

## Optimierung der Rekonstituierung von Orangensaft aus Konzentrat auf der Basis aroma- und geschmacksaktiver Verbindungen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA), Freising Prof. Dr. Dr. Peter Schieberle/Dr. Veronika Mall
<b>Forschungsstelle II:</b>	Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik, Freising Prof. Dr. Thomas Hofmann/LM-Chem. Andreas Dunkel
<b>Industriegruppe:</b>	Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. (VdF), Bonn
	Projektkoordinator: Dipl.-Ing. Hans Mario Dechent Eckes-Granini Group GmbH, Nieder-Olm
<b>Laufzeit:</b>	2012 – 2014
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 493.050,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

In Deutschland wird überwiegend Orangensaft konsumiert, der aus Orangensaftkonzentrat hergestellt wurde. Dazu werden die Früchte noch im Anbaugebiet entsaftet. Der Saft wird entaromatisiert und dann aus qualitativen und wirtschaftlichen Gründen (Kühlagerung, Transport) schonend auf ein Sechstel seines Volumens eingedampft. Dabei werden die Aromakomponenten (Aromawasserphase und Essenzöl) aus dem Brüdenkondensat gewonnen und später dem Orangensaft bei der Rückverdünnung des Konzentrates wieder zugeführt. Der rekonstituierte Saft muss jedoch dem Direktsaft in „*chemischen, organoleptischen (...) Merkmalen*“ entsprechen. Daraus ergibt sich zwangsläufig das Problem der korrekten Rückdosierung der Aromaphasen.

Zur Überprüfung der analytischen Gleichartigkeit wird heute üblicherweise eine Analyse der flüchtigen Major Komponenten durchgeführt ohne Berücksichtigung der sensorischen Qualität des Produktes. Diese bisherigen Modelle der Fruchtsafthersteller zur Bewertung einer (nicht) ausreichenden Rearomatisierung bzw. Authentizitätskontrolle sind nicht zielführend, weil kein Zusammenhang zwischen den bisher genutzten

analytischen Daten und der Aroma- bzw. Geschmackswahrnehmung besteht.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, die für die sensorische Qualität von Orangensaft verantwortlichen Aroma- und Geschmacksstoffe zu identifizieren und analytische und sensorische Parameter hinsichtlich der Aromaqualität in Einklang zu bringen sowie einen Vergleich von Direktsäften mit Konzentratsäften aus dem Handel vorzunehmen.

### Forschungsergebnis:

Für die anfangs zu identifizierenden Schlüsselaromastoffe wurden ein Orangendirektsaft aus Brasilien und die Aromaphasen Essenzöl und Aromawasserphase der gleichen Firma mittels Aromaextraktverdünnungsanalyse untersucht und mit Literaturdaten verglichen. Dabei konnten u. a. den Verbindungen Limonen, Linalool, Myrcen,  $\alpha$ -Pinen, Ethyl-2-methylbutanoat, Ethylbutanoat, Acetaldehyd, Hexanal, (Z)-3-Hexenal, Octanal und  $\beta$ -Ionone eine Bedeutung für das Gesamtaroma zugeschrieben werden. In Hinblick auf die große Probenanzahl wurden zeitsparende Methoden entwickelt: 15 von 21 Analyten wurden mittels Stabilisotopenverdünnungsanalyse

am GCxGC/TOF-MS quantitativ erfasst, davon sechs per HS-SPME/GCxGC/TOF-MS. Für den besonders flüchtigen Acetaldehyd wurde eine HS-SPME-Methode mit on-Fiber-Derivatisierung entwickelt. Bezogen auf den brasilianischen Direktsaft wurden auffallend hohe Aromawerte für Linalool, Ethyl-2-methylbutanoat, Ethylbutanoat, Limonen, Octanal, Myrcen, Acetaldehyd und  $\alpha$ -Pinen berechnet. Einen Aromawert von unter 1 und somit keine Relevanz für das Gesamtaroma zeigten die Verbindungen Phenyllessigsäure, 2-Methoxy-4-vinylphenol und  $\alpha$ -Terpineol. Die Untersuchung der Aromaphasen ergab, dass der Großteil der flüchtigen Verbindungen ins Essenzöl übergeht. Mit Ausnahme des Acetaldehyds werden insbesondere die Aldehyde darin stabilisiert. Besonders auffallend war dies im Fall des (Z)-3-Hexenals, das im Saft aufgrund seiner Instabilität nur noch gering konzentriert vorlag. Im Aromawasser reichert sich vor allem Acetaldehyd und Linalool an.

20 bzw. 21 Aromastoffe wurden in 24 Orangensäften (Direktsäfte und Säfte aus Konzentrat) aus dem europäischen Markt im Handelsjahr 2013 und in 20 Orangensäften aus dem deutschen Markt im Handelsjahr 2014 untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die Phenyllessigsäure, (Z)-3-Hexenal und  $\alpha$ -Terpineol sehr niedrige Aromawerte bzw. Aromawerte von kleiner 1 zeigten und ein Einfluss auf das Gesamtaroma weitestgehend ausgeschlossen werden konnte. Insgesamt 16 bzw. 17 Verbindungen zeigten Aromawerte von größer 1 auf und spielen demnach eine Rolle im Gesamtaroma der Handelsäfte. Die Gegenüberstellung der analytischen und sensorischen Daten ergab, dass der Frische-Eindruck eines Orangensaftes nicht von einer oder zwei einzelnen Verbindungen abhängig ist, sondern von ausreichenden Konzentrationen der wertgebenden Aromastoffe und geringen Gehalten an Off-Flavour-Verbindungen, wie Dimethylsulfid und 2-Methoxy-4-vinylphenol. Es konnte gezeigt werden, dass der Frische-Eindruck eines Saftes mit der Akzeptanz beim Verbraucher einhergeht.

Im zweiten Teil des Forschungsvorhabens wurde der Fokus auf die geschmacksaktiven Verbindungen in Orangensaft gelegt. Hierbei spielen vor allem die Bitterstoffe aus den Gruppen der Limonoide und der polymethoxylierten Flavone eine entscheidende Rolle. Wichtig war es daher, eine möglichst schnelle und effiziente Quantifizierungsmethode für diese beiden Stoffklassen zu entwickeln, die ohne zeitintensive Aufarbei-

tungsschritte auskommt. Hierfür mussten zunächst die Limonoidglycoside als Referenzsubstanzen aus Citruskernen mittels präparativer und semi-präparativer HPLC-ELSD isoliert und aufgereinigt werden. Die Strukturaufklärung erfolgte mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie. Nachfolgend wurde mithilfe der verschiedenen Referenzsubstanzen eine LC-MS/MS-Quantifizierungsmethode entwickelt, mit der die 17 erwarteten bitteren Verbindungen allesamt erfasst werden konnten. Neben den Bitterstoffen spielen für den Geschmack von Orangensaft noch andere Substanzen eine wichtige Rolle: Unter den Kohlenhydraten gehören Glucose, Fructose und Saccharose zu den Substanzen, die für den Süßgeschmack von Orangensaft verantwortlich sind, als Gegenpol dazu sind Citronen- und auch in geringerem Maße Äpfelsäure für den sauren Geschmackseindruck zuständig. Um einen Gesamtüberblick über die Zusammensetzung von Orangensaft bezüglich nicht-flüchtiger Verbindungen zu bekommen, wurden in 24 aus dem europäischen Markt aus dem Handelsjahr 2013 stammenden und 20 aus dem deutschen Markt aus dem Handelsjahr 2014 entnommenen Orangensäften mittels LC-MS/MS, HPIC und qNMR-Spektroskopie die Zucker, organischen Säuren, phenolische Verbindungen, Aminosäuren und anorganische Kationen quantifiziert und statistisch ausgewertet. Neben Citronen- und Äpfelsäure konnten in allen Orangensäften cis- und trans-Aconitsäure mit einem Dose-over-Threshold-Faktor (DoT) von über 1 nachgewiesen werden. Allerdings tragen die Aconitsäuren nicht zur sauren, sondern zur adstringenten Geschmackswahrnehmung bei. Zu den phenolischen Verbindungen mit Geschmacksbeitrag gehören Rutin und Hesperidin, die ebenfalls adstringierend wirken. Bei den Aminosäuren erreicht nur  $\gamma$ -Aminobuttersäure eine DoT größer 1 und trägt demnach ebenfalls zur Adstringenz von Orangensaft bei. Von den anorganischen Kationen weisen Kalium und Magnesium einen DoT größer als 1 auf, ein salziger Geschmack ist für Orangensaft aber nicht beschrieben. Unter den anfangs angesprochenen Bitterstoffen hat Limonin-17- $\beta$ -D-glucosid den größten Einfluss, doch durch die polymethoxylierten Flavone kann die Bitterkeit von Limonin und Nomilin noch verstärkt werden. Mittels dieser Quantifizierungen konnte ein Überblick über die nicht-flüchtigen Bestandteile von Orangensaft erstellt werden. Weiterhin wurde in sensorischen Untersuchungen festgestellt, dass die Wahrnehmung von Bitterkeit und Süße nicht unbedingt gegenläufig ist und dass für die Akzep-



tanz von Orangensaft durch den Verbraucher die Bitterkeit eine nicht unwesentliche Rolle spielt.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Fruchtsaftbranche in Deutschland besteht aus etwa 375 Betrieben mit etwa 7.500 Beschäftigten. Die Branche ist zum großen Teil von kleinen und mittelständischen Unternehmen geprägt. Erwirtschaftet wurde 2013 ein Jahresumsatz von 3,4 Mrd. € bei einer Gesamtproduktion von 3,9 Mrd. Litern Fruchtsaft. Der Pro-Kopf-Verbrauch an Frucht- und Gemüsesaft und -nektar lag bei 33,0 Litern, wobei die Tendenz rückläufig ist. Noch zehn Jahre zuvor wurden 9 Liter mehr Saft konsumiert. Orangensaft ist mit einem Pro-Kopf-Verbrauch von 8,0 Litern eines der am meisten verkauften Fruchtsaftprodukte.

Die Forschungsergebnisse ermöglichen den Produzenten eine objektivere Bewertung der Aromaqualität. Die Fruchtsafthersteller können damit über die Herstellungstechnologie bzw. die geeignete Auswahl der Edukte Konzentrat, Aromawasserphase und Essenzöl die Qualität von Orangensaft aus dem Konzentrat gezielt beeinflussen. Dies wird einerseits zu einer Verbesserung der Qualität von Orangensaftprodukten aus Konzentrat führen und andererseits die Akzeptanz des Verbrauchers erhöhen. Untersuchungen der Marktproben haben gezeigt, dass Säfte aus Konzentrat sowohl analytisch als auch sensorisch in ihrer Qualität mit Direktsäften vergleichbar waren. Die gewonnenen Erkenntnisse bieten damit eine gute Grundlage für weitere Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2014.
2. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Wertgebende Aromastoffe in Orangensäften aus Konzentrat aus dem deutschen Handel. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 44-47 (2015).
3. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Key Aroma Compounds of Orange Juice from Concentrate. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 154 (2015).
4. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Einfluss der Pasteurisierung auf wertgebende Aromastoffe in Orangensaft. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 20-23 (2014).
5. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Influence of a Pasteurisation on Changes in the Aroma Compounds of Hand-Squeezed Oranges from Valencia Late. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 142 (2014).
6. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Wichtige Aromastoffe in Orangendirektsäften unterschiedlicher Herkunftsländer. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), ISBN 978-3-938896-74-7, 32-35 (2013).
7. Pabian, N., Mall, V. und Schieberle, P.: Key Aroma Compounds in Two Orange Juices Not From Concentrate (NFC) from Different Origins. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 165 (2013).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA)  
Lise-Meitner-Straße 34  
85354 Freising-Weihenstephan  
Tel.: +49 8161 71-2932  
Fax: +49 8161 71-2970  
E-Mail: peter.schieberle@lrz.tum.de

Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW  
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik  
Lise-Meitner-Straße 34,  
85354 Freising-Weihenstephan  
Tel.: +49 8161 71-2901  
Fax: +49 8161 71-2949  
E-Mail: thomas.hofmann@tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via

