



Hochschule für Angewandte
Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

Bachelor-Thesis

Aufbau eines kakaospezifischen Panels zur Analyse von aroma-flüchtigen Komponenten in Kakaobohnen während der Nacherntebehandlung anhand einer HS- SPME-GC-MS/O-Methode

Hamburg University of Applied Science

Department of Life Science

B. Sc. Ökotrophologie

1. Prüferin: Prof. Dr. med. vet. Katharina Riehn

2. Prüferin: M. Sc. Stephanie Nottelmann

Vorgelegt von Kelly Maria Kinkade

Matrikelnummer: XXXXXXXXXX

Datum: 12.08.2019

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Theoretische Grundlagen	2
2.1 Sinnesphysiologie des Geruchssinns	2
2.2 Kakao.....	4
2.2.1 Kakaobaum und -frucht.....	5
2.2.2 Produktionsschritte der Kakaoverarbeitung.....	5
2.2.3 Aromabildung während der Fermentation	7
2.3 HS-SPME-GC-MS/O	10
3 Materialien und Geräte.....	13
3.1 Materialien.....	13
3.2 Geräte.....	15
4 Methoden.....	16
4.1 Kakao- und methodenspezifische Panelschulung.....	16
4.1.1 Grundschulung und vertiefende Schulung	17
4.1.2 Erstellung der Attributliste und GC/O-Schulung.....	24
4.2 Versuchsaufbau und analytische Methode	26
4.3 Statistische Methode.....	28
4.3.1 Flavor Score	28
4.3.2 ANOVA	29
4.3.3 Produktcharakterisierung	29
4.3.4 Hauptkomponentenanalyse	29
5 Ergebnisse	29
5.1 Identifizierte aroma-aktive Substanzen	30

5.2	Analyse aroma-aktiver Substanzen	36
5.3	Sensorische Geruchsprofile	39
6	Diskussion	44
7	Fazit.....	50
	Literaturverzeichnis	52
	Anhang.....	56

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der orthonasalen und retronasalen Wahrnehmung im Mund-Rachen-Nasenraum (eigene Darstellung nach medinform GmbH, 2019)	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung von GC-MS/O-Kopplung (Rosensvald, 2017, S. 13)	11
Abbildung 3: Chuncho-Frucht (Salazar Alvarez, 2017)	14
Abbildung 4: Pulpa und Kakaobohnen in aufgebrochener Frucht (Salazar Alvarez, 2017).....	14
Abbildung 5: Aufbau HS-SPME-GC-MS/O.....	16
Abbildung 6: Abfolge Panelschulung	17
Abbildung 7: Beispiel-Platz Panelschulung.....	20
Abbildung 8: Kakaobohnen-Präparation	27
Abbildung 9: HKA der identifizierten aroma-aktiven Substanzen.....	36
Abbildung 10: Sensorielle Profile mit signifikanten Attributen	41
Abbildung 11: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 0	42
Abbildung 12: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 2	43
Abbildung 13: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 4	44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien.....	13
Tabelle 2: Erläuterungen zu Abkürzungen der Kakaobohnen	14
Tabelle 3: Substanzen Grundschulung (¹ : (Acree und Arn, o. J.); ² : (The Good Scents Company, o. J.); ³ : SILESIA)	18
Tabelle 4: Konzentrationen der Geruchsschwellenprüfungen	23
Tabelle 5: Skalentraining GC/O – Stoffe (¹ : (Acree und Arn, o. J.); ² : (The Good Scents Company, o. J.); 3: SILESIA)	25
Tabelle 6: Temperaturverlauf GC-Methode	28
Tabelle 7: Ergebnisse der Kakaobohnen-Analyse mit vergleichenden Angaben der Geruchsbeschreibung der Panelisten zu Literaturangaben (¹ :(Acree und Arn, o. J.); ² : (The Good Scents Company, o. J.); ³ :(Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, o. J.)).....	32
Tabelle 8: Positive und negative Signifikanzen der aroma-aktiven Substanzen je Kakaobohne	37
Tabelle 9: Positive und negative Signifikanzen der Geruchsattribute je Kakaobohne	39

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Analysis of Variance / Varianzanalyse
CAS-Nr.	Chemical Abstracts Service-Registrierungsnummer
DF	Detektion Frequency / Detektionshäufigkeit
FI	Flavor Intensity / Geruchsintensität
FS	Flavor Score
GC	Gaschromatograph
HKA	Hauptkomponentenanalyse
HS	Headspace / Kopfraum
inok.	inokuliert
MS	Massenspektrometer
MW	Mittelwert
n.i.	Nicht identifizierbar
NIST	National Institute of Standards and Technology
O	Olfaktometrie
RT	Retention time / Retentionszeit
SPME	Solid-Phase Mikroextraction / Festphasen-Mikroextraktion
spont.	spontan

1 Einleitung

Rohkacao von hoher sensorischer Qualität ist der elementare Rohstoff in der Produktion qualitativ hochwertiger Schokoladenerzeugnisse und Ausgangspunkt für die Entwicklung des charakteristischen Schokoladenaromas (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. 2016, S. 2). Es wurden über 600 volatile Stoffe in Kakaobohnen identifiziert, wobei nur einige eine aroma-aktive Wirkung besitzen und somit das Aroma beeinflussen (Afoakwa, 2012; Aprotosoaie, Luca und Miron, 2016; Kadow et al. 2013; Rodriguez-Campos et al., 2011). Von besonderer Bedeutung für die Ausbildung des Aromas sind neben dem Genotyp der Kakaofrucht die Prozesse der Nacherntebehandlung, insbesondere die Fermentation der Kakaobohnen. Hier werden die nötigen Aromavorstufen gebildet, die bei der nachgelagerten Röstung das typischen Kakaoaroma entstehen lassen. Ohne Fermentation oder bei Fehlfermentation ist die Ausbildung des Aromas nicht oder nur sehr bedingt gegeben (Afoakwa, 2012, S. 16). Für die Schokoladenindustrie sind qualitativ hochwertige und möglichst konstante Aromaprofile des Rohkakaos von besonderer Bedeutung. Dies ist in der Praxis jedoch meist nicht gegeben, da die Nacherntebehandlungen weltweit stark variieren. Am häufigsten erfolgt eine spontane Fermentation, bei der sich die Kontrolle der Prozessparameter als schwierig gestaltet und die zu vielfältigen Aromaprofilen der Kakaobohnen führt (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V., 2016, S. 2).

Im Rahmen des Forschungsprojekts *Qualitätsverbesserte Kakao- und Kakao-basierte Produkte mit Aromaprofilen nach Bedarf - Vom Anbauer zur Schokoladentafel (CocoaChain)* wird untersucht, inwieweit die Verarbeitungskette der Kakaobohnen hinsichtlich möglichst standardisierter und reproduzierbarer sensorischer Profile zu beeinflussen und zu optimieren ist (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V., 2016, S. 2). Da die Fermentation die entscheidende Grundlage für die Aromaentwicklung darstellt, gleichzeitig allerdings am wenigsten kontrolliert abläuft, werden seit einiger Zeit die Einflussfaktoren auf die Fermentation untersucht. Welche entscheidende Rolle Hefen bei der Fermentation von Kakaobohnen zukommt, wird von HO ET AL. (Ho, Zhao und Fleet, 2014) durch die Eliminierung von Hefen im Fermentationsprozess gezeigt. Neben der spontanen und unkontrollierten Fermentation ohne zugesetzte Hefe erhofft man sich durch den Zusatz ausgewählter Hefestämme eine standardisierte und kontrollierte Aromabildung im Nachernteprozess (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V., 2016, S. 2). Inwieweit eine durch Hefen inokulierte Fermentation die Entstehung von aroma-aktiven Substanzen in Kakaobohnen und die Ausbildung bestimmter sensorischer Profile beeinflusst, ist bisher nicht abschließend untersucht worden. In bisherigen Untersuchungen wie von CRAFT ET AL. ist durch eine inokulierte Fermentation verschiedener Starterkulturen keine signifikante Veränderung des Gesamtaromas zu erkennen (Craft et al., 2014). Dennoch ist es notwendig, den Einfluss weiterer Inokulationen zu betrachten.

Die vorliegende Arbeit soll weitere Einblicke in die Aromaentwicklung von Chunchu-Kakaobohnen ermöglichen, die sowohl einer spontanen als auch einer inokulierten Fermentation unterzogen wurden. Die Untersuchung erfolgt anhand einer HS-SPME-GC-MS/O-Methode, die für die Analyse von Kakaonibs von TRABER (Traber, 2018) erarbeitet wurde. Dafür wird zunächst eine Panelschulung durchgeführt, die kakao- und methodenspezifisch aufgebaut ist. Im Anschluss beurteilen die geschulten Panelisten die aroma-aktiven Substanzen in Intensität und Geruchseindruck. Diese Angaben werden analysiert und diskutiert. Dabei wird sowohl ein Vergleich zwischen den Fermentationsarten sowie die Entwicklung innerhalb der jeweiligen Fermentationsarten gezogen.

Die vorliegende Arbeit befasst sich zunächst mit den theoretischen Grundlagen und den verwendeten Geräten und Materialien. Anschließend werden die sensorischen, methodischen und statistischen Methoden beschrieben, woraufhin die Ergebnisse der Kakaobohnen-Analyse beschrieben und diskutiert werden. Es folgt ein Fazit sowie ein Ausblick über weitere Möglichkeiten.

2 Theoretische Grundlagen

Im Folgenden werden die für das weitere Verständnis der Arbeit benötigten theoretischen Grundlagen vermittelt und dargelegt. Nach der Betrachtung der Funktionalität des Geruchssinns wird detailliert auf die Prozessschritte der Kakaoherstellung – vom Baum bis zur fertig verarbeiteten Kakaobohne – eingegangen. Weiterhin werden die Funktionsweisen der verwendeten Analysegeräte dargestellt.

2.1 Sinnesphysiologie des Geruchssinns

Der olfaktorische Sinn bildet nach DIN EN ISO 5492 (2009-12-00) zusammen mit dem gustatorischen und dem trigeminalen Sinn das Flavor eines Lebensmittels (Deutsches Institut für Normung e.V., o. J., S. 43). Unter dem gustatorischen Sinn versteht man den Geschmackssinn mit den fünf Eindrücken salzig, süß, sauer, bitter und umami. Der trigeminale Sinn deckt die irritativen Eindrücke wie brennend oder stechend in Mund-Rachen- und Nasenraum ab. Unter dem olfaktorischen Sinn wird der Geruchssinn verstanden.

Da für die weiteren Ausführungen und die Analyse der Kakaobohnen nur olfaktorische und nasal-trigeminale Geruchsübertragungen genutzt werden, werden diese im Folgenden näher erläutert.

Der olfaktorische Sinn wird als chemischer Sinn bezeichnet, da eine biomolekulare Reizauslösung verantwortlich ist (Legrum, 2011, S. 5). Um eine Reizwahrnehmung im Riechepithel (Regio olfactoria) auszulösen, muss eine Substanz bzw. das Substanzgemisch aus volatilen Stoffen bestehen, die über die Atemluft an die Riechsinneszellen gelangen. Bei aroma-aktiven Substanzen handelt es sich meist um kleinere Moleküle, die sich bei Raumtemperatur aus der Molekülmatrix herauslösen

können (Ohloff, 1990, S. 1 ff.). Die Schwellenwerte der jeweiligen Substanzen sind nach CZERNY ET AL. stark unterschiedlich (Czerny et al., 2008).

Die olfaktorische Wahrnehmung beginnt an der Regio olfactoria, die sich im oberen Bereich der Nasenhöhlen befindet. Dieser Bereich ist etwa zweimal 5 cm² groß. Bei der olfaktorischen Wahrnehmung wird zwischen orthonasaler und retronasaler Wahrnehmung unterschieden (Legrum, 2011, S. 6; Ohloff, 1990, S. 1 ff).

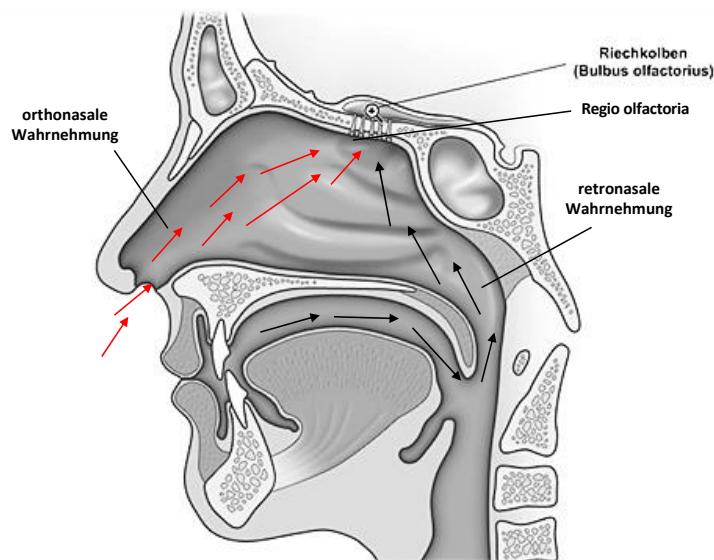


Abbildung 1: Schematische Darstellung der orthonasalen und retronasalen Wahrnehmung im Mund-Rachen-Nasenraum (eigene Darstellung nach medinform GmbH, 2019)

Die orthonasale Wahrnehmung erfolgt durch direktes Riechen und Einatmen der flüchtigen Stoffe. Die retronasal wahrgenommenen Aromen eines Lebensmittels unterscheiden sich im Vergleich zur orthonasalen Wahrnehmung zum Teil deutlich. Die Moleküle lösen sich hier beim Zerkleinern im Mund aus dem Lebensmittel heraus und werden beim Ausatmen durch die Mund-Rachen-Nasen-Verbindung zur Regio olfactoria geleitet (vgl. Abbildung 1). In diesem Bereich befinden sich etwa 10 bis 30 Millionen Riechsinneszellen, an denen pro Sinneszelle etwa fünf bis zwanzig Riechhärchen durch die Schleimhaut nach außen ragen (Legrum, 2011, S. 6). Diese bilden die eigentlichen Geruchsrezeptoren, an denen der chemische Reiz über Rezeptorproteine aufgenommen wird. Dieser wird anschließend in ein elektrisches Signal umgewandelt. Dieser Vorgang wird chemoelektrische Transduktion genannt (Frings, 2001, S. 510). Die Nervenfasern verlaufen gebündelt durch das Siebbein in die Schädelhöhle zum Bulbus olfactorius, wodurch der Reiz zum Gehirn gelangt. Je Substanz oder Substanzgemisch ergibt sich ein unterschiedliches Erregungsmuster, das an das Gehirn für weitere Prozesse weitergeleitet wird (Ohloff, 1990, S. 1 ff). Im Gehirn werden die sortierten und gebündelten Reize ausgewertet und mit bekannten Gerüchen verknüpft. Durch wiederholtes Riechen von Substanzen kann das Gehirn geschult werden, wodurch es schneller und präziser Gerüche wahrnehmen und erkennen kann. Volatile Komponenten werden vom Riechepithel

nur wahrgenommen, wenn sie oberhalb der Geruchsschwelle liegen. Bei geschulten Prüfpersonen ist der Konzentrationsunterschied zwischen Wahrnehmung und Erkennung geringer als bei ungeschulten Prüfern (Rissom, 2011, S. 41 ff).

Zusammen mit dem olfaktorischen Reiz können flüchtige Moleküle auch physiologisch abweichende trigeminale Reize auslösen. Dies geschieht über den Nervus Trigemini, der unter anderem die gesamte Regio olfactoria durchzieht. In der Nasenhöhle werden dabei die nasal-trigeminale Reize brennend, stechend, beißend und kühlend detektiert, wohingegen im Mundraum scharf, prickelnd und kühlend über die oral-trigeminale Wahrnehmung wahrgenommen werden. Zu den reizauslösenden Stoffen gehören unter anderem flüchtige Scharfstoffe und (pseudo-)kühlende Stoffe. Einige Substanzen werden nur über die trigeminale, andere nur über die olfaktorische Wahrnehmung aufgenommen, weitere Substanzen können beide Reize ansprechen (Legrum, 2011, S. 6; Ohloff, 1990, S. 3).

Da ein Produkt eine Vielzahl von volatilen Substanzen enthält, werden beim Riechen mehrere olfaktorischen und nasal-trigeminale Sinneszellen zur gleichen Zeit angeregt. Der Gesamteindruck entscheidet über das Gefallen oder Missfallen eines Lebensmittels. Die Gesamtheit aller aromatischen Substanzen führen zum charakteristischen Geruch eines Lebensmittels. Bei einigen Lebensmitteln findet sich eine geruchsgebende Substanz wieder, wohingegen bei anderen Lebensmitteln die Komponentenzusammensetzung den charakteristischen Geruch ergibt. Die aromatischen Substanzen liegen je nach Lebensmittel in unterschiedlich hohen Konzentrationen vor, was das Wahrnehmen oder Erkennen einzelner Stoffe deutlich erschwert. Die Substanzen können daher oftmals nur von geschulten Prüfpersonen analysiert werden können (Legrum, 2011, S. 45).

Meist besitzen Lebensmittel oder Produkte eine geruchsgebende Substanz, die das Gesamtaroma beherrscht. Solche Substanzen werden als Schlüsselaromastoff bezeichnet. Aus einer Vanilleschote löst sich beispielweise als aromagebende Substanz Vanillylalkohol. Alle weiteren flüchtigen Moleküle beeinflussen das Gesamtaroma nur in geringem Maß. Beim Kakao hingegen ist es eine Kombination flüchtiger Moleküle (vgl. 2.2.3), die den Gesamteindruck ausmacht. Die Konzentration der jeweiligen Substanzen nimmt eine entscheidende Rolle ein. Geruchsstoffe können in geringen Konzentrationen angenehm und in hohen Konzentrationen unangenehm riechen und umgekehrt (Ohloff, 1990, S. 3; Legrum, 2011, S. 45).

2.2 Kakao

Im Folgenden werden die Anbaubedingungen der Kakaobäume und die Prozesskette der Kakaoverarbeitung von der reifen Frucht bis zum Rohkakao beschrieben. Weiterhin wird auf die Aromaentwicklung der Kakaobohnen in der Nacherntebehandlung eingegangen.

2.2.1 Kakaobaum und -frucht

Kakaofrüchte wachsen am Kakaobaum, dem *Theobroma cacao* L. Am verbreitetsten ist der Kakaobaum im Tropengürtel, da hier optimale Bedingungen für das Wachstum und die Reife der Früchte zu finden sind. Ursprünglich stammt der Kakaobaum aus dem nördlichen Südamerika, wo man bis heute große Anbaugelände wiederfindet (Fincke, 1965, S. 27). Der Baum wächst in der Natur auf eine Höhe bis zu 15 Metern an, auf Plantagen wird der Baum auf eine Höhe zwischen zwei und vier Metern gekürzt, da dies die Ernte erleichtert (Afoakwa, 2012, S. 2; Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992 ff). Die Bäume fühlen sich wind- und sonnengeschützt unter Schattenpflanzen am wohlsten. (Fincke, 1965, S. 27). Die Früchte des Baumes werden ein- bis zweimal jährlich geerntet, da der Kakaobaum das ganze Jahr blüht. Meist gibt es eine Haupt- und eine Nebenernte, die sich in der Anzahl der geernteten Früchte zum Teil stark unterscheiden (Fincke, 1965, S. 27 f; Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992 ff). Es wird botanisch zwischen zwei Hauptformen des Kakaobaumes und dessen Früchte unterschieden. Dem Criollo, dem eher feine Aromen zugeschrieben werden und dem Forastero-Kakao. Dieser ist weniger fein in der Aromatik, ist jedoch widerstandsfähiger im Anbau. Hybride aus beiden Hauptformen werden als Trinitario-Kakao bezeichnet, der zusammen mit dem Criollo-Kakao zum Flavor-Kakao gezählt wird. Da Criollo-Kakao im Vergleich zu Forastero jedoch anfälliger für Krankheiten und Umweltveränderungen ist, sind die Hybride eine vergleichsweise pflegeleichtere, aromatische Alternative (Ziegleder, 2004, S. 429; Fincke, 1965, S. 22 ff).

Die Reifezeit einer Blüte zur reifen Frucht beträgt etwa 4-9 Monate, wobei jeder Baum bis zu 50 Früchte trägt (Fincke, 1965, S. 29; Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992 ff). Eine Kakaofrucht, botanisch eine Beere, enthält zwischen 20 und 50 Samen, die in einem weißlichen Fruchtfleisch (Pulpa) vorliegen. Die Pulpa hat einen Glucose- und Fructosegehalt von 10%, welcher bei der Fermentation (vgl. 2.2.3) eine große Rolle spielt (Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992). Die Bohnen sind etwa zwei Zentimeter lang und einen breit und wiegen jeweils etwa ein Gramm. Jede Bohne ist ummantelt von einer Schale, die sich nach der Fermentation leicht ablösen lässt. Eine Kakaobohne besteht aus zwei Kotyledonen und einer dazwischen liegenden Keimwurzel (Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992).

2.2.2 Produktionsschritte der Kakaoverarbeitung

Bei der Ernte werden die Kakaofrüchte vom Baum abgetrennt, da sich die Früchte auch nach vollzogener Reifung nicht selbstständig vom Baum lösen. Hierbei muss auf den optimalen Reifegrad der Kakaofrüchte geachtet werden. Unreife Früchte enthalten nicht genug Zucker für eine ausreichende Fermentation (vgl. 2.2.3), wohingegen zu reife Früchte auskeimen können. Die Frische bzw. Erntereife der Kakaofrucht kann dem äußeren Erscheinungsbild der Frucht – insbesondere der Farbe – abhängig vom Genotyp angesehen werden (Afoakwa, 2012, S. 2 f; Fincke, 1965, S. 45).

Weiteres Kriterium für die Erntereife ist der Geruch und der Geschmack des Fruchttinneren (Bohnen und Pulpa). Unreife oder überreife Früchte weisen nach der Fermentation Fehlgerüche und -geschmäcker auf, die unbedingt zu vermeiden sind (Fincke, 1965, S. 45). Um die Blüte der nachfolgenden Frucht nicht zu gefährden, werden die Früchte hinter den Fruchtsansätzen abgenommen (Fincke, 1965, S. 45). Danach werden sie zeitnah aufgeschlagen, wobei eine Lagerung für einige Tage sich abhängig von der geographischen Lage und den nachfolgenden Prozessschritten positiv auf die Qualität des Flavors auswirken kann (Afoakwa, 2012, S. 3). Um keine vorzeitige, unkontrollierbare Fermentation bei der Lagerung oder dem Transport einzuleiten, wird das Öffnen der Kakaofrucht und Herausnehmen der Bohnen und Pulpa am Fermentationsplatz vollzogen (Fincke, 1965, S. 45ff). Zwischen dem Aufschlagen der Frucht und dem Beginn der Fermentation sollten höchstens 24 Stunden liegen, um einen Qualitätsverlust zu vermeiden (Fincke, 1965, S. 45ff). Während des Fermentationsprozesses entstehen Geschmack- und Aromastoffe sowie Aromavorstufen (vgl. 2.2.3), die sich bei späteren Prozessschritten zu unerlässlichen Aromen entwickeln. Außerdem dient die Fermentation durch natürlich ablaufende Reaktionen zum Abbau der Pulpa, die ohne die Fermentation schwer zu entfernen ist (Afoakwa, 2012, S. 1).

Der gesamte Inhalt der Frucht Kakaobohnen und Pulpa wird zur Fermentation benötigt. Es wird ausschließlich die Pulpa fermentiert, was als Voraussetzung für die chemischen und enzymatischen Reaktionen in den Bohnen verantwortlich ist. Diese bieten die Grundlage für die Weiterverarbeitung der Bohnen (Fincke, 1965, S. 49). Um einen besseren Leseffluss zu gewährleisten, wird im Folgenden von der Fermentation der Kakaobohnen gesprochen.

Die Kakaobohnen werden je nach Sorte, Fermentationsmenge und klimatischen Bedingungen zwischen vier und zehn Tagen fermentiert (Fincke, 1965, S. 49). Je nach Fermentationsmenge und Anbauland werden verschiedene Verfahren verwendet. Grundsätzlich ist bei der Fermentation darauf zu achten, dass eine ausreichende Vermischung der Bohnen und das Abfließen des Gärstoffes, der durch die Fermentation der Pulpa entsteht, gewährleistet ist. Die Fermentation in Erdlöchern lässt dies nicht zu und ist dementsprechend ungeeignet. Die Fermentation in dafür vorgesehenen Behältnissen bietet hingegen gute Bedingungen. Hierbei ist entscheidend, dass ausreichende Abflussmöglichkeiten gegeben sind. Je nach Größe der Vorrichtung können unterschiedliche Mengen an Bohnen fermentiert werden. Für größere Mengen werden meist Kästen eingesetzt, die in Reihen angeordnet sind, um das Umschichten der Bohnen zu erleichtern (Fincke, 1965, S. 49 ff).

Durch das Umsetzen der Bohnen etwa alle 24 Stunden wird die zur Fermentation benötigte Luftzufuhr und eine ausreichende Durchmischung der Bakterien gewährleistet. Die Luftzufuhr vermeidet außerdem die Bildung von Fehlgerüchen. Durch die richtige Handhabung bei der Fermentation kann das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen wie Schimmelpilze unterdrückt

werden. Durch den Anstieg der Temperatur im Gemisch wird die Keimfähigkeit der Bohnen unterbunden (Afoakwa, 2012, S. 1).

Nach der Fermentation werden die Bohnen meist am Fermentationsort für einige Tage getrocknet. Da die Einflussfaktoren auf die Fermentation und Trocknung vielfältig sind, ist eine Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge schwierig zu gewährleisten (Counet et al., 2002, S. 2385–91). Nach der Trocknung werden die Bohnen geröstet. Die Trocknung und Röstung lässt den Wassergehalt im Gemisch auf etwa 3% sinken, wodurch die Bohnen weniger anfällig für mikrobielle Erreger werden und eine bessere Lagerstabilität aufweisen (Aprotosoia, Luca und Miron, 2016, S. 76). Die Schalen und die Keimwurzeln der Bohnen werden nach der Röstung abgebrochen, sodass nur die Kotyledonen weiterverwendet werden (Afoakwa, 2012, S. 13). Die Schalen der Bohnen werden vielfältig – zum Beispiel zu Tee oder als Brennstoff – weiterverarbeitet.

Die geschälten Kakaobohnen können als Nibs direkt verwendet oder zu verschiedenen Endprodukten weiterverarbeitet werden. Zu den Endprodukten zählen Kakaomassen, Kakaobutter, Kakaopulver und Schokolade. Der Verordnung über Kakao- und Schokoladenerzeugnisse (Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft; 2003) können weitere Informationen zu den jeweiligen Produkten entnommen werden.

2.2.3 Aromabildung während der Fermentation

Die Bildung von Aromastoffen und deren Vorstufen im Nachernteprozess der Kakaobohnen hängt von vielen Faktoren der Prozesshandhabung ab. Unter Aromavorstufen werden Substanzen verstanden, die in einem späteren Prozessschritt als Edukte für die Bildung eines Aromas dienen. Die Aromavorstufen, die während den komplexen Reaktionen in der Fermentation entstehen, sind essentiell für die Bildung der Kakaoaromen während der nachfolgenden Prozessschritte (Afoakwa, 2012, S. 11). Die Menge der Aromavorstufen und die Enzymaktivität während der Fermentation entscheiden über die endgültige Aromabildung qualitativ hochwertiger Kakaobohnen (Oberparleiter und Ziegler, 1997, S. 158). Frische Bohnen, die nach der Ernte auf Grund von Unreife oder Überreife einen Mangel an zur Fermentation benötigten Substanzen aufweisen, können durch die folgenden Prozessschritte nicht in ausreichendem Maße zu qualitativ hochwertigen und aromatischen Kakaobohnen verarbeitet werden. Im Laufe des gesamten Prozesses ist das Ziel, die erwünschten Aromen herauszubilden und die Bildung von Off-Flavor zu vermeiden beziehungsweise diese in einem späteren Prozessschritt zu eliminieren (Afoakwa, 2012, S. 7).

Die Fermentation unterteilt sich in drei Phasen. Der Ablauf beginnt in der ersten Phase mit einer alkoholischen Gärung der Pulpa. Die Zucker der Pulpa werden durch Hefen unter Verbrauch von Milchsäure zu Ethanol und Kohlendioxid vergoren, wobei die Temperatur im Gemisch steigt. Bisher konnten eine Vielzahl von Hefestämmen während der Kakaobohnenfermentation festgestellt werden. Zum Ende der anaeroben Phase bilden sich Milch- und Essigsäurebakterien (*Bacillus*

species) (Afoakwa, 2012, S. 11; Ho, Zhao und Fleet, 2014, S. 75). Durch enzymatische Reaktionen wird das Fruchtmuß zu einem Gärssaft, der nicht länger an den Bohnen haftet und abfließt. Es kann nun Luft in die Fermentationsmasse gelangen, sodass der Prozess hier von einem anaeroben Zustand in einen aeroben Zustand übergeht. In der zweiten Phase folgt die Oxidation von Ethanol zu Essigsäure durch Essigsäurebakterien. Essigsäure stellt die aroma-aktivste Säure in fermentierten, ungetrockneten Kakaobohnen dar (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 80). Weitere Säuren, die zu Off-Flavor wie ranzig oder schinkenartig führen können, entstehen während der Fermentation. Werden diese Attribute wahrgenommen, sollten die Kakaobohnen nicht weiterverarbeitet werden (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 75; Cocoa of Excellence, 2017, S. 11). Die Essigsäure lässt den pH-Wert auf etwa 4,5 sinken, wobei gleichzeitig die Temperatur im Gemisch weiter auf 45-50 °C ansteigt. Die Säure dringt durch die Schale in die Bohnen ein und unterbindet in Kombination mit der hohen Temperatur die Keimfähigkeit der Keimwurzeln. Dadurch werden die Zellwände permeabel und oxidative Reaktionen können von nun an auch in den Kakaobohnen ablaufen. Nach der Abtötung des Keims erfolgen in der letzten Phase Oxidations- und Kondensationsreaktionen der phenolischen Substanzen (Afoakwa, 2012, S. 11; Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 252; Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 80). Fettlösliche Polyphenole geben bei hohen Konzentrationen nach der Fermentation eine mindere Qualität an, da sich der Gehalt während der Fermentation von etwa 20% auf 5% verringern sollte. Durch den Abbau der phenolischen Verbindungen verlieren die Bohnen das adstringierende und herbe Flavor. Der oxidative Prozess wird erst mit der Trocknung unterbrochen. Die Abbauprodukte der Reaktionen geben der Kakaobohne dann die typisch rot-braune Farbe (Afoakwa, 2012, S. 6; Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 78). Außerdem findet nach der Abtötung des Keims eine Hydrolyse von Proteinen in Peptide und Aminosäuren statt, die ebenfalls für die Bildung von Aromen und Aromavorstufen verantwortlich ist. Da das pH-Optimum für die Proteolyse im sauren Bereich liegt, ist die vorgelagerte Phase der Säurebildung unabdingbar (Afoakwa, 2012, S. 11; Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 80; Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 252). Durch die aroma-relevanten Produkte der Reaktionen, die in den letzten Tagen der Fermentation stattfinden, ist es von großer Bedeutung, die Fermentation nicht frühzeitig abubrechen. Gleichzeitig kann eine Überfermentation zu einem weiteren Absenken des pH-Wertes führen, wodurch buttrig, saure Off-Flavor entstehen können. Neben dem niedrigen pH-Wert kann eine Überfermentation auch an schwarzen Kakaobohnen erkannt werden (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 80).

Während des Fermentationsprozesses entstehen neben den genannten eine Vielzahl an weiteren aroma-aktiven Stoffen, die von der menschlichen Nase detektiert werden können. Sie unterteilen sich unter anderem in folgende chemische Gruppen: Aldehyde, Ketone, Alkohole, Ester und Pyrazine (Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253).

Pyrazine sind die Hauptkomponenten der aromagebenden Substanzen im Kakao. Sie werden als nussig, erdig und röstig beschrieben. Die meisten Pyrazine entstehen beim Röstvorgang der Kakaobohnen (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 80). Kakaobohnen, die zu kurz oder nicht fermentiert wurden, zeigen nach dem Rösten eine geringere Konzentration an Pyrazinen als fertig fermentierte Bohnen (Afoakwa, 2012, S. 9).

Ester hingegen geben den Kakaobohnen ein fruchtiges Aroma und kommen hauptsächlich in ungeröstetem Kakao vor. Amylacetate zählen zu den Estern, deren Bildung in der Fermentation verhindert werden sollte, da sie als Indikator für Aromadefizite gelten (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 79). Es werden Ester wie Ethylacetate (fruchtig, süßlich) während der Fermentation gefunden, die als Produkt aus der Veresterung von Essigsäure und Ethanol hervorgehen (Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253).

Aldehyde entstehen während der Fermentation nur in geringen Konzentrationen, wobei sie einen malzig und schokoladigen Geruchseindruck bilden. Sie entstehen bei einer gut ablaufenden Fermentation in den letzten Tagen. Unerwünschte Aldehyde können durch längeres Rösten eliminiert werden (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 79).

Neben dem Ethanol in der alkoholischen Gärung können weitere Alkohole während der Fermentation entstehen. Sie können sowohl erwünschte Gerüche als auch Off-Flavor darstellen, mit Hilfe derer der Fermentationsprozess überwacht werden kann. Eine hohe Konzentration von Amylalkoholen kann beispielsweise eine Überfermentierung anzeigen, welche wiederum einen schinkenartiges Off-Flavor verursachen kann. Außerdem zeigt das Verhältnis zwischen Methyl-1-butanolen (z.B. Isoamylalkohol) und 3-Methyl-2-butanol den Fermentationsgrad. Ein steigender Gehalt an Methyl-1-butanolen während der Fermentation lässt das Verhältnis der Stoffe je nach Fermentationsgrad ändern. Gleichzeitig sinkt die Konzentration von Methyl-1-butanolen bei der Lagerung, sodass über die Substanzen auch die Lagerdauer überprüft werden kann (Oberparleiter und Ziegleder, 1997, S. 158). Die Entstehung von Pentanolen im Prozess können als Bewertung für das Kakaoaroma sowie den Fermentationsgrad dienen. Außerdem ist die Entstehung einiger Alkohole, wie 3-Methyl-1-butanol (Isoamylalkohol), 2,3-Butanediol und Phenylethylalkohol für qualitativ hochwertige Kakaobohnen erwünscht (Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253). Phenylethylalkohol dient als Aromavorstufe für Phenylethylaldehyd, welches durch Oxidation zu Phenylethylacetate verestert wird (Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253). Alkohole wie 2-Heptanol und Linalool geben Kakaobohnen ein fruchtiges, grünes und blumiges Aroma. Phenylethylalkohol entsteht zum großen Teil schon während der Fermentation, wobei Linalool beispielsweise aus Aromavorstufen im Röstprozess entsteht (Aprotosoiaie, Luca und Miron, 2016, S. 79; Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253).

Bei der nachfolgenden Röstung werden neben den Säuren auch unerwünschte Gerbstoffe eliminiert sowie Schädlinge entfernt. Thermische und enzymatische Reaktionen führen durch Maillard-Reaktion und Strecker-Abbau zu einer Verstärkung des Aromas. Zudem werden die Bohnen noch dunkler, härter und spröder. Der Röstprozess ist wie die Fermentation auf Einflussfaktoren wie den Genotypen abzustimmen. Schlecht fermentiert und getrocknete Bohnen bilden bei der Röstung nur wenig ausgeprägte bis keine kakaotypischen Aromen. Werden unfermentierte Bohnen direkt geröstet, entstehen unerwünschte Off-Flavor wie schinkenartig oder faulig und nur wenige kakaotypischen Aromen (Afoakwa, 2012, S. 12; Belitz, Grosch und Schieberle, 2008, S. 992).

Meist findet auf den Plantagen eine spontane Fermentation statt. Dabei ist der Eintrag von Mikroorganismen der entscheidende Faktor für die Fermentation und eine ausreichende Aromaentwicklung. Dies geschieht allerdings meist durch unkontrollierbare Parameter wie verschmutzte Hände (Salazar Alvarez, 2017, S. 12). HO ET AL. zeigt, dass ein unterbundenes Hefewachstum zu einer verringerten Konzentration an Ethanol, höherwertigen Alkoholen und Estern während der Fermentation führt. Gleichzeitig enthalten die Bohnen ohne Hefewachstum weniger Pyrazine in den gerösteten Bohnen (Ho, Zhao und Fleet, 2014). Durch die Zugabe von bestimmten Mikroorganismen und Vermeidung von Verunreinigungen anderer Art erhofft man sich eine kontrollierbare und reproduzierbare Aromaentwicklung während der Fermentation.

2.3 HS-SPME-GC-MS/O

Die HS-SPME-GC-MS/O-Methode ist ein gekoppeltes Verfahren zur Analyse von volatilen Stoffen und bietet die Möglichkeit, neben stoffbezogenen, analytischen Informationen auch sensorische Daten zu erfassen. Hierzu werden die Stoffe einer Gaschromatographie mit angeschlossener Olfaktometrie (GC/O) und einer Massenspektrometrie unterzogen.

Die Gaschromatographie dient der quantitativen Bestimmung von Inhaltsstoffen eines vorliegenden Gasgemischs. Dabei können nur gasförmige Proben oder solche, die sich unzerstört verdampfen lassen, analysiert werden. Der Analyt wird in seine einzelnen Substanzen getrennt, wodurch diese detektiert werden können. Ein Gaschromatograph besteht aus zwei wesentlichen Bestandteilen: der stationären und der mobilen Phase. Die stationäre Phase ist eine fest installierte Säule, die von der mobilen Phase durchlaufen wird. Es handelt sich dabei um ein Medium, das je nach Analyt polar oder unpolar sein sollte. Bei der mobilen Phase handelt es sich um ein inertes Trägergas, an das die zu untersuchenden Moleküle anheften (Otto, 2011, S. 383 ff).

Die mobile Phase interagiert weder mit dem Analyten noch mit der stationären Phase. Die mobile Phase dient nur zum Transport durch die stationäre Phase. Die Temperatur der stationären Phase kann individuell gewählt werden. Meist handelt es sich um ein stufenweise ansteigendes und analytabhängiges Temperaturprogramm. Es erfolgt eine Verteilung der Substanzen in der Gasphase, die durch unterschiedliche Verteilungskoeffizienten der Stoffe entsteht. Dadurch ist die Verteilung

stoffspezifisch und hängt vom Siedepunkt und der Polarität ab. Beim Injizieren des Analyten auf die Säule wird dieser zur bis Verdampfung erhitzt. Durch den Fließstrom des Trägergases wird der Analyt auf die Säule gegeben. Als Säulen werden gepackte oder Kapillar-Säulen eingesetzt. Es findet die Trennung der Moleküle statt und nachdem die Komponenten die Säule durchlaufen haben, treten sie aus der Säule aus und gelangen zum Detektor. Jede ausgetretene Substanz lässt durch elektrische Signale einen Peak entstehen, der über die Peakgröße und -fülle die Signalintensität widerspiegelt. Die Auswertung des Chromatogramms (vgl. Anhang 1) erfolgt anhand der entstandenen Peaks. Diese lassen sich bestimmten Stoffen mittels angeschlossenen Massenspektrometers und einer Software zuordnen (Otto, 2011, S. 383 ff).

Die Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC/O) wird eingesetzt, um neben der instrumentellen Detektion der aufgetrennten Substanzen die menschliche Nase zur sensorischen Analyse zu nutzen (Plutowska und Wardencki, 2008, S. 13). Neben dem Übergang zum Massenspektrometer bietet der Gaschromatograph einen Ausgang an einen so genannten Sniffing-Port (vgl. Abbildung 2). An diesem treten die Substanzen aus und können von der menschlichen Nase über den olfaktorischen und nasal-trigeminalen Sinn detektiert werden. Durch die Angaben des Prüfers können so die analytischen Messungen mit den Geruchsattributen und -intensitäten der Geruchswahrnehmung verglichen werden (Plutowska und Wardencki, 2008, S. 2).

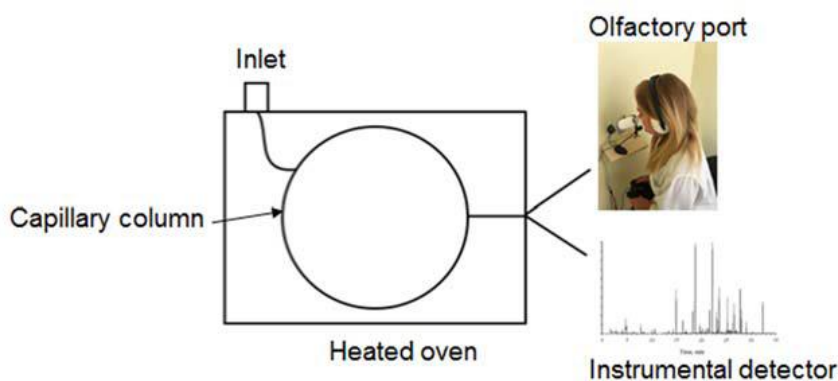


Abbildung 2: Schematische Darstellung von GC-MS/O-Kopplung (Rosenvald, 2017, S. 13)

Der Vorteil dieser Methode ist die Erfassung detaillierter Informationen über die einzelnen Substanzen. So kann eine Aussage getroffen werden, welche volatilen Stoffe aroma-aktiv und somit relevant für den olfaktorischen Gesamteindruck sind. (Delahunty, Eyres und Dufour, 2006, S. 2). Das Verfahren wird neben der Analyse von Proben auch zur Ermittlung von Geruchsschwellenwerten und zur Schulung von Panelisten genutzt. (Lawless und Heymann, 2010, S. 141). Durch diese Methode wird die Analyse auf die orthonasale und nasal-trigeminal Wahrnehmung (vgl. 2.1) beschränkt.

Die an die Gaschromatographie gekoppelte Massenspektrometrie dient der qualitativen Analyse von Atomen, Ionen, Radikalen und Molekülen. Es werden dabei verschiedene physikalische Verfahren

zur Erzeugung, Trennung und zum Nachweis verwendet. Jedes Massenspektrometer besteht aus vier Teilen, die je nach Funktionsweise unterschiedlich gebaut sind. Ein Einlasssystem für die Moleküle; eine Ionenquelle für die Ionisation; eine Trennvorrichtung, um die Ionen nach dem m/e -Wert (Masse pro Ladung) zu trennen und einem Nachweis der Ionen und angeschlossene Software zur Auswertung der Daten (Budzikiewicz und Schäfer, 2010, S. 11). Im Einlasssystem liegen die Substanzen in der Form vor, in der sie aus dem Gaschromatographen austreten. Bei der Ionisation werden die Moleküle mittels Elektronenbeschuss in Ionen aufgetrennt, sodass durch das m/e -Verhältnis eine Analyse der einzelnen Ionen und ihrer relevanten Mengen möglich ist. Eine Trennung ist über verschiedene Verfahren möglich. Im vorliegenden Fall wird ein Quadrupol genutzt, der aus vier Metallstäben zusammengesetzt ist. Die Stäbe sind im Quadrat angeordnet und die jeweils gegenüberliegenden Pole sind leitend miteinander verbunden. Die beiden Pol-Paare sind immer unterschiedlich gepolt, sodass die Ionen zu Schwingungen um die Feldachsen angeregt werden. Die Trennung der Ionen erfolgt durch eine Wechselspannung der gegenüberliegenden Stäbe. Auf diese Weise entstehen abwechselnd positive und negative Felder, wodurch die Anionen und Kationen in entgegengesetzte Richtungen beschleunigt werden. Die Ionen treten zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Passieren des Quadrupols auf einem Ionendetektor auf. Mit Hilfe der auftretenden Ionen und deren Massen, können Angaben über das Ausgangsmolekül gemacht werden. Das Massenspektrometer ist an eine Software mit NIST-Datenbank gekoppelt, die mit absteigender Wahrscheinlichkeit mögliche Moleküle angibt (Budzikiewicz und Schäfer, 2010, S. 35; Otto, 2011, S. 456 f).

Da es sich bei Kakaonibs um einen Feststoff handelt, bei dem sich die volatilen Stoffe unzerstört verdampfen lassen, wird das Headspace-Solidphase-Micro-Extraction-Verfahren (HS-SPME) eingesetzt. Hierbei werden die volatilen Substanzen ohne Eintauchen der Faser in die Kakaonibs adsorbiert.

Beim HS-SPME-Verfahren wird der Analyt in einem luftdichten Probengefäß (Vial) für eine festgelegte Equilibrierzeit erwärmt. Anschließend wird die SPME-Faser in den Kopfraum des Gefäßes gebracht und über einen vorgegebenen Zeitraum (Extraktionszeit) kann sich ein Gleichgewicht der Moleküle aus dem Kopfraum auf der Faser einstellen. Die Faser erfährt durch diese Methode keine Verunreinigung und Beschädigung durch den Analyten. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass die Proben vor der Analyse keiner aufwändigen Vorbereitung unterzogen werden müssen. Außerdem müssen die Proben keinen hohen Temperaturen ausgesetzt werden, wodurch eine eventuelle Zerstörung oder unerwünschte Reaktionen von Molekülen unterbunden wird.

3 Materialien und Geräte

Im Folgenden werden die für die Panelschulung und die Analyse genutzten Materialien und Substanzen aufgezeigt und insbesondere die verwendeten Kakaobohnen beschrieben. Weiterhin wird auf die zur Analyse herangezogenen Geräte eingegangen.

3.1 Materialien

Die verwendeten Reinsubstanzen stammen von unterschiedlichen Herstellern, wie Tabelle 1 zu entnehmen ist. Da eine genaue Angabe über die Konzentration der vorgefertigten Aromen der Firma Silesia nicht möglich ist, wurden diese nur bei Prüfungen ohne Konzentrationsunterschiede verwendet. Die Substanzen wurden auf RotilaboR-Riechstreifen der Firma Carl Roth GmbH+Co. KG aufgetragen und in Hartplastik-Röhrchen dargereicht.

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien

Substanz	CAS-Nr.	Hersteller
Ethanol Verg.	64-17-5	ROTH
2-Nonanon	821-55-6	Alfa Aesar
2-Heptanon	110-43-0	MERCK
2-Heptanol	543-49-7	MERCK
2-Pentanol	6032-29-7	MERCK
1,2-Propandiol	57-55-6	MERCK
Methanol	67-56-1	ROTH
2-Pentanon	107-87-9	SIGMA-ALDRICH
Benzaldehyd	100-52-7	SIGMA-ALDRICH
α -Pinen	7785-70-8	SIGMA-ALDRICH
2-Nonanol	628-99-9	SIGMA-ALDRICH
β -Linalool	78-70-6	SIGMA-ALDRICH
β -Myrcen	123-35-3	SIGMA-ALDRICH
β -Ocimene	13877-91-3	SIGMA-ALDRICH
Ethylacetat	141-78-6	SIGMA-ALDRICH
Iso-Amylacetat	123-92-2	SIGMA-ALDRICH
Hexylacetat	142-92-7	Silesia
Guajakol	90-05-1	Silesia
Pfefferminzöl	98306-02-6	Silesia
Vanillin	121-33-5	Silesia
Fenugreek	84625-40-1	Silesia
1-Octen-3-ol	3391-86-4	Silesia
Borneol	464-45-9	Silesia
δ -Nonalacton	3301-94-8	Silesia

Die verwendete Kakaosorte wird Chuncho-Kakao (s. Abbildung 3 und Abbildung 4) genannt. Diese qualitativ hochwertige Edelkakaosorte stammt aus Quillabamba (Cusco), einer Region im Andenhochland Perus. Die aus genetischer Sicht zur Gruppe der Contamana gehörende Sorte wächst in diesem Gebiet bereits seit mehreren Jahrhunderten (Eskes et al., 2018, S. 160). Als spezifische Aromaeindrücke werden blumig, fruchtig und nussig angegeben (Salazar Alvarez, 2017, S. 10 f.).



Abbildung 3: Chuncho-Frucht (Salazar Alvarez, 2017)



Abbildung 4: Pulpa und Kakaobohnen in aufgebrochener Frucht (Salazar Alvarez, 2017)

Die Kakaobohnen wurden am ersten, dritten und fünften Tag der Fermentation entnommen. Verglichen werden spontan fermentierte Bohnen mit Bohnen, die durch zugesetzte Hefe (S.c. Zymaflore® X5; genaue Zusammensetzung nicht bekannt) (vgl. 2.2.3) inokuliert wurden. Die Fermentation fand im Mai 2018 statt. Die inokulierte Fermentation dauerte fünf Tage, die spontane Fermentation sechs Tage an. Die erste Ziffer zeigt die Fermentationsart, die zweite den Fermentationstag (n-1) und die letzte das Probenahmerohr.

Tabelle 2 können die für die Auswertung verwendeten Abkürzungen für die Kakaobohnen entnommen werden. Die erste Ziffer zeigt die Fermentationsart, die zweite den Fermentationstag (n-1) und die letzte das Probenahmerohr.

Tabelle 2: Erläuterungen zu Abkürzungen der Kakaobohnen

Abkürzung	Bedeutung
1-1-2	Spontane Fermentation – Tag 0 der Fermentation – 2. Probenahmerohr
1-3-2	Spontane Fermentation – Tag 2 der Fermentation – 2. Probenahmerohr
1-5-1	Spontane Fermentation – Tag 4 der Fermentation – 1. Probenahmerohr
2-1-1	Inokulierte Fermentation – Tag 0 der Fermentation – 1. Probenahmerohr
2-3-2	Inokulierte Fermentation – Tag 2 der Fermentation – 2. Probenahmerohr
2-5-2	Inokulierte Fermentation – Tag 4 der Fermentation – 2. Probenahmerohr

Die Kakaobohnen wurden in Holzboxen (75x75x75 cm) fermentiert (Füllmenge ca. 200 kg; Füllhöhe ca. 60 cm), die für die ersten 48 Stunden mit frischen Bananenblättern ausgelegt wurden. Durch die Holzbohlen konnte die Pulpa während der Fermentation abfließen. Während der gesamten Fermentationsdauer wurden die Bohnen mit 4-6 Lagen Jute bedeckt. Die Bohnen wurden nach 48 Stunden das erste Mal und anschließend alle 24 Stunden zur gleichen Tageszeit in benachbarte Holzboxen umgeschichtet. Der Fermentationsort war die Cooperativa Agraria Cafetalera Macamango Ltd., wobei die Fermentation in einem Greenhouse mit Plastikplane stattfand.

3.2 Geräte

Das HS-SPME-GC-MS/O-Verfahren wurde durch die Zusammenführung mehrerer Geräte bzw. Geräteteile möglich (vgl. Abbildung 5). Der Headspace-Autosampler wurde durch CONCEPT (PAS Technologies) gesteuert. Dieser war versehen mit einer SPME-Faser PDMS/DVB, Stableflex 23 Ga (Mantel: 50/30 μm , Länge: 1 cm; DVB/CAR/PDMS, Stableflex 23 Ga, Mantel: 50/30 μm , Länge: 1 cm; Supelco, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland). Die Vials (Probengefäß 20 ml) wurden mit den zu untersuchenden Kakaobohnen versehen. Diese wurden mit Dichtscheiben (Macherey-Nagel, N19 Butyl beige, PTFE grau, 1,3mm) und dem Vial-Deckel (Macherey-Nagel, Magnetic Crimp Caps N20, silber, Loch) luftdicht verschlossen. Die Analyten wurden mit Hilfe der METLER TOLEDO XS205 DualRange Waage abgewogen. Der Typ der GC-Anlage ist Agilent Technologies 6890N Network GC-System. Das Gerät wurde mit Hilfe der Software HP Chemstation Software, Version A.03.00 bedient. Bei der Säule handelt es sich um eine DB-WAX-Säule (250 μm , 25 μm Filmdicke bei 30 m Länge; Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland). Die Flowrate des Trägergases Wasserstoff betrug 3,4 ml/min. Beim Detektor handelt es sich um den 5975C VL MSD with Triple-Axis-Detector von Agilent Technologies. Hier wurden die Moleküle mittels Elektronenstoßionisation in die Ionen aufgetrennt.

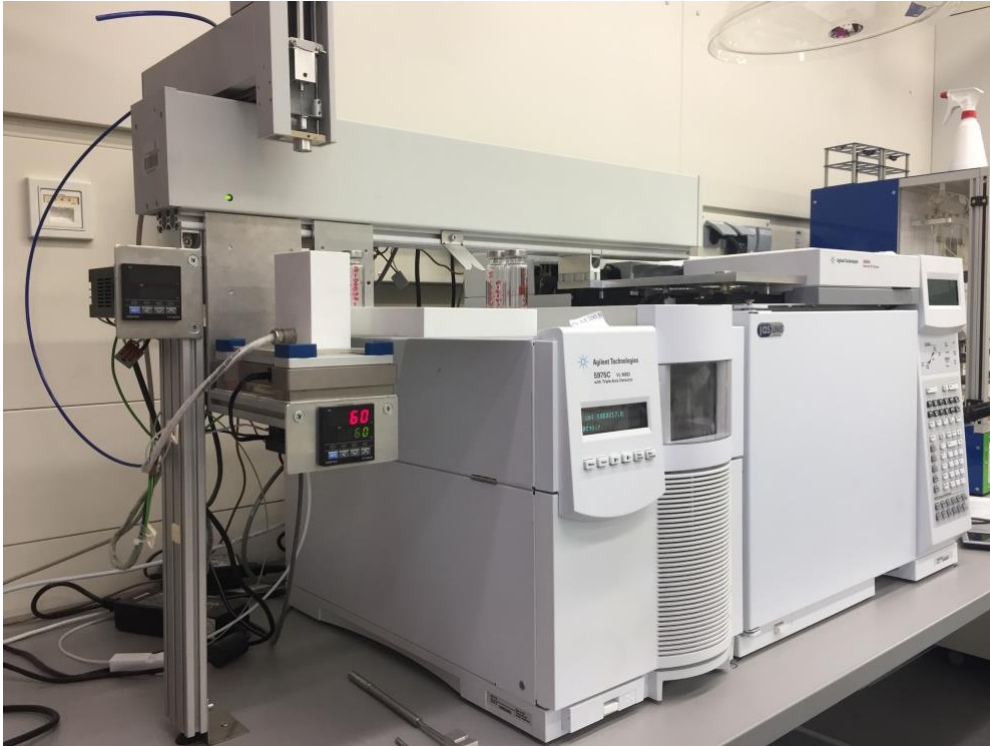


Abbildung 5: Aufbau HS-SPME-GC-MS/O

Wenn die Substanzen die GC-Säule durchlaufen haben, werden sie zur Hälfte in den Detektor geschleust, zur anderen Hälfte an den Sniffing Port (JAS - Joint Analytical Systems, Moers, Deutschland). Die Identifikation der Substanzen erfolgt mit Hilfe der Software GCMS Data Analysis.

4 Methoden

In den folgenden Ausführungen wird auf die für die praktische Durchführung zurückgegriffenen sensorischen, analytischen und statistischen Methoden eingegangen. Hierzu wird zunächst der Ablauf der kakao- und methodenspezifischen Schulung beschrieben. Es folgen Erläuterungen zum Versuchsaufbau und zu verwendeten HS-SPME-GC-MS/O-Methode. Weiterhin wird auf die zur Analyse genutzten statistischen Methoden eingegangen.

4.1 Kakao- und methodenspezifische Panelschulung

Da es sich bei der GC/O-Analyse um eine komplexe sensorische Methode handelt, ist eine Schulung unerlässlich. Die Grundschulung folgte den Vorgaben der DIN EN ISO 8586:2014-05 (Deutsches Institut für Normung e. V., o. J.), wobei die einzelnen Prüfungen nach den in Abbildung 6 aufgeführten Normen durchgeführt wurden. Die Schulung wurde auf die orthonasale und nasal-trigemurale Wahrnehmung beschränkt, da ausschließlich diese für die Analyse der Kakaobohnen verwendet wurde. Die sensorischen Tests wurden aus den DIN-Normen abgeleitet und an den Geruchssinn angepasst.

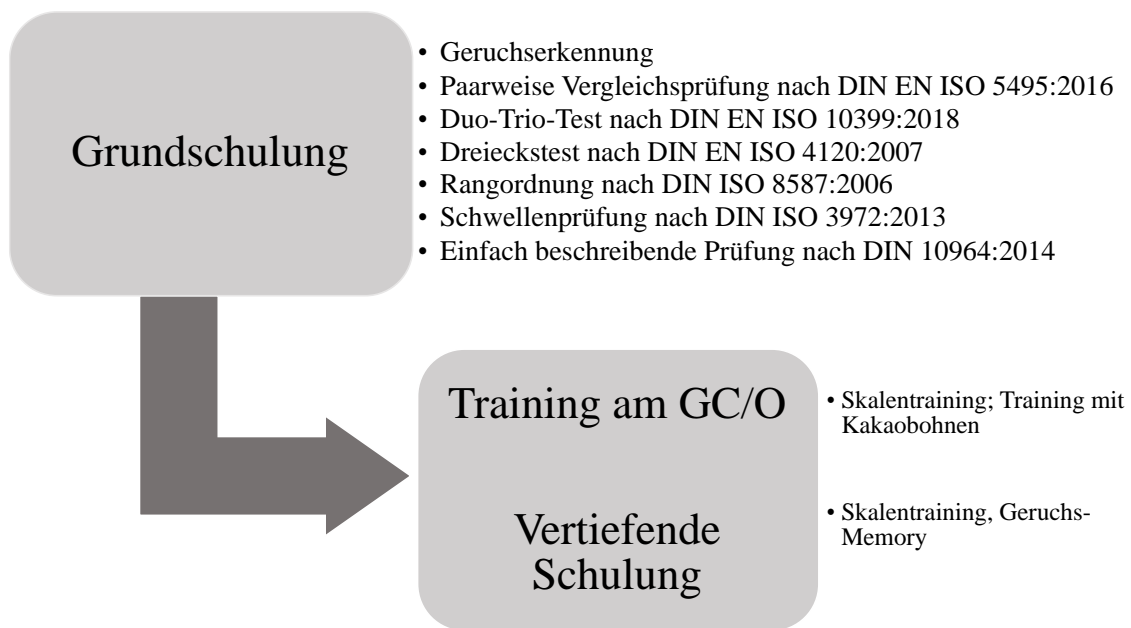


Abbildung 6: Abfolge Panelschulung

Die Grundschulung des Panels beinhaltete die Erkennungsprüfung, Schwellenprüfung, Rangordnungsprüfung, Paarvergleich, Duo-Trio-Test, Dreiecksprüfung und eine einfach beschreibende Prüfung.

Anhand prüfungsspezifischer Kriterien wurde über Bestehen oder Nicht-Bestehen der Teilnehmer bei den jeweiligen Prüfungen entschieden. Dies diente als Vorauswahl für die weitere sensorische Schulung. Nicht bestandene Prüfungen konnten wiederholt werden. Anschließend wurde mit weiteren sensorischen Schulungen sowie dem Training am GC/O begonnen.

Während der gesamten Zeit der Panelarbeit wurde durch verschiedene Maßnahmen die Motivation der Teilnehmer zu erhalten versucht. Um das Interesse der Prüfer zu wecken, wurde das Verfahren der verwendeten Methoden genau erklärt. Zudem wurde nach jedem Termin Feedback in beide Richtungen ausgetauscht, um die Teilnehmer zu motivieren und die Prüfungen so angenehm wie möglich für die Prüfer zu gestalten. Die Leistung des Panels konnte so aufrechterhalten werden. Zudem wurden die Prüfungen mit jeder Schulung etwas schwerer und immer neue Gerüche eingebaut, um die Teilnehmer zu fordern ohne zu überfordern. Außerdem wurden Snacks nach der Prüfung/Analyse angeboten und den Teilnehmern bei Abschluss der Schulung und Teilnahme an der Kakaoanalyse ein Zertifikat ausgestellt.

4.1.1 Grundschulung und vertiefende Schulung

Die Grundschulung nach DIN EN ISO 8586:2014-05 (Deutsches Institut für Normung e. V., o. J.) und vertiefende Schulung wurde mit Hilfe von Riechstreifen durchgeführt, auf die 25 µl der jeweiligen Substanz auf die unteren 2-3 cm gegeben wurde. Die Riechstreifen wurden in dafür

vorgesehenen Hartplastik-Röhrchen gereicht, aus denen die Riechstreifen für die Prüfung entnommen wurden. Die Riechstreifen und die Röhrchen wurden mit dreistelligen Kennziffern beschriftet, um Verwechslungen auszuschließen. Im Zuge der Prüfungen wurde darauf geachtet, dass den Panlisten nicht mehr als 15 Riechstreifen vorlagen, um eine Ermüdung des Geruchssinns zu vermeiden.

Die Substanzen wurden mit Propylenglykol verdünnt, mit Ausnahme von α -Pinen, welches in Ethanol vorverdünnt und anschließend in Propylenglykol weiter verdünnt wurde. Alle Lösungen wurden in verschlossenen Kolben bei 5 °C im Kühlschrank für eine längere Lagerstabilität und einen verminderten Aromaverlust gelagert.

Um eine bestmöglich kakaospezifische Schulung zu gestalten, wurde die Auswahl der Substanzen an bekannte Geruchsattribute von Kakao angelehnt (vgl. Tabelle 3). Dafür wurden bisherige Studien und Literatur über Kakao verwendet (vgl. Afoakwa, 2012; Aprotosoai, Luca und Miron, 2016; de Brito et al., 2001; Januszewska, 2018; Jinap, Dimick und Hollender, 1995; Majchrzak und Schlinter-Maltan, 2018; Ratprakhon, 2014; Rodriguez-Campos et al., 2011; Rohan, 1964).

Tabelle 3 zeigt die verwendeten Substanzen und die dazugehörigen Geruchsattribute.

Tabelle 3: Substanzen Grundschulung (¹: (Acree und Arn, o. J.); ²: (The Good Scents Company, o. J.); ³: SILESIA)

Substanz	Geruchsattribut
2-Nonanone	seifig ¹ , grün ¹ , süßlich ² , holzig ²
2-Heptanol	kräuterig ¹ , zitrus ² , frisch ² , grün ² , Zitronengras ³
2-Pentanone	fruchtig ^{1,2} , süßlich ²
Benzaldehyde	Mandel ^{1,2} , Kirsch ² , scharf ²
α -Pinene	Pinie ^{1,2} , holzig ²
β -Linalool	blumig ^{1,2,3} , zitrus ² , grün ²
β -Myrcene	würzig ^{1,2} , pfeffrig ² , holzig ² , muffig ³ , unangenehm ³
Ethyl acetate	Ananas ¹ , fruchtig ² , süßlich ² , Nagellackentferner ³
Isoamyl acetate	Banane ^{1,2,3} , fruchtig ² , süßlich ² , Eisbonbon ³
Hexyl acetate	fruchtig ^{1,2} , kräuterig ² , grün ² , Birne ^{2,3}
Guajakol	rauchig ^{2,3} , würzig ² , Vanille ²
Pfefferminzöl	Pfefferminz ³
Vanillin	Vanille ^{1,2,3} , süßlich ²
Fenugreek	Karamell ² , süßlich ² , Sellerie ² , Walnuss ³
1-Octen-3-ol	pilzig ^{1,2} , erdig ² , Champignon ³
Borneol	Kampfer ^{1,2} , holzig ² , erdig ³ , schimmelig ³
δ -Nonalacton	Kokosnuss ^{2,3} , cremig ² , süßlich ²

Bei der Panelschulung werden Laien zu Prüfpersonen für die GC/O-Analyse von Kakaobohnen trainiert. Das Ziel der Schulung ist es, eine zuverlässige und reproduzierbare Aussage durch Panelisten in der Analyse der Kakaobohnen zu ermöglichen. Die Schulung enthielt Prüfungen und Übungen, die im Folgenden beschrieben werden. Die Prüfungsleitung wurde von der Verfasserin der Bachelorarbeit übernommen. Sie war für die Planung, Durchführung und Auswertung der Prüfungen verantwortlich.

Bei den Teilnehmern handelte es sich um Studierende der Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg Bergedorf zwischen 22 und 30 Jahren, 9 weiblich und einer männlich. Es wurde darauf geachtet, dass die Prüfer keine Abneigungen gegen das geprüfte Lebensmittel hatten und ihm gegenüber möglichst neutral waren. Außerdem wurde die zeitliche Verfügbarkeit für die gesamte Dauer der Panelarbeit überprüft. Da die sensorischen Voraussetzungen der Teilnehmer nicht einheitlich waren, wurde mit allen Prüfern die gleiche Grundschulung durchgeführt. So konnte eine panelübergreifende Basis für die Analyse der Proben gewährleistet werden. Zum Ende der Schulung wurden sechs Prüfpersonen ausgewählt, um an der Analyse teilzunehmen.

Die sensorische Schulung wurde im Projektlabor der HAW Hamburg durchgeführt. Die Umgebung wurde mit den vorhandenen Mitteln an die Bedingungen der DIN EN ISO 8589:2010+A1:2014 (Deutsches Institut für Normung e. V., 2014) angepasst. Um eine möglichst hohe Konzentration der Prüfpersonen zu gewährleisten, wurden Lärmschutzkopfhörer ausgegeben. Während eine Prüfperson die Prüfungen durchgeführt hat, wurde auf eine Lärmstörung durch Gespräche und laute Bewegungen verzichtet. Zu jedem Zeitpunkt waren höchstens zwei Prüfpersonen im Raum, sodass diese sich nicht behinderten bzw. Gerüche übertragen wurden. Ablenkende Einflüsse wurden bestmöglich ausgeschlossen, um die Leistungsfähigkeit der Prüfpersonen nicht negativ zu beeinflussen. Die Ergebnisse der Prüfungen waren auf bereitgelegten Prüfbögen (siehe Anhang 2-11) zu vermerken. Zur Neutralisierung des Geruchssinns und Vermeidung von Erschöpfung wurden Kaffeebohnen bereitgestellt. Abbildung 7 zeigt exemplarisch einen Prüferplatz für Prüfungen mit Riechstreifen.

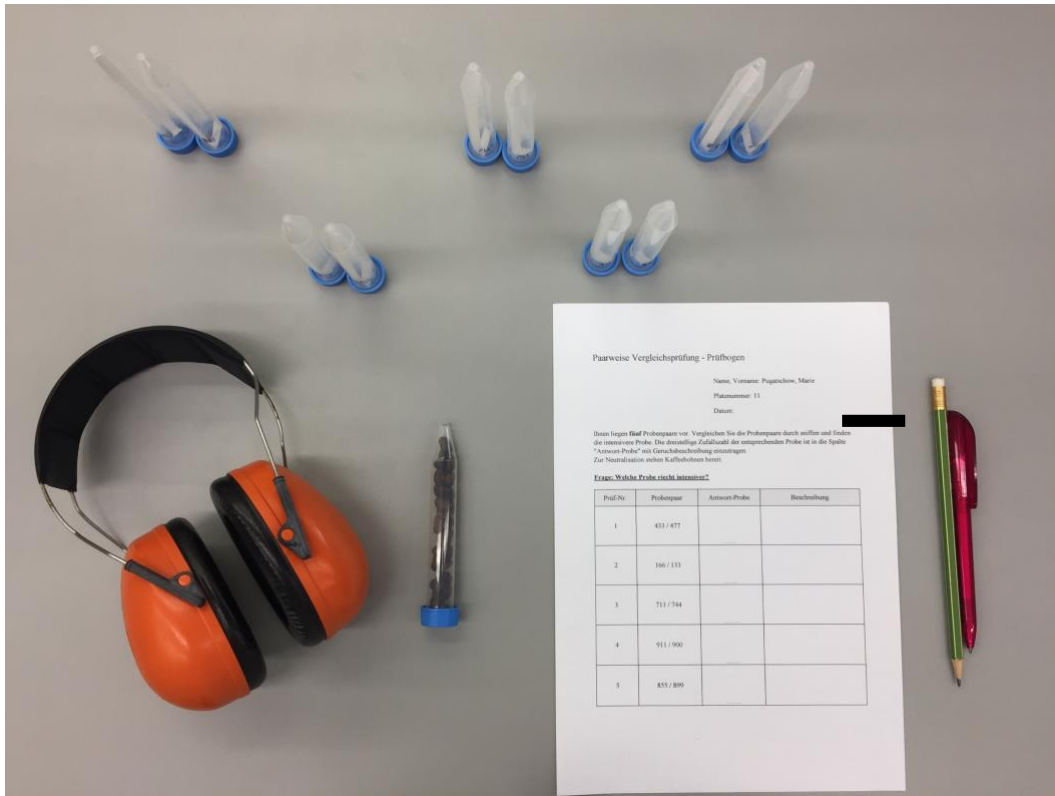


Abbildung 7: Beispiel-Platz Panelschulung

Vor der ersten Prüferschulung wurden den Teilnehmern Hilfestellungen für ein optimales Riechergebnis gegeben. Eine professionelle sensorische Geruchsprüfung von Lebensmitteln wird durch mehrmaliges schnelles Einatmen (Schnüffeln) vorgenommen. Dadurch strömt Luft durch beide Nasenlöcher und die aufgenommenen Aromen gelangen an einen größeren Teil der Reichschleimhaut und können damit besser durch die Sinneszellen detektiert werden. Um durch die Schulung eine konstante Verbesserung des sensorischen Geruchsgedächtnisses zu erreichen, wurden verschiedene Stoffe verwendet, die wiederkehrend während der Schulung zu erkennen und beschreiben waren. So haben die Panelisten einen Wortschatz zur Beschreibung der Stoffe aufbauen und erweitern können. Dafür wurden ausschließlich Reinsubstanzen und deren Verdünnungen, sowie Geruchsstandards der Firma Silesia (vgl. 3.1) benutzt.

Die Prüfungen wurden in aufsteigender, anhand deren Schwierigkeitsgrad festgelegten Reihenfolge durchgeführt. So wurden die Prüfpersonen nicht überfordert und haben stetig ihre Fähigkeiten erweitert. Es wurde schon bei der zweiten Prüfung mit einer deskriptiven Einschätzung begonnen, um die Fähigkeiten der Prüfer abzuschätzen und den Wortschatz kontinuierlich zu erweitern. Nach jeder Prüfung konnten Fragen gestellt oder Gerüche gemeinsam gerochen und diskutiert werden. Auch Vergleiche mit Aromen vorheriger Prüfungen konnten bei Interesse getroffen werden. Zudem wurde nach Schwierigkeiten während der Prüfung gefragt und/oder falsche Ergebnisse erörtert. Bei einer falschen Erkennung wurde mit den Panelisten nach der Ursache gefragt und es wurde gemeinsam erneut gerochen und gemeinsam bewertet.

Erkennungsprüfung

Im Zuge der Grundschulung wurde mit der Erkennungsprüfung begonnen. Hierbei sollen Aromen erkannt und richtig einer Liste von vorgegebenen Attributen zugeordnet werden (Busch-Stockfisch, 2002, S. 50). Die Prüfer erhielten neun Riechstreifen. Sobald die Proben zu 70% oder mehr richtig eingestuft wurden, galt die Prüfung als bestanden.

Bei der Erkennungsprüfung wurden folgende Substanzen in 10%-iger Verdünnung genutzt: β -Linalool, β -Myrcene, Ethyl acetate. Des Weiteren wurden folgende Silesia-Aromen eingesetzt: 1-Octen-3-ol, Borneol, δ -Nonalacton, Hexylacetat, Isoamyl acetate.

Diskriminierende Prüfungen

Die Prüfpersonen wurden auf ihr Unterscheidungsvermögen mit Hilfe von Unterschiedsprüfungen geprüft. Hierfür wurden diskriminierende Prüfungen eingesetzt. Zu diesen gehören der Dreieckstest, die Duo-Trio-Prüfung und die Paarweise Vergleichsprüfung.

Paarweise Vergleichsprüfung nach DIN EN ISO 5495:2016

Bei der Paarweisen Vergleichsprüfung wurde das Unterscheidungsvermögen der Prüfpersonen ermittelt und geschult (Busch-Stockfisch, 2002, S. 53). Die Prüfpersonen sollten Intensitätsunterschiede zweier Konzentrationen desselben Aromas erkennen. Es wurden fünf Probenpaare dargereicht, wobei jeweils die intensivere erkannt werden sollte. Zudem wurden die Panelisten aufgefordert, den Geruchseindruck zu beschreiben. Die Prüfung galt bei höchstens einem falsch angeordneten Probenpaar aus fünf als bestanden.

Verwendet wurden β -Linalool, β -Myrcene, 2-Nonanone, 2-Heptanol und 2-Pentanone. Die Proben haben die Konzentrationen 10 Vol-% und 20 Vol-%.

Dreieckstest nach DIN EN ISO 4120:2007

Die Dreiecksprüfung diente dem Erkennen einer abweichenden Probe aus drei dargereichten Proben (Busch-Stockfisch, 2002, S. 54).

Die Aromen wurden in den Konzentrationen 5 Vol-% und 10 Vol-% eingesetzt. Verwendet wurden β -Linalool, β -Myrcene, 2-Nonanone und 2-Pentanone. Hierbei waren alle vier abweichenden Konzentrationen zu erkennen und mit einem Vermerk zu versehen, ob sie stärker oder schwächer sind als die beiden anderen. Zudem waren die Prüfpersonen zu einer Geruchsbeschreibung aufgefordert. Alle Proben mussten richtig erkannt werden, um die Prüfung zu bestehen.

Duo-Trio-Test nach DIN EN ISO 10399:2018

Der Duo-Trio-Test trainierte die Prüfpersonen im Wiedererkennen von Referenzen. Es lag eine Referenz R vor und zwei weitere Proben, von denen eine der Referenz entsprach (Busch-Stockfisch, 2002, S. 54). Die Prüfpersonen sollten diese Probe finden. Die Prüfung wurde mit vier Substanzen

durchgeführt. Die abweichende Probe bestand aus der gleichen Substanz in einer anderen Konzentration.

Als Substanzen wurden β -Linalool, α -Pinen, Benzaldehyd und 2-Heptanol in den Konzentrationen 7,5 Vol-% und 10 Vol-% eingesetzt. Die Prüfpersonen sollten zudem eine Geruchsbeschreibung abgeben. Alle Proben mussten zum Bestehen den zugehörigen Referenzen richtig zugeordnet werden.

Rangordnungsprüfung nach DIN ISO 8587:2006

Ebenfalls bei der Prüferschulung vorgesehen ist eine Rangordnungsprüfung. Hierbei sollten die Prüfpersonen Konzentrationsunterschiede auf den Riechstreifen erkennen und die Streifen in aufsteigender Reihenfolge (am schwächsten – am stärksten) anordnen. Diese Prüfung zeigte zudem die Empfindlichkeit des olfaktorischen Sinnes der jeweiligen Prüfperson. Die Probanden wurden mündlich und auf dem Prüfbogen auf die Reihenfolge vom schwächsten zum stärksten hingewiesen, sodass keine Unklarheiten bei der Durchführung offenblieben. Falsche Reihenfolgen waren zum Bestehen der Prüfung nicht erlaubt. Zudem sollten die Prüfer die Riechstreifen dem jeweiligen Geruchsattribut zuordnen (Busch-Stockfisch, 2002, S. 53).

Es wurden folgende Stoffe verwendet: 2-Pentanon, β -Linalool und β -Myrcen. Die Proben wurden in den Konzentrationen 2,5 Vol-%, 5 Vol-%, 10 Vol-% und 15 Vol-% dargereicht.

Schwellenprüfung nach DIN ISO 3972:2013

Die Schwellenprüfung zeigte die Eignung der Prüfpersonen für die Wahrnehmung von Gerüchen oberhalb der Geruchsschwelle. Eine Geruchsschwelle ist nach der DIN EN ISO 5492 definiert als „niedrigster Wert eines sensorischen Reizes, der notwendig ist, um zu einer Empfindung zu führen“ (Deutsches Institut für Normung e.V., o. J., S. 29). Außerdem wurde mit der Prüfung die Wahrnehmung sehr geringer Konzentrationen überprüft. Die Ergebnisse der Prüfung zeigten die individuellen Schwellen eines Prüfers auf (Busch-Stockfisch, 2002, S. 53).

Die DIN ISO 3972 (Deutsches Institut für Normung e. V., o. J.) gibt Schwellenwerte für die Grundgeschmacksarten an, jedoch nicht für die olfaktorische Prüfung. Die Prüfung wurde in Anlehnung an die Geschmacksschwellenprüfung durchgeführt. Da für die Geruchsschulung keine eindeutigen Schwellenwerte vorlagen, wurde die Prüfung insgesamt dreimal durchgeführt. Auf diese Weise wurden die Prüfpersonen für die geringen Konzentrationen sensibilisiert. Die Angaben in der Literatur unterscheiden sich zum Teil stark, da die Schwellen auf unterschiedliche Weisen und verschieden geschulten Prüfern festgestellt wurden.

Für die ersten beiden Prüfungen wurden die Konzentrationen der Schwellenwerte nach CZERNY ET AL. erhöht und die Prüfung damit vereinfacht. Als Probennummer 1 wurden jeweils die Schwellenwerte benutzt. Falls die Prüfpersonen schon bei der ersten Prüfung an den

Geruchsschwellen nach CZERNY ET AL. (Czerny et al., 2008) die Gerüche erkannt hatten, wurde die zweite Prüfung übersprungen und direkt die dritte durchgeführt.

Es wurden die Stoffe β -Myrcene und α -Pinen benutzt, die in vorherigen Prüfungen genutzt wurden, um eine Vorschulung in Bezug auf die Stoffe zu gewährleisten. Tabelle 4 können die Werte der Konzentrationen bei den jeweiligen Prüfungen entnommen werden:

Tabelle 4: Konzentrationen der Geruchsschwellenprüfungen

Probennummer	1. Prüfung		2. Prüfung		3. Prüfung	
	(R)- α -Pinen	β -Myrcene	(R)- α -Pinen	β -Myrcene	(R)- α -Pinen	β -Myrcene
1 [ml/100ml]	0,000075	0,197468	0,000075	0,99719	0,000015	0,0031
2 [ml/100ml]	0,00015	0,394936	0,00015	0,197468	0,00003	0,00197
3 [ml/100ml]	0,07575	0,592404	0,015	0,394936	0,000075	0,099719
4 [ml/100ml]	0,15	1,0	0,07575	0,592404	0,00015	0,197468
5 [ml/100ml]	0,3	1,5	0,15	1,0	0,0015	0,394936
6 [ml/100ml]	0,6	2	0,3	1,5	0,07575	0,592404

Da keine eindeutige Grundlage für die Schwellenwerte vorlag, wurde die Prüfung unabhängig von den Ergebnissen bestanden.

Einfach beschreibende Prüfung nach DIN 10964:2014

Beschreibende Prüfungen können vielseitig eingesetzt werden. Sie können die verbale Ausdrucksfähigkeit von Prüfpersonen in Erfahrung bringen. Bei der Einfach beschreibenden Prüfungen mussten die Prüfpersonen die Proben im Gegensatz zur Erkennungsprüfung ohne vorliegende Attributliste beschreiben (Busch-Stockfisch, 2002, S. 53). Die verbale Ausdrucksfähigkeit wurde im Laufe der Schulung in fast allen Prüfungen abgefragt und trainiert. Durch die vorherigen Prüfungen konnten die Teilnehmer sich einen Wortschatz an Attributen aufbauen, der in der einfach beschreibenden Prüfung als letzte Prüfung abgefragt wurde. Die Prüfung wurde mit Hilfe eines Bewertungssystems ausgewertet, bei dem die gegebenen Antworten mit den gängigsten Attributen der Literatur verglichen wurden.

Für die Prüfung wurden folgende Stoffe in den jeweiligen Konzentrationen verwendet: Ethyl acetate (10 Vol-%), α -Pinen (10 Vol-%), β -Myrcene (10 Vol-%), Fenugreek (unbekannt), Vanillin (unbekannt), Pfefferminzöl (unbekannt), Guajakol (unbekannt) und 1-Octen-3-ol (unbekannt).

Geruchs-Memory

Das Geruchsmemory diente der Wiedererkennung von Gerüchen. Fünf Paare fanden sich in den zehn Riechstreifen wieder, die einander zugeordnet und beschrieben werden sollten.

Für das Memory wurden 2-Nonanone, 2-Pentanone und Benzaldehyde in 5 Vol-% genutzt, sowie die Silesia-Aromen Fenugreek und Borneol.

Skalentraining

Als Vorbereitung der Panelisten auf die Analyse am GC/O, wurde zunächst ein Skalentraining mit Riechstreifen genutzt. Beim Skalentraining wurde das Nutzen einer Skala trainiert. Da für die Analyse der Kakaobohnen am GC/O eine 5-Punkte-Skala verwendet wurde, wurde im Zuge der Schulung auch nur mit dieser trainiert. Für das Skalentraining wurden zunächst zwei Übungen wie zuvor mit Riechstreifen und anschließend drei Übungen an der GC/O (vgl. 4.1.2) durchgeführt. Beim Skalentraining mit Riechstreifen wurden im Vorfeld Hinweise zur Durchführung gegeben. Die Prüfer waren angehalten, die gesamte Skala auszunutzen. Außerdem sollte jeder Riechstreifen nur einmal gerochen werden und es durfte nicht rückgerochen werden, um so die Bedingungen am Sniffing-Port nachzubilden.

Die Prüfpersonen sollten bei der ersten Übung zwölf Riechstreifen beurteilen, wobei die Attribute vorgegeben waren. Insgesamt wurde mit sechs Substanzen gearbeitet, die in zwei unterschiedlichen Konzentrationen vorlagen. Es handelte sich um folgende Substanzen mit den dazugehörigen Konzentrationen: Benzaldehyd (0,03 Vol-%, 10 Vol-%), β -Myrcene (5 Vol-%, 20 Vol-%), β -Linalool (2,5 Vol-%, 10 Vol-%), 2-Pentanon (2,5 Vol-%, 15 Vol-%), 2-Nonanon (5 Vol-%, 20 Vol-%) und 2-Heptanol (5 Vol-5, 20 Vol-%).

Zunächst wurde untersucht, ob die Prüfpersonen die Konzentrationen im Vergleich richtig eingeschätzt hatten. Bei der zweiten Übung war von jeder Substanz nur eine der beiden Konzentrationen (Benzaldehyd 0,03 Vol-%, β -Myrcene 20 Vol-%, β -Linalool 2,5 Vol-%, 2-Pentanon 2,5 Vol-%, 2-Nonanon 5 Vol-% und 2-Heptanol 5 Vol-5) aus der ersten Übung auf den Riechstreifen. Zudem war eine Geruchsbeschreibung abzugeben. Nach der zweiten Übung wurden die angegebenen Intensitäten beider Skalenübungen verglichen und gegebenenfalls unterschiedliche Ergebnisse diskutiert.

4.1.2 Erstellung der Attributliste und GC/O-Schulung

Für die weitere Schulung und die anschließende Analyse der Kakaobohnen wurde zur Vereinheitlichung der Geruchsattribute eine Attributliste eingesetzt. Dadurch wurde erreicht, dass die Prüfer zum einen eine Hilfestellung bei der Beschreibung erhalten und zum anderen eine möglichst vergleichbare Beschreibung abgegeben wurde. Die Attributliste wurde auf Grundlage der folgenden Aspekte erstellt: Aromarad Kakao nach JANUSZEWSKA bzw. MAJCHRZAK UND SCHLUNTER-MALTAN (Januszewska, 2018; Majchrzak und Schlinter-Maltan, 2018, S. 136 ff); acht Grundgerüche in natürlichen Lebensmitteln nach OHLOFF (Ohloff, 1990); bisherige Angaben der Panelisten aus vorherigen Prüfungen; Veröffentlichungen zum Thema Kakaobohnen-Analyse (vgl.

Cocoa of Excellence, 2017; Crafac et al., 2014; Frauendorfer und Schieberle, 2008; Ho, Zhao und Fleet 2014; Ratprakhon, 2014; Salazar Alvarez, 2017; Sobotta, 2018).

Daraus entstand folgende vorläufige Attributliste:

blumig, frisch, fruchtig, zitrus, süßlich, seifig, essigsauer, buttrig, holzig, herb, kräuterig, muffig, nussig, würzig, malzig, stechend, unangenehm/streng, ranzig

Nachdem die Schulung durch das Training am GC/O mit Reinsubstanzen und Kakaobohnen (vgl. 4.1.2) endgültig abgeschlossen wurde, wurde die Liste überarbeitet und daraufhin mit folgenden Attributen für die Analyse der Kakaobohnen verwendet.

blumig, buttrig, frisch, vanillig, fruchtig, zitrus, grasig/grün, herb, künstlich/metallisch, kräuterig, malzig, muffig, nussig, erdig, essigsauer, ranzig, rauchig/röstig, seifig, stechend, streng/unangenehm, würzig

An der GC/O wurden weitere Intensitätsübungen durchgeführt. Zunächst wurden Reinsubstanzen (vgl. Tabelle 5) verwendet, um die Prüfpersonen an das Handling des Gerätes zu gewöhnen. Zudem wurde so die Geruchswahrnehmung über den Sniffing-Port trainiert. Diese unterscheidet sich in Intensität und Dauer des Geruchs deutlich von den vorherigen Übungen mit Riechstreifen. Im nächsten Schritt wurden die Konzentrationen herabgesetzt und so weiter das Handling und Intensitätseinschätzungen trainiert. Während der Analyse sollten die Prüfpersonen nur durch die Nase ein, und nur durch den Mund wieder ausatmen.

Für die Intensitätsübungen werden Substanzen gewählt, die entweder während der Fermentation in Kakaobohnen vorkommen oder als Geruchsattribut in Kakaobohnen (vgl. 4.1.1) wiederzufinden sind. Für die Schulung an der GC/O wurden die verwendeten Substanzen mit Methanol verdünnt.

Tabelle 5: Skalentraining GC/O – Stoffe (¹: (Acree und Arn, o. J.); ²: (The Good Scents Company, o. J.); ³: SILESIA)

Substanz	Konzentration [%] in Methanol			RT [min]	Geruchbeschreibung
	1. Übung	2. Übung	3. Übung		
Ethylacetat	100	20	-	1,2	Ananas ¹ , Nagellackentferner ³
2-Heptanon	100	20	-	5,9	seifig ¹
Isoamylalkohol	100	20	-	6,8	fruchtig ² , Banane ²
2-Nonanon	100	20	-	12,6	seifig ¹ , grün ¹ , süßlich ² , holzig ²
β-Ocimene	-	-	20	7,8	kräuterig ¹ , zitrus ² , holzig ² , floral ²
2-Pentanon	-	-	20	1,9	süßlich ² , fruchtig ² , holzig ²
2-Pentanol	-	-	20	4,6	grün ¹ , fruchtig ²
Linalool	-	-	20	16,8	blumig ¹ , zitrus ² , grün ²

2-Heptanol	-	-	20	11,3	kräuterig ¹ , fruchtig ² , grün ² , Zitronengras ²
2-Nonanol	-	-	20	16,0	Gurke ¹ , wachsig ² , zitrus ²

Im Anschluss an die Skalenübung am GC/O mit Reinsubstanzen wurde mit Rohkakao trainiert. Von den Bohnen wurden pro Vial 2 g abgewogen, mit den Dichtscheiben und Deckeln verschlossen und mit derselben Methode wie die spätere Analyse (vgl. 4.2) durchlaufen. Zwei- bis drei Mal für eine Dauer von 15 Minuten in getrennten Durchläufen trainierte jeder Panelist am GC/O mit Kakaobohnen.

4.2 Versuchsaufbau und analytische Methode

Mit Hilfe der verwendeten HS-SPME-GC-MS/O-Methode konnten die Kakaobohnen analysiert werden. Da die Bohnen inklusive der Schale vorlagen, wurden sie für die Analyse präpariert. Hierfür wurde mit Hilfe eines Messers die Schale leicht angeschnitten, sodass diese von den Kotyledonen gelöst werden konnte. Anschließend wurden diese in einem Mörser zu Nibs zerkleinert (vgl. Abbildung 8). Etwa 2g (genaue Massen pro Vial siehe Anhang 12) Kakao-Nibs pro Vial wurden abgefüllt. Es wurden pro Kakaobohne drei Vials vorbereitet, die je zweimal analysiert wurden. Pro Kakaobohne ergaben sich so sechs Durchläufe. Die Vials werden nach dem Verschließen bzw. zwischen den Läufen über Nacht im Gefrierschrank bei -24 °C gelagert.



Abbildung 8: Kakaobohnen-Präparation

Vor jeder GC/O-Analyse wurden ein Leerlauf ohne Faserinjektion und ein Leerlauf mit einem leeren Vial durchgeführt. Dadurch wurden eventuelle Verunreinigungen auf der Säule und der Faser herausgelöst.

Die Vials wurden in einem Heizblock für zehn Minuten Equilibrierzeit aufgeheizt, um die volatilen Komponenten aus den Kakaobohnen herauszulösen. Die Faser durchsticht anschließend die Dichtscheibe und verweilt mit einer Extraktionszeit von 28 Minuten im Kopfraum des Vials. Dabei stellt sich auf der Faser das Gleichgewicht des Kopfraumes ein. Nachdem die Faser den Kopfraum des Vials verlässt, wird das Substanzgemisch mit dem Autosampler bei einer Injektionstemperatur von 270 °C von der Faser auf die GC-Säule aufgetragen. Als Inertgas wird Wasserstoff abgegeben. Die Detektor-Temperatur betrug während des gesamten Vorgangs 230 °C.

Der Temperaturverlauf der GC-Säule erfolgt über die in Tabelle 6 angegebenen Heizraten. Diese Methode wurde von TRABER im Rahmen eines zusätzlichen Projekts spezifisch für Kakaonibs erarbeitet, um die vorhandenen Substanzen möglichst gut zu trennen (Traber, 2018). So werden Überlagerungen von Substanzen im Chromatogramm verhindert. Die Methode wurde für die Schulung am GC/O und die Analyse der Bohnen verwendet. Insgesamt benötigt der Durchlauf einer Probe 28,27 Minuten.

Tabelle 6: Temperaturverlauf GC-Methode

Anfangstemperatur	Zeit	Anstieg	Zieltemperatur
40 °C	3 Minuten	-	40 °C
40 °C	2,33 Minuten	3 °C / Minute	47 °C
47 °C	2,3 Minuten	10 °C / Minute	70 °C
70 °C	12,33 Minuten	3 °C / Minute	107 °C
107 °C	2 Minuten	-	107 °C
107 °C	4,46 Minuten	13 °C / Minute	165 °C
165 °C	3,4 Minuten	25 °C / Minute	250 °C

Neben der Detektion mittels MS werden die austretenden Substanzen am Sniffing-Port von den geschulten Prüfpersonen beschrieben. Der Geruchseindruck wurde mit Attributen der Attributliste (vgl. 4.1.2) und einer Intensität zwischen 1-5 angegeben. Die Angaben wurden parallel schriftlich inklusive der Retentionszeit aufgezeichnet. Zudem erfolgte zeitgleich zur verbalen Einschätzung eine Angabe über die Intensitätsdauer über einen angeschlossenen Regler. Da die erforderliche Konzentration nicht über einen gesamten Lauf von einer Prüfperson gewährleistet werden konnte, waren pro Analyse zwei Prüfpersonen am Sniffing-Port: der erste Panelist für Minute 1-12, der zweite Panelist von Minute 12-29. Es wurde darauf geachtet, dass von einer Prüfperson sowohl der erste als auch der zweite Part sensorisch analysiert wurde.

4.3 Statistische Methode

Zur statischen Auswertung wurden verschiedene Verfahren genutzt. Im Folgenden wird auf den Flavor Score (FS), die Hauptkomponentenanalyse (HKA), die Varianzanalyse ANOVA sowie die Produktcharakterisierung eingegangen.

4.3.1 Flavor Score

Nach PETERSEN zeigt der Flavor Score (FS) die Relevanz einer aroma-aktiven Substanz an,

$$FS_i = DF_i * FI_i$$

wobei DF_i die Detection Frequency und FI_i die Flavor Intensity beschreibt.

Im vorliegenden Fall wurde – abweichend zu Petersen – die Anzahl der Analysen pro Kakaobohne als DF_i genutzt. Der Flavor Score wurde pro aroma-aktive Substanz betrachtet, auch wenn diese nicht identifizierbar war. Für die Geruchsintensität wurde pro detektierte Substanz der Mittelwert für die Berechnung des Flavor Score genutzt. Unabhängig von der Substanz wurden für die abgegebenen Geruchsattribute ebenfalls die Flavor Scores berechnet. Hierbei gilt für die Flavor Intensity ebenfalls der Mittelwert der Intensitäten zu den jeweiligen Attributen. Die Anzahl der Durchläufe war für

beide Berechnungen gleich. Je öfter eine Substanz detektiert wird und je intensiver die Prüfperson die Substanz einstuft, desto relevanter ist sie nach dem FS-Konzept.

4.3.2 ANOVA

Mit Hilfe des Analysis of Variance (ANOVA) wurden signifikante Unterschiede zwischen den Faktoren (aroma-aktive Substanzen bzw. Geruchsattribute) festgestellt. Bei der ANOVA werden die Streuungen innerhalb einer Variablen mit der Streuung zwischen den Faktoren verglichen (Næs, Brockhoff und Tomić, 2010, S. 193 ff). Die Analyse erfolgt in XLSTAT 2018. Hierbei wurde der Tukey-Test mit einem Signifikanzniveau von 95 % durchgeführt.

4.3.3 Produktcharakterisierung

Um zu erkennen, worin sich Produkte unterscheiden und in welchen Eigenschaften sie sich somit am besten abgrenzen lassen, werden Produktcharakterisierungen eingesetzt. Diese Eigenschaften werden diskriminierende Deskriptoren genannt. Als Grundlage für die Produktcharakterisierung dient die Varianzanalyse (ANOVA) mit einem Signifikanzniveau von 95 %. Die Varianzanalyse wird bei der Produktcharakterisierung für jede Eigenschaften eines Produktes durchgeführt, wodurch positiv und negativ signifikant unterschiedliche Eigenschaften eines Produktes ausgegeben werden (Addinsoft, o. J., S. 742). Die Produktcharakterisierung erfolgt mit dem gleichnamigen Tool in XLSTAT 20018.

4.3.4 Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse (HKA), aus dem Englischen von Principle Component Analysis (PCA), gehört zu den explorativen Datenanalysen der Statistik (Quadt, Schönberger und Schwarz, 2011). Bei vielen Variablen von Produkten ist eine univariate Analyse nicht darstellbar, sodass multivariate Methoden wie die Hauptkomponentenanalyse eingesetzt werden. Es können viele Daten in einen zwei- oder dreidimensionalen Raum gebracht und damit veranschaulicht werden. Die reduzierten Daten stellen dabei so gut wie möglich alle Variablen dar. Die prozentuale Genauigkeit der Darstellung ist über die Achsen gegeben, die aus dem sogenannten Scree-Plot entnommen werden. Eine genaue Betrachtung des Scree-Plots ist notwendig, um zu entscheiden, ob die gewählten Faktoren als Achsen eine verlässliche Aussage treffen können. Im Koordinatensystem können nach der Analyse der Daten ähnliche und unterschiedliche Produkte abgelesen werden (Addinsoft, o. J., S. 197). Die HKA wurde ebenfalls mit Hilfe des gleichnamigen Tools in XLSTAT 2018 ausgeführt.

5 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Identifizierung der aroma-aktiven Substanzen inklusive der dazugehörigen Beschreibungen der Panelisten dargelegt. Es erfolgt zudem eine Analyse der aroma-

aktiven Substanzen mit den dazugehörigen Flavor Scores anhand einer HKA, einer Produktcharakterisierung und einer ANOVA. Anschließend werden die die Geruchsbeschreibungen der Panelisten zu den Kakaobohnen und den dazugehörigen Flavor Scores einer Produktcharakterisierung und ANOVA unterzogen.

5.1 Identifizierte aroma-aktive Substanzen

In der verknüpfenden Analyse der sensorischen und analytischen Daten werden die von den Panelisten wahrgenommenen aroma-aktiven Substanzen und deren angegebenen Geruchseindrücke mit dem Chromatogramm (vgl. Anhang 1) mit Hilfe der Software GCMS Data Analysis abgeglichen. Volatile Stoffe, die im Chromatogramm aufgezeigt werden, jedoch vom Panel nicht wahrgenommen wurden, werden in der Auswertung nicht berücksichtigt.

Anschließend wurden die sechs Durchläufe jeder Kakaobohne verglichen und die Detektionshäufigkeiten, Geruchsintensitäten und dem daraus resultierenden Flavor Score (vgl. 4.3.1) jeder aroma-aktiven Substanz ermittelt. Als aroma-aktive Substanz wurden diejenigen in die Auswertung miteinbezogen, die in mindestens zwei Durchläufen ($DF \geq 2$) und einen Flavor Score von mindestens fünf erreicht haben. Es wurden so insgesamt 57 aroma-aktive Substanzen ermittelt. Bei der spontanen Fermentation wurden 23 aroma-aktive Substanzen an Fermentationstag 0 detektiert. Am zweiten Fermentationstag wurden 16 aroma-aktive Substanzen ermittelt und an Tag 4 waren es 14. Für die inokulierte Fermentation ergaben sich an Fermentationstag 0 insgesamt 17, am zweiten Tag 27 und am vierten Tag 22 aroma-aktive Substanzen.

Die Identifikation einer aroma-aktiven Substanz wurde ab einer angezeigten Wahrscheinlichkeit ab 75% angenommen. Bei geringeren Wahrscheinlichkeiten wurden zur Identifikation der Peaks zusätzlich, die Retentionszeiten der Reinsubstanzen (vgl. 4.1.2), die Ionen-Peaks (vgl. 2.3) sowie ein Abgleich der Geruchsbeschreibungen mit Literaturangaben herangezogen.

Aroma-aktive Substanzen, die anhand der Maßnahmen nicht ermittelt werden konnten, werden als nicht identifiziert (n.i.) angenommen. Für einige aroma-aktive Substanzen ist die Geruchsschwelle so niedrig, dass die Konzentration der vom Panel wahrgenommenen Substanz zu gering ist, um vom GC-MS detektiert zu werden. Diese werden im Folgenden ebenfalls als nicht identifizierbar (n.i.) gekennzeichnet.

Insgesamt konnten 26 der 57 aroma-aktiven Substanzen identifiziert werden. Es handelt sich um zwei Alkene, ein Alkan, drei Ketone, fünf Alkohole, zehn Ester, ein Siloxan, ein Terpen, eine Säure, ein Pyrazin und ein Aldehyd.

Die aroma-aktiven Alkene in den untersuchten Bohnen sind cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene und 2,6-Dimethyl-2-octene. 2-Methylpentan wurde als einziges Alkan detektiert. Die identifizierten Ketone sind Acetoin, 2-Pentanon und 2-Butanon-3-methyl. Außerdem wurden folgende Alkohole

identifiziert: 2-Pentanol, Isoamyl alcohol, 2,3-Butanediol, 2,3-Butanediol (R-R*, R*) und Phenylethyl alcohol. Die Gruppe der Ester ist quantitativ am höchsten repräsentiert mit Ethyl acetate; 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester; 2-Pentanol-acetate; 1-Methoxy-2-propylacetate; Butyrolactone; Acetic acid phenylethylester; 8,11-Octadecadieonic acid methyl ester; Hexadecanoic acid ethylester; 2-Ethylhexyl-salicylate und 9,12,15-Octadecatriynoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z). Bei der wahrgenommenen Säure handelt es sich um Acetic acid (Essigsäure), beim Terpen um β -Pinen. Außerdem wurde das Aldehyd Benzaldehyde detektiert. Trimethylpyrazin wurde als einziges Pyrazin und Cyclosiloxane hexamethyl als einziges Siloxan wahrgenommen. Tabelle 7 können neben den identifizierten Substanzen die dazugehörigen Retentionszeiten (RT), Wahrscheinlichkeiten, Flavor Scores und die Geruchsbeschreibungen der Panelisten für die spontane (spont.) und inokulierte (inok.) Fermentation im Vergleich zu Literaturangaben der Substanzen entnommen werden. Eine Übersicht der gesamten Daten inklusive der nicht identifizierten Substanzen ist Anhang 13 zu entnehmen.

Tabelle 7: Ergebnisse der Kakaobohnen-Analyse mit vergleichenden Angaben der Geruchsbeschreibung der Panelisten zu Literaturangaben (¹:(Acree und Arn, o. J.); ²: (The Good Scents Company, o. J.); ³:(Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, o. J.))

Chemische Gruppe	Substanz	Wahrscheinl. [%]	RT [min]	Flavor Score [5-30]						Geruchsbeschreibung der Panelisten
				1-1-2	1-3-2	1-5-1	2-1-1	2-3-2	2-5-2	Geruchsbeschreibung Literatur
Alkane & Alkene	Pentane, 2-methyl	48,5	0,70					5		(inok.) würzig, seifig, buttrig, süßlich, fruchtig Schwach benzinartig ³
	2,6-Dimethyl-2-octene	23	2,22	6						(spont.) frisch, erdig, streng, herb -
	Cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	44,7	3,30	14	9			13	11	(spont.) seifig, buttrig, blumig, ranzig, unangenehm, muffig, fruchtig, süßlich, Erdbeere (inok.) fruchtig, Blaubeere, künstlich, süßlich, frisch, grasig, ranzig -
Ester	Ethyl acetate	93,5	1,22				6	5		(inok.) süßlich, blumig, seifig, unangenehm, würzig Ananas ¹ , Fruchtig ^{2,3} , süßlich ²
	9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester	18,5	2,65	6	11					(spont.) würzig, unangenehm, frisch, -
	2-Pentanol acetate	72,1	3,12	14	24	12	16	13	11	(spont.) blumig, süßlich, fruchtig, künstlich, grün, zitrus, frisch, unangenehm, muffig, nussig (inok.) süßlich, künstlich, blumig, buttrig, vanillig, fruchtig, zitrus, seifig, ktäuterig, grasig Kräuterig ² , fruchtig ² , nussig ² , grün ²

Ester	1-Methoxy-2-propyl acetate	29,5	16,16					10		(inok.) essigsauer, holzig, grün, kräuterig, süßlich, seifig
										Esterartig ³
	Butyrolactone	78,3	16,90					12		(inok.) würzig, unangenehm, rauchig
										Karamell ¹ , süßlich ¹ , cremig ² , fettig ²
	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	68,5	19,83		9	11		9	6	(spont.) kräuterig, grün, süßlich, erdig, zitrus, stechend, herb, frisch, muffig, buttrig, würzig
										(inok.) herb, cremig, nussig, würzig, kräuterig, erdig
										Süßlich ² , blumig ² , grün ²
8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester	50,3	22,57	5				6	12	(spont.) essigsauer, stechend, buttrig	
									(inok.) würzig, erdig, rauchig, kräuterig, cremig	
									-	
Hexadecanoic acid, ethyl ester	39	25,08					5		(inok.) Kokos, kräuterig, seifig, grün	
									Fruchtig ² , wachsig ² , cremig ² , milchig ²	
2-Ethylhexylsalicylate	59,4	25,39				5			(spont.) würzig	
									Fruchtig ² , süßlich ²	
9,12,15-Octadecatrienic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[[(trimethylsilyl)oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z)	68,7	28,06		6	8	5	9	8	(spont.) säuerlich, kräuterig, frisch, zitrus, süßlich, fruchtig	
									(inok.) würzig, herb, seifig, süßlich, kräuterig, grün, nussig, zitrus, frisch	
									-	

Ketone	2-Pentanon	89,4	1,82	5	27	8	20	21	11	(spont.) Würzig, nussig, kräuterig, vanillig, fruchtig, Erdbeere, süßlich, buttrig, milchig (inok.) künstlich, süßlich, vanillig, kräuterig, frisch, buttrig, fruchtig	
										Fruchtig ^{1,2} , süßlich ² , aceton-ähnlich ³	
	2-Butanone-3-methyl	45	2,00			13		10		(spont.) vanillig, süßlich, buttrig, blumig (inok.) vanillig, süßlich -	
	Acetoin	65,4	9,02	6					6	(spont.) süßlich, fruchtig, streng (inok.) blumig Buttrig ^{1,2} , cremig ^{1,2} , süßlich ²	
Alkohole & Phenole	2-Pentanol	71	4,40	5	6			7		(spont.) seifig, süßlich, künstlich, erdig, kräuterig, säuerlich, unangenehm (inok.) künstlich, unangenehm, kräuterig Grün ^{1,2} , muffig ² , fermentiert ²	
	Isoamyl alcohol	55	6,83	5	9		6	15	8	(spont.) süßlich, fruchtig, vanillig, blumig, frisch (inok.) würzig, unangenehm, blumig, essigsauer, kräuterig, herb, würzig, fruchtig Fruchtig ² , Banane ²	
	2,3-Butanediol	72,4	15,73	8	12			7	9	(spont.) kräuterig, fruchtig, blumig, erdig, rauchig (inok.) muffig, essigsauer, holzig, grün, blumig Cremig ² , fruchtig ² , buttrig ²	
	2,3-Butanediol (R-R*, R*)	40,6	16,46		17			18		(spont.) rauchig, erdig, herb (inok.) röstig, sauer, kräuterig, nussig, erdig -	

Alkohole & Phenole	Phenylethyl alcohol	83,1	21,50	8	8	13		15	6	(spont.) kräuterig, stechend, streng, metallisch, grün, muffig, süßlich, blumig, frisch, zitrus, künstlich (inok.) würzig, herb, grasig, rauchig, grün, kräuterig, streng, seifig
										Kräuterig ¹ , Rose ^{1,2} , blumig ² , süßlich ²
Terpene	β-Pinene	34,3	5,3	9	6	5	6	5		(spont.) würzig, ranzig, rauchig, erdig, streng, süßlich, zitrus, fruchtig, frisch (inok.) muffig, buttrig, würzig, blumig, kräuterig
										Pinie ^{1,2} , Harz ^{1,2} , kräuterig ² , holzig ² , grün ² , würzig ² , terpeninartig ^{1,3}
Pyrazine	Trimethylpyrazine	13,8	12,78					5	5	(inok.) kräuterig, süßlich, herb, cremig, Sellerie, unangenehm, ranzig
										Röstig ^{1,2} , Kartoffel ¹ , muffig ^{1,2} , nussig ² , Kakao ²
Säuren	Acetic acid	85	13,60	5				8	7	(spont.) streng, stechend, muffig, süßlich, blumig (inok.) kräuterig, süßlich, seifig, herb
										Sauer ^{1,2} , stechend ^{2,3} , fruchtig ²
Aldehyde	Benzaldehyde	15,6	14,92						5	(inok.) zitrus, erdig, süßlich
										Mandel ^{1,2,3} , verbrannter Zucker ¹ , fruchtig ² , süßlich ²
Siloxane	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	78,8	1,04						7	(inok.) herb, muffig, unangenehm
										-

5.2 Analyse aroma-aktiver Substanzen

Zur Analyse der 26 identifizierten aroma-aktiven Substanzen mittels HKA, ANOVA und Produktcharakterisierung wurde der Flavor Score als Parameter verwendet. Die Geruchsbeschreibungen der Panelisten wird hier nicht berücksichtigt.

Zunächst wurden mit der HKA die Substanzen in einen zweidimensionalen Raum mit den Achsen F1 (35,82%) und F2 (19,45%) projiziert (vgl. Abbildung 9). Alkohole werden mit einem gelben, Ketone mit einem grünen, Ester mit einem roten, Alkene & Alkane mit einem blauen und die einzelnen Aldehyde, Säuren und Terpene mit einem lila Vektor gekennzeichnet. Die Kakaobohnen werden durch die blauen alleinstehenden Punkte ohne Vektoren dargestellt. Die Faktoren 1 und 2 bilden insgesamt lediglich 55,3% ab, wodurch valide Aussagen nur bedingt möglich sind.

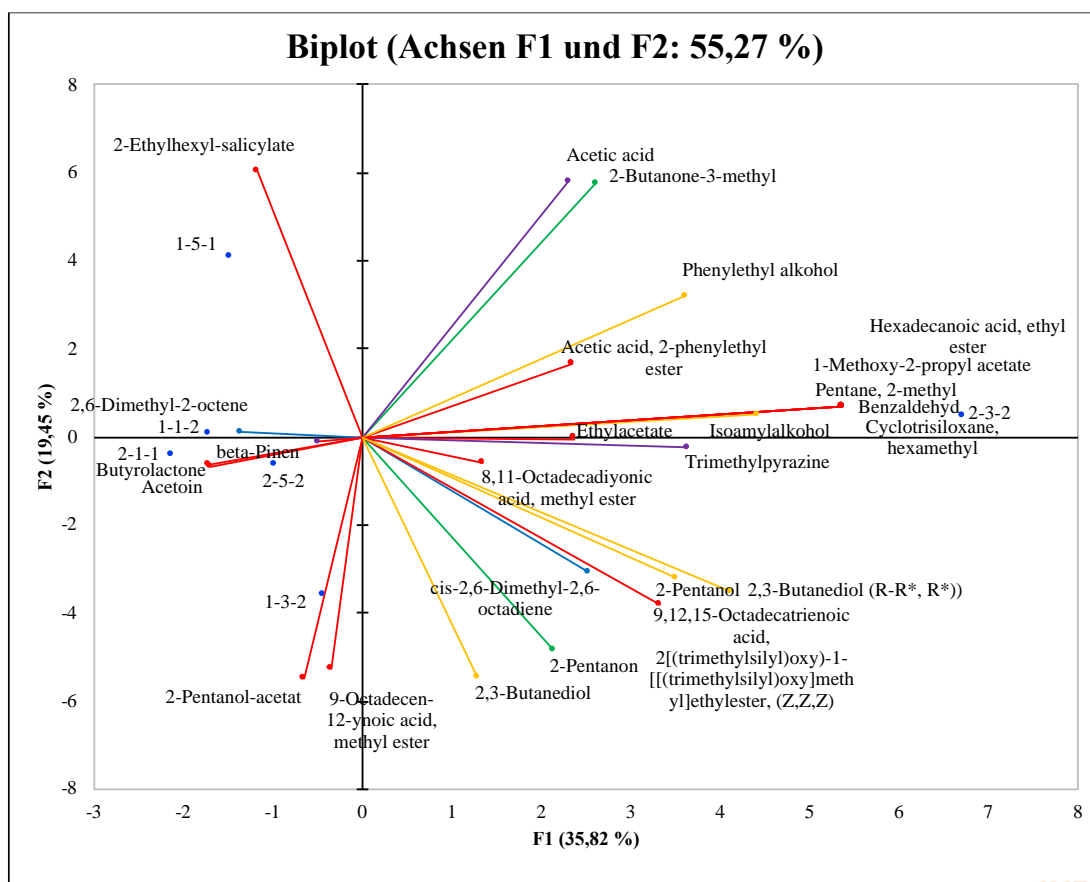


Abbildung 9: HKA der identifizierten aroma-aktiven Substanzen

Je weiter eine Substanz von einer Kakaobohne entfernt ist, desto weniger beschreibt sie sie und umgekehrt. Außerdem sind die Bohnen sich in den aroma-aktiven Substanzen ähnlicher, je näher sie einander sind. Es zeigt sich, dass sich die alle Bohnen, außer die der inokulierten Fermentation am zweiten Tag der Fermentation (2-3-2) sich in den aroma-aktiven Substanzen ähnlich sind, da sie sich alle im Negativbereich der F1-Achse befinden. Am ähnlichsten sind die Bohnen des Fermentationstages 0 beider Fermentationen.

Um weitere Informationen über signifikante Substanzen für die einzelnen Kakaobohnen zu erhalten, wurde eine Produktcharakterisierung durchgeführt. Zudem wurden mittels ANOVA die signifikant (Signifikanzniveau 95%) unterschiedlichen aroma-aktiven Substanzen berechnet (siehe Anhang 14). Es ergeben sich für alle Substanzen signifikante Unterschiede.

Tabelle 8 gibt Auskunft über positiv (grün) und negativ (grau) signifikant unterschiedliche (Signifikanzniveau 95%) aroma-aktive Substanzen für die jeweiligen Kakaobohnen durch die Produktcharakterisierung. Anhang 16 sind signifikante Unterschiede zwischen den Fermentationsarten der gleichen Fermentationstage zu entnehmen.

Tabelle 8: Positive und negative Signifikanzen der aroma-aktiven Substanzen je Kakaobohne

Substanz	1-1-2	1-3-2	1-5-1	2-1-1	2-3-2	2-5-2
	MW	MW	MW	MW	MW	MW
Pentane 2-methyl	0	0	0	0	5	0
2,6-Dimethyl-2-octene	6	0	0	0	0	0
cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	14	9	0	0	13	11
Ethylacetate	0	0	0	6	5	0
9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester	6	11	0	0	0	0
2-Pentanol-acetat	14	24	12	12	13	11
1-Methoxy-2-propyl acetate	0	0	0	0	10	0
Butyrolactone	0	0	0	12	0	0
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0	11	11	0	9	6
8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester	5	0	0	0	6	12
Hexadecanoic acid, ethyl ester	0	0	0	0	5	0
2-Ethylhexyl-salicylate	0	0	5	0	0	0
9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[[(trimethylsilyl)oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z)	0	6	8	5	8	8
2-Pentanon	5	27	8	20	21	11
2-Butanone-3-methyl	0	0	14	0	10	0
Acetoin	6	0	0	0	0	6
2-Pentanol	5	6	0	0	7	0
Isoamylalkohol	5	9	0	6	15	8
2,3-Butanediol	8	12	0	0	7	9
2,3-Butanediol (R-R*, R*)	0	20	0	0	18	0
Phenylethyl alkohol	8	8	13	0	15	6
β-Pinen	9	6	5	6	5	0
Trimethylpyrazine	0	0	0	0	5	5
Acetic acid	5	0	8	0	7	0
Benzaldehyd	0	0	0	0	5	0
Cyclotrisiloxane, hexamethyl	0	0	0	0	7	0

Für Tag 0 der spontanen Fermentation ergeben sich 2-Pentanol, cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene, Essigsäure, 2,3-Butanediol, 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester, β -Pinen, 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester, 2,6-Dimethyl-2-octene und Acetoin als positiv signifikant unterschiedliche aroma-aktive Substanzen im Vergleich aller Kakaobohnen. An Tag 0 der inokulierten Fermentation ergeben sich die positiv signifikanten Substanzen 2-Pentanon, Ethylacetat, β -Pinen und Butyrolactone. Im Vergleich beider Kakaobohnen werden bei der spontanen Fermentation cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene; 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester; 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester; Acetoin; 2-Pentanol; 2,3-Butanediol; Phenylethylalkohol; β -Pinen und Essigsäure signifikant stärker als in den inokuliert fermentierten Bohnen wahrgenommen. Für die inokulierte Fermentation ergibt sich Ethylacetate, Butyrolactone und 2-Pentanon signifikant stärker als in den Bohnen des gleichen Fermentationstages der spontanen Fermentation.

Am zweiten Tag Fermentation werden die Alkohole 2,3-Butanediol, 2,3-Butanediol (R-R*, R*) und 2-Pentanol; die drei Ester Acetic acid, 2-phenylethyl ester; 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester und 2-Pentanol-acetat; das Terpen β -Pinen und das Keton 2-Pentanon signifikant positiv wahrgenommen. Die Bohnen der inokulierten Fermentation zeigt am zweiten Tag die meisten signifikant positiv aroma-aktiven Substanzen: die Ester 1-Methoxy-2-propyl acetate; Hexadecanoic acid, ethyl ester; Acetic acid, 2-phenylethyl ester; 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z) und Ethylacetate. Außerdem die Alkohole Isoamylalkohol, 2-Pentanol, 2,3-Butanediol (R-R*, R*) und Phenylethylalkohol und die Ketone 2-Butanone-3-methyl und 2-Pentanon. Zudem Benzaldehyd, Essigsäure, Pentane 2-methyl, Trimethylpyrazine; Cyclotrisiloxane, hexamethyl und cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene. Es wurden die Substanzen Pentan 2-methyl; cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene; Cyclotrisiloxane, hexamethyl; Ethylacetate; 1-Methoxy-2-propyl acetate; 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester; Hexadecanoic acid, ethyl ester; 2-Butanone-3-methyl; 2-Pentanol; Isoamylalkohol; Phenylethylalkohol; Trimethylpyrazine; Essigsäure und Benzaldehyd in den Bohnen der inokulierten Fermentation im Vergleich zu den Bohnen der spontanen Fermentation am gleichen Fermentationstag signifikant stärker wahrgenommen. Dagegen werden die Substanzen 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester; 2-Pentanolacetate und 2,3-Butanediol in den spontan fermentierten Bohnen signifikant stärker wahrgenommen. Für die inokulierte Fermentation ergeben sich dadurch deutlich mehr signifikant stärker wahrgenommene Substanzen.

Am vierten Tag der spontanen Fermentation zeigen sich 2-Ethylhexyl-salicylate; 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z); Acetic acid, 2-phenylethyl ester; Essigsäure; 2-Butanone-3-methyl und Phenylethylalkohol als signifikant positive aroma-aktive Substanzen. Am vierten Tag der inokulierten Fermentation hingegen enthalten die Bohnen die signifikant positiven aroma-aktiven Substanzen

Trimethylpyrazine; cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene; 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl)oxy] methyl]ethylester, (Z,Z,Z); 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester; 2,3-Butanediol und Acetoin. Im direkten Vergleich der beiden Bohnen der unterschiedlichen Fermentation werden Acetic acid, 2-phenylethyl ester; 2-Ethylhexyl-salicylate; 2-Butanone-3-methyl; Phenylethylalkohol; β -Pinen und Essigsäure in den Bohnen der spontanen Fermentation signifikant stärker wahrgenommen. Dagegen werden cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene; 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester; Acetoin; Isoamylalkohol; 2,3-Butanediol und Trimethylpyrazin in den inokuliert fermentierten Bohnen signifikant stärker als in den spontan fermentierten Bohnen wahrgenommen.

5.3 Sensorische Geruchsprofile

Es wurden weiterhin die vom Panel genannten Geruchsattribute ausgewertet. Die statistische Auswertung erfolgte anhand des Flavor Score. Wenn ein Attribut in einem Durchlauf mehrmals genannt wurde, wurde davon zunächst der Mittelwert für die FI gebildet. Für die statistische Auswertung wurden nur Attribute verwendet, die mindestens einen FS von 5 und eine $DF \geq 2$ aufwiesen.

Um die Unterschiede in den jeweiligen Bohnen signifikant (Signifikanzniveau 95%) aufzuzeigen, wurde eine Produktcharakterisierung mit FS durchgeführt. Hierdurch konnten die für die jeweiligen Kakaobohnen zu den Tagen 0, 2 und 4 für die spontane und inokulierte Fermentation die in Tabelle 9 signifikanten (grün = positiv; grau = negativ) Attribute ermittelt werden.

Tabelle 9: Positive und negative Signifikanzen der Geruchsattribute je Kakaobohne

Attribut	1-1-2	1-3-2	1-5-1	2-1-1	2-3-2	2-5-2
	MW	MW	MW	MW	MW	MW
blumig	15	9	12	10	11	15
buttrig	12	15	12	15	15	10
erdig	7	15	8	0	10	7
frisch	10	13	12	0	8	8
fruchtig	11	17	9	0	10	8
grasig / grün	6	14	0	0	13	0
herb	0	12	12	0	14	11
kräuterig	14	14	9	8	10	10
künstlich / metallisch	12	0	0	0	6	0
malzig	0	5	0	0	9	0
muffig	8	10	12	0	0	10
nussig	0	0	11	8	9	8
ranzig	5	0	5	10	7	0
rauchig / röstig	0	6	0	9	9	0
seifig	13	0	6	0	7	13
stechend	14	9	7	0	0	0
streng	8	0	0	0	0	8

süßlich	13	15	11	17	18	12
unangenehm	13	0	6	12	11	12
vanillig	0	25	16	17	23	0
würzig	8	0	12	17	13	11
zitrus	0	10	6	0	10	6

An Tag 0 unterscheidet sich die spontan fermentierte Bohne in den Off-Flavor seifig, stechend, künstlich/metallisch, streng und unangenehm und in den erwünschten Attributen blumig und kräuterig signifikant positiv zu den anderen Bohnen. Signifikant negativ unterscheidet sie sich in den Attributen zitrus, vanillig, nussig, rauchig/röstig, malzig und herb. Am zweiten Tag der spontanen Fermentation sind im Vergleich innerhalb der Fermentationsart die meisten Attribute positiv signifikant unterschiedlich. Positiv signifikant ist dabei erdig, herb, malzig, muffig, rauchig/röstig, stechend, frisch, fruchtig, grasig/grün, kräuterig, vanillig und zitrus. Signifikant negativ sind würzig, unangenehm, streng, seifig, nussig, künstlich/metallisch und blumig. Am vierten Tag der spontanen Fermentation unterscheiden sich signifikant positiv die Attribute frisch, herb, muffig, nussig und stechend. Signifikant negativ sind unangenehm, streng, rauchig/röstig, malzig, künstlich/metallisch, grasig/grün und kräuterig.

An Tag 0 der inokulierten Fermentation ergeben sich die signifikant positiv unterschiedlichen Attribute nussig, vanillig, würzig, ranzig, rauchig/röstig und unangenehm. Signifikant negativ unterschiedlich sind sie für die erwünschten Attribute blumig, frisch, fruchtig, grasig/grün, kräuterig und zitrus und die unerwünschten Attribute erdig, herb, künstlich/metallisch, malzig, muffig, seifig, stechend und streng. Die Bohnen des zweiten Fermentationstages der inokulierten Fermentation besitzen die positiv signifikant unterschiedlichen erwünschten Attribute grasig/grün, nussig, süßlich, vanillig, würzig und zitrus und unerwünschten Attribute erdig, herb, künstlich/metallisch, malzig, ranzig, rauchig/röstig und unangenehm. Signifikant negativ sind sie für die beiden Off-Flavor stechend und streng. Am vierten Tag der inokulierten Fermentation ergeben sich die positiv signifikant unterschiedlichen Attribute blumig, nussig, herb, muffig, seifig, streng und unangenehm. Negativ signifikant unterscheiden sie sich in buttrig, vanillig, grasig/grün, künstlich/metallisch, ranzig, malzig, rauchig/röstig und stechend.

Abbildung 10 zeigt das sensorielle Profil der signifikant unterschiedlichen Geruchsattribute nach der ANOVA (s. Anhang 15). Es wird deutlich, dass die Bohnen sich in den signifikant unterschiedlichen Attributen etwa gleichermaßen unterscheiden.

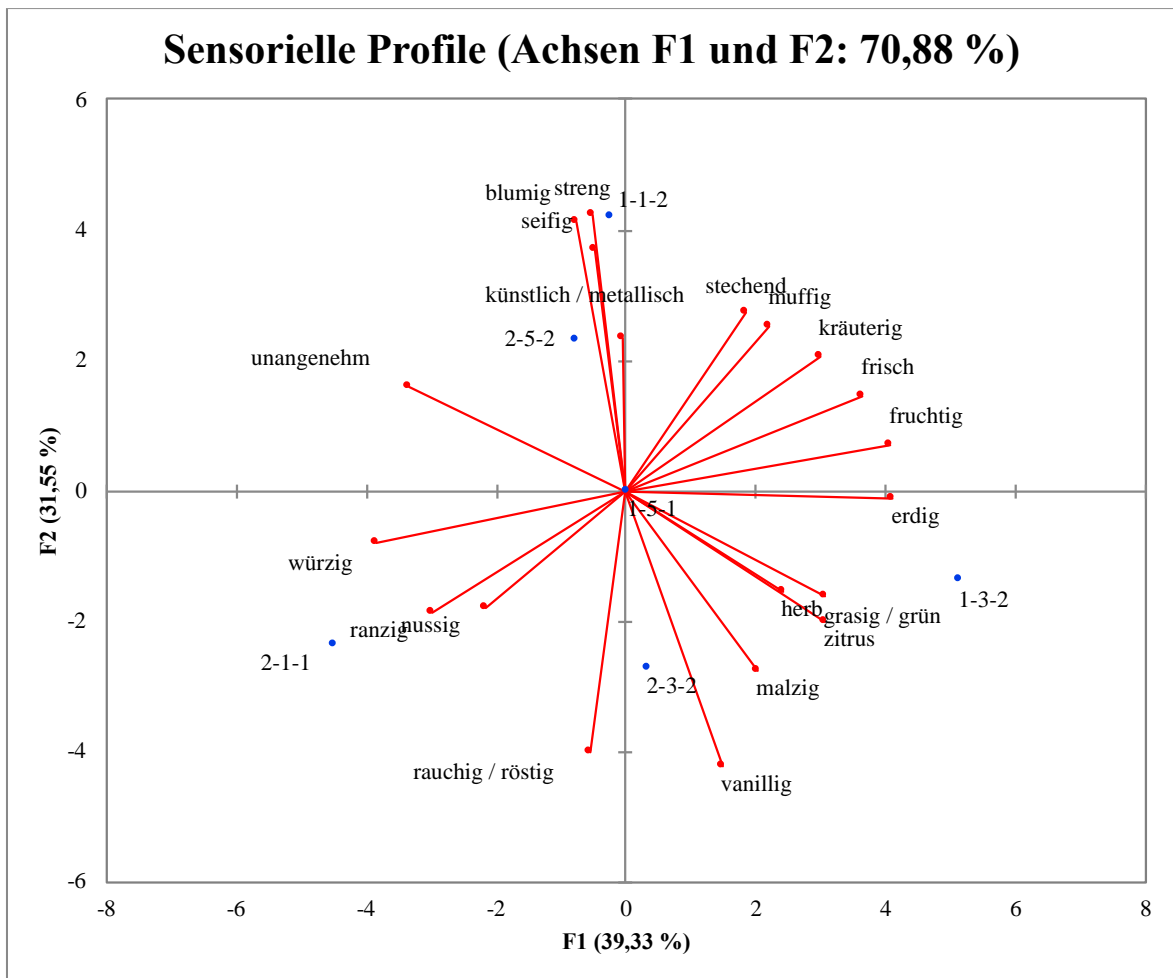


Abbildung 10: Sensorielle Profile mit signifikanten Attributen

Die Bohnen der spontanen Fermentation an Fermentationstag 0 und die der inokulierten Fermentation am vierten Tag sind sich am ähnlichsten. Die Bohnen der spontanen Fermentation am vierten Tag liegen in der Mitte, da die Vektoren der signifikanten Attribute jeweils gegenüberliegen (zum Beispiel herb und unangenehm).

Um die Unterschiede und Ähnlichkeiten der Bohnen der jeweiligen Fermentationsarten an den gleichen Tagen deutlicher zu erkennen, wurden sie mittels Spider-Web in Abbildung 11, Abbildung 12 und Abbildung 13 übersichtlich dargestellt. Die dazugehörigen Signifikanzen nach ANOVA sind Anhang 17 zu entnehmen.

Attribute an Tag 0 der Fermentation

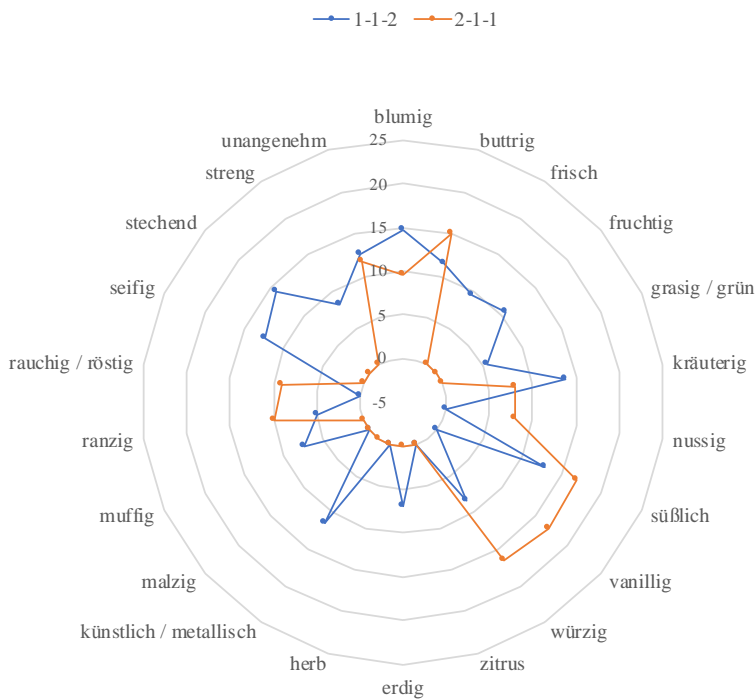


Abbildung 11: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 0

In Abbildung 11 sind die Bohnen beider Fermentationsarten des Fermentationstags 0 in nebeneinandergestellt. In den erwünschten Attributen, die auf der rechten Seite des Netzes dargestellt sind, zeigt sich, dass in den erwünschten Attributen die spontan fermentierten Bohnen blumig, frisch, kräuterig, fruchtig und grasig/grün im Vergleich zu den inokulierten Bohnen signifikant stärker wahrgenommen wurde. Im Gegensatz dazu werden nussig, würzig und vanillig in den inokulierten Bohnen signifikant stärker eingestuft. Für die Attribute buttrig, süßlich und zitrus ergeben sich hingegen keine signifikanten Unterschiede. Die linke Seite des Netzes gibt die Off-Flavor der Bohnen an. Dabei ergeben sich für die Bohnen der inokulierten Fermentation deutlich weniger unerwünschte Geruchsattribute. Ranzig und rauchig/röstig werden signifikant stärker in den inokulierten Bohnen wahrgenommen. Für unangenehm, malzig und herb ergeben sich aufgrund derselben Werte keine signifikanten Unterschiede. Die Off-Flavor seifig, streng, stechend, muffig, künstlich/metallisch und erdig werden in den spontan fermentierten Bohnen signifikant stärker wahrgenommen.

Attribute an Tag 2 der Fermentation

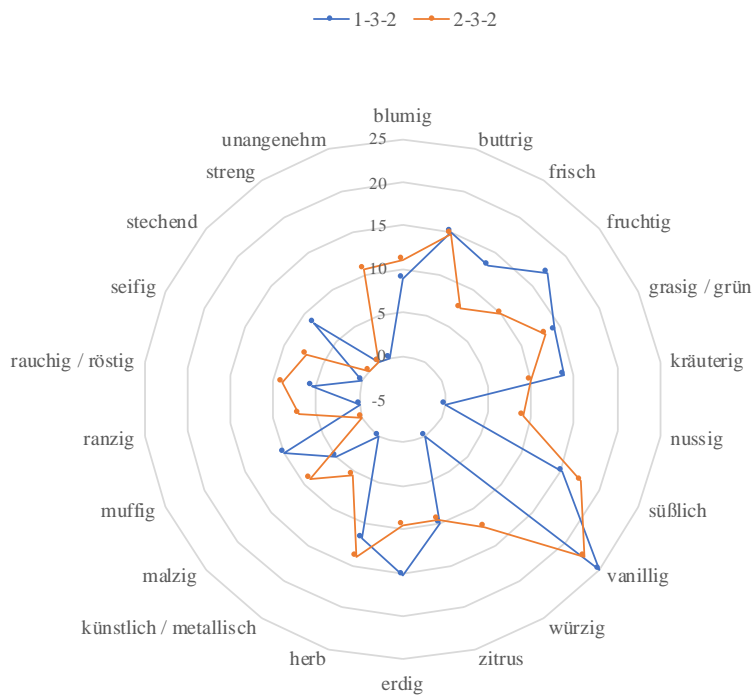


Abbildung 12: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 2

Der Vergleich der sensorische Geruchsprofile des Fermentationstages 2 ergibt, dass dies Bohnen die meisten signifikant positiv unterschiedlichen Attribute aufweisen. In Abbildung 12 werden die beiden Geruchsprofile veranschaulicht. Hierbei fällt auf, dass die Bohnen der inokulierten Fermentation alle erwünschten Attribute aufweisen, wohingegen den spontan fermentierten Bohnen die Attribute nussig und würzig fehlen. Die Attribute frisch und fruchtig werden in den spontan fermentierten Bohnen signifikant stärker wahrgenommen. Für blumig, buttrig, zitrus, grasig/grün, kräuterig, süßlich und vanillig ergeben sich für die beiden Bohnen kein signifikanter Unterschied. Für nussig und würzig ergibt sich für die inokulierten Bohnen eine signifikant stärkere Geruchswahrnehmung. Die Vergleiche der Off-Flavor ergeben signifikant stärkere Wahrnehmungen für die Attribute unangenehm, seifig, rauchig/röstig, ranzig und malzig bei den inokuliert fermentierten Bohnen. Dagegen sind die Off-Flavor stechend, muffig und erdig in den spontan fermentierten Bohnen signifikant stärker ausgeprägt. Keine signifikanten Unterschiede zeigen die Ausprägungen herb und streng.

Attribute an Tag 4 der Fermentation

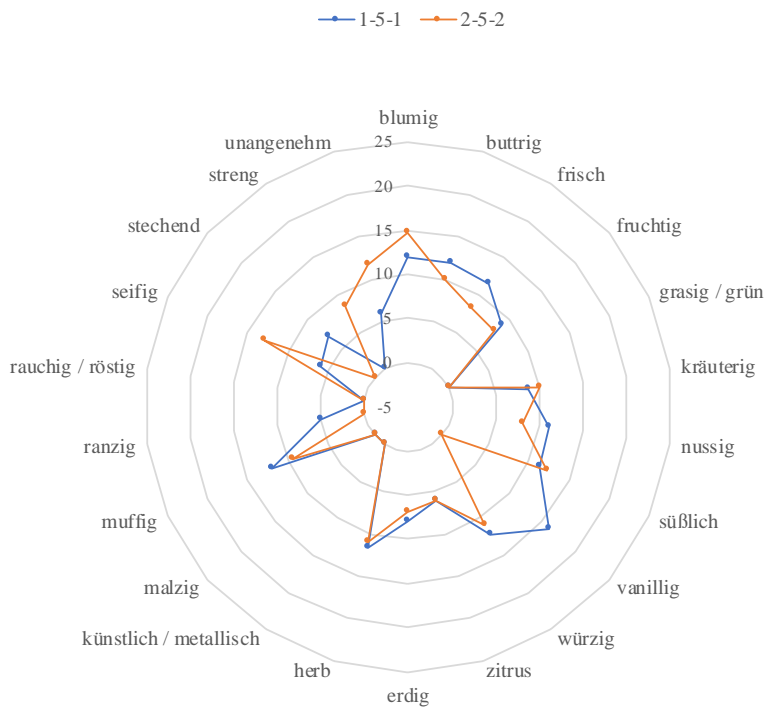


Abbildung 13: Geruchsattribute beider Fermentationsarten an Tag 4

Abbildung 13 zeigt die Attribute beider Fermentationsarten am vierten Fermentationstag. Die Bohnen der spontanen Fermentation werden signifikant stärker in den erwünschten Attributen vanillig, frisch und nussig und den Off-Flavor ranzig und stechend wahrgenommen. Dagegen werden die Bohnen der inokulierten Fermentation nur in Off-Flavor signifikant stärker wahrgenommen: unangenehm, streng und seifig. Für die anderen Attribute ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bohnen.

6 Diskussion

Die HS-SPME-GC-MS/O-Methode stellt eine analytische Methode mit vielen Vorteilen (vgl. 2.3) dar. Da sich die Panelisten am Sniffing-Port während eines Durchlaufs am Sniffing-Port abwechseln konnten, wurde einer Ermüdung des olfaktorischen Systems vorgebeugt werden (vgl. 2.1). Es konnte dennoch zu einem Konzentrationsverlust kommen, wenn viele Substanzen zeitnah aufeinander aus der Säule austraten und die Panelisten gefordert waren, in sehr kurzen Abständen viele Wahrnehmungen zu beschreiben. Durch schnell aufeinanderfolgende Geruchseindrücke kam es zu einem erschwerten Vergleich der Angaben der Panelisten mit dem Chromatogramm, da eine Zuordnung zu einem Peak meist nicht möglich war. Auch Überlagerungen der Peaks sind möglich, wodurch eine Auswertung zusätzlich erschwert wurde. Durch eine weitere Anpassung der Heizraten der GC-Säule können die aufgefallenen Überlagerungen verhindert werden.

Außerdem enthalten Kakaobohnen sehr flüchtige Substanzen wie Linalool, die beim Vorbereiten der Bohnen verdampfen können, sodass diese bei der Analyse nicht oder in zu geringen Konzentrationen im Vial vorhanden sind (Frauendorfer und Schieberle, 2008, S. 10249). Zudem ist bei der GC-MS/O-Kopplung die Verknüpfung zwischen den Aussagen der Panelisten und den detektierten Substanzen der GC oftmals nicht möglich. Dies kann zum einen an Stoffkonzentrationen liegen, die vom Panelisten wahrgenommen werden, die allerdings zu gering sind, um vom GC/MS detektiert zu werden. Zum anderen bietet der Aufbau des MS mit einem Quadrupol (vgl. 2.3) eine zu geringe Trennleistung, um Substanzen mit höheren Wahrscheinlichkeiten zu identifizieren. Weiterhin ist eine exakte Übereinstimmung der Retentionszeit und dem vom Panelisten angegebenen Zeitpunkt der Wahrnehmung meist nicht gegeben. Dies kann sowohl substanzabhängig als auch auf eine verzögerte Antwort der Panelisten zurückzuführen sein.

Eine weitere Messunsicherheit ist durch die Analyse mittels Panels gegeben. Der olfaktorische Sinn ist von sowohl von Prüfperson zu Prüfperson individuell ausgeprägt als auch tagesformabhängig. Durch die Schulung der Prüfpersonen wurden diese mit Hilfe verschiedener Substanzen auf die erwarteten kakaospezifischen Geruchseindrücke vorbereitet. So wurde ein einheitlicher Wortschatz aufgebaut. Dennoch ist die olfaktorische Wahrnehmung individuell und exakt reproduzierbare Aussagen nur mit jahrelanger und ausgiebiger Schulung möglich. Eine monetäre Entschädigung wäre zusätzlich zu den gegebenen Motivationsanreizen sinnvoll, um einen eine differenzierte Schulung mit mehreren wöchentlichen Terminen zu realisieren. Es wurde darauf geachtet, die Prüfpersonen nicht auszulasten und gleichzeitig wurde eine regelmäßige Teilnahme angestrebt.

Alle erfassten Substanzen der Arbeit sind aroma-aktiv. Die Kombination dieser bildet den Gesamteindruck der Kakaobohnen. Dennoch lässt sich mit der gewählten Analyse keine endgültige Aussage über den Gesamteindruck darstellen, da die Kombination mehrerer aroma-aktiver Substanzen anders wahrgenommen wird als die einzelnen Stoffe. Es ist jedoch davon auszugehen, dass Attribute, die stärker eingestuft wurden, das Gesamtaroma stärker beeinflussen, als diejenigen, die schwächer wahrgenommen wurden. Für die Auswertung wurde der Flavor Score aus der Geruchsintensität und der Detektionshäufigkeit berechnet. Jeder Kakaobohnen-Typ wurde sechs Mal analysiert (vgl. 4.2), sodass die Nutzung des Mittelwertes sinnvoll erscheint.

Mit Hilfe des Flavor Scores konnten sowohl die aroma-aktiven Substanzen als auch die Geruchsattribute berechnet und so verglichen werden. Wenn Geruchsattribute bei einem Durchlauf mehr als einmal angegeben wurden, wurde der Mittelwert aus den Intensitäten gebildet. Für Attribute, die viele Male genannt wurden, könnte der Einfluss des Attributs auf den Gesamteindruck durch den Mittelwert der Intensitäten verfälscht werden.

Die für die theoretischen Grundlagen herangezogene Literatur setzt sich aus Büchern, kakaospezifischen Paper und DIN-Normen zusammen. Für die Recherche der Kakaobohnen-

Analyse wurden auf Paper, Dissertationen und Studien zurückgegriffen. Auch zwei Masterarbeiten und eine Dissertation vom selben Department (HAW Hamburg Ökotrophologie) wurden verwendet, da hier dieselben Analysegeräte verwendet wurden. Aus der Dissertation von PETERSEN (Petersen, 2013) wurde das Konzept des Flavor Scores übernommen. Zudem wurde die HS-SPME-GC-MS-Methode in einem Scientific Project von TRABER (Traber, 2018) für die Analysen der Kakaobohnen erarbeitet.

Insgesamt wurden 57 aroma-aktive Substanzen anhand der Kriterien (vgl. 5.1) ermittelt, von denen 26 identifiziert wurden. Die identifizierten Substanzen entsprechen den Erwartungen aus der Literatur.

Cyclotrisiloxane, hexamethyl wurde in der Analyse der Kakaopulpa und Kakaonibs von RATPRAKHON (Ratprakhon, 2014) als aroma-aktive Substanz wahrgenommen. Allerdings wurde die Substanz bei RATPRAKHON als blumig, süßlich, chemisch und hier als muffig, unangenehm und herb wahrgenommen. Ethylacetat wurde bereits in den Untersuchungen von SOBOTTA (Sobotta, 2018) und RODRIGUEZ-CAMPOS (Rodriguez-Campos et al., 2011) in Kakaobohnen detektiert. 2-Pentanon konnte bisher in vielen Studien in Kakaobohnen nachgewiesen werden (Kadow et al., 2013; Ratprakhon, 2014; Sobotta, 2018; Oberparleiter und Ziegleder, 1997; Rodriguez-Campos et al., 2011). Dabei wurde der Stoff in den Analysen ebenfalls als süß und vanillig beschrieben. Das Alken 2,6-Dimethyl-2-octene konnte bisher ebenfalls als aroma-aktive Substanz in Kakaobohnen erkannt werden. Mit den Attributen frisch, erdig, streng und herb durch die geschulten Panelisten dieser Arbeit wird die Substanz in den anderen Studien eher als süßlich, fruchtig, vanillig beschrieben (Ratprakhon, 2014; Sobotta, 2018). 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester wurde bisher nicht als aroma-aktive, sondern als volatile Substanz identifiziert (Ratprakhon, 2014).

2-Pentanol-acetat konnte ebenfalls bereits in vorherigen Studien als aroma-aktive Substanz in Kakaobohnen mit den Attributen süßlich, blumig und etwas metallisch identifiziert werden (Ratprakhon, 2014; Kadow et al., 2013). Diese Attribute entsprechen den Angaben der Panelisten dieser Auswertung. Auch cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene wurde von RATPRAKHON als aroma-aktive Substanz in Kakaonibs detektiert und teilweise mit den gleichen Attributen (fruchtig und blumig) beschrieben.

Der Alkohol Isoamylalkohol und Essigsäure wurden in allen verglichenen Studien als volatiler Stoff detektiert (de Brito et al., 2001; Ducki et al., 2008; Jinap, Dimick und Hollender, 1995; Kadow et al., 2013; Oberparleiter und Ziegleder, 1997; Rodriguez-Campos et al., 2011; Rohan, 1964; Sobotta, 2018; Ratprakhon, 2014; Frauendorfer und Schieberle, 2008; Ho, Zhao und Fleet, 2014). Isoamylalkohol wurde in den verglichenen Studien als Banane, schokoladig, malzig, aber auch blumig und nussig beschrieben (Counet et al., 2002; Sobotta, 2018; Rodriguez-Campos et al., 2011). Im Vergleich dazu wurde die Substanz in dieser Arbeit für die Bohnen der spontanen Fermentation

mit den erwünschten Attributen süßlich, fruchtig, vanillig, blumig und frisch beschrieben. Bei der inokulierten Fermentation hingegen wird eine Mischung aus erwünschten Aromen und Off Flavors (würzig, unangenehm, blumig, essigsauer, kräuterig, herb, würzig und fruchtig) wahrgenommen. Das Verhältnis zwischen Methyl-1-butanol und 3-Methyl-2-butanol zeigt außerdem den Fermentationsgrad an (vgl. 2.2.3). Da nur Isoamylalkohol als aroma-aktive Substanz wahrgenommen wurde, kann mittels Verhältnisabgleich mit 3-Methylbutanol (vgl. 2.2.3) keine Aussage über den Fermentationsgrad vorgenommen werden.

Acetoin wird in RATPRAKHONS GC/O-Analyse vom Panel mit den Attributen erdig, unreif, grün, süßlich und vanillig beschrieben (Ratprakhon 2014), wohingegen das Panel dieser Arbeit die Substanz als süßlich, fruchtig, streng, nussig und blumig wahrnimmt.

Als einziges Pyrazin wurde Trimethylpyrazine wahrgenommen. Das Pyrazin findet sich auch in den Studien von RATPRAKHON und SOBOTTA als aroma-aktive Substanz wieder. Zudem wurde es in weiteren Studien ohne GC/O-Analyse als volatiler Stoff detektiert (Ratprakhon, 2014; Sobotta, 2018; Rodriguez-Campos et al., 2011; Hashim et al., 1998; Counet et al., 2002; Frauendorfer und Schieberle, 2008; Ho, Zhao und Fleet, 2014). Trimethylpyrazin wird bei RATPRAKHON entgegen der Literaturangaben als blumig, süßlich, erdig und chemisch wahrgenommen (Ratprakhon, 2014). Süßlich wurde bei dieser Arbeit ebenfalls für die Substanz angegeben. Zudem wurde sie noch ähnlich den Literaturangaben als kräuterig, herb, cremig, Sellerie, unangenehm und ranzig angegeben (Afoakwa, 2012, S. 81; Rodriguez-Campos et al., 2011, S. 253). Es ist möglich, dass sich die zu erwartenden weiteren Pyrazine am letzten Tag der Fermentation als aroma-aktiv herausstellen. Weiterhin ist denkbar, dass die Stoffe in keiner ausreichenden Konzentration vorliegen, um wahrgenommen zu werden.

Benzaldehyd wurde in dieser Arbeit als süßlich, zitrus und erdig beschrieben. In weiteren Studien wurde Benzaldehyd als volatile, aber nicht als aroma-aktive Substanz detektiert (Counet et al., 2002; Oberparleiter und Ziegleder, 1997). Der Alkohol 2,3-Butanediol wurde in den Studien von RATPRAKHON und RODRIGUEZ-CAMPOS ebenfalls detektiert (Ratprakhon, 2014; Rodriguez-Campos et al., 2011). Die Panelisten bei RATPRAKHON beschreiben die Substanz als blumig, süßlich, wachsig und leicht stechend, wobei sie in dieser Arbeit überwiegend als Off-Flavor muffig, essigsauer, holzig, grün, erdig, rauchig, seifig und würzig, zugleich als blumig, kräuterig und fruchtig charakterisiert wird. Widersprüchlich wird 2,3-Butanediol von AFOAKWA (Afoakwa, 2012) als unerwünschte Substanz beschrieben, von APROTOSOAIIE hingegen mit der Beschreibung von süßlicher Schokolade angegeben (Aprotosoaiie, Luca und Miron, 2016, S. 80). Des Weiteren werden 1-Methoxy-2-propyl acetate und Butyrolactone bei RATPRAKHON (Ratprakhon, 2014) als detektierte volatile Substanz, jedoch nicht als aroma-aktiv angegeben. Ein weiterer Alkohol wurde mit Phenylethylalkohol detektiert, so auch in den Studien von RATPRAKHON, SOBOTTA und RODRIGUEZ-CAMPOS detektiert (Ratprakhon, 2014; Sobotta, 2018; Rodriguez-Campos et al., 2011). Die Substanz wurde in dieser

Arbeit als kräuterig, stechend, streng, metallisch, würzig, herb, grasig, rauchig, grün, muffig, süßlich, blumig, frisch, zitrus, künstlich und seifig; bei SOBOTTA (Sobotta 2018) als rauchig, verbrannt, holzig, vanillig, blumig, süßlich, fruchtig und nach Heu beschrieben. Die Angaben stimmen zum großen Teil überein und setzen sich sowohl aus Off-Flavor wie auch erwünschten Attributen zusammen.

Die aroma-aktiven Substanzen Acetic acid, 2-phenylethyl ester; β -Pinen; 8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester; 2,3-Butanediol (R-R*, R*); Hexadecanoic acid, ethyl ester; 2-Ethylhexyl-salicylate und 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z) wurden in keiner der untersuchten Studien bisher als volatiler Stoff in Kakaobohnen detektiert. Auch 2-Methylpentan und 2-Butanone-3-methyl wurden bisher in keiner der untersuchten Kakao-Studien als volatile Substanz in Kakaobohnen vermerkt.

Bei Betrachtung der identifizierten aroma-aktiven Substanzen (vgl. 5.1) fällt auf, dass Ethylacetat und Trimethylpyrazine nur in den Bohnen der inokulierten Fermentation als aroma-aktiv wahrgenommen wird. Da Trimethylpyrazin zu den wichtigsten aromagebenden Substanzen zählt (vgl. 2.2.3), wird das Fehlen in den spontan fermentierten Bohnen als Defekt gesehen. Allerdings ist es wie bereits beschrieben möglich, dass weitere Pyrazine zu einem späteren Zeitpunkt der Fermentation entstehen. 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester wird dagegen nur in den Bohnen der spontanen Fermentation wahrgenommen. Da keine Literaturvergleiche bezüglich der Geruchsbeschreibung vorliegen und die vom Panel abgegebenen Attribute mit unangenehm, frisch und würzig nicht eindeutig erwünscht oder unerwünscht waren, ist eine Abschätzung zu dieser Substanz nicht direkt möglich.

Wie in 2.2.3 beschrieben, können während der Fermentation Substanzen entstehen, die mit unerwünschten Attributen wahrgenommen werden. Dazu zählen Säure, Polyphenole und Amylacetate. Mit Ausnahme der erwarteten Essigsäure sind keine der unerwünschten Substanzen aroma-aktiv aufgefallen.

Auffällig ist, dass bei den positiv signifikant unterschiedlichen Attributen neben den nicht identifizierten Substanzen überwiegend Trimethylpyrazine, Phenylethylalkohol und 2,3-Butanediol als Off-Flavor wahrgenommen wurden (vgl. Tabelle 9; Anhang 13). Die Substanzen gelten nach APROTOSOAIE ET AL. (Aprotosoie, Luca und Miron, 2016, S. 80) als aromagebende Substanzen für Kakaobohnen oder -butter. Die vom Panel abgegebenen Attribute unterscheiden sich für Phenylethylalkohol von den Literaturangaben (blumig, honigartig) (Aprotosoie, Luca und Miron, 2016, S. 80). Da einzelne Stoffe anders wahrgenommen werden als in Kombination mit anderen Substanzen, müssen Substanzen mit unerwünschten Attributen keinen negativen Effekt auf das Gesamtaroma haben.

Die Entwicklung der Geruchsattribute bei beiden Fermentationsarten erfährt am zweiten Fermentationstag einen Peak. Bei der spontanen Fermentation sind süßlich, vanillig, frisch, fruchtig, grasig/grün und zitrus hier am stärksten ausgeprägt. Bei der inokulierten Fermentation sind dies am zweiten Fermentationstag vanillig, grasig/grün, nussig, süßlich und zitrus. Werden nur die drei Chuncho-typischen Attribute nussig, blumig und fruchtig (Salazar, 2017) betrachtet, fällt auf, dass die spontan fermentierten Bohnen negativ signifikant blumig und einen FS von 0 für nussig erhalten. Für das Attribut fruchtig hingegen sind sie positiv signifikant unterschiedlich. Im Vergleich dazu sind die inokulierten Bohnen in den Attributen nussig positiv signifikant unterschiedlich. Für blumig und fruchtig zeigen sich keine Signifikanzen. Für keine der sechs untersuchten Bohnen sind alle drei der typischen Attribute positiv signifikant. Für Fermentationstag 0 und 2 ergeben sich beim direkten Vergleich viele signifikante Unterschiede in den Attributen. Am vierten Tag hingegen unterscheiden sie sich in nur acht Attribute, wohingegen es an Tag 2 noch 14 waren.

Für Kakaobohnen der Chuncho-Sorte ergibt sich anhand der Ergebnisse kein eindeutiges Bild einer verbesserten Aromaentwicklung durch den Einsatz der zugesetzten Hefe. Für die jeweils verglichenen Fermentationstage fallen Unterschiede auf, es ergibt sich jedoch kein einheitliches Bild einer Verschlechterung oder Verbesserung. Die Unterschiede zwischen den Substanzen und Geruchsattributen der Fermentationsarten können an weiteren Faktoren liegen. So können die Bohnen und die Pulpa durch das beim Aufbrechen der Früchte und Umfüllen der Bohnen während der Fermentation in Kontakt mit unterschiedlichen Bakterien kommen, wodurch diese stark beeinflusst wird (vgl. 2.2.3). Außerdem ist ein erheblicher Faktor der Aromaentwicklung die Reife der Früchte und die Zusammensetzung der Bohnen und der Pulpa. Zudem ist es möglich, dass die aroma-aktiven Substanzen in den untersuchten Kakaobohnen vorhanden sind, allerdings konzentrationsbedingt nicht oder nicht ausreichend wahrgenommen wurden. Zudem ist eine Analyse des letzten Fermentationstages notwendig, um Aussagen über den Verlauf der gesamten Fermentation treffen zu können und eine Empfehlung für die Fermentationsdauer und den Einsatz der Hefen zu geben.

Die statistischen Methoden ANOVA, HKA und Produktcharakterisierung zeigen auf verschiedene Arten die Unterschiede und Ähnlichkeiten der jeweiligen Kakaobohnen (vgl. 4.3). Bei den statistischen Verfahren handelt es sich um gängige Methoden, die sich für die durchgeführte Analyse bewährt haben (Ratprakhon, 2014; Sobotta, 2018). Mittels HKA ist es möglich, die identifizierten aroma-aktiven Substanzen übersichtlich im zweidimensionalen Raum darzustellen. Durch die statistische Methode, die der HKA zugrunde liegt, geben die Faktoren jedoch nur mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit das exakte Ergebnis wieder. Die in den Ergebnissen dargestellten Wahrscheinlichkeiten lassen nur bedingt aussagekräftige Folgerungen zu. Für weitere Analysen sollte im Vorfeld die Möglichkeit erörtert werden, nur bestimmte Stoffgruppen miteinzubeziehen und die HKA nur auf eine Auswahl an Substanzen anzuwenden. Das gilt ebenfalls für die ANOVA

und das sensorielle Profil aus der Produktcharakterisierung, da sich hier ebenfalls signifikante Unterschiede für eine Vielzahl an Substanzen bzw. Attributen ergeben.

7 Fazit

Der Einfluss der Hefestämme Zymaflore® X5 auf die Nacherntebehandlung, insbesondere die Fermentation, lässt sich anhand der vorliegenden Arbeit nicht abschließend klären. Dennoch zeigt die durchgeführte Analyse von aroma-flüchtigen Komponenten in Kakaobohnen anhand der genutzten HS-SPME-GC-MS/O-Methode Anhaltspunkte und Optimierungsmöglichkeiten für weitere Untersuchungen auf. So wäre beispielsweise die Betrachtung des letzten Fermentationstages sinnvoll, um einen vollständigen Verlauf der aroma-aktiven Substanzen und Geruchsattribute abzubilden. Weiterhin wäre die Betrachtung von Fermentationen mit verschiedenen Inokulationen interessant, um den Einfluss veränderter Hefezusammensetzungen auf die Aromabildung des Chuncho-Kakao zu beobachten. Aufgrund des Eintrags weiterer Mikroorganismen durch die genutzten Bananenblätter sowie die mögliche Kontamination der Fermentationsmasse beim Umfüllen durch Werkzeuge oder ähnliches sind keine kontrollierbaren und reproduzierbaren Prozessbedingungen gegeben. Der Einfluss von Starterkulturen wird bei CRAFT ET AL. bei einer ähnlichen Untersuchung auf weniger relevant als die Fermentationshandhabung geschätzt (Craft, et al., 2014).

Um eine Analyse aller volatilen und gegebenenfalls aroma-aktiven Substanzen vorzunehmen zu können, wäre der Einsatz von Markersubstanzen oder weiteren Identifizierungsmaßnahmen notwendig. Um neben den qualitativen Daten auch quantitative Aussagen treffen zu können, wäre ein Aufschluss über die Konzentrationen der Substanzen hilfreich. So könnten beispielsweise der Fermentationsgrad und weitere Aromavorstufen ermittelt werden

Um repräsentativere Ergebnisse zu erhalten, kann die Anzahl der Prüfpersonen beziehungsweise die der Durchläufe pro Kakaobohne erhöht werden. Dadurch bekäme der Flavor Score eine aussagekräftigere Skala und Unterschiede wären besser analysierbarer. Eine Erhöhung der Panelgröße bzw. der Durchläufe könnte allerdings auch Nachteile für weitere Untersuchungen mit sich bringen. Da der Flavor Score quantitativ nicht begrenzt ist, kann aufgrund der Abhängigkeit von Skalenbreite und Anzahl der Messwiederholung nicht direkt zwischen Studien verglichen werden.

Zudem ist die Analyse des gesamten Flavors inklusive gustatorischem und olfaktorischem Gesamteindruck ohne analytische Trennung der Substanzen für eine Aussage über Gefallen oder Missfallen der Bohnen notwendig, da dies dem üblichen Verzehr entspricht.

Zusammenfassung

Das Ziel der Arbeit ist die Analyse von Chuncho-Kakaobohnen, die sowohl spontan als auch durch Hefestämme inokuliert fermentiert wurden. Hierfür wurde ein Panel aufgebaut, das kakao- und methodenspezifisch geschult wurde. Die Bohnen werden sowohl zwischen den Fermentationsarten verglichen sowie einer Analyse der jeweiligen Fermentationsverläufe unterzogen. Die Untersuchung der Kakaobohnen erfolgt anhand einer HS-SPME-GC-MS/O-Methode, die auf der Verknüpfung zwischen einer analytischen Auswertung (GS-MS) und einer sensorischen Beurteilung (GC/O) beruht. Für die Analyse werden die aroma-aktiven Substanzen der Kakaobohne und die vom Panel abgegebenen Geruchseinschätzungen verwendet. Die statistische Auswertung erfolgt anhand des Flavor Scores sowie mittels Hauptkomponentenanalyse, ANOVA und Produktcharakterisierung. Insgesamt wurden 57 aroma-aktive Substanzen in den analysierten Kakaobohnen ermittelt, von denen 26 identifiziert werden konnten. Zwischen den Fermentationsarten zeigen sich zu den jeweiligen Fermentationstagen sowohl Unterschiede als auch Ähnlichkeiten in den aroma-aktiven Substanzen und den wahrgenommenen Geruchsattributen durch die Panelisten. Es zeigt sich jedoch keine verbesserte Entwicklung des Aromas für alle Fermentationstage. Beide Fermentationsarten zeigen am zweiten Tag der Fermentation ein erhöhter Flavor Score von aroma-aktiven Substanzen und in den Ausprägungen der Geruchsattribute.

Abstract

The aim of the work is the analysis of chuncho cocoa beans which have been fermented both spontaneously and inoculated by yeast strains. For this purpose, a panel was set up which was trained specifically for cocoa and methods. The beans are compared both between the fermentation types and subjected to an analysis of the respective fermentation processes. The analysis of the cocoa beans is carried out using an HS-SPME-GC-MS/O method, which is based on the combination of an analytical evaluation (GS-MS) and a sensory evaluation (GC/O). For the analysis the aroma-active substances of the cocoa bean and the odour description and intensity given by the panel are used. The statistical evaluation is based on the flavor score as well as principal component analysis, ANOVA and product characterization. A total of 57 aroma-active substances were detected in the analyzed cocoa beans, of which 26 could be identified. The panelists found differences and similarities in the aroma-active substances and the perceived odour attributes between the fermentation types on the respective fermentation days. However, there is no improved development of the aroma for all fermentation days. Both fermentation types show an increased flavor score of aroma-active substances and attributes on the second day of fermentation.

Literaturverzeichnis

- Acree, T., & Arn, H. (o. J.). Flavornet. Abgerufen 2. April 2019, von Flavornet by Terry Acree & Heinrich website: <http://flavornet.org/flavornet.html>
- Addinsoft (Hrsg.). (o. J.). *XLSTAT 2019*.
- Afoakwa, E. O. (2012). Chocolate and Cocoa, Flavor and Quality. In John Wiley & Sons, Inc. (Hrsg.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview: Flavor chemistry of cocoa *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2008). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie: Mit 634 Tabellen* (Sechste, vollständig überarbeitete Auflage). Berlin Heidelberg: Springer.
- Budzikiewicz, H., & Schäfer, M. (2010). *Massenspektrometrie: Eine Einführung* (5., vollst. überarb. und aktualisierte Aufl., Nachdr.). Weinheim: Wiley-VCH.
- Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. *Verordnung über Kakao- und Schokoladenerzeugnisse.*, (2003).
- Busch-Stockfisch, M. (Hrsg.). (2002). *Praxishandbuch Sensorik: In der Produktentwicklung und Qualitätssicherung*. Hamburg: Behr.
- Cocoa of Excellence. (2017). *Elements of harmonized international standards for cocoa quality and flavour assessment*.
- Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., & Collin, S. (2002). Use of Gas Chromatography–Olfactometry To Identify Key Odorant Compounds in Dark Chocolate. Comparison of Samples before and after Conching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2385–2391.
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., ... Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, 63, 306–316.
- Czerny, M., Christlbauer, M., Christlbauer, M., Fischer, A., Granvogl, M., Hammer, M., ... Schieberle, P. (2008). Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology*, 228(2), 265–273.
- de Brito, E. S., Garcia, N. H. P., Gallo, M., Cortelazzo, A. L., Fevereiro, P. S., & Braga, M. R. (2001). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 281–288.
- Delahunty, C. M., Eyres, G., & Dufour, J.-P. (2006). Gas chromatography-olfactometry. *Journal of Separation Science*, 29(14), 2107–2125.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (2012). *DIN 10950:2012-10, Sensorische Prüfung_- Allgemeine Grundlagen*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (Hrsg.). (2016). *DIN EN ISO 5495:2016-10, Sensorische Analyse—Prüfverfahren—Paarweise Vergleichsprüfung (ISO 5495:2016)*. Beuth Verlag GmbH.

- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-a). *DIN 10964:2014-11, Sensorische Prüfverfahren_- Einfach beschreibende Prüfung*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-b). *DIN 10964:2014-11, Sensorische Prüfverfahren_- Einfach beschreibende Prüfung*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-c). *DIN EN ISO 4120:2007-10, Sensorische Analyse_- Prüfverfahren_- Dreiecksprüfung (ISO_4120:2004); Deutsche Fassung EN_ISO_4120:2007*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-d). *DIN EN ISO 8586:2014-05, Sensorische Analyse_- Allgemeiner Leitfaden für die Auswahl, Schulung und Überprüfung ausgewählter Prüfer und Sensoriker (ISO_8586:2012); Deutsche Fassung EN_ISO_8586:2014*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-e). *DIN EN ISO 8589:2014-10, Sensorische Analyse_- Allgemeiner Leitfaden für die Gestaltung von Prüfräumen (ISO_8589:2007_+ Amd_1:2014); Deutsche Fassung EN_ISO_8589:2010_+ A1:2014*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-f). *DIN EN ISO 10399:2018-04, Sensorische Analyse_- Prüfverfahren_- Duo-Trio-Prüfung (ISO_10399:2017); Deutsche Fassung EN_ISO_10399:2018*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-g). *DIN ISO 3972:2013-12, Sensorische Analyse_- Methodologie_- Bestimmung der Geschmacksempfindlichkeit (ISO_3972:2011_+_Cor._1:2012)*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e. V. (o. J.-h). *DIN ISO 8587:2010-08, Sensorische Analyse_- Prüfverfahren_- Rangordnungsprüfung (ISO_8587:2006)*. Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e.V. (o. J.). *DIN EN ISO 5492:2009-12, Sensorische Analyse_- Vokabular (ISO_5492:2008); Mehrsprachige Fassung EN_ISO_5492:2009*. Beuth Verlag GmbH.
- Ducki, S., Miralles-Garcia, J., Zumbé, A., Tornero, A., & Storey, D. M. (2008). Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. *Talanta*, 74(5), 1166–1174.
- Eskes, A., Rodriguez, Cruz Condori, D., Seguíne, E., Garcia, C. L., & Lachenaud, P. (2018). *Large genetic diversity for fine-flavor traits unveiled in cacao (Theobroma cacao L.) with special attention to the native Chuncho variety in Cusco, Peru*.
- Fincke, H. (1965). *Handbuch der Kakaoerzeugnisse* (A. Fincke, Hrsg.). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (2016). *Quality improved raw cocoa and cocoa-based products with flavour profiles on demand—From farm to chocolate bar (CocoaChain)*.
- Frauendorfer, F., & Schieberle, P. (2008). Changes in Key Aroma Compounds of Criollo Cocoa Beans During Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10244–10251.
- Frings, S. (2001). Chemolectrical signal transduction in olfactory sensory neurons of air-breathing vertebrates. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(4), 510–519.
- Hashim, P., Selamat, J., Syed Muhammad, S. K., & Ali, A. (1998). Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(4), 535–542.

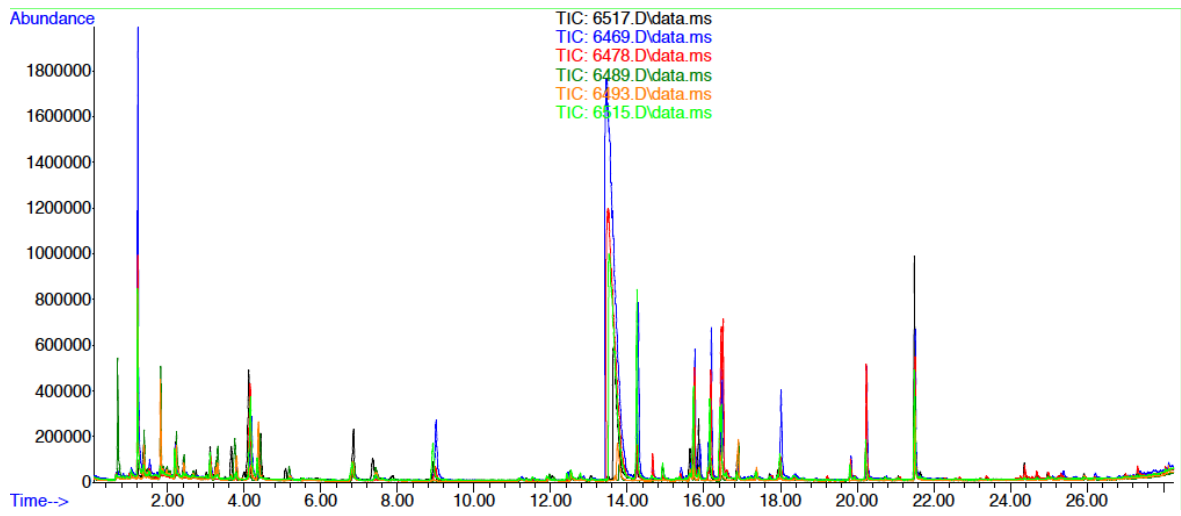
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72–87.
- Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung. (o. J.). Abgerufen 1. August 2019, von GESTIS - Stoffdatenbank website: <https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp>
- Januszczyńska, R. (2018). *Hidden persuaders in cocoa and chocolate: A flavor lexicon for cocoa and chocolate sensory professionals*. Duxford, United Kingdom Cambridge, MA Kidlington: Woodhead Publishing, an imprint of Elsevier.
- Jinap, S., Dimick, P. S., & Hollender, R. (1995). Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control*, 6(2), 105–110.
- Kadow, D., Bohlmann, J., Phillips, W., & Lieberei, R. (2013). Identification of main fine or flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*; 86; 90-98.
- Kroschwitz, J. I., & Seidel, A. (Hrsg.). (2004). *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology* (5th ed). Hoboken, N.J: Wiley-Interscience.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices* (2nd ed). New York: Springer.
- Legrum, W. (2011). *Riechstoffe, zwischen Gestank und Duft: Vorkommen, Eigenschaften und Anwendung von Riechstoffen und deren Gemischen* (1. Aufl). Wiesbaden: Vieweg + Teubner.
- Majchrzak, D., & Schlinter-Maltan, C. (2018). *Die sensorische Fachsprache: Nachschlagewerk für die qualitativen und quantitativen Aspekte von Lebensmitteln*. Wiesbaden: Springer Spektrum.
- medinform GmbH. (2019, August 8). Medinform. Abgerufen von <https://kurse.medinform.ch/1550738001796.html>
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory evaluation techniques* (4th ed). Boca Raton: Taylor & Francis.
- Næs, T., Brockhoff, P. B., & Tomić, O. (2010). *Statistics for sensory and consumer science*. Chichester, West Sussex: Wiley.
- Oberparleiter, S., & Ziegleder, G. (1997). Amyl alcohols as compounds indicative of raw cocoa bean quality. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 204(2), 156–160.
- Ohloff, G. (1990). *Riechstoffe und Geruchssinn: Die molekulare Welt der Düfte*. Berlin: Springer.
- Otto, M. (2011). *Analytische Chemie* (4. überarbeitete und ergänzte Auflage). Weinheim: Wiley-VCH.
- Petersen. (2013). *Analytische Beurteilung des Erhitzungseinflusses auf die oxidative Stabilität von neuartigen Speiseölen*. Jena.
- Plutowska, B., & Wardencki, W. (2008). Application of gas chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. *Food Chemistry*, 107(1), 449–463.
- Quadt, A., Schönberger, S., & Schwarz, M. (2011). *Statistische Auswertungen in der Sensorik: Leitfaden für die Praxis* (1. Aufl., korr. Nachdr). Hamburg: Behr.

- Ratprakhon, K. (2014). Charakterisierung der Fruchtpulpa definierter Kakao-Genotypen (*Theobroma cacao* L.) mittels HS-SPME-GC-MS/O und sensorischen Verfahren.
- Rissom, A. K. (2011). *Der Einfluss von Riechtraining auf das Riechvermögen von Anosmikern und Hyposmikern sowie von gesunden Probanden*.
- Rodriguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H. B., Orozco-Avila, I., Lugo-Cervantes, E., & Jaramillo-Flores, M. E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*, 44(1), 250–258.
- Rohan, T. A. (1964). The Precursors of Chocolate Aroma: A Comparative Study of Fermented and Unfermented Cocoa Beans. *Journal of Food Science*, 29(4), 456–459.
- Rosenvald, S. (2017). *Application of gas chromatography-olfactometry (GC-O) and correlation with sensory analysis =: Gaaskromatograaf-olfaktomeetri (GC-O) rakendusvõimalused ja korreleerimine sensoorse analüüsiga*. Tallinn: TTÜ Press.
- Salazar Alvarez. (2017). *AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE THEOBROMA CACAO L. DE LA VARIEDAD "CHUNCHO" OBTENIDA EN CUZCO, PERÚ*.
- Sobotta, F. (2018). *Precursors of chocolate aroma – flavour profile comparisons of traditionally fermented cocoa and cocoa beans from fermentation-like incubation by means of HS-SPME-GC-MS-O* (Master's Thesis). HAW Hamburg, Berliner Tor 5, 20099 Hamburg.
- Stoll, Lina. (2010). *Biochemische Indikatoren für Keimung und Fermentation in Samen von Kakao (Theobroma cacao L.)*. Universität Hamburg, Hamburg.
- The Good Scents Company. (o. J.). Abgerufen von <http://www.thegoodscentscompany.com/index.html>
- Traber. (2018). *Methodenentwicklung für die Analyse von Kakaomassen mittels HS-SPME-GC-MS/GC-O*.
- Ziegleder, G. (2004). Kakao und Schokolade. In R. Heiss (Hrsg.), *Lebensmitteltechnologie* (S. 429–440). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Ziegleder, Gottfried. (2017). Flavour development in cocoa and chocolate. In S. T. Beckett, M. S. Fowler, & G. R. Ziegler (Hrsg.), *Beckett's Industrial Chocolate Manufacture and Use* (S. 185–215). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Anhang

Anhang 1: Chromatogramm (Überlagerung der Chromatogramme aller analysierten Bohnen)	i
Anhang 2: Geruchserkennungssprüfung - Prüfbogen	ii
Anhang 3: Paarweise Vergleichsprüfung- Prüfbogen.....	iii
Anhang 4: Dreieckstest- Prüfbogen	iv
Anhang 5: Duo-Trio-Test- Prüfbogen.....	v
Anhang 6: Rangordnungsprüfung - Prüfbogen.....	vi
Anhang 7: Schwellenprüfung - Prüfbogen.....	vii
Anhang 8: Einfach beschreibende Prüfung - Prüfbogen.....	viii
Anhang 9: Geruchsmemory - Prüfbogen	ix
Anhang 10: Skalentraining I - Prüfbogen	x
Anhang 11: Skalentraining II - Prüfbogen.....	xi
Anhang 12: Massen Kakao-Bohnen	xii
Anhang 13: Originaldaten aus GC-MS/O-Analyse	xiii
Anhang 14: ANOVA aller Kakaobohnen für aroma-aktive Substanzen (grün = signifikant)	xxx
Anhang 15: ANOVA aller Kakaobohnen für Geruchsattribute (grün = signifikant)	xxxi
Anhang 16: Signifikante Unterschiede der aroma-aktiven Substanzen an gleichen Fermentationstagen und unterschiedlichen Fermentationen (ANOVA) (grün = signifikant unterschiedlich)	xxxii
Anhang 17: Signifikante Unterschiede der Attribute an gleichen Fermentationstagen und unterschiedlichen Fermentationen (ANOVA) (grün = signifikant unterschiedlich)	xxxiii

Anhang 1: Chromatogramm (Überlagerung der Chromatogramme aller analysierten Bohnen)



Anhang 2: Geruchserkennungsprüfung - Prüfbogen

Geruchserkennungsprüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Prüfen Sie die vorgelegten Riechstreifen und versuchen Sie den Geruch zu erkennen und dem dazugehörigen Attribut zuzuordnen. Tragen Sie die Proben-Nr. in die dazugehörige Zelle ein.

Zur Neutralisation des Geruchs stehen Kaffeebohnen bereit.

Beschreibung des Geruchs	Proben-Nr.	Substanz
blumig, citrus	β -Linalool
Banane, Eisbonbon	iso-Amylacetat
Champignon	1-Octen-3-ol
erdig, schimmelig	Borneol
Kokos	δ -Nonalacton
muffig, gewürzartig, pfeffrig	β -Myrcen
Nagellackentferner, Ananas	Ethylacetat

Paarweise Vergleichsprüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Ihnen liegen **fünf** Probenpaare vor. Vergleichen Sie die Probenpaare durch sniffen und finden die intensivere Probe. Die dreistellige Zufallszahl der entsprechenden Probe ist in die Spalte "Antwort-Probe" mit Geruchsbeschreibung einzutragen.

Zur Neutralisation stehen Kaffeebohnen bereit.

Frage: Welche Probe riecht intensiver?

Prüf-Nr.	Probenpaar	Antwort-Probe	Beschreibung
1	433 / 477	
2	166 / 133	
3	711 / 744	
4	911 / 900	
5	855 / 899	

Anhang 4: Dreieckstest- Prüfbogen

Dreiecksprüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Ihnen liegen **vier** Probensätze mit je drei Proben vor.

Vergleichen Sie die Proben durch sniffen und finden die jeweils abweichende Probe. Die dreistellige Zufallszahl der entsprechenden Probe ist in die Spalte "Antwort-Probe" mit einer Beschreibung der Abweichung (schwächer/stärker) einzutragen.

Zur Neutralisation stehen Kaffeebohnen bereit.

Frage: Welche Probe weicht ab?

Prüf-Nr.	Probenpaar	Antwort-Probe	Beschreibung
1	901 / 902 / 903	
2	101 / 102 / 103	
3	401 / 402 / 403	
4	601 / 602 / 603	

Duo-Trio-Test - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Ihnen liegen **vier** Probensätze mit je drei Proben vor. Dabei ist eine die Referenzprobe R.

Vergleichen Sie die Proben durch sniffen und finden die Probe aus den dazugehörigen, die der Referenz R entspricht.

Zur Neutralisation stehen Kaffeebohnen bereit.

Frage: Welche Probe entspricht der Referenz?

Prüf-Nr.	Probenpaar	Antwort-Probe	Beschreibung
1	R1 111 / 112		
2	R2 211 / 212		
3	R3 311 / 312		
4	R4 411 / 412		

Rangordnungsprüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Es sind Riechstreifen mit unterschiedlicher Geruchsintensität in eine Rangfolge zu bringen.

Bitte tragen Sie die entsprechenden Prüfproben-Nummern aufsteigend von der geringsten zur höchsten Intensität in die Felder der jeweiligen Geruchsattribute ein.

Rückkosten ist erlaubt. Zur Neutralisation des Geruchs stehen Kaffeebohnen bereit.

Nagellackentferner, fruchtig			
geringste Intensität		größte Intensität	
→			

Blumig, fruchtig			
geringste Intensität		größte Intensität	
→			

Muffig, gewürzartig, pfeffrig			
geringste Intensität		größte Intensität	
→			

Geruchsschwellenprüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Mit diesem Test wird herausgefunden, ab welcher Konzentration Sie die Gerüche

Tannennadel & Bittermandel/Kirsche erkennen können.

Sie erhalten eine Konzentrationsreihe mit Proben. Die Proben sind in steigender Konzentration angeordnet.

Beginnen Sie bitte mit Probe 0 (neutral/Wasser) und setzen Sie die Prüfung (ohne Rückkriechen) in der vorgegebenen Reihenfolge fort.

0 Sie haben keinen Geruchseindruck, die Probe riecht neutral (wie 0 = Wasser).

? Sie stellen eine Veränderung zu Probe 0 fest, können den Geruch aber nicht definieren.

X Sie haben den Geruch erkannt (Beschreibung dazuschreiben).

XX Der Geruch ist im Vergleich zur vorhergehenden Probe stärker geworden.

XXX Fügen Sie bitte bei jedem stärker werden der Konzentration ein Kreuz hinzu.

Reihenfolge	0	I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6
Antwort (0, ?, X, XX etc.)	0						
Beschreibung							

Reihenfolge	0	II-1	II-2	II-3	II-4	II-5	II-6
Antwort (0, ?, X, XX etc.)	0						
Beschreibung							

Anhang 8: Einfach beschreibende Prüfung - Prüfbogen

Einfach beschreibende Prüfung - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Prüfen Sie die vorgelegten Riechstreifen und versuchen Sie den Geruch in möglichst präzisen Attributen zu beschreiben. Tragen Sie die Proben-Nr. in die dazugehörige Zelle ein.

Zur Neutralisation des Geruchs stehen Kaffeebohnen bereit.

Proben-Nr.	Beschreibung des Geruchs
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	

Anhang 9: Geruchsmemory - Prüfbogen

Geruchsmemory - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Auf dem Prüfplatz befinden sich 10 Röhrchen mit unterschiedlichen Riechstreifen. Darunter befinden sich 5 Paare. Versuchen Sie die zueinander gehörenden Paare zu erkennen, zuzuordnen und zu beschreiben.

Zur Neutralisation stehen Kaffeebohnen bereit.

Probenpaar	Beschreibung
/	
/	
/	
/	
/	

Anhang 10: Skalentraining I - Prüfbogen

Intensitätsübung I - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Es sind Riechstreifen mit unterschiedlicher Geruchsintensität auf einer 5-Punkte-Skala einzustufen.

Zur Neutralisation des Geruchs stehen Kaffeebohnen bereit.

Proben-Nr.	Beschreibung	1	2	3	4	5
		Schwach/ schwer	etwas	Mittel/klar	ziemlich	Sehr/eindeutig
226	Kirsch Mandel					
238	Kirsch Mandel					
782	Muffig					
772	Muffig					
184	Blumig Citrus					
135	Blumig Citrus					
375	Acetonähnlich fruchtig					
303	Acetonähnlich fruchtig					
952	Fruchtig Seifig frisch					
964	Fruchtig Seifig frisch					
467	Kräuter Citrus-fruchtig					
425	Kräuter Citrus-fruchtig					

Anhang 11: Skalentraining II - Prüfbogen

Intensitätsprüfung II - Prüfbogen

Name, Vorname:

Platznummer:

Datum:

Es sind Riechstreifen mit unterschiedlicher Geruchsintensität auf einer 5-Punkte-Skala einzustufen.

Zur Neutralisation des Geruchs stehen Kaffeebohnen bereit.

Proben-Nr.	Beschreibung	1	2	3	4	5
		Schwach/ schwer	etwas	Mittel/klar	ziemlich	Sehr/eindeutig

Anhang 12: Massen Kakao-Bohnen

Kakaobohnen-Parameter: Jahr 2018 – Auftrag im System – Fermentation 1 – Fermentationstag (n-1) – Probenahmerohr – Analysenart im Projekt – Vial-Nr.

<i>Probe</i>	<i>Masse [g]</i>
<i>18-00038-1-1-2-3 I</i>	<i>2,07750</i>
<i>18-00038-1-1-2-3 II</i>	<i>2,01985</i>
<i>18-00038-1-1-2-3 III</i>	<i>2,03692</i>
<i>18-00038-2-1-1-3 I</i>	<i>2,01029</i>
<i>18-00038-2-1-1-3 II</i>	<i>2,01073</i>
<i>18-00038-2-1-1-3 III</i>	<i>2,01423</i>
<i>18-00038-1-3-2-3 I</i>	<i>2,03002</i>
<i>18-00038-1-3-2-3 II</i>	<i>2,01682</i>
<i>18-00038-1-3-2-3 III</i>	<i>2,02881</i>
<i>18-00038-2-3-2-3 I</i>	<i>2,00585</i>
<i>18-00038-2-3-2-3 II</i>	<i>2.01013</i>
<i>18-00038-2-3-2-3 III</i>	<i>2,02258</i>
<i>18-00038-1-5-1-3 I</i>	<i>2,04229</i>
<i>18-00038-1-5-1-3 II</i>	<i>2,03945</i>
<i>18-00038-1-5-1-3 III</i>	<i>2,0499</i>
<i>18-00038-2-5-2-3 I</i>	<i>2,00736</i>
<i>18-00038-2-5-2-3 II</i>	<i>2,00605</i>
<i>18-00038-2-5-2-3 III</i>	<i>2,02428</i>

Anhang 13: Originaldaten aus GC-MS/O-Analyse

RT [min]	Wahr- s. [%]	Stoff	1-1-2				1-3-2				1-5-1				2-1-1				2-3-2				2-5-2			
			DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung	DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung	DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung	DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung	DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung	DF	FI	<u>FS</u>	Beschreibung
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	streng			-		1	2,0	<u>2</u>	fruchtig süßlich	1	2,0	<u>2</u>	muffig	1	2,0	<u>2</u>	kräuterig	1	2	<u>2</u>	malzig
		n.i.			-			-				-				-			1	2,0	<u>2</u>	buttrig			-	
0,89	45,8	2-Pentan, 2-methyl	2	2,0	<u>4</u>	würzig seifig	1	1,0	<u>1</u>	unangenehm			-		2	2,0	<u>4</u>	buttrig süßlich	2	2,5	<u>5</u>	fruchtig buttrig			-	
1,04	78,8	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	1	2,0	<u>2</u>	blumig frisch	1	1,0	<u>1</u>	muffig unangenehm	2	2,0	<u>4</u>	muffig zitrus	1	2,0	<u>2</u>	nussig würzig	3	2,3	<u>7</u>	ranzig buttrig	1	2	<u>2</u>	ranzig
		n.i.			-			-				-				-			1	2,0	<u>2</u>	herb			-	
1,22	93,5	Ethylacetate			-			-				-		3	2,0	<u>6</u>	süßlich blumig seifig	2	2,5	<u>5</u>	unangenehm würzig			-		
1,40	19,3	Octane, 2,6-methyl	1	2,0	<u>2</u>	süßlich			-			-				-			1	3,0	<u>3</u>	buttrig			-	
1,60		n.i.			-		1	2,0	<u>2</u>	unangenehm stechend muffig			-			-					-			-		
1,82	89,4	2-Pentanon	2	2,5	<u>5</u>	würzig nussig kräuterig vanillig	6	4,5	<u>27</u>	fruchtig vanillig Erdbeere süßlich milchig buttrig	3	2,7	<u>8</u>	süßlich buttrig fruchtig	6	3,3	<u>20</u>	künstlich süßlich vanillig kräuterig frisch buttrig	5	4,2	<u>21</u>	vanillig süßlich fruchtig künstlich	3	3,7	<u>11</u>	süßlich fruchtig vanillig buttrig

2,00	45,0	2-Butanone-3-methyl			-				4	3,3	<u>13</u>	vannilig süßlich buttrig blumig				2	5,0	<u>10</u>	vanillig süßlich			-					
2,22	23,0	2,6-Dimethyl-2-octene	3	2,0	<u>6</u>	frisch erdig streng herb							1	3,0	<u>3</u>	vanillig				1	2	<u>2</u>	süßlich				
2,26	75,6	Acetic acid, 2-methylpropylester			-												1	5,0	<u>5</u>	nussig karamellig süßlich			-				
		n.i.			-				1	2,0	<u>2</u>	süßlich					2	3,0	<u>6</u>	grün frisch süßlich			-				
		n.i.			-												1	3,0	<u>3</u>	kräuterig frisch			-				
2,65	18,5	9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester	2	2,0	<u>4</u>	würzig unange nehm frisch	3	3,7	<u>11</u>	grün zitrus süßlich vanillig buttrig	1	1,0	<u>1</u>	fruchtig	1	3,0	<u>3</u>	süßlich	2	2,0	<u>4</u>	blumig zitrus	1	2	<u>2</u>	süßlich	
2,89	13,7	3-Penten-2-ol	2	2,0	<u>4</u>	süßlich frisch erdig fruchtig														2	2,0	<u>4</u>	buttrig süßlich vanillig			-	

3,12	72,1	2-Pentanol- acetat	4	3,5	<u>14</u>	blumig süßlich künstlich fruchtig	6	4,0	<u>24</u>	fruchtig süßlich grün zitrus frisch	6	2,0	<u>12</u>	fruchtig unangen ehm muffig nussig süßlich	6	2,7	<u>16</u>	süßlich künstlich blumig buttrig vanillig	4	3,3	<u>13</u>	blumig fruchtig buttrig süßlich zitrus	5	2,2	<u>11</u>	süßlich seifig kräuterig grasig buttrig		
3,20	12,4	Isocamphane			-				-		1	1,0	<u>1</u>	würzig			-											
3,30	44,7	cis-2,6- Dimethyl-2,6- octadiene	5	2,8	<u>14</u>	seifig buttrig blumig ranzig unange nehm muffig	2	4,5	<u>9</u>	fruchtig süßlich Erdbeere	2	2,0	<u>4</u>	muffig zitrus herb	2	2,0	<u>4</u>	fruchtig Blaubeer e	4	3,3	<u>13</u>	fruchtig Blaube ere blumig künstlich	4	2,8	<u>11</u>	süßlich frisch grasig ranzig		
		n.i.			-				-		2	2,5	<u>5</u>	süßlich künstlich frisch			-		2	3,5	<u>7</u>	würzig vanillig unange nehm						
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	würzig kräuterig buttrig			-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	röstig						
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	seifig			-				-				-											
		n.i.			-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	buttrig							1	3	<u>3</u>	unang enehm
4,25	81,5	1-Butanol, 3- methyl acetate			-		1	2,0	<u>2</u>	süßlich fruchtig			-				-		3	1,3	<u>4</u>	erdig frisch zitrus malzig						
		n.i.			-				-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	nussig						

4,40	71,0	2-Pentanol	2	2,5	<u>5</u>	seifig süßlich künstlich	3	2,0	<u>6</u>	erdig kräuterig sauerlich künstlich unangenehm	1	1,0	<u>1</u>	süßlich künstlich fruchtig	1	2,0	<u>2</u>	muffig	3	2,3	<u>7</u>	künstlich unangenehm kräuterig	-			
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	nussig fruchtig			-				-				-		2	3,0	<u>6</u>	würzig süßlich grün kräuterig	1	2	<u>2</u>	süßlich buttrig
5,30	34,4	beta-Pinen	4	2,3	<u>9</u>	würzig ranzig rauchig erdig streng	3	2,0	<u>6</u>	süßlich zitrus fruchtig	2	2,5	<u>5</u>	frisch würzig	3	2,0	<u>6</u>	muffig buttrig würzig	2	2,5	<u>5</u>	blumig kräuterig	1	3	<u>3</u>	grasig
		n.i.			-		1	2,0	<u>2</u>	fruchtig Erdbeere			-		2	2,0	<u>4</u>	kräuterig nussig	1	1,0	<u>1</u>	seifig zitrus	1	2	<u>2</u>	unangenehm
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	seifig stechend	1	2,0	<u>2</u>	pilzig			-		3	2,3	<u>7</u>	seifig unangenehm ranzig	1	2,0	<u>2</u>	muffig	2	2,5	<u>5</u>	frisch
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	kräuterig würzig			-		1	1,0	<u>1</u>	-	1	2,0	<u>2</u>	nussig			-				-	
		n.i.			-				-				-		1	4,0	<u>4</u>	unangenehm			-				-	
		n.i.			-		2	2,0	<u>4</u>	fruchtig süßlich zitrus	1	1,0	<u>1</u>	-			-		1	1,0	<u>1</u>	nussig			-	

		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	unange nehm		-			-			-		1	2,0	<u>2</u>	unange nehm		-						
6,83	55,0	Isoamylalkohol	2	2,5	<u>5</u>	süßlich fruchtig	5	1,8	<u>9</u>	vanillig süßlich blumig frisch fruchtig	1	1,0	<u>1</u>	-	2	3,0	<u>6</u>	würzig	5	3,0	<u>15</u>	unange nehm blumig essigsä uer kräuter ig herb würzig	3	2,7	<u>8</u>	fruchtig unangenehm	
		n.i.			-			-				-						-					1	3	<u>3</u>	nussig	
		n.i.			-			-			2	2,0	<u>4</u>	würzig blumig			-									-	
7,35	16,3	beta-Ocimene	2	2,0	<u>4</u>	buttrig süßlich chemisch	1	1,0	<u>1</u>	fruchtig süßlich			-				-									-	
7,58	9,3	3-Carene	1	2,0	<u>2</u>	buttrig			-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	holzig erdig				-	
		n.i.			-			-					-		3	2,0	<u>6</u>	buttrig herb süßlich						1	2	<u>2</u>	fruchtig
		n.i.			-		1	1,0	<u>1</u>	malzig röstig			-				-									-	
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	rauchig würzig			-		1	1,0	<u>1</u>	würzig	2	3,0	<u>6</u>	kräuterig unangenehm ranzig	1	2,0	<u>2</u>	seifig süßlich	1	2	<u>2</u>	buttrig	
		n.i.			-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	buttrig	1	2,0	<u>2</u>	erdig	1	2	<u>2</u>	würzig	
		n.i.			-				-				-				-		1	3,0	<u>3</u>	malzig				-	

9,02	65,4	Acetoin	2	3,0	<u>6</u>	süßlich fruchtig streng süßlich				1	2,0	<u>2</u>	nussig				2	2,0	<u>4</u>	nussig süßlich	2	3	<u>6</u>	blumig	
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	kräuterig								1	3,0	<u>3</u>	süßlich								
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	süßlich seifig	1	1,0	<u>1</u>	kräuterig muffig				1	2,0	<u>2</u>	buttrig	1	2,0	<u>2</u>	muffig				
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	süßlich fruchtig								2	2,0	<u>4</u>	ranzig würzig	2	2,0	<u>4</u>	blumig frisch zitrus kräuterig	2	2	<u>4</u>	muffig buttrig
		n.i.			-									2	3,0	<u>6</u>	muffig würzig	1	2,0	<u>2</u>	muffig				
		n.i.	2	3,0	<u>6</u>	erdig streng schweißig																			
		n.i.			-					1	1,0	<u>1</u>	süßlich	3	2,0	<u>6</u>	buttrig rauchig unangenehm stechend	1	1,0	<u>1</u>	kräuterig frisch	1	2	<u>2</u>	streng
		n.i.			-					2	2,0	<u>4</u>	frisch fruchtig	1	2,0	<u>2</u>	ranzig	1	3,0	<u>3</u>	vanillig				
		n.i.	2	2,5	<u>5</u>	kräuterig streng süßlich												1	2,0	<u>2</u>	seifig	1	2	<u>2</u>	muffig herb

		n.i.			-			-			-			-			-			1	2	<u>2</u>	kräuterig		
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	unangenehm stechend streng		-			-		1	2,0	<u>2</u>	blumig	2	2,0	<u>4</u>	süßlich buttrig chemisch			-		
		n.i.	4	2,3	<u>9</u>	seifig buttrig würzig		-			-		2	2,5	<u>5</u>	unangenehm ranzig würzig	2	2,0	<u>4</u>	zitrus kräuterig frisch	1	2	<u>2</u>	frisch	
		n.i.			-			-			-				-			-					-		
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	süßlich		-		1	1,0	<u>1</u>	kräuterig		-			-		1	3,0	<u>3</u>	seifig süßlich zitrus		
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	kräuterig		-		1	1,0	<u>1</u>	fruchtig	1	2,0	<u>2</u>	süßlich	1	2,0	<u>2</u>	muffig	2	2	<u>4</u>	nussig buttrig süßlich
		n.i.			-			-			-			1	2,0	<u>2</u>	nussig	1	2,0	<u>2</u>	buttrig			-	
		n.i.			-			-			-				-			-			2	2,5	<u>5</u>	stechend frisch zitronig	
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	würzig herb blumig		-			-				-			-		1	2,0	<u>2</u>	seifig süßlich zitrus		
		n.i.			-			-			-				-			-			1	2	<u>2</u>	unangenehm	

12,4 5	42,1	3-Hydroxy-2-butanone, acetate	2	2,0	<u>4</u>	ranzig unangenehm frisch würzig				1	1,0	<u>1</u>	-	2	2,0	<u>4</u>	fruchtig zitrus	2	2,0	<u>4</u>	zitrus blumig kräuterig			-		
		n.i.			-							-		1	4,0	<u>4</u>	würzig			-		1	2	<u>2</u>	blumig	
12,7 8	13,8	Trimethylpyrazine	1	4,0	<u>4</u>	streng stechend				1	1,0	<u>1</u>	herb			-		3	1,7	<u>5</u>	kräuterig süßlich herb cremig	2	2,5	<u>5</u>	Sellerie unangenehm ranzig	
		n.i.			-					1	1,0	<u>1</u>	süßlich			-				-				-		
		n.i.			-							-		1	3,0	<u>3</u>	würzig			-				-		
		n.i.			-		2	2,0	<u>4</u>	herb nussig cremig			-			-				-				-		
13,6 0	85,0	Acetic acid	2	2,5	<u>5</u>	streng stechend muffig	1	1,0	<u>1</u>	süßlich	3	2,7	<u>8</u>	süßlich blumig	2	2,0	<u>4</u>	buttrig muffig	3	2,3	<u>7</u>	kräuterig süßlich seifig herb	1	2	<u>2</u>	streng
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	frisch blumig			-			-		1	2,0	<u>2</u>	nussig			-				-		
		n.i.			-				-			-				-			1	3,0	<u>3</u>	würzig			-	
		n.i.			-		1	1,0	<u>1</u>	rauchig			-			-				-			1	3	<u>3</u>	süßlich seifig

		n.i.			-			-		1	2,0	<u>2</u>	kräuteri g herb			-			-			-				
16,4 6	40,6	2,3-Butanediol (R-R*, R*)	1	3,0	<u>3</u>	kräuteri g muffig	5	3,4	<u>17</u>	rauchig erdig herb			-	1	2,0	<u>2</u>	muffig	5	3,6	<u>18</u>	röstig sauer kräuter ig nussig erdig	1	2	<u>2</u>	kräute rig	
		n.i.			-		1	2,0	<u>2</u>	frisch	1	1,0	<u>1</u>	essigsau er stechend			-			-		1	3	<u>3</u>	streng	
16,9 0	78,3	Butyrolactone	1	2,0	<u>2</u>	kräuteri g erdig	1	3,0	<u>3</u>	erdig frisch	1	2,0	<u>2</u>	nussig	4	3,0	<u>12</u>	würzig unangene hm rauchig			-			-		
		n.i.			-				-				-				-		1	3,0	<u>3</u>	kräuter ig			-	
		n.i.	3	2,3	<u>7</u>	erdig röstig würzig kräuteri g	2	2,0	<u>4</u>	erdig kräuterig			-				-				-			-		
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	kräuteri g erdig	1	3,0	<u>3</u>	erdig			-	1	2,0	<u>2</u>	buttrig			-		1	2	<u>2</u>	seifig	
18,0 0	58,8	Butanoicacid, 3-methyl			-				-				-				-	1	3,0	<u>3</u>	unange nehm	1	2	<u>2</u>	-	
		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	blumig			-				-				-				-	1	2	<u>2</u>	herb	
		n.i.			-				-				-				-	1	3,0	<u>3</u>	seifig	1	2	<u>2</u>	blumi g	

19,8 3	68,5	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	2	2,0	<u>4</u>	kräuterig grün stechend	5	1,8	<u>9</u>	stechend herb grün frisch muffig kräuterig	4	2,8	<u>11</u>	buttrig kräuterig würzig herb	1	3,0	<u>3</u>	süßlich	4	2,3	<u>9</u>	Kräuterig herb cremig nussig würzig	3	2	<u>6</u>	herb erdig				
		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	kräuterig frisch		-				-			-				2	1,5	<u>3</u>	holzige nussig röstig			-					
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	süßlich	1	3,0	<u>3</u>	kräuterig grün herb grasig			-		-						-		4	2,3	<u>9</u>	frisch blumig erdig				
		n.i.			-			-				-			-				1	3,0	<u>3</u>	herb grasig			-					
		n.i.	2	2,5	<u>5</u>	frisch herb kräuterig seifig	1	1,0	<u>1</u>	grün stechend	2	2,5	<u>5</u>	kräuterig	3	3,7	<u>11</u>	blumig			-				-					
21,5 0	83,1	Phenylethyl alkohol	3	2,7	<u>8</u>	kräuterig stechend streng metallisch	3	2,7	<u>8</u>	stechend grün muffig	4	3,3	<u>13</u>	süßlich blumig frisch zitrus künstlich streng			-						6	2,5	<u>15</u>	würzig herb grasig rauchig grün kräuterig	2	3	<u>6</u>	kräuterig würzig streng seifig

		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	kräuterig stechend		-			-			-			-								
		n.i.			-				1	1,0	<u>1</u>	-		-			-								
		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	würzig		-			-			-			-								
		n.i.			-				1	2,0	<u>2</u>	seifig herb		-		1	3,0	<u>3</u>	kräuterig	1	3	<u>3</u>	kräuterig		
		n.i.			-		4	1,8	<u>7</u>	kräuterig grün stechend muffig				-		2	2,0	<u>4</u>	grün kräuterig würzig						
		n.i.			-		2	1,5	<u>3</u>	cremig erdig	2	3,5	<u>7</u>	erdig stechend		-		1	2,0	<u>2</u>	erdig	2	2,5	<u>5</u>	frisch streng
22,5 7	53,0	8,11- Octadecadiyonic acid, methyl ester	2	2,5	<u>5</u>	essigsauer stechend buttrig								-		3	2,0	<u>6</u>	würzig erdig rauchig kräuterig cremig	4	3	<u>12</u>	buttrig würzig seifig		
		n.i.			-		1	2,0	<u>2</u>	grün kräuterig herb	1	1,0	<u>1</u>	-		-		-							
		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	blumig					2	2,0	<u>4</u>	nussig		-		1	2,0	<u>2</u>	kräuterig	2	3	<u>6</u>	würzig erdig frisch

		n.i.			-			-		2	2,0	<u>4</u>	seifig malzig rauchig			-			-						
		n.i.			-	4	1,8	<u>7</u>	kräuterig grün süßlich herb	1	2,0	<u>2</u>	erdig stechend			-	1	2,0	<u>2</u>	grün kräuter ig	2	2,5	<u>5</u>	süßlich	
		n.i.			-	1	1,0	<u>1</u>	grün kräuterig herb			-				-	1	3,0	<u>3</u>	cremig kräuter ig			-		
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	essigsauer stechend blumig seifig	4	1,0	<u>4</u>	fruchtig Erdbeere grün stechend	1	1,0	<u>1</u>	frisch	1	2,0	<u>2</u>	kräuterig			-		-		
		n.i.	2	2,5	<u>5</u>	stechend buttrig			-			-				-			-		1	2	<u>2</u>	streng	
		n.i.			-			-		1	2,0	<u>2</u>	blumig	1	2,0	<u>2</u>	-	2	2,0	<u>4</u>	kräuterig stechend nussig			-	
		n.i.	2	2,5	<u>5</u>	fruchtig muffig blumig	1	1,0	<u>1</u>	kräuterig grün			-			-	1	3,0	<u>3</u>	streng	1	2	<u>2</u>	süßlich buttrig	
		n.i.			-			-				-				-	1	2,0	<u>2</u>	würzig zimtig	1	3	<u>3</u>	streng	

		n.i.	3	2,3	<u>7</u>	essigsauer stechend erdig würzig malzig pfeffrig	1	1,0	<u>1</u>	stechend chemisch				4	2,0	<u>8</u>	würzig kräuterig unangenehm streng	1	3,0	<u>3</u>	blumig			-		
		n.i.			-						2	2,0	<u>4</u>	süßlich buttrig malzig	4	4,0	<u>16</u>	würzig kräuterig unangenehm streng	2	2,0	<u>4</u>	frisch zitrus buttrig	2	2,5	<u>5</u>	würzig stechend unangenehm muffig
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	buttrig milchsauer frisch grasig													2	3,5	<u>7</u>	blumig streng			-	
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	stechend																			-	
25,08	39,0	Hexadecanoic acid, ethyl ester			-														2	2,5	<u>5</u>	Kokos kräuterig seifig grün	1	3,0	<u>3</u>	muffig streng
25,39	59,4	2-Ethylhexylsalicylate			-						2	2,5	<u>5</u>	würzig									1	4	<u>4</u>	streng
		n.i.	2	2,0	<u>4</u>	essigsauer stechend													1	3,0	<u>3</u>	cremig	2	4	<u>8</u>	streng herb

		n.i.			-		1	2,0	<u>2</u>	fruchtig	2	2,5	<u>5</u>	herb ranzig	2	3,5	<u>7</u>	röstig würzig	1	2,0	<u>2</u>	muffig	1	2,0	<u>2</u>	kräute rig
		n.i.			-				-				-		1	1,0	<u>1</u>	-			-				-	
		n.i.			-				-		1	1,0	<u>1</u>	buttrig			-				-				-	
		n.i.	3	3,0	<u>9</u>	würzig kräuteri g grasig blumig frisch			-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	seifig essigsauer würzig	3	3	<u>9</u>	buttrig würzi g streng
		n.i.			-				-		1	1,0	<u>1</u>	erdig			-				-		1	3	<u>3</u>	unang enehm
		n.i.			-				-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	buttrig			-	
		n.i.	1	3,0	<u>3</u>	essigsauer			-		1	1,0	<u>1</u>	rauchig malzig			-				-				-	
		n.i.	2	3,5	<u>7</u>	grasig blumig frisch	1	2,0	<u>2</u>	fruchtig süßlich			-				-		1	4,0	<u>4</u>	blumig			-	
		n.i.			-				-				-				-		1	2,0	<u>2</u>	malzig rauchig			-	
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	blumig zitrus fruchtig	1	1,0	<u>1</u>	malzig würzig			-				-		1	1,0	<u>1</u>	frisch seifig kräuterig	1	3	<u>3</u>	muffig zitronig
		n.i.			-		1	1,0	<u>1</u>	erdig			-				-		1	2,0	<u>2</u>	seifig süßlich			-	
		n.i.	1	2,0	<u>2</u>	stechend			-		1	1,0	<u>1</u>	buttrig			-				-		2	3	<u>6</u>	frisch

28,0 6	68,7	9,12,15- Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl- oxy)-1- [[trimethylsilyl- oxy]methyl]ethyl- ester, (Z,Z,Z)	2	1,5	<u>3</u>	erdig	5	1,2	<u>6</u>	säuerlich kräuterig frisch zitrus süßlich fruchtig	3	2,7	<u>8</u>	würzig kräuterig unangen- ehm muffig	3	1,7	<u>5</u>	würzig herb	3	3,5	<u>9</u>	seifig kräuterig grün nussig zitrus	3	2,7	<u>8</u>	würzig frisch nussig
-----------	------	---	---	-----	----------	-------	---	-----	----------	---	---	-----	----------	--	---	-----	----------	----------------	---	-----	----------	---	---	-----	----------	----------------------------

Anhang 14: ANOVA aller Kakaobohnen für aroma-aktive Substanzen (grün = signifikant)

Substanz	p-Wert
Pentane 2-methyl	< 0,001
2,6-Dimethyl-2-octene	< 0,001
cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	< 0,001
Cyclotrisiloxane, hexamethyl	< 0,001
Ethylacetate	< 0,001
9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester	< 0,001
2-Pentanol-acetat	< 0,001
1-Methoxy-2-propyl acetate	< 0,001
Butyrolactone	< 0,001
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	< 0,001
8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester	< 0,001
Hexadecanoic acid, ethyl ester	< 0,001
2-Ethylhexyl-salicylate	< 0,001
9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z)	< 0,001
2-Pentanon	< 0,001
2-Butanone-3-methyl	< 0,001
Acetoin	< 0,001
2-Pentanol	< 0,001
Isoamylalkohol	< 0,001
2,3-Butanediol	< 0,001
2,3-Butanediol (R-R*, R*)	< 0,001
Phenylethyl alkohol	< 0,001
beta-Pinen	< 0,001
Trimethylpyrazine	< 0,001
Acetic acid	< 0,001
Benzaldehyd	< 0,001

Anhang 15: ANOVA aller Kakaobohnen für Geruchsattribute (grün = signifikant)

Attribut	p-Wert
blumig	0,004
buttrig	0,032
erdig	< 0,0001
frisch	< 0,0001
fruchtig	< 0,0001
grasig / grün	< 0,0001
herb	< 0,0001
künstlich / metallisch	< 0,0001
kräuterig	0,0005
malzig	< 0,0001
muffig	< 0,0001
nussig	< 0,0001
ranzig	< 0,0001
rauchig / röstig	< 0,0001
seifig	< 0,0001
stechend	< 0,0001
streng	< 0,0001
süßlich	0,040
unangenehm	< 0,0001
vanillig	< 0,0001
würzig	< 0,0001
zitrus	< 0,0001

Anhang 16: Signifikante Unterschiede der aroma-aktiven Substanzen an gleichen Fermentationstagen und unterschiedlichen Fermentationen (ANOVA) (grün = signifikant unterschiedlich)

Aroma-aktive Substanz	1-1-2 gegen 2-1-1	1-3-2 gegen 2-3-2	1-5-1 gegen 2-5-2
	p-Wert	p-Wert	p-Wert
Pentane 2-methyl	1,000	< 0,0001	1,000
2,6-Dimethyl-2-octene			
cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	< 0,0001	0,118	< 0,0001
Cyclotrisiloxane, hexamethyl	1,000	< 0,0001	1,000
Ethylacetate	< 0,0001	< 0,0001	1,000
9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester	< 0,0001	< 0,0001	1,000
2-Pentanol-acetat	0,847	< 0,0001	0,996
1-Methoxy-2-propyl acetate	1,000	< 0,0001	1,000
Butyrolactone	< 0,0001	1,000	1,000
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	1,000	0,548	0,003
8,11-Octadecadiyonic acid, methyl ester	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Hexadecanoic acid, ethyl ester	1,000	< 0,0001	1,000
2-Ethylhexyl-salicylate	1,000	1,000	< 0,0001
9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2[(trimethylsilyl)oxy]-1-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]ethylester, (Z,Z,Z)	0,001	0,412	1,000
2-Pentanon	< 0,0001	0,147	0,801
2-Butanon-3-methyl	1,000	< 0,0001	< 0,0001
Acetoin	< 0,0001	1,000	< 0,0001
2-Pentanol	< 0,0001	0,024	1,000
Isoamylalkohol	0,979	0,002	< 0,0001
2,3-Butanediol	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
2,3-Butanediol (R-R*, R*)	1,000	0,615	1,000
Phenylethyl alkohol	0,000	0,001	0,001
beta-Pinen	< 0,0001	0,198	< 0,0001
Trimethylpyrazine	1,000	< 0,0001	< 0,0001
Acetic acid	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Benzaldehyd	1,000	< 0,0001	1,000

Anhang 17: Signifikante Unterschiede der Attribute an gleichen Fermentationstagen und unterschiedlichen Fermentationen (ANOVA) (grün = signifikant unterschiedlich)

Attribut	1-1-2 gegen 2-1-1	1-3-2 gegen 2-3-2	1-5-1 gegen 2-5-2
	p-Wert	p-Wert	p-Wert
blumig	0,0390	0,8333	0,6051
buttrig	0,410	1,000	0,878
erdig	< 0,0001	< 0,0001	0,8863
frisch	< 0,0001	0,0001	0,0282
fruchtig	< 0,0001	0,0001	0,9729
grasig / grün	< 0,0001	0,5409	1,0000
herb	1,0000	0,7629	0,9988
künstlich / metallisch	< 0,0001	< 0,0001	1,0000
kräuterig	0,0047	0,0893	0,9393
malzig	1,0000	0,0001	1,0000
muffig	< 0,0001	< 0,0001	0,1793
nussig	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
ranzig	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
rauchig / röstig	< 0,0001	< 0,0001	1,0000
seifig	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
stechend	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
streng	< 0,0001	1,0000	< 0,0001
süßlich	0,5003	0,8558	0,9974
unangenehm	0,9684	< 0,0001	0,0005
vanillig	< 0,0001	0,9215	< 0,0001
würzig	0,0010	< 0,0001	0,9709
zitrus	1,0000	0,9960	1,0000

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die von mir eingerichtete Bachelorarbeit mit dem Title „Aufbau eines kakaospezifischen Panels zur Analyse von aroma-flüchtigen Komponenten in Kakaobohnen während der Nacherntebehandlung anhand einer HS-SPME-GC-MS/O-Methode“ selbständig verfasst und ausschließlich die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Hamburg, den 09.08.2019

Kelly Kinkade