von 1,0 µg / kg liegenden Esterkonzentrationen im nass aufbereiteten Rohkaffee erhöht waren.

Tabelle 11: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Verbindung	Gehalt in µg/kg Rohkaffee ^a		
	Na	Tr	Ub
2-Methylpropansäureethylester	< 1,0	26,7	< 1,0
2-Methylbutansäureethylester	< 1,0	59,2	< 1,0
3-Methylbutansäureethylester	< 1,0	287	2,2
Ethansäure	5.870	600.000	18.100
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	4,8	3,0	87,3
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	29,3	49,8	38,2
Phenylacetaldehyd	62,0	42,3	1.051
2-/3-Methylbutansäure	533	1.273	6.743
(E)-β-Damascenon	0,9	1,4	< 0,5
2-Methylpropanal	1.127	1.402	1.841
2-Methylbutanal	432	568	731
3-Methylbutanal	280	244	421

^a Die angegebenen Werte sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung und beziehen sich auf das Trockengewicht.

Ebenso betrug der Gehalt an Ethansäure mit 600 mg / kg das 100-fache der Ethansäurekonzentration bei nass aufbereitetem Rohkaffee, während z.B. 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin als bedeutendste Aromakomponente von Rohkaffee keine größeren Konzentrationsunterschiede in den unterschiedlich aufbereiteten Rohkaffees zeigte.

Der unbehandelte Rohkaffee, der in Bezug auf die Gehalte an Estern und Ethansäure dem nass aufbereiteten Rohkaffee entsprach, hob sich dagegen durch hohe Gehalte an 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd (87,3 µg / kg), Phenylacetaldehyd (1051 µg / kg) und 2-/3-Methylbutansäure (6743 µg / kg) ab, die damit um das gut 20- bzw. 6 bis 10fache für 2-/3-Methylbutansäure über den ermittelten Werten in den beiden aufbereiteten Rohkaffees lagen. Die Gehalte der zusätzlich untersuchten Streckeraldehyde 2-Methylpropanal und 2- und 3-Methylbutanal waren im unbehandelten Rohkaffee gegenüber den aufbereiteten Rohkaffees nur leicht erhöht.

2.1.5 „Floaters“ und unreife Kirschen

Bei der nassen Aufbereitung von Rohkaffee werden an verschiedenen Stellen des Prozesses sogenannte „Fehlbohnen“ aussortiert, die bei einer trockenen Aufbereitung oft im Rohkaffee verbleiben. Darunter fallen „Floaters“, auch „Boias“ genannt, rohe Kaffeebohnen, die anhand ihres spezifischen Gewichtes im Wasserbad aussortiert werden, und unreife Kirschen, „Verde“, die aufgrund ihrer Festigkeit bei der Entpulpung einen Rost nicht passieren können. Beide Produkte wurden bei der Aufbereitung eines brasilianischen Rohkaffees aus dem Jahr 2002 (**Brasilien 2002**) entnommen, im weiteren trocken aufbereitet und in dieser Arbeit untersucht, um Rückschlüsse zum Einfluss der Sortierungsschritte und damit den möglichen Einfluss dieser Fehlbohnen auf den Estergehalt des trocken aufbereiteten Rohkaffees ziehen zu können.

Aromaprofilanalyse

Von beiden Rohkaffeeprodukten wurde ein Aromaprofil nach denselben Kriterien erstellt, die bereits für die Aromaprofilanalyse des Rohkaffees unterschiedlicher technologischer Aufbereitung (vgl. 2.1.1) angewendet wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 und Abbildung 9 dargestellt.

Tabelle 12: Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Rohkaffee (Brasilien 2002) verschiedener Aussortierung bei der technologischen Aufbereitung: „Floaters“ und „Verde“, unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung oder -substanz.

Aromaqualität	„Floaters“	„Verde“	Referenzverbindung
fruchtig	0,7 ^a	1,5	2-Methylbutansäureethylester
nach Essig	0,3	1,0	Ethansäure
nach Honig	0,6	0,8	Phenylacetaldehyd
malzig	1,3	0,8	2-Methylbutanal
nach Kakao	0,9	0,4	Kakaobohnen
nach Gras	1,0	1,7	Hexanal
nach Paprika	1,8	1,6	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin
heuartig	1,3	1,7	Heu
erdig	1,5	1,0	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin
citrusartig	0,2	0,8	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol
schweißig	0,4	0,5	3-Methylbutansäure

^a Durchschnittliche Intensität auf einer Skala zwischen 0 (nicht wahrnehmbar) und 3 (stark wahrnehmbar).

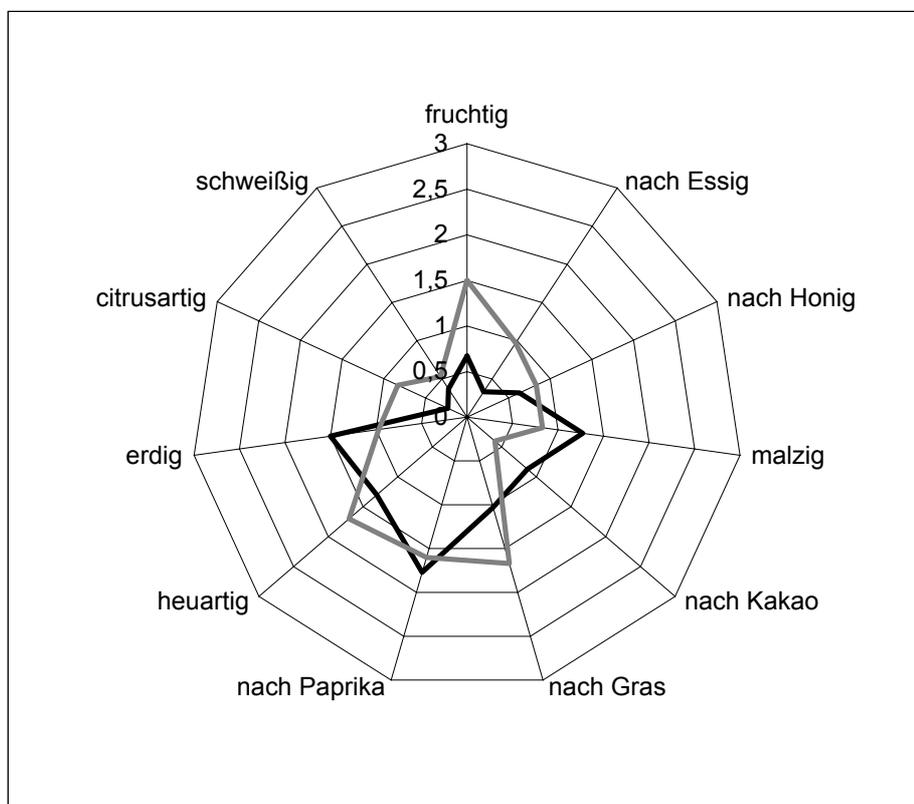


Abbildung 9: Aromaprofilanalyse von Rohkaffee: „Floaters“ (—) und „Verde“ (—).

Aus den Ergebnissen war ersichtlich, dass in den „Floatern“ die Aromaqualitäten „nach Paprika“, „erdig“, „heuartig“ und „malzig“ mit einer durchschnittlichen Intensität von 1,3-1,8 dominierten. Auch die Geruchseindrücke „nach Gras“ (1,0) und „nach Kakao“ (0,9) konnten noch gut wahrgenommen werden, während eine fruchtige Note (0,7) nur sehr schwach zu erkennen war. Insgesamt ähnelte das Aromaprofil damit dem des nass aufbereiteten Rohkaffees mit Ausnahme der deutlich stärkeren erdigen und malzigen Geruchseindrücke.

Im Aromaprofil der unreifen Bohnen traten sowohl die paprika-, gras- und heuartige Note mit durchschnittlichen Intensitäten zwischen 1,6 und 1,7 hervor, als auch eine deutlich fruchtige Note (1,5). Diese erinnerte in Kombination mit einem essigsauren (1,0) und leicht citrusartigen (0,8) Geruchseindruck an das Aromaprofil des trocken aufbereiteten Rohkaffees, auch wenn bei den unreifen Bohnen eine stärker erdige (1,0) und keine kakaoartige Note (0,4) vorhanden war.

Quantitative Daten

Da im Aromaprofil der unreifen Bohnen („Verde“), sowie in geringem Umfang in dem der „Floater“, ein fruchtiger Geruchseindruck aufgefallen war, wurden in beiden Proben die Ester 2-Methylpropansäureethylester und 2- und 3-Methylbutansäureethylester quantifiziert (Tabelle 13).

Tabelle 13: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Rohkaffee (Brasilien 2002) verschiedener Aussortierung bei der technologischen Aufbereitung: „Floaters“ und „Verde“.

Verbindung	Gehalt in µg/kg Rohkaffee ^a	
	„Floaters“	„Verde“
2-Methylpropansäureethylester	1,5	5,4
2-Methylbutansäureethylester	3,7	28,9
3-Methylbutansäureethylester	7,5	130,4

^a Die angegebenen Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung und beziehen sich auf das Trockengewicht.

Dabei ergaben sich unter anderem mit 130 µg / kg Rohkaffee für 3-Methylbutansäureethylester hohe Estergehalte in den unreifen Bohnen, die jedoch deutlich un-

terhalb der Werte des trocken aufbereiteten Rohkaffees lagen, während die „Floater“ nur sehr geringe Esterkonzentrationen aufwiesen.

2.2 Aromastoffe in Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung

Entsprechend dem Rohkaffee wurde nass und trocken aufbereiteter Röstkaffee bezüglich seiner Aromaqualität auf Unterschiede untersucht, wobei es galt, einerseits die bereits im Rohkaffee bestehenden Unterschiede und ihren Einfluss auf das Röstkaffee Aroma, andererseits durch die Röstung möglicherweise neu entstandene Aromainterschiede zu berücksichtigen.

2.2.1 Röstung

Wegen des großen Einflusses der Röstung auf das Röstkaffee Aroma war der wichtigste Punkt vor Beginn der Untersuchungen am Röstkaffee, eine einheitliche Röstung der unterschiedlich aufbereiteten Rohkaffees zu gewährleisten. Dazu wurde der Röstprozess auf einem Probenröster optimiert und ein Verfahren zur Bestimmung der Äquivalenz verschiedener Röstchargen eingeführt.

2.2.1.1 Röstbedingungen und Röstverlauf

Da das authentische Rohkaffee-Material nur in relativ geringen Mengen zur Verfügung gestellt werden konnte, musste in Vorversuchen zunächst die Röstung, die mit einem Probenröster (100 g Rohkaffee) durchgeführt wurde, an industrielle Verfahren angenähert werden. Dazu wurde ein Rohkaffee des Handels unter verschiedenen Bedingungen geröstet. Als optimal, bewertet als Gesamtaromaprofil, erwies sich dabei eine Röstzeit von sieben Minuten bei einer Starttemperatur von 330 °F, wobei nach fünf Minuten die Luftzufuhr erhöht wurde, um eine zu schnelle Überröstung zu verhindern. Weitere Parameter der Röstung sind im experimentellen Teil (vgl. 3.1.2), der Temperaturverlauf bei der Röstung in Abbildung 10 dargestellt.

Die Temperatur fiel dabei zu Beginn der Röstung durch Einbringung des kalten Probenmaterials stark ab, durchlief während der Aufheizphase der Bohnen ein flaches Tal und erreichte mit zunehmender Steigung schließlich die Endtemperatur der Röstung. Der kurzzeitige Abfall der Temperatur bei fünf Minuten und die daraus resultierende Verzögerung sind auf die Erhöhung der Luftzufuhr zurückzuführen.

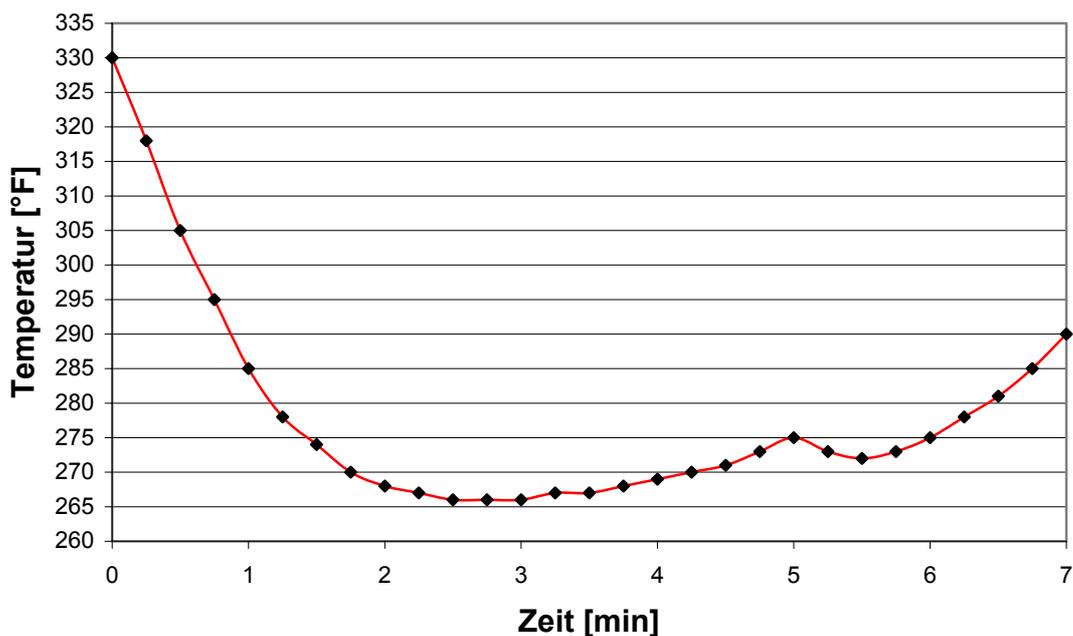


Abbildung 10: Temperaturverlauf bei der Röstung von 100 g Rohkaffee auf einem Probenröster Probat BRZ 4

Alle auf dem Probenröster gerösteten Rohkaffees (mit Ausnahme des unbehandelten Rohkaffees) konnten unter Anwendung genannter Röstbedingungen äquivalent geröstet werden, der erreichte Einbrand betrug bei den unterschiedlich aufbereiteten brasilianischen Kaffees jeweils $12,8 \pm 0,1$ %.

Für den unbehandelten Kaffee Peru 2001 Ub waren aufgrund des hohen Wassergehalts (34 %) bei sonst gleichen Bedingungen deutlich längere Röstzeiten (14 min) nötig. Erst durch eine schonende Anpassung des Wassergehalts auf 12 % mittels Gefriertrocknung konnte die Röstung unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführt werden.

2.2.1.2 Farbmessung zur Bestimmung des Röstgrades

Um die Äquivalenz zweier Röstungen zu überprüfen und die Kaffeeröstung reproduzierbar zu machen, wurde ein Verfahren zur optischen Bestimmung des Röstgrades, der durch die Farbtönung der Kaffeebohnen charakterisiert wird, entwickelt, wobei mittels Flachbettscanner der Rotanteil gegen einen Standard im Dreibereichsverfahren gemessen (Abbildung 11) und dieser zum Einbrand ins Verhältnis gesetzt wurde. Die aus dem für die Vorversuche verwendeten Rohkaffee (Handelsware) erhaltenen Daten sind in Abbildung 12 dargestellt und zeigen einen linearen Zusammenhang, wobei jeder Kaffee je nach Herkunft, Art, Sorte und Wassergehalt jedoch eine individuelle Geradengleichung aufwies. Durch die gegebene Linearität eignete sich der Einbrand auch als gute Vorprüfung auf Äquivalenz.



Abbildung 11: Scan zur Bestimmung des Rotanteils einer Kaffeeprobe

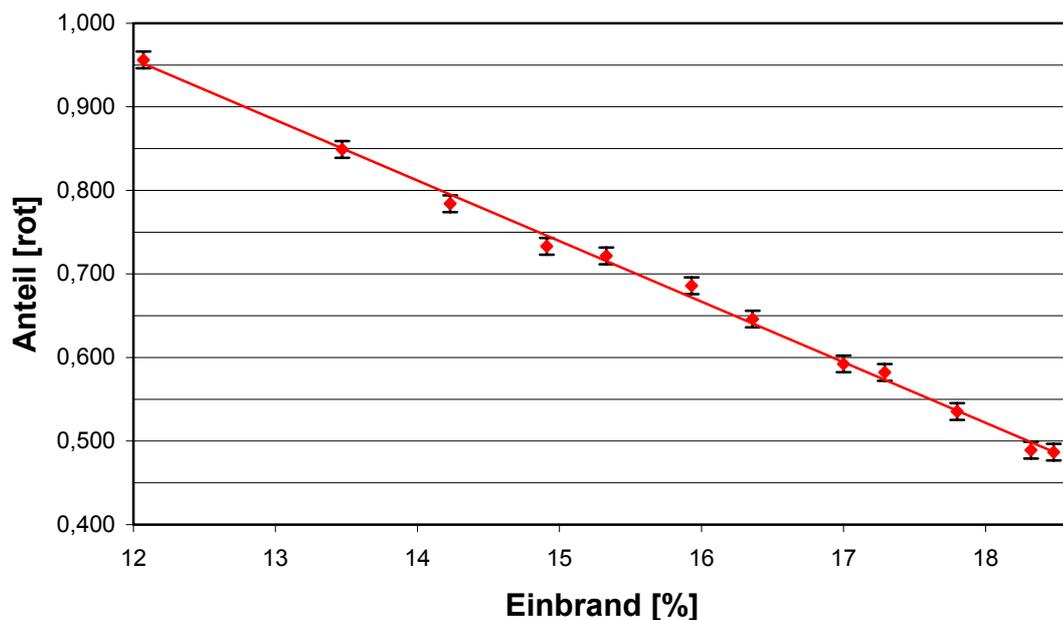


Abbildung 12: Verhältnis zwischen Einbrand und Rotanteil im Röstkaffeepulver

Der auf dem Probenröster geröstete brasilianische Kaffee konnte im Vergleich mit Industriekaffees anhand der Tönung als Produkt mit mittlerem Röstgrad eingestuft werden (Rotanteil 0,58, Vierfachbestimmung). Die industriell gerösteten Proben wiesen eine etwas gleichmäßigere Bräunung, jedoch eine hellere Tönung auf, waren also etwas schwächer geröstet, wurden aber ebenfalls noch zu den mittleren Röstgraden gezählt (Rotanteil 0,75, Vierfachbestimmung). In allen Fällen war es möglich, die Übereinstimmung vergleichender Röstungen eindeutig nachzuweisen.

Zur Bestimmung der Röstungs-Äquivalenz von nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee Peru 2001 konnte zusätzlich ein Gerät, das nach dem Spektralbereichsverfahren und DIN-Norm arbeitet, verwendet werden. Die durch Dreifachbestimmung ermittelten Werte (Tabelle 14) waren dabei gut reproduzierbar und wiesen nur eine geringe Standardabweichung ($< 0,5$) auf. Auffällig ist dabei, dass besonders die Helligkeit (L), sowie die Rot-Grün-Verschiebung (a) nahezu identisch waren. Nur die Blau-Gelb-Verschiebung (b) differierte leicht, was sich auf die Gesamtverschiebung (C) und den dazugehörigen Verschiebungswinkel (h_{ab}) auswirkte.

Tabelle 14: Farbverschiebungswerte (CIE $-L^*a^*b$ nach DIN 6174) nach dem Spektralbereichsverfahren ($d/8^\circ$ nach DIN 5033) von Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Standardwerte	Symbol	Einheit	Na	Tr
Helligkeit	L	[%]	24,83	24,00
Rot-Grün-Verschiebung	a	[%]	10,95	10,02
Blau-Gelb-Verschiebung	b	[%]	19,15	16,34
Gesamtverschiebung	C	[%]	22,06	19,17
Verschiebungswinkel	h_{ab}	[°]	60,24	58,48

2.2.2 Sensorische Beurteilung

Zur Beurteilung der Unterscheidbarkeit der verschiedenen aufbereiteten Röstkaffees, wurden wie bereits beim Rohkaffee zu Beginn der Untersuchungen Dreiecksprüfungen durchgeführt. Dabei wurden die Prüfer diesmal gleichzeitig nach ihrem subjektiven Eindruck über die Qualität der Probe befragt (hedonische Prüfung), um herauszufinden, ob eine der Aufbereitungen ein besseres Aroma liefert. Anschließend wurden zur Konkretisierung eines möglichen Aromaunterschieds Aromaprofile der einzelnen Aufbereitungen erstellt und diese miteinander verglichen.

Prüfung auf Unterscheidbarkeit

Die in Tabelle 15 dargestellten Ergebnisse der sensorischen Prüfung auf Unterscheidbarkeit wurden anhand von Dreiecksprüfungen (Triangel-Tests) ermittelt. Das Sensorik-Panel musste dabei in jeweils ein bis drei voneinander unabhängigen Versuchsreihen an unterschiedlichen Tagen nach der „Forced-Choice-Technik“ die abweichende nass bzw. trocken aufbereitete Probe unter zwei jeweils trocken bzw. nass aufbereiteten erkennen.

Tabelle 15: Ergebnisse von Triangel-Tests mit nass gegenüber trocken aufbereitetem Röstkaffee aus Peru und Brasilien.

Röstkaffee	Teilnehmer	Richtig	Falsch	Signifikanz
Peru 2001 ^a	10	8	2	signifikant $\alpha < 0,01$
Brasilien 2000 ^b	11	11	0	hoch signifikant $\alpha < 0,001$
Brasilien 2001	10	9	1	hoch signifikant $\alpha < 0,001$

^a Angegebene Daten entstammen drei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

^b Angegebene Daten entstammen zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

Sowohl nass und trocken aufbereitete Röstkaffees aus Peru als auch aus Brasilien, konnten signifikant ($\alpha < 0,01$) bis hoch signifikant ($\alpha < 0,01$) unterschieden werden. Die Unterscheidbarkeit von Kaffee verschiedener technologischer Aufbereitung blieb damit auch nach der Röstung in den verschiedenen Proben erhalten.

Eine Unterscheidung der nass und trocken aufbereiteten Röstkaffees Brasilien 2001 konnte aufgrund der geringen Menge dieser Probe nur einmal im Triangel-Test durchgeführt werden.

Hedonische Prüfung

Bei der hedonischen Bewertung der Aromaqualität aller bei den Dreiecksprüfungen mindestens signifikant unterschiedenen Proben (Tabelle 16) wurde trocken aufbereiteter Röstkaffee von jeweils mindestens 75 % aller Beteiligten, die den Unterschied richtig zugeordnet hatten, in dieser niedriger und damit als weniger angenehm eingestuft, während die nass aufbereitete Probe subjektiv als besser bewertet wurde. Diese Einstufung stellte damit ebenfalls ein signifikantes Ergebnis dar, das sowohl für den Röstkaffee aus Peru als auch für den aus Brasilien übereinstimmend war.

Tabelle 16: Anzahl der Teilnehmer, die bei der Hedonischen Prüfung zwischen nass (Na) und trocken (Tr) aufbereitetem Röstkaffee das Gesamtaroma der entsprechenden Probe als höher eingestuft haben.

Röstkaffee	Teilnehmer	Na	Tr	Signifikanz
Peru 2001 ^a	8	7	1	hoch signifikant $\alpha < 0,001$
Brasilien 2000 ^b	11	9	2	hoch signifikant $\alpha < 0,001$
Brasilien 2001	9	7	2	signifikant $\alpha < 0,01$

^a Angegebene Daten entstammen drei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

^b Angegebene Daten entstammen zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

Aromaprofilanalyse

Für die Aromaprofilanalyse der unterschiedlich aufbereiteten Röstkaffees wurde von den 12 Teilnehmern des Sensorik-Panels eine Stoffsammlung aller in den Proben detektierbaren Aromaqualitäten erstellt. Anschließend wurden mehrfach genannte Geruchseindrücke mit Vergleichssubstanzen korreliert und zur Erstellung des Aromaprofils in ihrer Intensität bewertet (Tabelle 17), wobei die Referenzverbindungen bei der Bewertung als Vergleich zur Verfügung standen.

Tabelle 17: Intensitäten einzelner Aromaqualitäten in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung.

Aromaqualität	Na	Tr	Ub	Referenzverbindung
fruchtig	0,4 ^a	1,5	0,5	2-Methylbutansäureethylester
nach Essig	0,4	0,7	0,4	Ethansäure
malzig	1,5	1,2	1,7	2-Methylbutanal
nach Karamell	1,4	1,2	1,2	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon
nach Honig	0,8	1,1	0,6	Phenylacetaldehyd
nach Kaffee	2,7	2,1	2,7	2-Furfurylthiol
röstig / schweflig	2,3	1,5	2,0	3-Methyl-2-buten-1-thiol
erdig	1,7	1,6	1,7	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin
rauchig	1,0	1,0	1,3	2-Methoxyphenol

^a Durchschnittliche Intensität auf einer Skala zwischen 0 (nicht wahrnehmbar) und 3 (stark wahrnehmbar).

Im Aromaprofil des nass aufbereiteten Röstkaffees traten die kaffeeartige und eine röstig/schweflige Note mit Intensitäten von 2,7 und 2,3 besonders stark hervor, begleitet von deutlich wahrnehmbaren erdigen (1,7), malzigen (1,5) und karamellartigen (1,4) Geruchseindrücken, sowie einer schwächeren rauchigen (1,0) und honigartigen (0,8) Note. Die Aromaeindrücke „fruchtig“ und „nach Essig“ konnten in dieser Probe vom Sensorik-Panel nicht detektiert werden (kleiner 0,5).

Auch im trocken aufbereiteten Röstkaffee dominierte die Kaffeernote. Diese wurde jedoch mit einer Intensität von 2,1 deutlich schwächer als im nass aufbereiteten Röstkaffee bewertet, was im Besonderen auch auf die Aromaqualitäten „röstig/schweflig“ mit nur mehr 1,5 und in geringerem Maße auf „malzig“ und „nach Karamell“ mit je 1,2 zutraf. Die erdigen (1,6), rauchigen (1,0) und honigartigen (1,1) Geruchseindrücke waren dagegen ähnlich intensiv, in letztem Fall sogar etwas stärker wahrzunehmen. Auffällig zeigte sich jedoch mit einer Intensität von 1,5 eine deutlich zu detektierende zusätzliche fruchtige und eine ganz schwache essigsäure Note (0,7).

Das Aromaprofil des unbehandelten Röstkaffees entsprach fast vollständig dem des nass aufbereiteten, wobei nur geringe Schwankungen bei einzelnen Geruchseindrücken zu verzeichnen waren, z.B. die leicht schwächere Wahrnehmung der röstig/

schwefligen (2,0), karamellartigen (1,2) und honigartigen (0,6) Note, sowie eine leichte Intensivierung der rauchigen Aromaqualität.

Im Gesamtbild (Abbildung 13) konnte der trocken aufbereitete Röstkaffee durch seine fruchtige Aromaqualität gut von den anderen beiden Proben unterschieden werden.

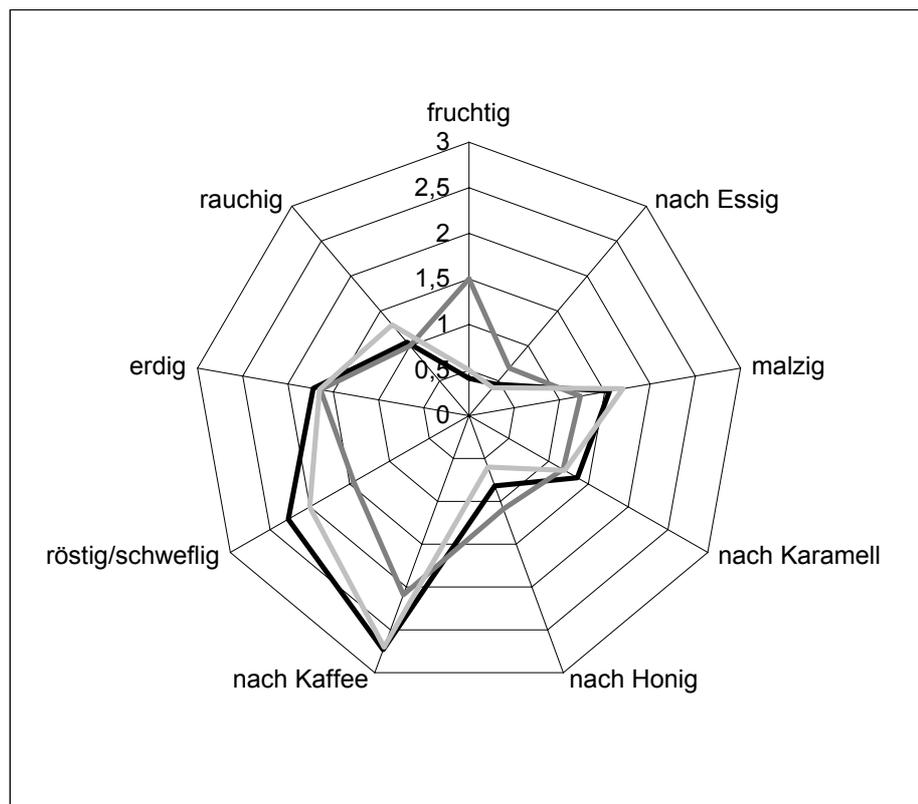


Abbildung 13: Aromaprofilanalyse von Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (dick), trocken (mittel) und unbehandelt (dünn).

2.2.3 Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse

Für ein Screening auf Unterschiede in den Aroma-Impakt-Verbindungen des Röstkaffees in Abhängigkeit vom Aufbereitungsverfahren wurden mit den Aromaextrakten des Röstkaffees parallel Aromaextraktverdünnungsanalysen durchgeführt. Dabei wurden für Peru 2001 und Peru 2001 UB die Gesamtfractionen verwendet, die Extrakte der brasilianischen Röstkaffees dagegen vor der Untersuchung in eine saure und eine neutral-basische Fraktion aufgetrennt.

In allen Extrakten wurden die wichtigsten geruchsaktiven Verbindungen ermittelt und strukturell durch Vergleich mit Referenzverbindungen anhand ihrer Retentionsindices (RI) auf zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität, ihrer Geruchsqualität und Massenspektren (MS-EI bzw. MS-CI) identifiziert.

Bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse von nass aufbereitetem Röstkaffee (Peru 2001) wurden 23 Substanzen mit hohen FD-Faktoren (≥ 64) detektiert (Tabelle 18). Den höchsten FD-Faktor (2048) wiesen (E)- β -Damascenon (nach gekochtem Apfel) und 2-Furfurylthiol (nach Kaffee) auf. Im Weiteren handelte es sich hauptsächlich um erdig / röstige Pyrazine (wie z.B. 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin), würzige (3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon) und karamellartige (4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon) Furanone, rauchig / phenolische und nelkenartige Phenole (2-Methoxyphenol, 4-Vinyl-2-methoxyphenol) und schweflige Verbindungen (3-Methyl-2-buten-1-thiol), ergänzt durch die schweißige 2-/ 3-Methylbutansäure, das nach gekochter Kartoffel riechende 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, sowie in schwächerem Maße von zwei butterartigen Dionen (2,3-Butandion, 2,3-Pentandion) und Ethansäure.

Auch im trocken aufbereiteten Röstkaffee wurden alle bereits im nass aufbereiteten Röstkaffee detektierten Verbindungen wiedergefunden, bei den meisten Aromastoffen betrug Abweichungen jedoch höchstens eine Verdünnungsstufe. Hinzu kamen jedoch die fruchtig riechenden Ester 2- und 3-Methylbutansäureethylester mit FD-Faktoren von 64, die im nass aufbereiteten Röstkaffee nicht detektiert werden konnten, sowie mit malzigem Geruch die Aldehyde 2- und 3-Methylbutanal und das citrusartige 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol, die in der nassen Aufbereitung jeweils um zwei Verdünnungsstufen niedrigere FD-Faktoren aufwiesen.

Tabelle 18: Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 64) in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Nr.	Verbindung ^a	RI auf		Geruchsqualität	FD-Faktor ^d in		
		FFAP	DB-5		Na	Tr	Ub
1	3-Methylbutanal ^c	-	651	malzig	32	128	128
2	2-Methylbutanal ^c	-	662	malzig	16	64	32
3	2,3-Butandion	977	595	nach Butter	256	256	128
4	2-Methylbutansäureethylester	1048	851	fruchtig	< 1	64	< 1
5	2,3-Pentandion	1059	696	nach Butter	64	32	64
6	3-Methylbutansäureethylester	1065	851	fruchtig	< 1	64	2
7	3-Methyl-2-buten-1-thiol	1105	815	schweflig	512	512	256
8	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1439	1078	erdig, röstig	512	1024	512
9	2-Furfurylthiol ^c	1440	908	nach Kaffee	2048	2048	1024
10	Ethansäure	1448	628	nach Essig	64	64	32
11	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd ^c	1461	903	nach gekochter Kartoffel	512	512	512
12	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	1487	1154	erdig, röstig	1024	512	1024
13	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	1521	1188	nach Paprika	512	512	512
14	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	1545	1100	citrusartig	16	64	8
15	2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin	1554	1105	erdig, röstig	512	512	512
16	2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin	1588	1177	erdig, röstig	256	256	512
17	2-/3-Methylbutansäure	1667	865	schweißig	256	256	128
18	Unbekannt	1671	-	nach Fleisch	64	64	64
19	Unbekannt	1757	1365	blumig, fruchtig	64	64	64
20	(E)- β -Damascenon ^c	1821	1385	nach gekochtem Apfel	2048	2048	1024
21	2-Methoxyphenol	1866	1088	phenolisch	512	512	256
22	4-Ethyl-2-methoxyphenol	2030	1285	süß, phenolisch	512	512	256
23	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon ^c	2038	1064	nach Karamell	1024	1024	512
24	2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon ^c	2094	1144	nach Karamell	512	512	256
25	4-Vinyl-2-methoxyphenol	2200	1317	nach Nelke	1024	1024	512
26	3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon ^c	2206	1105	würzig	1024	512	256
27	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon ^c	2275	1190	würzig	64	64	64
28	4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	2596	1396	nach Vanille	64	64	64

^a Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, MS-EI und der Geruchsqualität.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich ihrer Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen und ihrer Geruchsqualitäten mit identischen Referenzverbindungen identifiziert.

^c wie b, zusätzlich MS-CI.

^d Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 64 in mindestens einer Probe aufwiesen.

Die Ergebnisse der Aromaextraktverdünnungsanalyse des unbehandelten Röstkaffees wichen kaum von denen der aufbereiteten Proben ab, wobei die FD-Faktoren durchschnittlich um eine Verdünnungsstufe niedriger lagen. 2- und 3-Methylbutansäureethylester wurden auch im unbehandelten Kaffee nicht oder nur sehr schwach detektiert, 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol entsprach in seinem FD-Faktor eher dem des nass aufbereiteten Röstkaffees.

Auch bei den brasilianischen Röstkaffees wiesen die wichtigsten geruchsaktiven Verbindungen keine Unterschiede zwischen nasser und trockener Aufbereitung in ihren FD-Faktoren auf (Tabelle 19). Das Gesamtaromabild wandelte sich natürlich aufgrund des unterschiedlichen Rohmaterials (Herkunftsland, Kaffeevarietät) gegenüber dem Röstkaffee aus Peru, was besonders in den allgemein niedrigeren FD-Faktoren der phenolischen Verbindungen und im Auftreten von 3-Isopropyl-2-methoxypyrazin auffiel. 2- und 3-Methylbutansäureethylester waren aber wiederum nur in der trocken aufbereiteten Probe zu detektieren. Die Methylbutanale fielen auf der hier ausschließlich verwendeten FFAP-Kapillarsäule mit dem Lösungsmittel zusammen und sind daher nicht aufgeführt, Ethansäure und 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol wiesen nur sehr niedrige FD-Faktoren (< 16) auf.

Zusammenfassend zeigten auch diese Ergebnisse, dass 2- und 3-Methylbutansäureethylester, die ausschließlich in der nass aufbereiteten Probe vorkamen, sowie die leicht höheren FD-Faktoren von 2- und 3-Methylbutanal für die Aromaunterschiede der Proben verantwortlich sein sollten.

2.2.4 Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse

Um mögliche Unterschiede zwischen nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee bezüglich der leichtflüchtigen geruchsaktiven Verbindungen zu ermitteln, die bei der AEVA nicht erfasst werden, wurden Headspaceverdünnungsanalysen (HVA) durchgeführt. Dabei wurden die wichtigsten geruchsaktiven Verbindungen ermittelt und strukturell durch Vergleich mit Referenzverbindungen anhand ihrer Retentionsindices (RI), ihrer Geruchsqualität und Massenspektren (MS-Cl) identifiziert.

Tabelle 19: Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 128) in Röstkaffee (Brasilien 2000 und 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Nr. ^e	Verbindung ^a	RI auf	Geruchs- qualität	FD-Faktor ^d in			
		FFAP		Na 2000	Tr 2000	Na 2001	Tr 2001
3	2,3-Butandion	977	nach Butter	256	256	128	128
4	2-Methylbutansäureethylester	1048	fruchtig	< 1	64	< 1	64
5	2,3-Pentandion	1059	nach Butter	128	256	64	64
6	3-Methylbutansäureethylester	1065	fruchtig	< 1	64	< 1	64
7	3-Methyl-2-buten-1-thiol	1105	schweflig	256	256	256	256
33	3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	1428	grün	128	64	64	128
9	2-Furfurylthiol ^c	1440	nach Kaffee	1024	512	1024	1024
11	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd ^c	1461	nach gekoch- ter Kartoffel	1024	1024	512	512
12	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	1487	erdig, röstig	512	512	512	512
13	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	1521	nach Paprika	256	256	256	256
15	2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin	1554	erdig, röstig	256	256	256	256
16	2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin	1588	erdig, röstig	256	256	256	256
29	Unbekannt	1629	erdig, röstig	64	64	64	128
17	2-/3-Methylbutansäure	1667	schweißig	256	512	256	128
18	Unbekannt	1671	nach Fleisch	128	64	64	128
20	(E)- β -Damascenon ^c	1821	nach gekoch- tem Apfel	1024	1024	1024	2048
21	2-Methoxyphenol	1866	phenolisch	256	128	256	256
22	4-Ethyl-2-methoxyphenol	2030	süß, phenolisch	128	64	32	128
23	4-Hydroxy-2,5-dimethyl- 3(2H)-furanon ^c	2038	nach Karamell	2048	2048	512	512
24	2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl- 3(2H)-furanon ^c	2094	nach Karamell	256	256	128	128
25	4-Vinyl-2-methoxyphenol	2200	nach Nelke	256	256	64	64
26	3-Hydroxy-4,5-dimethyl- 2(5H)-furanon ^c	2206	würzig	1024	1024	512	512
27	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl- 2(5H)-furanon ^c	2275	würzig	128	256	128	64

^a Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, MS-EI und der Geruchsqualität.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich ihrer Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen und ihrer Geruchsqualitäten mit identischen Referenzverbindungen identifiziert.

^c wie b, zusätzlich MS-CI.

^d Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 128 in mindestens einer Probe aufwiesen.

^e Die Nummern beziehen sich auf Tabelle 18.

Im Vergleich mit der AEVA konnten bei der HVA zwei weitere geruchsaktive, leichtflüchtige Substanzen detektiert werden (Tabelle 20), der fruchtig-stechende Acetaldehyd und das malzig riechende Methylpropanal, welches ebenso wie 2- und 3-Methylbutanal im trocken aufbereiteten Röstkaffee leicht höhere FD-Faktoren aufwies. Ansonsten bestätigte die HVA die Ergebnisse der Aromaextraktverdünnungsanalyse, da die mit hohen FD-Faktoren (≥ 16) detektierten Verbindungen wie z.B. 2-Furfurylthiol, 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd oder 2,3-Butandion keine größeren Differenzen in ihren FD-Faktoren aufwiesen und ausschließlich im trocken aufbereiteten Röstkaffee die fruchtig riechenden 2- und 3-Methylbutansäureethylester mit hohen Intensitäten herausstachen. Die Daten des unbehandelten Röstkaffees entsprachen wiederum größtenteils denen des nass aufbereiteten Kaffees.

Tabelle 20: Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Nr. ^a	Verbindung ^b	RI auf	Geruchsqualität	FD-Faktor ^c in		
		RTX-5, 60 m		Na	Tr	Ub
34	Acetaldehyd	< 400	fruchtig, stechend	64	64	32
35	Methylpropanal	552	malzig	16	64	32
3	2,3-Butandion	592	nach Butter	128	128	128
1	3-Methylbutanal	652	malzig	32	128	64
2	2-Methylbutanal	663	malzig	8	32	32
5	2,3-Pentandion	696	nach Butter	32	32	32
7	3-Methyl-2-buten-1-thiol	820	schweflig	64	32	32
4	2-Methylbutansäureethylester	841	fruchtig	< 1	64	< 1
6	3-Methylbutansäureethylester	850	fruchtig	< 1	64	< 1
11	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	906	nach gekochter Kartoffel	128	128	64
9	2-Furfurylthiol	914	nach Kaffee	128	256	128
8	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1026	erdig, röstig	16	16	16
23	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	1056	nach Karamell	32	32	64

^a Die Nummern beziehen sich auf Tabelle 18.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf der in der Tabelle angegebenen Kapillarsäule, MS-CI und der Geruchsqualität.

^c Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, erhalten durch Division des größten analysierten Headspace-Volumens von 20 ml durch das kleinste, in dem der Aromastoff bei der HRGC/O noch detektiert werden konnte. Aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 16 in mindestens einer Probe aufwiesen.

2.2.5 Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe

Um die in den Aromaextraktverdünnungsanalysen gefundenen Ergebnisse quantitativ zu belegen, wurde eine Auswahl an aromaaktiven Substanzen mittels Isotopenverdünnungsanalyse quantifiziert. Dabei wurde besonders der in der AEVA ermittelte Unterschied (2- und 3-Methylbutansäureethylester), sowie die geringfügige Abweichung bei 2- und 3-Methylbutanal berücksichtigt, zusätzlich auf Verbindungen eingegangen, die bereits im Rohkaffee Differenzen aufwiesen (Ethansäure, Phenylacetaldehyd), und versucht, einen Überblick über die Konzentrationen der meisten bekannten Aroma-Impakt-Verbindungen des Röstkaffees (vgl. Tabelle 4, 1.6.2) zu schaffen.

Die Unterscheidung von nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee lieferte für 2-Methylbutansäureethylester Gehalte von 49,2 µg pro Kilogramm im trocken aufbereitetem Röstkaffee und 182 µg / kg für 3-Methylbutansäureethylester (Tabelle 21). Diese waren damit um den Faktor 50-180 in Bezug auf die unterhalb der Bestimmungsgrenze von 1,0 µg / kg liegenden Esterkonzentrationen im nass aufbereiteten Röstkaffee erhöht. Bei den malzig riechenden Verbindungen Methylpropanal und 2- und 3-Methylbutanal wurden im trocken aufbereiteten Röstkaffee um ca. 30-45 % höhere Gehalte gefunden.

Da bei der Untersuchung des Rohkaffees bereits Unterschiede in einigen Verbindungen auftraten, wurden diese zusätzlich auch im gerösteten Kaffee quantifiziert. Dazu zählte neben den beiden bereits aufgeführten Estern zusätzlich 2-Methylpropan säureethylester, der mit 15,3 µg / kg ebenfalls ausschließlich im trocken aufbereiteten Röstkaffee nachgewiesen werden konnte. Interessanterweise differierte Ethansäure in den nass und trocken aufbereiteten, gerösteten Proben nur noch minimal.

Der unbehandelte Röstkaffee, der in Bezug auf die Gehalte an Estern wiederum dem nass aufbereiteten Röstkaffee entsprach, wies dagegen leicht erhöhte Konzentrationen an 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd (287 µg / kg) und Phenylacetaldehyd (1872 µg / kg) auf, die damit um gut 30 % über den in den aufbereiteten Röstkaffees ermittelten Werten lagen, während der Gehalt von (E)-β-Damascenon in den drei Proben nahezu identisch war (ca. 240 µg / kg).

Tabelle 21: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und un- behandelt (Ub).

Verbindung	Gehalt in µg/kg Röstkaffee ^a		
	Na	Tr	Ub
2-Methylpropansäureethylester	< 1,0	15,3	< 1,0
2-Methylbutansäureethylester	< 1,0	49,2	< 1,0
3-Methylbutansäureethylester	< 1,0	182	2,1
3-Methylbutanal	4.470	8.100	6.270
2-Methylbutanal	6.300	9.860	7.420
2,3-Butandion	16.500	15.900	14.400
2,3-Pentandion	9.450	9.320	9.260
Ethansäure ^b	490.000	611.000	519.000
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	168	183	287
(E)-β-Damascenon	234	239	244
2-Methoxyphenol	2.100	1.800	1.730
4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.470	1.190	418
4-Vinyl-2-methoxyphenol	5.130	5.030	4.510
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	494	462	435
Acetaldehyd	97.700	100.000	96.200
Methylpropanal	24.200	33.800	30.600
Phenylacetaldehyd	1.460	1.290	1.870

^a Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung.

^b Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung.

Unter den weiteren quantifizierten Verbindungen Acetaldehyd, 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion ergaben sich keine bemerkenswerten Konzentrationsunterschiede, ebenso nicht bei den vier phenolischen Verbindungen, bei denen nur der Gehalt an 4-Ethyl-2-methoxyphenol im unbehandelten Röstkaffee aus der Reihe fiel, da er nur ca. 30 % der aufbereiteten Röstkaffees betrug.

Auch im brasilianischen Röstkaffee (Tabelle 22) konnten in den trocken aufbereiteten Bohnen 2- und 3-Methylbutansäureethylester mit Gehalten von 30 bzw. 84 µg / kg gefunden werden, womit sich diese zwar nur ungefähr auf die Hälfte im Vergleich zu dem Röstkaffee aus Peru beliefen, jedoch immer noch mindestens 30 bis 80mal höher lagen als im nass aufbereiteten Röstkaffee.

Alle anderen Konzentrationen der Aroma-Impakt-Verbindungen waren im Vergleich von nasser und trockener Aufbereitung nahezu identisch und zeigten höchstens sehr geringe Unterschiede, sei es unter den Pyrazinen (z.B. 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin), den Furanonen (z.B. 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon) oder den schwefelhaltigen Verbindungen wie 3-Mercapto-3-methyl-butylformiat, 3-Methyl-2-buten-1-thiol oder 2-Furfurylthiol.

Tabelle 22: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen in Röstkaffee (Brasilien 2001 und Brasilien 2000) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Verbindung	Gehalt in µg/kg Röstkaffee ^a			
	Brasilien 2001		Brasilien 2000 ^c	
	Na	Tr	Na	Tr
2-Methylpropansäureethylester ^b	< 1,0	7,0	n.a.	n.a.
2-Methylbutansäureethylester ^b	< 1,0	30,1	n.a.	n.a.
3-Methylbutansäureethylester ^b	< 1,0	84,2	n.a.	n.a.
3-Methyl-2-buten-1-thiol	8,1	6,9	n.a.	n.a.
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1.270	1.170	603	619
2-Furfurylthiol	2.260	2.330	1.760	1.830
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	539	681	240	215
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	174	125	121	128
3-Isobutyl-2-methoxy-pyrazin	87,2	81,4	52,3	52,2
(E)-β-Damascenon	303	283	288	295
2-Methoxyphenol	1.570	1.520	2.660	3.460
4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.050	921	2.770	3.390
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	91.900	93.900	n.a.	n.a.
4-Vinyl-2-methoxyphenol	6.360	5.840	24.600	26.300
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	514	595	1.900	1.960
5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon	93,1	104	n.a.	n.a.
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	632	643	n.a.	n.a.
2-Methyl-3-furanthiol	< 5,0	< 5,0	n.a.	n.a.
3-Mercapto-3-methylbutylformiat	< 5,0	< 5,0	243	252
Dimethyltrisulfide	19,0	18,3	n.a.	n.a.

^a Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung.

^b Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung.

^c n.a. = nicht analysiert.

2.2.6 Sensorische Experimente

Um zu überprüfen, ob die gefundenen Unterschiede in den Konzentrationen einzelner Aromastoffe zwischen nasser und trockener Aufbereitung ausreichend wären, die sensorische Unterscheidbarkeit der Proben zu verursachen, d.h. sich auf den Gesamtaromaeindruck auszuwirken, wurden jeweils zwei unabhängige Dreiecksprüfungen (Sensorikpanel mit 10 Teilnehmern) durchgeführt.

Bei diesen wurde nass aufbereiteter Röstkaffee (Peru 2001) als Matrix verwendet und als abweichende Probe der gleiche Röstkaffee angeboten, dem entweder die beiden Ester oder die beiden Aldehyde in den in der trocken aufbereiteten Probe gemessenen Konzentrationen zugesetzt worden waren. Die zugesetzten Konzentrationen betragen dabei entweder 40 µg 2-Methylbutansäureethylester und 160 µg 3-Methylbutansäureethylester pro Kilogramm Röstkaffee, oder 3,5 mg 2- und 3-Methylbutanal pro Kilogramm Röstkaffee.

Eine Unterscheidung (Tabelle 23) war mit hoher Signifikanz, d.h. 99,9 % Sicherheit, und nur einer falschen Antwort aus 20 bei Zusatz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester möglich. Bei zugesetzten Mengen an 2- und 3-Methylbutanal konnte dagegen keine signifikante Differenzierung vorgenommen werden.

Tabelle 23: Ergebnisse von Triangel-Tests zwischen einem Röstkaffee (Peru 2001) nasser Aufbereitung und dem nass aufbereiteten Röstkaffee mit Zusatz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester bzw. 2- und 3-Methylbutanal.

Exp.	Zugesetzte Verbindungen	Teilnehmer	Richtig	Falsch	Signifikanz
1	2- und 3-Methylbutansäureethylester	10	10	0	hoch signifikant $\alpha < 0,001$
		10	9	1	hoch signifikant $\alpha < 0,001$
2	2- und 3-Methylbutanal	10	5	5	nicht signifikant
		10	6	4	nicht signifikant

2.2.7 Vergleichende Untersuchung freier Aminosäuren

Freie Aminosäuren spielen als Aromavorstufen eine wichtige Rolle für die Bildung insbesondere der sogenannten Streckeraldehyde während der Röstung. Unterschiede in deren Gehalt können sich somit direkt auf das spätere Röstkaffee Aroma auswirken. Da weiterhin bei den verschiedenen aufbereiteten Röstkaffees unterschiedliche Gehalte der Streckeraldehyde 2- und 3-Methylbutanal, Phenylacetaldehyd und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd quantifiziert worden waren (vgl. 2.2.5), wurden auch Gehalte der freien Aminosäuren in den Rohkaffees untersucht. Die dafür gesondert ermittelten Extraktionsbedingungen sind im Experimentellen Teil unter 3.8.1 dargestellt.

Aus der Bestimmung der Gehalte an freien Aminosäuren (Tabelle 24) in nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee (Peru 2001) ließen sich folgende Ergebnisse ableiten: die Summe aller freien Aminosäuren nahm mit 3,2-3,5 g / kg Rohkaffee (bezogen auf die Trockenmasse) in beiden Proben eine ähnlichen Größenordnung ein, wobei Asparagin- und vor allem Glutaminsäure mit insgesamt 50-67 % den Hauptanteil der freien Aminosäuren im Rohkaffee stellten. Die Gehalte dieser beiden Aminosäuren waren weiterhin in nass aufbereitetem Rohkaffee um 70 bzw. 20 % gegenüber den Konzentrationen in trocken aufbereitetem Rohkaffee erhöht, was im Gegensatz zu allen anderen Aminosäuren stand, deren Gehalte im nass aufbereiteten Rohkaffee jedoch um 20-70 % niedriger lagen (durchschnittlich 40-50 %).

Die Konzentrationen der freien Aminosäuren im unbehandelten Rohkaffee zeigten in der Summe (4,0 g / kg) und speziell für Asparagin- und Glutaminsäure deutlich höhere Werte als in den beiden aufbereiteten Rohkaffees. Alle anderen Aminosäuren lagen dagegen im Bereich des nass aufbereiteten Rohkaffees (Alanin, Isoleucin, Phenylalanin, Histidin) bzw. um 20-50 % darunter (Glycin, Valin, Methionin, Leucin, Tyrosin, Lysin).

Ein Vergleich der Gehalte der freien Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin in Rohkaffee mit den Gehalten der damit korrelierenden Streckeraldehyde Methylpropanal, 2- und 3-Methylbutanal in Röstkaffee zeigten jeweils übereinstimmende Unterschiede zwischen den nass und trocken aufbereiteten Proben (Tabelle 25), womit sich die Unterschiede bei den freien Aminosäuren im Rohkaffee nachweislich auf das Aroma des Röstkaffees auswirken sollten.

Tabelle 24: Gehalte freier Aminosäuren in Rohkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na), trocken (Tr) und unbehandelt (Ub).

Aminosäure	Gehalt in mg / kg ^a		
	Na	Tr	Ub
Asparaginsäure	425,1	260,0	502,8
Threonin	26,3	49,9	21,8
Serin	134,5	207,4	179,0
Glutaminsäure	1712	1486	2294
Prolin	139,9	240,2	173,2
Glycin	14,2	48,9	8,47
Alanin	156,1	251,7	148,3
Valin	61,5	93,1	53,1
Cystein	16,9	17,3	21,8
Methionin	7,23	13,9	3,78
Isoleucin	63,3	82,9	58,8
Leucin	51,4	107,4	42,5
Tyrosin	51,3	81,9	37,7
Phenylalanin	104,8	133,0	108,0
Histidin	40,6	50,8	43,7
Lysin	80,6	137,7	68,9
Arginin	110,8	236,6	194,8
<i>Summe</i>	<i>3197</i>	<i>3499</i>	<i>3961</i>

^a Alle angegebenen Daten sind Mittelwerte aus 8 Messungen (Vierfachbestimmung) und beziehen sich auf die Trockenmasse des Rohkaffees, die relative Standardabweichung beträgt 10 %.

Tabelle 25: Gehalte ausgewählter freier Aminosäuren in Rohkaffee (Peru 2001) im Vergleich zu den Gehalten damit korrelierender Aromastoffe (Streckeraldehyde) in Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Aminosäure	Gehalt in mg / kg ^a		Aromastoff	Gehalt in mg / kg ^b	
	Na	Tr		Na	Tr
Valin	61,5	93,1	Methylpropanal	24,2	33,8
Leucin	51,4	107	3-Methylbutanal	4,47	8,10
Isoleucin	63,3	82,9	2-Methylbutanal	6,30	9,86

^a Gehalt in mg/kg Rohkaffee, berechnet auf die Trockenmasse.

^b Gehalt in mg/kg Röstkaffee.

Ähnliche Ergebnisse in Bezug auf den Gehalt freier Aminosäuren in nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee lieferten auch die Untersuchungen an Rohkaffee aus Tanzania (2002), der insgesamt zwar eine deutlich niedrigere Gesamtkonzentration an freien Aminosäuren aufwies, jedoch eine ähnliche Aminosäureverteilung zeigte. In Tabelle 26 sind nur die Gehalte ausgewählter Aminosäuren dargestellt, die bei der Aromastoffbildung von größerer Bedeutung sind.

Tabelle 26: Gehalte ausgewählter, freier Aminosäuren in Rohkaffee (Tanzania 2002) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Aminosäure	Gehalt in mg / kg ^a	
	Na	Tr
Prolin	89,6	127,8
Glycin	17,6	45,5
Alanin	114,4	100,5
Valin	32,5	72,5
Cystein	35,7	36,4
Methionin	8,8	17,3
Isoleucin	32,7	61,6
Leucin	28,2	83,2
Phenylalanin	57,0	88,2
<i>Summe</i>	<i>1678</i>	<i>1762</i>
γ -Aminobuttersäure	143,0	703,0

^a Alle angegebenen Daten sind Mittelwerte aus 4 Messungen (Doppelbestimmung) und beziehen sich auf die Trockenmasse des Rohkaffees, die relative Standardabweichung beträgt 10 %.

Zusätzlich wurde in diesen Proben der Gehalt an γ -Aminobuttersäure (GABA) bestimmt, die in trocken aufbereitetem Rohkaffee in deutlich größeren Mengen vorlag.

2.3 Aromastoffe im Kaffeegetränk aus Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung

Im dritten Teil der Arbeit wurden die Produkte des letzten Schrittes der Kaffeezubereitung, die Kaffeegetränke, die durch Heißwasserextraktion von nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee hergestellt (vgl. 3.1.5) worden waren, auf Unterschiede untersucht, wobei besonders der Erhalt und die Aromarelevanz der im Röstkaffee gefundenen Differenzen beachtet wurde. Um Unterschiede durch die Extraktion zu vermeiden, wurden die Extraktionsbedingungen für alle Proben identisch gehalten (vgl. 3.1.5).

2.3.1 Sensorische Beurteilung

Um Aufschluss über die Konstanz der Unterschiede im Vergleich zum Röstkaffeepulver zu erhalten, wurden auch bei den Kaffeegetränken aus verschieden aufbereitetem Röstkaffee Dreiecksprüfungen in Kombination mit einer hedonischen Prüfung durchgeführt, sowie Aromaprofile erstellt.

Prüfung auf Unterscheidbarkeit

In beiden Versuchsreihen (Tabelle 27) konnten die Kaffeegetränke aus nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee (Peru 2001) hoch signifikant ($\alpha < 0,001$) unterschieden werden, auch wenn die Abweichungen von den Prüfern als „sehr gering“ beschrieben wurden. Die schon im Roh- und Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung gegebene Unterscheidbarkeit blieb damit auch nach der Herstellung des Kaffeegetränks erhalten.

Tabelle 27: Ergebnisse von Triangel-Tests mit Kaffeegetränken aus nass gegenüber trocken aufbereitetem Röstkaffee aus Peru.

Kaffeegetränk	Teilnehmer	Richtig	Falsch	Signifikanz
Peru 2001 ^a	10	10	0	hoch signifikant, $\alpha < 0,001$

^a Angegebene Daten entstammen zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

Hedonische Prüfung

Bei der hedonischen Bewertung der Aromaqualität (Tabelle 28) wurde das Kaffeegetränk aus Röstkaffee der nassen Aufbereitung von jeweils neun von zehn bewertenden Personen, d.h. 90 % aller Beteiligten, subjektiv als hochwertiger eingestuft.

Tabelle 28: Anzahl der Teilnehmer, die bei der hedonischen Prüfung zwischen Kaffeegetränken aus nass (Na) und trocken (Tr) aufbereitetem Röstkaffee das Gesamtaroma der entsprechenden Probe als höher eingestuft haben.

Kaffeegetränk	Teilnehmer	Na	Tr	Signifikanz
Peru 2001 ^a	10	9	1	hoch signifikant, $\alpha < 0,001$

^a Angegebene Daten entstammen zwei voneinander unabhängigen Versuchsreihen, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden.

Aromaprofilanalyse

Für die Aromaprofilanalyse der Kaffeegetränke aus unterschiedlich aufbereitetem Röstkaffee (Tabelle 29, Abbildung 14) bewertete das aus 12 Teilnehmern bestehende Sensorik-Panel die bereits für den Röstkaffee ermittelten Aromaqualitäten in ihrer Intensität, wobei die entsprechenden Referenzverbindungen bei der Bewertung wiederum als Vergleiche zur Verfügung standen.

Die höchste Intensität im Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee wies mit 2,4 der Geruchseindruck „nach Kaffee“ auf, gefolgt von einer deutlich malzigen (2,0), röstig/schwefligen (1,9) und erdigen (1,8) Note. Etwas schwächer wurden die Aromaqualitäten „rauchig“ (1,4), „nach Karamell“ (1,1) und „nach Honig“ (1,0) bewertet, während ein essigartiger (0,6) oder fruchtiger (0,4) Geruch kaum bzw. überhaupt nicht wahrnehmbar war.

Das Aromaprofil des Kaffeegetränks aus trocken aufbereitetem Röstkaffee entsprach weitestgehend dem aus nasser Aufbereitung mit Ausnahme der zusätzlichen, deutlich fruchtigen Note, die eine durchschnittliche Intensität von 1,8 aufwies, einer leichten Erhöhung der Aromaqualität „nach Honig“ auf 1,3 und einer Abschwächung von durchschnittlich 0,2-0,4 Einheiten der kaffeeartigen (2,0), malzigen (1,7) und röstig/schwefligen (1,7) Geruchseindrücke.

Tabelle 29: Intensitäten einzelner Aromaqualitäten im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), unter Angabe der jeweiligen Referenzverbindung.

Aromaqualität	Na	Tr	Referenzverbindung
fruchtig	0,4 ^a	1,8	2-Methylbutansäureethylester
nach Essig	0,6	0,6	Ethansäure
malzig	2,0	1,7	2-Methylbutanal
nach Karamell	1,1	1,1	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon
nach Honig	1,0	1,3	Phenylacetaldehyd
nach Kaffee	2,4	2,0	2-Furfurylthiol
röstig / schweflig	1,9	1,7	3-Methyl-2-buten-1-thiol
erdig	1,8	1,9	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin
rauchig	1,4	1,4	2-Methoxyphenol

^a Durchschnittliche Intensität auf einer Skala zwischen 0 (nicht wahrnehmbar) und 3 (stark wahrnehmbar).

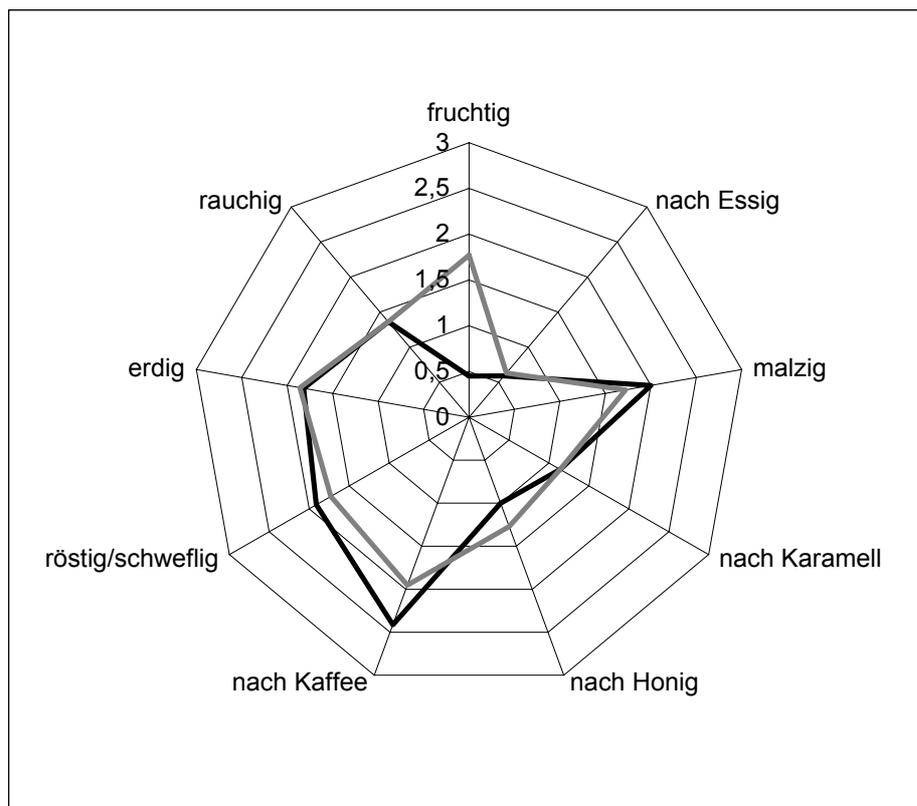


Abbildung 14: Aromaprofilanalyse von Kaffeegetränken aus Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (—) und trocken (—).

2.3.2 Vergleichende Aromaextraktverdünnungsanalyse

Entsprechend und unter identischen Bedingungen im Vergleich zum Röstkaffee (vgl. 2.2.3) wurden mit den Gesamtfractionen der Aromaextrakte der Kaffeegetränke aus unterschiedlich aufbereitetem Röstkaffee parallel Aromaextraktverdünnungsanalysen durchgeführt. Die eingesetzte Menge Röstkaffee, die zur Herstellung der Kaffeegetränke verwendet wurde, entsprach dabei der für die Untersuchungen am Röstkaffee direkt zur Extraktion eingesetzten Menge (54 g/l).

Bei der AEVA des Kaffeegetränks aus nass aufbereitetem Röstkaffee (Peru 2001) wurden 21 Substanzen mit hohen FD-Faktoren (≥ 32) detektiert, unter denen (E)- β -Damascenon (nach gekochtem Apfel), 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon (nach Karamell), 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd (nach gekochter Kartoffel) und 2-Furfurylthiol (nach Kaffee) die höchsten FD-Faktoren (1024) erreichten (Tabelle 30). Weiterhin spielten erdig, röstige Pyrazine (z.B. 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin), würzige (z.B. 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon) Furanone, rauchig / phenolische und nelkenartige Phenole (2-Methoxyphenol, 4-Vinyl-2-methoxyphenol) und schweflige Verbindungen (3-Methyl-2-buten-1-thiol) eine wichtige Rolle, ergänzt durch die schweißige 2-/3-Methylbutansäure, sowie die butterartig riechenden Diketone 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion.

Auch im Kaffeegetränk aus trocken aufbereitetem Röstkaffee wurden alle bereits genannten Verbindungen mit nahezu identischen FD-Faktoren wiedergefunden, Abweichungen betragen dabei höchstens eine Verdünnungsstufe. Zusätzlich konnten jedoch die fruchtig riechenden 2- und 3-Methylbutansäureethylester mit FD-Faktoren von 32 detektiert werden, die im Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee nicht wahrgenommen ($FD < 1$) wurden. Wiederum zeigten im Getränk aus der trockenen Aufbereitung auch die malzig riechenden Verbindungen 2- und 3-Methylbutanal jeweils um zwei Verdünnungsstufen höhere FD-Faktoren.

2.3.3 Vergleichende Headspaceverdünnungsanalyse

Zur Ergänzung der AEVA wurden auch im Kaffeegetränk aus nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee Headspaceverdünnungsanalysen durchgeführt (Tabelle 31).

Tabelle 30: Aromastoffe mit hohen FD-Faktoren (≥ 32) im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Nr. ^a	Verbindung ^b	RI auf		Geruchsqualität	FD-Faktor ^d in	
		FFAP	DB-5		Na	Tr
1	3-Methylbutanal ^c	-	651	malzig	32	128
2	2-Methylbutanal ^c	-	662	malzig	8	32
3	2,3-Butandion	977	595	nach Butter	256	256
4	2-Methylbutansäureethylester	1048	851	fruchtig	<1	32
5	2,3-Pentandion	1059	696	nach Butter	64	64
6	3-Methylbutansäureethylester	1065	851	fruchtig	<1	32
7	3-Methyl-2-buten-1-thiol	1105	815	schweflig	256	256
8	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1439	1078	erdig, röstig	512	512
9	2-Furfurylthiol ^c	1440	908	nach Kaffee	1024	1024
10	Ethansäure	1448	628	nach Essig	32	64
11	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd ^c	1461	903	nach gekochter Kartoffel	1024	1024
12	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	1487	1154	erdig, röstig	256	256
13	3-Isobutyl-2-methoxy-pyrazin	1521	1188	nach Paprika	512	512
15	2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin	1554	1105	erdig, röstig	512	512
16	2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin	1588	1177	erdig, röstig	256	256
17	2-/3-Methylbutansäure	1667	865	schweißig	256	256
20	(E)- β -Damascenon ^c	1821	1385	nach gekochtem Apfel	1024	1024
21	2-Methoxyphenol	1866	1088	phenolisch	512	512
22	4-Ethyl-2-methoxyphenol	2030	1285	süß, phenolisch	128	256
23	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon ^c	2038	1064	nach Karamell	1024	1024
24	2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon ^c	2094	1144	nach Karamell	512	512
25	4-Vinyl-2-methoxyphenol	2200	1317	nach Nelke	256	256
26	3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon ^c	2206	1105	würzig	512	512
27	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon ^c	2275	1190	würzig	256	256

^a Die Nummern beziehen sich auf Tabelle 18.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, MS-EI und der Geruchsqualität.

^c Die Verbindungen wurden durch Vergleich ihrer Retentionsindices (RI) auf den in der Tabelle angegebenen Kapillarsäulen, ihrer MS-CI Spektren und ihrer Geruchsqualitäten mit identischen Referenzverbindungen identifiziert.

^d Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 32 in mindestens einer Probe aufwiesen

Tabelle 31: Wichtige, leichtflüchtige Aromastoffe im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Nr. ^a	Verbindung ^b	RI auf	Geruchs- qualität	FD-Faktor ^c in	
		RTX-5, 60 m		Na	Tr
34	Acetaldehyd	< 400	fruchtig, stechend	8	8
35	Methylpropanal	552	malzig	32	64
3	2,3-Butandion	592	nach Butter	256	256
1	3-Methylbutanal	652	malzig	32	64
2	2-Methylbutanal	663	malzig	16	32
5	2,3-Pentandion	696	nach Butter	64	64
7	3-Methyl-2-buten-1-thiol	820	schweflig	8	8
4	2-Methylbutansäureethylester	841	fruchtig	< 1	64
6	3-Methylbutansäureethylester	850	fruchtig	< 1	64
11	3-(Methylmercapto)- propionaldehyd	906	nach gekochter Kartoffel	64	64
9	2-Furfurylthiol	914	nach Kaffee	128	128
8	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	1026	erdig, röstig	8	8
23	4-Hydroxy-2,5-dimethyl- 3(2H)-furanon	1056	nach Karamell	16	16

^a Die Nummern beziehen sich auf Tabelle 18.

^b Die Verbindungen wurden durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien identifiziert: Retentionsindices (RI) auf der in der Tabelle angegebenen Kapillarsäule, MS-CI und der Geruchsqualität.

^c Flavor Dilution (FD-) Faktor (Verdünnungsfaktor) einer Verbindung, erhalten durch Division des größten analysierten Headspace-Volumens von 20 ml durch das kleinste, in dem der Aromastoff bei der HRGC/O noch detektiert werden konnte. Aufgeführt sind Verbindungen, die einen FD von 16 in mindestens einer Probe aufwiesen.

Wie bereits beim Röstkaffee konnten auch bei der HVA der Kaffeegetränke zusätzlich zur AEVA der fruchtig-stechende Acetaldehyd und das malzig riechende Methylpropanal wahrgenommen werden. Der Vergleich der Kaffeegetränke aus nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee brachte unter den mit hohen FD-Faktoren (≥ 16) detektierten Verbindungen, z.B. 2-Furfurylthiol oder 2,3-Butandion keine Differenzen hervor, selbst bei den malzigen Verbindungen Methylpropanal und 2- und 3-Methylbutanal konnten keine größeren Unterschiede in den FD-Faktoren mehr festgestellt werden. Nur das Auftreten der fruchtig riechenden 2- und 3-Methylbutansäureethylester im Kaffeegetränk aus trocken aufbereitetem Röstkaffee war nach wie vor als deutlicher Unterschied zur nass aufbereiteten Probe zu verzeichnen.

2.3.4 Quantitative Bestimmung ausgewählter Aromastoffe

Bei der quantitativen Bestimmung von Aromastoffen in den Kaffeegetränken aus Röstkaffee unterschiedlicher Aufbereitung mittels Isotopenverdünnungsanalyse wurde nur noch auf die in den vorangegangenen Analysen gefundenen Unterschiede eingegangen, d.h. 2- und 3-Methylbutansäureethylester, 2-Methylpropansäureethylester, sowie 2- und 3-Methylbutanal (Tabelle 32).

Tabelle 32: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr).

Verbindung	Gehalt in µg/l Getränk ^a	
	Na	Tr
2-Methylpropansäureethylester	< 0,05	0,48
2-Methylbutansäureethylester	< 0,05	1,24
3-Methylbutansäureethylester	< 0,05	4,64
3-Methylbutanal	183	276
2-Methylbutanal	139	227

^a Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Dreifachbestimmung und beziehen sich auf 1 l Kaffeegetränk (54 g Röstkaffee).

Tabelle 33: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Röstkaffee (Peru 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung (nass (Na) und trocken (Tr)) und dem daraus hergestellten Kaffeegetränk im Vergleich, sowie Extraktionsausbeuten der Verbindungen.

Verbindung	Gehalt in µg/l Kaffeegetränk ^a		Gehalt in µg/54 g Röstkaffee ^b		Extraktionsausbeute ^c
	Na	Tr	Na	Tr	
2-Methylpropansäureethylester	< 0,05	0,48	< 0,05	0,83	59
2-Methylbutansäureethylester	< 0,05	1,24	< 0,05	2,66	47
3-Methylbutansäureethylester	< 0,05	4,64	< 0,05	9,83	47
3-Methylbutanal	183	276	241	437	70
2-Methylbutanal	139	227	340	532	42

^a Angegebene Gehalte beziehen sich auf 1 l Kaffeegetränk, das durch Extraktion von 54 g Röstkaffee hergestellt wurde (vgl. Tabelle 32).

^b Angegebene Gehalte beziehen sich auf 54 g Röstkaffeepulver (vgl. Tabelle 21).

^c Prozentangabe des Verhältnisses zwischen den Aromastoffgehalten in 1 l Kaffeegetränk und 54 g Kaffeepulver.

Dabei zeigte sich, dass weiterhin 30-40 % höhere Konzentrationen für 2- und 3-Methylbutanal und um den Faktor 10-90 erhöhte Werte an Estern, die mit bis zu 4,6 µg / l Kaffeegetränk für 3-Methylbutansäureethylester vorlagen, im Kaffeegetränk aus trocken aufbereitetem Röstkaffee gefunden wurden.

In Tabelle 33 sind die Extraktionsausbeuten bei der Herstellung des Kaffeegetränks aus Röstkaffeepulver dargestellt, die für die Ester bei 50-60 % lagen.

2.3.5 Sensorische Experimente

Um die Auswirkungen der gefundenen Unterschiede in den Esterkonzentrationen auf den Gesamtaromaeindruck des Kaffeegetränks sensorisch zu überprüfen, wurden zwei unabhängige Dreiecksprüfungen durchgeführt, wobei Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee als Matrix und als abweichende Probe dasselbe Kaffeegetränk, nur mit der in der trocken aufbereiteten Probe bestimmten Menge an 2- und 3-Methylbutansäureethylester versetzt, verwendet wurde. Die zugesetzten Konzentrationen betragen dabei 20 µg 2-Methylbutansäureethylester und 80 µg 3-Methylbutansäureethylester pro Kilogramm des zur Herstellung des Kaffeegetränks verwendeten Röstkaffees.

Eine Unterscheidung war mit mindestens 99 % Sicherheit signifikant bis hoch signifikant möglich (Tabelle 34). In einer parallel durchgeführten hedonischen Bewertung wurde die abweichende Probe, d.h. die Probe mit Esterzusatz, von ebenfalls 80-90 % der Prüfer, die den Unterschied richtig erkannt hatten, als in ihrer Aromaqualität gemindert bewertet.

Tabelle 34: Ergebnisse von Triangel-Tests zwischen Kaffeegetränken aus Röstkaffee (Peru 2001) nasser Aufbereitung und aus dem nass aufbereiteten Röstkaffee mit Zusatz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester.

Zugesetzte Verbindungen	Teilnehmer	Richtig	Falsch	Signifikanz
2- und 3-Methylbutansäureethylester	10	8	2	signifikant $\alpha < 0,01$
	10	9	1	hoch signifikant $\alpha < 0,001$

2.4 Bestimmung von Estergehalten in kommerziellen Kaffees unter Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

Um weiterhin den ermittelten Unterschied zwischen nass und trocken aufbereitetem Kaffee auch in Kaffeegetränken aus kommerziell erhältlichen Kaffees nachzuweisen, wurden diese auf ihre Gehalte an 2- und 3-Methylbutansäureethylester hin untersucht. Zu diesem Zweck wurde erstmals die Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), eine relativ neue Methode zur Extraktion von Analyten aus gasförmigen oder wässrigen Matrices, in Kombination mit der Isotopenverdünnungsanalyse eingesetzt und diese damit auf ihre Verwendbarkeit als schnelle und einfache Methode für die Aromastoffanalytik getestet.

2.4.1 Modellstudien zur Extraktion von Aromastoffen mit der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

Das Prinzip der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) beruht auf der absorptiven Extraktion der zu untersuchenden Verbindungen an eine Polydimethylsiloxan-Phase (PDMS) und damit auf dem Verteilungsgleichgewicht der Komponenten in dem Zweiphasensystem Wasser (oder Gasraum) / PDMS (*Baltussen et al.*, 1999; *Hässelbarth*, 2000). Wie sich in den durchgeführten Versuchen bestätigte, liegen die Vorteile dabei vor allem in der lösungsmittelfreien, einfachen und schnellen Aufarbeitung, zusätzlich zu den höheren Ausbeuten und der damit verbundenen höheren Empfindlichkeit gegenüber der In-Sample Solid Phase Micro-Extraction (IS-SPME), die durch die deutlich größere Kapazität der Polydimethylsiloxan-Phase bedingt sind (*Bicchi et al.*, 1997; 2002).

Bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) spielten neben der Polarität der einzelnen Verbindungen, die für die Selektivität bei der Absorption an der Polydimethylsiloxan-Phase (PDMS) ausschlaggebend war, folgende grundlegende, äußere Faktoren eine Rolle, die die Gleichgewichtseinstellung des Analyten zwischen PDMS-Phase und Extraktionsmedium beeinflussten: die Extraktionsdauer, die Konzentration der Analyten und der Lösungsmittelgehalt der Probe. Weiterhin wurde auch ein möglicher Aussalzeffekt einzelner Verbindungen durch Zusatz von Natriumchlorid untersucht.

Für die Untersuchung des Einflusses der einzelnen Analyseparameter auf die Absorption der Analyten und um daraus Rückschlüsse auf die Anwendungsgrenzen der Methode zu ziehen, wurde eine wässrige Aromastofflösung, bestehend aus acht Aromastoffen unterschiedlicher Polarität und Funktionalität (2-Methylbutansäureethylester, 2-Methylbutanol, Octanal, 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin, 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol, 2-Methoxyphenol und 3-Methylbutansäure) verwendet, die in Konzentrationen zu je 10 µg / ml Wasser vorlagen. Die Verwendung der Twister® erfolgte dabei durch Rühren direkt in den Aromastofflösungen.

2.4.1.1 Selektivität

Die Selektivität des Twister® für bestimmte Verbindungen lag in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der PDMS-Phase begründet. Konkret hieß das, dass die Absorptionsfähigkeit der apolaren Phase mit steigender Polarität der Verbindungen abnahm, da sich damit auch das Verteilungsgleichgewicht zugunsten des Extraktionsmediums Wasser verschob (Tabelle 35).

Tabelle 35: Relative Absorptionsfähigkeit einzelner Verbindungen unterschiedlicher Polarität bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) aus wässriger Lösung am Twister® (PDMS-Phase).

Verbindung	Absorptionsfähigkeit
2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	gut
2-Methylbutansäureethylester	gut
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	gut
Octanal	gut
2-Methoxyphenol	schlecht
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	schlecht
2-Methylbutanol	-
3-Methylbutansäure	-

So konnte aus der verwendeten Aromastoffmischung 2-Methylbutanol und 3-Methylbutansäure in keinem der Analyseläufe (auch in keiner der folgenden Untersuchungen) und 2-Methoxyphenol und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd jeweils nur sehr

schwach detektiert werden, während die restlichen vier Verbindungen gut absorbiert wurden und deutliche Signale bei der gaschromatographischen Untersuchung aufwiesen. Eine Anwendung der Extraktionsmethode zur Durchführung von Aromastoffscreenings wie bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse schied daher von vornherein aus. Durch die Selektivität der Phase würden viele Aromastoffe unter- oder überbewertet, andere dagegen gar nicht detektiert werden. Die Möglichkeit zur Untersuchung einzelner Verbindungen, wie z.B. für Quantifizierungen, war jedoch bei ausreichender Absorptionsfähigkeit gegeben.

2.4.1.2 Einfluss der Extraktionsdauer

Die Extraktionsdauer stellt die Zeit dar, die für die Gleichgewichtseinstellung zwischen Extraktionsmedium und PDMS-Phase zur Verfügung steht. Sie wurde bei den durchgeführten Untersuchungen zwischen 5 Minuten und 4 Stunden variiert (Abbildung 15).

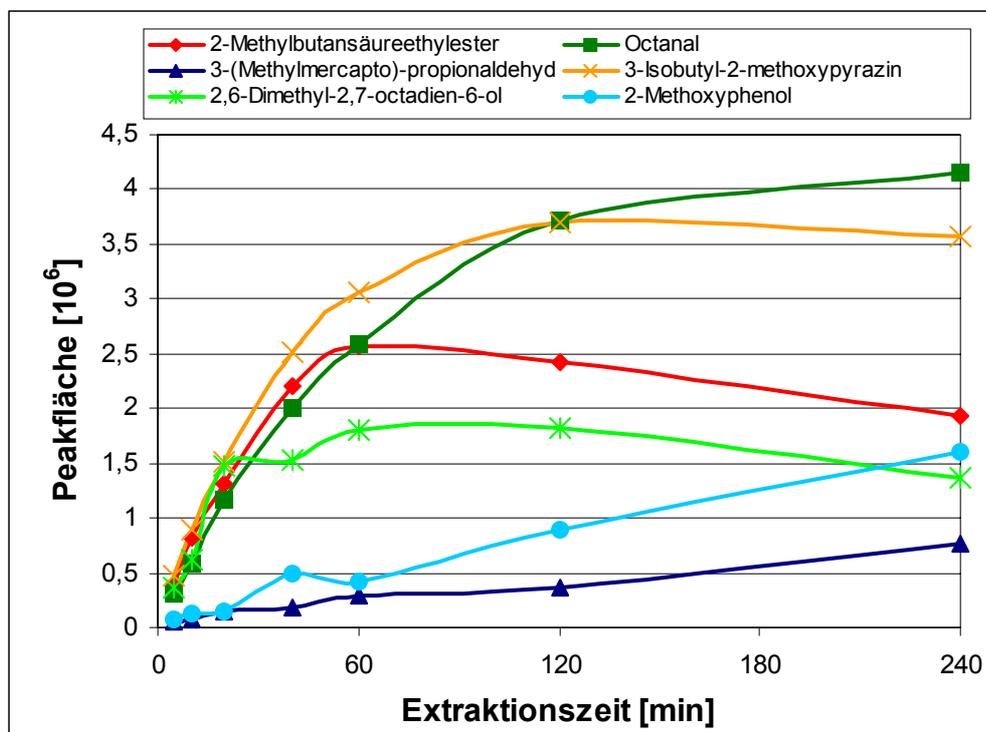


Abbildung 15: Erhaltene relative Peakflächen bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.

Auffällig war dabei, dass Verbindungen, die nur schlecht absorbiert wurden (2-Methoxyphenol und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd), selbst nach vier Stunden in ihrer Intensität noch zunahmten, d.h. die Gleichgewichtseinstellung nicht abgeschlossen war, während alle anderen nach einer, spätestens zwei Stunden ein Maximum erreichten, d.h. die Gleichgewichtseinstellung beendet war. Bei 2-Methylbutansäureethylester und 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol trat nach Durchschreiten des Maximums sogar ein gegenteiliger Effekt ein und die absorbierten Mengen nahmen wieder ab. Eine einheitliche Extraktionsdauer bot sich daher nicht an, sondern war jeweils auf die zu analysierende Verbindung abzustimmen, was eine gleichzeitige Untersuchung mehrerer Substanzen erschwerte.

2.4.1.3 Einfluss der Aromastoffkonzentration

Eine Gleichgewichtsverschiebung kann durch Änderung der Konzentrationen involvierter Verbindungen auf einer Seite des Gleichgewichts forciert werden. Dies kann sowohl durch Veränderung des Extraktionsvolumens, als auch durch Veränderung der Gesamtmenge des Analyten in gleichbleibendem Volumen erreicht werden. Beide Varianten führten in gegebenem Fall zu gleichen Ergebnissen.

Die Aufnahme der Analyten in den eingesetzten Konzentrationsbereichen verhielt sich dabei mit den erhaltenen Peakflächen linear (Abbildung 16). Die relative Absorption der einzelnen Verbindungen untereinander war jedoch leichten Veränderungen unterworfen, was sich aus den unterschiedlichen Steigungen der Geraden ableiten ließ.

Die maximale Aufnahmekapazität der PDMS-Phase wurde nicht erreicht, weshalb die Auswirkungen dieses Effektes nicht beschrieben werden konnten, auch wenn zu erwarten wäre, dass sich die Extraktionsgleichgewichte bei einer Überladung der Phase stark verschieben und z.B. eine Diskriminierung einzelner Verbindungen auftritt.

Weiterhin war gut zu erkennen, dass unterhalb von 0,1 µg 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd und 0,25 µg 2-Methoxyphenol pro 50 ml, die Verbindungen jeweils nicht mehr detektiert werden konnten und damit ihre Bestimmungsgrenze in dem Bereich zur nächst niedrigeren verwendeten Konzentration liegen mussten.

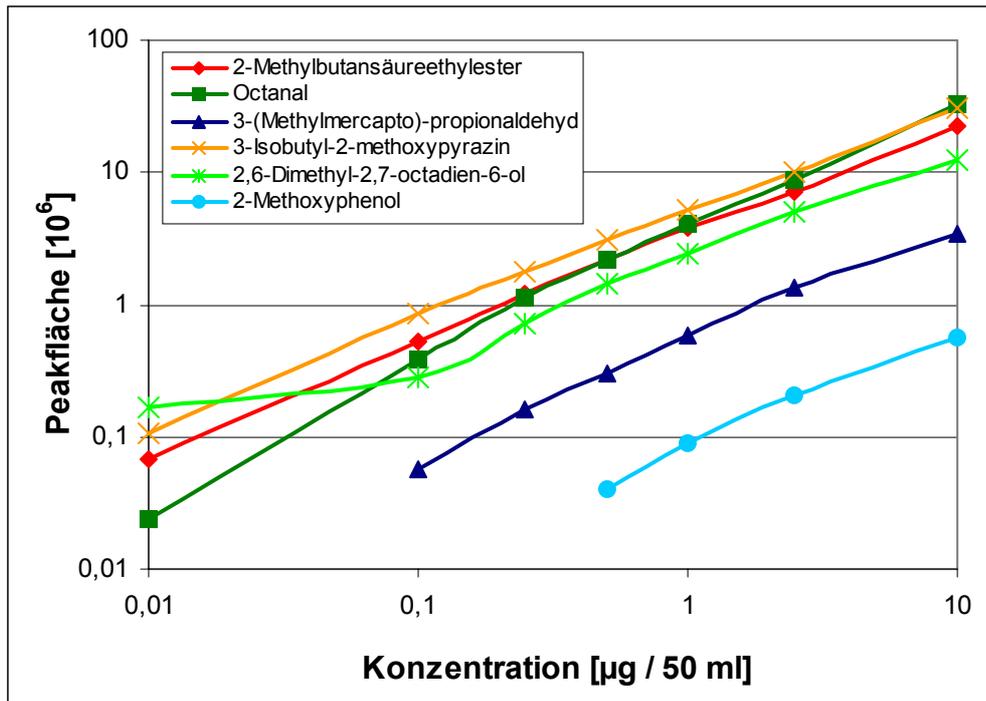


Abbildung 16: Logarithmische Darstellung der erhaltenen relativen Peakflächen bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde einer Aromastoffmischung in Abhängigkeit von der Konzentration der Analyten.

2.4.1.4 Einfluss von Lösungsmitteln

Lösungsmittel wurden bedingt durch ihre Polarität ebenfalls unterschiedlich stark an der PDMS-Phase absorbiert, wobei mit zunehmender Apolarität des Lösungsmittels eine stärkere Absorption stattfand. Durch den zusätzlich hohen Gehalt der Lösungsmittel im Verhältnis zu dem der Analyten war sowohl eine Überladung der PDMS-Phase möglich als auch eine Diskriminierung der Analyten zu erwarten. In Tabelle 36 wurden daher die Extraktionsausbeuten in [%] bei einem Zusatz verschiedener Lösungsmittel gegenüber der erzielten Ausbeuten (berechnet aus den Peakflächen) der Analyten bei Abwesenheit von Lösungsmitteln (100 %) angegeben.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Extraktionsausbeuten aller Analyten in Anwesenheit von Lösungsmitteln abnahmen, dies jedoch je nach Verbindung und Lösungsmittel unterschiedlich stark. 2-Methoxyphenol wies dabei die höchsten Verluste auf und konnte unabhängig vom Lösungsmittel meist nur noch mit 30 % seines ursprünglichen Gehalts oder weniger detektiert werden.

Tabelle 36: Relative Extraktionsausbeuten in [%] bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) mit Zusätzen von Lösungsmitteln.

Lösungs- mittelzusatz	Extraktionsausbeute in [%] ^a					
	2-Methylbutan- säureethylester	Octanal	3-(Methylmercapto)- propionaldehyd	3-Isobutyl-2- methoxypyrazin	2,6-Dimethyl-2,7- octadien-6-ol	2-Methoxy- phenol
Kein Zusatz	100	100	100	100	100	100
10 µl CH ₂ Cl ₂	44	84	87	84	69	29
25 µl CH ₂ Cl ₂	36	65	51	70	36	22
50 µl CH ₂ Cl ₂	31	54	24	61	33	15
10 µl Diethylether	36	75	81	62	45	18
50 µl Diethylether	25	55	60	41	27	15
10 µl Pentan	60	80	82	88	80	22
50 µl Pentan	41	69	85	80	45	<1
50 µl Methanol	78	99	99	97	93	46
500 µl Methanol	89	85	79	84	81	27
50 µl Ethanol	77	88	76	88	83	27
500 µl Ethanol	70	86	87	81	76	25
50 µl Propanol	n.d. ^b	81	60	69	68	30
500 µl Propanol	n.d. ^b	61	22	42	26	28

^a Die angegebenen Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung, die Standardabweichung beträgt 10 %.

^b n.d. = nicht detektierbar, da die Retentionszeit des Analyten mit der des Lösungsmittels zusammenfällt.

Ansonsten hatte die Zugabe von polaren Lösungsmitteln in geringen Mengen (50 µl) fast keine (Methanol) oder nur sehr geringe Auswirkungen (Ethanol) auf die Absorption der Analyten und auch größere Mengen (500 µl) drückten die ermittelten Extraktionsausbeuten nur in wenigen Fällen unter 80 %. Die etwas geringere Polarität von Propanol machte sich dagegen bereits in einem Zusatz von 50 µl bemerkbar (Verluste um 20-40 %) und führte bei Zugaben von 500 µl zu einem Absinken auf bis zu 20 %. Ethanol erwies sich damit als am besten geeignet um z.B. eine ausreichend genaue Zugabe der Standards bei der Isotopenverdünnungsanalyse zu ermöglichen.

Apolare Lösungsmittel (Dichlormethan, Diethylether, Pentan) verursachten schon bei einem Zusatz von 10 µl eine Reduzierung der Analytenaufnahme auf 80 % und weniger, die bei Zugabe von 50 µl Lösungsmittel noch deutlich weiter sank und je nach Verbindung nur noch 20-60 % betrug, wobei Pentan den geringsten Einfluss der drei

untersuchten Lösungsmittel auf die Absorption der Analyten erkennen ließ, unter denen bei 2-Methylbutansäureethylester allgemein die höchsten Verluste zu verzeichnen waren.

2.4.1.5 Aussalzeffekte

Die Zugabe von Natriumchlorid setzt die Löslichkeit anderer Verbindungen in Wasser herab und fördert damit die Absorption der Analyten an der PDMS-Phase durch Beeinflussung der Verteilungsgleichgewichte. In Tabelle 37 werden daher die erzielten Extraktionsänderungen der Analyten in [%] bei Verwendung von Natriumchloridlösungen gegenüber destilliertem Wasser als Extraktionsmedium angegeben.

Tabelle 37: Relative Extraktionsänderungen in [%] bei der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) für 1 Stunde von 50 ml einer Aromastoffmischung (Konzentrationen je 10 µg/l) mit Zusätzen von Natriumchlorid.

NaCl-Lösung	Extraktionsänderung in [%] ^a					
	2-Methylbutan-säureethylester	Octanal	3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	3-Isobutyl-2-methoxy-pyrazin	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	2-Methoxyphenol
Kein Zusatz	100	100	100	100	100	100
10 % gesättigt	89	105	102	107	117	90
50 % gesättigt	140	125	172	147	240	102
100 % gesättigt	104	86	336	106	348	158

^a Die angegebenen Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung, die Standardabweichung beträgt 10 %.

Die Verwendung von 10 % gesättigter Natriumchloridlösung führte dabei noch kaum zu einer Veränderung der Absorptionsraten, wogegen der Einsatz von 50 % gesättigter Natriumchloridlösung eine Zunahme um 25-140 % (mit Ausnahme von 2-Methoxyphenol) bewirkte. Gerade bei den von der PDMS-Phase schlecht absorbierten Verbindungen wie 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd und 2-Methoxyphenol steigerte sich die Ausbeute dann bei Verwendung von gesättigter Kochsalzlösung nochmals deutlich, während die ermittelten Intensitäten bei einigen anderen Verbindungen wieder in den Ausgangsbereich zurückfielen. Die Effektivität einer Natriumchloridzugabe blieb damit vor einer eventuellen Anwendung im Einzelfall zu überprüfen.

2.4.2 Quantitative Bestimmung in Kaffee

Die anhand der Kombination von Isotopenverdünnungsanalyse und SBSE vorgenommenen Quantifizierungen im Kaffeegetränk konnten für die untersuchten Verbindungen 2-Methylpropansäureethylester und 2- und 3-Methylbutansäureethylester unproblematisch durchgeführt werden. Diese wiesen eine ausreichende Absorptionsfähigkeit auf und wurden durch den Einfluss anderer Matrixbestandteile des Kaffeegetränks, die die PDMS-Phase zusätzlich belasten, nicht entscheidend diskriminiert. Eine Beeinflussung des Verteilungsgleichgewichtes durch Lösungsmittelzusatz bei der Zugabe des internen Standards wurde durch die Verwendung von in Ethanol gelösten Standards weitestgehend umgangen.

Tabelle 38: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee (Peru 2001 und Brasilien 2001) verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), ermittelt unter Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE).

Verbindung	Gehalt in µg/l Kaffeegetränk ^a			
	Peru 2001		Brasilien 2001	
	Na	Tr	Na	Tr
2-Methylpropansäureethylester	< 0,05	0,48	< 0,05	0,18
2-Methylbutansäureethylester	< 0,05	1,21	< 0,05	0,64
3-Methylbutansäureethylester	< 0,05	4,85	< 0,05	1,61

^a Angegebene Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung und beziehen sich auf 1 l Kaffeegetränk (54 g Röstkaffee).

Tabelle 39: Konzentrationen von ausgewählten Aromastoffen im Kaffeegetränk aus Röstkaffee Peru 2001 verschiedener technologischer Aufbereitung: nass (Na) und trocken (Tr), in Abhängigkeit von der Extraktionsmethode: Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) und Lösungsmittelextraktion.

Verbindung	Gehalt in µg/l Kaffeegetränk ^a			
	SBSE		Lösungsmittel	
	Na	Tr	Na	Tr
2-Methylpropansäureethylester	< 0,05	0,48	< 0,05	0,48
2-Methylbutansäureethylester	< 0,05	1,21	< 0,05	1,24
3-Methylbutansäureethylester	< 0,05	4,85	< 0,05	4,64

^a Angegebene Werte beziehen sich auf 1 l Kaffeegetränk (54 g Röstkaffee).

In Tabelle 38 sind die durch SBSE/IVA ermittelten quantitativen Daten aus den Kaffeegetränken Peru 2001 und Brasilien 2001 zusammengefasst und in Tabelle 39 den entsprechenden Daten gegenübergestellt, die bei der Lösungsmittlextraktion (vgl. 2.3.4) erhalten wurden.

In den Kaffeegetränken aus trocken aufbereitetem Röstkaffee wurden durch SBSE in Verbindung mit der Isotopenverdünnungsanalyse die untersuchten Ester in nahezu identischen Konzentrationen wie bei der Lösungsmittlextraktion nachgewiesen.

Im Weiteren wurden elf kommerziell erhältliche Kaffeesorten auf ihre Gehalte an 2- und 3-Methylbutansäureethylester untersucht (Tabelle 40). In keinem der nass aufbereiteten Kaffees konnten Gehalte an Methylbutansäureethylestern nachgewiesen werden, während in den Kaffeemischungen Dallmayr Prodomo und Melitta Kaffee Auslese geringe Konzentrationen (0,2-0,4 µg/l) an 3-Methylbutansäureethylester gefunden wurden und in den beiden trocken aufbereiteten Kaffees höhere Gehalte quantifiziert werden konnten.

Tabelle 40: Konzentrationen von 2- und 3-Methylbutansäureethylester (MBE) im Kaffeegetränk aus verschiedenen kommerziell erhältlichen Röstkaffeepulvern.

Kaffee	Herkunft	Aufbereitung	Gehalt in µg/l Kaffeegetränk ^a	
			2-MBE	3-MBE
Tchibo	Brasilien	trocken	0,23	1,24
Hasingawa Ltd.	Jemen	trocken	0,40	2,78
Melitta: Kaffee Auslese	Brasilien	unbekannt	< 0,05	0,36
Dallmayr: Prodomo	unbekannt	unbekannt	< 0,05	0,22
Dallmayr: Ethiopian Crown	Äthiopien	nass	< 0,05	< 0,05
Dallmayr: Antigua Tarrazu	Guatemala, Costa Rica	nass	< 0,05	< 0,05
Dallmayr: Dyawa Antara	Indien, Java, Neu-Guinea	nass	< 0,05	< 0,05
Dallmayr: San Sebastian	Hochland von Guatemala	nass	< 0,05	< 0,05
Dallmayr: Sigri	Papua Neu Guinea	nass	< 0,05	< 0,05
Caffe Rocchi: Special Bar	unbekannt	nass	< 0,05	< 0,05
Tudor: Löslicher Kaffee Gold	unbekannt	unbekannt	< 0,05	< 0,05

^a Angegebene Werte beziehen sich auf 1 l Kaffeegetränk (54 g Röstkaffee).

2.5 Diskussion

Bereits *Chassevent et al.* (1970), *Wooton* (1973) und *Vincent et al.* (1979) hatten darauf hingewiesen, dass sich sowohl die von ihnen untersuchten nass und trocken aufbereiteten Röstkaffees, als auch die daraus hergestellten Kaffeegetränke sensorisch unterschieden. Im Gegensatz zum Röstkaffee war bislang jedoch nicht bekannt, ob nass und trocken aufbereiteter Rohkaffee anhand seines Aromas, d.h. der Konzentration wichtiger Aromastoffe, unterschieden werden kann. Die hoch signifikanten Ergebnisse der Dreiecksprüfungen zwischen nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee aus Peru und aus Brasilien zeigten jedoch, dass auch in Rohkaffee deutliche Unterschiede im Aroma in Abhängigkeit von den beiden Aufbereitungen bestehen, da eine Unterscheidung mit 99,9 %iger Sicherheit vorgenommen werden konnte.

Anhand der Aromaextrakt- und Headspaceverdünnungsanalyse, speziell durch Vergleich der von *Czerny und Grosch* (2000) zur Charakterisierung des Aromas von Rohkaffee verwendeten Verbindungen, konnte dann gezeigt werden, dass alle Pyrazine, Phenole und Aldehyde in ihren FD-Faktoren keine größeren Unterschiede zwischen nasser und trockener Aufbereitung aufwiesen und damit eine ähnlich wichtige Rolle in beiden Proben einnahmen. Besonders das als wichtigster Aromastoff in Rohkaffee postulierte 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin (*Vitzthum et al.*, 1976; *Holscher und Steinhart*, 1995) zeigte fast identische Konzentrationen. Nur die beiden fruchtig riechenden Ester 2- und 3-Methylbutansäureethylester, die erstmals von *Merrit et al.* (1970) in Rohkaffee nachgewiesen wurden, bildeten eine Ausnahme. Sie kamen ausschließlich im trocken aufbereiteten Rohkaffee vor, in dem zusätzlich auch 2-Methylpropansäureethylester, sowie stark erhöhte Konzentrationen an Ethansäure und in etwas geringerem Umfang an 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol ermittelt werden konnten.

Daraus ist zu folgern, dass Ester und Ethansäure aufgrund ihrer vergleichsweise hohen Konzentrationen in trocken aufbereitetem Rohkaffee eine Veränderung des Gesamtaromas verursachten und möglicherweise zur Unterdrückung der Geruchswahrnehmung von wichtigen aromarelevanten Verbindungen wie z.B. 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin führten. Dies war schon im Aromaprofil zu erkennen, in dem bei trocken aufbereitetem Rohkaffee die Geruchseindrücke „fruchtig“, „nach Essig“ und „citrusartig“ dominierten, während die grünen, heu- und paprikaartigen Noten in ihrer

Intensität deutlich hinter denen des nass aufbereiteten Rohkaffees zurücklagen, obwohl damit korrelierende Substanzen bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse gleiche FD-Faktoren erzielten.

2- und 3-Methylbutansäureethylester wurden bereits von *Guyot et al.* (1983) für das vor allem durch Überfermentation entstehende Fehlaroma sogenannter „Stinker-Bohnen“ in nass aufbereitetem Rohkaffee verantwortlich gemacht. Weiterhin konnten *Bade-Wegner et al.* (1997) belegen, dass erhöhte Bohnenfeuchtigkeit und erhöhte Temperaturen die Bildung dieses off-flavours begünstigen, welches nicht nur bei fehlerhafter nasser Aufbereitung (Überfermentation) gebildet, sondern von ihnen auch in trocken aufbereitetem Rohkaffee nachgewiesen wurde. Da *Czerny und Grosch* (2000) im Gegensatz dazu die beiden Ester nicht zu den Fehlaromen, sondern zu den Aroma-Impakt-Verbindungen des Rohkaffees zählten, lässt sich insgesamt auch in Anbetracht der in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse daraus ableiten, dass die in trocken aufbereitetem Rohkaffee enthaltenen Ester 2- und 3-Methylbutansäureethylester in höheren Konzentrationen zu einem feststellbaren Aromafehler führen können, ähnlich dem, der bislang ausschließlich in nass aufbereitetem Rohkaffee bei Überfermentation der Kaffeebohnen beschrieben wurde.

Ein durch Ester (unter anderem 2- und 3-Methylbutansäureethylester) verursachtes fruchtiges Fehlaroma bei trocken aufbereitetem Rohkaffee stellten auch *Full et al.* (1999) fest. Dieses konnte jedoch durch die elektronische Aussortierung defekter Bohnen vor der Aufbereitung vermieden werden. Dass das Fehlaroma bei nass aufbereiteten Bohnen nicht auftrat, begründeten sie damit, dass bei der nassen Aufbereitung bereits eine Sortierung im Schwemmkanal und den Pulpn stattfand. Die dabei anfallenden Aussortierungsprodukte, „Floater“ und unreife Bohnen, konnten im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden, wobei jedoch die bereits teilweise fermentierten, vom Fruchtfleisch größtenteils befreiten „Floater“ nur äußerst geringe Estergehalte aufwiesen und auch die trocken aufbereiteten unreifen Bohnen keine erhöhten Konzentrationen der Ester gegenüber trocken aufbereitetem Rohkaffee enthielten, sodass die Sortierungsschritte allein nicht für die Abwesenheit der Ester in nass aufbereitetem Rohkaffee verantwortlich sein können.

Weiteren Aufschluss über die Herkunft und Bildung von Aromastoffen bei den verschiedenen Aufbereitungen ergaben schließlich die Untersuchungen des unbehan-

delten Rohkaffees, dessen Aromastoffe in der Literatur bislang noch nicht beschrieben wurde. Dieser kommerziell nicht verfügbare Rohkaffee wies im Gegensatz zu den aufbereiteten Rohkaffees höhere Gehalte an 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd, Phenylacetaldehyd und 2-/3-Methylbutansäure auf, die unabhängig von der Art der Aufbereitung bei diesen in gleichem Maße abnahmen, während (E)- β -Damascenon erst nach Aufbereitung detektiert werden konnte. Ansonsten blieben die meisten Aromastoffe jedoch unverändert erhalten und es kamen, während sich bei der nassen Aufbereitung das Aromaprofil nicht weiter veränderte, bei der trockenen Aufbereitung Ester und Ethansäure als zusätzliche Aromastoffe hinzu, was auf eine Bildung dieser Aromastoffe bei der Trocknung schließen lässt.

Bade-Wegner et al. (1997) und *Full et al.* (1999) postulierten unter anderem eine mögliche Bildung der Ester in trocken aufbereitetem Rohkaffee durch Mikroorganismen, die wiederum unter den Bedingungen der nassen Aufbereitung in ihrer Aktivität gehemmt würden. Um diese Theorie zu verfolgen oder um weitere Erkenntnisse über die Bildung der Ester bzw. der Ethansäure zu erlangen, müssten jedoch mikrobiologische und analytische Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf der Aufbereitungen durchgeführt werden.

Wie bereits beim Rohkaffee gelang auch im Röstkaffee eine gesamtensorische Unterscheidung von nass und trocken aufbereiteten Proben. Die sensorische Unterscheidbarkeit von Kaffee verschiedener technologischer Aufbereitung blieb damit (mit einer Sicherheit von mindestens 99 % bei den Dreiecksprüfungen) auch nach der Röstung in den verschiedenen Proben erhalten, auch wenn die Unterschiede nicht mehr ganz so deutlich wahrgenommen wurden wie im Rohkaffee. *Illy und Viani* (1995) maßen dem Röstkaffee aus nasser Aufbereitung außerdem eine bessere Qualität zu, was auch in der hedonischen Prüfung durch die Beurteilung des Gesamtaromaeindrucks eindeutig bestätigt werden konnte.

Der Unterschied in den Aromaprofilen belief sich vor allem auf eine fruchtige Note im trocken aufbereiteten Röstkaffee, die wie bereits im Rohkaffee beobachtet zur Intensitätsverminderung anderer Aromawahrnehmungen führte, wie z.B. (vgl. auch *Czer-ny et al.*, 1999) der für Kaffee typischen Note des 2-Furfurylthiols und den röstigen Geruchseindrücken. Der fruchtige Geruchseindruck stellte auch die einzige Aroma-

note dar, die verglichen zum Rohkaffee nahezu identisch geblieben war, während sich das restliche Aromabild vollständig verändert hatte: Grüne und paprikaartige Geruchseindrücke konnten nicht mehr, erdige und malzige Aromaqualitäten deutlich stärker wahrgenommen werden, wobei zusätzlich rauchige, karamellartige und röstig/schweflige Noten neu auftraten und das Aromaprofil dominierten. Dies korrelierte wiederum mit den Ergebnissen über die durch eine Röstung generierten Aromaveränderungen von *Mayer et al.* (1999) und *Czerny und Grosch* (2000). Diese beschrieben einen durch den Röstprozess bedingten Konzentrationsanstieg bzw. eine Bildung von erdig riechenden Pyrazinen (z.B. 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin), rauchigen Phenolen (z.B. 2-Methoxyphenol), nach Karamell riechenden Furanonen (z.B. 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon) und röstigen, schwefelhaltigen Verbindungen wie z.B. dem nach Kaffee riechenden 2-Furfurylthiol. Auch für die leichtflüchtigen, malzig riechenden Verbindungen 2- und 3-Methylbutanal, sowie die butterartig riechenden Dione 2,3-Butandion und 2,3-Pentandion stellten sie eine Zunahme bei der Röstung fest. Aromastoffe des Rohkaffees, wie z.B. 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin, gingen dabei nicht verloren, sondern wurden in den meisten Fällen von den neu gebildeten Aromastoffen des Röstkaffees maskiert. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Daten von *Czerny et al.* (1999).

Der unbehandelte Kaffee war nach der Röstung schon im Aromaprofil kaum mehr vom nass aufbereiteten Röstkaffee zu unterscheiden und zeigte im Weiteren keine Besonderheiten. Die zwischen unbehandeltem und aufbereitetem Rohkaffee vorhandenen Abweichungen waren im Röstkaffee entweder nicht mehr existent wie z.B. für (E)- β -Damascenon, oder wirkten sich nicht entscheidend auf das Gesamtaroma aus wie z.B. die leicht erhöhten Werte von Phenylacetaldehyd und 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd. Die größeren quantitativen Abweichungen der bei der Röstung gebildeten phenolischen Verbindungen (*Mayer et al.*, 1999) waren auf die unterschiedliche Röstung zurückzuführen und nicht als Merkmal des unbehandelten Röstkaffees anzusehen, der damit im Bezug auf das Aroma keine zusätzlichen Erkenntnisse mehr für die weiteren Untersuchungen liefern konnte.

Sowohl in der Aromaextraktverdünnungsanalyse, als auch in der Headspaceverdünnungsanalyse zeigte sich dann, dass die hier identifizierten Verbindungen den 28 von *Czerny et al.* (1999) angegebenen Aroma-Impakt-Verbindungen des Röstkaffees zugeordnet werden konnten, und dass diese Verbindungen in allen nass und trocken

aufbereiteten Proben (sowohl im Kaffee aus Peru, als auch aus Brasilien) vergleichbar entscheidend am Gesamtaroma beteiligt waren. So traten in den FD-Faktoren der wichtigen geruchsaktiven Substanzen (vgl. 1.6.2, Tabelle 4), (E)- β -Damascenon (nach gekochtem Apfel), 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon (würzig), 4-Vinyl-2-methoxyphenol (nach Nelke), 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin (erdig, röstig), dem karamellartig riechenden 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon und vor allem in dem als Schlüsselaromastoff angesehenen 2-Furfurylthiol keine Unterschiede auf. Ebenso zeigten sich in den Ergebnisse zu den leichtflüchtigen, aromapotenten Verbindungen, z.B. 2,3-Butandion (nach Butter), 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd (nach gekochter Kartoffel) oder das schweflig riechenden 3-Methyl-2-buten-1-thiol, keine größeren Unterschiede bezüglich der FD-Faktoren. Auch Ethansäure, die noch maßgeblich am Unterschied zwischen nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee beteiligt war, wies nun ähnliche FD-Faktoren auf. Diese Verbindungen, und damit alle bei der Röstung neu gebildeten Aroma-Impakt-Verbindungen, konnten somit den Aromaunterschied zwischen beiden Proben nicht hervorrufen. Im Weiteren bestätigten auch die quantitativen Daten der Aroma-Impakt-Verbindungen, die nicht auffällig von den in der Literatur angegebenen Gehalten (*Czerny et al.*, 1999; *Mayer et al.*, 1999) des Röstkaffees abwichen, die Ergebnisse der Aromaextraktverdünnungsanalysen.

Stattdessen konnten 2- und 3-Methylbutansäureethylester, die bereits im Rohkaffee entscheidend an der Differenzierung von nass und trocken aufbereitetem Kaffee beteiligt und auch im Röstkaffee ausschließlich in der trockenen Aufbereitung zu finden waren, als Verursacher der Aromaunterschiede erkannt werden. Diese wiesen nicht nur den gleichen Unterschied wie im Rohkaffee auf, sondern hatten auch in ihren Gehalten im Vergleich zum Rohkaffee nur um 20 bis 40 % abgenommen. Die Ester blieben damit bei der Röstung größtenteils bestehen, wie es bereits von *Czerny und Grosch* (2000) festgestellt worden war, und durch die geringen Verluste begünstigt auch aromapotent. Ihr Einfluss auf die Kaffeearomaqualität konnte in den abschließend durchgeführten sensorischen Experimenten nochmals verdeutlicht werden, indem nass aufbereiteter Röstkaffee von demselben, mit den quantifizierten Konzentrationen an 2- und 3-Methylbutansäureethylester versetzten Röstkaffee hoch signifikant unterschieden werden konnte. Dass das Auftreten der Ester damit die Kaffeearomaqualität ähnlich einem Fehl aroma negativ beeinflusst, zeigte die hedonische Prüfung (siehe oben).

Zusätzlich zu dem durch 2- und 3-Methylbutansäureethylester verursachten Unterschied konnten weiterhin noch unterschiedliche Gehalte in den malzigen Komponenten 2- und 3-Methylbutanal, sowie Methylpropanal ermittelt werden, die in trocken aufbereitetem Röstkaffee um 30-45 % erhöht vorlagen. Diese reichten jedoch nicht aus, um anhand des Gesamtaromaeindrucks in den beschriebenen sensorischen Experimenten eine Unterscheidung von nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee zu gewährleisten. D.h. 2- und 3-Methylbutanal trugen zwar in nass und trocken aufbereitetem Röstkaffee unterschiedlich zum Gesamtaroma bei, stellten jedoch kein sensorisch feststellbares Unterscheidungskriterium dar.

Interessanterweise waren aber bei der Betrachtung dieser Unterschiede in Verbindung mit den Vorläufern der aromaaktiven Streckeraldehyde im Rohkaffee, den freien Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin (*Holscher und Steinhart, 1994*), auch unter diesen um ca. 40 % niedrigere Werte in der nass aufbereiteten Probe zu finden. Damit sollten sich die Unterschiede bei den freien Aminosäuren im Rohkaffee nachweislich auf das Aroma des Röstkaffees auswirken (*Holscher und Steinhart, 1994*), für dessen Bildung sie weiterhin nach *Bytof et al. (2000)* einen limitierenden Faktor darstellen, da sie in geröstetem Kaffee nur noch in Spuren vorhanden sind (*Macdonald und Macrae, 1985*).

Die Strecker-Reaktion wird in der Kaffeebohne durch die hohen Temperaturen bei der Röstung begünstigt. Die freien Aminosäuren reagieren dabei mit α -Dicarbonyl-Verbindungen, wie sie bei der Maillard-Reaktion als Desoxyosone auftreten, im ersten Schritt unter Wasserabspaltung zu einer Schiffsche'n Base (I). Das nach anschließender Decarboxylierung entstehende Imin (II) reagiert dann durch Hydratisierung zu einem Halb-Aminal (III) weiter, aus dem durch Spaltung ein Aldehyd (IV) und ein α -Aminoketon (V) hervorgeht (*Hofmann und Schieberle, 2000; Belitz et al., 2001*). Der Ablauf der Strecker-Reaktion ist in Abbildung 17 am Beispiel der Bildung von 3-Methylbutanal aus Leucin dargestellt.

Weiterhin stehen die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen über die freien Aminosäuren in Rohkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung im Gegensatz zu den Ergebnissen von *Wootton (1973)* und *Arnold und Ludwig (1995; 1996)*, die darlegten, dass weder die Summe der freien Aminosäuren durch Trocknung oder Fermentation beeinflusst wird, noch größere Unterschiede zwischen nass

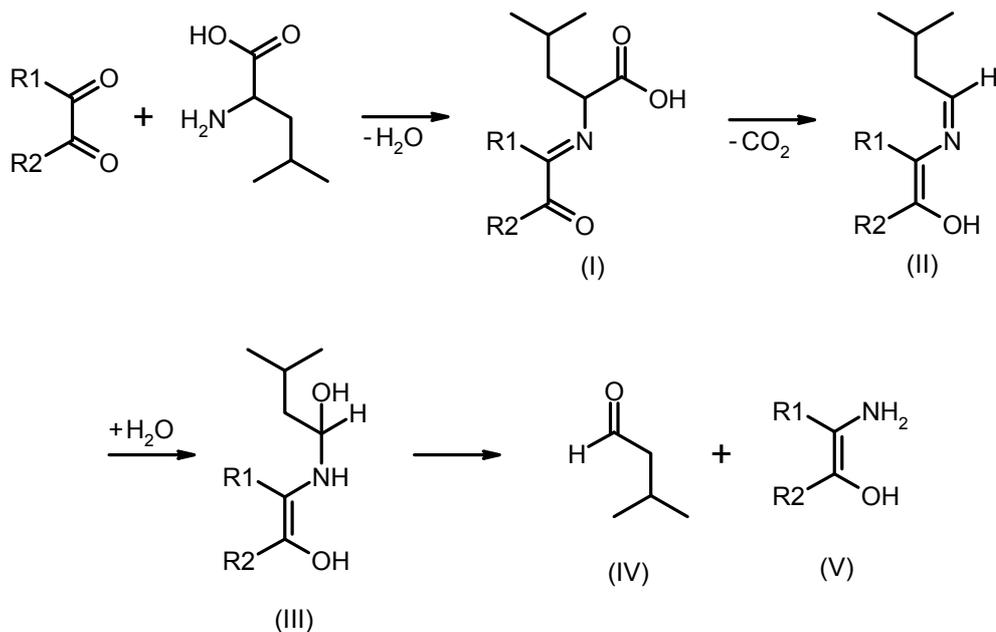


Abbildung 17: Ablauf der Strecker-Reaktion nach *Belitz et al.* (2001) am Beispiel der Bildung von 3-Methylbutanal aus Leucin.

und trocken aufbereitetem Rohkaffee bestehen. Sie beobachteten ausschließlich leichte Veränderungen einzelner Aminosäuregehalte bei der Trocknung in Form einer generellen Zunahme von Glutaminsäure, einer Abnahme von Asparaginsäure und der Neigung von hydrophoben Aminosäuren wie Valin, Phenylalanin, Leucin und Isoleucin zur Zunahme, während sie bei den meisten Aminosäuren kein einheitliches Verhalten erkennen konnten. Die Betrachtung der freien Aminosäuren im unbehandelten Rohkaffee zeigte dagegen, dass sich das Muster der freien Aminosäure während der Aufbereitungen deutlich veränderte, indem speziell Asparagin- und Glutaminsäure abnahmen und die Gehalte aller anderen Aminosäuren bei der nassen Aufbereitung geringfügig, bei der trockenen Aufbereitung jedoch recht deutlich, zunahmen. Zwischen nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee konnte dabei eine einheitliche Tendenz für die Gehalte an Asparagin- und Glutaminsäure festgestellt werden, die in nass aufbereitetem Rohkaffee gegenüber den Konzentrationen in trocken aufbereitetem Rohkaffee deutlich erhöht waren, ganz im Gegensatz zu allen anderen Aminosäuren, deren Verteilung sich zwar in beiden Proben ähnelte, deren Gehalte in nass aufbereitetem Rohkaffee jedoch durchschnittlich um 40-50 % niedriger lagen. Als Erklärung für diese Unterschiede konnte dabei auf eine höhere Enzymaktivität bei der Trocknung im Gegensatz zur Fermentation geschlossen werden.

Weiterhin war die Möglichkeit zur Unterscheidung von nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee anhand der ermittelten Ergebnisse und in Einklang mit der entsprechenden These von *Casal et al.* (2001) durchaus gegeben. In den Gehalten von γ -Aminobuttersäure (GABA) konnten schließlich auch große Unterschiede zwischen nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee gefunden werden, womit die Verbindung unabhängig vom Aroma des Rohkaffees eine potentielle Leitsubstanz zur Unterscheidung der verschiedenen aufbereiteten Rohkaffees darstellte (*Bytof*, 2003).

Studien über die Gehalte an Estern im Kaffeegetränk sind in der Literatur bislang noch nicht beschrieben worden. Das Ziel der Untersuchungen am Kaffeegetränk war es daher vor allem, die Aromapotenz der im Röstkaffee gefundenen Unterschiede, d.h. von 2- und 3- Methylbutansäureethylester, nachzuweisen. Ein weiterhin bestehender Einfluss der Ester war besonders deshalb zu erwarten, da die Änderung des Gesamtaromaeindrucks des Kaffeegetränks gegenüber dem Aroma von Röstkaffee nur durch eine Konzentrationsverschiebung der vorhandenen aromapotenten Verbindungen bei der Extraktion (*Semmelroch und Grosch*, 1996), aber nicht durch die Bildung neuer Aromastoffe (*Deibler et al.*, 1998) bedingt ist.

Entscheidend zeigte sich dabei bereits zu Beginn, dass auch die Kaffeegetränke aus Röstkaffee verschiedener technologischer Aufbereitung hoch signifikant unterschieden werden konnten und der Unterschied mit einer Sicherheit von 99,9 % wieder deutlicher wahrgenommen wurde als im Röstkaffee. Auch die Beurteilung der Gesamtaromaqualität fiel in der hedonischen Prüfung erneut eindeutig zugunsten des Kaffeegetränks aus nass aufbereitetem Röstkaffee aus.

Wie auch bereits von *Mayer et al.* (2000) festgestellt, wiesen die ermittelten Aromaprofile der Kaffeegetränke dann im Vergleich zu denen des Röstkaffees eine Verschiebung des Geruchseindrucks von den schweflig-röstigen und kaffeeartigen Noten, die in ihrer Intensität leicht abnahmen, zu den mehr malzigen und rauchigen Noten auf, die in ihrer Intensität zunahmen. Auffällig war, nach wie vor, der deutlich wahrzunehmende fruchtige Geruchseindruck im Kaffeegetränk aus trocken aufbereitetem Röstkaffee, der den Erhalt des Unterschiedes verdeutlichte und wie bereits im Röstkaffee Einfluss auf z.B. die Wahrnehmung der Aromaqualität „nach Kaffee“ aus-

übte, die gegenüber dem Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee wiederum unterdrückt wurde.

Die Aromaextraktverdünnungsanalysen bzw. die Headspaceverdünnungsanalysen waren gut mit denen der entsprechenden Röstkaffees vergleichbar, wobei in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Blank et al.* (1992), *Semmelroch und Grosch* (1996) und *Mayer et al.* (2000) die FD-Faktoren für Pyrazine (z.B. 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin), (E)- β -Damascenon, 3-Methyl-2-buten-1-thiol oder für das instabile 2-Furfurylthiol niedriger lagen, während die der Furanone (z.B. 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon, 4-Hydroxy-4,5-dimethyl-3(2H)-furanon), von 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd oder 2,3-Butandion gleich blieben.

2- und 3-Methylbutansäureethylester, die ebenfalls in das Kaffeegetränk extrahiert, aber in der Literatur noch nicht als aromapotente Verbindungen von diesem beschrieben wurden, traten im Kaffeegetränk aus trocken aufbereitetem Röstkaffee mit um eine Verdünnungsstufe niedrigeren FD-Faktoren gegenüber dem entsprechenden Röstkaffee auf. Dies stellte jedoch immer noch einen deutlichen Unterschied zum Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee dar, das diese Verbindungen nicht in nachweisbaren Mengen enthielt. Die quantitativen Daten zeigten schließlich, dass die Extraktionsraten der Ester ungefähr 50 % betragen, was im Bereich der von *Semmelroch und Grosch* (1996) und *Mayer et al.* (2000) ermittelten Extraktionsraten von durchschnittlich 25 % bis 75 % je nach Polarität einzelner Aroma-Impakt-Verbindungen lag.

Das Vorkommen und die Aromapotenz von 2- und 3-Methylbutansäureethylester im Kaffeegetränk konnte damit erstmals nachgewiesen und in den durchgeführten sensorischen Experimenten noch weiter belegt werden, in denen wie bereits beim Röstkaffee eine mit den quantifizierten Konzentrationen der Ester versetzte Probe mit hoher Signifikanz von dem nicht mit Estern versetzten Kaffeegetränk aus nass aufbereitetem Röstkaffee unterschieden wurde.

Bei Betrachtung aller vorliegenden Ergebnisse konnte zusammenfassend festgestellt werden, dass ein Unterschied zwischen nass und trocken aufbereitetem Kaffee bestand, der in allen Verarbeitungsschritten des Kaffees, Rohkaffee, Röstkaffee und

Kaffeegetränk deutlich zu erkennen war und auf den z.B. *Chassevent et al.* (1970) schon hingewiesen hatten. Verursacht wurde dieser Unterschied in allen Fällen hauptsächlich durch die fruchtig riechenden 2- und 3-Methylbutansäureethylester, die bereits im trocken aufbereiteten Rohkaffee zu finden waren, bei der Röstung kaum abnahmen, wie es auch *Czerny und Grosch* (2000) bereits beschrieben hatten, und zu 50 % ins Kaffeegetränk extrahiert wurden, wie erstmals gezeigt wurde. Diese Verbindungen blieben in allen Stadien der Kaffeezubereitung aromapotent und bewirkten eine Abnahme der Aromaqualität gegenüber dem nass aufbereiteten Kaffee, in dem die Ester nicht detektiert werden konnten.

Unter Verwendung der Stir Bar Sorptive Extraction zur Isotopenverdünnungsanalyse im Kaffeegetränk konnten schließlich auf schnellem und einfachem Weg auch in 11 Kaffeegetränken aus kommerziell erhältlichen Röstkaffees die Gehalte der 2- und 3-Methylbutansäureethylester bestimmt werden, womit die Möglichkeit der Unterscheidung von nass und trocken aufbereitetem Kaffee anhand dieser Verbindungen zusätzlich deutlich wurde.

3 Experimenteller Teil

3.1 Untersuchungsmaterial

3.1.1 Rohkaffee

Als Untersuchungsmaterial dienten insgesamt drei Chargen von jeweils nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee, sowie je eine Charge unbehandelte Kaffeekirschen, „Floaters“ und Rohkaffee aus unreifen Kirschen, die sich nach dem Herkunftsland (Brasilien, Peru), dem Erntejahr (2000, 2001, 2002) und den Aufbereitungsbedingungen unterschieden. Die unbehandelten Kaffeekirschen entstammten dabei derselben Ernte wie Charge 3.

Charge 1 :	Brasilien 2000
Charge 2 :	Brasilien 2001
Charge 3 :	Peru 2001
Unbehandelt:	Peru 2001 Ub
Floaters / Unreif:	Brasilien 2002

Alle Rohkaffeeproben wurden bis zu ihrer Verwendung bei -30 °C gelagert. Transporte fanden, falls nicht anders angegeben, bei Umgebungstemperatur statt.

Bei dem Untersuchungsmaterial aus **Brasilien** handelte es sich um *Coffea arabica* var. *caturra* (Art der Kultivierung: *Acaia*) von der Plantage Ipanema in Alfemas im Bundesstaat Paraná, Brasilien. Die reifen Kaffeekirschen wurden nach der Ernte vor Ort einer trockenen bzw. nassen Aufbereitung unterzogen und anschließend per Luftfracht nach Deutschland eingeflogen. Die Aufbereitung der Chargen 1 und 3 unterlag dabei der Kontrolle von Herrn Dr. Bytof (Technische Universität Braunschweig).

Floaters und unreife Kirschen fielen als Abfallprodukt der nassen Aufbereitung an, wobei Floaters über ihr spezifisches Gewicht im Wasserbad und unreife Kirschen aufgrund ihrer Festigkeit bei der Entpulpung (sie können dabei einen Rost nicht passieren) aussortiert wurden.

Brasilien 2000 (Ernte: April 2000, Lieferung: August 2000)**Trockene Aufbereitung**

Trocknungszeit in der Sonne:	20 Tage
Wetterbedingungen:	Tag: 24-27 °C, Nacht: 11-13 °C

Nasse Aufbereitung (Pergamino)

Fermentation:	22 Stunden mit Wasser
Trocknungszeit in der Sonne:	8 Tage

Brasilien 2001 (Ernte: April 2000, Lieferung: März 2001)**Trockene Aufbereitung**

Trocknungszeit in der Sonne:	20 Tage
Wetterbedingungen:	Tag: 24-27 °C, Nacht: 11-13 °C

Nasse Aufbereitung (Pergamino)

Fermentation:	22 Stunden mit Wasser
Trocknungszeit in der Sonne:	8 Tage

Die Chargen Brasilien 2000 und 2001 unterschieden sich weiterhin anhand ihrer Röstung (siehe 3.1.2).

Brasilien 2002 (Ernte: Juli 2002)**Floaters („Boias“)**

Nach der Aussortierung in der Sonne getrocknet und von der Pergamentschale befreit (sie wurden im Rahmen der nassen Aufbereitung vor der Aussortierung bereits entpulpt und teilweise fermentiert).

Unreife Kirschen („Verde“)

In der Sonne getrocknet und von getrocknetem Fruchtfleisch und Pergamentschale befreit (Trockene Aufbereitung).

Bei den Kaffeekirschen aus **Peru** handelte es sich um eine Mischung der Varietäten Caturra und Tippica. Sie wurden direkt nach der Ernte am 23.04.2001 auf optimalen Reifegrad sortiert und nach einem 10-stündigen Transport in großen Wasserbottichen per Kühlfracht (2-8 °C) nach Deutschland eingeflogen, wo sie am 26.04.2001 ankamen. Die Aufbereitung erfolgte im Labor an der Technischen Universität Braunschweig bzw. der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching.

Peru 2001 (Ernte: 23.04.2001)

Unbehandelt

Die Kaffeekirschen wurden nach der Ankunft sofort per Hand vom Fruchtfleisch befreit (entpulpt), kurz abgewaschen, abgetrocknet und 2 Tage bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Danach wurde die Pergamentschale entfernt.

Trockene Aufbereitung

Die Kaffeekirschen wurden im Trockenschrank bei 35 °C unter ständiger Belüftung und wiederholtem Wenden auf 12 % Restfeuchte getrocknet (ca. 12 Tage). Danach wurde das getrocknete Fruchtfleisch und die Pergamentschale entfernt.

Nasse Aufbereitung

Die Kaffeekirschen wurden nach der Ankunft sofort per Hand vom Fruchtfleisch befreit (entpulpt), anschließend für 30 h im Wasser (in 5 l Erlenmeyerkolben) fermentiert und im Trockenschrank bei 35 °C unter ständiger Belüftung und wiederholtem Wenden auf 12 % Restfeuchte getrocknet (ca. 5 Tage). Danach wurde die Pergamentschale entfernt.

Als Untersuchungsmaterial für die Analyse der freien Aminosäuren wurde zusätzlich eine Charge von nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee aus **Tanzania** mit der Bezeichnung „Buni“ (Ernte: Juli / August 2002) verwendet.

3.1.2 Röstkaffee

Für die Untersuchung von Röstkaffee wurden die Proben Brasilien 2000 und Peru 2001 Ub auf einem Probenröster im Labor geröstet. Die Proben Brasilien 2001 und Peru 2001 röstete die Firma Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH in Hamburg. Alle Röstkaffeeproben wurden bis zu ihrer Verwendung bei -30 °C unter Argon gelagert. Transporte fanden, falls nicht anders angegeben, bei -20 °C statt.

Nass und trocken aufbereitete Proben wurden jeweils äquivalent geröstet. Im Vergleich mit industriell geröstetem Kaffee konnte der untersuchte Kaffee als Produkt mit mittlerem Röstgrad eingestuft werden. Für den unbehandelten Kaffee Peru 2001 Ub waren bei sonst gleichen Bedingungen deutlich längere Röstzeiten (14 min) aufgrund des hohen Wassergehalts (ca. 34 %) nötig. Erst durch eine schonende Anpassung des Wassergehalts mittels Gefriertrocknung konnte die Röstung unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführt werden.

Die Röstung des Rohkaffees **im Labor** erfolgte auf einem Probenröster BRZ 4 der Firma Probat (Trommelröster, Kontaktverfahren). Um die Röstbedingungen möglichst konstant zu halten, wurde nur eine der vier Rösttrommeln verwendet, da alle Trommeln eine getrennt gesteuerte, nicht geeichte Heizung besitzen, so dass bei gleicher Einstellung Abweichungen von Trommel zu Trommel auftreten können. Die Röstbedingungen sind in Tabelle 41 zusammengefasst.

Tabelle 41: Röstbedingungen von Rohkaffee auf einem Probat Probenröster BRZ 4.

Parameter	
Temperatureinstellung (Gerät)	7,5
Ablufteinstellung bis 5 min (Gerät)	Markierung 1
Ablufteinstellung ab 5 min (Gerät)	ganz geöffnet
Menge pro Charge	100 g
Starttemperatur (Röstung)	330° F
Endtemperatur (Röstung)	290° F
Röstzeit	7 min
Kühlung im Luftstrom	4 min

- Heizung:** Die Heizung erfolgt elektrisch über Quarzstäbe mit einer maximalen Leistung von 850 W. Die Heizeinstellung wird während der Röstung konstant gehalten und beeinflusst Starttemperatur und Röstdauer durch die maximale Aufheizung der Trommel.
- Abluft:** Der Abluftstrom kann reguliert werden und wird zu Beginn der Röstung auf einer festen Einstellung (Markierung 1) gering gehalten, um eine zu starke Kühlung der Bohnen durch Zugluft zu vermeiden. Nach einer festgesetzten Zeit gegen Ende der Röstung wird der Abluftstrom ganz geöffnet, um die Röstung durch Luftkühlung zu verlangsamen und eine zu schnelle Überröstung zu verhindern.
- Menge:** Die Menge pro gerösteter Charge wird gleich gehalten (100 g), damit der Einfluss unterschiedlicher Wärmekapazitäten ausgeschlossen werden kann. Vor der Röstung wird das Röstmaterial daher außerdem auf Raumtemperatur temperiert.
- Temperatur:** Die Starttemperatur muss für jede Röstung identisch sein, da höhere Temperaturen die Röstung beschleunigen, niedrigere Temperaturen sie verlangsamen, was zu unterschiedlichen Röstergebnissen führt.
- Röstzeit:** Die Röstzeit wird außer von der Heizleistung, der Starttemperatur und der Chargenmenge auch vom Wassergehalt des Rohkaffees und der Kaffeeart und -sorte beeinflusst. Sie richtet sich nach der gewünschten Tönung der Kaffeebohnen und ist für unterschiedliche Rohkaffeeproben getrennt zu ermitteln. Die angegebene Zeit stellt im Zusammenhang mit den anderen Röstbedingungen das Optimum für die Röstung der verwendeten Proben dar.
- Tönung:** Die Tönung der Kaffeebohnen ist ein Kriterium für den Röstgrad. Eine identische Tönung ist mit einem äquivalenten Röstgrad gleichzusetzen.
- Einbrand:** Der Gewichtsverlust der Kaffeebohnen während der Röstung wird als Einbrand bezeichnet.
- Kühlung:** Um ein Nachrösten zu verhindern, werden die frisch gerösteten Kaffeebohnen nach der Entleerung aus der Trommel schnellstmöglich im kalten Luftstrom abgekühlt.

Die Röstung **in Hamburg** bei der Firma Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH erfolgte auf Wirbelschichtröstern unter optimalen Bedingungen für die entsprechenden Kaffeearten. Die Röstbedingungen sind in Tabelle 42 dargestellt.

Tabelle 42: Röstbedingungen von Rohkaffee auf einem Wirbelschichtröster (Hamburg).

Parameter	
Luft Eintrittstemperatur	250-258 °C
Röstzeit Brasilien 2001	2,0 min
Röstzeit Peru 2001	2,5 min

Weiterhin wurden die in Tabelle 43 aufgeführten, **kommerziell erhältliche Röstkaffeeproben** im Einzelhandel erworben oder von Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH (Hamburg) zur Verfügung gestellt. Herkunft (Anbauland) und Aufbereitungsmethode der einzelnen Proben sind, soweit verfügbar, den Angaben der Hersteller entnommen.

Tabelle 43: Untersuchte Röstkaffeeproben unterschiedlicher Hersteller und Herkunft.

Hersteller	Produktbezeichnung	Herkunft (Anbauland)	Aufbereitung
Tchibo	unbekannt	Brasilien	trocken
Hasingawa Ltd.	unbekannt	Jemen	trocken
Melitta	Kaffee Auslese	Brasilien	unbekannt
Dallmayr	Prodomo	unbekannt	nass
Dallmayr	Ethiopian Crown	Äthiopien	nass
Dallmayr	Antigua Tarrazu	Guatemala, Costa Rica	nass
Dallmayr	Dyawa Antara	Indien, Java, Neu-Guinea	nass
Dallmayr	San Sebastian	Hochland von Guatemala ^b	nass
Dallmayr	Sigri	Papua Neu Guinea	nass
Caffè Rocchi ^a	Special Bar	unbekannt	nass
Tudor	Löslicher Kaffee Gold	unbekannt	unbekannt

^a Torrefazione Lucchese del caffè s.r.l., Via delle Piagge a S. Alessio, Lucca, Italia, 100% Arabica

^b Von der Finca San Sebastian im Hochland von Guatemala

3.1.3 Bestimmung der Farbintensität

Die Farbintensität des Kaffees wurde mit Hilfe eines Flachbettscanners Agfa Snapscan 1236S ermittelt, der zu diesem Zweck mit einer 0,5 cm dicken Plexiglasplatte ausgestattet ist, in die vier 5 x 5 cm große Löcher geschnitten wurden.

Zur Bestimmung der Farbintensität einzelner Proben wird der gemahlene und gesiebte Röstkaffee in die vorhandenen Löcher gefüllt, flachgedrückt und gleichzeitig mit einem Farbstandard eingescannt. Der Scanvorgang erfolgt dabei mit 150 DPI unter Verwendung der zum Scanner gehörenden Scanwise 1.4 Software.

Die Bildbearbeitung und -auswertung erfolgt in Corel PhotoPaint 7, wo die eingescannten Kaffeeprobe zur Verringerung der Standardabweichung zuerst mit einem großflächigen Mosaikfilter überlagert werden und anschließend das Mittel des Rotanteils aus dem zugehörigen Histogramm des Kaffees entnommen wird. Die Ergebnisse stellen Mittelwerte aus jeweils vier Bestimmungen dar.

Mit diesem Verfahren kann die Äquivalenz der Röstung verschiedener Röstchargen überprüft werden. Die gemessenen Werte stellen jedoch keine optischen Standardwerte dar, wodurch sich das Verfahren nur für den internen Gebrauch eignet.

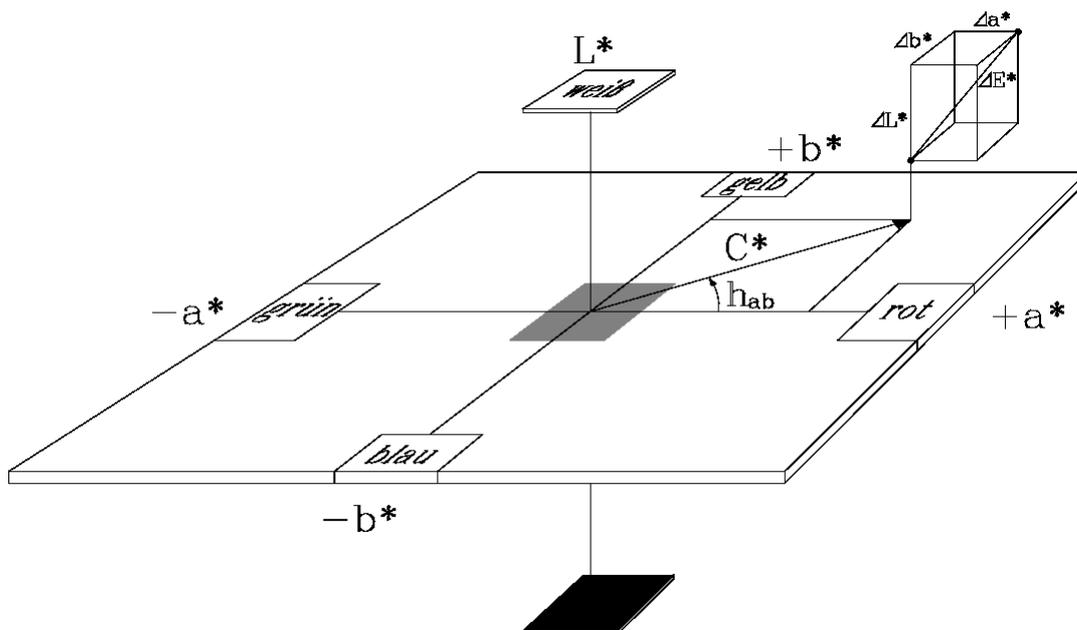


Abbildung 18: CIE $-L^*a^*b^*$ - System nach DIN 6174

Zum Abgleich mit optischen Standardwerten (CIE $-L^*a^*b^*$ nach DIN 6174, Abbildung 18) konnte zu einem späteren Zeitpunkt ein Spectro-Color-Pen LMV170 der Firma Dr. Lange verwendet werden.

Die Farbmessung erfolgt bei diesem Gerät nach dem Spektralverfahren gemäß DIN 5033 unter Verwendung einer $d/8^\circ$ Messgeometrie, d.h. die Messprobe wird über eine Ulbrichtsche Kugel (50 mm Durchmesser) mit polychromatischem Licht diffus beleuchtet und die Empfängeroptik beobachtet das reflektierte Licht unter einem Winkel von 8° zur Probenoberfläche. Eine Beeinflussung des Messwertes durch Materialstrukturen oder Glanzunterschiede wird dabei ausgeschlossen. Die beleuchtete Messfläche beträgt im Durchmesser 10 mm, die gemessene 8 mm. Angegebene Ergebnisse stellen den Mittelwert aus 3 Messungen gegen Weiß dar.

3.1.4 Bereitung von Roh- und Röstkaffeepulver

Zur Bereitung von Kaffeepulver wird eine bestimmte Menge an Roh- oder Röstkaffeebohnen abgewogen, in flüssigem Stickstoff eingefroren und in einer Ultrazentrifugationsmühle vom Typ ZM 1 (Retch, Haan) gemahlen, wobei ein Siebeinsatz mit einem Porendurchmesser von 2 mm verwendet wird. Die resultierende Partikelgröße liegt durchschnittlich zwischen 200 und 500 μm . Die Weiterverarbeitung erfolgt unmittelbar nach dem Mahlvorgang mit einer genau abgewogenen Menge des Pulvers.

3.1.5 Bereitung des Kaffeegetränks

Für die Zubereitung von 100 ml Kaffeegetränk werden 5,4 g frisch gemahlene Röstkaffeebohnen mit 110 ml kochendem, destilliertem Wasser übergossen (*Semmelroch und Grosch*, 1996). Danach filtriert man durch ein hausübliches Kaffeefilter in eine eisgekühlte Vorlage. Die Weiterverarbeitung erfolgt, sobald das Kaffeegetränk auf 20°C abgekühlt ist, unmittelbar nach der Zubereitung.

3.2 Chemikalien

Kommerziell erhältliche Substanzen wurden von den angegebenen Quellen bezogen. Sie wiesen, wenn nicht anders vermerkt, die höchste verfügbare Reinheit auf. Kommerziell nicht erhältliche Verbindungen wurden nach den in Klammern aufgeführten Literaturstellen synthetisiert und für die vorliegende Arbeit freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

3.2.1 Referenzaromastoffe

Acetaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Bis-(2-methyl-3-furyl)-disulfid	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2,3-Butandion	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Butansäure	Merck, Darmstadt
(E)- β -Damascenon	Haarmann & Reimer, Holzminden
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol	Fluka, Neu-Ulm
Dimethyltrisulfid	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Ethansäure	Merck, Darmstadt
2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin	<i>Czerny et al.</i> (1996)
2-Ethenyl-3-ethyl-5-methylpyrazin	<i>Czerny et al.</i> (1996)
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2(5)-Ethyl-4-hydroxy-5(2)-methyl-3(2H)-furanon	Givaudan, Dübendorf, Schweiz
5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
4-Ethyl-2-methoxyphenol	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2-Furfurylthiol	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Hexanal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Hexansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Isopropyl-2-methoxypyrazin	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Mercapto-3-methylbutylformiat	<i>Czerny et al.</i> (1999)
Methanthiol	Fluka, Neu-Ulm

2-Methoxy-3,5-dimethylpyrazin	<i>Czerny und Grosch (2000)</i>
2-Methoxyphenol	Merck, Darmstadt
2-Methylbutanal	Lancaster, Mühlheim
3-Methylbutanal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2-Methylbutanol	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2-Methylbutansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Methylbutansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2-Methylbutansäureethylester	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Methylbutansäureethylester	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Methyl-2-buten-1-thiol	<i>Holscher et al. (1992)</i>
2-Methyl-3-furanthiol	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
3-Methylpentansäureethylester	Lancaster, Mühlheim
Methylpropanal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
2-Methylpropansäureethylester	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
(E,Z)-2,6-Nonadienal	Alfa Products, Karlsruhe
(E)-2-Nonenal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
(Z)-2-Nonenal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Octanal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
1-Octen-3-on	Lancaster, Mühlheim
2,3-Pentandion	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Pentansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Phenylacetaldehyd	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Phenylethansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Propanal	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
4-Vinyl-2-methoxyphenol	Lancaster, Mühlheim

3.2.2 Stabil-isotopenmarkierte Aromastoffe

[¹³ C ₂] Acetaldehyd	Promochem Wesel
[¹³ C ₄] 2,3-Butandion	<i>Schieberle und Hofmann (1997)</i>
[² H ₄₋₆] (E)-β-Damascenon	<i>Sen et al. (1991)</i>
[² H ₃] 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	<i>Cerny und Grosch (1993)</i>
[² H ₆] Dimethyltrisulfid	<i>Milo und Grosch (1996)</i>

[² H ₃] Ethansäure	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
[² H ₃] 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	<i>Cerny und Grosch (1993)</i>
[² H ₃] 5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon	<i>Preininger und Grosch (1994)</i>
[² H ₂₋₅] 4-Ethyl-2-methoxyphenol	<i>Semmelroch et al. (1995)</i>
[¹³ C ₂] 2-Furfurylthiol	<i>Semmelroch et al. (1995)</i>
[² H ₄] Hexanal	<i>Guth und Grosch (1993b)</i>
[¹³ C ₂] 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	<i>Blank et al. (1993)</i>
[¹³ C ₂] 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	<i>Sen et al. (1991)</i>
[² H ₃] 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	<i>Semmelroch et al. (1995)</i>
[² H ₃] 3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	<i>Semmelroch und Grosch (1996)</i>
[² H ₅₋₆] 3-Mercapto-3-methylbutylformiat	<i>Masanetz et al. (1995)</i>
[² H ₃] 2-Methoxyphenol	<i>Cerny und Grosch (1993)</i>
[² H ₃] 2-Methylbutanal	<i>Christlbaur (2001)</i>
[² H ₃] 3-Methylbutanal	<i>Schieberle und Grosch (1992)</i>
[² H ₃] 3-Methylbutansäure	<i>Guth und Grosch (1994)</i>
[² H ₃] 2-Methylbutansäureethylester	<i>Fritsch (2001)</i>
[² H ₃] 3-Methylbutansäureethylester	<i>Guth und Grosch (1993a)</i>
[² H ₈] 3-Methyl-2-buten-1-thiol	Synthese (vgl. 3.2.4)
[² H ₃] 2-Methyl-3-furanthiol	<i>Kerscher und Grosch (1998)</i>
[² H ₃] 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	<i>Sen et al. (1991)</i>
[² H ₇] Methylpropanal	<i>Milo und Grosch (1996)</i>
[² H ₃] 2-Methylpropansäureethylester	<i>Guth und Grosch (1993a)</i>
[¹³ C ₂] 2,3-Pentandion	<i>Mayer et al. (1999)</i>
[¹³ C ₂] Phenylacetaldehyd	<i>Pfnür (1998)</i>
[² H ₃] 4-Vinyl-2-methoxyphenol	<i>Semmelroch et al. (1995)</i>

3.2.3 Sonstige Chemikalien

Ammoniak, 25 %	Merck, Darmstadt
Ammoniumdithiocarbamat	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Argon 4.6	Messer Griesheim, Krefeld
Borsäure	Merck, Darmstadt
Bromwasserstoff (30 % in Ethansäure)	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Dichlormethan	Merck, Darmstadt

Diethylether	Merck, Darmstadt
Ethanol	Merck, Darmstadt
Ethansäure	Merck, Darmstadt
Ethylenglycol	Merck, Darmstadt
Helium 4.6	Messer Griesheim, Krefeld
[² H ₈] Isopren	Lancaster, Mühlheim
Kaliumacetat	Merck, Darmstadt
Kieselgel für Flash-Chromatographie, Ø 40 µm	J. T. Baker, 7024-01
Luft, synthetisch	Messer Griesheim, Krefeld
Methanol	Merck, Darmstadt
Methansäure	Merck, Darmstadt
3-Methyl-2-buten-1-ol	Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen
Methyloctanoat	Merck, Darmstadt
Natriumacetat	Merck, Darmstadt
Natriumcarbonat	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt
Natriumhydrogencarbonat	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt
Natriumsulfat, wasserfrei	Merck, Darmstadt
Ninhydrin	Merck, Darmstadt
Octansäure	Merck, Darmstadt
o-Phosphorsäure	Merck, Darmstadt
Pentan	Merck, Darmstadt
Salzsäure, 32 %	Merck, Darmstadt
Seesand, gereinigt	Merck, Darmstadt
Stickstoff 5.0	Messer Griesheim, Krefeld
Stickstoff, flüssig	Linde, München
Tetrahydrofuran	Merck, Darmstadt
Wasserstoff 5.0	Messer Griesheim, Krefeld

Reinigung von Chemikalien

Dichlormethan, Diethylether und n-Pentan werden vor Gebrauch an einer Füllkörperkolonne (150 x 6 cm) destilliert.

3.2.4 Synthese von [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol

Synthese von [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol nach *Semmelroch und Grosch* (1996) aus [$^2\text{H}_8$] Isopren über [$^2\text{H}_8$] 1-Brom-3-methyl-2-buten als Zwischenstufe.

Schritt 1: Synthese von [$^2\text{H}_8$] 1-Brom-3-methyl-2-buten

1 g [$^2\text{H}_8$] Isopren wird unter Kühlung in einem Sovirelglas mit 2,95 ml Bromwasserstoff (30 % in Essigsäure) vermengt, die Lösung nach Aufbewahrung für 3 Tage bei einer Temperatur von 4 °C vorsichtig in 20 ml Eiswasser geschüttet und die Mischung danach mit 2 x 25 ml Diethylether extrahiert. Der Etherextrakt wird dreimal mit 50 ml wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (0,5 M) und 50 ml Wasser gewaschen und abschließend über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

Schritt 2: Synthese von [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol

Die etherische Lösung von [$^2\text{H}_8$] 1-Brom-3-methyl-2-buten wird mit 10 ml Ethanol verdünnt und anschließend der Diethylether an einer Vigreux-Kolonnen (40 x 1 cm) bei einer Wasserbadtemperatur von 41 °C abdestilliert. Nach Zugabe von 0,6 g Ammoniumdithiocarbamat wird das Reaktionsgemisch gut geschüttelt, für 20 min bei Raumtemperatur aufbewahrt und schließlich mit 20 ml Wasser versetzt. Während dieses Vorgangs bildet sich ein schweres Öl unter einer wässrigen Phase. Diese Phase wird entfernt und die Behandlung des verbleibenden Öls mit Ammoniumdithiocarbamat und Wasser wiederholt. Zu dem verbleibenden Öl wird 5 ml wässrige Natronlauge (0,4 M) hinzugefügt, 2 Stunden bei einer Temperatur von 4 °C gerührt und nach Einstellung des pH-Wertes mit wässriger Salzsäure (1 M) auf pH 5 mit 2 x 50 ml Dichloromethan extrahiert, der Extrakt mit 50 ml Wasser gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

Reinigung und Isolierung:

Das Lösungsmittel wird über eine Vigreux-Kolonnen (40 x 1 cm) abdestilliert und das verbleibende Öl über Flash-Chromatographie (Still et al., 1978) aufgereinigt. Dazu wird die Probe auf eine mit Kieselgel (40 μm) in Pentan-Diethylether (95:5, v/v) gepackte Säule (36 x 1,9 cm) aufgegeben und schrittweise mit 95:5 (v/v) und 90:10 (v/v) Pentan-Diethylether (je 2 x 50 ml) eluiert. [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol wird zwischen 100 und 150 ml eluiert.

Im Gegensatz zu *Semmelroch und Grosch* (1996) wird die Lösung nun über eine Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) auf 2 ml eingengt und daraus [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol über präparative Gaschromatographie (vgl. 3.7.3) isoliert. Das zugehörige MS-EI-Spektrum ist in Abbildung 19 dargestellt.

Ergebnis:

MS-EI (%): 45 (100), 46 (88), 77 (75), 42 (46), 76 (25), 75 (23), 110 (M-, 22).

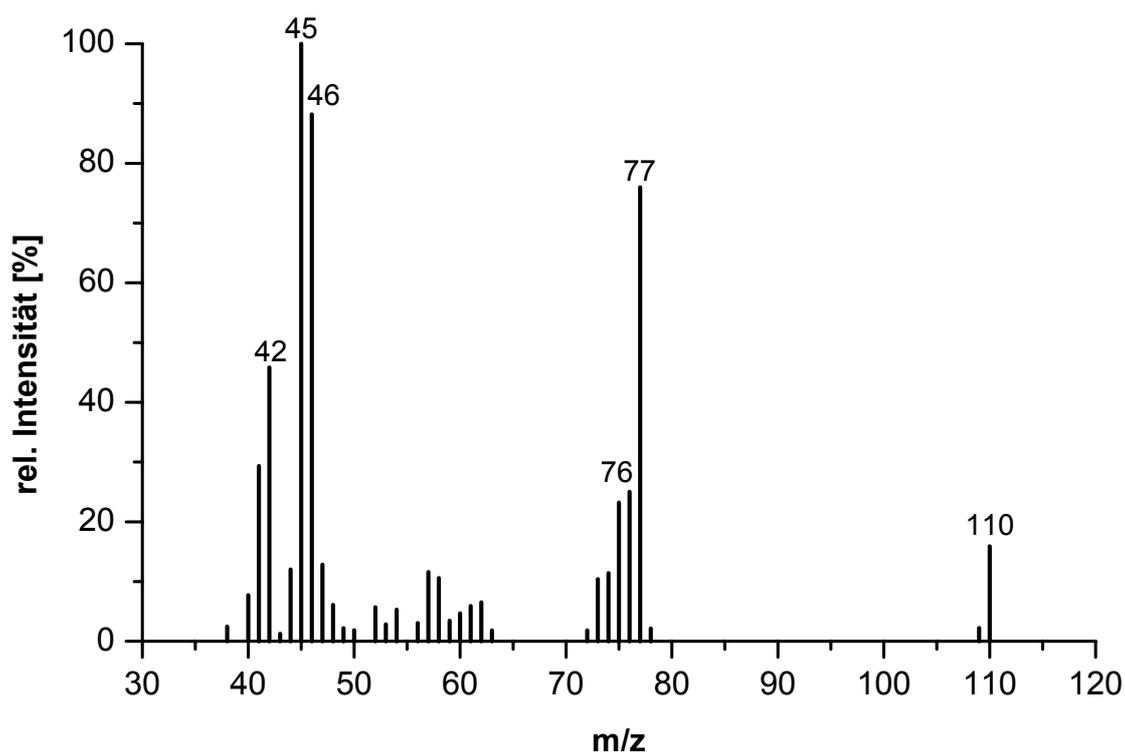


Abbildung 19: MS-EI-Spektrum von [$^2\text{H}_8$] 3-Methyl-2-buten-1-thiol

3.3 Sensorische Methoden

Sensorik-Bedingungen:

Für die sensorischen Untersuchungen steht ein eigens dafür eingerichteter, gut belüfteter Raum zur Verfügung, der durch Stellwände getrennte, mit Waschbecken ausgestattete Prüfplätze besitzt. Sensorische Tests werden bei einer Raumtemperatur von 21 ± 1 °C und Tageslicht durchgeführt und jeweils im Abstand von mehreren Tagen wiederholt.

Sensorik-Panel:

Die sensorischen Beurteilungen werden von einem Sensorik-Panel durchgeführt, bestehend aus 10 bis 12 sensorisch geschulten Testpersonen (zur Hälfte je männlich und weiblich) im Alter zwischen 25 und 40 Jahren. Die Schulung erfolgt wöchentlich anhand von ausgewählten Aromastofflösungen und -mischungen, die in unterschiedlichen Konzentrationen oberhalb der Geruchsschwelle dargeboten werden.

Probenvorbereitung:

Je 1 g gemahlene Roh- oder Röstkaffeepulver bzw. 10 ml Kaffeegetränk werden in zylinderförmige Sensorikgläser (Höhe: 65 mm, Durchmesser: 40 mm) mit Schliffdeckel abgefüllt. Das Kaffeegetränk wird für die Sensorik auf 65 °C temperiert, Roh- und Röstkaffee auf Raumtemperatur. Die Probenvorbereitung findet in einem vom Sensorikraum abgetrennten Raum statt.

3.3.1 Dreiecksprüfung (Triangel-Test)

Triangeltests werden zur Feststellung der Unterscheidbarkeit von zwei Proben bezüglich ihres Aromas nach der § 35 LMBG Methode L 00.90-7 durchgeführt und ausgewertet. Dafür werden den Prüfern jeweils drei durch einen zufällig ermittelten, dreistelligen Zifferncode gekennzeichnete Proben in zufälliger Reihenfolge dargeboten, von denen zwei identisch sind. Nach der „Forced-Choice-Technik“ müssen die Prüfer dann eine abweichende Probe bestimmen.

Die Bewertung des Ergebnisses erfolgt mittels Signifikanztabelle (*Jellinek*, 1985). Dabei muss unter Beachtung der Gesamtzahl der vorliegenden Antworten eine Mindestzahl korrekter Antworten bei festgelegtem Signifikanzniveau α erreicht werden, um die Abweichung des Geruchseindrucks als signifikant bzw. hoch signifikant und damit von den Prüfpersonen als unterscheidbar einzustufen. Unter Signifikanzniveau α versteht man die Irrtumswahrscheinlichkeit, also die Wahrscheinlichkeit, ein falsches Ergebnis als richtig anzunehmen.

3.3.2 Aromaprofilanalyse

Bei der Aromaprofilanalyse bewertet das Sensorik-Panel orthonasal die Intensitäten verschiedener, festgelegter Aromaeindrücke in einer Probe. Dafür steht ihnen eine Skala von 0 (nicht wahrnehmbar) bis 3 (stark wahrnehmbar) in Schritten von 0,5 zur Verfügung. Die zu bewertenden Geruchsqualitäten werden in einer Stoffsammlung vom Sensorik-Panel im Vorfeld ermittelt und bestimmten Aromastoffen oder Produkten zugeordnet (vgl. Tabelle 44), die während der Bewertung als Referenz zur Verfügung stehen.

Tabelle 44: Aromaqualitäten und zugeordnete Aromastoffe.

Aromaqualität	Vergleichsverbindung
fruchtig	2-Methylbutansäureethylester
citrusartig	2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol
erdig	2,3-Diethyl-5-methylpyrazin
heuartig	Heu
karamellartig	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon
malzig	2-Methylbutanal
nach Essig	Ethansäure
nach Gras	Hexanal
nach Honig	Phenylacetaldehyd
nach Kaffee	2-Furfurylthiol
nach Kakao	Kakaobohnen
nach Paprika	3-Isobutyl-2-methoxypyrazin
rauchig	2-Methoxyphenol
röstig / schweflig	3-Methyl-2-buten-1-thiol
schweißig	2-/3-Methylbutansäure

3.3.3 Hedonische Prüfung

Bei der hedonischen Prüfung wird eine subjektive Aussage darüber gemacht, welche von zwei dargebotenen Proben ein „besseres“ Aroma aufweist. Sie wird in Kombination mit den Triangel-Tests durchgeführt und entsprechend nach ihrer Signifikanz bewertet.

3.3.4 Additionsexperimente

Zur Überprüfung des Einflusses einzelner Aromastoffe auf die sensorische Unterscheidbarkeit beim Vorkommen in einer Probe werden Triangeltests durchgeführt, wobei als abweichende Probe dieselbe Probe angeboten wird, nur mit einer genau abgemessenen Menge einer bestimmten Verbindung versetzt.

Die Aromastoffe werden dabei einer bestimmten Menge Probe als wässrige Lösung zugesetzt, während die Originalprobe mit der gleichen Menge an destilliertem Wasser vermischt wird. Zur gleichmäßigen Verteilung wird gut geschüttelt und erst anschließend in die Sensorikgläser abgefüllt.

3.4 Isolierung von Aromastoffen

Um eine Zerstörung aromaaktiver Verbindungen oder die Bildung aromaaktiver Artefakte bei der Gewinnung der Aromaextrakte zu verhindern, wird für die Aufarbeitung der Kaffeeproben ein besonders schonendes Verfahren verwendet. Bei diesem kommt eine Extraktion mit tief siedenden, organischen Lösungsmitteln wie Diethylether oder Dichlormethan, gefolgt von einer Hochvakuumdestillation bei niedrigen Temperaturen zur Anwendung (*Schieberle*, 1995). Der resultierende Aromaextrakt wird aufkonzentriert und stimmt bei der sensorischen Überprüfung geruchlich mit dem Aroma des Lebensmittels gut überein.

3.4.1 Extraktionsverfahren

Extraktion von Rohkaffeepulver

25 g nass oder trocken aufgearbeiteter bzw. 35 g unbehandelter, frisch gemahlener Rohkaffee wird mit 10 g bzw. 15 g wasserfreiem Natriumsulfat verrieben und viermal mit 100 ml Dichlormethan für jeweils 1 Stunde extrahiert. Die filtrierten Extrakte werden vereinigt und an einer Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) auf ca. 50 ml eingengt. Zur Abtrennung des nicht-flüchtigen Anteils wird anschließend im Hochvakuum destilliert (vgl. 3.4.2), das Destillat über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an einer Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) sowie einer Mikrodestillationsapparatur (*Bemelmans*, 1979) auf 400 µl eingengt.

Extraktion von Röstkaffeepulver

5 g gerösteter und gemahlener Kaffee wird mit 200 ml Dichlormethan versetzt und für 3 Stunden gerührt. Die Suspension wird abfiltriert, der Filtrerrückstand für 16 Stunden mit weiteren 200 ml Dichlormethan extrahiert und nach erneuter Filtration verworfen. Die beiden Filtrate werden vereinigt und an einer Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) auf ca. 50 ml eingengt. Der eingengte Extrakt wird im Hochvakuum destilliert (vgl. 3.4.2) über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und nach Filtration entweder fraktioniert (vgl. 3.4.3) oder an einer Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) sowie einer Mikrodestillationsapparatur (*Bemelmans*, 1979) auf 500 µl eingengt.

Extraktion des Kaffeegetränks

100 ml frisch bereitetes Kaffeegetränk wird im Hochvakuum destilliert (vgl. 3.4.2), das Destillat mit 25 g Natriumchlorid versetzt und im Scheidetrichter zwei mal mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Nach Zugabe von 10 ml Salzsäure (1 M) und weiteren 5 g Natriumchlorid wird erneut mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden gesammelt, vereinigt, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an einer Vigreux-Kolonne (40 x 1 cm) sowie einer Mikrodestillationsapparatur (*Bemelmans*, 1979) auf 500 µl eingeeengt.

Statische Headspaceproben

5 g Rohkaffee bzw. 1 g Röstkaffee oder 10 ml Kaffeegetränk wird in einem mit einem Septum verschlossenen Iodzahlkolben (300 ml) bei 40 °C (Wasserbad) eine Stunde zur Gleichgewichtseinstellung der Konzentrationen im Gasraum temperiert.

3.4.2 Hochvakuumdestillation

Zur Abtrennung der flüchtigen Verbindungen von den nicht-flüchtigen Verbindungen der Lösungsmittelextrakte bzw. des Kaffeegetränks wird eine Destillation im Hochvakuum (Solvent Assisted Flavor Evaporation, SAFE) durchgeführt. Dafür wird eine BÆNG[®]-Apparatur (Abbildung 20) nach *Engel et al.* (1999) in Verbindung mit einem Hochvakuumumpfenstand PD 40L (Leybold-Hereus, Köln) verwendet.

Die beheizbaren Teile der BÆNG[®]-Apparatur werden auf 55 °C thermostatisiert und das geschlossene System auf 10^{-5} bis 10^{-4} Pa evakuiert (Anschluss zur Hochvakuumpumpe bei 5). Der Extrakt wird über den Tropftrichter (1) langsam und kontinuierlich in den mit einem Wasserbad auf 50 °C temperierten Rundkolben (2) eingeleitet. Dabei verdampfen die flüchtigen Bestandteile explosionsartig, werden in den mit flüssigem Stickstoff gekühlten Rundkolben (3) überführt und frieren dort aus, während die nicht-flüchtigen Verbindungen im Kolben (2) zurückbleiben. Eine weitere mit flüssigem Stickstoff gekühlte Falle (4) dient zum Schutz der Hochvakuumpumpe. Anschließend wird die Apparatur über den Tropftrichter (1) belüftet und das Destillat aufgetaut.

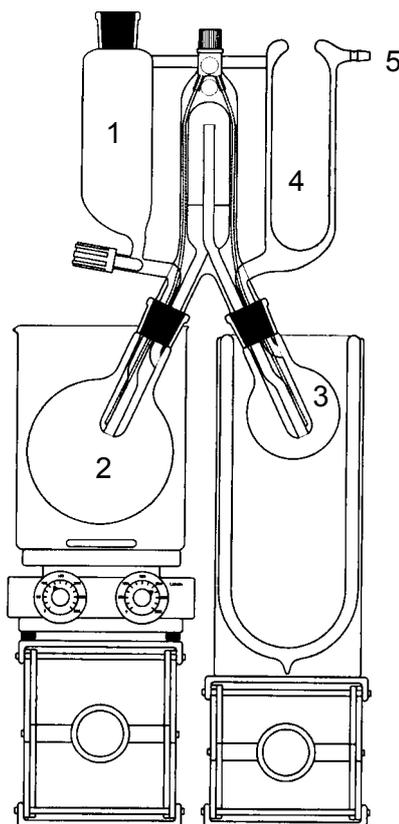


Abbildung 20: Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) an einer BÄNG[®]-Apparatur nach Engel et al., 1999

3.4.3 Fraktionierung

Das Destillat der Hochvakuumdestillation wird entweder als Gesamtfraktion (GF) verwendet oder in eine Fraktion der sauren Aromastoffe (SF) und eine Fraktion der neutralen und basischen Aromastoffe (NBF) getrennt. Dazu wird das Destillat zweimal mit 50 ml Na_2CO_3 -Lösung (0,5 M) ausgeschüttelt, die wässrige Phase mit 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung versetzt und mit 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen (NBF) werden vereinigt, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an einer Vigreux-Kolonnen (40 x 1 cm) sowie einer Mikrodestillationsapparatur (Bemelmans, 1979) auf 500 μl eingengt. Die wässrige Phase wird mit Salzsäure (1 M) auf einen pH-Wert von 1 eingestellt, dreimal mit 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt und die vereinigten Dichlormethan-extrakte (SF) über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an einer Vigreux-Kolonnen (40 x 1 cm) sowie einer Mikrodestillationsapparatur (Bemelmans, 1979) auf 500 μl eingengt.

3.5 Identifizierung von Aromastoffen

Der Identifizierung aromarelevanter Stoffe in Lebensmitteln kann ein systematisches Konzept nach Methoden von Grosch und Schieberle zu Grunde gelegt werden (*Grosch*, 1993a und 1993b, *Schieberle*, 1995):

1. Selektion aromarelevanter Stoffe mittels Aromaverdünnungstechniken
2. Identifizierungsexperimente
3. Quantitative Bestimmung der Aromastoffe
4. Aromawertberechnung
5. Aromasimulation

Die Identifizierung der bei den Verdünnungsanalysen detektierten Aromastoffen erfolgt durch Vergleich mit kommerziell zu erwerbenden oder synthetisierten Referenzverbindungen auf Basis folgender Kriterien:

1. der Retentionsindices (RI) auf mindestens zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität (vgl. 3.5.3),
2. der Geruchsqualität und
3. den Massenspektren (gemessen über HRGC/MS-EI bzw. HRGC/MS-CI) der Verbindungen (vgl. 3.5.4).

3.5.1 Aromaextraktverdünnungsanalyse

Die Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) ist ein Auswahlverfahren (Screening-Methode), das auf diejenigen Inhaltsstoffe hinweist, die primär das Aroma eines Lebensmittels hervorrufen (*Grosch*, 1994). Zur Detektion der aromarelevanten Verbindungen werden aus den Lebensmitteln Aromaextrakte gewonnen und diese über Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie (HRGC/O; vgl. 3.7.1) untersucht (*Day et al.*, 1957; *Fuller et al.*, 1964).

Bei der AEVA wird ein Extrakt schrittweise 1:1 mit Lösungsmittel verdünnt (Abbildung 21, links) und jede Verdünnung mittels HRGC/O untersucht (*Schmid und Grosch*,

1986). Dieser Vorgang wird so lange wiederholt, bis über dem Sniffing-Port keine geruchsaktiven Substanzen mehr wahrgenommen werden können, d.h. dass die Konzentrationen der entsprechenden Verbindungen ihre Wahrnehmungsschwelle in Luft unterschritten haben. Der höchste Verdünnungsfaktor, bei dem eine Verbindung noch wahrgenommen werden kann, wird als dessen Flavour Dilution (FD)-Faktor bezeichnet (*Schieberle und Grosch, 1988*) und gibt an, mit wie vielen Teilen Lösungsmittel man den Aromastoff verdünnen muss, bis der Aromawert in Luft auf 1 abgesunken ist (*Grosch, 1990*). Der unverdünnte Extrakt entspricht per Definition dem Verdünnungsfaktor 1 (*Schieberle, 1995*). Das Ergebnis der Aromaextraktverdünnungsanalyse kann anschaulich in einem FD-Chromatogramm wiedergegeben werden, in dem die FD-Faktoren der Aromastoffe gegen ihre Retentionsindices aufgetragen sind (Abbildung 21, rechts).

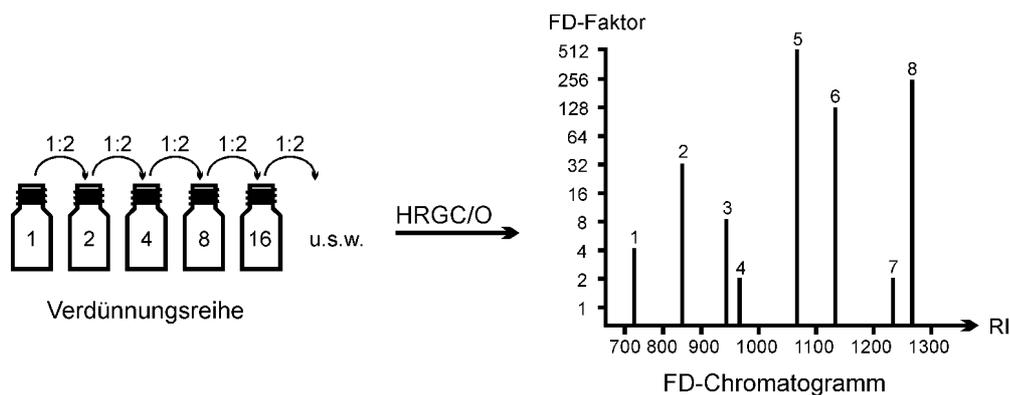


Abbildung 21: Prinzip einer Aromaextraktverdünnungsanalyse

Anhand der FD-Faktoren kann die relative Bedeutung der einzelnen Aromastoffe abgeschätzt werden, da auf diese Weise der Einfluss der zur Gaschromatographie eingesetzten Menge und damit des Injektionsvolumen und der Konzentration der Aromastoffe im Extrakt ausgeschlossen wird, die wiederum durch die Menge des aufgearbeiteten Lebensmittels, die Isolierungsmethode und den Konzentrierungsgrad bedingt ist. Es kann jedoch kein eindeutiger Rückschluss auf die Bedeutung einzelner Aromastoffe gezogen werden, da diese bei der HRGC/O unabhängig von ihrem Siedepunkt, ihrer Extraktionsausbeute oder ihrer Löslichkeit und Polarität in Bezug zur Lebensmittelmatrix beurteilt werden. Die AEVA stellt damit vielmehr eine Screening-Methode dar, mit der aus der Vielzahl flüchtiger Verbindungen eines Lebensmittels

diejenigen selektiert werden können, die mit hoher Sicherheit zu den aromagebenden Substanzen gehören. Bei der Auswahl von Aromastoffen für weitere Untersuchungen, wie Identifizierungsexperimente und quantitative Bestimmungen, ist es daher erforderlich, keine zu große Einschränkung vorzunehmen.

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgt durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis der Retentionsindices auf einer DB-5 und einer FFAP Kapillarsäule (vgl. 3.5.3), der Geruchsqualität und den MS-EI Spektren der Verbindungen (vgl. 3.5.4).

3.5.2 Verdünnungsanalyse statischer Headspaceproben

Da Verbindungen mit einem Siedepunkt unter bzw. geringfügig über dem Lösungsmittel durch die destillativen Schritte der Lösungsmittlextraktion nicht erfasst bzw. diskriminiert werden (*Grosch*, 1996), ist die Erfassung von Aromastoffen bei der AE-VA durch den Siedepunkt des Extraktionsmittels limitiert. Zur Detektion aromarelevanter, leichtflüchtiger Verbindungen eines Lebensmittels wird in Ergänzung zur AE-VA daher die Verdünnungsanalyse statischer Headspaceproben (HVA) eingesetzt.

Dabei wird mit einer gasdichten Spritze ein Aliquot von 20 ml aus dem Gasraum der Headspacegefäße (vgl. 3.4.1) entnommen und zur HRGC/O (vgl. 3.7.1) eingesetzt. Das zur Analyse eingesetzte Gasvolumen wird stufenweise halbiert, bis über dem Sniffing-Port keine geruchsaktiven Substanzen mehr wahrgenommen werden können. Der Verdünnungsfaktor (FD-Faktor) ergibt sich aus dem Quotient des Ausgangsvolumen (20 ml) und dem kleinsten Volumen, bei dem eine Verbindung noch wahrgenommen werden kann.

Die Identifizierung der Aromastoffe erfolgt durch Vergleich mit Referenzverbindungen auf Basis der Retentionsindices auf einer RTX 5 Kapillarsäule (vgl. 3.5.3), der Geruchsqualität und den MS-EI Spektren der Verbindungen (vgl. 3.5.4).

3.5.3 Bestimmung der Retentionsindices

Retentionsindices werden durch Cochromatographie mit einer Lösung von n-Alkanen (C_6 - C_{18} für DB-5 und RTX-5 bzw. C_6 - C_{26} für FFAP Kapillarsäulen; Konzentration je 0,2 % in Pentan) und lineare Interpolation bestimmt (*Van den Dool und Kratz, 1963*):

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

- RI : linearer Retentionsindex
- RT_V : Retentionszeit der Verbindung [min]
- RT_n : Retentionszeit des Alkans mit n Kohlenstoffatomen [min]
- RT_{n+1} : Retentionszeit des Alkans mit n+1 Kohlenstoffatomen [min]
- N : Anzahl der Kohlenstoffatome des Alkans n

3.5.4 Massenspektrometrie

Zur Identifizierung aromarelevanter Verbindungen wird außer den Retentionsindices und Geruchsqualitäten ihr MS-EI Spektrum bzw. in wenigen Fällen auch das entsprechende MS-CI Spektrum herangezogen.

Die Spektren werden dabei entweder über HRGC/MS-EI (vgl. 3.7.2 System I und IV), oder, um Überlagerungen durch teilweise hochkonzentrierte geruchsinaktive Verbindungen zu vermeiden, über multidimensionale HRGC/MS-EI bzw. MS-CI (vgl. 3.7.2 System V) ermittelt und mit den Spektren der Referenzverbindungen verglichen.

Wenn RI-Wert, Geruchseindruck und Massenspektrum eines Aromastoffs mit denen der Referenzverbindung übereinstimmen, gilt die Verbindung als abgesichert.

3.6 Quantitative Bestimmung

3.6.1 Isotopenverdünnungsanalyse

Die Isotopenverdünnungsanalyse wird als ideales Verfahren zur Quantifizierung von Aromastoffen, selbst labiler Verbindungen im Spurenbereich, eingesetzt (*Schieberle und Grosch*, 1987). Die Quantifizierung erfolgt bei dieser Methode nach gaschromatographischer Auftrennung der Extrakte durch Massenspektrometrie (multidimensionale HRGC/MS-Cl; vgl. 3.7.2) unter Verwendung dem Analytmolekül analoger, stabilisotopenmarkierter (^2H , ^{13}C), interner Standards. Von vernachlässigbaren Isotopeneffekten abgesehen liegt der Vorteil dabei in den identischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften von Standard und Analyt, wodurch sowohl identische Verluste bei Isolierung, Aufreinigung und Konzentrierung, als auch identische chromatographische Eigenschaften gewährleistet werden (*Gilbert*, 1987).

Für die Konzentrationsberechnung des Analyten werden die relativen Intensitäten charakteristischer Massenfragmente von Analyt und Standard, wenn möglich der Molekülionen, herangezogen, die bei der HRGC/MS mit chemischer Ionisation entstehen.

$$c_A = \frac{m_d \times I_A}{I_d \times E} \times RF$$

- c_A : Konzentration des Analyten in der Probe [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
- m_d : Zugesezte Menge des isotonenmarkierten Standards [μg]
- I_A : Intensität des ausgewählten Ions m/z des Analyten
- I_d : Intensität des ausgewählten Ions m/z des markierten Standards
- E : Einwaage der Probe [kg]
- RF : Responsefaktor

Durch diese Methode wird eine niedrige Bestimmungsgrenze, hohe Genauigkeit und Selektivität erreicht (die Verwendung der charakteristischen Massenfragmente verhindert z.B. die Erfassung von koeluierten Verbindungen). Abbildung 22 zeigt beispielhaft ein Massenchromatogramm, wie es bei der Bestimmung von 2-Furfurylthiol (m/z 81) anhand von [$^{13}\text{C}_2$] 2-Furfurylthiol (m/z 83) erhalten wurde.

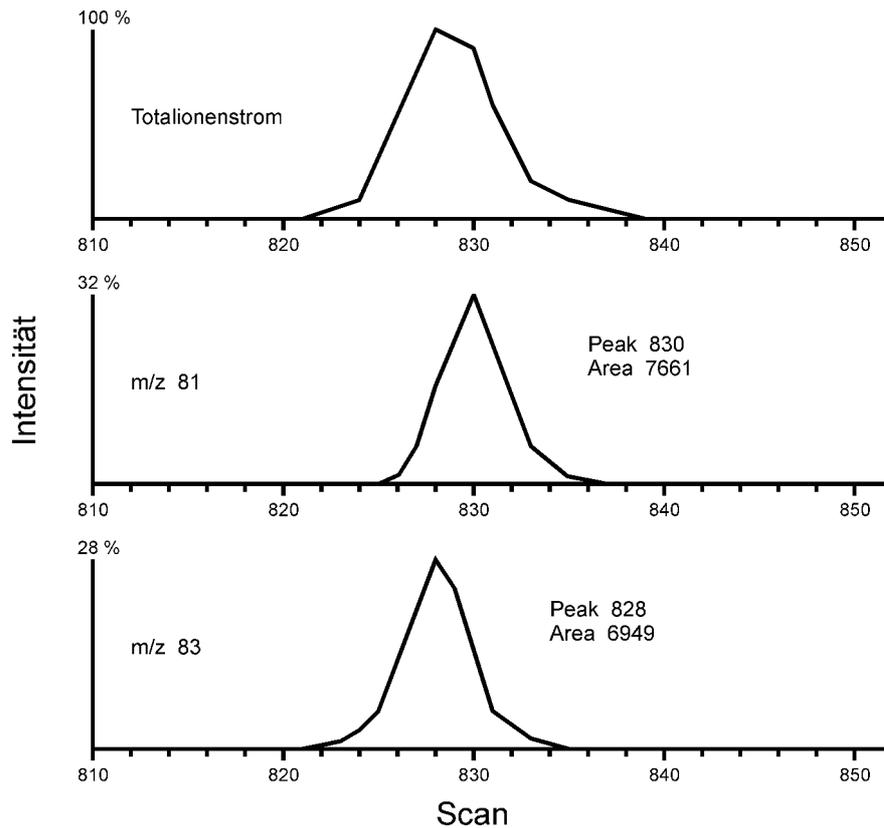


Abbildung 22: Isotopenverdünnungsanalyse: Massenchromatogramme der Bestimmung von 2-Furfurylthiol (m/z 81) anhand von $[^{13}\text{C}_2]$ 2-Furfurylthiol (m/z 83).

Zur Korrektur eines unterschiedlichen Ionisierungsverhaltens von Analyt und Standard sowie einer eventuell uneinheitlichen Isotopenmarkierung (Isotopomerenmischung) des Standards wird für jede quantitative Bestimmung ein Responsefaktor ermittelt. Dazu wird eine Eichgerade aus drei Lösungen mit einem Mischungsverhältnis von 1:3, 1:1 und 3:1 zwischen unmarkierter Verbindung und isotopenmarkiertem Standard aufgestellt, aus der der Responsefaktor für das in der Probe vorliegende Verhältnis bezüglich Analyt und isotopenmarkiertem Standard entnommen werden kann.

$$RF = \frac{m_u \times I_d}{m_d \times I_u}$$

- RF : Responsefaktor
- m_u : Zugesezte Menge der unmarkierten Verbindung
- m_d : Zugesezte Menge der isotopenmarkierten Verbindung
- I_u : Intensität des ausgewählten Ions m/z der unmarkierten Verbindung
- I_d : Intensität des ausgewählten Ions m/z der isotopenmarkierten Verbindung

Tabelle 45: Responsefaktoren (RF) und ausgewählte Ionen (m/z) der Aromastoffe und der entsprechenden isotonenmarkierten Standardverbindungen für die quantitative massenspektrometrische Analyse.

Verbindung ^a	Isotopenmarkierung ^d	Ionen (m/z) ^e		RF
		Analyt	Standard	
Acetaldehyd ^b	[¹³ C ₂]	45	47	1,00
2,3-Butandion	[¹³ C ₄]	87	91	0,90
(E)-β-Damascenon	[² H ₄₋₆]	191	196-198	0,73
2,3-Diethyl-5-methylpyrazin	[² H ₃]	151	154	1,09
Dimethyltrisulfid	[² H ₆]	127	133	0,98
Ethansäure ^c	[² H ₃]	61	64	0,90
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin	[² H ₃]	137	140	0,92
5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanon	[² H ₃]	143	146	1,02
4-Ethyl-2-methoxyphenol	[² H ₂₋₅]	153	155-157	1,00
2-Furfurylthiol	[¹³ C ₂]	81	83	0,93
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanon	[¹³ C ₂]	129	131	1,00
4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon	[¹³ C ₂]	129	131	1,01
4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd	[² H ₃]	153	156	0,95
3-Isobutyl-2-methoxypyrazin	[² H ₃]	167	170	0,98
3-Mercapto-3-methylbutylformiat	[² H ₅₋₆]	69	74-75	1,06
2-Methoxyphenol	[² H ₃]	125	128	1,08
2-Methylbutanal	[² H ₃]	87	89	1,21
3-Methylbutanal	[² H ₃]	69	70-71	0,82
2-/3-Methylbutansäure ^c	[² H ₃]	117	119	0,91
2-Methylbutansäureethylester	[² H ₃]	131	134	1,02
3-Methylbutansäureethylester	[² H ₃]	131	134	0,97
3-Methyl-2-buten-1-thiol	[² H ₈]	69	77	1,03
2-Methyl-3-furanthiol	[² H ₃]	115	118	1,05
3-(Methylmercapto)-propionaldehyd	[² H ₃]	105	108	0,89
Methylpropanal ^b	[² H ₇]	73	80	1,30
2-Methylpropansäureethylester	[² H ₃]	117	120	0,98
2,3-Pentandion	[¹³ C ₂]	101	103	0,92
Phenylacetaldehyd	[¹³ C ₂]	121	123	1,02
4-Vinyl-2-methoxyphenol	[² H ₃]	151	154	1,01

^a Die Quantifizierung erfolgt multidimensional über die Kombination der Kapillarsäulen FFAP/OV-1701 an System VI oder FFAP/DB-5 an System V (vgl. 3.7.2).

^b Die Quantifizierung erfolgt über eine RTX-5 Kapillarsäule an System IV (vgl. 3.7.2).

^c Die Quantifizierung erfolgt über eine FFAP Kapillarsäule System II oder III (vgl. 3.7.2).

^d Isotopenmarkierung des internen Standards der jeweils entsprechenden Verbindung.

^e Zur Auswertung herangezogene m/z-Signale der Aromastoffe und isotonenmarkierten Verbindungen. Bei angegebenen m/z-Bereichen wird die Summe der jeweiligen relativen Intensitäten verwendet.

In Tabelle 45 sind die bei der Isotopenverdünnungsanalyse ermittelten Responsefaktoren in Verbindung mit den entsprechend ausgewählten Ionen (m/z) der Aromastoffe und der entsprechenden isotopenmarkierten Standardverbindungen zusammengestellt.

3.6.2 Aufarbeitung für die quantitative Bestimmung

Die isotopenmarkierten Standardverbindungen werden als Standard im Verhältnis 0,5 bis 2 des zu erwartenden Aromastoffgehalts der Probe zugesetzt. Der Zusatz erfolgt entweder in den ersten Extraktionsschritt bei Roh- und Röstkaffee oder direkt in das abgekühlte Kaffeegetränk. Die Aufarbeitung erfolgt wie unter 3.4 beschrieben, ohne den möglichen Schritt einer Fraktionierung. Die Extrakte werden konzentriert oder mit Lösungsmittel verdünnt zur Isotopenverdünnungsanalyse eingesetzt.

Bei der statischen Headspace werden die isotopenmarkierten Standardverbindungen zu Beginn der Temperierung durch ein Septum in die Headspacegefäße zugespritzt.

3.6.3 Konzentrationsbestimmung isotopenmarkierter Verbindungen

Die Konzentrationen der Lösungen der isotopenmarkierten Standardverbindungen werden durch HRGC/FID gegen Methyl-octanoat als internen Standard bestimmt. Zum Ausgleich der unterschiedlichen Detektierbarkeit von isotopenmarkierter Verbindung und Standard werden die Konzentrationen dabei über eine Eichgerade (3-5 Punkte) korrigiert, in der die Verhältnisse der Peakflächen der entsprechenden unmarkierten Reinsubstanz zu konstant gehaltenem Standard gegenüber den unterschiedlichen Konzentrationen der unmarkierten Verbindung aufgetragen werden.

Falls die unmarkierte Verbindung nicht in Reinform zur Verfügung steht, erfolgt die Aufstellung der Eichgerade mit einer strukturell möglichst ähnlichen Verbindung. [²H₃] 3-Methyl-2-buten-1-thiol wird gegen 3-Methyl-2-buten-1-ol bestimmt.

3.7 Analytisch-instrumentelle Methoden

3.7.1 Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie

Bei der Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie (HRGC/O) werden die Verbindungen des Aromaextraktes durch den chromatographischen Prozess aufgetrennt und durch Splitting des Trägergasstroms am Ende der Kapillarsäule in gleichen Teilen einem Flammenionisationsdetektor (FID) und einem beheizten Ausgang, dem sogenannten „Sniffing-Port“, zugeführt, an dem der Extrakt abgerochen wird. Auf diese Weise können den Signalen des FID-Chromatogramms zeitgleich bestimmte Geruchseindrücke zugeordnet und dadurch Aromastoffe unter den überwiegend geruchsinaktiven flüchtigen Verbindungen erfasst und über ihre linearen Retentionsindices (vgl. 3.5.3) und Geruchsqualitäten charakterisiert werden. Ein weiterer Vorteil dabei ist, dass auch hochpotente geruchsaktive Verbindungen in Konzentration detektiert werden können, die kein FID-Signal mehr ergeben. In Abbildung 23 ist das Prinzip der HRGC/O schematisch dargestellt.

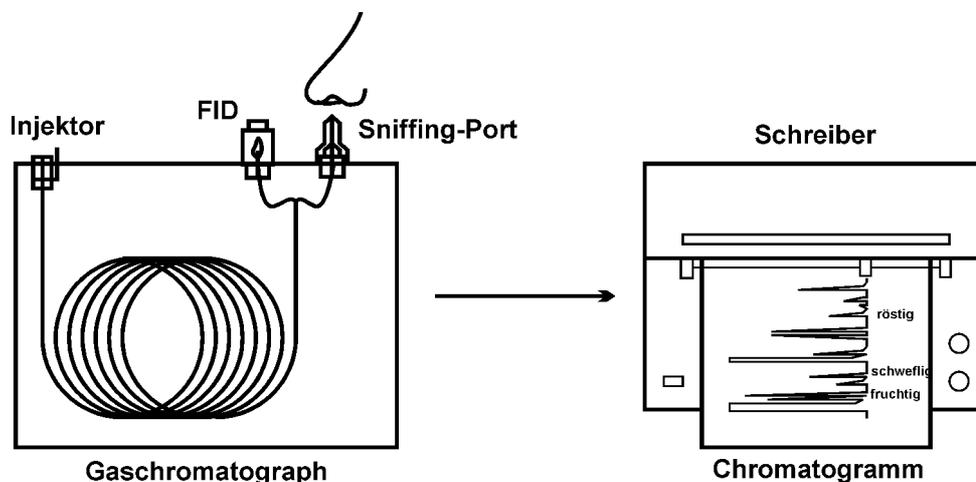


Abbildung 23: Prinzip der Kapillargaschromatographie / Olfaktometrie

HRGC/O von Lösungen

Für die kapillargaschromatographische Untersuchung von Lösungsmittlextrakten wird ein Gaschromatograph vom Typ GC 8000 Top (Carlo Erba Instruments, Hofheim) verwendet, ausgestattet mit einem Sniffing-Port für die olfaktometrische Detektion, sowie einem Flammenionisationsdetektor in Verbindung mit einem Schreiber

vom Typ DLH 250 N (Laumann). Die Steuerung erfolgt über ein Elektrometer EL 980 (Carlo Erba Instruments, Hofheim).

HRGC-Bedingungen:

Probenaufgabe:	on column bei 40 °C
Probevolumen:	0,5 µl
Trägergas:	Helium (Vordruck: 95 kPa)
Splitter:	Glassplitter (Chrompack, Frankfurt), Split 1:1 (v/v)
Splitkapillaren:	desaktivierte Fused Silica Kapillaren, 0,1 mm ID
Make-up Gas:	Stickstoff (25 kPa)
FID-Brenngase:	Wasserstoff (70 kPa) Luft (130 kPa)
FID-Temperatur:	240 °C
Sniffing-Port-Temperatur:	240 °C
Schreiberabschwächung:	10 mV
Papiervorschub:	1 cm / min

Verwendete WCOT Fused Silica Kapillarsäulen:

DB-FFAP, 30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke (J&W Scientific, Folsom, USA)

CP SIL 8CB (DB-5), 30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke (Chrompack, Frankfurt)

Temperaturprogramme:

Ein Temperaturprogramm setzt sich aus Aufheizphasen mit gleichmäßiger Temperatursteigerung (2, 4 und 6), Phasen mit konstanter Temperatur (1, 3, 5 und 7) und einer Abkühlphase zusammen (Abbildung 24). Verwendete Temperaturprogramme sind in Tabelle 46 dargestellt.

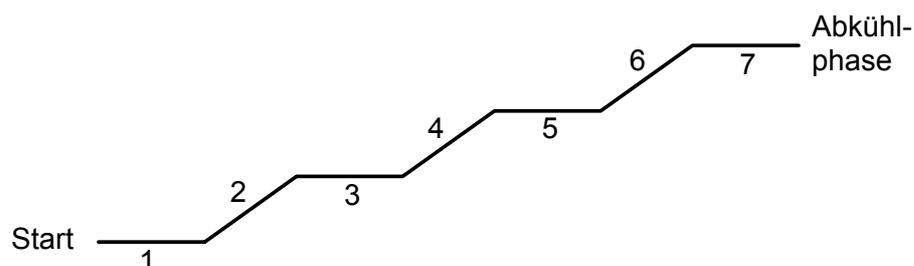


Abbildung 24: Schematischer Ablauf eines Temperaturprogramms

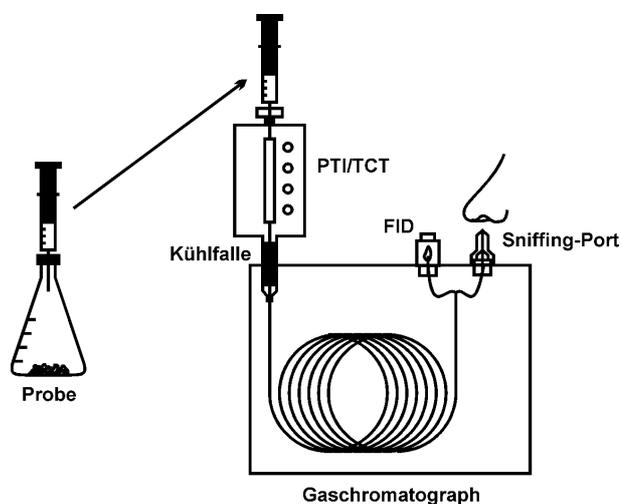
Tabelle 46: Verwendete Temperaturprogramme nach Kapillarsäulen und Extraktfraktionen i.V.m. Aufheiz- und konstanten Temperaturphasen nach Abbildung 24.

Fraktion ^a	1	2	3	4	5	6	7
DB-FFAP							
GF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	6,0 °C pro min	160 °C für 0 min	12 °C pro min	240 °C für 12 min
NBF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	6,0 °C pro min	180 °C für 0 min	10 °C pro min	240 °C für 12 min
SF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	15 °C pro min	120 °C für 0 min	7,5 °C pro min	240 °C für 10 min
CP SIL 8CB							
GF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	6,0 °C pro min	150 °C für 0 min	15 °C pro min	240 °C für 10 min
NBF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	6,0 °C pro min	180 °C für 0 min	15 °C pro min	240 °C für 10 min
SF	40 °C für 2 min	40 °C pro min	60 °C für 1 min	6,0 °C pro min	150 °C für 0 min	20 °C pro min	240 °C für 10 min

^a Extraktfraktionen (vgl. 3.4.3): Gesamtfraktion (GF), Neutral-Basische Fraktion (NBF), Saure Fraktion (SF).

HRGC/O von Headspaceproben

Für die kapillargaschromatographische Untersuchung von Headspaceproben (Abbildung 25) wird ein Gaschromatograph vom Typ CP 9001 mit Ofenkühlung und einem TCT/PTI 4001 Purge-and-Trap-System (Chrompack, Frankfurt) verwendet, ausgestattet mit einem Sniffing-Port für die olfaktometrische Detektion, sowie einem Flammenionisationsdetektor in Verbindung mit einem Schreiber vom Typ DLH 250 N (Laumann).

**Abbildung 25:** Prinzip der HRGC/O statischer Headspaceproben

Purge-and-Trap Bedingungen:

Die injizierte Probe wird vom Trägergas über den Desorptionsblock in die Trap gespült und dort kryofokussiert. Anschließend werden die Aromastoffe schlagartig thermodesorbiert und gelangen auf die Trennkapillare. Während der Analyse wird dann das Purge-and-Trap-System zur Reinigung rückgespült (clean-up).

Probenaufgabe:	Injektion eines Gasvolumens mit einer gasdichten Spritze (Geschwindigkeit 5 ml / min)
Probenvolumen:	0,16 - 20 ml
Desorptionsblock:	silanisierter Glasliner
Desorptionsgas:	Helium (20 ml/min)
Desorptionstemperatur:	230 °C
Desorptionszeit:	5 min
Trap:	CP Sil 8CP Fused Silica Kapillare, 40 cm x 0,52 mm ID, 5 µm Filmdicke (Chrompack, Frankfurt)
Vorkühltemperatur:	- 110 °C
Vorkühlzeit:	2 min
Kühlung:	flüssiger Stickstoff
Clean-up-Gas:	Helium (50 ml/min)
Clean-up-Temperatur:	275 °C
Clean-up-Zeit:	10 min

HRGC-Bedingungen:

Trägergas:	Helium (8 ml/min)
Ofenkühlung:	flüssiger Stickstoff
Splitter:	Glassplitter (Chrompack, Frankfurt), Split 1:1 (v/v)
Splitkapillaren:	desaktivierte Fused Silica Kapillaren, 0,1 mm ID
Make-up Gas:	Stickstoff (20 ml/min)
FID-Brenngase:	Wasserstoff (20 ml/min) Luft (200 ml/min)
FID-Temperatur:	230 °C
Sniffing-Port-Temperatur:	230 °C
Schreiberabschwächung:	10 mV
Papiervorschub:	1 cm / min

Verwendete WCOT Fused Silica Kapillarsäule:

RTX-5, 60 m x 0,52 mm ID, 1,5 µm Filmdicke (Amchro, Sulzbach / Taunus)

Temperaturprogramm:

Die Starttemperatur von 0 °C wird 3 min konstant gehalten. Danach wird mit 8 °C pro Minute bis auf 230 °C aufgeheizt und diese Temperatur für weitere 10 min gehalten.

3.7.2 Massenspektrometrie

Für die Identifizierung und Quantifizierung von Aromastoffen mittels Massenspektrometrie werden folgende Systeme (I-VI) eingesetzt. Abgesehen von geringfügigen, gerätebedingten Abweichungen entsprechen die HRGC-Bedingungen und verwendeten Kapillarsäulen dabei den unter 3.7.1 beschriebenen. Temperaturprogramme werden zur Optimierung der Trennleistung und Messzeit für Quantifizierungen je nach zu analysierender Substanz leicht modifiziert.

System I : HRGC/MS-MAT 95 S

Massenspektren zur Identifizierung von Aromastoffen werden mit einem Gaschromatographen vom Typ 5890 Series II (Hewlett Packard, Waldbronn) in Verbindung mit einem Sektorfeld-Massenspektrometer MAT 95 S (Finningan MAT, Bremen) mit offener Kopplung aufgenommen. Zur Erzeugung der Spektren wird das Massenspektrometer im EI-Modus bei einer Ionisierungsenergie von 70 eV, im CI-Modus (Reaktandgas: Isobutan) mit einer Ionisierungsenergie von 115 eV betrieben.

System II : HRGC/ITD-Saturn 2000

Die Quantifizierung von Ethansäure und 2-/3-Methylbutansäure wird zum Teil an einem Gaschromatographen vom Typ Varian GC 3800 (Varian, Darmstadt), der mit einem Ion-Trap-Massenspektrometer vom Typ Saturn 2000 gekoppelt ist, durchgeführt. Die Ionisierungsenergie im CI-Modus (Reaktandgas: Methanol) beträgt 70 eV.

System III : HRGC/ITD-800

Bei diesem System ist ein Gaschromatograph vom Typ 5160 (Carlo Erba, Hofheim) mit einem Ion-Trap-Detektor ITD-800 (Finnigan MAT, Bremen) gekoppelt. Die Ionisie-

rungsenergie im CI-Modus (Reaktandgas: Methanol) beträgt 70 eV. Es dient wie System II zur quantitativen Analyse saurer Verbindungen in Lösungsmittlextrakten.

System IV : HRGC/INCOS-XL

Für die massenspektroskopischen Untersuchungen zur Identifizierung und Quantifizierung besonders leichtflüchtiger Aromastoffe wird ein Gaschromatograph vom Typ CP-9100 mit Ofenkühlung (Chrompack, Frankfurt) und Purge-and-Trap-System TCT/PTI 4001 (Chrompack, Frankfurt) in Kopplung mit einem Quadrupol-Massenspektrometer INCOS XL (Finnigan MAT, Bremen) verwendet. Die Ionisierungsenergie im EI-Modus beträgt 70 eV, im CI-Modus (Reaktandgas: Methan) 110 eV.

System V : Multidimensionale HRGC/ITD-800

Hierbei wird ein Gaschromatograph (GC 1) vom Typ Mega 2-Series (Fisons Instruments, Mainz-Kastel) über ein MCSS (moving capillary stream switching)-System (Fisons Instruments, Mainz-Kastel) und eine thermostatisierbare Transferline mit einem Gaschromatographen (GC 2) vom Typ 5160 Mega Series (Carlo Erba Instruments, Hofheim) gekoppelt, der wiederum mit einem Ion-Trap-Detektor ITD-800 (Finnigan MAT, Bremen) verbunden ist. Die Ionisierungsenergie im CI-Modus (Reaktandgas: Methanol) beträgt 70 eV.

System VI : Multidimensionale HRGC/ITD-Saturn 2000 mit CombiPal

Ein MCSS (moving capillary stream switching)-System (ThermoFinnigan, Egelsbach) verbindet in diesem Fall einen Gaschromatographen (GC 1) vom Typ TraceGC 2000 Series (ThermoQuest) mit einem zweiten Gaschromatographen (GC 2) vom Typ Varian GC 3800, der mit einem Ion-Trap-Massenspektrometer vom Typ Saturn 2000 (Varian, Darmstadt) gekoppelt ist. Die Ionisierungsenergie im CI-Modus (Reaktandgas: Methanol) beträgt 70 eV. GC 1 ist mit einem Autosampler vom Typ CombiPal ausgestattet. In GC 2 dient eine Fused Silica Kapillarsäule OV-1701 (30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke, J&W Scientific, Folsom, USA) zur chromatographischen Auftrennung.

Prinzip der multidimensionalen HRGC/MS

Die multidimensionale Kapillargaschromatographie (Abbildung 26) dient zur Verbesserung der chromatographischen Trennleistung und dadurch Verringerung von störenden Überlagerungen des Analyten durch andere Substanzen im Massenspektrometer.

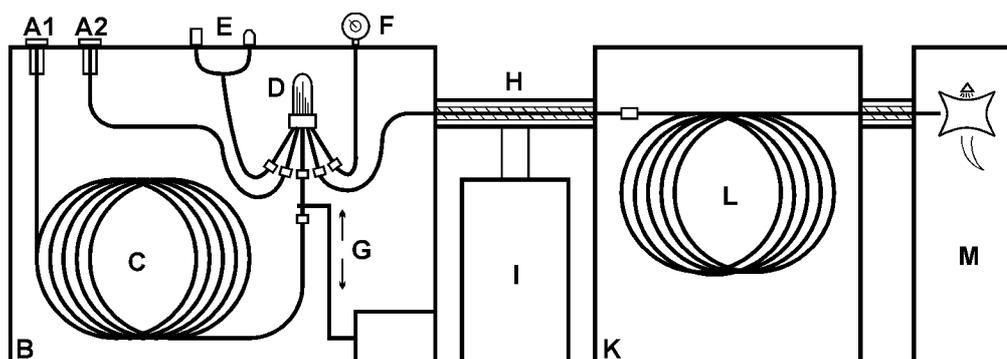


Abbildung 26: Schematische Darstellung der multidimensionalen HRGC-MS.

- A1: On-column Injektor
- A2: Injektor zur Aufrechterhaltung des Trägergasdrucks im Dom (D)
- B: Gaschromatograph (GC 1)
- C: erste Kapillarsäule (DB-FFAP)
- D: Dom mit MCSS-System
- E: Flammenionisationsdetektor (FID) und Sniffing-Port
- F: Manometer zur Druckkontrolle im Dom (D)
- G: mechanische Steuereinheit zur vertikalen Verschiebung der Kapillarsäule (C) im Dom (D)
- H: thermostatisierbare Transferkapillare (- 80 °C / + 200 °C)
- I: Steuereinheit zur Kühlung und Heizung der Transferkapillare (H)
- K: Gaschromatograph (GC 2)
- L: zweite Kapillarsäule (DB-5 oder OV-1701)
- M: Massenspektrometer

Über das MCSS-System im Dom (D) können gezielt Substanzen einer bestimmten Elutionszeit von der ersten Kapillarsäule (C) in eine Kühlfalle (H) geleitet und dort bei -80 °C kryofokussiert werden. Die exakte Elutionszeit wird dabei durch Injektion entsprechender Referenzsubstanzen der aromaaktiven Komponenten ermittelt, die am FID und Sniffing-Port (E) detektiert werden. Das sogenannte „Schneiden“ des Probenextraktes, d.h. die Zeit, in der das Säuleneluat in die Transferkapillare (H) geleitet wird, erfolgt dann in einem Zeitfenster von ca. 1 min um die ermittelte Elutionszeit. Die in der Transferkapillare (H) ausgefrorenen Verbindungen werden anschließend durch sehr schnelles Erhitzen auf 200 °C thermodesorbiert und auf die zweite Kapillarsäule (L) transferiert, die durch unterschiedliche Polarität gegenüber der ersten

Kapillarsäule andere Trenneigenschaften aufweist und damit die Verbindungen des engen Schnittbereichs besser und meist störungsfrei aufgetrennt ins Massenspektrometer (M) leiten kann.

Das Prinzip der MCSS-Säulenschaltung ist in Abbildung 27 dargestellt. Im passiven Modus (a) wird das Säuleneluat der ersten Kapillarsäule C (2) in die Kapillare (4), die zu den Detektoren führt, geleitet. Der Heliumfluss aus der Kapillare vom Injektor A2 (1) verhindert durch den erzeugten Druck von oben das Durchkommen des Säuleneluates zur Transferkapillare (3), die weiter oben im Dom liegt. Im aktiven Modus (b) wird das Säulenende der ersten Kapillarsäule C (2) durch eine mechanische Steuer-einheit um wenige Zentimeter im Dom nach oben geschoben, wodurch das Säuleneluat fast vollständig in die Transferkapillare (3) gelangt. Der Heliumfluss aus der Kapillare vom Injektor A2 (1) verhindert durch den Druck von unten, dass das Säuleneluat den Dom durch die Kapillare zu den Detektoren verlässt.

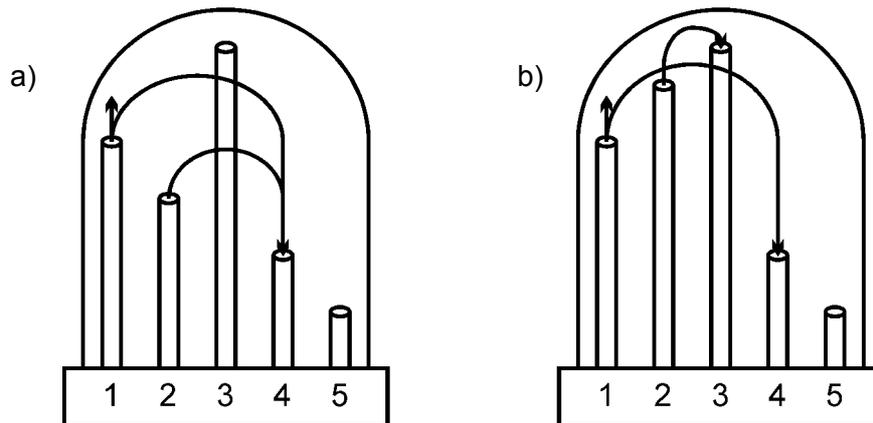


Abbildung 27: Schematische Darstellung des MCSS-Systems, (a) Passiver Modus: Das Säuleneluat gelangt zum Detektor, (b) Aktiver Modus: Das Säuleneluat gelangt in die Transferkapillare

- 1: Kapillare von A2 (Zuleitung des Trägergasdrucks)
- 2: Säulenende der Kapillarsäule (C), vertikal beweglich
- 3: Transferkapillare (H)
- 4: Kapillare zum Detektor (FID / Sniffing-Port, E)
- 5: Kapillare zum Manometer (F)

3.7.3 Präparative Gaschromatographie

Für die präparative Gaschromatographie wird ein Gaschromatograph vom Typ GC 8000 Series (Fisons Instruments, Mainz-Kastel) in Verbindung mit einem präparativen Fraktionssammler PFC (Gerstel, Mülheim) und einem Autosampler AS 2000 (ThermoFinnigan, Egelsbach) verwendet. Die Steuerung des Gaschromatographen erfolgt über ein Elektrometer EL 980 (Carlo Erba Instruments, Hofheim), des PFC's über einen Controller C505 (Gerstel, Mülheim).

Die Probe wird dabei gaschromatographisch aufgetrennt und gelangt über eine Transferline in den PFC, wo sie mit Hilfe eines Switching Device zeitgesteuert in bis zu sechs getrennte Kühlfallen geschnitten und dort ausgefroren werden kann. Die Schnittstellen können im Vorfeld über FID und Sniffing-Port, die ebenfalls an dem Gaschromatographen installiert sind (FID und Sniffing-Port Bedingungen vgl. 3.7.1), bestimmt werden.

HRGC-Bedingungen:

Probenaufgabe:	on column bei 35 °C
Probenvolumen:	2,0 µl
Trägergas:	Helium (Vordruck: 25 kPa)

PFC-Bedingungen:

Transferline:	250 °C
Switching Device:	285 °C
Kapillaren:	desaktivierte Fused Silica Kapillaren, 0,32 mm ID
Fallenkühlung:	flüssiger Stickstoff
Falltemperatur:	-100 °C

Verwendete WCOT Fused Silica Kapillarsäulen:

- DB-FFAP, 30 m x 0,53 mm ID, 2 µm Filmdicke (Chrompack, Frankfurt)
- DB-SE 54, 30 m x 0,53 mm ID, 2 µm Filmdicke (Chrompack, Frankfurt)

3.8 Aminosäureanalyse

3.8.1 Isolierung der freien Aminosäuren

Eine geeignete Methode zur Extraktion der freien Aminosäuren aus Rohkaffee muss einerseits eine quantitative Extraktion gewährleisten, andererseits mögliche Fehlerquellen ausschließen, die bei der Extraktion auftreten können. In diesem Zusammenhang wurden zwei unterschiedliche Extraktionsmedien, Wasser und ein Natriumacetatpuffer pH 2,2, getestet und die extrahierten Aminosäuregehalte in Abhängigkeit von der Extraktionszeit untersucht. Die Ergebnisse (Tabelle 47) wurden dabei jeweils aus sechs Werten (Dreifachbestimmung) gemittelt, aus denen sich eine relative Standardabweichung von 10 % ergab (angegeben als Fehlerbalken, Abbildung 28).

Tabelle 47: Ermittelte Aminosäuregehalte bei der Extraktion freier Aminosäuren aus Rohkaffee in Abhängigkeit von der Extraktionszeit und dem Extraktionsmittel.

Aminosäure	Wasser: Gehalt in mg / kg ^a					Puffer: Gehalt in mg / kg ^b				
	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
Asparaginsäure	597,1	661,6	687,3	693,6	722,3	699,8	706,1	645,7	646,7	634,7
Threonin	31,4	30,6	41,6	38,3	98,6	31,6	33,1	31,4	28,9	29,1
Serin	304,4	323,8	340,7	328,2	371,2	367,0	366,1	343,5	338,8	335,2
Glutaminsäure	1802	2001	1968	2155	2210	2568	2461	2178	2033	1971
Prolin	127,1	157,6	134,3	242,3	367,0	181,3	185,0	192,3	191,3	177,6
Glycin	31,7	31,8	38,2	38,7	70,3	33,9	34,6	34,5	33,7	32,1
Alanin	225,1	240,0	264,1	263,1	328,0	270,5	268,9	258,8	240,7	240,7
Valin	64,3	72,1	81,9	92,2	133,6	81,2	73,0	78,8	66,0	60,9
Cystein	13,0	6,9	8,0	12,9	14,4	32,4	31,3	30,8	26,9	22,5
Methionin	9,9	16,4	19,4	26,5	82,1	10,3	11,1	11,8	17,8	22,4
Isoleucin	63,2	76,2	80,6	81,7	100,4	76,7	74,2	75,3	75,6	78,2
Leucin	42,6	62,1	80,8	103,0	218,7	50,6	51,1	58,1	63,9	68,9
Tyrosin	38,6	50,0	57,4	63,2	106,5	48,4	46,8	46,1	46,9	50,0
Phenylalanin	216,2	249,2	272,8	269,3	325,4	257,4	285,7	248,1	249,3	266,5
Histidin	26,7	29,0	34,6	41,1	63,1	43,9	49,2	41,7	38,9	39,3
Lysin	84,2	102,2	132,6	156,6	289,7	95,0	88,2	80,2	92,8	77,3
Arginin	103,2	124,8	166,4	135,4	229,4	137,4	143,1	137,6	112,9	116,6

^a Alle angegebenen Daten sind Mittelwerte aus 6 Messungen (Dreifachbestimmung) und beziehen sich auf die Trockenmasse des Rohkaffees, die relative Standardabweichung beträgt 10 %, Extraktionsmittel: Wasser

^b wie a, nur Extraktionsmittel: Natriumacetatpuffer pH 2,2

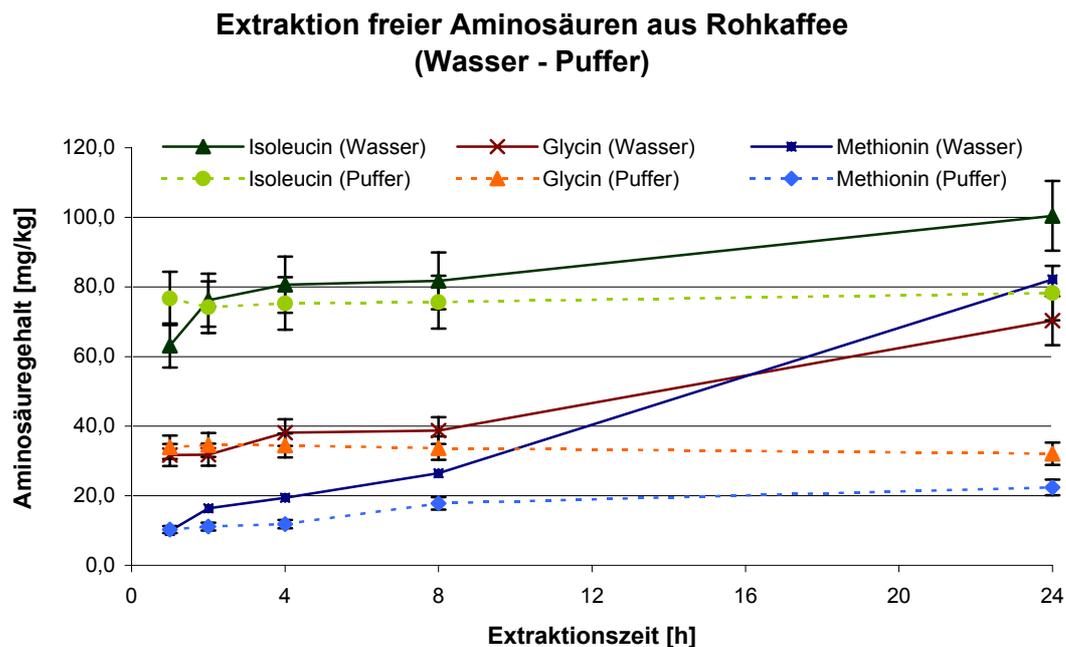


Abbildung 28: Extraktion freier Aminosäuren aus Rohkaffee in Abhängigkeit von der Extraktionszeit und dem Extraktionsmittel: Wasser und Natriumacetatpuffer pH 2,2 exemplarisch dargestellt an den Aminosäuren Isoleucin, Glycin und Methionin (Standardabweichung als Fehlerbalken angegeben).

Extraktion mit Wasser

Es werden jeweils 1,5 g gemahlene grüne Kaffeebohnen mit 2 x 20 ml destilliertem Wasser unter ständigem Schütteln extrahiert. Die Extraktionszeiten liegen dabei bei 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden. Der Extrakt wird anschließend gefriergetrocknet, der Rückstand in 10 ml SD-Puffer (pH 2,2) aufgenommen und nach Filtration durch einen Molekülfiter (Ausschlussmasse 1000 g/mol) das klare Filtrat zur Analyse eingesetzt.

Extraktion mit SD-Puffer

Es werden jeweils 1,5 g gemahlene grüne Kaffeebohnen mit 10 ml SD-Puffer (pH 2,2) unter ständigem Schütteln extrahiert. Die Extraktionszeiten liegen dabei bei 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden. Der Extrakt wird membranfiltriert (0,45 μm) und zur Analyse eingesetzt.

Bei der konventionellen Extraktion mit Wasser stellte sich nach einem oft starken Anstieg der ermittelten Aminosäuregehalte in den ersten 2-4 Stunden eine Plateauphase mit nur geringer Steigung und von unterschiedlicher Länge ein (meist 3-4 Stun-

den), nach der die Aminosäurekonzentrationen mit der Extraktionszeit wieder beständig und stark zunahm. Allerdings zeigten nicht alle Aminosäuren die Ausbildung dieser Plateauphase, die wiederum von Aminosäure zu Aminosäure zeitlich verschoben war, sondern stattdessen einen kontinuierlichen Anstieg (z.B. Methionin), so dass die Wahl einer einheitlichen Extraktionszeit für alle Aminosäuren sich als nicht möglich herausstellte. Weiterhin verfärbte sich der Extraktionsansatz während der Extraktion schwarz und veränderte seinen Geruch, was auf hohe Enzymaktivitäten im Rohkaffee zurückgeführt werden konnte, die auch eine Freisetzung von Aminosäuren aus Proteinen ermöglichen. Als geeignetes Mittel zur Enzyminhibierung erwies sich die Absenkung des pH-Wertes und damit die Verwendung des schwach sauren Natriumacetatpuffers (pH 2,2) zur Extraktion, der zusätzlich den Vorteil hatte, dass die Extrakte nach Filtration direkt zur Analyse am Aminosäureanalysator eingesetzt werden konnten.

Die Extraktion mit Natriumacetatpuffer zeigte schon von Beginn an im Verhältnis höhere Extraktionsausbeuten als bei der Extraktion mit Wasser, wobei diese mit zunehmender Extraktionszeit nur noch sehr leicht anstiegen, oft sogar wieder abfielen. Weiterhin lagen die anfänglichen Aminosäuregehalte meistens bereits im Bereich der Plateauphase der Wasserextraktion, so dass die Extraktion als vergleichbar angesehen und für weitere Quantifizierungen gewählt wurde.

Extraktion der Proben

Es werden jeweils 1,5 g gemahlene grüne Kaffeebohnen mit 10 ml SD-Puffer (pH 2,2) für 3 Stunden unter ständigem Schütteln extrahiert. Der Extrakt wird membranfiltriert (0,45 µm) und zur Analyse eingesetzt.

3.8.2 Analytisch-instrumentelle Bedingungen

Die Aminosäureanalyse (ASA) wird an einem Aminosäureanalysator Type LC 3000 (Biotronic, Maintal) durch automatische Kationenaustauscherchromatographie (Einsäulenverfahren nach Spackman, Stein und Moore) durchgeführt. Dabei werden die bei pH 2,2 (SD-Puffer) als Kationen vorliegenden Aminosäuren auf die Ionenaustauschersäule (stationäre Phase) aufgebracht und über ein Puffersystem durch eine

kontinuierliche pH-Erhöhung nacheinander in der Reihenfolge ihrer isoelektrischen Punkte wieder eluiert.

Die Detektion erfolgt durch Nachsäulenderivatisierung mit Ninhydrin-Reagenz und photometrischer Messung der Derivate (primäre Aminosäuren $\lambda = 570$ nm, Prolin $\lambda = 440$ nm).

ASA-Bedingungen:

Fließgeschwindigkeit:	Puffer 0,2 ml / min Ninhydrin-Reagenz 0,2 ml / min
Aufgabemenge:	20 μ l
Linearitätsbereich:	0,1-5 nmol pro Aminosäure in 20 μ l
Testgemisch:	2 nmol pro Aminosäure in 20 μ l
Reaktionstemperatur:	125 °C

Puffersysteme:

- Puffer A: 0,1 mol/l; Natriumacetat 8,2 g/l, Methanol 75 ml, Ameisensäure 3 ml, Essigsäure 15 ml, Octansäure 0,01 ml auf 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 3,455 eingestellt.
- Puffer B: 0,1 mol/l; Natriumacetat 8,2 g/l, Ameisensäure 2 ml, Essigsäure 1,5 ml, Octansäure 0,01 ml auf 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 4,70 eingestellt.
- Puffer C: 0,25 mol/l; Natriumacetat 8,2 g/l, Borsäure 2,0 g/l, Dinatriumhydrogenethylendiamintetraacetat 0,5 g/l, Natriumhydroxid 6 g/l, Ameisensäure 1,2 ml, Essigsäure 5 ml, Octansäure 0,1 ml auf 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 9,383 eingestellt.
- Puffer D: 0,25 mol/l; Natriumacetat 8,2 g/l, Borsäure 2,0 g/l, Dinatriumhydrogenethylendiamintetraacetat 0,5 g/l, Natriumhydroxid 6 g/l, Ameisensäure 1,2 ml, Essigsäure 5 ml, Octansäure 0,1 ml auf 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 11,629 eingestellt.

Elutionsfolge:

Puffer A (0-32,8 min), Puffer B (32,8-55,8 min), Puffer C (55,8-70,8 min), Puffer D (70,8-98,8 min)

Temperaturprogramm:

47 °C (0-26,5 min), 49 °C (26,5-41,8 min), 50 °C (41,8-55,8 min), 52 °C (55,8-70,8 min), 56 °C (70,8-80,8 min), 60 °C (80,8-98,8 min)

Säulen:

Vorsäule: BTC F, 75 mm x 6 mm ID (Eppendorf-Netheler-Hinz, Maintal)

Trennsäule: BTC 2410, 145 mm x 3,2 mm ID (Eppendorf-Netheler-Hinz, Maintal)

Reagenzien:

SD-Puffer pH 2,2 (1 mol/l):

8,2 g Natriumacetat, 75 ml Methanol, 3 ml Ameisensäure, 15 ml Essigsäure und 100 ml Octansäure auf 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 2,2 eingestellt.

Ninhydrinreagenz:

20 g Ninhydrin, 0,6 g Hydrindantin, 500 ml Ethylenglycol, 50 ml Tetrahydrofuran, 450 ml Kaliumacetatpuffer (5,1 mol/l; 1000 g Kaliumacetat, 1 l Essigsäure, 1 l Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 5,59 eingestellt).

3.8.3 Bestimmung des Wassergehalts

Um die Gehalte freier Aminosäuren in Bezug auf die Trockenmasse des Rohkaffees angeben zu können, wird der Wassergehalt des gemahlene Rohkaffees gravimetrisch über den Gewichtsverlust von 15 g Rohkaffee bei der Gefriertrocknung bestimmt (Doppelbestimmung). Die Trocknung erfolgt bis zur Gewichtskonstanz.

Bedingungen der Gefriertrocknung:

Gerät: Christ LMC 1 Gamma 1-20

Einfriertemperatur: - 32 °C

Plattentemperatur: 16 °C

Enddruck: 0,6 Pa

3.9 Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

Die Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), die mit einem PDMS-beschichteten Rührfisch (kommerziell als „Twister“ erhältlich) arbeitet, dient vor allem zur Extraktion organischer Verbindungen aus wässrigen Proben (*Baltussen et al.*, 1999). Die Analyten werden dabei während des Rührens der Probe über Absorption durch die PDMS-Phase und in Abhängigkeit von z.B. pk-Wert, Wasservolumen und Rührzeit (*Hässelbarth*, 2000) extrahiert und später durch thermische Desorption für weitere Analyseschritte wieder freigesetzt. Das Extraktionsprinzip beruht dabei auf dem Verteilungsgleichgewicht der Komponenten in dem Zweiphasensystem Wasser (oder Gasraum) / PDMS, d.h. die Anreicherung der Analyten in der PDMS-Phase wird durch ihre Verteilungskoeffizienten bestimmt (*Hässelbarth*, 2000), wobei die Vorteile vor allem in der lösungsmittelfreien, einfachen und schnellen Aufarbeitung liegen. Der Unterschied zur In-Sample Solid Phase Micro-Extraction (IS-SPME) besteht in der deutlich höheren Kapazität der PDMS-Phase, die mit einem Volumen von 25-125 μl gegenüber ca. 0,6 μl im Vergleich entscheidend bessere Ausbeuten lieferte (*Bicchi et al.*, 1997; 2002).

3.9.1 Twister[®]

Für die Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) werden Twister[®] (Gerstel, Mülheim), mit einer Polydimethylsiloxan (PDMS) Phase (Volumen: 100 μl) beschichtete Rührfische, verwendet.

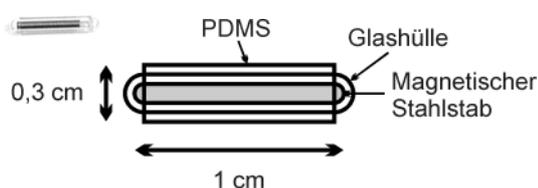


Abbildung 29: Schematischer Aufbau und Abbildung eines Twister[®]

Die Twister[®] werden vor Benutzung mit einem TubeConditioner TC 1 (Gerstel, Mülheim) unter Gasfluss konditioniert. Regelung und Steuerung der Temperatur erfolgt dabei durch einen AUXController 163 (Gerstel, Mülheim).

Konditionierungsbedingungen:

Spülgas:	Stickstoff (20 ml/min)
Aufheizphase:	20 min
Temperatur:	300 °C
Ausheizdauer:	1 Stunde
Abkühlphase:	4-5 Stunden

3.9.2 Extraktion

Die Extraktion beruht auf den Verteilungsgleichgewichten im Mehrphasensystem PDMS-Wasser-Luft und wird durch die entsprechenden Verteilungskoeffizienten bestimmt. Zur Einstellung des Gleichgewichts wird der Probenansatz mit dem Twister[®] für eine genau definierte Zeit in einem verschlossenen Iodzahlkolben gerührt, danach der Twister[®] aus der Extraktionslösung entnommen und anhängende Wassertropfen mit einem Filterpapier entfernt. Der Twister[®] wird anschließend in das Analysenröhrchen eingeführt und dieses in das TDSA eingesetzt. Bei der Handhabung des Twisters[®] wird immer eine saubere Pinzette verwendet.

Extraktionsbedingungen:

Extraktionszeit:	5 - 240 min
Probenvolumen:	10 - 100 ml

Extraktionszusätze:

Aromastoffe:	0,01 - 10 µg / Aromastoff
Lösungsmittel:	Dichlormethan 10 - 50 µl
	Diethylether 10 - 50 µl
	Pentan 10 - 50 µl
	Methanol 50 - 500 µl
	Ethanol 50 - 500 µl
	Propanol 50 - 500 µl
Natriumchlorid:	10 % - 100 % gesättigte Lösung

3.9.3 Extraktion für die Isotopenverdünnungsanalyse

Für die Isotopenverdünnungsanalyse wird nach 3.1.5 hergestelltes Kaffeegetränk mit isotopenmarkierten Standardverbindungen im Verhältnis von 0,5 bis 2 des zu erwartenden Aromastoffgehalts der Probe versetzt und anschließend mit einem Twister[®] extrahiert.

Extraktionsbedingungen:

Extraktionszeit:	60 min
Probenvolumen:	50 ml
Standardzusatz:	10 µl etherische oder 50 µl ethanolische Lösung isotopenmarkierter Aromastoffe

3.9.4 Analytisch-instrumentelle Bedingungen

Für die Desorption und analytische Auftrennung der Twister[®]-Extrakte ist GC 1 des multidimensionalen HRGC/ITD-800 Systems (vgl. 3.7.2, System V) mit einem Kalt-aufgabesystem KAS 4 (Gerstel, Mülheim), einer Thermodesorptionseinheit TDS 2 (Gerstel, Mülheim) und einem dazugehörigen Autosampler TDS A (Gerstel, Mülheim) ausgestattet. Die Steuerung erfolgt über einen Controller C505 (Gerstel, Mülheim) und die Gerstel-Master-Software.

Thermodesorptionssystem Autosampler (TDS A)

Die Kapazität des Autosamplers umfasst den Platz für bis zu 20 Analyseröhrchen (Position 1-20) sowie ein Leerrohr (Position 0), das für den Ablauf der Analyse (siehe unten) benötigt wird.

Thermodesorptionssystem (TDS 2)

Die temperaturgesteuerte Desorption der extrahierten Verbindungen vom Twister[®] erfolgt splittless im Modus „Sample Remove“. Dabei wird das TDS nach der Desorption auf die Anfangstemperatur (Initial Temp.) heruntergekühlt, die Probe aus dem TDS entfernt und durch ein Leerrohr ersetzt. Eine Verzögerungszeit (Delay Time) von 0,5 min gewährleistet den Wiederaufbau des durch den Probenwechsel abfallenden Heliumdrucks, bevor die im KAS kryofokussierten Verbindungen auf die Ka-

pillarsäule aufgegeben werden. Die Temperatur der Transferkapillare zwischen TDS und KAS liegt mit 250 °C etwas über der Endtemperatur (Final Temp.), um Rückstände in der Kapillare zu verhindern.

Temperaturprogramm der Desorption:

Anfangstemperatur (Initial Temp.):	40 °C
Dauer der Anfangstemperatur (Initial Time):	0 min
Aufheizrate (1st Ramp):	60 °C/min
Endtemperatur (Final Temp.):	240 °C
Dauer der Endtemperatur (Final Time):	5 min

Kaltaufgabesystem (KAS 4):

Während der Desorption werden vom Twister[®] desorbierte Verbindungen im mit flüssigem Stickstoff gekühlten KAS bei - 150 °C kryofokussiert. Die anschließende temperaturgesteuerte Probeninjektion vom KAS auf die Kapillarsäule erfolgt splitless, wobei die Dauer des Splitlessbetriebs mit 1,5 min der Aufheizzeit angepasst wird.

Temperaturprogramm der Desorption:

Anfangstemperatur (Initial Temp.):	- 150 °C
Dauer der Anfangstemperatur (Initial Time):	0 min
Equilibrierungszeit (Equilib. Time)	0 min
Aufheizrate (1st Ramp):	12 °C/s
Endtemperatur (Final Temp.):	240 °C
Dauer der Endtemperatur (Final Time):	5 min

Weitere Parameter:

GC-Runtime:	47,5 min (Laufzeit einer Analyse)
Systemdruck:	1,4 bar
Trägergas:	Helium
Gesamtfluss:	50 ml/min
Säulenfluss:	2,5 ml/min

Der Gesamtfluss wird während der Desorption nach dem KAS, während der Probenaufnahme vor dem KAS gesplittet.

4 Zusammenfassung

Kaffee wird nach der Ernte einer nassen bzw. einer trockenen Aufbereitung unterzogen, um aus der Kaffeekirsche den von seinen Umhüllungen befreiten, getrockneten Rohkaffee zu erhalten, der wiederum durch Röstung zum Röstkaffee und durch anschließende Heißwasserextraktion zum Kaffeegetränk weiterverarbeitet wird. Bedingt durch die verschiedenen Aufbereitungen fanden sich in allen drei Verarbeitungsstadien des Kaffees sensorisch erkennbare Aromaunterschiede, wobei die Aromaqualität des nass aufbereiteten Kaffees jeweils höher beurteilt wurde. Die Ursachen für diese Unterschiede waren bislang jedoch nicht beschrieben worden.

Unter Anwendung von Aromaextraktverdünnungstechniken wurden in dieser Arbeit daher die für den Unterschied verantwortlichen Verbindungen identifiziert und diese mit Hilfe der Isotopenverdünnungsanalyse quantitativ festgehalten, wobei zusätzlich auf Veränderungen des Unterschieds vom Rohkaffee zum Röstkaffee und dem Kaffeegetränk eingegangen wurde.

Für den Unterschied verantwortlich zeigten sich dabei keine der bekannten Aroma-Impakt-Verbindungen des Rohkaffees, des Röstkaffees oder des Kaffeegetränks, sondern die fruchtig riechenden 2- und 3-Methylbutansäureethylester. Diese waren bereits im trocken aufbereiteten Rohkaffee zu finden, nahmen bei der Röstung kaum ab und wurden zu 50 % ins Kaffeegetränk extrahiert, während nass aufbereiteter Kaffee diese Verbindungen nicht enthielt. Weiterhin erwiesen sich die quantifizierten Mengen der Ester als ausreichend, eine sensorische Unterscheidung der Proben zu gewährleisten und die Aromaqualität negativ zu beeinflussen.

Nicht als ausreichend für eine sensorische Unterscheidbarkeit zeigten sich dagegen die Gehalte an 2- und 3-Methylbutanal im Röstkaffee, die entsprechend ihrer Aromavorläufer im Rohkaffee, den freien Aminosäuren, im trocken aufbereiteten Röstkaffee um 40 % erhöht vorlagen.

Zur Differenzierung von nass und trocken aufbereitetem Rohkaffee trugen weiterhin noch Ethansäure und 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-1-ol bei, die beide im trocken aufbe-

reiteten Rohkaffee in deutlich höheren Konzentrationen auftraten, jedoch im Röstkaffee keine aromarelevante Bedeutung mehr aufwiesen.

Im Gegensatz zu den aufbereiteten Kaffees waren im unbehandelten Rohkaffee, der bislang noch nie untersucht wurde, erhöhte Konzentrationen an Phenylacetaldehyd, 3-(Methylmercapto)-propionaldehyd und (E)- β -Damascenon zu finden. In Bezug auf alle anderen aromapotenten Verbindungen war er mit dem nass aufbereiteten Rohkaffee zu vergleichen und enthielt weder 2- und 3-Methylbutansäureethylester noch höhere Gehalte an Ethansäure. Der aus dem unbehandelten Rohkaffee hergestellte Röstkaffee unterschied sich dann jedoch nicht mehr von dem nass aufbereiteten Röstkaffee, wodurch die Ursache der Unterscheidbarkeit von nass und trocken aufbereitetem Kaffee auf die Bedingungen der trockenen Aufbereitung zurückgeführt werden konnten.

Weiterhin konnte ein ausschließlicher Eintrag von 2- und 3-Methylbutansäureethylester in den trocken aufbereiteten Kaffee durch Fehlbohnen widerlegt werden, da die bei der nassen Aufbereitung routinemäßig aussortierten Fehlbohnen (unreife Kirschen und „Floater“) keine erhöhten Konzentrationen dieser Ester aufwiesen.

Schließlich wurde durch Kombination der Stir Bar Sorptive Extraction und der Isotopenverdünnungsanalyse eine schnelle und unproblematisch durchzuführende Methode entwickelt, mit der 2- und 3-Methylbutansäureethylester im Kaffeegetränk nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden konnten, was im Weiteren dazu genutzt wurde, anhand mehrerer kommerziell erhältlicher Kaffeeproben das ausschließliche Vorkommen von 2- und 3-Methylbutansäureethylester in trocken aufbereitetem Kaffee noch in verschiedenen anderen Proben zu verdeutlichen.

5 Literaturverzeichnis

Acree, T.E.; Barnard, J.; Cunningham, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chem.* **1984**, *14*, 273-286.

Acree, T.E. Bioassays for flavor. In: Acree, T.E.; Teranishi, R. (Hrsg.) *Flavor Science. Sensible Principles and Techniques*. ACS Professional Reference Book, American Chemical Society, Washington, D.C. **1993**, 1-20.

Amrani-Hemaini, M.; Cerny, C.; Fay, L.B. Mechanisms of formation of alkylpyrazines in the Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *43*, 2818-2822.

Arnold, U.; Ludwig, E.; Kühn, R.; Möschwitzer, U. Analysis of free amino acids in green coffee beans. I: Determination of amino acids after precolumn derivatization using 9-fluorenylmethylchloroformate. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1994**, *199*, 22-25.

Arnold, U.; Ludwig, E. Modification of amino acids on treatment of green coffee beans. In: Sontag, G.; Pfannhauser, W. (Hrsg.) *Current Status and Future Trends in Analytical Food Chemistry. Proceedings of the 8th European Conference on Food Chemistry*. Austrian Chemical Society, Wien, **1995**, 535-542.

Arnold U.; Ludwig, E. Analysis of free amino acids in green coffee beans. II: Changes of the amino acid content in Arabica coffees in connection with post-harvest model treatment. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1996**, *203*, 376-384.

Bade-Wegner, H.; Holscher W.; Vitzthum H.G. Quantification of 2-Methylisoborneol in roasted coffee by GC-MS. In: *15th International Conference on Coffee, Montpellier, 1993*; ASIC: Paris, France, **1994**, 537-544.

Bade-Wegner, H.; Bendig, I.; Holscher, W.; Wollmann, R. Volatile compounds associated with the over-fermented flavour defect. In: *17th International Conference on Coffee, Nairobi, 1997*; ASIC: Paris, France, **1997**, 176-182.

Baltes, W.; Bochmann, G. Model reactions on roast aroma formation. 1. Reaction of serine and threonine with sucrose under the conditions of coffee roasting and identification of new coffee aroma compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 340-346.

Baltussen, E.; Sandra, P.; David, F.; Cramers, C. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples, theory and principles. *J. Microcol. Sep.* **1999**, *11*, 737-747.

Barbiroli, G. Free and combined amino acids in some types of green and roasted coffee. *Rassegna Chimica*, **1965**, *17*, 220-225.

Becker, R.; Döhla, B.; Nitz, S.; Vitzthum, O.G. Identification of the peasy off-flavour note on central african coffees. In: *12th International Conference on Coffee, Montreux, 1987*; ASIC: Paris, France, **1988**, 203-215.

Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle P. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, **2001**, 5. Auflage.

Bemelmans, J.M.H. Review of isolation and concentration techniques. In: Land, G.G.; Nursten, H.E, (Hrsg.) *Progress in Flavour Research*. Appl. Sci. Publ., London, **1979**, 79-98.

Bernheimer, O. Zur Kenntnis der Röstproducte des Caffees. *Monatsh. Chem.* **1880**, *1*, 456-467.

Bicchi, C.; Panero, O.; Pellegrino, G.; Vanni, A. Characterization of roasted coffee and coffee beverages by solid phase microextraction-gas chromatography (SPME-GC) and principal component analysis (PCA). *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 4680-4686.

- Bicchi, C.; Iori, C.; Rubiolo, P.; Sandra, P. Headspace Sorptive Extraction (HSSE), Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Solid Phase Micro-Extraction (SPME) applied to the analysis of roasted Arabica coffee and coffee brew. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 449-459.
- Blank, I.; Grosch, W. Evaluation of potent odorants in dill seed and dill herb (*Anethum graveolens* L.) by aroma extract dilution analysis. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 63-67.
- Blank, I.; Sen, A.; Grosch, W. Aroma impact compounds of Arabica and Robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations. In: *14th International Conference on Coffee, San Francisco, 1991*; ASIC, Paris, France, **1991**, 117-129.
- Blank, I.; Sen, A.; Grosch, W. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1992**, *195*, 239-245.
- Blank, I.; Schieberle, P.; Grosch, W. Quantification of the flavour compounds 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone and 5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone by a stable isotope dilution assay. In: Schreier, P.; Winterhalter, P. (Hrsg.) *Progress in flavour precursor studies*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, **1993**, 103-109.
- Bondarovich H.A.; Friedel, P.; Krampl, V.; Renner, J.A.; Shepard, F.W.; Gianturco, M.A. Volatile constituents of coffee. Pyrazines and other compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1967**, *15*, 1093-1099.
- Bouyjou, B.; Decazy, B.; Fournay, G. Removing the „potato taste“ from Burundian Arabica. *Plantations, recherché, développement*, **1999**, *6*, 113-116.
- Bytof, G.; Selmar, D.; Schieberle, P. New aspects of coffee processing: How do the different post harvest treatments influence the formation of potential flavour precursors? *J. Appl. Botany*, **2000**, *74*, 131-136.
- Bytof, G. Persönliche Mitteilung, **2003**.
- Campos, L.S.; Rodrigues, J.M.L. Application of chromatographic methods of analysis to free amino acids in green coffees. In: *Colloque International sur la Chimie des Cafés Verts, Torrefiés et Leurs Dérivés, Comptes Rendus*, **1971**, 91-96.
- Cantergiani, E.; Brevard, H.; Amadò, R.; Krebs, Y.; Feria-Morales, A.; Yeretjian, C. Characterisation of mouldy/earthy defect in green Mexican coffee. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *212*, 648-657.
- Casal, S.; Olivera, M.B.P.P.; Alves, M.R.; Ferreira M.A. Characterization of free amino acid enantiomers of Arabica and Robusta coffee varieties. In: *19th International Conference on Coffee, Trieste, 2001*; ASIC: Paris, France, **2001**.
- Cerny, C.; Grosch, W. Quantification of character-impact odour compounds of roasted beef. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993**, *196*, 417-422.
- Chassevent, F.; Vincent, J.-C.; Hahn, D.; Pougneaud, S.; Wilbaux, R. Étude de relations éventuelles gustatives ou chimiques en fonction de la préparation du café. In: *4th International Conference on Coffee, Amsterdam, 1969*; ASIC: Paris, France, **1970**, 179-185.
- Christlbaur, M. Persönliche Mitteilung, **2001**.
- Czerny, M.; Wagner, R.; Grosch, W. Detection of odor-active ethenylalkylpyrazines in roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 3268-3272.
- Czerny, M. Untersuchungen über den Beitrag von Carbonylverbindungen, Pyrazinen und Furanonen zum Aroma von Arabica-Kaffees. Einfluß der Provenienz und des Röstgrades. Dissertation, Technische Universität München, **1999**.
- Czerny, M.; Mayer, F.; Grosch, W. Sensory study on the character impact odorants of roasted Arabica coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 695-699.

Czerny, M.; Grosch W. Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. *Am. Chem. Soc.* **2000**, *48*, 868-872.

Czerny, M.; Schieberle P. Changes in roasted coffee aroma during storage – Influence of the Packaging. In: *19th International Conference on Coffee, Trieste, 2001*; ASIC: Paris, France, **2001**, 145-150.

Dart, S.K.; Nursten, H.E. Volatile Components. In: Clark, R.J.; Macrae, R. (Hrsg.) *Coffee, Volume 1. Chemistry*. Applied Science Publishers Ltd., London, **1985**, 223-265.

Day, E.A.; Forss, D.A.; Patton, S. Flavor and odor defects of gamma-irradiated skim milk. II. Identification of volatile components by gas chromatography and mass spectrometry. *J. Dairy Sci.* **1957**, *40*, 932-941.

Deibler, K.D.; Acree, T.E.; Lavin, E.H. Aroma analysis of coffee brew by gas chromatography-olfactometry. In: Contis, E.T.; Ho, C.-T.; Mussinan, C.J.; Parliament, T.H.; Shahidi, F.; Spanier, A.M. (Hrsg.) *Food flavors: formation, analysis and packaging influences*. Elsevier, Amsterdam, **1998**, 69-78.

Deutscher Kaffeeverband, Kaffee-Bibliothek. Online-Dokument: <http://www.kaffeeverband.de/pdf/kaffeebibliothek.pdf>, **2003**.

Engel, W.; Bahr, W.; Schieberle, P. Solvent assisted flavour evaporation (SAFE) - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.* **1999**, *209*, 237-241.

Erdmann, E. Beitrag zur Kenntnis des Kaffeeöles. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1902**, *35*, 1846-1855.

Flament, I. Coffee, cacao and tea flavours: a review on present knowledge. In: Adda, J.; Richard, H. (Hrsg.) *International Symposium on Food Flavors. Technique et Documentation (Lavoisier)*, Paris, **1983**, 82-105.

Fritsch, H.T. Einfluß des Hopfens auf wertgebende Aromastoffe in Pilsener-Bieren sowie in Zwischenstufen des Brauprozesses. Dissertation, Technische Universität München, **2001**.

Full, G.; Lonzarich, V.; Suggi-Liverani, F. Differences in chemical composition of electronically sorted green coffee beans. In: *18th International Conference on Coffee, Helsinki, 1999*; ASIC: Paris, France, **1999**, 35-42.

Fuller, G.H.; Stellenkamp, R.; Tisserand, G.A. The gas chromatograph with human sensor: perfumer model. *Ann. NY Acad. Sci.* **1964**, *116*, 711-724.

Gianturco, M.A.; Friedel, P. Synthesis of cyclic diketones isolated from coffee. *Tetrahedron*, **1963**, *19*, 2039-2049.

Gianturco, M.A.; Giammarino A.S.; Pitcher, R.G. Structures of five cyclic diketones isolated from coffee. *Tetrahedron*, **1963**, *19*, 2051-2059.

Gianturco, M.A.; Friedel, P.; Giammarino A.S. Volatile constituents of coffee. III. Structures of two heterocyclic compounds and the synthesis of tetrahydrofuranones. *Tetrahedron*, **1964a**, *20*, 1763-1772.

Gianturco, M.A.; Giammarino A.S.; Friedel, P.; Flanagan, V. The volatile constituents of coffee. IV. Furanic and pyrrolic compounds. *Tetrahedron*, **1964b**, *20*, 2951-2961.

Gianturco, M.A.; Giammarino A.S.; Friedel, P. Volatile constituents of coffee. V. *Nature*, **1966**, *210*, 1358.

Gilbert, J. Applications of quantitative mass spectrometry in food science. 3.2 Stable isotope internal standards. In: Gilbert, J. (Hrsg.) *Applications of mass spectrometry in food science*. Elsevier, Barking, U.K. **1987**, 89-91.

Grosch, W. Analyse von Aromastoffen. *Chemie in unserer Zeit*, **1990**, *24*, 82-89.

- Grosch, W. Detection of potent odorants in food by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science and Technology*, **1993a**, 68-73 (Review).
- Grosch, W. Neuere Entwicklungen in der Aromaforschung. *Lebensmittelchemie*, **1993b**, 47, 129-134 (Review).
- Grosch, W. Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). *Flavour Fragrance J.* **1994**, 9, 147-158.
- Grosch, W. Instrumental and sensory analysis of coffee volatiles. In: *16th International Conference on Coffee, Kyoto, 1995*; ASIC: Paris, France, **1996**, 147-156.
- Grosch W.; Czerny, M.; Wagner, R.; Mayer, F. Studies on the aroma of roasted coffee. In: Taylor, A.J.; Mottram, D.S. (Hrsg.) *Flavour Science. Recent developments*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1996**, 200-205.
- Guadagni, D.G.; Buttery, R.G.; Harris, J. Odour intensities of hop oil components. *J. Sci. Food Agric.* **1966**, 17, 142-144.
- Guth, H.; Grosch, W. Quantitation of potent odorants of virgin olive oil by stable-isotope dilution assays. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1993a**, 70, 513-518.
- Guth, H.; Grosch, W. Geruchsstoffe von extrudiertem Hafermehl. Veränderungen bei der Lagerung. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1993b**, 196, 22-28.
- Guth, H.; Grosch, W. Identification of the character impact odorants of stewed beef juice by instrumental analyses and sensory studies. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, 42, 2862-2866.
- Gutmann, W.; Werkhoff, P.; Barthels, M.; Vitzthum, O.G. Vergleich der Headspace-Aromaprofile von Arabusta-Kaffee mit Arabica- und Robusta-Sorten. In: *8th International Conference on Coffee, Abidjan, 1977*; ASIC: Paris, France, **1979**, 153-161.
- Guyot, B.; Cros, E.; Vincent, J.-C. Characterization and identification of the compounds of the volatile fraction of a sound green Arabica coffee and a malodorous Arabica coffee. In: *10th International Conference on Coffee, Salvador, 1982*; ASIC: Paris, France, **1983**, 253-269 (in Französisch).
- Hässelbarth, A. Twister: Discussion of applicability and first experimental experiences. Chemistry Research, Kraft Foods R&D, München, *Präsentation* **2000**.
- Hashim, L.; Chaveron, H. Use of methylpyrazine ratios to monitor the coffee roasting. *Food Research International*, Vol. 28, **1996**, 6, 619-623.
- Heinrich, L.; Baltus, W. Über die Bestimmung von Phenolen im Kaffeegetränk. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1987**, 185, 362-365.
- Hoffmann, A.; Pfannkoch, E. Applicability of Stir Bar Sorptive Extraction with the GERSTEL-Twister™ for food & flavor industry. *Twister®-Applications*, Gerstel, Mülheim, **2001**.
- Hofmann, T.; Schieberle, P. New Results on the Formation Pathways of Aroma-Active Compounds by Strecker-Type Reactions. In: Schieberle, P.; Engel, K.-H. (Hrsg.). *Frontiers of Flavour Science. Proceedings of the 9th Weurman Flavour Research Symposium*. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching, **2000**, 481-486.
- Holscher, W.; Vitzthum, O.G.; Steinhart, H. Identification and sensorical evaluation of aroma-impact-compounds in roasted Columbian coffee. *Café, Cacao, Thé*, **1990**, 34, 205-212.
- Holscher, W.; Steinhart H. Investigation of roasted coffee freshness with an improved headspace technique. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1992**, 195, 33-38.
- Holscher, W.; Vitzthum, O.G.; Steinhart, H. Prenyl alcohol - source for odorants in roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, 40, 655-658.

Holscher, W.; Steinhart H. Formation pathways for primary roasted coffee aroma compounds. In: Parliment, T.H.; Morello, M.J.; McGorin, R.J. (Hrsg.) *Thermally generated flavors*. American Chemical Society, Washington D.C. **1994**, 206-217.

Holscher, W.; Steinhart H. Aroma compounds in green coffee. In: Charalambous, G. (Hrsg.) *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence*. Elsevier Science, London, U.K. **1995**, 785-803.

International Coffee Organisation (ICO), online im Internet: <http://www.ico.org>, **2003**.

Illy, A.; Viani R. *Espresso coffee: the chemistry of quality*. Academic Press, London, San Diego, **1995**.

Jaeckle, H. Studien über die Produkte der Kaffeeröstung, ein Beitrag zur Kenntnis des sogen. Kaffearomas (Caffeol). *Chem. Zentralblatt*, **1898**, 69, 447-448.

Jellinek, G. *Sensory Evaluation of Food*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1985**, 185-251.

Johnston, W.R.; Frey, C.N. The volatile constituents of roasted coffee. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60, 1624-1627.

Kaffeeverordnung: Verordnung über Kaffee, Kaffee- und Zichorien-Extrakte vom 15. November 2001 (zuletzt geändert am 20.12.2002). In: Beck, C.H.; Hagen Meyer A. (Hrsg.) *Beck'sche Textausgaben: Lebensmittelrecht II*. Verlag C.H. Beck oHG, München, **2003**.

Kawakami, Y.; Kuredi, S.; Sato, A.; Takashima, Y.; Kanisawa, T. Studies on volatile compounds in a series of roasted coffee beans. Changes of the amounts of volatile compounds and total sulphur. In: *16th International Conference on Coffee, Kyoto, 1995*; ASIC: Paris, France, **1996**, 332-339.

Kerscher, R.; Grosch, W. Quantification of 2-Methyl-3-furanthiol, 2-Furfurylthiol, 3-Mercapto-2-pentanone and 2-Mercapto-3-pentanone in heated meat. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 1954-1958.

Kung, J.T.; McNaught, R.P.; Yeransian, J.A. Determining volatile acids in coffee beverages by NMR and gas chromatography. *J. Food Sci.* **1967**, 32, 455-458.

Kwasny, H.; Werkhoff, P. Abhängigkeit der Aromaindex-Kennzahl M/B von verschiedenen Parametern. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1979**, 6, 31-32.

Lampadius, W.A. Über den Kaffee. *Pharm. Zentralblatt*, **1832**, 3, 225-232.

Macdonald, I.A.; Macrae, R. The determination of amino acids in coffee products. In: *11th International Conference on Coffee, 1985*; ASIC: Paris, France, **1985**, 333-340.

Maier, H.G. *Kaffee. Grundlagen und Fortschritte der Lebensmitteluntersuchung und Lebensmitteltechnologie. Vol. 18*. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, **1981**.

Masanetz, C.; Blank, I.; Grosch, W. Synthesis of [²H₆]-3-Mercapto-3-methylbutyl formate to be used as internal standard in quantification assays. *Flavour Fragrances J.* **1995**, 10, 9-14.

Mayer, F.; Czerny, M.; Grosch, W. Influence of provenance and roast degree on the composition of potent odorants in Arabica coffees, *Eur. Food Res. Technol.* **1999**, 209, 242-250.

Mayer, F. Untersuchungen über das Aroma von Arabica Kaffee: Einfluß von Provenienz und Röstgrad auf Phenol- und Schwefel-Verbindungen und (E)-β-Damascenon. Bestimmung der Abdampfraten von Aromastoffen. Dissertation, Technische Universität München, **2000**.

Mayer, F.; Czerny, M.; Grosch, W. Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage. *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, 211, 272-276.

Merl, H. Röstmeister, Persönliche Mitteilung. *Alois Dallmayr Kaffee OHG*, **2001**.

Merrit, C.; Robertson, D.H.; McAdoo, D.J. The relationship of volatile compounds in roasted coffee beans to their precursors. In: *4th International Conference on Coffee, Amsterdam, 1968*; ASIC: Paris, France, **1970**, 144-148.

- Methode L 00.90-7 (Februar 1996) Untersuchung von Lebensmitteln. Sensorische Prüfverfahren. Dreiecksprüfung. In: BGA (Hrsg.) *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG*. Beuth Verlag GmbH, Berlin, **2002**.
- Milo, C.; Grosch W. Changes in the odorants of boiled salmon and cod as affected by the storage of the raw material. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2366-2371.
- Nijssen, L.M.; Visscher, C.A.; Maarse, H.; Willemsens, L.C.; Boehlens, M.H. *Volatile compounds in food. Qualitative and Quantitative Data*. TNO-CIVO Food Analysis Institute, Zeist, Niederlande, **1996**, 7. Auflage, Kapitel 72, 152-173.
- Parliment, T.H.; Stahl, H.D. Generation of furfuryl mercaptan in cysteine-pentose model systems in relation to roasted coffee. In: Mussinam, C.J.; Keelan M.E. (Hrsg.) *Sulfur Compounds in Foods*. Am. Chem. Soc., Washington D.C. **1994**, 160-170.
- Parliment, T.H.; Stahl, H.D. What makes that coffee smell so good? It's all in the chemistry of the beans and the changes that occur during roasting (assuming you brew that pot the right way). *Chemtech*, **1995**, *8*, 38-47.
- Pereira, A.; Pereira, M.M. Amino acids in coffee. In: *Colloque International sur la Chimie des Cafes Verts, Torrefies et Leurs Derives, Comptes Rendus*, **1971**, 85-90.
- Pfnür, P. Untersuchungen zum Aroma von Schokolade. Dissertation, Technische Universität München, **1998**.
- Preininger, M.; Grosch, W. Evaluation of key odorants of the neutral volatiles of Emmentaler cheese by the calculation of odour activity values. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **1994**, *27*, 237-244.
- Radtke-Granzer, R.; Piringner, O.G. Zur Problematik der Qualitätsbeurteilung von Röstkaffee durch quantitative Spurenanalyse flüchtiger Aromakomponenten. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **1981**, *77*, 203-210.
- Reichstein, T.; Staudinger, H. *Britisches Patent 246454*, **1926a**.
- Reichstein, T.; Staudinger, H. *Britisches Patent 260960*, **1926b**.
- Reineccius, G. The Maillard reaction and coffee flavor. In: *16th International Conference on Coffee, Kyoto, 1995*; ASIC: Paris, France, **1996**, 249-257.
- Rhoades, J.W. Analysis of the volatile constituents of coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1960**, *8*, 136-141.
- Rothe, M.; Thomas, B. Aromastoffe des Brotes. Versuch einer Auswertung chemischer Geschmacksanalysen mit Hilfe des Schwellenwertes. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1963**, *119*, 302-310.
- Rychlik, M.; Schieberle, P.; Grosch, W. Compilation of odor thresholds, odor qualities and retention indices of key food odorants. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie und Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München, **1998**.
- Schieberle, P.; Grosch, W. Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crusts using a stable isotope dilution assay. *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 252-257.
- Schieberle, P.; Grosch, W. Identification of potent flavor compounds formed in an aqueous lemon oil/citric acid emulsion. *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 797-800.
- Schieberle, P. Primary odorants of pale lager beer. Differences to other beers and changes during storage. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1991**, *193*, 558-565.
- Schieberle P.; Grosch, W. Changes in the concentration of potent crust odourants during storage of white bread. *Flavour Fragrance J.* **1992**, *7*, 213-218.

Schieberle, P. New developments in methods of analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In: Gaonkar, A.G. (Hrsg.) *Characterization of Food: Emerging Methods*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, **1995**, Chapter 17, 403-431.

Schieberle, P.; Hofmann, T. Evaluation of the character impact odorants in fresh strawberry juice by quantitative measurements and sensory studies on model mixtures. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 227-232.

Schmid, W.; Grosch, W. Identifizierung flüchtiger Aromastoffe mit hohen Aromawerten in Sauerkirschen (*Prunus cerasus* L.). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1986**, *182*, 407-412.

Semmelroch, P. Untersuchungen zur Objektivierung der Aromaunterschiede zwischen Arabica und Robusta Kaffee. Dissertation, Technische Universität München, **1995**.

Semmelroch, P.; Grosch, W. Analysis of roasted coffee powders and brews by gas chromatography-olfactometry of headspace samples. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **1995**, *28*, 310-313.

Semmelroch, P.; Laskawy, G.; Blank, I.; Grosch, W. Determination of potent odorants in roasted coffee by stable isotope dilution assay. *Flavour Fragrance J.* **1995**, *10*, 1-7.

Semmelroch, P.; Grosch, W. Studies on character impact compounds of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 537-543.

Sen, A.; Laskawy, G.; Schieberle, P.; Grosch, W. Quantitative determination of β -damascenone in foods using a stable isotope dilution assay. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 757-759.

Shibamoto, T.; Harada, K.; Mihara, S.; Nishimura, O.; Yamaguchi, K.; Aitoku, A.; Fukada, T. Application of HPLC for evaluation of coffee flavour quality. In: Charalambous, G.; Inglett, G. (Hrsg.) *The Quality of Foods and Beverages. Chemistry and Technology, Vol. 2*. Academic Press, New York, **1981**, 311-334.

Silwar, R.; Bendig, I.; Walter, G.; Dommers, D. Kapillargaschromatographische Untersuchungen flüchtiger Schwefelverbindungen des Kaffeearomas durch simultane FID/FPD-Detektion. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **1986**, *40*, 84-88.

Silwar, R.; Kamperschröer, H.; Tressl, R. Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen des Röstkaffeearomas – Quantitative Bestimmung wasserdampfleichter Aromastoffe. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1987**, *10*, 176-187.

Souci, S.W.; Fachmann, W.; Kraut, H. (Scherz, H.; Senser, F. (Hrsg.)) *Die Zusammensetzung der Lebensmittel und Nährwerttabellen*. Medpharm GmbH Scientific Publisher, Stuttgart, **2000**, 1119-1120.

Spadone, J.-C.; Liardon, R. Identification of specific volatile components in Rio coffee beans. In: *12th International Conference on Coffee, Montreux, 1987*; ASIC: Paris, France, **1988**, 194-202.

Spadone, J.-C.; Takeoka, G.; Liardon, R. Analytical investigation of Rio off-flavour in green coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 226-233.

Stoffelsma, J.; Sipma, G.; Kettenes, D.K.; Pypker, J. New volatile components of roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1968**, *16*, 1000-1004.

Stoll, M.; Winter, M.; Gautschi, F.; Flament, I.; Willhalm, B. Recherches sur les arômes. Sur l'arôme de café. *Helv. Chim. Acta*, **1967**, *50*, 629-694.

Sweeley, C.C.; Elliot, W.H.; Fries, J.; Ryhage, R. Mass spectrometric determination of unresolved components in gas chromatographic effluents. *Anal. Chem.* **1966**, *38*, 1549-1553.

Tressl, R.; Bahri, D.; Köppler, H.; Jensen, A. Diphenols and caramel compounds in roasted coffees of different varieties. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1978a**, *167*, 111-114.

Tressl, R.; Grünwald, K.G.; Köppler, H.; Silwar, R. Flüchtige Phenole in Röstkaffee verschiedener Sorten. I. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1978b**, *167*, 108-110.

- Tressl, R.; Grünewald, K.G.; Kamperschröer, H.; Silwar, R. Verhalten einiger schwerflüchtiger Aromastoffe während der Alterung von Röstkaffee. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1979**, *6*, 52-57.
- Tressl, R.; Silwar, R. Investigation of sulphur-containing components in roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 1078-1082.
- Tressl, R. Formation of flavour components in roasted coffee. In: Parliament, T.H.; McGorin, R.J.; Ho, C.H. (Hrsg.) *Thermal Generation of Aromas*. American Chemical Society, Washington, D.C. **1989**, 285-301.
- Van den Dool, H.; Kratz, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* **1963**, *11*, 463-471.
- Vincent, J.-C.; Guenot, M.C.; Perriot, J.J.; Gueule, D. Influence de différents traitements technologiques sur les caractéristiques chimiques et organoleptiques des cafés Robusta et Arabusta. In: *8th International Conference on Coffee, Abidjan, 1977*; ASIC: Paris, France, **1979**, 271-284.
- Vincent, J.-C. Green coffee processing. In: Clarke, R.J.; Macrae, R. (Hrsg.) *Technology*. Elsevier, London, New York, **1987**, 1-33.
- Vitzthum, O.G.; Werkhoff, P. Neu entdeckte Stickstoffheterocyclen im Kaffee-Aroma. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1974**, *156*, 300-307.
- Vitzthum, O.G.; Werkhoff, P. Steam volatile aroma constituents of roasted coffee: Neutral fraction. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1976**, *160*, 277-291.
- Vitzthum, O.; Werkhoff, P.; Ablanque, E. Flüchtige Inhaltsstoffe des Rohkaffees. In: *7th International Conference on Coffee, Hamburg, 1975*; ASIC: Paris, France, **1976**, 115-123.
- Vitzthum, O.G.; Werkhoff, P. Messbare Aromaveränderungen bei Bohnenkaffee in sauerstoffdurchlässiger Verpackung. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1979**, *6*, 25-30.
- Walter, W.; Grigat, H.G.; Heukeshoven, J. Free amino acids in green coffee. *Naturwissenschaften*, **1970**, *57*, 246-247.
- Widder, S.; Grosch, W. Study on the cardboard off-flavour formed in butter oil. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1994**, *198*, 297-301.
- Wilkens, J. Persönliche Mitteilung. *Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH*, **2001**.
- Wöhrmann, R.; Hojabr-Kalali, B.; Maier, H.G. Volatile minor acids in coffee. I. Contents of green and roasted coffee. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **1997**, *93*, 191-194.
- Wootton, A.E. The fermentation of coffee - part IV. *Kenya Coffee*, **1963**, *28*, 359-363.
- Wootton, A.E. The importance of field processing to the quality of East African coffees. In: *2nd International Conference on Coffee, Paris, 1955*; ASIC: Paris, France, **1966**, 247-257.
- Wootton, A.E. The dry matter loss from parchment coffee during field processing. In: *5th International Conference on Coffee, Lissabon, 1971*; ASIC: Paris, France, **1973**, 316-324.
- Yamanishi, T. Tea, coffee, and other beverages. II. Coffee. In: Teranishi, R.; Flath, R.A.; Sugisawa, H. (Hrsg.) *Flavor Research. Recent Advances*. Marcel Dekker Inc., New York, **1981**, 278-303.
- Zimmermann, R.; Heger, H.J.; Yeretian, C.; Nagel, H.; Boesl, U. Application of laser ionization mass spectrometry for on-line monitoring of volatiles in the headspace of food products: Roasting and brewing of Coffee. *Rapid Communication in Mass Spectrometry, Vol. 10*. **1996**, 1975-1979.