

## Klärung der molekularen Ursachen typischer Fehleromanoten in Rohkakao, Kakao- und Schokoladenmassen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle(n):</b>	Leibniz-Institut für Lebensmittel-Systembiologie an der Technischen Universität München, Freising Prof. Dr. Veronika Somoza/PD Dr. Martin Steinhaus
<b>Industriegruppe(n):</b>	Stiftung der Deutschen Kakao- und Schokoladenwirtschaft, Bonn Bundesverband der Deutschen Süßwarenindustrie e.V. (BDSI), Bonn
	Projektkoordinator: Dr. Daniel Kadow August Storck KG, Berlin
<b>Laufzeit:</b>	2017 - 2019
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 247.180,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Der Schlüsselrohstoff für die Herstellung von Schokolade und Kakaogetränken sind die Samen des Kakaobaums *Theobroma cacao* L. Nach der Ernte werden die Früchte aufgeschlagen und die Samen mit der anhaftenden süß-sauren Fruchtpulpa entnommen und für zwei bis zehn Tage auf Haufen oder in Kästen fermentiert. Dabei verflüssigt sich die Fruchtpulpa und läuft ab. Anschließend werden die Samen getrocknet. Das resultierende Produkt wird als Rohkakao bezeichnet. Der Rohkakao oder die durch Brechen erzeugten Nibs werden geröstet und anschließend zu Kakaomasse vermahlen. Durch Pressen kann aus der Kakaomasse ein Teil der Kakaobutter abgetrennt werden. Aus dem Pressrückstand wird Kakao-pulver hergestellt. Kakaomasse wird unter Zugabe weiterer Zutaten, wie Zucker und ggf. Kakaobutter, Milchpulver etc., zunächst zu Schokoladenmasse und schließlich zu fertiger Schokolade verarbeitet.

Deutsche Kakao- und Schokoladenhersteller beziehen Rohkakao entweder direkt von internationalen Handelshäusern oder aus Rohkakao hergestellte Halbfabrikate (Kakaomasse bzw. Schokoladenmasse) von einschlägigen Zwischenverarbeitern. Bei der Wareneingangskontrolle fallen dabei immer wieder Chargen an, die mit Fehleromanoten behaftet sind.

Diese mit Fehleromen behaftete Chargen von Rohkakao, Kakao- und Schokoladenmassen (im Folgenden als „Rohwaren“ bezeichnet) stellen insbesondere für kleine und mittlere Unternehmen (KMU) der deutschen Süßwarenindustrie ein erhebliches Problem dar. Gelangen mit Fehleromanoten belastete Rohwaren in die Produktion, kann das Fehleroma unter Umständen noch in den fertigen Produkten wahrnehmbar sein. Ggf. müssen ganze Chargen vernichtet werden – mit einem wirtschaftlichen Schaden, der bereits bei kleineren Herstellern im sechsstelligen Euro-Bereich liegen kann. Ist das Produkt bereits in Verkehr gebracht worden, droht den betroffenen Unternehmen zudem ein erheblicher Imageverlust.

Bisher fanden sich in der wissenschaftlichen Literatur keine schlüssigen Daten zu den Substanzen, die für die beobachteten Fehleromanoten verantwortlich sind. Entsprechend ist auch unbekannt, welche Schwellenkonzentrationen für die Ausbildung der Fehleromanoten kritisch sind und wie sich die Fehleromastoffe im Laufe der Verarbeitung von Rohkakao zu Kakaomasse und Schokolade verhalten.

Es war davon auszugehen, dass einige global agierende Schokoladenhersteller bereits über die Strukturen typischer Fehleromastoffe in Rohkakao verfügen und intern an entsprechenden Minimierungsstrategien arbeiten; mit

einer Publikation dieser Erkenntnisse war jedoch nicht zu rechnen. Durch diesen Wissensrückstand entstand deutschen KMU gegenüber global präsenten Großkonzernen ein erheblicher Wettbewerbsnachteil.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, die für die typischen Fehlromanoten in Rohkakao, Kakao- und Schokoladenmassen ursächlich verantwortlichen Schlüsselaromastoffe mit Hilfe des an der Forschungsstelle etablierten molekularsensorischen Konzepts zu identifizieren, ihre sensorischen Durchbruchschwellen zu ermitteln und ihr Verhalten bei der Verarbeitung von Rohkakao zu Kakaomasse und bei der Conchierung zu untersuchen.

#### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurden in einer Kakaoprobe mit schinkig-rauchiger Fehlromanote 52 geruchsaktive Verbindungen mittels Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O) detektiert. Darunter waren sieben geruchsaktive Verbindungen, die mit den Geruchsqualitäten rauchig, schinkig, phenolisch und pferdestallartig beschrieben wurden. Aufgrund dieser Geruchsqualitäten und deutlich höheren FD-Faktoren in der Fehlromaprobe verglichen mit einer Referenzprobe mit typischem Kakaoaroma wurden diese sieben geruchsaktiven Verbindungen als potenzielle Fehlromaverbindungen identifiziert.

In einer Kakaoprobe mit schimmlig-muffiger Fehlromanote wurden 64 geruchsaktive Verbindungen mittels Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O) detektiert. Fünf geruchsaktive Verbindungen wurden mit den Geruchsqualitäten schimmlig, muffig, nach roter Bete, fäkalisch und nach Mottenkugeln beschrieben. Sie zeigten zudem deutlich höhere FD-Faktoren in den Fehlromaprobe und wurden daher als potenzielle Fehlromaverbindungen für schimmlig-muffige Fehlromen betrachtet.

Durch Vergleich der sensorischen, chromatographischen und massenspektrometrischen Daten der detektierten geruchsaktiven Verbindungen mit entsprechenden Daten von parallel analysierten Referenzverbindungen konnten die potenziellen Fehlromastoffe für das schinkig-rauchige Fehlroma in Kakao als 2-Methoxyphenol, 3- und 4-Methylphenol, 3- und 4-Ethylphenol und 3- und 4-Propylphenol identifiziert werden. Die potenziellen Fehlroma-

stoffe für das schimmlig-muffige Fehlroma in Kakao wurden als Mesifuran (4-Methoxy-2,5-dimethyl-3(2H)furanon, MDMF), Geosmin, Nonansäure, Indol und 3-Methylindol identifiziert. Weitere potenzielle Fehlromaverbindungen, die aufgrund ihrer Geruchsqualitäten pilzartige und käsige Fehlromen verursachen können, wurden als 1-Octen-3-on, 1-Octen-3-ol, Buttersäure und 2-/3-Methylbuttersäure identifiziert.

Die Quantifizierungen der potenziellen Fehlromaverbindungen in Rohkakao- und Kakaomasse-Proben mit schinkig-rauchiger und schimmlig-muffiger Fehlromanote sowie in Rohkakao mit kakaotypischer Note erfolgten mittels Stabilisotopenverdünnungsassays (SIVA). Dazu wurden Synthesen von (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>)-4-Ethylphenol, (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>)-4-Propylphenol und (<sup>2</sup>H<sub>3</sub>)-Geosmin erfolgreich durchgeführt.

Für eine Beurteilung des Einflusses einzelner Fehlromaverbindungen auf das Aroma von Kakao wurden orthonasale (Durchbruch-)schwellenwerte mittels 3-AFC-Tests (Alternative Forced Choice) in den Matrices Wasser, Speiseöl, desodorierte Kakaobutter, Kakaomasse aus ungerösteten Kakaobohnen, Kakaomasse aus gerösteten Kakaobohnen, dunkle Schokoladenmasse und Milkschokoladenmasse bestimmt. Es zeigte sich, dass für das schinkig-rauchige Fehlroma in Kakao 2-Methoxyphenol, 3- und 4-Methylphenol, 3- und 4-Ethylphenol und 3-Propylphenol verantwortlich sind. Zu dem schimmligen Fehlroma in Kakao tragen 3-Methylindol und Geosmin bei. Für eine Ableitung von möglichen Höchstmengen für die Wareneingangskontrolle wird das untere 10 % Perzentil der Daten aus der Schwellenwertbestimmung vorgeschlagen.

Zusätzlich wurde das Verhalten einzelner Fehlromaverbindungen bei der Verarbeitung zum Endprodukt Schokolade untersucht. Die quantitativen Veränderungen bei der Verarbeitung von Rohkakao zu Kakaomasse wurden anhand von Fehlromaprobe und einer Referenzprobe mit typischer Kakaonote untersucht, die jeweils bei drei unterschiedlichen Röstendtemperaturen geröstet und anschließend zu Kakaomasse verarbeitet wurden. Schließlich wurden die ermittelten Fehlromastoffe quantifiziert und mit den Daten vor dem Rösten verglichen. Die Experimente zeigten, dass die Konzentration der Fehlromastoffe durch Rösten nicht entscheidend vermindert werden



können. Außerdem können durch Rösten geruchsrelevante Mengen an Indol neu entstehen.

Zur Ermittlung der quantitativen Veränderungen der Fehl aromastoffe beim Conchieren wurde eine Kakaomasse mit den Fehl aromastoffen dotiert. Anschließend wurden daraus mit weiteren Zutaten jeweils eine Milchschokoladenmasse und eine dunkle Schokoladenmasse hergestellt und conchiert. Die Conchierversuche zeigten, dass die Konzentrationen der Fehl aromastoffe auch durch das Conchieren nicht wesentlich vermindert werden konnten.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Mit den Ergebnissen des Projekts werden kleine und mittelständische Unternehmen der deutschen Süßwarenindustrie in die Lage versetzt, die Quantifizierung von Fehl aromastoffen in der Wareneingangskontrolle zu etablieren. Unter Berücksichtigung der Durchbruchschwellen der einzelnen Substanzen, ihres Verhaltens bei der Weiterverarbeitung (Röstung, Masseherstellung, Conchierung) und firmenintern festzulegender Sicherheitsfaktoren können die Unternehmen künftig maximal tolerierbare Konzentrationen für jeden Fehl aromastoff festlegen und so einen Einfluss der Fehl aromastoffe auf die sensorische Qualität ihrer Endprodukte verhindern. Rohwarencargen, die diese maximal tolerierbare Konzentration eines Fehl aromastoffs überschreiten, können leichter bei den Lieferanten reklamiert werden, da das Fehl aroma über die Fehl aromastoffkonzentration objektiv belegbar ist. Letztendlich wird dadurch eine Verarbeitung von fehlaromabehaftetem Rohkakao effektiv verhindert, sodass die Gefahr von Verbraucherbeschwerden und Rückrufen, die KMU erhebliche finanzielle Verluste und Imageschäden zufügen können, deutlich vermindert wird.

Die Forschungsergebnisse dienen in erster Linie der deutschen Kakao- und Schokoladenindustrie, zu denen mehr als 90 Unternehmen gehören. Sie verarbeiten jährlich ca. 400.000 t Rohkakao im Wert von ca. 1,0 Mrd. € zu ca. 1,1 Mio. t Schokoladenwaren im Wert von ca. 5,4 Mrd. €. Deutschland ist damit weltweit nicht nur einer der größten Importeure von Rohkakao, sondern auch der größte Schokoladenhersteller in Europa. Etwa 40 % der in Europa erzeugten Schokoladenwaren werden in

Deutschland hergestellt. Die Schokoladenindustrie ist dementsprechend einer der wichtigsten Zweige der deutschen Süßwarenindustrie, die mit 50.000 Beschäftigten in ca. 200 Unternehmen einen Gesamtumsatz von ca. 12,0 Mrd. € p. a. erzielt.

Die Forschungsergebnisse dienen darüber hinaus auch KMU aus dem Bereich der Dienstleistungs- und Handelslaboratorien. Diese können die im Projekt erarbeiteten Analysemethoden den KMU der deutschen Kakao- und Schokoladenindustrie als Dienstleistungen im Rahmen einer Auftragsanalytik anbieten.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2019.
2. Porcelli, C., Neiens, S. D. & Steinhaus, M.: Molecular background of a moldy-musty off-flavor in cocoa. *J. Agric. Food Chem.* 69, 4501-4508. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c00564 (2021).
3. Porcelli, C. & Steinhaus, M.: Synthese von deuteriertem Geosmin für den Einsatz als interner Standard in Quantifizierungsassays. *Lebensmittelchem.* 74 (S1), 9. DOI: 10.1002/lemi.202051009 (2020).
4. Füllemann, D. & Steinhaus, M.: Klärung der molekularen Ursachen für schinkig-rauchige Fehl aromanoten in Kakao. *Lebensmittelchem.* 74 (S1), 3. DOI: 10.1002/lemi.202051003 (2020).
5. Porcelli, C., Kreissl, J. & Steinhaus, M.: Enantioselective synthesis of tri-deuterated (-)-geosmin to be used as internal standard in quantitation assays. *J. Lab. Comp. Radiopharm.* 63, 476-481. DOI: 10.1002/jlcr.3874 (2020).
6. Füllemann, D. & Steinhaus, M.: Characterization of odorants causing smoky off-flavors in cocoa. *J. Agric. Food Chem.* 68, 10833-10841. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c04633 (2020).
7. Füllemann, D. & Steinhaus, M.: Elucidation of the molecular background of smoky and hammy off-flavors in cocoa. *Abstr. 258<sup>th</sup> ACS Nat. Meet. 2019. Am. Chem. Soc., AGFD-220* (2019).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Leibniz-Institut für Lebensmittel-Systembiologie  
an der Technischen Universität München  
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-2991

Fax: +49 8161 71-2970  
E-Mail: m.steinhaus.leibniz@tum.de

Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn

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

gefördert durch/via



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.