



FORSCHUNGSKREIS DER
ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

F&E

Dokumentation

AiF 14951 N

„Stabilisierung von sprühgetrockneten
Fischöl-Emulsionen unter oxidativen und
sensorischen Aspekten“

- Schlussbericht 2009 -

*Projekt der industriellen
Gemeinschaftsforschung*



Forschungsstelle I:

Universität Kiel
Institut für Humanernährung und Lebensmittel-
kunde, Abteilung Lebensmitteltechnologie
Olshausenstr. 40
24098 Kiel

Tel.: 0431 – 880 5034

Fax: 0431 – 880 5544

E-Mail: kschwarz-2@foodtech.uni-kiel.de

Internet: <http://www.foodtech.uni-kiel.de>

Projektleiter:

Prof. Dr. K. Schwarz/Dr. S. Drusch

Forschungsstelle II:

Universität Karlsruhe (TH)
Institut für Thermische Verfahrenstechnik
Kaiserstraße 12
76128 Karlsruhe

Tel.: 0721 – 608 2390

Fax: 0721 – 608 3490

E-Mail: Matthias.Kind@tvt.uni-karlsruhe.de

Internet: www.tvt.uni-karlsruhe.de

Projektleiter:

Prof. Dr. M. Kind

Forschungsstelle III:

Deutsche Forschungsanstalt
für Lebensmittelchemie (DFA)
Lichtenbergstr. 4
85748 Garching

Tel.: 089 - 289-14170

Fax: 089 - 289-14183

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

Internet: <http://www.dfal.de>

Projektleiter:

Prof. Dr. Dr. P. Schieberle

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

Das Forschungsvorhaben AiF 14951 N wurde im „Programm zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.
(Bewilligungszeitraum: 01.09.2006 – 31.12.2008).



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Technologie


Ideen eine Zukunft geben


FORSCHUNGSKREIS
DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

Datum des Berichts: 16.02.2009

Zusammenfassung.....	3
1 Forschungsthema.....	4
2 Ausgangslage	4
3 Forschungsziel	8
4 Ergebnisse	9
4.1 Entwicklung einer Verkapselungsmatrix ohne Zusatz von Milchproteinen und Gelatine (FS1)	9
4.1.1 Auswahl und Charakterisierung möglicher Matrixbestandteile/Charakterisierung der Öle	9
4.1.2 Festlegung der Basisrezepturen für die Untersuchung der verfahrenstechnischen Fragestellungen und der Versuche zur Optimierung des Einsatzes von Antioxidantien und Komplexbildnern.....	12
4.2 Verfahrenstechnische Optimierung des Sprühtrocknungsprozesses als gängigstes Verfahren für die Mikroverkapselung von Ölen sowie die Untersuchung des Einflusses der Öltröpfchengröße in der Ausgangsemulsion (FS1, FS2)	21
4.2.1 Verfahrenstechnische Optimierung (Screeningversuche); FS2	21
4.2.2 Verfahrenstechnische Optimierung ausgewählter Rezepturen inkl. Versprühen unter inertisierten Bedingungen und Beurteilung der Oxidationsstabilität (FS1, FS2)	26
4.2.3 Agglomerationsversuche für mikroverkapselte Öle (FS2).....	32
4.2.4 Einstellung eng definierter homogener Tröpfchengrößen in Emulsionen (FS1, LVT Karlsruhe)	33
4.2.5 Sprühtrocknung und Beurteilung der Oxidationsstabilität (Emulsionen mit eng definierter Tröpfchengröße; FS1)	37
4.3 Optimierung des Oxidationsschutzes im Hinblick auf Auswahl, Konzentration und Kombination von Additiven mit verschiedenen Wirkprinzipien (FS1)	39
4.3.1 Testung von Antioxidantien und Komplexbildnern in Emulsionen während des Herstellungsprozesses	39
4.3.2 Testung von Antioxidantien und Komplexbildnern in ausgewählten Rezepturen	46
4.4 Identifizierung von Schlüsselverbindungen für das Fehl aroma von oxidiertem Fischöl, Entwicklung von Indikatorverbindungen (FS1, FS3).....	49
4.4.1 Modellversuche zur Peroxidation von ω -3-Fettsäuren (FS3).....	49
4.4.2 Untersuchungen zur Klärung von aromaaktiven Verbindungen in oxidiertem Fischöl (FS3).....	57
4.4.3 Beurteilung der Oxidationsstabilität von mikroverkapselten Ölen in verschiedenen Lebensmittelsystemen (FS1)	74

5	Experimenteller Teil.....	79
5.1	Forschungsstelle 1	79
5.1.1	Mikroverkapselung mittels Sprühtrocknung	79
5.1.2	Charakterisierung von Emulsionen und Mikrokapselfn	79
5.1.3	Bestimmung der Lipidoxidation	80
5.1.4	Sensorik.....	80
5.2	Forschungsstelle 2	81
5.3	Forschungsstelle 3	82
5.3.1	Chemikalien und Untersuchungsmaterial	82
5.3.2	Modellversuche; Aromastoff-Isolierung.....	86
5.3.3	Analytische Methoden	88
5.3.4	Chromatographische Methoden	90
5.3.5	Spektroskopische Methoden	91
5.3.6	Sensorische Untersuchungen	92
6	Darstellung der wirtschaftlichen Verwertbarkeit und Nutzen für klein- und mittelständische Unternehmen	94
7	Literatur.....	96
8	Veröffentlichung der Projektergebnisse	100
8.1	Veröffentlichungen	100
8.2	Vorträge/Poster	100

Zusammenfassung

Ziel des Projektes war es, durch Optimierung von Matrix- und verfahrenstechnischen Parametern die Oxidationsstabilität von mikroverkapselten Ölen mit langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LCPUFAs) zu erhöhen und diejenigen Aromastoffe zu identifizieren, die ursächlich für Aromaveränderungen verantwortlich sind. Durch Korrelation mit mengenmäßig dominierenden Verbindungen sollte überprüft werden, ob geeignete Indikatorverbindungen zur schnellen analytischen Kontrolle der sensorischen Qualität abgeleitet werden können.

In einem ersten Schritt wurde eine Verkapselungsmatrix, die frei von Milchproteinen und Gelatine ist, entwickelt. Als emulgierender Bestandteil der amorphen Trägermatrix wurde dabei n-octenylsuccinat-derivatisierte Stärke eingesetzt. Während der verfahrenstechnischen Optimierung zeigte sich, dass das Trocknungsverhalten der Emulsionen, die resultierende physikalische Struktur der Mikro kapseln und damit letztendlich im Hinblick auf die Autoxidation der LCPUFAs stabilitätsrelevante Parameter über Interaktionen der stofflichen Charakteristika wie z.B. dem Molekulargewichtprofil der verwendeten nOSA-Stärke und den Trocknungsbedingungen determiniert werden. Aus den physikalischen Partikelcharakteristika lassen sich bereits Aussagen über die Lagerungsstabilität ableiten. Die Mikroverkapselungseffizienz ist hingegen aufgrund einer heterogenen Verteilung der nicht-verkapselten LCPUFAs in der Mikro kapsel nur bedingt zur Stabilitätsvorhersage geeignet.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass ohne eine ausreichende chemische Stabilisierung des LCPUFA-reichen Öls bereits während des Mikroverkapselungsprozesses eine oxidative Schädigung der LCPUFAs eintritt, sowohl während der Emulsionsherstellung als auch während der Sprühtrocknung. Entsprechend musste die Stabilisierung diesen multiplen Zuständen angepasst werden. Eine Sprühtrocknung unter Inertgasatmosphäre ist für die Unterbindung einer späteren Autoxidation nicht relevant, jedoch können diskrete Lufteinschlüsse, die durch unzureichendes Entgasen der Emulsion im Produkt verbleiben die Autoxidation beschleunigen.

Durch Anwendung der Aromaextraktverdünnungsanalyse auf peroxidierte α -Linolen-(ALA), Eicosapentaen-(EPA) sowie Docosahexaensäure (DHA) konnten 27 geruchsaktive Verbindungen in den Destillaten aus den drei peroxidierten Fettsäuren gefunden werden, wobei aber unterschiedliche Konzentrationen in Abhängigkeit von der eingesetzten Fettsäure auftraten. Darunter zeigten folgende Verbindungen die höchsten Aromaaktivitäten: trans-4,5-Epoxy-(E,Z)-2,7-decadienal, (Z)-1,5-Octadien-3-on, (Z)-3-Hexenal, (Z,Z)-3,6-Nonadienal, (E,E,Z)-2,4,6-Nonadienal und (Z,Z)-2,5-Octadienal. Neben der erstgenannten, erstmalig in der Literatur in Lebensmitteln beschriebenen Verbindung wurden im Rahmen der Arbeit insbesondere die geometrischen Isomere in den ungesättigten Aldehyden strukturell zugeordnet. Quantitative Daten, die anhand von Stabilisotopenassays für 12 Schlüsselaromastoffe ermittelt wurden, erlaubten die Erstellung eines Aromarekombinates. Darin konnte anhand von 12 Verbindungen das „fischige“ Aroma des Destillates aus peroxidierte Eicosapentaensäure simuliert werden. Bei der Peroxidation von zwei Menhadenölen entstanden die o.g. Verbindungen ebenfalls wie erwartet, zusätzlich wurden das (E,E,Z)-1,3,5,8-Undecatetraen sowie das (E)-2-4,7,10-Tridecatetraenal als neue Fehl aromastoffe gefunden.

Sensorische Untersuchungen an mikroverkapselten Fischölen sowie damit „angereicherten“ Lebensmitteln zeigten, dass bei der Herstellung sowie auch der Lagerung die genannten Verbindungen und somit auch das Fehl aroma entstanden. Auf der Basis der Untersuchungen können insbesondere (Z)-1,5-Octadien-3-on, (Z,Z)-3,6-Nonadienal, (Z,Z)-2,5-Octadienal und trans-4,5-Epoxy-(E,Z)-2,7-decadienal als Indikatoraromastoffe zur Bewertung der Qualität von Fischöl vorgeschlagen werden. Eine Optimierung des sensorischen Profils konnte sowohl über Aromatisierung als auch über den Zusatz von β -Cyclodextrin erreicht werden. Aufgrund der guten Sauerstoffbarriereigenschaften stellen amorphe Trägermatrices einen integralen und geeigneten Bestandteil multipler Kapseln dar.

Das Ziel des Vorhabens wurde erreicht.

1 Forschungsthema

Stabilisierung von sprühgetrockneten Fischöl-Emulsionen unter oxidativen und sensorischen Aspekten

2 Ausgangslage

Zur Mikroverkapselung von Ölen und Fetten wurden bereits hydrolysierte Stärkeprodukte, cyclische Dextrine, Lactose, Saccharose, Gummi arabicum sowie verschiedene Proteine wie Kaseinate, Molkenproteinkonzentrat, Molkenproteinisolat oder Magermilchpulver eingesetzt (1-7). Alle eingesetzten *Rohstoffe* verlängerten die Haltbarkeit der verkapselten Öle. Bei einigen Rohstoffen wie z.B. Molkenproteinkonzentrat zeigten sich aber Einschränkungen in der Eignung für die Verkapselung (2;8). Natriumkaseinat und hydrolysierte Stärke bzw. Mono- oder Disaccharide werden auf Grund der guten Emulgierereigenschaften des Kaseinats als eine Kombination von Wandmaterialien mit sehr guten Mikroverkapselungseigenschaften angesehen (3;9). Die Emulgierereigenschaften und die Grenzflächenbelegungskinetiken der genannten Stoffgruppen sowie die sich daraus ergebenden Anforderungen an den Emulgierprozess wurden grundlegend untersucht (Brösel *et al.*, 1999; Behrend *et al.*, 2000; Tesch *et al.*, 2001). In weiteren Untersuchungen konnte die gute Eignung von Kaseinaten als Emulgatoren für O/W-Emulsionen nachgewiesen werden (10;11).

Kommerziell verfügbare mikroverkapselte Fischöle werden derzeit unter Verwendung von Kaseinat, niedermolekularen Kohlenhydraten und Maisstärke (Danochemo A/S, 1994, WO 94/01001), von niedermolekularen Kohlenhydraten und Fischgelatine (F. Hoffmann La Roche AG, 1989, EP 03477512; F. Hoffmann La Roche AG, 1998, EP 0841010) oder von Glucosesirup, Sojaprotein und Milchbestandteilen (Loders Croklaan) hergestellt. Die Verwendung dieser Rohstoffe ist aber z.T. nicht mehr länger erwünscht, da zum einen Verbrauchervorbehalte zum Tragen kommen (z.B. BSE Problematik bei Gelatine) und zum anderen Milchproteine und Fischgelatine unter die neuen Regelungen zur Kennzeichnung potentiell allergener Substanzen in Lebensmitteln (Richtlinie 2003/89/EG) fallen. Darüber hinaus ist eine Anreicherung von einigen diätetischen Lebensmitteln, z.B. hypoallergener Säuglingsnahrung oder Säuglingsnahrung auf Sojabasis mit kommerziell erhältlichen Produkten, die unter Verwendung von Milchproteinen hergestellt worden sind, nicht möglich.

Als potentiell alternative Wandmaterialien für die Mikroverkapselung kommen neuerdings¹ emulgierende Stärkederivate (n-octenylsuccinat-derivatisierte Stärke, OSA-Stärke) in Be-

¹ Die EU hat mit der Richtlinie 2003/114/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Dezember 2003 zur Änderung der Richtlinie 95/2/EG über andere Lebensmittelzusatzstoffe als Farbstoffe und Süßungsmittel OSA-Stärke für die Anreicherung von Säuglingsanfangsnahrung mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren und Vitaminen zugelassen.

tracht, die für Säuglingsanfangsnahrung bisher nicht zugelassen waren. Untersuchungen zur Eignung von Stärkeprodukten zur Verkapselung von LCPUFA-reichen Ölen liegen jedoch nur vereinzelt vor. Patanen et al. (12) zeigten, dass sowohl durch Verkapselung mit hydrolysierten als auch mit chemisch modifizierten Stärkeprodukten die Lagerstabilität von LCPUFA-reichem Sanddornöl erhöht werden konnte. Aus Arbeiten zur Mikroverkapselung von Aromen ist zudem bekannt, dass durch eine Kombination von beiden Stärkederivaten ein erhöhter Oxidationsschutz gewährleistet werden kann. Der Einsatz chemisch modifizierter Stärken ist für die Herstellung einer stabilen Emulsion notwendig, wohingegen hydrolysierte Stärkeprodukte für den erhöhten Oxidationsschutz verantwortlich sind (13;14). Hierbei wird Glukosesirup mit einem DE-Wert größer 20 nach Literaturangaben als geeigneter zur Mikroverkapselung von Aromen und funktionellen Ölen angesehen als Maltodextrine mit einem DE-Wert kleiner 20. Bereits 1989 hebt Reineccius in seinem Review „Flavor encapsulation“ hervor, dass der Oxidationsschutz verkapselter Aromen direkt mit dem DE Wert korreliert (15). Als Beispiel führt der Autor die Bildung von Limonen-1,2-epoxid in hydrolysierten Stärken mit DE Werten von 4 bis 36 an.

Über das Verkapseln hinaus kann auch ein Zusatz von Antioxidantien die Oxidationsstabilität der mikroverkapselten LCPUFAs erhöhen. Da die Effektivität von Antioxidantien mit zunehmender Anzahl an Doppelbindungen im Fettsäuremolekül abnimmt, gehören Fischöle zu den am schwierigsten zu stabilisierenden Lipiden. Die gängige Praxis, Fischöle mit Tocopherolen (z.T. über 500 µg/kg α -Tocopherol) zu stabilisieren, ist insofern als kritisch zu betrachten, als es hierbei auch zu prooxidativen Effekten kommen kann und die flüchtigen Oxidationsprodukte z.T. wesentlich niedrigere Geruchsschwellen und damit eine erhöhte Geruchsaktivität aufweisen können, als diejenigen, die bei niedrigeren α -Tocopherolkonzentrationen entstehen (Kulas et al., 2001 und 2002). Beim Einsatz von Antioxidantien kann es zudem zu Wechselwirkungen zwischen Antioxidans und anderen Systemkomponenten kommen. Insbesondere gilt dies für Emulgatoren (Schwarz *et al.*, 2000; Stöckmann *et al.*, 2000; Stöckmann und Schwarz, 2001; Heins *et al.*, 2003). Insbesondere im Bereich verkapselter Fischöle liegen jedoch nur wenige Studien zum Einsatz von Antioxidantien vor. Diese beziehen sich zudem ausschließlich auf die Verwendung von Kaseinat-Kohlenhydrat-Kombinationen als Verkapselungsmaterial und sind jedoch kritisch zu betrachten, da die Stabilität der untersuchten mikroverkapselten Öle äußerst gering war und im Bereich von unverkapseltem Fischöl lag (16;17). Ergebnisse über den Einsatz von Ascorbylpalmitat (Watanabe et al., (18) und Phospholipiden in Kombination mit Tocopherolen (19) können aufgrund der in diesen Studien zum Nachweis der Lipidoxidation verwendeten, ungeeigneten Messmethodik nicht herangezogen werden. Limitierend an diesen Untersuchungen sind die ungeeigneten Me-

thoden zum Nachweis der Lipidoxidation anhand der quantitativen Veränderungen in den Fettsäuren bzw. über den Rancimat-Test.

Das Aroma bzw. Fehl aroma eines Produktes wird ausschließlich von denjenigen flüchtigen Verbindungen hervorgerufen, die mit hoher Effektivität an den menschlichen Geruchsrezeptoren wirksam werden. Diese Wirksamkeit kann aber nicht aus der Struktur einer chemischen Verbindung abgeleitet werden, sondern die geruchsverursachenden Verbindungen müssen in Lebensmitteln durch Kombination von analytischen mit sensorischen Methoden identifiziert werden (Schieberle, 1995). Wichtige Hinweise auf solche Aromawirksamkeiten einzelner Komponenten gibt der Geruchsschwellenwert. Dieser kann sich aber bei flüchtigen Oxidationsprodukten um mehrere Zehnerpotenzen unterscheiden. So weist z.B. Hexanal eine Geruchsschwelle in Öl von 300 µg/L auf, 1,5-(Z)-Octadien-3-on dagegen einen Wert von 0.03 µg/L. Insbesondere Verbindungen mit (Z)-konfigurierter Doppelbindung sind i.d.R. wesentlich geruchsaktiver als solche mit (E)-Konfiguration. 2,4,6-Decatrienal, das bereits lange als wichtiges Abbauprodukt von LCPUFAs in Fischölen identifiziert wurde (Karahadian und Lindsay, 1989) kann z.B. in 8 verschiedenen geometrischen Isomeren auftreten. Bis heute sind aber aufgrund der schwierigen Synthese die Geruchsschwellen der Einzelisomere nicht bekannt. Es genügt somit nicht, allein die Konstitution eines Aromastoffes zu klären, vielmehr muss auch die Konfiguration sorgfältig ermittelt werden. Arbeiten zur Klärung von Fehl aromen, die auf die Bildung von trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal aus Backfetten zurückgeführt wurde, die bereits Monohydroperoxide enthielten (Gassenmeier und Schieberle, 1994) sowie auf die Fermentation von Rahm (Heiler und Schieberle, 1996 und 1997) haben die Notwendigkeit der exakten Strukturaufklärung erfolgreich demonstriert. Mit Ausnahme der Studie von Venkateshwarlu et al. (2004) sowie Pennarun et al. (2003) wurden bisher keine Arbeiten durchgeführt, die zum Ziel hatten durch Kombination von Sensorik und Analytik (GC-Olfaktometrie, Geruchsaktivitätswertbestimmung) entscheidende Geruchsstoffe aus der Oxidation von Fischölen zu charakterisieren. Solche Daten würden es aber ermöglichen, z.B. durch geeignete Temperaturregime oder Zusätze von Antioxidantien die geometrische Struktur der bei der Peroxidation von LCPUFAs entstehenden Hydroperoxide und damit die Strukturen der daraus entstehenden flüchtigen Verbindungen zu beeinflussen.

Üblicherweise sind zwei Kernprozesse für die Herstellung von mikroverkapselten Ölen maßgeblich. Dies ist zum einen das Herstellen einer stabilen Emulsion, und zum anderen die Trocknung, zumeist eine Sprühtrocknung. Ausgehend von der Annahme, dass die Lipidoxidation bevorzugt an der Grenzfläche der Ölphase stattfindet, kann die Öltröpfchengröße jedoch eine wichtige Einflussgröße darstellen. Untersuchungen zur Lipidoxidation in Abhängigkeit von der Öltröpfchengröße sind für Emulsionen verfügbar (z.B. (20;21), jedoch sind die

Ergebnisse widersprüchlich. Dies wird zum Teil auf die zu breite Tröpfchengrößenverteilung der zu vergleichenden Emulsionen zurückgeführt. Für mikroverkapselte Öle sind bisher keine aussagekräftigen Untersuchungsergebnisse vorhanden. Aus Arbeiten zur Verkapselung von Aromen ist lediglich bekannt, dass große Öltröpfchen ($> 5 \mu\text{m}$) im Sprühtrocknungsprozess während der Zerstäubung geschädigt werden (22).

Neben der Tröpfchengröße ist natürlich der im Produkt verfügbare Sauerstoff von entscheidender Bedeutung für die Lipidoxidation. Dieser setzt sich aus der in den Pulverzwischenräumen eingeschlossenen, interpartikulären Luft und der in den Vakuolen (Hohlkugeln) der Pulverpartikel eingeschlossenen intrapartikulären Luft zusammen. Da der interpartikuläre Sauerstoff durch Schutzbegasung weitgehend entfernt werden kann, ist hinsichtlich der Lipidperoxidation der in den Vakuolen eingeschlossene Sauerstoff von Bedeutung. Keogh et al. (7) beobachteten daher bereits nach achtwöchiger Lagerung bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ eine Fehlerarombildung in mikroverkapseltem Fischöl, die die Autoren mit dem Vakuolenvolumen in Zusammenhang brachten.

Abgesehen von den eingesetzten Rohstoffen, wird die Partikelmorphologie und der Lufteinschluss von den Trocknungsbedingungen bestimmt (23). Walton und Mumford (24) haben den Einfluss der Prozessparameter auf die Partikelmorphologie für verschiedene Rohstoffe charakterisiert. Für filmbildende Rohstoffe, zu denen auch die partiell hydrolysierten, chemisch modifizierten Stärken und Milchproteine gehören, beschreiben die Autoren bei einer hohen Trocknungstemperatur ein Aufblähen („Ballooning“) der Pulverpartikel. Der Einfluss der Trocknungstemperatur auf die Partikelmorphologie von mikroverkapseltem Fischöl wurde von Drusch und Schwarz (25) beschrieben

Die Daten lassen den Schluss zu, dass die Oxidationsstabilität von mikroverkapselten Ölen generell sowohl durch die Zusammensetzung, d.h. eingesetzte Wandmaterialien und Antioxidantien, als auch durch Prozessparameter wie z.B. die Trocknungsbedingungen determiniert wird. Wichtige Charakteristika der Mikrokapseln sind dabei Oberflächenfett, Porosität bzw. Sauerstoffpermeabilität und Lufteinschluss in den Mikrokapseln. Im Hinblick auf die Entwicklung von innovativen Einsatzformen und die Beurteilung der Oxidationsstabilität fehlen jedoch systematische Erkenntnisse über das Zusammenwirken von Rohstoffen und Trocknungsbedingungen auf die Struktur der Mikrokapseln und deren Oxidationsstabilität, über den Einfluss der Öltröpfchengröße auf die Oxidationsstabilität sowie die effiziente Stabilisierung der mikroverkapselten Öle durch Antioxidantien.

3 Forschungsziel

Ziel dieses Projektes ist, Kenntnisse zur Matrix- und verfahrenstechnischen Optimierung der Herstellung oxidationsstabiler Mikrokapselformen aus sprühgetrockneten LCPUFA-Emulsionen zu erarbeiten. Die Optimierung wird auf der Basis der physiko-chemischen Charakterisierung von Emulsionen und Pulvern sowie der quantitativen Bestimmung von aromarelevanten Verbindungen erfolgen, die beim Abbau der LCPUFAs entstehen. In Korrelation mit der gesamt-sensorischen Bewertung durch ein Sensorikpanel sowie mit den Konzentrationen von Hauptkomponenten können der einschlägigen Lebensmittelwirtschaft Möglichkeiten zur objektiven Kontrolle der Aromaqualität von Produkten aufgezeigt werden. Dadurch werden sie zudem in die Lage versetzt, eine Stabilisierung der Produkte auf der Basis objektiver Daten durchzuführen.

Entsprechend der Ausgangslage ergeben sich für die Entwicklung innovativer mikroverkapselter Öle mit LCPUFAs mehrere zentrale Fragestellungen, die sich in den anzustrebenden Forschungsergebnissen widerspiegeln:

- Entwicklung einer Verkapselungsmatrix ohne Zusatz von Milchproteinen und Gelatine
- Verfahrenstechnische Optimierung des Sprühtrocknungsprozesses als gängigstes Verfahren für die Mikroverkapselung von Ölen sowie Untersuchung des Einflusses der Öltröpfchengröße in der Ausgangsemulsion
- Optimierung des Oxidationsschutzes im Hinblick auf Auswahl, Konzentration und Kombination von Additiven mit verschiedenen Wirkungsprinzipien
- Identifizierung von Schlüsselverbindungen für das Fehl aroma von oxidiertem Fischöl; Entwicklung von Indikatorverbindungen

4 Ergebnisse

4.1 Entwicklung einer Verkapselungsmatrix ohne Zusatz von Milchproteinen und Gelatine (FS1)

4.1.1 Auswahl und Charakterisierung möglicher Matrixbestandteile/Charakterisierung der Öle

In den Vorarbeiten zur Projektbeantragung wurden bereits sechs verschiedene *Fischöle* und DHA-Konzentrate, die am deutschen Markt zu der Zeit verfügbar waren, vergleichend untersucht. Die sensorische Untersuchung zeigte dabei, dass lediglich das Produkt „Ropufa“ der Firma DSM Nutritional Products sensorisch als neutral bewertet wurde. Dieses Produkt wurde daher für die Bearbeitung der Projektaufgaben ausgewählt. Alternativ stand seit Ende 2006 (d. h. nach dem Projektstart) auch das Produkt „Omevital“ der Cognis Deutschland GmbH & Co. KG zur Verfügung. In einer international ausgerichteten Recherche wurden folgende weitere potentielle Anbieter hochwertiger Fischöle zum Einsatz in der Mikroverkapselung identifiziert: Maritex/Tine (Norwegen), Denomega (Norwegen), Puleva Biotech (Spanien), Lonza (Schweiz), Lipid Nutrition (Niederlande), Lysi (Island), Croda (Großbritannien), Martek (USA) sowie Omega Protein (Kanada).

Über entsprechende Rohstoffdatenbanken wurden mögliche Lieferanten für die einzusetzenden *Trägermatrices* (Natriumkaseinat, n-octenylsuccinat-derivatisierte Stärke (OSA-Stärke), sprühgetrockneter Glukosesirup) recherchiert. Die angeforderten Muster wurden als Pulver und in 10%iger Lösung sensorisch mittels Rangordnungsprüfung begutachtet. Die Auswertung erfolgte über den Friedman-Test. Darüber hinaus wurde das Oxidationsverhalten von Fischölemulsionen bei Verwendung der Rohstoffe vergleichend untersucht, um ein mögliches prooxidatives Potential einzelner Rohstoffe zu identifizieren.

Natriumkaseinat wurde von der Lacona GmbH, der Rovita GmbH, der Condio Creative Food Systems GmbH und der Fonterra Europe GmbH bezogen. Statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) wurden zwischen allen Proben festgestellt. Die Präferenz für die Proben (Attribute: rein, neutral, typisch) war wie folgt:

Pulver: Condio > Lacona > Fonterra > Rovita

10%ige Lösung: Condio > Fonterra > Rovita > Lacona.

Die Entwicklung der Hydroperoxide in Fischölemulsionen über einen Zeitraum von 45 Tagen ist in Abbildung 1 dargestellt. Auf Basis dieser und der sensorischen Ergebnisse wurde das Natriumkaseinat der Condio Creative Food Systems GmbH für das Projekt ausgewählt. Auf Nachfrage konnte jedoch die Belieferung mit einer konstanten Produktqualität nicht über den

gesamten Projektzeitraum garantiert werden, so dass das Natriumkaseinat von der Firma Fonterra Europe GmbH bezogen wird.

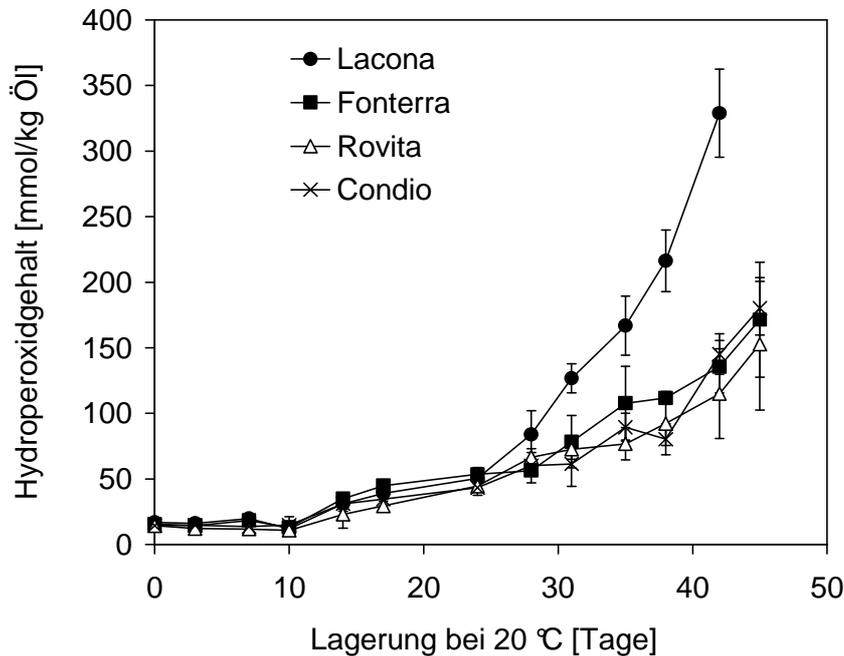


Abbildung 1: Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in Fischölemulsionen (18% Fischöl; 5,3 % Kaseinat) während der Lagerung bei 20 °C

Als mögliche Lieferanten für *OSA-Stärke* wurden die Cargill Deutschland GmbH (C*Emcap 12634), die National Starch & Chemical GmbH (HiCap100) und die Roquette GmbH (Clear Gum C001) identifiziert. In 10 %iger Lösung, nicht jedoch als Pulver, konnten sensorisch statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Proben ermittelt werden. Die Präferenz für die Proben war wie folgt:

Pulver: National Starch > Cargill > Roquette

10%ige Lösung: Cargill > National Starch > Roquette.

Die Lipidoxidation unter Verwendung der ausgewählten *OSA-Stärke* wurde in mikroverkapselten Ölen untersucht. Da die *OSA-Stärke* für Verkapselungsapplikationen stark hydrolysiert ist, sind die hergestellten Emulsionen nicht langzeitstabil Abbildung 2. Wie deutlich zu erkennen ist, war die Entwicklung der Hydroperoxide in der Probe mit *OSA-Stärke* der Cargill Deutschland GmbH deutlich schneller als die Entwicklung in der Probe mit dem entsprechenden Rohstoff der National Starch & Chemical GmbH.

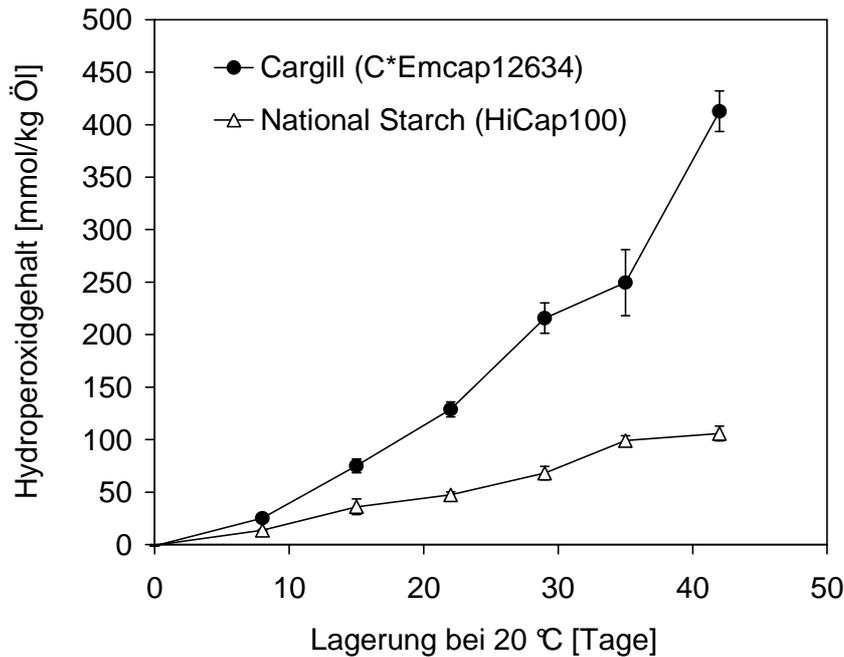


Abbildung 2: Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in sprühgetrockneten Fischölemulsionen (40 % Fischöl, 60 % n-octenylsuccinat-derivatisierte Stärke) während der Lagerung bei 20 °C

Bei der Auswahl des *Glukosesirups* stand zunächst die Auswahl des Hydrolysegrads, also des Dextroseäquivalents (DE-Wert) im Vordergrund. Die Auswahl erfolgte auf Basis der verfügbaren Literatur, die in Tabelle 1 zusammengefasst ist.

Tabelle 1: Wissenschaftliche Veröffentlichungen zur Eignung unterschiedlicher Stärkederivate zur Mikroverkapselung von Ölen

Kernmaterial	Wandmaterial	Untersuchte DE-Werte	Messparameter	Ref.
Fischöl	Kaseinat/Glukosesirup	0; 5,5; 14; 18,5; 28 ; 38 ; 40	Verkapselungsgrad	(3)
Milchfett	Kaseinat/Glukosesirup	10; 20; 36	Extrahierbares Fett	(26)
Fischöl	Kaseinat/Glukosesirup	5,5; 14; 18,5; 28; 38	Hydroperoxidgehalt	(16)
Fischöl	Kaseinat/Maltodextrin	4; 11; 18	Hydroperoxidgehalt	(4)

Fettdruck: im Hinblick auf den Messparameter bester DE-Wert

Alle Studien zeigen, dass ein hoher DE-Wert, d.h. ein hoher Hydrolysegrad angestrebt werden sollte. Eine weitere Steigerung des DE-Werts über DE 40 hinaus ist nicht indiziert, da ansonsten während des Herstellungsprozesses mit Bräunungsreaktionen und ggf. dem Auftreten von Maillardreaktionsprodukten zu rechnen ist.

4.1.2 Festlegung der Basisrezepturen für die Untersuchung der verfahrenstechnischen Fragestellungen und der Versuche zur Optimierung des Einsatzes von Antioxidantien und Komplexbildnern

Ziel des vorliegenden Arbeitsschritts war die Auswahl von Basisrezepturen für die weiteren Untersuchungen im Rahmen des Forschungsprojekts. Als funktionelle (emulgierende) Wandbestandteile sollten dabei Natriumkaseinat und OSA Stärke eingesetzt werden.

Die Auswahl der Rezepturen erfolgt dabei über verfügbare Daten anderer wissenschaftlicher Studien sowie die Ergebnisse eigener Vorarbeiten zum Projekt. Aus Arbeiten von Hogan et al. (1) ist bekannt, dass unter Verwendung von Natriumkaseinat als alleinigem Wandmaterial ein Verkapselungsgrad von ca. 80 % erreicht werden kann. Ein deutlich höherer Verkapselungsgrad lässt sich unter Verwendung einer Kombination von Natriumkaseinat und Glukosesirup erzielen. Dieselben Autoren erreichten mit ca. 93 % bei Verwendung einer Mischung von Natriumkaseinat und Glukosesirup im Verhältnis von 1:20 einen deutlich höheren (und innerhalb ihrer Studie bei Verwendung von Mischungen im Verhältnis 1:4 bis 1:69 höchsten) Verkapselungsgrad. In eigenen Versuchen, die im Rahmen des vorliegenden Projekts durchgeführt wurden, stieg der Verkapselungsgrad mit zunehmendem Kaseinatanteil im Wandmaterial von 91 % (bei einem Kaseinat/Kohlenhydratverhältnis von 1/19) auf 96 % (1/4). Beide Rezepturen wurden in das Versuchsdesign zur Untersuchung der Oxidationsstabilität möglicher Basisrezepturen aufgenommen.

Während Natriumkaseinat uneingeschränkt einsetzbar, so muss bei der Verwendung von OSA-Stärke im Hinblick auf den Einsatz in diätetischen Lebensmitteln der rechtliche Rahmen berücksichtigt werden. In Richtlinie Nr. 95/2/EG vom 20. Februar 1995 über andere Lebensmittelzusatzstoffe als Farbstoffe und Süßungsmittel (Anhang VI: In Säuglings- und Kleinkindernahrung zugelassene Zusatzstoffe) ist folgende Höchstmenge festgesetzt:

„Spezialnahrung sowie Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder darf durch den Zusatz von Vitaminpräparaten oder von Zubereitungen mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren bedingtes E 1450 Stärkenatriumoctenylsuccinat enthalten. In dem verzehrfertigen Erzeugnis dürfen nicht mehr als 100 mg/kg E 1450 aus Vitaminpräparaten und 1000 mg/kg E 1450 aus Zubereitungen mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren vorhanden sein.“

Legt man z.B. die Ernährungsempfehlungen für Säuglinge² und die rechtlichen Rahmenbedingungen zur Zusammensetzung von Säuglingsanfangsnahrung zu Grunde, so ergibt sich für das mikroverkapselte Fischöl, dass bei alleiniger Verwendung von OSA-Stärke als Trägermaterial eine Ölbeladung von 51-71 % notwendig ist. Bei Verwendung einer Kombination

² Koletzko et al., 2005: Global Standard for the Composition of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 41:584–599

von OSA-Stärke und Glukosesirup (1+5) als Trägermaterial ist hingegen lediglich eine Ölbeladung von maximal 29 % notwendig, um den gesetzlichen Anforderungen zu genügen.

Die Verkapselungseigenschaften von OSA-Stärke im Hinblick auf die Mikroverkapselung von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren wurden im Vorfeld der Projektbeantragung untersucht (27;28). Auf der Grundlage der Ergebnisse dieser Arbeiten, die mit OSA-Stärke der Cargill Deutschland GmbH (C*EmCap12634) durchgeführt wurden, wurde eine Rezeptur basierend auf einer Mischung von OSA-Stärke und Glukosesirup im Verhältnis 1:5 ausgewählt. Da sich das Molekulargewichtprofil des Alternativprodukts (HiCap100) mit einem hohen Disaccharidanteil deutlich unterscheidet und somit abweichende Mikroverkapselungseigenschaften unterstellt wurden, wurde beide OSA-Stärken als alleinige Trägermatrix mit in das Studiendesign aufgenommen. In das Versuchsdesign wurden daher zwei Rezepturen, die diesen Aspekten Rechnung tragen, aufgenommen. Als in der Aromenverkapselung übliches Trägersystem wurde Gummi arabicum in zwei Kombinationen mit in die Studie aufgenommen sowie Zuckerrübenpektin, ein bislang nicht eingesetztes Polymer. Die Rezepturen sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Rezepturauswahl zur Untersuchung der Oxidationsstabilität möglicher Basisrezepturen

Bestandteil	Typ, Hersteller	OSA, Typ 1	OSA Typ1/ Glk-sirup	OSA, Typ 2	OSA Typ2/ Glk-sirup
Glukosesirup	C*Dry 01934, Cargill	0	22,5	0	22,5
OSA-Stärke	C*Emcap12634, Cargill	27,0	4,5	0	0
OSA-Stärke	HiCap100, Cargill	0	0	27,0	4,5
Fischöl	Görlich Pharma	18,0	18,0	18,0	18,0
Wasser		55,0	55,0	55,0	55,0

Bestandteil	Typ, Hersteller	GA/OSA Typ1	GA	Zuckerkrüben- pektin	Kaseinat 1/5	Kaseiant 1/20
Gummi arabicum	Quick-Type 8074, Wolf	6,7	0	0	0	0
Gummi arabicum	Encapcia, CNI	0	18,0	0	0	0
Glukosesirup	C*Dry 01934, Cargill	13,5	9,0	26,0	21,6	25,6
OSA-Stärke	C*Emcap12634, Cargill	6,7	0	0	0	0
Zuckerrübenpektin	Genu Type Beta, CPKElco	0	0	1,0	0	0
Natriumkaseinat	Condio	0	0	0	5,4	1,3
Fischöl	Görlich Pharma	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
Wasser		55,0	55,0	55,0	55,0	55,0

Wie in Abbildung 3 dargestellt ist, ist eine Ölbeladung der Mikrokapseln von 50 % prinzipiell möglich, jedoch steigt mit zunehmender Ölbeladung der Gehalt an extrahierbarem Öl an. Eine Minimierung dieser Fraktion ist jedoch anzustreben, da das extrahierbare Öl dem Einfluss von Sauerstoff ausgesetzt ist und dessen Oxidation zu unerwünschten sensorischen Veränderungen führt. Die Ölbeladung wurde daher auf 40 % der Trockenmasse begrenzt.

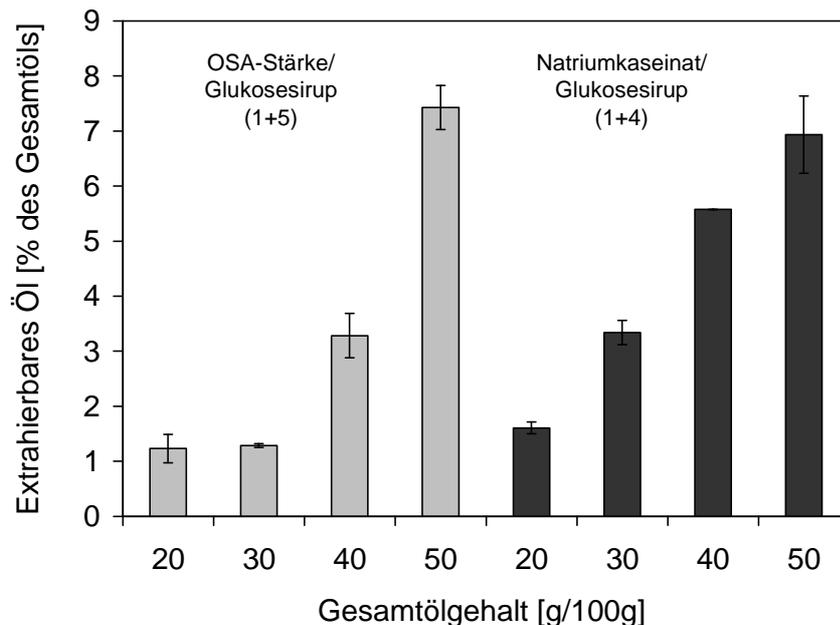
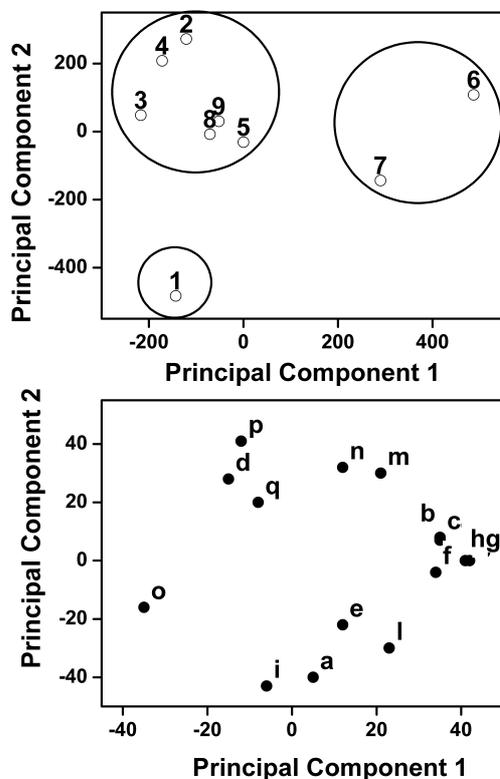


Abbildung 3: Der Einfluss der Ölbeladung auf den Gehalt an extrahierbarem Öl sprühgetrockneten Fischölemulsionen

Alle Emulsionen wurden mit 45 % Trockenmasse angesetzt, bei 200/50 bar homogenisiert und bei 180/70 °C sprühgetrocknet. Die Partikelcharakterisierung umfasst die Bestimmung der Restfeuchte, des a_w -Werts, des extrahierbaren Fetts, der Oberflächenbeschaffenheit mittels Rasterelektronenmikroskopie, der Partikelgröße und der Öltröpfchengröße sowie der inneren Oberfläche mittels BET-Sorption (Institut für Thermische Verfahrenstechnik, Universität Karlsruhe). Die Möglichkeiten zur Bestimmung der Luftporen im Partikel werden ebenfalls evaluiert. Die Untersuchung der Lipidoxidation erfolgt während der Lagerung bei 20 °C und 33 % relativer Luftfeuchte.

Mittels Hauptkomponentenanalyse wurden zunächst die physikalischen Analysen der ölbeladenen Trägersysteme nach deren Herstellung in einer reduzierten Form dargestellt (Abbildung 4). Über die ersten beiden Hauptkomponenten konnten 79,8 % der Varianz in den physikalischen Parametern und der Partikelmorphologie erklärt werden. Über die erste Hauptkomponente konnten das Gummi arabicum-basierte und das Zuckerrübenpektin-

basierte Trägersystem von den anderen Trägersystemen unterschieden werden. Der Loading Plot zeigt, dass die Öltröpfchengröße, das extrahierbare Öl und die Partikeloberfläche die zugrundeliegenden Partikelcharakteristika waren. Da es sich bei beiden Trägersystemen um hochmolekulare Substanzen handelt, wurde unterstellt, dass durch eine langsamere Belegung der während des Emulgierens neu entstehenden Öltröpfchenoberfläche eine Koaleszenz kleiner Öltröpfchen möglich war. Die Abhängigkeit des extrahierbaren Öls von der Öltröpfchengröße ist in der Literatur beschrieben und mit einer höheren Ölbelegung des Partikels erscheint auch eine Abnahme der Oberfläche plausibel, so dass die Hauptkomponente 1 dem Emulgierverhalten des Trägermaterials zugeordnet wurde.



Ober: Score plot, 1: OSA-Stärke Typ 1, 2: OSA-Stärke Typ1/ Gluksoesirup; 3: OSA-Stärke Typ 2, 4: OSA-Stärke Typ2/ Glukosesirup, 5: OSA-Stärke Typ 1/Glukosesirup/ Gummi arabicum, 6: Gummi arabicum/ Glukosesirup), 7: Zuckerrübenpektin/Glukosesirup, 8: Natriumkaseinat/ Glukosesirup 1/4, Natriumkaseinat/ Glukosesirup 1/19;

Unten: Loading plot, a: Viskosität, b: Öltröpfchengröße (50. Perzentil), c: Öltröpfchengröße (90. Perzentil), d: Trockenmasse, e: a_w Wert, f: extrahierbares Öl, g: Öltröpfchengröße der rekonstituierten Emulsion (50. Perzentil), h: Öltröpfchengröße der rekonstituierten Emulsion (90. Perzentil), i: Partikelgröße (50. Perzentil), l: Partikelgröße (90. Perzentil), m: wahre Dichte, n: scheinbare Dichte, o: Partikeloberfläche, p: Porenvolumen, q: maximale Porengröße

Abbildung 4: Score plot und Loading plot für die Hauptkomponentenanalyse zur Klassifizierung von mikroverkapseltem Fischöl

Hauptkomponente 2, über die das Trägersystem basierend auf OSA-Stärke Typ 1 differenziert wurde, wurde über die Parameter Viskosität, Partikelgröße, und Dichte definiert. Da rasterelektronenmikroskopisch keine eindeutige Hohlpartikelbildung zu erkennen war, die Partikelgröße jedoch deutlich erhöht und entsprechend die Dichte verringert wird, ist die Ursache bedingt durch die Viskosität in der Bildung größerer Tröpfchen während der Emulsionszerstäubung sowie einem erhöhten diskreten Lufteinschluss in der Emulsion zu sehen.

Die Entwicklung des Hydroperoxid- und Propanalgehalts während der Lagerung ist in Abbildung 5 dargestellt. Es zeigt sich, dass die Lipidoxidation bei Verwendung einer Kombination von OSA-Stärke mit Glukosesirup als Trägersystem langsamer voranschreitet als bei der Verwendung von OSA-Stärke als alleinigem Trägermaterial. Als Ursache für die höhere Stabilität des mikroverkapselten Öls bei Verwendung von OSA-Stärke Typ 2 gegenüber OSA-Stärke Typ 1 ist der hohe Anteil an Disaccharid-Einheiten anzusehen.

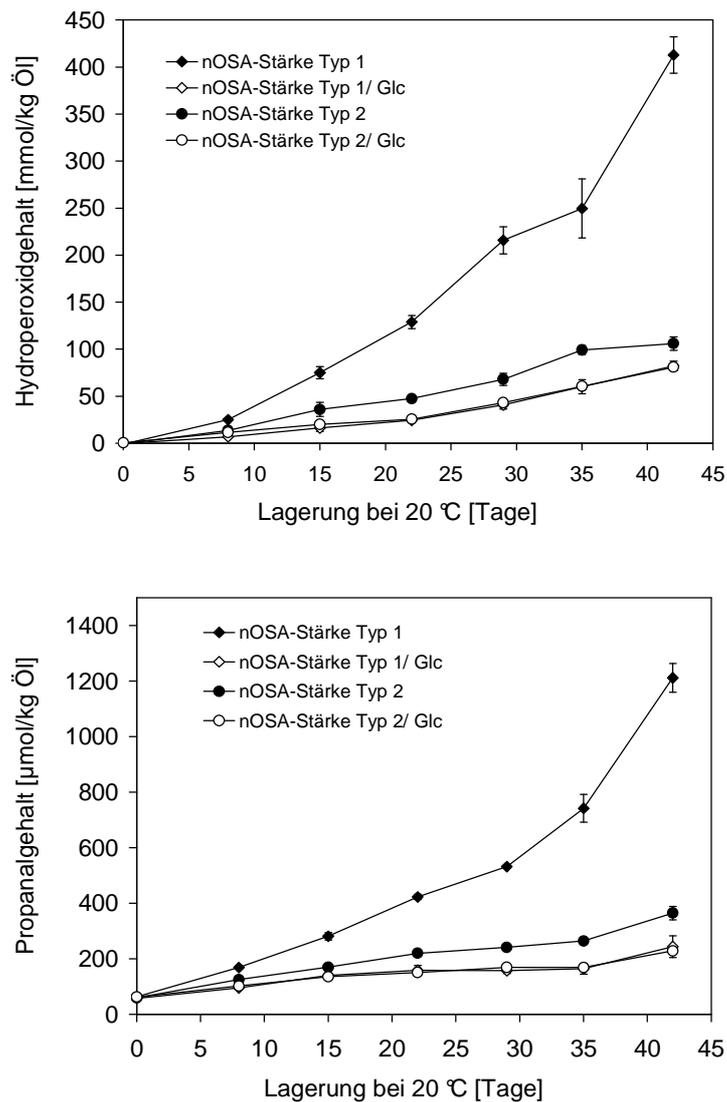


Abbildung 5: Entwicklung des Hydroperoxid- und Propanalgehalts LCPUFA-reicher mikrostrukturierter Trägersysteme unter Verwendung von OSA Stärke während der Lagerung bei 20 °C und 33 relativer Luftfeuchtigkeit

Im Hinblick auf die Natriumkaseinat-basierten Trägersysteme ist die Hydroperoxidbildung bei einem Verhältnis Kaseinat/Glukosesirup von 1/5 geringer als bei einem Verhältnis 1/20.

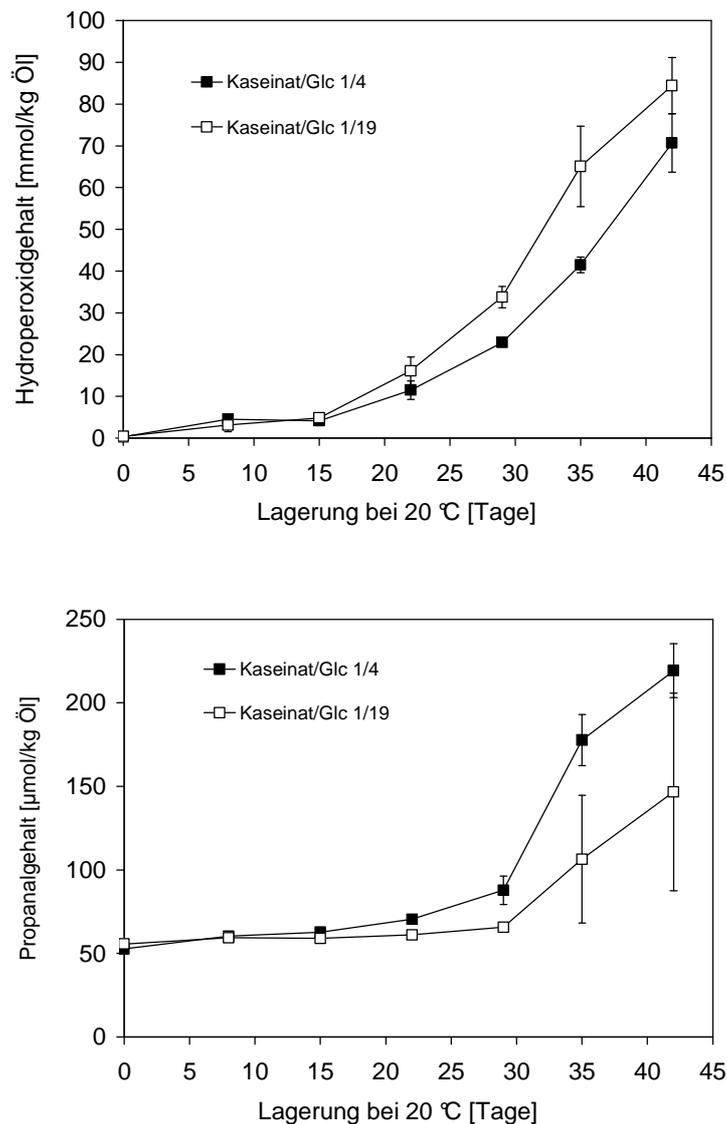


Abbildung 6: Entwicklung des Hydroperoxid- und Propanalgehalts LCPUFA-reicher mikrostrukturierter Trägersysteme unter Verwendung von Natriumkaseinat während der Lagerung bei 20 °C und 33 relativer Luftfeuchtigkeit

Vergleicht man die OSA-Stärke/Glukosesirup- und Kaseinat/Glukosesirup-basierten Trägersysteme, welche maximal 5,4 bzw. 13 % extrahierbares Öl enthielten, so zeigt sich, dass keine direkte Abhängigkeit vom Anteil des extrahierbaren Öls feststellbar war. Es wurde daraufhin die Arbeitshypothese formuliert, dass eine heterogene Verteilung des extrahierbaren Öls über das Trägersystem die Ursache ist. Am Beispiel der OSA-Stärke-basierten Rezepturen wurde daher die Verteilung des extrahierbaren Öls untersucht.

Durch Variation der Ölbeladung und durch Verwendung unterschiedlicher Trocknungsbedingungen wurden zunächst Trägersysteme mit unterschiedlichem Anteil an extrahierbarem Öl hergestellt. Nach eingehender Analyse der in der Literatur beschriebenen Methoden zur Bestimmung des nicht-verkapselten Öls und eigenen Vorversuchen, wurden die Methodik von Westergaard (29) und Kim et al. (30) zur Unterscheidung des Oberflächenöls bzw. des inneren extrahierbaren Öls ausgewählt. Der Gehalt des extrahierbaren Öls (analysiert nach Kim et al. (30) betrug in den hergestellten Trägersystemen zwischen 1,8 und 13,5 %. Die Verteilung des Öls wurde darüber hinaus über Rasterelektronenmikroskopie und konfokale Laser-Scanningmikroskopie visualisiert.

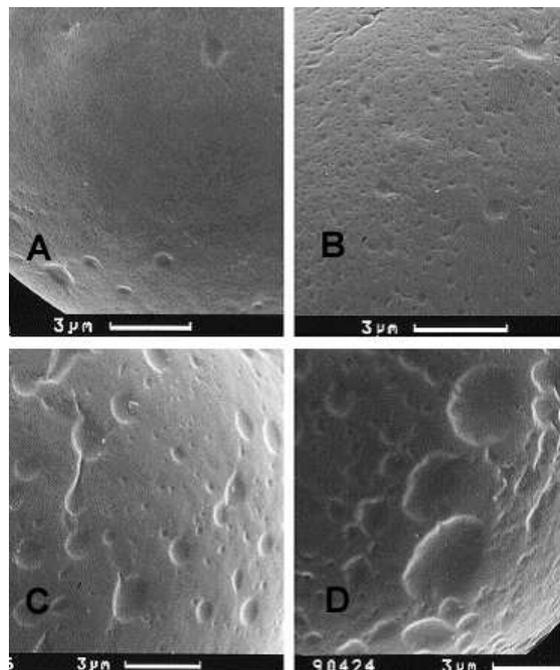


Abbildung 7: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Partikeloberfläche von Mikrokapseln mit (A, B) 30 % oder (C,D) 50 % Ölbeladung, getrocknet bei 160/60 °C (A,C) oder 210/90 °C (B,D)

Die rasterelektronische Aufnahmen zeigen, dass die Oberfläche der Mikrokapseln mit zunehmender Ölbeladung der Trägersysteme und steigender Trocknungstemperatur zunehmend mit nicht verkapseltem Öl belegt waren (Abbildung 7). Ergebnisse zur Extraktion des Oberflächenöls nach der Methode von Westergaard (29) unterstrichen diese Beobachtung. Während bei Partikeln mit hoher Ölbeladung das Oberflächenöl einen Anteil von mehr als 85 % des extrahierbaren Öls ausmachte, lag dieser in den Mikrokapseln mit geringerer Ölbeladung niedriger bei 74 bzw. 53 %. Nach Anfärben des Öls mit einem Fluoreszenzfarbstoff, Anwendung verschiedener Extraktionsverfahren und anschließender Untersuchung der Partikel mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) konnte über eine intensive Rest-

fluoreszenz belegt werden, dass das extrahierbare Öl weitere Fraktionen neben dem Oberflächenöl beinhaltet (Abbildung 8). Hierbei handelt es sich um nicht verkapseltes Öl, das in Poren lokalisiert ist sowie oberflächennahes verkapseltes Öl, das ebenfalls durch Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert werden kann.

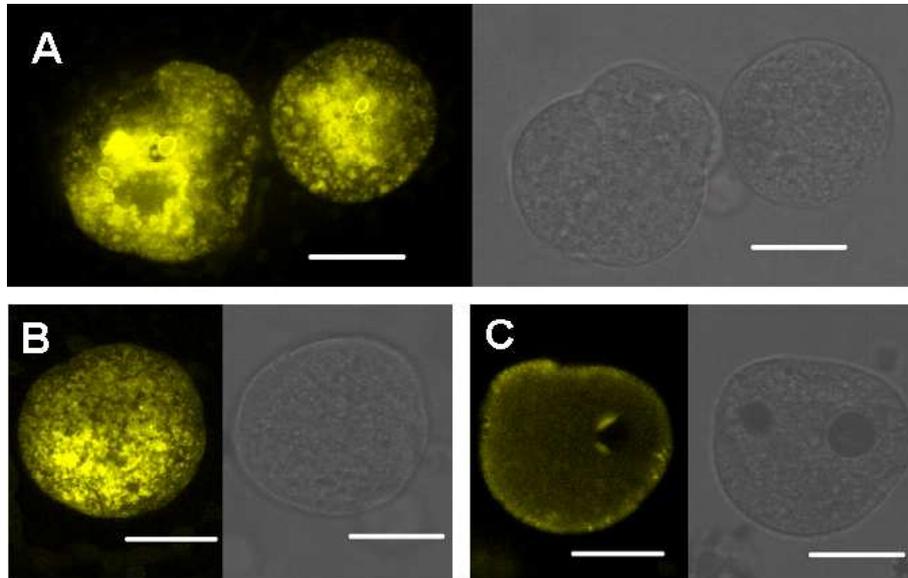


Abbildung 8: CLSM –Aufnahmen von OSA-Stärke-basierten Mikrokapselformen mit 50 %iger Ölbeladung: (A) unbehandelt, (B) nach Extraktion des Oberflächenöls und (C) nach Extraktion des gesamten extrahierbaren Öls nach Kim et al. (2005)

Während der Lagerung der Proben bei 20 °C und 33 % Luftfeuchtigkeit konnte kein direkter Zusammenhang der Oxidationsgeschwindigkeit zum Gehalt an extrahierbarem Öl ermittelt werden. Der Hydroperoxidgehalt und die Anisidinzahl stiegen in der Probe mit 50 % Ölgehalt, getrocknet bei 210/90 °C, schneller an als in den anderen drei Proben. Die Entwicklung des Propanalgehalts zeigte in allen Proben einen ähnlichen Verlauf und die drei Parameter korrelierten sehr gut miteinander.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse zu allgemein gültigen Erkenntnissen über den Einfluss der Matrixbestandteile auf stabilitätsrelevante Charakteristika und analytische Fragestellungen führten. Die Untersuchung anhand von Systemkomponenten, die der Lebensmittelwirtschaft zur Verfügung stehen, resultiert in praxisrelevanten Rezepturen.

- OSA Stärke in Kombination mit niedermolekularen Kohlenhydraten stellt eine Alternative zu existierende Trägermatrices auf Basis von Milchproteinen und Gelatine dar.
- Als Benchmark kann Natriumkaseinat/Glukosesirup (1/4) oder Natriumkaseinat/Glukosesirup (1/19) verwendet werden.
- Die Trägermatrix determiniert die physikalische Beschaffenheit der Mikrokapseln über die Emulgierereigenschaften, die Viskosität der Sprühemulsion und damit verbunden das Trocknungsverhalten.
- Die über die Hauptkomponenten abgeleiteten "Gruppen" zeigten eine unterschiedliche Oxidationsstabilität der Trägermatrix. Dies belegt einen Einfluss der untersuchten physikalischen Partikelcharakteristika mit der Lipidoxidation, die über Hauptkomponentenregression (PLS-Analyse) belegt werden konnte.
- Das extrahierbare Öl ist ein wertvoller Marker für die Beurteilung des Verkapselungsgrads, ist jedoch aufgrund der Verteilung des extrahierbaren Öls im Partikel nicht eindeutig mit der Oxidationsstabilität korreliert.
- Das extrahierbare Öl ist zum überwiegenden Teil an der Oberfläche der Partikel lokalisiert. Bei hohem Anteil an extrahierbarem Öl kann eine Schnellmethode nach Westergaard oder Kim et al. (2005) zur Abschätzung des extrahierbaren Öls genutzt werden. Bei geringem Gehalt an extrahierbarem Öl unterschätzen diese Methoden zur Bestimmung des Oberflächenöls jedoch das extrahierbare Öl.
- Eine präzise Quantifizierung des extrahierbaren Öls ist nach der Vorschrift von Kim et al. (2005) oder nach Soxhlet-Extraktion mit einer angemessenen Zahl von Durchläufen des Lösungsmittels möglich (n = 24).

4.2 Verfahrenstechnische Optimierung des Sprühtrocknungsprozesses als gängigstes Verfahren für die Mikroverkapselung von Ölen sowie die Untersuchung des Einflusses der Öltröpfchengröße in der Ausgangsemulsion (FS1, FS2)

4.2.1 Verfahrenstechnische Optimierung (Screeningversuche); FS2

In einem Trocknungskanal (Seite 81, Abbildung 50) wurde das Trocknungsverhalten der verschiedenen Stoffsysteme anhand von ausgestrichenen Lösungsfilmen qualitativ untersucht. Das Ziel dieser Versuche war es Trocknungseigenschaften wie zum Beispiel eine Hautbildung an der Oberfläche oder unterschiedliche Stofftransportwiderstände des aus der Bulkphase an die Oberfläche gelangenden Wassers zu untersuchen. Je höher der Stofftransportwiderstand in der Flüssigphase ist, desto größer ist die Tendenz zu einer Hautbildung bei der Trocknung. Somit ist anzunehmen, dass Trägermatrixlösungen mit einem höheren Transportwiderstand langsamer trocknen und die im Sprühturm versprühten Tropfen von

eingeschlossenem, verdampfendem Wasser stärker aufgebläht werden. Mit zunehmendem Stofftransportwiderstand ist damit in der Flüssigkeit ein größerer Hohlraumanteil in den sprühgetrockneten Partikeln zu erwarten.

Ziel der durchgeführten Screeningversuche war es, den Verlauf der Konzentrationsprofile des aus dem Film entweichenden Wassers zu messen. Aus dem Verlauf der Konzentrationsprofile lässt sich qualitativ eine Aussage über die Stofftransportmechanismen treffen.

An der trocknenden Oberfläche des Films sinkt die Wasserkonzentration. Kann aus der Bulkphase aufgrund guten Stofftransports Wasser nachgeliefert werden, nimmt die Wasserkonzentration auch an der Glasoberfläche ab (siehe Abbildung 9 an der Stelle Filmdicke = 0). Sobald sich der Stofftransport mit fortschreitender Trocknung und Filmschrumpfung verringert, nimmt die Wasserkonzentration an der Oberfläche verhältnismäßig stärker ab als in der Bulkphase, woraufhin sich das Konzentrationsprofil krümmt. Im Extremfall kommt es zur Bildung einer an der Oberfläche trockenen Haut, die den Trocknungsprozess des gesamten Films verlangsamt, da der Stofftransport in der vollständig getrockneten und geschrumpften Feststoffmatrix extrem langsam abläuft. Dies ist an einer starken Krümmung des Konzentrationsprofils auf wenigen μm an der Oberfläche zu erkennen.

Von Forschungsstelle 1 wurden nach den vorangegangenen Untersuchungen zur Entwicklung einer Verkapselungsmatrix ohne Zusatz von Milchproteinen und Gelatine die in Tabelle 3 aufgeführten Trägermatrices vorgeschlagen. Dabei kann man die wässrigen OSA-Stärkelösungen (Matrix 1 und Matrix 3) zusammenfassen, wie auch die wässrigen OSA-Stärke-Glukosesirup-Lösungen (Matrix 2 und Matrix 4). Matrix 5 und 6 sind Kaseinat-Glukosesirup-basierte Lösungen, die wegen ihrer industriellen Anwendung als Benchmark herangezogen wurden.

Tabelle 3: Trägersysteme für die Screening-Versuche zur verfahrenstechnischen Optimierung des Sprühtrocknungsprozesses:

	Matrix 1	Matrix 2	Matrix 3	Matrix 4	Matrix 5	Matrix 6
	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]
OSA-Stärke EmCap 12634	329.2	54.8				
OSA Stärke HiCap100			329.2	54.8		
OSA-Stärke EmCap12635						
Glukosesirup		274.4		274.4	263.4	312.8
Natriumkaseinat					65.8	16.4
Wasser	670.8	670.8	670.8	670.8	670.8	670.8

Die Trocknungsversuche wurden ausschließlich mit den Trägermatrixlösungen ohne Öl durchgeführt, da dispergierte Öltröpfchen als optische Linsen den Laserstrahl ablenken und damit die Raman-Signale verfälschen würden. Es wird davon ausgegangen, dass das bei der Trocknung inerte Öl einen identischen Einfluss auf die Trocknung aller Matrixlösungen hat, da der Massenanteil Öl bei allen Rezepturen gleich ist. Somit wird angenommen, dass Unterschiede im Trocknungsverhalten der Matrixlösungen ebenso bei der Trocknung der Emulsionen auftreten.

Weiterhin wurde das Verhältnis von Wasser zu Emulgator konstant gehalten, damit die aus der Feststoffmatrix entweichende Wassermenge konstant bleibt. Trocknungsversuche bei Temperaturen im Bereich der Austrittstemperatur führten zu einem raschen Aufreißen des trocknenden Films. Um die während der Trocknung ablaufenden Mechanismen über größere Zeiträume untersuchen zu können, wurden mildere Trocknungsbedingungen ($T = 30\text{ °C}$, $v = 0,1\text{ m/s}$) gewählt. Es wurde unterstellt, dass die qualitativ beobachteten Mechanismen während der schonenden Trocknung der Matrixlösungen in verstärktem Maße bei den schärferen Trocknungsbedingungen im Sprühturm auftreten.

In Abbildung 9 ist exemplarisch der Trocknungsverlauf für Matrix 2 (OSA-Stärke Em-Cap12634/Glukosesirup) dargestellt. Für die Matrices 3 - 6 wurden nach einer Trocknungsdauer von 10-15 min sehr ähnliche Trocknungsverläufe gemessen, weswegen auf deren Darstellung hier verzichtet wird. Man kann deutlich eine Krümmung der Konzentrationsprofile in Oberflächennähe erkennen. Abbildung 10 zeigt den Trocknungsverlauf von Matrix 1 (OSA-Stärke EmCap12634). Diese trocknet als Ausnahme mit sehr viel schwächer gekrümmten Konzentrationsprofilen, die bis an die Filmunterseite (Filmdicke = 0) reichen. Dies ist die einzige Rezeptur, bei deren Trocknung der Stofftransport signifikant schneller abläuft als bei den restlichen Lösungen.

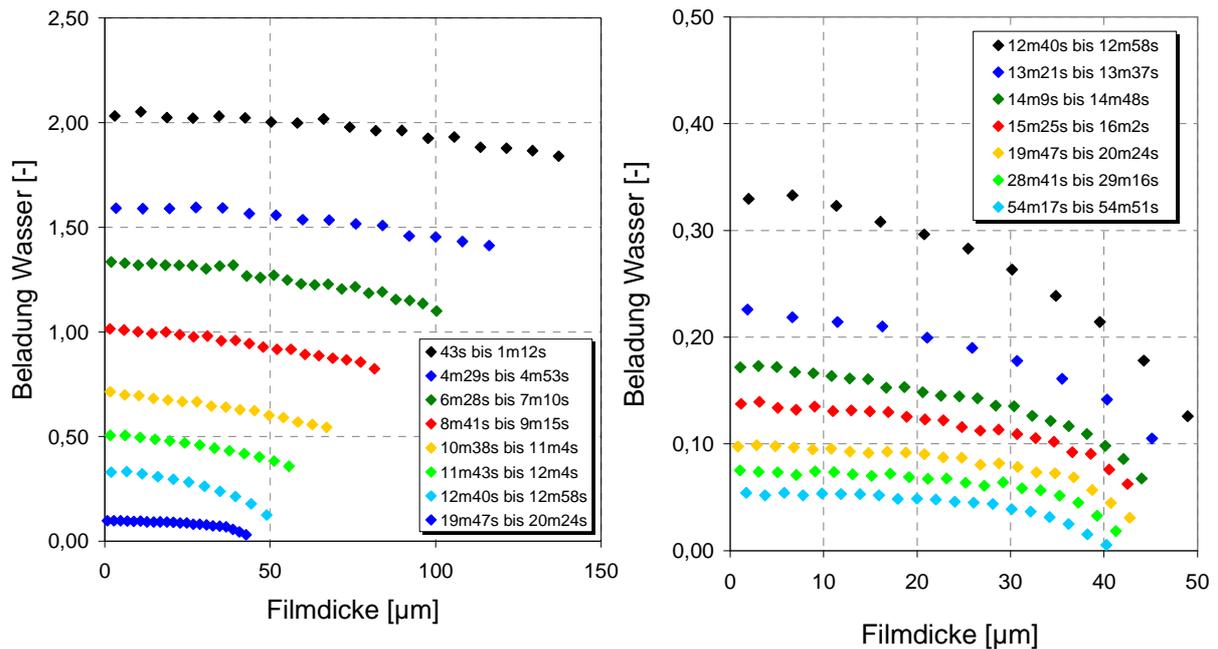


Abbildung 9: Trocknungsversuch von Rezeptur 2 mit einer Wasserbeladung von 2 zu Versuchsbeginn. An der Stelle Filmdicke „0“ befindet sich die Glasoberfläche auf der die Matrixlösung ausgetragen wurde. Links die anfängliche Trocknung und rechts der spätere Verlauf der Trocknung.

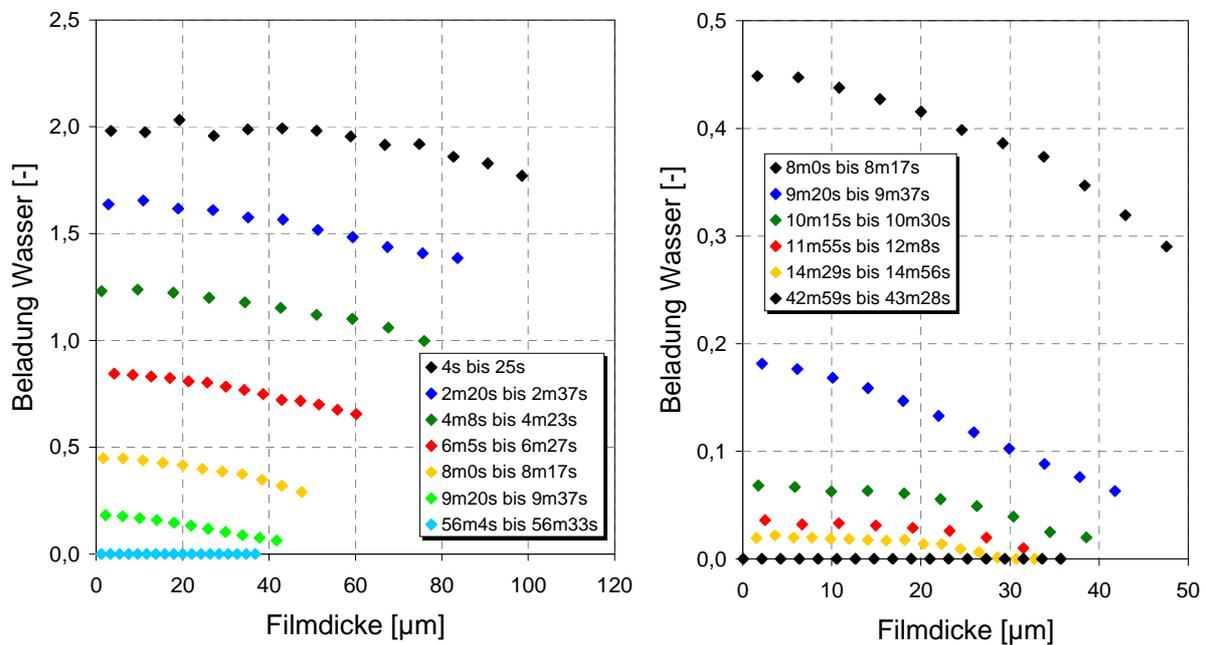


Abbildung 10: Trocknungsversuch von Rezeptur 1 mit einer Wasserbeladung von 2 zu Versuchsbeginn. An der Stelle Filmdicke „0“ befindet sich die Glasoberfläche auf der die Matrixlösung ausgetragen wurde. Links die anfängliche Trocknung und rechts der spätere Verlauf der Trocknung.

Für den Sprühtrocknungs-Prozess lässt dies eine deutlich andere Partikelstruktur für Matrix 1 im Vergleich zu allen anderen Matrixlösungen vermuten, da das Wasser aufgrund höheren Stofftransportes schneller aus dem Tropfen/Partikel entweichen kann. Somit sollte sich das Partikel weniger stark aufblähen.

Auch bei der Betrachtung des Verlaufs der Gesamtfeuchte des Films (Abbildung 11) zeigt Matrix 1 die schnellste Trocknung. In der Anfangsphase trocknen allerdings beide reinen OSA-Stärkebasierten Matrices (1 und 3) ähnlich, wobei Matrix 3 bei niedrigeren Beladungen so langsam trocknet, dass die Kurve mit den Trocknungsverlaufskurven der beiden Stärke-Glukosesirup-Lösungen (Matrices 2 und 4) zusammenfällt.

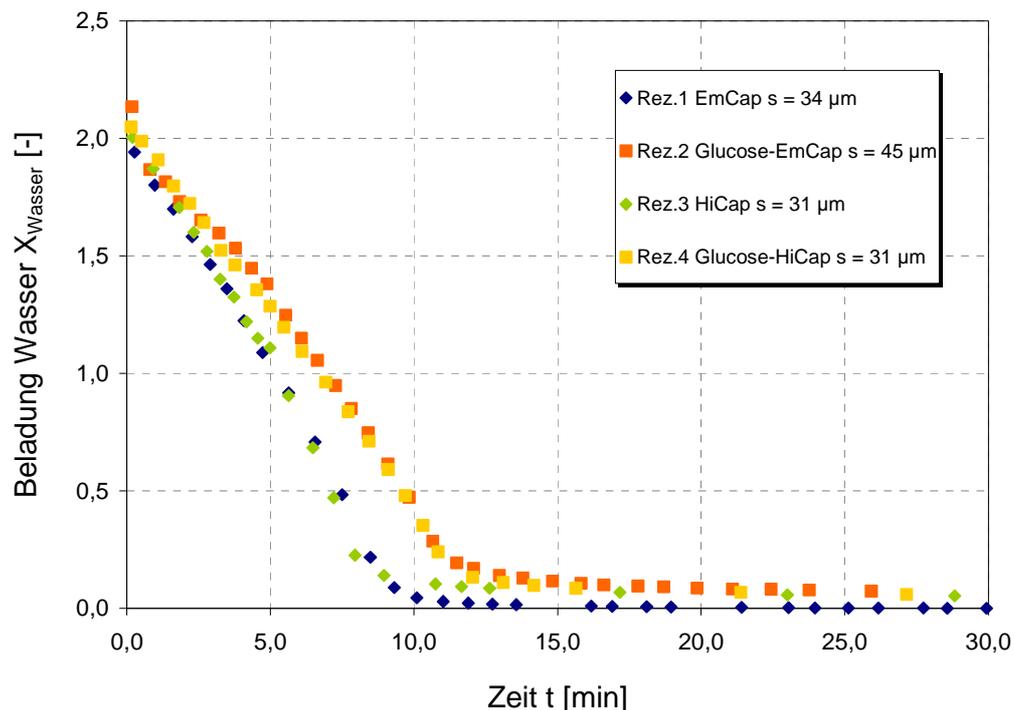


Abbildung 11: Integraler Beladungsverlauf der ausgetrockneten Lösungen im Trocknungskanal mit den Endfilmdicken s . Beladung Null entspricht der Raumfeuchte.

Die Ergebnisse zur Charakterisierung der Trocknungseigenschaften lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Mit Ausnahme der schnell trocknenden Matrix 1 (OSA-Stärke Emcap 12634) zeigen die restlichen Rezepturen ein untereinander ähnliches Trocknungsverhalten, welches von einem starken Stofftransportwiderstand im nassen Film bestimmt wird. Dies könnte mit Ausnahme von Matrix 1 zu einer Hautbildung während der Sprühtrocknung und damit zur verstärkten Bildung von Hohlpartikeln führen.
- Bei Matrix 3 (OSA-Stärke HiCap100) kommt der Stofftransportwiderstand erst mit fortgeschrittener Trocknung bei niedrigen Wasserbeladungen zum Tra-

gen, was ein verspätetes Aufblähen bzw. Platzen der Partikel bewirken könnte.

- Für die Übertragung auf den Sprühtrocknungsprozess erwartet man somit für Matrix 1 die schnellste Trocknung und damit ein schwaches Aufblähen, selbst bei hohen Temperaturen. Hier sollten sich im Vergleich mit den anderen Matrixlösungen Partikel mit niedrigem Hohlraumvolumen und gleichmäßiger Partikelstruktur bilden.
- In vergangenen Oxidationsversuchen zeigte die sprühgetrocknete Emulsion der Matrix 1 eine schnellere Oxidation des verkapselten Fischöls als zum Beispiel die sprühgetrockneten Emulsion der Matrix 4. Die schnellere Trocknung im diffusiv kontrollierten Bereich lässt eine generell hohe Durchlässigkeit für diffusive Prozesse vermuten. So könnte Luftsauerstoff durch die durchlässige Feststoffmatrix eindringen und mit dem verkapselten Öl reagieren.
- Aufgrund der Screening-Versuche wurden somit ;Matrices 1, 3 und 4 für die Sprühtrocknung ausgewählt. Matrix 4 (OSA-Stärke HiCap100/Glukosesirup) wurde als Repräsentant der ähnlich trocknenden OSA-Stärke-Glukosesirup-Rezepturen gewählt.

4.2.2 Verfahrenstechnische Optimierung ausgewählter Rezepturen inkl. Versprühen unter inertisierten Bedingungen und Beurteilung der Oxidationsstabilität (FS1, FS2)

Um neben der verfahrenstechnischen Optimierung der auf Basis der Screeningversuche ausgewählten Rezepturen allgemeine Schlussfolgerungen zu Interaktionen zwischen der Beschaffenheit der Trägermatrixlösungen bzw. Sprühemulsionen, der Trocknungsbedingungen und der resultierenden Partikelcharakteristika ziehen zu können, wurde das Versuchsdesign auf 4 OSA-Stärken (C*Emcap12633, C*Emcap 12634, C*Emcap 12635, HiCap 100) und deren Mischungen mit Glukosesirup erweitert. Die Trocknung erfolgte an bei Einlass-temperaturen von 210 und 160 °C sowie Auslasstemperaturen von 90 und 60 °C. hinsichtlich der resultierenden Partikelcharakteristika zeigte sich in den sprühgetrockneten OSA-Stärke-Glukosesirup-Lösungen ein signifikanter Einfluss der OSA-Stärke auf die Partikelgröße und die scheinbare Dichte. Letztere wurde ebenfalls durch die Trocknungsbedingungen signifikant erhöht.

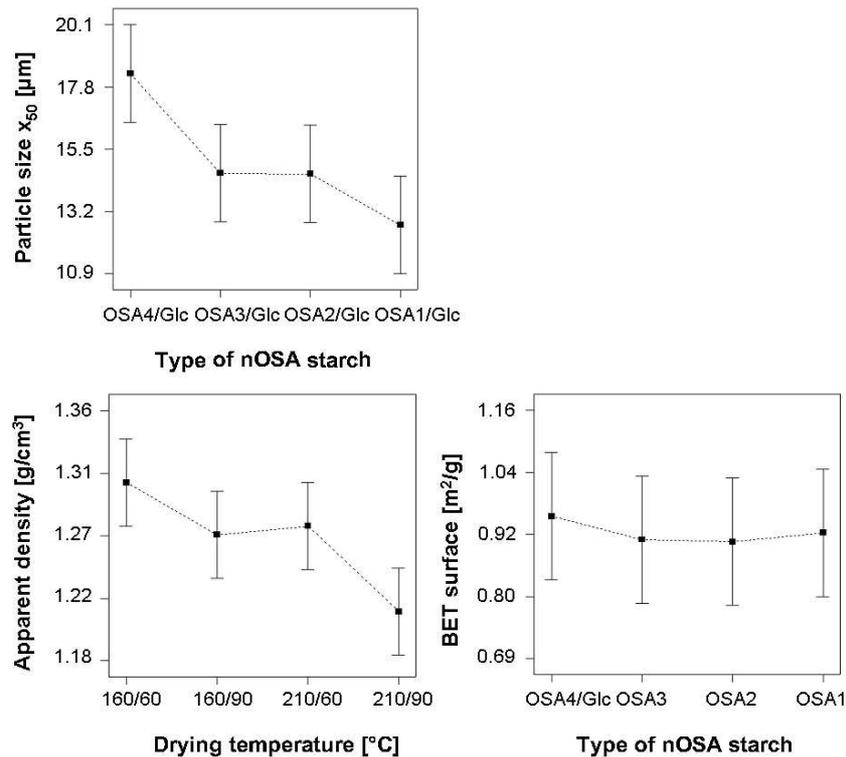


Abbildung 12: Der Einfluss von OSA-Stärke und Trocknungsbedingungen auf physikalische Charakteristika sprühgetrockneter OSA-Stärke-Glukosesirup-Lösungen

Die Partikelgröße der OSA-Stärke-Glukosesirup-basierten Partikel erhöhte sich mit zunehmendem mittlerem Molekulargewicht der OSA-Stärke von 11,7 μm (OSA-Stärke Hi-Cap100/Glukosesirup) auf 19,5 μm (OSA-Stärke Emcap12633/Glukosesirup). Da die Viskosität der Sprühlösungen mit 13-18 mPa s sehr ähnlich war, ist eine unterschiedliche Tröpfchengröße nach der Zerstäubung als Ursache für die Unterschiede in der Partikelgröße auszuschließen. Hingegen konnte eine Abnahme der scheinbaren Dichte der Partikel beobachtet werden, die auf Lufteinschlüsse im Partikel hinweist. Im Hinblick auf die Trocknungsbedingungen wurde eine Abnahme der Dichte mit steigender Einlass- und steigender Auslass-temperatur beobachtet, so dass von einer früheren Fixierung der Partikelstrukturen im Trocknungsprozess mit diskreten Lufteinschlüssen und einer höheren Porosität ausgegangen werden kann.

Um den Einfluss der OSA-Stärke deutlicher herauszuarbeiten wurden ebenfalls die reinen OSA-Stärke-Lösungen getrocknet. Die Viskosität der Lösungen stieg dabei von 40 mPa s bzw. 48 mPa s für OSA1 (HiCap 100) und OSA2 (C*Emcap12635) auf 126 mPa s (OSA3, C*Emcap12634) bzw. 4220 mPa s (OSA4, C*Emcap12633). Die im Hinblick auf die Vakuolenbildung ebenfalls relevante Oberflächenspannung variierte hingegen mit 33-41 mN/m nur wenig. Im Verlauf des Versuches zeigte sich, dass OSA-Stärke 4 vollständig im Sprühturm verblieb, so dass die Partikel nicht untersucht wurden. Hinsichtlich der Partikelgröße zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Einfluss der verwendeten nOSA-Stärke, der auf sowohl eine

erhöhte Tropfengröße nach der Zerstäubung als auch diskrete Lufteinschlüsse bedingt durch Lufteinschluss in den Emulsionen zurückzuführen ist. Letzteres spiegelt sich wiederum in den Daten zur scheinbaren Dichte wieder.

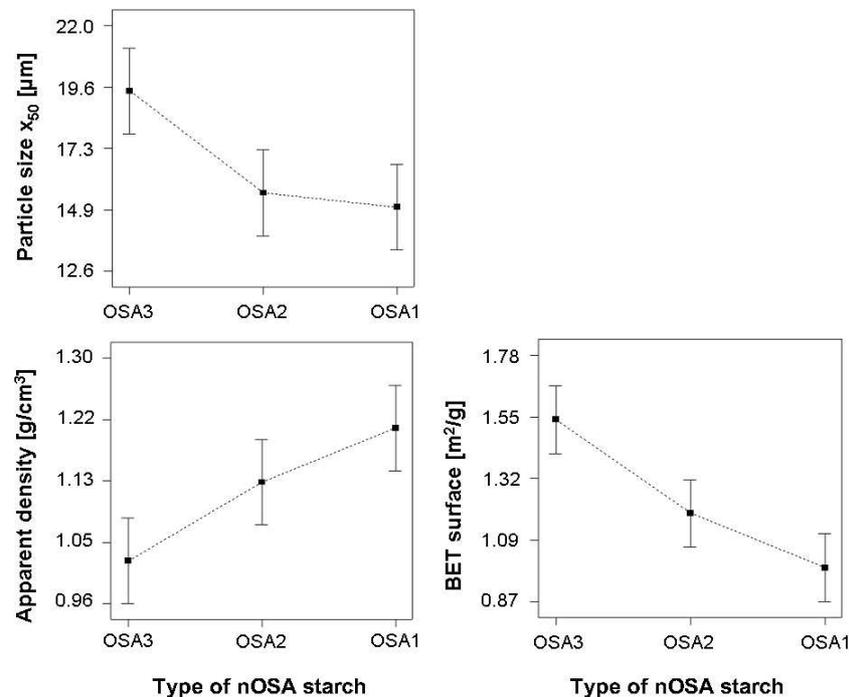


Abbildung 13: Der Einfluss von OSA-Stärke und Trocknungsbedingungen auf physikalische Charakteristika sprühgetrockneter OSA-Stärke-Lösungen

Eine ausgeprägte Hohlpartikelbildung konnte bei den keiner der ausgewählten Trocknungsbedingungen beobachtet werden. Die Partikelmorphologie wurde jedoch maßgeblich von der verwendeten OSA-Stärke beeinflusst. Eine Zunahme der des Molekulargewichts von OSA1 zu OSA3 führte zur Ausbildung spherischer, jedoch eingedellter Partikel mit glatter Oberfläche. Abb BCD). Bei allen Trocknungsbedingungen wurden überwiegend deformierte und eingedellte Partikel mit diskreten Lufteinschlüssen beobachtet, was wiederum die Schlussfolgerung unterstützt, dass die Lufteinschlüsse, die für eine Abnahme der scheinbaren Dichte verantwortlich sind, nicht aus Wasserdampfbildung aufgrund der Oberflächenverkrustung im Trocknungsverlauf zurückzuführen sind. Es wurde jedoch ebenfalls ein geringer Anteil kleiner, glatter, spherischer Partikel mit zentraler Vakuole gefunden, der darauf hindeutet, dass Unterschiede im Trocknungsverhalten in der Abhängigkeit von der Tropfengröße auftreten können. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Viskosität und Oberflächenspannung der OSA-Stärke die Trocknungseigenschaften der Trägerlösungen und damit stabilitätsrelevante Partikelcharakteristika beeinflussen. Die Anwesenheit eines weiteren Trägerbestandteils mit gewünschten Trocknungseigenschaften wie z.B. Glukosesirup (DE38) reduziert diesen Einfluss.

Im Folgenden wurde entsprechend unterstellt, dass ein niedriges Molekulargewicht der verwendeten OSA-Stärke und die resultierenden Partikelcharakteristika die Stabilität des mikroverkapselten Öls erhöhen. Der Einfluss der OSA-Stärke auf die Partikelcharakteristika war entsprechend den Ergebnissen der Versuche für die sprühgetrockneten Matrixlösungen, so dass diese Vorgehen generell als geeignete Strategie zur Bewertung von Trägersystemen in der industriellen Produktentwicklung angesehen werden kann. Der Gehalt an extrahierbarem Öl reichte von 3,6 – 6,0 % bei Trocknung bei 160/70 °C und 4,4 – 7,5 % in Proben, die bei 210 /90 °C getrocknet wurden. Die verwendete OSA-Stärke beeinflusste ebenfalls signifikant die Mikroverkapselungseffizienz, wodurch noch einmal die Bedeutung der Sprühemulsion und deren Stabilität gegenüber Scherbeanspruchung und thermischem Stress hervorgehoben wird.

Der Hydroperoxidgehalt des mikroverkapselten Fischöls wurde signifikant durch die Trocknungsbedingungen beeinflusst und betrug 0,5 mmol/kg Öl bei 160/70 °C bzw. 1,5 mmol/kg Öl bei 210/90 °C.

Tabelle 4: Hydroperoxid- und Propanalgehalt in mikroverkapseltem Fischöl, sprühgetrocknet bei 160/70 oder 210/90 °C, nach 56-tägiger Lagerung bei 20 °C und 33 % rh sowie Steigung und Regressionskoeffizient der Regressionsanalyse

Probe	Hydroperoxidgehalt			Propanalgehalt		
	[mmol/kg Öl]	Steigung	Regressionskoeffizient	[µmol/kg Öl]	Steigung	Regressionskoeffizient
160/70°C						
OSA1	78.8 ± 2.4	1.379 ^a	0.968	56.1 ± 2.8	0.144 ^a	0.944
OSA2	113.4 ± 1.4	2.015 ^b	0.958	72.9 ± 4.4	0.167 ^a	0.963
OSA3	126.5 ± 2.0	2.266 ^b	0.968	103.7 ± 1.8	0.190 ^a	0.981
OSA4	140.9 ± 2.5	2.611 ^b	0.967	88.3 ± 5.3	0.175 ^a	0.979
210/90°C						
OSA1	92.6 ± 3.8	1.652 ^a	0.974	73.6 ± 4.1	0.148 ^a	0.968
OSA2	140.7 ± 4.8	2.497 ^b	0.959	100.5 ± 10.9	0.167 ^a	0.97
OSA3	120.3 ± 3.0	2.150 ^b	0.972	111.0 ± 4.9	0.175 ^a	0.978
OSA4	126.2 ± 2.2	2.264 ^b	0.965	74.9 ± 3.5	0.145 ^a	0.974

unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte indizieren signifikante Unterschiede zwischen den Proben (p<0.05)

Während der Lagerung variierte der Verlauf der Lipidoxidation in Abhängigkeit von der verwendeten OSA-Stärke und den Trocknungsbedingungen (Tabelle 4). Die höchste Stabilität wurde bei Verwendung von OSA1 (HiCap100), die einen hohen Anteil an Disacchariden enthält, erzielt. Das unter Verwendung von OSA1 und OSA2 mikroverkapselte Öl oxidierte dabei schneller, wenn die Partikel bei hohen Temperaturen von 210/90°C hergestellt wurden. Der Propanalgehalt war in allen Proben, die bei 210/90 °C getrocknet wurden höher als in

den korrespondierenden Proben, die bei 160/70 °C getrocknet wurden. Grundsätzlich korrelierten der Hydroperoxidgehalt und der Propanalgehalt sehr gut miteinander ($r > 0,92$).

Die Ergebnisse des vorliegenden Experiments und die Untersuchungen zur Verteilung des extrahierbaren Öls in den Mikrokapseln zeigen, dass eine sichere Vorhersage der Stabilität über diesen Parameter nicht möglich ist. Die physikalischen Partikelcharakteristika hingegen erlauben erste Rückschlüsse auf die Stabilität des verkapselten Kernmaterials. Besonders kritisch sind dabei die Partikeldichte im Submikronbereich, die über das Molekulargewichtprofil der Trägermatrix optimiert werden kann, und Lufteinschlüsse. Die Ergebnisse des vorliegenden Experiments belegen eindeutig, dass es jedoch nicht nur eine mögliche Vakuolenbildung ist, die die Stabilität mikroverkapselter Öle beeinträchtigt, sondern ebenfalls diskrete Lufteinschlüsse während der Emulsionsherstellung und anschließenden Sprühtrocknung.

Um den Einfluss des Sauerstoffs auf die Lipidoxidation zu beurteilen, wurden zwei Versuche durchgeführt, in denen der Einfluss des in der Emulsion gelösten Sauerstoffs und des in der Trocknungsluft anwesenden Sauerstoffs untersucht wurde. Basis der Untersuchung war die OSA-Stärke basierte Trägermatrix unter Verwendung von HiCap100. Die Trocknung erfolgte mit heißer Luft (180/70 °C) und vorherigem Austreiben der Luft aus der Emulsion unter Verwendung von N_2 , mit Luft als Trocknungsmedium ohne vorherige N_2 -Behandlung und mit N_2 -Behandlung der Emulsion unter Verwendung von N_2 als Trocknungsgas. Aus Abbildung 14 ist ersichtlich, dass eine Stickstoffbehandlung der Emulsion in Kombination mit Trocknung unter der inerten N_2 -Atmosphäre die Stabilität des mikroverkapselten Öls erhöht. Am Ende der Lagerung beträgt der Hydroperoxidgehalt 51 bzw. 67 mmol/kg Öl. Wird hingegen nur das Trocknungsmedium variiert und beide Emulsionen mit N_2 behandelt, so gleicht sich der Verlauf des Hydroperoxidgehalts während der Lagerung an. Diese Ergebnisse geben einen weiteren deutlichen Hinweis darauf, dass der Sauerstoffgehalt der Sprühemulsion über diskrete Lufteinschlüsse in den Mikrokapseln für die Lagerungsstabilität von hoher Bedeutung ist. Eine Inertisierung des Sprühturms hingegen bringt keine signifikanten Vorteile im Hinblick auf die Lipidoxidation während der Lagerung.

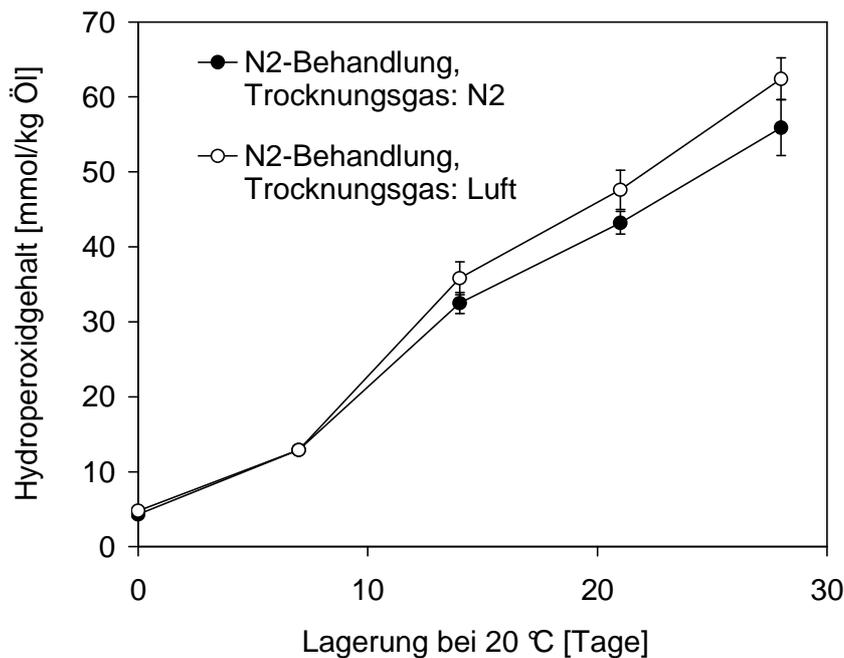
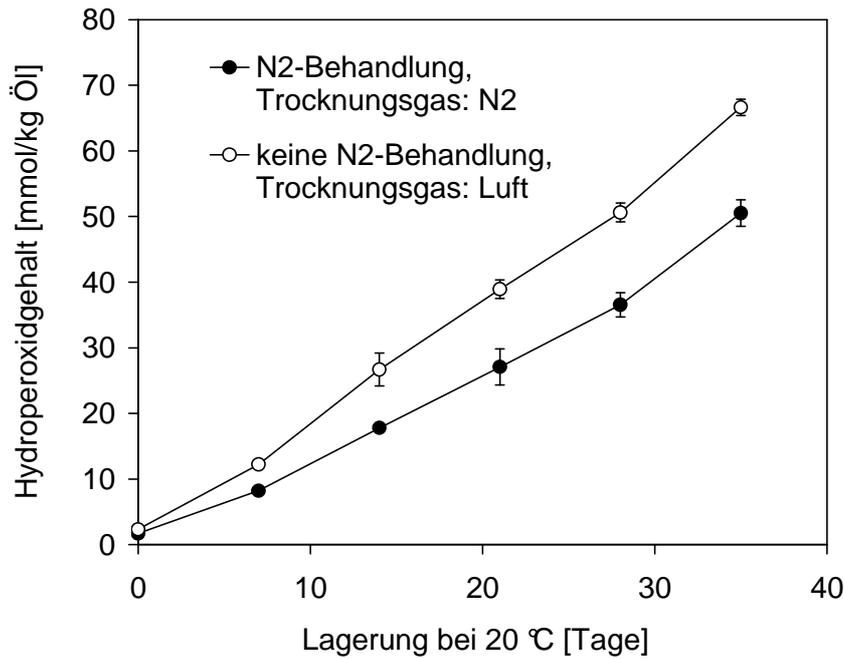


Abbildung 14: Der Einfluss einer N₂-Behandlung der Sprühemulsion und Inertisierung des Sprühturms auf die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in mikroverkapseltem Fischöl

Zusammenfassend lässt sich feststellen:

- In Kombination mit Glukosesirup wird die Partikelmorphologie OSA-Stärke-basierter Mikrokapseln im untersuchten Trocknungsbereich (160 und 210 °C Auslasstemperatur und 60 bzw. 90 °C Einlasstemperatur) nicht beeinflusst. Insbesondere eine Hohlpartikelbildung ist nicht zu beobachten.

- Ein Anstieg der Öltröpfchengröße in der rekonstituierten Emulsion kann teilweise durch Koaleszenz während des Sprühtrocknens erklärt werden und ist ein möglicher Grund für den höheren Gehalt an extrahierbarem Öl bei 210/90°C. Unterschiede im Oxidationsverlauf sind jedoch nicht zwingend über unterschiedliche Gehalte an extrahierbarem Öl zu erklären.
- Die Unterschiede in den physikalischen Partikelcharakteristika sind auf unterschiedliche Hydrolysegrade der OSA-Stärke-Typen und damit auf den Trocknungsverlauf zurückzuführen.
- Ein wichtige weitere Determinante ist das Molekulargewicht bzw. die Molekulargewichtsverteilung in der Trägermatrix auf die Struktur der Kapselwand und damit auf den Oxidationsverlauf des verkapselten Fettes aus.
- Der Sauerstoffgehalt der Sprühemulsion bedingt diskrete Lufteinschlüsse in den Mikrokapseln und ist für die Lagerungsstabilität von hoher Bedeutung. Eine Inertisierung des Sprühturms hingegen bringt keine signifikanten Vorteile im Hinblick auf die Lipidoxidation während der Lagerung.

4.2.3 Agglomerationsversuche für mikroverkapselte Öle (FS2)

In der Regel sind die Instanteigenschaften, wie auch die Handhabung sprühgetrockneter Pulver nicht marktgerecht. Deshalb wurde exemplarisch ein nOSA- und ein Kaseinat-Mikrokapselpulver großtechnisch von der Firma Cognis sprühgetrocknet und anschließend an der FS2 zu Rollagglomeraten verarbeitet. Die volumenbezogenen, mittleren Agglomeratdurchmesser lagen für die Kaseinat Mikrokapseln bei 1150 µm und für die nOSA Mikrokapseln bei 2000 µm (Camsizer, Fa. Retsch).

Um die Instanteigenschaften der Rollagglomerate mit den Mikrokapsel-Pulvern vergleichen zu können, wurden an der LVT Instantzeiten der jeweiligen Stoffe gemessen. In Abbildung 15 ist der zeitliche Verlauf eines in Wasser einsinkenden Pulverzylinders (20 mm Höhe) dargestellt. Ist die Höhe des Pulverzylinders um 20 mm gesunken, bedeutet dies eine vollständige Redispergierung. Es fällt auf, dass sowohl für die nOSA- wie für die Kaseinat-Mikrokapselpulver, das Pulver schneller als die jeweiligen Agglomerate redispergiert. Dies konnte allein durch den Agglomerationsprozess nicht signifikant beeinflusst werden. Vermutlich bilden sich beim Agglomerationsprozess starke Feststoffbrücken aus, wobei Poren verschlossen werden, was das Eindringen des Wassers erschwert. Das nOSA-Stärke basierte Mikrokapselpulver zeigt eine erstaunlich schnelle Redispergierung, weswegen eine weitere Optimierung der Instanteigenschaften unter Umständen nicht erforderlich ist.

Ist dennoch ein Agglomerationsschritt zu beispielsweise einer Verbesserung der Handhabung erwünscht, so müssen dem Pulver weitere Zusätze (Sprengmittel etc.) hinzugefügt werden.

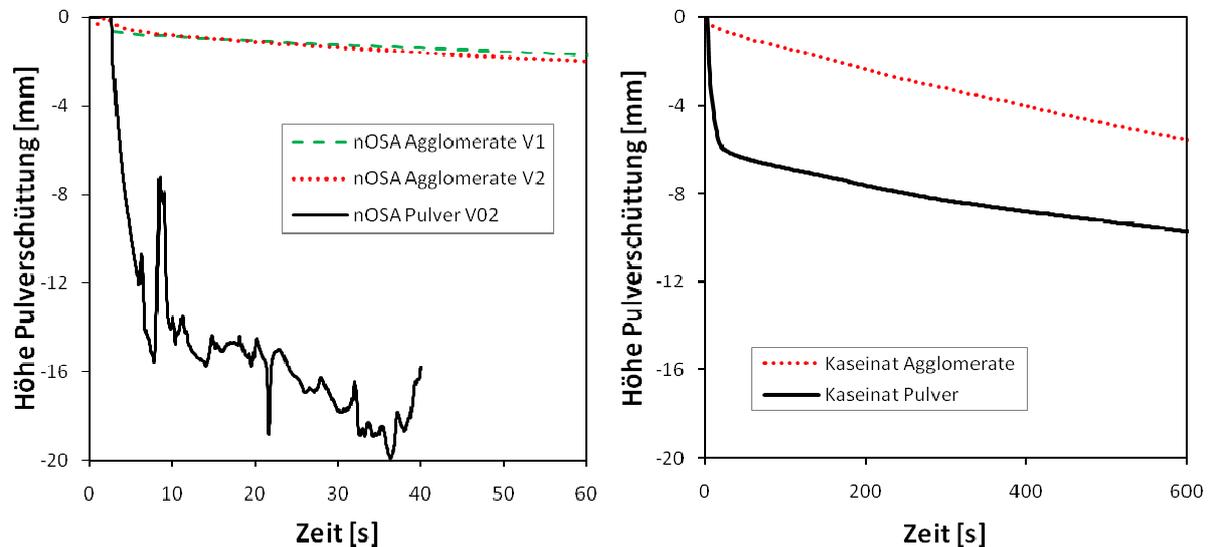


Abbildung 15: Absinken einer 20mm hohen zylindrischen Pulverschüttung in Wasser. Es wurden damit die Instantisierungszeiten zweier verschiedener pulverförmiger Fischölkapselmaterialien vergleichend gegen ihre Agglomerate gemessen.

4.2.4 Einstellung eng definierter homogener Tröpfchengrößen in Emulsionen (FS1, LVT Karlsruhe)

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden Untersuchungen zur Einstellung einer definierten Tropfengrößenverteilung in Fischöl-Emulsionen nach vorgegebener Rezeptur (OSA-Stärke/Glukosesirup) mittels Premix-Membranemulgieren durchgeführt.

Bei den Voruntersuchungen zeigten sich starke Wechselwirkungen zwischen dem Membranmaterial und den Inhaltsstoffen der Emulsion, insbesondere der OSA-Stärke (agiert als Emulgator). Daher wurden zur Membranauswahl zunächst Membranen mit unterschiedlichen Porengrößen aus verschiedenen Materialien und von unterschiedlichen Herstellern getestet. Die mittlere Tropfengröße (Kennwert: Sauterdurchmesser $x_{1,2}$ als Maß für den oberflächenbezogenen Mittelwert) und die Breite der Tropfengrößenverteilung (Kennwert: Span = $(x_{90,3} - x_{10,3}) / x_{50,3}$) als Maß für die Breite der Volumenverteilung) der Fischöl-Emulsionen hängt sehr stark vom Membranmaterial, der mittleren Porengröße (Nennporenweite), der transmembranen Druckdifferenz (variiert durch den Betriebsdruck) und der Anzahl an Passagen ab. Ziel waren Emulsionen mit unterschiedlichen mittleren Tropfengrößen im Bereich von 0,1–10 μm bei einer möglichst engen Tropfengrößenverteilung. Die für stabile Emulsionen mit geeigneten Emulgatorsystemen bekannten Zusammenhänge (mittlere Tropfengröße ca. 3-4 * Nenn-

porenweite der Membran, leicht fallend mit steigendem Betriebsdruck, enge Verteilungen ab der dritten Passage) waren Grundlage der Wahl der Prozessparameter im Versuchsplan:

- Membranhersteller und –material: (Tabelle 1)
- Porengröße der Membran: 0,45 μm , 0,8 μm , 3 μm , 5 μm , 10 μm
- Betriebsdruck: 3 bar, 6 bar, 9 bar, 12 bar, 15 bar
- Anzahl der Passagen: 1 bis 4

Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Filtermembranen (X: getestet)

Hersteller	Material	Porengröße [μm]					
		10	5	3	0,8	0,45	0,4
Whatman	Nucleopore		X				
Whatman	Nylon				X	X	
Macherey-Nagel	Nitrocellulose		X			X	
Macherey-Nagel	Zellulosemischester					X	
Macherey-Nagel	Porafil PE		X				X
Millipore	TCTP	X	X				
Millipore	Zellulosemischester			X			
Munktell	Cellulose Nitrat		X	X		X	
Pall	Versapore			X			

Als bestes Membranmaterial stellte sich die Nylon-Filtermembran (Hersteller: Whatmann) mit einem Porendurchmesser von 0,8 μm heraus. Es wurde festgestellt, dass die Öltropfen der Emulsion im vorgegebenen Stoffsystem mit abnehmender Porengröße der Membran kleiner und enger verteilt werden (Abbildung 16).

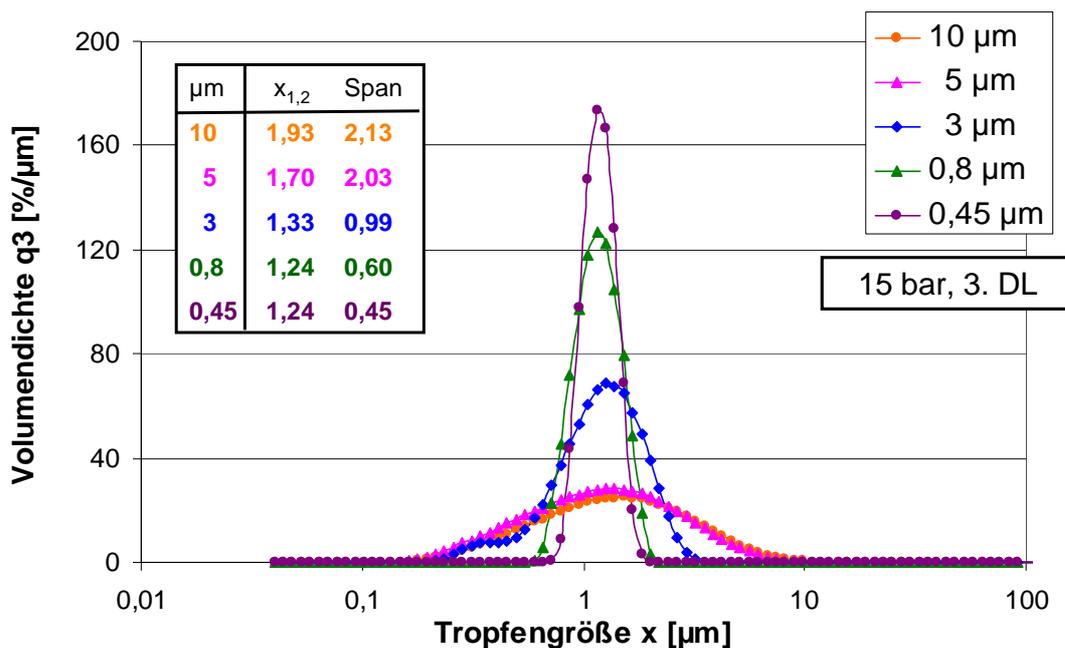


Abbildung 16: Abhängigkeit der Öltropfengröße vom Porendurchmesser der Membran (10 und 5 μm -Membran: Millipore TCTP, 3 μm -Membran: PALL, Versapore, 0,8 μm -Membran: Whatmann-Nylon, 0,45 μm -Membran: Macherey-Nagel, Nitrocellulose; DL = Durchlauf bzw. Passage).

Der Betriebsdruck hat einen großen Einfluss auf die Tropfengrößenverteilung (Abbildung 17). Bei 15 bar werden monomodale Tropfengrößenverteilungen erhalten. Nach 3 Durchläufen sind die Öltropfen sehr eng verteilt (Abbildung 18).

Mittlere Tropfengrößen der Fischölemulsion von ca. 1,2-1,3 μm mit enger Tropfengrößenverteilung konnten gut eingestellt werden. Dagegen gab es Schwierigkeiten mit größeren mittleren Tropfengrößen. Bei einer mittleren Tropfengröße von ca. 5 μm kam es – vermutlich durch eine unzureichende stabilisierende Wirkung der Stärke als Emulgator - zu deutlichen Instabilitäten (Koaleszenz & Aufrahmen), so dass es unmöglich war, eine solche Emulsion bei der vorgegebenen Rezeptur herzustellen. Eine Emulsion mit einer mittleren Tropfengröße von ca. 2,5 μm konnte zwar hergestellt werden, jedoch war die Tropfengrößenverteilung etwas breiter.

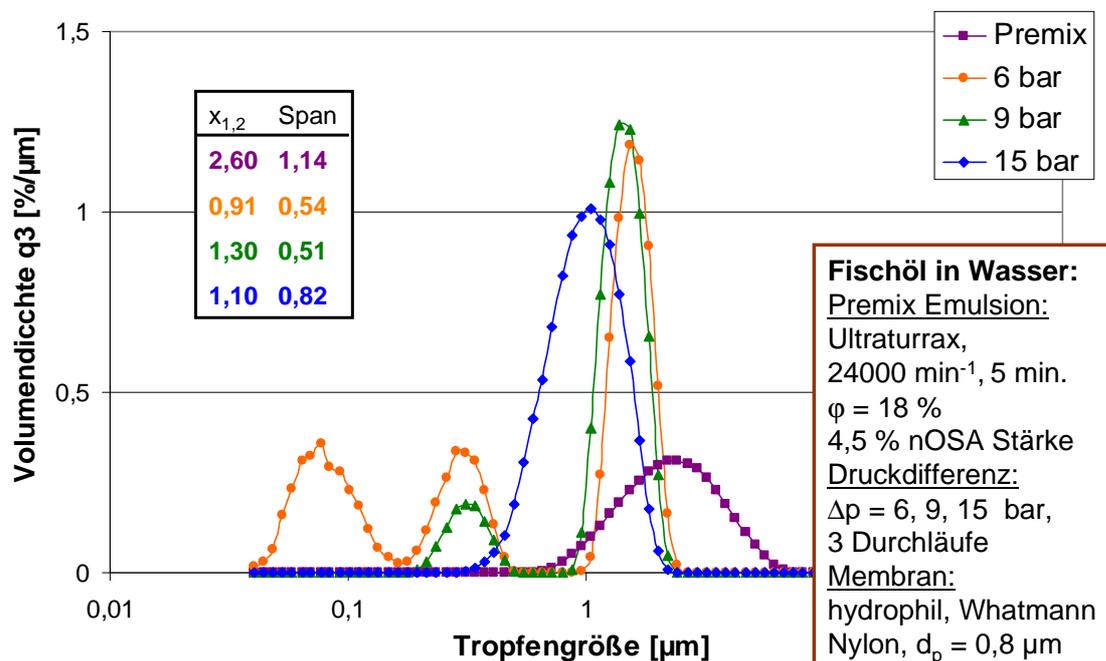


Abbildung 17: Abhängigkeit der Öltropfengröße von der Druckdifferenz.

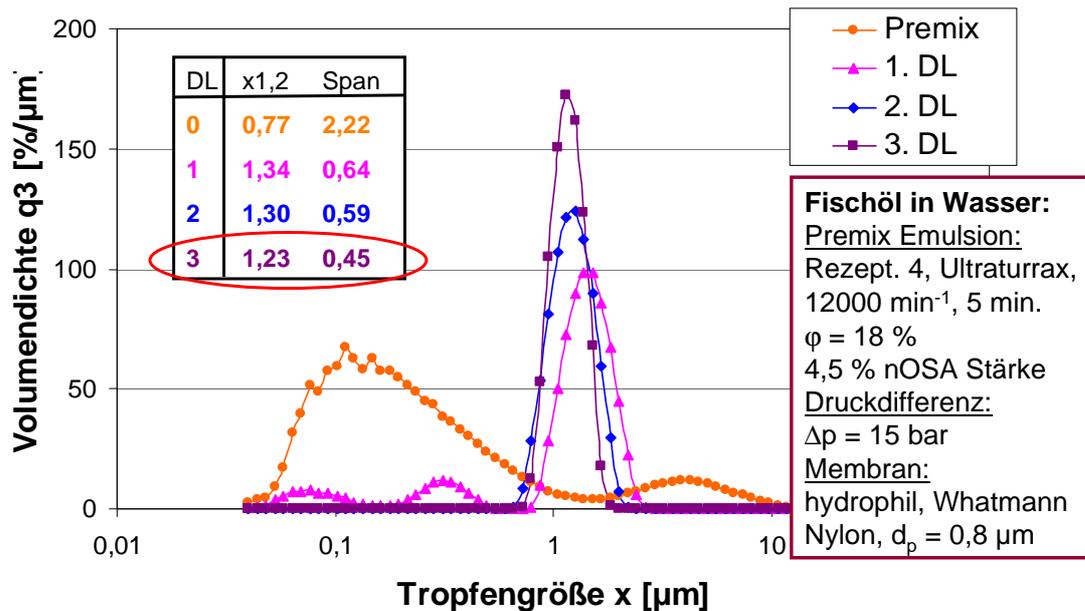


Abbildung 18: Abhängigkeit der Öltropfengröße von der Anzahl der Passagen.

Aus den Emulgierergebnissen ist ersichtlich, dass das Fischöl sehr gut emulgierbar ist. Es bilden sich sehr feine Öltropfen schon bei der Herstellung der Rohemulsion (Premix) mit einem Rotor-Stator-System. Die kleinen Tropfen können jedoch durch den vorhandenen Emulgator nicht ausreichend stabilisiert werden. Zu erwarten ist, dass bei Einsatz eines besser stabilisierenden Emulgators die angestrebte Öltropfengröße zum einen weiter reduziert, zum anderen aber auch größere Tropfen stabil hergestellt werden können.

Als Alternativen zur OSA-Stärke wurden daher Monoglyceridester von Fettsäuren eingesetzt. Nach umfangreichen Versuchsreihen ist es gelungen, mittels Membranemulgieren Emulsionen mit unterschiedlicher und nahezu überschneidungsfreier Öltröpfchengrößenverteilung herzustellen. Eine enge Tröpfchengrößenverteilung mit einer mittleren Öltropfengrößen von $0,6$ µm konnte unter Verwendung von Saccharose-Laurylester (Ryoto-L1695, Mitsubishi Kagaku-Food Corporation Tokyo, Japan) und Emulgieren unter Verwendung vier verschiedener Membranen erreicht werden (Porengröße 5 µm, 3 bar, 3 Durchläufe; Porengröße 5 µm, 15 bar, 3 Durchläufe; Porengröße $0,45$ µm, 15 bar, 3 Durchläufe; Porengröße $0,2$ µm, 15 bar, 3 Durchläufe; Abbildung 19). Eine mittlere Öltropfengröße von $1,2$ µm wurde unter Verwendung von Saccharose-Stearylester (Ryoto-S1670, Mitsubishi Kagaku-Food Corporation Tokyo, Japan) bei 3 Durchläufen durch eine Membran mit einem Porengröße von $0,8$ µm erzielt.

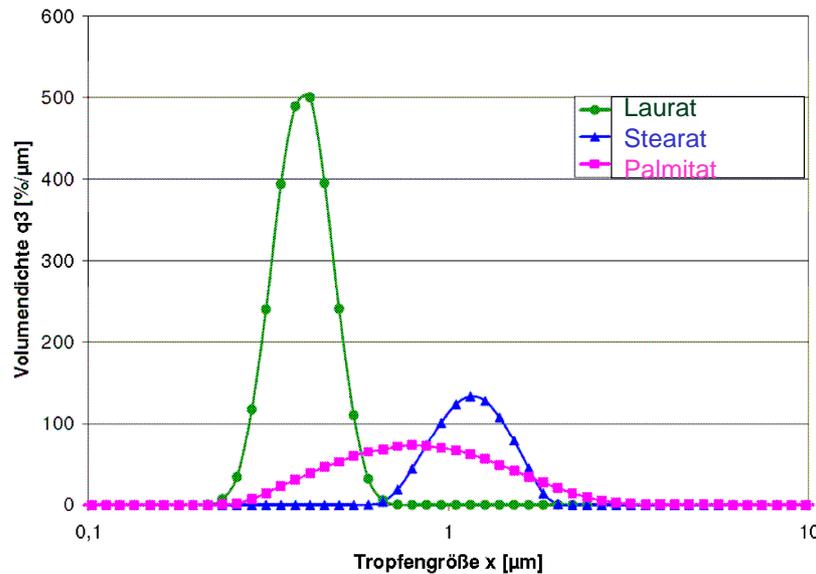


Abbildung 19: Öltropfengrößenverteilung von Fischölemulsionen, die unter Verwendung verschiedener Monoglyceride von Fettsäuren mittels Membranemulgieren hergestellt wurden

4.2.5 Sprühtrocknung und Beurteilung der Oxidationsstabilität (Emulsionen mit eng definierter Tröpfchengröße; FS1)

In Vorversuchen zur Sprühtrocknung von Emulsionen, die unter alleiniger Verwendung von Monoglyceriden von Fettsäuren als Emulgator und Glukosesirup mit einem DE-Wert von 38 hergestellt wurden, zeigte sich, dass die Mikroverkapselungseffizienz mit ca. 60 % sehr gering ist. Es wurde daher versucht, die Mikroverkapselungseffizienz durch Zugabe weiterer filmbildender Matrixbestandteile nach dem Emulgieren zu erhöhen. Der Zusatz von Methylcellulose, OSA-Stärke oder Gummi arabicum führte zu keiner Erhöhung der Mikroverkapselungseffizienz, jedoch konnte diese nach Zusatz von Natriumkaseinat (10 % der Trockenmasse) auf 88 % erhöht werden. Als mögliche Ursachen können eine Reduktion einer Koaleszenz der Öltropfen während des Trocknungsprozesses durch sterische Hinderung sowie eine Akkumulation von Natriumkaseinat an der Partikeloberfläche vermutet werden.

Der sich daran anschließende Hauptversuch, in dem die Oxidationsstabilität der Emulsionen und der sprühgetrockneten Emulsionen untersucht wurde, wurde unter Verwendung von Saccharose-Laurylester unter o.a. Emulgierbedingungen durchgeführt. Die Zusammensetzung der Emulsion war dabei wie folgt: 18 % Fischöl, 21 bzw. 21,5 % Glukosesirup, 4,5 % Natriumkaseinat, 0,5 bzw. 1 % Saccharose-Laurylester und 55 % Wasser. Die Emulsionen wurden nach deren Herstellung am Institut für Lebensmittelverfahrenstechnik an der Universität Karlsruhe direkt zur Universität Kiel transportiert. Hier wurde ein Teil der Emulsion direkt

eingelagert, dem anderen Teil wurde das Natriumkaseinat zugegeben und die Emulsion wurde bei 180/07 °C auf einem Niro Mobile Minor getrocknet.

Die mittlere Öltröpfchengröße der Emulsionen nach der Herstellung betrug 0,54 µm für die Emulsion mit 1 % Saccharose-Laurylester sowie 0,85 µm für die Emulsion mit 0,5 % Saccharose-Laurylester. Der Hydroperoxidgehalt wurde über einen Zeitraum von 18 Tagen verfolgt; dessen Anstieg war in der Emulsion mit kleiner Öltröpfchengröße höher als in der Emulsion mit großer Öltröpfchengröße (Abbildung 20).

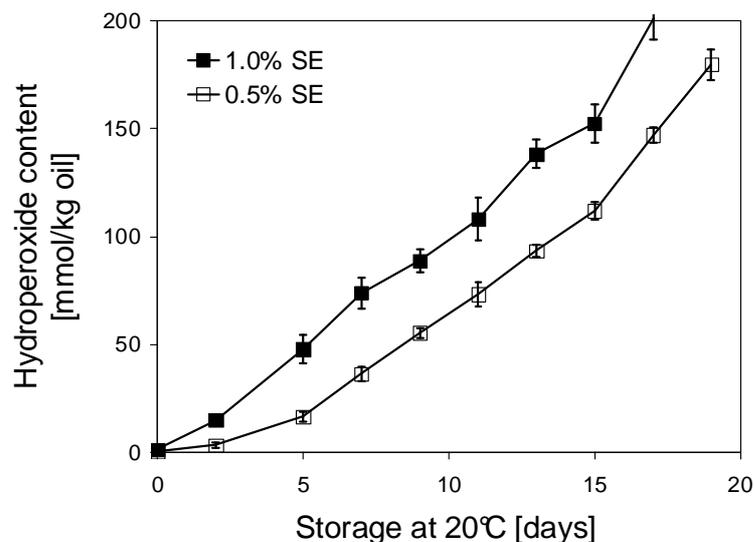


Abbildung 20: Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in Saccharose-Laurylester-basierten Emulsionen mit unterschiedlicher Öltröpfchengröße (SE: Saccharose-Laurylester)

Die Ergebnisse stützen damit frühere Untersuchungen(20;21), in denen ebenfalls eine erhöhte Oxidation bei geringerer Öltröpfchengröße und damit größerer Oberfläche beobachtet wurde. Nach Sprühtrocknung der Emulsionen stieg die mittlere Öltröpfchengröße in beiden rekonstituierten Emulsionen auf ca. 1,8 µm an. Als mögliche Ursachen wurden zum einen eine Schädigung der Emulsionen durch mechanische Beanspruchung während des Zerstäubens als auch ein Öltröpfchenkoaleszenz vermutet.

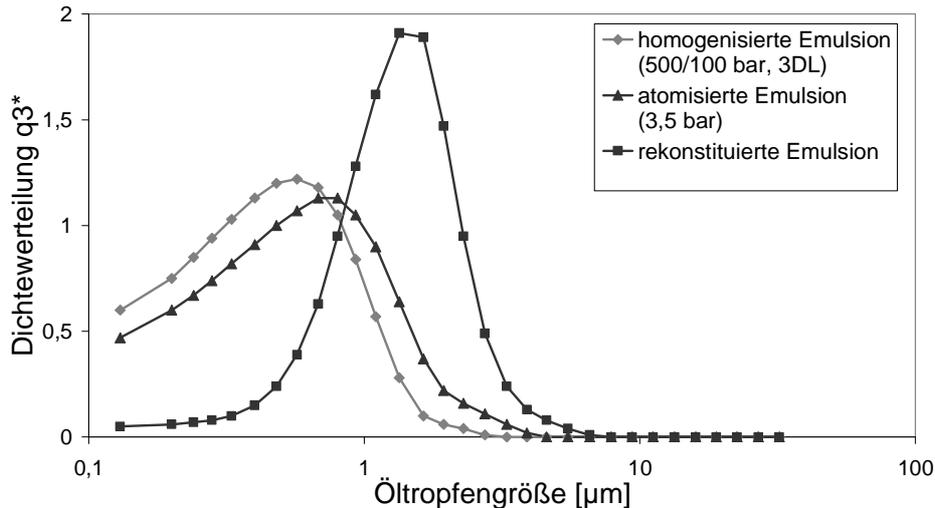


Abbildung 21: Veränderung der Öltröpfchengröße nach Zerstäubung und Sprühtrocknung einer Saccharose-Laurylester-basierten Fischölemulsion

In Folgeversuchen wurde daher die Veränderung der Öltröpfchengröße in Saccharose-Laurylester-basierten Emulsionen, unmittelbar nach der Zerstäubung und in der rekonstituierten Emulsion untersucht. Hierbei zeigte sich, dass Öltröpfchenkoaleszenz zu einem großen Teil während der Trocknung und damit während der Aufkonzentrierung der Emulsion auftritt. Da die erzeugten Unterschiede in der Öltröpfchengröße in diesen Sprühemulsionen durch den Trocknungsprozess kompensiert werden, ist dieses Charakteristikum für die Lagerstabilität in pulverförmigen Emulsion zu vernachlässigen.

4.3 Optimierung des Oxidationsschutzes im Hinblick auf Auswahl, Konzentration und Kombination von Additiven mit verschiedenen Wirkprinzipien (FS1)

4.3.1 Testung von Antioxidantien und Komplexbildnern in Emulsionen während des Herstellungsprozesses

Die Auswahl der Antioxidantien orientierte sich zunächst an den Bestimmungen der Richtlinie 95/2/EG vom 20. Februar 1995 über andere Lebensmittelzusatzstoffe als Farbstoffe und Süßungsmittel, insbesondere den für die diätetischen Lebensmittel relevanten Anhängen über zugelassene Zusatzstoffe für z.B. Säuglingsanfangsnahrung. Für letztere sind lediglich verschiedene Tocopherolderivate, Ascorbylpalmitat, Lecithin sowie Zitronensäure und deren Ester von Mono- und Diglyceriden von Fettsäuren sowie Citrate als Zusatzstoffe zugelassen, die zur Stabilisierung beitragen können. Eine eingehende Analyse der verfügbaren Literatur zeigte, dass selbst für diesen eng begrenzten Bereich möglicher Zusatzstoffe keine systematischen Untersuchungen zu deren Effektivität und deren kombinatorischer Wirkung vorlagen. Darüber hinaus beruht eine Vielzahl der verfügbaren Studien auf beschleunigten Testmetho-

den, bei denen Temperaturen oberhalb von 80 °C angewandt werden, und deren Ergebnisse daher nicht auf den Verlauf der Lipidoxidation bei Umgebungstemperatur übertragen werden können. In Tabelle 1 sind exemplarisch die Ergebnisse des beschleunigten Testverfahrens bei Temperaturen von 60 bis 80 °C und der Hydroperoxid- und Propanalgehalt nach mehrwöchiger Lagerung für drei unterschiedlich stabilisierte LCPUFA-reiche Öle dargestellt.

Tabelle 6: Ergebnisse des Rancimat-Tests bei Temperaturen zwischen 60 und 80 °C sowie der Hydroperoxid- und Propanalgehalt in Fischöl nach mehrwöchiger Lagerung bei 20 °C

	Induktionsperiode Rancimat [h]			Hydroperoxide [mmol/kg Öl]	Propanal [µmol/kg Öl]
	60 °C	70 °C	80 °C	20 °C	20 °C
Fischöl	9,5 ± 0	4,3 ± 0	2,0 ± 0,1	441 ± 24	2966 ± 240
Algenöl	31,6 ± 1,8	4,3 ± 0,3	3,4 ± 0	152 ± 11	48,3 ± 3,4
DHA-Konzentrat	23,9 ± 0	4,1 ± 0	1,8 ± 0	294 ± 8	659 ± 33

Die Ergebnisse belegen, dass bei der Beurteilung der Stabilität der Öle eine Verwendung beschleunigter Testverfahren lediglich bei 60 °C zu übereinstimmenden Ergebnissen mit denen der Lagerung bei 20 °C kommt. Bei Temperaturen von 70 bzw. 80°C konnten aufgrund der kurzen Induktionsperiode und temperaturbedingter chemischer Veränderungen keine Unterschiede zwischen den Ölen detektiert werden bzw. führten diese sogar zu einer falschen Einschätzung der Oxidationsstabilität.

Bei allen Untersuchungen im Rahmen des vorliegenden Projekts wurde das Fischöl zunächst mittels Säulenchromatographie aufgereinigt. In einem ersten Experiment wurde der Einfluss steigender α -Tocopherolzusätze auf die Wirksamkeit des γ - und des δ -Derivats untersucht. Eine Wirkungsumkehr von α -Tocopherol bei Konzentrationen oberhalb von 100mg/kg Öl ist in der Literatur beschrieben (31-33). α -Tocopherol verhindert über die Deaktivierung von Alkoxyradikalen deren β -Spaltung und damit das Entstehen flüchtiger sekundärer Lipidoxidationsprodukte. Bei hohen α -Tocopherol-Konzentrationen kann die Kumulation von den entstehenden Tocopheroxy-Radikalen zu einer Katalyse der Autoxidation führen. Für γ - und δ -Tocopherol wird das Wirkungsoptimum mit 500 bzw. 1500-2000 mg/kg Öl angegeben. Die Kombination der Derivate wurde bis dato nicht untersucht. In den Arbeiten, die im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojekts durchgeführt wurden, konnte in Fischöl, das mit γ - oder δ -Tocopherol stabilisiert war, eine negative Wirkung im Sinne einer beschleunigten Hydroperoxidbildung durch hohe α -Tocopherolzusätze (500 bzw. 1000 mg/kg) beobachtet werden. Der Einfluss auf die Propanalbildung war entgegengesetzt jedoch im Vergleich zur Wirkung einzelner Derivate absolut eher von geringer Bedeutung. Die Entwicklung ist exemplarisch für den Hydroperoxidgehalt in mit δ -Tocopherol stabilisierten Proben in Abbildung 22 dargestellt.

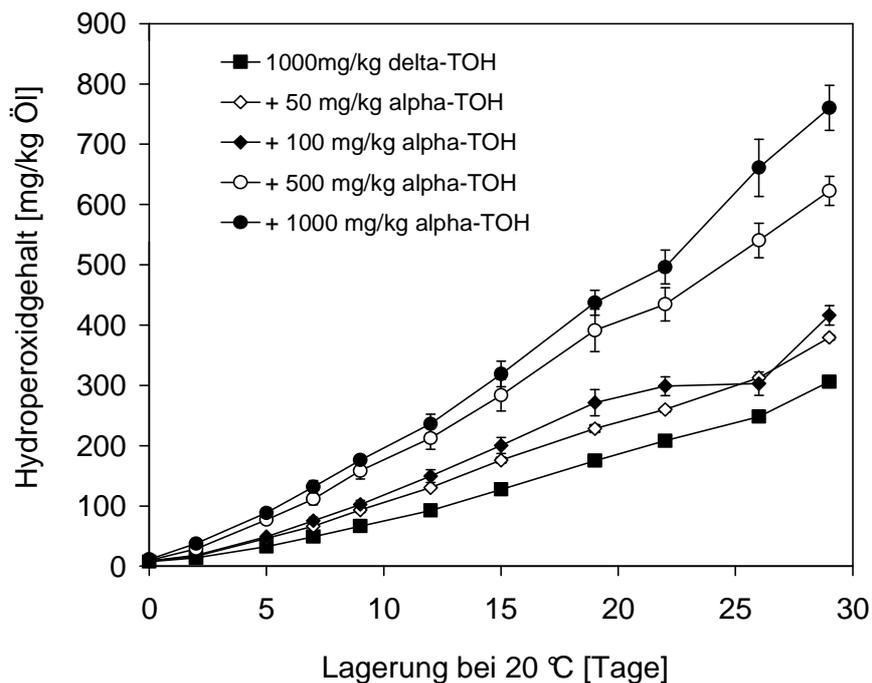


Abbildung 22: Der Einfluss steigender Zusätze von α -Tocopherol auf die antioxidative Wirkung von δ -Tocopherol während der Lagerung von Fischöl dargestellt an der Entwicklung des Hydroperoxidgehalts

Die Geschwindigkeit des Tocopherolabbaus war für das α -Derivat in allen Proben gleich, jedoch wurde mit steigender Zugabe von α -Tocopherol der Abbau von γ - oder δ -Tocopherol verzögert. Dieser Effekt ist in der Literatur als „tocopherol-sparing“ beschrieben (34) und führt zu einem verbesserten Oxidationsschutz in Ölen. Ein verbesserter Oxidationsschutz bei Zusatz von geringen α -Tocopherolmengen über den Versuchszeitraum von 28 Tagen hinaus kann in der vorliegenden Studie daher vermutet werden, bei hohen Tocopherolkonzentrationen dominierte jedoch der negative Effekt einer Tocopheroxyradikalanreicherung.

Für eine effiziente Stabilisierung von LCPUFA-reichen Ölen ist die Kombination von Antioxidantien verschiedener Wirkmechanismen notwendig. Generell wird dabei eine Kombination von Ascorbylpalmitat, Lecithin und Tocopherolen empfohlen. Nahezu alle verfügbaren Studien wurden unter Verwendung beschleunigter Testverfahren bei hohen Temperaturen durchgeführt. In den weiteren Versuchen erwies sich eine Kombination von Tocopherolen, niedrig im Gehalt an α -Tocopherol (100mg/kg) und hoch im Gehalt an δ -Tocopherol (1000mg/kg), 500mg Ascorbylpalmitat/kg und 2000 mg Lecithin/kg als sehr effizient zur Stabilisierung von Fischöl (Abbildung 23).

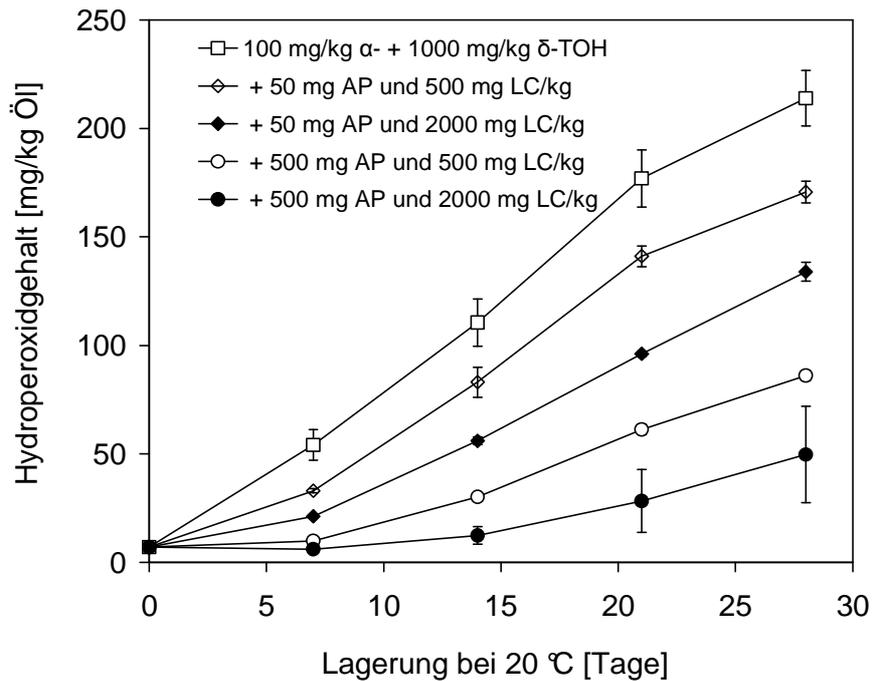


Abbildung 23: Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in Fischöl stabilisiert mit Tocopherol (100mg α - und 1000 mg δ -Tocopherol/kg) und mit unterschiedlichen Kombination von Ascorbylpalmitat (AP) und Lecithin (LC)

Der in der Literatur beschriebene synergistische Effekt für die Kombination von Tocopherolen, Ascorbylpalmitat und Lecithin im Vergleich zu binären Mischungen von Tocopherolen mit Ascorbylpalmitat oder Lecithin konnte in der vorliegenden Studie nur bedingt bestätigt werden (Abbildung 24). Bei niedriger Lecithinkonzentration (500 mg/kg Öl) war die Inhibierung der Hydroperoxidbildung geringer als bei den aufsummierten einzelnen Effekten, bei einem Lecithingehalt von 2000mg Lecithin/kg konnte eine geringe Zunahme der inhibierenden Wirkung beobachtet werden.

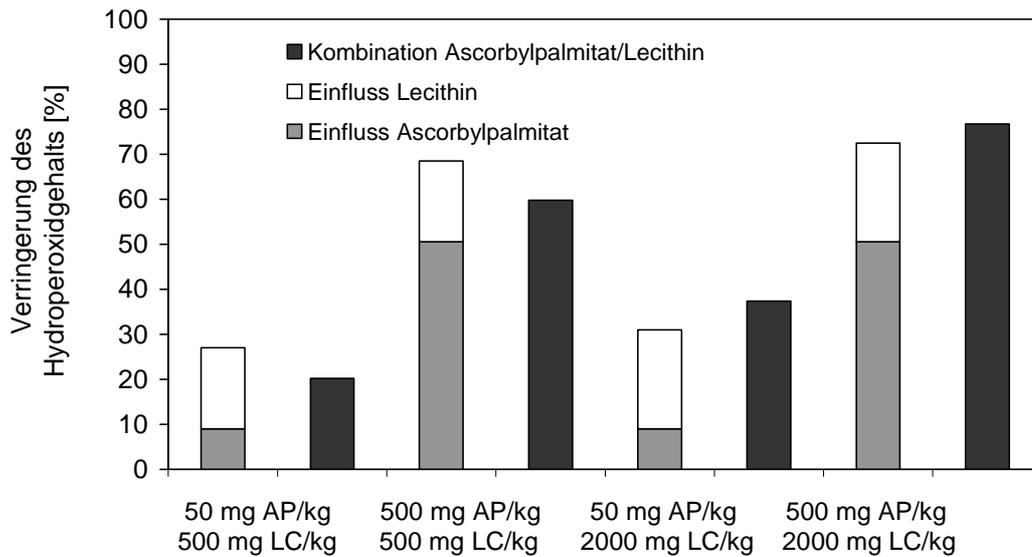


Abbildung 24: Vergleich der inhibierenden Wirkung der aufsummierten Effekte binärer Antioxidanskombinationen von Tocopherolen mit Ascorbylpalmitat oder Lecithin mit dem inhibierenden Effekt der ternären Kombination (Hydroperoxidgehalt nach 28 Tagen Lagerung bei 20 °C, bezogen auf Tocopherol-stabilisiertes Fischöl)

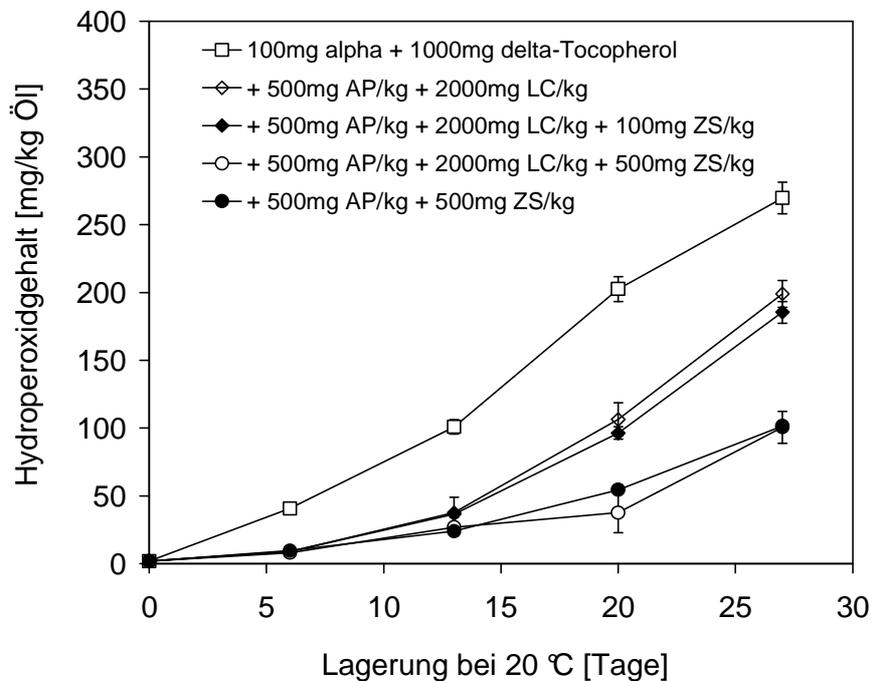


Abbildung 25: Der Einfluss eines Zitronensäurezusatzes auf die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in Fischöl stabilisiert mit Tocopherolen Ascorbylpalmitat und Lecithin

Durch den Einsatz eines Komplexbildners (Zitronensäure) konnte die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts reduziert werden (Abbildung 25). Da ein Zusatz von 100 mg/kg Öl keine zusätzliche Stabilisierung gegenüber dem Öl, das nur mit Ascorbylpalmitat, Tocopherol und Lecithin stabilisiert war, muss davon ausgegangen werden, dass auch das Lecithin chelierende Eigenschaften besitzt. Ein Zusatz von 500 mg Zitronensäure/kg Öl führte zu einer Stabilitätserhöhung, unabhängig vom Lecithinzusatz.

Der Zusatz eines carnosolsäurereichen Rosmarinextrakts zu der ternären Kombination bestehend aus Tocopherolen (100mg α -/1000 mg δ -Tocopherol) Ascorbylpalmitat (500 mg/kg) und Lecithin (2000 mg/kg) führte zu einer sehr deutlichen Inhibierung der Lipidoxidation (Abbildung 26). Nach 46 Tagen Lagerung bei 20 °C betrug der Hydroperoxidgehalt $12,6 \pm 0,5$ mmol/kg, der Propanalgehalt betrug $4,6 \pm 0,6$ μ mol/kg Öl. Die binäre Kombination von Tocopherolen und Rosmarinextrakt zeigte eine vergleichbare Wirksamkeit. Der Synergismus von α -Tocopherol und Carnosolsäure wurde von Hopia et al. (35) mit der Regeneration des Tocopherols erklärt. Darüber hinaus wird für Carnosolsäure auch die Eigenschaft, Radikale zu stabilisieren beschrieben (Kochhar and Rossell, 1990; zitiert in (36), so dass der Wirkmechanismus mit dem des Ascorbylpalmitats vergleichbar ist. Carnosolsäure besitzt jedoch ein niedrigeres Halbstufenpotential als Ascorbylpalmitat und kann daher als effektiverer Synergist angesehen werden (37). Entsprechend war in den Versuchen der vorliegenden Arbeit die Kombination von Tocopherolen mit carnosolsäurereichem Rosmarinextrakt (1000 mg/kg = 400 mg Carnosolsäure/kg = 1,2 mmol/kg) deutlich effektiver als die Kombination mit 500 mg Ascorbylpalmitat/kg (= 1,2 mmol/kg).

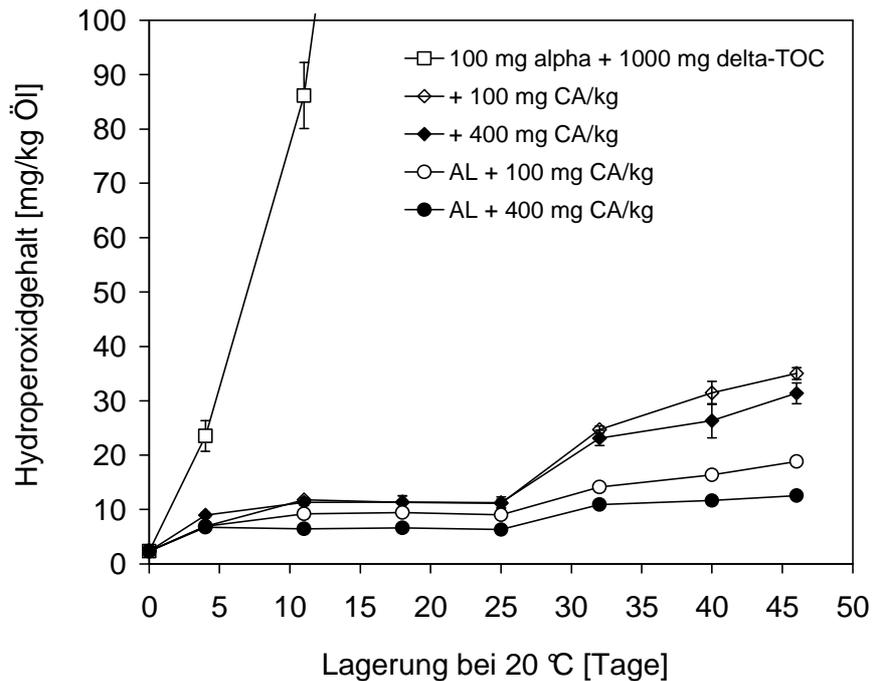


Abbildung 26: Der Einfluss des Zusatzes eines Carnosolsäure-reichen Rosmarinextrakts auf die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in Fischöl stabilisiert mit Tocopherol bzw. Tocopherol, Ascorbylpalmitat und Lecithin.

Für die Stabilisierung LCPUFA-reicher Öle in sprühgetrockneten Emulsionen ist zusätzlich zur Stabilisierung des Öls per se der Herstellungsprozess und die Stabilität des Öls im Mikropartikel zu berücksichtigen. Grundsätzlich kann der Herstellungsprozess in vier Teilschritte untergliedert werden: (1) die Herstellung einer Dispersion bzw. Voremulsion, (2) den Emulgierprozess, (3) die Zerstäubung der Emulsion und (4) die Trocknung der Emulsionströpfchen (38). Gegenüber den in der Literatur untersuchten fischölbasierten o/w-Emulsionen zeichneten sich die Sprühemulsionen durch eine hohen Trockenmassegehalt von 45 % und einen hohen Ölanteil von 40 % in der Trockenmasse aus. Da Sprühemulsionen i.d.R. innerhalb kürzester Zeit (mit einer maximalen Standzeit von einigen Stunden) weiterverarbeitet werden, liegt das Hauptaugenmerk auf der Stabilisierung während des Herstellungsprozesses.

In den Projektarbeiten konnte in chromatographisch aufgereinigtem Fischöl nach Dispergieren und Homogenisieren ein Anstieg des Hydroperoxidgehalts um ca. 15 mmol/kg Öl beobachtet werden (Abbildung 27). Der Dispergierschritt unter Verwendung verschiedener Dispergierwerkzeuge führte dabei zu einem Anstieg um ca. 9 mmol/kg Öl, das nachfolgende Homogenisieren zu einem Anstieg um weitere 4-6 mmol/kg Öl. Durch den Einsatz von Tocopherolen konnte die Lipidoxidation reduziert werden, auch während des Homogenisierens zeigte sich der für die Stabilisierung von Ölen beschriebene Effekt der Wirkungsumkehr bei hohen α -Tocopherolkonzentrationen.

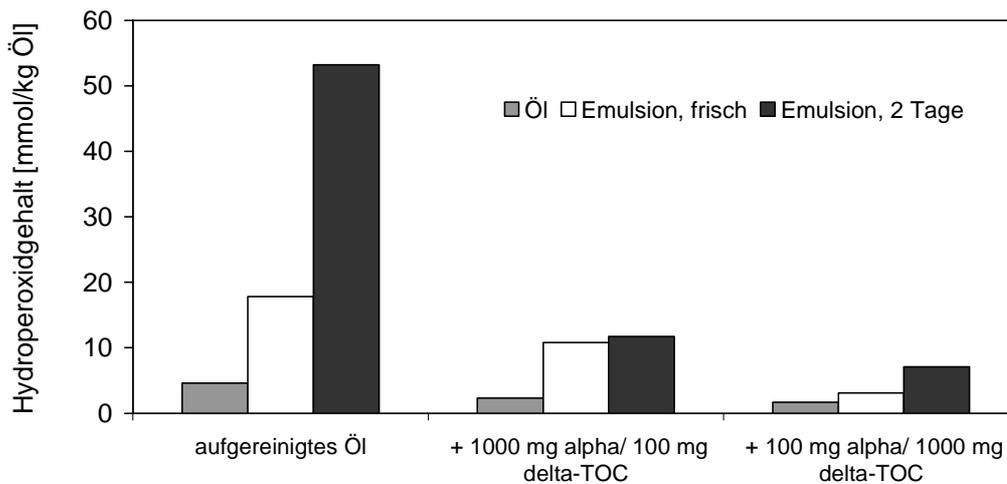


Abbildung 27: Der Hydroperoxidgehalt in Fischölemulsionen in Abhängigkeit von der Stabilisierung mit unterschiedlichen Kombinationen von Tocopherolderivaten

Als geeignete Strategie zur Stabilisierung von Emulsionen während der Emulsionsherstellung konnte die Kombination von lipophilen primären Antioxidantien in Kombination mit hydrophilen Chelatoren identifiziert werden. Eine effiziente Stabilisierung wurde durch die Kombination von Tocopherolen (100 mg α -/1000 mg δ -Tocopherol), Ascorbylpalmitat und Zitronensäure (jeweils 500 mg) erreicht. Bei der Auswahl muss jedoch die Zusammensetzung der spezifischen Matrix berücksichtigt werden. Chelierende Agenzien können z.B. die Löslichkeit von Metallionen und deren Redox-Potential verändern, die Freisetzung von proteingebundenen Metallionen durch Ascorbat ist ebenfalls beschrieben (39). Sinapinsäure erwies sich sowohl bei äquimolarer Substituierung des primären Antioxidans Tocopherol als auch des Ascorbylpalmitat als weniger effizient im Hinblick auf die Inhibierung der Hydroperoxidbildung.

4.3.2 Testung von Antioxidantien und Komplexbildnern in ausgewählten Rezepturen

Hinsichtlich der Lagerungsstabilität mikroverkapselter Öle wurde in der vorliegenden Studie angenommen, dass eine Prävention oxidativer Veränderungen lediglich durch lipophile Antioxidantien erreicht werden kann. Hydrophile Antioxidantien (einschließlich sekundärer Antioxidantien wie z.B. chelierenden Substanzen) sind in der amorphen Matrix immobilisiert.

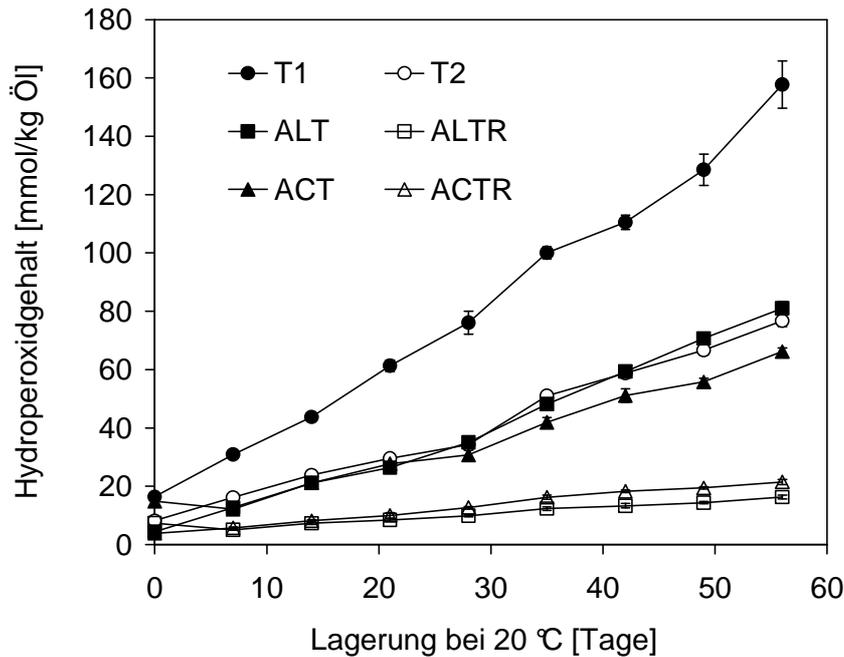


Abbildung 28: Der Einfluss der Stabilisierung des Öls mit verschiedenen Kombinationen von Tocopherolderivaten, Ascorbylpalmitat, Lecithin, Citrem und carnosolsäurereichem Rosmarinextrakt auf die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in sprühgetrockneten Fischölemulsionen

Die effiziente Stabilisierung des Kernmaterials durch Zusatz einer Kombination von Tocopherolderivaten, Synergisten in Form von Ascorbylpalmitat und einem carnosolsäurereichen Rosmarinextrakts sowie eines chelierenden Agens spiegelt sich in der hohen Stabilität des mikroverkapselten Öls wider (Abbildung 28) und unterstützt damit die getroffene Annahme. Der äquimolare Austausch der als primäres Antioxidans wirkenden Tocopherolderivate durch Sinapinsäure verringerte die Stabilität des mikroverkapselten Öls (Abbildung 29). Eine Substitution des synergistisch wirkenden Ascorbylpalmitats ist hingegen möglich.

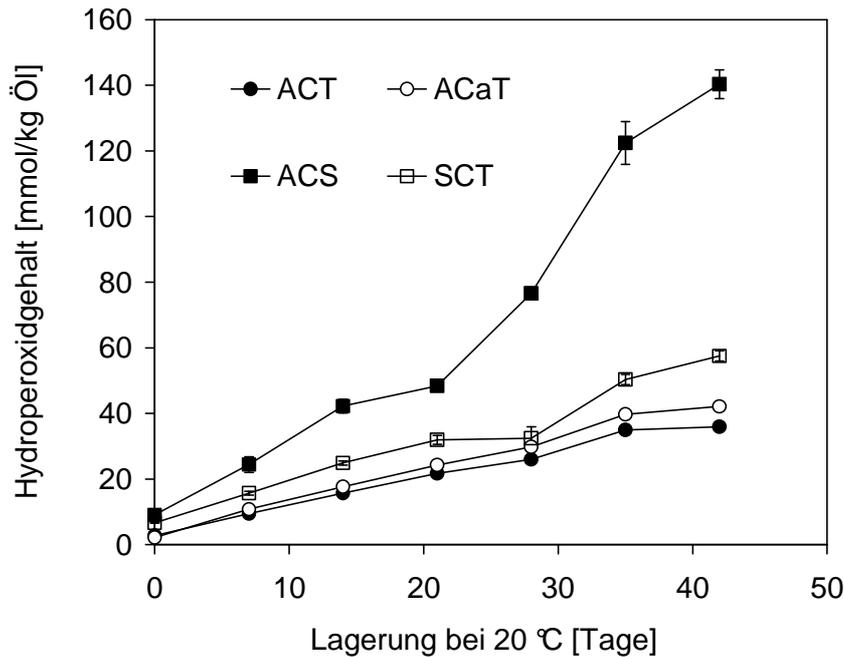


Abbildung 29: Der Einfluss der Stabilisierung des Öls mit verschiedenen Kombinationen von Tocopherolderivaten, Ascorbylpalmitat, Zitronensäure, Citrem und Sinapinsäure auf die Entwicklung des Hydroperoxidgehalts in sprühgetrockneten Fischöl-Emulsionen

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Versuche zur Beurteilung der Stabilität und Stabilisierung von Ölen reich an LCPUFAs sollten unter moderaten Temperaturen durchgeführt werden.
- Hinsichtlich der Stabilisierung von Bulköl sind bei Tocopherolderivaten Kombinationen reich in γ - oder δ -Tocopherol und niedrig im α -Tocopherolgehalt zu favorisieren.
- Die Antioxidansformulierung sollte Synergisten (Ascorbylpalmitat oder Carnosolsäure) enthalten. Für Carnosolsäure ist ein Gehalt von 400mg/kg Öl ausreichend.
- Der Einsatz chelierender Substanzen sollte auf den Fe^{2+} - und Cu^{2+} - Gehalt des Öls abgestimmt werden. Als Alternative zu Zitronensäure kann Lecithin reich an Phosphatidylethanolamin verwendet werden.
- Als geeignete Strategie zur Stabilisierung von Sprühemulsionen konnte die Kombination von lipophilen primären Antioxidantien in Kombination mit hydrophilen Chelatoren identifiziert werden.
- Eine Prävention oxidativer Veränderungen in mikroverkapselten Ölen kann vorrangig über lipophile Antioxidantien erreicht werden.
- Eine äquimolare Substitution von Tocopherol durch Sinapinsäure führt zu einer Abnahme der Aktivität des Radikalfängers in Anwesenheit von Ascorbylpalmitat in Emulsionen und sprühgetrockneten Emulsionen. Eine äquimolare Substitution der für LCPUFA-reiche Öle

notwendigen hohen Tocopherolkonzentration durch Sinapinsäure ist weniger effizient. Eine Substitution von Ascorbylpalmitat durch Sinapinsäure ist hingegen möglich.

4.4 Identifizierung von Schlüsselverbindungen für das Fehl aroma von oxidiertem Fischöl, Entwicklung von Indikatorverbindungen (FS1, FS3)

Wie die Literaturübersicht zeigt, wurde das Konzept der „Molekularen Sensorik“, d.h. die Aufklärung der Struktur aromaaktiver Verbindungen und eine Korrelation der Konzentration zum Geruchsschwellenwert bisher weder für einzelne ω -3 Fettsäuren noch bei Fischölen durchgeführt. Ziel der Arbeit war es daher, zunächst in Modellversuchen an einzelnen ω -3 Fettsäuren die bei der Autoxidation entstehenden, geruchsaktiven Verbindungen strukturell aufzuklären und anhand von Stabilisotopenassays quantitativ zu bestimmen. Danach sollten diese Verbindungen als Indikatoren zur Bewertung der Aromaqualität von Fischöl bzw. verkapseltem Fischöl genutzt werden.

4.4.1 Modellversuche zur Peroxidation von ω -3-Fettsäuren (FS3)

4.4.1.1. Aromaprofil autoxidierter ω -3-Fettsäuren

Aufgrund von Literaturdaten kann angenommen werden, dass insbesondere durch oxidativen Abbau von ω -3 Fettsäuren flüchtige Verbindungen gebildet werden, die den fischigen Geruch von Fischölen hervorrufen. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden α -Linolensäure (ALA; C18:3), Eicssapentaensäure (EPA; C20:5) und Docosahexaensäure (DHA; C22:6) in Anwesenheit von Cu^{2+} -Ionen und Licht in Modellversuchen peroxidiert. Die flüchtige Fraktion wurde durch Aufnehmen in Diethylether und anschließende SAFE-Destillation isoliert. Die durch SAFE-Destillation gewonnenen Extrakte wurden zunächst von einem Sensorikpanel bewertet. Die trainierten Mitglieder dieses Panels bewerteten verschiedene einzelne Geruchseindrücke im Vergleich zu den drei Destillaten. Dabei wurden folgende Einstufungen von 0 = nicht wahrnehmbar bis 3 = deutlich wahrnehmbar verwendet (Abbildung 30).

Während DHA und EPA sich im Aromaprofil relativ ähnlich waren, wich ALA deutlich von beiden Fettsäuren ab. Das Destillat aus autoxidierter EPA zeigte einen stärker tranigen und käsigen, sowie fettigeren Gesamteindruck als das Destillat aus DHA, letztere dagegen roch stärker nach Kleber als EPA. Im Destillat von oxidiertem ALA traten hingegen die angenehmen Geruchseindrücke, z.B. Wassermelone und Gurke, deutlicher hervor, wogegen z.B. der tranige Geruchseindruck wesentlich geringer war.

Zusätzlich zum Aromaprofil sollten die Panelmitglieder eine hedonische Bewertung des Eindruckes (1 = sehr angenehm bis 6 = sehr unangenehm) sowie zusätzlich die Intensitäten des fischigen Gesamteindruckes (0 = nicht wahrnehmbar bis 3 = deutlich wahrnehmbar) bewerten.

Beide Bewertungen (Tabelle 7) zeigten die Bewertung „unangenehm“ für das Destillat aus DHA und EPA, wobei letztere als deutlich unangenehmer empfunden wurde. Der fischige Gesamteindruck war bei beiden Ansätzen deutlich zu erkennen.

ALA wich, wie auch beim Aromaprofil, klar von DHA und EPA ab. Die bessere Bewertung bezüglich der hedonische Bewertung (Akzeptanz) und die geringere Ähnlichkeit mit Fisch sind möglicherweise durch die stärkeren Eindrücke von angenehmen Noten, wie Wassermelone und Gurke erklärbar (Abbildung 30).

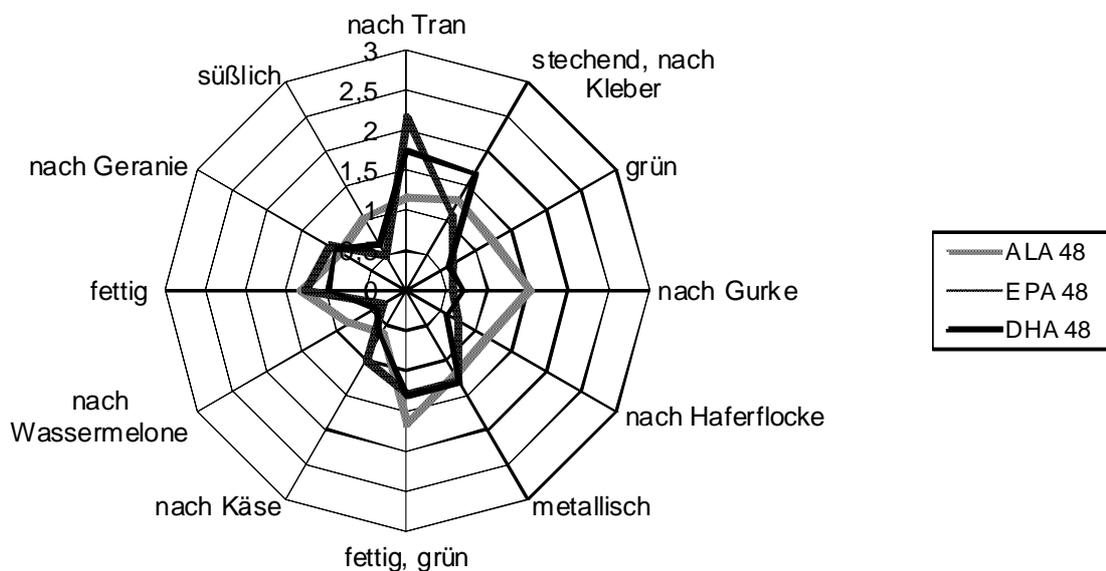


Abbildung 30: Aromaprofil der Destillate aus den 48 h autoxidierten ω -3 Fettsäuren ALA, DHA und EPA

Tabelle 7: Hedonische Bewertung der Destillate aus den drei autoxidierten Fettsäuren

Ansatz	hedonische Bewertung ^a	fischiger Gesamteindruck ^b
ALA	2,2	0,6
DHA	4,2	2,1
EPA	5,1	2,2

^a 1 = angenehm, 6 = sehr unangenehm.

^b 0 = nicht wahrnehmbar, 3 = sehr intensiv.

4.4.1.2. Ergebnisse der Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA)

Zur Klärung der Frage nach den geruchsaktivsten Verbindungen wurden die drei Destillate einer Aromaextraktverdünnungsanalyse unterzogen. Dazu wurden zunächst die aromaaktiven Verbindungen durch GC-Olfaktometrie lokalisiert, die Aromaintensität durch Abriechen gestufter Verdünnungen bestimmt (AEVA) und schließlich die Geruchsstoffe strukturell aufgeklärt. Die Ergebnisse der Identifizierungsexperimente in Kombination mit den Aromaqualitäten und FD-Faktoren sind in Tab. 3 zusammengefasst. Den höchsten FD-Faktor in allen drei Destillaten wies Verbindung 25 auf, die mit einem metallisch, stechenden Geruch wesentlich zum Gesamtaroma beitragen sollte. Einzelheiten zur Identifizierung sind dem folgenden Abschnitt zu entnehmen.

Strukturaufklärung von Verbindung 25

Über Geruch, RI-Werte, und Massenspektrum in EI-Modus konnte eine hohe Ähnlichkeit zu trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal festgestellt werden (Geruch: metallisch, stechend, RI-Werte: FFAP 2000, DB 5 1380). Die Unterschiede in den RI-Werte legten die Vermutung nahe, dass die unbekannte Verbindung etwas polarer war. Eine weitere Doppelbindung wurde postuliert, da die molare Masse (Verbindung Nr. 26: 166 g/mol, trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal: 168 g/mol) diese Vermutung unterstützte. Die Aufnahme des NMRs (Tabelle 8) nach Reinigung des Destillates mittels Normalphasen-HPLC bestätigte die Annahme, dass sich die neue Verbindung lediglich in einer zusätzlichen Doppelbindung von trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal unterschied. Die Stellung dieser Doppelbindung an C7 und C8 konnte über das 1H-NMR aufgeklärt werden.

Tabelle 8: Vergleich der 1H-NMR Daten von trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal und Verbindung Nr. 26

	(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal*	(E)-4,5-Epoxy-(E,Z)-2,7-decadienal
	ppm	ppm
1-CHO	9.57	9.28
2-CH	6.39	6.15
3-CH	6.56	5.78
4-CH	3.33	2.80
5-CH	2.96	2.53
6-CH ₂	1.65	2.14
7-CH	1.48	5.36
8-CH	1.33	5.55
9-CH ₂	1.33	1.97
10-CH ₃	0.91	0.97

*Daten aus Lin et al. (1999)

Die Identifizierungsexperimente ermöglichten somit die Identifizierung von Verbindung 25 als trans-4,5-Epoxy-(*E,Z*)-2,7-decadienal.

Ebenfalls von großer Bedeutung in allen drei Ansätzen war das nach Geranienblättern riechende (*Z*)-1,5-Octadien-3-on (Nr. 6, Tabelle 9). Die Verbindung wurde auch in einem Destillat aus autoxidierter α -Linolensäure charakterisiert (Ullrich und Grosch, 1988). Pan identifizierte diese Verbindung ebenfalls beim Abbau von EPA-ethylester aus Seetang, doch erfolgte in dieser Studie keine Bewertung des Einflusses auf das Aroma (Pan et al., 2004a, 2004b).

(*Z*)-3-Hexenal (Nr. 3, Tabelle 9) wies in allen drei Ansätzen ebenfalls einen hohen FD-Faktor auf. Die Verbindung ist als wichtiges Sekundärprodukt der Peroxidation von α -Linolensäure bekannt (Pan et al., 2004; Noble und Nawar, 1971; Badings 1970; Ullrich und Grosch, 1988). Eine weitere, nach Wassermelone riechende Verbindung wurde als (*Z,Z*)-3,6-Nonadienal identifiziert (Nr. 10, Tab. 3). Dieser Aldehyd wurde auch als Inhaltsstoff von Fisch (Josephson et al., 1986; Tressl et al., 1982) sowie in autoxidiertem DHA-methylester (Noble und Nawar, 1971) gefunden.

(*E,Z*)-2,6-Nonadienal (Nr. 12, Tabelle 9) wurde bereits in vielen Studien als Sekundärprodukt von ungesättigte Fettsäuren beschrieben (Pan, 2004a; Noble und Nawar, 1971; Ullrich und Grosch, 1988; Josephson et al., 1986; Hsieh et al., 1989).

(*E,E,Z*)-2,4,6-Nonatrienal (Nr. 22, Tabelle 9) wurde von Schuh und Schieberle (2005) in oxidiertem ALA gefunden und konnte auch in der vorliegenden Studie in allen Ansätzen mit einem hohen FD-Faktor gefunden werden.

Erstaunlicherweise zeigten (*Z*)-4-Heptenal (fischig), (*E,E*)-2,4-Heptadienal (fettig) und 1-Penten-3-on (stechend) dagegen mit unangenehmen Geruchseindrücken nicht die höchsten FD-Faktoren in den Oxidationsansätzen.

Einen hohen FD-Faktor, insbesondere im Destillat aus autoxidiertem EPA wies auch Komponente 7 auf. Aufgrund der im Folgenden beschriebenen Vorgehensweise wurde die Verbindung als (*Z,Z*)-2,5-Octadienal identifiziert.

Tabelle 9: Wichtige Aromastoffe, die mindestens in einem der drei Destillate einen FD-Faktor von ≥ 64 aufwiesen

Nr.	Verbindung	Geruchseindruck	RI		FD in		
			FFAP	DB 5	EPA	DHA	ALA
1	1-Penten-3-on	nach Kleber, stechend	1025	693	64	64	32
2	(Z)-3-Hexenal	grün	1137	802	1024	1024	4096
3	(Z)-4-Heptenal	nach Fisch, nach Tran	1231	908	128	128	32
4	unbekannt	nach Pilz	1291	982	128	4	16
5	unbekannt	süß, frisch	1320	996	32	128	32
6	(Z)-1,5-Octadien-3-on	nach Geranie	1363	987	≥ 8192	≥ 8192	1024
7	(Z,Z)-2,5-Octadienal	süß, nach Honigmelone	1435	1038	1024	512	256
8	(E,Z)-2,4-Heptadienal	fettig	1452	995	64	64	128
9	(E,E)-2,4-Heptadienal	fettig	1485	1017	128	64	256
10	(Z,Z)-3,6-Nonadienal	frisch, nach Wassermelone	1492	1100	1024	1024	512
11	unbekannt	nach Gurke, fettig	1538	1135	512	512	16
12	(E,Z)-2,6-Nonadienal	nach Gurke, fettig	1572	1159	512	512	1024
13	Buttersäure	nach Käse	1618	800	1024	< 1	< 1
14	unbekannt	fettig	1656	–	< 1	128	16
15	unbekannt	fettig	1662	–	64	1024	128
16	unbekannt	säuerlich	1718	–	512	512	128
17	unbekannt	fettig, stechend	1757	–	128	4	8
18	(E,Z,E/Z)-2,4,7-Decatrienal	fettig, stechend	1800	–	256	256	128
19	(E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal	fettig, säuerlich	1817	1289	512	512	64
20	unbekannt	säuerlich	1857	–	256	256	16
21	(E,E,E)-2,4,7-Decatrienal	fettig, nach Gurke	1864	1320	128	256	128
22	(E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal	nach Haferflocken	1871	1277	1024	512	2048
23	unbekannt	muffig, alt	1950	–	128	256	< 1
24	unbekannt	metallisch, stechend	2000	–	256	8	128
25	trans-4,5-Epoxy-(E,Z)-2,7-decadienal	metallisch, stechend	2065	1384	≥ 8192	≥ 8192	≥ 8192
26	unbekannt	fettig, metallisch	2183	1518	64	32	8
27	unbekannt	metallisch, stechend	2476	1667	256	512	16

Strukturaufklärung von Verbindung 7

Unter der Annahme, dass es sich um (Z,Z)-2,5-Octadienal handelt, wurde zunächst versucht, die Verbindung in Anlehnung an eine von Schuh und Schieberle (2005) beschriebene Vorgehensweise aus (Z)-3-Hexenal und einer C-2-Komponente zu synthetisieren. Obwohl die Verbindung in geringen Mengen entstand, wurde eine zweite Komponente in wesentlich höherer Ausbeute gebildet. Diese wurde als (E,Z)-2,5-Octadienal charakterisiert. Die Zuordnung des isomeren (Z,Z)-2,5-Octadienal im Syntheseansatz erfolgte daher mittels Geruchseindruck und MS-Spektren. Diese Merkmale sowie die RI-Werte stimmten mit dem Geruchseindruck von Verbindung 7 überein. Somit konnte die Vermutung, dass es sich um (Z,Z)-2,5-Octadienal handelte, bestätigt werden. (Z,Z)-2,5-Octadienal wurde von Badings (1970) in oxiderter ALA mit einem fettigen, melonenähnlichen Geruch vermutet. Tressl wies die Verbindung in Pilzen nach (Tressl et al., 1982). Mit etwas niedrigeren FD-Faktoren wurden drei Verbindungen mit intensiv fettigen Geruchsqualitäten gefunden, die alle das Massenspektrum von 2,4,7-Decatrienal ergaben. Im Folgenden sind die Details zur Identifizierung der jeweiligen geometrischen Isomere dargestellt.

Identifizierung der Verbindungen 18, 19 und 21

Die geruchsaktiven Verbindungen Nr. 18, 19 und 21 wiesen alle einen ähnlichen Geruchseindruck (fettig) und ein ähnliches MS-Spektrum auf (EI- und CI-Modus). Unter Anwendung eines analogen Syntheseweges nach Schuh und Schieberle (2005) mit (Z)-3-Hexenal als Ausgangssubstanz bestätigte die Vermutung, dass es sich um 2,4,7-Decatrienale handelte. Durch Säulenchromatographie konnten zwei Isomere isoliert und mittels ¹H-NMR analysiert werden. Dadurch konnte die Zuordnung Nr. 19 = (E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal und Nr. 21 = (E,E,E)-2,4,7-Decatrienal getroffen werden. Bei letzterem konnten die Positionen der Doppelbindungen durch NMR belegt werden, aufgrund der Elutionsreihenfolge ist aber vom (E,E,E)-2,4,7-Decatrienal auszugehen. Bei Verbindung 18 führte die Elutionsreihenfolge zu dem Schluss, dass es sich entweder um (E,Z,E)-2,4,7-Decatrienal oder (E,Z,Z)-2,4,7-Decatrienal handeln muss. 2,4,7-Decatrienale wurden bereits als Lipidoxidationsprodukte beschrieben (Pan et al., 2004a; Noble und Nawar, 1971) und bereits mit fischigem Fehl aroma in Verbindung gebracht, allerdings ohne systematische Studien (Badings, 1970; Ke et al., 1975; Meijboom und Stroink, 1972).

4.4.1.3 Quantifizierung von Schlüsselaromastoffen

Um die Unterschiede in den FD-Faktoren der Aromastoffe aus dem Abbau der drei Fettsäuren zu belegen, wurden 12 wichtige Geruchsstoffe als Indikatoraromastoffe mittels Stabillisotopenverdünnsassays (SIVA) quantifiziert. Die höchsten Konzentrationen in den EPA- bzw.

DHA-Ansätzen wiesen (E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal und (Z)-3-Hexenal gefolgt von 1-Penten-3-on auf (Tabelle 10). Wesentliche Unterschiede zum ALA-Ansatz waren die deutlich geringeren Konzentrationen von (E,E,Z)-Decatrienal und 1-Penten-3-on in diesem Ansatz, wohingegen das (Z)-3-Hexenal höhere Konzentrationen im ALA-Modell aufwies.

Tabelle 10: Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$ Fettsäure) wichtiger Geruchsstoffe in den Destillaten aus autoxydierten Fettsäuren

Nr.	Aromastoff	Konzentration [$\mu\text{g/g}$]		
		EPA	DHA	ALA
1	1-Penten-3-on	69,63	79,37	20,42
2	(Z)-3-Hexenal	182,47	173,03	216,49
3	(Z)-4-Heptenal	9,05	9,57	3,06
6	(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,81	1,98	0,02
7	(Z,Z)-2,5-Octadienal	0,35	0,63	0,28
10	(Z,Z)-3,6-Nonadienal	2,85	6,68	1,28
12	(E,Z)-2,6-Nonadienal	6,13	3,78	2,84
19	(E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal	427,62	605,16	58,06
21	(E,E,E)-2,4,7-Decatrienal	13,53	15,13	5,76
22	(E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal	6,48	6,89	6,03
26	trans-4,5-(E,Z)-2,7-Epoxy-decadienal	7,74	9,45	1,65

Im Hinblick auf die Aromaintensität „fischig“ sind aber aufgrund der niedrigen Geruchsschwelle sicherlich die deutlich höheren Gehalte von 1-(Z)-5-Octadien-3-on, (Z)-4-Heptenal und trans-4,5-Epoxy-(E,Z)-2,7-decatrienal in den DHA- und EPA-Ansätzen von Bedeutung.

In der Literatur wurde oft lediglich über den relativen Anteil an der Gesamtpeakfläche quantifiziert, so dass ein Vergleich mit den hier ermittelten Daten nur schwer möglich ist (Pan et al., 2004, 2005, Frankel, 2005). Ullrich (1989) quantifizierte die Gehalte an 1-Penten-3-on, (Z)-3-Hexenal, (Z)-1,5-Octadien-3-on und (E,Z)-2,6-Nonadienal nach der Autoxidation von α -Linolensäure bzw. α -Linolensäuremethylester (Tabelle 11). In der Tabelle sind aber deutliche Unterschiede zu den Daten von Ullrich zu erkennen, was u.a. durch die unterschiedliche Aufarbeitung erklärt werden kann.

Tabelle 11: Vergleich der quantitativen Ergebnisse der vorliegenden Studie mit Daten zu α -ALA nach Ullrich und Grosch (1988)

Nr.	Aromastoff	Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
		Ullrich	EPA	DHA	ALA
1	1-Penten-3-on	83	69,63	79,37	20,42
2	(Z)-3-Hexenal	10	182,47	173,03	216,49
6	(Z)-1,5-Octadien-3-on	0,1	0,81	1,98	0,02
12	(E,Z)-2,6-Nonadienal	13	6,13	3,78	2,84

4.4.1.4. Rekombinat des EPA-Autoxidationsansatzes

Anhand der für die autoxydierte EPA quantitativen Daten wurde ein Rekombinat erstellt und dieses einem trainierten Sensorikpanel im Vergleich zum Destillat aus der autoxydierten Fettsäure angeboten (Abbildung 31). Anschließend wurde eine Gesamtbeurteilung der Ähnlichkeit erstellt. Das Aromaprofil des Rekombinates erhielt vom Sensorikpanel die Bewertung 2,4, d.h. es konnte eine sehr gute Übereinstimmung mit dem Destillat gefunden werden. Der wesentliche Unterschied zum Destillat war eine intensivere fettige Note im Rekombinat. Mit nur 12 Verbindungen konnte somit das Aroma des Destillates aus oxidierte EPA gut simuliert werden. Insbesondere die sehr gute Übereinstimmung der Intensität der „fischig, trani- gen“ Note zeigt, dass die 12 entscheidenden Aromastoffe identifiziert und quantifiziert wurden.

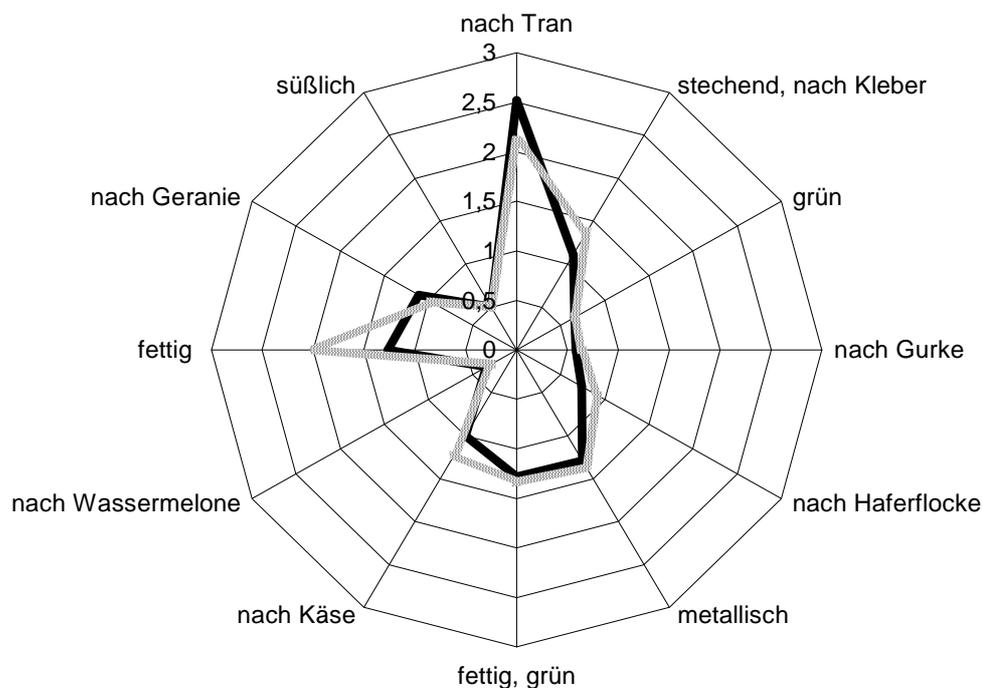


Abbildung 31: Aromaprofil des Rekombinats von autoxydierter EPA (grau) im Vergleich zum Originaldestillat (schwarz)

4.4.2 Untersuchungen zur Klärung von aromaaktiven Verbindungen in oxidiertem Fischöl (FS3)

4.4.2.1. Aromaaktive, flüchtige Abbauprodukte in Menhadenöl nach forcierter Oxidation

Um aromaaktive Abbauprodukte in oxidiertem Fischöl zu analysieren, wurde Menhadenöl (Omevital 18/12 TG Gold), das auch für die Mikroverkapselung verwendet wurde, einer forcieren Oxidation unterzogen. Zur forcieren Bildung von aromaaktiven Abbauprodukten wurde dem Öl Cu-(II)-Palmitat zugesetzt und für 48 h bzw. 96 h belichtet. Das Fischöl hatte einen Anteil von 18% EPA und 12% DHA. Um zunächst Abweichungen durch unterschiedliche Chargen auszuschließen, wurde frisches Fischöl, jeweils vor und nach der Oxidation, aus zwei unterschiedlichen Chargen mittels Aromaprofilanalyse verglichen.

In Abbildung 32 sind die jeweiligen Aromaprofile gegenübergestellt. Die Geruchsaktivität des undesodorierten Ausgangsmaterials, wirkte sich bereits auf die Geruchsaktivität des oxidierten Öls aus. So war Fischöl A vor und nach der Oxidation jeweils fischiger/traniger im Vergleich zu Fischöl B.

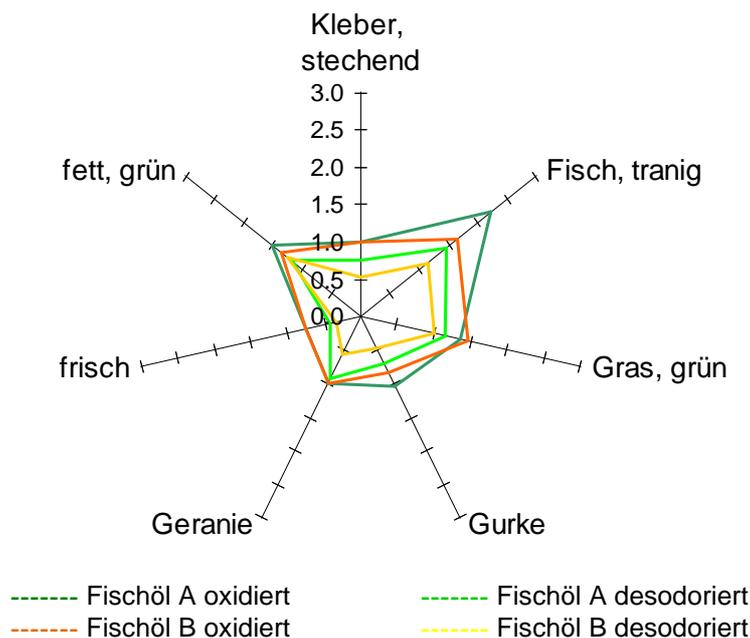


Abbildung 32: Aromaprofile von Menhadenöl zweier Chargen, jeweils vor und nach der Oxidation

Anschließend wurden die Aromastoffe bzw. flüchtige Fraktion durch Extraktion/Destillation isoliert und das Destillat einer AEVA unterzogen (Abbildung 33). Im FD-Chromatogramm trat eine Vielzahl aroma-aktiver Verbindungen auf, unter denen 14 Komponenten hohe FD-Faktoren im Bereich 256-4096 aufwiesen.

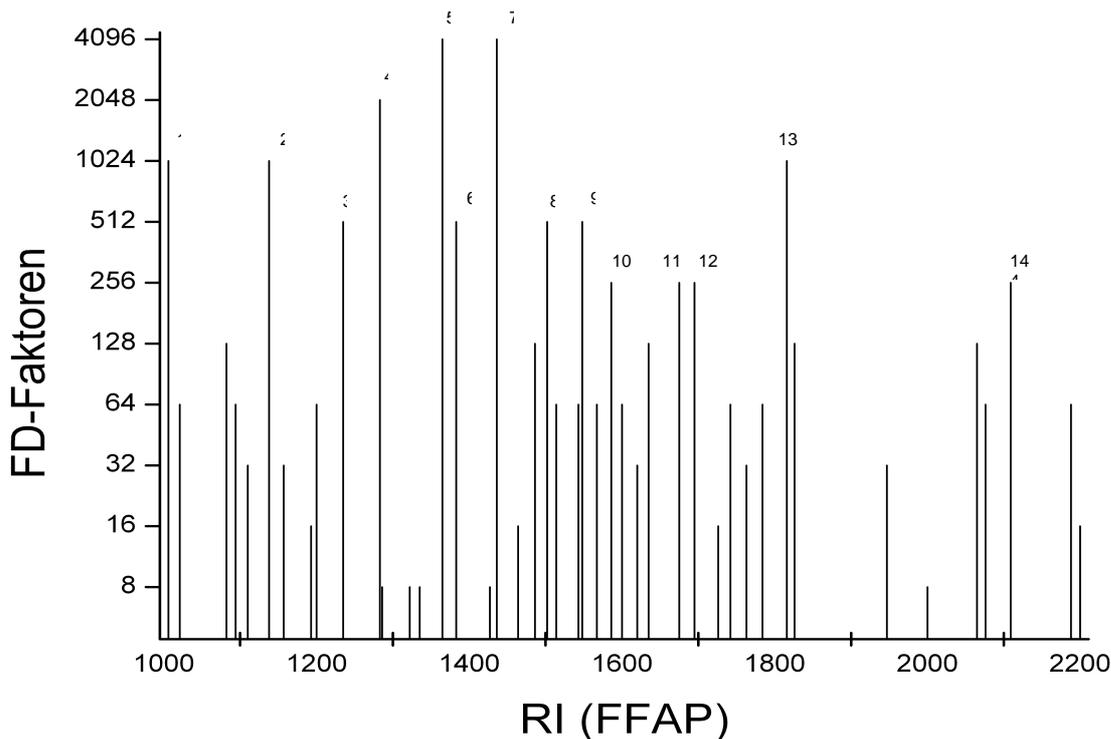


Abbildung 33: FD-Chromatogramm des 96 h belichteten Fischöls (Omevital; Cognis)

Die Ergebnisse der Identifizierungsexperimente in Kombination mit den FD-Faktoren zeigten (Z)-1,5-Octadien-3-on sowie eine unbekannte, terpenartig riechende Komponente mit den höchsten FD-Faktoren (FD 4096). In Tabelle 12 sind die weiteren wichtigen aromaaktiven Verbindungen nach 96 h Belichtung den Daten aus einer 48-stündigen Belichtung/Oxidation gegenübergestellt.

Tabelle 12: Wichtigste aromaaktive Verbindungen (FD \geq 256) von 96 h oxidiertem, belichtetem Fischöl im Vergleich zu 48 h belichtetem Fischöl

Nr.	Verbindung	FD		Nr.	Verbindung	FD	
		96h	48h			96h	48h
5	(Z)-1,5-Octadien-3-on	\geq 4096	4096	6	(E,Z)-1,3,5-Undecatrien	512	512
7	unbekannt (terpenartig)	\geq 4096	1024	8	(Z,Z)-3,6-Nonadienal	512	1024
4	1-Octen-3-on	2048	1024	9	Unbekannt (gurkig)	512	2048
1	1-Penten-3-on	1024	256	10	(E,Z)-2,6-Nonadienal	256	1024
2	(Z)-3-Hexenal	1024	2048	11	Unbekannt (fettig)	256	128
13	2,4,7-Decatrienal	1024	512	12	(E,E)-2,4-Nonadienal	256	64
3	(Z)-4-Heptenal	512	1024	14	unbekannt (nasses Hundefell)	256	2048

Weitere Aromastoffe die in belichtetem Fischöl auftraten (Daten nicht gezeigt) waren trans-4,5-Epoxy-2,7-decadienal (metallisch), 1-Penten-3-ol, (E,E)-2,4-Decadienal, (E,Z)-2,4-

Decadienal, (E,E)-2,4-Heptadienal, Hexanal, (E)-2-Hexenal, Nonanal, (E,E)-2,4-Nonadienal, (E,Z)-2,4-Nonadienal, (E)-2-Nonenal, (Z)-2-Nonenal, Octanal, (E)-2-Octenal, (E)-2-Pentenal, Butandion, γ -Heptalacton, δ -Octalacton, γ -Nonalacton, δ -Nonalacton und Essigsäure.

Identifizierung von Verbindung 7

Ein eindeutiger Peak im Gaschromatogramm konnte dem unbekanntem Aromastoff Nr. 7 nicht zugeordnet werden. Daher wurde das Destillat mittels Säulenchromatographie fraktioniert, wobei die Verbindung in Eluat A (100% Pentan) gefunden wurde, ein mögliches Indiz für unpolare Verbindungen. Durch den frisch, terpenartigen Geruch und die RI-Werte auf zwei unterschiedlich polaren Säulen: 1438 (FFAP) und 1188 (SE 54) wurde (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen (Trivialname: Finaverren) vermutet. Zunächst konnte aber kein MS-Spektrum erhalten werden. Mittels zweidimensionaler Massenspektrometrie (GC/GC-MS) mit Sniffing-Port an beiden GCs gelang es aber, das Spektrum eindeutig dem (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen zuzuordnen. Im CI-Modus konnte die molekulare Masse von 148 bestätigt werden. In Abbildung 34 ist das MS dargestellt, das durch höhere Aufarbeitungsmengen erhalten wurde. (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen wurde in Braunalgen als Lockstoff für Gameten gefunden (Pettus et Moore 1970) und auch in den Braunalgengattungen *Dictyosiphon foeniculaceus* und *Asphyllum nodosum* gefunden (Pohnert et Boland 2002). (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen wurde auch in höheren Pflanzenarten, wie in Ananas und Mango entdeckt (Berger 1985). Im Bereich der Fischprodukte fand German et al. (1991) (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen im Kiemenhomogenat der Regenbogenforelle, allerdings wurde kein Massenspektrum erhalten.

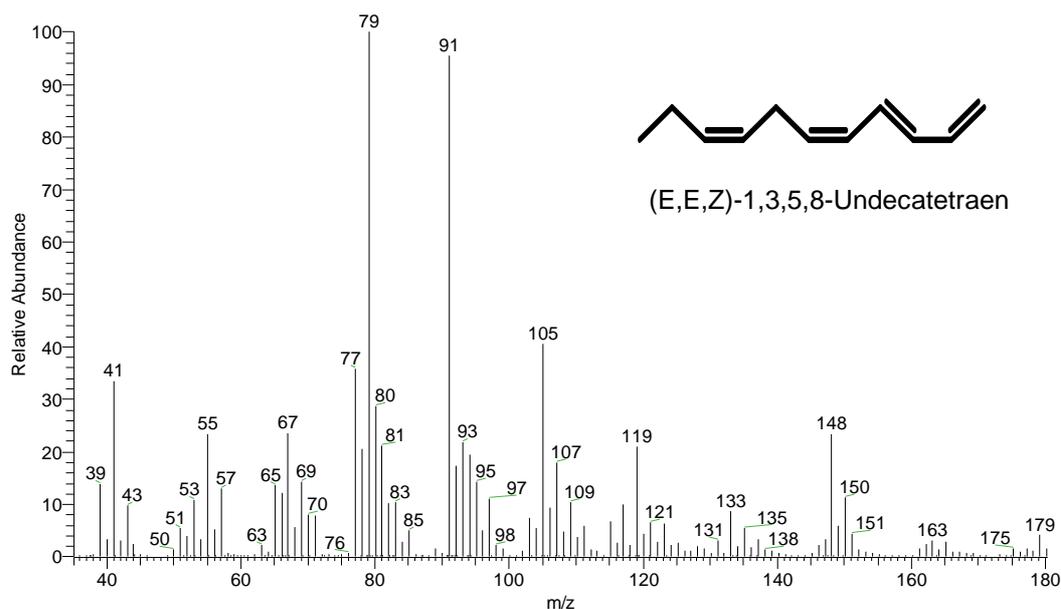


Abbildung 34: Spektrum der als (E,Z,Z)-1,3,5,8,-Undecatetraen identifizierten unbekanntem Verbindung Nr. 7

Identifizierung der Verbindung 14 (Tabelle 12)

In belichtetem Menhadenöl trat eine unbekannte Verbindung mit einem $FD \geq 256$ mit den RI-Werten 1673 (DB 5) und 2098 (FFAP), die durch ihren eigentümlichen Geruch nach „nassem Hundefell“ hervortrat. Da kein Peak zu erkennen war, der dem Aromastoff zugeordnet werden konnte, wurde zunächst mittels Kieselgelsäulenchromatographie versucht, die Verbindung anzureichern. Die Verbindung wurde mittels Pentan/Ether 80:20 von Kieselgel eluiert, einen möglichen Indiz für einen Aldehyd. Durch ein zweidimensionales GC/MS konnte der gesuchte Aromastoff schließlich angereichert und ein MS-Spektrum erhalten werden (Abbildung 35). Das MS-CI-Spektrum zeigte eine Molmasse von 190 (Abbildung 36).

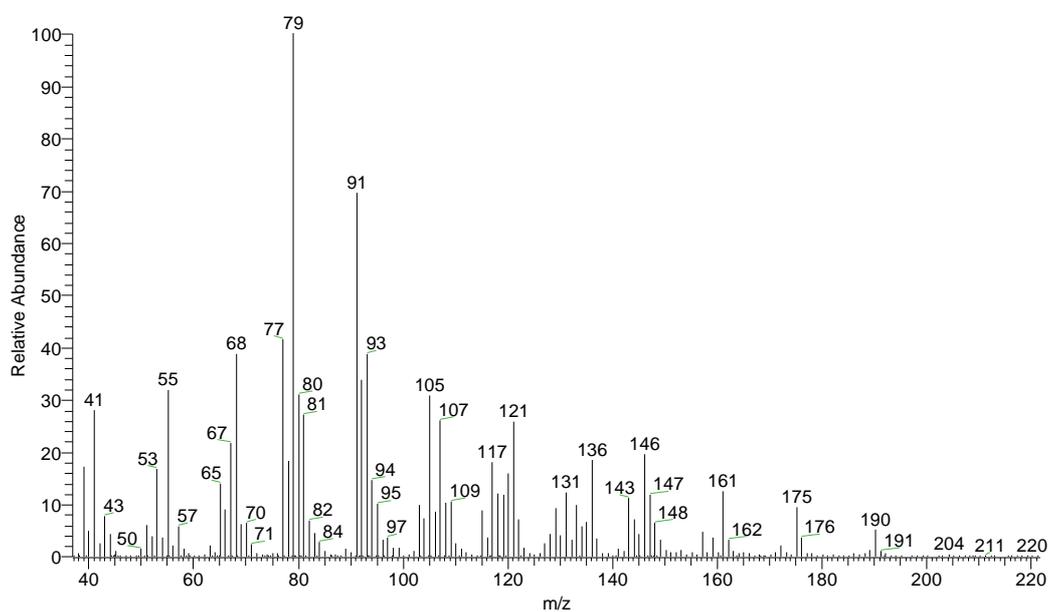


Abbildung 35: MS-Spektrum der Verbindung 14 im EI-Modus

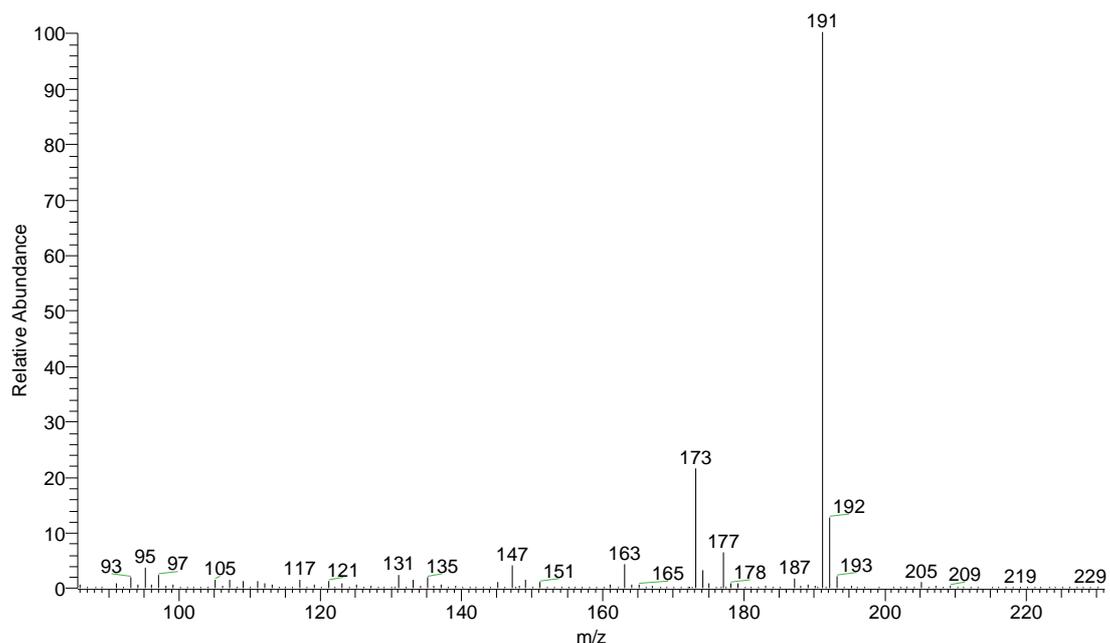


Abbildung 36: MS-Spektrum der Verbindung 14 im CI-Modus

Die Differenz von 18 zur Massenspur m/z 173 (Abb. 7) könnte auf eine Wasserabspaltung deuten. Massenspektren von anderen dreifach ungesättigten Aldehyden, z.B. (E,E,E)-2,4,6-Nonatrienal, (E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal und (E,Z,Z)-2,4,7-Tridecatrienal zeigen ebenfalls die Massen m/z 79 und m/z 91 als wichtige Fragmente. Aufgrund der Molekülmasse von 190 konnte somit die Struktur eines Tetraenals vermutet werden, z.B. des Tridecatetraenals. Vergleichende MS-Daten von anderen Tetraenalen wurden in der Literatur nicht gefunden, jedoch aber Spektren von Dien-, Trien- und Tetraenen. Millar (2000) zeigte anhand von Nonadecadi-, tri- und tetraen die jeweils charakteristischen Massenpeaks. Auch hier waren für die Triene und Tetraene die Massenspuren 79 und 91 von großer Bedeutung. Auch bei langkettigen Methylestern von langkettigen Fettsäuren mit Dreifach- und Vierfachbindung waren m/z 79 und m/z 91 die Hauptfragmente (Noble et al. Nawar 1971 b). Noble et al. Nawar (1971 a) vermuteten Tridecatetraenal als Autoxidationsprodukt aus Methyl-4,7,10,13,16,19-Docosahexanoat; ein eindeutiger Nachweis konnte aber aufgrund fehlender Referenzsubstanz nicht erbracht werden. Broekhof et al. (1986) synthetisierten ein Tridecatetraenal-Isomer. Das entstandene Isomer (E,Z,Z)-2,4,7,12-Tridecatetraenal, das mit einem „grünen, strengen Geruch nach Alge, Metall, Maiglöckchen, Fett, Nitril und Meer“ beschrieben wurde. Leider sind dort aber keine Angaben über RI-Werte und MS-Spektren vorhanden.

In Anlehnung an die Synthese von Nonatrienal und Decatrienal (Schuh und Schieberle, 2005) wurde Tridecatetraenal mittels Wittig-Reaktion synthetisiert. Obwohl die gesuchte unbekannte Verbindung in Spuren entstand, wurde hauptsächlich ein leicht fettig riechendes Isomer mit RI = 2573 (FFAP) gebildet.

Um das MS-Spektrum der Verbindung 14 mit einem Tridecatetraenal-Isomer vergleichen zu können, wurde dann über eine basenkatalysierte Aldoladdition all-trans-2,4,6,8-Tridecatetraenal synthetisiert. Hierbei stellte sich heraus, dass bei der Wittig-Reaktion als Hauptprodukt all-trans-2,4,6,8-Tridecatetraenal gebildet wurde. Die Struktur wurde mittels H-NMR und COSY überprüft (Abbildung 37).

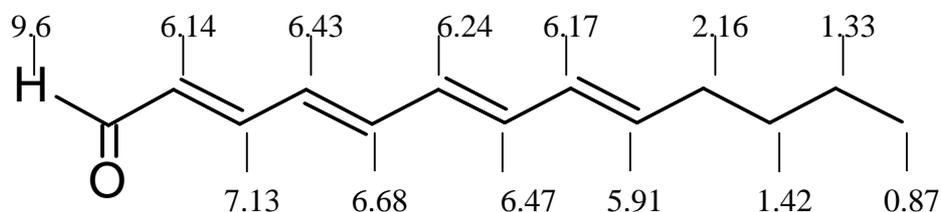


Abbildung 37: Struktur von all-trans-2,4,6,8- Tridecatetraenal mit Zuordnung der δ -Werte aus NMR-Daten

Verglichen mit dem MS-Spektrum des gesuchten Isomers waren die Massenfragmente m/z 79, 91, 105, 161 und 147 ebenfalls im all-trans-2,4,6,8- Tridecatetraenal von Bedeutung (Abbildung 38).

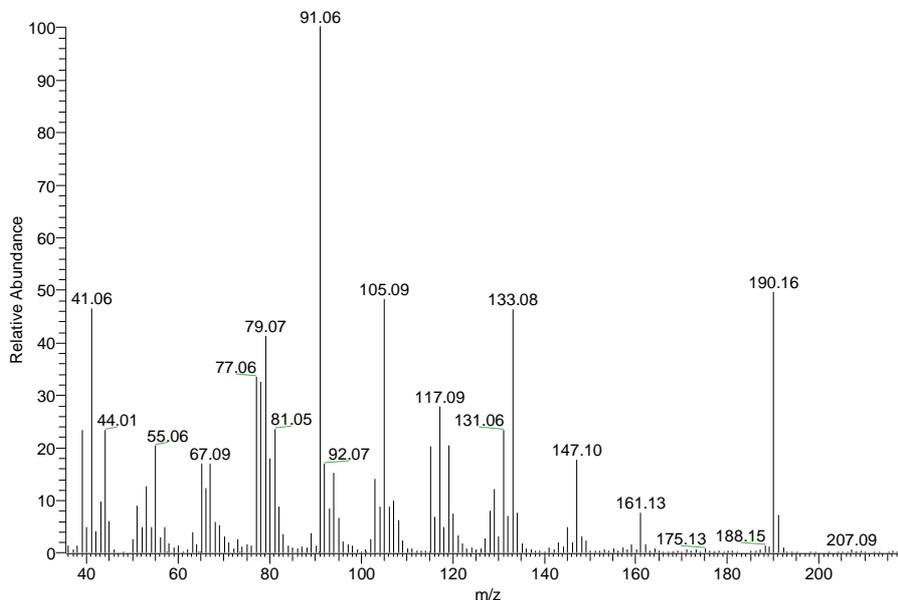


Abbildung 38: Massenspektren (MS-EI) von all-trans-2,4,6,8,-Tridecatetraenal

Da sich Verbindung 14 und das synthetisierte all-trans-2,4,6,8,-Tridecatetraenal lediglich hinsichtlich der RI-Indices unterschieden (vgl. Tabelle 13), wurden zunächst Daten aus der Literatur zu ungesättigten Aldehyden mit 13 C-Atomen gesucht.

In Tabelle 14 sind alle bekannten Literaturdaten über RI-Indices von Aldehyden mit 13 C-Atomen aufgelistet. Je mehr trans-Doppelbindungen (an den C-Atomen 2,4,6 und 8), desto später wird die Verbindung eluiert. Die Retentionsindexdifferenz zwischen der OV-1701 und der DB-5 Säule beträgt ca. 160 bei Verbindung 14. Die gleiche Differenz tritt bei den Decatrienalen mit isolierter cis-Doppelbindung auf. Bei den all-trans Verbindungen ist der Unterschied höher. Es könnte sich somit bei Verbindung 14 um das (E)-2,(Z)-4,7,10-Tridecatetraenal handeln. Ein möglicher Bildungsweg aus DHA ist in Abbildung 39 dargestellt. Der Bildungsweg ist analog auch aus EPA oder Eicosahexaensäure möglich.

Tabelle 13: Retentionsindizes von gesättigten bzw. ungesättigten Aldehyden mit 13 C-Atomen. Daten zu Tridecatrienal aus Blank (2001)

	OV1701	DB5	FFAP	Geruchsqualität
Tridecanal	1594	1512	1795	
E-2-Tridecenal	1650	1581	1956	grün, Metall
E,E -2,4 -Tridecadienal	1791	1631	2100	
E,Z,Z -2,4,7-Tridecatrienal	1737	1584	—	Meer, Eiweiß
E,E,Z -2,4,7-Tridecatrienal	1771	1630	—	Tier
E,E,E -2,4,7-Tridecatrienal	1791	1647	—	Tier, Schwein
E,E,E -2,4,6-Tridecatrienal	1883	1708	2342	
all-trans-2,4,6,8,-Tridecatetraenal	1988	1785	2573	
Verbindung 14	1737	1573	2100	nasses Hundefell

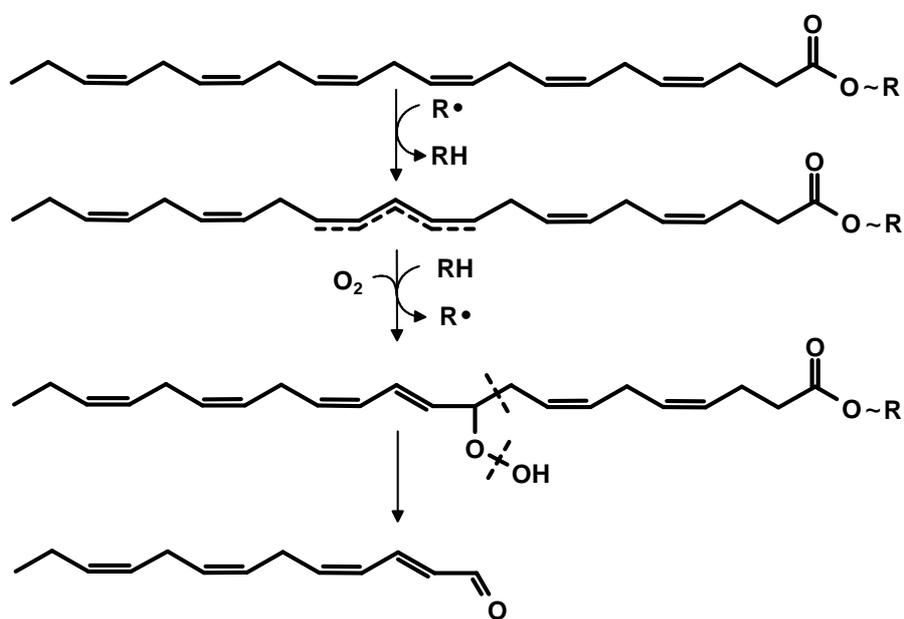


Abbildung 39: Möglicher Bildungsweg von Tridecatetraenal aus DHA

4.4.2.2. Wichtige Aromastoffe in kommerziellem Fischöl (Aldrich)

Weiterhin wurde zur Klärung von Aromastoffen mit fischigem Fehl aroma ein kommerziell erhältliches, undesodoriertes Menhadenöl (Sigma Aldrich) mit einem bereits stark unangenehm fischigen Geruch verwendet. Das Menhadenöl wies im Vergleich zu Omevital 18/12 TG Gold einen geringeren Anteil an EPA (13%) und DHA (13,5%) auf (Abbildung 40).

Wie das Aromaprofil in Abbildung 41 zeigt wurde dieses Fischöl als wesentlich fischiger bewertet als das belichtete Fischöl von Cognis. Die Ergebnisse der AEVA in Kombination mit den Daten der Identifizierungsexperimente zeigten, dass darin (Z)-1,5-Octadien-3-on ebenfalls mit einem $FD \geq 8192$ die wichtigste Aromakomponente war. Weitere Aromastoffe waren mit jeweils einem FD von 2048 das gurkige (E,Z)-2,6-Nonadienal, das frisch terpenartige (E,Z,Z)-1,3,5,8-Undecatetraen, das melonenartige (Z,Z)-3,6-Nonadienal und eine fettige,

firnartig riechende Verbindung mit RI (FFAP) = 1517. Mit einem FD von 1024 folgte das fettige (E,E)-2,4-Decadienal.

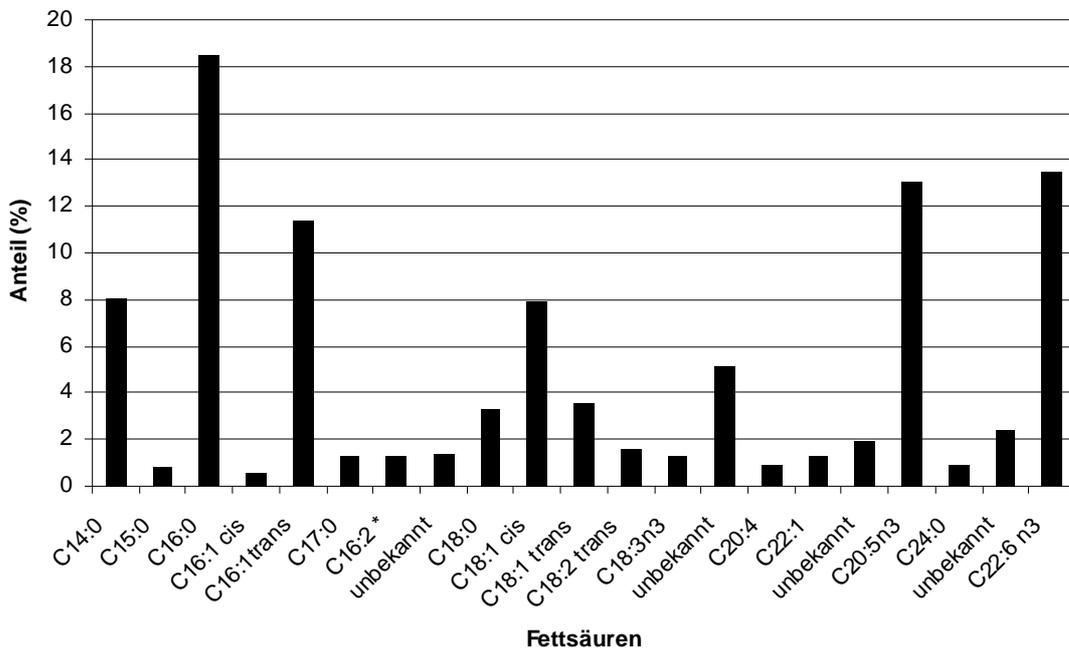


Abbildung 40: Fettsäuremuster des kommerziellen Menhadenöls (Sigma Aldrich)

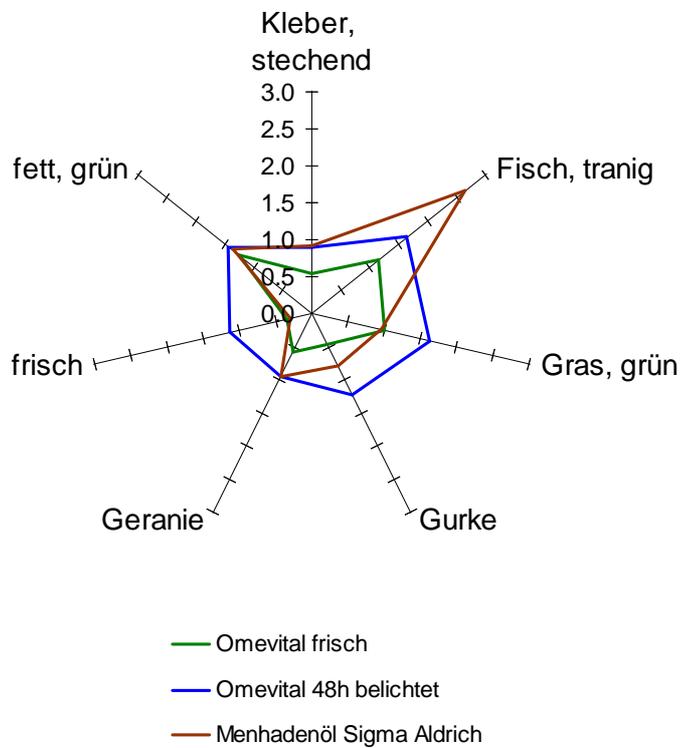


Abbildung 41: Aromaprofil von Menhadenöl (Sigma Aldrich) im Vergleich zu Omevital 18/12 TG Gold (Cognis), frisch und 48h oxidiert.

Im kommerziellen Fischöl wurden auch 1-Octen-3-on (FD=512), Undecatrien (FD 256) und (Z)-4-Heptenal (FD 128) gefunden. Eine geringere Bedeutung als im oxidiertem Fischöl hatte mit einem FD < 16 das stechende 1-Penten-3-on. Andere Aromastoffen mit einem FD < 32 waren grüne Komponenten, u.a. (Z)-3-Hexenal, (E)-2-Hexenal oder das haferartige (E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal. Trans-4,5-Epoxy-2,7-decadienal hatten mit FD = 16 und Tridecatetraenal mit FD = 32 einen geringeren Beitrag am Aroma des kommerziellen Fischöls, konnten aber ebenfalls nachgewiesen werden.

4.4.2.3. Aromaaktive Verbindungen in mikroverkapseltem Fischöl (MFO)

4.4.2.3.1. Optimierung der Extraktion und Destillation von MFO

Im Gegensatz zu Fischöl musste bei mikroverkapseltem Fischöl (MFO) zunächst durch Wasserzusatz das Verkapselungsmaterial suspendiert werden, um die Aromastoffe zu extrahieren. In Abbildung 42 ist zu erkennen, dass sich MFO durch einen Lösungsmittelzusatz nicht in Suspension bringen ließen, im Gegensatz zu Wasser.



Abbildung 42: Von links nach rechts 1,5 g MFO mit jeweils 16 ml Wasser, Diethylether (DEE), Pentan (P), Dichlormethan (DCM) versetzt

Für die Destillation wurde daher MFO zunächst mit einer DEE/H₂O-Mischung versetzt. Aufgrund des hohen Anteils an emulgierendem Verkapselungsmaterial traten im Vergleich zur Destillation mit DEE von Fischöl bei der Destillation von MFO/ nOSA erhebliche Verluste auf. Der größte Teil des Lösungsmittels konnte nicht vom Verkapselungsmaterial abgetrennt werden, auch durch die SAFE-Destillation konnte dieses Problem nicht behoben werden. Deshalb wurde zunächst versucht mit DCM/H₂O-Mischung das MFO zu re-suspendieren und das Lösungsmittel durch Zentrifugation abzutrennen und somit ohne Verkapselungsmaterial der SAFE-Destillation zu zu führen. Da dies jedoch nur bedingt zu einer Verbesserung führte und hohe Verluste zu verzeichnen waren, wurden die MFO-Ansätze mit verschiedenen Lösungsmitteln (s. Abb. 14) und Wasser in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen (s. Abb.

15) um die Extraktion zu optimieren. Auch die Reihenfolge der Zugabe von Wasser und Lösungsmittel wurde untersucht.

Zu den Abbildungen 42-44: Zuordnung der verwendeten Lösungsmittel: Röhren Nr. 1, 4, 7 mit Diethylether (DEE); Röhren Nr. 2, 5, 8 mit Pentan (P); Röhren Nr. 3, 6, 9 mit Dichlormethan (DCM).



Abbildung 43: Nr.1-6 jeweils $m(\text{MFO}) : m(\text{H}_2\text{O}) : m(\text{Lösungsmittel}) = 1 : 2,5 : 2,5$. Nr.1-3 wurde zuerst Wasser, dann Lösungsmittel zugegeben, in 4-6 gleichzeitige Zugabe von Wasser und Lösungsmittel

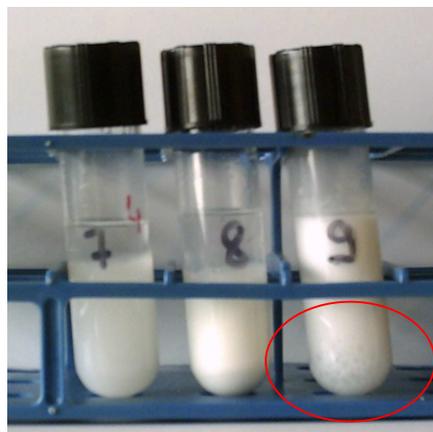


Abbildung 44: Zuerst mit Wasser gemischt, dann Lösungsmittel hinzugefügt, im Vergleich zu Abbildung 43 verändertes Massenverhältnis der Röhrchen Nr.7-9: $m(\text{MF}) : m(\text{H}_2\text{O}) : m(\text{Lösungsmittel}) = 1 : 5 : 5$

In Abbildung 45 mit rotem Kreis gekennzeichnet, kann man besonders gut erkennen, wie die DCM-Tröpfchen in wässrigem Verkapselungsmaterial eingebettet sind. Diese waren auch durch Zentrifugation nicht abzutrennen, und die gallertartige Masse verstopfte die SAFE-Apparatur. Wie in der letzten Abbildung der Versuchsreihe zu sehen, wurde außerdem versucht durch kurzes Erhitzen (1 min, 80°C) die Emulsion aufzubrechen.



Abbildung 45: Versuch wie in Abb. 42 nur zusätzlich für 1 Minute in 80°C heißes Wasserbad gegeben.

Alle Versuchsreihen führten allerdings nicht zu einem schnelleren und verlustarmen Abtrennen des Lösungsmittels. Zuletzt wurde daher das MFO nur in dest. Wasser suspendiert und die Aromastoffe mittels SAFE-Destillation isoliert. Der erhaltene wässrige Aromaextrakt wurde danach mehrfach mit DEE ausgeschüttelt. Obgleich die SAFE-Destillation mit wässriger Lösung langwieriger war, so hat sich diese Vorgehensweise als Methode der Wahl erwiesen. Bei den MFO Kas-Proben wurde die SAFE-Destillation des Wasserextraktes durch eine heftige Schaumbildung erschwert, so dass vor der Destillation einige Tropfen Silicon-Entschäumer zur MFO-Suspension zugegeben werden mussten.

4.4.2.3.2. Aromaextraktverdünnungsanalyse von MFO

Die Ergebnisse der AEVA des ungelagerten, im Labormaßstab hergestellten mikroverkapselten Fischöls ist in Abbildung 46 zusammen mit den Strukturformeln der wichtigsten Verbindungen zu sehen. Parallel zu diesen Untersuchungen wurde das frische Fischöl sowie das 96 h belichtete Fischöl der gleichen Charge untersucht. Zum Vergleich sind die wichtigsten Verbindungen aus AEVAs des frischen und belichteten Fischöls in Tabelle 14 gegenübergestellt, jeweils bezogen auf 50 g Fischöl.

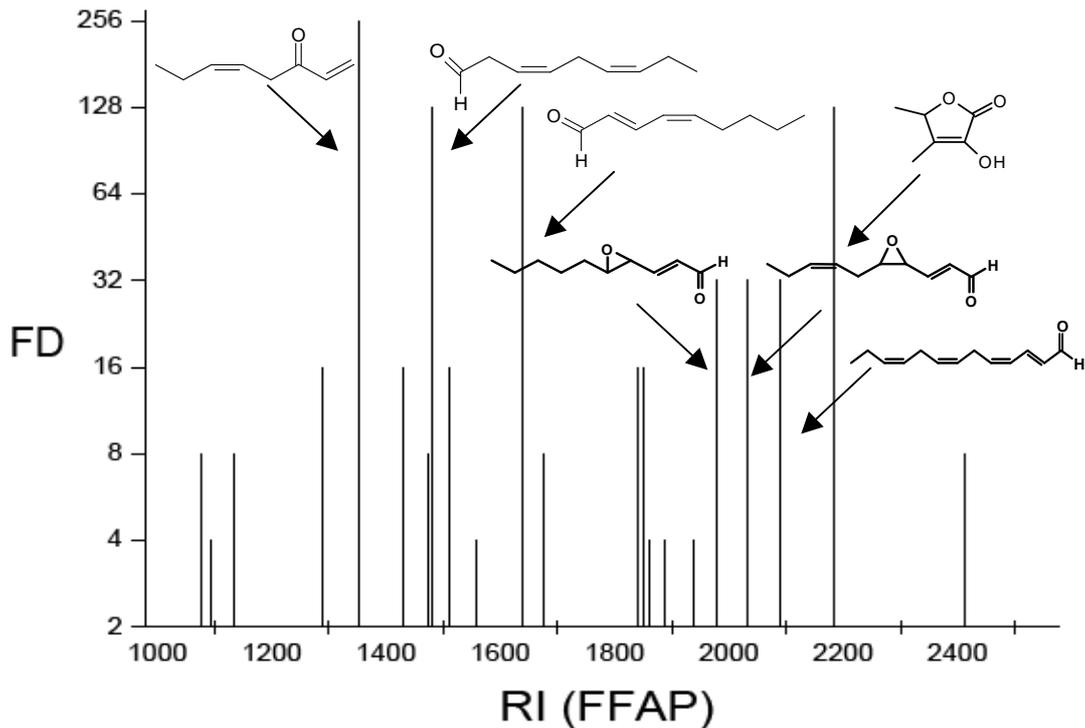


Abbildung 46: FD-Chromatogramm von mikroverkapseltem Fischöl (nOSA), ungelagert

Tabelle 14: Aromaaktive Verbindungen (FD \geq 16) in ungelagertem, mikroverkapseltem Fischöl (MFO) im Vergleich zu frischem (F) und 96 h belichtetem Fischöl

Verbindung	Geruchseindruck	F	96h	MFO
(Z)-1,5-Octadien-3-on	nach Geranie	8	\geq 4096	256
(Z,Z)-3,6-Nonadienal	nach Melone	2	512	128
(E,Z)-2,4-Nonadienal	grün, fett	-	128	128
Sotolon	nach Maggi, würzig	-	-	128
trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	metallisch	-	8	32
trans-4,5-Epoxy-deca-2,7-dienal	metallisch	-	1024	32
Tridecatetraenal ^a	nasses Hundefell	2	512	32
1-Octen-3-on	nach Pilz	1	2048	16
(E,Z,Z)-1,3,5,8-Undecatetraen	frisch, terpenig	2	\geq 4096	16
unbekannt	Gurke	-	k.A.	16
unbekannt	fett	-	k.A.	16

k.A., da kein direkter Vergleich der Proben untereinander bezüglich dieser einzelnen Verbindungen

Die Ergebnisse zeigten, dass es vermutlich bereits durch die thermische Belastung bei der Sprühtrocknung des MFO zur Entwicklung von Fettoxydationsprodukten kommt, wenngleich nicht so intensiv, wie in den Belichtungsversuchen.

Auffällig war jedoch die maggiartige Note des gesamten Aromaextrakts. Im Gegensatz zu oxidiertem Fischöl wurde im MFO das maggiartige Sotolon gefunden (Nachweis durch RI

und Geruch), welches einen hohen FD von 128 aufwies. Sotolon könnte aus Reaktionen des Verkapselungsmaterials während der Sprühtrocknung gebildet werden.

Da es ebenfalls Ziel war, die Mikroverkapselung im industriellen Maßstab zu verwenden, wurden im späteren Verlauf des Projektes auch Proben im Sprühturm getrocknet (Cognis, Illertissen). Industrielle MFO-Proben wurden mit nOSA und Kaseinat (KAS) verkapselt, und ebenfalls für die AEVA verwendet. Signifikante Veränderungen konnten allerdings nicht verzeichnet werden, jedoch lag bei industriellem MFO (nOSA und KAS) insbesondere der FD von (Z)-1,5-Ocadien-3-on etwas höher. Im Vergleich mit frischen MFO-Proben wurden jene aus industriellem Maßstab leicht fischiger bewertet als jene aus dem Labormaßstab.

4.4.2.4. Sensorische Bewertung von MFO und von mit MFO angereicherten Lebensmitteln

4.4.2.4.1. Mikroverkapseltes Fischöl

Bereits bei frischem MFO war orthonasal eine hohe bis sehr hohe Unterscheidbarkeit zwischen der Verkapselung mit nOSA und Kaseinat detektierbar. Jedoch war bereits bei frischem MFO ortho- und retronasal keine Akzeptanz der Probanden gegeben. Orthonasal waren nach 2-wöchiger, anaerober Lagerung bei 20°C geringe und bei 37°C signifikante Unterschiede zu den frischen Proben zu verzeichnen. Auch orthonasale Vergleiche zwischen dem im Industrie- und Labormaßstab hergestellten nOSA-MFO wurden durchgeführt. Es ergab sich eine hohe Unterscheidbarkeit. Probanden, die im Triangeltest richtig unterschieden haben bezeichneten im allgemeinen das industrielle MFO als fischiger.

4.4.2.4.2. Brotbackmischung mit MFO angereichert

Bei der frischen Brotbackmischung wurden zunächst Stücke (6-8 g) mit Krume und Kruste ortho- und retronasal beurteilt. Bei der Doppelbestimmung wurden zunächst keine bzw. eine geringe Differenzierbarkeit zur Kontrolle festgestellt, sowohl bei Proben mit 1% MFO Kaseinat, als auch bei Proben mit 1% MFO nOSA. Um Differenzen durch unterschiedlich große Anteile der Kruste zu vermeiden, wurden nochmals Triangeltests durchgeführt, jedoch Krume und Kruste getrennt getestet. Hier waren mit einem Signifikanzniveau von $\alpha > 0,20$ (vgl. Amtl. Sammlung § 64 LFGB) keine Unterschiede zwischen frischer Kontrollbackmischung und frischer mit MFO angereicherter Backmischung zu verzeichnen. Dies galt sowohl für die Verkapselung mit Kaseinat als auch mit nOSA (Tabellen 15 und 16).

Aufgrund der orthonasalen Ergebnisse von Krume und Kruste getrennt und der retronasalen Ergebnisse von Krume wurde auf einen weiteren retronasalen Triangeltest der Kruste verzichtet, da insbesondere der Anteil gleichmäßig gebräunter Kruste nicht ausreichend war. So wurde auch nur die Krume der gelagerten Proben sensorisch beurteilt (Tabelle 17).

Tabelle 15: Triangeltest von frischer, ungelagerter Brotbackmischung mit und ohne MFO Kaseinat

Brot, angereichert mit 1% MFO Kaseinat						
	Kruste/ Krume		Krume		Kruste	
	Teilnehmer	richtige Antwort	Teilnehmer	richtige Antwort	Teilnehmer	richtige Antwort
Retronasal	14	2	13	2	-	-
	14	8	13	3	-	-
Orthonasal	14	3	13	2	13	4
	14	8	13	5	13	3

Tabelle 16: Triangeltest von frischer, ungelagerter Brotbackmischung mit und ohne MFO nOSA

Brot, angereichert mit 1% MFO nOSA						
	Kruste/ Krume		Krume		Kruste	
	Teilnehmer	richtige Antwort	Teilnehmer	richtige Antwort	Teilnehmer	richtige Antwort
Retronasal	13	4	14	3	-	-
	13	7	14	4	-	-
Orthonasal	13	4	13	2	13	4
	13	8	13	5	13	3

Tabelle 17: Triangeltest von 3 Monate gelagerten Brotbackmischung mit MFO im Vergleich zu Brotbackmischungen ohne MFO

	1% MFO Kaseinat		1% MFO nOSA	
	Teilnehmer	richtige Antwort	Teilnehmer	richtige Antwort
Retronasal	13	13	13	13
	13	11	13	10
Orthonasal	13	13	13	13
	13	11	13	11

Da bei der ungelagerten Brotbackmischung keine sensorischen Unterschiede im Triangeltests festgestellt werden konnten, wurde zunächst vermutet, dass der Anteil von 1% MFO ein geeigneter prozentualer Zusatz ist, bei dem ein Off-flavor unter der Wahrnehmungsschwelle liegt oder die durch Backen entstehenden Röstprodukte geringe Fehlgerüche überdecken. Das MHD von Brotbackmischungen wird im Regelfall bei einer kühlen und trockenen Lagerung für 6 Monaten gewährt. Deshalb war es Ziel, die Brotbackmischungen, gelagert bei 20°C (+/- 2°C) und in einer luftdurchlässigen Verpackung (handelsübliche beschichtete Papiertüte), bis zu einer Lagerung von 6 Monaten sensorisch zu beurteilen. Jedoch bereits nach 3 Monaten Lagerung waren die mit MFO, sowohl nOSA- als auch Kaseinat-Verkapselung, hergestellten Brote signifikant unterscheidbar von den Broten ohne MFO-Zusatz. Trotz des nur 1%igen Zusatzes wurden die Brote mit MFO orthonasal und retronasal als deutlich fischiger bezeichnet. Die Akzeptanz war beim Brot mit MFO im Gegensatz zum Brot ohne MFO nicht gegeben. Eine ausreichende Lagerfähigkeit über

6 Monate für Brotbackmischungen mit MFO konnte somit durch die Mikroverkapselung weder durch nOSA, noch durch Kaseinat erzielt werden. Sicherlich spielt hierbei die luftdurchlässige Verpackung eine wesentliche Rolle. Für vergleichende Untersuchungen waren aber keine unter Vakuum verpackten Proben vorhanden.

4.4.2.4.3. Säuglingsanfangsnahrung mit MFO angereichert

Aus Tabelle 18: ist ersichtlich, dass bereits die Säuglingsanfangsnahrung (SAN) bei den orthonasalen Triangeltests der frischen SAN eine sehr hohe Unterscheidbarkeit aller mit MFO zur Kontrolle ohne MFO gegeben ist. Bei den retronasalen Tests schwanken die Ergebnisse zwischen keiner und hoher Unterscheidbarkeit. Nur bei sojabasierter SAN war bei retronasaler Doppelbestimmung die Unterscheidbarkeit ausgeprägt. Hier haben auch orthonasal alle Probanden richtig unterschieden.

Weiterhin war die Unterscheidbarkeit im Gesamtaroma der Proben mit verschiedenen Verkapselungsmaterialien interessant, wenngleich orthonasal nur eine mittlere Unterscheidbarkeit zwischen Zusatz unterschiedlicher Verkapselungsmaterialien (Kaseinat und nOSA) verzeichnet wurde. Alle Probanden, die richtig differenziert haben, bewerteten aber SAN mit MFO KAS fischiger als SAN mit MFO nOSA. Auch retronasal wurde SAN mit MFO KAS als fischiger bewertet.

Tabelle 18: Triangeltest auf Unterscheidbarkeit von soja- oder milchbasierter SAN mit und ohne Zusatz von MFO

milchbasierte SAN mit 5% MFO angereichert						
nOSA/Kontrolle ohne MFO				Kaseinat/Kontrolle ohne MFO		
frische SAN	Teilnehmer	richtige Antwort	Abweichung Skala 0-3	Teilnehmer	richtige Antwort	Abweichung Skala 0-3
Retronasal	14	6	1,41 (+/- 0,13)	14	8	1,53 (+/- 0,22)
	13	11		13	13	
Orthonasal	14	12	2,16 (+/- 0,28)	14	13	2,17 (+/- 0,19)
	16	14		16	15	
milchbasierte SAN mit 5% MFO angereichert				sojabasierte SAN mit 5% MFO angereichert		
nOSA/Kaseinat				nOSA/Kontrolle ohne MFO		
frische SAN	Teilnehmer	richtige Antwort	Abweichung Skala 0-3	Teilnehmer	richtige Antwort	Abweichung Skala 0-3
Retronasal	14	9	1,37 (+/- 0,59)	14	11	1,66 (+/- 0,22)
	13	7		13	11	
Orthonasal	14	9	1,99 (+/- 0,14)	14	14	1,82 (+/- 0,07)
	17	12		16	16	

Bei Säuglingsanfangsnahrung konnte zwischen den Verkapselungsmaterialien nicht unterschieden werden. Laut Panelteilnehmern war das fischige, stechende Aroma bei beiden Verkapselungsmaterialien so dominierend, dass eine beschreibende Differenzierung nicht möglich war. Da bereits bei frischer SAN eindeutig zwischen den jeweiligen Proben unterschieden wurde, wurden von den gelagerten Proben keine weiteren Triangeltests mehr gemacht, sondern nur Aromaprofile erstellt (Abbildung 47A).

In Bild A ist zunächst das Aromaprofil milchbasierter SAN mit MFO nOSA dargestellt. Es ist eindeutig erkennbar, dass bereits ungelagerte SAN mit MFO nOSA geruchsaktiver als die Kontroll-SAN ohne MFO war. Während der Lagerung veränderte sich die Kontrolle kaum, während eine deutliche Zunahme der Geruchsaktivität von SAN mit Zusatz zu verzeichnen ist. Weiter war erkennbar, dass während der Lagerung bei 37°C eine raschere Zunahme als bei einer Lagerung von 20°C stattfand. Jedoch nahm die Geruchsaktivität in beiden Fällen stetig zu.

Ebenfalls milchbasierte SAN ist in Abbildung 47B zu sehen. Jedoch wurden hier vergleichend jeweils die Anfangs- und Endpunkte der Lagerung von MFO KAS und von MFO nOSA dargestellt. Bei KAS als Verkapselungsmaterial ist ein ähnlicher Verlauf zu verzeichnen. Überraschend war jedoch, dass die im Triangeltest als fischiger bezeichnete SAN mit MFO KAS, die hier teilweise eine geringere Fläche aufweist, jeweils als stechender bewertet wurde. Zur Vervollständigung wurden in Bild C die Profile der sojabasierten SAN mit MFO nOSA dargestellt. Im Vergleich zur milchbasierten Probe ergab sich jedoch kein besonderer Unterschied, sondern es wurde ebenfalls eine stetige Zunahme der Geruchsaktivität während der Lagerung detektiert.

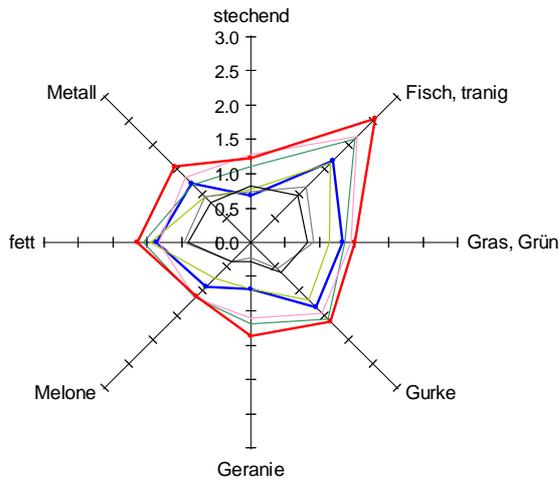
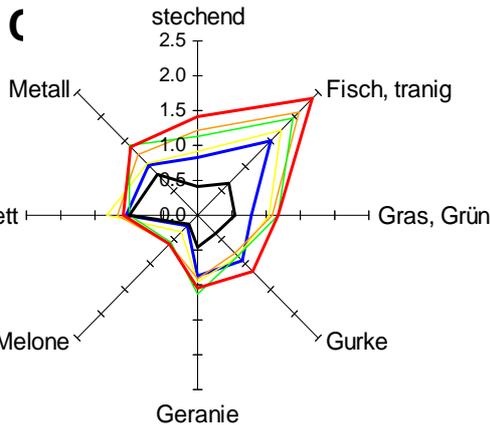
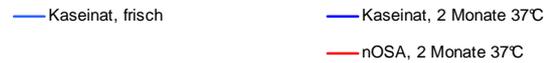
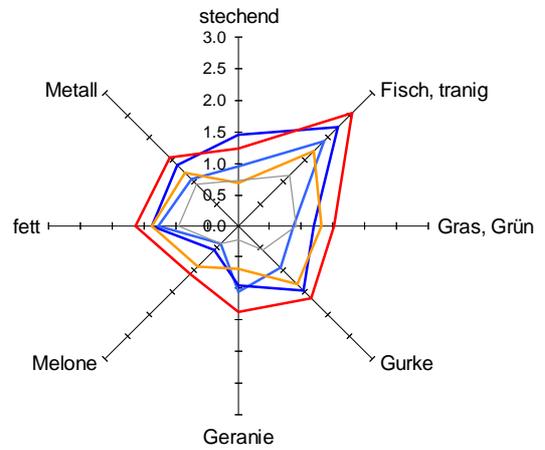
A**E**

Abbildung 47: **Bild A** zeigt das Aromaprofil der milchbasierten SAN mit MFO nOSA im Verlauf der Lagerung im Vergleich mit Kontroll-SAN ohne MFO; in **Bild B** sind jeweils Anfangs- und Endpunkte von SAN mit MFO KAS der von SAN mit MFO nOSA gegenübergestellt. In **Bild C** dargestellt ist die sojabasierte SAN mit MFO nOSA im Verlauf der Lagerung verglichen zur sojabasierten Kontroll-SAN ohne MFO.

4.4.2.5. Quantifizierung einzelner Markerverbindungen in MFO

Aus den mittels AEVA ermittelten Hauptaromastoffen, wurden wenige Verbindungen ausgewählt, die als Qualitätsmarker für Fischöl, bzw. mikroverkapseltes Fischöl vorgeschlagen werden können. In Tabelle 19 ist ein vorliegender Datensatz (Einfachbestimmung) des industriell hergestelltem MFO dargestellt.

Tabelle 19: Konzentration von 4 Aromastoffen in gelagertem, mikroverkapseltem Fischöl (MFO)

Aromastoff	Konz. ($\mu\text{g}/\text{kg}$ Öl)			
	Typ	Lagerdauer (Wochen)	Lagertemperatur	
			20°C	37°C
(Z)-1,5-Octadien-3-on	n-OSA	2	0,007	0,1
(E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal	n-OSA	2	0,006	0,008
(E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal	KAS	2	0,01	0,03
(E)-2-Hexenal	n-OSA	2	—	0,3
(E)-2-Hexenal	n-OSA	4	0,16	0,54
(E)-2-Hexenal	n-OSA	9	0,41	0,70
1-Penten-3-on	n-OSA	4	0,04	0,14
1-Penten-3-on	n-OSA	9	0,10	0,17

Wie zu erwarten ist die jeweilige Konzentration bei erhöhter Lagertemperatur ebenfalls erhöht, wie an (Z)-1,5-Octadien-3-on und (E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal zu sehen ist. Anhand von (E)-2-Hexenal und 1-Penten-3-on in nOSA ist der tendenzielle Konzentrationsanstieg mit der Lagerdauer auch bei 20°C zu beobachten.

4.4.3 Beurteilung der Oxidationsstabilität von mikroverkapselten Ölen in verschiedenen Lebensmittelsystemen (FS1)

Auf Basis der Erfahrungen der Industriepartner und der Forschungsstellen ist eine Anreicherung von Wurst- und Backwaren (insbes. Brot) ohne Qualitätsverlust bei Einsatz eines hochwertigen Öls bzw. Omega-3-Konzentrats möglich. Die Anreicherung von Frühstückscerealien wird aufgrund der Partikelgröße des mikroverkapselten Öls als schwierig angesehen. Eine Patentrecherche zeigte, dass in der Lebensmittelindustrie alternative Verfahren zur Anreicherung bereits existieren. Auf Basis dieser Informationen wurden zusammen mit dem projektbegleitenden Ausschuss folgende Lebensmittelsysteme für die Anreicherung ausgewählt.

- Säuglingsanfangsnahrung (milch- und sojabasiert)
- Müsliriegel (ohne/mit Schokolade): Müsliriegel sollen exemplarisch als Beispiel für ein getreidehaltiges Lebensmittel untersucht werden. In einem ersten Schritt ist die Stabilität des mikroverkapselten Öls und die Produktsensorik direkt nach der Herstellung

zu überprüfen. Als Alternative wurde die Anreicherung einer Brotbackmischung angeregt.

- Tabletten

Nach Herstellung eines Produktionsansatzes mikroverkapselten Fischöls unter Verwendung von Natriumkaseinat bzw. n-OSA-Stärke als Emulgatoren bei der Cognis Deutschland GmbH, wurden bei den Industriepartnern verschiedene Lebensmittelsysteme angereichert. Die sensorische Bewertung des mikroverkapselten Fischöls und der damit angereicherten Lebensmittelsysteme wurde von einem trainierten Sensorikpanel an der FS1 vorgenommen.

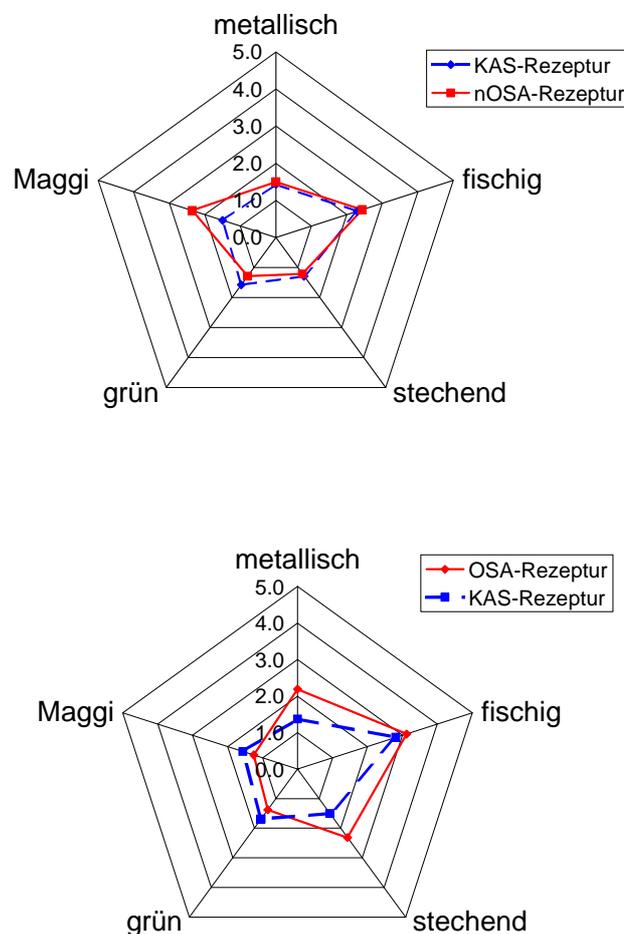


Abbildung 48: Sensorische Bewertung von mikroverkapseltem Fischöl nach dreimonatiger Lagerung bei 20 °C

Die Sensorik des mikroverkapselten Fischöls wurde mittels bewertender Prüfung mit Skala nur im Attribut „Maggi“ als unterschiedlich bewertet. Das Attribut war im OSA-Stärke – basierten mikroverkapselten Fischöl deutlicher ausgeprägt als in der Natriumkaseinat-

basierten Variante. Sowohl nach dreimonatiger Lagerung bei 20°C als auch bei sechsmonatiger Lagerung bei 5 °C wurden signifikante Abweichungen im Vergleich zur Kontrolle (Lagerung bei -18°C) festgestellt. Darüber hinaus wurden auch deutliche Unterschiede zwischen den in den beiden verschiedenen Matrices verkapselten Ölen beschrieben. Die Intensität der beiden Deskriptoren metallisch und stechend nach dreimonatiger Lagerung bei 20 °C war z.B. bei dem in OSA-stärkebasierter Matrix verkapselten Fischöl deutlich erhöht (Abbildung 48).

Bei der Herstellung von *Oblongtabletten* unter Zusatz von variierenden Mengen (200 – 1000 mg mikroverkapseltes Fischöl/Tablette) an mikroverkapseltem Fischöl auf Basis von OSA-Stärke konnte die grundsätzliche Pressbarkeit des mikroverkapselten Fischöls gezeigt werden (durchgeführt bei der Fa. Queisser, Flensburg). Die Produktsensorik wich bereits unmittelbar nach Herstellung signifikant vom mikroverkapselten Fischöl ab und wurde vom Panel als stechend und fischig beschrieben.

Die Anreicherung von Müsliriegeln wurde nach ausführlicher Rücksprache und Diskussion mit Mitarbeitern der Produktentwicklung zweier führender Hersteller der entsprechenden Produkte im Technikum an FS1 durchgeführt. Die ausgewählte Rezeptur basierte auf Haferflocken und Haferfleks als Getreidekomponente und einer Bindermasse bestehend aus Kokosfett, Zucker, brauner Zucker und Honig. Letztere wurde auf ca. 115°C erhitzt. Die Zugabe des mikroverkapselten Fischöls erfolgte entweder in die Bindermasse oder in die Getreidemischung. Bei einer dritten Variante wurde ein Müsliriegel mit Schokoladenüberzug hergestellt, bei dem die Zugabe des mikroverkapselten Fischöls in den Überzug erfolgte. Die Riegel wurden vakuumverschweißt und kühl gelagert. Die sensorische Begutachtung erfolgte nach 24-stündiger Lagerung. Die Kontroll-Riegel hatten einen charakteristischen Honig-Geruch. Im Gegensatz dazu konnte bei den mit mikroverkapseltem Fischöl angereicherten Riegeln unabhängig von der Art der Zugabe (im Binder, über die Getreidemischung, im Schokoladenüberzug) eine signifikante Abweichung im Geschmack (muffig, stark metallisch) nachgewiesen werden. Der Geruch der über den Binder angereicherten Riegel wurde als muffig bezeichnet, der Geruch der über die Trockenstoffe angereicherten Riegel wurde hingegen nicht als stark abweichend von der Kontrolle wahrgenommen. Auf Grund der unbefriedigenden Ergebnisse aus diesen Vorversuchen erfolgten keine weitergehenden Untersuchungen in Zusammenarbeit mit den Industriepartnern.

Brotbackmischungen auf Basis von Mehl der Type 550 wurden bei der Mühlenchemie GmbH & Co. KG mit mikroverkapselten Ölen (Kaseinat- und OSA-Stärke basierte Matrices) zu 1% angereichert. Die Produktsensorik des gebackenen Brotes unmittelbar nach Ausmischen der

Backmischungen wies keine signifikanten Unterschiede zur nicht angereicherten Kontrolle auf. Bereits nach 3 Monaten Lagerung der Backmischungen bei 20°C wurden nach Ausbacken des Brotes hochsignifikante Abweichungen zwischen angereicherter Produkt und der Kontrolle festgestellt. Das angereicherte Produkt wurde unabhängig von der Trägermatrix des mikroverkapselten Fischöls als fischig, metallisch und muffig beschrieben.

Die Anreicherung von Säuglingsanfangsnahrung mit mikroverkapseltem Fischöl wurde bei der Humana GmbH zu 5% durchgeführt. Angereichert wurde eine milchbasierte Nahrung sowie eine Sojaproteinisolatbasierte Nahrung. Die milchbasierte Säuglingsanfangsnahrung wurde sowohl mit kaseinatbasiertem als auch OSA-stärkebasiertem mikroverkapseltem Fischöl angereichert. Die sojabasierte Säuglingsanfangsnahrung wurde nur mit mikroverkapseltem Fischöl auf OSA-Basis angereichert. Bereits unmittelbar nach der Anreicherung wurden signifikante Unterschiede in der Sensorik im Vergleich zur nicht angereicherten Kontrolle festgestellt. Die Abweichungen wurden als fischig und metallisch beschrieben. Mögliche sensorische Abweichungen während der Lagerung wurden im Vergleich gegen die angereicherte Säuglingsnahrung gelagert bei -18 °C untersucht. Nach 2 Monaten Lagerung bei 37 °C konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Nach viermonatiger Lagerung hingegen wichen die milchbasierten angereicherten Produkte signifikant von der jeweiligen Kontrolle ab. Die Abweichung wurde als stechend und muffig beschrieben. Die sojabasierte Säuglingsanfangsnahrung wies bei der gewählten Lagerungstemperatur einen sehr starken Eigengeruch auf, welcher vermutlich die flüchtigen Oxidationsprodukte der Autoxidation überlagerte, so dass keine signifikante Abweichung festgestellt wurde.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine Schädigung des Öls bereits während des Mikroverkapselungsprozesses auftreten kann, die die Sensorik des Produktes beeinträchtigt. Darüber hinaus konnten in Abhängigkeit von der Verkapselungsmatrix Unterschiede in der Produktsensorik festgestellt werden. Für die industrielle Praxis sollte die sensorische Schädigung des Öles vor dem Sprühtrocknungsprozess minimiert werden. In weitergehenden Versuchen wurde daher exemplarisch überprüft inwieweit über die Zusammensetzung, eine Maskierung oder eine Aromatisierung die Sensorik des mikroverkapselten Fischöls beeinflusst werden kann. In Vorversuchen mit Fischölemulsionen wurden zunächst die Möglichkeiten einer Aromatisierung untersucht. Von den eingesetzten Aromen (Apfel, Orange, Zitrone, Minze, Vanille, Apfel-Zitrone, Apfel-Vanille; 0,1-0,3 %) präferierten die Panelisten die Emulsionen, die mit der Kombination Apfel-Vanille aromatisiert worden waren. In einem Folgeversuch wurde eine Fischölemulsion vor der Sprühtrocknung mit 0,13 % Apfel-Vanille-Aroma aromatisiert und die Entwicklung der Produktsensorik des mikroverkapselten Fischöls über einen Zeitraum von vier Wochen bei 20 °C bewertet

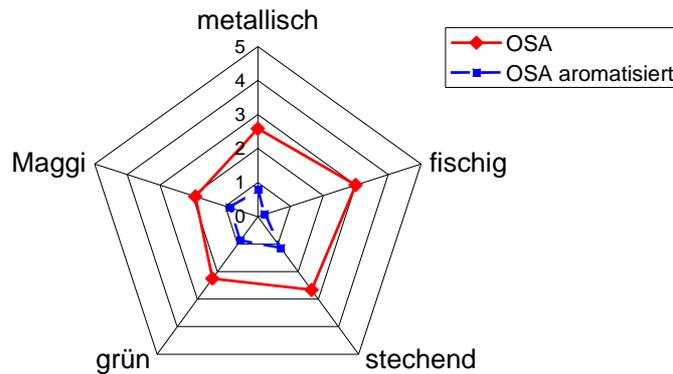


Abbildung 49: Sensorische Bewertung von mikroverkapseltem Fischöl mit und ohne Aromatisierung nach vierwöchiger Lagerung bei 20 °C

Aus Abbildung 49 ist ersichtlich, dass die Intensität der ausgewählten Geruchsattribute nach vierwöchiger Lagerung in dem aromatisierten mikroverkapselten Fischöl signifikant verringert war. Der Zusatz von β -Cyclodextrin in die Sprühemulsion war hingegen weniger effektiv. Zwar konnte durch einen einprozentigen Zusatz der spezifische Geruch des frischen Fischöls in der Emulsion unterbunden werden, jedoch war die Intensitätsabnahme der ausgewählten Deskriptoren während der Lagerung des mikroverkapselten Fischöls nur an einzelnen Tagen und für einzelne Deskriptoren signifikant.

Die Untersuchungen zeigen, dass die Anreicherung von pulverförmigen Lebensmitteln mit mikroverkapseltem Fischöl möglich ist, jedoch während der Lagerung i.d.R. erhebliche Veränderungen gegenüber den Kontrollprodukten auftreten. Die sensorische Beurteilung der Lagerproben lässt den Schluss zu, dass hierfür überwiegend der oxidative Abbau des verkapselten Fischöls verantwortlich ist. Die in diesem Projekt untersuchte Matrixkapsel kann deshalb auch nach Optimierung der Zusammensetzung und Verfahrensparameter nur als „Rumpfstruktur“ betrachtet werden. Eine weitere Beschichtung dieser Matrixkapsel ist erforderlich um eine akzeptable Lagerstabilität hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften pulverförmiger Produkte zu erreichen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Forschungsstelle 1

5.1.1 Mikroverkapselung mittels Sprühtrocknung

Die Mikroverkapselung mittels Sprühtrocknung wurde im Technikum an Forschungsstelle 1 durchgeführt. Die wasserlöslichen Trägermatrixbestandteile wurde in destiliertem Wasser gelöst. Mit einem Dispergierwerkzeug wurde eine Grobemulsion hergestellt, dabei wurde das Öl kontinuierlich der wässrigen Phase zugeführt. Der Homogenisierprozess wurde unter Verwendung eines Hochdruckhomogenisators (Panda2K, GEA Soavi, Deutschland) durchgeführt. Zunächst wurden die Emulsionen einstufig bei 50 bar homogenisiert, daran anschließend erfolgte i.d.R. eine zweistufige Homogenisierung bei 200/50 bar mit zwei Durchläufen. Für die Sprühtrocknung stand ein Niro Mobile Minor (Niro A/S, Dänemark) zur Verfügung. Die Zerstäubung erfolgte mittels rotierender Scheibe, die Trocknungstemperatur lag, sofern nicht anders angegeben, bei 180/70 °C. Die Trocknungsversuche zur verfahrenstechnischen Optimierung wurden am Institut für Thermische Verfahrenstechnik der Universität Karlsruhe (Forschungsstelle 2) durchgeführt.

5.1.2 Charakterisierung von Emulsionen und Mikrokapselfn

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen wurden an einem CamScan 44 REM/EDX (CamScan USA Inc., Cranberry, USA) angefertigt. Die physikalische Charakterisierung des mikroverkapselten Fischöls beinhaltete u.a. die Bestimmung der Partikelgröße, der Öltröpfchengröße, der Partikeloberfläche und -dichte. Die Partikelgröße wurde nach Dispergieren des mikroverkapselten Öls in MCT-Öl (Miglyol 812, Sasol Germany, Deutschland) über Laserbeugung analysiert (Helos, Fa. Sympatec, Deutschland). Zur Bestimmung der Öltröpfchengröße wurde das mikroverkapselte Öl in destilliertem Wasser redispergiert und die Öltröpfchengröße mit demselben System bestimmt. Die Linsenauswahl erfolgte entsprechend der erwarteten mittleren Dispersphasengröße. Die wahre Dichte des mikroverkapselten Öls wurde mittels Heliumpyknometrie bestimmt (AccuPyc, Fa. Porotec, Deutschland). Zur Oberflächenbestimmung wurde an der Forschungsstelle 1 das Gemini 2360 (Micromeritics, Mönchengladbach, Deutschland) verwendet. Die Proben wurden vor der Analyse 12 h entgast.

Die Bestimmung des Gesamtölgehalts der Mikrokapselfn erfolgte über die Methode nach Monjonier (BVL L 02.06-E(EG) und 1(EG) bis 8(EG):1981-01, Methode 4, Anhang 2). Im Rahmen der Untersuchungen zur Verteilung des extrahierbaren Öls wurden drei verschiedene Methoden verglichen, die sich im Extraktionslösungsmittel und der Durchführung unterschieden. Hierbei handelte es sich um die Soxhlet-Extraktion (40), eine petrolether-basierte Schnellmethode zur Beurteilung von Milchpulver (29), sowie ein zweistufiges Verfahren zur Bestimmung des Oberflächenöls und des gesamt-extrahierbaren Öls (30).

Die Visualisierung der Ölfractionen erfolgte über konfokale Laserscanningmikroskopie (Leica TCS SP, Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland). Die Ölphase wurde vor dem Mikroverkapselungsprozess mit Nilrot angefärbt, als Laser wurden ein He- und ein Ne-Ar-Laser bei einer Wellenlänge von 488 nm verwendet.

5.1.3 Bestimmung der Lipidoxidation

Die notwendige Extraktion der Ölphase erfolgte nach Rekonstituieren des mikroverkapselten Fischöls zunächst unter Verwendung von Ethanol, Hexan und Petrolether (41). Da in einigen Proben keine ausreichende Phasentrennung erreicht werden konnte, wurde nach ausführlichem Vergleich beider Extraktionsverfahren ein alternatives Verfahren basierend auf 2-Propanol und Isooctan (42).

Die Bestimmung des Hydroperoxidgehalts erfolgte in Anlehnung an eine photometrische Referenzmethode zur Bestimmung des Hydroperoxidgehalts in Milchfett (43). 2-Propanol wurde als Lösungsmittel verwendet, nach Zugabe aller Reagenzien wurden die Proben bei 60 °C im Wasserbad für 30 min inkubiert und die Extinktion nach Abkühlen der Probe bei 485 nm gemessen. Die Bestimmung der Anisidinzahl erfolgte nach dem Referenzverfahren für Bulköle (BVL L 13.00-15:2001-07).

Die Bestimmung flüchtiger sekundärer Lipidoxidationsprodukte erfolgte an Forschungsstelle 1 mittels statischer Headspace-Gaschromatographie. 1g Probe wurde mit 2 ml EDTA-Lösung in 20ml-Probengefäßen rekonstituiert. Nach 30minütiger Inkubation wurde 1ml des Kopfraums in einen Agilent 6890 GC injiziert. Bei der verwendeten Säule handelte es um eine VF-1701ms-Säule (60m*0,32mm*1,0µm). Das Ofentemperaturprogramm war wie folgt: 45 °C, Erhöhung auf 100 °C mit 10 °C/min, Erhöhung auf 240 °C mit 15 °C/min, 4min Halten. Die Detektion erfolgte über einen Agilent 5975 massenselektiven Detektor.

5.1.4 Sensorik

Die sensorische Bewertung des Fischöls, der mikroverkapselten Öle und der angereicherten Lebensmittel erfolgte über ein zehnköpfiges trainiertes Sensorikpanel an Forschungsstelle 1. Folgende Methoden kamen zum Einsatz: Einfache beschreibende Prüfung (DIN 10964, 196-02). Die Deskriptoren wurden in Anlehnung an international anerkannte Referenzverfahren ausgewählt (ASTM E 1627-94; 2004). Triangeltests und Duo-Trio-Tests wurden nach den Referenzmethoden ASTM E 1885-04 (ISO-4120:2004) und ASTM E 2610-08 (DIN 10971, 2003-01) durchgeführt. Rangordnungsprüfungen und Gleich-Ungleich-Test basierten auf den Referenzmethoden nach DIN 10963, 1997-11, und ASTM E 2139-05 (DIN10954, 1997-10). Die Proben wurden dem Panel in blauen Normgläsern (zur Prüfung von Speiseölen, vertrieben von der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaften) präsentiert.

5.2 Forschungsstelle 2

Methodik der inversen Mikroramanspektroskopie

Zur Charakterisierung der Trocknungseigenschaften der in Tabelle 3 aufgelisteten Trägermatrices, wurde die jeweilige wässrige Lösung mit einer Rakel zu einem Film auf einer Glasplatte ausgestrichen. Die Dicke der Filme lag zwischen 100-150 μm . Die Glasplatte mit dem ausgestrichenen Film befand sich bei jedem Versuch in einem auf 30 $^{\circ}\text{C}$ temperierten Kanal, der von trockener Zuluft (30 $^{\circ}\text{C}$) mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 0,1 m/s durchströmt wurde.

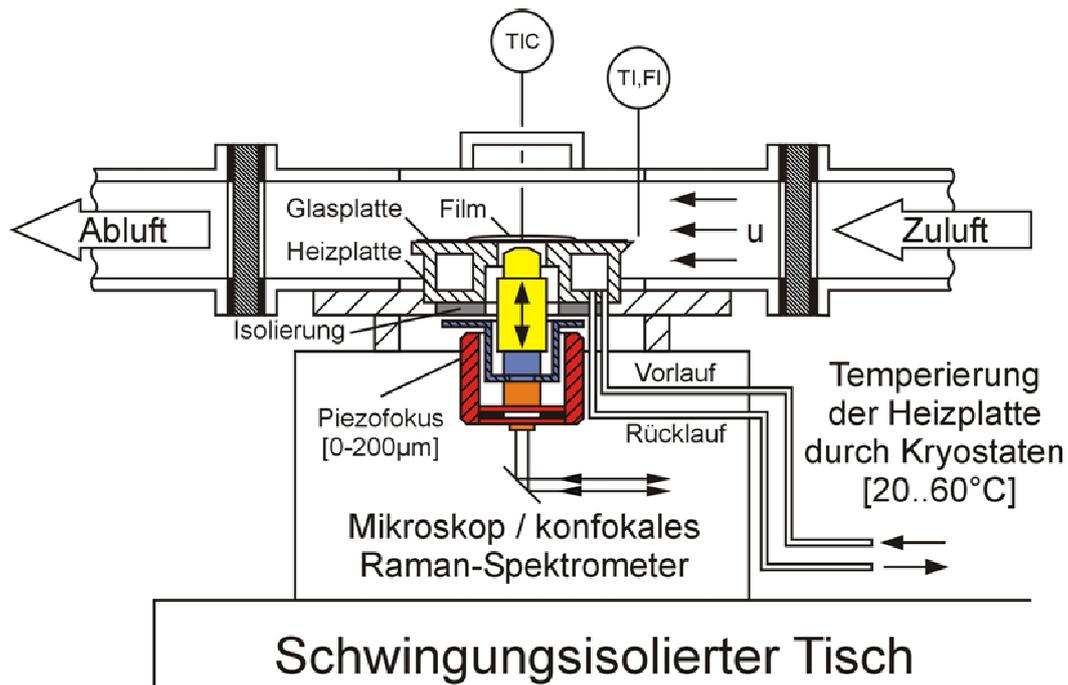


Abbildung 50: Aufbau des Trocknungskanals mit Inverser-Mikro-Raman-Spektroskopie

Mit der Inversen-Mikro-Raman-Spektroskopie (IMRS) kann berührungslos, online und ortsaufgelöst die chemische Zusammensetzung im Film gemessen werden. Dazu wird ein Laserstrahl (514nm) in einem Punkt im Film fokussiert. Das Raman-Streulicht, welches durch die Relaxation der Moleküle an diesem Punkt emittiert wird, gelangt über dasselbe Objektiv, mit dem der Laser eingestrahlt wird, zurück zum Spektrometer. Anhand der Raman-Spektren kann aufgrund von Reinstoffkalibrierungen die chemische Zusammensetzung quantitativ ausgewertet werden. Indem das Objektiv und damit der Fokuspunkt vertikal verschoben werden, bestimmt man an allen vertikalen Positionen die chemische Zusammensetzung des Films. Somit ist es möglich, den Verlauf der Wasserkonzentration bzw. -beladung im schrumpfenden Film während der Trocknung zu messen.

Für das Erstellen der Verläufe der Konzentrationsprofile im trocknenden Film war eine umfangreiche Kalibrierung jedes Stoffsystems notwendig. Dies umfasste die Bestimmung tem-

peraturabhängiger Brechungsindizes, Dichten sowie Ramanspektren der Reinstoffe und Kalibrierungen verschiedener Verdünnungen der Matrixlösungen. Alle Rezepturen und Reinstoffe wurden bezüglich des Wassergehaltes auf den Gleichgewichtszustand unter Raumbedingungen kalibriert. Dies bedeutet, dass beim Erreichen der Gutsfeuchte, die der Gleichgewichtsfeuchte unter Raumbedingungen entspricht, die normierte Beladung Null erreicht ist. Die Messungen mittels Raman-Spektroskopie wurden auf diesen Zustand kalibriert. Eine Beladung Null im Trocknungsversuch entspricht also der Feuchte bei Raumbedingungen.

5.3 Forschungsstelle 3

5.3.1 Chemikalien und Untersuchungsmaterial

5.3.1.1. Fischöl und mikroverkapseltes Fischöl

Untersuchungsmaterialien waren Fischölproben von Menhaden, die mindestens 12 % DHA und 18 % EPA aufwiesen. Die Proben waren alle winterisiert und gebleicht. Das kommerziell erhältliche Fischöl von Sigma Aldrich war nicht desodoriert. Proben von Cognis waren sowohl deodoriert (Omevital 18/12 TG Gold), als auch undesodoriert (Fischöl 18/12). Die mikroverkapselten Öle wurden aus Omevital 18/12 TG Gold hergestellt, bestehend aus 39% Omevital, 48,75% Glucosesirup, 9,75% nOSA-Stärke (Hi-Cap) und 2,5% Wasser. Der Anteil freien Fetts betrug $3,7 \pm 0,02$ % (Daten Universität Kiel).

5.3.1.2. Mit mikroverkapseltem Fischöl angereicherte Lebensmittel

Angereicherte Brotbackmischung

Die Brotbackmischung bestand aus Weizenmehl Type 550, Kochsalz, Fettpulver, Enzymmischung, Raffinadezucker, Ascorbinsäure und 1% MFO. Das Verkapselungsmaterial bestand entweder aus Kaseinat oder aus nOSA-Stärke. Als Kontrolle wurde die Mischung ohne MFO verwendet.

Angereicherte Säuglingsanfangsnahrung (SAN)

Untersucht wurde Humana 1 (Milchwirtschaftliche Industrie Gesellschaft Herford) auf Milch- und auf Sojabasis. Der milchbasierten SAN wurden 5% MFO nOSA oder 5% MFO Kaseinat zugesetzt.

5.3.1.3. Referenzaromastoffe

Aromastoff	Firma	Ort
δ-Decalacton	Aldrich	Steinheim
γ-Decalacton	Aldrich	Steinheim
Decansäure	Aldrich	Steinheim
(E,E)-2,4-Decadienal	Aldrich	Steinheim
(E,Z)-2,4-Decadienal	Aldrich	Steinheim
(E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal	Synthese	
Dodecansäure	Aldrich	Steinheim
trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	Synthese	
trans-4,5-Epoxy-2,7-decadienal	Synthese	
(E,E)-2,4-Heptadienal	Aldrich	Steinheim
γ-Heptalacton	Aldrich	Steinheim
Heptansäure	Fluka	Neu-Ulm
(Z)-4-Heptenal	Symrise	Holzminden
Hexanal	Aldrich	Steinheim
Hexansäure	Fluka	Neu-Ulm
(E)-2-Hexenal	Aldrich	Steinheim
(Z)-3-Hexenal	Synthese	
(E)-2-Hexen-1-ol	Aldrich	Steinheim
(Z)-3-Hexen-1-ol	Aldrich	Steinheim
1-Hexen-3-on	Lancaster	Mühlheim
(E,E)-2,4-Nonadienal	Aldrich	Steinheim
(E,Z)-2,6-Nonadienal	Aldrich	Steinheim
(E,Z)-2,6-Nonadienol	Aldrich	Steinheim
(Z,Z)-3,6-Nonadienal	Synthese	
(E,E,E)-2,4,6-Nonatrienal	Synthese	
δ-Nonalacton	Aldrich	Steinheim
γ-Nonalacton	Aldrich	Steinheim
Nonanal	Aldrich	Steinheim
(Z)-2-Nonenal	Synthese	
δ-Octalacton	IFF	
γ-Octalacton	Aldrich	Steinheim
Octanal	Aldrich	Steinheim
Octansäure	Aldrich	Steinheim
(Z)-1,5-Octadien-3-on	Synthese	
(E)-2-Octenal	Aldrich	Steinheim
1-Octen-3-on	Lancaster	Mühlheim
1-Penten-3-on	Aldrich	Steinheim
1,3,5,8-Undecatetraen	Synthese	
(E)-2-Undecenal	Alfa	

5.3.1.4. Isotopenmarkierte Standards

Verbindung	
[² H ₂]-Buttersäure	
[² H ₄]-(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	
[² H ₄]- <i>trans</i> -4,5-Epoxy-(<i>E</i>)-2-decenal	
[² H ₄]- 2-Heptanol	
[² H ₂]-(<i>E</i>)-2-Hexenal	Synthese nach Literatur
[² H ₂]-(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	
[¹³ C ₂]-(<i>E,E,E</i>)-2,4,6-Nonatrienal	
[5,6- ² H]-(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-on	
[² H ₂]-1-Penten-3-on	

5.3.1.5. Synthese neuer Aromastoffe

5.3.1.5.1. 2,4,6,8-Tridecatetraenal

Synthese von 2,4,6,8-Tridecatetraensäuremethylester

Tris[2-(2-methoxyethoxy)-ethyl]-amin (TDA-1) (1 mmol, 323 mg), 80 ml gesättigte und 80 ml Dichlormethan wurden für mehrere Minuten stark gerührt. Anschließend wurden Methyl-4-(triphenylphosphonium)crotonat-bromid (1,5 mmol, 662) und (*E,E*)-2,4-Nonadienal (1 mmol, 138 mg) zugegeben und für mind. 12 h unter Lichtausschluss Raumtemperatur gerührt. Darauf wurde die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan (100 ml) ausgeschüttelt. Alle organischen Phasen wurden nach Vereinigung und Zugabe von 10%iger Salzsäure (75 ml) für 12 h gerührt. Wiederum wurde die organische Phase abgetrennt und die wässrige zweimal mit Dichlormethan (100 ml) ausgeschüttelt. Organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Nebenprodukte wurden grob mit einer wassergekühlten Kieselgelsäule (50 g, Säulendurchmesser 1,5 cm) chromatographisch abgetrennt. Eluiert wurde mit 200 ml Diethylether.

Reduktion zu 2,4,6,8-Tridecatetraen-1-ol

Die Reduktion des 2,4,6,8-Tridecatetraensäuremethylesters erfolgte durch Zugabe von Lithiumaluminiumhydrid (Spatelspitze vorsichtig unter Rühren hinzugeben). Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurden einige Tropfen Wasser unter starken Rühren zugegeben. Um den Niederschlag aufzulösen, wurde 10%ige Schwefelsäure nach Beenden der Gasentwicklung zugetropft. Wasserphase wurde mittels Schütteltrichter abgetrennt. Die Etherphase wurde über Natriumsulfat getrocknet.

Oxidation zu 2,4,6,8-Tridecatetraen-1-al

Die 2,4,6,8-Tridecatetraen-1-ol-Lösung wurde am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. 1 mmol Dess-Martin-Reagenz wurde hinzugegeben und 12 h gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt und der Rückstand in Pentan aufgenommen. Zur Reini-

gung der Synthese wurde eine Kieselgelsäulenchromatographie durchgeführt (wassergekühlten Kieselgelsäule, 50 g Kieselgel, Säulendurchmesser 1,5 cm).

5.3.1.5.2. Synthese von all-trans-2,4,6,8-Tridecatetraenal über basenkatalysierte Aldoladdition (nach Buttery 1975)

1. In einen Kolben im Salzeisbad (-5°C) wurden 6 mmol (E,E)-2,4-Nonadienal und 12 mmol Acetaldehyd gegeben. Unter Rühren wurden 5 Tropfen Kaliumhydroxidlösung (50 %) zugegeben, 15 min bei -5°C und weiter bei Raumtemperatur (1 h) gerührt.
2. Die Lösung wurde in 100 ml Diethylether aufgenommen, zunächst mit HCl (50 ml, 3 N), dann mit Natriumcarbonatlösung gewaschen und abschließend über Natriumsulfat getrocknet
3. Abtrennen der Nebenprodukte erfolgte durch Säulenchromatographie über eine Kieselgelsäule.

Das entstandene Produkt all-trans-2,4,6-Undecatrienal wurde mittels GC/MS charakterisiert. Die Abtrennung von nicht umgesetzten (E,E)-2,4-Heptadienal und Nebenprodukten erfolgte mit einer wassergekühlten Kieselgelsäule (Säulendurchmesser von 1,5 cm).

2,4,6-Nonatrienal eluierte bei einem Pentan/Ether-Mischungsverhältnis von 80/20.

Problem der Synthese war die geringe Ausbeute, da ein großer Teil weiter zu vermutlich Undecatetraenal und Tridecapentaenal (Vermutung durch RI-Werten und MS-Daten, jedoch nicht weiter untersucht). Diese Nebenprodukte konnten durch Kieselgelsäule und auch durch präparativen HPLC nicht abgetrennt werden

5.3.1.5.3. d₂-(Z)-4-Heptenal

1. Syntheseschritt: d₂-(Z)-3-Hexenol

In einem 100 ml-Dreihalskolben 180 mg Lindlar-Katalysator in 8 ml Pentan gelöst, versetzt mit 0,8 ml Chinolin. Reaktionsgefäß mit Deuterium füllen und 2 g 3-Hexin-1-ol mit Tropftrichter tropfenweise unter Rühren zugeben. Nach 2,5 h mittels GC das Reaktionsende überprüfen und gegebenenfalls nochmals Katalysator zugeben. Nach Ende der Reaktion filtrieren, trocknen und mittels Kieselgelsäule aufreinigen. D₂-(Z)-3-Hexenol eluiert in der Fraktion 70/30 (Pentan/Ether).

Abtrennung von Chinolin wichtig. Anscheinend negativer Einfluss des 2. Syntheseschritts, wie es ein Test im kleinen Maßstab gezeigt hat.

2. Syntheseschritt: Bromierung zu d₂-(Z)-3-Hexen-1-Bromid:

d₂-(Z)-3-Hexen-1-ol aus Schritt 1 in 3 ml Pyridin lösen und auf -20°C kühlen. Unter Rühren und über einen Zeitraum von 2 Stunden tropfenweise Phosphortribromid hinzugeben (4 mmol). (Vorsicht! Stark exotherme Reaktion!). Weiteres Rühren für 1 h bei -10°C, anschließend bei Raumtemperatur. Nach 15 h mit Eis kühlen und Pentan und Wasser (je

50ml) zugeben. Die organische Phase mit Wasser, wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1 Mol) und nochmals Wasser waschen. Trocknen mit Natriumsulfat.

3. Syntheseschritt: d_2 -(Z)-4-Heptenal:

Tetrahydrofuran (THF) zunächst über Natriumsulfat vortrocknen, anschließend vorsichtig mit Natriumhydrid trocknen.

D_2 -(Z)-3-Hexen-1-Bromid aus 2. (etwa 7,5 mmol) mit 7,5 mmol Magnesium in 5 ml getrocknetem THF unter Reflux für 45 min rühren. Auf 5°C abkühlen und 7,5 mmol Triethylformat zugeben. Bei 5°C für 30 min rühren, danach 1,5 h bei 25°C und dann unter Reflux für 4 h bei 65 -70°C. Abschließend über Nacht bei Raumtemperatur stehen lassen.

Die erhaltene d_2 -(Z)-4-Heptenaldiethylacetal-Lösung wird mit Eis gekühlt und mit 10 ml verdünnter Schwefelsäure (5 %, v/v) hydrolysiert und für 30 min unter Reflux auf 50°C erhitzt.

Nach Abkühlen zweimal mit Diethylether (je 50 ml) ausschütteln. Die vereinigten organischen Phasen mit Wasser, wässriger NaHCO_3 -Lösung und nochmals mit Wasser waschen (je 100 ml). Über Na_2SO_4 trocknen und an der Vigreux Kolonne einengen. D_2 -(Z)-4-Heptenal in Pentan aufnehmen und aufreinigen durch Silbernitrat-Kieselgel-Chromatographie.

5.3.1.5.4. Synthese von Cu-(II)-Palmitat

510 mg Cu-(II)-Acetat und 1700 mg Palmitinsäure jeweils in 50 ml Ethanol lösen, dann beide Lösungen vereinigen und über Nacht stehen lassen. In gesättigter Toluol-Lösung lösen und unter Rückfluss zum Sieden bringen. Anschließend abfiltrieren, erkalten lassen und abrotieren. Umkristallisierung mit Toluol wiederholen und nochmals abrotieren.

5.3.2 *Modellversuche; Aromastoff-Isolierung*

5.3.2.1. Autoxidation der freien Fettsäure

250 mg freie Fettsäure wurden in ein Quarzgefäß eingewogen, 2 mg Cu-(II)-Palmitat und anschließend 5 mL Diethylether zugegeben. Nach Lösen der Fettsäure wurde das Lösungsmittel mit Sauerstoff vollständig abgeblasen. Der Quarztiegel wurde sofort die Oxidationsapparatur gehängt. Diese bestand aus einer abgedunkelten Kammer, in der eine Leuchtstoffröhre angebracht war. Im Abstand von 5 cm zur Lampe wurde das Quarzgefäß befestigt. Um eine Erhitzung zu vermeiden hing der Tiegel in einem Wasserbad, das durch ein Kryostat auf 25°C gehalten wurde.

5.3.2.2. Oxidation des Öls durch Belichtung

50 g winterisiertes, gebleichtes Fischöl (Cognis) wurden in einen Kolben aus Quarzglas gewogen. 5 mg Cu-(II)-Palmitat mit etwas Diethylether zugesetzt und im Ultraschallbad (2 x 5 min) gelöst. Das Lösungsmittel wurde anschließend mit Sauerstoff abgeblasen (10 min). In einer Kammer mit 2 Leuchtstoffröhren (Philips TL 20 W/55 de Luxe; Abstand 5 cm) wird

der verschlossene Kolben anschließend für 48 h oder 96 h belichtet und mehrmals mit Sauerstoff abblasen. Durch ein Wasserbad wird der Kolben auf 25°C temperiert. 50 g des zu untersuchenden Öls werden mit 600 mL Diethylether versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt.

5.3.2.3. Isolierung der flüchtigen Verbindungen

Zur Abtrennung der nichtflüchtigen Bestandteile wird eine SAFE-Destillation nach Engel et al. (1999) durchgeführt. Die SAFE-Apparatur (Abb. 19) wird auf 40°C temperiert und durch eine Hochvakuumpumpe evakuiert. Die Diethyletherlösungen wird langsam durch einen Tropftrichter in einen auf 40°C temperierten Rundkolben getropft. Flüchtige Bestandteile resublimieren in einem mit flüssigem Stickstoff gekühlten Rundkolben. Zur Verminderung von Verlusten und zum Schutz der Hochvakuumpumpe befindet sich zwischen gekühltem Rundkolben und Hochvakuumpumpe eine flüssigstickstoffgekühlte Kühlfalle. Der somit erhaltene Extrakt wird an der Virgreuxkolonne (39°C) auf etwa 5 ml und weiter mittels Mikrodestillation auf etwa 250 µL eingengt.

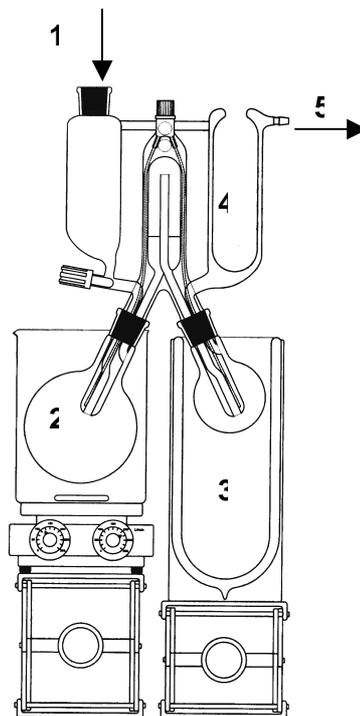


Abbildung 51: SAFE-Apparatur (Engel et al., 1999): Tropftrichter (1), temperierter Rundkolben (2), flüssigstickstoff-gekühlter Rundkolben (3), Kühlfalle (4), Anschluss Hochvakuumpumpe (5)

5.3.2.4. Isolierung aus mikroverkapseltem Fischöl

125 g mikroverkapseltes Fischöl (MFO), das entspricht 50 g reinem Fischöl, werden unter Rühren für 1 h mit fünffacher Menge an $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ resuspendiert. Die Emulsion wird direkt für eine SAFE-Destillation verwendet. Der wässrige Extrakt wird mit insgesamt gleicher Menge

Diethylether dreimal ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend an der Vigreux-Kolonnen eingengt. MFO mit nOSA als Verkapselungsmaterial konnte ohne Hilfsmittel destilliert werden, MFO mit Kaseinat benötigte 1 Tropfen Silicon-Entschäumer.

5.3.3 Analytische Methoden

5.3.3.1. Kapillargaschromatographie/ Olfaktometrie (HRGC-O)

Zur Identifizierung der Aromastoffe werden mit Hilfe der Kapillargaschromatographie die flüchtigen Substanzen aufgetrennt. Mit einem Y-Splitter wird der Gasstrom 1:1 aufgeteilt und zu einem FID (Flammenionisationsdetektor) und einen Sniffingport geleitet. Somit werden simultan aromaaktive Substanzen am FID detektiert und die dazugehörigen Geruchsqualitäten und –intensitäten protokolliert. Mit einer homologen Alkanreihe werden die Retentionsindizes (RI-Werte) bestimmt. Zur Identifizierung von Aromastoffen werden Ris auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität (FFAP und DB 5) bestimmt, mit Ris aus Datenbanken verglichen und mit Referenzsubstanzen überprüft.

RI-Bestimmung (Kováts, 1958):

$$RI = 100 \cdot \frac{N + (RT_v - RT_n)}{RT_{n+1} - RT_n}$$

RI:	linearer Retentionsindex
RT _v :	Retentionszeit der Verbindung
RT _n :	Retentionszeit des Alkans mit n Kohlenstoffatomen
RT _{n+1} :	Retentionszeit des Alkans mit n+1 Kohlenstoffatomen
N:	Anzahl der Kohlenstoffatome des Alkans n

5.3.3.2. Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA)

Der Aromaextrakt wird mit Diethylether 1:2 (v/v) verdünnt, die erhaltene Verdünnung wiederum 1:2 verdünnt, usw. Man erhält die Verdünnungsstufen 2ⁿ wobei 2⁰ = 1 dem unverdünnten Aromaextrakt entspricht. Beginnend mit der niedrigsten Verdünnungsstufe werden die Lösungen olfaktorisch durch GC-O untersucht. Die Verdünnungsstufe, bei der ein Aromastoff gerade noch wahrgenommen wird, wird als Flavour Dilution –Faktor (FD-Faktor) bezeichnet. (Schieberle und Grosch, 1988)

5.3.3.3. Fettsäureanalyse nach AOAC-Methode

Es wurde jeweils 1 Tropfen des zu untersuchenden Fischöls in ein Pyrex-Röhrchen gefüllt. 1,5 ml NaOH-Lösung werden dazugegeben und homogenisiert. Der Kopfraum wird mit Stickstoff abgeblasen und das Röhrchen wird verschlossen. In einen Evaporator bei 100°C für 30 min Fett aufschließen, anschließend Röhrchen unter kaltem Wasser abkühlen und die Fettsäuren liegen frei vor. 2 ml methanolische Lösung von Bortrifluorid (Sigma) dazugeben, vortexen und für weitere 35 min in den Evaporator geben. Abkühlen bei Raumtemperatur auf

etwa 40°C. 1 ml Isooctan zugeben, mit Stickstoff be gasen und vortexen. Organische Phase nochmals ausschütteln und zur GC-Injektion (GC-MS; GC-FID). Als Referenzlösung wurde Supelco 37 Component FAME Mix verwendet.

5.3.3.4. Quantitative Bestimmung durch Stabilisotopenassays

Die Quantifizierung von Aromastoffen erfolgte über die Sabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA). Hierzu wurden die Proben entsprechend der Aromaidentifizierung aufgearbeitet. Jedoch wurden während der Aromaextraktion mittels Lösungsmittelzusatzes bei Fischöl die isotopenmarkierten Standardlösungen zugegeben. Bei den MFO-Proben wurden bereits während der Resuspension mit Wasser isotopenmarkierte Standardlösungen zugegeben.

5.3.3.4.1. Konzentrationsbestimmung der isotopenmarkierten Standards

Die Konzentrationsbestimmung der isotopenmarkierten Standards wird über HRGC/FID bestimmt. Berechnungen erfolgen über deren Peakflächen. Zunächst wird eine Eichgerade von Methyloctanoat und der unmarkierten Verbindung erstellt, in den Verhältnissen 1:0,25, 1:1 und 1:4 erstellt mit der Geradenfunktion ($y = mx + t$).

Anschließend kann über das Peakverhältnis Methyloctanoat und isotopenmarkierter Standard mit folgender Formel die Konzentration ermittelt werden:

$$c(\text{Analyt}) = c(\text{STD}) \cdot \left(\frac{I(\text{Analyt})}{I(\text{STD})} - t \right) / m$$

c (Analyt):	Konzentration des isotopenmarkierten Standards
c (STD):	Konzentration von Methyloctanoat
m:	Wert m der Geradenfunktion
t:	Wert t der Geradenfunktion
I (Analyt):	Intensität der isotopenmarkierten Verbindung
I (STD):	Intensität von Methyloctanoat

5.3.3.4.2. Konzentrationsbestimmung des Analyten in der Probe

Über die relativen Intensitäten der ausgewählten Massenspuren am HRGC-MS-CI erfolgt die Quantifizierung. Die Konzentration des Analyten errechnet sich wie folgt:

$$m_A = \frac{m_s \cdot I_A \cdot Rf}{I_s}$$

m_A :	Masse des Analyten in der Probe
m_s :	Masse des zupipettierten, markierten Standards
I_A :	Intensität des Ions m/z des Analyten (unmarkiert)
I_s :	Intensität des Ions m/z des Standards (markiert)
Rf:	Responsefaktor

Der Responsefaktor wird berechnet aus den Mischungen des Analyten und des Standards, mit den Mischungsverhältnissen 1:3, 1:1 und 3:1 mit der Formel:

$$Rf = \frac{I_s \cdot c_A}{I_A \cdot c_S}$$

c_A : Konzentration des Analyten
 c_S : Konzentration des markierten Standards
 I_A : Intensität des Ions m/z des Analyten (unmarkiert)
 I_S : Intensität des Ions m/z des Standards (markiert)
 Rf: Responsefaktor

Analyt	Quantifizierung über isotopenmarkierten Standard
(E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal; (E,E)-2-4-Decadienal	[² H ₄]- (E,E)-2-4-Decadienal
trans-4,5-Epoxy-2,7-decadienal	[² H ₄]-trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal
(E)-2-Hexenal	[² H ₂]- (E)-2-Hexenal
(Z,Z)-3,6- und (E,Z)-2,6-Nonadienal	[² H ₂]- (E,Z)-2,6-Nonadienal
(E,E,Z)- und (E,E,E)-2,4,6-Nonatrienal	[¹³ C ₂]- (E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal
(Z)-1,5-Octadien-3-on	[5,6- ² H]- (Z)-1,5-Octadien-3-on
1-Penten-3-on	[² H ₂]-1-Penten-3-on

5.3.4 Chromatographische Methoden

5.3.4.1. Säulenchromatographie

Zur Auftrennung der Substanzen des Aromaextrakts nach Polarität wird eine Kieselgelsäule verwendet. Kieselgel 60 nach Esterbauer (1968) gereinigt und auf einen Wassergehalt von 7% eingestellt. 30 g gereinigtes Kieselgel 60 werden mit Pentan aufgeschlämmt und in eine wasser-gekühlte Glassäule (ca. 33 x 1,5 cm) gefüllt und mit weiteren 100 ml Pentan konditioniert. Nach Probenaufgabe wird mit zunehmender Polarität aufgetrennt. Reihenfolge und Zusammensetzung des Elutionsmittels wird in Tabelle 20 gezeigt. Eine Abtrennung der Fettsäuren und flüchtigen Stoffe direkt vom Öl erfolgte mit einer dicken, kurzen Säule (20 x 3,0 cm)

Tabelle 20: Elutionsmittel der Säulenchromatographie

Fraktion	Volumen (mL)	Eluent
A	100 mL	Pentan / Ether (100/0, v/v)
B	100 mL	Pentan / Ether (90/10, v/v)
C	100 mL	Pentan / Ether (80/20, v/v)
D	100 mL	Pentan / Ether (70/30, v/v)
E	100 mL	Pentan / Ether (60/40, v/v)

5.3.4.2. HPLC

HPLC System

Hochdruckpumpe:	Abimed Gilson
UV-Detektor:	Shimadzu Spectrophotometric Detector SPD-2A
Säule:	Nukleosil 120A (5µm)
Laufmittel:	Pentan/ tert-Butylmethylether (95/5; v/v)

5.3.4.3. Quantifizierung

Nach der Autoxidation für 48 Stunden wurde die oxidierte Säure in Diethylether aufgenommen. Die Standards wurden in entsprechender Konzentration zupipetiert. Anschließend wurde wie bei der Aromaextraktverdünnungsanalyse einer SAFE-Destillation unterzogen. Der so enthaltene Extrakt mit internem Standard wurde mit GC-MS (HRGC/ITD Saturn 2000) und GC-GC-MS (TDGC/ITD 800) vermessen. (CI-Modus, Methanol als Reaktionsgas) (Tabelle 21). Die Responsefaktoren wurden mittels Mischungen von markiertem und unmarkierten Aromastoffen gemessen.

Tabelle 21: Verwendete Standards und Massenspuren

Nr.	Aromastoff	Standard	Massenspur
1	1-Penten-3-on	d ₂ -1-Penten-3-on	85/87
2	(Z)-3-Hexenal	d ₂ -(Z)-3-Hexenal	81/83
3	(Z)-4-Heptenal	d ₂ -(Z)-4-Heptenal	95/97
6	(Z)-1,5-Octadien-3-on	d ₂ -(Z)-1,5-Octadien-3-on	125/127
7	(Z,Z)-2,5-Octadienal	d ₂ -(Z)-1,5-Octadien-3-on	125/127
10	(Z,Z)-3,6-Nonadienal	d ₂ -(E,Z)-2,6-Nonadienal	139/141
12	(E,Z)-2,6-Nonadienal	d ₂ -(E,Z)-2,6-Nonadienal	139/141
13	Buttersäure	d ₂ -Buttersäure	89/91
19	(E,E,Z)-2,4,7-Decatrienal	d ₄ -(E,E)-2,4-Decadienal	151/157
21	(E,E,E)-2,4,7-Decatrienal	d ₄ -(E,E)-2,4-Decadienal	151/157
22	(E,E,Z)-2,4,6-Nonatrienal	¹³ C ₂ -(E,E,E)-2,4,6-Nonatrienal	137/139
26	(E)-4,5-(E,Z)-2,7-Epoxydecadienal	d ₄ -(E)-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	81/143

5.3.5 Spektroskopische Methoden

5.3.5.1. HRGC/Massenspektroskopie (MS)

System I (eindimensional)

Über einen Gaschromatograph 5890 Series II (Hewlett Packard, Waldbronn) werden die Substanzen ins Sektorfeld-Massenspektrometer MAT 95 S (Finnigan MAT, Bremen) geleitet.

Die Injektion erfolgt Cool-On-Column. Aufnahme der EI-Spektren erfolgt bei einer Ionisierungsenergie von 70 eV, der CI-Spektren erfolgt bei einer Ionisierungsenergie von 115 eV. Das System wird zur Überprüfung von identifizierten Substanzen verwendet und zur Identifizierung.

System II (zweidimensional)

Injektion erfolgt an einem Gaschromatograph der Mega2-Series (Fisons Instruments) mit MCSS-System (Moving Column Stream Switching System) mit FFAP-Säule und ist über eine Kühlfalle (MFA 815, Fisons Instruments) mit dem zweiten Chromatograph HRGC 5160 (Carlo Erba, Hofheim) verbunden. Bei der zweiten Kapillarsäule handelt es sich um eine DB 5. Das Säulenende ist mit einem Ion Tap Detektor (ITD, Typ800, Finnigan MAT, Bremen) verbunden. Methanol dient als Reaktandgas bei 90 eV im CI-Modus. Im EI-Modus werden die MS-Spektren bei 70 eV durch Elektronenstoßionisation erzeugt. An beiden HRGCs kann über Sniffing-Port die Geruchsqualität verglichen werden.

Das System wird zur Identifizierung von Aromastoffen verwendet. Im Gegensatz zu System I können überlagerte Aromastoffe durch 2 Säulen getrennt und bei geringer Geruchsschwelle durch die Kühlfalle angereichert werden.

5.3.6 Sensorische Untersuchungen

5.3.6.1. Probenvorbereitung von Lebensmitteln, angereichert mit MFO

5.3.6.1.1. Brotbackmischungen, mit und ohne MFO angereichert

Sowohl mit, als auch ohne MFO angereicherte Brotbackmischungen wurden nach Anleitung einer herkömmlichen Brotbackmischung für Weißbrot zubereitet: Zu 495 g Brotbackmischung wurde 1 Packung Trockenhefe (Dr. Oetker, Bielefeld) und 280 ml lauwarmes Wasser zugegeben. Der Teig wurde 1 min bei kleiner Stufe, dann 4 min bei höchster Stufe geknetet. Der Teig wurde abgedeckt und wurde bei 40°C und 100 % Luftfeuchte für 30 min gehen gelassen. Anschließend wurde er in eine gefettete Kastenform gegeben und nochmals für 30 min gehen gelassen. Gebacken wurde das Brot bei 210°C für 10 min und für weitere 30 min bei 180°C, bei 100% Luftfeuchte. Für vergleichende sensorische Tests der Universität Kiel wurden die Brote mit einem Brotbackautomaten mit dem Programm „Weißbrot, mittlere Bräunung“ zubereitet. Für sensorische Bewertungen wurden Stücke zu 6-8 g geschnitten.

5.3.6.1.2. Säuglingsanfangsnahrung (SAN), mit und ohne MFO angereichert

Milch- und sojabasierte SAN mit oder ohne MFO wurden wie handelsübliche HUMANA 1 laut Herstellerangaben zubereitet: Für 100 mL trinkfertige Nahrung werden 90 mL mit 13 g SAN zubereitet. Da bei den Untersuchungen aber kein heißes Wasser verwendet wurde, wurde nach Wasserzugabe für eine Stunde gerührt.

Für die sensorischen Untersuchungen wurden jeweils 20 mL pro Sensorikglas abgefüllt.

5.3.6.2. Aromaprofilanalyse

Für sensorische Tests wurden dem geschulten Sensorikpaneel die Proben in neutralen Sensorikgläsern gereicht. Die Intensitäten der Geruchsqualitäten konnten auf einer Skala von 0 bis 3 bewertet werden. Aromaprofile der Fischölproben (12 mL á Glas) wurden von jeweils 12-14 Teilnehmern durchgeführt. Die verwendeten Vergleichssubstanzen der Geruchsqualitäten können Tabelle 22 entnommen werden.

Tabelle 22: Referenzsubstanzen zur Erstellung des Aromaprofils der SAN mit und ohne MFO und verschiedener

Geruchsqualität	Verbindung
nach Kleber, stechend	1-Penten-3-on
fisch tranig	(Z)-4-Heptenal
grün, gras	Hexanal
nach Gurke	(E,Z)-2,6-Nonadienal
nachGeranie	(Z)-1,5-Octadien-3-on
frisch	1,3,5-Undecatrien
fett, grün	(E)-2-Nonenal

11 Probanden erstellten Aromaprofile der Säuglingsanfangsnahrung. In Tabelle 23 sind die Verbindungen und deren Geruchsqualitäten, die als Referenzen verwendet wurden.

Tabelle 23: Referenzsubstanzen zur Erstellung des Aromaprofils der SAN mit und ohne MFO. Sowohl milch-, als auch sojabasierte SAN. Milchbasierte SAN mit MFO nOSA und MFO KAS, Sojabasierte SAN nur mit MFO nOSA

Geruchsqualität	Verbindung
stechend	1-Penten-3-on
fischig, tranig	(Z)-4-Heptenal
grün, nach Gras	(Z)-3-Hexenal
nach Gurke	(E,Z)-2,6-Nonadienal
nach Geranie	(Z)-1,5-Octadien-3-on
nach Melone	(Z,Z)-3,6-Nonadienal
fett	(E,E)-2,4-Decadienal
metallisch	trans-(4,5)-Epoxy-(E)-2-Decenal

5.3.6.3. Triangeltest

Der „Forced Choice“-Test wurde nach der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB: Untersuchung von Lebensmitteln/ Sensorische Prüfverfahren/ Dreiecksprüfung durchgeführt und ausgewertet.

6 Darstellung der wirtschaftlichen Verwertbarkeit und Nutzen für klein- und mittelständische Unternehmen

Die Supplementierung von Lebensmitteln mit LCPUFAs stößt in der Lebensmittelwirtschaft auf immer größeres Interesse. Neben diätetischen Lebensmitteln wie z.B. Säuglingsnahrung, wo eine physiologisch begründete Notwendigkeit zur Anreicherung gegeben ist, wächst auch der Markt der funktionellen Lebensmittel stetig, die über den Nähr- und Geschmackswert hinaus den Gesundheitszustand und das Wohlbefinden des Verbrauchers steigern sollen. Wie eine Studie der CMA jedoch jüngst zeigte, sind deutsche Lebensmittelhersteller beim Einsatz von LCPUFAs im europäischen Vergleich eher zurückhaltend. Während europaweit 29,4 % der befragten Unternehmen LCPUFAs einsetzten, waren es in Deutschland nur 15 %. Führend sind nordeuropäische Länder, in denen bis zu 50 % der befragten Unternehmen mit LCPUFAs supplementierten. Zwei Gründe sind hierfür ausschlaggebend. Es ist zum einen zu vermuten, dass die Kosten für Produktentwicklung inklusive der Beurteilung der Produktsicherheit, Innovationen am Markt, insbesondere bei klein- und mittelständischen Unternehmen, erschweren. Zum anderen ist bedingt durch die Oxidationsanfälligkeit der Produkte und die damit verbundene geringe sensorische Haltbarkeit der Produkte ein hohes Absatzvolumen notwendig.

Die Mitgliederstruktur des Diätverbandes e.V. ist durch klein- und mittelständische Unternehmen geprägt. Insgesamt sind in beiden Verbänden zzt. 100 Unternehmen mit einem Umsatz von 3,4 Mrd. Euro organisiert. Durch grundlegende Arbeiten zur Stabilisierung der mikroverkapselten Rohstoffe (verlängerte Haltbarkeit) und durch beschleunigte Lagertest (reduzierte Entwicklungskosten) kann die Wettbewerbsposition dieser Unternehmen gestärkt werden und klein- und mittelständischen Unternehmen der Markteintritt in den Wachstumsmarkt "Functional Food" erleichtert werden.

Die grundlegenden wissenschaftlichen Erkenntnisse zur Trägermatrixauswahl und verfahrenstechnischen Optimierung der vorliegenden Arbeit besitzen eine hohe Relevanz für die industrielle Praxis im Hinblick auf die Applikationsentwicklung und die Qualitätssicherung im Wachstumsmarkt der funktionellen Lebensmittel. Die Erkenntnisse zum Einfluss der rheologischen Eigenschaften der Emulsionen auf die physikalischen Partikelcharakteristika weisen einen Weg, in einfachen Untersuchungen und Trocknungssimulationen individuelle Testsysteme zu entwickeln, um so in kürzester Zeit über die Eignung verschiedener Trägersysteme

für eine Applikation zu entscheiden. Im Rahmen der Experimente zur Mikroverkapselungseffizienz wurden unterschiedliche Extraktionsverfahren zur Quantifizierung des extrahierbaren Öls vergleichend bewertet. Es zeigte sich, dass über gängige Schnellmethoden eine Abschätzung, jedoch nicht eine Quantifizierung des extrahierbaren Öls möglich ist. Hinsichtlich des weit verbreiteten Extraktionsverfahrens nach Soxhlet konnte aufgezeigt werden, dass der Analysenfehler bei der beobachteten inhomogenen Verteilung der Dispersphase durch Standardisierung der Methodik auf eine Anzahl der Lösungsmitteldurchläufe im Gegensatz zu der in der Methodenvorschrift angegebenen Standardisierung der Extraktionszeit minimiert werden kann.

Im Hinblick auf die Applikationsentwicklung können aus den Ergebnisse grundsätzliche Empfehlungen abgeleitet werden. Bei Kernmaterialien, bei deren Oxidation sensorisch aktive Verbindungen auftreten, ist eine strikte Minimierung des extrahierbaren Kernmaterials bzw. eine effiziente chemische Stabilisierung notwendig. Eine Stabilitätsbeurteilung auf Basis des Gehalts an extrahierbarem Öls ist nicht möglich. Hinsichtlich der chemischen Stabilisierung LCPUFA-reicher Öle kann eine Beurteilung verschiedener Antioxidanskombinationen unter Verwendung des temperaturkatalysierten und durch permanente Sauerstoffzufuhr beschleunigten Rancimat-Tests erfolgen, jedoch darf die verwendete Temperatur nicht mehr als 60 °C betragen. Allgemein hat sich aufgrund der multiplen Systemübergänge während des Mikroverkapselns eine Kombination primärer lipophiler Antioxidantien mit Synergisten und einem hydrophilen chelierenden Agens als besonders effizient erwiesen.

7 Literatur

Literatur für Berichtskapitel der Forschungsstellen 1 und 2

- (1) Hogan, S. A.; McNamee, B. F.; O'Riordan, E. D.; O'Sullivan, M. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 1934-1938.
- (2) Hogan, S. A.; McNamee, B. F.; O'Riordan, E. D.; O'Sullivan, M. Microencapsulating properties of whey protein concentrate 75. *Journal of Food Science* **2001**, *66*, 675-680.
- (3) Hogan, S. A.; McNamee, B. F.; O'Riordan, E. D.; O'Sullivan, M. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal* **2001**, *11*, 137-144.
- (4) Kagami, Y.; Sugimura, S.; Fujishima, N.; Matsuda, K.; Kometani, T.; Matsumura, Y. Oxidative stability, structure, and physical characteristics of microcapsules formed by spray drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. *Journal of Food Science* **2003**, *68*, 2248-2255.
- (5) Onwulata, C. I.; Smith, P. W.; Cooke, P. H.; Holsinger, V. H. Particle structure of encapsulated milkfat powders. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **1996**, *29*, 163-172.
- (6) Minemoto, Y.; Hakamata, K.; Adachi, S.; Matsuno, R. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation* **2002**, *19*, 181-189.
- (7) Keogh, M. K.; O'Kennedy, B. T.; Kelly, J.; Auty, M. A.; Kelly, P. M.; Fureby, A.; Haahr, A.-M. Stability to oxidation of spray-dried fish oil powder microencapsulated using milk ingredients. *Journal of Food Science* **2001**, *66*, 217-224.
- (8) Keogh, M. K.; O'Kennedy, B. T. Milk fat microencapsulation using whey proteins. *International Dairy Journal* **1999**, *9*, 657-663.
- (9) Fäldt, P.; Bergenståhl, B. Fat encapsulation in spray-dried food powders. *Journal of the American Oil Chemists Society* **1995**, *72*, 171-176.
- (10) Eugsten-Meyer, E. Adsorptionsverhalten von Proteinen und niedermolekularen Lipiden der Milch an Phasengrenzflächen. *Dissertation ETH Nr. 1476, ETH Zürich, Schweiz* **2001**.
- (11) Eugsten-Meyer, E.; Eyer, H.; Puhán, Z. Emulgatorwirkung von Buttermilchkonzentraten in Speiseeis. *Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Lebenfeld, Bern, Schweiz und Institut für Lebensmittelwissenschaften, ETH Zürich, Schweiz* **2001**.
- (12) Partanen, R.; Yoshii, H.; Kallio, H.; Yang, B.; Forsell, P. Encapsulation of sea buckthorn kernel oil in modified starches. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2002**, *79*, 219-223.
- (13) Reineccius, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology* **1991**, 144-149.
- (14) Trubiano, P. C. The role of speciality food starches in flavor encapsulation. In *Flavor technology: physical chemistry, modification and process*; American Chemical Society, Ed., 1995.
- (15) Reineccius, G. Flavour encapsulation. *Food Reviews International* **1989**, *5*, 147-176.
- (16) Hogan, S. A.; O'Riordan, E. D.; O'Sullivan, M. Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. *Journal of Microencapsulation* **2003**, *20*, 675-688.
- (17) Baik, M.-Y.; Suhendro, E. L.; Nawar, W. W.; McClements, D. J.; Decker, E. A.; Chinchoti, P. Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2004**, *81*, 355-360.
- (18) Watanabe, Y.; Fang, X.; Minemoto, Y.; Adachi, S.; Matsuno, R. Suppressive effect of saturated acyl L-ascorbate on the oxidation of linoleic acid encapsulated with maltodextrin or gum arabic by spray-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 3984-3987.
- (19) Shiota, M.; Tatsumi, K. Effect of sucrose ester of fatty acid on the antioxidant activity of milk products on fish oil oxidation. *Journal of Food Science* **2002**, *67*, 547-552.

- (20) Gohtani, S.; Sirendi, M.; Yamamoto, N.; Kajikawa, K.; Yamano, Y. Effect of droplet size on oxidation of docosahexanoic acid in emulsion system. *Journal of Dispersion Science and Technology* **1999**, *20*, 1319-1325.
- (21) Lethuaut, L.; Métro, F.; Genot, C. Effect of droplet size on lipid oxidation rates of oil-in-water emulsions stabilized by protein. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2002**, *79*, 425-430.
- (22) Soottitantawat, A.; Yoshii, H.; Furuta, T.; Ohkawara, M.; Linko, P. Microencapsulation by spray drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science* **2003**, *68*, 2256-2262.
- (23) Finney, J.; Buffo, R.; Reineccius, G. A. Effects of type of atomization and processing temperature on the physical properties and stability of spray-dried flavours. *Journal of Food Science* **2002**, *67*, 1108-1114.
- (24) Walton, D. E.; Mumford, C. J. The morphology of spray-dried particles. The effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. *Trans IChemE* **1999**, *77A*, 442-460.
- (25) Drusch, S.; Schwarz, K. Microencapsulation of oil rich in long-chain polyunsaturated fatty acids with n-octenylsuccinate-derivatised starch. *Journal of Microencapsulation* **2004**, zur Veröffentlichung eingereicht.
- (26) Danviriyakul, S.; McClements, D. J.; Decker, E.; Nawar, W. W.; Chinachoti, P. Physical stability of spray-dried milk fat emulsion as affected by emulsifiers and processing conditions. *Journal of Food Science* **2002**, *67*, 2183-2189.
- (27) Drusch, S.; Schwarz, K. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. *European Food Research and Technology* **2006**, *222*, 155-164.
- (28) Drusch, S.; Serfert, Y.; Schwarz, K. Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: Flow properties and oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2006**, *108*, 501-512.
- (29) Westergaard, V. *Milk powder technology. Evaporation and spray-drying*, 5th Edition ed.; Niro A/S: Kopenhagen, 2004.
- (30) Kim, E. H.-J.; Chen, X. D.; Pearce, D. Melting characteristics of fat present on the surface of industrial spray-dried dairy powders. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2005**, *42*, 1-8.
- (31) Kulås, E.; Ackman, R. G. Properties of α -, γ -, and δ -tocopherol in purified fish oil triacylglycerols. *Journal of the American Oil Chemists Society* **2001**, *78*, 361-367.
- (32) Kulås, E.; Ackman, R. G. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 1724-1729.
- (33) Hamilton, R. J.; Kalu, C.; McNeill, G. P.; Padley, F. B.; Pierce, J. H. Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* **1998**, *75*, 813-822.
- (34) Kamal-Eldin, A.; Appelqvist, L.-Å. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* **1996**, *31*, 671-701.
- (35) Hopia, A. I.; Huang, S.-W.; Schwarz, K.; German, J. B.; Frankel, E. N. Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, *44*, 2030-2036.
- (36) Rizner Hras, A.; Hadolin, M.; Knez, Z.; Bauman, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry* **2000**, *71*, 229-233.
- (37) Ohm, V. A. *Konzentrationsabhängige Interaktionen zwischen alpha-Tocopherol und weiteren Antioxidantien in lipidhaltigen Systemen.*; Der Andere Verlag: Tönning, Lübeck, Marburg, 2007.
- (38) Shahidi, F.; Han, X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **1993**, *33*, 501-547.

- (39) Decker, E. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability. *Trends in Food Science and Technology* **1998**, 9, 241-248.
- (40) VDLUFA Bestimmung von freiem Fett in fetthaltigen getrockneten Milcherzeugnissen. *Verband der Deutschen Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalten. Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik (Methodenbuch)* **1995**, Band VI, C15.12.14.
- (41) Satué-Gracia, T.; Frankel, E. N.; Rangavajhyala, N.; German, J. B. Lactoferrin in infant formulas: Effect on oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48, 4984-4990.
- (42) Hu, M.; McClements, D. J.; Decker, E. Impact of chelators on the oxidative stability of whey protein isolate-stabilized oil-in-water emulsions containing omega-3 fatty acids. *Food Chemistry* **2004**, 88, 57-62.
- (43) International Dairy Federation Anhydrous milk fat. Determination of peroxide value. *International IDF Standards* **1991**, Square Vergot 41, Brussels, Belgium, sec. 74A:1991.

Literatur für Berichtskapitel der Forschungsstelle 3

- Badings HT (1970) *Neth Milk Dairy* 24:14-257
- Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P (2001) *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Springer Verlag, Heidelberg – Berlin: S 182 ff
- Berger RG, Drawert F, Kollmannsberger H, Nitz S (1985) *J of Food Sci* 50:1655-1657
- Blank I, Lin J, Fay LB (2000) In: *Frontiers of Flavour Science* (Schieberle P, Engel K-H, ed) DFA, Garching, S 3-9
- Blank I, Lin J, Vera FA, Welti DH, Fay LB (2001) *J Agric Food Chem*, Vol 49: 2959-2965
- Boland W, Jaenicke L, Müller D G, Gassmann G (1987) *Experientia* 43:466-467
- Breslow JL (2006) *Am J Clin Nutr* Vol 83:1477-1482
- Broekhof, NLJM, Witteveen JG, van der Weerd AJA (1986) *Recl Trav Chim Pays-Bas* 105:436-442
- Burdack-Freitag A (2007) Dissertation, TU München, Zur Bildung wertgebender Aromastoffe bei der Röstung von Haselnüssen (*Corylus avellana*)
- Drusch S, Schwarz K (2006) *Eur Food Res Technol* 222:155-164
- Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N (1975) *Am J Clin Nutr* 28:958-966
- Engel W, Bahr W, Schieberle P (1999) *Eur Food Res Technol* 209: 237-241
- Esterbauer H (1968) *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 70:1-4
- Fischer S (1987) *Pharmazie in unserer Zeit* 16:1-11
- Flath RA, Forrey RR (1977) *J Agric Food Chem* 25:103-109
- Frankel EN (1982) *Prog Lipid Res* 22:1-33
- Gassenmeier K (1994) Dissertation, TU München, Wichtige Aromastoffe in Weizenbackwaren – Untersuchungen zum Einfluss des Backfettes sowie der Hefefermentation
- German JB, Berger RG, Drawert F (1991) *Chem Mikrobiol Techn Lebensm* 13:19-24
- GISSI-Study (1999) *The Lancet* 354:447-455
- Guth H, Grosch W (1990) *Lebensm Wiss Technol* 23:513-522
- Hofmann T, Schieberle P (1998) *Z Lebensm Unters Forsch A* 207:229-236
- Hogan SA, McNamee BF, O’Riordan ED, O’Sullivan M (2001) *J Agric Food Chem* 49:1934-1938
- Hogan SA, O’Riordan ED, O’Sullivan M (2003) *J Microencapsulation* 20:675-688
- Hsieh TCY, Williams S, Vejapan W, Meyers SP (1989) *J Agric Food Chem* 66:114-117
- Josephson DB, et al. (1986) In: *Biogenesis of Aromas* (Parliament TH, Croteau R, eds) ACS Symposium Series 317, Am Chem Soc, Washington DC, pp 200217
- Karahadian C, Lindsay RC (1989) *J Agric Food Chem* 66: 953-60
- Ke, P J, et al. (1975) *J Agric Food Chem* 52:349-353
- Kris-Etherton, PM, Innis, S (2007) *J Am Diet Assoc* 107:1599-61
- Kolanowski W, Laufenberg G (2006) *Eur Food Res Technol* 222:472-7
- Kolanowski W, Jaworska D, Weißbrodt J, Kunz B (2007a) *J Agric Food Chem* 84:37-45

Kolanowski W, Jaworska D, Laufenberg G, Weißbrodt J (2007b) *Eur Food Res Technol* 225:715–721

Kolanowski W, Weißbrodt J (2008) *J Am Oil Chem Soc* 85:339-345

Kubíckova J, Grosch W (1998) *Int Dairy Journal* 8:17-23

Kováts E (1958) *Helv Chim Acta* 206:1915-1932

Lin J, et al. (1999) *Lipids* 34:1117-1126

Marnier F-J, Boland W, Jaenick, L (1982) *Ann Chem* 579-584

Meijboom PW, Stroink JBA (1972) *J Agric Food Chem* 49:555-558

Millar JG (2000) *Annu Rev Entomol* 45:575-604

Nickerson GB, Likens ST (1966) *J Chromatog* 21:1-5

Noble AC, Nawar WW (1971) *J Agric Food Chem* 48:800-803

Noble AC, Nawar WW (1971) *J Agric Food Chem* 19:1039-1040

Norat T, et al. (2005) *Journal of the National Cancer Institute* 97:906-916

Pan X, Ushio H, Ohshima T (2004a) *J Agric Food Chem* 81:765-771

Pan X, Ushio H, Ohshima T (2004b) *J Agric Food Chem* 81:773-781

Pan, X, et al. (2005) *Eur J Lipid Sci Technol* 107: 228 – 238

Pettus JA, Moore RE (1970) *Chem Commun* 1093-1094

Pohnert G, Boland W (2002) *Nat Prod Rep* 19:108-122

Rehner G, Daniel H (2002) In: *Biochemie der Ernährung*, Spektrum Akad Verlag, Heidelberg – Berlin: S 169-72

Reiners J, Grosch W (1998) *J Agric Food Chem* 46:2754-2763

Rumpler A, Edmonds JS, Katsu M, Jensen KB, Goessler W, Raber G, Gunnlaugsdottir H, Francesconi KA (2008) *Angew Chem Int* 47:2665-2667

Schmeisser E, Rumpler A, Kollroser M, Rechberger G, Goessler W, Francesconi KA (2006) *Angew Chem Int* 45:150-154

Schuh C (2004) *Wichtige Aromastoffe in schwarzem und grünem Tee (Camellia sinensis)*, Dissertation, Technische Universität München

Schuh, C, Schieberle P (2005) *J Agric Food Chem* 53:8699-8705

Schwarz K, Huang S-W, German jB, Tiersch B, Hartmann J, Frankel EN (2000) *J Agric Food Chem* 48:4874-4882

Simopoulos AP (2002) *Biomed Pharmacother* 56:365-379

Sivakumar V, Driscoll B, Obenauf R (2007) *Trace elements in fish and fish oil supplements, Spectroscopy, Heft Suppl: 13-16*

Trautwein EA (2001) *Eur J Lipid Sci Technol* 103:45-5

Tressl, R, et al. (1982) *J Agric Food Chem* 30:89-93

Ullrich, F, Grosch, W (1988) *J Agric Food Chem* 65:1313-1317

Venkateswarlu G, Let ML, Meyer AS, Jacobsen C (2004) *J Agric Food Chem* 52:1635-1641

Wallacea JMW, McCabe AJ, Robson PJ, Keogh MK, Murray CA, Kelly PM, Ma´rquez-Ruiz G, McGlynn H, Gilmore WS, Strain JJ (2000) *Ann Nutr Metab* 44:157-162

Widder S (1994) *Dissertation, TU München, Oxidativer Verderb von Butterschmalz – Einfluss von Antioxidantien*

Links

- www.dge.de (Stand: Feb 2007)
- *Fischwirtschaft - Daten und Fakten 2005*, Fisch-Informationszentrum www.frischfisch.com/daten/press/d_und_f2005pdf (Stand: Mai 2007)

8 Veröffentlichung der Projektergebnisse

8.1 Veröffentlichungen

- Serfert, Y., Drusch, S., Schmidt-Hansberg, B., Kind, M., Schwarz, K., 2009: Process engineering parameters and type of n-octenylsuccinate-derivatised starch affect the oxidative stability of microencapsulated long chain polyunsaturated fatty acids. Journal of Food Engineering, eingereicht
- Serfert, Y., Drusch, S. and Schwarz, K., 2009: Chemical stabilisation of microencapsulated oils rich in long chain polyunsaturated fatty acids. Food Chem., 113, 1106-1112.
- Drusch, S., Groß, N. and K. Schwarz, 2008: Efficient stabilisation of bulk fish oil rich in long chain polyunsaturated fatty acids. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 110, 351-359.
- Drusch, S. and Berg, S., 2008: Extractable oil in microcapsules prepared by spray-drying: Localisation, determination and impact on oxidative stability. Food Chem., 109, 17-24.
- Drusch, S., Serfert, Y., Scampicchio, M., Schmidt-Hansberg, B. and K. Schwarz, 2007: The impact of encapsulation matrix on oxidative stability of fish oil microencapsulated by spray-drying. J. Agric. Food Chem., 55, 11044-11051.

8.2 Vorträge/Poster

- Hammer, M., Schieberle, P., 2008: Charakterisierung aromaaktiver Verbindungen aus dem enzymatischen und autoxidativen Abbau von ω 3-Fettsäuren. 37. Deutscher Lebensmittelchemiker-Tag, Kaiserslautern, 08.-10.09.2008
- Teichert-Möller, K., Schieberle, P., 2008: Aromaaktive Verbindungen in oxidiertem Fischöl und deren Anwendung als Marker für die Lagerstabilität von mikroverkapseltem Fischöl. 37. Deutscher Lebensmittelchemiker-Tag, Kaiserslautern, 08.-10.09.2008
- Hammer, M., Schieberle, P., 2008: Characterization of important aroma-active compounds formed by lipoxygenase catalysis or a copper initiated degradation of ω 3-fatty acids". 6th Eurofedlipid Congress, Athen, Griechenland, 05.-07.09.2008.
- Serfert, Y., Drusch, S., Schmidt-Hansberg, B., Kind, M., Schwarz, K., 2008: Type of OSA-starch and process engineering parameters affect oxidative stability of microencapsulated LCPUFAs. 6th Eurofedlipid Congress, Athen, Griechenland, 05.-07.09.2008.

- Schmidt-Hansberg, B., Korp, D., Serfert, Y., Drusch, S., Schwarz, K. and Kind, M., 2008: Trocknungseigenschaften von Matrixlösungen zur Fischölverkapselung. FA Sitzung „Agglomerations- und Schüttguttechnik“ und „Lebensmittelverfahrenstechnik“ der VDI, Weihenstephan, 10.-14.03.2008
- Hammer, M., Schieberle, P., 2008: Charakterisierung geruchsaktiver Verbindungen aus dem enzymatischen autoxidativen Abbau von ω 3-Fettsäuren. 59. Arbeitstagung des Regionalverbandes Bayern der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Oberschleißheim, 04.03.2008
- Serfert, Y., Drusch, S., Schwarz, K., 2007: Einfluss verschiedener Antioxidantien auf die oxidative Stabilität langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren während des Homogenisierens von o/w-Emulsionen. GdL-Kongress Lebensmitteltechnologie 2007, Hamburg, 11-13.10.2007
- Serfert, Y., Drusch, S., Schwarz, K., 2007: Oxidative stability of long chain polyunsaturated fatty acids stabilized by different antioxidants during homogenization of o/w-emulsions. 5th Eurofedlipid Congress, Göteborg, Schweden, 16-18.09.2007
- Drusch, S., 2007: The impact of encapsulation matrix on physicochemical properties and oxidative stability of fish oil microencapsulated by spray-drying. 5th Eurofedlipid Congress, Göteborg, Schweden, 16-18.09.2007
- Drusch, S., 2007: Mikroverkapselung zur Anreicherung von Lebensmitteln mit omega-3-Fettsäuren. DLG-Symposium funktionelle Lebensmittel, Kiel, 28.-29.06.2007
- Drusch, S., Serfert, Y., Elmadany, R., Schwarz, K., 2006: Microencapsulation of long chain polyunsaturated fatty acids by spray-drying – Properties of different emulsifying wall materials. 4th Eurofedlipid Congress, Madrid, Spanien, 1.-4.10.2006