

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Allgemeine Lebensmitteltechnologie

Kapillargaschromatographische und sensorische Untersuchungen
flüchtiger Verbindungen in Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.) und
Jostabeeren (*Ribes x nidigrolaria* Bauer)

Katrin S. Schrade

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

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

Die Dissertation wurde am 05.12.2013 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 07.04.2014 angenommen.

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. K.-H. Engel danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und für die vielen anregenden Diskussionen. Insbesondere bedanke ich mich für die jederzeit offen stehende Tür, durch welche die Diskussionen fachlicher Fragestellungen stark erleichtert wurden.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinen ehemaligen Kolleginnen und Kollegen des Lehrstuhls für Allgemeine Lebensmitteltechnologie. Mir wurde eine außergewöhnliche Hilfsbereitschaft und Unterstützung entgegengebracht. Der starke Zusammenhalt in unserem Team führte zu einem wunderbaren Arbeitsklima, welches jeden meiner Arbeitstage verschönerte. Diese tolle Erfahrung werde ich nicht vergessen!

Mein besonderer Dank gilt außerdem Oxana Fastowski, die mich bei den praktischen Arbeiten im Labor sowie durch ihr ruhiges Gemüt stets unterstützte, und an Anne-Marie Orth und Dr. Bastian Reichardt, die mich als Freunde und Kollegen in der Aromagruppe während fast der gesamten Zeit am Lehrstuhl unterstützten. Mit ihnen führte ich zahlreiche Diskussionen, die mich in meiner Arbeit weiterbrachten und ohne welche eine vielseitige Betrachtung von Fragestellungen und Problemen oft nicht möglich gewesen wäre.

Für die erfolgreiche Mitarbeit im Rahmen ihrer Bachelor-, Abschluss- und Masterarbeiten, sowie Praktika bedanke ich mich sehr herzlich bei Svenja Nörenberg, Jennifer Gatzemeier, Johannes Dechau, Martina Lechner, Christian Hones, Melanie Marx, Marianna Ziegltrum, Johanna Celic und Markus Kopp.

Außerdem danke ich allen Teilnehmern der zahlreichen Sensorik-Panels, die durch ihre tatkräftige Unterstützung entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herzlichen bedanke ich mich auch bei Herrn Schilling und Herrn Wiesinger (Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Freising), Herrn Göding (Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen), Herrn Dr. Pour Nikfardjam und Frau Richter (Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau Weinsberg) sowie bei Herrn Schwaiger und Herrn Schimmelpfeng, ohne deren hilfsbereites Überlassen von Beeren diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein größter Dank gilt allerdings meiner Familie, die mich während der gesamten Zeit unterstützte und mich in schwierigen Zeiten motivierte. Im Besonderen bedanke ich mich bei meinem Bruder Christian für dessen entgegengebrachtes Vertrauen und seine Unterstützung sowie bei meinem Mann Andri, der mir die Energie gab, diese Arbeit fertigzustellen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	1
2	Kenntnisstand und Grundlagen	3
2.1	Stachelbeeren und Jostabeeren	3
2.1.1	Botanik und Verwendung	3
2.1.2	Inhaltsstoffe	5
2.1.2.1	Stachelbeeren	5
2.1.2.2	Jostabeeren	8
2.2	Enzymatische Bildung von Aromastoffen aus ungesättigten Fettsäuren	9
2.2.1	Enzymatische Bildung von C ₆ -Komponenten	9
2.2.2	Enzymatische Bildung weiterer kurzkettiger Aldehyde und Alkohole	10
2.2.3	Aromaeigenschaften von C ₆ -Komponenten	11
2.2.4	Pflanzenphysiologische Wirkung der C ₆ -Komponenten	11
2.3	Sensorische Analyse	12
2.3.1	Geruchswahrnehmung	12
2.3.2	Methoden zur sensorischen Bewertung	14
2.3.2.1	Verschiedene Anwendungen der Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O)	14
2.3.2.2	Aromawertkonzept	16
2.3.3	Rekombinationen und Weglassversuche	16
3	Material und Methoden	17
3.1	Material	17
3.1.1	Untersuchungsmaterial	17
3.1.2	Chemikalien	19
3.1.3	Synthese von Referenzsubstanzen	20
3.2	Methoden	21
3.2.1	Isolierung und Konzentrierung flüchtiger Verbindungen	21
3.2.1.1	Vakuum Headspace Technik (VHS)	21
3.2.1.2	Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE)	22
3.2.1.3	Headspace HRGC-MS (HS)	22

3.2.2	Identifizierung flüchtiger Verbindungen (VHS und LLE)	24
3.2.2.1	Bestimmung der Retentionsindices	24
3.2.2.2	Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS).....	24
3.2.3	Quantifizierung flüchtiger Verbindungen (VHS und LLE).....	25
3.2.3.1	Kapillargaschromatographie (HRGC-FID)	25
3.2.3.2	Bestimmung der FID-Response-Faktoren	26
3.2.3.3	Bestimmung der absoluten Wiederfindung von Heptan-2-ol.....	26
3.2.3.4	Bestimmung der relativen Wiederfindungsraten	26
3.2.3.5	Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen	28
3.2.3.6	Quantifizierung mit dem deuterierten Standard [² H ₂]- (Z)-Hex-3-enal	29
3.2.4	Untersuchung chiraler Aromastoffe	30
3.2.5	Sensorische Bewertung flüchtiger Verbindungen	31
3.2.5.1	Kapillargaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O)	31
3.2.5.2	Bestimmung der Geruchsschwellenwerte von Aromastoffen.....	32
3.2.5.3	Berechnung von Aromawerten	33
3.2.5.4	Aromaprofilanalyse	33
3.2.6	Rekombination des Aromas frischer Beeren	34
3.2.7	NMR-Spektroskopie	35
4	Ergebnisse und Diskussion	37
4.1	Analyse der flüchtigen Verbindungen in Stachelbeeren	37
4.1.1	Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen mittels VHS ..	37
4.1.1.1	Einleitung	37
4.1.1.2	Zusammensetzung des flüchtigen Profils der frischen Beeren	37
4.1.1.3	Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum von C ₆ -Verbindungen.....	52
4.1.1.4	Chirale Verbindungen in Stachelbeeren	53
4.1.1.5	Einfluss der Reife	56
4.1.1.6	Einfluss der Tiefkühlagerung	58
4.1.2	Einfluss anderer Isolierungsverfahren	61
4.1.2.1	Einleitung	61
4.1.2.2	Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels LLE	62
4.1.2.3	Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels Headspace HRGC-MS	69
4.1.3	Sensorische Analyse	73
4.1.3.1	Einleitung	73

4.1.3.2	Analyse der aromaaktiven Komponenten.....	73
4.1.4	Analyse des flüchtigen Profils eines Stachelbeerproduktes.....	79
4.1.4.1	Einleitung	79
4.1.4.2	Ergebnisse und Diskussion	80
4.1.5	Zusammenfassung	83
4.2	Analyse der flüchtigen Verbindungen in Jostabeeren	85
4.2.1	Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen mittels VHS ..	85
4.2.1.1	Einleitung	85
4.2.1.2	Zusammensetzung des flüchtigen Profils der frischen Beeren	85
4.2.1.3	Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum von C ₆ -Verbindungen.....	96
4.2.1.4	Chirale Verbindungen in Jostabeeren	97
4.2.1.5	Einfluss der Reife	99
4.2.1.6	Einfluss der Tiefkühlagerung	102
4.2.2	Einfluss der Flüssig-Flüssig-Extraktion auf das Aromaprofil von Jostabeeren	104
4.2.2.1	Einleitung	104
4.2.2.2	Ergebnisse und Diskussion	104
4.2.3	Sensorische Analyse	111
4.2.3.1	Einleitung	111
4.2.3.2	Analyse der aromaaktiven Komponenten.....	112
4.2.3.3	Rekombination des Aromas frischer Jostabeeren	113
4.2.4	Analyse des flüchtigen Profils eines Jostabeerenproduktes	116
4.2.4.1	Einleitung	116
4.2.4.2	Ergebnisse und Diskussion	116
4.2.5	Zusammenfassung	119
4.3	Vergleich des flüchtigen Profils verschiedener Beeren der Gattung <i>Ribes</i>	120
4.3.1	Einleitung.....	120
4.3.2	Ergebnisse und Diskussion.....	120
5	Zusammenfassung.....	123
6	Literatur.....	125
7	Anhang.....	137

7.1	Absolute Wiederfindungsraten von Heptan-2-ol bei VHS und LLE.....	137
7.2	Vergleich der Wiederfindungsraten bei VHS und LLE aus Beerenmatrix-Imitat und Wasser	137
7.3	Wiederfindungsraten von (<i>Z</i>)-Hex-3-enal, (<i>E</i>)-Hex-3-enal und (<i>E</i>)-Hex-2-enal mit 10-fach höheren und 10-fach niedrigeren Konzentrationen.....	138
7.4	Zur Quantifizierung verwendete Wiederfindungsraten	138
7.5	NMR-spektroskopische Daten des synthetisierten 2-Hydroxy-1,8-cineols.....	140
7.6	Identifizierung und Quantifizierung flüchtiger Verbindungen in Goldjohannisbeeren (<i>Ribes aureum</i> L.).....	141

TRIVIALNAMEN

Acetophenon	1-Phenylethan-1-on
Acetoin	3-Hydroxybutan-2-on
Anethol	1-(4-Methoxyphenyl)prop-1-en
Borneol	Endo-1,7,7-Trimethylbicyclo[2,2,1]heptan-2-ol
Camphen	2,2-Dimethyl-3-methylenbicyclo[2,2,1]heptan
Campher	1,7,7-Trimethylbicyclo[2,2,1]heptan-2-on
Δ -3-Caren	3,7,7-Trimethylbicyclo[4,1,0]hept-3-en
Chrysanthylacetat	2,7,7-Trimethylbicyclo[3,1,1]hept-2-en-6-ylacetat
1,8-Cineol	1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octan
(Z)-Cineron	(Z)-But-2-en-2-yl-3-methylcyclopent-2-en-1-on
Citronellol	3,7-Dimethyloct-6-en-1-ol
β -Cyclocitral	2,6,6-Trimethylcyclohex-1-en-1-carboxaldehyd
<i>p</i> -Cymen	<i>p</i> -Isopropyltoluol
<i>p</i> -Cymen-7-ol	4-(1-Methylethyl)benzenmethanol
<i>p</i> -Cymen-8-ol	$\alpha,\alpha,4$ -Trimethylbenzenmethanol
β -Damascenon	(2,6,6-Trimethylcyclohexa-1,3-dien-1-yl)but-2-en-1-on
Diethylmalonat	1,3-Diethylpropandisäure
α -Dihydroionon	4-(2,6,6-Trimethylcyclohex-2-en-1-yl)butan-2-on
β -Dihydroionon	4-(2,6,6-Trimethylcyclohex-1-en-1-yl)butan-2-on
<i>p</i> - α -Dimethylstyrol	1-Methyl-4-(1-methylethenyl)-benzen
Furfural	2-Furancarboxaldehyd
Geraniol	(E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dien-1-ol
(Z)-Geranylaceton	(Z)-6,10-Dimethylundeca-5,9-dien-2-on
2-Hydroxy-1,8-cineol	1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octan-6-ol
α -Ionon	(E)-4-(2,6,6-Trimethylcyclohex-2-en-1-yl)but-3-en-2-on
β -Ionon	(E)-4-(2,6,6-Trimethylcyclohex-1-en-1-yl)but-3-en-2-on
α -Iron	4-(2,5,6,6-Tetramethylcyclohex-2-enyl)but-3-en-2-on
Isoeugenol	2-Methoxy-4-(prop-1-en-1-yl)phenol

Limonen	4-Isopropenyl-1-methylcyclohexen
β -Linalool	3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol
(<i>E</i>)-Linalooloxid	5-Ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimethyl-2-furanmethanol
Menthon	5-Methyl-2-(1-methylethyl)-cyclohexan-1-on
Mesifuran	4-Methoxy-2,5-dimethyl-3(2 <i>H</i>)-furanon
Myrcen	7-Methyl-3-methylen-1,6-octadien
α -Pinen	2,6,6-Trimethylbicyclo[3,1,1]hept-2-en
β -Pinen	6,6-Dimethyl-2-methylenbicyclo[3,1,1]heptan
α -Terpinen	1-Methyl-4-(1-methylethyl)cyclohexa-1,3-dien
γ -Terpinen	1-Methyl-4-(1-methylethyl)cyclohexa-1,4-dien
Terpinen-4-ol	4-Methyl-1-(1-methylethyl)cyclohex-3-en-1-ol
α -Terpineol	$\alpha,\alpha,4$ -Trimethylcyclohex-3-en-1-methanol
Terpinolen	1-Methyl-4-(1-methylethyliden)cyclohexen
Theaspiran	2,6,10,10-Tetramethyl-1-Oxaspiro[4,5]dec-6-en
Methylisoeugenol	1,2-Dimethoxy-4-(prop-1-en-1-yl)benzen
Menthol	5-Methyl-2-(1-methylethyl)cyclohexan-1-ol
γ -Octalacton	5-Butyldihydro-2(3 <i>H</i>)-furanon
Propylenglykol	Propan-1,2-diol
Rosenoxid	Tetrahydro-4-methyl-2-(2-methylprop-1-en-1-yl)-2 <i>H</i> -pyran
Sabinen	4-Methylen-1-(1-methylethyl)-bicyclo[3,1,0]hexan
Zimtsäure	(<i>E</i>)-3-Phenylpropensäure

ABKÜRZUNGEN

AEVA	Aromaextraktverdünnungsanalyse
BG	Bestimmungsgrenze
BHT	3,5-di- <i>tert</i> -Butyl-4-hydroxytoluol
DE	Diethylether
EG	Erfassungsgrenze
EI	Elektronenstoßionisation
FD-Faktor	Flavor Dilution-Faktor
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
GC-O	Gaschromatographie-Olfaktometrie
HRGC	Kapillargaschromatographie (High Resolution Gas Chromatography)
HS	Headspace
RI	Retentions Index
LLE	Flüssig-Flüssig-Extraktion
MDGC	Multidimensionale Gaschromatographie
MS	Massenspektrometrie
NG	Nachweisgrenze
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Pe	<i>n</i> -Pentan
SDE	Simultane Destillation-Extraktion
VHS	Vakuum Headspace Technik

1 Einleitung und Zielsetzung

Stachelbeere (*Ribes uva crisper* L.) und Jostabeere (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) gehören zur Gattung der Johannisbeeren (*Ribes* L.) in der Familie der Stachelbeergewächse (*Grossulariaceae*).

Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.) werden seit Beginn des 17. Jahrhunderts in Europa angebaut. Sie erlangten in Europa große Beliebtheit und obwohl die Nachfrage in den vergangenen Jahren leicht gesunken ist, stellen Stachelbeeren immer noch eine weit verbreitete Beerenobstart dar, die vor allem zum frischen Verzehr, aber auch zur Herstellung von Konfitüren, Desserts und Säften verwendet wird. Bis heute sind über 4800 verschiedene Stachelbeer-Sorten bekannt (Barney und Hummer 2005).

Über die Inhaltsstoffe von Stachelbeeren gibt es jedoch nur wenige Informationen. Erste Studien ergaben, dass Äpfel- und Zitronensäure die dominierenden organischen Säuren in Stachelbeeren darstellen (Whiting 1958). Weitere Forschungsarbeiten beschäftigten sich mit Ernteparametern (Mäge 2002) und dem Einfluss von Lagerungsbedingungen auf die Qualität der Früchte (Shelaputin und Saatchan 1953, Harb und Streif 2004). In den Forschungsarbeiten der letzten Jahre wurden vor allem die phenolischen Inhaltsstoffe sowie die antioxidativen Eigenschaften der Beere untersucht (Stöhr und Herrmann 1975, Nowak und Zgorka 1997, Haekkinen *et al.* 1999, Kaehkoenen *et al.* 2001, Moyer *et al.* 2002b, Wu *et al.* 2004, Mattivi und Vrhovsek 2005, Mattila *et al.* 2006, Jordheim *et al.* 2007, Pantelidis *et al.* 2007, Woodrow *et al.* 2007, Da Silva Pinto *et al.* 2008, Russell *et al.* 2009, Krisch *et al.* 2009, Filipiak-Szok *et al.* 2012). Das Wissen bezüglich der flüchtigen Verbindungen in Stachelbeeren ist auf die Identifizierung der natürlichen Vorstufen der Vitispirane in Stachelbeerblättern (Humpf *et al.* 1992) und auf die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Theaspiranen sowie auf die Identifizierung von freier und gebundener Ameisen- und Essigsäure in Stachelbeeren begrenzt (Werkhoff *et al.* 1991, Mehlitz und Matzik 1956).

Die Jostabeere (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) ist das Kreuzungsprodukt aus Schwarzer Johannisbeere (*Ribes nigrum* L.) und Stachelbeere (*Ribes uva crisper* L.). Erste Hybridisierungsexperimente wurden bereits 1929 durchgeführt (Lorenz 1929, Bauer 1978). Das Ziel dieser Experimente war die Züchtung einer neuen Beerenobstart, welche eine stärkere Resistenz gegenüber ertrags- und qualitätsmindernden Krankheiten aufweist, da sowohl die Stachelbeere als auch die Schwarze Johannisbeere an Mehltau- (*Sphaerotheca mors uvae*) bzw. Blattfallkrankheiten wie Säulchenrost (*Cronartium ribicola*) leiden. Trotz der Züchtung einer maschinell erntbaren Sorte ist ihr kommerzieller Anbau begrenzt, sodass Jostabeeren bis heute ein Nischenprodukt darstellen (Bauer *et al.* 2000). Aufgrund ihres interessanten und außergewöhnlichen Aromas finden Jostabeeren nicht nur zum frischen

Verzehr Verwendung, sondern sind ebenso für die Herstellung von Gelee und Getränken geeignet (Bauer 1978).

Das Hauptaugenmerk analytischer Untersuchungen von Jostabeeren liegt auf ihren antioxidativen Wirkstoffen. Erste Studien wurden bereits 1985 veröffentlicht (Schuster und Herrmann 1985), aber besonders während des letzten Jahrzehnts verstärkte sich das Interesse an den Beeren (Moyer *et al.* 2002a, Moyer *et al.* 2002b, Jordheim *et al.* 2007, Krisch *et al.* 2009). Der Phenolgehalt, die antioxidative Kapazität sowie die Konzentration an Anthocyanen in Jostabeeren liegen zwischen den in Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren bestimmten Gehalten. Außerdem decken sich die Hauptanthocyane der Jostabeeren mit jenen beider Eltern (Jordheim *et al.* 2007).

Obwohl Bauer bereits 1978 schrieb, dass der Geschmack der Jostabeeren neuartig sei, nämlich eine Kombination aus dem erfrischenden, hochfeinen Aroma der Stachelbeeren und dem typischen Aroma der Schwarzen Johannisbeeren, gab es bisher diesbezüglich keine Untersuchungen.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es daher, die flüchtigen Inhaltsstoffe der Josta- und Stachelbeeren zu identifizieren und zu quantifizieren sowie die Variabilität der Zusammensetzungen der flüchtigen Profile und die sensorischen Beiträge einzelner Komponenten zum Gesamtaroma der Beeren zu bestimmen.

2 Kenntnisstand und Grundlagen

2.1 Stachelbeeren und Jostabeeren

2.1.1 Botanik und Verwendung

Stachelbeeren und Jostabeeren gehören zur Gattung der Johannisbeeren (*Ribes* L.) in der Familie der Stachelbeergewächse (*Grossulariaceae*). Die genaue Taxonomie der Beeren ist seit Jahrhunderten konfus. Man findet immer wieder Unterteilungen der Gattung *Ribes* L. in Untergattungen, Sektionen oder Serien, wie beispielsweise *Coreosma* (Schwarze Johannisbeeren), *Ribesia* (Rote Johannisbeeren) und *Grossularia* (Stachelbeeren) (Barney und Hummer 2005). Die laut Erhardt *et al.* (2008) korrekte Systematik für Schwarze Johannisbeeren, Stachelbeeren und Jostabeeren, nach welcher die Beeren unterschiedliche Arten innerhalb der Gattung *Ribes* L. darstellen, ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Systematik der Schwarzen Johannisbeeren, Stachelbeeren und Jostabeeren nach Erhardt *et al.* (2008)

	Schwarze Johannisbeere	Kultur- Stachelbeere	Jostabeere
Klasse:		<i>Dikotyledoneae</i>	
Unterklasse:		<i>Rosidae</i>	
Ordnung:		<i>Saxifragales</i>	
Familie:		<i>Grossulariaceae</i>	
Gattung:		<i>Ribes</i> L.	
Art:	<i>nigrum</i> L.	<i>uva-crispa</i> L.	<i>x nidigrolaria</i>
Sorte:		var. <i>sativum</i>	

Die Kulturstachelbeeren *Ribes uva crispa* var. *sativum*, welche von den gewöhnlichen Stachelbeeren *Ribes uva crispa* var. *uva crispa* unterschieden werden, umfassen eine große Anzahl unterschiedlicher Sorten, wie beispielsweise Xenia, Bekay oder Achilles (Erhardt *et al.* 2008). Die Anzahl der während der letzten Jahrhunderte gezüchteten Stachelbeeren wird auf weltweit 3004 rote, 675 gelbe, 925 grüne und 280 weiße Sorten geschätzt. Diese umfassen sowohl zum Verzehr gedachte Beeren als auch Ziersträucher, wie beispielsweise *Ribes aureum* oder *Ribes odoratum* (Galletta und Himelrick 1990).

Der Anbau von Stachelbeeren begann in Europa ungefähr 1700. Nur 200 Jahre später wurden Stachelbeeren und Johannisbeeren auch in Nordamerika in großen Mengen angebaut. Aufgrund der durch die Stachelbeeren in Amerika eingeschleppten Krankheit Säulchenrost (*Cronartium ribicola*, engl. white pine blister rust), welche nennenswerte Waldbestände zerstörte, ergaben sich jedoch große Probleme für die Holzindustrie. Dies führte zu Verboten durch die US-Regierung, welche den Stachel- und Johannisbeeranbau in

Nordamerika untersagte und um 1920 nahezu gänzlich ausrottete. Nach der Züchtung resistenter Sorten wurden 1966 die Verbote zum Anbau von *Ribes*-Arten in den USA wieder aufgehoben (Barney und Hummer 2005, Herrmann 2001). Mit einer Produktion von weltweit ca. 120000 t für das Jahr 2010 stellen Stachelbeeren dennoch bis heute ein Nischenprodukt dar (FAOSTAT). Verwendung finden die Beeren aufgrund ihres vergleichsweise hohen Zuckergehaltes hauptsächlich zum frischen Verzehr oder zur Herstellung von Konfitüren und Säften.

Stachelbeeren und Schwarze Johannisbeeren leiden an unterschiedlichen qualitäts- und ertragsmindernden Krankheiten: Während Stachelbeeren (*Ribes uva crispa* L.) von Mehltaukrankheiten befallen sind, mindern Blattfallkrankheiten bei Schwarzen Johannisbeeren (*Ribes nigrum* L.) den Ertrag. Bereits seit 1926 gab es Versuche ein Kreuzungsprodukt aus Stachelbeere und Schwarzer Johannisbeere zu züchten, welches die Resistenzen der Eltern vereinigte (Lorenz 1929, Bauer 1978). Tatsächlich gelang in den 50er Jahren die Züchtung einer neuen Beerenobstart, die eine stärkere Resistenz gegenüber den genannten Krankheiten aufweist. Zur Charakterisierung der Abstammung dieser neuen Beerenobstart von Schwarzer **Johannisbeere** und **Stachelbeere** wurde ihr der Name **Jostabeere** (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) gegeben. Die Früchte dieser Beerenobstart sind im vollreifen Zustand fast schwarz und ihre Größe liegt zwischen jenen der Eltern. Die Jostabeere vereinigt viele der positiven Eigenschaften ihrer Eltern. So übertrifft sie beispielweise deren Wüchsigkeit und ist in der Ertragsleistung den verwandten Sorten überlegen. Außerdem ist die Jostabeere winterhart wie die Stachelbeere, aber dennoch stachellos und der Gehalt an Vitamin C in den Früchten erreicht fast jenen in Schwarzen Johannisbeeren (Bauer 1978).

Verwendung finden Jostabeeren hauptsächlich zum frischen Verzehr, sowie verarbeitet zu Getränken oder Konfitüren (Lim 2012). Bis heute stellt allerdings auch die Jostabeere ein Nischenprodukt dar. Aktuelle Anbaudaten lassen sich auf Seiten nationaler und internationaler Institutionen der Agrarwirtschaft nicht finden (beispielsweise *Food and Agriculture Organization of the United Nations* und Statistisches Bundesamt).

2.1.2 Inhaltsstoffe

2.1.2.1 Stachelbeeren

Stachelbeeren bestehen im Mittel aus 87,2 % Wasser, 7,06 % Kohlenhydraten, 2,95 % Ballaststoffen, 1,44 % Fruchtsäuren 0,80 % Protein, 0,45 % Mineralstoffen und 0,15 % Fett (Souci *et al.* 2013). Die Gehalte an verschiedenen Vitaminen variieren recht stark. Für Nikotinsäure wurden Konzentrationen im Bereich von 130-389 µg/100 g, für Pantothensäure von 64-302 µg/100 g und für Biotin von 0,35-2,63 µg/100 g nachgewiesen (James 1952). Der Gehalt an Vitamin C liegt in reifen Stachelbeeren bei durchschnittlich 45 mg/100 mL Saft (Mäge 2002). Berechnet auf die ganze Frucht wurden in roten Stachelbeeren 25,4 mg/100g und in gelben Stachelbeeren 20,3 mg/100 g Vitamin C nachgewiesen (Pantelidis *et al.* 2007). Die Konzentrationen an Vitamin C sind in unreifen Beeren höher und nehmen bis zur Reife der Frucht ab (Koch 1954). Einen genauen Überblick über die weitere Zusammensetzung der Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente geben Herrmann (2001), Magee (1952) und Souci *et al.* (2013).

Der Zuckergehalt ist in reifen Stachelbeeren recht hoch, wobei der Gehalt an Fructose meist etwas höher liegt als der Gehalt an Glucose. Saccharose liegt in deutlich geringeren Konzentrationen vor. Die bei Herrmann (2001) aufgeführten Werte liegen durchschnittlich bei 3,58 % Glucose, 3,83 % Fructose und 1,41 % Saccharose. Auch die von Mäge (2002), Viljakainen *et al.* (2002) und Mikulic-Petkovsek *et al.* (2012a) bestimmten Konzentrationen bestätigen diese Verhältnisse, wobei die absoluten Konzentrationen leicht abweichen. Die Gehalte an Fructose, Glucose und Saccharose sind in unreifen Stachelbeeren geringer und nehmen während der Fruchtreife zu (Mäge 2002, Famiani *et al.* 2009). Im Widerspruch zu anderen Untersuchungen wiesen Famiani *et al.* (2009) Saccharose als dominierenden Zucker in reifen Stachelbeeren nach.

Auch die in Stachelbeeren enthaltenen organischen Säuren zeigen reifeabhängige Änderungen. Als Hauptvertreter wurden bereits 1958 Zitronensäure und Äpfelsäure identifiziert (Whiting 1958). Zusätzlich wurden Shikimisäure und Chinasäure nachgewiesen, jedoch in deutlich niedrigeren Konzentrationen. Mit zunehmender Reife der Früchte kommt es zu einer Zunahme an Zitronensäure. Auch die Gehalte an Äpfelsäure zeigten am Anfang der Reifung einen leichten Anstieg, nahmen dann jedoch wieder ab, während für Shikimisäure eine leichte Abnahme verzeichnet wurde. Aufgrund dieser reifeabhängigen Veränderungen stellt Shikimisäure in der unreifen Frucht eine der Hauptsäuren dar. In der reifen Frucht sind die Konzentrationen an Äpfelsäure und Zitronensäure jedoch deutlich höher (Whiting 1958). Widersprüchliche Ergebnisse zeigte Mäge (2002), der eine leichte Abnahme von Äpfelsäure und eine konstante Zitronensäure-Konzentration im Zuge der Reifung feststellte. Famiani *et al.* (2009) verzeichneten im Verlauf der Reifung sowohl für Zitronen- als auch für Äpfelsäure anfangs leichte Zunahmen und später Abnahmen. Die bei

Herrmann (2001) angegebenen Konzentrationen liegen bei 0,72 g Äpfelsäure, 0,72 g Zitronensäure, 0,12 g Shikimisäure und 19 mg Gesamtoxalsäure pro 100 g frischer Stachelbeeren. Für französische und kanadische Früchte wurden folgende Konzentrationen angegeben: 1,05 g Zitronensäure, 0,66 g Äpfelsäure und 0,105 g Shikimisäure pro 100 g Beeren französischer Herkunft und 1,06 g Äpfelsäure, 0,99 g Zitronensäure und 0,031 g Chinasäure pro 100 g Beeren kanadischer Herkunft. (Herrmann 2001) Ähnliche Werte ergaben die Untersuchungen von Mäge (2002) und Viljakainen *et al.* (2002). Mikulic-Petkovsek *et al.* (2012a) wiesen zusätzlich 0,137-0,245 g/kg Weinsäure in Stachelbeeren nach. Dieser recht hohe Gehalt an Säuren führt in Stachelbeeren zu einem pH von ungefähr 2,9-3,2 (Mehlitz und Matzik 1956, Viljakainen *et al.* 2002).

Großes Interesse bestand in den vergangenen Jahren an den phenolischen Inhaltsstoffen von Stachelbeeren. Dies zeigen zahlreiche Veröffentlichungen, wie Woodrow *et al.* (2007) und Mattivi und Vrhovsek (2005). Polyphenole und phenolische Verbindungen stellen natürliche Pflanzeninhaltsstoffe mit antioxidativer Kapazität dar. Kleine Früchte, wie Johannisbeeren und Stachelbeeren, sind bekannt für ihren hohen Gehalt an antioxidativ wirksamen Verbindungen und stellen gute Quellen phenolischer Verbindungen in der menschlichen Ernährung dar (Woodrow *et al.* 2007, Mattivi und Vrhovsek 2005, Pantelidis *et al.* 2007). Zu diesen biologisch aktiven Verbindungen zählen vor allem Hydroxybenzoesäure- und Zimtsäurederivate, Anthocyane, Flavonole, Flavanole und Tannine. Ihnen werden unter anderem antioxidative, antimikrobielle, antiinflammatorische und gefäßerweiternde Aktivitäten zugeschrieben (Kaehkoenen *et al.* 2001).

Bereits 1975 wurden Hydroxyzimtsäuren (v.a. Kaffeesäure und *p*-Cumarsäure) in höheren Konzentrationen in Stachelbeeren nachgewiesen. Als niedriger konzentrierte Inhaltsstoffe einzelner Stachelbeersorten wurden Salicylsäure, Gentisinsäure, Vanillinsäure und Syringasäure identifiziert. Zusätzlich wurden bis zu 30 mg/kg Catechine sowie nach Hydrolyse freigesetzte Protocatechussäure in Stachelbeeren bestimmt (Stöhr und Herrmann 1975). Laut Schuster und Herrmann (1985) enthalten sowohl Stachelbeeren als auch Jostabeeren und Schwarze Johannisbeeren jeweils zwischen 2 und 10 ppm der Phenolsäureglucoside aus *p*-Cumarsäure, *p*-Hydroxybenzoesäure und Protocatechussäure. Es wurden zahlreiche Phenolsäuren in sehr unterschiedlichen Konzentrationen (0,03-213,95 µg/g) in Stachelbeeren nachgewiesen (Nowak und Zgorka 1997), wobei unterschiedliche Verbindungen als Hauptkomponenten identifiziert wurden. Laut Nowak und Zgorka (1997) stellt Protocatechussäure die Hauptkomponente dar (bis 213,92 µg/kg). Russell *et al.* (2009) identifizierten *p*-Cumarsäure und Filipiak-Szok *et al.* (2012) Gallussäure als dominierende Phenolsäure. Mattila *et al.* (2006) wiesen die höchsten Konzentrationen für *p*-Cumarsäure in gelben Stachelbeeren und für Kaffeesäure und in roten Früchten nach, was mit der Analyse von Russell *et al.* (2009) übereinstimmt. Allgemein sind die in Stachelbeeren

enthaltenen Phenolsäuren größtenteils hydroxyliert, wobei über 82 % der Verbindungen verestert vorliegen (Russell *et al.* 2009).

Der Gehalt an Flavonolen ist in Stachelbeeren im Vergleich zu anderen Früchten recht gering. Als dominierende Verbindungen wurden Quercetin- und Kämpferolglykoside bzw. Quercetin (18-22 mg/kg) und Kämpferol (16-19 mg/kg) nach Hydrolyse identifiziert (Haekkinen *et al.* 1999, Mikulic-Petkovsek *et al.* 2012b).

Innerhalb der phenolischen Inhaltsstoffe überwiegen die Anthocyane. In finnischen Stachelbeeren wurden beispielsweise 83 mg/100 g Anthocyane, 51 mg/100g Flavonole, 39 mg/100 g Hydroxyzimtsäure und 6 mg/100 g Hydroxybenzoesäure nachgewiesen (Kaehkoenen *et al.* 2001). Durch die Untersuchung verschiedener Sorten konnten insgesamt 11 Anthocyane in Stachelbeeren identifiziert werden: Cyanidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-glucosid, Cyanidin-3-xylosid, Cyanidin-3-galactosid, Cyanidin-3-O- β -(6''-E-caffeoylglucopyranosid), Cyanidin-3-O- β -(6''-E-p-cumaroylglucopyranosid), Cyanidin-3-(6''-Z-p-cumaroylglucosid), Peonidin-3-glucosid, Peonidin-3-rutinosid, Delphinidin-3-rutinosid und Delphinidin-3-glucosid. In zwei der untersuchten Sorten waren jedoch keine Anthocyane nachweisbar (Wu *et al.* 2004, Jordheim *et al.* 2007). Anthocyane stellen Farbpigmente dar und sind hauptsächlich in der Schale der Stachelbeeren lokalisiert. Die positive Abhängigkeit der Rotfärbung von der Anthocyanmenge in den Beeren wurde von Pour Nikfardjam *et al.* (2013) gezeigt. Dies stimmt auch mit den Untersuchungen von Pantelidis *et al.* (2007) überein, die in gelben Stachelbeeren (2,4 mg/100 g) einen deutlich niedrigeren Gehalt an Anthocyanen feststellten als in roten (43,3 mg/100 g). Bemerkenswert ist der hohe Anteil an mit aromatischen Säuren acylierten Anthocyanen in Stachelbeeren. Diese stellen stabilere Verbindungen dar als die nicht acylierten Anthocyane (Jordheim *et al.* 2007). Neben Anthocyanen wurden auch Proanthocyane in Stachelbeeren nachgewiesen (Wu *et al.* 2004).

Das Wissen bezüglich der flüchtigen Verbindungen in Stachelbeere ist begrenzt. Neben der Identifizierung der natürlichen Vorstufen der Vitispirane in Stachelbeerblättern und der Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Theaspiranen in Stachelbeeren wurden die flüchtigen Säuren untersucht (Humpf *et al.* 1992, Werkhoff *et al.* 1991, Mehlitz und Matzik 1956). Der als Essigsäure berechnete Gehalt an flüchtigen Säuren lag bei 64-90 mg/L und der Gehalt an flüchtigen Estern bei 0-10,4 mL 0,1 *n*-NaOH/L (Bestimmung durch Rücktitration mit Schwefelsäure nach Umesterung mit NaOH). Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden Ameisensäure und Essigsäure sowohl frei als auch gebunden nachgewiesen, wobei die Menge an Ameisensäure deutlich dominierte (Mehlitz und Matzik 1956).

Versuche zur Lagerung von Stachelbeeren ergaben, dass Stachelbeeren bei 1 °C, 12-18 % Kohlendioxid und 18 % Sauerstoff bis zu 7,5 Wochen gelagert werden können.

Organoleptische Tests bestätigten die Eignung dieser Bedingungen, auch wenn es zu geringen sensorischen Veränderungen kam (Harb und Streif 2004).

Außerdem wurde das Samenöl der Stachelbeeren untersucht. Dieses besteht zu 8 % aus γ -Linolensäure, welche eine für den Menschen essentielle Fettsäure darstellt (Goffman und Galletti 2001). Sie dient als Prekursor zur Bildung von Prostaglandinen, Prostacyclinen und Tromboxanen. Zusätzlich wurden antiinflammatorische und antitumorale Wirkungen der Verbindung nachgewiesen. Als weitere natürliche Antioxidantien sind ca. 790 mg Tocopherole pro Kilogramm im Öl enthalten. Das Muster der Tocopherole zeigte keine sortenabhängigen Schwankungen und bestand zu 70 % aus γ -Tocopherol, zu 23,5 % aus α -Tocopherol und zu 6,5 % aus δ -Tocopherol (Goffman und Galletti 2001).

2.1.2.2 Jostabeeren

Ebenso wie in Stachelbeeren und in Schwarzen Johannisbeeren liegen auch in Jostabeeren Glucose und Fructose als dominierende Zucker vor, wobei Fructose meist in leicht höheren Konzentrationen in den Früchten enthalten ist. In reifen Jostabeeren wurden 38,9 g/kg Glucose, 49,4 g/kg Fructose und 7,74 g/kg Saccharose nachgewiesen. Für die organischen Säuren lagen die Gehalte bei 15,3 g/kg für Zitronensäure, 12,1 g/kg für Äpfelsäure, 0,232 g/kg für Weinsäure, 131 mg/kg für Fumarsäure und 844 mg/kg für Shikimisäure (Mikulic-Petkovsek *et al.* 2012a). Die Konzentration an Vitamin C liegt in Jostabeeren im gleichen Bereich wie in Schwarzen Johannisbeeren und übertrifft mit 96,8 mg/100 g weit den Gehalt in Stachelbeeren (Jurikova *et al.* 2012).

Der Anthocyangehalt in Jostabeeren übertrifft die in Stachelbeeren bestimmten Konzentrationen. Als dominierende Anthocyane in Jostabeeren wurden ausschließlich Verbindungen nachgewiesen, die ebenfalls Hauptanthocyane in Stachelbeeren und/oder Schwarzen Johannisbeeren darstellen. In Jostabeeren wurden folgende neun Anthocyane identifiziert: Cyanidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-glucosid, Cyanidin-3-xylosid, Cyanidin-3-O- β -(6''-E-caffeoylglucopyranosid), Cyanidin-3-O- β -(6''-E-p-cumaroylglucopyranosid), Cyanidin-3-(6''-Z-p-cumaroylglucosid), Peoniodin-3-rutinosid, Delphinidin-3-rutinosid und Delphinidin-3-glucosid (Jordheim *et al.* 2007, Lim 2012). Sowohl der Anthocyangehalt (39,0-91,4 mg/100 g) als auch der Gesamtphenolgehalt (280-350 mg/100g) und die antioxidative Aktivität (22,0-34,3 μ mol TE/g; ORAC) frischer Jostabeeren liegen zwischen den für Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren ermittelten Werten (Moyer *et al.* 2002a, Lim 2012). Neben Anthocyanen wurden in Jostabeeren zahlreiche Flavonol-Glykoside nachgewiesen. Als Hauptkomponente stellte sich Quercetinrutinosid heraus (Mikulic-Petkovsek *et al.* 2012b).

Zusätzlich wurde die antimikrobielle Wirksamkeit von aus Jostabeeren, Stachelbeeren und anderen *Ribes*-Arten gewonnenen Säften und Extrakten verglichen. Stachelbeeren zeigten

einen niedrigeren Phenolgehalt sowie eine geringere antimikrobielle Wirksamkeit als Jostabeeren (Krisch *et al.* 2009).

2.2 Enzymatische Bildung von Aromastoffen aus ungesättigten Fettsäuren

Pflanzliche Aromastoffe werden nach der Art ihrer Bildung in primäre und sekundäre Aromastoffe unterteilt. Die erste Gruppe beinhalten jene Substanzen, die aufgrund des Stoffwechsels der lebenden Pflanze bereits im intakten Gewebe vorliegen. Im Gegensatz dazu entstehen sekundäre Aromastoffe durch enzymatische, oxidative oder thermische Prozesse aus nicht flüchtigen Vorstufen (Matheis 1991). Die enzymatische Bildung flüchtiger Verbindungen aus Linol- und Linolensäure bei der Zerstörung des Pflanzengewebes stellt z.B. einen wichtigen Weg für die Entstehung sekundärer Aromastoffe in Früchten und Gemüsen dar.

2.2.1 Enzymatische Bildung von C₆-Komponenten

Bereits 1966 stellten Drawert *et al.* fest, dass bestimmte Aromastoffe erst nach der Zerstörung des pflanzlichen Gewebes entstehen. Zu diesen sekundären Aromastoffen zählen die C₆-Komponenten, wie Hexanal, (*Z*)-Hex-3-enal und (*E*)-Hex-2-enal sowie deren korrespondierende Alkohole. Diese Verbindungen wurden in Homogenaten aus Äpfeln, Trauben und Tomaten in hohen Konzentrationen nachgewiesen (Drawert *et al.* 1966, Drawert *et al.* 1973 und Schreier und Lorenz 1981). Parallel zu Drawert *et al.* (1973) beschäftigten sich Hatanaka und Harada (1973) mit der Bildung von C₆-Aldehyden und C₆-Alkoholen in grünen Teeblättern. Ihre Untersuchungen zeigten analog zu jenen von Drawert *et al.* (1973) eine enzym- und sauerstoffabhängige Bildung von (*E*)-Hex-2-enal aus Linolensäure sowie einen mit zunehmender Mazerationszeit korrelierenden Anstieg von Hexanal, (*E*)-Hex-2-enal und (*Z*)-Hex-3-en-1-ol. Außerdem wurde von der Isomerisierung von (*Z*)-Hex-3-enal zu (*E*)-Hex-2-enal mit anschließender Reduktion zum korrespondierenden Alkohol berichtet (Hatanaka und Harada 1973, Hatanaka *et al.* 1978). In späteren Arbeiten wurde die Bildung der C₆-Komponenten in grünen Blättern weitgehend aufgeklärt (Hatanaka 1993, Hatanaka 1999). Der Biosyntheseweg von C₆-Komponenten aus Linol- und Linolensäure ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

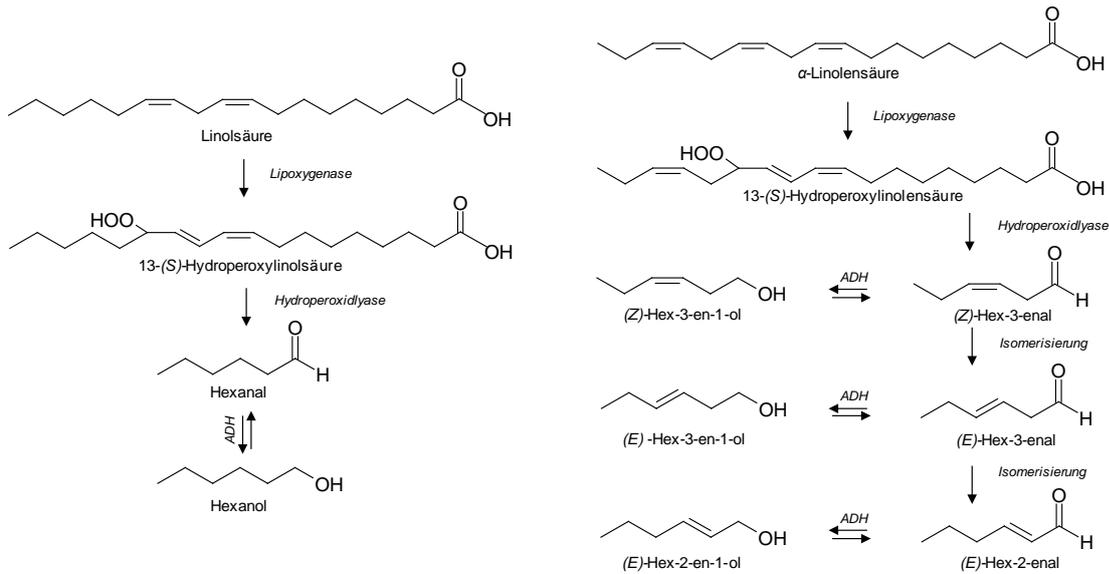


Abbildung 1: Vereinfachtes Schema der Biosynthese von Grünnoten aus Linol- und Linolensäure (nach Hatanaka 1999); ADH: Alkoholdehydrogenase.

Durch die Zerstörung von Membranen und Zellorganellen beim Verzehr einer Frucht oder bei der Probenaufarbeitung im Rahmen analytischer Untersuchungen werden gebundene Enzyme freigesetzt. Lipid-Acylhydrolasen katalysieren die Hydrolyse von Fettsäuren aus Triglyceridstrukturen. Freie Fettsäuren mit (Z,Z)-1,4-Pentadienstruktur können anschließend durch Lipoxygenasen unter der Beteiligung von Luftsauerstoff zu Fettsäurehydroperoxiden katalysiert werden. Von diesem Zwischenschritt aus sind mehrere Folgereaktionen möglich. Für die Aromabildung ist die durch Hydroperoxidlyase katalysierte Kettenspaltung der Fettsäurehydroperoxide von besonderer Bedeutung. Hierbei entstehen neben nichtflüchtigen Oxofettsäuren flüchtige, aromaintensive C₆-Aldehyde sowie C₆-Alkohole (Schreier 1987). Die Reduktion bzw. Isomerisierung des primär gebildeten (Z)-Hex-3-enals wird durch Alkoholdehydrogenasen und Isomerasen katalysiert.

Zahlreiche Analysen und Inkubationsversuche zeigten, dass das für die Aromastoffbildung verantwortliche Enzymsystem in Pflanzen weit verbreitet ist. So wurden enzymatisch gebildete C₆-Komponenten unter anderem in Äpfeln (Drawert *et al.* 1966, Drawert *et al.* 1973), Tomaten (Kazeniak und Hall 1970, Buttery *et al.* 1987) und Bananen (Drawert *et al.* 1966) nachgewiesen.

2.2.2 Enzymatische Bildung weiterer kurzkettiger Aldehyde und Alkohole

Neben der enzymatischen Bildung von C₆-Komponenten ist auch die Entstehung von C₈- und C₉-Körpern, wie beispielsweise in Pilzen (Wurzenberger und Grosch 1984) und Gurken (Grosch und Schwarz 1971, Galliard *et al.* 1976) bekannt. Die Bildung von C₆-, C₈- bzw. C₉-Komponenten ist von der Selektivität der Lipoxygenase sowie der Hydroperoxidlyase der

jeweiligen Pflanze abhängig. Lipoxygenasen zeigen beispielsweise häufig eine 9- oder 13-Regiospezifität und bilden dementsprechend 9-(S)-Hydroperoxysäuren (Prekursoren für C₉-Verbindungen) oder 13-(S)-Hydroperoxysäuren (Prekursoren für C₆-Verbindungen) (Hatanaka 1999, Galliard *et al.* 1976). Lipoxygenasen des erst genannten Types sind aus Kartoffelknollen bekannt, Lipoxygenasen des zweiten Types wurden in Sojabohnen und Teeblättern nachgewiesen (Hatanaka 1993). Für die in Stachelbeeren enthaltene Lipoxygenase konnte keine Peroxydierungsspezifität nachgewiesen werden (Kim und Grosch 1978). Die Bildung von C₈-Komponenten, wie beispielsweise Oct-1-en-3-ol in Pilzen, läuft über 10-(S)-Hydroperoxysäure ab und ist im Kapitel 4.1.1.4 detailliert erläutert.

Zusätzlich spielt aber auch die Substratspezifität der Hydroperoxidlyase eine entscheidende Rolle bei der Bildung flüchtiger Verbindungen aus ungesättigten Fettsäuren. Es existieren zwei unterschiedliche Typen von Hydroperoxidlyasen, welche entweder die Spaltung von 9-(S)-Hydroperoxiden (Typ 1) oder von 13-(S)-Hydroperoxiden (Typ 2) bevorzugen. Hydroperoxidlyase Typ 1 führt zur Bildung von zwei C₉-Fragmenten. Hydroperoxidlyase Typ 2, welche zur Bildung eines C₆- und eines C₁₂-Fragments führt, ist aus Teeblättern und Tomaten bekannt (Hatanaka 1999). In Gurken wurde die Aktivität beider Hydroperoxidlyase-Typen nachgewiesen (Galliard *et al.* 1976, Matsui *et al.* 1989).

2.2.3 Aromaeigenschaften von C₆-Komponenten

Die durch die im Kapitel 2.2.2 beschriebenen biochemischen Umsetzungen entstehenden Komponenten stellen potente Aromastoffe dar. Besonders C₆-Verbindungen, die sich durch ein allgemein grünes, frisches Aroma auszeichnen, finden sehr häufig Anwendung in der Aromaindustrie (Matsui 2006, Stumpe und Feussner 2006). Hatanaka (1993) untersuchte die Abhängigkeit der Aromaeigenschaften und der Geruchsschwellen der einzelnen C₆-Aldehyde und C₆-Alkohole in Abhängigkeit von ihren Strukturen. Es wurde festgestellt, dass die Geruchsschwelle weniger durch die Geometrie der Struktur ((*E*) bzw. (*Z*)) als durch die Position der Doppelbindung beeinflusst wird. Außerdem lagen die Schwellen der Hexenole stets deutlich höher als die Schwellenwerte der korrespondierenden Hexenale (10- bis 1000-fach). Hexenole und Hexenale mit gleicher Geometrie und gleicher Doppelbindung zeigten ähnliche Aromanoten. So riechen Hex-2-enole und Hex-2-enale beispielsweise fruchtig, frisch und süß. Charakteristische Unterschiede der Aromaqualität in Abhängigkeit von der Doppelbindungsposition oder der Geometrie konnten nicht eindeutig festgestellt werden.

2.2.4 Pflanzenphysiologische Wirkung der C₆-Komponenten

Pflanzenphysiologisch dient die Bildung von C₆-Komponenten dem Schutz vor Mikroorganismen (Urbasch 1984). Ihre Entstehung nach Verletzung einer Pflanze wurde

unter anderem am Beispiel von Espenblättern, Buchenblättern und Klee gezeigt (Fall *et al.* 1999). C₆-Komponenten haben antibiotische Wirkung und verhindern die Bakterieninvasion sowie die Invasion anderer Mikroorganismen (Slusarenko *et al.* 1993). Weiterhin spielt (Z)-Hex-3-en-1-ol eine wichtige Rolle bei der direkten und indirekten Pflanzenabwehr. Es wird beim Angriff der Pflanzen durch Herbivore freigesetzt und beeinflusst sowohl das Verhalten der Herbivore als auch das ihrer natürlichen Feinde. Die Pflanzen-Pflanzen-Kommunikation mittels (Z)-Hex-3-en-1-ol hilft außerdem dem Angriff benachbarter, noch unbeschadeter Pflanzen vorzubeugen (Wei und Kang 2011).

2.3 Sensorische Analyse

Der Gesamtsinnesindruck aus Geruchs- und Geschmacksempfindung, der beim Verzehr eines Lebensmittels entsteht, wird als Aroma bezeichnet (Schreier 1987). Das Aroma stellt ein maßgebliches Qualitätskriterium unserer Nahrung dar und trägt daher primär zur Anziehungskraft eines Lebensmittels und zur damit verbundenen Verbraucherakzeptanz bei. Die für das Aroma verantwortlichen chemischen Verbindungen werden üblicherweise in Geschmacks- und Geruchsstoffe (Aromastoffe) unterteilt, wobei es auch Verbindungen gibt, die sowohl auf den Geschmacks- als auch auf den Geruchssinn wirken. Ein klassisches Beispiel ist (-)-Menthol in Pfefferminze, welches neben dem typischen Pfefferminzgeruch einen kühlenden Effekt hat (Emberger und Hopp 1987). Geschmacksstoffe sind im Allgemeinen nicht flüchtige, gelöste Ionen oder Moleküle, die eine der fünf Hauptgeschmacksrichtungen auslösen: sauer, süß, salzig, bitter oder umami. Der Geruch ermöglicht hingegen die Wahrnehmung von bis zu 10.000 verschiedenen Eindrücken und wird durch das Zusammenwirken einer Vielzahl flüchtiger Verbindungen (Aromastoffe, Geruchsstoffe) verursacht (Schreier 1987, Muecke und Lemmen 2011).

2.3.1 Geruchswahrnehmung

Die Geruchswahrnehmung findet durch ein chemosensorisches System in der Riechregion (*Regio olfactoria*) der Nasenhöhle statt. Hier liegen etwa 10 Millionen Rezeptorzellen (bipolare Nervenzellen), welche niedermolekulare, flüchtige Substanzen mit hoher Spezifität und Empfindlichkeit erkennen und fähig sind, chemische Reize in eine Abfolge elektrischer Nervenimpulse als elektrisch kodierte Information zum Gehirn weiterzuleiten (Muecke und Lemmen 2011).

Das Binden eines Aromastoffes an eine Rezeptorzelle löst eine intrazelluläre G-Protein (heptahelikales Transmembranprotein) gesteuerte Reaktionskaskade aus. Durch die Aktivierung der Adenylcyclase (AC), einem Enzym, das in die Plasmamembran der Cilien eingebettet ist, erfolgt die katalytische Umwandlung von Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu

cyclischem Adenosin-3',5'-monophosphat (cAMP), einem Second Messenger. Durch cAMP erfolgt die Öffnung kationenselektiver Kanäle, wodurch positiv geladenen Ionen in die Zelle einströmen, welche zu einer Änderung des elektrischen Potentials führen. Diese Depolarisierung führt zur Aussendung einer Sequenz von Aktionspotentialen, die über die Axone des Geruchsnerfs zum Hirn geleitet werden. Im Riechkolben (*Bulbus olfactorius*) werden die Signale der einzelnen Axone in Riechknötchen (*Glomeruli*) gebündelt und an höhere Hirnregionen weitergeleitet, unter anderem zum limbischen System. Hier erfolgen die Auswertung ankommender Aktionspotentiale und das Zusammenfügen zum Geruchseindruck. Bei der Verarbeitung der Geruchsinformationen wird zwei Organen des Limbischen Systems Bedeutung zugesprochen, der Amygdala und dem Hippokampus. Dies sind Hirnregionen, welche Emotionen kontrollieren und das Gedächtnis mitformen (Herman 2002, Buglass 2011, Muecke und Lemmen 2011, Hatt 2009).

Die verschiedenen Geruchsrezeptoren des Menschen sind durch ungefähr 1000 Gene kodiert, von welchen allerdings nur weniger als 40 % aktiv sind. Die Wahrnehmung der bis zu 10.000 verschiedenen Gerüche wird erst durch eine kombinatorische Vielfalt möglich, welche sich aus der Bindung verschiedener Aromastoffe am gleichen Rezeptortyp sowie der Wechselwirkung jedes Aromastoffes mit mehreren verschiedenen Rezeptortypen ergibt (Herman 2002, Muecke und Lemmen 2011).

Neben der orthonasalen Geruchswahrnehmung direkt durch die Nase vor dem Verzehr eines Lebensmittels spielt auch die retronasale Wahrnehmung über den Mund-Rachen-Raum eine entscheidende Rolle: Die durch den Verzehr (Kauen, Schlucken) im Mundraum frei werdenden Aromastoffe können über den Rachenraum die Riechregion in der Nasenhöhle erreichen und eine Geruchswahrnehmung auslösen. Die Aromafreisetzung während des Verzehrs eines Lebensmittels wird durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst (Burdach und Doty 1987) und kann *in vivo* mittels massenspektrometrische Methoden untersucht werden (API-MS, PTR-MS) (Büttner und Schieberle 2000b, Büttner *et al.* 2001). Durch Videofluoroskopie kann außerdem während des Verzehrs eines Lebensmittels der Ablauf des Aromatransfers vom Mund- in den Nasenraum beobachtet werden (Büttner *et al.* 2001). Es wurde gezeigt, dass die retronasale Wahrnehmung von physiologischen Barrieren beeinflusst wird, die nur zu bestimmten Zeiten den Übergang der Aromastoffe in den Nasenraum erlauben und sowohl von der Konsistenz als auch von der Menge des Lebensmittels im Mund abhängen. Zusätzlich wirkt sich die Adsorption von Geruchsstoffen an die Mundschleimhaut auf die retronasale Geruchswahrnehmung aus (Büttner und Schieberle 2000a, Büttner *et al.* 2008). Weitere Untersuchungen führten zu der Annahme, dass ein intranasaler Gradient der Aromastoffkonzentration in Abhängigkeit von der chemischen Struktur des Aromastoffes entsteht (Büttner *et al.* 2008).

Bezüglich der Interaktion zwischen Aromastoff und Rezeptor im olfaktorischen Epithel wurden in den 50er Jahren zwei unterschiedliche Theorien entwickelt. Nach der Theorie von Amoore (1970) werden Aromastoffe aufgrund eines „Schlüssel-Schloss-Prinzips“ zwischen Geruchsstoff und Rezeptor wahrgenommen. Hierbei sollen vor allem die Molekülform sowie die elektrische Ladung wichtig sein. Nach der Schwingungstheorie von Wright und Serenius (1954), welche von Turin (1996) avanciert wird, wird die Wechselwirkung zwischen Geruchsstoff und Rezeptor durch das Energieniveau innerhalb des Aromastoffes erklärt. Die Grundlage dieses Modells ist der starre Elektronen-Tunneleffekt. Der Geruchssinn wäre demnach neben dem Sehen und Hören ein weiterer spektraler Sinn, und kein chemischer Sinn (Turin 1996, Herman 2002). Bis heute bleibt unklar, welcher der beiden Mechanismen zur Aktivierung des Geruchrezeptors führt, oder ob eventuell beide Mechanismen zusammenspielen. Auch Versuche mit deuterierten Aromastoffen, die auf Basis der Theorie von Amoore (1970) kaum oder nicht und auf Basis der Theorie von Turin (1996) deutlich vom nicht deuterierten Aromastoff zu unterscheiden wären, führten zu keinem eindeutigen Ergebnis (Gane *et al.* 2013).

2.3.2 Methoden zur sensorischen Bewertung

Der Fortschritt der Analytik in den vergangenen Jahren ermöglicht die Detektion einer Unmenge an flüchtigen Verbindungen in Lebensmitteln. Zum Aroma eines Lebensmittels tragen jedoch tatsächlich nur einige wenige dieser Substanzen bei. Zur Analyse dieser Aromastoffe dient die Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O), die bereits 1964 entwickelt wurde und sich bis heute bewährt hat (Fuller *et al.* 1964). Sie stellt eine Kombination aus instrumentell-analytischer und sensorischer Methode dar. Die einzelnen Aromakomponenten werden nach ihrer kapillargaschromatographischen Trennung am Ende der Kapillarsäule am sogenannten Sniffing-Port sensorisch beurteilt.

2.3.2.1 Verschiedene Anwendungen der Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O)

Die GC-O dient der Identifizierung einzelner aromaaktiver Komponenten aus einem komplexen Stoffgemisch. Um den sensorischen Beitrag der einzelnen Aromastoffe besser abschätzen zu können, wurden verschiedene Methoden entwickelt, die sich laut Acree und Barnard (1994) und van Ruth (2001) in fünf Kategorien unterteilen lassen: (I) „dilution analyses“, (II) „detection frequency methods“, (III) „posterior intensity methods“, (IV) „time-intensity methods“ und (V) „response interval methods“.

Zu den „dilution analyses“ zählen die Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse (AEVA) (Schmid und Grosch 1986, Ullrich und Grosch 1987) sowie die Charm-Analyse (Acree *et al.* 1984). Zur sensorischen Bewertung der Aromastoffe wird sowohl bei der AEVA als auch bei der

Charm-Analyse (combined hedonic response measurement) eine schrittweise Verdünnung des Aromastoffgemisches mit Lösungsmittel vorgenommen. Zur AEVA werden die so erhaltenen Verdünnungen mittels GC-O sensorisch analysiert, bis kein Geruch mehr wahrgenommen wird. Die Intensität der einzelnen Aromastoffe wird in sogenannten Flavor Dilution-Faktoren angegeben. Diese werden anhand der Verdünnungsstufe berechnet, bei der ein Geruch gerade noch wahrgenommen wird. Bei der Charm-Analyse werden die Verdünnungen in einer willkürlichen Anordnung mittels GC-O analysiert. Hierbei wird jeweils die Dauer der Geruchswahrnehmung einer Verbindung festgehalten. Zur Angabe der Intensitäten der Substanzen werden sogenannte Charm-Faktoren berechnet.

Bei den „detection frequency methods“ wird das Aromastoffgemisch durch mindestens zehn Personen mittels GC-O analysiert und anschließend die Detektionshäufigkeit einer Substanz verwendet, um deren Intensität zu bewerten (Linssen *et al.* 1993). Üblicherweise werden Gaschromatographen verwendet, deren Eluentenstrom dreigeteilt wird, wobei neben einem Flammenionisationsdetektor zwei Sniffing-Ports installiert sind.

Bei der „posterior intensity method“ wird die Geruchsintensität nach der Elution des Peaks auf einer Skala bewertet und anhand dessen die Aromaintensität der Verbindung abgeschätzt (Casimir und Whitfield 1978).

Im Gegensatz zur „posterior intensity method“ findet bei der „time-intensity-method“ die Bewertung der Intensität parallel zur Elution des Substanzpeaks statt (Sanchez *et al.* 1992). Da Silva und Kollegen entwickelten 1994 eine „time-intensity-Methode“ namens OSME. Hierbei werden die Intensität und die Dauer der Wahrnehmung jedes Aromastoffes am Sniffing-Port auf einer 16 Punkte Skala bewertet. Eine parallele Übertragung der Daten in eine computergesteuerte Graphik erleichtert die Bewertung und ermöglicht Korrekturen.

Die „response interval methods“ setzen die Annahme voraus, dass die Dauer der Aromawahrnehmung einer Substanz am Sniffing-Port der GC-O zu der Intensität proportional ist. Dies wäre allerdings nur erfüllt, wenn alle Komponenten in gleichem Maße taillen würden, was nicht immer der Fall ist.

Letztere Methoden fanden in den vergangenen Jahren vergleichsweise selten Anwendung. Vorherrschend werden die Techniken der Verdünnungsanalyse zur Aromaanalyse eingesetzt.

2.3.2.2 Aromawertkonzept

Der Aromawert ist eine Messgröße zur Charakterisierung der sensorischen Bedeutung einzelner Komponenten in einem komplexen Aroma (Rothe und Thomas 1963). Er ist definiert als das Verhältnis der Konzentration eines Aromastoffes zu seinem Geruchsschwellenwert. Nach dem Aromawertkonzept von Rothe und Thomas sind alle Substanzen aromaaktiv, deren Aromawert im Lebensmittel ≥ 1 ist, da deren Konzentration somit oberhalb ihrer Geruchsschwelle liegt. Je größer der Aromawert ist, desto größer wird der Beitrag der Verbindung zum Gesamtaroma eingeschätzt.

Als Geruchsschwelle wird diejenige Konzentration einer Verbindung bezeichnet, die gerade noch zur Erkennung ihres Geruchs ausreicht. Die Geruchsschwelle eines Aromastoffes wird von vielen Faktoren beeinflusst (verwendetes Medium, äußere Bedingungen wie Temperatur, Empfindlichkeit der Prüfperson). Daher ist es nachvollziehbar, dass die in der Literatur von unterschiedlichen Autoren bestimmten Schwellenwerte für gleiche Verbindungen eine breite Spanne umfassen können. Dies wird in der Zusammenstellung von Rychlik *et al.* (1998) deutlich.

2.3.3 Rekombinationen und Weglassversuche

Die vorgestellten Methoden zur sensorischen Analyse des Aromas eines Lebensmittels (GC-O-basierte Analysen sowie das Aromawertkonzept) berücksichtigen keine Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Aromastoffen oder zwischen Aromastoff und anderen im Lebensmittel enthaltenen Substanzen (synergistische oder antagonistische Effekte). Die Rekombination der Aromastoffe in einer Lebensmittelmatrix oder einer dem Lebensmittel ähnlichen Matrix und die anschließende sensorische Bewertung sind daher zur Überprüfung der Ergebnisse unerlässlich. Gibt ein auf diese Weise erhaltenes Aromarekombinat die sensorischen Eigenschaften des untersuchten Lebensmittels wieder, so kann durch anschließende Weglassversuche die Aromarelevanz der einzelnen Komponenten überprüft werden. Hierbei wird eine im Vergleich zum Vollrekombinat um einzelne Verbindungen reduzierte Lösung (Teilrecombine) mit dem Vollrekombinat in einer sensorischen Unterscheidprüfung verglichen. Auf diese Weise kann die Notwendigkeit einzelner Verbindungen für das Gesamtaroma untersucht werden (Grosch 2001).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Untersuchungsmaterial

Die für die Untersuchungen verwendeten Stachelbeeren, Jostabeeren und Schwarzen Johannisbeeren wurden entweder von einem Händler (örtlicher Großmarkt bzw. Obst- und Gemüsevertrieb Südbaden GmbH) erworben oder direkt von den Anbauern erhalten. In Tabelle 2, Tabelle 3 und Tabelle 4 ist die Herkunft aller Chargen mit jeweiligem Ernte- bzw. Kaufdatum aufgeführt.

Tabelle 2: Auflistung der untersuchten Stachelbeeren-Chargen

Jahr	Sorte (Reifegrad)	Erntedatum	Kaufdatum	Erworben von
2010	Unbekannt (reif) ^a	/	05.07.10	Großmarkt
	Achilles (reif)	/	12.07.10	Großmarkt
	Unbekannt (reif) ^a	/	13.07.10	Großmarkt
	Achilles (reif) ^a	/	05.08.10	Großmarkt
	Unbekannt (reif)	/	13.08.10	Großmarkt
	Unbekannt (reif)	/	19.08.10	Großmarkt
	Achilles (reif)	/	25.08.10	Großmarkt
	2011	Invicta (reif) ^a	/	09.06.11
	Xenia (reif)	/	15.06.11	Obst- und Gemüsevertrieb Südbaden GmbH
	Achilles (reif)	/	20.07.11	Großmarkt
	Achilles (reif)	/	25.07.11	Großmarkt
	Achilles (unreif)	/	26.07.11	Großmarkt
	Achilles (reif) ^a	/	26.07.11	Großmarkt
	Achilles (überreif)	/	26.07.11	Großmarkt
2012	Invicta (reif)	14.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Xenia (unreif)	18.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Xenia (reif)	18.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Xenia (überreif)	25.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Tixia (reif)	18.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Frühe Rote (reif)	18.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Bekay (unreif)	25.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Bekay (reif)	25.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Bekay (überreif)	10.07.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Späte Spitze (reif)	25.06.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)

Jahr	Sorte (Reifegrad)	Erntedatum	Kaufdatum	Erworben von
	Rote Eva (reif)	02.07.12	/	Staatliches Obstgut Heuchlingen (Bad Friedrichshall)
	Achilles (reif)	/	16.07.12	Händler

a: Teile dieser Chargen wurden nach dem Einwiegen (je 500 g für die späteren Analysen) bei -20°C gelagert.

Tabelle 3: Auflistung der untersuchten Jostabeeren-Chargen

Jahr	Reifegrad	Erntedatum	Erworben von
2010	reif	19.07.10	Staudengarten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (Freising)
2011	reif ^a	30.06.11	Obst- und Gemüsevertrieb Südbaden GmbH (Oberrotweil)
	reif	03.07.11	Privater Anbauer (Lindau)
	reif	04.07.11	Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen
	reif	04.07.11	Privater Anbauer (Hangenham)
	reif	13.07.11	Staudengarten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (Freising)
2012	unreif	02.07.12	Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen
	reif	02.07.12	Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen
	reif	09.07.12	Privater Anbauer (Hangenham)
	reif	11.07.12	Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen
	reif	16.07.12	Staudengarten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (Freising)
	reif	30.07.12	Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen

a: Ein Teil dieser Charge wurde nach dem Einwiegen (je 500 g für die späteren Analysen) bei -20°C gelagert.

Tabelle 4: Weitere untersuchte Beeren

	Jahr	Reifegrad	Erntedatum	Kaufdatum	Erworben von
Schwarze Johannisbeeren	2011	reif	/	20.06.11	Händler
Goldjohannisbeeren	2011	reif	03.08.11	/	Privater Anbauer (Hangenham)

Die Früchte wurden bei 5°C gelagert (maximal zwei Tage) und vor der Aufarbeitung auf Raumtemperatur temperiert. Ein Teil der in Tabelle 2 und Tabelle 3 markierten Chargen wurde bei -20°C tiefgefroren und nach acht Monaten tiefgekühlter Lagerung analysiert. Vor der Aufarbeitung wurden diese Beeren für 14 Stunden aufgetaut.

Der untersuchte Stachelbeerenlikör (20 Volumenprozent Alkohol) sowie der Jostabeerenlikör (15 Volumenprozent Alkohol) waren kommerziell erhältlich.

3.1.2 Chemikalien

Die verwendeten Referenzsubstanzen wurden von Fluka (Steinheim), Sigma-Aldrich (Steinheim) und Merck (Darmstadt) bezogen bzw. von der Firma Frey&Lau GmbH (Henstedt-Ulzburg) zur Verfügung gestellt. Der Standard Heptan-2-ol wurde von Fluka (Steinheim) und [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal (Lösung in *n*-Pentan) von der aromaLab AG (Freising) erworben.

Die folgenden Reagenzien wurden verwendet:

Aceton (p.a.)	Honeywell Burdick und Jackson, Seelze
Ascorbinsäure (p.a.)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Äpfelsäure (for synthesis)	Merck, Hohenbrunn
Calciumchlorid Dihydrat (p.a.)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
deuteriertes Chloroform (≥ 99,8 %)	Merck, Darmstadt
<i>m</i> -Chloroperbenzoesäure (purum; > 99,0 %)	Fluka, Steinheim
Zitronensäure-Monohydrat (p.a.)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Dichlormethan (p.a.; ≥ 99,9 % GC)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Diethylether (p.a.)	Honeywell Burdick und Jackson, Seelze
Ethanol (p.a.)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Fructose (Ph.Eur.6)	Euro OTC Pharma GmbH, Bönen
Glucose-Monohydrat (Ph.Eur.6)	Euro OTC Pharma GmbH, Bönen
Hexan (AnalR Normapure)	VWR, Darmstadt
Natriumacetat (p.a.)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Natriumhydrogencarbonat (p.a., ≥ 99,0 %)	Fluka, Steinheim
Natriumhydrogensulfat (p.a.)	Fluka, Steinheim
Natriumsulfat, wasserfrei (p.a.)	Merck, Darmstadt
Oxalsäure-Dihydrat (p.a.)	Merck, Darmstadt
<i>n</i> -Pentan (p.a.)	AppliChem GmbH, Darmstadt
Salzsäure, 25% (puriss)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Sorbit (puriss.)	Caesar-Loretz GmbH, Hilden
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (puriss.)	Fluka, Neu-Ulm
Zitronensäure-Anhydrat (Ph.Eur. 6.0)	Sigma-Aldrich, Steinheim

Die zur Extraktion verwendeten Lösungsmittel Diethylether und *n*-Pentan wurden vor Gebrauch über Füllkörperkolonnen destilliert.

3.1.3 Synthese von Referenzsubstanzen

2-Hydroxy-1,8-cineol

2-Hydroxy-1,8-cineol wurde in Anlehnung an Horst und Rychlik (2010) aus α -Terpineol synthetisiert. Hierzu wurden 200 mg α -Terpineol in 5 mL Dichlormethan gelöst und bei 0°C tropfenweise zu einer Lösung aus 320 mg *m*-Chloroperbenzoesäure in 5 mL Dichlormethan gegeben. Anschließend wurde für zwei Stunden unter Stickstoff gerührt. Nach der Filtration wurde mit Natriumhydrogensulfat-Lösung (5 %ig), Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5 %ig) und Wasser gewaschen und mit Dichlormethan auf 15 mL aufgefüllt. Nach der Zugabe von 60 mg *p*-Toluolsulfonsäure wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung (10 %ig) gewaschen und anschließend am Rotationsverdampfer getrocknet. Das erhaltene Produkt wurde in Hexan/Ether (2+1; v+v) gelöst und durch Säulenchromatographie (Kieselgel 60; 0,063-0,200mm) gereinigt. Als Fließmittel wurde *n*-Hexan/Ether (2+1; v+v) verwendet.

Die anschließende Identifizierung erfolgte durch GC-MS-Analyse (für Geräteangaben siehe 3.2.2.2) und NMR-Analyse (Kapitel 3.2.7) sowie durch den Vergleich der Daten mit Horst und Rychlik (2010).

Pentylnonanoat

1,5 mL Pentanol und 0,3 mL Nonansäure wurden in 3 mL Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe weniger Tropfen Salzsäure (konz.) wurde für fünf Stunden bei 40°C gerührt. Anschließend wurde mit Natriumhydroxid-Lösung neutralisiert, über Natriumsulfat (Anhydrat) getrocknet, filtriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen.

1-Phenylethyl-2-methylpropanoat

Die Synthese erfolgte analog der von Pentylnonanoat, jedoch unter Einsatz von 0,3 mL 1-Phenylethanol und 1,5 mL 2-Methylpropanoat.

3-Methylbutylnonanoat

Die Synthese erfolgte analog der von Pentylnonanoat, jedoch unter Einsatz von 1,5 mL 3-Methylbutanol und 0,3 mL Nonansäure.

3.2 Methoden

3.2.1 Isolierung flüchtiger Verbindungen

Vor der Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus frischen Beeren wurden diese auf Raumtemperatur gebracht (ca. zwei Stunden) und alle Stiele entfernt. Das tiefgefrorene Material wurde für 14 Stunden bei Raumtemperatur aufgetaut.

3.2.1.1 Vakuum Headspace Technik (VHS)

Zur Isolierung der flüchtigen Verbindungen wurden 500 g Beeren in einem Mixer (Moulinex Turbo blender) mit 400 mL Wasser nach der Zugabe des internen Standards (Heptan-2-ol, 150 µg) für 30 Sekunden homogenisiert. Das Homogenat wurde in einen 2 L Rundkolben überführt und der Mixer mit 150 mL Wasser nachgespült. Nach Anschluss des Kolbens an eine VHS-Apparatur nach Werkhoff *et al.* (1998), wurde dieser mittels eines Wasserbades auf 35°C temperiert und es erfolgte die Isolierung der Aromastoffe bei 1-10 mbar (Leybold-Hereus Vakuumpumpe, Typ D4A) für 2 Stunden. Das wässrige Destillat wurde in drei Kühlfallen kondensiert. Die ersten beiden waren mit einem Wasser-Eis-Gemisch gekühlt, die dritte mit flüssigem Stickstoff. Nach Ablauf des Vorgangs und Auftauen der Destillate wurden diese vereinigt und mit 3 x 50 mL *n*-Pentan/Diethylether (1:1; v/v) ausgeschüttelt. Die vereinigte organische Phase wurde über Natriumsulfat (wasserfrei) getrocknet und an einer Vigreux-Kolonnen bei einer Wassertemperatur von ca. 40°C schonend auf ein Volumen von 1 mL eingengt. Die Reduzierung auf ein Endvolumen von 0,5 mL erfolgte vorsichtig unter Stickstoff-Strom.

Um den Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum der C₆-Verbindungen zu untersuchen, erfolgte die Zugabe gesättigter Calciumchloridlösung an Stelle von Wasser 30, 60, 90 und 180 Sekunden nach Homogenisierung der Beeren. Die anschließende Analyse wurde wie oben beschrieben durchgeführt.

Die Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus Stachelbeeren- und Jostabeerenlikör erfolgte unter Einsatz von je 1 L Likör nach der oben beschriebenen Vorgehensweise. Aufgrund des Alkoholgehalts von 15 bzw. 20 Volumenprozent war eine analoge Volumenreduzierung im Wasserbad auf 1 mL nicht möglich. Die Einengung erfolgte deshalb an der Vigreux-Kolonnen auf 5 mL. Eine weitere Volumenreduzierung auf 2 mL wurde unter Stickstoff-Strom durchgeführt.

3.2.1.2 Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE)

Die Flüssig-Flüssig-Extraktion erfolgte in einem Kutscher-Steudel Extraktor (Wieland und Sucrow 1982). Zur Isolierung wurden 500 g Beeren nach Zugabe des internen Standards (Heptan-2-ol, 150 µg) und 400 mL destilliertem Wasser für 30 Sekunden in einem Mixer (Moulinex Turbo blender) zerkleinert. Das erhaltene Homogenat wurde unter Nachspülen mit 100 mL Wasser zentrifugiert (5 min., 3000 Umdrehungen/min) und der Überstand in den Extraktor gegeben. Der Rückstand wurde mit 150 mL Wasser aufgeschlämmt. Nach erneuter Zentrifugation wurde auch der zweite Überstand dem Extraktor zugeführt und die Flüssigkeit mit Wasser auf 1 L aufgefüllt. Es folgte eine 24-stündige Extraktion unter Verwendung von 150 mL *n*-Pentan/ Diethylether (1:1, v/v). Der erhaltene Extrakt wurde über Natriumsulfat (wasserfrei) getrocknet und an einer Vigreux-Kolonnen bei einer Wassertemperatur von ca. 40 °C schonend auf ein Volumen von 1 mL eingengt. Die Reduzierung auf ein Endvolumen von 0,5 mL erfolgte vorsichtig unter Stickstoff-Strom.

Um den Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum der C₆-Verbindungen zu untersuchen, erfolgte die Zugabe gesättigter Calciumchloridlösung an Stelle von Wasser 30, 60, 90 und 180 Sekunden nach Homogenisierung der Beeren. Die anschließende Analyse wurde wie oben beschrieben durchgeführt.

Die mittels VHS und LLE erhaltenen Extrakte wurden bis zur kapillargaschromatographischen Analyse (maximal 10 Tage nach Extraktion; Bedingungen siehe 3.2.2 und 3.2.3) bei -18°C aufbewahrt.

3.2.1.3 Headspace HRGC-MS (HS)

Die statische Headspace-Analyse wurde an einem Clarus 600 GC in Kombination mit einem Turbo Matrix 40 Trap HS Sampler der Firma Perkin Elmer durchgeführt. Zur Bestimmung der flüchtigen Verbindungen wurden 100 g Stachelbeeren mit einem Stabmixer für 2,5 min zerkleinert. Von dieser Masse wurden 7 g in ein Headspace Vial (neoLab Migge, 20 mL) eingewogen und mit einem PTFE/Butyl-Septum (ND20 walzblank, neoLab Migge) verschlossen. Die Temperierung der Probe (37 °C für 60 min, 25 psi, Adsorptionsmaterial Tenax TA 60/80 mesh) im Headspace Sampler des GC-MS fand 10 min nach Beginn des Zerkleinerungsprozesses statt.

Die Elution erfolgte thermisch bei 40-180 °C. Die Trennung der Aromastoffe erfolgte an einer Zebron ZB-624-Säule (30 m; 0,25 mm I.D.; 1,4 µm F.; Phenomenex, Aschaffenburg). Als Trägergas diente Helium (BIP-Qualität, Tyczka) mit einem Druck von 20 psi. Das Temperaturprogramm lautete wie folgt: 40 °C/5 min //20 °C/ min// 220 °C /5 min. Das Massenspektrometer zeichnete im EI⁺-Modus (70eV) Massen zwischen 40 und 200 *m/z* über

einen Zeitraum von 19 min auf (Temperatur von Transferline und Interface: 180 °C). Zur Auswertung wurde die Software Turbo Mass, Version 5.4.2 (Perkin Elmer) verwendet.

Die Identifizierung der Substanzen erfolgte über den Vergleich der Retentionszeiten und der jeweiligen Massenspektren mit authentischen Referenzsubstanzen, die Quantifizierung über eine externe Standardisierung. Der Kalibrierbereich war den Konzentrationsbereichen der einzelnen Verbindungen in den untersuchten Stachelbeeren angepasst. Die verwendeten Standardlösungen wurden mit *o*-Phosphorsäure auf pH 3,2 eingestellt. Die Konzentrationen der zur Kalibrierung verwendeten Lösungen sowie die resultierenden Gleichungen und deren Bestimmtheitsmaß sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Die Quantifizierung erfolgte aus analytischen Gründen ab einer Signalfläche von 10.000.

Tabelle 5: Headspace HRGC-MS: Konzentrationen der zur Kalibrierung verwendeten Standardlösungen sowie Kalibriergleichung mit Bestimmtheitsmaß

Verbindung	Stammlösung [mg/L]	Verdünnungen in Wasser (pH = 3,2)	Gleichung, Bestimmtheitsmaß
Methylacetat	73,814	1+9; 1+49; 1+99	$y = 20+06x$; 0,99
Ethylacetat	26,925	1+49; 1+99	$y = 50+06x$; 1,00
Methylbutanoat	17,673	1+49; 1+99	$y = 40+06x$; 1,00
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	0,187	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 30+06x$; 0,99
Ethylbutanoat	8,741	1+49; 1+99	$y = 60+06x$; 1,00
Hexanal	0,160	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 50+06x$; 0,99
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	0,547	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 70+06x$; 1,00
Methylhexanoat	0,525	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 20+07x$; 1,00
Ethylhexanoat	0,173	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 10+07x$; 0,99
Pentan-2-on	8,009	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 50+06x$; 1,00
(<i>E</i>)-Pent-2-enal	0,328	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 35+05x$; 0,99
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	16,412	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 55+05x$; 1,00
Heptan-2-on	0,163	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 70+06x$; 1,00
(<i>E,E</i>)-Hexa-2,4-dienal	0,331	1+1; 1+9;	$y = 23+05x$; 1,00
(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	0,661	1+1; 1+9; 1+49;	$y = 10+06x$; 0,99
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	25,033	1+1; 1+9; 1+49; 1+99	$y = 71+04x$; 0,99
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	153,978	1+1; 1+5; 1+10	$y = 17+05x$; 0,91

3.2.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen (VHS und LLE)

Die flüchtigen Verbindungen der mittels VHS und LLE gewonnenen Extrakte wurden mittels Kapillargaschromatographie (siehe 3.2.3.1) und Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (siehe 3.2.2.2) analysiert. Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte durch Vergleich der massenspektrometrischen und kapillargaschromatographischen (Retentionsindices) Daten mit authentischen Referenzsubstanzen.

3.2.2.1 Bestimmung der Retentionsindices

Zur Bestimmung der Retentions-Indices (RI) wurden *n*-Alkane als Standardsubstanzen verwendet. Die Retentionszeiten der zu identifizierenden Verbindungen wurden auf die Retentionszeiten der Serie der *n*-Alkane bezogen (Kovats 1958).

$$RI=100 \times \left[C + \frac{RT - RT_n}{RT_{n+1} - RT_n} \right]$$

RI	Retentions-Index
RT	Retentionszeit der unbekanntes Verbindung
RT _n	Retentionszeit des <i>n</i> -Alkans
RT _{n+1}	Retentionszeit des <i>n</i> +1-Alkans
C	Anzahl der Kohlenstoffatome des <i>n</i> -Alkans

Die Bestimmung der Retentionsindices erfolgte an dem Gerät Carlo Erba Mega II 8575 (siehe 3.2.3.1).

3.2.2.2 Kapillargaschromatographie-Massenspektrometrie (HRGC-MS)

HRGC-MS Bedingungen:

Gerät:	GC 8000 ^{Top} -Voyager (ThermoFinnigan)
Kapillarsäule:	DB-WAX-ETR (30 m; 0,25 mm I.D.; 0,5 µm F.); J&W Scientific
Temperaturprogramm:	40 °C/5 min//4 °C/ min/ 240 °C/25 min
Trägergas:	He (75 kPa)

Injektor:	Splitinjektion (220 °C); Splitfluss 30 mL/min; Splitverhältnis ca. 1:50
Quadrupol-Massenfilter in EI-Modus	
Ionisationsenergie:	70 eV
MS- Source Temperatur:	200 °C
MS- Interface Temperatur:	240 °C

Zur Auswertung der Massenspektren wurde die Software Xcalibur, Version 1.4 (Thermo Electron) verwendet.

3.2.3 Quantifizierung flüchtiger Verbindungen (VHS und LLE)

Die Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen erfolgte über die Peakflächen der Substanzen und des zugesetzten internen Standards Heptan-2-ol am Gerät Carlo Erba Mega II 8575 (siehe 3.2.3.1). Vorversuche hatten gezeigt, dass Heptan-2-ol nicht natürlich in Stachelbeeren, Jostabeeren oder Schwarzen Johannisbeeren sowie nicht in den untersuchten Likören vorkommt. Die Quantifizierung fand unter Berücksichtigung der FID-Response-Faktoren und der bestimmten Wiederfindungsraten (siehe 7.4) statt. Zeigte eine Substanz eine relative Wiederfindung < 25 %, wurde keine Quantifizierung mit der jeweiligen Methode durchgeführt.

$$c_x = \frac{P_x \times Rf_x \times M_s}{P_s \times M \times W}$$

c_x	Konzentration der Verbindung: [$\mu\text{g}/\text{kg}$] für Beeren und [$\mu\text{g}/\text{L}$] für Likör
P_x	Peakfläche der zu quantifizierenden Komponente
Rf_x	FID-Response Faktor der Verbindung
M_s	zugesetzte Menge des internen Standards [μg]
P_s	Peakfläche des internen Standards
M	eingesetzte Menge Beeren [kg] bzw. Likör [L]
W	relativer Wiederfindungsfaktor der zu quantifizierenden Verbindung

3.2.3.1 Kapillargaschromatographie (HRGC-FID)

HRGC-FID Bedingungen:

Gerät:	Carlo Erba Mega II 8575 (C.E. Instruments)
Kapillarsäule:	DB Wax (60 m; 0,32 mm I.D.; 0,25 μm F.); J&W Scientific
Temperaturprogramm:	40 °C/ 5 min// 4 °C/ min/ 240 °C/ 25 min

Trärgas:	H ₂ (110 kPa)
Injektor:	Splitinjektion (215°C); Splitfluss 30 mL/min; Splitverhältnis ca. 1:10
Detektoren:	FID (235 °C) und FPD (235 °C) Eluentensplit via press-fit T-Stück 1:1

3.2.3.2 Bestimmung der FID-Response-Faktoren

Die FID-Response-Faktoren wurden mit Hilfe von Lösungen der Referenzsubstanzen im Vergleich zum internen Standard Heptan-2-ol (je 0,1 µg/µL in Diethylether) bestimmt.

$$Rf_x = \frac{P_s}{P_x}$$

Rf _x	Response-Faktor der Verbindung
P _x	Peakfläche der Verbindung
P _s	Peakfläche des internen Standards (Heptan-2-ol)

3.2.3.3 Bestimmung der absoluten Wiederfindung von Heptan-2-ol

Zur Bestimmung der absoluten Wiederfindung des internen Standards Heptan-2-ol wurden die mittels VHS und LLE extrahierten Stachelbeeren-Chargen aus den Jahren 2010 bis 2012 herangezogen. Außerdem erfolgte die 5-fache Injektion einer Lösung Heptan-2-ol in Diethylether, deren Konzentration einer 100 % -igen Wiederfindung nach VHS bzw. LLE entsprach. Die hierbei durchschnittlich ermittelte Fläche wurde mit der durchschnittlich in den Beerenextrakten für Heptan-2-ol bestimmten Fläche verglichen.

3.2.3.4 Bestimmung der relativen Wiederfindungsraten

Die Bestimmung der Wiederfindungsfaktoren erfolgte durch dreifache Extraktion der jeweiligen Referenzsubstanz mittels VHS bzw. LLE aus einer wässrigen Vorlage. Hierzu wurden zunächst Stammlösungen der Referenzsubstanzen zusammen mit dem internen Standard Heptan-2-ol (jeweils 3,0 mg/mL in Ethanol) hergestellt. Um eventuelle Umlagerungen der C₆-Komponenten während der Extraktion zu bemerken, wurden die Wiederfindungsraten der einzelnen Komponenten in mehreren Ansätzen aus unterschiedlichen Stammlösungen bestimmt. Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten wurde jeweils ein Aliquot der Stammlösungen 1+9 in Diethylether verdünnt und direkt

kapillargaschromatographisch analysiert. Gleichzeitig wurden 100 µL der jeweiligen Stammlösung (3,0 mg/mL in Ethanol) sowie 1 L Wasser zur VHS bzw. LLE eingesetzt. Bei den Bestimmungen mittels LLE wurde nach dem Pipettieren der Substanzen in die wässrige Vorlage 30 Minuten vor Zugabe des Lösungsmittels und Beginn der Extraktion abgewartet, um die Dauer der Zentrifugation bei Beeren nachzustellen.

Die relativen Wiederfindungen der Substanzen wurden über den Vergleich der Peakflächen der jeweiligen Referenz und denen des internen Standards vor und nach der Aufarbeitung ermittelt. Dabei wurde folgende Formel verwendet:

$$W = \frac{P_{Xi} \times P_{SO}}{P_{X0} \times P_{Si}}$$

W Relativer Wiederfindungsfaktor der Verbindung

P_{Xi} Peakflächen der Verbindung nach Isolierung

P_{X0} Peakfläche der Verbindung vor Isolierung

P_{Si} Peakfläche des IS nach Isolierung

P_{SO} Peakfläche des IS vor Isolierung

Die Wiederfindungsraten der Säuren wurden aus einer Natriumcitrat/Salzsäure-Pufferlösung (pH 3,5) bestimmt, um mögliche Dissoziationen zu verhindern. Außerdem erfolgte für einige Substanzen zusätzlich die Bestimmung der Wiederfindungsraten aus einem Beerenmatrix-Imitat.

Beerenmatrix-Imitat zur Wiederfindungsbestimmung

Zur Herstellung einer Beerenmatrix-ähnlichen Lösung wurden organische Säuren und Zucker in den für Stachelbeeren publizierten Konzentrationen (Viljakainen *et al.* 2002; Herrmann 2001; Whiting 1958) in Wasser gelöst:

Oxalsäure (100 mg), Äpfelsäure (10 g), Glucose (40 g), Fructose (40 g), Ascorbinsäure (350 mg), Zitronensäure (10 g), Saccharose (10 g) und Sorbit (4 g) pro 1 L Wasser.

Herstellen des Natriumcitrat/Salzsäure-Puffers

Die Pufferlösung (pH 3,5) wurde nach Rauscher *et al.* (1977) hergestellt:

Lösung A: 21,008 g Zitronensäure-Monohydrat wurden in 200 mL 0,1 N Natriumhydroxidlösung gelöst und auf 1 L mit Wasser aufgefüllt.

Lösung B: 0,1 N Salzsäure

Lösung A und Lösung B wurden im Verhältnis 46,8 + 53,2 (v+v) gemischt.

3.2.3.5 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erfolgte stellvertretend für die Verbindungen Octanal, (*E*)-Oct-2-enal, Ethylhexanoat, Methyl-3-hydroxybutanoat und Pent-1-en-3-ol nach der von Vogelgesang und Hädrich (1998) beschriebenen Methode. Es wurden jeweils vier unterschiedliche Konzentrationen im Bereich von 625 ng/mL bis 6250 ng/mL (in Diethylether) dreifach kapillargaschromatographisch analysiert. Aus den daraus erstellten Kalibriergeraden wurden die Nachweis- und die Bestimmungsgrenzen nach folgenden Formeln berechnet.

Aus der Kalibriergeraden ($y=bx+a$) errechnete sich die Reststandardabweichung (s_y):

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - (bx_i + a))^2}{n-2}}$$

- a y-Achsenabschnitt
- b Steigung
- y_i Peakfläche der Probe i
- x_i Konzentration der Probe i
- n Anzahl der Messwerte

Hieraus ergeben sich die Nachweisgrenze (NG)

$$NG = \frac{s_y}{b} \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{n}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

und die Bestimmungsgrenze (BG)

$$BG = \left[\left(\bar{y} + b(EG - \bar{x}) + s_y \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(EG - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \right) - a \right] / b$$

- $t_{g;\alpha}$ 1,860 (Quantil der t-Verteilung für $F=n-2$ Freiheitsgrade und 95 % Wahrscheinlichkeit)
- \bar{x} Arithmetisches Mittel aller zugesetzten Konzentrationen
- \bar{y} Arithmetisches Mittel aller erhaltenen Peakflächen
- EG 2·NG

Es ergaben sich leicht unterschiedliche Grenzen für die fünf eingesetzten Verbindungen. Den folgenden Auswertungen wurde die höchste ermittelte Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) und Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) zugrunde gelegt.

3.2.3.6 Quantifizierung mit dem deuterierten Standard [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal

Bestimmen der Konzentration des Standards [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal

Die Bestimmung der Konzentration der erworbenen Standardlösung ([²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal in *n*-Pentan) wurde nach der folgenden Methode durchgeführt:

Durch die kapillargaschromatographische Analyse (GC-FID) einer Lösung, die definierte Mengen an (*Z*)-Hex-3-enal und Heptan-2-ol als Standard enthielt, wurde ein FID-Responsefaktor für (*Z*)-Hex-3-enal bestimmt. Danach wurde eine bestimmte Menge Heptan-2-ol zu einem definierten Volumen der Standardlösung ([²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal in *n*-Pentan) gegeben. Die Mischung wurde mittels GC-FID analysiert und die Konzentration von [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal über die Peakflächen der Substanz und des Standards, unter Berücksichtigung des vorher für das nicht markierte (*Z*)-Hex-3-enal bestimmten Responsefaktors, berechnet. Die Bestimmung der Konzentration erfolgte zweifach.

Quantifizierung von (*Z*)-Hex-3-enal in Stachel- und Jostabeeren

Die Quantifizierung von (*Z*)-Hex-3-enal in Stachel- und Jostabeeren unter Verwendung des deuterierten Standards erfolgte mittels GC-MS im Selective Ion Monitoring-Modus (stabilisotopenmarkierter Standard: *m/z* 85; nicht markierte Verbindung: *m/z* 83) nach folgender Gleichung:

$$c = \frac{((P(83) - 0,146 \cdot P(85)) \cdot K_f)}{P(85) \cdot m_{\text{Beeren}}} m(85)$$

c	Konzentration (<i>Z</i>)-Hex-3-enal (µg/kg)
P(83)	Peakfläche <i>m/z</i> 83
P(85)	Peakfläche <i>m/z</i> 85
0,146	Korrekturfaktor (der in der Standardlösung vorkommenden Fläche <i>m/z</i> 83)
K _f	Kalibrierfaktor
m(85)	eingesetzte Menge [² H ₂]-(<i>Z</i>)-Hex-3-enal (µg)
m _{Beeren}	eingesetzte Menge Beeren (kg)

Die Bestimmung des Kalibrierfaktors erfolgte durch die Analyse von Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen an markiertem und nicht markiertem (Z)-Hex-3-enal (1:3 bis 3:1). Der Konzentrationsbereich der Lösungen erstreckte sich von 0,4 bis 4 mg/mL Extrakt, was etwa einer Konzentration von etwa 1300 bis 13.000 µg/kg in der Frucht entspricht. Das Verhältnis der Peakflächen (A) der markierten und der nicht markierten Verbindung wurde gegen ihr Konzentrationsverhältnis (c) aufgetragen (Abbildung 2). Der so ermittelte Graph zeigt Linearität in dem gemessenen Bereich.

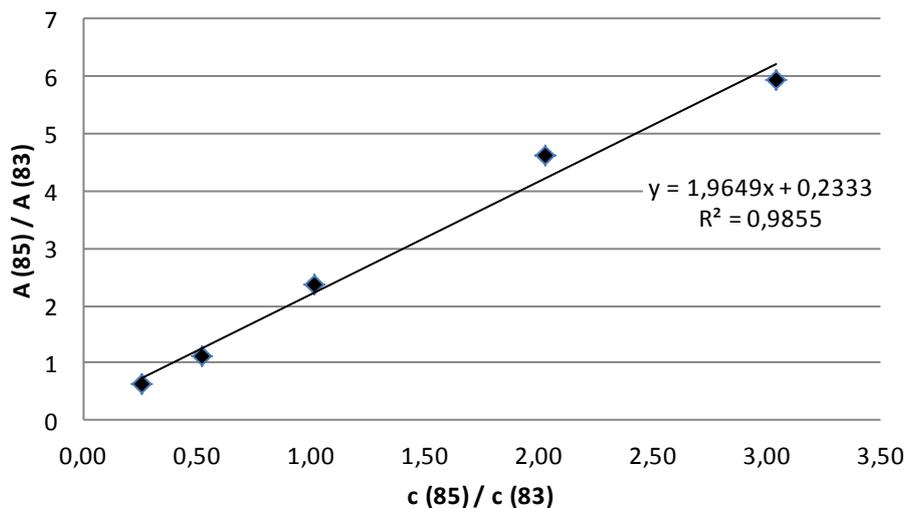


Abbildung 2: Kalibriergerade und Bestimmtheitsmaß zur Bestimmung des Kalibrierfaktors Kf; A: Fläche; c: Konzentration

3.2.4 Untersuchung chiraler Aromastoffe

Für die Bestimmung der Enantiomerenzusammensetzungen der chiralen Aromastoffe wurde ein multidimensionales Gaschromatographiesystem (MDGC) verwendet, welches aus zwei via beheizter Transferline gekoppelten Gaschromatographen (GC 8000 Series) bestand und mit einem *Moving Column Stream Switching System* (MCSS) ausgestattet war (Schmarr *et al.* 2007; Sulzbach 1996).

MDGC Bedingungen:

Säulenofen 1

Vorsäule: DB-WAX (60 m; 0,32 mm I.D.; 0,25 µm F.); J&W Scientific
 Temperaturprogramm: 40 °C/5 min //4 °C/ min//240 °C/25 min
 Trägergas: H₂ (165 kPa)

Injektor: Splitinjektion (215 °C)
Splitfluss 30 mL/min; Splitverhältnis ca. 1:15

Detektor: FID (230 °C)

Säulenofen 2

Hauptsäule: (I) 2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin OV-1701-vi (30 m; 0,25 mm I.D.; F 0,25 μ m)
(II) 2,3-di-O-methyl- β -cyclodextrin in SE 54 (30 m; 0,25 mm I.D.; F 0,25 μ m)
(III) 2,3-di-O-ethyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin in PS-086 (30 m; 0,25 mm I.D.; F 0,25 μ m)
(IV) 2,3-MOM- γ -cyclodextrin in OV 1701-vi (30 m; 0,25 mm I.D.; F 0,25 μ m)

Temperaturprogramm: 37 °C/10 min//2 °C/min//200 °C/15 min

Trägergas: H₂ (100 kPa)

Detektor: FID (200 °C)

Die Cyclodextrinderivate (I) bis (III) wurden nach Schmarr (1992) synthetisiert und charakterisiert, das Derivat (IV) nach Takahisa und Engel (2005). Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Software Chromcard (Thermo Fisher Scientific).

3.2.5 Sensorische Bewertung flüchtiger Verbindungen

3.2.5.1 Kapillargaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O)

Zur sensorischen Bewertung der Aromastoffe wurde die Aromaextraktverdünnungsanalyse angewandt (Ullrich und Grosch 1987). Hierzu wurden die konzentrierten VHS-Extrakte aus Stachelbeeren (4,5 kg; 1 mL) bzw. Jostabeeren (1,5 kg; 0,5 mL) schrittweise 1+1 mit Lösungsmittel (Diethylether/*n*-Pentan; 1:1; v/v) verdünnt. Die so erhaltenen Verdünnungen wurden mittels Kapillargaschromatographie-Olfaktometrie sensorisch analysiert. Es erfolgte die Ermittlung der Aromaqualität sowie der Verdünnungsstufe *n*, bei der ein Geruch gerade noch wahrnehmbar war. Aus dieser Verdünnungsstufe *n* wurde der Flavour Dilution-Faktor (FD) berechnet:

$$FD=2^n$$

HRGC-O Bedingungen:

Gerät: Carlo Erba Strumentazione Fractovap 4200
(E.C. Instruments)

Kapillarsäule:	DB Wax (60 m, 0,32 mm I.D., F. 0,25 µm); J&W Scientific
Temperaturprogramm:	55 °C/ 10 min// 4 °C/min/ 240 °C/ 25 min
Trärgas:	H ₂ (110 kPa)
Injektor:	Splitinjektion (220 °C); Splitfluss 30 mL/min; Splitverhältnis ca. 1:10
Detektor:	FID (230°C)
Sniffingport:	Passiv geheizte Verlängerung der Detektorbasis (230 °C) Eluentensplit via press-fit T-Stück 1:1

3.2.5.2 Bestimmung der Geruchsschwellenwerte von Aromastoffen

Die Bestimmung der Geruchsschwellen ausgewählter Verbindungen erfolgte durch ein Panel (mindestens zehn Teilnehmer) im Triangeltest. Es wurde die „Forced-Choice“-Technik angewandt, wonach die Prüfpersonen auch bei Nicht-Wahrnehmung eines Unterschieds eine Angabe machen mussten. Um Zufallstreffer auszuschließen, wurde bei der Auswertung diejenige Probe als erste richtig gewertet, ab der jede weitere in der Verdünnungsreihe richtig erkannt wurde.

Die Berechnung der Geruchsschwellenwerte der einzelnen Teilnehmer erfolgte nach dem von Meilgaard *et al.* (2007) beschriebenen Verfahren.

$$G = \sqrt{C_e \times C_{e-1}}$$

G Geruchsschwelle der einzelnen Prüfpersonen

C_e Konzentration [mg/L] der ersten erkannten Probe

C_{e-1} Konzentration [mg/L] der vorangegangenen Probe

Für die Ermittlung der Geruchsschwelle der Prüfgruppe wurde das geometrische Mittel herangezogen.

$$\bar{G} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n G_i}$$

\bar{G} Geruchsschwelle der Prüfgruppe

n Anzahl der Prüfpersonen

G_i Geruchsschwelle der einzelnen Prüfperson

∏ Produkte der Geruchsschwellen der einzelnen Prüfer

Die Bestimmung der Geruchsschwellenwerte wurde in Wasser und für einige Verbindungen zusätzlich in einem Beerenmatrix-Imitat durchgeführt. Die Herstellung der unterschiedlichen Verdünnungsstufen der Verbindungen erfolgte jeweils aus einer Stammlösung.

Herstellen des Beerenmatrix-Imitates für die Bestimmung der Geruchsschwellenwerte

Als Beerenmatrix-Imitat wurde eine wässrige Lösung der in Stachelbeeren enthaltenen organischen Säuren und Zucker in deren natürlichen Konzentrationen verwendet (Herrmann 2001, Viljakainen *et al.* 2002, Whiting 1958, Iversen *et al.* 1998, Milivojevic *et al.* 2012, Zheng *et al.* 2009). Hierzu wurden Oxalsäure (100 mg), Äpfelsäure (10 g), Ascorbinsäure (350 mg), Zitronensäure (10 g), Glucose (40 g), Fructose (40 g), Saccharose (10 g) und Sorbit (4 g) in 1 L Wasser gelöst.

3.2.5.3 Berechnung von Aromawerten

Zur Beurteilung der Aromarelevanz von flüchtigen Verbindungen eignet sich das Prinzip des Aromawertes nach Rothe und Thomas (1963). Die Berechnung der Aromawerte erfolgte nach folgender Formel:

$$A = \frac{c}{G}$$

- A Aromawert der Verbindung in einem bestimmten Lebensmittel
- c Konzentration der Verbindung im Lebensmittel
- G Geruchsschwellenwert der Verbindung

3.2.5.4 Aromaprofilanalyse

Die bei der Aromaprofilanalyse verwendeten Deskriptoren sowie deren sensorische Beschreibungen sind in Tabelle 6 aufgeführt. Für die Aromaprofilanalyse wurden Lösungen der jeweiligen Substanzen in Wasser hergestellt, wobei deren Konzentration 100fach oberhalb der jeweiligen Geruchsschwelle lag. Anhand dieser Deskriptorlösungen erfolgte die Aromaprofilanalyse der Beeren, Liköre und Rekombinate auf einer Bewertungsskala von 0 (nicht wahrnehmbar) bis 3 (stark wahrnehmbar) in 0,5-Schritten.

Tabelle 6: Für Stachelbeeren/Stachelbeerenlikör (STB) und Jostabeeren/Jostabeerenlikör (JO) verwendete Deskriptoren, deren Geruchsbeschreibungen und Geruchsschwellen

Substanz		Geruch	Geruchsschwelle in Wasser	
				[$\mu\text{g/L}$]
Ethylbutanoat	STB, JO	Ananas	3	a
Methylbutanoat	STB	grün-fruchtig	63	a
Methylbenzoat	JO	süß	4	a
(E)-Methylbut-2-enoat	STB	muffig	124	a
(E)-Hex-2-enal	STB, JO	Apfel	77	a
(Z)-Hex-3-enal	STB, JO	grasig	0,6	a
Hexanal	JO	fettig-grün	4	a
1,8-Cineol	JO	Eukalyptus	2	a
(R)-Oct-1-en-3-ol	STB	Pilz-artig	0,9	a
Essigsäure	STB, JO	sauer	70	b
Acetophenon	STB	süß-blumig	26	a
Pent-1-en-3-on	JO	scharf-modrig	0,9	a

a: Die Geruchsschwellen wurden im Rahmen dieser Arbeit bestimmt. b: Geruchsschwelle nach Yang *et al.* 2010.

Die Säfte wurden direkt zur Bewertung eingesetzt. Die Früchte wurden unmittelbar vor der Bewertung mit einem Messer halbiert und dann die orthonasale Bewertung innerhalb von 30 Sekunden durchgeführt. Für jeden Deskriptor wurde eine neue Frucht angeschnitten.

3.2.6 Rekombination des Aromas frischer Beeren

Die Rekonstitution des Aromas frischer Stachelbeeren erfolgte auf Basis der Aromastoffkonzentrationen in der Charge Achilles vom 05.08.2010 (Tabelle 16) in Wasser. Es wurden alle Substanzen einbezogen, deren durchschnittlicher Aromawert als > 1 berechnet wurde (Tabelle 18): (Z)-Hex-3-enal, (E)-Hex-2-enal, (R)-Oct-1-en-3-ol, Ethylbutanoat, Methylbutanoat, (Z)-Hex-3-en-1-ol, Acetophenon, Ethylhexanoat, (E)-Methylbut-2-enoat und Methyldecanoat.

Die Rekonstitutionen des Aromas frischer Jostabeeren erfolgten auf Basis der Aromastoffkonzentrationen in Jostabeeren vom 30.06.11 (Tabelle 28). Dazu wurden Stammlösungen der einzelnen Verbindungen hergestellt und in einer Lösung, bestehend aus organischen Säuren und Zuckern (Beerenmatrix-Imitat) verdünnt. Die Herstellung dieses Beerenmatrix-Imitats erfolgte auf Basis der natürlich vorkommenden Konzentrationen der Substanzen in Schwarzen Johannisbeeren, da zu diesem Zeitpunkt keine Daten für Jostabeeren vorlagen: Oxalsäure (40 mg/L), Äpfelsäure (3,5 g/L), Ascorbinsäure (1,5 g/L), Zitronensäure (25 g/L), Glucose (30 g/L), Fructose (35 g/L) und Saccharose (20 g/L).

Tabelle 7: Vollrekombinat und Teilrekombinat des Jostabeerenaromas

Substanz	Konzentration [µg/L]	Vollrekombinat	Teilrekombinat	
(E)-Methylbut-2-enoat	74	x		
(E)-Hex-3-en-1-ol	45	x		
Pent-1-en-3-on	18	x	x	
(E)-Pent-2-enal	18	x		
α-Terpineol	17	x		
Ethylhexanoat	10	x	x	
2-Methylpropanol	10	x		
3-Methylbut-2-enylacetat	1	x		
Propanal	1	x		
Oct-1-en-3-on	0,01	x	x	
2-Methylpropansäure	1	x		
Linalylacetat	1	x		
2-Methylpropylacetat	1	x		
Nonanal	1,5	x		
Linalooloxid	1	x		
Propan-2-thiol	1	x		
(Z)-Octa-1,5-dien-3-ol	0,2	x		a
Ethylbutanoat	712	x	x	
(Z)-Hex-3-enal	955	x	x	
1,8-Cineol	447	x	x	
Hexanal	134	x	x	
(E)-Hex-3-enal	23	x		b
Hexanol	105	x		
Ethylacetat	8465	x		
(E)-Hex-2-enal	4836	x	x	
Methylbutanoat	2725	x	x	

a: Diese Substanz wurde in Form eines Extraktes aus Pilzen nach Zugabe von Linolensäure zugegeben (Tressl *et al.* 1982). b: In Referenz von (Z)-Hex-3-enal zu 2,4 % enthalten.

Das Teilrekombinat wurde gegen das Vollrekombinat im Triangeltest bewertet. Die statistische Auswertung erfolgte nach Quad *et al.* (2011) mit einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$.

3.2.7 NMR-Spektroskopie

Zur Identifizierung der Substanz mit einem Retentions-Index von 1859 (Tabelle 22, Tabelle 23 und Tabelle 28) wurde 2-Hydroxy-1,8-cineol nach der Methode von Horst und Rychlik (2010) synthetisiert (siehe 3.1.3). Es folgten NMR-spektroskopische Untersuchungen der synthetisierten Substanz ($^1\text{H-NMR}$ bei 500,1 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$ bei 125,6 MHz, H,H-Cosy, HSQC, HMBC) und ein Abgleich mit den Literaturdaten (Horst und Rychlik 2010).

Die chemischen Verschiebungen (^1H und ^{13}C NMR) wurden in ppm angegeben und alle ^{13}C NMR-Spektren wurden im Protonen-entkoppelten Modus aufgezeichnet. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software MestreNova.

NMR Spektrometer: Avance500C Spektrometer (Bruker Instruments, Deutschland)

Lösungsmittel: deuteriertes Chloroform

Probentemperatur: 25 °C

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Analyse der flüchtigen Verbindungen in Stachelbeeren

4.1.1 Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen mittels VHS

4.1.1.1 Einleitung

Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.) werden in Europa seit Beginn des 17. Jahrhunderts angebaut. Ihre Wildformen sind zwar in den gemäßigten Klimazonen (Italien, Griechenland) zu finden, allerdings wachsen sie nur in bergigen Gebieten, was ihre Kultivierung als Nutzpflanze erschwert (Barney und Hummer 2005).

Bisher waren keine Daten über das flüchtige Profil von Stachelbeeren bekannt. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es daher, die flüchtigen Inhaltsstoffe der Beeren zu identifizieren und zu quantifizieren sowie einen Überblick über die Variabilität der flüchtigen Profile zu erhalten. Außerdem wurden Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Parameter, wie der Tiefkühlagerung und der Fruchtreife, auf das flüchtige Spektrum durchgeführt.

Zur Isolierung der flüchtigen Komponenten wurde die Vakuum Headspace Technik (VHS) angewandt. Dies ist eine schonende Methode, welche die Bildung thermisch bedingter Reaktionsprodukte verhindert. In mehreren Arbeiten erwies sich die VHS als sehr gut geeignet für die Isolierung flüchtiger Inhaltsstoffe aus frischem Pflanzenmaterial (Dregus und Engel 2003, Werkhoff *et al.* 1998).

4.1.1.2 Zusammensetzung des flüchtigen Profils der frischen Beeren

Die mittels VHS gewonnenen Extrakte wurden mit Hilfe von kapillargaschromatographischen Methoden (HRGC-FID/FPD und HRGC-MS) untersucht. Die quantitativen Bestimmungen beruhen auf der Verwendung eines internen Standards (Heptan-2-ol), der nicht natürlich in den Beeren vorkommt und vor der Isolierung der Komponenten zugegeben wurde. Unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung erfolgte die Quantifizierung der Komponenten.

Durch die Anwendung der VHS wurden insgesamt 127 Verbindungen in den 26 untersuchten Chargen frischer Stachelbeeren identifiziert. Diese sind in Tabelle 8 aufgeführt. Ein beispielhaftes Chromatogramm ist in Abbildung 3 dargestellt.

Tabelle 8: In frischen Stachelbeeren identifizierte Verbindungen

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
1	Propanal	796	11	<i>d</i>
2	Ethylformiat	822	22	<i>d</i>
3	Methylacetat	824	2	<i>d</i>
4	Prop-2-enal	863	14	<i>d</i>
5	Ethylacetat	886	25	<i>d</i>
6	Methylpropionat	905	1	<i>d</i>
7	3-Methylbutan-2-on	923	1	<i>d</i>
8	Propan-2-ol	926	1	<i>d</i>
9	Ethanol	931	18	<i>d</i>
10	Ethylpropionat	946	3	<i>d</i>
11	2-Methylpent-3-en-1-ol	962	1	<i>e</i>
12	Pentanal	963	7	<i>d</i>
13	Pentan-3-on	963	1	<i>e</i>
14	Pentan-2-on	963	25	<i>d</i>
15	Methylbutanoat	981	26	<i>d</i>
16	2-Methylpropylacetat	1011	1	<i>d</i>
17	Methyl-2-methylbutanoat	1015	1	<i>d</i>
18	Pent-1-en-3-on	1015	25	<i>d</i>
19	Ethylbutanoat	1033	26	<i>d</i>
20	(<i>E</i>)-But-2-enal	1035	1	<i>d</i>
21	2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	4	<i>d</i>
22	Ethyl-2-methylbutanoat	1041	1	<i>d</i>
23	Hexan-3-on	1045	1	<i>e</i>
24	2,3,5-Trimethylfuran	1050	20	<i>e</i>
25	Ethyl-3-methylbutanoat	1057	1	<i>d</i>
26	Butylacetat	1061	1	<i>d</i>
27	Hexanal	1076	26	<i>d</i>
28	2-Methylpent-3-en-1-ol	1086	1	<i>e</i>
29	2-Methylpropan-1-ol	1090	11	<i>d</i>
30	(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	1101	21	<i>d</i>
31	(<i>Z</i>)-Pent-2-enal	1101	4	<i>e</i>
32	Propylbutanoat	1107	1	<i>e</i>
33	Pentan-3-ol	1110	6	<i>d</i>
34	3-Methylbutylacetat	1110	1	<i>d</i>
35	Pent-3-en-2-on	1117	1	<i>d</i>
36	(<i>E</i>)-Pent-2-enal	1121	24	<i>d</i>
37	Pentan-2-ol	1123	21	<i>d</i>
38	(<i>E</i>)-Hex-3-enal	1133	26	<i>d</i>
39	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1139	26	<i>d</i>
40	Butan-1-ol	1142	8	<i>d</i>
41	(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	1158	23	<i>d</i>
42	Pent-1-en-3-ol	1161	26	<i>d</i>
43	Heptan-2-on	1174	10	<i>d</i>
44	Methyl-2-methylbut-2-enoat	1180	2	<i>e</i>
45	Methylhexanoat	1184	26	<i>d</i>
46	(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	1194	25	<i>f</i>
47	1,8-Cineol	1200	1	<i>d</i>
48	(<i>E</i>)-Hex-2-enal	1209	26	<i>d</i>
49	2-Methylbutan-1-ol	1214	2	<i>d</i>
50	3-Methylbutan-1-ol	1214	4	<i>d</i>
51	Ethyl-2-methylbut-2-enoat	1226	3	<i>d</i>
52	Ethylhexanoat	1232	24	<i>d</i>
53	Pentan-1-ol	1252	25	<i>d</i>
54	Acetoin	1265	26	<i>d</i>

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
55	Octanal	1276	2	<i>d</i>
56	(<i>E</i>)-Pent-2-en-1-ol	1313	6	<i>d</i>
57	(<i>E</i>)-Hept-2-enal	1318	15	<i>d</i>
58	(<i>Z</i>)-Pent-2-en-1-ol	1321	24	<i>d</i>
59	(<i>E</i>)-Hex-2-enylacetat	1331	1	<i>d</i>
60	6-Methylhept-5-en-2-on	1332	3	<i>d</i>
61	Ethyl-(<i>E</i>)-hex-2-enoat	1340	1	<i>d</i>
62	4-Hydroxy-4-methylpentan-2-on	1344	1	<i>d</i>
63	Hexan-1-ol	1355	23	<i>d</i>
64	(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	1363	17	<i>d</i>
65	(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	1384	26	<i>d</i>
66	Methyloctanoat	1388	26	<i>d</i>
67	Nonanal	1389	18	<i>d</i>
68	(<i>E,E</i>)-Hexa-2,4-dienal	1400	2	<i>d</i>
69	(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	1407	26	<i>d</i>
70	(<i>E</i>)-Oct-2-enal	1422	2	<i>d</i>
71	Ethyl-octanoat	1434	11	<i>d</i>
72	4-Hydroxypentan-2-on	1436	1	<i>e</i>
73	Essigsäure	1440	24	<i>d</i>
74	(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	1452	26	<i>d, g</i>
75	Heptadienal-Isomer	1458	12	<i>e</i>
76	(<i>E,E</i>)-Hepta-2,4-dienal	1483	9	<i>d</i>
77	3-Ethylpentan-2,4-dion	1486	1	<i>e</i>
78	2-Ethylhexan-1-ol	1491	14	<i>d</i>
79	2-Ethylhexylprop-2-enoat	1493	1	<i>e</i>
80	Theaspiran I	1495	5	<i>f</i>
81	Ethyl-3-hydroxybutanoat	1498	2	<i>d</i>
82	Benzaldehyd	1512	8	<i>d</i>
83	Propansäure	1533	12	<i>d</i>
84	Theaspiran II	1535	5	<i>f</i>
85	Butan-2,3-diol (erstelulierendes Stereoisomer)	1538	1	<i>d</i>
86	Linalool	1548	4	<i>d</i>
87	Octan-1-ol	1560	6	<i>d</i>
88	2-Methylpropansäure	1560	1	<i>d</i>
89	Butan-2,3-diol (zweitelulierendes Stereoisomer)	1576	6	<i>d</i>
90	Mesifuran	1587	5	<i>d</i>
91	Propylenglycol	1588	11	<i>d</i>
92	Methyldecanoat	1590	23	<i>d</i>
93	4-Hydroxy-5-methylhexan-2-on	1612	1	<i>e</i>
94	Methylbenzoat	1613	11	<i>d</i>
95	β -Cyclocitral	1614	7	<i>d</i>
96	Buttersäure	1624	17	<i>d</i>
97	Ethyldecanoat	1638	2	<i>d</i>
98	Acetophenon	1641	26	<i>d</i>
99	Ethylbenzoat	1661	11	<i>d</i>
100	2-Methylbuttersäure	1667	3	<i>d</i>
101	α -Terpineol	1686	2	<i>d</i>
102	Verbenon	1703	1	<i>d</i>
103	Benzylacetat	1723	2	<i>d</i>
104	Pentansäure	1734	1	<i>d</i>
105	(<i>E</i>)-But-2-ensäure	1768	1	<i>d</i>
106	Isopropylaurat	1795	19	<i>e</i>
107	1-Phenylethan-1-ol	1810	2	<i>d</i>
108	α -Dihydroionon	1812	1	<i>d</i>
109	Anethol	1821	2	<i>d</i>
110	β -Dihydroioinon	1828	2	<i>d</i>

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
111	Hexansäure	1844	24	<i>d</i>
112	Geraniol	1849	6	<i>d</i>
113	Benzylbutanoat	1871	1	<i>d</i>
114	Benzylalkohol	1874	16	<i>d</i>
115	2-Phenylethanol	1899	1	<i>d</i>
116	3,5-di- <i>tert</i> -Butyl-4-hydroxytoluol	1908	5	<i>e</i>
117	β -Ionon	1936	4	<i>d</i>
118	(<i>E</i>)-Hex-3-ensäure	1951	17	<i>d</i>
119	(<i>E</i>)-Hex-2-ensäure	1961	1	<i>d</i>
120	Octansäure	2057	14	<i>d</i>
121	1-Hydroxy-1-phenylpropan-2-on	2098	1	<i>e</i>
122	Nonansäure	2164	6	<i>d</i>
123	Isopropylpalmitat	2239	5	<i>e</i>
124	Decansäure	2245	2	<i>d</i>
125	Hexadecan-1-ol	2380	2	<i>d</i>
126	Phthalat	2540	5	<i>e,h</i>
127	Kohlenwasserstoff C 29	2901	1	<i>d</i>

a: Die Nummern entsprechen den Verbindungen in Abbildung 3 und Tabelle 9. b: Retentionsindices. c: Identifiziert in *n* von 26 Chargen. d: Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer und kapillargaschromatographischer Daten mit Referenzsubstanzen. e: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer Daten mit Literaturangaben. f: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer und kapillargaschromatographischer Daten mit Literaturangaben. g: Identifizierung des Enantiomers durch den Vergleich kapillargaschromatographischer Daten mit einer Referenzsubstanz auf einer 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin-Säule. h: nicht eindeutig identifizierbarer Phthalsäureester.

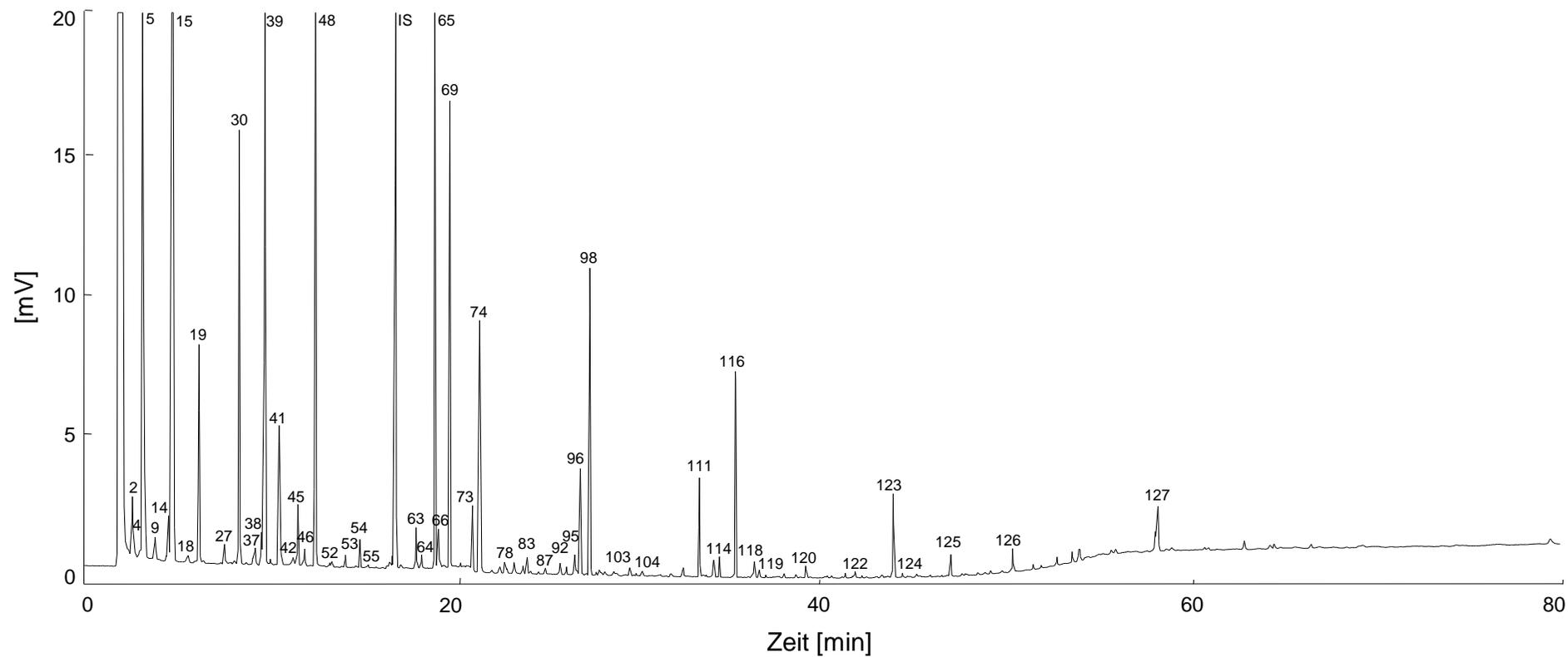


Abbildung 3: Kapillargaschromatographische Trennung (DB-WAX) der mittels Vakuum Headspace Technik aus Stachelbeeren (Achilles vom 05.08.10; Konzentrationen siehe Tabelle 9) isolierten flüchtigen Verbindungen (die angegebenen Nummern entsprechen den Verbindungen in Tabelle 8 und Tabelle 9; Bedingungen siehe Material und Methoden 3.2.3.1; IS: interner Standard Heptan-2-ol)

In allen analysierten Chargen waren stets die gleichen Hauptkomponenten zu finden, die durch eine große Anzahl geringer konzentrierter Verbindungen begleitet wurden. Die Konzentrationen der einzelnen Verbindungen sind in Tabelle 9 für die drei kommerziell wichtigsten Sorten Achilles, Bekay und Xenia exemplarisch für je eine Charge gezeigt. Durch die angewandte VHS werden bevorzugt flüchtige Verbindungen isoliert. Die bestimmten Wiederfindungsraten zeigen die Diskriminierung nicht-flüchtiger sowie sehr polarer Substanzen (Anhang, Tabelle 34). Organische Säuren, wie Äpfel- oder Zitronensäure, werden durch VHS beispielweise nicht isoliert. Dies wurde bereits in einer früheren Arbeit gezeigt (Dregus und Engel 2003). Die relativen Wiederfindungen (zum internen Standard Heptan-2-ol) der flüchtigen Verbindungen bei VHS wurden für ausgewählte Verbindungen aus Wasser sowie aus einem Beerenmatriximitat bestimmt (Anhang, Tabelle 32). Hierbei zeigte sich kein Einfluss durch die Matrix.

Tabelle 9: Konzentrationen der nach VHS quantifizierten Verbindungen in den drei kommerziell wichtigsten Stachelbeersorten Achilles, Xenia und Bekay

Nr. ^a	Substanz	RI ^b	Achilles			Xenia			Bekay		
			[µg/kg] ^c								
C₆-Komponenten											
39	(Z)-Hex-3-enal	1139	1279 ± 410	21014 ± 2127	11188 ± 2541						<i>d</i>
48	(E)-Hex-2-enal	1209	1046 ± 360	1247 ± 152	1441 ± 299						<i>d</i>
65	(Z)-Hex-3-en-1-ol	1384	167 ± 89	398 ± 59	862 ± 30						<i>d</i>
38	(E)-Hex-3-enal	1133	46 ± 21	301 ± 91	269 ± 79						<i>d</i>
69	(E)-Hex-2-en-1-ol	1407	179 ± 105	29 ± 10	133 ± 50						<i>d</i>
27	Hexanal	1076	21 ± 6	166 ± 7	123 ± 20						<i>d</i>
63	Hexan-1-ol	1355	7 ± 4	7 ± 2	33 ± 8						<i>d</i>
46	(Z)-Hex-2-enal	1194	4 ± 2	26 ± 5	14 ± 4						<i>f</i>
64	(E)-Hex-3-en-1-ol	1363	7 ± 4	n.q. ^h	27 ± 7						<i>e</i>
Ester											
15	Methylbutanoat	981	858 ± 414	4609 ± 642	2984 ± 323						<i>d</i>
19	Ethylbutanoat	1033	136 ± 55	651 ± 31	1557 ± 312						<i>d</i>
30	(E)-Methylbut-2-enoat	1101	293 ± 18	79 ± 4	191 ± 50						<i>d</i>
41	(E)-Ethylbut-2-enoat	1158	120 ± 60	44 ± 9	175 ± 75						<i>d</i>
45	Methylhexanoat	1184	31 ± 6	61 ± 7	36 ± 7						<i>d</i>
66	Methyloctanoat	1388	12 ± 4	22 ± 2	8 ± 3						<i>e</i>
123	Isopropylpalmitat	2239	41 ± 10	n.d. ⁱ	n.q.						<i>f</i>
94	Methylbenzoat	1613	4 ± 2	24 ± 12	n.d.						<i>d</i>
52	Ethylhexanoat	1232	4 ± 4	6 ± 1	11 ± 2						<i>e</i>
126	Phthalat	2540	17 ± 11	n.d.	n.d.						<i>f,k</i>
92	Methyldecanoat	1590	3 ± 1	4 ± 0	n.q.						<i>e</i>
99	Ethylbenzoat	1661	n.d.	4 ± 1	n.d.						<i>e</i>
106	Isopropyllaurat	1795	n.d.	n.d.	3 ± 1						<i>f</i>
71	Ethylactanoat	1434	n.q.	n.d.	n.q.						<i>e</i>
103	Benzylacetat	1723	n.q.	n.d.	n.d.						<i>e</i>
2	Ethylformiat	822	n.k.	n.k.	n.k.						<i>g</i>
5	Ethylacetat	886	n.k.	n.k.	n.k.						<i>g</i>
Ketone											
14	Pentan-2-on	970	121 ± 57	10 ± 2	74 ± 4						<i>d</i>
98	Acetophenon	1641	121 ± 39	6 ± 2	10 ± 2						<i>d</i>

Nr. ^a	Substanz	RI ^b	Achilles	Xenia	Bekay	
			[µg/kg] ^c			
18	Pent-1-en-3-on	1015	3 ± 1	25 ± 2	21 ± 2	e
54	Acetoin	1265	n.k.	n.k.	n.k.	g
90	Mesifuran	1587	n.d.	n.d.	n.c.	g
<u>Alkohole</u>						
74	(R)-Oct-1-en-3-ol	1452	61 ± 21	159 ± 34	157 ± 27	d
42	Pent-1-en-3-ol	1161	3 ± 1	16 ± 0	12 ± 2	e
58	(Z)-Pent-2-en-1-ol	1321	n.d.	18 ± 2	13 ± 1	e
37	Pentan-2-ol	1123	21 ± 21	n.d.	8 ± 5	e
9	Ethanol	931	5 ± 1	6 ± 1	9 ± 2	e
125	Hexadecan-1-ol	2380	10 ± 3	n.d.	n.q.	e
114	Benzylalkohol	1874	4 ± 2	n.d.	n.q.	e
29	2-Methylpropan-1-ol	1090	n.d.	n.q.	4 ± 1	e
53	Pentan-1-ol	1252	3 ± 1	n.q.	4 ± 1	e
78	2-Ethylhexan-1-ol	1491	n.q.	n.d.	n.q.	e
87	Octan-1-ol	1560	n.q.	n.d.	n.d.	e
21	2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	n.d.	n.q.	n.d.	d
<u>Aldehyde</u>						
36	(E)-Pent-2-enal	1121	n.q.	8 ± 0	9 ± 0	e
4	Prop-2-enal	863	4 ± 1	n.d.	n.d.	e
67	Nonanal	1389	3 ± 0	n.q.	n.q.	e
57	(E)-Hept-2-enal	1318	n.d.	n.q.	n.q.	d
55	Octanal	1276	n.q.	n.d.	n.d.	e
70	(E)-Oct-2-enal	1422	n.q.	n.d.	n.d.	e
82	Benzaldehyd	1512	n.q.	n.d.	n.d.	e
<u>Säuren</u>						
73	Essigsäure	1440	n.k.	n.k.	n.k.	g
83	Propansäure	1533	n.k.	n.k.	n.k.	g
96	Buttersäure	1624	n.k.	n.d.	n.k.	g
104	Pentansäure	1734	n.k.	n.d.	n.d.	g
100	2-Methylbuttersäure	1667	n.d.	n.d.	n.k.	g
111	Hexansäure	1844	n.k.	n.k.	n.k.	g
118	(E)-Hex-3-ensäure	1951	n.k.	n.k.	n.d.	g
119	(E)-Hex-2-ensäure	1961	n.k.	n.d.	n.d.	g
120	Octansäure	2057	n.k.	n.d.	n.k.	g
122	Nonansäure	2164	n.k.	n.k.	n.k.	g
124	Decansäure	2245	n.k.	n.d.	n.k.	g
<u>Sonstige</u>						
116	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxytoluol	1908	126 ± 51	n.d.	n.d.	
127	Kohlenwasserstoff C 29	2901	16 ± 9	n.d.	n.d.	f
91	Propylenglykol	1588	n.d.	10 ± 6	n.q.	
75	Heptadienal-Isomer	1458	n.d.	5 ± 2	n.q.	f
95	β-Cyclocitral	1598	2 ± 1	n.d.	n.d.	e
76	(E,E)-Hepta-2,4-dienal	1483	n.q.	n.q.	n.d.	
24	2,3,5-Trimethylfuran	1050	n.d.	n.q.	n.q.	f
86	Linalool	1548	n.d.	n.q.	n.d.	e
112	Geraniol	1849	n.d.	n.q.	n.d.	e

a: Die Nummern entsprechen den Verbindungen in Abbildung 3 und Tabelle 8. b: Retentionsindices. c: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. d: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang, Tabelle 34). e: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). f: Für die

Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen. g: Nicht kalkulierbar (n.k.), da die Wiederfindung unter 25 % lag. h: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. i: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 g/kg) lag. k: nicht eindeutig identifizierbarer Phthalsäureester.

Das flüchtige Profil von Stachelbeeren wird hauptsächlich durch drei Verbindungen geprägt, die in hohen Konzentrationen vorlagen: (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat repräsentierten mindestens 70 % der Summe an flüchtigen Verbindungen in allen analysierten Chargen. Alle weiteren Verbindungen lagen nur in vergleichsweise geringen Konzentrationen vor. Das flüchtige Profil von Stachelbeeren war folglich zum größten Teil durch die Substanzklassen der C₆-Komponenten und Ester geprägt, welche mindestens 88 % der Gesamtmenge an flüchtigen Verbindungen in reifen Stachelbeeren darstellen und die im Folgenden weiter betrachtet werden.

C₆-Komponenten

C₆-Komponenten kommen in zahlreichen Früchten vor und spielen eine wichtige Rolle für die Verteidigungsmechanismen und die Schädlingsbekämpfung der Pflanze. Sie werden nach der Zerstörung des Zellgewebes enzymatisch aus ungesättigten Fettsäuren gebildet und stellen somit sekundäre Aromastoffe dar (siehe 2.2). Hohe Konzentrationen an C₆-Verbindungen sind beispielsweise bereits für Rhabarber, Nektarinen und Kiwis bekannt (Dregus und Engel 2003, Engel *et al.* 1988, Young *et al.* 1995). Das C₆-Profil der Stachelbeeren zeigte besonders hohe Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal, gefolgt von dessen Isomerisierungsprodukt (*E*)-Hex-2-enal und den korrespondierenden Alkoholen (*Z*)-Hex-3-en-1-ol und (*E*)-Hex-2-en-1-ol. Die starke Dominanz von (*Z*)-Hex-3-enal, die durchgängig in allen Chargen zu beobachten war, ist eine Besonderheit der Stachelbeere, die bisher kaum in anderen Früchten gefunden wurde. Das C₆-Profil der meisten bisher analysierten Früchte wird durch (*E*)-Hex-2-enal oder (*E*)-Hex-2-en-1-ol dominiert (Dregus und Engel 2003, Engel *et al.* 1988, Young *et al.* 1995, Schreier 1980). Neben Stachelbeeren ist für Tomaten und Pinke Guave bekannt, dass (*Z*)-Hex-3-enal den dominierenden C₆-Körper darstellt (Buttery *et al.* 1987, Steinhaus *et al.* 2009).

*Quantifizierung von (*Z*)-Hex-3-enal*

Aufgrund der bekannten Instabilität von (*Z*)-Hex-3-enal (Buttery *et al.* 1990, Steinhaus und Schieberle 2000, Büttner und Schieberle 2001) wurde dessen Quantifizierung durch eine zweite Methode überprüft. Hierzu erfolgten parallele Aufarbeitungen einer Charge Stachelbeeren (I) nach Zugabe des internen Standards Heptan-2-ol und (II) nach Zugabe der stabilisotopenmarkierten Verbindung [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal.

Heptan-2-ol bzw. [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal wurde direkt bei Beginn der Homogenisierung zu den Beeren gegeben. Die Extraktion (VHS bzw. LLE) wurde wie üblich durchgeführt. Die Bestimmung der Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal erfolgte mit Hilfe von GC-FID und mittels HRGC-MS. Die ermittelten Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal in Stachelbeeren sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Mittels Heptan-2-ol und [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal bestimmte Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal sowie der Summe aller C_6 -Verbindungen in Stachelbeeren bei Standardzugabe zu Beginn der Homogenisierung

Verwendeter Standard:	Heptan-2-ol		[$^2\text{H}_2$]-(<i>Z</i>)-Hex-3-enal
	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	Summe	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal
Quantifizierte Komponente(n):	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]		
VHS	1783 \pm 449	4342	5662 \pm 464
LLE	1889 \pm 623	3407	4512 \pm 1360

Ein Vergleich der durch beide Methoden ermittelten Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal zeigte sowohl nach VHS als auch nach LLE große Differenzen. Die mittels [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal berechneten Werte lagen mehr als zweifach über den mittels Heptan-2-ol bestimmten Konzentrationen.

Der Grund für die unterschiedlichen Konzentrationen ist die enzymatische Entstehung der C_6 -Komponenten. Durch den deuterierten Standard wurde exakt zu dem Zeitpunkt der Standardzugabe – also direkt zu Beginn der Homogenisierung – quantifiziert. Da aus (*Z*)-Hex-3-enal alle weiteren C_6 -Komponenten durch Isomerisierung und Reduzierung entstehen und mittels Heptan-2-ol die Quantifizierung von (*Z*)-Hex-3-enal aufgrund der Bestimmung der Wiederfindung zum Zeitpunkt des Starts der Extraktion (also bei VHS ca. 10 min und bei LLE ca. 30 min nach Homogenisierung) durchgeführt wurde, ergaben sich die unterschiedlichen Konzentrationen in obiger Tabelle. Das zugegebene [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal wurde analog zum endogen entstehenden (*Z*)-Hex-3-enal isomerisiert und reduziert. Diese Vermutung konnte auf folgende Weise bestätigt werden:

- (I) Die Summen aller mittels Heptan-2-ol berechneten C_6 -Komponenten lagen im Bereich der durch [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal ermittelten (*Z*)-Hex-3-enal-Konzentration.
- (II) In den nach Zugabe von [$^2\text{H}_2$]-(*Z*)-Hex-3-enal erhaltenen VHS- und LLE-Extrakten aus Jostabeeren und Stachelbeeren, deren (*Z*)-Hex-3-enal-Konzentrationen in obiger Tabelle aufgeführt sind, konnten deuteriertes (*E*)-Hex-2-enal sowie (*Z*)-Hex-3-en-1-ol nachgewiesen werden. Die deuterierten Verbindungen wurden anhand charakteristischer Massen identifiziert, wie Abbildung 4 am Beispiel (*E*)-Hex-2-enal zeigt.

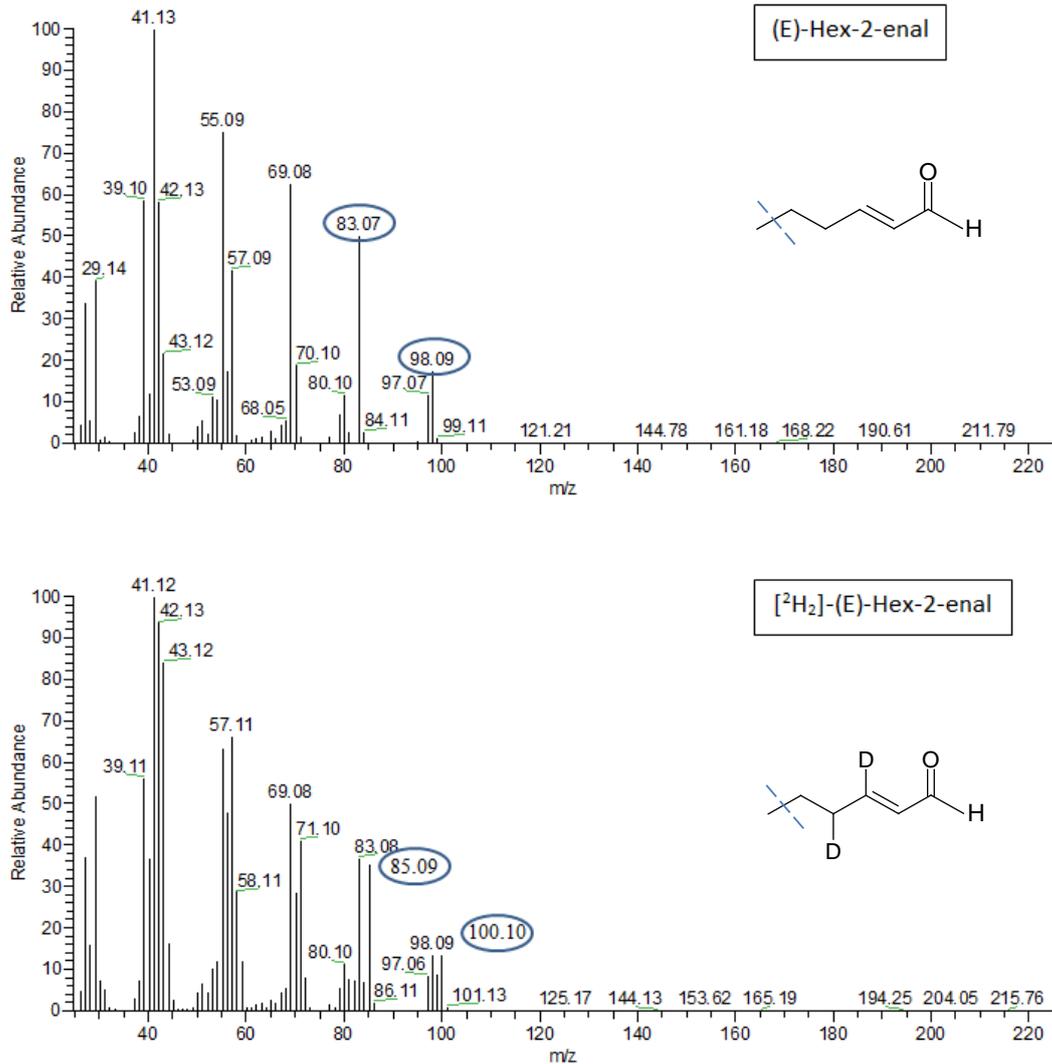


Abbildung 4: Massenspektren von (*E*)-Hex-2-enal und [²H₂]-(*E*)-Hex-2-enal in einem nach Zugabe von [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal erhaltenen Extrakt (GC-MS-Bedingungen siehe Material und Methoden)

- (III) Werden die Enzyme der Beeren 90 Sekunden nach Homogenisierung durch die Zugabe von gesättigter CaCl₂-Lösung inhibiert (siehe 4.1.1.3) und der Standard (Heptan-2-ol bzw. [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal) erst anschließend zugegeben, so sind die bestimmten Konzentrationen nahezu gleich, wie Tabelle 11 zeigt.

Tabelle 11: Mittels Heptan-2-ol und [²H₂]-(*Z*)-Hex-3-enal ermittelte Konzentrationen an (*Z*)-Hex-3-enal in Stachel- und Jostabeeren bei Enzyminhibierung mittels gesättigter CaCl₂-Lösung nach 90 Sekunden (VHS-Isolierung)

	Stachelbeere		Jostabeere	
	(Z)-Hex-3-enal [µg/kg]			
Verwendeter Standard:	Heptan-2-ol	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	Heptan-2-ol	[² H ₂]-(<i>Z</i>)-Hex-3-enal
Durchführung 1	2042	1960	8056	9934
Durchführung 2	1701	1941	/	/

Durch die Versuche mit Hilfe eines stabilisotopenmarkierten Standards wurde die Quantifizierung von (*Z*)-Hex-3-enal mittels Heptan-2-ol bestätigt. Trotz der Instabilität der Komponente im wässrigen Medium sind die über Heptan-2-ol bestimmten Konzentrationen zuverlässig. Es ist jedoch zu bedenken, dass die über Heptan-2-ol bestimmten Konzentrationen die Menge an Substanzen in der jeweiligen Beerenmatrix ohne Inhibierung zum Zeitpunkt des Extraktionsbeginns angeben. Um auch Aufschluss über die Konzentrationen direkt nach Zerstörung des Zellgewebes zu erhalten, wurden zusätzlich Inhibierungsversuche durchgeführt (siehe 4.1.1.3).

Zur zusätzlichen Absicherung der Quantifizierung wurde die relative Wiederfindungsrate für (*Z*)-Hex-3-enal (bezogen auf Heptan-2-ol) durch Versuche mit 10-fach erhöhten und 10-fach erniedrigten Substanzmengen bestätigt (Anhang, Tabelle 33).

Die aus frischen Stachelbeeren gewonnenen Extrakte wurden jeweils innerhalb einer Woche der kapillargaschromatographischen Analyse unterzogen. Um auch in dieser Zeit unter den gegebenen Bedingungen die Stabilität von (*Z*)-Hex-3-enal zu gewährleisten, wurden zwei weitere Versuche durchgeführt. Einerseits wurde eine definierte Menge (*Z*)-Hex-3-enal in Lösemittel (Diethylether/*n*-Pentan; 1/1) über 100 Tage regelmäßig kapillargaschromatographisch analysiert. Andererseits wurden zwei mittels VHS aus Stachelbeeren gewonnene Extrakte innerhalb von 15 Tagen mehrfach analysiert. In beiden Fällen lag die relative Standardabweichung der Konzentration an (*Z*)-Hex-3-enal unter 6 %. Die Stabilität von (*Z*)-Hex-3-enal in dem verwendeten Lösemittel sowie die Stabilität der Extrakte unter den gegebenen Bedingungen war somit innerhalb des Zeitraums der Analysen gewährleistet.

Ester

Ester sind primäre Aromastoffe und existieren aufgrund von biogenetischen Prozessen bereits im intakten Gewebe der Pflanze. In den Stachelbeeren-Extrakten dominierten vor allem kurzkettige Ester, hauptsächlich gesättigte und ungesättigte Buttersäureester. Methyl- und Ethylester sind weit verbreitet und wurden in zahlreichen Früchten nachgewiesen (Werkhoff *et al.* 1998, Young *et al.* 1995, Schreier 1980, Hakala *et al.* 2002). Das Konzentrationsverhältnis von Methyl- und Ethylestern liegt jedoch in den meisten Früchten auf der Seite der Ethylester oder es existiert kein nennenswerter Konzentrationsunterschied. Das dominierende Vorkommen von Methylestern, wie es in Stachelbeeren nachgewiesen wurde, war bisher nur für wenige Früchte, wie beispielsweise Ananas (Takeoka *et al.* 1989), bekannt.

Variabilität der Zusammensetzung des flüchtigen Profils

Durch die Analyse zahlreicher Chargen wurde ein umfangreiches Bild der natürlichen Variabilität der Zusammensetzung des flüchtigen Profils frischer Stachelbeeren erhalten. Das hierzu verwendete Probenmaterial ließ sich in zwei Gruppen teilen. Einerseits wurden sieben unterschiedliche Sorten Stachelbeeren analysiert: *Ribes uva crispa* var. *sativum* Invicta (grün), Frühe Rote (orange), Rote Eva (rot), Tixia (rot), Xenia (rot), Späte Spitze (grün) und Bekay (rot). Die Beeren wurden im genussreifen Zustand geerntet, der durch eine Mitarbeiterin der LVWO Weinsberg anhand einer visuellen und sensorischen Beurteilung sowie eines Drucktests festgestellt wurde. Das Erntedatum dieser Beeren war bekannt und sie wurden innerhalb von zwei Tagen nach der Ernte extrahiert. Zusätzlich erfolgte die Extraktion von sieben Chargen der gleichen Sorte (Achilles). Da diese Beeren aus dem kommerziellen Handel bezogen wurden, war das Erntedatum nicht bekannt. Die Aufarbeitung dieser Früchte erfolgte innerhalb von zwei Tagen nach Kauf der Ware. Abbildung 5 zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Stoffklassen in den 14 Chargen Stachelbeeren.

C₆-Komponenten und Ester dominieren in allen untersuchten Chargen, ihre Verteilung variiert jedoch drastisch. Innerhalb der sieben unterschiedlichen Sorten, die alle im genussreifen Zustand geerntet wurden, erstreckt sich der Anteil an Estern von 1 % (Invicta) bis 26 % (Bekay) und der Anteil der C₆-Komponenten von 73 % (Bekay) bis 98 % (Invicta). Diese Variationen sind innerhalb der Sorte Achilles mit einem Esteranteil von 5 % bis 56 % und einem Anteil an C₆-Komponenten von 40 % bis 93 % sogar noch größer.

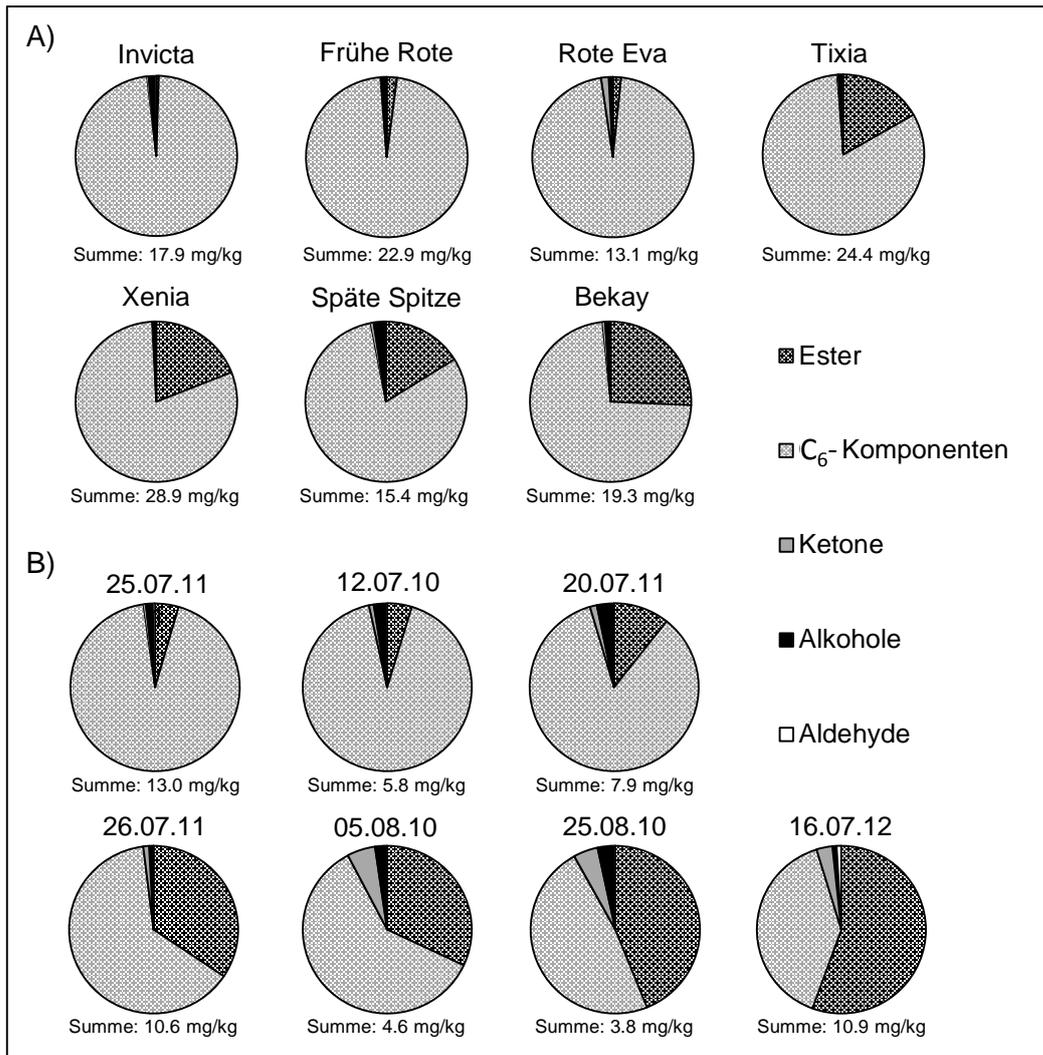


Abbildung 5: Verteilung der Stoffgruppen A) in sieben unterschiedlichen Stachelbeeren-Sorten zum Zeitpunkt der Reife und B) in sieben Chargen der Sorte Achilles (Kaufdatum angegeben)

Als nicht klimakterische Früchte können Stachelbeeren nicht vor dem Erreichen der optimalen Reife geerntet werden, um die Reifung anschließend im Lager durchzuführen. Da Stachelbeeren aber sehr druckempfindlich sind, werden sie dennoch häufig vor dem Zeitpunkt der Vollreife geerntet, um unbeschadet im Handel angeboten werden zu können. Die im Rahmen dieser Arbeit analysierten Stachelbeeren der roten Sorte Achilles, die im Handel erworben wurden, waren stets unterschiedlich stark gerötet und wiesen häufig noch grüne Stellen auf. Da Änderungen des flüchtigen Profils in Abhängigkeit von der Reife für viele Früchte bekannt sind, wird dieser Einfluss in einem späteren Kapitel detailliert behandelt (siehe 4.1.1.5). Aber auch die unterschiedlich lange Lagerung der Beeren vor dem Erwerb kann zu den Differenzen beigetragen haben.

Neben der Stoffklassenverteilung spiegelt sich die Variabilität des flüchtigen Profils auch auf der Ebene der einzelnen Verbindungen wider. Dies ist in Tabelle 13 und Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Konzentrationen der C₆-Komponenten und Ester in sieben unterschiedlichen Stachelbeersorten nach VHS-Isolierung

	Bekay	Späte Spitze	Xenia	Tixia	Rote Eva	Frühe Rote	Invicta
C ₆ -Komponenten	[µg/kg]						
(Z)-Hex-3-enal	11188 ± 2541	8192 ± 1595	21014 ± 2127	16868 ± 1177	8010 ± 1559	20559 ± 2530	14436 ± 1689
(E)-Hex-2-enal	1441 ± 299	3431 ± 273	1247 ± 152	1666 ± 65	2952 ± 222	982 ± 34	1845 ± 175
(Z)-Hex-3-en-1-ol	862 ± 30	496 ± 74	398 ± 59	460 ± 35	507 ± 98	282 ± 27	761 ± 178
Hexanal	123 ± 20	105 ± 19	166 ± 7	207 ± 18	156 ± 29	174 ± 16	219 ± 42
(E)-Hex-2-en-1-ol	133 ± 50	202 ± 112	29 ± 10	64 ± 7	601 ± 166	26 ± 2	133 ± 17
(E)-Hex-3-enal	269 ± 79	41 ± 4	301 ± 91	719 ± 57	324 ± 49	111 ± 13	43 ± 2
(Z)-Hex-2-enal	14 ± 4	18 ± 1	26 ± 5	24 ± 3	16 ± 2	21 ± 1	24 ± 2
Hexan-1-ol	33 ± 8	15 ± 2	7 ± 2	15 ± 3	39 ± 10	6 ± 6	23 ± 5
(E)-Hex-3-en-1-ol	27 ± 7	n.d. ^a	n.q. ^b	11 ± 5	22 ± 8	n.q.	n.q.
Σ	14090	12500	23189	20035	12628	22160	17486
Ester							
Methylbutanoat	2984 ± 323	1811 ± 350	4609 ± 642	3740 ± 418	45 ± 9	347 ± 118	48 ± 21
Ethylbutanoat	1557 ± 312	475 ± 163	651 ± 31	195 ± 66	62 ± 29	3 ± 4	10 ± 11
Methyl-(E)-but-2-enoat	191 ± 50	85 ± 23	79 ± 4	47 ± 6	11 ± 1	n.d.	n.d.
Ethyl-(E)-but-2-enoat	175 ± 75	51 ± 21	44 ± 9	13 ± 8	17 ± 10	n.d.	n.d.
Methylhexanoat	36 ± 7	28 ± 2	61 ± 7	56 ± 3	n.q.	39 ± 13	3 ± 3
Ethylhexanoat	11 ± 2	2 ± 2	6 ± 1	n.q.	n.q.	n.d.	n.q.
Methyloctanoat	8 ± 3	18 ± 4	22 ± 2	19 ± 1	14 ± 7	62 ± 20	6 ± 3
Benzylacetat	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	36 ± 7	n.d.	n.d.
Methylbenzoat	n.d.	7 ± 0	24 ± 12	13 ± 2	11 ± 7	4 ± 1	13 ± 3
Methyldecanoat	n.q.	n.q.	4 ± 0	6 ± 0	4 ± 1	8 ± 2	2 ± 3
Ethylbenzoat	n.d.	n.q.	4 ± 1	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.
Ethyl-octanoat	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	4 ± 1
Σ	4960	2495	5504	4088	211	463	86

a: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (0,6 g/kg) lag. b: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (1,7 µg/kg) lag.

Tabelle 13: Konzentrationen der C₆-Komponenten und Ester in sieben Chargen Stachelbeeren der Sorte Achilles nach VHS-Isolierung

Kaufdatum:	16.07.12	26.07.11	25.07.11	20.07.11	25.08.10	05.08.10	12.07.10
C ₆ -Komponenten	[µg/kg]						
(Z)-Hex-3-enal	1783 ± 449	5578 ± 785	11045 ± 358	4919 ± 1285	1128 ± 81	1279 ± 410	2712 ± 335
(E)-Hex-2-enal	2302 ± 292	891 ± 88	728 ± 117	1401 ± 502	509 ± 157	1046 ± 360	1818 ± 29
(Z)-Hex-3-en-1-ol	113 ± 20	127 ± 52	195 ± 45	177 ± 14	71 ± 11	167 ± 89	327 ± 64
(E)-Hex-3-enal	50 ± 13	60 ± 8	62 ± 23	91 ± 36	25 ± 7	46 ± 21	62 ± 4
(E)-Hex-2-en-1-ol	92 ± 25	25 ± 3	15 ± 4	71 ± 30	66 ± 8	179 ± 105	362 ± 70
Hexanal	38 ± 7	32 ± 4	52 ± 4	46 ± 11	12 ± 1	21 ± 6	35 ± 6
(Z)-Hex-2-enal	7 ± 2	7 ± 1	12 ± 1	9 ± 1	n.q.	4 ± 2	14 ± 3
Hexan-1-ol	6 ± 5	n.q.	n.q.	6 ± 2	n.d.	7 ± 4	15 ± 4
(E)-Hex-3-en-1-ol	n.q. ^a	n.d. ^b	n.d.	6 ± 0	n.d.	7 ± 4	14 ± 5
Σ	4392	6765	12108	6726	1811	2755	5359
Ester							
Methylbutanoat	3810 ± 551	2523 ± 846	387 ± 129	628 ± 132	1276 ± 137	858 ± 414	166 ± 50
Methyl-(E)-but-2-enoat	889 ± 145	232 ± 45	28 ± 3	68 ± 31	267 ± 34	293 ± 18	17 ± 4
Ethylbutanoat	846 ± 104	707 ± 151	112 ± 12	73 ± 19	47 ± 35	136 ± 55	48 ± 31
Ethyl-(E)-but-2-enoat	514 ± 100	126 ± 35	12 ± 4	17 ± 7	22 ± 17	120 ± 60	8 ± 6
Methylhexanoat	54 ± 9	48 ± 9	20 ± 2	22 ± 5	26 ± 5	31 ± 6	13 ± 3
Ethylhexanoat	8 ± 0	7 ± 2	n.q.	n.q.	n.d.	4 ± 4	3 ± 0
Methyloctanoat	7 ± 1	7 ± 2	21 ± 1	24 ± 1	10 ± 1	12 ± 4	11 ± 2
Methylbenzoat	4 ± 1	n.d.	n.d.	2 ± 4	n.d.	4 ± 2	5 ± 1
Benzylacetat	3 ± 3	n.d.	n.d.	4 ± 0	n.d.	n.q.	n.d.
Ethyloctanoat	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.
Methyldecanoat	n.d.	n.d.	4 ± 1	4 ± 1	n.q.	3 ± 1	3 ± 0
Ethylbenzoat	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Σ	6135	3650	584	842	1648	1461	274

a: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. b: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 g/kg) lag.

In allen untersuchten Chargen wurden (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat als Hauptkomponenten bestätigt, die Konzentrationen der einzelnen Verbindungen sowie der Summe an flüchtigen Komponenten variierten jedoch stark. Die Konzentrationen für (*Z*)-Hex-3-enal erstrecken sich beispielsweise von 8010 µg/kg (Rote Eva) bis 21014 µg/kg (Xenia) und die von Methylbutanoat von 45 µg/kg (Rote Eva) bis 4609 µg/kg (Xenia). Aber abgesehen von je einer Ausnahme (Achilles vom 16.07.12 bzw. Rote Eva) blieb das Muster innerhalb der Gruppen der Ester und der C₆-Komponenten konstant: (I) Methylester dominierten über Ethylester und (II) (*Z*)-Hex-3-enal stellte die Haupt-C₆-Komponente dar, gefolgt von (*E*)-Hex-2-enal sowie den korrespondierenden Alkoholen (*Z*)-Hex-3-en-1-ol und (*E*)-Hex-2-en-1-ol.

Die direkt nach der Ernte erhaltenen Stachelbeeren zeigten außerdem eine generell höhere Konzentration an (*Z*)-Hex-3-enal im Vergleich zu den aus dem Handel erworbenen Beeren (8010 – 21014 µg/kg für verschiedene Sorten bzw. 1128 – 11045 µg/kg für Achilles). Dies ist vermutlich auf die unterschiedliche Lagerdauer der Früchte zurückzuführen.

Die bereits früher untersuchten Theaspirane I und II (Humpf *et al.* 1992) wurden nur in Beeren der Sorte Invicta, Tixia und Späte Spitze, sowie in zwei weiteren Chargen unbekannter Sorte, nachgewiesen.

4.1.1.3 Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum von C₆-Verbindungen

C₆-Komponenten werden nach der Zerstörung von pflanzlichem Gewebe durch enzymkatalysierte Reaktionen aus ungesättigten Fettsäuren gebildet. Das originär entstehende Spektrum kann jedoch sehr schnell durch nachfolgende Reaktionen verändert werden.

Da die Gruppe der C₆-Verbindungen einen großen Teil des flüchtigen Spektrums von frischen Stachelbeeren ausmacht, sollte untersucht werden, inwiefern das nach Zerkleinern freigesetzte Spektrum an C₆-Verbindungen nachfolgenden Modifikationen unterliegt. Um die Dynamik der Bildung innerhalb eines bestimmten Zeitfensters zu verfolgen, wurde die Isolierung mittels VHS zusätzlich unter Enzyminhibierenden Bedingungen durchgeführt. Die Inhibierung erfolgte zu unterschiedlichen Zeitpunkten (30, 60, 90 und 180 Sekunden) nach der Homogenisierung und die Resultate wurden mit dem C₆-Spektrum unter nicht inhibierten Bedingungen derselben Charge verglichen.

Verschiedene Varianten der Enzyminhibierung wurden bereits erfolgreich bei Früchten und Gemüse eingesetzt (Iwaoka *et al.* 1994, Girard und Kopp 1998, Bartley und Schwede 1989). Calciumchloridlösung (CaCl₂-Lösung) zeigte sich für Tomaten am besten geeignet, da im Gegensatz zu Natriumchloridlösung keine Isomerisierung von (*Z*)-Hex-3-enal zu (*E*)-Hex-2-enal für eine Extraktionszeit von bis zu drei Stunden beobachtet wurde (Buttery *et al.*

1987). In Anlehnung daran wurde gesättigte CaCl_2 -Lösung als Inhibitor für die Untersuchung der Stachelbeeren gewählt. Für einen zweiten Ansatz des gleichen Versuchs wurde die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) als Extraktionsmethode gewählt. Beide Versuche lieferten ein fast identisches Bild. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6 dargestellt:

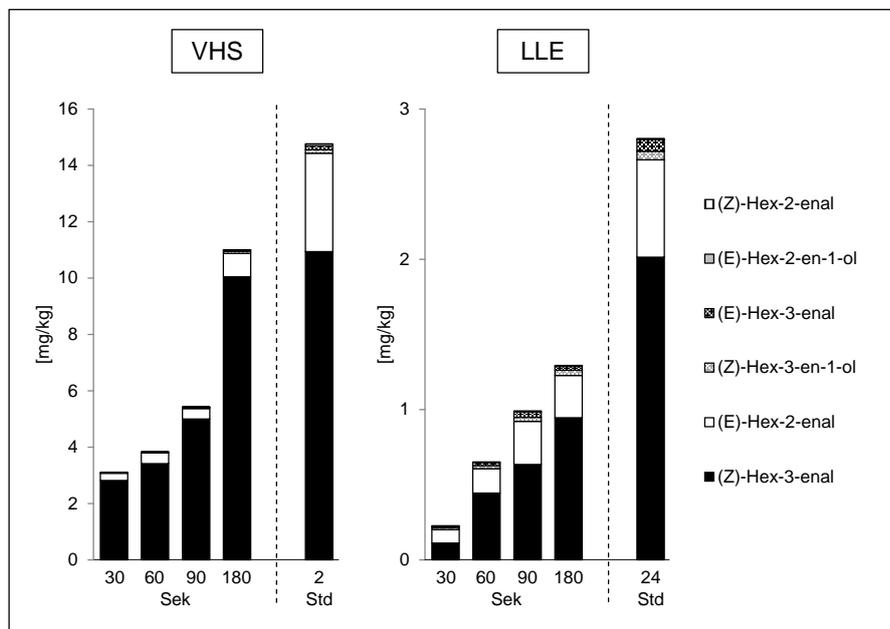


Abbildung 6: Durch Vakuum Headspace Extraktion und Flüssig-Flüssig-Extraktion ermittelte Konzentrationen der C_6 -Komponenten in Stachelbeeren: Enzyminhibierung nach unterschiedlichen Zeitintervallen (30, 60, 90 und 180 Sekunden) sowie ohne Inhibierung (2 bzw. 24 Stunden Extraktionszeit)

Erwartungsgemäß nahm die Summe an C_6 -Komponenten mit längerer Enzymaktivität zu. Außerdem konnte ein konsistentes Übergewicht an (*Z*)-Hex-3-enal und (*E*)-Hex-2-enal festgestellt werden. Sogar nach zwei (VHS) bzw. 24 (LLE) Stunden Extraktionszeit ohne Inhibierung der Enzyme wurden keine starken Veränderungen in der prozentualen Verteilung der einzelnen C_6 -Komponenten beobachtet. Das Profil blieb über den gesamten Zeitraum nahezu konstant. Allgemein war nach LLE-Extraktion aber ein etwas größerer Anteil an (*E*)-Hex-2-enal festzustellen. Dieser ist vermutlich entweder durch die längere Extraktionsdauer oder durch die längere Zeitspanne zwischen Homogenisierung und Start der Extraktion bei LLE (ca. 30 Minuten vs. 10 Minuten bei VHS) bedingt. Ursache für die unterschiedlichen Summenkonzentrationen an C_6 -Verbindungen nach VHS- bzw. LLE-Isolierung ist die Verwendung verschiedener Chargen Stachelbeeren.

4.1.1.4 Chirale Verbindungen in Stachelbeeren

Oct-1-en-3-ol stellt die einzige chirale Verbindung dar, die in Stachelbeeren in höheren Konzentrationen (> 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) vorkommt (Tabelle 9). In natürlichen Matrices liegen chirale Verbindungen meist mit hoher optischer Reinheit vor. Eine hohe optische Reinheit zugunsten

des (*R*)-Enantiomers wurde für Oct-1-en-3-ol bereits in verschiedenen Speisepilzen (Freytag und Ney 1968, Zawirska-Wojtasiak 2004) sowie in Kornelkirschen und im Feuerdorn (Dolezal *et al.* 2003) nachgewiesen.

Als Ursache der hohen optischen Reinheit ist der enzymatische Bildungsweg der Verbindung zu sehen, der in Champignons (*Psalliota bispora*) weitgehend aufgeklärt ist: (*R*)-Oct-1-en-3-ol wird nach der Zerstörung des Pilzgewebes aus Linolsäure, der Hauptfettsäure der Champignonlipide (Holtz und Schisler 1971), gebildet (Tressl *et al.* 1982). Nach dem von Wurzenberger und Grosch (1984) postulierten Bildungsweg findet die Spaltung von Linolsäure zu (*R*)-Oct-1-en-3-ol und 10-oxo-*trans*-8-Decensäure über das Zwischenprodukt 10-Hydroperoxylinolsäure statt. In einer weiteren Arbeit (Grosch und Wurzenberger 1985) wurde deren absolute Konfiguration als (*S*)-10-Hydroperoxylinolsäure bestimmt. Dies wurde auch von Matsui *et al.* (2003) und von Akakabe *et al.* (2005) bestätigt. Der vorgeschlagene Bildungsweg ist in Abbildung 7 schematisch dargestellt.

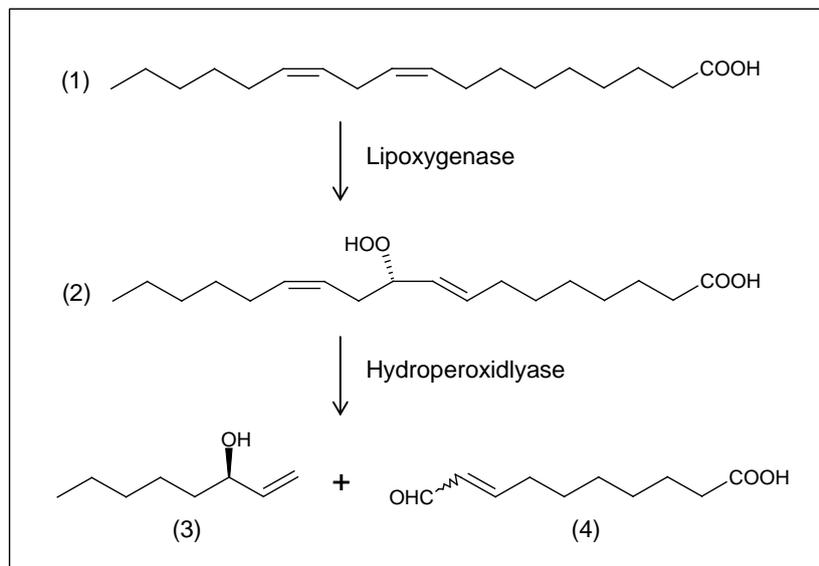


Abbildung 7: Postulierter Bildungsweg für (*R*)-Oct-1-en-3-ol in Pilzen: (1) Linolsäure; (2) (*S*)-10-Hydroperoxylinolsäure; (3) (*R*)-Oct-1-en-3-ol; (4) 10-Oxo-8-decensäure (nach Akakabe *et al.* (2005))

Ziel dieser Untersuchung war es, die in Stachelbeeren vorliegende Enantiomerenverteilung von Oct-1-en-3-ol zu bestimmen, um auf eine enzymatische oder autoxidative Bildung der Substanz schließen zu können. Durch Autoxidation entstandenes Oct-1-en-3-ol liegt in nahezu racemischem Verhältnis der beiden Enantiomere vor, wie am Beispiel von autoxidiertem und gelagertem Sojaöl gezeigt wurde (Freytag und Ney 1968). Die Untersuchung der Enantiomerenverhältnisse von Oct-1-en-3-ol aus Stachelbeeren erfolgte mit Hilfe der Multidimensionalen Gaschromatographie (MDGC). Diese Methode ermöglicht eine direkte Untersuchung von chiralen Verbindungen, wobei die Trennung der flüchtigen

Fraktion der Stachelbeeren an einer achiralen Phase und die nachfolgende Stereodifferenzierung ausgewählter Substanzen an einer chiralen Phase durchgeführt wurden (Bedingungen siehe 3.2.4).

Wie aus Abbildung 8 ersichtlich ist, konnten unter Verwendung von 2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin als chiraler stationärer Phase die Enantiomere von Oct-1-en-3-ol getrennt werden. Die Bestimmung der Elutionsreihenfolge erfolgte mit Hilfe eines aus Champignons gewonnenen VHS-Extraktes.

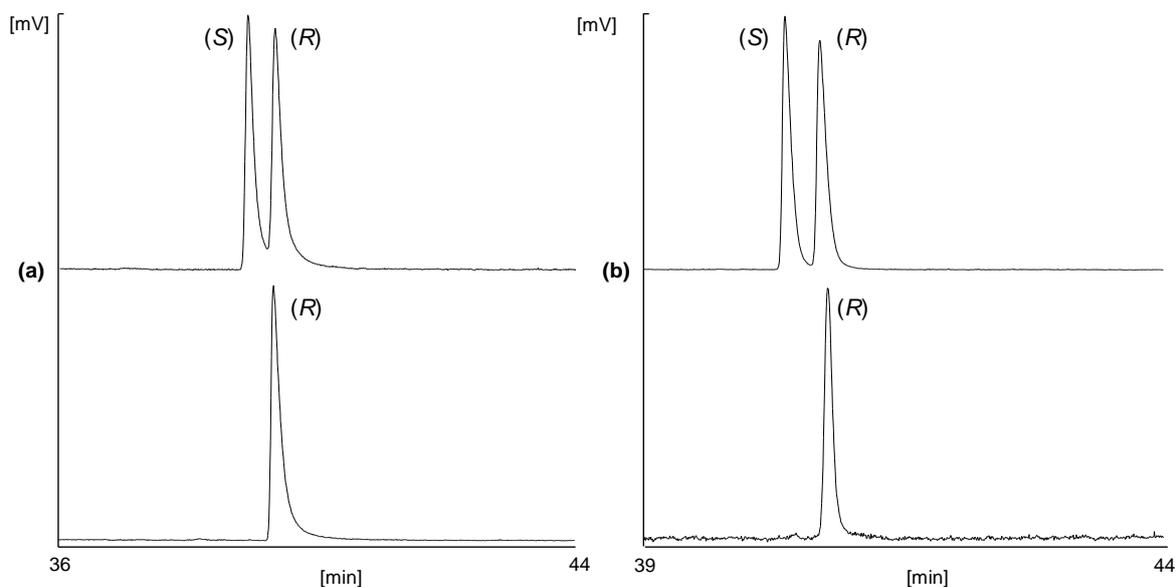


Abbildung 8: Enantioselektive MDGC-Analyse von Oct-1-en-3-ol (MD-GC-Bedingungen siehe Material und Methoden): a) einer Referenz (oben) und eines VHS-Extraktes frischer Stachelbeeren (unten); b) einer Referenz (oben) und eines VHS-Extraktes tiefkühlgelagerter Stachelbeeren (unten)

Es wurden die Enantiomerenverhältnisse in mittels VHS gewonnenen Extrakten aus unterschiedlichen Stachelbeersorten, in unterschiedlichen Reifestadien sowie vor bzw. nach Tiefkühlagerung untersucht. Wie die in Tabelle 14 dargestellten Ergebnisse zeigen, lag stets das (*R*)-Enantiomer in hoher optischer Reinheit vor. Lediglich nach achtmonatiger Gefrierlagerung zeigte sich eine leichte Erhöhung des Anteils des (*S*)-Enantiomers (bis 5 %), welche auf eine autoxidative Bildung zurückzuführen ist.

Tabelle 14: Enantiomerenzusammensetzungen von Oct-1-en-3-ol in VHS-Extrakten aus Stachelbeeren

	Enantiomerenzusammensetzung [%]				
	(S)	(R)	(S)	(R)	
<u>Frischen Stachelbeeren:</u>				<u>Verschiedene Reifestadien:</u>	
Achilles	<1	> 99	Bekay unreif	<1	> 99
Xenia	<1	> 99	Bekay reif	<1	> 99
Tixia	<1	> 99	Bekay überreif	<1	> 99
Bekay	<1	> 99	Xenia unreif	<1	> 99
Späte Spitze	<1	> 99	Xenia reif	<1	> 99
Rote Eva	<1	> 99	Xenia überreif	<1	> 99
Unbekannt 1	<1	> 99	<u>Nach Tiefkühlagerung (acht Monate):</u>		
Unbekannt 2	<1	> 99	Achilles	5	95
Frühe Rote	<1	> 99	Unbekannt 1	<1	> 99
Mucurines	<1	> 99	Invicta	1	99
Invicta	<1	> 99			

4.1.1.5 Einfluss der Reife

Aufgrund der Tatsache, dass nicht nur die flüchtigen Profile verschiedener Stachelbeersorten stark variierten, sondern auch innerhalb der Sorte Achilles starke Unterschiede festgestellt wurden und reifeabhängige Änderungen des flüchtigen Profils für verschiedene Früchte bereits bekannt sind (Wan *et al.* 1999, Wyllie *et al.* 1996, Paterson *et al.* 1991, Serradilla *et al.* 2010, Mehinagic *et al.* 2006, Blekas *et al.* 1994, Zhang *et al.* 2010, Sinuco *et al.* 2010, Buttery 1993), wurden drei unterschiedliche Sorten Stachelbeeren zu drei unterschiedlichen Reifezeitpunkten untersucht: unreif, (genuss-) reif und überreif. Die Farbe aller untersuchten Beeren änderte sich von grün (unreif) über hellrot (reif) zu dunkelrot (überreif), wie in Abbildung 9 beispielhaft für die Sorte Bekay gezeigt ist.

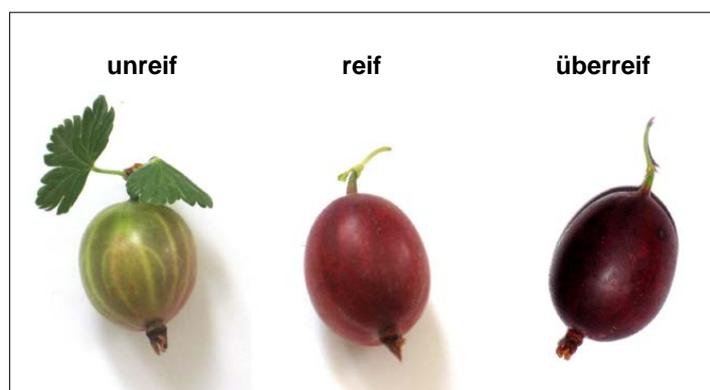


Abbildung 9: Stachelbeeren der Sorte Bekay in unterschiedlichen Reifestadien

Während der Reifung der Früchte traten zwei auffällige Veränderungen ein: (I) Die Menge der sekundär gebildeten C₆-Komponenten sank: Bei Xenia von 97 auf 52 %, bei Bekay von 94 auf 31 % und bei Achilles von 93 auf 63 %. (II) Die Menge der primär gebildeten Ester

nahm hingegen stark zu: Bei Xenia von 1 auf 47 %, bei Bekay von 3 auf 65 % und bei Achilles von 4 auf 34 %. Die Konzentrationsänderungen der einzelnen Komponenten der beiden Stoffgruppen sind in Abbildung 10 dargestellt.

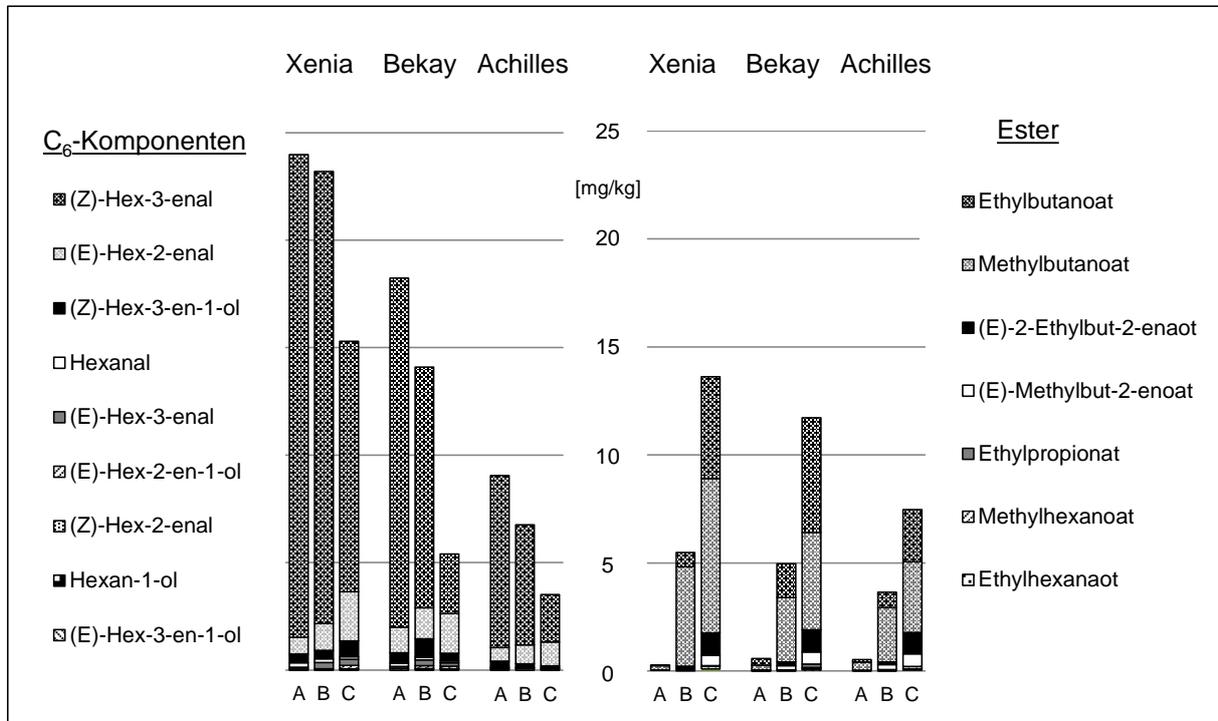


Abbildung 10: Konzentrationen der C₆-Komponenten und Ester in drei Stachelbeersorten zu unterschiedlichen Reifezeitpunkten: A: unreif, B: reif, C: überreif.

Die Abnahme der Summe an C₆-Komponenten wurde hauptsächlich durch die starke Abnahme von (Z)-Hex-3-enal verursacht. Die Konzentrationen der meisten anderen C₆-Komponenten nahmen sogar leicht zu. Auch Änderungen innerhalb der prozentualen Verteilung der C₆-Komponenten lassen vermuten, dass es mit zunehmender Reife der Frucht zu Änderungen der Aktivität der an der Bildung der C₆-Komponenten beteiligten Enzyme kommt: Die Aktivität der Isomerasen und Alkoholdehydrogenasen scheint zuzunehmen, woraus höhere prozentuale Anteile von (E)-Hex-2-enal, (E)-Hex-3-enal, (Z)-Hex-3-en-1-ol und (E)-Hex-2-en-1-ol resultieren. Die Ursachen für reifeabhängige Änderungen des flüchtigen Profils einer Frucht können sowohl veränderte Enzymaktivitäten als auch eine veränderte Substratverfügbarkeit sein (Wyllie *et al.* 1996, Leone *et al.* 2006, Riley *et al.* 1996). Die verminderte Bildung von (Z)-Hex-3-enal könnte also einerseits durch geringere Konzentrationen des Substrates Linolensäure, andererseits durch eine verminderte Aktivität der an der Bildung beteiligten Lipoxygenase oder Hydroperoxidlyase verursacht werden. Reifeabhängige Änderungen der Lipoxygenase- und Hydroperoxidlyaseaktivität wurden bereits in Erdbeeren festgestellt (Pérez *et al.* 1998).

Innerhalb der Gruppe der Ester gibt es kaum reifeabhängige Änderungen in der prozentualen Verteilung. Der Anteil an Methylbutanoat erreicht im reifen Zustand ein Maximum und nimmt im überreifen Zustand wieder leicht ab. Zusätzlich wurden reifeabhängige Abnahmen der Konzentrationen der ebenfalls enzymatisch gebildeten Verbindungen Pent-1-en-3-ol und (*R*)-Oct-1-en-3-ol sowie Zunahmen für Pentan-2-on, Acetophenon und 2-Methylpropanol festgestellt.

Mit der Reife zunehmende Esterkonzentrationen wurden bereits für viele andere Früchte gezeigt (Wan *et al.* 1999, Fellman und Mattheis 1995, Mehinagic *et al.* 2006). Es steigt der katabole Stoffwechsel der Frucht und durch verstärkte Glykolyse oder auch β -Oxidation steht vermehrt Substrat zur Estersynthese bereit. Bezüglich reifeabhängiger Änderungen des C₆-Profils wurden für verschiedene Früchte unterschiedliche Verläufe beobachtet: Während in Pfirsichen, Äpfeln und kolumbianischer Guave mit zunehmender Reife Abnahmen für die meisten C₆-Komponenten festgestellt wurden, wurden in Kiwis keine signifikanten Änderungen, in Tomaten und Süßkirschen aber sogar Zunahmen detektiert (Wan *et al.* 1999, Serradilla *et al.* 2010, Mehinagic *et al.* 2006, Blekas *et al.* 1994, Zhang *et al.* 2010, Sinuco *et al.* 2010, Buttery 1993).

4.1.1.6 Einfluss der Tiefkühlagerung

Aufgrund der bekannten Tatsache, dass sich der Geruch von Lebensmitteln durch die Zubereitung oder Lagerung stark verändern kann (Siegmond *et al.* 2001, Perez-Cacho und Rouseff 2008, Kumazawa und Masuda 2001), wurden zusätzlich zur Analyse der frischen Früchte fünf Chargen Stachelbeeren nach Tiefkühlagerung untersucht. Das Aroma der aufgetauten Stachelbeeren unterschied sich stark vom dem der frischen Früchte. Die frische, grüne Note war nahezu komplett verschwunden und stark fruchtig-butterige sowie muffig-ranzige Noten überwogen. Durch die Analyse von zwei Chargen Achilles, zwei Chargen einer unbekannt, roten Sorte und einer Charge Invicta vor und nach einer Gefrierlagerung von acht Monaten wurden die Änderungen im flüchtigen Profil analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Nach VHS bestimmte Konzentrationen der flüchtigen Verbindungen aus frischen und tiefkühlgelagerten (acht Monate) Stachelbeeren unterschiedlicher Sorten

	Unbekannt, rot		Unbekannt, rot		Achilles		Achilles		Invicta	
	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren
	[µg/kg] ^a									
C₆-Komponenten:										
(Z)-Hex-3-enal	7511 ± 2302	20 ± 6	2169 ± 675	8 ± 1	1279 ± 410	8 ± 2	5578 ± 785	n.d. ^b	5134 ± 873	n.d.
(E)-Hex-2-enal	1853 ± 600	29 ± 11	1856 ± 424	15 ± 4	1046 ± 360	12 ± 2	891 ± 88	29 ± 2	2167 ± 201	64 ± 14
(Z)-Hex-3-en-1-ol	376 ± 89	18 ± 5	230 ± 61	6 ± 3	167 ± 89	5 ± 1	172 ± 52	14 ± 2	273 ± 44	43 ± 1
(E)-Hex-2-en-1-ol	164 ± 135	13 ± 3	249 ± 121	7 ± 2	179 ± 105	7 ± 2	25 ± 3	11 ± 2	227 ± 46	34 ± 4
(E)-Hex-3-enal	112 ± 49	n.d.	59 ± 24	n.d.	46 ± 21	n.d.	60 ± 8	n.d.	27 ± 3	n.d.
Hexanal	93 ± 31	125 ± 27	38 ± 7	82 ± 7	21 ± 6	82 ± 18	32 ± 4	123 ± 3	99 ± 2	200 ± 56
(Z)-Hex-2-enal	14 ± 2	n.d.	14 ± 3	n.d.	4 ± 2	n.d.	7 ± 1	n.d.	12 ± 1	n.d.
Hexan-1-ol	11 ± 4	17 ± 3	11 ± 5	12 ± 3	7 ± 4	12 ± 4	n.q. ^c	15 ± 4	14 ± 1	24 ± 7
(E)-Hex-3-en-1-ol	10 ± 8	n.d.	n.d.	n.d.	7 ± 4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ester:										
Methylbutanoat	3804 ± 1433	3027 ± 1272	213 ± 69	80 ± 11	858 ± 414	349 ± 53	2523 ± 846	418 ± 68	1241 ± 848	804 ± 2
Ethylbutanoat	831 ± 440	210 ± 104	78 ± 6	41 ± 8	136 ± 55	41 ± 11	707 ± 151	228 ± 50	349 ± 214	438 ± 80
(E)-2-Methylbut-2-enoat	192 ± 131	109 ± 63	36 ± 12	5 ± 2	100 ± 18	217 ± 58	232 ± 45	46 ± 8	21 ± 7	20 ± 2
(E)-2-Ethylbut-2-enoat	138 ± 81	21 ± 14	29 ± 1	4 ± 1	120 ± 60	22 ± 8	126 ± 35	35 ± 8	15 ± 2	31 ± 8
Methylhexanoat	76 ± 11	1 ± 1	10 ± 2	3 ± 0	31 ± 6	3 ± 0	48 ± 9	4 ± 3	22 ± 6	8 ± 2
Methyloctanoat	17 ± 3	n.d.	3 ± 2	n.d.	12 ± 4	n.d.	7 ± 2	n.d.	11 ± 2	2 ± 2
Ethylhexanoat	10 ± 2	n.d.	n.q.	n.d.	4 ± 4	n.d.	7 ± 2	n.d.	4 ± 1	n.d.
Aldehyde:										
Prop-2-enal	13 ± 0	n.d.	5 ± 3	n.d.	4 ± 1	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.
Nonanal	3 ± 1	7 ± 1	4 ± 2	7 ± 0	3 ± 0	9 ± 2	n.q.	8 ± 2	4 ± 1	10 ± 1
(E)-Hept-2-enal	n.d.	6 ± 1	n.d.	10 ± 3	n.d.	6 ± 3	n.q.	34 ± 13	n.q.	83 ± 61
Alkohole:										
(R)-Oct-1-en-3-ol	85 ± 16	131 ± 14	76 ± 8	88 ± 11	61 ± 21	50 ± 4	32 ± 6	113 ± 17	122 ± 11	270 ± 13
Pentanol	5 ± 2	93 ± 14	9 ± 3	93 ± 31	3 ± 1	69 ± 42	3 ± 3	80 ± 38	5 ± 1	113 ± 28
(Z)-2-Pent-2-en-1-ol	12 ± 2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4 ± 3	9 ± 1	n.d.	12 ± 1	7 ± 3
Pentan-2-ol	6 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	21 ± 21	13 ± 3	30 ± 23	5 ± 4	n.d.	n.q.
Pent-1-en-3-ol	5 ± 2	3 ± 0	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	10 ± 2	4 ± 1	13 ± 5	6 ± 3

	Unbekannt, rot		Unbekannt, rot		Achilles		Achilles		Invicta	
	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren	Frisch	Gefroren
Ketone:	[µg/kg] ^a									
Acetophenon	32 ± 11	22 ± 5	49 ± 7	22 ± 1	121 ± 39	97 ± 22	10 ± 3	5 ± 1	31 ± 5	64 ± 10
Heptan-2-on	n.d.	25 ± 4	n.d.	17 ± 11	n.d.	11 ± 1	6 ± 2	n.q.	n.d.	n.q.
Oct-1-en-3-on	n.d.	4 ± 1	n.d.	3 ± 0	n.d.	4 ± 1	n.d.	9 ± 3	n.d.	25 ± 18
6-Methylhept-5-en-2-on	n.d.	3 ± 2	n.d.	7 ± 5	n.d.	5 ± 3	n.d.	17 ± 7	n.d.	17 ± 8

a: Mittelwert ± Standardabweichung. b: nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (0,6 g/kg) lag. c: nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (1,7 µg/kg) lag.

Den stärksten Einfluss hatte das Tiefkühlen auf die aus Linolensäure gebildeten C₆-Komponenten. Nach Gefrierlagerung waren in den Stachelbeeren nur sehr geringe Mengen an ungesättigten Alkoholen und Aldehyden nachweisbar. Die Konzentrationen der aus Linolensäure entstehenden Verbindungen Hexanol, Hexanal und (*R*)-Oct-1-en-3-ol waren hingegen sogar erhöht. Aufgrund der optischen Reinheit (siehe 4.1.1.4) kann eine autoxidative Bildung von (*R*)-Oct-1-en-3-ol ausgeschlossen werden.

In Bezug auf die Ester wurde in den roten Stachelbeeren eine Abnahme der höher konzentrierten Verbindungen Methyl-, Ethylbutanoat, (*E*)-Methyl-, (*E*)-Ethylbut-2-enoat und Methyl-, Ethylhexanoat festgestellt. Diese Änderungen wurden von einem leichten Konzentrationsanstieg der Autoxidationsprodukte ungesättigter Fettsäuren, wie Nonanal, (*E*)-2-Hept-2-enal, Heptan-2-on, 6-Methylhept-5-en-2-on und Oct-1-en-3-on, begleitet. Außerdem kam es in allen untersuchten Chargen zu einem starken Anstieg der Konzentration von Pentanol, welches ein Nebenprodukt der alkoholischen Gärung darstellt. Die Esterkonzentrationen der frischen, grünen Stachelbeeren der Sorte Invicta zeigten starke Unterschiede. Nach Tiefkühlagerung wurde im Gegensatz zu den roten Früchten ein Anstieg der Konzentrationen von Ethylbutanoat, (*E*)-Methyl- und (*E*)-Ethylbut-2-enoat festgestellt.

Ähnliche Gefrierexperimente wurden in den vergangenen Jahren für verschiedene Früchte durchgeführt. Bereits 1988 stellte Pfannhauser Unterschiede in der Zusammensetzung der flüchtigen Verbindungen frischer und tiefgekühlter Kiwis fest. Die Abnahme der C₆-Komponenten und Buttersäureester korrelierte mit einer Veränderung des Geruchseindrucks der Früchte (Pfannhauser 1988). Auch Douillard und Guichard (1990) sowie Schreier (1980) beobachteten eine Abnahme der Konzentrationen der C₆-Komponenten und kurzkettigen Ester bereits nach einmonatiger Gefrierlagerung von Erdbeeren.

4.1.2 Einfluss anderer Isolierungsverfahren

4.1.2.1 Einleitung

Die Isolierung der flüchtigen Verbindungen stellt einen kritischen Schritt in der Aromaanalyse dar. Dies führte zur Entwicklung vieler unterschiedlicher Methoden, deren Vor- und Nachteile bereits in zahlreichen Arbeiten diskutiert wurden (Guadayol *et al.* 1997, Werkhoff *et al.* 1998, Pennarun *et al.* 2002, Caldeira *et al.* 2007). Die eingesetzten Methoden können in unterschiedlichem Maße zu qualitativen und quantitativen Veränderungen des originären flüchtigen Spektrums des Ausgangsmaterials führen. Vergleichende Untersuchungen flüchtiger Inhaltsstoffe unter Einsatz verschiedener Isolierungstechniken wurden an verschiedenen Beispielen, wie Paprika (Guadayol *et al.* 1997), Passionsfrucht (Werkhoff *et*

al. 1998) und der Rinde einer süd- und mittelamerikanischen Baumart (*Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC, bekannt als „Taheebo“) (Park *et al.* 2004) durchgeführt. Sie zeigten, dass die Techniken hinsichtlich der Zusammensetzung der Extrakte signifikante Unterschiede aufwiesen. Bei der Wahl des Isolierungsverfahrens ist es wichtig die Methode dem Zweck der Analyse anzupassen (Caldeira *et al.* 2007). Zur Aromaanalyse eines Lebensmittels empfiehlt sich beispielsweise die Anwendung der schonenden Vakuum Headspace Analyse (VHS). Unter anderem am Beispiel von Passionsfrucht (Werkhoff *et al.* 1998), Rhabarber (Dregus und Engel 2003) und Austern (Pennarun *et al.* 2002) wurde gezeigt, dass mittels VHS erhaltene Extrakte den originären Geruch der Frucht bzw. des Lebensmittels wiedergeben. Eine weitere etablierte Technik zur Extraktion flüchtiger Verbindungen aus komplexen Lebensmitteln stellt die „Solvent assisted flavour evaporation“ (SAFE) dar (Engel *et al.* 1999). Unter Anwendung dieser Isolierungstechnik gelang es beispielsweise authentische Extrakte aus Pinker Guave und Aprikose zu erhalten. Nach sensorischer und quantitativer Analyse der Extrakte konnten die typischen Aromenoten beider Früchte rekombiniert werden (Steinhaus *et al.* 2009, Greger und Schieberle 2007). Zur möglichst umfangreichen Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile eines Lebensmittels sollten parallel mehrere Methoden eingesetzt und miteinander verglichen werden. Zur Isolierung der flüchtigen Komponenten aus Stachelbeeren sollten daher neben der bereits diskutierten VHS-Technik zwei weitere Methoden zum Einsatz kommen: die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) nach Kutscher Steudel (Wieland und Sucrow 1982) und die Headspace-Analyse (HS). Die beiden genannten Methoden stellen ebenfalls schonende Verfahren dar, da die Isolierung der flüchtigen Verbindungen ohne thermische Belastung des Untersuchungsmaterials abläuft. Es war folglich nicht mit der Bildung thermischer Artefakte zu rechnen, wie beispielsweise bei der Anwendung der Simultanen Destillation-Extraktion (SDE) unter atmosphärischem Druck.

4.1.2.2 Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels LLE

Während die Aufarbeitung mittels VHS zu Isolaten mit typisch grünem, an frische Stachelbeeren erinnernden Geruch führte, wiesen die durch LLE erhaltenen Extrakte neben einem grünen Charakter ein stärker stechendes und saures Aroma auf. Da sowohl flüchtige als auch weniger flüchtige Verbindungen mittels LLE extrahiert werden, konnten neben den bereits mittels VHS analysierten Verbindungen 19 weitere identifiziert bzw. zugeordnet werden: Ethyl-2-hydroxy-2-phenylacetat, ein weiterer Phthalsäureester*, Isopentyllaurat*, Linalylacetat, Dodecanol, Phenol*, 2-Phenylethylalkohol, α -Methylbenzylalkohol*, (Z)-Cinaron*, β -Damsceon, Benzoesäure, Dodecansäure, 2-Ethylhexansäure, Hexadecansäure, 3-Hydroxybuttersäure, Pentansäure, Zimtsäure, Isobuttersäureanhydrid*

und Dehydrodihydroionon* (*keine Referenz vorhanden; Zuordnung durch Abgleich des Massenspektrums mit Literaturdaten). Insgesamt wurden sechs Chargen Stachelbeeren parallel mittels VHS und LLE aufgearbeitet.

Wie das beispielhafte Chromatogramm zeigt (Abbildung 11), waren in den LLE-Extrakten aus Stachelbeeren außerdem höherkettige Kohlenwasserstoffe enthalten. Aliphatische Kohlenwasserstoffe sind auch aus anderen Früchten, wie Aprikose (Takeoka *et al.* 1990), Sanddorn (Cakir 2004) und Kürbis (Kale und Laddha 2012) bekannt. Sie stellen biologisch stabile, weit verbreitete Komponenten dar, die endogen durch Decarboxylierung aus Fettsäuren gebildet werden (Iyer *et al.* 1998). Sie dienen vermutlich unter anderem dem Schutz der Pflanze vor Austrocknung und stellen eine Barriere gegen das Eindringen von Mikroorganismen dar (Kale und Laddha 2012). Ein anderer Ursprung der Kohlenwasserstoffe könnte aber auch in der Fruchtbehandlung der Stachelbeeren liegen, denn Paraffine (Gemische aus gereinigten, gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen) finden auch als Überzugsmittel bei Obst und Gemüse Anwendung (Eisenbrand *et al.* 2006).

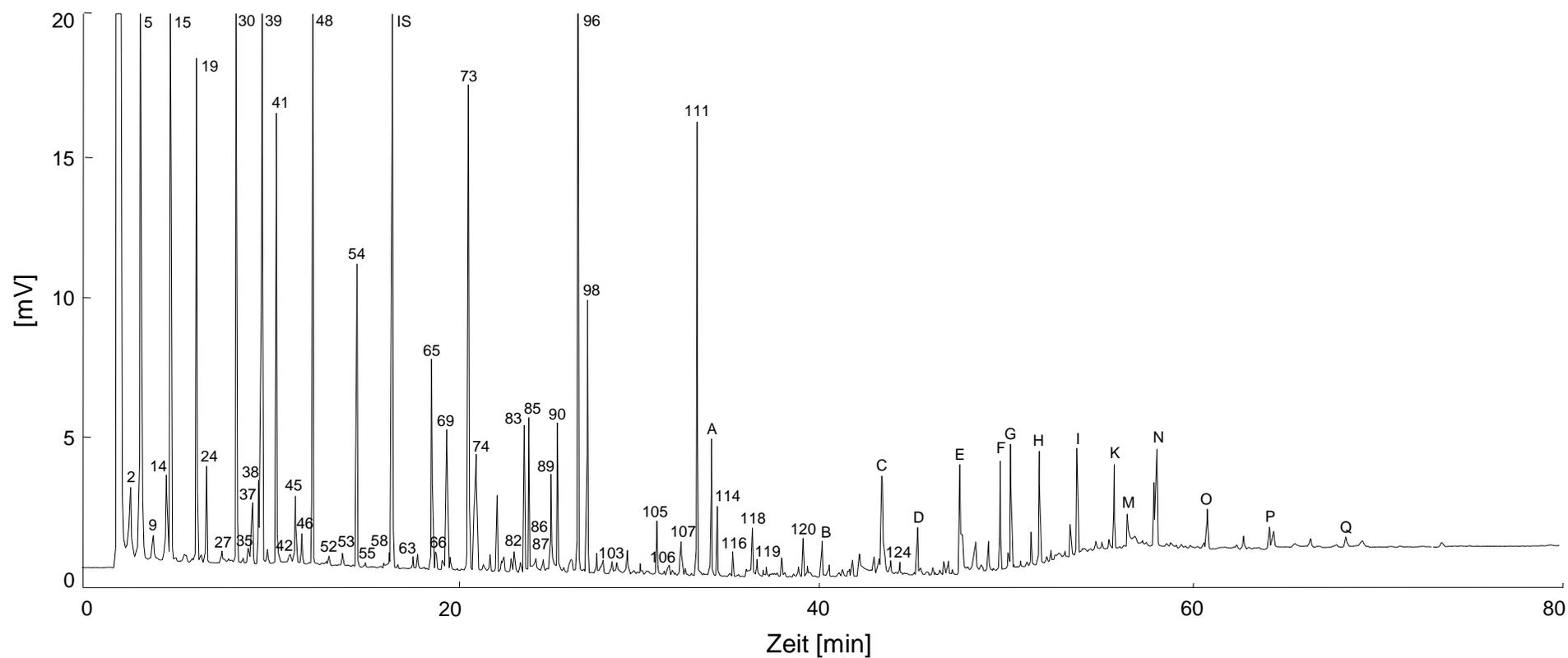


Abbildung 11: Kapillargaschromatographische Trennung (DB-WAX) der mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion aus Stachelbeeren (Achilles vom 05.08.10, Konzentrationen siehe Tabelle 16) isolierten flüchtigen Verbindungen (die angegebenen Nummern und Buchstaben entsprechen den Verbindungen in Tabelle 16; Bedingungen siehe Material und Methoden; IS: interner Standard Heptan-2-ol)

Die durch VHS- und LLE-Extraktion ermittelten Konzentrationen sind in Tabelle 16 für zwei beispielhafte Chargen gegenübergestellt. Die Quantifizierung mittels LLE erfolgte analog zur VHS-Analyse unter Verwendung eines internen Standards und unter Berücksichtigung von FID-Responsefaktoren sowie Wiederfindungsraten.

Tabelle 16: Konzentrationen der nach VHS und LLE quantifizierten Verbindungen aus zwei Chargen Stachelbeeren der Sorte Achilles

Nr. ^a Substanz	RI ^b	05.08.10		20.07.11		
		VHS	LLE	VHS	LLE	
[µg/kg] ^c						
<u>C₆-Komponenten</u>						
39 (Z)-Hex-3-enal	1139	1279 ± 410	1201 ± 275	4919 ± 1285	3387 ± 2055	d
48 (E)-Hex-2-enal	1209	1046 ± 360	1128 ± 133	1401 ± 502	1206 ± 239	d
69 (E)-Hex-2-en-1-ol	1407	179 ± 105	64 ± 9	71 ± 30	29 ± 9	d
65 (Z)-Hex-3-en-1-ol	1384	167 ± 89	92 ± 8	177 ± 14	113 ± 8	d
38 (E)-Hex-3-enal	1133	46 ± 21	135 ± 26	91 ± 36	193 ± 102	d
27 Hexanal	1076	21 ± 6	25 ± 4	46 ± 11	39 ± 8	d
63 Hexan-1-ol	1355	7 ± 4	3 ± 1	6 ± 2	n.q. ^h	d
64 (E)-Hex-3-en-1-ol	1363	7 ± 4	n.d. ⁱ	6 ± 0	n.q.	e
46 (Z)-Hex-2-enal	1194	4 ± 2	12 ± 1	9 ± 1	18 ± 2	f
<u>Ester</u>						
15 Methylbutanoat	981	858 ± 414	1042 ± 436	628 ± 632	440 ± 174	d
30 (E)-Methylbut-2-enoat	1101	293 ± 18	342 ± 102	68 ± 71	48 ± 23	d
19 Ethylbutanoat	1033	136 ± 55	212 ± 109	73 ± 99	39 ± 20	d
41 (E)-Ethylbut-2-enoat	1158	120 ± 60	193 ± 19	17 ± 25	10 ± 4	d
45 Methylhexanoat	1184	31 ± 6	28 ± 6	22 ± 5	30 ± 19	d
126 Phthalat	2540	17 ± 11	n.d.	n.d.	n.d.	f,k
66 Methyloctanoat	1388	12 ± 4	7 ± 1	24 ± 1	10 ± 2	e
94 Methylbenzoat	1613	4 ± 2	n.d.	2 ± 4	n.q.	d
52 Ethylhexanoat	1232	4 ± 4	3 ± 1	n.q.	n.d.	e
92 Methyldecanoat	1590	3 ± 1	n.d.	4 ± 1	n.q.	e
71 Ethyloctanoat	1434	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	e
103 Benzylacetat	1723	n.q.	5 ± 4	4 ± 0	n.d.	e
2 Ethylformiat	822	n.k. ^g	n.k.	n.k.	n.k.	e
5 Ethylacetat	886	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	e
F Phthalat	2490	n.d.	23	n.k.	n.d.	f,k
106 Isopropylaurat	1795	n.d.	14 ± 5	3 ± 1	5 ± 1	f
<u>Ketone</u>						
14 Pentan-2-on	970	121 ± 57	207 ± 132	49 ± 46	60 ± 30	d
98 Acetophenon	1641	121 ± 39	98 ± 16	43 ± 28	16 ± 8	d
18 Pent-1-en-3-on	1015	3 ± 1	n.d.	13 ± 3	4 ± 4	e
72 4-Hydroxypentan-2-on	1436	n.d.	28 ± 22	n.d.	n.d.	f
35 Pent-3-en-2-on	1117	n.d.	9 ± 3	n.d.	4 ± 4	e
A 2-(Z)-But-2-enyl-3-methyl-cyclopent-2-en-1-on	1847	n.d.	5 ± 1	n.d.	n.d.	f
43 Heptan-2-on	1174	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	e
90 Mesifuran	1587	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	d
54 Acetoin	1265	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	d
<u>Alkohole</u>						
74 (R)-Oct-1-en-3-ol	1452	61 ± 21	38 ± 6	230 ± 54	158 ± 1	d
37 Pentan-2-ol	1123	21 ± 21	44 ± 27	5 ± 1	15 ± 8	e

Nr. ^a Substanz	RI ^b	05.08.10		20.07.11		
		VHS	LLE	VHS	LLE	
[µg/kg] ^c						
125 Hexadecan-1-ol	2380	10 ± 3	n.d.	n.d.	n.d.	e
9 Ethanol	931	5 ± 1	11 ± 2	4 ± 1	14 ± 4	e
114 Benzylalkohol	1874	4 ± 2	20 ± 8	3 ± 0	n.d.	e
53 Pentan-1-ol	1252	3 ± 1	4 ± 0	n.q.	n.q.	e
42 Pent-1-en-3-ol	1161	3 ± 1	7 ± 0	6 ± 1	7 ± 7	e
87 Octan-1-ol	1560	n.q.	6 ± 1	n.q.	2 ± 2	e
78 2-Ethylhexan-1-ol	1491	n.q.	n.d.	n.q.	n.d.	e
21 2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	n.d.	5 ± 1	n.d.	n.d.	d
107 1-Phenylethan-1-ol	1810	n.d.	6 ± 4	n.d.	n.d.	e
58 (Z)-Pent-2-en-1-ol	1321	n.d.	6 ± 1	7 ± 2	12 ± 2	e
56 (E)-Pent-2-en-1-ol	1313	n.d.	n.d.	n.q.	10 ± 8	f
115 2-Phenylethylalkohol	1899	n.d.	n.d.	n.d.	3 ± 0	e
33 Pentan-3-ol	1110	n.d.	n.d.	n.q.	n.q.	e
<u>Aldehyde</u>						
67 Nonanal	1389	3 ± 0	8 ± 2	n.d.	n.q.	e
4 Prop-2-enal	863	4 ± 1	7 ± 4	n.q.	33 ± 33	e
36 (E)-Pent-2-enal	1121	n.q.	4 ± 0	5 ± 5	16 ± 8	e
82 Benzaldehyd	1512	n.q.	4 ± 2	3 ± 0	5 ± 1	e
55 Octanal	1276	n.q.	n.q.	n.d.	n.d.	e
70 (E)-Oct-2-enal	1422	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	e
1 Propanal	796	n.d.	n.d.	n.q.	11 ± 10	e
57 (E)-Hept-2-enal	1318	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	d
<u>Säuren</u>						
96 Buttersäure	1624	n.k.	986 ± 356	n.k.	103 ± 75	d
83 Propansäure	1533	n.k.	284 ± 102	n.k.	16 ± 16	d
111 Hexansäure	1844	n.k.	167 ± 38	n.k.	60 ± 42	d
M Zimtsäure	2849	n.k.	86 ± 39	n.k.	n.d.	d
118 (E)-Hex-3-ensäure	1951	n.k.	30 ± 3	n.k.	49 ± 40	d
105 (E)-But-2-ensäure	1768	n.d.	25 ± 8	n.k.	n.d.	e
120 Octansäure	2057	n.k.	15 ± 3	n.k.	11 ± 10	e
119 (E)-Hex-2-ensäure	1961	n.k.	10 ± 3	n.k.	n.d.	d
124 Decansäure	2245	n.k.	8 ± 4	n.k.	n.d.	e
100 2-Methylbuttersäure	1667	n.k.	n.d.	n.k.	2 ± 2	e
73 Essigsäure	1440	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	d
<u>Sonstige</u>						
116 3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxytoluol	1908	126 ± 51	7	53 ± 46	89 ± 47	f
95 β-Cyclocitral	1598	2 ± 1	n.d.	n.d.	n.d.	e
76 (E,E)-Hepta-2,4-dienal	1483	n.q.	n.d.	n.q.	n.d.	e
24 2,3,5-Trimethylfuran	1050	n.d.	27 ± 17	32 ± 20	30 ± 20	f
86 Linalool	1548	n.d.	6 ± 5	n.d.	4 ± 3	e
91 Propylenglykol	1588	n.d.	n.d.	n.d.	34 ± 8	e
85 Butan-2,3-diol	1538	n.d.	n.k.	n.k.	n.k.	d
89 Butan-2,3-diol	1576	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	d
I Kohlenwasserstoff C 27	2700	n.d.	28 ± 5	n.d.	n.d.	f
N Kohlenwasserstoff C 29	2905	16 ± 9	27 ± 7	n.d.	n.d.	f
K Kohlenwasserstoff C 28	2799	n.d.	24 ± 2	n.d.	n.d.	f
G Kohlenwasserstoff C 25	2500	n.d.	21 ± 5	n.d.	n.d.	f
C Kohlenwasserstoff C 22	2196	n.d.	20 ± 4	n.d.	n.d.	f
E Kohlenwasserstoff C 24	2399	n.d.	20 ± 2	n.d.	n.d.	f
H Kohlenwasserstoff C 26	2600	n.d.	19 ± 3	n.d.	n.d.	f
D Kohlenwasserstoff C 23	2300	n.d.	12 ± 5	n.d.	n.d.	f

Nr. ^a Substanz	RI ^b	05.08.10		20.07.11		[µg/kg] ^c
		VHS	LLE	VHS	LLE	
O Kohlenwasserstoff C 30	2999	n.d.	12 ± 4	n.d.	n.d.	f
P Kohlenwasserstoff C 31	3099	n.d.	9 ± 4	n.d.	n.d.	f
B Kohlenwasserstoff C 21	2098	n.d.	8 ± 3	n.d.	n.d.	f
Q Kohlenwasserstoff C 32	3199	n.d.	5 ± 3	n.d.	n.d.	f

a: Die Nummern und Buchstaben entsprechen den Verbindungen in Abbildung 11, Tabelle 8 und Tabelle 9. b: Retentionsindex (DB-WAX). c: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. d: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang). e: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). f: Für die Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen. g: Nicht kalkulierbar (n.k.), da die Wiederfindung unter 25 % lag (siehe Anhang). h: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Fläche unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. i: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Fläche unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 g/kg) lag. k: nicht eindeutig identifizierbare Phthalsäureester. A-Q: nicht nach VHS, nur nach LLE nachgewiesen.

Da der Kutscher-Stuedel-Extraktor nur die Untersuchung flüssiger Probenmatrices ermöglicht, wurde lediglich der nach Zentrifugation erhaltene Überstand des Stachelbeerenhomogenats zur Isolierung eingesetzt. Die Absolutmengen an flüchtigen Komponenten nach VHS- und LLE-Extraktion waren daher nicht direkt miteinander vergleichbar. Die prozentuale Verteilung der Stoffgruppen (ohne Berücksichtigung der in Tabelle 16 aufgeführten Säuren und sonstigen Verbindungen) war in den analysierten Chargen zwar stets ähnlich, jedoch nicht identisch (Abbildung 12). Diese Schwankungen sind vermutlich auf die Inhomogenität der Früchte zurückzuführen.

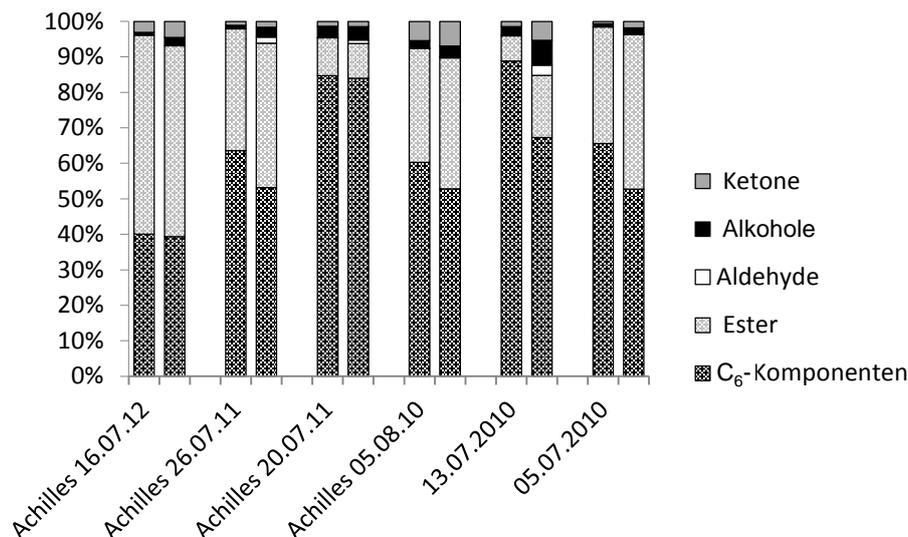


Abbildung 12: Prozentuale Verteilung der Stoffgruppen verschiedener Chargen Stachelbeeren nach VHS- (1. Balken) und LLE-Extraktion (2. Balken)

Abbildung 13 und Abbildung 14 zeigen die Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der beiden Hauptstoffgruppen. Die Profile der primär gebildeten Ester zeigten nach VHS- und LLE-Isolierung ein sehr ähnliches Bild. Die Verteilung der erst nach Zerstörung des Zellverbandes enzymatisch gebildeten C₆-Komponenten wurde jedoch durch die Isolierungstechnik beeinflusst. Mit Ausnahme der Charge vom 16.07.12 ging nach LLE-Isolierung der sinkende Anteil an (*Z*)-Hex-3-enal mit einer prozentualen Zunahme von (*E*)-Hex-2-enal und (*E*)-Hex-3-enal einher. Die Isomerisierung des primär gebildeten (*Z*)-Hex-3-enals scheint entweder durch die längere Zeitspanne zwischen Homogenisierung und Beginn der Extraktion bei LLE oder durch längere Extraktionsdauer bei LLE (24 h) im Vergleich zur VHS (2 h) verstärkt stattzufinden. Die gleiche Beeinflussung wurde bereits bei den Inhibierungsversuchen (4.1.1.3) beobachtet.

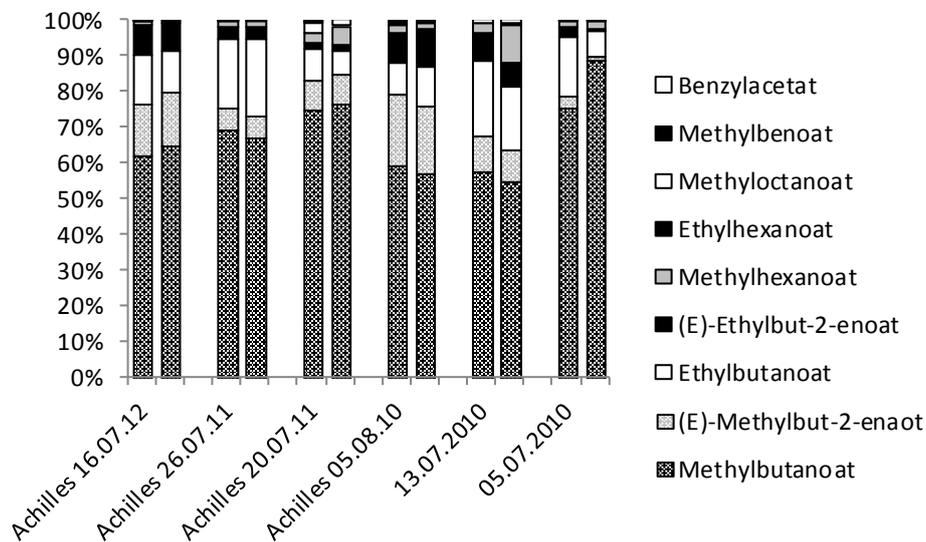


Abbildung 13: Prozentuale Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der Stoffgruppe der Ester nach VHS- (1. Balken) bzw. LLE-Extraktion (2. Balken)

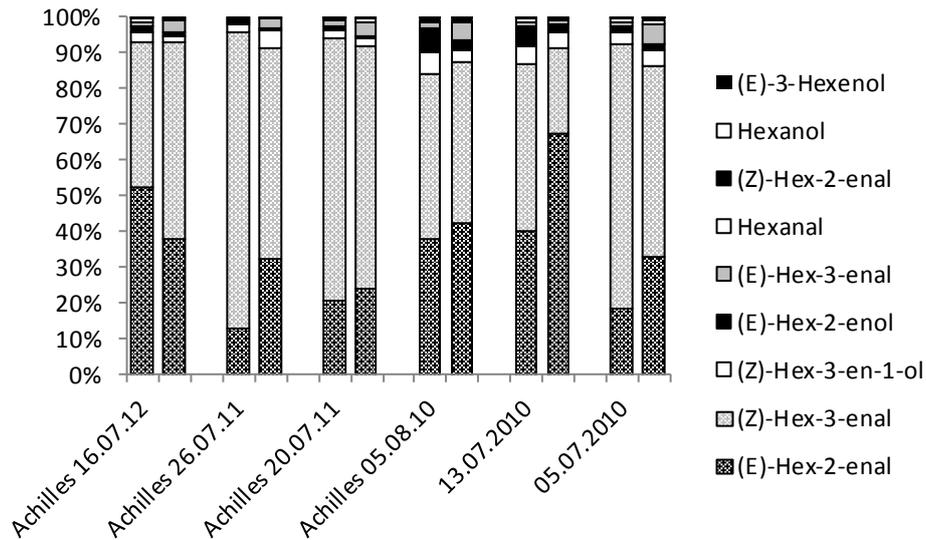


Abbildung 14: Prozentuale Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der C₆-Gruppe nach VHS- (1. Balken) bzw. LLE-Extraktion (2. Balken)

4.1.2.3 Isolierung der flüchtigen Verbindungen mittels Headspace HRGC-MS

VHS-Extrakte zeigen eine ausgewogene Zusammensetzung der Aromastoffe niedrigeren und höheren Molekulargewichtes und geben das Aroma der verwendeten Früchte wieder (Pennarun *et al.* 2002, Werkhoff *et al.* 1998). Nichtsdestotrotz werden hoch flüchtige Komponenten durch eine VHS-Isolierung nicht ausreichend extrahiert. Durch die Schritte der Probenaufarbeitung gehen große Teile der stark flüchtigen Verbindungen verloren (Güntert *et al.* 1998). Durch Headspace-Analytik ist es möglich, stark flüchtige Verbindungen quantitativ zu analysieren. Ein weiterer großer Vorteil dieser Technik ist das Arbeiten ohne Lösemittel, sodass es nicht zur Überlagerung von Lösemittel- und Substanzpeaks kommen kann, wie beispielsweise bei LLE oder VHS. Des Weiteren können die Proben im Headspace Sampler auf 37°C temperiert werden, so dass die Verdampfungsvorgänge im menschlichen Mundraum nachgestellt werden können.

Aus diesen Gründen wurden sieben Chargen Stachelbeeren zusätzlich zur VHS-Isolierung parallel mittels einer statischen Headspace-Methode (HS) untersucht. Hierbei wurden 17 Verbindungen quantifiziert. Die für die Hauptkomponenten ermittelten Konzentrationen sind in Abbildung 15 dargestellt.

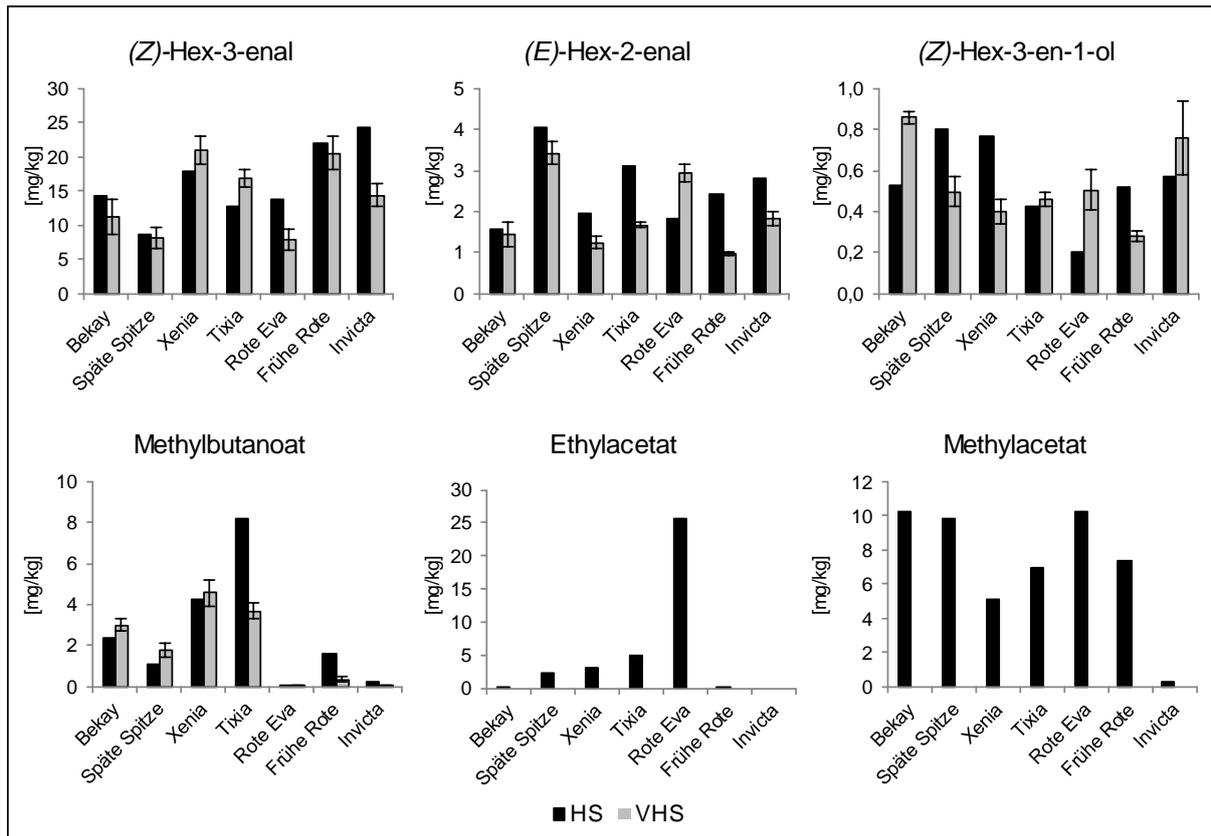


Abbildung 15: Konzentrationen der Hauptverbindungen nach HS-Analyse und VHS-Extraktion

Die durch VHS bzw. HS bestimmten Konzentrationen für die Hauptverbindungen (Z)-Hex-3-enal, (E)-Hex-2-enal, (Z)-Hex-3-en-1-ol und Methylbutanoat lagen trotz der unterschiedlichen Isolierungstechniken jeweils im gleichen Bereich. Aufgrund der begrenzten Menge an Stachelbeer-Material konnte die Headspace-Analytik jedoch nur in Einfachbestimmungen durchgeführt werden. Die aufgetretenen Abweichungen sind aufgrund der geringeren Probeneinwaage bei HS-Analyse vermutlich auf die Inhomogenität der Beeren zurückzuführen. Durch HS konnte das flüchtige Profil von Stachelbeeren um die stark flüchtigen Verbindungen Ethylacetat und Methylacetat ergänzt werden. Diese waren mittels VHS nur begrenzt nachweisbar und nicht quantifizierbar. Durch HS stellten sich die beiden Komponenten jedoch als Hauptkomponenten mit Konzentrationen bis zu 25681 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Ethylacetat) bzw. 10286 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Methylacetat) heraus. Die ermittelten Konzentrationen aller quantifizierten Verbindungen sind in Tabelle 17 zusammengefasst.

Tabelle 17: Konzentrationen flüchtiger Verbindungen in sieben Chargen Stachelbeeren nach VHS- und HS-Analyse

	Bekay		Späte Spitze		Xenia		Tixia	
	HS	VHS	HS	VHS	HS	VHS	HS	VHS
	[µg/kg]							
(Z)-Hex-3-enal	14915	11188±2541	9014	8192±1595	18500	21014 ± 2127	13144	16868±1177
Methylacetat	10286	n.k. ^b	9797	n.k.	5136	n.k.	6968	n.k.
Methylbutanoat	2391	2984±323	1111	1811±35	4274	4609 ± 642	8230	3740±418
(E)-Hex-2-enal	1570	1441±299	4048	3431±273	1963	1247 ± 152	3122	982±34
(Z)-Hex-3-en-1-ol	530	862±30	803	338±43	765	398 ± 59	424	185±29
Aceton	353	n.d.	43	n.d.	130	n.q.	139	n.d.
(E)-Methylbut-2-enoat	266	191±50	139	85±23	199	79 ± 4	280	47±6
(E,E)-Hexa-2,4-dienal	111	n.d.	69	n.d.	164	n.d.	85	n.d.
Ethylacetat	99	n.k.	2399	n.k.	3196	n.k.	4947	n.k.
(R)-Oct-1-en-3-ol	63	157±27	376	338±43	83	159 ± 34	50	185±29
(E)-Pent-2-enal	44	9±0	n.d.	n.q. ^c	63	8 ± 0	n.d.	15±1
Hexanal	28	123±20	n.d.	105±19	n.d.	166 ± 7	n.d.	207±18
Methylhexanoat	16	36±7	18	28±2	20	61 ± 7	33	56±3
Ethylbutanoat	9	1557±312	97	475±163	1253	651 ± 31	1525	195±66
Methyloctanoat	6	8±3	11	18±4	9	22 ± 2	n.d.	19±1
(E)-Ethylbut-2-enoat	n.d. ^a	175±75	30	51±21	77	44 ± 9	127	13±8
Ethylhexanoat	n.d.	11±2	n.d.	2±2	5	6 ± 1	5	n.d.
Propan-2-ol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

	Rote Eva		Frühe Rote		Invicta	
	HS	VHS	HS	VHS	HS	VHS
	[µg/kg]					
(Z)-Hex-3-enal	1441	8010±1559	22699	20559±2530	25226	14436 ± 1689
Methylacetat	10197	n.k.	7467	n.k.	271	n.k.
Methylbutanoat	74	45±9	1588	347±118	188	48 ± 21
(E)-Hex-2-enal	1834	2952±222	2436	1666±65	2803	1845 ± 175
(Z)-Hex-3-en-1-ol	205	50±13	523	190±15	575	199 ± 37
Aceton	n.d.	n.q.	62	n.q.	279	7 ± 5
(E)-Methylbut-2-enoat	22	11±1	38	n.d.	n.d.	n.d.
(E,E)-Hexa-2,4-dienal	n.d.	n.d.	150	n.d.	154	n.d.
Ethylacetat	25681	n.k.	292	n.k.	n.d.	n.k.
(R)-Oct-1-en-3-ol	n.d.	50±13	117	190±15	117	199 ± 37
(E)-Pent-2-enal	n.d.	11±3	n.d.	10±1	n.d.	10 ± 1
Hexanal	n.d.	156±29	n.d.	174±16	n.d.	219 ± 42
Methylhexanoat	3	n.q.	23	39±13	3	3 ± 3
Ethylbutanoat	115	62±29	n.d.	3±4	n.d.	10 ± 11
Methyloctanoat	n.d.	14±7	23	62±20	n.d.	6 ± 3
(E)-Ethylbut-2-enoat	60	17±10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ethylhexanoat	3	8±0	n.d.	n.q.	n.d.	n.q.
Propan-2-ol	1531	n.d.	n.d.	n.d.	434	n.d.

a: Nicht identifizierbar, VHS: Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg), HS: Peakfläche < 10.000. b: Nicht kalkulierbar, da Wiederfindung < 25 %. c: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag.

4.1.3 Sensorische Analyse

4.1.3.1 Einleitung

Wie in den vorhergehenden Kapiteln gezeigt wurde, enthalten Stachelbeeren eine Vielzahl an flüchtigen Verbindungen. Einen Beitrag zum Aroma einer Frucht leisten jedoch in vielen Fällen nur eine recht geringe Anzahl ausgewählter Aromastoffe. So wurden beispielsweise in Aprikosen über 200 und in Pinker Guave über 400 flüchtige Verbindungen identifiziert (Greger und Schieberle 2007, Steinhaus *et al.* 2008). Durch die Analyse der aromarelevanten Verbindungen gelang es jedoch das typische Aroma der Früchte unter Verwendung von nur 18 bzw. 13 Verbindungen zu imitieren (Greger und Schieberle 2007, Steinhaus *et al.* 2009).

Ziel dieser Arbeit war es, unter den insgesamt 127 in VHS-Extrakten aus frischen Stachelbeeren nachgewiesenen Verbindungen die entscheidenden Aromastoffe zu identifizieren und deren Beitrag zum Gesamtaroma der Frucht abzuschätzen. Hierzu wurde ein via VHS gewonnener Extrakt mittels Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) (Schmid und Grosch 1986, Ullrich und Grosch 1987) analysiert. Durch Anwendung des Aromawertkonzeptes von Rothe und Thomas (1963) erfolgte anschließend eine Bewertung der Aromarelevanz der einzelnen Verbindungen.

4.1.3.2 Analyse der aromaaktiven Komponenten

Zur Analyse der aromaaktiven Komponenten in Stachelbeeren wurde ein mittels VHS gewonnener Extrakt durch Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) untersucht (Schmid und Grosch 1986, Ullrich und Grosch 1987). Die aus Stachelbeeren mittels VHS gewonnen wässrigen Destillate zeichneten sich durch eine fruchtig-grüne Note aus, welche an die frischen Beeren erinnerte. Zur AEVA wurde ein konzentrierter VHS-Extrakt verwendet, der aus 4,5 kg roten Stachelbeeren gewonnen wurde. Durch schrittweise Verdünnung des Extraktes mit Lösemittel (Diethylether/*n*-Pentan; 1/1;v/v) und gaschromatographisch-olfaktometrische Analyse jeder der Verdünnungsstufen wurden die Flavor Dilution-Faktoren (FD) der geruchsaktiven Komponenten bestimmt. Es wurden 21 aromaaktive Verbindungen detektiert, von welchen 18 identifiziert wurden. Die wahrgenommenen Gerüche wurden überwiegend durch grüne und fruchtige Aromanoten dominiert. Die höchsten FD-Faktoren wurden für (*Z*)-Hex-3-enal (4096), (*E*)-Hex-2-enal (4096) und Methylbutanoat (2048) bestimmt, gefolgt von weiteren Lipidoxidationsprodukten und kurzkettigen Estern. In Tabelle 18 sind die Geruchsqualitäten der einzelnen aromaaktiven Komponenten aufgeführt.

Zur Beurteilung der Aromarelevanz der einzelnen Verbindungen wurden durch Division der Konzentrationen der einzelnen Verbindungen durch deren Geruchsschwellen die Aromawerte (A) berechnet (Rothe und Thomas 1963, Grosch 1993). Da Stachelbeeren zu

über 87 % aus Wasser (Herrmann 2001) bestehen, wurden in Wasser bestimmte Geruchsschwellen verwendet. Derartige Schwellen wurden für verschiedene Substanzen bereits in zahlreichen Arbeiten veröffentlicht. Aufgrund der starken Schwankungen zwischen verschiedenen Autoren wurden die Schwellen der laut der FD-Werte wichtigsten Aromastoffe jedoch im Rahmen dieser Arbeit erneut bestimmt. Dies erfolgte mit Hilfe eines Panels im Dreieckstest. Die bestimmten Geruchsschwellen sowie die daraus resultierenden Aromawerte der aromaaktiven Komponenten in Stachelbeeren sind in Tabelle 18 aufgeführt. Der bei Weitem höchste Aromawert wurde für (*Z*)-Hex-3-enal berechnet. Diese Komponente zeichnete sich durch ein grünes, grasiges Aroma aus. Zusätzlich lagen die Konzentrationen neun weiterer Substanzen oberhalb ihrer Geruchsschwellen ($A > 1$), wobei sich in Analogie zu den FD-Werten vor allem Lipidoxidationsprodukte und kurzkettige Ester als aromaaktive Verbindungen herausstellten. Den sensorisch dominierenden Ester in Stachelbeeren stellt Ethylbutanoat dar, dessen Aromawert aufgrund seiner sehr niedrigen Geruchsschwelle weit oberhalb jenem des quantitativ dominierenden Methylbutanoates lag.

Tabelle 18: Konzentrationen und sensorische Bewertung von Schlüsselaromastoffen in Stachelbeeren^a

Verbindung	RI ^b	Geruch ^c	FD-Faktor	Geruchsschwelle (µg/L in Wasser)	[µg/kg] ^d	A ^e
(Z)-Hex-3-enal	1139	Grasig	4096	0,6	4063	6772
(R)-Oct-1-en-3-ol	1452	Pilzig	64	0,9	112	124
Ethylbutanoat	1033	Ananas	2048	2,5	281	112
Methylbutanoat	981	fruchtig, käsig, grün	512	63	1378	22
(E)-Hex-2-enal	1209	grün, Apfel	4096	77	1242	16
(Z)-Hex-3-en-1-ol	1384	Geranie	32	28	175	6
Acetophenon	1641	süß, blumig	256	26	67	3
Ethylhexanoat	1232	grün, Melone	32	1,4	3	2
(E)-Methylbut-2-enoat	1101	modrig, fruchtig	512	124	256	2
Methyldecanoat	1590	grün, Gurke	16	2,1	2	1
Methylhexanoat	1184	Ananas	16	63	31	<1
(E)-Ethylbut-2-enoat	1158	Apfel	8	253	117	<1
(E)-Hex-3-en-1-ol	1363	modrig, grün	16	1000 ^f	4	<1
Essigsäure	1440	fruchtig-sauer	8	70 ^g	n.k. ^h	
Hexansäure	1844	beerig	8	290 ⁱ	n.k.	
(E)-Hex-3-ensäure	1951	metallisch	32	171	n.k.	
6-Methylhept-5-en-2-on	1333	Zitrus-artig, grün	8	50 ^k	n.d. ^l	
Benzylacetat	1723	Orange	8	2 ^m	n.q. ⁿ	
Unbekannt ^o	1712	beerig, fruchtig	128			
Unbekannt ^o	1979	Melone	16			
Unbekannt ^o	2002	grün, fruchtig	16			

a: Material von 2010; GC-O und AEVA wurden mit einem konzentrierten VHS-Extrakt durchgeführt, welcher 4,5 kg frischer, roter Stachelbeeren entspricht. b: Retentions-Indices (DB-WAX). c: Bestimmung der Geruchsqualität im unverdünnten Extrakt am Sniffing-Port. d: Bestimmung der durchschnittlichen Konzentrationen aus sieben Chargen Stachelbeeren der Sorte Achilles. e: Aromawerte. f: Zea *et al.* 2001. g: Yang *et al.* 2010. h: nicht kalkulierbar: Wiederfindung < 25 %. i: Rychlik und Schieberle 1998. k: Leffingwell & Associates 2011. l: Nicht identifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag. m: Burdock 2005. n: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. o: nicht identifiziert, Detektion nur am Sniffing-Port.

Um den Einfluss der starken Variabilität des flüchtigen Profils von Stachelbeeren auch bei der Berechnung der Aromawerte zu berücksichtigen, wurden zusätzlich die Aromawerte für drei unterschiedliche Chargen Achilles sowie zwei weitere Sorten berechnet (Tabelle 19).

Tabelle 19: Aromawerte ausgewählter Chargen Stachelbeeren

	Aromawert				
	Achilles			Invicta	Bekay
	16.07.12	25.07.11	26.07.11	14.06.12	25.06.12
(Z)-Hex-3-enal	2972	9297	18408	24060	18647
(R)-Oct-1-en-3-ol	67	36	186	222	175
Ethylbutanoat	282	236	37	3	519
Methylbutanoat	60	40	6	1	47
(E)-Hex-2-enal	30	12	9	24	19
(Z)-Hex-3-en-1-ol	4	6	7	27	31
Ethylhexanoat	8	7	n.k. ^a	n.k.	11
Acetophenon	6	<1	n.k.	<1	<1
Methyldecanoat	n.k.	n.k.	2	1	n.k.
(E)-Methylbut-2-enoat	7	2	<1	<1	2
Methylhexanoat	<1	<1	<1	<1	<1
(E)-Ethylbut-2-enoat	2	<1	<1	<1	<1
(E)-Hex-3-en-1-ol	n.k.	<1	n.k.	n.k.	<1

^a nicht kalkulierbar, da Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg)

In allen Chargen erwies sich (Z)-Hex-3-enal als deutlich dominierender Aromastoff. Weiterhin zeigten (R)-Oct-1-en-3-ol, Ethylbutanoat, Methylbutanoat, (E)-Hex-2-enal und (Z)-Hex-3-en-1-ol in allen Chargen Aromawerte über eins. Zusätzlich wurde je nach Charge der Einfluss von Ethylhexanoat, Acetophenon, Methyldecanoat und (E)-Methyl- und (Z)-Ethylbut-2-enoat auf das Gesamtroma von Stachelbeeren festgestellt. Auf den starken Einfluss der C₆-Komponenten und kurzkettigen Ester auf das Aroma frischer Stachelbeeren und die deutliche Abnahme der Konzentrationen dieser Verbindungen nach Gefrierlagerung ist das veränderte Aroma von Stachelbeeren nach tiefgekühlter Lagerung zurückzuführen (4.1.1.6).

Als weiterer Einflussfaktor auf das Aroma von Stachelbeeren wurde die natürliche Beerenmatrix untersucht, indem für die Komponenten mit den höchsten FD-Faktoren zusätzlich zur Bestimmung der Geruchsschwellenwerte in Wasser eine Bestimmung in einer Beerenmatrix-ähnlichen Lösung durchgeführt wurde. Diese Lösung bestand aus verschiedenen Zuckern und organischen Säuren in deren natürlich vorkommenden Konzentrationen (siehe 3.2.5.2). In Tabelle 20 sind die bestimmten Geruchsschwellen gegenübergestellt.

Tabelle 20: Geruchsschwellen ausgewählter Verbindungen in Wasser und einer Beerenmatrix-ähnlichen Lösung

Verbindung	Geruchsschwelle [$\mu\text{g/L}$]	
	Wasser	Beerenmatrix-ähnliche Lösung ^a
(Z)-Hex-3-enal	0,6	0,1
Oct-1-en-3-ol	0,9	6,2
Ethylbutanoat	2,5	17
Methylbutanoat	63	62
(E)-Hex-2-enal	77	37
(Z)-Hex-3-en-1-ol	28	39
Acetophenon	26	153
Ethylhexanoat	1,4	2,8
(E)-Methylbut-2-enoat	124	54

a: Zusammensetzung: siehe Material und Methoden

Deutliche Differenzen der Schwellenwerte in Wasser und Beerenmatrix-ähnlicher Lösung, die mehr als zwei Verdünnungsstufen betragen, ergaben sich für (Z)-Hex-3-enal, Oct-1-en-3-ol, Ethylbutanoat und Acetophenon. Während die grüne Aromanote des (Z)-Hex-3-enals in der Beere anscheinend noch intensiver wahrgenommen wird, treten die Intensitäten von Oct-1-en-3-ol (pilzig), Ethylbutanoat (fruchtig) und Acetophenon (süß) zurück. Alle anderen untersuchten Substanzen zeigten keine eindeutige Beeinflussung durch die Anwesenheit von Zuckern und Säuren.

Durch die zusätzlich durchgeführte Headspace-Analyse (HS) stellte sich das stark flüchtige Ethylacetat als eine weitere aromaaktive Komponente ($A > 1$) heraus. Die HS-Analyse von Stachelbeeren der Sorte Achilles, Bekay und Xenia zu sechs unterschiedlichen Reifezeitpunkten ergab eine Abhängigkeit des Aromas der reifen Frucht vom Verhältnis der beiden Verbindungen Ethylacetat und (Z)-Hex-3-enal, denn die Aromawerte beider Verbindungen änderten sich drastisch während der Reifung (Abbildung 16). Das frische, grüne (Z)-Hex-3-enal stellt eine entscheidende Charakteristik des frischen Stachelbeeraromas dar. Die Konzentration dieser Verbindung nimmt mit fortschreitender Reife ab, während die Konzentration des Esters immer stärker dominiert. Sobald das Verhältnis der Aromawerte von (Z)-Hex-3-enal und Ethylacetat den Wert 1 unterschritt, war ein Klebstoff-artiger Aromafehlton der Beeren feststellbar. Während in den Sorten Bekay und Xenia das Verhältnis der beiden Verbindungen auch nach dem optimalen Reifezeitpunkt ausgeglichen war, trat bei der Sorte Achilles ab dem Zeitpunkt der starken Überreife ein Klebstoff-artiger Aromafehlton auf, der durch die Dominanz des Ethylacetats hervorgerufen wurde.

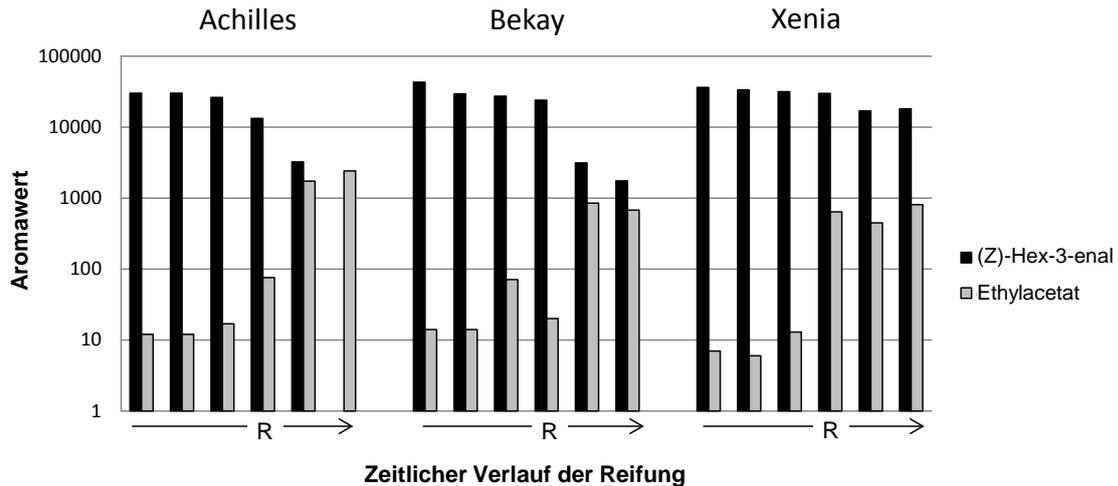


Abbildung 16: Mittels HS berechnete Aromawerte für Ethylacetat und (Z)-Hex-3-enal zu sechs unterschiedlichen Reifezeitpunkten von unreif bis überreif (R: reif)

Die starken, Reife-abhängigen Konzentrationsänderungen von einflussreichen Aromastoffen stellen also eine weitere Herausforderung für die Nachahmung natürlichen Stachelbeeraromas dar.

Erste Rekombinationsversuche, die auf Basis der in der Charge Achilles vom 05.08.2010 bestimmten Konzentrationen durchgeführt wurden, bestätigten die Wichtigkeit der genannten Komponenten für das Aroma von Stachelbeeren. Dennoch zeigt der Vergleich der Aromaprofile von frischen Stachelbeeren und dem Rekombinat (Abbildung 17), dass das Aroma von Stachelbeeren nicht vollständig nachgeahmt werden konnte. Die dynamische Bildung der C₆-Komponenten, welche das Aroma von Stachelbeeren entscheidend prägen, sowie der Einfluss stark flüchtiger Verbindungen wie Ethylacetat, scheint eine große Herausforderung für die Nachahmung von Stachelbeeraroma darzustellen.

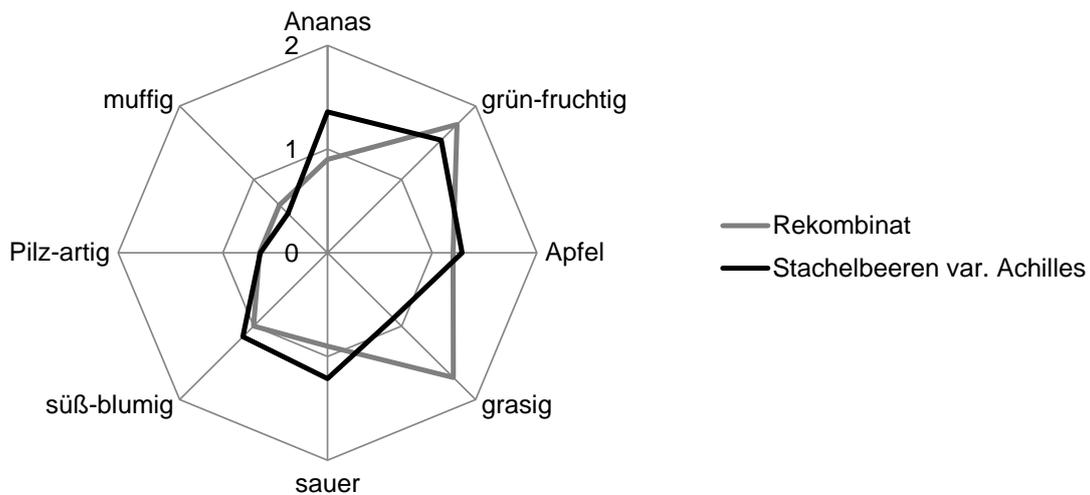


Abbildung 17: Aromaprofile frischer Stachelbeeren var. Achilles (schwarze Linie) und eines Rekombinates (graue Linie) auf Basis der Aromastoff-Konzentrationen in Stachelbeeren var. Achilles (05.08.2010)

4.1.4 Analyse des flüchtigen Profils eines Stachelbeerproduktes

4.1.4.1 Einleitung

Die Herstellung von Likören geht bereits auf das 13. Jahrhundert zurück. Als Heilmittel gegen Krankheiten erfreute sich die Spirituose vor allem in Italien schnell immer größerer Beliebtheit. Kaum 200 Jahre später galt Italien als weltweit führender Likörhersteller. Obwohl der medizinische Hintergrund nie in Vergessenheit geriet, wurden Liköre zunehmend als Genussmittel verzehrt. Auch heute sind Liköre noch sehr beliebt, was das Angebot einer enorm großen Produktpalette von Likören unter anderem aus Obst, Gemüse, Nüssen, und Gewürzen zeigt. Den größten Anteil dieser Palette repräsentieren die Fruchtliköre. Neben Kernobst, Steinobst, Beeren und Wildfrüchten finden ebenso Zitrus- sowie exotische Früchte Einsatz (Buglass 2011).

Liköre stellen eine Spirituose mit definiertem Mindestzucker- und Alkoholgehalt dar. Zur Aromatisierung dürfen sowohl natürliche Aromen (Aromastoffe und Aromaextrakte) als auch Aromen verwendet werden. Einzelne Sorten unterliegen jedoch weiteren gesetzlichen Bestimmungen. So ist der Zusatz von nicht natürlichen Aromen beispielsweise bei der Herstellung von Likör aus Schwarzen Johannisbeeren, Kirschen und Himbeeren verboten (VO(EG)110/ 2008, Kolb und Fauth 2002).

Im Rahmen der Untersuchungen wurde das flüchtige Spektrum eines kommerziell bezogenen Stachelbeerlikörs untersucht und mit dem der frischen Stachelbeeren

verglichen. Der Geruch des Stachelbeerlikörs unterschied sich bereits im ersten Eindruck deutlich von dem frischer Stachelbeeren und wirkte sehr künstlich.

4.1.4.2 Ergebnisse und Diskussion

Die Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus der Likörmatrix erfolgte mittels VHS analog zur Extraktion der frischen Beeren. Zuvor wurde sichergestellt, dass der interne Standard Heptan-2-ol nicht im Stachelbeerlikör enthalten war. Ein Unterschied ergab sich bei der Einengung des Extrakts an der Vigreux-Kolonnen. Während der Extrakt aus frischen Stachelbeeren auf 0,5 mL eingeeengt wurde, war dies bei dem Likör nicht möglich. Aufgrund des Siedepunktes von Ethanol (78 °C) verhinderte der Alkoholgehalt von 15 Volumenprozent eine analoge Volumenreduzierung im Wasserbad bei ca. 38 °C. Die Einengung erfolgte deshalb an der Vigreux-Kolonnen nur auf 5 mL. Eine weitere Volumenreduzierung auf 2 mL wurde unter Stickstoffstrom durchgeführt. Die im Likör identifizierten und quantifizierten Komponenten sind in Tabelle 21 dargestellt. Die für die Hauptsubstanzen des Likörs bestimmten Wiederfindungen sind im Anhang (Tabelle 34) aufgeführt.

Tabelle 21: Konzentrationen der nach VHS identifizierten und quantifizierten Verbindungen in kommerziell erhältlichem Stachelbeerlikör

Substanz	RI ^a	Konzentration [$\mu\text{g/L}$] ^b	
Ester:			
1-Phenylethylacetat	1709	7808 \pm 667	c,e
1-Phenylethyl-2-methylpropanoat	1750	6296 \pm 646	c,e
(Z)-Hex-3-enylacetat	1318	4603 \pm 515	c,e
Ethylbutanoat	1048	4001 \pm 954	c,e
Diethylmalonat	1578	1986 \pm 222	c,e
3-Methylbutylacetat	1127	1151 \pm 196	c,e
2-Phenylethylacetat	1816	1019 \pm 117	c,f
2-Methylpropylacetat	1029	796 \pm 207	c,e
Ethylhexanoat	1214	177 \pm 13	c,g
(E)-Hex-2-enylacetat	1335	81 \pm 8	c,f
Ethyl octanoat	1436	57 \pm 7	c,g
Ethylbenzoat	1662	30 \pm 24	c,g
(E)-Hex-3-enylacetat	1309	26 \pm 3	d,g
Diethylethylidenmalonat	1775	24 \pm 5	d,g
1-Phenylethylpropanoat	1757	22 \pm 7	c,f
(E,Z)-Ethyldeca-2,4-dienoat	1852	20 \pm 4	c,f
(Z)-Oct-3-enylacetat	1501	20 \pm 9	c,g
1-Phenylethylbutanoat	1836	16 \pm 2	c,f
Ethylphenylacetat	1786	11 \pm 2	c,f
(E,Z)-Methyldeca-2,4-dienoat	1801	7 \pm 6	c,f
Hexylacetat	1264	6 \pm 0	c,f
Ethyl-2-methylbutanoat	1061	n.q. ^h	c,f
Ethyl-3-methylbutanoat	1075	n.q.	c,f
Butylacetat	1079	n.q.	c,f
Ethylheptanoat	1332	n.q.	c,f

Substanz	RI ^a	Konzentration [$\mu\text{g/L}$] ^b	
Ethyldecanoat	1632	n.q.	c,e
Terpene/Terpenalkohole:			
α -Terpineol	1709	3904 \pm 340	c,e
β -Ionon	1943	251 \pm 44	c,e
Terpinen-4-ol	1601	59 \pm 22	c,e
α -Ionon	1856	22 \pm 28	c,f
Citronellol	1761	21 \pm 6	c,e
Linalool	1551	17 \pm 1	c,e
Geraniol	1844	9 \pm 1	c,f
Borneol	1713	n.q.	c,f
C₆-Komponenten:			
(E)-Hex-2-en-1-ol	1409	2246 \pm 84	c,e
Hexan-1-ol	1359	2066 \pm 69	c,e
(Z)-Hex-3-en-1-ol	1386	237 \pm 10	c,e
(E)-Hex-3-en-1-ol	1367	22 \pm 3	c,g
Hexanal	1086	18 \pm 2	c,e
(Z)-Hex-2-en-1-ol	1418	11 \pm 1	c,f
(E)-Hex-2-enal	1204	n.q.	c,e
Alkohole:			
Heptan-1-ol	1460	843 \pm 41	c,e
3-Methylbutan-1-ol	1196	289 \pm 139	c,e
2-Methylpropan-1-ol	1104	160 \pm 9	c,e
2-Phenylethan-1-ol	1915	105 \pm 40	c,f
Propan-1-ol	1054	37 \pm 7	c,f
1-Phenylethan-1-ol	1790	35 \pm 10	c,f
2-Ethylhexan-1-ol	1493	29 \pm 2	c,f
Nonan-1-ol	1643	19 \pm 4	c,f
Butan-2-ol	1042	9 \pm 8	c,f
Octan-3-ol	1399	8 \pm 1	c,f
2-Ethylbutan-1-ol	1313	7 \pm 0	c,f
6-Methylhept-5-en-2-ol	1471	5 \pm 1	c,f
Octan-1-ol	1562	5 \pm 0	c,f
Butan-1-ol	1152	n.q.	c,f
Aldehyde:			
Heptanal	1185	561 \pm 45	c,e
Benzaldehyd	1514	30 \pm 2	c,f
Sonstige:			
Heptanaldiethylacetal	1351	119 \pm 13	c,e
Propan-1,2-diol	1592	70 \pm 11	c,f
Rosenoxid	1365	61 \pm 7	c,f
Methylisoeugenol	2184	58 \pm 13	c,f
(E)-Linalooloxid	1442	36 \pm 7	c,f
β -Damascenon	1823	32 \pm 4	c,f
Heptanalpropylenglykolacetal	1449	29 \pm 3	d,g
2,4-Dimethylhepta-2,4-dienal	1538	18 \pm 2	d,g
Heptanalpropylenglykolacteal	1426	12 \pm 2	d,g
γ -Octalacton	1919	10 \pm 4	c,f
Furfural	1458	n.q.	c,f
Ketone:			
Acetophenon	1646	78 \pm 0	c,e
Acetoin	1280	n.k. ⁱ	c,e

Substanz	RI ^a	Konzentration [$\mu\text{g/L}$] ^b	
Säuren:			
2-Methylpropansäure	1569	n.k.	c,f
Buttersäure	1630	n.k.	c,e

a: Retentionsindices (DB-WAX). b: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. c: Die Identifizierung der Verbindung erfolgte mit Hilfe einer Referenzsubstanz. d: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer Daten mit Literaturangaben. e: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang). f: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). g: Für die Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen. h: Nicht quantifizierbar, da die Fläche unterhalb der Bestimmungsgrenze ($1,7 \mu\text{g/L}$) lag. i: nicht kalkulierbar, da die Wiederfindung unter 25 % lag (siehe Anhang).

Im Likör wurden 72 Substanzen identifiziert. Im Vergleich zum flüchtigen Spektrum frischer Stachelbeeren ergaben sich große Unterschiede. Während das Profil der frischen Beeren hauptsächlich durch C_6 -Aldehyde (v.a. (*Z*)-Hex-3-enal und (*E*)-Hex-2-enal) und kurzkettige Buttersäureester geprägt war, dominierten im Likör C_6 -Alkohole (v.a. (*E*)-Hex-2-en-1-ol und Hexan-1-ol) und Essigsäureester. Als weitere Hauptverbindungen traten α -Terpineol, Heptan-1-ol und Heptanal auf.

Ein sensorischer Vergleich des Likörs und der frischen Beeren bestätigte die stark unterschiedlichen Zusammensetzungen der flüchtigen Komponenten. Es wurden Aromaprofile von frischen Stachelbeeren und vom Likör erstellt und miteinander verglichen (Abbildung 18). Die Unterschiedlichkeit der Profile spiegelt den ersten Eindruck des Likörs wider, dessen Geruch nicht an Stachelbeeren erinnerte.

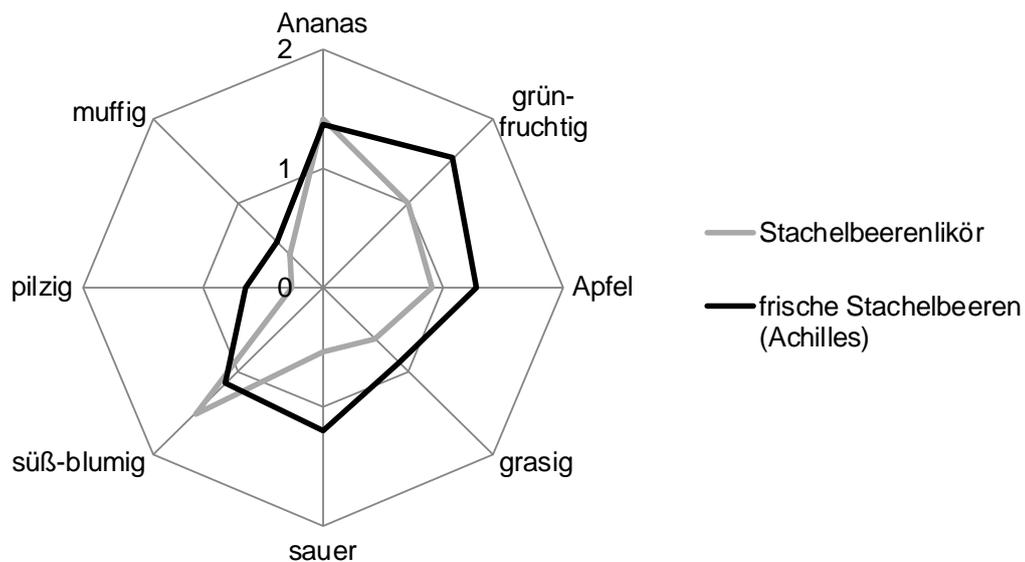


Abbildung 18: Vergleich der Aromaprofile von frischen Stachelbeeren und vom Stachelbeerenlikör

4.1.5 Zusammenfassung

Durch die Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus frischen Stachelbeeren mittels VHS und kapillargaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung der Extrakte wurden 127 Verbindungen identifiziert. Das flüchtige Profil der Beeren wurde durch C₆-Komponenten und Ester dominiert. Die drei Hauptkomponenten (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat repräsentierten in allen untersuchten Chargen mindestens 70 % der Summe an flüchtigen Verbindungen. Durch die Analyse von sieben Chargen Stachelbeeren der Sorte Achilles sowie durch den Vergleich der flüchtigen Spektren von sieben unterschiedlichen Stachelbeersorten wurde gezeigt, dass die Verhältnisse der Stoffgruppen zueinander sowie die Konzentrationen der einzelnen Verbindungen stark variieren. Innerhalb der Stoffgruppen waren die Verhältnisse der Komponenten zueinander allerdings vergleichbar: Methylester lagen stets höher konzentriert vor als ihre korrespondierenden Ethylester, und (*Z*)-Hex-3-enal repräsentierte durchgängig die Hauptverbindung des C₆-Spektrums.

Durch Inhibierungsversuche wurde gezeigt, dass das primär gebildete Profil an C₆-Komponenten durch nachfolgende Reduktionen und Isomerisierungen kaum verändert wird. Die Tiefkühlung von Stachelbeeren führte jedoch zu einer stark verminderten Bildung der C₆-Komponenten.

Die Analyse unreifer und überreifer Stachelbeeren zeigte starke reifungsabhängige Veränderungen der Zusammensetzung des flüchtigen Spektrums. Das in unreifen Beeren fast ausschließlich durch C₆-Komponenten geprägte Profil wird im Zuge der Reifung immer stärker durch Ester dominiert.

Weiterhin erfolgte die Analyse von Stachelbeeren durch zwei weitere schonende Extraktionsmethoden. Die durch VHS ermittelte prozentuale Verteilung der Stoffgruppen sowie die der einzelnen Komponenten innerhalb der Ester und C₆-Gruppe konnte mittels LLE bestätigt werden. Außerdem wurden 19 weitere Verbindungen nach LLE identifiziert. Aufgrund der unterschiedlichen Probenvorbereitung konnten die mittels VHS und LLE erhaltenen absoluten Konzentrationen jedoch nicht direkt miteinander verglichen werden. Durch die Anwendung der HS wurden die zwei stark flüchtigen Ester Methylacetat und Ethylacetat als weitere Hauptverbindungen des flüchtigen Spektrums von Stachelbeeren identifiziert und quantifiziert.

Die mittels VHS gewonnenen wässrigen Destillate wiesen den typischen Geruch von Stachelbeeren auf. Mittels sensorischer Analyse der Extrakte (AEVA) und Berechnung der Aromawerte wurden vor allem Lipidoxidationsprodukte ((*Z*)-Hex-3-enal, (*R*)-Oct-1-en-3-ol, und (*Z*)-Hex-3-en-ol) und kurzkettige Ester (Ethylbutanoat, Methylbutanoat) als aromaaktive Komponenten identifiziert. Rekombinationsversuche bestätigten die

Bedeutung dieser Komponenten für das Aroma von Stachelbeeren; das natürliche Aroma konnte jedoch nicht vollständig nachgeahmt werden.

Die Untersuchung der flüchtigen Verbindungen im Zuge der Reifung von Stachelbeeren ergab drastische Konzentrationsänderungen für (*Z*)-Hex-3-enal und Ethylacetat. Die fortschreitende Reifung führte zu einer verminderten Bildung des C₆-Aldehydes und zu einer verstärkten Generierung des Esters. Wurde das Verhältnis der Aromawerte dieser beiden Komponenten von 1:1 (Ethylacetat: (*Z*)-Hex-3-enal) überschritten, führte die Dominanz von Ethylacetat zu einem deutlichen, Klebstoff-artigen Aromafehlton.

Das flüchtige Spektrum und das Aromaprofil eines im Handel erhältlichen Stachelbeerlikörs zeigten kaum Ähnlichkeiten mit denen der frischen Beere.

4.2 Analyse der flüchtigen Verbindungen in Jostabeeren

4.2.1 Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen mittels VHS

4.2.1.1 Einleitung

Die Züchtung der Jostabeere (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) erfolgte um 1950. Sie stellt ein Kreuzungsprodukt aus Stachelbeere (*Ribes uva crisper* L.) und Schwarzer Johannisbeere (*Ribes nigrum* L.) dar. Ihre Früchte werden hauptsächlich zum frischen Verzehr oder nach Verarbeitung zu Konfitüren und Getränken verwendet (Bauer 1978).

Bisher waren keine Daten über das flüchtige Profil von Jostabeeren bekannt. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es daher, die flüchtigen Inhaltsstoffe von Jostabeeren zu identifizieren und zu quantifizieren sowie einen Überblick über die Variabilität des flüchtigen Profils zu erhalten.

Durch die Anwendung der VHS wurde nicht nur das flüchtige Profil reifer Jostabeeren untersucht, es wurden zusätzlich Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Parameter, wie der Tiefkühlagerung und der Fruchtreife, auf das flüchtige Spektrum vorgenommen.

4.2.1.2 Zusammensetzung des flüchtigen Profils der frischen Beeren

Die in frischen Jostabeeren enthaltenen flüchtigen Verbindungen wurden mittels VHS isoliert. Die Vorteile dieser Technik wurden bereits unter Kapitel 4.1.1.1 diskutiert. Durch die kapillargaschromatographische Analyse der erhaltenen Isolate wurden insgesamt 131 Verbindungen identifiziert. Diese sind in Tabelle 22 aufgelistet. Ein beispielhaftes Chromatogramm zeigt Abbildung 19.

Tabelle 22: In VHS-Extrakten frischer Jostabeeren identifizierte Verbindungen

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
1	Propanal	801	4	d
2	Ethylformiat	822	10	e
3	Methylacetat	824	4	d
4	Prop-2-enal	843	2	d
5	Ethylacetat	886	10	d
6	2-Methylbutanal	909	1	d
7	3-Methylbutanal	912	1	d
8	Ethanol	931	5	d
9	Ethylpropanoat	945	3	d
10	Pentanal	963	7	d
11	Pentan-3-on	963	8	e
12	Pentan-2-on	963	2	d
13	Propylacetat	963	5	d
14	Methylbutanoat	975	10	d
15	2-Methylpropylacetat	1005	1	d

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
16	Pent-1-en-3-on	1009	10	<i>d</i>
17	α -Pinen	1013	2	<i>d</i>
18	Ethylbutanoat	1034	10	<i>d</i>
19	2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	10	<i>d</i>
20	Camphen	1051	4	<i>d</i>
21	Butylacetat	1061	5	<i>d</i>
22	Hexanal	1075	10	<i>d</i>
23	2-Methylpropan-1-ol	1084	10	<i>d</i>
24	β -Pinen	1093	6	<i>d</i>
25	(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	1096	9	<i>d</i>
26	(<i>Z</i>)-Pent-2-enal	1101	3	<i>e</i>
27	Sabinen	1106	7	<i>d</i>
28	3-Methylbutylacetat	1110	4	<i>d</i>
29	(<i>E</i>)-Pent-2-enal	1120	10	<i>d</i>
30	Pentan-2-ol	1123	5	<i>d</i>
31	Hex-5-enal	1127	8	<i>e</i>
32	(<i>E</i>)-Hex-3-enal	1133	10	<i>d</i>
33	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1138	10	<i>d</i>
34	Butan-1-ol	1142	6	<i>d</i>
35	(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	1158	9	<i>d</i>
36	Pent-1-en-3-ol	1160	10	<i>d</i>
37	Myrcen	1165	1	<i>d</i>
38	Heptan-2-on	1176	1	<i>d</i>
39	Methylhexanoat	1184	10	<i>d</i>
40	(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	1194	10	<i>d</i>
41	Limonen	1196	3	<i>d</i>
42	1,8-Cineol	1200	10	<i>d</i>
43	(<i>E</i>)-Hex-2-enal	1211	10	<i>d</i>
44	Ethyl-2-methylbut-2-enoat	1223	1	<i>e</i>
45	Ethylhexanoat	1232	9	<i>d</i>
46	γ -Terpinen	1238	9	<i>d</i>
47	3-Methylbut-2-enylacetat	1251	5	<i>d</i>
48	Pentan-1-ol	1252	6	<i>d</i>
49	Octan-3-on	1254	4	<i>d</i>
50	<i>p</i> -Cymen	1255	2	<i>d</i>
51	Acetoin	1259	6	<i>d</i>
52	Hexylacetat	1263	8	<i>d</i>
53	Terpinolen	1272	7	<i>d</i>
54	Oct-1-en-3-on	1296	3	<i>d</i>
55	(<i>E</i>)-Pent-2-en-1-ol	1315	9	<i>e</i>
56	(<i>E</i>)-Hept-2-enal	1317	1	<i>d</i>
58	(<i>Z</i>)-Pent-2-en-1-ol	1322	10	<i>d</i>
57	2-Methylbut-3-en-1-ol	1325	1	<i>d</i>
59	(<i>E</i>)-Hex-2-enylacetat	1332	10	<i>d</i>
60	Hexan-1-ol	1355	10	<i>d</i>
61	(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	1364	10	<i>d</i>
62	Methyl-2-hydroxybutanoat	1374	1	<i>f</i>
63	(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	1384	10	<i>d</i>
64	Methyloctanoat	1387	10	<i>d</i>
65	Nonanal	1391	8	<i>d</i>
66	(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	1406	10	<i>d</i>
67	(<i>Z</i>)-Hex-2-en-1-ol	1417	8	<i>d</i>
68	(<i>E</i>)-Oct-2-enal	1424	2	<i>d</i>
69	(<i>E</i>)-Linalooloxid	1428	1	<i>e</i>
70	Ethyloctanoat	1436	7	<i>d</i>
71	Essigsäure	1443	10	<i>d</i>
72	(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	1452	10	<i>d,h</i>
73	Menthon	1457	2	<i>d</i>

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
74	Heptadienal-Isomer	1459	4	<i>e</i>
75	Octylacetat	1463	1	<i>d</i>
76	(<i>E,E</i>)-Hepta-2,4-dienal	1475	4	<i>d</i>
77	2-Ethylhexan-1-ol	1492	3	<i>d</i>
78	Decanal	1495	2	<i>d</i>
79	Campher	1499	1	<i>d</i>
80	(<i>E</i>)-Hexa-3,5-dien-1-ol	1504	1	<i>e</i>
81	(<i>Z</i>)-Hexa-3,5-dien-1-ol	1507	2	<i>e</i>
82	Benzaldehyd	1516	5	<i>d</i>
83	Propionsäure	1536	7	<i>d</i>
84	Linalool	1548	1	<i>d</i>
85	Linalylacetat	1552	2	<i>d</i>
86	Octan-1-ol	1560	9	<i>d</i>
87	2-Methylpropansäure	1562	1	<i>d</i>
88	Propylenglykol	1590	3	<i>d</i>
89	Terpinen-4-ol	1592	10	<i>d</i>
90	Methyldecanoat	1594	7	<i>d</i>
91	Kohlenwasserstoff C 16	1600	2	<i>d</i>
92	Methylbenzoat	1613	10	<i>d</i>
93	Buttersäure	1623	7	<i>d</i>
94	Ethyldecanoat	1635	7	<i>d</i>
95	Acetophenon	1640	2	<i>d</i>
96	Menthol	1644	2	<i>d</i>
97	Nonan-1-ol	1646	3	<i>d</i>
98	Ethylbenzoat	1659	5	<i>d</i>
99	2- und 3-Methylbuttersäure	1672	3	<i>d</i>
100	α -Terpineol	1685	10	<i>d</i>
101	Borneol	1688	3	<i>d</i>
102	Kohlenwasserstoff C 17	1700	3	<i>d</i>
103	2-Hydroxy-1,8-cineol	1721	9	<i>e</i>
104	Benzylacetat	1725	8	<i>d</i>
105	Methylsalicylat	1769	10	<i>d</i>
106	Ethylsalicylat	1783	5	<i>d</i>
107	Isopropylaurat	1794	7	<i>e</i>
108	Kohlenwasserstoff C 18	1800	1	<i>d</i>
109	Chrysanthylacetat	1802	2	<i>e</i>
110	Hexansäure	1841	8	<i>d</i>
111	2-Hydroxy-1,8-cineol	1859	5	<i>g</i>
112	Benzylalkohol	1871	8	<i>d</i>
113	(<i>Z</i>)-Geranylaceton	1876	1	<i>d</i>
114	2-Phenylethan-1-ol	1906	3	<i>d</i>
115	Kohlenwasserstoff C 19	1903	2	<i>d</i>
116	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxytoluol (BHT)	1912	8	<i>e</i>
117	Heptansäure	1943	1	<i>d</i>
118	(<i>E</i>)-Hex-3-ensäure	1951	6	<i>d</i>
119	(<i>E</i>)-Hex-2-ensäure	1961	7	<i>d</i>
120	Kohlenwasserstoff C 20	1999	3	<i>d</i>
121	p-Mentha-1.4-dien-7-ol	2053	1	<i>e</i>
122	Octansäure	2057	5	<i>d</i>
123	Kohlenwasserstoff C 21	2098	2	<i>d</i>
124	Nonansäure	2164	2	<i>d</i>
125	Kohlenwasserstoff C 22	2203	2	<i>d</i>
126	Isopropylpalmitat	2241	5	<i>e</i>
127	Kohlenwasserstoff C 23	2299	4	<i>d</i>
128	Isoeugenol	2315	1	<i>d</i>
129	Kohlenwasserstoff C 24	2399	3	<i>d</i>
130	Phthalat	2539	6	<i>e,i</i>

Nr. ^a	Verbindung	RI ^b	n ^c	Identifizierung
131	Phthalat	2697	3	<i>d,i</i>

a: Die Nummern entsprechen den Verbindungen in Abbildung 19 und Tabelle 23. b: Retentionsindices (DB-WAX). c: Identifiziert in *n* von 10 Chargen. d: Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte mit Hilfe von Referenzsubstanzen. e: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer Daten mit Literaturangaben. f: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer und gaschromatographischer Daten mit Literaturangaben. g: Die Identifizierung erfolgte durch Synthese der Substanz nach 3.1.3. h: Identifizierung des Enantiomers durch den Vergleich kapillargaschromatographischer Daten mit einer Referenzsubstanz auf einer 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin-Säule. i: nicht eindeutig identifizierbare Phthalsäureester.

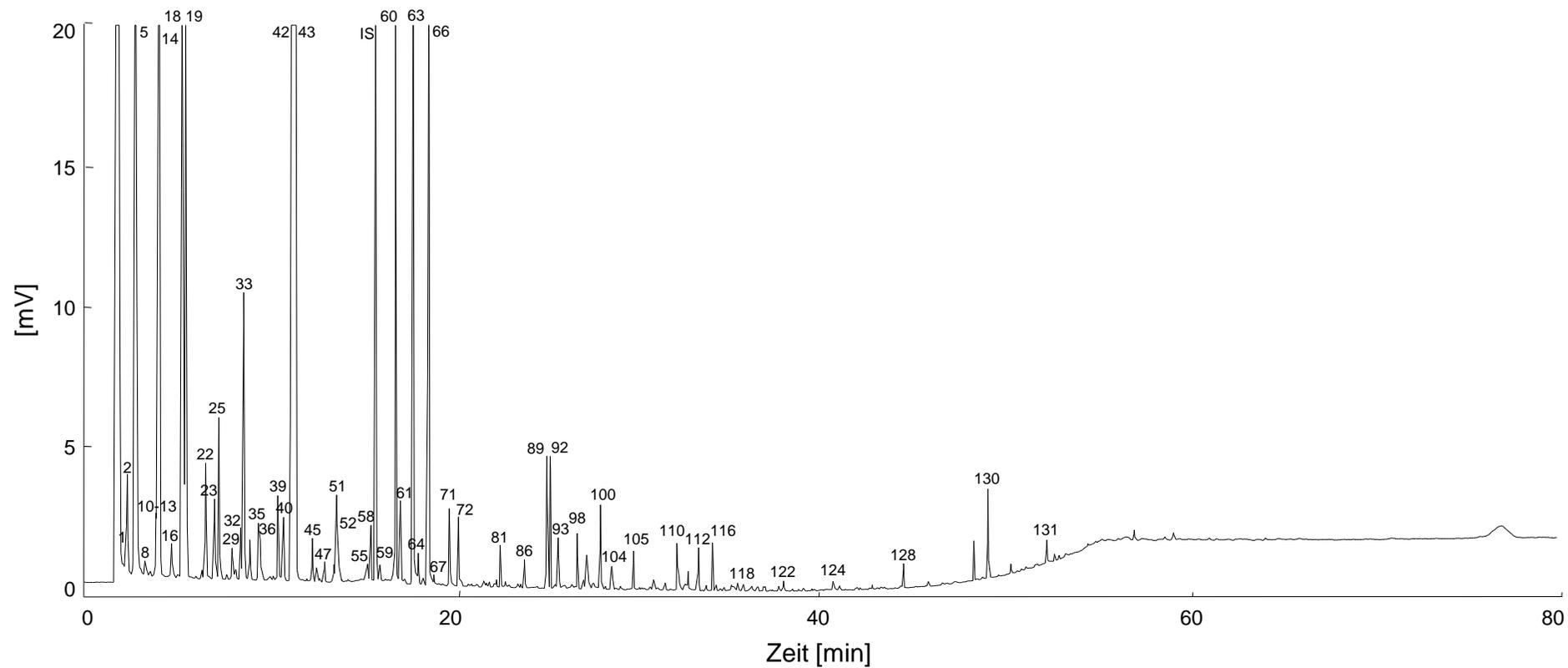


Abbildung 19: Kapillargaschromatographische Trennung (DB-WAX) der mittels Vakuum Headspace Technik aus Jostabeeren (03.07.11; Konzentrationen siehe Tabelle 23) isolierten flüchtigen Verbindungen (die angegebenen Nummern entsprechen den Verbindungen in Tabelle 22 und Tabelle 23; Bedingungen siehe Material und Methoden; IS: interner Standard Heptan-2-ol)

In Tabelle 23 sind die Konzentrationen der nachgewiesenen Verbindungen beispielhaft für drei Chargen Jostabeeren aus dem Jahr 2011 von unterschiedlichen Standorten in Süddeutschland aufgeführt. Die höchsten Konzentrationen wurden in allen analysierten Chargen für (*E*)-Hex-2-enal, (*E*)-Hex-2-en-1-ol, (*Z*)-Hex-3-enal, (*Z*)-Hex-3-en-1-ol, Methylbutanoat, Ethylbutanoat, 2-Methylbut-3-en-2-ol und 1,8-Cineol erhalten. Diese Verbindungen machten stets über 91 % der Summe an flüchtigen Verbindungen in Jostabeeren aus. Als Hauptstoffgruppen dominierten C₆-Komponenten und Ester.

Tabelle 23: Konzentrationen der nach VHS quantifizierten Verbindungen in drei Chargen Jostabeeren

Nr. ^a	Verbindungen	RI ^b	Lindau	Deutenkofen	Hangenham	
			(03.07.11)	(04.07.11)	(04.07.11)	
			[µg/kg] ^c			
<u>C₆-Komponenten</u>						
43	(<i>E</i>)-Hex-2-enal	1211	6027 ± 439	5793 ± 857	5176 ± 507	<i>d</i>
66	(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	1406	1663 ± 159	1745 ± 920	1547 ± 634	<i>d</i>
33	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1138	798 ± 125	2299 ± 426	1454 ± 916	<i>d</i>
63	(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	1384	712 ± 143	491 ± 93	502 ± 185	<i>d</i>
32	(<i>E</i>)-Hex-3-enal	1133	164 ± 48	275 ± 80	246 ± 20	<i>d</i>
22	Hexanal	1075	144 ± 23	128 ± 81	140 ± 21	<i>d</i>
60	Hexan-1-ol	1355	170 ± 53	48 ± 18	118 ± 47	<i>d</i>
61	(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	1364	78 ± 7	52 ± 20	57 ± 17	<i>e</i>
40	(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	1194	45 ± 10	66 ± 25	39 ± 7	<i>f</i>
67	(<i>Z</i>)-Hex-2-en-1-ol	1417	5 ± 1	5 ± 2	7 ± 4	<i>e</i>
31	Hex-5-enal	1127	n.q. ⁱ	4 ± 1	4 ± 1	<i>f</i>
<u>Ester</u>						
14	Methylbutanoat	975	3664 ± 905	1851 ± 448	5409 ± 621	<i>d</i>
18	Ethylbutanoat	1034	633 ± 112	445 ± 86	1698 ± 176	<i>d</i>
25	(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	1096	139 ± 27	92 ± 16	108 ± 6	<i>d</i>
35	(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	1158	24 ± 5	24 ± 4	77 ± 9	<i>d</i>
39	Methylhexanoat	1184	63 ± 4	19 ± 2	74 ± 10	<i>d</i>
92	Methylbenzoat	1613	48 ± 5	62 ± 5	48 ± 9	<i>d</i>
45	Ethylhexanoat	1232	13 ± 5	n.q.	26 ± 8	<i>e</i>
98	Ethylbenzoat	1659	13 ± 11	22 ± 1	24 ± 4	<i>e</i>
52	Hexylacetat	1263	3 ± 2	4 ± 1	23 ± 5	<i>e</i>
64	Methyloctanoat	1387	20 ± 6	11 ± 2	23 ± 0	<i>e</i>
130	Phthalat	2539	24 ± 14	5 ± 5	2 ± 2	<i>f,p</i>
131	Phthalat	2697	5 ± 4	n.q.	n.q.	<i>e,p</i>
104	Benzylacetat	1725	9 ± 1	10 ± 4	14 ± 4	<i>e</i>
21	Butylacetat	1061	5 ± 1	4 ± 3	11 ± 3	<i>e</i>
70	Ethylacetat	1436	3 ± 2	2 ± 2	11 ± 2	<i>e</i>
59	(<i>E</i>)-Hex-2-enylacetat	1332	8 ± 2	16 ± 8	9 ± 4	<i>e</i>
47	3-Methylbut-2-enylacetat	1251	n.d. ^k	7 ± 3	8 ± 3	<i>e</i>
105	Methylsalicylat	1769	13 ± 5	12 ± 1	8 ± 2	<i>e</i>
90	Methyldecanoat	1594	n.q.	n.q.	6 ± 2	<i>e</i>
15	2-Methylpropylacetat	968	n.d.	n.d.	5 ± 1	<i>e</i>
106	Ethylsalicylat	1783	n.q.	2 ± 1	3 ± 1	<i>e</i>
9	Ethylpropanoat	945	n.q.	n.q.	n.q.	<i>e</i>
28	3-Methylbutylacetat	1110	n.d.	n.q.	n.q.	<i>e</i>
75	Octylacetat	1463	n.d.	n.d.	n.q.	<i>e</i>
109	Chrysanthenylacetat	1802	n.d.	n.q.	n.d.	<i>e</i>

Nr. ^a	Verbindungen	RI ^b	Lindau	Deutenkofen	Hangenham	
			(03.07.11)	(04.07.11)	(04.07.11)	
			[µg/kg] ^c			
85	Linalylacetat	1552	n.q.	n.d.	n.q.	e
94	Ethyldecanoat	1635	n.q.	n.d.	n.q.	e
2	Ethylformiat	822	n.k.	n.k.	n.k.	g
5	Ethylacetat	886	n.k.	n.k.	n.k.	g
3	Methylacetat	824	n.k.	n.k.	n.k.	g
Alkohole						
19	2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	1182 ± 197	1051 ± 287	1995 ± 144	d
23	2-Methylpropan-1-ol	1084	33 ± 7	26 ± 6	117 ± 32	e
58	(Z)-Pent-2-en-1-ol	1322	30 ± 2	37 ± 5	39 ± 3	e
34	Butan-1-ol	1042	15 ± 2	8 ± 3	38 ± 10	e
72	(R)-Oct-1-en-3-ol	1452	35 ± 9	134 ± 27	25 ± 4	d
36	Pent-1-en-3-ol	1160	24 ± 3	23 ± 3	24 ± 3	e
86	Octan-1-ol	1560	9 ± 4	12 ± 3	14 ± 2	e
81	(Z)-Hexa-3,5-dien-1-ol	1507	12 ± 3	n.d.	10 ± 2	f
48	Pentan-1-ol	1252	n.q.	6 ± 1	9 ± 2	e
112	Benzylalkohol	1871	4 ± 1	5 ± 0	7 ± 1	e
55	(E)-Pent-2-en-1-ol	1315	n.q.	16 ± 6	7 ± 1	f
8	Ethanol	931	7 ± 2	12 ± 5	n.d.	e
30	Pentan-2-ol	1123	3 ± 3	n.q.	3 ± 3	e
121	p-Mentha-1,4-dien-7-ol	2053	n.d.	3 ± 0	n.d.	f
97	Nonan-1-ol	1646	n.q.	n.q.	n.q.	e
77	2-Ethylhexan-1-ol	1492	n.d.	n.q.	n.q.	e
114	2-Phenylethan-1-ol	1906	n.d.	n.q.	n.q.	e
80	(E)-Hexa-3,5-dien-1-ol	1504	n.q.	n.d.	n.d.	f
Terpene/Terpenalkohole						
42	1,8-Cineol	1200	647 ± 115	536 ± 50	557 ± 84	d
89	Terpinen-4-ol	1592	101 ± 39	47 ± 6	34 ± 4	d
100	α-Terpineol	1685	26 ± 12	22 ± 3	15 ± 3	e
24	β-Pinen	1093	6 ± 3	7 ± 2	8 ± 2	e
103	2-Hydroxy-1,8-cineol	1721	3 ± 1	4 ± 0	4 ± 1	f
46	γ-Terpinen	1238	4 ± 2	6 ± 1	4 ± 1	e
27	Sabinen	1106	n.d.	4 ± 1	2 ± 2	e
111	2-Hydroxy-1,8-cineol	1859	4 ± 0	2 ± 2	n.q.	f
53	Terpinolen	1272	n.q.	13 ± 2	n.q.	d
128	Isoeugenol	2315	4 ± 4	n.d.	n.d.	e
41	Limonen	1196	n.q.	3 ± 1	n.d.	d
20	Camphen	1051	n.q.	n.q.	n.q.	e
50	p-Cymen	1255	n.d.	3 ± 0	n.q.	e
17	α-Pinen	1013	n.d.	n.q.	n.q.	d
37	Myrcen	1165	n.d.	n.d.	n.q.	d
96	Menthol	1644	n.d.	n.q.	n.q.	e
79	Camphor	1499	n.d.	n.d.	n.q.	e
101	Borneol	1688	n.q.	n.d.	n.d.	e
Aldehyde						
29	(E)-Pent-2-enal	1120	22 ± 4	36 ± 10	25 ± 4	e
65	Nonanal	1391	n.q.	9 ± 3	5 ± 0	e
4	Prop-2-enal	843	n.q.	14 ± 7	n.d.	e
1	Propanal	801	n.q.	7 ± 3	n.d.	e
82	Benzaldehyd	1516	n.q.	n.q.	n.q.	e
76	(E,E)-Hepta-2,4-dienal	1475	n.d.	n.q.	n.q.	e
6	2-Methylbutanal	909	n.q.	n.d.	n.d.	e

Nr. ^a	Verbindungen	RI ^b	Lindau	Deutenkofen	Hangenham	
			(03.07.11)	(04.07.11)	(04.07.11)	
			[µg/kg] ^c			
7	3-Methylbutanal	912	n.q.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
56	(<i>E</i>)-Hept-2-enal	1317	n.d.	n.q.	n.d.	<i>d</i>
Ketone						
16	Pent-1-en-3-on	1009	20 ± 4	62 ± 6	49 ± 9	<i>e</i>
49	Octan-3-on	1254	n.q.	2 ± 2	2 ± 2	<i>e</i>
95	Acetophenon	1640	n.d.	n.q.	n.q.	<i>d</i>
54	Oct-1-en-3-on	1296	n.d.	n.q.	n.d.	<i>e</i>
73	Menthon	1457	n.d.	n.d.	n.q.	<i>e</i>
113	(<i>Z</i>)-Geranylaceton	1876	n.q.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
51	Acetoin	1259	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
Säuren						
71	Essigsäure	1443	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
83	Propionsäure	1536	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
87	2-Methylpropansäure	1562	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
93	Buttersäure	1623	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
99	2- und 3-Methylbuttersäure	1672	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
110	Hexansäure	1841	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
117	Heptansäure	1943	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
118	(<i>E</i>)-Hex-3-ensäure	1951	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
119	(<i>E</i>)-Hex-2-ensäure	1961	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
122	Octansäure	2057	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
124	Nonansäure	2164	n.k.	n.k.	n.k.	<i>g</i>
Sonstige						
10-13	C ₅ -Komponenten	963	32 ± 4	27 ± 10	36 ± 6	<i>e</i>
116	3,5-di- <i>tert</i> -Butyl-4-hydroxytoluol	1912	28 ± 11	33 ± 1	30 ± 3	<i>f</i>
69	(<i>E</i>)-Linalooloxid	1428	n.d.	n.d.	n.k.	<i>f</i>

a: Die Nummern entsprechen den Verbindungen in Abbildung 19 und Tabelle 22. b: Retentionsindices. c: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. d: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang). e: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens. f: Für die Quantifizierung wurde der Responsefaktor 1 angenommen. g: nicht kalkulierbar, da die Wiederfindung unterhalb 25 % lag (siehe Anhang). h: Nicht quantifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. i: Nicht identifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag. k: Koelution von Propylacetat, Pentan-2-on, Pentan-3-on und Pentanal. m: Identifizierung des Enantiomers durch den Vergleich der Retentionszeit mit einer authentischen Referenzsubstanz auf einer (2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)-β-cyclodextrin-Säule (siehe 4.2.1.4). n: Die Enantiomere konnten mit den verwendeten chiralen Phasen nicht ausreichend getrennt werden (siehe 4.2.1.4). o: Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse durch Abgleich der Retentionszeiten mit einer authentischen Referenzsubstanz auf einer 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-cyclodextrin-Säule und Vergleich mit Literaturangaben: 65 % (*S*) : 35 % (*R*) (siehe 4.2.1.4). p: nicht eindeutig identifizierbare Phthalsäureester.

C₆-Komponenten

Das C₆-Profil von Jostabeeren wurde quantitativ von (*E*)-Hex-2-enal dominiert. Diese Verbindung ist bereits als Haupt-C₆-Verbindung aus anderen Früchten wie Kiwis und Nektarinen bekannt (Young *et al.* 1995, Engel *et al.* 1988). In Jostabeeren lagen zusätzlich der korrespondierende Alkohol (*E*)-Hex-2-en-1-ol sowie (*Z*)-Hex-3-enal und (*Z*)-Hex-3-en-1-ol in recht hohen Konzentrationen vor.

Ester

Das Esterprofil frischer Jostabeeren wird hauptsächlich durch den kurzkettigen Ester Methylbutanoat geprägt. Allein dieser Ester stellte bis zu 27 % des flüchtigen Profils und bis zu 87 % der Esterfraktion dar. Auch bei den niedriger konzentrierten Estern, wie beispielsweise Methyl- und Ethylhexanoat und Methyl- und Ethyloctanoat dominierte stets die Methylverbindung. Wie bereits unter 4.1.1.2 diskutiert, ist diese Dominanz bisher nicht häufig in Früchten nachgewiesen worden.

Weitere flüchtige Verbindungen

Neben den C₆-Verbindungen und Estern zählen 1,8-Cineol und 2-Methylbut-3-en-2-ol zu den flüchtigen Hauptkomponenten in Jostabeeren. 1,8-Cineol, oder auch Eukalyptol, ist als Hauptkomponente des ätherischen Öls aus *Eukalyptus* bekannt. Ätherisches Eukalyptusöl der Art *Eukalyptus globulus* besteht aus bis zu 89 % 1,8-Cineol und findet zahlreiche Anwendungen zur Aromatisierung von Lebensmitteln, Getränken, Kosmetika oder auch in der Duftindustrie (Vilela *et al.* 2009, Harborne und Baxter 1993). Zusätzlich wurde 1,8-Cineol auch in den Ölen aus Rosmarin, Salbei, Basilikum und Lorbeer nachgewiesen (da Silveira *et al.* 2012, Ehrnhöfer-Ressler *et al.* 2013). 1,8-Cineol zeichnet sich durch ein charakteristisches, frisches, kampferartiges Eukalyptus-Aroma aus. Außerdem wurde eine biologische Aktivität der Verbindung gegen Pflanzen, Mikroorganismen und Insekten nachgewiesen (García *et al.* 2009).

2-Methylbut-3-en-2-ol wurde unter anderem als flüchtige Verbindung des Kreosotbusches (Jardine *et al.* 2010) sowie in Honig (Soria *et al.* 2008) und im Matsutake-Pilz (Cho *et al.* 2007) nachgewiesen. Es zeichnet sich durch ein krautiges Aroma aus und fungiert als Pheromon (Cho *et al.* 2007, Veith *et al.* 1984). Zeidler und Lichtenthaler untersuchten die enzymatische Bildung von 2-Methylbut-3-en-2-ol aus Dimethylallylpyrophosphat in den Nadeln der Gelb-Kiefer (Zeidler und Lichtenthaler 2001).

Variabilität des flüchtigen Profils frischer Jostabeeren

Die in Tabelle 23 gezeigten drei Chargen Jostabeeren stammten alle aus dem gleichen Erntejahr (2011). Trotz der unterschiedlichen Anbauorte sind die flüchtigen Profile der drei Chargen sehr ähnlich. Die einzelnen Verbindungen liegen in drei Chargen in nahezu gleichen Konzentrationen vor. Der auffälligste Unterschied sind die leicht erhöhten Konzentrationen von Methyl- und Ethylbutanoat in der Charge vom 04.07.11 aus Hangenham.

In einer weiteren Untersuchung sollte der Einfluss des Jahres auf die Zusammensetzung des flüchtigen Profils der Jostabeeren untersucht werden. Hierzu wurden Beeren in zwei (Lehr- und Beispielbetrieb Deutenkofen) bzw. drei (Staudengarten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Freising) aufeinanderfolgenden Jahren am gleichen Standort geerntet. Da Jostabeeren nicht einheitlich reifen, sondern zur gleichen Zeit reife sowie unreife Beeren am selben Strauch zu finden sind, können in einem Jahr mehrfach - zu unterschiedlichen Zeitpunkten - reife Beeren desselben Strauchs geerntet werden. Dieses Phänomen wurde im Jahr 2012 am Standort Deutenkofen ausgenutzt und der Einfluss auf die Zusammensetzung der flüchtigen Verbindungen betrachtet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 dargestellt. Es wurden alle Verbindungen berücksichtigt, die in einer der Chargen in einer Konzentration $\geq 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ nachgewiesen wurden.

Tabelle 24: Konzentrationen der Verbindungen nach VHS-Isolierung aus Jostabeeren desselben Standortes (Freising bzw. Deutenkofen) in verschiedenen Jahren

Substanz	Freising			Deutenkofen		
	2010	2011	2012	2011	2012	2012
	19. Juli	13. Juli	16. Juli	04. Juli	02. Juli	11. Juli
	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]					
Methylbutanoat	695 \pm 225	2330 \pm 291	2000 \pm 287	1851 \pm 448	2019 \pm 527	2045 \pm 161
Ethylbutanoat	46 \pm 20	348 \pm 66	596 \pm 149	445 \pm 86	123 \pm 34	254 \pm 100
(E)-Methylbut-2-enoat	90 \pm 4	125 \pm 15	151 \pm 31	92 \pm 16	110 \pm 18	165 \pm 14
Methylbenzoat	160 \pm 16	13 \pm 3	34 \pm 10	62 \pm 5	109 \pm 23	28 \pm 5
Methylhexanoat	23 \pm 5	40 \pm 3	24 \pm 1	19 \pm 2	28 \pm 9	49 \pm 6
(E)-Ethylbut-2-enoat	4 \pm 1	22 \pm 4	62 \pm 9	24 \pm 4	7 \pm 1	24 \pm 6
Ethylbenzoat	n.d. ^a	n.d.	n.d.	22 \pm 1	n.d.	n.d.
Summe:	1018	2879	2867	2515	2395	2566
(E)-Hex-2-enal	8066 \pm 109	9613 \pm 819	11473 \pm 2730	5793 \pm 857	13583 \pm 1393	8686 \pm 1230
(Z)-Hex-3-enal	652 \pm 142	565 \pm 226	322 \pm 198	2299 \pm 2426	6006 \pm 852	237 \pm 24
(E)-Hex-2-en-1-ol	862 \pm 325	525 \pm 180	438 \pm 151	1745 \pm 920	381 \pm 31	1108 \pm 232
Hexanal	158 \pm 33	365 \pm 75	330 \pm 114	128 \pm 81	486 \pm 36	183 \pm 22
(Z)-Hex-3-en-1-ol	223 \pm 19	186 \pm 11	127 \pm 13	491 \pm 93	264 \pm 20	259 \pm 29
(E)-Hex-3-enal	149 \pm 74	233 \pm 22	160 \pm 30	275 \pm 80	318 \pm 34	197 \pm 27
(Z)-Hex-2-enal	68 \pm 16	45 \pm 4	30 \pm 3	66 \pm 25	44 \pm 10	49 \pm 7
Hexan-1-ol	45 \pm 10	43 \pm 10	35 \pm 3	48 \pm 18	25 \pm 4	82 \pm 16
(E)-Hex-3-en-1-ol	34 \pm 14	25 \pm 3	8 \pm 7	52 \pm 20	10 \pm 1	34 \pm 5
Summe:	10256	11601	12921	10897	21117	10835

Substanz	Freising			Deutenkofen		
	2010	2011	2012	2011	2012	2012
	19. Juli	13. Juli	16. Juli	04. Juli	02. Juli	11. Juli
	[µg/kg]					
2-Methylbut-3-en-2-ol	586±74	1670±548	1378±197	1051±287	1011±328	1076±89
1,8-Cineol	453±97	308±51	484±80	536±50	430±7	631±63
Pent-1-en-3-on	28±2	57±10	49±12	62±6	69±13	49±8
Oct-1-en-3-ol	5±1	68±16	10±3	134±27	32±7	17±6
(E)-Pent-2-enal	29±3	30±7	22±3	36±10	27±5	32±7
(Z)-Pent-2-en-1-ol	22±1	27±3	18±1	37±5	28±1	23±2
Pent-1-en-3-ol	8±2	21±3	17±1	23±3	28±2	20±1
Terpinen-4-ol	22±6	14±5	10±2	47±6	7±1	5±1
2-Methylpropan-1-ol	18±9	4±0	7±9	26±6	9±9	15±20
α-Terpineol	14±6	5±3	3±3	22±3	3±0	7±2
Summe:	1186	2205	1998	1976	1645	1875
Gesamt:	12459	16685	17787	15387	25157	15276

a: Nicht identifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag.

Wie bereits im Jahr 2011 für die unterschiedlichen Anbauorte festgestellt wurde, stellte sich auch in den Jahren 2010 bis 2012 die Reife der Beeren im gleichen, sehr engen Zeitraum ein (Tabelle 23 und Tabelle 24). Die Konzentrationen der einzelnen sowie die Summen aller flüchtigen Komponenten der in Freising geernteten Jostabeeren waren in den Jahren 2011 und 2012 sehr ähnlich. Auch die Konzentrationen der meisten C₆-Komponenten und Alkohole der Charge aus dem Jahr 2010 stimmen gut mit jenen der anderen Jahre überein. Die Esterkonzentrationen sowie die Menge an 2-Methylbut-3-en-2-ol liegen jedoch deutlich niedriger.

Der Vergleich der zweifachen Ernte innerhalb des Jahres 2012 (Deutenkofen) zeigte, dass sich die flüchtige Zusammensetzung der Jostabeeren je nach Reifezeitpunkt innerhalb eines Jahres verändert. Während die Konzentrationen der Ester, Alkohole, Terpenalkohole, Aldehyde und Ketone nahezu unbeeinflusst blieben, nahm die Menge an C₆-Verbindungen zum späteren Erntezeitpunkt deutlich ab. Sie sank von 21117 µg/kg auf 10835 µg/kg. Das Verhältnis der C₆-Aldehyde und C₆-Alkohole verschob sich zum späteren Erntezeitpunkt auf die Seite der Alkohole. Die stärkste Abnahme wurde für den C₆-Aldehyd (Z)-Hex-3-enal festgestellt. Der Vergleich der 2011 und 2012 geernteten Beeren aus Deutenkofen zeigte, dass sich die flüchtigen Profile der schwarz gefärbten, als reif geltenden Früchte unabhängig von früherer oder späterer Reifung bis auf die C₆-Komponenten kaum unterschieden.

Das flüchtige Profil reifer Jostabeeren ist folglich recht stabil. Trotz unterschiedlicher Anbauorte und Anbaujahre waren sowohl die Verteilung als auch die Summen der flüchtigen Verbindungen in unterschiedlichen Chargen nahezu identisch. Die C₆-Profile der früh und

spät reifenden Jostabeeren am selben Strauch innerhalb einer Saison unterschieden sich jedoch in ihrer Zusammensetzung.

4.2.1.3 Einfluss der enzymkatalysierten Reaktionen auf das Spektrum von C₆-Verbindungen

Um analog zu den Versuchen mit Stachelbeeren (siehe 4.1.1.3) auch in Jostabeeren die Dynamik der Bildung der C₆-Komponenten verfolgen zu können, wurden Inhibierungsversuche mit Jostabeeren auf gleiche Weise durchgeführt. Die Ergebnisse der Enzyminhibierung zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Homogenisierung von Jostabeeren ist in Abbildung 20 dargestellt.

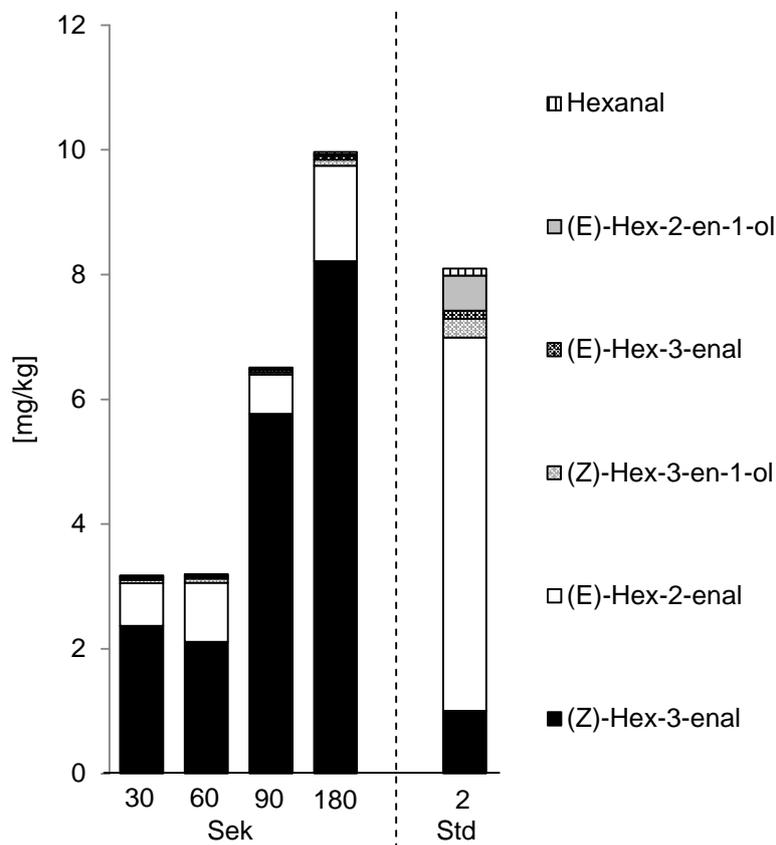


Abbildung 20: Durch VHS ermittelte Konzentrationen der C₆-Komponenten in Jostabeeren: Enzyminhibierung nach unterschiedlichen Zeitintervallen (30, 60, 90 und 180 Sekunden) sowie ohne Inhibierung (2 Stunden Extraktionszeit)

Wie erwartet führte die längere Aktivität der Enzyme zu einer Zunahme der Summe an C₆-Komponenten. Bei der Durchführung ohne Inhibierung kam es allerdings zu einem leichten Rückgang der Summe an C₆-Komponenten. Da die Inhibierungsversuche aus zeitlichen Gründen nur in Einfachbestimmungen durchgeführt wurden, könnte die natürliche

Inhomogenität der Früchte die Ursache der Abnahme darstellen. Nichtsdestotrotz konnte die Dynamik der Bildung des für Jostabeeren typischen C₆-Profils beobachtet werden: Während der ersten drei Minuten nach Zerstörung des Zellverbandes blieben die Verhältnisse der Komponenten ungefähr gleich, wobei (*Z*)-Hex-3-enal die Hauptverbindung darstellte, gefolgt von dessen Isomerisierungsprodukt (*E*)-Hex-2-enal. Fand aber keine Inhibierung der Enzyme statt, so veränderte sich das Profil drastisch: Nach zwei Stunden Isolierung mittels VHS lag nur noch ein vergleichsweise geringer Anteil an (*Z*)-Hex-3-enal vor. Die Haupt-C₆-Komponente stellte dann (*E*)-Hex-2-enal dar, was auch bereits für die anderen analysierten Chargen (Tabelle 23) gezeigt wurde. Demzufolge spielt die Aktivität der Isomerasen und Alkoholdehydrogenasen für das C₆-Profil in Jostabeeren eine entscheidende Rolle. Das primär gebildete (*Z*)-Hex-3-enal wird in nachfolgenden Reaktionen zum größten Teil in (*E*)-Hex-2-enal sowie in die Alkohole (*Z*)-Hex-3-en-1-ol und (*E*)-Hex-2-en-1-ol überführt. Ähnliche Veränderungen wurden bereits für das C₆-Profil in Rhabarber beobachtet (Dregus und Engel 2003).

4.2.1.4 Chirale Verbindungen in Jostabeeren

In Jostabeeren wurden die chiralen Verbindungen Oct-1-en-3-ol, Terpinen-4-ol, und α -Terpineol in Konzentrationen > 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nachgewiesen. Ziel war es, die in Jostabeeren vorliegenden Enantiomerenverteilungen dieser Verbindungen zu bestimmen. Die Untersuchung der Enantiomerenverhältnisse erfolgte mit Hilfe der Multidimensionalen Gaschromatographie.

Wie aus Abbildung 21 ersichtlich ist, konnten unter Verwendung von 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin als chiraler stationärer Phase die Enantiomere von Oct-1-en-3-ol sowie von α -Terpineol getrennt werden. Eine Basislinientrennung der Enantiomere von Terpinen-4-ol konnte mit keiner der verwendeten stationären Phasen (2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin-Säule; 2,3-di-*O*-methyl- β -cyclodextrin-Säule; 2,3-di-*O*-ethyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin-Säule; 2,3-MOM- γ -cyclodextrin-Säule) erzielt werden. In Abbildung 22 ist eine Antrennung zu erkennen, auf Basis derer die in Jostabeeren vorkommenden Enantiomerenverhältnisse abgeschätzt wurden. Für eine exakte Bestimmung der optischen Reinheit müsste jedoch eine andere stationäre Phase gefunden werden. Die Bestimmung der Elutionsreihenfolgen der Komponenten erfolgte für Oct-1-en-3-ol mit Hilfe eines aus Champignons gewonnenen VHS-Extraktes und für α -Terpineol durch den Abgleich der Elutionsreihenfolge einer authentischen Referenzsubstanz und dem Vergleich mit Literaturdaten (Dugo *et al.* 2001). Für die Enantiomere von Terpinen-4-ol erfolgte keine Zuordnung.

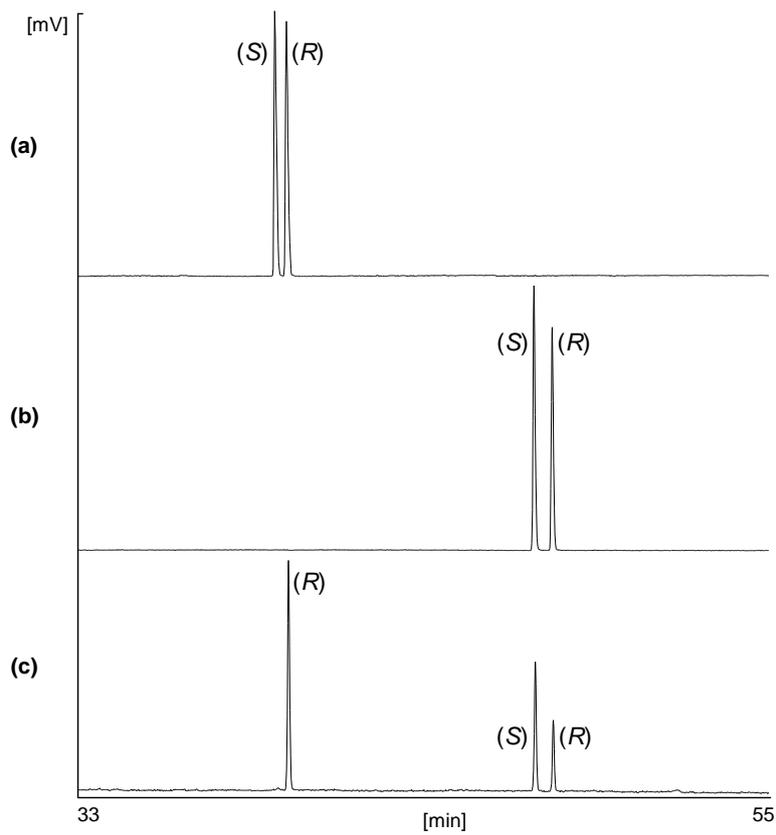


Abbildung 21: Enantioselektive MDGC-Analyse (a) einer racemischen Referenzsubstanz Oct-1-en-3-ol, (b) einer racemischen Referenzsubstanz α -Terpineol und (c) eines VHS-Extraktes aus Jostabeeren (GC-Bedingungen siehe Material und Methoden)

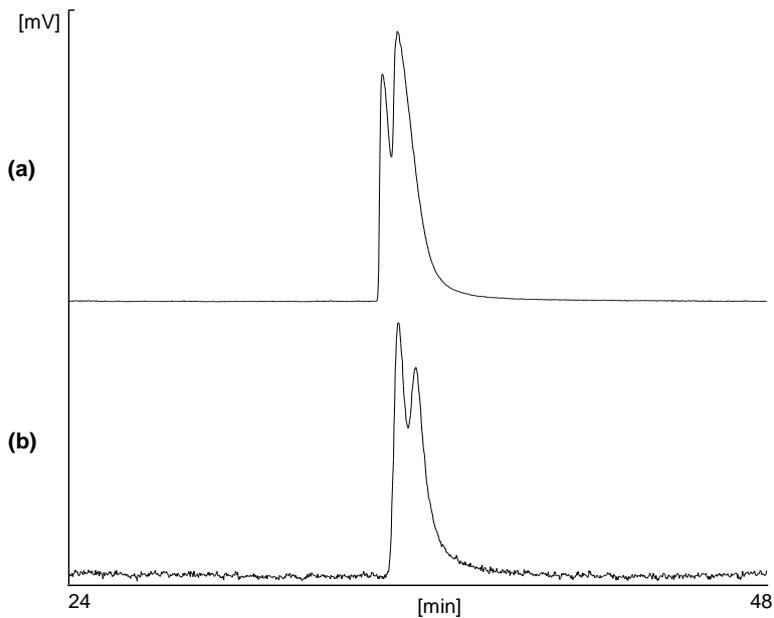


Abbildung 22: Enantioselektive MDGC-Analyse (a) einer racemischen Referenzsubstanz Terpinen-4-ol und (b) eines VHS-Extraktes aus Jostabeeren (GC-Bedingungen siehe Material und Methoden)

Es wurden die Enantiomerenverhältnisse in mittels VHS und LLE (4.2.2) gewonnenen Extrakten aus reifen, frischen bzw. aus tiefgekühlten Jostabeeren untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 zusammengestellt.

Tabelle 25: Enantiomerenzusammensetzungen von Oct-1-en-3-ol, α -Terpineol und Terpinen-4-ol in Jostabeeren

	Enantiomerenzusammensetzung [%]					
	Oct-1-en-3-ol ^a		α -Terpineol ^a		Terpinen-4-ol ^b	
	(S)	(R)	(S)	(R)	erstelulierendes Enantiomer	zweitelulierendes Enantiomer
FrISCHE, reife Beeren						
VHS-Extrakt	<1	> 99	65	35	41	59
LLE-Extrakt	<1	> 99	66	34	47	53
Reife Beeren nach Tiefkühlagerung						
LLE-Extrakt	11	89	64	36	36	64

a: Trennung der Enantiomere auf einer 2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin-Säule mittels MDGC. b: lediglich Abschätzung, da nur Antrennung der Enantiomere auf einer 2,3-di-O-methyl- β -cyclodextrin-Säule mittels MDGC.

In den frischen Beeren lag stets das (*R*)-Enantiomer von Oct-1-en-3-ol in hoher optischer Reinheit vor. In den tiefgekühlt gelagerten Beeren stieg der Anteil an (*S*)-Oct-1-en-3-ol auf bis zu 11 %. Die Enantiomerenverteilung von α -Terpineol zeigte keine Beeinflussung durch die Tiefkühlung der Früchte. Das Verhältnis lag im Mittel bei 65 % (*S*) zu 35 % (*R*). Die Enantiomerenverteilung des Terpinen-4-ols konnte aufgrund der schlechten Trennung nur abgeschätzt werden. Es ergab sich eine leicht höhere Konzentration des zweiteluarierenden Enantiomers.

Bisher lagen keine Untersuchungen zu den Enantiomerenverteilungen von Oct-1-en-3-ol, α -Terpineol und Terpinen-4-ol in Jostabeeren vor. Untersuchungen der Enantiomerenverhältnisse chiraler Terpene und Terpenalkohole in Schwarzen Johannisbeeren zeigten ein Verhältnis von 62,8 (*S*) / 37,2 (*R*) für α -Terpineol und von 41,2 (*S*) / 58,8 (*R*) für Terpinen-4-ol (Orav *et al.* 2002). Diese in Schwarzen Johannisbeeren bestimmten Verhältnisse für α -Terpineol sind jenen in Jostabeeren sehr ähnlich.

4.2.1.5 Einfluss der Reife

Zusätzlich zu frischen Jostabeeren wurden unreife Beeren untersucht, und es folgte der Vergleich der flüchtigen Profile. Wie in Abbildung 23 zu sehen ist, zeigten die unreifen Jostabeeren eine grüne bis leicht rote Farbe, während die reifen Beeren eine fast schwarze Färbung aufwiesen. Die unreifen und reifen Beeren wurden zum gleichen Zeitpunkt von demselben Strauch geerntet, sodass die beobachteten Veränderungen nicht durch andere Faktoren, wie beispielsweise der Bodenbeschaffenheit oder der Sonneneinstrahlung,

beeinflusst wurden. Die mittels VHS-Isolierung erhaltenen quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 26 dargestellt.



Abbildung 23: Unreife (links) und reife (rechts) Jostabeeren

Tabelle 26: Konzentrationen der flüchtigen Verbindungen in unreifen und reifen Jostabeeren

Verbindungen	unreif	reif
	[$\mu\text{g}/\text{kg}$] ^a	
C₆-Komponenten		
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	2133 ± 1282	13583 ± 1393
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	17891 ± 2653	6006 ± 852
Hexanal	211 ± 13	486 ± 36
(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	260 ± 34	381 ± 31
(<i>E</i>)-Hex-3-enal	621 ± 105	318 ± 34
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	1042 ± 112	264 ± 20
(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	22 ± 12	44 ± 10
Hexan-1-ol	28 ± 3	25 ± 4
(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	27 ± 6	10 ± 1
Summe	22237	21117
Ester		
Methylbutanoat	398 ± 92	2019 ± 527
Ethylbutanoat	9 ± 5	123 ± 34
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	n.d. ^b	110 ± 18
Methylbenzoat	15 ± 2	109 ± 23
Methylhexanoat	10 ± 9	28 ± 9
Methyloctanoat	25 ± 6	17 ± 3
Ethyldecanoat	n.d.	10 ± 2
Methyldecanoat	n.d.	9 ± 2
Benzylacetat	n.d.	7 ± 0
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	n.d.	7 ± 1
Methylsalicylat	4 ± 1	5 ± 1
(<i>E</i>)-Hex-2-enylacetat	4 ± 3	3 ± 3
Hexylacetat	n.q.	n.q.
Ethylhexanoat	n.d.	n.q.
3-Methylbut-2-enylacetat	n.q.	n.d.
Summe	466	2447
Alkohole		
2-Methylbut-3-en-2-ol	94 ± 23	1011 ± 328

Verbindungen	unreif	reif
	[µg/kg] ^a	
(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	148 ± 47	32 ± 7
(<i>Z</i>)-Pent-2-en-1-ol	30 ± 0	28 ± 1
Pent-1-en-3-ol	29 ± 3	28 ± 2
2-Methylpropan-1-ol	n.q. ^c	9 ± 9
(<i>E</i>)-Pent-2-en-1-ol	4 ± 0	4 ± 0
Ethan-1-ol	n.d.	4 ± 3
Benzylalkohol	n.d.	n.q.
Pentan-2-ol	n.q.	n.d.
Octan-1-ol	14 ± 4	n.d.
Summe	319	1116
Terpene/Terpenalkohole		
1,8-Cineol	342 ± 269	430 ± 7
Terpinen-4-ol	8 ± 1	7 ± 1
Sabinen	6 ± 2	5 ± 1
α-Terpineol	2 ± 2	3 ± 0
β-Pinen	2 ± 2	n.d.
Terpinolen	n.d.	n.q.
γ-Terpinen	n.q.	n.d.
Summe	378	454
Ketone		
Pent-1-en-3-on	64 ± 4	69 ± 13
Oct-1-en-3-on	20 ± 9	n.d.
Summe	84	69
Aldehyde		
(<i>E</i>)-Pent-2-enal	31 ± 5	27 ± 5
Nonanal	5 ± 2	n.q.
(<i>Z</i>)-Pent-2-enal	21 ± 1	n.d.
Summe	38	27
Sonstige		
C ₅ -Komponenten ^d	12 ± 2	10 ± 2
Heptadienal-Isomer	6 ± 0	6 ± 1
1,2-Propandiol	6 ± 1	5 ± 3
Summe	24	21

a: Mittelwert und Standardabweichung aus einer Dreifachbestimmung. Ernte der unreifen und der reifen Beeren am 02.07.12 in Deutenkofen. b: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Peakfläche unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag. c: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Peakfläche unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. d: Koelution von Propylacetat, Pentan-2-on, Pentan-3-on und Pentanal.

Mit zunehmender Reife der Jostabeeren wurden steigende Gesamtkonzentrationen der Ester (von 466 µg/kg auf 2447 µg/kg) und Alkohole (von 315 µg/kg auf 1112 µg/kg) festgestellt. Der höhere Gehalt an Estern wurde vor allem durch die stark steigende Konzentration von Methylbutanoat von 398 µg/kg in den unreifen Beeren auf 2019 µg/kg in den reifen Beeren verursacht. Innerhalb der Stoffgruppe der Alkohole wurden unterschiedliche Einflüsse der Reife beobachtet. Während die Konzentrationen von (*Z*)-Pent-2-en-1-ol und Pent-1-en-3-ol konstant blieben und der Gehalt an (*R*)-Oct-1-en-3-ol mit zunehmender Reife abnahm, stieg die Konzentration an 2-Methylbut-3-en-2-ol beträchtlich

von 94 µg/kg auf 1011 µg/kg. Eine starke Zunahme dieser Komponenten mit der Reifung wurde auch in Schwarzen Johannisbeeren festgestellt (Andersson und von Sydow 1966a). Neben den starken Konzentrationsänderungen der Ester und Alkohole blieb die Summe der C₆-Verbindungen in den unreifen und reifen Früchten nahezu konstant. Innerhalb der Stoffgruppe änderte sich die Verteilung der einzelnen Komponenten jedoch drastisch. Während in unreifen Jostabeeren (*Z*)-Hex-3-enal ca. 80 % der C₆-Verbindungen darstellte, sank dieser Anteil in den reifen Früchten auf ca. 28 %. Es fand eine verstärkte Isomerisierung des primär gebildeten (*Z*)-Hex-3-enals zu (*E*)-Hex-2-enal statt. Generell nahmen die Konzentrationen aller Hex-3-enale/-ole mit der Reife ab, während die Konzentrationen der Hex-2-enale/-ole einheitlich zunahmen.

Zusätzlich wurden abnehmende Konzentrationen für β-Pinen und Oct-1-en-3-on festgestellt. Die Abnahme des Ketons passt zu der ebenfalls detektierten sinkenden Konzentration des Alkohols Oct-1-en-3-ol, da beide Verbindungen aus dem gleichen Bildungsweg stammen.

4.2.1.6 Einfluss der Tiefkühlagerung

Um die Eignung von Jostabeeren zur Tiefkühlung zu bewerten, wurden die flüchtigen Profile und die Aromaprofile von frischen Jostabeeren und von Beeren nach achtmonatiger Tiefkühlung analysiert und miteinander verglichen.

In Tabelle 27 sind die mittels VHS erhaltenen Konzentrationen flüchtiger Verbindungen frischer und tiefgekühlt gelagerter Jostabeeren aufgelistet. Substanzen, deren Konzentrationen in beiden Chargen unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen, sind in der Tabelle nicht aufgeführt.

Tabelle 27: Konzentrationen der mittels VHS isolierten flüchtigen Verbindungen in frischen und tiefgekühlt gelagerten (acht Monate) Jostabeeren

Verbindungen	frisch	tiefgekühlt
	[µg/kg] ^a	
C₆-Komponenten		
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	4836 ± 696	37 ± 3
(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	1249 ± 462	54 ± 4
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	955 ± 605	n.d. ^b
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	238 ± 79	11 ± 3
(<i>E</i>)-Hex-3-enal	116 ± 71	n.d.
(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	45 ± 6	n.d.
(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	29 ± 8	n.d.
(<i>Z</i>)-Hex-2-en-1-ol	3 ± 1	n.d.
Hexanal	134 ± 55	123 ± 21
Hexan-1-ol	105 ± 73	54 ± 5
Ester		
Methylbutanoat	2725 ± 374	1494 ± 200
Ethylbutanoat	712 ± 240	377 ± 27
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	74 ± 14	44 ± 6

Verbindungen	frisch	tiefgekühlt
	[µg/kg] ^a	
Methylhexanoat	48 ± 7	16 ± 2
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	23 ± 3	22 ± 1
Methylbenzoat	17 ± 2	17 ± 2
Ethylhexanoat	10 ± 3	4 ± 0
Benzylacetat	9 ± 1	13 ± 0
Ethylbenzoat	8 ± 1	9 ± 1
Methyloctanoat	8 ± 0	n.d.
Ethyloctanoat	5 ± 1	n.d.
Ethyl-2-hydroxybutanoat	n.d.	7 ± 4
Alkohole		
2-Methylbut-3-en-2-ol	902 ± 132	976 ± 85
1,8-Cineol	447 ± 58	429 ± 19
Terpinen-4-ol	60 ± 11	40 ± 5
(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	26 ± 18	30 ± 12
α-Terpineol	17 ± 2	5 ± 1
Butan-1-ol	11 ± 1	19 ± 5
2-Methylpropan-1-ol	10 ± 5	18 ± 8
Pentan-1-ol	7 ± 1	59 ± 19
Benzylalkohol	3 ± 3	8 ± 1
Butan-2-ol	n.d.	13 ± 1
Ketone		
Pent-1-en-3-on	18 ± 3	5 ± 1

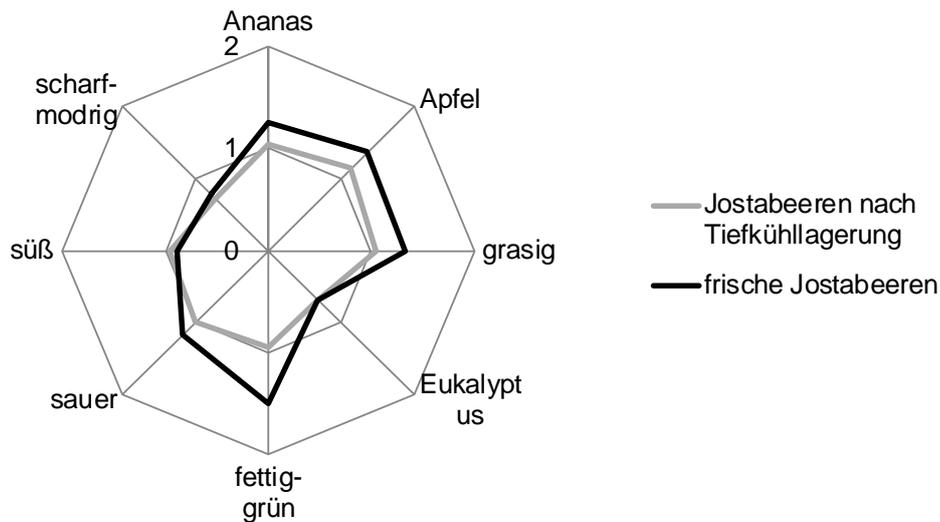
a: Mittelwert und Standardabweichung je einer Dreifachbestimmung; gleiche Charge Beeren (30.06.11) vor und nach Tiefkühlagerung für 8 Monate. b: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag.

Das flüchtige Profil von Jostabeeren wurde durch das Gefrieren stark beeinflusst. Die Konzentrationen der meisten Ester und der aus Linolensäure gebildeten C₆-Komponenten waren stark verringert, wie analog bereits unter 4.1.1.6 für Stachelbeeren festgestellt wurde. Am deutlichsten zeigte sich die Abnahme der aus Linolensäure gebildeten C₆-Komponenten, die nach Lagerung bei -20°C kaum mehr nachweisbar waren.

Die Gehalte an 2-Methylbut-3-en-2-ol, 1,8-Cineol sowie die der anderen Terpene und Terpenalkohole wurden nicht beeinflusst.

Diese Konzentrationsänderungen der flüchtigen Verbindungen wirkten sich auch auf das Aroma der Beeren aus. Abbildung 24 zeigt einen Vergleich der Aromaprofile frischer und für einen Zeitraum von acht Monaten tiefgekühlt gelagerter Jostabeeren.

Abbildung 24: Aromaprofil von frischen Jostabeeren und Jostabeeren nach achtmonatiger Tiefkühlagerung.



Das Gefrieren der Jostabeeren führte zu einem weniger frischen und weniger fruchtigen Aroma. Wie Abbildung 24 zeigt, wurden die Intensitäten der Geruchseindrücke süß, modrig-stechend und Eukalyptus in frischen und aufgetauten Jostabeeren gleich stark bewertet. Die Intensitäten der grünen (Apfel, grasig, fettig-grün) und fruchtigen (Ananas) Aromanoten wurden bei den aufgetauten Beeren jedoch deutlich schwächer bewertet.

4.2.2 Einfluss der Flüssig-Flüssig-Extraktion auf das Aromaprofil von Jostabeeren

4.2.2.1 Einleitung

Wie bereits unter 4.1.2.1 diskutiert wurde, empfiehlt sich für die umfangreiche Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile eines Lebensmittels die parallele Anwendung mehrerer Methoden. Zur Isolierung der flüchtigen Komponenten aus Jostabeeren wurde daher neben der bereits diskutierten VHS-Technik die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) nach Kutscher Steudel (Wieland und Sucrow 1982) angewandt.

4.2.2.2 Ergebnisse und Diskussion

Neben der VHS-Isolierung wurden sieben Chargen Jostabeeren parallel zusätzlich mittels LLE aufgearbeitet. Durch die Anwendung dieser zweiten Extraktionsmethode wurden 33 weitere Inhaltsstoffe in Jostabeeren nachgewiesen bzw. zugeordnet: Butanal, Neral, Furfural, Acetaldehyd-2,3-butandiolacetal*, Hex-2-enalpropylenglycolacetal*, Vanillin, Methyl-3-hydroxybutanoat, Ethyl-3-hydroxybutanoat, (Z)-Hex-3-enylacetat, Pentan-3-ol, Dodecanol, Zimtalkohol, 2-Phenoxyethanol, 2,3-Dehydro-1,8-cineol*, *p*-Cymen-8-ol, *p*-Cymen-7-ol*,

p-Mentha-1,5-dien-8-ol*, Terpeneol-Isomer*, Lilac-Alkohol* (2 Stereoisomere), Butan-2,3-diol (2 Stereoisomere), Pent-3-en-2-on, 2-Oxabicyclo(2,2,2)octan-6-on*, *p*-Menthahex-3-en-2-on*, But-3-en-2-on*, Benzoesäure, Hexensäure-Isomer*, Phenyllessigsäure, α -Terpinen, γ -Hexalacton, *p*- α -Dimethylstyrol und (*Z*)-Linalooloxid* (* keine Referenzsubstanz vorhanden; Zuordnung durch Abgleich des Massenspektrums mit Literaturdaten).

Wie das beispielhafte Chromatogramm zeigt (Abbildung 25), waren auch in den LLE-Extrakten aus Jostabeeren, wie bereits unter 4.1.2.2 für Stachelbeeren dargestellt, zusätzlich höherkettige Kohlenwasserstoffe enthalten. Da im Gegensatz zu den analysierten Stachelbeeren eine Fruchtbehandlung der Jostabeeren ausgeschlossen werden kann, sind die detektierten aliphatischen Kohlenwasserstoffe folglich auf einen endogenen Ursprung zurückzuführen. Die mittels VHS und LLE bestimmten Konzentrationen der einzelnen Komponenten sind in Tabelle 28 für zwei beispielhafte Chargen gegenübergestellt.

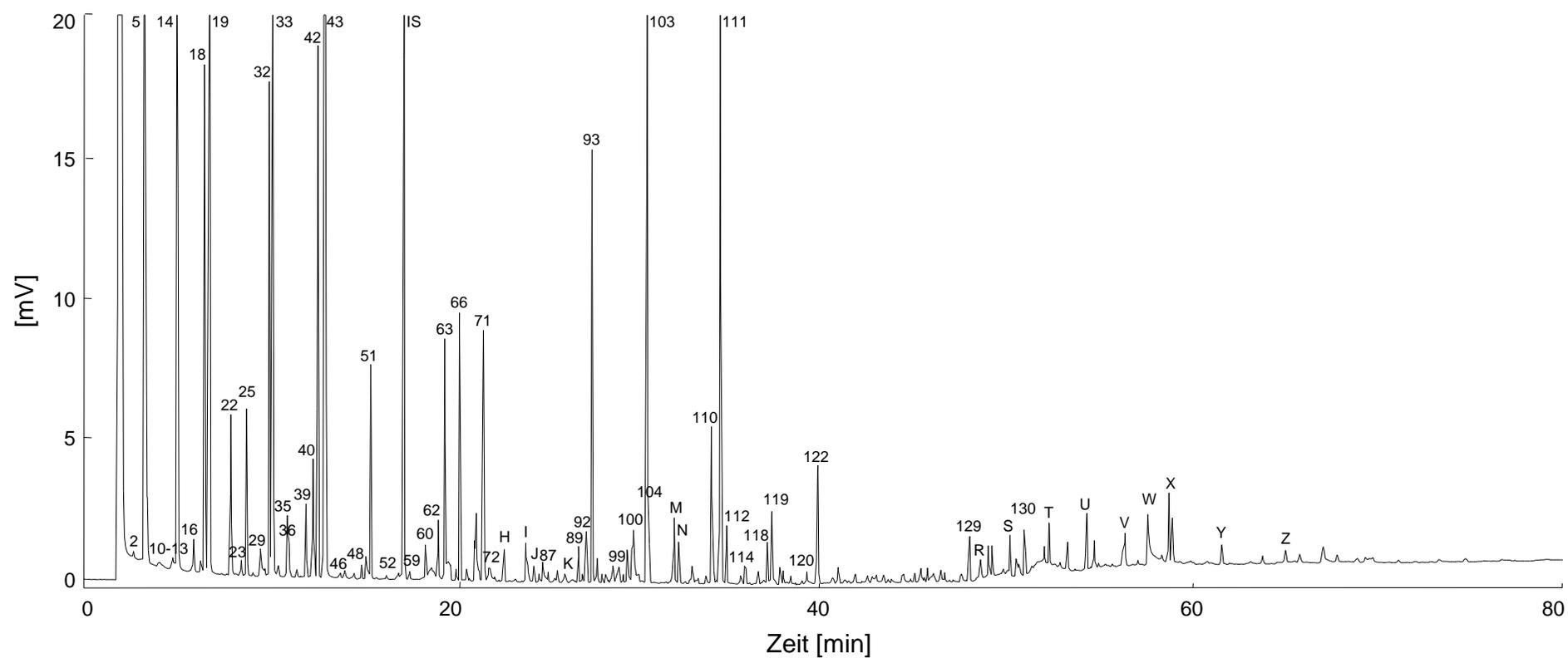


Abbildung 25: Kapillargaschromatographische Trennung (DB-WAX) der mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion aus Jostaberries (16.07.12, Konzentrationen siehe Tabelle 28) isolierten flüchtigen Verbindungen (die angegebenen Nummern entsprechen den Verbindungen in Tabelle 28; Bedingungen siehe Material und Methoden; IS: interner Standard Heptan-2-ol)

Tabelle 28: Konzentrationen der nach VHS und LLE quantifizierten Verbindungen aus zwei Chargen Jostabeeren

Nr. ^a	Substanz	RI ^b	30.06.11		16.07.12		
			VHS	LLE	VHS	LLE	
[µg/kg] ^c							
<u>C₆-Komponenten</u>							
43	(<i>E</i>)-Hex-2-enal	1211	4836 ± 696	4870 ± 2275	11473 ± 2730	8361 ± 471	<i>d</i>
66	(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	1406	1249 ± 462	181 ± 66	438 ± 151	123 ± 13	<i>d</i>
33	(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1138	955 ± 605	1032 ± 364	322 ± 198	3535 ± 329	<i>d</i>
63	(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	1384	238 ± 79	146 ± 45	127 ± 13	110 ± 6	<i>d</i>
22	Hexanal	1075	134 ± 55	113 ± 97	330 ± 114	294 ± 33	<i>d</i>
32	(<i>E</i>)-Hex-3-enal	1133	116 ± 71	365 ± 47	160 ± 30	748 ± 43	<i>d</i>
60	Hexan-1-ol	1355	105 ± 73	14 ± 5	35 ± 3	10 ± 1	<i>d</i>
61	(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	1364	45 ± 6	n.q.	8 ± 7	n.d.	<i>e</i>
40	(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	1194	29 ± 8	49 ± 14	30 ± 3	54 ± 1	<i>f</i>
67	(<i>Z</i>)-Hex-2-en-1-ol	1417	3 ± 1	n.d. ⁱ	n.q.	n.d.	<i>e</i>
31	Hex-5-enal	1127	n.q. ^h	n.d.	5 ± 2	3 ± 3	<i>f</i>
<u>Ester</u>							
14	Methylbutanoat	975	2725 ± 374	2556 ± 933	2000 ± 287	1978 ± 358	<i>d</i>
18	Ethylbutanoat	1034	712 ± 240	555 ± 28	596 ± 149	376 ± 79	<i>d</i>
25	(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	1096	74 ± 14	85 ± 27	151 ± 31	128 ± 3	<i>d</i>
39	Methylhexanoat	1184	48 ± 7	35 ± 17	24 ± 1	35 ± 6	<i>d</i>
35	(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	1158	23 ± 3	22 ± 4	62 ± 9	38 ± 7	<i>d</i>
92	Methylbenzoat	1613	17 ± 2	16 ± 3	34 ± 10	23 ± 6	<i>d</i>
59	(<i>E</i>)-Hex-2-enylacetat	1332	12 ± 7	22 ± 8	n.q.	n.q.	<i>e</i>
45	Ethylhexanoat	1232	10 ± 3	7 ± 3	7 ± 3	n.q.	<i>e</i>
130	Phthalat	2539	9 ± 4	n.d.	10 ± 2	13 ± 4	<i>f,k</i>
104	Benzylacetat	1725	9 ± 1	6 ± 4	4 ± 4	16 ± 2	<i>e</i>
98	Ethylbenzoat	1659	8 ± 1	6 ± 1	n.d.	n.d.	<i>e</i>
105	Methylsalicylat	1769	8 ± 1	8 ± 1	n.q.	n.d.	<i>e</i>
64	Methyloctanoat	1387	8 ± 0	15 ± 3	7 ± 2	9 ± 0	<i>e</i>
70	Ethylloctanoat	1436	5 ± 1	6 ± 1	n.q.	n.d.	<i>e</i>
21	Butylacetat	1061	3 ± 3	2 ± 2	n.d.	n.d.	<i>e</i>
90	Methyldecanoat	1594	2 ± 2	n.d.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
94	Ethyldecanoat	1635	2 ± 2	n.d.	15 ± 3	8 ± 2	<i>e</i>
52	Hexylacetat	1263	2 ± 2	n.q.	n.d.	n.q.	<i>e</i>
106	Ethylsalicylat	1783	2 ± 2	n.d.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
28	3-Methylbutylacetat	1110	n.q.	n.q.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
O	Isopropylaurat	1805	n.q.	4 ± 1	n.d.	n.d.	<i>f</i>
126	Isopropylpalmitat	2241	n.q.	n.d.	n.q.	n.d.	<i>f</i>
44	Ethyl-2-methylbut-2-enoat	1223	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	<i>f</i>
5	Ethylacetat	886	n.k. ^g	n.k.	n.k.	n.k.	<i>e</i>
2	Ethylformiat	826	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	<i>f</i>
D	(<i>Z</i>)-Hex-3-enylacetat	1304	n.d.	29 ± 14	n.d.	n.d.	<i>e</i>
62	Methyl-2-hydroxybutanoat	1374	n.d.	n.d.	n.d.	18 ± 5	<i>f</i>
131	Phthalat	2697	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<i>e,k</i>
47	3-Methylbut-2-enylacetat	1251	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	<i>e</i>
H	Methyl-3-hydroxybutanoat	1458	n.d.	n.q.	n.d.	25 ± 6	<i>e</i>
I	Ethyl-3-hydroxybutanoat	1499	n.d.	n.q.	n.d.	14 ± 2	<i>e</i>
3	Methylacetat	824	n.d.	n.d.	n.k.	n.k.	<i>f</i>
<u>Alkohole</u>							
19	2-Methylbut-3-en-2-ol	1041	902 ± 132	1483 ± 99	1378 ± 197	1906 ± 282	<i>d</i>
72	(<i>R</i>)-Oct-1-en-3-ol	1452	26 ± 18	29 ± 7	10 ± 3	8 ± 3	<i>d</i>
58	(<i>Z</i>)-Pent-2-en-1-ol	1322	24 ± 1	56 ± 5	18 ± 1	n.d.	<i>e</i>
36	Pent-1-en-3-ol	1160	19 ± 1	15 ± 2	17 ± 1	15 ± 1	<i>e</i>
55	(<i>E</i>)-Pent-2-en-1-ol	1315	12 ± 10	n.d.	3 ± 0	n.d.	<i>f</i>
34	Butan-1-ol	1042	11 ± 1	14 ± 3	n.d.	n.d.	<i>e</i>

Nr. ^a	Substanz	RI ^b	30.06.11		16.07.12		
			VHS	LLE	VHS	LLE	
[µg/kg] ^c							
23	2-Methylpropan-1-ol	1084	10 ± 5	n.d.	7 ± 9	4 ± 4	e
48	Pentan-1-ol	1252	7 ± 1	7 ± 1	n.d.	11 ± 9	e
86	Octan-1-ol	1560	4 ± 1	n.q.	n.q.	n.q.	e
30	Pentan-2-ol	1123	3 ± 2	9 ± 4	n.d.	n.q.	e
112	Benzylalkohol	1871	3 ± 3	n.q.	n.d.	13 ± 3	e
8	Ethanol	931	n.d.	11 ± 10	n.d.	n.d.	e
N	<i>p</i> -Mentha-1,5-dien-8-ol	1779	n.d.	n.d.	n.d.	14 ± 4	f
121	<i>p</i> -Mentha-1,4-dien-7-ol	2053	n.d.	n.d.	n.d.	6 ± 6	f
114	2-Phenylethan-1-ol	1906	n.d.	2 ± 2	n.d.	3 ± 3	e
C	3-Methylbutan-1-ol	1203	n.d.	n.d.	n.q.	n.q.	e
81	(<i>Z</i>)-Hexa-3,5-dien-1-ol	1507	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	f
Terpene/Terpenalkohole							
42	1,8-Cineol	1200	447 ± 58	339 ± 17	484 ± 80	287 ± 38	d
103	2-Hydroxy-1,8-cineol	1721	n.q.	145 ± 12	n.q.	330 ± 44	f
111	2-Hydroxy-1,8-cineol	1859	n.d.	105 ± 11	n.d.	229 ± 18	f
89	Terpinen-4-ol	1592	60 ± 11	44 ± 1	10 ± 2	12 ± 1	d
100	α -Terpineol	1685	17 ± 2	30 ± 7	3 ± 3	17 ± 1	e
P	<i>p</i> -Cymen-8-ol	1831	n.d.	n.d.	n.d.	5 ± 5	e
B	α -Terpinen	1167	n.d.	n.d.	n.d.	2 ± 1	e
46	γ -Terpinen	1238	2 ± 1	n.q.	n.q.	2 ± 2	e
24	β -Pinen	1093	4 ± 1	n.d.	n.d.	n.d.	e
84	Linalool	1548	n.d.	n.d.	n.d.	n.q.	e
27	Sabinen	1106	n.q.	n.d.	n.q.	n.d.	e
41	Limonen	1196	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	d
Q	<i>p</i> -Cymen-7-ol	2072	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	f
53	Terpinolen	1272	n.d.	n.d.	n.q.	n.k.	d
Ketone							
16	Pent-1-en-3-on	1009	18 ± 3	64 ± 44	49 ± 12	26 ± 3	e
M	5-Methylhex-3-en-2-on	1772	n.d.	n.d.	n.d.	26 ± 1	f
51	Acetoin	1259	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	d
L	2-Oxabicyclo(2,2,2)octan-6-on	1685	n.d.	n.d.	n.d.	n.q.	f
A	Pent-3-en-2-on	1109	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	e
Aldehyde							
29	(<i>E</i>)-Pent-2-enal	1120	18 ± 2	24 ± 8	22 ± 3	17 ± 1	e
4	Prop-2-enal	843	n.d.	23 ± 25	n.d.	n.d.	e
1	Propanal	801	n.d.	16 ± 10	n.d.	n.d.	e
G	Furfural	1457	n.d.	n.d.	n.d.	6 ± 1	e
56	(<i>E</i>)-Hept-2-enal	1317	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	d
65	Nonanal	1391	n.q.	n.d.	n.d.	n.d.	e
26	(<i>Z</i>)-Pent-2-enal	1101	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	f
Säuren							
93	Buttersäure	1623	n.k.	92 ± 9	n.k.	259 ± 203	d
119	(<i>E</i>)-Hex-2-ensäure	1961	n.d.	11 ± 2	n.k.	49 ± 2	d
110	Hexansäure	1841	n.k.	17 ± 7	n.k.	38 ± 29	d
W	Zimtsäure	2852	n.d.	n.d.	n.d.	52 ± 37	d
118	(<i>E</i>)-Hex-3-ensäure	1951	n.k.	52 ± 28	n.d.	31 ± 1	d
122	Octansäure	2057	n.k.	n.q.	n.d.	23 ± 27	e
R	Benzoesäure	2427	n.d.	n.d.	n.d.	15 ± 4	e
99	2- und 3-Methylbuttersäure	1672	n.d.	4 ± 4	n.d.	7 ± 1	e
87	2-Methylpropansäure	1562	n.d.	n.d.	n.d.	n.q.	e

Nr. ^a	Substanz	RI ^b	30.06.11		16.07.12		
			VHS	LLE	VHS	LLE	
[µg/kg] ^c							
71	Essigsäure	1443	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	<i>d</i>
124	Nonansäure	2164	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	<i>e</i>
Sonstige							
10-13	C ₅ -Komponenten	963	27 ± 6	71 ± 18	29 ± 2	8 ± 1	<i>f</i>
X	Kohlenwasserstoff C 29	2904	n.d.	n.d.	n.d.	36 ± 6	<i>f</i>
U	Kohlenwasserstoff C 27	2704	n.d.	n.d.	n.d.	27 ± 8	<i>f</i>
T	Kohlenwasserstoff C 26	2603	n.d.	n.d.	n.q.	22 ± 8	<i>f</i>
V	Kohlenwasserstoff C 28	2803	n.d.	n.d.	n.q.	21 ± 8	<i>f</i>
129	Kohlenwasserstoff C 24	2399	n.d.	n.d.	4 ± 3	16 ± 6	<i>f</i>
Y	Kohlenwasserstoff C 30	3004	n.d.	n.d.	n.d.	16 ± 5	<i>f</i>
102	Kohlenwasserstoff C 17	1700	n.d.	n.d.	n.q.	15 ± 7	<i>f</i>
S	Kohlenwasserstoff C 25	2501	n.d.	n.d.	n.q.	11 ± 9	<i>f</i>
Z	Kohlenwasserstoff C 31	3104	n.d.	n.d.	n.d.	11 ± 4	<i>f</i>
123	Kohlenwasserstoff C 21	2098	n.d.	n.d.	12 ± 7	n.d.	<i>f</i>
74	Heptadienal-Isomer	1459	n.d.	n.d.	5 ± 1	n.d.	<i>f</i>
F	<i>p,α</i> -Dimethylstyrol	1419	n.d.	4 ± 3	n.d.	n.d.	<i>e</i>
E	Kohlenwasserstoff C 14	1400	n.d.	n.d.	n.d.	5 ± 0	<i>f</i>
116	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxytoluol	1912	36 ± 9	194 ± 111	n.d.	n.d.	<i>f</i>
88	Propylenglykol	1590	n.d.	n.q.	n.d.	n.d.	<i>e</i>
125	Kohlenwasserstoff C 22	2203	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	<i>f</i>
127	Kohlenwasserstoff C 23	2299	n.d.	n.d.	n.q.	n.d.	<i>f</i>
J	Butan-2,3-diol	1522	n.d.	n.k.	n.d.	n.k.	<i>d</i>
K	Butan-2,3-diol	1568	n.d.	n.d.	n.d.	n.k.	<i>d</i>
120	Kohlenwasserstoff C 20	1999	n.d.	n.d.	n.d.	n.q.	<i>f</i>
115	Kohlenwasserstoff C 19	1903	n.d.	n.d.	n.q.	n.q.	<i>f</i>

a: Die Nummern und Buchstaben entsprechen den Verbindungen in Abbildung 25, Tabelle 22 und Tabelle 23. b: Retentionsindex (DB-WAX). c: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. d: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang). e: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). f: Für die Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen. g: Nicht kalkulierbar (n.k.), da die Wiederfindung unter 25 % lag (siehe Anhang). h: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Fläche unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. i: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Fläche unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 g/kg) lag. k: nicht eindeutig identifizierbare Phthalsäureester. A-Z: nicht nach VHS, nur mittels LLE nachgewiesen.

Die prozentuale Verteilung der Stoffgruppen (ohne Berücksichtigung der in Tabelle 28 aufgeführten Säuren und sonstigen Verbindungen) aller analysierten Chargen ist in Abbildung 26 dargestellt. Der Vergleich der beiden Extraktionsmethoden für sieben Chargen Jostabeeren zeigte kaum Einfluss auf die prozentuale Verteilung der Stoffgruppen. Die leichte Zunahme der Alkohole bzw. der Gruppe der Terpene und Terpenalkohole ist hauptsächlich auf die Verbindungen 2-Methylbut-3-en-2-ol sowie die beiden Stereosiomere des 2-Hydroxy-1,8-cineols zurückzuführen. Letztere waren in den VHS-Extrakten nicht oder nur in vergleichsweise geringen Konzentrationen nachweisbar.

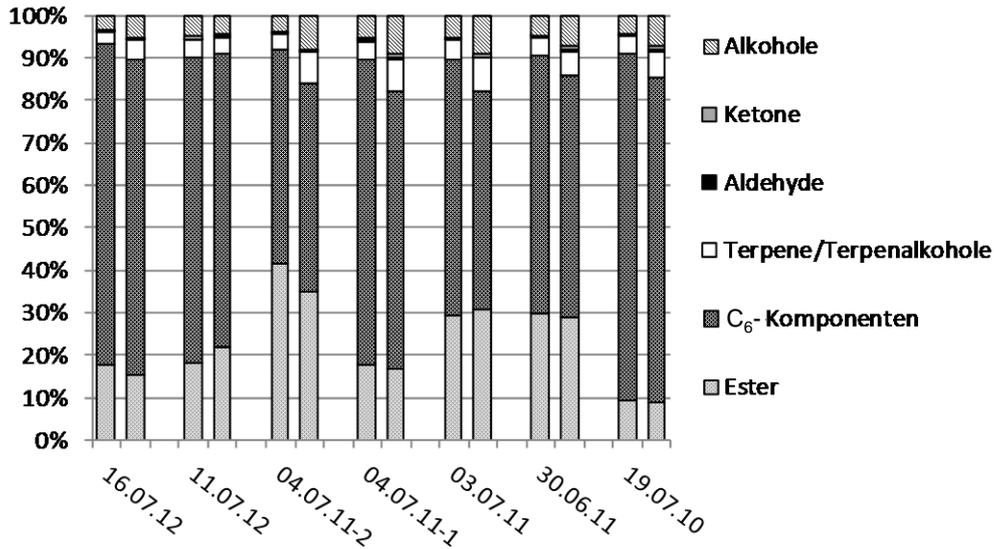


Abbildung 26: Prozentuale Verteilung der Stoffgruppen nach VHS- (1. Balken) und LLE-Extraktion (2. Balken) verschiedener Chargen Jostabeeren

Abbildung 27 und Abbildung 28 zeigen die Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der beiden Hauptstoffgruppen. Die Profile der primär gebildeten Ester zeigten nach VHS- und LLE-Isolierung ein sehr ähnliches Bild. Es wurden zwar Unterschiede festgestellt, jedoch gab es keine einheitlichen Zu- oder Abnahmen bestimmter Verbindungen, die auf einen Einfluss der Isolierungsmethode schließen ließen.

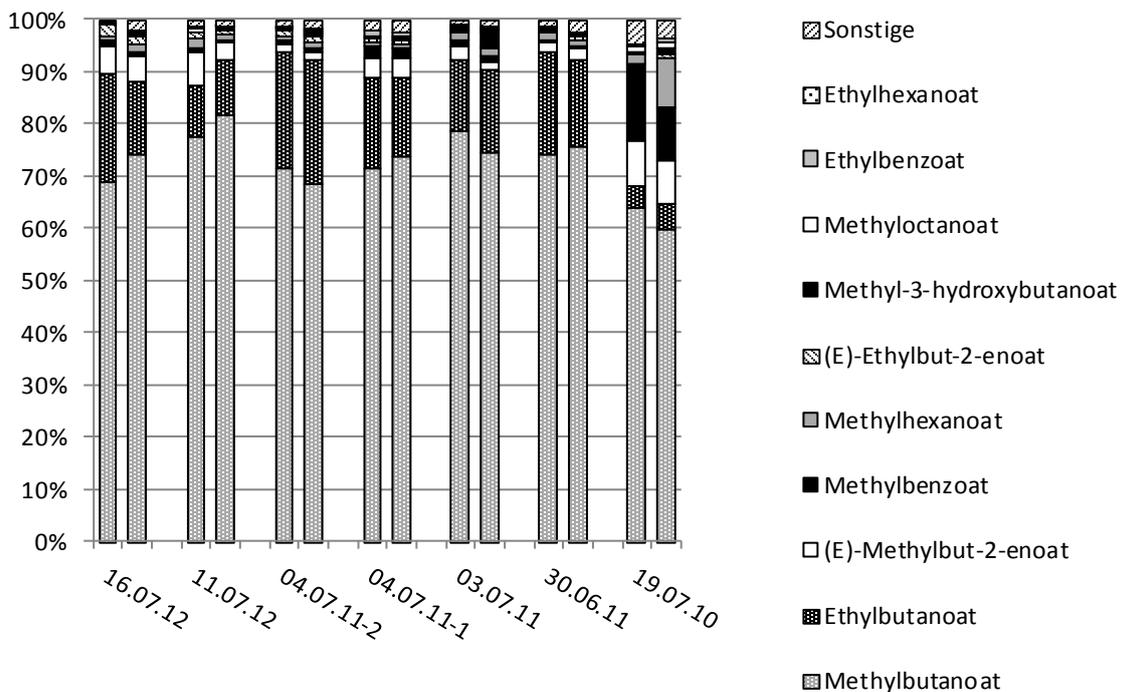


Abbildung 27: Prozentuale Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der Stoffgruppe der Ester nach VHS- (1. Balken) bzw. LLE-Extraktion (2. Balken)

Die Profile der enzymatisch gebildeten C₆-Verbindungen wurden jedoch durch die Isolierungsmethode beeinflusst. Nach LLE-Isolierung sanken die prozentualen Anteile der aus Linolensäure gebildeten C₆-Alkohole, während die Anteile der C₆-Aldehyde anstiegen. Eine Ausnahme stellen die beiden im Jahr 2012 analysierten Chargen dar. Hier nahm durch LLE-Isolierung der Anteil an (*E*)-Hex-2-enal deutlich ab.

Auch nach LLE-Isolierung von Stachelbeeren zeigte sich im Vergleich zur VHS-Isolierung eine Abnahme des Anteils der ungesättigten C₆-Alkohole, während die Anteile an ungesättigten C₆-Aldehyden zunahmen. Hier wurde jedoch zusätzlich eine Abnahme des prozentualen Anteils von (*Z*)-Hex-3-enal festgestellt. Dies war bei der Analyse der Jostabeeren nicht der Fall.

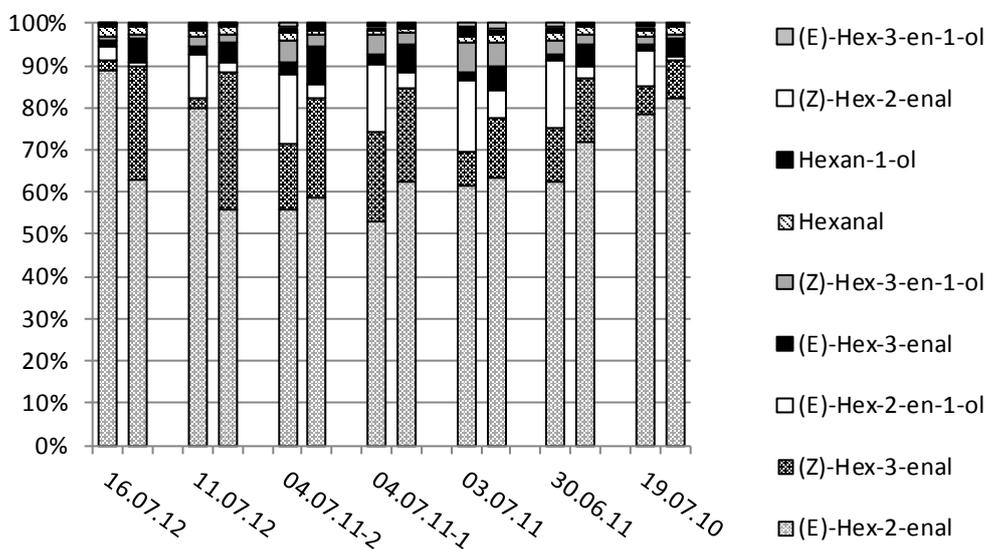


Abbildung 28: Prozentuale Verteilung der einzelnen Komponenten innerhalb der C₆-Gruppe nach VHS- (1. Balken) bzw. LLE-Extraktion (2. Balken)

4.2.3 Sensorische Analyse

4.2.3.1 Einleitung

Der Geruch von Jostabeeren wurde von Bauer (1978) als etwas „Neuartiges“ beschrieben; er charakterisierte ihn als eine Kombination des erfrischenden, grünen Aromas von Stachelbeeren und des typischen, terpen-artigen Aromas Schwarzer Johannisbeeren. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifizierung der aromarelevanten Verbindungen in Jostabeeren und das Abschätzen der Aromabeiträge einzelner Verbindungen. Durch anschließende Rekombinationsversuche sollte die Relevanz der identifizierten Aromastoffe überprüft werden.

4.2.3.2 Analyse der aromaaktiven Komponenten

Die mittels VHS aus Jostabeeren gewonnenen Extrakte kennzeichnete ein frisches, grünes, Schwarzen Johannisbeeren ähnliches Aroma, welches an frische Jostabeeren erinnerte. Ein konzentrierter, aus 1,5 kg Jostabeeren hergestellter Extrakt wurde zur Aromaextraktverdünnungsanalyse herangezogen. Hierbei wurden 58 geruchsaktive Komponenten wahrgenommen, von denen 49 identifiziert werden konnten. Wie Tabelle 29 zeigt, hatten 25 Substanzen einen FD-Faktor ≥ 16 . Vor allem Lipidoxidationsprodukte, wie beispielsweise Hexanal (FD: 256, Geruch: fettig-grün) und (*Z*)-Octa-1,5-dien-3-ol (FD: 256, Geruch: pilzig), kurzkettige Ester wie Ethylbutanoat (FD: 4096, Geruch: fruchtig) sowie 1,8-Cineol (FD: 512, Geruch: Eukalyptus) trugen zum Aroma der Jostabeeren bei.

Tabelle 29: Konzentrationen und sensorische Daten von Schlüsselaromastoffen frischer Jostabeeren

Verbindung	RI ^a	Geruch ^b	FD Faktor ^c	Geruchsschwelle		A ^e	
				($\mu\text{g/L}$ in Wasser)	[$\mu\text{g/kg}$] ^d		
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1138	grasig	32	0,6	<i>f</i>	1476	2460
1,8-Cineol	1200	Eukalyptus	512	2	<i>f</i>	499	250
Ethylbutanoat	1034	Ananas	4096	2,5	<i>f</i>	539	216
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	1211	Apfel	32	77	<i>f</i>	8139	106
Hexanal	1075	fettig, grün	256	4	<i>f</i>	230	58
Pent-1-en-3-on	1009	modrig, stechend	16	1	<i>f</i>	45	45
Methylbutanoat	975	fruchtig, käsig	128	63	<i>f</i>	2526	40
Ethylhexanoat	1232	grün, fruchtig	32	1,4	<i>f</i>	8	6
(<i>E</i>)-Hex-3-enal	1133	grün	32	160	<i>g</i>	206	1
Nonanal	1391	fettig	16	1	<i>h</i>	n.q. ⁱ	/
3-Methylbut-2-enylacetat	1251	modrig, grün	64	/		2	/
(<i>Z</i>)-Octa-1,5-dien-3-ol ^k	1490	pilzig	256	0,1	<i>l</i>	n.d. ^m	/
Propan-2-thiol	801	schwefelig	64	0,001	<i>n</i>	n.d.	/
Oct-1-en-3-on	1296	pilzig	64	0,005	<i>o</i>	n.d.	/
Ethylacetat	886	fruchtig	32	5	<i>p</i>	n.k. ^q	/
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	1096	fruchtig, stechend	2048	124	<i>f</i>	117	<1
(<i>E</i>)-Pent-2-enal	1120	grün, stechend	128	1500	<i>r</i>	27	<1
Hexan-1-ol	1355	grün, stechend	1024	500	<i>s</i>	75	<1
(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	1364	Geranie	64	1000	<i>t</i>	39	<1
2-Methylpropansäure	1562	modrig	64	10	<i>u</i>	n.q.	<1
Linalylacetat	1552	süß, kräuter-artig	32	24	<i>f</i>	n.q.	<1
2-Methylpropylacetat	968	grün, frisch	16	441	<i>v</i>	n.q.	<1
2-Methylpropan-1-ol	1084	käsige, alkoholisch	16	75000	<i>t</i>	27	<1
(<i>E</i>)-Linalooloxid	1428	erdig, modrig	16	100	<i>w</i>	n.q.	<1
α -Terpineol	1683	nussig, Mandel	16	182	<i>f</i>	13	<1

a: Retentionsindices (DB-WAX). b: Bestimmung der Geruchsqualität im unverdünnten Extrakt am Sniffing-Port. c: Zur AEVA wurde ein aus 1,5 kg Jostabeeren mittels VHS gewonnener Extrakt verwendet. d: durchschnittliche Konzentrationen aus 9 Chargen Jostabeeren. e: Aromawert. f: Bestimmung siehe Material und Methoden. g: Tamura *et al.* 2001; h: Guadagni *et al.* 1972; i: nicht quantifizierbar: Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 $\mu\text{g/kg}$). k: Die Identifizierung erfolgte durch Vergleich der massenspektrometrischen Daten und des Geruchs mit Literaturdaten (Tressl *et al.* 1982) sowie durch Vergleich der Retentionsindices, wozu ein aus Pilzen gewonnener Extrakt (Zugabe von Linolensäure bei Pilzhomogenisierung analog Tressl *et al.* 1982) und die Quelle Piveteau *et al.* (2000) herangezogen wurden. l: Whitfield *et al.* 1982. m: Nicht identifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 $\mu\text{g/kg}$) lag. n: Clanton und Schmidt 2000. o: Buttery *et al.* 1978. p: Burdock 2005. q: nicht kalkulierbar: Wiederfindung < 25 %. r: Buttery 1993. s: Flath *et al.* 1967. t: Zea *et al.* 2001. u: Larsen und Poll 1992. v: Schnabel *et al.* 1988. w: Liu *et al.* 2012.

Es sind jedoch auch begrenzende Faktoren der AEVA bekannt (Grosch 1993). Hierzu zählt beispielsweise, dass während der Extraktion auftretenden Verluste der Substanzen nicht berücksichtigt werden können und, dass eine Verdampfung der sensorischen Bewertung der Komponenten am Sniffing-Port vorausgeht. Im Lebensmittel hingegen hängt die Flüchtigkeit der Substanzen von ihrer Löslichkeit bzw. ihren Wechselwirkungen mit anderen, auch nicht flüchtigen Bestandteilen des Lebensmittels, ab. Um den Beitrag der einzelnen Aromastoffe besser beurteilen zu können, erfolgte die Berechnung der Aromawerte, dem Quotient aus der Aromastoffkonzentration in der Frucht und der jeweiligen Geruchsschwelle. Da Jostabeeren zu fast 90 % aus Wasser bestehen, dienten in Wasser bestimmte Geruchsschwellenwerte als Basis für die Berechnung.

Es wiesen insgesamt neun Verbindungen einen Aromawert ≥ 1 auf (Tabelle 29). Diese waren (*Z*)-Hex-3-enal, 1,8-Cineol, Ethylbutanoat, (*E*)-Hex-2-enal, (*E*)-Hex-3-enal, Hexanal, Pent-1-en-3-on, Methylbutanoat und Ethylhexanoat.

4.2.3.3 Rekombination des Aromas frischer Jostabeeren

Neben der Komposition der Aromastoffe kann aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Aromastoffen und anderen Matrixbestandteilen auch die Lebensmittelmatrix einen entscheidenden Einfluss auf das Gesamtaroma der Jostabeeren ausüben. Jostabeeren bestehen zu fast 90 % aus Wasser und enthalten relativ hohe Konzentrationen an organischen Säuren und Zuckern. Um diese natürliche Matrix nachzuahmen, wurde eine wässrige Lösung der in Schwarzen Johannisbeeren enthaltenen Zucker und Säuren (siehe 3.2.6) hergestellt, da zum damaligen Zeitpunkt keine Daten über die Gehalte der Substanzen in Jostabeeren veröffentlicht waren. Diese beerenähnliche Matrix wurde anschließend für die Rekonstitutionsversuche verwendet.

Für erste Simulationsversuche wurde ein Vollrekombinat unter Verwendung der in Tabelle 29 aufgeführten 24 Aromastoffe hergestellt. Ein Vergleich der Konzentrationen im mittels AEVA analysierten VHS-Extrakt und der Mittelwerte aller bis zu diesem Zeitpunkt untersuchten sechs Chargen Jostabeeren zeigte keine großen Unterschiede (Abbildung 29). Deshalb erfolgten die Rekombinationen auf Grundlage der Konzentrationen der Charge vom 30.06.11 (siehe Tabelle 28). Für die Substanzen, deren Konzentrationen im Extrakt unterhalb der Quantifizierungs- oder Nachweisgrenze lagen, wurde folgendes Vorgehen angewandt: Lag die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze, so wurde entweder die doppelte Konzentration der Geruchsschwelle oder maximal 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Frucht veranschlagt. Lag die Konzentration der Substanz zwischen Nachweis- (0,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) und Bestimmungsgrenze (1,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$), so wurde eine Konzentration von 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ angenommen.

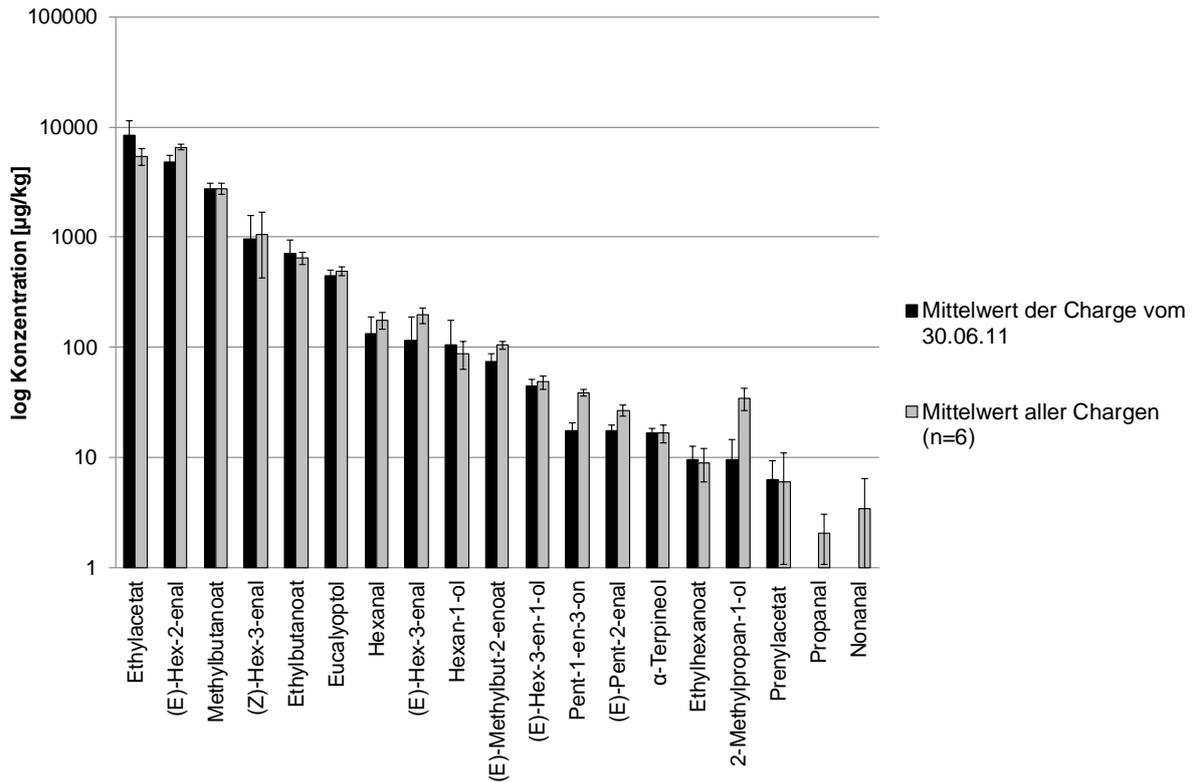


Abbildung 29: Mittelwerte und Standardabweichungen der aromaaktiven Verbindungen im zur AEVA verwendeten Extrakt (Charge vom 30.06.11) sowie aller bis zu diesem Zeitpunkt analysierten sechs Chargen

Das Vollrekombinat wurde von einem Panel sensorisch untersucht und das Aromaprofil mit dem der frischen Jostabeeren verglichen. Wie Abbildung 30 zeigt, stimmten die Aromaprofile der frischen Frucht und des Vollrekombinates gut überein. Laut der Panelisten erinnerte der Geruch des Rekombinates an Jostabeeren. Der Extrakt hatte ein Aroma, das mild nach Schwarzer Johannisbeere roch und durch eine zusätzliche grüne Note gekennzeichnet war.

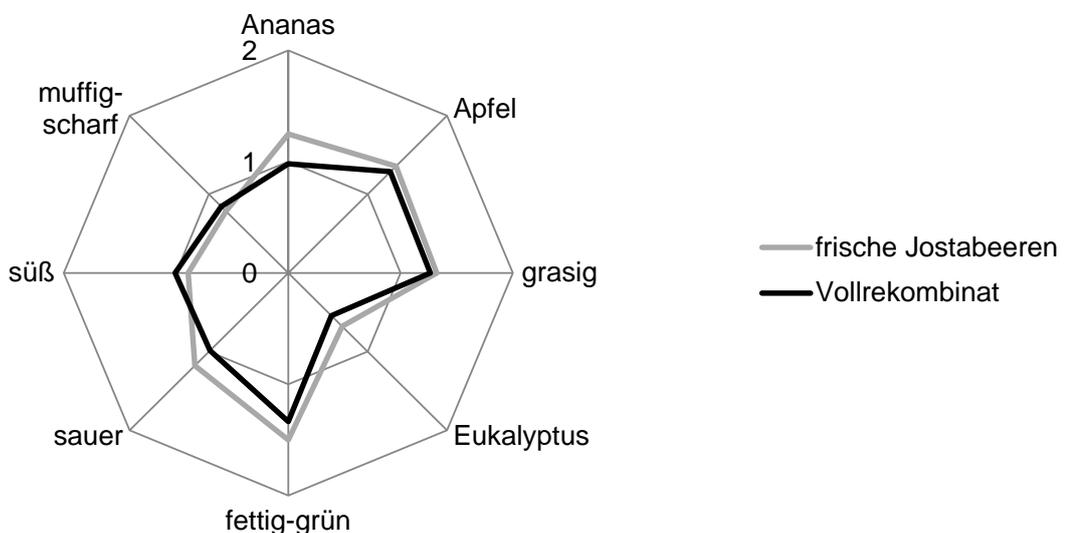


Abbildung 30: Aromaprofile frischer Jostabeeren und des Vollrekombinates

Um festzustellen, welche der 24 verwendeten Substanzen tatsächlich einen Einfluss auf das Aroma von Jostabeeren haben, wurde anschließend ein Weglassversuch durchgeführt. Hierzu wurde ein Teilrekombinat hergestellt, welches im Vergleich zum Vollrekombinat um mehrere Verbindungen reduziert war. Nur diejenigen Aromastoffe, die laut dem Aromawertkonzept von Rothe und Thomas (1963) zum Aroma beitrugen, wurden für das Teilrekombinat verwendet. Da sowohl Oct-1-en-3-on als auch (*Z*)-Octa-1,5-dien-3-ol mit ihrem pilzigen Charakter sehr niedrige Geruchsschwellen aufweisen, die Berechnung der Aromawerte aber aufgrund ihrer geringen Konzentrationen im Extrakt nicht möglich war, wurde Oct-1-en-3-on in das Teilrekombinat einbezogen.

Dieses Teilrekombinat, welches aus 10 Komponenten bestand, wurde mit dem ersten Modell (24 Komponenten) in einer Unterschiedsprüfung (Triangeltest) verglichen. Es zeigte sich, dass in Einklang mit dem Aromawertkonzept die Verbindungen, deren Aromawert <1 war, nicht zum Aroma beitrugen. Es konnten die Verbindungen Nonanal, 3-Methylbut-2-enylacetat, (*Z*)-Octa-1,5-dien-3-ol, Propan-2-thiol, Ethylacetat, (*E*)-Methylbut-2-enoat, (*E*)-Pent-2-enal, Hexan-1-ol, (*E*)-Hex-3-en-1-ol, 2-Methylpropansäure, Linalylacetat, 2-Methylpropylacetat, 2-Methylpropan-1-ol und (*E*)-Linalooloxid weggelassen werden, ohne dass ein signifikanter Unterschied bemerkt wurde (Signifikanzniveau 0,05, nach Quad *et al.* 2011).

Auch das Aromaprofil des Teilrekombinates zeigte eine sehr gute Übereinstimmung mit dem von frischen Jostabeeren (Abbildung 31). Das Aroma von frischen Jostabeeren lässt sich folglich durch Pent-1-en-3-on, Ethylhexanoat, Oct-1-en-3-on, Ethylbutanoat, (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-3-enal, Eukalyptol, Hexanal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat nachahmen.

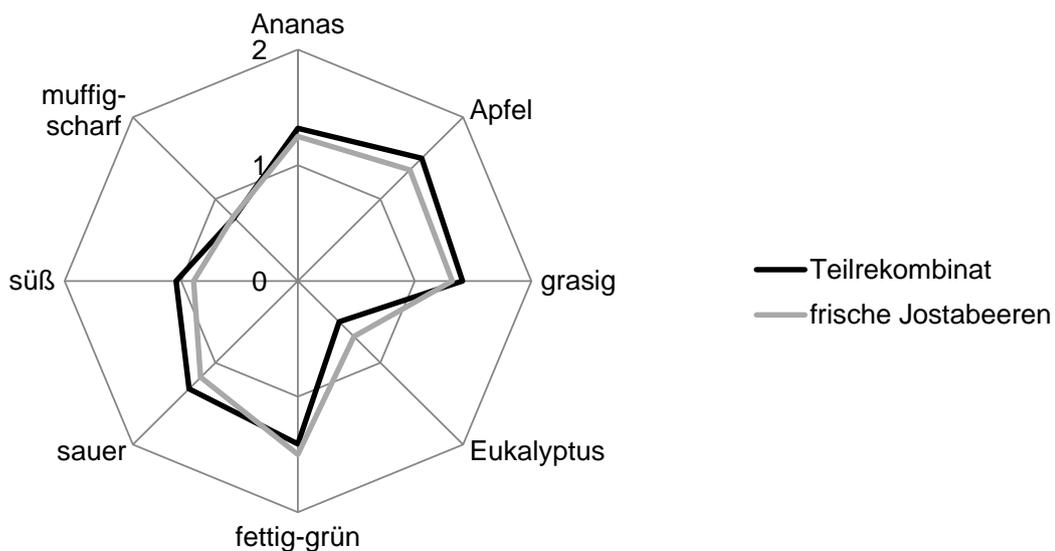


Abbildung 31: Aromaprofil von frischen Jostabeeren und dem Teilrekombinat

4.2.4 Analyse des flüchtigen Profils eines Jostabeerenproduktes

4.2.4.1 Einleitung

Analog zu den Versuchen mit Stachelbeerlikör wurde auch ein kommerziell erhältlicher Jostabeerenlikör untersucht. Die Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus der Likörmatrix erfolgte wie unter 3.2.1.1 beschrieben mittels VHS. Der so erhaltene Extrakt wurde kapillargaschromatographisch untersucht und es erfolgten die Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Verbindungen. Im Vorhinein wurde sichergestellt, dass der interne Standard Heptan-2-ol nicht im Jostabeerenlikör enthalten war.

4.2.4.2 Ergebnisse und Diskussion

In den Extrakten aus dem Jostabeerenlikör wurden 70 flüchtige Substanzen identifiziert. Eine Auflistung dieser Komponenten gibt Tabelle 30 wieder.

Tabelle 30: Konzentrationen der mittels VHS aus Jostabeerenlikör isolierten flüchtigen Verbindungen

Substanz	RI ^a	[µg/L] ^b	
Ester			
Ethylbutanoat	1038	990 ± 133	<i>e,g</i>
Prop-2-enylhexanoat	1357	694 ± 62	<i>e,g</i>
Pentylpentanoat	1401	669 ± 74	<i>e,g</i>
Ethylnonanoat	1524	486 ± 40	<i>e,g</i>
Ethylhexanoat	1224	479 ± 25	<i>e,g</i>
3-Methylbutylnonanoat	1749	243 ± 24	<i>k,m</i>
Ethylbenzoat	1633	230 ± 17	<i>e,g</i>
3-Methylbutylacetat	1116	199 ± 41	<i>e,g</i>
1-Phenylethyl-2-methylpropanoat	1718	143 ± 9	<i>l,m</i>
Ethyldecanoat	1622	128 ± 45	<i>e,g</i>
2-Methylpropylacetat	1021	126 ± 31	<i>e,g</i>
Butylbutanoat	1208	85 ± 12	<i>e,g</i>
Ethylcinnamat	2127	74 ± 8	<i>e,g</i>
Ethyl-dodecanoat	1826	52 ± 18	<i>e,h</i>
Benzylacetat	1694	46 ± 28	<i>e,h</i>
Ethyl-octanoat	1422	46 ± 24	<i>e,h</i>
Methylbenzoat	1599	37 ± 14	<i>e,g</i>
Ethyl-tetradecanoat	2026	20 ± 1	<i>e,h</i>
Ethylphenylacetat	1791	14 ± 4	<i>e,h</i>
Diethylsuccinat	1651	13 ± 5	<i>e,h</i>
Ethylpentanoat	1128	9 ± 3	<i>e,h</i>
Ethyl-2-methyloctanoat	1414	7 ± 0	<i>f,i</i>
Ethyllactat	1321	n.k. ^d	<i>e,g</i>
Alkohole			
3-Methylbutan-1-ol	1199	487 ± 54	<i>e,g</i>
2-Methylpropan-1-ol	1089	263 ± 60	<i>e,g</i>
Pentan-1-ol	1240	46 ± 17	<i>e,h</i>
Propan-1-ol	1041	22 ± 1	<i>e,h</i>
Butan-2-ol	1033	10 ± 3	<i>e,h</i>
(<i>E</i>)-Prop-2-en-1-ol	1105	5 ± 4	<i>e,h</i>
2-Propoxyethan-1-ol	1229	5 ± 0	<i>f,i</i>

Substanz	RI ^a	[µg/L] ^b	
Butan-1-ol	1138	5 ± 4	<i>e,h</i>
Hexan-1-ol	1341	3 ± 2	<i>e,g</i>
Aldehyde:			
Phenylacetaldehyd	1585	298 ± 17	<i>e,g</i>
Hexanal	1074	88 ± 8	<i>e,g</i>
Benzaldehyd	1484	45 ± 9	<i>e,h</i>
Furfural	1428	22 ± 11	<i>e,h</i>
2-Butyloct-2-enal	1649	9 ± 1	<i>f,i</i>
Terpene/Terpenalkohole			
Δ-3-Caren	1136	160 ± 16	<i>e,g</i>
Limonen	1180	95 ± 14	<i>e,g</i>
Menthol	1626	95 ± 11	<i>e,g</i>
β-Linalool	1533	78 ± 14	<i>e,g</i>
Geraniol	1830	40 ± 6	<i>e,g</i>
α-Terpineol	1676	41 ± 18	<i>e,h</i>
Terpinen-4-ol	1581	37 ± 5	<i>e,g</i>
Terpinolen	1264	25 ± 8	<i>e,g</i>
Citronellol	1753	21 ± 10	<i>e,g</i>
Caryophyllenalkohol	2031	19 ± 11	<i>f,i</i>
<i>p</i> -Cymen	1249	16 ± 2	<i>e,h</i>
<i>p</i> -Cymen-8-ol	1820	15 ± 3	<i>e,h</i>
1,8-Cineol	1194	14 ± 4	<i>e,g</i>
Eugenol	2132	10 ± 1	<i>e,h</i>
α-Terpinen	1164	3 ± 2	<i>e,h</i>
γ-Terpinen	1231	n.q. ^c	<i>e,h</i>
Ketone			
α-Iron	1954	25 ± 14	<i>e,h</i>
Pent-3-en-2-on	1111	11 ± 1	<i>e,h</i>
Säuren			
Nonansäure	2137	n.q.	<i>e,g</i>
Essigsäure	1426	n.k.	<i>e,g</i>
Buttersäure	1607	n.k.	<i>e,g</i>
Hexansäure	1816	n.k.	<i>e,g</i>
Decansäure	2244	n.k.	<i>e,h</i>
Octansäure	2036	n.k.	<i>e,h</i>
2- und 3-Methylbuttersäure	1644	n.k.	<i>e,i</i>
Sonstige			
3,5-di- <i>tert</i> -Butyl-4-hydroxytoluol	1887	60 ± 16	<i>f,i</i>
Kohlenwasserstoff C 17	1698	97 ± 84	<i>e,i</i>
Kohlenwasserstoff C 18	1798	170 ± 148	<i>e,i</i>
Kohlenwasserstoff C 19	1902	75 ± 80	<i>e,i</i>
Kohlenwasserstoff C 20	1993	60 ± 65	<i>e,i</i>
Kohlenwasserstoff C 21	2096	38 ± 41	<i>e,i</i>

a: Retentions Retentionsindices. b: Mittelwert und Standardabweichung einer Dreifachbestimmung. c: Nicht quantifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag; d: Nicht kalkulierbar: Wiederfindung kleiner 10 %. e: Die Identifizierung erfolgte durch eine Referenzsubstanz. f: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer Daten mit Literaturangaben. g: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung (siehe Anhang). h: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). i: Für die Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen. k: Berücksichtigung des Mittelwertes der Wiederfindungen der aliphatischen Ester. l: Berücksichtigung der Wiederfindung von Ethylbenzoat. m: Identifizierung durch Synthese des Esters (siehe Material und Methoden).

Das flüchtige Spektrum des im Handel erworbenen Jostabeerenlikörs bestand zu über 60 % aus Estern. Die höchsten Konzentrationen wurden für Ethylbutanoat (990 µg/L) und Prop-2-enylhexanoat (694 µg/L) erhalten. Außerdem wurden im Likör zahlreiche Alkohole, Aldehyde, Terpene und Terpenalkohole identifiziert, deren Hauptvertreter 3-Methylbutanol, 2-Methylpropanol bzw. Phenylacetaldehyd sowie Δ -3-Caren, Limonen und Menthol darstellten.

Die flüchtigen Hauptkomponenten der frischen Jostabeere wiesen hingegen sehr viele C₆-Verbindungen, einige Ester sowie 1,8-Cineol und 2-Methyl-3-buten-2-ol in hohen Konzentrationen auf.

Eine anschließende sensorische Untersuchung des Jostabeerenlikörs bestätigte die Unterschiede. Das Aromaprofil des Likörs, welches anhand der für frische Jostabeeren ausgewählten Deskriptoren erstellt wurde, zeigt enorme Unterschiede zu dem Profil frischer Beeren (Abbildung 32). Lediglich die fruchtige Ananas-Note wurde sowohl in den Beeren als auch im Likör einheitlich bewertet. Neben dieser dominierte ein süßer Geruch das Liköraroma. Die in frischen Beeren intensiv wahrgenommenen Grünnoten wurden im Likör nur sehr niedrig bewertet.

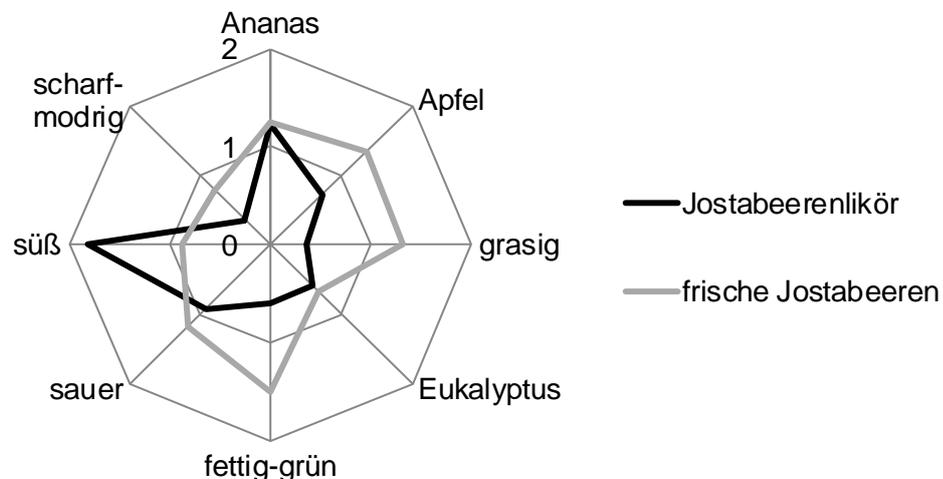


Abbildung 32: Aromaprofile von Jostabeerenlikör und frischen Jostabeeren

4.2.5 Zusammenfassung

Durch die Isolierung der flüchtigen Verbindungen aus frischen Jostabeeren mittels VHS und die anschließende kapillargaschromatographisch-massenspektrometrische Analyse wurden 131 Verbindungen identifiziert. C₆-Komponenten und Ester erwiesen sich als die dominierenden Stoffgruppen. Die acht Hauptkomponenten (*E*)-Hex-2-enal, (*E*)-Hex-2-en-1-ol, (*Z*)-Hex-3-enal, (*Z*)-Hex-3-en-1-ol, Methylbutanoat, Ethylbutanoat, 2-Methylbut-3-en-2-ol und 1,8-Cineol machten stets über 91 % der flüchtigen Verbindungen in Jostabeeren aus. Durch die Untersuchung mehrerer Chargen Jostabeeren, die an unterschiedlichen Standorten in Süddeutschland angebaut und/oder in verschiedenen Jahren geerntet und analysiert wurden, zeigte sich ein recht stabiles flüchtiges Profil für reife Jostabeeren. Das flüchtige Spektrum unreifer Jostabeeren unterschied sich allerdings deutlich von dem reifer Früchte.

Enzyminhibierende Versuche zeigten, dass das primär gebildete C₆-Spektrum durch nachfolgende Reduktionen und Isomerisierungsreaktionen stark verändert wurde. Während zu Beginn der Homogenisierung (*Z*)-Hex-3-enal die Hauptkomponente darstellte, wurde das ohne Inhibierung erhaltenen C₆-Profil von (*E*)-Hex-2-enal dominiert.

Nach tiefgekühlter Lagerung der Jostabeeren für acht Monate wurden nur deutlich geringere Konzentrationen der Grünnoten nachgewiesen und auch die Gehalte der Ester waren verringert. Für 1,8-Cineol und 2-Methylbut-3-en-2-ol wurde hingegen kein Einfluss durch das Gefrieren festgestellt.

Durch Anwendung von LLE als zweite Extraktionstechnik wurde das flüchtige Profil von Jostabeeren um 33 weitere Verbindungen ergänzt. Die prozentuale Verteilung der Stoffgruppen sowie die Verteilung innerhalb der Gruppe der Ester und C₆-Verbindungen zeigten nach VHS- und LLE-Isolierung gleiche Profile.

Nach Identifizierung der aromaaktiven Verbindungen durch Anwendung der AEVA und Berechnung der Aromawerte dieser Verbindungen konnte das Aroma frischer Jostabeeren erfolgreich nachgeahmt werden. Das Aromaprofil eines Rekombinantes aus Pent-1-en-3-on, Ethylhexanoat, Oct-1-en-3-on, Ethylbutanoat, (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-3-enal, Eukalyptol, Hexanal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat zeigte sehr gute Übereinstimmung mit dem Aromaprofil frischer Beeren.

Sowohl das Aroma als auch das flüchtige Spektrum eines im Handel erhältlichen Jostabeerenlikörs zeigten kaum Ähnlichkeit mit den frischen Beeren.

4.3 Vergleich der flüchtigen Profile verschiedener Beeren der Gattung *Ribes*

4.3.1 Einleitung

Zur Gattung der Johannisbeeren (*Ribes*) gehören zahlreiche unterschiedliche Arten (Erhardt *et al.* 2008). In diesem abschließenden Kapitel soll die Zusammensetzung des flüchtigen Profils von Jostabeeren mit den Profilen der Früchte der Eltern, also Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren, verglichen werden. Da sich das flüchtige Profil von Schwarzen Johannisbeeren laut zahlreicher Untersuchungen (Andersson und von Sydow 1966a, Andersson und von Sydow 1966b, von Sydow und Karlsson 1971, Kampuss *et al.* 2008) stark von dem für Stachelbeeren ermittelten Profil unterscheidet, war die Einordnung des Profils ihres Kreuzungsproduktes von besonderem Interesse. Außerdem wurden Goldene Johannisbeeren, eine weitere *Ribes*-Art, analysiert.

4.3.2 Ergebnisse und Diskussion

Um die flüchtigen Profile frischer Jostabeeren, Stachelbeeren und Schwarzer Johannisbeeren miteinander vergleichen zu können, erfolgte die Verwendung von Daten, die durch Aufarbeitung auf identische Weise mittels VHS erhalten wurden. Aufgrund der starken Variabilität des flüchtigen Profils von Stachelbeeren wurde eine Charge ausgewählt, deren flüchtige Verbindungen die durchschnittliche Verteilung in Stachelbeeren repräsentieren (var. Achilles, 25.08.2010, siehe Abbildung 5). Die Stoffklassenverteilungen der drei verschiedenen *Ribes*-Arten sind in Abbildung 33 dargestellt.

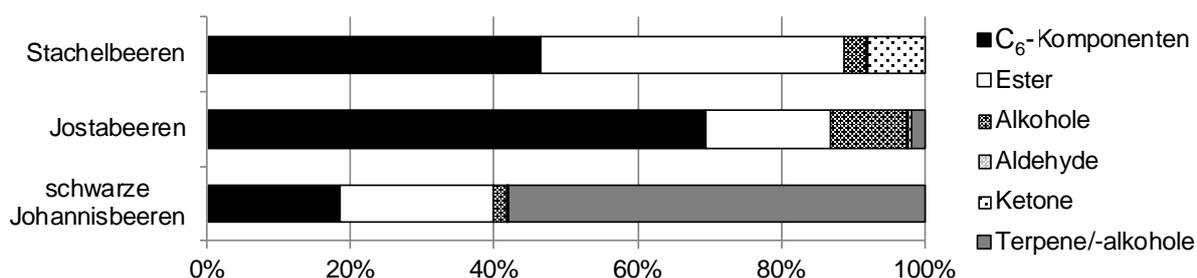


Abbildung 33: Verteilung der Stoffklassen in unterschiedlichen Arten der Gattung *Ribes*. Alle Daten wurden in einer Dreifachbestimmung (VHS) aus frischen Früchten bestimmt.

Die flüchtigen Profile von Jostabeeren, Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren waren durch hohe prozentuale Anteile von C₆-Komponenten und Estern geprägt. Für Jostabeeren wurde zusätzlich ein recht hoher Alkohol-Anteil (ca. 11 %) festgestellt. Terpene und Terpenalkohle, welche in Schwarzen Johannisbeeren deutlich dominierten, stellten in Jostabeeren nur ca. 2 % des flüchtigen Profils dar. Höhere Konzentrationen an Ketonen

wurden nur in Stachelbeeren nachgewiesen. Diese waren hauptsächlich auf Acetophenon zurückzuführen.

Die durchschnittlich höchsten Konzentrationen wurden in Jostabeeren für (*E*)-Hex-2-enal, (*E*)-Hex-2-en-1-ol, (*Z*)-Hex-3-enal, (*Z*)-Hex-3-en-1-ol, Methylbutanoat, Ethylbutanoat, 2-Methylbut-3-en-2-ol und 1,8-Cineol bestimmt. Einen Vergleich der Gehalte dieser Substanzen in den drei unterschiedlichen *Ribes*-Arten zeigt Tabelle 31. Es wurden weitere C₆-Komponenten und Ester integriert, um ein umfangreicheres Bild zu erhalten.

Tabelle 31: Vergleich der Konzentrationen der flüchtigen Hauptkomponenten aus Jostabeeren mit den Konzentrationen in Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren

	Stachelbeeren ^a	Jostabeeren ^b	Schwarze Johannisbeeren ^c
	[µg/kg] ^d		
C₆-Komponenten			
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	509 ± 157	9613 ± 819	2227 ± 404
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	1128 ± 81	565 ± 226	461 ± 99
(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	66 ± 8	525 ± 180	257 ± 1
Hexanal	12 ± 1	365 ± 75	159 ± 22
(<i>E</i>)-Hex-3-enal	25 ± 7	233 ± 22	48 ± 9
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	71 ± 11	186 ± 11	152 ± 35
(<i>Z</i>)-Hex-2-enal	n.q. ^e	45 ± 4	n.d.
Hexan-1-ol	n.d. ^f	43 ± 10	33 ± 2
(<i>E</i>)-Hex-3-en-1-ol	n.d.	25 ± 3	18 ± 7
Summe	1811	11600	3355
Terpen-/Alkohole			
2-Methylbut-3-en-2-ol	n.d.	1670 ± 548	238 ± 124
1,8-Cineol	n.d.	308 ± 51	71 ± 20
Summe	n.d.	1978	309
Ester			
Methylbutanoat	1276 ± 137	2330 ± 291	1774 ± 1090
Ethylbutanoat	47 ± 35	348 ± 66	1773 ± 1523
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	267 ± 34	125 ± 15	6 ± 1
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	22 ± 17	22 ± 4	n.d.
Methylhexanoat	26 ± 5	40 ± 3	141 ± 71
Summe	1638	2865	3694

a: Stachelbeeren var. Achilles (25. August 2010). b: Ernte: 13. Juli 2011 in Freising. c: Kauf: 20. Juni 2011 im örtlichen Handel. d: Mittelwert und Standardabweichung je einer Dreifachbestimmung. e: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. f: Nicht nachweisbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg).

Das C₆-Profil von Jostabeeren gleicht mit (*E*)-Hex-2-enal als Hauptkomponente, gefolgt von (*Z*)-Hex-3-enal und (*E*)-Hex-2-enol, dem der Schwarzen Johannisbeeren. Auch 2-Methylbut-3-en-2-ol und 1,8-Cineol, die in Jostabeeren in hohen Konzentrationen vorlagen, waren ebenfalls in frischen Schwarzen Johannisbeeren nachweisbar. Das Spektrum der Ester in Jostabeeren gleicht hingegen dem von Stachelbeeren. Kurzkettige Ester dominierten das

Spektrum, wobei Methylester stets höher konzentriert waren als die korrespondierenden Ethylverbindungen.

Bis auf 15 Spurenkomponenten wurden alle Verbindungen, die im Rahmen dieser Arbeit in Jostabeeren identifiziert wurden, auch in den Beeren mindestens eines der Eltern nachgewiesen. Die Konzentrationsverhältnisse in Stachelbeeren, Schwarzen Johannisbeeren und Jostabeeren zeigten mitunter aber große Differenzen. Einige der in Stachel- oder Schwarzen Johannisbeeren nachgewiesenen, hoch konzentrierten Verbindungen, wie beispielsweise Δ -3-Caren, β -Phellandren oder (*E*)/(*Z*)- β -Ocimen wurden im Hybrid jedoch nicht wiedergefunden.

Eine weitere, stark konsumierte *Ribes*-Art stellen Rote Johannisbeeren (*Ribes rubrum* L.) dar. Ihr C₆-Profil unterscheidet sich abermals von den bisher diskutierten Beeren. Im frischen Saft roter Johannisbeeren dominiert (*E*)-Hex-2-en-1-ol, gefolgt von Hexanol und (*Z*)-Hex-3-en-1-ol, die in deutlich niedrigeren Konzentrationen vorliegen. (*E*)-Hex-2-enal und (*Z*)-Hex-3-enal wurden nur in sehr geringen Konzentrationen (< 10 μ g/L) nachgewiesen (Schreier *et al.* 1977). Die Analyse von Goldjohannisbeeren (*Ribes aureum* L.) ergab ein den Jostabeeren ähnliches C₆-Profil. Als weitere Hauptkomponenten wurden Ester und Terpen-/Alkohole nachgewiesen, die alle bereits aus den verwandten Arten bekannt waren (siehe Tabelle 35).

Das Aroma von Jostabeeren wurde bereits 1978 von Bauer als eine Kombination aus den Aromen von Stachelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren beschrieben. Die im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse unterstützen diese Aussage. Wie die sensorische Analyse von Jostabeeren (4.2.3) zeigt, wird das Aroma dieser Beeren primär durch Esternoten (Ethylbutanoat, Methylbutanoat und Ethylhexanoat), Grünnoten ((*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-2-enal, (*E*)-Hex-3-enal und Hexanal) und durch den kampherartigen Geruch von 1,8-Cineol (Eukalyptus) geprägt. Diese Aromen sind auch aus Schwarzen Johannisbeeren und Stachelbeeren bekannt:

Die geruchsaktivsten Komponenten in Schwarzen Johannisbeeren wurden als Methylbutanoat, Ethylbutanoat, 1,8-Cineol, Diacetyl und eine unbekannte Verbindung mit einem Geruch nach Katzenurin charakterisiert (Latrasse *et al.* 1982). Diese Unbekannte wurde von Mikkelsen und Poll (2002) als 4-Methoxy-2-methyl-2-mercaptobutan identifiziert, welches bereits aus den Blüten Schwarzer Johannisbeersträucher bekannt war (Latrasse *et al.* 1982)); sie wurde jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht in den aus Jostabeeren erhaltenen Extrakten detektiert.

Die in Jostabeeren detektierten Grün- und Esternoten wurden ebenfalls als wichtige Aromanoten von Stachelbeeren identifiziert (siehe 4.1.3).

5 Zusammenfassung

Die flüchtigen Inhaltsstoffe von Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.) und Jostabeeren (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) wurden mittels Vakuum Headspace Technik isoliert und mittels kapillargaschromatographisch-massenspektrometrischer Methoden untersucht.

Das Spektrum flüchtiger Verbindungen von Stachelbeeren war vor allem durch C₆-Verbindungen und Ester geprägt. Die drei Hauptkomponenten (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat machten in allen untersuchten Chargen mindestens 70 % aus. Durch die Untersuchung verschiedener Stachelbeer-Sorten sowie durch Analyse mehrerer Chargen Stachelbeeren derselben Sorte wurde gezeigt, dass das flüchtige Profil von Stachelbeeren in der prozentualen Zusammensetzung der Stoffgruppen sowie in den absoluten Konzentrationen einzelner Verbindungen stark variiert. Innerhalb der einzelnen Stoffgruppen blieben die Verteilungen der Komponenten aber nahezu konstant.

Im Spektrum flüchtiger Verbindungen aus Jostabeeren überwogen ebenfalls C₆-Komponenten und Ester. Als zwei weitere quantitativ dominierende Verbindungen wurden 1,8-Cineol und 2-Methylbut-3-en-2-ol nachgewiesen. Im Gegensatz zum flüchtigen Profil aus Stachelbeeren, welches primär durch (*Z*)-Hex-3-enal geprägt wurde, bestimmt (*E*)-Hex-2-enal das C₆-Profil in Jostabeeren. Durch die Analyse von Beeren, die an verschiedenen Anbauorten in Süddeutschland geerntet wurden, und durch die Untersuchung von Beeren desselben Anbauortes in verschiedenen Jahren wurde gezeigt, dass die qualitative und quantitative Zusammensetzung des flüchtigen Jostabeeren-Profiles sehr konstant ist.

Starke Änderungen im Spektrum flüchtiger Verbindungen wurden sowohl für Stachelbeeren als auch für Jostabeeren im Zuge der Fruchtreifung festgestellt. In den Beeren beider Beerenobstarten nahmen die Menge an C₆-Komponenten im Verlauf der Reifung ab, während die Summe an Estern zunahm. Zusätzlich traten Änderungen innerhalb des C₆-Profils von Jostabeeren auf: Während in unreifen Früchten (*Z*)-Hex-3-enal dominiert, stellt in der reifen Frucht (*E*)-Hex-2-enal die Haupt-C₆-Verbindung dar.

Untersuchungen zum Einfluss enzymkatalysierter Reaktionen zeigten, dass das direkt nach der Zerkleinerung freigesetzte C₆-Spektrum in Stachelbeeren durch Folgereaktionen kaum verändert wurde. Bei Jostabeeren wurden jedoch starke Änderungen festgestellt: Aus dem primär gebildeten (*Z*)-Hex-3-enal werden durch anschließende Reduktionen und Isomerisierungen schnell der korrespondierende Aldehyd (*E*)-Hex-2-enal sowie (*E*)-Hex-2-en-1-ol gebildet. Nach der Tiefkühlagerung der Beeren für acht Monate war vor allem die Bildung dieser ungesättigten C₆-Komponenten stark reduziert.

Als zusätzliche Methode zur Isolierung flüchtiger Verbindungen wurde die Flüssig-Flüssig-Extraktion eingesetzt. Die Verteilung der Hauptstoffgruppen von Stachelbeeren und Jostabeeren stimmte mit den in den VHS-Extrakten beobachteten Verteilungen überein. Die LLE-Extrakte zeigten jedoch höhere Mengen an Säuren und aliphatischen Kohlenwasserstoffen. Durch statische Headspace Analyse wurden in Stachelbeeren zusätzlich die stark flüchtigen Verbindungen Methylacetat und Ethylacetat als weitere Hauptkomponenten des flüchtigen Profils identifiziert.

Die VHS-Extrakte aus Stachelbeeren und Jostabeeren wiesen den für die jeweilige Frucht charakteristischen Geruch auf. Die geruchsaktiven Komponenten wurden mit Hilfe von Kapillargaschromatographie-Olfaktometrie und unter Einsatz der Aromaextraktverdünnungsanalyse ermittelt. Zusätzlich wurde der Beitrag einzelner Komponenten zum Gesamtaroma durch die Berechnung von Aromawerten abgeschätzt.

In Stachelbeeren wurden vor allem Lipidoxidationsprodukte und kurzkettige Ester als aromaaktive Verbindungen identifiziert. (*Z*)-Hex-3-enal erwies sich als deutlich dominierender Aromastoff. Diese Komponente zeichnet sich durch ein grünes, grasiges Aroma aus. Weiterhin zeigten (*R*)-Oct-1-en-3-ol, Ethylbutanoat, Methylbutanoat, (*E*)-Hex-2-enal, (*Z*)-Hex-3-en-1-ol und Ethylacetat einen Einfluss auf das Aroma.

Auch in Jostabeeren tragen vor allem Lipidoxidationsprodukte und kurzkettige Ester zum typischen Aroma bei. Zusätzlich wurde 1,8-Cineol als wichtiger Aromastoff identifiziert. Das Aroma von frischen Jostabeeren konnte unter Verwendung von Pent-1-en-3-on, Ethylhexanoat, Oct-1-en-3-on, Ethylbutanoat, (*Z*)-Hex-3-enal, (*E*)-Hex-3-enal, 1,8-Cineol, Hexanal, (*E*)-Hex-2-enal und Methylbutanoat in den natürlich in Jostabeeren enthaltenen Konzentrationen nachgeahmt werden.

Die flüchtigen Profile eines im Handel erhältlichen Stachelbeerenlikörs und eines im Handel erhältlichen Jostabeerenlikörs zeigten starke Unterschiede zu den Profilen der jeweils frischen Früchte.

6 Literatur

- Acree, T. E.; Barnard, J.; Cunningham, D. G. (1984): A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chem.* 14 (4), S. 273–286.
- Acree, T. E.; Barnard, J. (1994): Gas chromatography-olfactometry and Charm analysis. *Dev. Food Sci.* 35 (Trends in Flavour Research), S. 211–220.
- Akakabe, Y.; Matsui, K.; Kajiwara, T. (2005): Stereochemical correlation between 10-hydroperoxyoctadecadienoic acid and 1-octen-3-ol in *Lentinula edodes* and *Tricholoma matsutake* mushrooms. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 69 (8), S. 1539–1544.
- Amoore, J. E. (1970): Computer correlation of molecular shape with odor: model for structure-activity relation. *Taste Smell Vertebr.* Longman Group Ltd. 293–312.
- Andersson, J.; von Sydow, E. (1966a): Aroma of black currants. III. Chemical characterization of different varieties and stages of ripeness by gas chromatography. *Acta Chem. Scand.* 20 (2), S. 529–535.
- Andersson, J.; von Sydow, E. (1966b): Aroma of black currants. II. Lower boiling compounds. *Acta Chem. Scand.* 20 (2), S. 522–528.
- Barney, D. L.; Hummer, K. E. (2005): Currants, gooseberries, and jostaberries - A Guide for growers, marketers, and researchers in North America. Food Products Press: New York.
- Bartley, J. P.; Schwede, A. M. (1989): Production of volatile compounds in ripening kiwi fruit (*Actinidia chinensis*). *J. Agric. Food Chem.* 37 (4), S. 1023–1025.
- Bauer, A.; Häberli, H.; Schimmelpfeng, H. (2000): Progress in breeding *Ribes x nidigrolaria* jostaberries adapted to mechanical harvesting. *Acta Hort.* 2000 (538), S. 473–474.
- Bauer, R. (1978): Josta - eine neue Beerenobst aus der Kreuzung der schwarzen Johannisbeere x Stachelbeere. *Erwerbsobstbau* 6, S. 116–119.
- Blekas, G.; Guth, H.; Grosch, W. (1994): Changes in the levels of olive oil odorants during ripening of the fruits. *Dev. Food Sci.* 35, S. 499–502.
- Büttner, A.; Schieberle, P. (2000a): Influence of mastication on the concentrations of aroma volatiles - some aspects of flavour release and flavour perception. *Food Chem.* 71 (3), S. 347–354.
- Büttner, A.; Schieberle, P. (2000b): Exhaled odorant measurement (EXOM) - a new approach to quantify the degree of in-mouth release of food aroma compounds. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 33 (8), S. 553–559.
- Büttner, A.; Schieberle, P. (2001): Application of a comparative aroma extract dilution analysis to monitor changes in orange juice aroma compounds during processing. *ACS Symp. Ser. (Gas Chromatography-Olfactometry)*, S. 33–45.
- Büttner, A.; Beer, A.; Hannig, C.; Settles, M. (2001): Observation of the swallowing process by application of videofluoroscopy and real-time magnetic resonance imaging-consequences for retronasal aroma stimulation. *Chem Senses* 26 (9), S. 1211–1219.
- Büttner, A.; Otto, S.; Beer, A.; Mestres, M.; Schieberle, P.; Hummel, T. (2008): Dynamics of retronasal aroma perception during consumption: Cross-linking on-line breath analysis with medico-analytical tools to elucidate a complex process. *Food Chem.* 108 (4), S. 1234–1246.
- Buglass, A. J. (2011): Handbook of alcoholic beverages. Technical, analytical and nutritional aspects. John Wiley & Sons Ltd: Chichester.

- Burdach, K. J.; Doty, R. L. (1987): The effects of mouth movements, swallowing, and spitting on retronasal odor perception. *Physiol. Behav.* 41 (4), S. 353–356.
- Burdock, G. A. (2005): Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Fifth Edition: CRC Press.
- Buttery, R. G. (1993): Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits. *Flavor Sci.: Sensible Principles and Techniques*. Am. Chem. Soc: Washington, DC, S. 259–286.
- Buttery, R. G.; Guadagni, D. G.; Ling, L. C. (1978): Volatile aroma components of cooked artichoke. *J. Agric. Food Chem.* 26 (4), S. 791–793.
- Buttery, R. G.; Teranishi, R.; Ling, L. C. (1987): Fresh tomato aroma volatiles. A quantitative study. *J. Agric. Food Chem.* 35 (4), S. 540–544.
- Buttery, R. G.; Teranishi, R.; Ling, L. C.; Turnbaugh, J. G. (1990): Quantitative and sensory studies on tomato paste volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 38 (1), S. 336–340.
- Cakir, A. (2004): Essential oil and fatty acid composition of the fruits of *hippophae rhamnoides* L. (sea buckthorn) and *myrtus communis* L. from turkey. *Biochem. Syst. Ecol.* 32 (9), S. 809–816.
- Caldeira, M.; Rodrigues, F.; Perestrelo, R.; Marques, J. C.; Camara, J. S. (2007): Comparison of two extraction methods for evaluation of volatile constituents patterns in commercial whiskeys. *Talanta* 74 (1), S. 78–90.
- Casimir, D. J.; Whitfield, F. B. (1978): Flavor impact values: a new concept for assigning numerical values for the potency of individual flavor components and their contribution to the overall flavor profile. *Ber. - Int. Fruchtsaft-Union, Wiss.-Tech. Komm.* 15, S. 325–347.
- Cho, I. H.; Lee, S. M.; Kim, S. Y.; Choi, H.; Kim, K.; Kim, Y. (2007): Differentiation of aroma characteristics of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades using gas chromatography-olfactometry and sensory analysis. *J. Agric. Food Chem.* 55(6), S. 2323–2328.
- Clanton, C. J.; Schmidt, D. R. (2000): Sulfur compounds in gases emitted from stored manure. *Trans. ASAE* 43 (5), S. 1229–1239.
- Da Silveira, S. M.; Cunha, A. J.; Scheuermann, G. N.; Secchi, F. L.; Vieira, C. R. W. (2012): Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. *Ciencia Rural* 42, S. 1300–1306.
- Da Silva Pinto, M.; Kwon, Y.; Apostolidis, E.; Lajolo, F. M.; Genovese, M. (2008): Evaluation of red currants (*ribes rubrum* L.), black currants (*ribes nigrum* L.), red and green gooseberries (*ribes uva-crispa* L.) for potential management of type 2 diabetes and hypertension using in vitro models. *J. Food Biochem.* 34 (3), S. 639–660.
- Da Silva Maria A. A. P.; Lundahl, D. S.; McDaniel, M. R. (1994): The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. *Dev. Food Sci.* 35, S. 191–209.
- Dolezal, M.; Velisek, J.; Famfulikova, P. (2003): Aroma of less-known wild fruits. In: *Flavour Res. Dawn Twenty-First Century*, Proc. Weurman Flavor Res. Symp., 10th: Editions Tec & Doc, S. 576–579.
- Douillard, C.; Guichard, E. (1990): The aroma of strawberry (*Fragaria ananassa*). Characterisation of some cultivars and influence of freezing. *J. Sci. Fd. Agric.* 50 (4), S. 517–531.
- Drawert, F.; Tressl, R.; Heimann, W.; Emberger, R.; Speck, M. (1973): Über die Biogenese von Aromastoffen bei Pflanzen und Früchten XV. Enzymatisch-oxidative Bildung von

- C₆-Aldehyden und Alkoholen und deren Vorstufen bei Äpfeln und Trauben. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 2 (1), S. 10–22.
- Drawert, F.; Heimann, W.; Emberger, R.; Tressl, R. (1966): Über die Biogenese von Aromastoffen bei Pflanzen und Früchten. II. Enzymatische Bildung von Hexen-(2)-al-(1), Hexanal, und deren Vorstufen. *Justus Liebig's Ann. Chem.* 694, S. 200–208.
- Dregus, M.; Engel, K.-H. (2003): Volatile Constituents of Uncooked Rhubarb (*Rheum rhabarbarum* L.) Stalks. *J. Agric. Food Chem.* 51 (22), S. 6530–6536.
- Dugo, G.; Mondello, L.; Cotroneo, A.; Bonaccorsi, I.; Lamonica, G. (2001): Enantiomeric distribution of volatile components of citrus oils by MDGC. *Perfum. Flavor* 26 (1), S. 20-35.
- Ehrnhöfer-Ressler, M. M.; Fricke, K.; Pignitter, M.; Walker, J. M.; Walker, J.; Rychlik, M.; Somoza, V. (2013): Identification of 1,8-cineole, borneol, camphor, and thujone as anti-inflammatory compounds in a *salvia officinalis* L. infusion using human gingival fibroblasts. *J. Agric. Food Chem.* 61, S. 3451-3459.
- Eisenbrand, G.; Schreier, P.; Hagen Meyer, A. (2006): Römpp Lexikon Lebensmittelchemie. 2. Aufl. Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG: New York.
- Emberger, R.; Hopp, R. (1987): Synthesis and sensory characterization of menthol enantiomers and their derivatives for the use in nature identical peppermint oils. *Spec. Chem.* 7 (3), S. 193-201.
- Engel, K.-H.; Ramming, D. W.; Flath, R. A.; Teranishi, R. (1988): Investigation of volatile constituents in nectarines. 2. Changes in aroma composition during nectarine maturation. *J. Agric. Food Chem.* 36 (5), S. 1003–1006.
- Engel, W.; Bahr, W.; Schieberle, P. (1999): Solvent assisted flavour evaporation – a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.* 209, S. 237–241.
- Erhardt, W.; Götz, E.; Bödeker, N.; Seybold, S. (2008): Der große Zander. Enzyklopädie der Pflanzennamen. Arten und Sorten. Eugen Ulmer KG: Stuttgart (Hohenheim).
- Europäisches Parlament (15.01.2008): Verordnung (EG) Nr. 110/2008 des europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Januar 2008 zur Begriffsbestimmung, Bezeichnung, Aufmachung und Etikettierung von Spirituosen sowie zum Schutz geografischer Angaben für Spirituosen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 1576/89: L 39/16-L 39/54. EU, 2008.
- Fall, R.; Karl, T.; Hansel, A.; Jordan, A.; Lindinger, W. (1999): Volatile organic compounds emitted after leaf wounding. On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. *J. Geophys. Res.* 104 (D13), S. 15963–15974.
- Famiani, F.; Baldicchi, A.; Battistelli, A.; Moscatello, S.; Walker, R. P. (2009): Soluble sugar and organic acid contents and the occurrence and potential role of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) in gooseberry (*Ribes grossularia* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 84 (3), S. 249–254.
- FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://faostat.fao.org>, zuletzt geprüft am 20.03.2013.
- Fellman, J. K.; Mattheis, J. P. (1995): Ester biosynthesis in relation to harvest maturity and controlled-atmosphere storage of apples. *ACS Symp. Ser.* 596 (Fruit Flavors), S. 149–162.
- Filipiak-Szok, A.; Kurzawa, M.; Szlyk, E. (2012): Determination of anti-oxidant capacity and content of phenols, phenolic acids, and flavonols in Indian and European gooseberry. *Chem. Pap.* 66 (4), S. 259–268.

- Flath, R. A.; Black, D. R.; Guadagni, D. G.; McFadden, W. H.; Schultz, T. H. (1967): Identification and organoleptic evaluation of compounds in delicious apple essence. *J. Agric. Food Chem.* 15 (1), S. 29–35.
- Freytag, W.; Ney, K. H. (1968): Beitrag zum Vorkommen von 1-octen-3-ol*. *Eur. J. Biochem.* 4 (3), S. 315-318.
- Fuller, G. H.; Steltenkamp, R.; Tissernad, G. A. (1964): The gas chromatograph with human sensor: Perfumer model. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 116, S. 711–724.
- Galletta, G. J.; Himelrick, D. G. (Hg.) (1990): Small Fruit Crop Management. Currant and gooseberry management. Unter Mitarbeit von L. Harmat, A. Porpaczy, D. G. Himelrick und G. J. Galletta. Prentice Hall: New Yersey.
- Galliard, T.; Phillips, D. R.; Reynolds, J. (1976): The formation of cis-3-nonenal, trans-2-nonenal and hexanal from linoleic acid hydroperoxide isomers by a hydroperoxide cleavage enzyme system in cucumber (*Cucumis sativus*) fruits. *BBA - Lipids and Lipid Metabolism* 441 (2), S. 181–192.
- Gane, S.; Georganakis, D.; Maniati, K.; Vamvakias, M.; Ragoussis, N.; Skoulakis, E. M. C.; Turin, L. (2013): Molecular vibration-sensing component in human olfaction. *PLoS One* 8 (1), S. 1-7.
- García, C.; Rodríguez, P.; Días, E.; Heinzen, H.; Menéndez, P. (2009): Biooxidation of 1,8-cineole by *Aspergillus terreus*. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* 59 (1–3), S. 173–176.
- Girard, B.; Kopp, T. G. (1998): Physicochemical characteristics of selected sweet cherry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 46 (2), S. 471–476.
- Goffman, F. D.; Galletti, S. (2001): Gamma-linolenic acid and tocopherol contents in the seed oil of 47 accessions from several *Ribes* species. *J. Agric. Food Chem.* 49 (4), S. 2104.
- Greger, V.; Schieberle, P. (2007): Characterization of the key aroma compounds in Apricos (*Prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept. *J. Agric. Food Chem.* 55 (13), S. 5221-5228.
- Grosch, W. (2001): Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chem. Senses* 26 (5), S. 533–545.
- Grosch, W.; Wurzenberger, M. (1985): Enzymic formation of 1-octen-3-ol in mushrooms. *Dev. Food Sci.* 10, S. 253–259.
- Grosch, W. (1993): Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science & Technology* 4 (3), S. 68–73.
- Grosch, W.; Schwarz, J. M. (1971): Linoleic and linolenic acid as precursors of the cucumber flavor. *Lipids* 6 (5), S. 351–352.
- Guadagni, D. G.; Buttery, R. G.; Turnbaugh, J. G. (1972): Odor thresholds and similarity ratings of some potato chip components. *J. Sci. Fd. Agr.* 23 (12), S. 1435–1444.
- Guadayol, J. M.; Caixach, J.; Ribe, J.; Cabanas, J.; Rivera, J. (1997): Extraction, separation and identification of volatile organic compounds from paprika oleoresin (Spanish Type). *J. Agric. Food Chem.* 45 (5), S. 1868–1872.
- Güntert, M.; Krammer, G.; Sommer, H.; Werkhoff, P. (1998): The importance of the vacuum headspace method for the analysis of fruit flavors. *ACS Symp. Ser.* 705, S. 38–60.
- Haekkinen, S. H.; Kaerenlampi, S. O.; Heinonen, I. M.; Mykkaenen, H. M.; Toerroenen, A. R. (1999): Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J. Agric. Food Chem.* 47 (6), S. 2274–2279.

- Hakala, M. A.; Lapveteläinen, A. T.; Kallio, H. P. (2002): Volatile compounds of selected strawberry varieties analyzed by purge-and-trap headspace GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 50 (5), S. 1133–1142.
- Harb, J.; Streif, J. (2004): Quality and consumer acceptability of gooseberry fruits (*Ribes uva-crispa*) following CA and air storage. *Acta Hortic.* 79 (2), S. 329–334.
- Harborne, J. B.; Baxter, H. (1993): Phytochemical dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants. Taylor & Francis Group: London, Washington DC.
- Hatanaka, A. (1993): The biogenesis of green odor by green leaves. *Phytochem.* 34 (5), S. 1201–1218.
- Hatanaka, A. (1999): Biosynthesis of so-called "green odor" emitted by green leaves. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, S. 83-115. Elsevier Science B.V.: Amsterdam.
- Hatanaka, A.; Harada, Takahiro (1973): Leaf alcohol. XXII. Formation of cis-3-hexenal, trans-2-hexenal, and cis-3-hexenol in macerated *Thea sinensis* leaves. *Phytochem.* 12 (10), S. 2341–2346.
- Hatanaka, A.; Sekiya, J.; Kajiwara, T. (1978): Distribution of an enzyme system producing cis-3-hexenal and n-hexenal from linolenic and linoleic acids in some plants. *Phytochem.* 17 (5), S. 869–872.
- Hatt, H. (2009): Riechen beim Menschen. Physiologie der Duftstoffwahrnehmung. *Prax. Naturwiss., Chem. Sch.* 58 (5), S. 6–11.
- Herman, S. J. (2002): Odor reception: structure and mechanism. *Cosmet. Toiletries* 117 (9), S. 83-96.
- Herrmann, K. (2001): Inhaltsstoffe von Obst und Gemüse. Ulmer Verlag: Stuttgart (Hohenheim)
- Holtz, R. B.; Schisler, L. C. (1971): Lipid metabolism of *Agaricus bisporus*. I. Analysis of sporophore and mycelial lipids. *Lipids* 6 (3), S. 176–180.
- Horst, K.; Rychlik, M. (2010): Quantification of 1,8-cineole and of its metabolites in humans using stable isotope dilution assays. *Mol. Nutr. Food Res.* 54 (10), S. 1515–1529.
- Humpf, H. U.; Wintoch, H.; Schreier, P. (1992): 3,4-Dihydroxy-7,8-dihydro-.beta.-ionol.beta.-D-glucopyranoside. Natural precursor of isomeric vitispiranes from gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) and white beam (*Sorbus aria*) leaves. *J. Agric. Food Chem.* 40 (11), S. 2060–2062.
- Iversen, C. K.; Jakobsen, H. B.; Olsen, C.-E. (1998): Aroma changes during black currant (*Ribes nigrum* L.) nectar processing. *J. Agric. Food Chem.* 46 (3), S. 1132–1136.
- Iwaoka, W.; Hagi, Y.; Umano, K.; Shibamoto, T. (1994): Volatile chemicals identified in fresh and cooked breadfruit. *J. Agric. Food Chem.* 42 (4), S. 975–976.
- Iyer, S.; Millar, T. C. S.; Zachgo, S.; Giblin, M.; Taylor, D.; Kunst, L. (1998): Characterization of CUT1, a cuticular wax-specific condensing enzyme of *Arabidopsis thaliana*. *Advances in Plant Lipid Research*, Printed in Spain, Universidad de Sevilla. Secretariado de publicaciones S. 87–90.
- James, D. P. (1952): Nicotinic acid, pantothenic acid, and biotin in fruits, vegetables, and nuts. *Br. J. Nutr.* 6, S. 341–356.
- Jardine, K.; Abrell, L.; Kurc, S. A.; Huxman, T.; Ortega, J.; Guenther, A. (2010): Volatile organic compound emissions from *Larrea tridentata* (creosotebush). *Atmos. Chem. Phys.* 10 (24), S. 12191–206.

- Jordheim, M.; Mäge, F.; Andersen, O. M. (2007): Anthocyanins in berries of *Ribes* including gooseberry cultivars with a high content of acylated pigments. *J. Agric. Food Chem.* 55 (14), S. 5529–5535.
- Jurikova, T.; Sochor, J.; Rop, O.; Mlcek, J.; Balla, S.; Szekeres, L. (2012): Evaluation of polyphenolic profile and nutritional value of non-traditional fruit species in the Czech Republic - a comparative study. *Molecules* 17, S. 8968–8981.
- Kaehkoenen, M. P.; Hopia, A. I.; Heinonen, M. (2001): Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 49 (8), S. 4076–4082.
- Kale, M.; Laddha, K.S (2012): Long chain aliphatic hydrocarbons from *Momordica dioica* (ROXB) ex wild. (*Cucurbitaceae*) fruits. *IJCR* (4), S. 136–138.
- Kampuss, K.; Christensen, L. P.; Pedersen, H. L. (2008): Volatile composition of black currant cultivars. *Acta Hort.* 777 (Proceedings of the IXth International Rubus and Ribes Symposium, 2005), S. 525–529.
- Kazeniak, S. J.; Hall, R. M. (1970): Flavor chemistry of tomato volatiles. *J. Food Sci.* 35 (5), S. 519–530.
- Kim, I. S.; Grosch, W. (1978): Lipoxygenasen aus Birnen, Erd- und Stachelbeeren: Partielle Reinigung und Eigenschaften. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 167 (5), S. 324–326.
- Koch, J. (1954): Über den Vitamin-C-Gehalt verschiedener Früchte während des Reifevorgangs. *Ind. Obst- Gemüseverwert.* 39, S. 231–234.
- Kolb, E.; Fauth, R. (2002): Spirituosentechnologie. 6. Aufl. 1 Band. Behr's Verlag: Hamburg.
- Kovats, E. (1958): Gas chromatographic characterization of organic compounds. I. Retention indexes of aliphatic halides, alcohols, aldehydes, and ketones. *Helv. Chim. Acta* 41, S. 1915–1932.
- Krisch, J.; Ördögh, L.; Galgóczy, L.; Papp, T.; Vágvölgyi, C. (2009): Anticandidal effect of berry juices and extracts from *Ribes* species. *CEJB* 4 (1), S. 86–89.
- Kumazawa, K.; Masuda, H.i (2001): Change in the flavor of black tea drink during heat processing. *J. Agric. Food Chem.* 49 (7), S. 3304–3309.
- Larsen, M.; Poll, L. (1992): Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberries. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A* 195 (2), S. 120–123.
- Latrasse, A.; Rigaud, J.; Sarris, J. (1982): L'arome du cassis (*Ribes nigrum* L.) odeur principale et notes secondaires. *Sci. Aliments* (2), S. 145–162.
- Leffingwell & Associates. <http://www.leffingwell.com>, zuletzt geprüft am 18.01.2011.
- Leone, A.; Bleve-Zacheo, T.; Gerardi, C.; Melillo, M. T.; Leo, L.; Zacheo, G. (2006): lipoxygenase involvement in ripening strawberry. *J. Agric. Food Chem.* 54 (18), S. 6835–6844.
- Lim, T. K. (2012): *Ribes x nidigrolaria*. *Edible medicinal and non-medicinal plants*. Fruits. (4), S. 56–58.
- Linssen, J. P. H.; Janssens, J. L. G. M.; Roozen, J. P.; Posthumus, M. A. (1993): Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. *Food Chem.* 46 (4), S. 367–371.
- Liu, C. H.; Cheng, Y. J.; Zhang, H. Y.; Deng, X. X.; Chen, F.; Xu, J. (2012): Volatile constituents of wild citrus mangshanyegan (*Citrus nobilis Lauriro*) peel oil. *J. Agric. Food Chem.* 60 (10), S. 2617–2628.
- Lorenz, P. (1929): Kreuzungsmöglichkeiten in der Gattung *Ribes*. *Der Züchter* 1 (2), S. 66–68.

- Mäge, F. (2002): A comparison of seven gooseberry cultivars with respect to yield components and fruit quality. *Acta Hort.* 5 (2), S. 481–487.
- Magee, H. E. (1952): Nutritive values of fruit and fruit juices. *Food Manuf.* 27, S. 135–137.
- Matheis, G. (1991): Biogenese der Aromen von Obstfrüchten. *Fluess. Obst* 58 (11), S. 611–615.
- Matsui, K. (2006): Green leaf volatiles. Hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9 (3), S. 274–280.
- Matsui, K.; Sasahara, S.; Akakabe, Y.; Kajiwara, T. (2003): Linoleic acid 10-hydroperoxide as an intermediate during formation of 1-octen-3-ol from linoleic acid in *Lentinus decedetes*. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 67 (10), S. 2280–2282.
- Matsui, K.; Shibata, Y.; Kajiwara, T.; Hatanaka, A. (1989): Separation of 13- and 9-hydroperoxide lyase activities in cotyledons of cucumber seedlings. *Z. Naturforsch., C: Biosci.* 44 (9-10), S. 883–885.
- Mattila, P.; Hellstroem, J.; Toerroenen, R. (2006): Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 54 (19), S. 7193–7199.
- Mattivi, F.; Vrhovsek, U. (2005): Small berries with big nutritional benefits. *Mitt. Klosterneuburg* 60 (4), S. 442–448.
- Mehinagic, E.; Royer, G.; Symoneaux, R.; Jourjon, F.; Prost, C. (2006): Characterization of odor-active volatiles in apples: influence of cultivars and maturity stage. *J. Agric. Food Chem.* 54 (7), S. 2678–2687.
- Mehlitz, A.; Matzik, B. (1956): Zur Kenntnis der in Obstsaften vorkommenden flüchtigen Säuren. *Fruchtsaft-Ind.* 1, S. 130–146.
- Meilgaard, M. C.; Civille, G. V.; Carr, B. T. (2007): Sensory evaluation techniques. 4. Aufl. Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Mikkelsen, B.; Poll, L. (2002): Decomposition and transformation of aroma compounds and anthocyanins during black currant (*Ribes nigrum* L.) juice processing. *J. Food Sci.* 67 (9), S. 3447–3455.
- Mikulic-Petkovsek, M.; Schmitzer, V.; Slatnar, A.; Stampar, F.; Veberic, R. (2012a): Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J. Food Sci.*, S. 1064-1070.
- Mikulic-Petkovsek, M.; Slatnar, A.; Stampar, F.; Veberic, R. (2012b): HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. *Food Chem.* 135 (4), S. 2138–2146.
- Milivojevic, J.; Slatnar, A.; Mikulic-Petkovsek, M.; Stampar, F.; Nikolic, M.; Veberic, R. (2012): The influence of early yield on the accumulation of major taste and health related compounds in black and red currant cultivars (*Ribes* spp.). *J. Agric. Food Chem.* 2682-2691
- Moyer, R. A.; Hummer, K. E.; Finn, C. E.; Frei, B.; Wrolstad, R. E. (2002a): Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.* 50 (3), S. 519–525.
- Moyer, R.; Hummer, K.; Wrolstad, R. E.; Finn, C. (2002b): Antioxidant compounds in diverse *Ribes* and *Rubus* germplasm. *Acta Hort.* 585 (Vol. 2), S. 501–505.
- Muecke, W.; Lemmen, C. (2011): Geruchsstoffe und Gesundheit. Teil 1. Grundlagen der Geruchswahrnehmung. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 16 (4), S. 207–217.
- Nowak, R.; Zgorka, G. (1997): Phenolic acids in fruits and leaves of *Ribes nigrum* L. and *Ribes grossularia* L. *Acta Pol. Pharm.* 54 (2), S. 155–160.

- Orav, A.; Kailas, T.; Muurisepp, M. (2002): Composition of black currant aroma isolated from leaves, buds, and berries of *Ribes nigrum* L. *Proc. Est. Acad. Sci., Chem.* 51 (4), S. 225–234.
- Pantelidis, G. E.; Vasilakakis, M.; Manganaris, G. A.; Diamantidis, G. (2007): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem.* 102 (3), S. 777–783.
- Park, B.-S.; Lee, K.-G.; Takeoka, G. R. (2004): Comparison of three sample preparation methods on the recovery of volatiles from taheebo (*Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC). *Flavour Fragrance J.* 19 (4), S. 287–292.
- Paterson, V. J.; Macrae, E. A.; Young, H. (1991): Relationships between sensory properties and chemical composition of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *J. Sci. Fd. Agric.* 57 (2), S. 235–251.
- Pennarun, A.-L.; Prost, C.; Demaimay, M. (2002): Aroma extracts from oyster *crassostrea gigas*: comparison of two extraction methods. *J. Agric. Food Chem.* 50 (2), S. 299–304.
- Pérez, A. G.; Sanz, C.; Olías, R.; Olías, J. M. (1998): Lipoxygenase and hydroperoxide lyase activities in ripening strawberry fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47 (1), S. 249–253.
- Perez-Cacho, P. R.; Rouseff, R. (2008): Processing and storage effects on orange juice aroma. A Review. *J. Agric. Food Chem.* 56 (21), S. 9785–9796.
- Pfannhauser, W. (1988): Sensorische und instrumentelle analytische Untersuchungen des Kiwi-Aromas. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A* 187 (3), S. 224–228.
- Piveteau, F.; Le Guen, S.; Gandemer, G.; Baud, J. P.; Prost, C.; Demaimay, M. (2000): Aroma of fresh oysters *crassostrea gigas*. Composition and aroma notes. *J. Agric. Food Chem.* 48 (10), S. 4851–4857.
- Pour Nikfardjam, M.; Kopp, M.; Hempfling, K.; Engel, K.-H. (eingereicht): Ascorbinsäure- und Polyphenol-Gehalt sowie antioxidative Kapazität von frischen Stachelbeeren. *Mitteilungen Klosterneuburg*.
- Quad, A.; Schönberger, S.; Schwarz, M. (2011): Statistische Auswertungen in der Sensorik. Leitfaden für die Praxis. Behr's Verlag: Hamburg.
- Rauscher, K.; Voigt, J.; Wilke, K. T. (1977): Chemische Tabellen und Rechentafeln für die analytische Praxis. 6. Aufl. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie: Leipzig.
- Riley, J. C. M.; Willemot, C.; Thompson, J. E. (1996): Lipoxygenase and hydroperoxide lyase activities in ripening tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 7 (1–2), S. 97–107.
- Rothe, M.; Thomas, B. (1963): Aromastoffe des Brotes. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A* 119 (4), S. 302–310.
- Russell, W. R.; Labat, A.; Scobbie, L.; Duncan, G. J.; Duthie, G. G. (2009): Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chem.* 115 (1), S. 100–104.
- Rychlik, M.; Schieberle, P. und Grosch W. (1998): Compilation of Odor Thresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food Odorants. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie; Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München: München, Garching.
- Sanchez, N. B.; Lederer, C. L.; Nickerson, G. B.; Libbey, Le. M.; McDaniel, M. R. (1992): Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and an unhopped beer. *Dev. Food Sci.* 29, S. 403–426.
- Schmarr, H.-G. (1992): Beiträge zur On-line LC-GC Kopplung und modifizierte Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen in der Kapillar-GC. Dissertation. Goethe Universität, Frankfurt.

- Schmarr, H.-G.; Ganss, S.; Sang, W.; Potouridis, T. (2007): Analysis of 2-aminoacetophenone in wine using a stable isotope dilution assay and multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr., A* 1150 (1-2), S. 78–84.
- Schmid, W.; Grosch, W. (1986): Identifizierung flüchtiger Aromastoffe mit hohen Aromawerten in Sauerkirschen (*Prunus cerasus* L.). *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A* 182 (5), S. 407–412.
- Schnabel, K. O.; Belitz, H. D.; von Ranson C. (1988): Untersuchungen zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung bei Geruchsstoffen. 1. Mitteilung: Wahrnehmungsschwellenwerte und Geruchsqualitäten von gesättigten aliphatischen und alicyclischen Verbindungen mit Sauerstoff-Funktion. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 187 (3), S. 215–223.
- Schreier, P.; Lorenz, G. (1981): Formation of "green-grassy"-notes in disrupted plant tissues. characterization of the tomato enzyme systems. *Flavour* 81, *Weurman Symp., 3rd*, S. 495–507.
- Schreier, P.; Drawert, F.; Junker, A. (1977): Über die quantitative Zusammensetzung natürlicher und technologisch veränderter Aromen III. Veränderungen und Neubildungen von Aromastoffen bei der Herstellung von Säften aus roten Johannisbeeren. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* 10, S. 337–340.
- Schreier, P. (1980): Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries, *Fragaria ananassa* cv. *senga sengana*, *senga litessa* and *senga gournella*. *J. Sci. Fd. Agric.* 31 (5), S. 487–494.
- Schreier, P. (1987): Isolierung von Aromastoffen. *Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie* 41, S. 25–34.
- Schuster, B.; Herrmann, K. (1985): Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochem.* 24 (11), S. 2761–2764.
- Serradilla, M. J.; Martín, A.; Hernandez, A.; López-Corrales, M.; Lozano, M.; Córdoba, M. G. (2010): Effect of the commercial ripening stage and postharvest storage on microbial and aroma changes of 'Ambrunés' sweet cherries. *J. Agric. Food Chem* 58 (16), S. 9157–9163.
- Shelaputin, V. I.; Saatchan, A. K. (1953): Effect of low temperature on the preservation of the nutritional value of frozen vegetables, berries, and fruits. *Vopr. Pitan.* 12 (No. 6), S. 64–69.
- Siegmund, B.; Derler, K.; Pfannhauser, W. (2001): Changes in the aroma of a strawberry drink during storage. *J. Agric. Food Chem.* 49 (7), S. 3244–3252.
- Sinuco, D. C.; Steinhaus, M.; Schieberle, P.; Osorio, C. (2010): Changes in odour-active compounds of two varieties of Colombian guava (*Psidium guajava* L.) during ripening. *Eur. Food Res. Technol.* 230 (6), S. 859–864.
- Slusarenko, A. J.; Meier, B. M.; Croft, K. P. C.; Eiben, H. G. (1993): Lipoxygenase in plant disease. *Dev. Plant Pathol.* 2, S. 211–20.
- Soria, A.C.; Martinez-Castro, I.; Sanz, J. (2008): Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. *Food Res. Int.* 41 (8), S. 838-848.
- Souci, S. W.; Fachmann, W.; Kraut, H.: Souci-Fachmann-Kraut. Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabelle. Medpharm Online Datenbank. Hg. v. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie. Online verfügbar unter www.sfk-online.net, zuletzt geprüft am 06.03.2013.
- Steinhaus, M.; Schieberle, P. (2000): Comparison of the most odor-active compounds in fresh and dried hop cones (*Humulus lupulus* L. Variety Spalter Select) based on GC-

- olfactometry and odor dilution techniques. *J. Agric. Food Chem.* 48 (5), S. 1776–1783.
- Steinhaus, M.; Sinuco, D.; Polster, J.; Osorio, C.; Schieberle, P. (2008): Characterization of the aroma active compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by application of the aroma extract dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.* 56 (11), S. 4120–4127.
- Steinhaus, M.; Sinuco, D.; Polster, J.; Osorio, C.; Schieberle, P. (2009): Characterization of the key aroma compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by means of aroma re-engineering experiments and omission tests. *J. Agric. Food Chem.* 57 (7), S. 2882–2888.
- Stöhr, H. und Herrmann K. (1975): Die phenolischen Inhaltsstoffe des Obstes. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 159, S. 31–37.
- Stumpe, M.; Feussner, I. (2006): Formation of oxylipins by CYP74 enzymes. *Phytochemistry Reviews* 5 (2), S. 347–357.
- Sulzbach, H. (1996): Multidimensionale Kapillarsäulen-Gaschromatographie. *GIT: Labor-Fachzeitschrift* (40), S. 131.
- Takahisa, E.; Engel, K.-H. (2005): 2,3-Di-O-methoxymethyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- γ -cyclodextrin: a new class of cyclodextrin derivatives for gas chromatographic separation of enantiomers. *J. Chromatogr. A.* 1063, S. 181-192.
- Takeoka, G.; Buttery, R. G.; Flath, R. A.; Teranishi, R.; Wheeler, E. L.; Wieczorek, R. L.; Guentert, M. (1989): Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *ACS Symp. Ser.* 388 (Flavor Chem.), S. 223–237.
- Takeoka, G. R.; Flath, R. A.; Mon, T. R.; Teranishi, R.; Güntert, M. (1990): Volatile constituents of apricot (*Prunus armeniaca*). *J. Agric. Food Chem.* 38 (2), S. 471–477.
- Tamura, H.; Boonbumrung, S.; Yoshizawa, T.; Varayanond, W. (2001): The volatile constituents in the peel and pulp of a green Thai mango, khieo sawoei cultivar (*Mangifera indica* L.). *Food Sci. Technol. Res.* 7 (1), S. 72–77.
- Tressl, R.; Bahri, D.; Engel, K.-H. (1982): Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). *J. Agric. Food Chem.* 30 (1), S. 89–93.
- Turin, L. (1996): A spectroscopic mechanism for primary olfactory reception. *Chem. Senses* 21 (6), S. 773–791.
- Ullrich, F.; Grosch, W. (1987): Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 184 (4), S. 277–282.
- Urbasch, I. (1984): Produktion pflanzlicher C₆-Wundgase und ihre Wirkung auf einige phytopathogene Pilze. *Z. Naturforsch., C: Biosci.* 39 (9-10), S. 1003–7.
- Von Sydow, E.; Karlsson, G. (1971): Aroma of black currants. IV. Effect of heat measured by instrumental methods. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 4 (2), S. 54–58.
- Van Ruth, S. M. (2001): Methods for gas chromatography-olfactometry. A review. *Biomol. Eng.* 17 (4-5), S. 121–128.
- Veith, H. J.; Koeniger, N.; Maschwitz, U. (1984): 2-Methyl-3-buten-2-ol, a major component of the alarm pheromone of the hornet vespa crabro. *Naturwissenschaften* 71 (6), S. 328–329.
- Vilela, G. R.; de Almeida, G. S.; D´Arce, M. A. B. R.; Moraes, M. H. D.; Brito, J. O.; da Silva, M. F. das G. F.; Silva, S. C.; de Stafano Piedade, S. M.; Calori-Domingues, M. A.; da Gloria, E. M. (2009): Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *JSTPA* (45), S. 108-111.

- Viljakainen, S.; Visti, A.; Laakso, S. (2002): Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. *Acta Agric. Scand., Sect. B* 52 (2-3), S. 101–109.
- Vogelgesang, J.; Hädrich, J. (1998): Limits of detection, identification and determination: a statistical approach for practitioners. *Accredit. Qual. Assur.* 3 (6), S. 242–255.
- Wan, X. M.; Stevenson, R. J.; Chen, X. D.; Melton, L. D. (1999): Application of headspace solid-phase microextraction to volatile flavour profile development during storage and ripening of kiwifruit. *Food Res. Int.* 32 (3), S. 175–183.
- Wei, J.; Kang, L. (2011): Roles of (*Z*)-3-hexenol in plant-insect interactions. *Plant Signaling Behav.* 6 (3), S. 369–371.
- Werkhoff, P.; Brennecke, S.; Bretschneider, W. (1991): Progress in the chiroselective analysis of naturally occurring flavor and aroma compounds. *Chem., Mikrobiol., Technol. Lebensm.* 13 (5/6), S. 129–152.
- Werkhoff, P.; Güntert, M.; Krammer, G.; Sommer, H.; Kaulen, J. (1998): Vacuum headspace method in aroma research. Flavor chemistry of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.* 46 (3), S. 1076–1093.
- Whitfield, F. B.; Freeman, D. J.; Last, J. H.; Bannister, P. A.; Kennett, B. H. (1982): Oct-1-en-3-ol and (5*Z*)-octa-1,5-dien-3-ol, compounds important in the flavor of prawns and sand-lobsters. *Aust. J. Chem.* 35 (2), S. 373–383.
- Whiting, G. C. (1958): Nonvolatile organic acids of some berry fruits. *J. Sci. Food Agric.* 9, S. 244–248.
- Wieland, T.; Sucrow, W. (1982): Die Praxis des organischen Chemikers. 43. Aufl. Walter de Gruyter: Berlin, New York.
- Woodrow, L.; Luffman, M.; van der Leeuw, S.; Liptay, A. (2007): Antioxidant activity in raspberry, currant and gooseberry accessions of the Canadian clonal genebank. *Acta Hortic.* 744, S. 439–442.
- Wright, R. H.; Serenius, R. S. E. (1954): Odor and molecular vibration. II. Raman spectra of substances with the nitrobenzene odor. *J. Appl. Chem.* 4, S. 615–621.
- Wu, X.; Gu, L.; Prior, R. L.; McKay, S. (2004): Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 52 (26), S. 7846–7856.
- Wurzenberger, M.; Grosch, W. (1984): The formation of 1-octen-3-ol from the 10-hydroperoxide isomer of linoleic acid by a hydroperoxide lyase in mushrooms (*Psalliota bispora*). *Biochim. Biophys. Acta, Lipids Lipid Metab.* 794 (1), S. 25–30.
- Wyllie, S. G.; Leach, D. N.; Nonhebel, H. N.; Lusunzi, I. (1996): Biochemical pathways for the formation of esters in ripening fruit. *Spec. Publ. - R. Soc. Chem.* 197, S. 52–57.
- Yang, C.; Luo, L.; Zhang, H.; Yang, X.; Lv, Y.; Song, H. (2010): Common aroma-active components of propolis from 23 regions of China. *J. Sci. Fd. Agric.* 90 (7), S. 1268–1282.
- Young, H.; Stec, M.; Paterson, V. J.; McMath, K.; Ball, R. (1995): Volatile compounds affecting kiwifruit flavor. *ACS Symp. Ser.* 596, S. 59–67.
- Zawirska-Wojtasiak, R. (2004): Optical purity of (*R*)-(-)-1-octen-3-ol in the aroma of various species of edible mushrooms. *Food Chem.* 86 (1), S. 113–118.
- Zea, L.; Moyano, L.; Moreno, J.; Cortes, B.; Medina, M. (2001): Discrimination of the aroma fraction of Sherry wines obtained by oxidative and biological ageing. *Food Chem.* 75 (1), S. 79–84.

- Zeidler, J.; Lichtenthaler, H. K. (2001): Biosynthesis of 2-methyl-3-buten-2-ol emitted from needles of *Pinus ponderosa* via the non-mevalonate DOXP/MEP pathway of isoprenoid formation. *Planta* 213 (2), S. 323–326.
- Zhang, B.; Shen, J.; Wei, W.-W.; Xi, W.; Xu, C.; Ferguson, I.; Chen, K. (2010): Expression of genes associated with aroma formation derived from the fatty acid pathway during peach fruit ripening. *J. Agric. Food Chem.* 58 (10), S. 6157–6165.
- Zheng, J.; Yang, B.; Tuomasjukka, S.; Ou, S.; Kallio, H. (2009): Effects of latitude and weather conditions on contents of sugars, fruit acids, and ascorbic acid in black currant (*Ribes nigrum* L.) juice. *J. Agric. Food Chem.* 57 (7), S. 2977–2987.

7 Anhang

7.1 Absolute Wiederfindungsraten von Heptan-2-ol bei VHS und LLE

Die absolute Wiederfindung des internen Standards Heptan-2-ol wurde wie unter 3.2.3.3 beschrieben ermittelt. Sie betrug bei VHS $79 \pm 9 \%$ und bei LLE $77 \pm 8 \%$.

7.2 Vergleich der Wiederfindungsraten bei VHS aus Beerenmatrix-Imitat und Wasser

Tabelle 32: Für Isolierungen mittels VHS bestimmte Wiederfindungen aus Wasser und einem Beerenmatrix-Imitat

Substanz	Wiederfindung [%] ^a	
	Wasser	BM ^b
	VHS ^c	
Aldehyde		
(<i>E</i>)-Hex-2-enal	85 ± 6	90 ± 5
(<i>E</i>)-Hex-3-enal	23 ± 1	26 ± 7
(<i>Z</i>)-Hex-3-enal	21 ± 1	27 ± 7
Ester		
Ethylbutanoat	76 ± 8	64 ± 2
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	87 ± 3	80 ± 4
Methylbutanoat	63 ± 18	58 ± 2
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	82 ± 5	76 ± 4
Methylhexanoat	76 ± 6	63 ± 4
Alkohole		
(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	77 ± 7	88 ± 2
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	76 ± 5	79 ± 1
Oct-1-en-3-ol	101 ± 0	101 ± 1
Ketone		
Acetophenon	92 ± 4	94 ± 3
Pentan-2-on	51 ± 3	55 ± 3
Terpene / Terpenalkohole		
Δ-3-Caren	47 ± 3	34 ± 6
Limonen	30 ± 10	32 ± 5
Terpinolen	48 ± 4	40 ± 6
Eukalyptol	86 ± 14	91 ± 10
Terpinen-4-ol	83 ± 8	87 ± 8

a: Mittelwert und Standardabweichung jeweils einer Dreifachbestimmung. b: Beerenmatrix-Imitat (siehe 3.2.5.2).

c: Vakuum Headspace Technik.

7.3 Wiederfindungsraten von (Z)-Hex-3-enal, (E)-Hex-3-enal und (E)-Hex-2-enal mit 10-fach höheren und 10-fach niedrigeren Konzentrationen

Tabelle 33: Für (Z)-/(E)-Hex-3-enal und (E)-Hex-2-enal bestimmte Wiederfindungen bei um Faktor 100 unterschiedlichen Konzentrationen

(Z)-Hex-3-enal		
	VHS ^a	LLE ^b
	[%]	
normal ^c	33 ± 13	42 ± 4
normal ^c	27 ± 7	50 ± 3
10fach ^d	40 ± 10	52 ± 11
1/10 ^e	32 ± 3	35 ± 2

(E)-Hex-3-enal		
	VHS	LLE
	[%]	
normal ^c	32 ± 13	43 ± 5
normal ^c	27 ± 7	48 ± 2
10fach ^d	43 ± 9	64 ± 12
1/10 ^e	37 ± 2	50 ± 1

(E)-Hex-2-enal		
	VHS	LLE
	[%]	
normal ^f	85 ± 6	84 ± 2
10fach ^g	108 ± 3	93 ± 2
1/10 ^h	88 ± 15	110 ± 28

a: Vakuum Headspace Extraktion. b: Flüssig-Flüssig-Extraktion. c: 706 µg (Z)-Hex-3-enal, 43 µg (E)-Hex-3-enal und 299 µg Heptan-2-ol zur Extraktion eingesetzt. d: 10fach höhere Mengen an (Z)-Hex-3-enal und (E)-Hex-3-enal zur Extraktion eingesetzt. e: 10fach niedrigere Mengen an (Z)-Hex-3-enal und (E)-Hex-3-enal zur Extraktion eingesetzt. f: 284 µg (E)-Hex-2-enal und 299 µg Heptan-2-ol zur Extraktion eingesetzt. g: 10fach höhere Mengen an (E)-Hex-2-enal zur Extraktion eingesetzt. h: 10fach niedrigere Mengen an (E)-Hex-2-enal zur Extraktion eingesetzt.

7.4 Zur Quantifizierung verwendete Wiederfindungsraten

Tabelle 34: Zur Quantifizierung verwendete Wiederfindungsraten

Substanz	Wiederfindung [%] ^a	
	VHS ^b	LLE ^c
<i>Aldehyde</i>		
(E)-Hept-2-enal	92 ± 7	96 ± 2
Hexanal	86 ± 4	69 ± 10
(E)-Hex-2-enal	85 ± 6	84 ± 2
(Z)-Hex-3-enal ^d	30 ± 10	46 ± 6
(E)-Hex-3-enal ^d	29 ± 7	46 ± 2
Heptanal	85 ± 2	
Phenylacetaldehyd	40 ± 2	

Substanz	Wiederfindung [%] ^a	
	VHS ^b	LLE ^c
Ester		
Methylbenzoat	87 ± 13	102 ± 4
(<i>E</i>)-Ethylbut-2-enoat	87 ± 3	106 ± 4
(<i>E</i>)-Methylbut-2-enoat	82 ± 5	82 ± 2
Ethylbutanoat	76 ± 8	88 ± 2
Methylhexanoat	76 ± 6	92 ± 2
Methylbutanoat	63 ± 18	61 ± 4
Ethylbenzoat	99 ± 4	
1-Phenylethyl 2-methylpropanoat	99 ± 5	
(<i>Z</i>)-Hex-3-enylacetat	93 ± 5	
Ethylcinnamat	89 ± 8	
Phenylethylacetat	83 ± 5	
Ethylnonanoat	79 ± 5	
2-Propenylhexanoat	79 ± 7	
3-Methylbutylacetat	79 ± 6	
Ethylhexanoat	77 ± 6	
Butylbutanoat	77 ± 6	
Pentylpentanoat	75 ± 7	
2-Methylpropylacetat	73 ± 5	
Ethyldecanoat	71 ± 7	
Dimethylmalonat	39 ± 5	
Ethylformiat	5 ± 9	
Ethyllactat	4 ± 0	
Ethylacetat	1 ± 1	
Alkohole		
Oct-1-en-3-ol	101 ± 0	100 ± 1
Hexan-1-ol	82 ± 2	89 ± 1
(<i>E</i>)-Hex-2-en-1-ol	77 ± 7	95 ± 1
3-Methylbutanol	77 ± 4	87 ± 3
(<i>Z</i>)-Hex-3-en-1-ol	76 ± 5	83 ± 10
2-Methylbut-3-en-2-ol	40 ± 15	29 ± 3
3-Methylbut-2-en-1-ol	35 ± 9	77 ± 4
Menthol	91 ± 1	
Heptan-1-ol	64 ± 4	
2-Methylpropanol	36 ± 2	
Terpene / Terpenalkohole		
Citronellol	93 ± 10	109 ± 4
1,8-Cineol	86 ± 14	98 ± 3
Terpinen-4-ol	83 ± 8	107 ± 5
Terpinolen	48 ± 4	19 ± 1
β-(<i>E</i>)-Ocimen	48 ± 4	16 ± 2
β-(<i>Z</i>)-Ocimen	48 ± 4	15 ± 2
Δ-3-Caren	47 ± 3	12 ± 2
Myrcen	45 ± 4	12 ± 2
α-Pinen	40 ± 2	6 ± 2
Limonen	30 ± 10	21 ± 10
β-Phellandren	30 ± 10	21 ± 10
Linalool	101 ± 2	
β-Ionon	94 ± 8	
α-Terpineol	90 ± 14	
Säuren^e		
Dimethylmalonsäure	n.q. [†]	9 ± 1
Zimtsäure	n.d. ^g	78 ± 7
Hexansäure	31 ± 8	101 ± 3

Substanz	Wiederfindung [%] ^a	
	VHS ^b	LLE ^c
Buttersäure	13 ± 0	62 ± 12
(<i>E</i>)-Hex-2-ensäure	13 ± 3	98 ± 9
(<i>E</i>)-Hex-3-ensäure	12 ± 1	95 ± 3
Propansäure	4 ± 0	28 ± 8
Essigsäure	2 ± 0	17 ± 6
Nonansäure	2 ± 1	
2-Methylpropansäure	n.d.	
Ketone		
Acetophenon	92 ± 4	102 ± 1
Pentan-2-on	51 ± 3	40 ± 4
Mesifuran	7 ± 1	66 ± 13
Acetoin	n.d.	4 ± 0
Furaneol	n.d.	11 ± 2
Sonstige		
Butan-2,3-diol (erstelulierendes Diastereomer)	n.d.	2 ± 1
Butan-2,3-diol (zweitelulierendes Diastereomer)	n.d.	n.d.
Heptanal-Diethylacetal	117 ± 2	

a: Mittelwert ± Standardabweichung einer Dreifachbestimmung aus Wasser. b: Vakuum Headspace Technik. c: Flüssig-Flüssig-Extraktion. d: Mittelwert einer Sechsfachbestimmung aus Beerenmatrix-Imitat (Anhang, Tabelle 33). e: Bestimmungen aus Natriumcitrat/Salzsäure-Pufferlösung (pH 3,5). f: Nicht quantifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 g/kg) lag. g: Nicht identifizierbar (n.d.), da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag.

Für Substanzen, deren Wiederfindungsrate < 25 % war, wurde keine Quantifizierung durchgeführt. Bei VHS-Isolierung wurde aufgrund der niedrigen Wiederfindungen aller analysierten Säuren generell keine Quantifizierung für Säuren durchgeführt.

7.5 NMR-spektroskopische Daten des synthetisierten 2-Hydroxy-1,8-cineols

NMR-Spektrum (500 MHz; ¹H in CD₃Cl):

3,6 ppm (m, 1H, H-2); 2,5 ppm (m, 1H, H-3a); 1,98 ppm (m, 1H, H-5a); 1,90 ppm (m, 1H, H-6a); 1,57 ppm (m, 1H, H-6b); 1,52 ppm (m, 1H, H-4); 1,48 ppm (m, 1H, H-5b); 1,34 ppm (m, 1H, H-3b); 1,27 ppm (s, 3H, H-9/10); 1,20 ppm (s, 3H, H-9/10); 1,05 ppm (s, 3H, H-7).

NMR-Spektrum (126 MHz; ¹³C in CD₃Cl):

73,2 ppm (C8); 74,6 ppm (C1); 71,4 (C2); 34,5 ppm (C4); 35,2 ppm (C3); 29,3 ppm (C9/C10); 28,9 ppm (C9/C10); 26,1 ppm (C6); 24,9 ppm (C7); 22,2 ppm (C5).

7.6 Identifizierung und Quantifizierung flüchtiger Verbindungen in Goldjohannisbeeren (*Ribes aureum* L.)

Tabelle 35: Mittels Vakuum Headspace Technik in Goldjohannisbeeren identifizierte und quantifizierte Verbindungen (Doppelbestimmung)

Substanz	RI ^a	[µg/kg]		
		1	2	
Ester				
Ethylbutanoat	1028	867	1397	e,g
Methylbutanoat	976	50	56	e,g
(E)-Ethylbut-2-enoat	1158	22	19	e,g
Ethyl-2-hydroxybutanoat	1387	12	25	f,i
Methylsalicylat	1769	15	17	e,h
Isopropylpalmitat	2239	13	13	f,i
Ethylhexanoat	1232	14	12	e,h
Methylhexanoat	1184	5	8	e,g
Ethyl-octanoat	1434	7	5	e,h
Ethyl-3-hydroxybutanoat	1498	4	7	e,h
Ethylbenzoat	1661	2	4	e,h
Ethylacetat	884	n.q. ^b	n.q.	e,h
Isopropyllaurat	1795	2	n.q.	f,i
Propylbutanoat	1107	n.q.	n.q.	f,i
2-Methylpropylbutanoat	1117	n.q.	n.q.	e,h
Methylbenzoat	1613	n.q.	n.d. ^c	e,g
C₆-Komponenten				
(E)-Hex-2-enal	1209	767	950	e,g
(E)-Hex-2-en-1-ol	1407	153	199	e,g
(Z)-Hex-3-enal	1139	85	69	e,g
Hexanal	1176	22	21	e,g
(Z)-Hex-3-en-1-ol	1384	18	22	e,g
Hexan-1-ol	1355	11	11	e,g
(E)-Hex-3-enal	1133	14	n.q.	e,g
Alkohole				
(R)-Oct-1-en-3-ol	1452	133	145	e,g
2-Methylpropan-1-ol	1090	71	195	e,g
Butan-1-ol	1142	63	132	e,h
2-Methylbut-3-en-2-ol	1035	26	45	e,g
Butan-2-ol	1042	9	13	e,h
3-Methylbut-2-en-1-ol	1308	10	11	e,g
Ethanol	931	7	10	e,h
(Z)-Pent-2-en-1-ol	1321	5	10	e,h
Pent-1-en-3-ol	1161	5	9	e,h
2-Phenylethan-1-ol	1899	5	8	e,h
Octan-1-ol	1560	6	6	e,h
Pentan-1-ol	1252	6	5	e,h
2-Ethylbutan-1-ol	1295	7	3	e,h
2-Ethylhexan-1-ol	1491	4	5	e,h
Benzylalkohol	1874	2	n.q.	e,h
Terpene/Terpenalkohole				
1,8-Cineol	1200	69	67	e,g
α-Terpineol	1686	18	11	e,h
Limonen	1196	6	7	e,g
Terpinen-4-ol	1601	4	n.q.	e,g
Borneol	1713	3	n.q.	e,h

Substanz	RI ^a	1		2	
		[µg/kg]			
Anethol	1821	2	n.q.		<i>e,h</i>
α-Pinen	1013	n.q.	n.q.		<i>e,g</i>
β-Pinen	1093	n.q.	n.q.		<i>e,h</i>
Carvon	1710	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
Eugenol	2132	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
Camphen	1051	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
Campher	1499	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
Ketone					
Pentan-2-on	963	8	10		<i>e,g</i>
Menthon	1457	9	5		<i>e,h</i>
Octan-3-on	1254	4	6		<i>e,h</i>
Acetoin	1265	n.k. ^d	n.k.		<i>e,g</i>
Aldehyde					
Nonanal	1389	3	5		<i>e,h</i>
Octanal	1276	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
(<i>E</i>)-Hept-2-enal	1318	n.q.	n.d.		<i>e,g</i>
Benzaldehyd	1512	n.q.	n.d.		<i>e,h</i>
Säuren					
2-Methylbuttersäure	1667	n.k.	n.k.		<i>e,h</i>
Essigsäure	1440	n.k.	n.k.		<i>e,g</i>
Pentansäure	1734	n.k.	n.k.		<i>e,h</i>
Hexansäure	1844	n.k.	n.k.		<i>e,g</i>
Buttersäure	1624	n.k.	n.k.		<i>e,g</i>

a: Retentionsindices. b: Nicht quantifizierbar (n.q.), da die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (1,7 µg/kg) lag. c: Nicht identifizierbar, da die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze (0,6 µg/kg) lag. d: Nicht kalkulierbar: Wiederfindung kleiner 25 %. e: Die Identifizierung erfolgte durch eine Referenzsubstanz. f: Die Identifizierung erfolgte durch Abgleich massenspektrometrischer Daten mit Literaturangaben. g: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response) und der Wiederfindung. h: Die Quantifizierung erfolgte unter Berücksichtigung des gaschromatographischen Verhaltens (Response). i: Für die Quantifizierung wurde der Response-Faktor 1 angenommen.

LEBENS LAUF

Persönliche Angaben:	
Name	Katrin Sigrud Schrade, geborene Hempfling
Geboren am	08. August 1984 in Kronach
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch
Adresse	Dittenbergerstr. 4 in 06114 Halle
Telefon	+49 345 44595837
Mobil	+49 170 8232005
Email	Katrin.Hempfling@gmx.de
Schulbildung:	
1991 – 1995	Grund- und Hauptschule Mitwitz
1995 – 2004	Frankenwald-Gymnasium Kronach Abschluss: allgemeine Hochschulreife
Hochschulbildung:	
09/2004 – 09/2008	Studium der Lebensmittelchemie (Staatsexamen) an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg Vorprüfung im Oktober 2006 Erste Staatsprüfung im Oktober 2008
Berufserfahrung:	
02/2005 – 03/2005	Praktikum bei der Danone GmbH im Bereich Qualitätssicherung
10/2008 – 04/2009	Praktikum bei der Nestlé Deutschland AG im Bereich Qualitätssicherung
04/2009 – 12/2012	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl für Allgemeine Lebensmitteltechnologie an der Technischen Universität München
01/2012 – 04/2012	Schriftliche Ausarbeitung der Doktorarbeit
04/2013 – heute	Laborleiterin der Rohstoffanalytik bei der Scil Proteins Production GmbH

Auszüge dieser Dissertation wurden bereits veröffentlicht oder als Manuskript eingereicht:

PUBLIKATIONEN

Hempfling, K.; Fastovskaya, O.; Engel, K.-H. (2011): Untersuchung flüchtiger Verbindungen in Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.). *Lebensmittelchemie* 65 (5), S. 130.

Hempfling, K.; Engel, K.-H. (im Druck): Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crisper* L.) volatiles. *Weurman Symposium Series*.

Hempfling, K.; Fastowski, O.; Kopp, M.; Pour Nikfardjam, M.; Engel, K.-H. (2013): Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crisper* L.) volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 61 (26), S. 6240–6249.

Hempfling, K.; Fastowski, O.; Celik, J.; Engel, K.-H. (2013): Analysis and sensory evaluation of jostaberry (*Ribes x nidigrolaria* Bauer) volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 61 (38), S. 9067-9075.

Pour Nikfardjam, M.; Echle, A.; Kopp, M.; Hempfling, K.; Engel, K.-H. (2013): Stachelbeeren. Eigenschaften verschiedener Sorten und wertgebender Inhaltsstoffe. *Obstbau* 6, S- 351-356.

Pour Nikfardjam, M.; Kopp, M.; Hempfling, K.; Engel, K.-H. (eingereicht): Analyse von Aromastoffen in frischen Stachelbeeren (*Ribes uva-crispa* L.) mittels Headspace HRGC-MS. *Mitteilungen Klosterneuburg*.

VORTRÄGE oder POSTER

Hempfling, K.; Fastovskaya, O.; Engel, K.-H. (2011): Untersuchung flüchtiger Verbindungen in Stachelbeeren (*Ribes uva crisper* L.). Arbeitstagung des Regionalverbandes Bayern der Lebensmittelchemischen Gesellschaft (GDCh), Freising, 15.02.2011.

Hempfling, K.; Engel, K.-H. (2011): Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crisper* L.) volatiles. 13. Weurman Flavour Research Symposium, Zaragoza, Spanien, 27.-30.09.2011.