

Oktober 1990/210 W

Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld

Untersuchung des Fehlparomas "fischig" in Kaffeerahm

H. Eyer, R. Gauch und J. O. Bosset

Schweiz. Milchw. Forschung 19, 3, 43-45 (1990)

Die vorliegende Untersuchung an sterilisiertem Kaffeerahm führte zur Identifizierung einer Substanz, die in Milch- und Milchprodukten den Aromafehler «fischig» verursacht.

Eine erste sensorische Prüfung durch eine Gruppe geschulter Degustatoren der FAM ergab, dass es sich vermutlich um leichtflüchtige Amine handelte, die den Fischgeruch verursachten. Dieser Befund wurde durch die pH-Abhängigkeit des Fehlgeruchs bestätigt.

Eine dynamische Headspace-Analyse mittels gekoppelter Gaschromatographie-Massenspektrometrie erbrachte anschliessend den Beweis, dass es sich bei einer der Substanzen, welche den Fehlgeruch verursachen, um Trimethylamin handelt. Sowohl Trimethylamin wie der ebenfalls gefundene Ethanol stammen wahrscheinlich aus einer mikrobiell induzierten Lecithinspaltung.

1. Einleitung

Der Aromafehler «fischig» ist zwar ein selten anzutreffendes Phänomen, kommt aber in verschiedenen Milchprodukten scheinbar weltweit vor. In der Literatur wird der vor allem als Fehlgeruch wahrgenommene Fehler in der Regel auf folgenden Einflüsse zurückgeführt:

- *Fütterung* (1), verdorbene, verunreinigte oder im Übermass dem Futter beigegebene Getreide- (Weizen) oder Eiweissprodukte werden als häufigste Ursache genannt (2).
- *Eiweissabbau*, der Abbau von Kasein kann zu zyklischen oder aliphatischen Aminen führen (3).
- *Pestizide*, durch das Futter aufgenommene und Aminogruppen enthaltende Pestizide können Amine freisetzen (4).
- *Lecithinspaltung* (Cholinfragmentierung), die Spaltung des in der Milch vorhandenen Lecithins führt zur Bildung von Aminen (5).

In allen Fällen wird der Fischgeruch auf Amine zurückgeführt, wobei beispielsweise für Trimethylamin Wahrnehmungsgrenzen von 1 bis 5 ppm angegeben werden (6).

Der Hypothese der Trimethylaminbildung, welche aus der Lecithinspaltung erfolgt,

wurde schon, wie Ch. Alais (5), H. Hänni und W. Ritter (7) erwähnen, in früheren Untersuchungen nachgegangen. Diese scheiterten allerdings an den hohen Wahrnehmungsgrenzen der damaligen Analyseneinrichtungen.

In jüngerer Zeit trat der Aromafehler regional in der Schweiz wiederum vereinzelt in Milch auf. Die 1988 eingeleitete Untersuchung verlief erfolglos. Weder die Ursache noch die den Fehler verursachenden Substanzen konnten eruiert werden. Als Anfang 1989 der Fehlgeruch auch in sterilisiertem Kaffeerahm festgestellt wurde, bot sich die Gelegenheit, in einem Gemeinschaftsprojekt Praxis – FAM die Entstehung des «Fischgeruchs» zu untersuchen. Erste Abklärungen ergaben, dass die Intensität des Fischgeruchs variierte und im Verlauf des Abfüllvorganges zunahm. Aus den Fabrikationsangaben wurde vorerst eine weitere Ursache des Fehlgeruchs, neben den oben erwähnten, abgeleitet. Eine Kontamination des Kaffeerahms mit basischer Reinigungslösung konnte nämlich nach Angaben des Herstellers nicht völlig ausgeschlossen werden.

2. Material und Methoden

Probenmaterial

Der Kaffeerahm mit unterschiedlich starkem Fischgeruch stammte (Fettgehalt nach LMV: mindestens 15%) aus zwei Tagesproduktionen. Als Referenz wurde sensorisch einwandfreier, sterilisierter Kaffeerahm zweier verschiedener Hersteller verwendet.

Das in Flaschen abgefüllte Produkt wurde nach folgendem Verfahren hergestellt: Der vorsterilisierte (Plattenpasteur) Kaffeerahm wurde in Chromstahltanks gelagert und danach in Flaschen abgefüllt. Diese verblieben für mehrere Stunden bei Raumtemperatur und wurden danach im Autoklaven sterilisiert.

Untersuchungsmethoden

Voruntersuchungen

Kaffeerahm guter Qualität wurde mit 1%-iger Natronlauge (5 ml/100 ml) oder Trinitriumphosphat versetzt und eine Stunde gekocht.

Kaffeerahm mit Fischgeruch wurde durch ein Sensorikpanel der FAM bei pH 2,4 und 6,7 sowie 8,3 geprüft.

GC-MS-Analysen

Die Untersuchungen der Kaffeerahmproben mittels gekoppelter Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC-MS) hatten zum Ziel, die den Fischgeruch verursachenden Substanzen und deren Herkunft zu ermitteln.

Zu Beginn der Untersuchung wurde mit einem GC-MS- Gerät ohne Headspace-Apparatur gearbeitet. Da zudem die Bildung von Artefakten möglichst ausgeschlossen werden sollte, wurde die Aufkonzentrierung der flüchtigen Stoffe mit Gefriertrocknung und anschliessender Extraktion durchgeführt (8,9). Die Aromastoffe einer Kaffeerahmprobe wurden zudem mittels Sub Boiling Point Destillation (SBP) (8) und Adsorption auf Aktivkohle isoliert und danach mit Ethanol extrahiert. Diese Untersuchungen ergaben, dass der Fischgeruch mit grosser Wahrscheinlichkeit von *leichtflüchtigen* Aminen verursacht wurde, sie erlaubten jedoch keine eigentliche Identifizierung der verantwortlichen Komponenten.

Mittels des mit einer dynamischen Headspace-Einrichtung (Einspritzblock mit Mikrowellen-Desorptionssofen) ausgerüsteten GC-MS-Gerätes der FAM wurde nun gezielt nach diesen gesucht (10).

Gerätebedingungen

GC-MS (Universität Bern)

GC-MS: MAT 44S mit Datensystem 188
 Kapillarsäule: DB-5, 30 m, 0,32 mm i.D., 0,25 µm
 Trägergas: 0,9 bar, Helium
 Einspritzvolumen: 1 µl, Splitmodus 1 : 20
 Temperaturprogramm: 30 °C, 5 min isotherm
 Rate: 5 °C/min., 250 °C, 5 min isotherm
 Massenbereich: 29–249 amu
 Scandauer: 1,2 s
 Ionisierungsart: EI mit 70 eV Emissionsstrom: 0,8 mA
 Interface/Quellentemp.: 230 °C

GC-MS (FAM)

Probenvolumen: 70 ml Kaffeeahm
 Laugenzugabe: 5 ml NaOH (5 mol/l) auf 70 ml Kaffeeahm
 Angesaugtes Dampfraumvol. 20 x 50 ml
 Adsorptionspatrone: Graphitpulver, Typ 1-1010 R Reaktorik
 (Wegen Schaumbildung wurde kein Tauchrohr in der Extraktionszelle verwendet)
 GC-MS: HP GC 5890 – MS 5970. HP WS 300
 Kapillarsäule: DB-5, 60 m, 0,32 mm i.D., 0,25 µm
 Einspritzblock: MWS-1, Reaktorik, Splitmodus 1:17
 Trägergas: 1,1 bar, Helium
 Temperaturprogramm: 40 °C, 10 min isotherm
 Rate: 5 °C/min., 240°C, 10 min isotherm
 Massenbereich: 19–250 amu
 Scandauer: 0,6 s
 Ionisierungsart: EI mit 70 eV Emissionsstrom: 0,8 mA
 Interface/Quellentemp.: 250 °C

3. Resultate und Diskussion

Reinigungsmittel als mögliche Ursache

Die im Kleinmassstab durchgeführten Versuche ergaben, dass unter den gewählten Bedingungen Stabilisatorsalze wie Trinatriumphosphat sowie basische Reinigungslösung wie Natronlauge keinen signifikanten «Fischgeruch» auszulösen vermochten. Versuche unter Praxisbedingungen zeigten anschliessend, dass nur bei sehr grossen Laugenzugaben (pH im Kaffeeahm >7,5) eindeutig «Fischgeruch» entstand. Diese Hypothese wurde deshalb nicht weiter verfolgt. Die Vorversuche erhärteten aber den Verdacht, der Fischgeruch werde durch Amine verursacht.

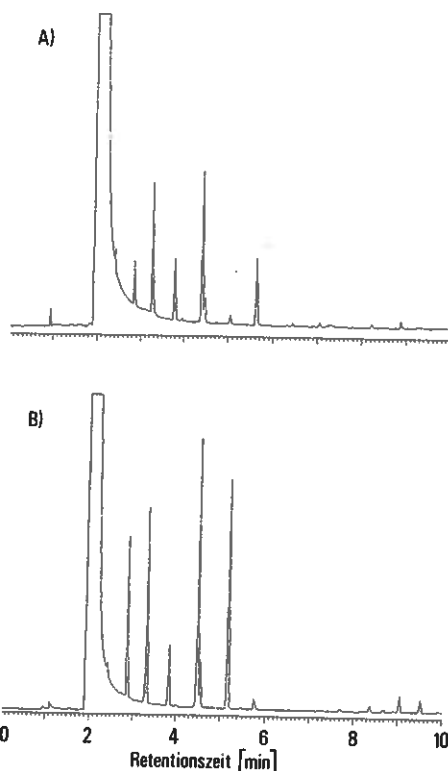


Abb. 1 **GC-MS-Chromatogramme (Universität Bern) der flüchtigsten Komponenten:**

- A) eines Kaffeeahmes mit starkem Fischgeruch
- B) eines Kaffeeahmes praktisch ohne Fischgeruch

pH-Abhängigkeit der Wahrnehmung

Die sensorische Überprüfung des Kaffeeahms mit Fehleraroma, dessen pH durch Zugabe von Säure oder Base verändert worden war, ergab, dass im sauren Bereich (pH <5) kaum Fischgeruch wahrgenommen wurde und mit steigendem pH (pH >8) das Fehleraroma verstärkt zum Vorschein kam.

Aminbestimmung mit GC-MS

Die GC-MS-Untersuchungen der Universität Bern lieferten für Kaffeeahm mit und ohne Fischgeruch praktisch identische Chromatogramme (Abb. 1, A und B). Nach Extraktion des Gefriertrocknungswassers oder der Aktivkohle (SBP Destillation) konnte zwar der Fischgeruch sensorisch deutlich festgestellt werden, die verursachenden Substanzen liessen sich aber wegen ihrer Flüchtigkeit nicht in genügender Menge ins Gerät überführen. Aus den Resultaten der Sensorikuntersuchung und der Tatsache, dass der Fischgeruch nur aus dem basisch gestellten Gefriertrocknungswasser extrahiert werden konnte, liess sich aber schliessen, dass es sich hier um leichtflüchtige Amine handelte.

Die GC-MS-Analysen der FAM waren erst von Erfolg gekrönt, als Lauge zum fisch-

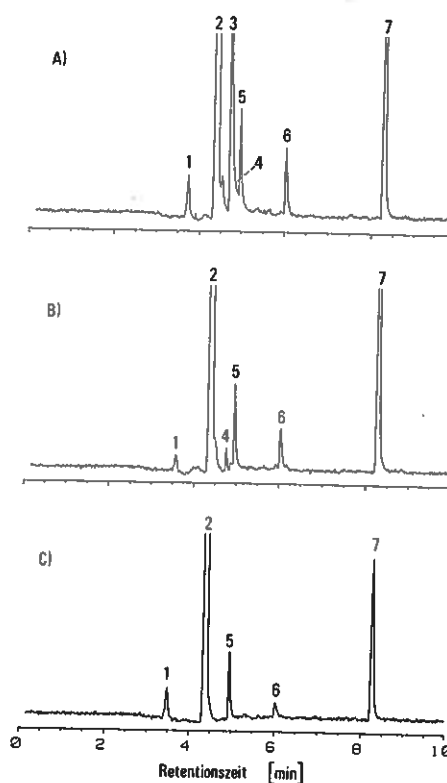


Abb. 2 **GC-MS-Chromatogramme (FAM) der flüchtigsten Komponenten:**

- A) eines Kaffeeahmes mit starkem Fischgeruch
- B) eines Kaffeeahmes praktisch ohne Fischgeruch
- C) eines einwandfreien Kaffeeahmes als Referenz

Tabelle 1 **Liste der flüchtigsten Komponenten, identifiziert mittels einer dynamischen GC-MS-Headspace-Analyse (FAM)**

Peak Nr.	Komponente
1	Kohlenmonoxid (Artefakt)
2	Kohlendioxid (Artefakt)
3	Trimethylamin
4	Ethanol
5	2- Propanon
6	2- Butanon
7	2- Pentanon und/oder 2,3-Butandion

gen Kaffeeahm zugesetzt wurde (Freisetzung der vorhandenen Amine). In Kaffeeahmproben mit ausgeprägtem Fehler liessen sich Trimethylamin und Ethanol sicher nachweisen (Abb. 2 A, Peak 3 und 4). In ganz schwach fischig riechendem Rahm wurde hingegen nur Ethanol gefunden (Abb. 2 B, Peak 4).

Die Identifizierung der beiden Substanzen erfolgte mittels Spektrenbibliothek (NBS). Zusätzlich wurden für Trimethylamin die Retentionszeit und das Massenspektrum durch eingespritzte Reinsubstanz überprüft.

In einwandfreiem, als Referenz herangezogenem Kaffeeahm, der den selben Analysenbedingungen unterworfen wor-

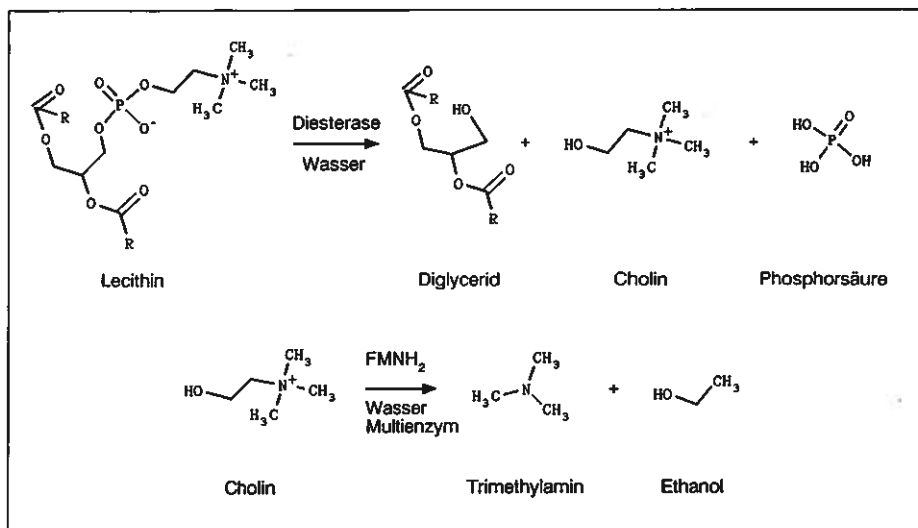


Abb. 3 Schema einer möglichen Lecithinfragmentierung

den war, liessen sich die beiden Substanzen weder sensorisch noch instrumentell nachweisen (Abb. 2 C). Trimethylamin und Ethanol wurden somit nicht künstlich durch die Analysenbedingungen erzeugt. Die Laugenzugabe verschob lediglich das Gleichgewicht für Trimethylamin in die Dampfphase.

4. Schlussfolgerung

Aus den GC-MS-Untersuchungen geht hervor, dass der in Kaffeerahm festgestellte Geruchsfehler «fischig» von freigesetztem Trimethylamin herrührt.

Die zur Verfügung stehenden Angaben lassen zudem den hypothetischen Schluss zu, dass die beiden Substanzen (Trimethylamin und Ethanol) aus einer mikrobiell induzierten Lecithinfragmentierung stammen (Abb. 3).

Das in der Schweiz übliche Fabrikationsverfahren für Kaffeerahm in Flaschen enthält einen Fabrikationsschritt (unsterile Abfüllung und Lagerung bei Raumtemperatur vor der Autoklavierung), der eine Rekontamination nicht vollständig ausschliesst. Erfolgt diese in erheblichem Ausmass und werden zudem die abgefüllten Flaschen längere Zeit zwischengelagert, so liegen Bedingungen vor, welche zu einer enzymatischen Lecithinspaltung führen könnten. Diese Erklärung wird gestützt durch die Tatsache, dass der Fischgeruch vereinzelt auch in Packungen pasteurisierter Milch auftritt, in welchen sich Rekontaminationskeime stark vermehren konnten. Nachträglich konnte aber nicht mehr festgestellt werden, welche Art von Keimen die enzymatische Spaltung verursachten, da nur sterilisierter Kaffeerahm zur Untersuchung zur Verfügung stand.

Die Autoren danken Herrn Prof. U.P. Schlunegger und Herrn H. Gfeller, Orga-

nisch Chemisches Institut der Universität Bern, für ihre aktive Mitarbeit in den GC-MS-Untersuchungen.

5. Literaturverzeichnis

- 1 KIM, H.S., GILLILAND, S.E. and GUNTEN VON, R.L.: Test for detecting compound causing wheat pasture flavor in milk. *J. Dairy Sci.* **62**, Suppl. 1, 39–40 (1979)
- 2 MEHTA, R.S., BASETTE, R. and BARTLEY, E.E.: Effects of protein supplements containing urea or natural protein on concentration of trimethylamine in cow's milk. *J. Dairy Sci.* **61**, 176–179 (1978)
- 3 OBELETS, V.A.: Volatile amines in the aroma of milk protein concentrates. *XX Int. Dairy Congr. E*, 286–287 (1978)
- 4 BAKKE, J.E., ROBBINS, J.D. and FEIL, V.J.: Metabolism of 2-methoxy-4-ethylamino-6-sec-butylamino-5-triazine by the dairy cow and goat. *J. Agric. Food Chem.* **19**, 462–466 (1971)
- 5 ALAIS, Ch.: Science du lait. Société d'édition et de publicité agricoles, industrielles et commerciales, Paris-1, 80-81 (1975)
- 6 GUNTEN VON, R.L., BUSH, L.J., ODELL, G.V., WELLS, M.E. and ADAMS, G.D.: Factors related to the occurrence of trimethylamine in milk. *J. Milk Food Technol.* **39**, 526–529 (1976)
- 7 HÄNNI, H. UND RITTER, W., Unveröffentlichte Arbeiten der FAM
- 8 EYER, H.: Beiträge zur Kenntnis von Pilzprodukten. Dissertation Org. Chem. Institut Universität Bern (1984)
- 9 STÄMPFLI, A.: Isolierung von Aromastoffen aus Pilzprodukten. Diplomarbeit Org. Chem. Institut Universität Bern (1985)

- 10 BOSSET, J.O. und GAUCH, R.: Einfache Probenvorbereitung zur quantitativen «Multiple-Headspace» Bestimmung flüchtiger Komponenten mit Hilfe von Adsorptionspatronen. *J. Chromatogr.* **456**, 417–420 (1988)

Résumé

H. EYER, R. GAUCH et J.O. BOSSET
Etude d'une odeur de poisson dans des crèmes à café
Schweiz. Milchw. Forsch. **19** (3), 43–45 (1990)

Le présent travail a pour objectif l'identification du composé responsable d'un défaut d'arôme (odeur de poisson) dans certaines crèmes à café. Une première étude sensorielle, effectuée par un jury de degustateurs entraînés, a permis de déterminer la présence d'une amine très volatile, confirmée d'ailleurs par l'influence du pH du milieu sur la perception du défaut. Une analyse «dynamique» de l'espace de tête à l'aide d'un chromatographe gaz/liquide avec détection par spectrométrie de masse (GC-MS) a permis d'identifier la triméthylamine – confirmée ultérieurement par injection de la substance pure – comme le composé responsable dudit défaut. Ce composé semble être produit par une dégradation microbologique de la lécithine, hydrolysée en un triglycéride phosphorylé et en choline. Cette dernière est à son tour hydrolysée en triméthylamine et en éthanol, également détecté en traces dans les crèmes à café déféctueuses. Une telle chaîne de dégradation doit trouver son origine dans une réinfection microbienne des crèmes à café entre les étapes de pasteurisation et de stérilisation finale.

Summary

H. EYER, R. GAUCH and J.O. BOSSET
The Fishy off-Flavour of Coffee Cream
Schweiz. Milchw. Forsch. **19** (3), 43–45 (1990)

By the present work the compounds trimethylamine and ethanol were identified in coffee cream showing a «fishy» off-flavour.

A preliminary investigation done by a sensoric panel suggested that volatile amines were responsible for the fishy smell. This was confirmed by the pH-dependence intensity of the off-flavour. Dynamic head space analysis, followed by GC-MS, showed that trimethylamine was the major compound causing the fishy flavour. Trimethylamine and ethanol are probably fragmentation products of choline, which has its origin in phospholipids. The process of amine production seems to be caused by contamination of microorganisms during manufacture of milk or milk products.