

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik

Untersuchungen zur Salzwahrnehmung in Brot und Textur-  
Modellsystemen – Ein Beitrag zur Kochsalzreduktion in Lebensmitteln

Katharina Anne Konitzer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Michael Rychlik

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Thomas Hofmann

2. apl. Prof. Dr. Peter Köhler

3. Prof. Dr. Elke Arendt (University College Cork / Irland)

Die Dissertation wurde am 09.04.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 21.07.2014 angenommen.



## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Thomas Hofmann, für die Überlassung des sehr interessanten Themas, die hervorragende wissenschaftliche Betreuung, die stets begeisterte und begeisternde Unterstützung der Arbeit, die Einbringung kreativer Ideen und konstruktiver Vorschläge, die Möglichkeit zur Verwirklichung eigener Pläne und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Herrn Prof. Dr. Peter Köhler möchte ich für die zuverlässige fachliche Unterstützung, viele wertvolle Ratschläge und Diskussionen und die Möglichkeit die Ergebnisse dieser Arbeit auf nationalen und internationalen Fachtagungen zu präsentieren, danken.

Frau Dr. Tabea Pflaum danke ich sehr herzlich für die ausgezeichnete Zusammenarbeit, viele konstruktive Diskussionen und die stetige Hilfsbereitschaft während der gesamten Zeit der gemeinsamen Arbeit am Projekt der Salzreduktion in Brot.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik der Technischen Universität München möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die Hilfsbereitschaft und die schönen, gemeinsamen Erlebnisse danken. Dabei gilt mein Dank besonders den Kolleginnen und Kollegen Silvija Abakuks, Peter Christa, Andreas Dunkel, Anastasia Farrenkopf, Dr. Daniel Festring, Andrea Froschmeier, Maria Grübner, Jürgen Hauck, Caroline Hellfritsch, Johanna Lainer, Klaus Mathie, Stefanie Meyer, Alexander Schindler, Susanne Schmitt und Julia Stein aus Labor 2.

Meinem Sensorikpanel danke ich sehr herzlich für die zuverlässige Teilnahme an unzähligen angenehmen und weniger angenehmen Sensoriken und für die konstruktiven Rückmeldungen.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Prof. Dr. Elke Arendt, die mir im Rahmen der Internationalisierungsphase der TUM Graduate School einen sehr gewinnbringenden, sechswöchigen Forschungsaufenthalt am Department of Food and Nutritional Sciences des University College Cork in Cork City, Irland, ermöglichte. Ihrem gesamten Arbeitskreis möchte ich für die herzliche Aufnahme in Cork Danke sagen und besonders Dr. Pedro Oliveira und Dr. Anna-Sophie Hager für die Einweisung in die CLSM, Dr. Anika Wolter für die Erstellung der SEM-Aufnahmen und Markus Belz für die Bereitstellung von Broten zu Testzwecken danken.

Für ihre guten Ratschläge bei praktischen Fragen bezüglich des Backens bedanke ich mich bei Katharina Schiesser.

Dr. Margit Beck und Ahmed ElSharkawy vom Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie der Technischen Universität München danke ich für ihre Hilfe bei der Bestimmung der Porengrößen.

Weiterhin danke ich Barbara Konitzer, Hansjörg Konitzer und Dr. Stefan Asam vielmals für ihre detaillierte Durchsicht des Manuskripts.

Mein allergrößter Dank gilt meinen Eltern Barbara und Hansjörg Konitzer, die mir meine Ausbildung ermöglicht, mich jederzeit uneingeschränkt unterstützt und somit zum Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen haben.

## Vorbemerkung

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde von Juni 2009 bis Mai 2012 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Hofmann am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München in Freising durchgeführt.

## Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden in einer international anerkannten Fachzeitschrift vorab veröffentlicht.

Pflaum, T.; Konitzer, K.; Hofmann, T.; Koehler, P. Analytical and sensory studies on the release of sodium from wheat bread crumb. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 6485-6494

Pflaum, T.; Konitzer, K.; Hofmann, T.; Koehler, P. Influence of texture on the perception of saltiness in wheat bread. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 10649-10658

Konitzer, K.; Pflaum, T.; Oliveira, P.; Arendt, E.; Koehler, P.; Hofmann, T. Kinetics of sodium release from wheat bread crumb as affected by sodium distribution. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 10659-10669



# Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNG

VORBEMERKUNG

PUBLIKATIONEN

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1	Gesundheitliche Aspekte zu Natrium.....	1
1.2	Strategien zur Natriumreduktion in Lebensmitteln .....	8
1.3	Technofunktionelle Eigenschaften von Natriumchlorid in Backwaren.....	11
1.4	Sensorische Wahrnehmung.....	13
1.4.1	Wahrnehmung des Salzgeschmacks.....	13
1.4.2	Wahrnehmung von taktilen Stimuli im Mundraum.....	16
1.4.3	Wechselwirkungen zwischen Geschmack und taktilen Stimuli .....	20
<b>2</b>	<b>ZIELE DER UNTERSUCHUNGEN</b> .....	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>27</b>
3.1	<b>Einfluss des Kochsalzgehalts auf die sensorische Beurteilung von Brotkrume</b> .....	<b>27</b>
3.1.1	Auswahl und Schulung des Panels .....	27
3.1.2	Aroma- und Geschmacksprofile von Broten mit unterschiedlichen Salzgehalten .....	28
3.1.3	Abhängigkeit der Salzwahrnehmung vom absoluten Salzgehalt.....	29
3.1.4	Salzwahrnehmung bezogen auf Brot mit 1,0 bzw. 0 % Salz als Referenz .....	30
3.1.5	Bestimmung der Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwelle in Brotkrume .....	32
3.1.6	Vergleich der Salzwahrnehmung in Brotkrume und Wasser .....	33
3.1.7	Diskussion.....	33
3.2	<b>Identifizierung von salzgeschmacksbeeinflussenden Parametern in Brotkrume</b> .....	<b>35</b>
3.2.1	Modellstudien zur Untersuchung der Natriumbindung an Proteinfractionen.....	35
3.2.1.1	Isolierung der Proteinfractionen aus Weizenmehl .....	35
3.2.1.2	Bestimmung der Natriumbindung von Proteinen mittels Magnetic Beads Assay .....	36
3.2.1.3	Diskussion.....	44
3.2.2	Quantitative Studien zur Natriumfreisetzung beim Verzehr von Brotkrume.....	47
3.2.2.1	Absolute Natriumfreisetzung aus Brotkrume .....	47
3.2.2.2	Diskontinuierliche Messung der Zeitabhängigkeit der Natriumfreisetzung aus Brotkrume .....	50
3.2.2.3	Kontinuierliche Messung der Zeitabhängigkeit der Natriumfreisetzung aus Brotkrume .....	51
3.2.2.4	Diskussion.....	54
3.2.3	Natriumverteilung in Brotkrume .....	58
3.2.3.1	Einfluss des Verhältnisses fein-/grobkörniges Kochsalz auf die Salzwahrnehmung in Brotkrume.....	58

3.2.3.2	Sensorische Bewertung des zeitlichen Verlaufs der Salzwahrnehmung bei Broten mit grobkörnigem Kochsalz.....	61
3.2.3.3	Indirekte Visualisierung der Natriumverteilung in Brotkrume durch mit Patentblau V gefärbte NaCl-Kristalle .....	63
3.2.3.4	Direkte Visualisierung der Natriumverteilung in Brotkrume durch Scanning Electron Microscopy (SEM) und Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM).....	66
3.2.3.5	Direkte Visualisierung der Proteinstruktur in Broten mit inhomogener im Vergleich zu homogener Natriumverteilung durch CLSM .....	70
3.2.3.6	Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Broten mit inhomogener bzw. homogener Natriumverteilung.....	74
3.2.3.7	Diskussion.....	77
3.2.4	Textur von Brotkrume und Teig .....	81
3.2.4.1	Sensorische Bewertung von Teig im Vergleich zu Brotkrume.....	81
3.2.4.2	Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Teig im Vergleich zu Brotkrume .....	83
3.2.4.3	Sensorische Bewertung von Broten unterschiedlicher Textur.....	86
3.2.4.4	Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Broten mit unterschiedlicher Textur.....	92
3.2.4.5	Zusammenhang zwischen Salzwahrnehmung, Textur, Natriumfreisetzung und Porengröße .....	99
3.2.4.6	Diskussion.....	106
<b>3.3</b>	<b>Einfluss von Texturkomponenten auf die humane Salzwahrnehmung in Modellsystemen.....</b>	<b>110</b>
3.3.1	Salzwahrnehmung in Weizenstärke-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung .....	110
3.3.2	Salzwahrnehmung in Agar-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung .....	116
3.3.3	Salzwahrnehmung in Maisstärke-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung .....	118
3.3.3.1	Amylopektinreiche Maisstärke.....	120
3.3.3.2	Maisstärke.....	121
3.3.3.3	Amylosereiche Maisstärke.....	122
3.3.4	Salzwahrnehmung in Cellulose-Suspensionen in Abhängigkeit von Viskosität und Natriumfreisetzung .....	123
3.3.4.1	Feine Cellulose-Partikel.....	123
3.3.4.2	Grobe, faserartige Cellulose-Partikel.....	124
3.3.4.3	Abhängigkeit der Salzwahrnehmung von der Partikelgröße .....	126
3.3.5	Vergleich der Salzwahrnehmung in Gelen und Suspensionen .....	127
3.3.5.1	Vergleich der Salzwahrnehmung bei gleicher Viskosität.....	128
3.3.5.2	Vergleich der Salzwahrnehmung bei gleicher Textur.....	130
3.3.5.3	Einfluss von Partikeln auf die Salzwahrnehmung bei gleicher Textur.....	132
3.3.6	Diskussion.....	134
<b>3.4</b>	<b>Wahrnehmung von anderen Geschmacksarten in Modellsystemen.....</b>	<b>144</b>
3.4.1	Süßgeschmackswahrnehmung in Weizenstärke- und Agar-Gelen .....	144
3.4.2	Geschmackswahrnehmung in Cellulose-Suspensionen .....	145
3.4.3	Diskussion.....	147
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>149</b>
<b>4.1</b>	<b>Chemikalien und Materialien.....</b>	<b>149</b>
<b>4.2</b>	<b>Mehl .....</b>	<b>151</b>
4.2.1	Mehlcharakterisierung .....	151

4.2.2	Modifizierte Osborne-Fraktionierung .....	151
4.2.2.1	Entfettung.....	151
4.2.2.2	Albumine .....	151
4.2.2.3	Globuline.....	151
4.2.2.4	Gliadine .....	152
4.2.2.5	Gluteline.....	152
4.2.3	Amino-funktionalisierter Magnetic Beads Assay .....	152
4.2.3.1	Kovalente Bindung der Proteine an die Magnetic Beads .....	152
4.2.3.2	Bestimmung der Bindungseffizienz mittels BCA-Assay .....	153
4.2.3.3	Inkubation der an die Magnetic Beads gebundenen Proteine mit NaCl-Lösung.....	154
<b>4.3</b>	<b>Brotherstellung.....</b>	<b>154</b>
4.3.1	Normalbackversuch.....	154
4.3.2	Backversuch mit grobkörnigem Salz .....	155
4.3.2.1	Optimierung des Verhältnisses fein-/grobkörniges NaCl.....	155
4.3.2.2	Indirekte Visualisierung der Natriumverteilung durch mit Patentblau V gefärbte NaCl-Kristalle .....	155
4.3.3	Backversuche mit veränderter Textur .....	156
<b>4.4</b>	<b>Bestimmung der zeitabhängigen, quantitativen Natriumfreisetzung aus Brotkrume .....</b>	<b>156</b>
4.4.1	Diskontinuierliche Messmethode im Mund .....	156
4.4.2	Diskontinuierliche Messmethode im Kaumodell.....	156
4.4.3	Kontinuierliche Messmethode im Mund .....	157
4.4.4	Bestimmung der Speichelsekretion .....	158
<b>4.5</b>	<b>Polysaccharid-Gele und Suspensionen.....</b>	<b>158</b>
4.5.1	Bestimmung des Verhältnisses Amylose/Amylopektin.....	158
4.5.2	Herstellung von Polysaccharid-Gelen und Suspensionen.....	158
4.5.2.1	Stärke.....	158
4.5.2.2	Agar-Agar.....	158
4.5.2.3	Cellulose .....	159
4.5.2.4	Weizenstärke und Agar.....	159
4.5.2.5	Weizenstärke und Cellulose .....	159
4.5.3	Bestimmung der Natriumfreisetzung .....	159
<b>4.6</b>	<b>Sensorische Experimente.....</b>	<b>160</b>
4.6.1	Allgemeine Bedingungen und Training des Panels.....	160
4.6.2	Erstellung der Aroma- und Geschmacksprofile.....	160
4.6.3	2-Alternative Forced Choice (2-AFC)-Tests.....	160
4.6.4	Bestimmung der Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwelle in Brotkrume .....	161
4.6.5	Time-Intensity-Kurven .....	162
4.6.6	Dosis-Wirkungs-Kurven.....	163
4.6.6.1	Salzgeschmack: Natriumchlorid .....	163
4.6.6.2	Süßgeschmack: Sucralose .....	163
4.6.6.3	Umamigeschmack: Mononatriumglutamat .....	164
4.6.6.4	Bittergeschmack: Koffein .....	164
4.6.6.5	Sauergeschmack: Zitronensäure .....	165

4.6.6.6	Bewertung der relativen Salzintensität in Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve .....	165
4.6.6.7	Bewertung eines möglichen Effekts durch Belegung der Zunge mit Weizenstärke-Gel .....	166
4.6.6.8	Bewertung der relativen Geschmacksintensität in Cellulose-Suspensionen im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve .....	166
<b>4.7</b>	<b>Apparativer Teil.....</b>	<b>167</b>
4.7.1	RP-HPLC zur Charakterisierung der Osborne-Fraktionen .....	167
4.7.2	Quantitative Bestimmung von Natrium .....	167
4.7.2.1	Kationenchromatographie (IC).....	167
4.7.2.2	Atomabsorptionsspektroskopie (AAS).....	168
4.7.2.3	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) .....	168
4.7.2.4	Natrium-selektive Elektrode (ISE).....	168
4.7.3	Bestimmung der Viskosität.....	169
4.7.4	Bestimmung des Brotvolumens .....	169
4.7.5	Bestimmung der Textur .....	169
4.7.5.1	Textur von Brotkrume .....	169
4.7.5.2	Textur von Stärke- und Agar-Gelen.....	169
4.7.6	Bestimmung der Porengröße .....	170
4.7.7	Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) .....	170
4.7.7.1	Durchführung der CLSM.....	170
4.7.7.2	CLSM-Bildanalyse zur Visualisierung der Natriumverteilung .....	171
4.7.8	Scanning Electron Microscopy (SEM) .....	172
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>173</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>177</b>
	<b>ANHANG .....</b>	<b>197</b>
	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>213</b>

## Abkürzungen und Symbole

2-AFC-Test	2-Alternative Forced Choice-Test
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
bidest.	zweifach destilliertes Wasser
BU	Brabender Units
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscopy
CMC	Carboxymethylcellulose
CNG	cyclic nucleotide-gated
cP	centipoise
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DATEM	Diacetylweinsäureester von Mono- und Diacylglyceriden
DEG	Degenerin
dest.	destilliert
DRI	Dietary Reference Intake
ENaC	Epithelialer Natriumkanal
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
GDA	Guideline Daily Amount
gk NaCl	grobkörniges Kochsalz
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
IC	Ionenchromatographie
ICP-OES	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IHK	Ischämische (koronare) Herzkrankheit
ISE	Ionenselektive Elektrode
LTM	low-threshold Mechanorezeptoren

LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
mmol	Millimol
mm Hg	Millimeter-Quecksilbersäule
MSt	Maisstärke
OFC	orbitofrontaler Cortex
OISE	odor-induced saltiness enhancement
RA I	rapidly adapting-Typ I-Mechanorezeptoren
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
S1	primärer, somatosensorischer Cortex
S2	sekundärer, somatosensorischer Cortex
SA I	slowly adapting-Typ I-Mechanorezeptoren
SA II	slowly adapting-Typ II-Mechanorezeptoren
SBFI-AM	sodium-binding benzofuran isophthalate acetoxymethylester
SCF	Scientific Committee on Food
SEM	Scanning Electron Microscopy
SLP3	stomatin-like protein 3
TI	Time-Intensity
TM	Trockenmasse
TMC	transmembrane channel
TPA	Texture Profile Analyser
TRP	transient receptor potential
U/min	Umdrehungen pro Minute
VPM	<i>Nucleus ventralis posteromedialis</i>
VPMpc	<i>Nucleus ventralis posteromedialis pars parvocellularis</i>
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
WSt	Weizenstärke
$\lambda$	Wellenlänge

# 1 Einleitung

## 1.1 Gesundheitliche Aspekte zu Natrium

Natrium ( $\text{Na}^+$ ) ist als essentieller Nährstoff das mengenmäßig dominierende Kation in der extrazellulären Flüssigkeit im menschlichen Körper. Ein Erwachsener enthält durchschnittlich 1,2 - 1,5 g Natrium pro kg Körpergewicht, wobei etwa die Hälfte in der extrazellulären Flüssigkeit gelöst ist und sich 3 - 4 % der Gesamtmenge in intrazellulären Flüssigkeitskompartimenten befinden. Der verbleibende Rest ist Bestandteil des Hydroxylapatit-Kristallgitters der Knochensubstanz. Als Hauptosmolyt der extrazellulären Flüssigkeit mit einer Konzentration von 3,2 g/L mit einer sehr engen Schwankungsbreite von 3,1 - 3,3 g/L ist Natrium für die Regulierung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und zusammen mit Kalium für die Aufrechterhaltung des gesamten Wasserhaushalts im Körper verantwortlich (*Mole, 1984; Penney, 2008*). Die Verteilung von Natrium und Kalium zwischen extra- und intrazellulärer Flüssigkeit wird unter Energieverbrauch über die membrangebundene Natrium-Kalium-ATPase reguliert. Darüber hinaus spielt Natrium in der Steuerung des Membranpotentials der meisten Zellen und im Auf- und Abbau des Aktionspotentials bei der neuronalen Reizweiterleitung und der Muskelkontraktion eine entscheidende Rolle. Die aktive Aufnahme von Natrium im Dünndarm ist außerdem für die Resorption anderer Nährstoffe von Bedeutung. Die Ausscheidung von Natrium erfolgt über Schweiß, Faeces und hauptsächlich über den Urin, wobei die Nieren über hormonelle und neuronale Systeme so gesteuert werden, dass die Exkretion von Natrium durch erhöhte renale Resorption gegen Null geht, wenn Natrium im Körper zurückgehalten werden soll, oder auf bis zu 24 g pro Tag ansteigt, wenn hohe Natriummengen aufgenommen wurden (*Roos et al., 1985*).

Der tägliche Natriumbedarf ist aufgrund der adaptiven, physiologischen Mechanismen, die eine Exkretion vermindern, und der Abhängigkeit von der Zufuhr von Wasser und anderen Nährstoffen nur schwer zu definieren, sodass Menschen mit extrem unterschiedlichen Natriumaufnahmen auskommen können, von 0,1 - 0,6 g/Tag bei ländlichen, isolierten Bevölkerungsgruppen der Yanomami, aus Xingu und aus Papua Neu-Guinea (*Mancilha-Carvalho und de Souza e Silva, 2003*) bis zu 6,7 g/Tag bei Männern aus Nordchina (*Stamler et al., 2003*). Als Richtwert wurde der tägliche, physiologische Bedarf mit 1,25 g Kochsalz (0,5 g Natrium) veranschlagt (*FNB, 2004*).

Evolutionär gesehen enthielt die menschliche Nahrung nur etwa 0,25 g Salz (0,1 g Natrium) pro Tag (*Eaton und Konner, 1985; Konner und Eaton, 2010*), sodass die physiologischen Systeme vorwiegend darauf ausgelegt sind, Natrium im Körper zu speichern (*He und*

*MacGregor, 2007*). Im Gegensatz zu dieser jahrtausendelangen, salzarmen Diät beträgt die derzeitige tägliche Natriumzufuhr in Europa und Nordamerika 5,8 - 10,9 g Kochsalz (2,3 - 4,3 g Natrium) (*Brown et al., 2009*) und liegt damit um ein Vielfaches höher als vor der neolithischen Periode (*Cordain et al., 2005*). Die durch die hohe Salzaufnahme erforderliche, verstärkte Exkretion von Natrium über die Niere in den Urin stellt die Physiologie vor große Herausforderungen. Infolgedessen kann die hohe Natriumchloridzufuhr zu Bluthochdruck, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, einem erhöhten Risiko für Schlaganfall, Magenkrebs, Nierenerkrankungen und Demineralisation der Knochen sowie zu einer Verschlechterung der Symptome bei Asthma führen (*de Wardener und MacGregor, 2002*).

Ein systolischer Blutdruck von  $\geq 140$  mm Hg oder ein diastolischer Blutdruck von  $\geq 90$  mm Hg gilt als arterielle Hypertonie. Blutdruckwerte unter 120/80 mm Hg werden als normal und Werte von 120 - 139/80 - 89 mm Hg als Prähypertonie angesehen (*Chobanian et al., 2003*). In Deutschland sind 46 % der Männer und 31 % der Frauen im Alter von 40 - 49 Jahren von Hypertonie betroffen, wobei der prozentuale Anteil altersbedingt auf 73 % der Männer und 74 % der Frauen im Alter von 70 - 79 Jahren ansteigt (*Thefeld, 2000*). Obwohl andere Risikofaktoren wie Alter, Gewicht, Rasse, Inzidenz in der Familie, Rauchen, Alkohol, Stress, körperliche Inaktivität und chronische Erkrankungen wie Diabetes die Entstehung von Bluthochdruck ebenfalls begünstigen (*Doyle und Glass, 2010*), konnte in zahlreichen epidemiologischen und genetischen Studien, Migrations-, Behandlungs-, Tier- und bevölkerungsbasierten Interventionsstudien ein kausaler Zusammenhang zwischen Salzverzehr und Bluthochdruck etabliert werden (*He und MacGregor, 2007*). Ein Großteil des blutdrucksteigernden Effekts wird auf das Natriumion zurückgeführt, aber es gibt zahlreiche Beweise dafür, dass das Chloridion ebenfalls eine entscheidende Rolle spielt (*EFSA, 2005*). Außerdem muss die Aufnahme von Kalium und Calcium mit berücksichtigt werden, da das Natrium/Kalium-Verhältnis im Urin besser mit dem Blutdruck korreliert als der Gehalt an Natrium oder Kalium allein (*Intersalt, 1988*).

Zu den epidemiologischen Studien zählt die INTERSALT-Studie (*Intersalt, 1988*) mit 10 079 Teilnehmern aus 52 Zentren weltweit, die mit Hilfe von standardisierten Messmethoden für den Blutdruck und die Ausscheidung von Natrium im Urin über einen Zeitraum von 24 Stunden hinweg belegen konnte, dass die Salzaufnahme ein wichtiger, bestimmender Faktor für den Blutdrucklevel von Individuen innerhalb einer Bevölkerungsgruppe und für den altersbedingten Anstieg des Blutdrucks einer gesamten Bevölkerungsgruppe ist. Regressionsanalysen über die Daten von 48 Zentren (exklusive der vier Zentren mit indigenen Bevölkerungsgruppen mit sehr niedriger Natriumaufnahme) erlaubten die Schätzung, dass eine um 2,3 g niedrigere, tägliche Natriumaufnahme zu einem um 9/4,5 mm Hg geringeren Anstieg des Blutdrucks über einen Zeitraum von 30 Jahren führen würde. Hervorzuheben waren die vier

Zentren mit indigenen Bevölkerungsgruppen der Yanomami, aus Xingu, Papua Neu-Guinea und Kenia, die mit 0,1 - 1,2 g/Tag eine sehr niedrige Natriumzufuhr hatten und bei denen kein altersbedingter Anstieg des Blutdrucks zu beobachten war (*Mancilha-Carvalho und de Souza e Silva, 2003*).

Eine weitere Studie, die INTERMAP-Studie (*Stamler et al., 2003*) mit 4 680 Teilnehmern im Alter von 40 - 59 Jahren aus 17 Zentren in vier Ländern (Vereinigtes Königreich, USA, China und Japan), bestätigte Ergebnisse aus der INTERSALT-Studie. In China und Japan, wo die Prävalenz von Bluthochdruck und Schlaganfall hoch war, war die Natriumaufnahme höher und die Kaliumaufnahme geringer als im Vereinigten Königreich und in den USA (*Zhou et al., 2003*).

In humangenetischen Studien wurde gezeigt, dass mehrere Gene zur Regulierung des Blutdrucks beitragen und somit komplexe Interaktionen zwischen einzelnen Genen und zwischen Genen und der Umwelt existieren. Die seltene Mutation eines einzelnen Gens kann zur Verminderung der Ausscheidung von Natrium über die Niere führen und führt bei Salzkonsum zu hohem Blutdruck. Umgekehrt kann eine erhöhte Natriumausscheidung zu niedrigem Blutdruck führen, der bei Salzzufuhr ansteigt (*Lifton et al., 2001*).

Eine Migrationsstudie an einem ländlichen Bevölkerungsstamm in Kenia zeigte, dass nach dem Umzug in ein urbanes Umfeld die Kaliumaufnahme sank, die Natriumaufnahme zunahm und der Blutdruck nach ein paar Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe anstieg (*Poulter et al., 1990*). Ähnliche Beobachtungen wurden an den Yi, einer Minderheit aus dem südwestlichen China gemacht, bei denen nach der Migration in städtische Gebiete die Kochsalzaufnahme ebenso wie der Blutdruck anstieg (*He et al., 1991*).

Die Vielzahl der durchgeführten Behandlungsstudien zur Salzreduktion mit Probanden mit normalem oder erhöhtem Blutdruck wurde in zahlreichen Metaanalysen (*Law et al., 1991; Midgley et al., 1996; Cutler et al., 1997; He und MacGregor, 2004; Graudal et al., 2011*) integriert betrachtet. Eine durchschnittliche, tägliche Natriumreduktion um 1,1 g führte bei Hypertonikern zu einer Senkung des Blutdrucks um 5/7 mm Hg und bei Normotonikern um 2,5/1,5 mm Hg und der Effekt war umso größer, je geringer die Natriumaufnahme war (*Law et al., 1991*). Die Metaanalysen von *Cutler et al. (1997)* und *He und MacGregor (2004)* kamen zu vergleichbaren Ergebnissen. Die Metaanalysen von *Midgley et al. (1996)* und *Graudal et al. (2011)* bestätigten den blutdrucksenkenden Effekt einer Natriumreduktion bei Hypertonikern, jedoch nicht bei Normotonikern, sodass keine generelle Empfehlung für eine Natriumreduktion ausgesprochen wurde. Die Einschätzungen der beiden letztgenannten Metaanalysen wurden allerdings kritisch diskutiert, da jeweils nur Studien mit einer sehr kurzen Dauer von 8 - 14 Tagen berücksichtigt wurden, bei denen die Effekte einer längerfristi-

gen Salzreduktion nicht beobachtet werden konnten (*He und MacGregor, 2007*). Eine der bekanntesten Behandlungsstudien ist die DASH-Diät (Dietary Approaches to Stop Hypertension), die den Einfluss von drei verschiedenen Salzaufnahmen (8, 6 und 4 g/Tag) innerhalb von zwei Diäten (typisch amerikanische Diät (Kontrolldiät) und DASH-Diät mit viel Obst, Gemüse und fettreduzierten Milchprodukten) auf den Blutdruck untersuchte. Sowohl bei Hyperals auch bei Normotonikern nahm bei beiden Diäten der Blutdruck bei Salzreduktion ab, wobei eine Dosis-Wirkungs-Beziehung ermittelt werden konnte. Die DASH-Diät allein hatte aber im Vergleich zur Kontrolldiät bereits einen deutlich blutdrucksenkenden Effekt, sodass eine zur Verringerung des Blutdrucks geeignete Ernährung weniger Salz und mehr Obst, Gemüse und fettreduzierte Milchprodukte enthalten sollte (*Sacks et al., 2001*).

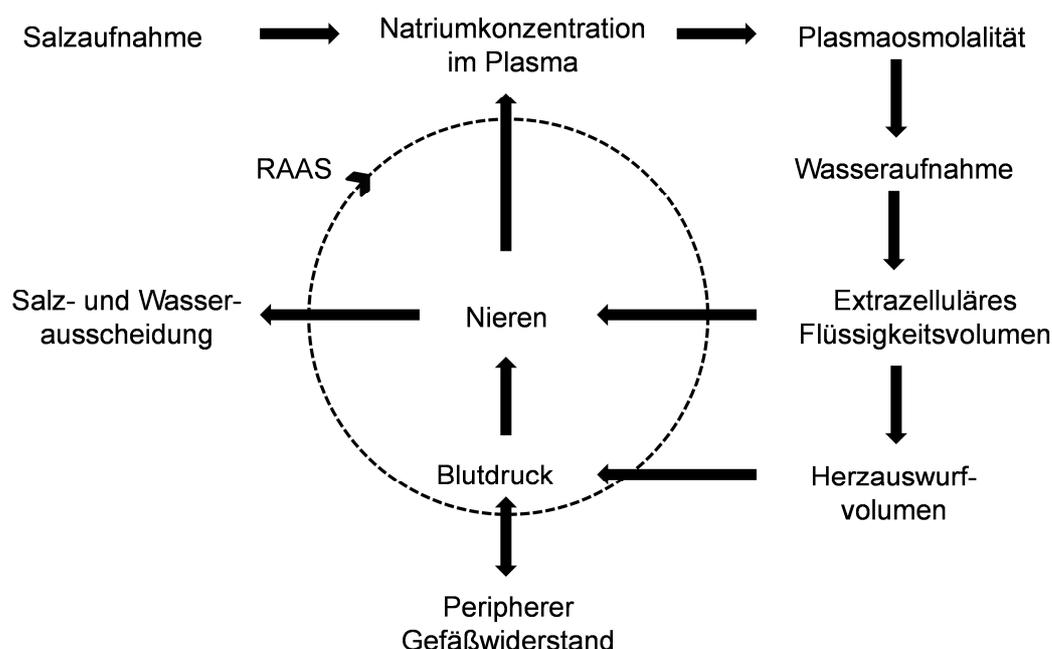
Zahlreiche Tierstudien an Ratten, Hunden, Hühnern, Kaninchen, Pavianen und Schimpansen belegen den Zusammenhang zwischen erhöhter Salzaufnahme und Erhöhung des Blutdrucks (*He und MacGregor, 2007*). Bei Schimpansen, die eine 98,8%ige genetische Homologie zum Menschen aufweisen, veränderte sich der Blutdruck in der Kontrollgruppe mit einer Salzaufnahme von 0,5 g/Tag nicht, während er in der Interventionsgruppe mit einer Salzaufnahme von 5 g/Tag nach 19 Wochen um 12 mm Hg (systolisch) anstieg, bei Erhöhung der Salzaufnahme auf 10 und 15 g/Tag weiter zunahm und 20 Wochen nach Ende der Gabe von Salz wieder auf das Anfangsniveau sank (*Denton et al., 1995*).

Weitere Erkenntnisse, die einen Zusammenhang zwischen Bluthochdruck und Salzaufnahme herstellen, basieren auf bevölkerungsbasierten Interventionsstudien. In zwei portugiesischen Orten mit je etwa 800 Einwohnern mit einer hohen Salzaufnahme von 21 g/Tag war die Prävalenz von Bluthochdruck und Schlaganfall sehr hoch. Durch gezielte Aufklärung wurde die tägliche Salzaufnahme in einem der Orte über zwei Jahre hinweg um 50 % reduziert, sodass sich der mittlere Blutdruck der Bewohner nach zwei Jahren zwischen beiden Orten um 13/6 mm Hg unterschied (*Forte et al., 1989*). Eine ähnlich angelegte Studie aus Tianjin, China, zeigte, dass bei Männern eine Differenz von 2,4 g Salz/Tag zwischen der Interventions- und der Kontrollregion mit einem Unterschied von 5 mm Hg (systolisch) assoziiert war (*Tian et al., 1995*). In Finnland, wo in den letzten 30 Jahren die Natriumaufnahme der Bevölkerung im Durchschnitt um ein Drittel reduziert werden konnte, fiel der mittlere Blutdruck um mehr als 10/10 mm Hg und die Prävalenz von Schlaganfällen und koronaren Herzerkrankungen nahm ab (*Karppanen und Mervaala, 2006*).

Obwohl der in dieser Vielzahl von Studien belegte Zusammenhang zwischen Kochsalzaufnahme und Bluthochdruck inzwischen trotz einiger kontroverser Diskussionen (*Graudal et al., 2011*) weitgehend als wissenschaftlich gesichert gilt, ist der zugrundeliegende Mechanismus im Körper noch nicht vollständig geklärt. Es ist bekannt, dass verschiedene Individuen in Bezug auf Blutdruck unterschiedlich auf Schwankungen in der Salzaufnahme reagie-

ren. Sogenannte salzresistente Personen sind im Gegensatz zu salzsensitiven Personen in der Lage zunehmende Salzmengen ohne Anstieg des Blutdrucks auszuscheiden. Der Anteil an salzsensitiven Personen liegt Schätzungen zufolge mit 50 - 60 % unter Hypertonikern weit höher als unter Normotonikern mit 15 - 20 %. Zur Ursache dieser erhöhten Sensitivität, die auch bei Diabetikern vermehrt auftritt, liegen bisher wenige Erkenntnisse vor (*Weinberger, 1996*).

Im Mechanismus spielen die Nieren bekanntermaßen eine Schlüsselrolle, da sie für die Natriumausscheidung verantwortlich sind. Ist die Funktion der Nieren zur Natriumexkretion eingeschränkt, steigt die Natriumkonzentration im Plasma an und es wird mehr Wasser im Körper zurückgehalten, sodass kompensatorische Mechanismen stimuliert werden, die letztlich zur Erhöhung des Blutdrucks führen und es dadurch den Nieren erleichtern Natrium auszuscheiden. Die höhere Natriumkonzentration im Plasma beeinflusst direkt das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen, das ansteigt und zu einem höheren Herz auswurfvolumen führt, welches wiederum zu einer Erhöhung des Blutdrucks beiträgt (**Abbildung 1**).



**Abbildung 1:** Regulierung der Natriumkonzentration im Plasma und des Blutdrucks über die Niere (nach *Meneton et al., 2005* und *He und MacGregor, 2007*). RAAS = Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.

Der altersbedingte Anstieg des Blutdrucks in allen Bevölkerungsgruppen, die mehr als 1,4 g Natrium/Tag aufnehmen, wird auf die mit dem Alter abnehmende Fähigkeit der Niere Natrium auszuscheiden zurückgeführt (*Meneton et al., 2005*). Mit Hilfe von genetischen Untersuchungen wurden über 20 Gene identifiziert, die in direktem Zusammenhang mit Bluthochdruck stehen. Die meisten dieser Gene kodieren für renale Ionenkanäle (epithelialer Natri-

umkanal ENaC, ATP-sensitiver Kaliumkanal ROMK, Chloridkanal CLCNKB) und Transporter ( $\alpha$ -Adducin als Modulator der Na-K-ATPase) oder für Bestandteile hormoneller (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System) und parakriner Systeme, die an der Regulierung der renalen Natrium-Reabsorption beteiligt sind (*Lifton et al., 2001*).

Obwohl eine erhöhte Salzaufnahme als einer der Hauptrisikofaktoren für Bluthochdruck identifiziert wurde, der wiederum ein Hauptrisikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist (*Morrison und Ness, 2011*), lässt sich ein direkter Zusammenhang zwischen einer Reduktion der Salzzufuhr in der Bevölkerung und weniger Todesfällen durch kardiovaskuläre Erkrankungen nur sehr schwer beziffern (*He und MacGregor, 2007*). Basierend auf Metaanalysen zum Ausmaß der Senkung des Blutdrucks nach Reduktion der Salzaufnahme und dem Zusammenhang zwischen Blutdruck und Schlaganfall sowie ischämischen Herzkrankheiten (IHK) gehen Schätzungen davon aus, dass eine Reduktion der täglichen Salzaufnahme um 3 g 13 % der Todesfälle durch Schlaganfall und 10 % der Todesfälle durch IHK im Vereinigten Königreich verhindern könnte. Eine Senkung der Salzaufnahme um 6 bzw. 9 g hätte in etwa den doppelten bzw. dreifachen Effekt, sodass bis zu 20 500 Todesfälle durch Schlaganfall und 31 400 Todesfälle durch IHK vermieden werden könnten (*He und MacGregor, 2003*). Eine prospektive Kohortenstudie aus Finnland an 1 173 Männern und 1 263 Frauen im Alter von 25 - 64 Jahren konnte eine direkte Assoziation zwischen Salzaufnahme und Todesfällen durch IHK nachweisen (*Tuomilehto et al., 2001*). Das Risiko für IHK nahm mit erhöhter Salzaufnahme für normal- und übergewichtige Menschen zu, wobei der Effekt bei übergewichtigen Menschen stärker ausgeprägt war (*Tuomilehto et al., 2001*). Eine Reduktion der Salzaufnahme würde somit in der Gesamtbevölkerung zu einem verminderten Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen führen, wobei gefährdete Risikogruppen wie Senioren, Menschen mit bereits erhöhtem Blutdruck und übergewichtige Personen besonders von einer geringeren Salzzufuhr profitieren könnten (*Morrison und Ness, 2011*).

Unabhängig vom oder additiv zum blutdrucksteigernden Effekt mehren sich die Hinweise darauf, dass Natriumchlorid weitere schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit hat (*de Wardener und MacGregor, 2002*).

Die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) ist unabhängig vom Blutdruck ein wichtiger Risikofaktor für IHK. Bei normo- und hypertonen Personen konnte eine positive Korrelation zwischen der Natriumausscheidung über den Harn als Maß für die Salzaufnahme und der linksventrikulären Muskelmasse etabliert werden. Die Natriumausscheidung war dabei eine unabhängige und aussagekräftigere Kenngröße für die linksventrikuläre Wandstärke als der Blutdruck (*Schmieder et al., 1988*). Eine Reduktion der Natriumzufuhr führte in Patienten mit Hypertonie zu einer Abnahme der linksventrikulären Muskelmasse (*Jula und Karanko, 1994; Liebson et al., 1995*).

Die Verhärtung von Arterien, die sich in einem messbaren Anstieg der Pulsamplitude oder der Pulswellengeschwindigkeit äußert, ist ein weiteres, wichtiges Anzeichen für IHK. Eine Erhöhung der Natriumzufuhr führte sowohl in Tierversuchen als auch bei Menschen zu einer zunehmenden Verhärtung und Vergrößerung der Wanddicke der Arterien (*de Wardener und MacGregor, 2002*). Eine geringere Natriumzufuhr führte bei Patienten mit systolischem (*Gates et al., 2004; He et al., 2005*) und bei Patienten mit systolischem und diastolischem Bluthochdruck zu einer Verbesserung der Elastizität der Arterien (*He et al., 2005*).

Hypertonie ist außerdem ein Hauptrisikofaktor für Schlaganfall, sodass mit einer Senkung des Blutdrucks über eine Reduktion der Salzaufnahme das Risiko für Schlaganfall abnimmt. Darüber hinaus haben epidemiologische Studien gezeigt, dass eine erhöhte Salzzufuhr unabhängig vom Blutdruck einen direkten Effekt auf die Schlaganfallinzidenz hat. Eine salzreiche Kost war mit einem signifikant erhöhten Risiko für Schlaganfall assoziiert (*Perry und Beevers, 1992; Strazzullo et al., 2009*).

Eine Erhöhung der Natriumaufnahme führt zu einer verstärkten Calciumausscheidung über die Niere. Dieser Anstieg kann zu einer vermehrten Bildung von Nierensteinen führen, da diese hauptsächlich aus Calcium bestehen (*Cappuccio, 2000*). Bei konstanter Aufnahme kann der Verlust von Calcium zusätzlich zu einer Erhöhung der Knochengewebe-Remodellierungsrate und möglicherweise zu einer Verringerung der Knochendichte führen. Aufgrund adaptiver Mechanismen im Körper zur Steigerung der intestinalen Calciumabsorption sind die Zusammenhänge zwischen Natrium-, Calcium- und Kaliumaufnahme und -ausscheidung und deren Einfluss auf das Knochengewebe noch nicht abschließend geklärt (*Cappuccio, 2000; Heaney, 2006*).

In epidemiologischen, Fall-Kontroll- und Kohortenstudien konnten weiterhin Korrelationen zwischen einer erhöhten Salzaufnahme und einem gesteigerten Risiko für Magenkrebs aufgestellt werden. Die Salzzufuhr war ebenfalls mit der Rate an *Helicobacter pylori*-Infektionen assoziiert, die als Ursache für Magen- und Darmgeschwüre und Magenkrebs gelten. Außerdem könnte Salz durch direkte Irritation der Magenschleimhaut zu einer temporären Zellproliferation mit endogenen Mutationen (*Wang et al., 2009*) oder zu einer erleichterten Infektion mit *H. pylori* führen (*He und MacGregor, 2007*).

Zu weiteren Natrium-assoziierten Gesundheitsgefährdungen seien zuletzt noch Studien aus England und Wales genannt, die zeigten, dass sich die Symptome von männlichen Asthmatikern bei höherer Salzaufnahme verschlechterten (*de Wardener und MacGregor, 2002, He und MacGregor, 2007*).

Aufgrund der Tatsache, dass die tägliche Natriumzufuhr in den meisten Bevölkerungsgruppen mit 3,5 - 4,7 g Natrium/Tag (*Intersalt, 1988*) und in Deutschland mit 2,5 - 3,5 g Natri-

um/Tag (*NVS II*) den physiologischen Grundbedarf bei weitem übersteigt und der direkten Assoziation zwischen erhöhter Aufnahme von Natriumchlorid und einem erhöhten Risiko für Bluthochdruck, den damit verbundenen kardiovaskulären Folgeerkrankungen und dem erhöhten Risiko für renale und weitere Erkrankungen, wurden von zahlreichen nationalen und internationalen Organisationen Richtwerte für eine Reduktion der Natriumaufnahme festgelegt. Das Scientific Committee on Food (SCF) legte eine akzeptable Zufuhr von 0,6 - 3,4 g Natrium/Tag (*SCF, 1993*) fest. Im Vereinigten Königreich wurde ein Richtwert von 2,4 g Natrium/Tag empfohlen (*SACN, 2003*) und als Guideline Daily Amount (GDA) etabliert. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) sieht eine Aufnahme von 2 g Natrium/Tag (*WHO, 2007*) vor und das amerikanische Food and Nutrition Board befürwortet den Dietary Reference Intake (DRI) im Alter von 18 bis 50 Jahren bei 1,5 g mit einem oberen Limit von 2,3 g Natrium/Tag, im Alter von 51 bis 70 Jahren bei 1,3 g und im Alter über 70 Jahren bei 1,2 g Natrium/Tag (*FNB, 2004*). Um diese Reduktionsziele in der Bevölkerung zu erreichen, empfiehlt die WHO eine Zusammenarbeit mit der Lebensmittelindustrie, die dazu angehalten wird, den Salzgehalt ihrer Produkte auf den geringsten, machbaren Wert zu reduzieren und zu harmonisieren. Darüber hinaus sollen Lebensmittel klar gekennzeichnet sein, um sicherzustellen, dass gesunde (salzarme) Lebensmittel die einfachste und beste Wahl für den Verbraucher sind. Mit Hilfe von Kampagnen zur Gesundheitsförderung und Informationsveranstaltungen sollen Verbraucher zudem über mögliche Gesundheitsgefährdungen durch zu hohen Kochsalzkonsum aufgeklärt werden (*WHO, 2007*).

## **1.2 Strategien zur Natriumreduktion in Lebensmitteln**

Natriumchlorid wird in Westeuropa zu 70 - 80 % über verarbeitete Lebensmittel, Kantinen-, Restaurant- und Fastfood-Gerichte, zu 10 - 15 % über die Salzzugabe beim Kochen und nur zu 5 - 10 % über den natürlichen Gehalt in den Lebensmitteln aufgenommen (*James et al., 1987; Mattes und Donnelly, 1991*). In Deutschland sind die Hauptzufuhrquellen für Natrium in der Ernährung Brot und Getreideprodukte mit einem Anteil von 25 %, gefolgt von Fleisch- und Wurstwaren mit 15 %, Milch- und Käseprodukten und Gemüse mit je 10 % und alkoholfreien Getränken, Suppen und Soßen mit je 5 % (*NVS II*). Der überwiegende Anteil an Natrium liegt dabei als Kochsalz, aber auch als Bestandteil von Lebensmittel-Hilfs- und Zusatzstoffen vor. Aufgrund der sehr hohen Natriumaufnahme über verarbeitete Lebensmittel sollten Programme zur Reduktion der Salzaufnahme in der Bevölkerung den Fokus hauptsächlich auf die Verringerung der Salzzugabe bei der Herstellung richten (*James et al., 1987*).

Die Zugabe von Kochsalz erfolgt erstens aufgrund des Geschmacks, da nur Natriumchlorid den reinen, reinen Salzgeschmack aufweist (*Pfaffmann, 1957*), Bitterkeit zu maskieren vermag (*Breslin, 1996*) und die Grundlage für den gesamten Aroma- und Geschmackseindruck

eines Lebensmittels bildet (*Kilcast und den Ridder, 2007*). Zweitens dient Kochsalz als Hilfsmittel bei der Verarbeitung, beispielsweise zur Verbesserung der Textureigenschaften, des Wasserbindungsvermögens und der Kohäsion. Drittens wird es als Konservierungsmittel gegen mikrobiellen Verderb durch Senkung der Wasseraktivität eingesetzt (*Man, 2007*). Aufgrund dieser bedeutenden sensorischen und technologischen Funktionen von Kochsalz in Lebensmitteln ist ein vollständiger Ersatz meist unmöglich, sodass der Großteil der Strategien zur Natriumreduktion auf einem partiellen Ersatz von Kochsalz basiert.

Die natürlichste Methode ist sicherlich die langsame Salzreduktion in kleinen Schritten über einen längeren Zeitraum hinweg, die vom Verbraucher auf diese Weise nicht bemerkt und somit akzeptiert wird. *Girgis et al. (2003)* konnten so den Kochsalzgehalt in Brot durch Senkung des Anfangsgehalts um je 5 % pro Woche innerhalb von sechs Wochen von 2 % auf 1,5 % reduzieren, ohne dass die Testpersonen den Unterschied feststellen konnten. Ähnliche Änderungen der Rezeptur fanden bei Snacks (*Ainsworth und Plunkett, 2007*), Lachskaviar (*Bledsoe et al., 2003*), Cheddar Käse (*Lindsay et al., 1982*) und Baked Beans (*Robinson, 2007*) Anwendung.

Eine weitere Strategie der Kochsalzreduktion ist die Verwendung von Ersatzstoffen. Dabei kommen Salze mit Kalium, Calcium oder Magnesium als Kation und Chlorid, Phosphat, Sulfat oder Carbonat als Anion zum Einsatz (*Kilcast und den Ridder, 2007; Toldrá und Barat, 2009*). Als problematisch erweist sich neben dem Salzgeschmack der bitter-metallische Nebengeschmack dieser Kalium-, Calcium- oder Magnesiumsalze, sodass diese einzeln oder in Mischungen nur bis zu einem bestimmten, prozentualen Anteil Natriumchlorid ersetzen können. Aufgrund der ähnlichen Eigenschaften wird Kaliumchlorid häufig als Substitut verwendet, wobei ein Austausch von bis zu 20 % in Brot (*Salovaara, 1982b*) und bis zu 50 % in speziellen Produkten als sensorisch unproblematisch gilt. Um die auftretende Bitterkeit zu maskieren, ist ein Zusatz von Bitterinhibitoren wie Adenosin-5'-monophosphat (AMP) denkbar (*Ming et al., 1999*).

Außerdem sind einige Substanzen bekannt, die selbst keinen Salzgeschmack aufweisen, diesen jedoch in Verbindung mit Natrium verstärken. Dazu gehören beispielsweise die Aminosäuren Glycin (*Gou et al., 1996*), L-Lysin und L-Arginin, L-Arginyldipeptide (*Schindler et al., 2011*), die Natrium-, Kalium- und Calciumsalze der Milchsäure (*Kilcast und den Ridder, 2007*), Trehalose (*Toshio, 1997*), Glutamat (*Okiyama und Beauchamp, 1998*) und Alapyridain (*Frank et al., 2001; Ottinger und Hofmann, 2003; Soldo et al., 2003*). Der Einsatz dieser Stoffe ist allerdings meist auf herzhaftere Lebensmittel beschränkt und durch eine zu geringe salzverstärkende Aktivität sowie durch auftretende Fehleraromen oder Fehlgeschmacksnoten limitiert.

Ein weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Gewürzen, aroma- und geschmacksgebenden Zutaten wie Weizenkleie, Weizenkeimen oder anderen Getreidesorten in Brot (*Cauvain, 2007*) oder eine Verbesserung durch Sauerteig (*Katina et al., 2005*).

Nachdem Natriumchlorid nur in Lösung einen salzigen Geschmack aufweist, basieren weitere Strategien auf der Modifikation der NaCl-Struktur zur Steigerung der Löslichkeit, da sich kleinere Kristalle mit einer möglichst großen Oberfläche schneller lösen und somit früher als salzig wahrgenommen werden. Mikrokristalline NaCl-Kristalle führten bei einem Kartoffel-snack somit zu einem schnelleren Anstieg des wahrgenommenen Salzgeschmacks (*Kilcast und den Ridder, 2007*).

Für flüssige Lebensmittel wurde eine Mischung aus Mono- und Triglycerid-Kristallen entwickelt, die eine W/O-Emulsion stabilisieren und eine Salzlösung im Inneren trotz des osmotischen Gradienten sehr effektiv verkapseln. Die Salzfreesetzung hing nur von der Temperatur ab, sodass 5 % des gesamten Salzgehalts bei 22 °C erst nach 70 Tagen freigesetzt wurden, bei 50 °C jedoch nach 20 s und so eine Möglichkeit zur Kontrolle der Freisetzungsrates bieten (*Frasch-Melnik et al., 2010*).

Eine kontinuierliche Zufuhr von 500 mmol NaCl/L führte über einen Zeitraum von 60 s zu einer Abnahme der Geschmacksintensität. Im Gegensatz dazu nahm die Salzintensität durch alternierende Stimulierung mit 500 mmol NaCl/L (2 s) und Wasser (1 bzw. 2 s) über denselben Zeitraum von 60 s hin zu (*Meiselman und Halpern, 1973*). Diese auf dem Prinzip des sensorischen Kontrasts basierenden Untersuchungen, die auf der Vermeidung der Adaption an einen kontinuierlichen Stimulus beruhen, konnten von *Morris et al. (2009)* und *Busch et al. (2009)* bestätigt werden. Die Salzigkeit eines Brots mit durchschnittlich 1,5 % NaCl aus alternierenden Teigschichten mit hohem (3 % laut Rezeptur, 2,84 % laut Messung) und niedrigem Salzgehalt (0 % laut Rezeptur, 0,24 % laut Messung) konnte nicht mehr von der eines homogenen Brots mit insgesamt 2 % NaCl differenziert werden, sodass eine Salzreduktion um mehr als 25 % möglich war (*Noort et al., 2010*). Die auf dem gleichen Prinzip beruhende Verwendung von fettverkapselten NaCl-Kristallen ermöglichte ebenfalls eine Steigerung der Salzwahrnehmung in Brot (*Noort et al., 2012*).

Weitere Strategien machen sich die als aromainduzierte Salzgeschmacksverstärkung (odor-induced saltiness enhancement, OISE) bekannten Interaktionen zwischen Geruchs- und Geschmackssinn zunutze (*Tournier et al., 2007*). Der Einsatz von Aromen, die mit salzigen Zutaten wie Käse, Sardinen, Sojasauce oder Schinken assoziiert sind, kann so durch Verstärkung der Salzwahrnehmung einen reduzierten Salzgehalt kompensieren. Der Vergleich der wahrgenommenen Salzintensität in aromatisierten und nicht aromatisierten Modellkäsen mit identischen Salzgehalten zeigte bei Zusatz von Comte-Käse- oder Sardinenaroma eine

signifikante Verstärkung der Salzintensität. Karottenaroma, das nicht mit Salzigkeit assoziiert ist, führte folglich zu keinem salzverstärkenden Effekt (*Lawrence et al., 2011*). Somit kann die Zugabe von geeigneten, kongruenten Aromen einen Verlust der Salzigkeit teilweise ausgleichen.

Alles in allem stellt die Reduktion von Kochsalz in Lebensmitteln vor allem aufgrund der sensorischen Eigenschaften eine Herausforderung dar, sodass meist eine Kombination mehrerer Strategien nötig ist. Für eine erfolgreiche Salzreduktion sind Anpassungen der Rezeptur zur Kompensation des Verlustes organoleptischer Eigenschaften durch Ersatzstoffe, Geschmacksverstärker, Salz mit modifizierter Kristallstruktur oder Aromen notwendig. Darüber hinaus kann die Lebensmittelmatrix durch Anpassung der funktionellen Eigenschaften von Emulsionen oder der Textur von festen Lebensmitteln so verändert werden, dass die Salzwahrnehmung gesteigert wird (*Busch et al., 2012*).

### **1.3 Technofunktionelle Eigenschaften von Natriumchlorid in Backwaren**

Einige der unter Punkt 1.2 diskutierten Strategien zur Reduktion von Natriumchlorid lassen sich in Brot und Backwaren nur bedingt einsetzen, da Kochsalz neben den sensorischen zahlreiche technofunktionelle Eigenschaften besitzt.

Die wichtigsten Funktionen sind die Unterstützung der Bildung der Kleberstruktur während des Anteigens, die Inhibierung der Hefeaktivität während der Gare und die Senkung der Wasseraktivität der Backwaren (*Cauvain, 2007*).

Während der Teigbildung verlängert Natriumchlorid erstens die Knetzeit von Teig. Dieser Effekt konnte sowohl im Farinographen (*Hlynka, 1962; Tanaka et al., 1967; Maher Galal et al., 1978; Preston, 1989*) als auch im Mixographen (*Danno und Hoseneý, 1982; Lang et al., 1992*) nachgewiesen werden. In Großbäckereien ist daher eine verspätete Salzzugabe üblich, da Salz die Knetzeit nicht mehr verlängert, wenn die Zudosierung in den hydratisierten Teig erfolgt, der bereits zu einer kontinuierlichen Masse geworden ist (*Miller und Hoseneý, 2008*). Eine Abnahme der Wasseraufnahme mit Salz konnte in diesen Farinographenmessungen ebenfalls gezeigt werden.

Die durch Salz hervorgerufene Stärkung der Kleberstruktur und die daraus resultierende Verbesserung der Teigeigenschaften wurden nicht nur im Farinographen und Mixographen, sondern auch im Extensographen (*Tanaka et al., 1967; Preston, 1989*) und in Backversuchen (*Holmes und Hoseneý, 1987; He et al., 1992*) beobachtet. Geringe Salzmengen führen zu einer Abschirmung der positiven Nettoladung der Kleberproteine bei dem im Teig vorherr-

schenden pH-Wert um 6,0 (*Preston, 1981*) und erleichtern durch Verringerung der ionischen Abstoßung die Interaktionen zwischen den Proteinsträngen. Durch die verbesserte Aggregation kann sich das Proteinnetzwerk stärker ausbilden. Neben der Wirkung auf die Proteine beeinflusst Salz auch die wässrige Phase des Teigs und begrenzt die Verfügbarkeit von freiem Wasser. Infolgedessen verlängert sich die Zeit zur Hydratisierung des Mehls, insbesondere der Kleberproteine, und hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den Proteinsträngen werden begünstigt (*Cauvain, 2007*).

Zweitens beeinflusst Natriumchlorid durch die Regulation der Fermentationsrate der Hefe die Vorgänge während der Gare. Eine Erhöhung des Salzgehalts führt aufgrund des osmotischen Drucks auf die Zellmembran der Hefezellen zu einer Inhibierung der Fermentation (*Matz, 1992*) und zu einer geringeren Gasbildung. In salzreduzierten Broten nahm mit sinkendem Salzgehalt die Teighöhe im Rheofermentometer zu und das Gesamtvolumen an gebildetem Gas war höher, da die Hefe weniger stark gehemmt wurde. Allerdings sank gleichzeitig das Gashaltevermögen des Teigs, was auf die schwächere Kleberstruktur zurückgeführt werden konnte (*Lynch et al., 2009; Beck et al., 2012b*).

Drittens ist Natriumchlorid während des Backens für die Bildung einer homogenen Krumenstruktur mit verantwortlich (*Matz, 1992*). Im Vergleich zu Broten mit 0,3, 0,6 und 1,2 % Salz wiesen Brote ohne Salz weniger, aber dafür signifikant größere Poren auf (*Lynch et al., 2009*).

Im fertigen Produkt war das spezifische Volumen, das als Quotient aus Brotvolumen und Brotgewicht definiert ist, trotz der höheren Fermentationsrate der Hefe nicht signifikant unterschiedlich in Broten mit 0 - 1,2 % (*Lynch et al., 2009*) und 0 - 2 % Kochsalz (*Beck et al., 2012b*). Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Verlängerung der Haltbarkeit von Brot. Mit Wasseranteilen von etwa 35 - 42 % (Wasseraktivität  $a_w = 0,88 - 0,95$ ) ist Brot sehr anfällig für mikrobiellen Verderb, vor allem durch Schimmelpilze. Der Kochsalzzusatz führt durch die Hydratation der Natrium- und Chloridionen zu einer Senkung der Wasseraktivität in Brot, wodurch das Wachstum von Mikroorganismen gehemmt wird (*Cauvain, 2007*). In Bezug auf das Altbackenwerden von Brot konnten mittels Texture Profile Analyser (TPA) keine signifikanten Unterschiede in der Krumenhärte bei Broten mit 0 - 2 % Kochsalz und einer Lagerung für 24, 96 und 168 Stunden (*Beck et al., 2012b*) und bei Broten mit 0 - 1,2 % Kochsalz und einer Lagerung für 2 und 50 Stunden (*Lynch et al., 2009*) festgestellt werden. Nur Brotkrume ohne Salz war nach 120 Stunden signifikant härter (*Lynch et al., 2009*). Das Altbackenwerden von Brotkrume ist ein komplexes, noch nicht vollständig verstandenes Phänomen, das auf Modifikationen von Kleber und Stärke beruht, wobei die Retrogradation der Stärke vermutlich die entscheidendere Rolle spielt (*Gray und Bemiller, 2003*). Die Retrogradationsrate der Stärke ist direkt proportional zum Wassergehalt. Ohne Natriumchlorid wird die Wasser-

migration von der Krume zur Kruste nicht durch Reduktion der Wassermobilität gehemmt, woraus ein trockeneres System mit schnellerem Altbackenwerden resultiert. Aufgrund der etwas widersprüchlichen Resultate beider Arbeiten müsste der Effekt von NaCl auf das Altbackenwerden genauer untersucht werden.

Insgesamt wurden jedoch die rheologischen Eigenschaften und die technologische Qualität von Brot nach *Lynch et al. (2009)* bei einer Reduktion des Natriumchloridgehalts ausgehend von 1,2 % auf bis zu 0,3 % nicht signifikant beeinflusst. Erst bei einem vollständigen Verzicht auf Kochsalz in der Brotrezeptur traten signifikante Verschlechterungen der Teig- und Brotqualität im technologischen Bereich auf. Demnach scheint der sensorische Aspekt das Hauptproblem einer Natriumreduktion in Brot zu sein, da Brot ohne Salz als geschmacklos (*Miller und Hoskeny, 2008*) und als hefeartig, säuerlich und sauerteigartig empfunden wird (*Lynch et al., 2009*). Zusätzlich zum Salzgeschmack an sich ist Natriumchlorid für den gesamten Aroma- und Geschmackseindruck verantwortlich und kann den Süßgeschmack verstärken (*Ugawa et al., 1992*) sowie Bitterkeit maskieren (*Breslin und Beauchamp, 1995; Breslin, 1996*).

## 1.4 Sensorische Wahrnehmung

Die gustatorische Wahrnehmung der fünf Basisgeschmacksqualitäten süß, umami, bitter, sauer und salzig erfolgt einerseits über metabotrope G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, wobei das Heterodimer T1R2/T1R3 für den Süß-, das Heterodimer T1R1/T1R3 für den Umami- und 25 Rezeptoren der T2R-Familie für den Bittergeschmack verantwortlich sind. Andererseits werden der Sauer- und der Salzgeschmack über H<sup>+</sup>- und Na<sup>+</sup>-spezifische Ionenkanäle vermittelt (*Chandrashekar et al., 2006; Bachmanov und Beauchamp, 2007*). Neben der gustatorischen und olfaktorischen Wahrnehmung vervollständigen trigeminale Empfindungen wie scharf, elektrisierend, kühlend, heiß, adstringierend, kokumi und prickelnd (*Dunkel und Hofmann, 2010*) sowie texturabhängige Attribute (*Szczesniak, 2002*) den Gesamteindruck von Lebensmitteln.

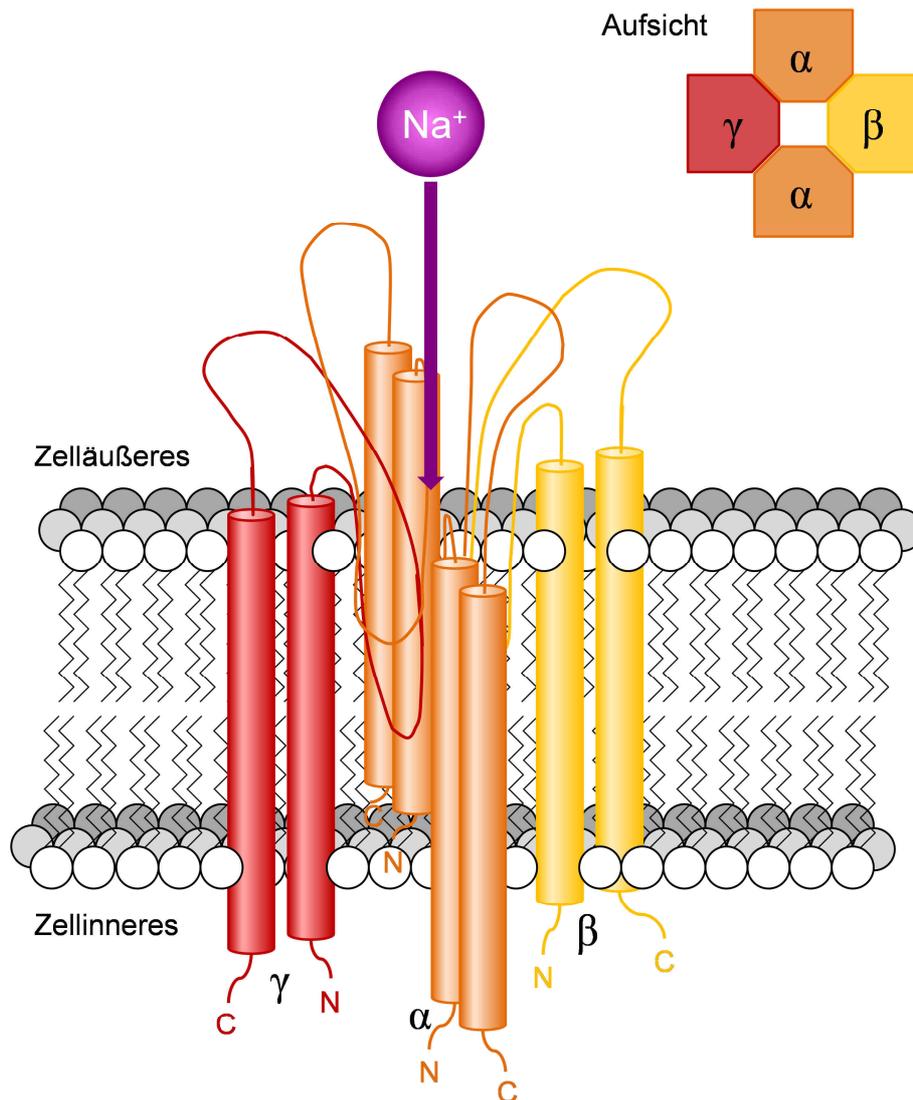
### 1.4.1 Wahrnehmung des Salzgeschmacks

Die einzigen Substanzen, die hauptsächlich salzig schmecken, enthalten Natrium oder Lithium, wobei andere Ionen wie Kalium, Calcium oder Magnesium ebenfalls eine salzige Geschmackskomponente aufweisen (*McCaughey, 2007*). Von allen Natriumsalzen schmeckt Natriumchlorid am salzigsten und je größer das Anion wird, desto mehr nimmt die wahrgenommene Salzigkeit ab (*Schiffman et al., 1980*). Der Salzgeschmack dient vor allem zur Identifizierung von Mineralien, die mit der Ernährung zugeführt werden müssen, um den

Elektrolythaushalt des Körpers zur Regulierung des Wasserhaushalts und der Blutzirkulation aufrecht zu erhalten (*Chandrashekar et al., 2010; Chaudhari und Roper, 2010*). Die Identität des humanen Salz-„Rezeptors“ ist noch nicht vollständig geklärt und wird in der Literatur kontrovers diskutiert (*Chandrashekar et al., 2010*).

Die meisten Erkenntnisse stützen sich auf Untersuchungen an Ratten. Diese haben gezeigt, dass besonders an den apikalen Enden der Geschmacksrezeptorzellen Amilorid-sensitive epitheliale Natriumkanäle (ENaCs) exprimiert werden. Wenn eine Ratte Natriumchlorid schmeckt, strömt Natrium passiv entlang des Konzentrationsgradienten durch den ENaC und in die Rezeptorzelle (*Heck et al., 1984*). Die Natriumaufnahme erhöht das Membranpotential des Zellinneren, sodass diese Depolarisierung der Zelle zu einer Ausschüttung von Neurotransmittern führt, die das Signal an das Gehirn weiterleiten. Da Amilorid jedoch nicht in der Lage ist den Salzgeschmack vollständig zu blockieren und der ENaC nur für  $\text{Li}^+$  und  $\text{Na}^+$  spezifisch ist, sind weitere Transduktionswege über Amilorid-insensitive, Cetylpyridiniumchlorid-sensitive Ionenkanäle an der Wahrnehmung von  $\text{Na}^+$  und anderen Salzen beteiligt (*DeSimone et al., 2001*). Die in Ratten exprimierten ENaCs setzen sich aus  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten zusammen (**Abbildung 2**), während die humanen ENaCs  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Untereinheiten aufweisen (*Stähler et al., 2008*).

Die humane Salzwahrnehmung von NaCl, Na-Gluconat und KCl wurde nicht durch Amilorid inhibiert, aber Amilorid führte zu einer Reduktion des sauren Nebengeschmacks (*Ossebaard und Smith, 1995*). Daher ist zum einen denkbar, dass sich der humane ENaC durch die  $\delta$ -Untereinheit von dem der Ratten in Bezug auf die Amilorid-Sensitivität unterscheidet, oder zum anderen, dass der ENaC beim Menschen nur teilweise für die Wahrnehmung des Salzgeschmacks verantwortlich ist. Als weitere, mögliche Amilorid-insensitive Transduktionswege werden eine Variante des Vanilloidrezeptors TRPV1 (*Treesukosol, 2007*) und der Ionenkanal TRPML3, der auch als MCOLN3 (Mucolipin 3) bekannt ist (*Moyer et al., 2009*), diskutiert. Chlorhexidin wurde als Inhibitor für den humanen Salzgeschmack von LiCl, NaCl, KCl und  $\text{NH}_4\text{Cl}$  identifiziert und war somit nicht nur für Natrium oder Lithium spezifisch (*Frank et al., 2001*). Der dieser Kationen- und Anionen-spezifischen Inhibierung zugrundeliegende Mechanismus ist bisher unbekannt und könnte somit zu einer Aufklärung der humanen Wahrnehmung des Salzgeschmacks beitragen (*McCaughey, 2007*).



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung des ENaC mit den  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten in der Zellmembran. Jede Untereinheit besteht aus zwei Transmembrandomänen, die über eine extrazelluläre Schleife verbunden sind (nach *Trivedi, 2013; Loffing und Schild, 2005; Kellenberger und Schild, 2002*).

Vor kurzem wurde im Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* ein transmembrane channel-like 1 (*tmc-1*)-Gen identifiziert, das für die Salzwahrnehmung entscheidend ist. Von *tmc-1* codierte Proteine könnten als Natrium-permeable Ionenkanäle dienen, die durch Natrium aktiviert werden und als Chemosensoren wirken (*Chatzigeorgiou et al., 2013*). Im Menschen sind acht Transmembranproteine der TMC-Klasse bekannt, deren physiologische Rolle noch nicht vollständig aufgeklärt wurde. Es wäre somit möglich, dass TMC-Proteine an der sensorischen Wahrnehmung von Salzgeschmack und auch von taktilen Stimuli beteiligt sind (*Coste und Patapoutian, 2013*).

### 1.4.2 Wahrnehmung von taktilen Stimuli im Mundraum

Die Definition der Textur umfasst die sensorische und funktionelle Erscheinung der strukturellen, mechanischen und die Oberfläche betreffenden Eigenschaften von Lebensmitteln, die visuell, auditiv, taktil und kinästhetisch wahrgenommen werden (*Szczesniak, 2002*). In dieser Definition sind vier wichtige Merkmale enthalten. Erstens ist die Textur eine sensorische Eigenschaft und kann also solche nur von Menschen (oder Tieren) wahrgenommen und beschrieben werden. Instrumente zur Texturmessung können stets nur bestimmte physikalische Parameter erfassen und quantifizieren, die dann im Bezug zur sensorischen Wahrnehmung interpretiert werden müssen. Zweitens handelt es sich bei der Textur um ein Attribut, das eine Vielzahl von charakteristischen Parametern umfasst. Diese Parameter leiten sich aus der molekularen, mikroskopischen und makroskopischen Struktur von Lebensmitteln ab und werden von mehreren Sinnesorganen wahrgenommen, von denen der Tastsinn der wichtigste ist (*Szczesniak, 2002*).

Die Komplexität der Textur zeigt sich am deutlichsten in der Vielzahl an Begriffen, die zu ihrer Beschreibung verwendet werden. Zu den Begriffen, die zur Charakterisierung fester und halbfester Lebensmittel dienen, gehören Härte, Festigkeit, Viskosität, Elastizität, Klebrigkeit, Zähigkeit, Krümeligkeit, Kaubarkeit, Gummiartigkeit, Partikelgröße und -form, Wasser- und Fettgehalt. Bei flüssigen Lebensmitteln beziehen sich die Attribute auf die Viskosität, das Gefühl bei Berührung im Mundraum, prickelnde, adstringierende oder brennende Eigenschaften, die Belegung des Mundraums, den Widerstand gegen Zungenbewegungen und das Gefühl nach dem Schlucken. Während manche Parameter, wie die Festigkeit als Maß für den Widerstand eines Lebensmittels gegen kompressible Kräfte gut definiert und messbar sind, ist die Begriffsbestimmung bei anderen Merkmalen wie Cremigkeit und Saftigkeit deutlich schwieriger (*Szczesniak, 2002*).

Bei der Beschreibung von Lebensmitteln wird von Konsumenten üblicherweise deren Geruch und Geschmack, nicht jedoch deren Textur, erwähnt. Obwohl die Texturwahrnehmung meist im Unterbewusstsein stattfindet, ist die Textur ein essentielles Kriterium für die Akzeptanz oder Ablehnung (*Scott und Downey, 2007*) und für die korrekte Identifizierung von Lebensmitteln (*Engelen und de Wijk, 2012*).

Aufgrund ihrer Vielschichtigkeit ist über die Wahrnehmung der Textur wenig bekannt. Im Gegensatz zu den visuellen, auditiven, olfaktorischen und gustatorischen Sinnen gibt es keinen „Texturrezeptor“. Vielmehr wird die Texturempfindung über den ganzen Mundraum (Lippen, Zunge, Gaumen, Wangen und Zähne) verteilt von einer Fülle von Rezeptoren vermittelt. Zu diesen zählen Mechanorezeptoren, Proprio- und periodontale Rezeptoren (die ebenfalls zu den Mechanorezeptoren gehören), Nozizeptoren und Thermorezeptoren (**Tabelle 1**). Der

Mundraum ist ein für taktile und chemische Stimulation sehr sensitives Organ, da er einer der am dichtesten mit Nervenfasern und Rezeptoren bestückten Körperregionen ist. Darüber hinaus wird durch orale, taktile Stimuli ein vergleichsweise großes Areal des *primären, somatosensorischen Cortex* im Gehirn aktiviert (**Abbildung 3**).

**Tabelle 1:** Übersicht über Rezeptorarten, -strukturen und Transduktionswege für taktile Stimuli im Mundraum.

Rezeptorart	Rezeptorstruktur	Transduktionswege
Mechanorezeptoren	SA I, SA II, RA I	
Propriorezeptoren	Muskelspindeln Golgi-Sehnenorgane Rezeptoren in Gelenkkapseln SA II-Mechanorezeptoren	Degenerin/ENaC transient receptor potential (TRP) cyclic nucleotide-gated (CNG) stomatin-like protein 3 (SLP3) Calciumkanäle
Periodontale Rezeptoren	SA II-Mechanorezeptoren	
Nozizeptoren	freie Nervenendigungen	TRPV1, TRPV3, TRPM8, TRPA1 G-Protein gekoppelte Rezeptoren der Mrg-Klasse (A1, A3, B4, D) Opiod-Rezeptor (MOR) ATP-gated P2X3 acid sensing ion channels (ASIC) voltage-gated sodium channels (Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9)
Thermorezeptoren	freie Nervenendigungen	TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8, TRPA1

SA I: slowly adapting-Typ I; SA II: slowly adapting-Typ II; RA I: rapid-adapting-Typ I

Mechanorezeptoren im Mundraum übermitteln Informationen über Druck, Vibration und Bewegung und sind somit für die Texturwahrnehmung von Lebensmitteln und die Anpassung der Kau-, Zungen- und Gaumenbewegungen verantwortlich. Im Mund und auf den Lippen wurden drei Klassen an low-threshold Mechanorezeptoren (LTM) identifiziert: slowly adapting-Typ I (SA I), die in Merkel-Zellen enden, slowly adapting-Typ II (SA II), die in Ruffini-Körperchen enden und rapid adapting-Typ I (RA I), die in Meissner-Körperchen enden. RA-Rezeptoren gehören zu den phasischen Rezeptoren, die bei Stimulierung mit einer hohen, aber sehr kurzen Aktivität reagieren, schnell adaptieren und deren Feuerungsrate trotz gleichbleibendem Stimulus sinkt. Im Gegensatz dazu behalten SA-Rezeptoren (tonische Rezeptoren) bei gleichbleibender Stimulierung eine nahezu konstante Feuerungsrate bei und sind für die Lokalisierung des Reizes und für die Übermittlung feiner Details ausgelegt

(Trulsson und Essick, 1997). Die Aktivierung spezifischer, oraler Mechanorezeptoren durch die Textur ist bislang weitgehend unerforscht und aufgrund des dynamischen Kauprozesses zusätzlich erschwert. Die meisten Erkenntnisse über deren Funktion leiten sich daher aus Untersuchungen dieser Rezeptorklassen in der Hand oder auf dem Arm ab (Foegeding et al., 2011).

RA I- und SA I-Rezeptoren befinden sich auf der Oberfläche der Zunge und der Mundschleimhaut, werden durch direkten Kontakt mit dem Stimulus aktiviert und registrieren das räumliche und zeitliche Auftreten mechanischer Stimuli. RA I-Rezeptoren detektieren Vibrationen mit niedriger Frequenz. Während ihre Hauptfunktion in der Hand die Wahrnehmung des Gleitens oder Rutschens eines Objekts darstellt, ist ihre Rolle im Mundraum unbekannt. Rundungen, Kanten und Spitzen werden von SA I-Rezeptoren mit einer Auflösung von 0,5 mm besonders bei dynamischer Stimulierung wahrgenommen, sodass ein exaktes, räumliches, neuronales Bild eines taktilen Reizes an das Gehirn weitergeleitet wird. Aufgrund dieser Fähigkeiten sind SA I-Rezeptoren für Wahrnehmung von Form und Textur während des Kauprozesses besonders wahrscheinlich. Bei den SA II handelt es sich um tieferliegende Rezeptoren im Muskelgewebe der Zunge, die für die Übermittlung der Position und Form der Zunge sowie der Wahrnehmung der Größe des Kaubreis und damit für einen sicheren Kauprozess verantwortlich sind (Engelen, 2012).

Die Propriozeption umfasst die Wahrnehmung der statischen Position und der Bewegung einzelner Körperteile sowie deren Stellung zueinander. Im Mundraum ist vor allem Kenntnis der Position der Wangen, der Lippen, der Zähne und der Zunge bei der Verteilung des Kaubreis wichtig, um Verletzungen zu vermeiden. Die drei propriozeptive weiterleitenden Rezeptortypen sind Muskelspindeln, die Veränderungen der Länge des Muskels erfassen, Golgi-Sehnenorgane, die Änderungen der Muskelkontraktion detektieren und in Gelenkkapseln liegende Rezeptoren, die die Beugung oder Streckung des Gelenks wahrnehmen. Diese Propriozeptoren befinden sich in allen vier Kaumuskeln (*Musculus masseter*, *Musculus temporalis*, *Musculus pterygoideus medialis* und *lateralis*), im Kiefergelenk und im umliegenden Gewebe. Während des Kauprozesses sind diese Sensoren für die Steuerung der Bewegungen des Kiefergelenks und der Zunge, der Regulierung der beim Kauen angewandten Kraft und der Anpassung all dieser Parameter an veränderte Textureigenschaften über die gesamte Kaudauer hinweg entscheidend.

Die Zähne sind in das entsprechende Zahnfach des Alveolarfortsatzes des Ober- und Unterkiefers eingebettet, wobei die Wurzelhaut (periodontales Ligament) zwischen dem Zahnzement der Zahnwurzel und der Wand des Zahnfachs liegt. Dieses periodontale Ligament enthält zahlreiche Nervenfasern mit periodontalen Mechanorezeptoren, die auf die Zähne wirkende Kräfte registrieren und die feinmotorische Kontrolle der Kieferbewegungen beim Ab-

beißen und Kauen vor allem von festen oder harten Lebensmitteln steuern. Bei diesen periodontalen Mechanorezeptoren handelt es sich meist um langsam adaptierende, SA II-ähnliche Rezeptoren, die meist nicht nur auf die Stimulierung eines, sondern mehrerer Zähne reagieren (*Trulsson, 2006*). Die periodontalen Rezeptoren der Vorderzähne sind für Kräfte unter 1 N und die der Backzähne für Kräfte von etwa 4 N am sensitivsten, um die Regulierung der von der Textur abhängigen, beim Kauen angewandten Kraft und des Kaurhythmus zu gewährleisten (*Trulsson, 2007*).

Bei allen Mechanorezeptoren werden durch die mechanische Deformierung der berührungsempfindlichen Nervenenden Ionenkanäle geöffnet, die einen Einstrom von Kationen in die Zelle ermöglichen. Diese Depolarisierung der Zelle verursacht ein Rezeptorpotential, das Aktionspotentiale auslöst, die entlang der Nervenfasern weitergeleitet werden. Als mögliche Transduktionswege kommen Degenerin/ENaC (DEG/ENaC)-, transient receptor potential (TRP)- und cyclic nucleotide-gated (CNG)-Kanäle in Frage sowie nicht-selektive,  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable Kationenkanäle oder Stomatin-like protein 3 (SLP3). Die molekulare Identität der beteiligten Ionenkanäle ist aufgrund von teils widersprüchlichen Ergebnissen bisher jedoch noch nicht eindeutig geklärt (*Engelen, 2012*).

Neben den olfaktorischen, gustatorischen und den von der Textur abhängigen Stimuli, die über Mechanorezeptoren wahrgenommen werden, vervollständigen Nozizeptoren und Thermorezeptoren den sensorischen Gesamteindruck von Lebensmitteln. Die Nozizeption und Thermorezeption hängen untrennbar zusammen, da beide eine für den Körper protektive Funktion haben. Deutlich wird diese enge Beziehung beispielsweise anhand des transient receptor potential vanilloid Rezeptors 1 (TRPV1), der sowohl durch Schmerz in Form von milder oder intensiver Schärfe (Capsaicin) als auch durch Temperaturen über 42 °C aktiviert wird (*Patapoutian et al., 2003*). Im Gegensatz zu den Mechanorezeptoren enden die schmerz- und temperatursensitiven Axone nicht in spezialisierten Körperchen oder Zellen und werden daher als freie Nervenendigungen bezeichnet. Der fehlende Schutz um die Nervenendigungen macht diese für chemische Stimuli sehr empfindlich. Nozizeptoren sind meist polymodal und gehören zu den sogenannten high-threshold Rezeptoren, die einen verhältnismäßig starken chemischen, mechanischen oder thermischen Reiz zur Signalauslösung benötigen, der bereits zu einer potentiellen oder tatsächlichen Schädigung von Gewebe führen kann. Je nach Axon-Typ werden Nozizeptoren in A $\delta$ - und C-Nozizeptoren eingeteilt. Während A $\delta$ -Nervenfasern markhaltig sind und Signale schnell (ca. 12 m/s) weiterleiten, sind C-Nervenfasern markfrei und verbreiten Signale langsamer (< 1 m/s), sodass A $\delta$ -Nervenfasern für den plötzlichen, stechenden und C-Nervenfasern für den dumpfen Schmerz und die Wärmeempfindung verantwortlich sind. An der Kälteempfindung sind entweder C- oder markarme A $\delta$ -Nervenfasern beteiligt (*Schepers und Ringkamp, 2009*). Die Induktion

von Schmerz erfolgt über Rezeptoren der TRP-Klasse (TRPV1, TRPV3, TRPM8, TRPA1) (**Tabelle 2**), G-Protein gekoppelte Rezeptoren der Mrg-Klasse (Mrg A1, Mrg A3, Mrg B4, MrgD), den Opioid-Rezeptor (MOR), den ATP-gated P2X3-Rezeptor, über acid-sensing ion channels (ASIC1-3) und voltage-gated sodium channels (Nav1.7, Nav1.8 und Nav1.9) (*Woolf und Ma, 2007*). Zu den Thermorezeptoren, die meist ebenfalls durch chemische Agonisten aktiviert werden, zählen TRPM8, TRPA1, TRPV1, TRPV2, TRPV3 und TRPV4 (*McKemy, 2005; Patapoutian et al., 2003*) (**Tabelle 2**). Einige TRP-Rezeptoren sind polymodal, da beispielsweise die Aktivierung von TRPV2 und TRPV4 ebenfalls durch mechanische und hypotonische Stimuli und von TRPV1 auch durch Protonen erfolgen kann (*Engelen, 2012*).

**Tabelle 2:** Übersicht über ausgewählte Rezeptoren der TRP-Klasse.

	<b>Aktivierung durch Temperatur</b>	<b>Chemische Agonisten (Auswahl)</b>
TRPA1	Schmerzhafte Kälte (< 17 °C)	Gingerol, Eugenol, Zimtaldehyd
TRPM8	Kälte (8 - 28 °C)	Menthol, Icilin
TRPV1	Wärme (> 42 °C)	Capsaicin, Eugenol, Ethanol, Allicin, Piperin
TRPV2	Schmerzhafte Wärme (> 52 °C)	Unbekannt
TRPV3	Wärme (> 33 °C)	Campher
TRPV4	Wärme (27 - 42 °C)	4- $\alpha$ -Phorbol

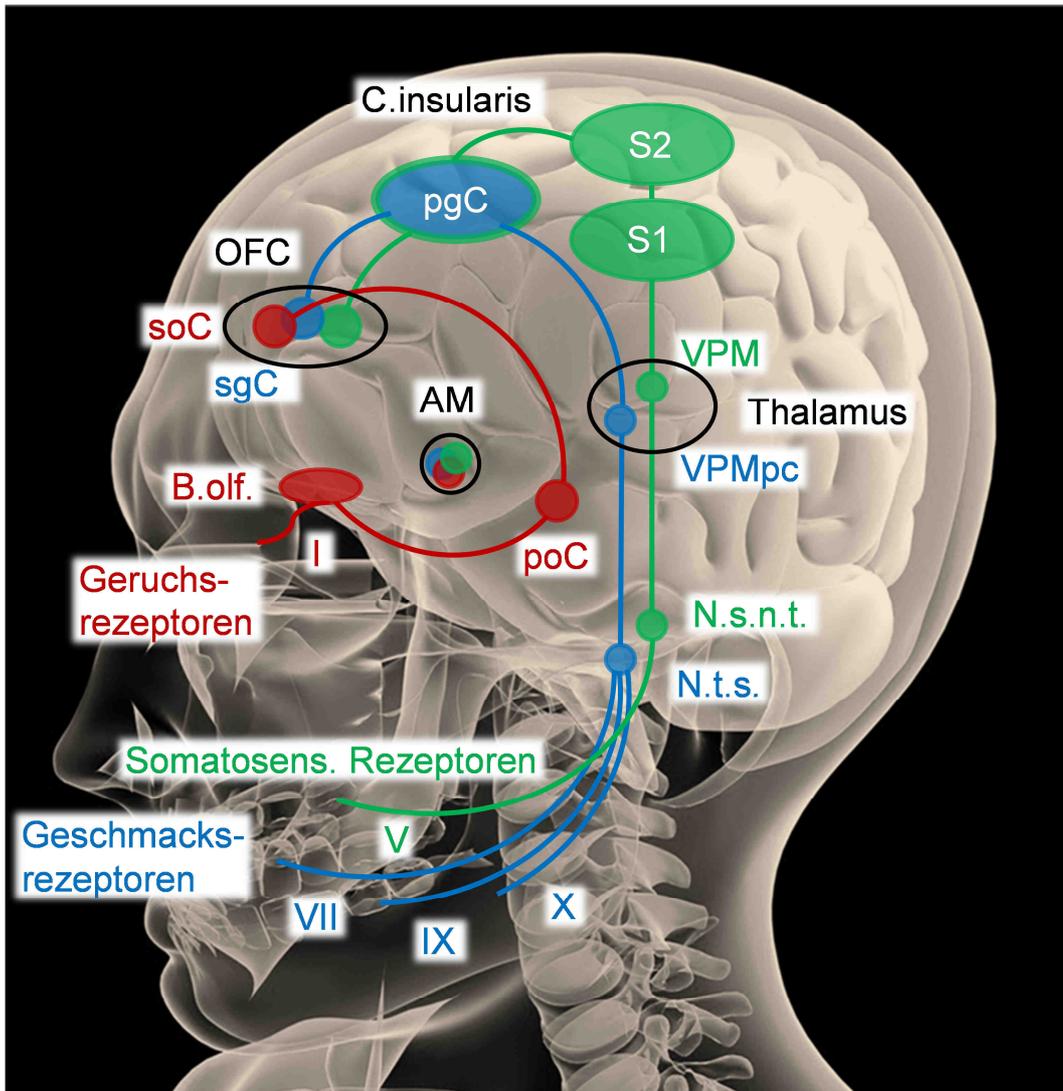
Das Zusammenspiel von olfaktorischen, gustatorischen, mechanischen, schmerzsensitiven und thermischen Rezeptoren im Mundraum liefert somit eine Fülle von Informationen über die multimodalen Eigenschaften eines Lebensmittels. Aus dieser komplexen Menge an einzelnen Reizen wird ein Gesamtbild erstellt, das alle verfügbaren Signale integriert. Dieser Prozess kann entweder an der Peripherie bereits auf Rezeptorebene mit Hilfe von polymodalen Rezeptoren beginnen oder zentral im Gehirn erfolgen. Aus der Vielzahl an Reizen resultieren daher unzählige, vielschichtige, intra- und intermodale Interaktionen bei der psychophysikalischen Wahrnehmung von Lebensmitteln, deren neuronale Grundlagen bislang nur unzureichend verstanden werden (*Verhagen und Engelen, 2006*). Im Folgenden soll daher exemplarisch nur auf die Interaktionen zwischen gustatorischen und taktilen Stimuli eingegangen werden.

### 1.4.3 Wechselwirkungen zwischen Geschmack und taktilen Stimuli

Um mögliche Interaktionen zwischen gustatorischen und taktilen Stimuli besser zu verstehen, seien hier zunächst die anatomischen Grundlagen erläutert. Gustatorische Reize von den vorderen zwei Dritteln der Zunge werden über die Chorda tympani des *Nervus facialis*

(VII) und vom hinteren Drittel der Zunge über den *Nervus glossopharyngeus* (IX) weitergeleitet. Der *N. glossopharyngeus* ist außerdem zusammen mit dem *Nervus vagus* (X) für die Weiterleitung gustatorischer Reize von der Epiglottis (Kehlideckel), dem Pharynx (Rachen) und dem Larynx (Kehlkopf) verantwortlich. Die Axone dieser drei Nerven konvergieren im rostralen Anteil des *Nucleus tractus solitarii* im Hirnstamm auf sekundäre Neurone. Diese projizieren in Primaten direkt in den *Nucleus ventralis posteromedialis pars parvocellularis* (VPMpc) des Thalamus. Von dort aus gelangen die Signale in den *Cortex insularis*, in dem sich der *primäre, gustatorische Cortex* befindet. Die nächsthöhere Ebene der Geschmacksverarbeitung, der *sekundäre, gustatorische Cortex*, liegt im *orbitofrontalen Cortex* (OFC), der auch den *sekundären, olfaktorischen Cortex* beherbergt (Verhagen und Engelen, 2006; Engelen und van der Bilt, 2008; Engelen und de Wijk, 2012) (**Abbildung 3**).

Mechanische, thermische und nozizeptive Reize von den vorderen zwei Dritteln der Zunge werden über den *N. lingualis*, einem Ast des *N. mandibularis*, der wiederum einer der drei großen Äste des *N. trigeminus* (V) ist, weitergeleitet. Der *N. trigeminus* übermittelt diese Reize auch aus anderen Bereichen des Mundraums und Gesichts, wobei der *N. glossopharyngeus* und *N. vagus* ebenfalls in den jeweiligen Innervationsgebieten der Epiglottis, des Pharynx und Larynx beteiligt sind. Die primären Neuronen treffen im *Nucleus spinalis nervi trigemini* aufeinander und das Signal geht über den *Nucleus ventralis posteromedialis* (VPM) des Thalamus zum *Gyrus postcentralis* im Parietallappen des Großhirns, wo der *primäre, somatosensorische Cortex* (S1), der aus den Brodmann-Arealen 3a, 3b, 1 und 2 besteht, liegt. Der *sekundäre, somatosensorische Cortex* (S2) ist dem S1 direkt benachbart. Propriozeptive Informationen von Muskelspindeln der Kaumuskulatur, Golgi-Sehnenorganen und periodontalen Rezeptoren werden über den *N. trigeminus*, den *Nucleus motorius nervi trigemini* und den VPM an das Brodmann-Areal 3a des S1 und von dort aus an den S2 weitergeleitet. Da der *N. trigeminus*, *N. glossopharyngeus* und *N. vagus* ebenfalls an den rostralen Anteil des *Nucleus tractus solitarii* projizieren, können dort Neuronen gemischt gustatorisch- und somatosensorisch-sensitiv sein (Verhagen und Engelen, 2006). Der S2 grenzt direkt an den *Cortex insularis* und neuronale Signale vom S2 können zu dem *Cortex insularis*, der Amygdala, dem Hippocampus und dem OFC gelangen, der die sekundären olfaktorischen und gustatorischen Cortices enthält (Rolls, 2000). Somit sind der *Cortex insularis* und die Amygdala, jedoch vor allem der OFC, für die sensorische Integration olfaktorischer, gustatorischer und taktiler Stimuli prädestiniert (Rolls et al., 2003) (**Abbildung 3**).



**Abbildung 3:** An der Weiterleitung olfaktorischer, gustatorischer und taktiler (somatosensorischer) Stimuli beteiligte Hirnnerven und Gehirnregionen. I: *Nervus olfactorius*; V: *Nervus trigeminus*; VII: *Nervus facialis*; IX: *Nervus glossopharyngeus*; X: *Nervus vagus*; AM: Amygdala; B.olf.: *Bulbus olfactorius*; C. insularis: *Cortex insularis*; N.t.s.: *Nucleus tractus solitarii*; N.s.n.t.: *Nucleus spinalis nervi trigemini*; OFC: *orbitofrontaler Cortex*; pgC: *primärer, gustatorischer Cortex*; poC: *primärer, olfaktorischer Cortex*; S1: *primärer, somatosensorischer Cortex*; S2: *sekundärer, somatosensorischer Cortex*; sgC: *sekundärer, gustatorischer Cortex*; soC: *sekundärer, olfaktorischer Cortex*; VPM: *Nucleus ventralis posteromedialis*; VPMpc: *Nucleus ventralis posteromedialis pars parvocellularis*.

Untersuchungen zum Einfluss des Geschmacks auf taktile Stimuli zeigten, dass Citronensäure und Natriumchlorid zu einer Abnahme der wahrgenommenen Viskosität von Carboxymethylcellulose (CMC)-Lösungen führte. Coffein zeigte keinen eindeutigen Effekt, während der Zusatz von Saccharose mit einem leichten Anstieg der wahrgenommenen Viskosität einherging (*Christensen, 1980a*). Diese Beobachtungen können teilweise mit einer Veränderung

im newtonschen Fließverhalten der Lösungen erklärt werden. Umgekehrt führte eine Erhöhung der Viskosität zu einer Abnahme der Sensitivität und Intensität der Geschmacksmodalitäten süß, sauer, salzig und bitter (*Moskowitz und Arabie, 1970; Pangborn, 1973; Christensen, 1980b; Kokini, 1987; Cook et al., 2002; Ferry et al., 2006; Koliandris et al., 2008*). Bei diesem Effekt können die Diffusion der Geschmacksstoffe und deren Zugang zu den Geschmacksrezeptoren eine Rolle spielen. Die Temperatur hat ebenfalls einen Einfluss auf die Geschmackswahrnehmung, da die Geschmacksschwellen für NaCl, HCl, Quininsulfat und Dulcin zwischen 22 und 37 °C, vor allem nahe der Zungentemperatur von 35 °C, am niedrigsten sind (*McBurney et al., 1973*). In Bezug auf Wechselwirkungen zwischen gustatorischen und nozizeptiven Stimuli wurde gezeigt, dass Saccharose die brennende Schärfe von Capsaicin und Piperin zu lindern vermag (*Stevens und Lawless, 1986*). Umgekehrt waren die Süß-, Sauer-, Bitter- und Salzgeschmacksintensitäten durch Capsaicin und Piperin verringert (*Lawless und Stevens, 1984*). Für diese Interaktionen werden periphere Mechanismen angenommen. Die trigeminale Stimulierung kann möglicherweise über die Freisetzung einer Substanz P aus den Nozizeptoren zu einer Veränderung der Physiologie des Zungenepithels (Schließen von Geschmacksknospen) führen. Im *Nucleus tractus solitarii* sind durch modulatorische Effekte auf neuronaler Ebene oder direkte, trigeminale Reize Wechselwirkungen möglich (*Simons et al., 2003*).

Über die bereits diskutierten Effekte hinaus ist bei allen genannten Interaktionen sensorische Integration im Gehirn möglich. An Rhesusaffen wurde gezeigt, dass Neuronen in dem *Cortex insularis*, dem OFC und der Amygdala durch gustatorische, viskose, fettige, raue, thermische und scharfe Stimuli aktiviert werden (*Rolls et al., 2003; Verhagen et al., 2004; Kadohisa et al., 2005*). Gustatorische Stimuli sind dabei besonders gut im OFC und Viskosität und Temperatur speziell in der Amygdala repräsentiert. Von den aktivierbaren Neuronen waren im *Cortex insularis* und der Amygdala etwa die Hälfte unimodal und reagierten entweder auf gustatorische, thermische oder viskose Stimulierung. Im OFC war der Anteil an unimodalen Neuronen mit 30 % geringer, was auf eine weiter reichende Integration hinweist. Im *Cortex insularis* waren Geschmack und Viskosität größtenteils auf separaten Neuronen kodiert, während die Informationen in der Amygdala und dem OFC, zwei hierarchisch höher liegenden Gehirnarealen, zusammengeführt werden. Dies zeigt sich vor allem im OFC an höheren, prozentualen Anteilen an bi- bzw. multimodalen Neuronen, die auf zwei bzw. drei und mehr Modalitäten ansprechen, beispielsweise Geschmack, Temperatur und Viskosität. Die raue Sandigkeit von suspendierten Mikrokügelchen aktivierte ebenfalls unabhängig von der Viskosität Neuronen in allen drei Gehirnregionen (*Kadohisa et al., 2005*). Diese Untersuchungen auf neuronaler Ebene belegen deutlich die Existenz von multimodaler Integration in speziellen Gehirnregionen, in denen Informationen von verschiedenen, sensorischen Reizen zu-

sammengeführt, analysiert und weiter verarbeitet werden. Um die genauen Wechselwirkungen zwischen gustatorischen und taktilen Stimuli zu verstehen, sind jedoch weitere, systematische Untersuchungen zu den Mechanismen an der Peripherie auf Rezeptorebene, bei der Reizweiterleitung über die jeweiligen Nervenbahnen und bei der Integration im Gehirn notwendig. Diese müssten zudem eng mit human-sensorischen Studien zur gustatorisch-taktilen Wahrnehmung verbunden sein, um diese grundlegenden, sensorischen Interaktionen weiter aufzuklären.

## 2 Ziele der Untersuchungen

Die den physiologischen Grundbedarf bei weitem übersteigende tägliche Zufuhr von Natriumchlorid wird als Hauptrisikofaktor für Hypertonie, kardiovaskuläre, renale und weitere ernährungsassoziierte Erkrankungen angesehen. Zur Verbesserung des Gesundheitsstatus der Gesamtbevölkerung wird daher von zahlreichen nationalen und internationalen Organisationen eine deutliche Senkung der derzeit üblichen Natriumgehalte in Lebensmitteln empfohlen. Brot und Getreideprodukte sind in Deutschland für etwa ein Viertel der täglichen Natriumaufnahme verantwortlich, so dass eine Reduktion des Natriumgehalts in dieser Lebensmittelgruppe einen erheblichen Beitrag zur Verringerung der Natriumaufnahme leisten würde. Aufgrund der vielfältigen technologischen und vor allem sensorischen Funktionen von Natriumchlorid ist die Kochsalzreduktion in Backwaren jedoch erschwert, sodass die Entwicklung neuer, verbesserter Strategien unter Beibehalt der Verarbeitungs- und Geschmackseigenschaften notwendig ist.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die salzgeschmacksbestimmenden Parameter in Brotkrume und Polysaccharid-basierten Modellsystemen durch Kombination instrumentell-analytischer und humansensorischer Techniken identifiziert werden.

Nach der sensorischen Beurteilung des Einflusses des Kochsalzgehalts auf die sensorische Wahrnehmung von Brotkrume sollten die Natriumbindung an isolierte Proteinfractionen, die quantitative Natriumfreisetzung während des Verzehrs von Brotkrume und der Einfluss der Natriumverteilung und der Textur von Brotkrume als mögliche salzgeschmackbestimmende Parameter untersucht werden. Die gezielte Beeinflussung dieser entscheidenden Parameter sollte als Grundlage für die Erarbeitung neuer Strategien zur Salzreduktion in Brotkrume bei gleichzeitigem Erhalt der Geschmacksqualität dienen.

Ein weiteres Ziel war die Untersuchung des Einflusses von Texturkomponenten auf die humane Salzwahrnehmung. In Polysaccharid-basierten Modellsystemen sollten die Auswirkungen verschiedener textueller Eigenschaften wie Viskosität, Gelfestigkeit und das Vorhandensein von unlöslichen Partikeln auf die Wahrnehmung des Salzgeschmacks studiert werden. Anhand von Korrelationen mit der Natriumfreisetzung während des Verzehrs dieser Modellsysteme sollte die Erlangung neuer grundlegender Kenntnisse über taktil-gustatorische Interaktionen angestrebt werden. Um mögliche periphere Effekte auf Rezeptorebene zu ermitteln, sollten die Experimente zusätzlich auf alle fünf Geschmacksmodalitäten erweitert werden.



## 3 Ergebnisse

### 3.1 Einfluss des Kochsalzgehalts auf die sensorische Beurteilung von Brotkrume

Der durchschnittliche Salzgehalt in deutschem Brot, an den die Verbraucher gewöhnt sind, beträgt 1,8 - 2,1 g NaCl/100 g Mehl (*Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V., 2008*). Um die Auswirkungen einer Senkung des Salzgehalts auf die sensorischen Eigenschaften hin zu untersuchen, wurden Brote mit unterschiedlichen NaCl-Gehalten gebacken. Vorversuche mit verschiedenen sensorischen Prüfverfahren wie Rangordnungsprüfung, Duo-Trio-Test, 3-AFC-Test und 2-AFC-Test ergaben, dass die Verwendung von attributsbezogenen 2-AFC-Tests in der komplexen Matrix Brotkrume die reproduzierbarsten Ergebnisse lieferte. Die konkrete Fragestellung lautete: „Bitte geben Sie die Nummer der Probe an, die salziger schmeckt.“ Es wurden pro Probe jeweils zwei 3 g-Brotkrumenwürfel in mit dreistelligen Zufallszahlen verschlüsselten Sensorikbechern gereicht, sodass ein einmaliges Rückkosten möglich war (**Abbildung 4**).

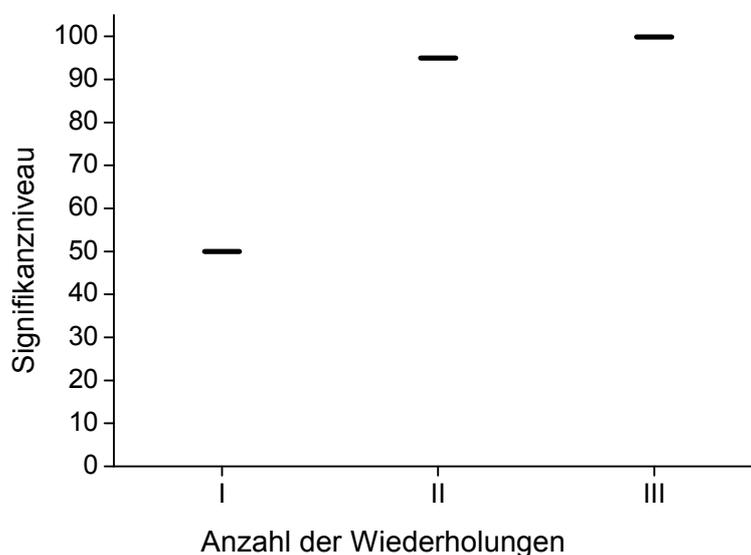


**Abbildung 4:** Durchführung der 2-AFC-Tests: Je zwei 3 g-Brotkrumenwürfel in verschlossenen Sensorikbechern, die mit dreistelligen Zufallszahlen verschlüsselt sind.

#### 3.1.1 Auswahl und Schulung des Panels

Brote mit unterschiedlichen NaCl-Gehalten (1,0, 1,2, 1,3 1,5, 1,6, 1,67 und 2 % NaCl) wurden im 2-AFC-Test gegeneinander verkostet. Die Auswertung erfolgte prüferbezogen, sodass nach mehreren Tests ersichtlich war, welche Prüfer konstant die salzigere Brotprobe richtig erkannt hatten. Die 15 besten Prüfer wurden fest in das Brotsensorik-Panel aufgenommen und im Folgenden geschult. Dazu wurden die 2-AFC-Tests mit unterschiedlichen Salzgehalten wiederholt und der absolute Unterschied zwischen beiden Broten wurde sukzessive von 1 % auf 0,2 % erniedrigt. Alle 2-AFC-Tests wurden dreimal wiederholt, um das Panel zu trainieren. In **Abbildung 5** ist exemplarisch das Ergebnis der Panelschulung dar-

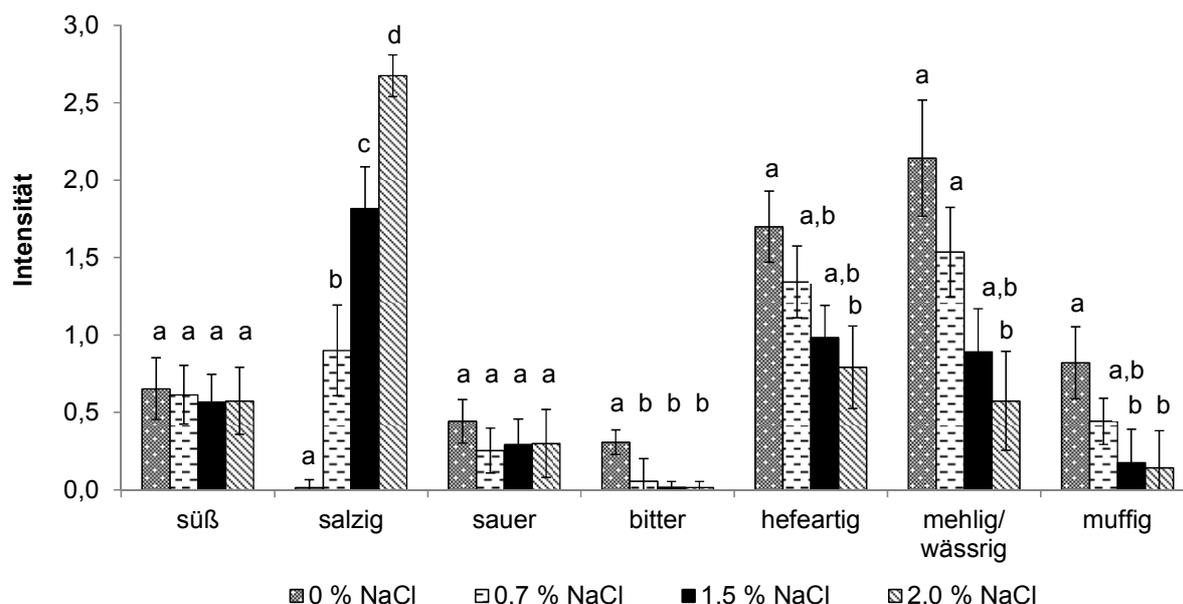
gestellt. Während die Panelisten bei der ersten Durchführung des 2-AFC-Tests zur Unterscheidung von Broten mit 1 % und 1,5 % NaCl die salzigere Probe nicht eindeutig erkannten, war dies bei der zweiten Wiederholung mit einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  möglich. Nach der dritten Wiederholung wurde sogar ein sehr hoch signifikantes Ergebnis ( $\alpha = 0,001$ ) erzielt. Diese eindeutige Erhöhung der Salzwahrnehmungsempfindlichkeit des Panels ließ sich auch bei den 2-AFC-Tests mit Broten anderer Salzgehalte feststellen. Bei der Verkostung von Broten mit 1 % und 1,3 % NaCl, die einen geringeren Unterschied im absoluten Salzgehalt aufwiesen, war die Erhöhung des Signifikanzniveaus gleichfalls sehr eindeutig zu erkennen. Für alle weiteren sensorischen Beurteilungen wurde daher das nun gut in Salzwahrnehmung in Brotkrume geschulte Panel eingesetzt.



**Abbildung 5:** Erhöhung des Signifikanzniveaus  $\alpha$  nach intensiver Panelschulung. Dreifache Wiederholung des 2-AFC-Tests zur Unterscheidung von Brotkrume mit 1,0 und 1,5 % NaCl.

### 3.1.2 Aroma- und Geschmacksprofile von Broten mit unterschiedlichen Salzgehalten

Der Einfluss von vier verschiedenen Kochsalzgehalten (0, 0,7, 1,5 und 2 % NaCl) auf das Aroma- und Geschmacksprofil von Brotkrume wurde sensorisch bewertet. Brote ohne Salz hatten einen vergleichsweise faden Geschmack und wurden als deutlich hefeartig, mehlig/wässrig und muffig empfunden (**Abbildung 6**). Außerdem trat eine leicht bittere Note hervor, die verschwand, sobald dem Brot Salz zugesetzt worden war. Mit zunehmenden Salzgehalten wurden die Brote immer weniger als hefeartig, mehlig/wässrig und muffig beschrieben, dafür als salziger und aromatischer. Wie erwartet, war die Süßintensität der einzige Parameter, der unverändert blieb, da alle Brote konstant 1 % Saccharose enthielten.

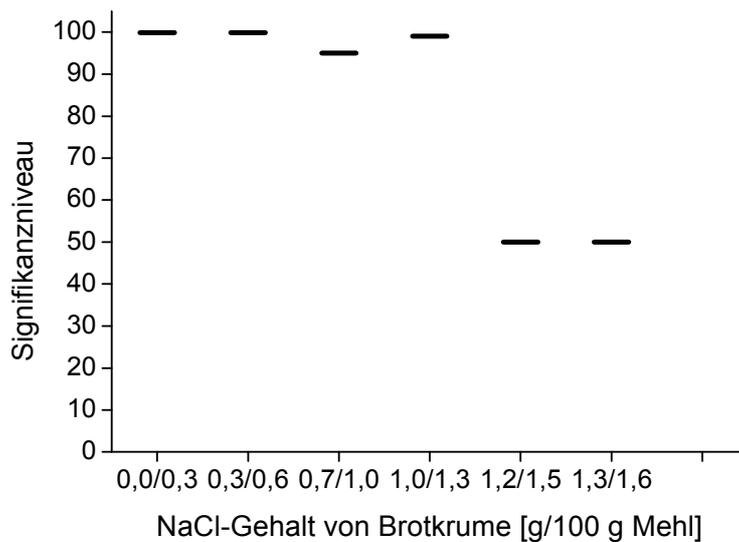


**Abbildung 6:** Aroma- und Geschmacksprofile von Brotkrume mit 0, 0,7, 1,5 und 2 % NaCl. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung des Mittelwerts an. Verschiedene, kleine Buchstaben zeigen jeweils statistisch signifikante Unterschiede an (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ).

Insgesamt hatte somit die Zugabe von Kochsalz einen deutlichen Einfluss auf das gesamte Aroma- und Geschmacksprofil von Brotkrume, da nicht nur die Intensität des Salzgeschmacks an sich zunahm, sondern auch unerwünschte Aroma- und Geschmackseindrücke wie muffig und mehlig/wässrig zurückgingen und erwünschte Eindrücke hervortraten.

### 3.1.3 Abhängigkeit der Salzwahrnehmung vom absoluten Salzgehalt

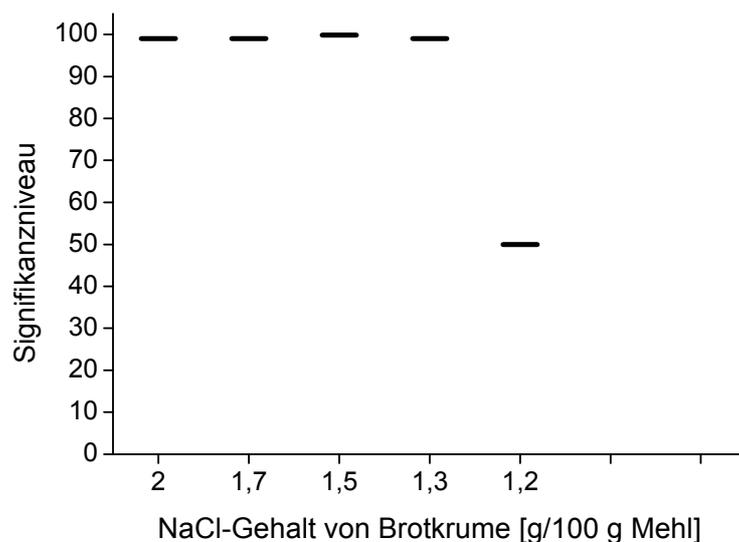
Die Auswertung aller 2-AFC-Tests mit Salzgehalten von 0 - 2 % ergab, dass die Salzwahrnehmung in Brotkrume sehr stark vom absoluten Salzgehalt abhing. Betrachtet man die Unterscheidbarkeit von Broten mit der gleichen absoluten Differenz im Salzgehalt von 0,3 %, so war deutlich zu erkennen (**Abbildung 7**), dass die Brote mit höheren Salzgehalten von 1,2 und 1,5 % sowie 1,3 und 1,6 % nicht signifikant voneinander unterschieden werden konnten. Sobald jedoch die absolute Salzmenge im einen Brot auf 1 % verringert wurde, war es möglich das salzigere Brot mit 1,3 % richtig zu erkennen. Noch deutlicher wurde der Unterschied, sobald der Salzgehalt weiter reduziert wurde, sodass ein sehr hoch signifikanter Unterschied ( $\alpha = 0,001$ ) zwischen den Broten mit 0, 0,3 und 0,6 % NaCl wahrgenommen werden konnte.



**Abbildung 7:** Unterscheidbarkeit von Broten in Bezug auf die Salzwahrnehmung in Abhängigkeit vom Salzgehalt bei konstantem, absoluten Unterschied von 0,3 % NaCl.

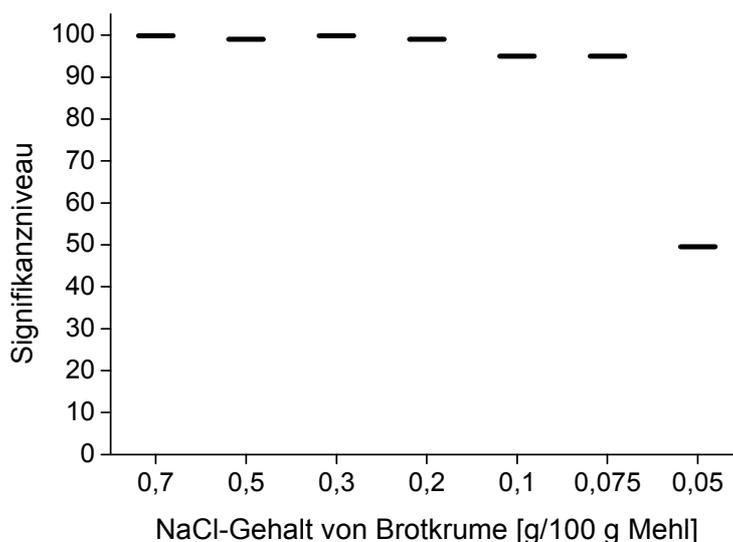
#### 3.1.4 Salzwahrnehmung bezogen auf Brot mit 1,0 bzw. 0 % Salz als Referenz

Betrachtet man die Salzwahrnehmung in Brotkrume, bezogen auf Brot mit 1,0 % Salz als Referenz, ist ersichtlich, dass der kleinste wahrnehmbare Unterschied 0,3 % NaCl betrug (**Abbildung 8**). Bei einem noch geringeren Unterschied von 0,2 % NaCl waren die beiden Brote in Bezug auf Salzigkeit statistisch nicht signifikant gegeneinander abzugrenzen.



**Abbildung 8:** Unterscheidbarkeit von Broten mit 2, 1,7, 1,5, 1,3 und 1,2 % NaCl bezogen auf Brot mit 1 % NaCl als Referenz in Bezug auf die Salzwahrnehmung.

Alle anderen Brote, die deutlich mehr Salz enthielten, konnten eindeutig von der Referenz mit 1 % NaCl unterschieden werden. Im Gegensatz dazu betrug der kleinste wahrnehmbare Unterschied nur 0,075 % NaCl, wenn Brot ohne Salz als Referenz diente (**Abbildung 9**). Geringe Salzmengen von 0,2 und 0,1 % konnten hoch signifikant vom Brot ohne Salz unterschieden werden. Selbst ein kleinster Unterschied von 0,075 % Salz wurde bemerkt. Erst bei einem noch niedrigeren Zusatzniveau von nur 0,05 % Salz konnte keine Differenzierung mehr erfolgen.

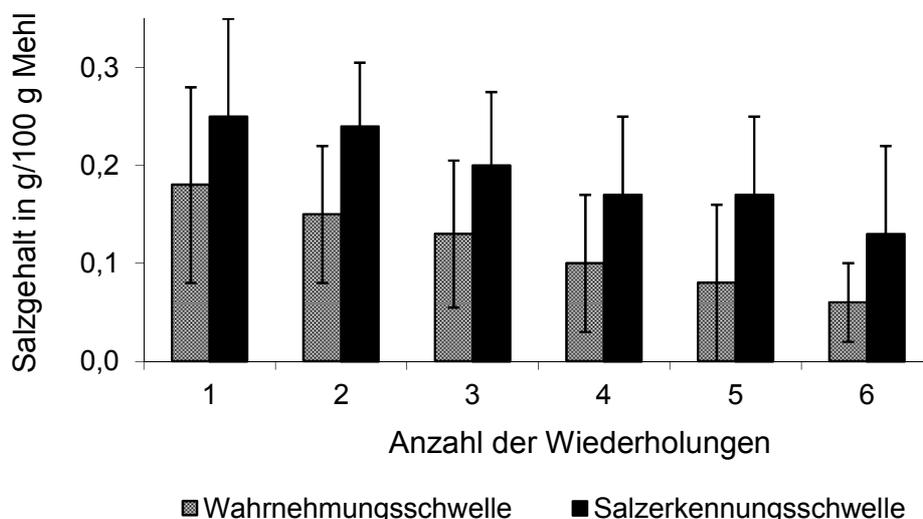


**Abbildung 9:** Unterscheidbarkeit von Broten mit 0,7, 0,5, 0,3, 0,2, 0,1, 0,075 und 0,05 % NaCl bezogen auf Brot mit 0 % NaCl als Referenz in Bezug auf die Salzwahrnehmung.

Bei den Broten mit sehr geringen Salzgehalten ( $\leq 0,3$  %) war nach Rücksprache mit dem Panel festzustellen, dass die Definition von tatsächlicher Salzigkeit in Brotkrume sehr schwierig war. Die Brote mit Salzgehalten von 0,075 % und 0,1 % konnten nicht eindeutig als salzig bezeichnet werden. Trotzdem konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden, der jedoch sicherlich mehr auf dem gesamten Geschmackseindruck des Brotes beruhte, da Brot ohne Salz einen sehr charakteristischen mehlig/wässrigen, hefeartigen, wenig aromatischen und leicht bitteren Geschmackseindruck aufwies. Der Zusatz von noch so geringen Mengen Salz verbesserte den Gesamteindruck bereits ganz eindeutig, sodass aufgrund dessen eine Differenzierung vorgenommen werden konnte. Um genauer zu klären, ab wann ein Unterschied zwischen den Broten und ab wann tatsächlich ein Salzgeschmack zu erkennen ist, wurden die Wahrnehmungs- und die Salzerkennungsschwelle in Brotkrume bestimmt.

### 3.1.5 Bestimmung der Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwelle in Brotkrume

Brote mit 0,05, 0,075, 0,1, 0,2, 0,3 und 0,4 % Salz wurden gegen Brot mit 0 % Salz verkostet. Obwohl bereits 12 von 15 Panelisten einen Unterschied zwischen Brot mit 0,075 und 0 % Salz richtig erkannten, gab keiner „salzig“ als Geschmackseindruck an. Salzigkeit wurde von der Mehrheit der Panelisten erst ab einem Gehalt von 0,1 - 0,3 % erkannt, sodass sich insgesamt eine Wahrnehmungsschwelle von  $0,08 \pm 0,04$  g NaCl/100 g Mehl und eine Salzerkennungsschwelle von  $0,16 \pm 0,08$  g NaCl/100 g Mehl ergab. Bezogen auf Brotkrume entsprach dies  $0,06 \pm 0,03$  bzw.  $0,12 \pm 0,06$  g NaCl/100 g Brotkrume. Die Standardabweichungen waren verhältnismäßig hoch, was jedoch auf die Komplexität der Matrix und individuelle Unterschiede in Bezug auf Salzsensitivität zurückzuführen war. Um diese Differenzen zu minimieren, wurde die Schwellenbestimmung insgesamt sechsmal durchgeführt und interessanterweise zeigte sich wieder ein deutlicher Panel-Trainingseffekt (3.1.1), da ein klarer Trend zur Verringerung der Schwellenwerte zu erkennen war (**Abbildung 10**). Die Befragung des Panels ergab außerdem einen Gewöhnungseffekt an Brote mit niedrigen Salzgehalten, da nach der wiederholten Verkostung der Brote mit sehr wenig Salz das Referenzbrot mit 1,5 % Salz im Vergleich zu vorher als wesentlich salziger empfunden wurde.



**Abbildung 10:** Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwellen in Brotkrume. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung des Mittelwerts an.

Vergleicht man die ermittelten Schwellenwerte mit den Ergebnissen der 2-AFC-Tests (3.1.4), lässt sich eine gute Übereinstimmung feststellen, da die Wahrnehmungsschwelle von 0,08 % NaCl mit der Unterscheidbarkeit des Brots mit 0,075 % NaCl vom Brot ohne Salz korrespondiert. Außerdem lässt sich nun feststellen, dass diese Differenzierbarkeit nicht auf der reinen Salzigkeit, sondern auf dem gesamten Geschmackseindruck beruht. Die Salzerkennungs-

schwelle von 0,16 % passt ebenfalls gut zu den Ergebnissen, da Brot mit 0,2 % NaCl bereits hoch signifikant ( $\alpha = 0,01$ ) vom Brot ohne Salz unterschieden werden konnte (**Abbildung 9**).

### 3.1.6 Vergleich der Salzwahrnehmung in Brotkrume und Wasser

Als Ausgangspunkt für weitere sensorische Untersuchungen wurden 3 g Brotkrume mit 2 % NaCl 30 s lang gekaut und im 2-AFC-Test gegen 5 mL einer NaCl-Lösung (7,6 mg NaCl/mL) in Wasser verkostet, die somit absolut genauso viel NaCl enthielt wie die 3 g des Brotes. Die wässrige Salzlösung wurde von allen Panelisten ( $\alpha = 0,001$ ) als sehr hoch signifikant salziger bewertet. Selbst bei einer Halbierung des NaCl-Gehalts der Lösung (3,8 mg NaCl/mL) wurde die Salzlösung noch als sehr hoch signifikant salziger ( $\alpha = 0,001$ ) bewertet, obwohl das Brot doppelt so viel Salz enthielt. Erst als die NaCl-Lösung mit 1,9 mg NaCl/mL nur noch ein Viertel der ursprünglichen Natriumchlorid-Menge enthielt, wurde das Brot als signifikant ( $\alpha = 0,05$ ) salziger gewertet (**Tabelle 3**).

**Tabelle 3:** 2-AFC-Tests zum Vergleich der Salzwahrnehmung in 3 g Brotkrume mit 2 % NaCl und in 5 mL einer wässrigen NaCl-Lösung mit 7,6, 3,8 bzw. 1,9 mg NaCl/mL.

Probe 1	Probe 2	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau $\alpha$
		Insgesamt	Probe 1	Probe 2	
3 g Brot (2 % NaCl)	5 mL NaCl-Lösung (7,6 mg NaCl/mL)	12	0	12	0,001
3 g Brot (2 % NaCl)	5 mL NaCl-Lösung (3,8 mg NaCl/mL)	14	0	14	0,001
3 g Brot (2 % NaCl)	5 mL NaCl-Lösung (1,9 mg NaCl/mL)	14	11	3	0,05

Beim Vergleich von wässrigem Brotextrakt aus Brot mit 2 % NaCl gegen reine NaCl-Lösung in Wasser mit dem gleichen Salzgehalt konnte in 2-AFC-Tests kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Salzintensität wahrgenommen werden. Die mitextrahierten, wasserlöslichen Bestandteile von Brotkrume, wie lösliche Proteine, Peptide, Aminosäuren und Zucker hatten keinen inhibierenden Einfluss auf die Salzwahrnehmung.

### 3.1.7 Diskussion

Die Ergebnisse der Aroma- und Geschmacksprofile stimmen gut mit den Untersuchungen von *Lynch et al. (2009)* überein, die bereits den weitreichenden Einfluss von NaCl auf verschiedene Aroma- und Geschmackseigenschaften bei unterschiedlichen Salzgehalten zei-

gen konnten. Das Brot ohne Salz wurde vor allem als säuerlich, nach Sauerteig und hefeartig beschrieben und konnte sehr deutlich von Brot mit 1,2 % NaCl unterschieden werden, sodass die Verbesserung der sensorischen Eigenschaften als entscheidender Parameter identifiziert wurde (*Lynch et al., 2009*). Die in der Profilprüfung beobachtete Reduktion der bitteren Note in Brot ohne Salz nach Salzzugabe beruht sicherlich auf der maskierenden Wirkung von Natriumchlorid auf Bitterkeit (*Breslin und Beauchamp, 1995; Breslin, 1996*) und auf der allgemeinen Verbesserung des gesamten Aroma- und Geschmackseindrucks (*Miller und Hosney, 2008*).

Die Abhängigkeit der Salzwahrnehmung vom absoluten Salzgehalt bei gleichem Unterschied von 0,3 % lässt sich zum einen darauf zurückführen, dass das Brot ohne Salz einen sehr charakteristischen faden, mehlig/wässrigen, hefeartigen und leicht muffigen Geschmack aufwies (3.1.2) und zum anderen darauf, dass die Sensitivität der Geschmacksempfindung bei sehr geringen absoluten Mengen deutlich besser ist und darum auch sehr kleine Unterschiede erkannt werden können (*Delwiche und O'Mahony, 1996*). Die Tatsache, dass bei einem Salzgehalt von  $\geq 1$  % keine Differenzierung zwischen zwei Broten mehr möglich war, wenn sie sich um 0,2 % oder weniger unterscheiden, kann man sich bei der sukzessiven Salzreduktion über einen längeren Zeitraum hinweg zu Nutze machen (*Girgis et al., 2003*).

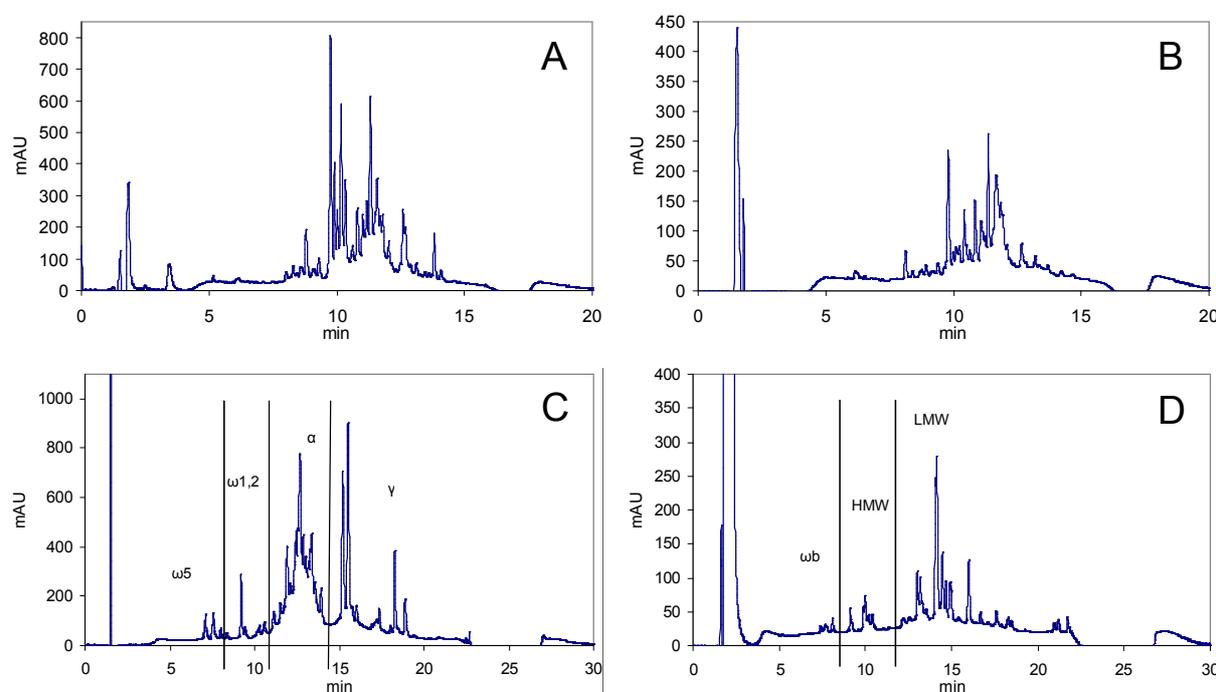
Da in Messungen zur Natriumfreisetzung aus Brotkrume gezeigt werden konnte, dass 100 % des Natriums aus Brotkrume mit Wasser, Puffer, künstlichem Speichel und Humanspeichel extrahierbar war (**Abbildungen 20** und **21**) muss es sich bei dem sehr deutlichen, sensorischen Unterschied zwischen Brotkrume und wässriger Lösung um zeitabhängige Effekte handeln. Wird wässrige NaCl-Lösung in den Mund genommen, ist die gesamte darin enthaltene NaCl-Menge sehr schnell für die Ionenkanäle verfügbar. Im Gegensatz dazu muss Brotkrume zunächst gekaut und mit Speichel vermischt werden und die Freisetzung erfolgt damit nicht sofort und auf einmal, sondern nach und nach über die Kaudauer von durchschnittlich 15 - 25 s verteilt, sodass der relative Konzentrationsunterschied stets deutlich geringer ist. Die Textur ist offensichtlich ein entscheidender Einflussfaktor auf die Salzwahrnehmung in Brot. Einen weiteren Hinweis auf die Textur als entscheidenden Parameter liefert der Vergleich des wässrigen Brotextrakts mit der Salzlösung. Hier war keine signifikante Unterscheidung in Bezug auf die Salzigkeit möglich, da im gewonnenen Brotextrakt wiederum alle Natriumionen frei vorlagen und die ebenfalls gelösten Brotinhaltsstoffe wie Zucker und kleinere Proteine zu keiner signifikanten Verringerung der Salzintensität führten.

## 3.2 Identifizierung von salzgeschmacksbeeinflussenden Parametern in Brotkrume

### 3.2.1 Modellstudien zur Untersuchung der Natriumbindung an Proteinfractionen

#### 3.2.1.1 Isolierung der Proteinfractionen aus Weizenmehl

Die vor der nach *Wieser et al. (1998)* modifizierte Osborne-Fraktionierung (*Osborne, 1907*) notwendige Entfettung des Weizenmehls wurde mit Pentan/Ethanol (95/5; v/v) durchgeführt, um die Nicht-Stärke-Lipide so weit wie möglich zu extrahieren. Danach wurden im ersten Schritt die wasserlöslichen Albumine (**Abbildung 11 A**) und anschließend die salzlöslichen Globuline (0,4 mol/L KCl, **Abbildung 11 B**) extrahiert. Bei der Herstellung der Salzlösung wurden anstelle der üblicherweise verwendeten Natriumsalze die entsprechenden Kaliumsalze verwendet, um eine Verunreinigung mit Natrium zu vermeiden. In einem zweiten Ansatz wurden aus dem Rückstand der gemeinsamen Albumin-/Globulinextraktion die Gliadine mit 60 % Ethanol (**Abbildung 11 C**) und die Glutenine mit reduzierendem Extraktionspuffer (**Abbildung 11 D**) gewonnen, da sonst bereits bei der wässrigen Extraktion der Albumine ein Teil der Gliadine mit in Lösung geht. Alle Proteinfractionen wurden dialysiert, mittels RP-HPLC-UV charakterisiert und der Proteingehalt nach der Methode von Dumas bestimmt.

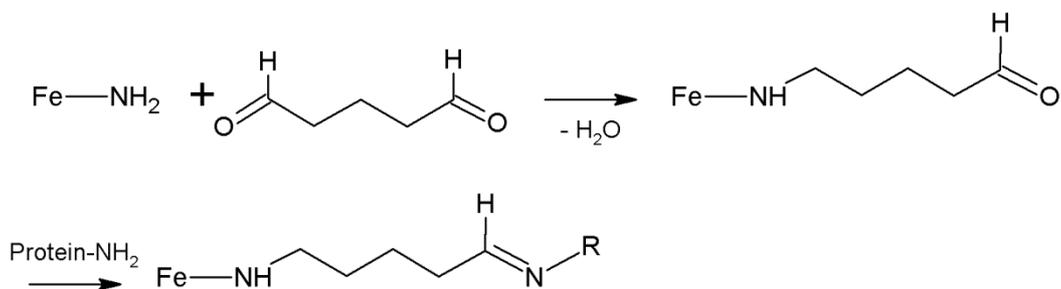


**Abbildung 11:** RP-HPLC-UV-Chromatogramme der Proteinfractionen aus Weizenmehl (Sorte Tommi, 2008). **A:** Albumine. **B:** Globuline. **C:** Gliadine. **D:** Glutenine.

### 3.2.1.2 Bestimmung der Natriumbindung von Proteinen mittels Magnetic Beads Assay

Mit Hilfe von superparamagnetischen Eisenoxidpartikeln, deren Oberfläche mit freien, primären Aminogruppen beschichtet ist (amino-funktionalisierte Magnetic Beads), lassen sich wasserlösliche Proteine wie Milchproteine oder Weizenalbumine an einen festen Träger fixieren, ohne dass die Funktionalität des Proteins verloren geht (*Weston und Avrameas, 1971*). Die in 0,4 mol/L Salzlösung löslichen Weizenglobuline konnten in 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer (pH 6,0) ebenfalls ausreichend in Lösung gebracht werden, um eine Bindung an die Magnetic Beads mit einer Rate von  $89 \pm 5 \%$  zu ermöglichen. Für die in wässrigem Alkohol löslichen Weizengliadine wurde der Assay modifiziert, sodass anstelle des 0,01 M Pyridin/HCl-Puffers stets 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer/Ethanol (40/60; v/v) verwendet wurde. Somit betrug die Bindungsrate an die Magnetic Beads für die Gliadine  $57 \pm 8 \%$ , was für eine reproduzierbare Bestimmung der Natriumbindung ausreichend war. Lediglich die Weizengluteneine konnten aufgrund ihrer schlechteren Löslichkeit nicht an die Magnetic Beads gebunden werden, sodass eine zweite Methode mittels einer Natrium-selektiven Elektrode verwendet wurde (*Pflaum, 2013*).

Die Magnetic Beads werden mit Glutaraldehyd aktiviert, das kovalent an die freien, primären Aminogruppen auf der Oberfläche der Beads gebunden wird. Anschließend erfolgt die kovalente und sehr spezifische Bindung der gelösten Proteine an die Beads über Glutaraldehyd als Vernetzungsreagenz (**Abbildung 12**), sodass nun reproduzierbare Inkubationsexperimente mit Liganden, wie zum Beispiel Natriumionen, durchgeführt werden können.



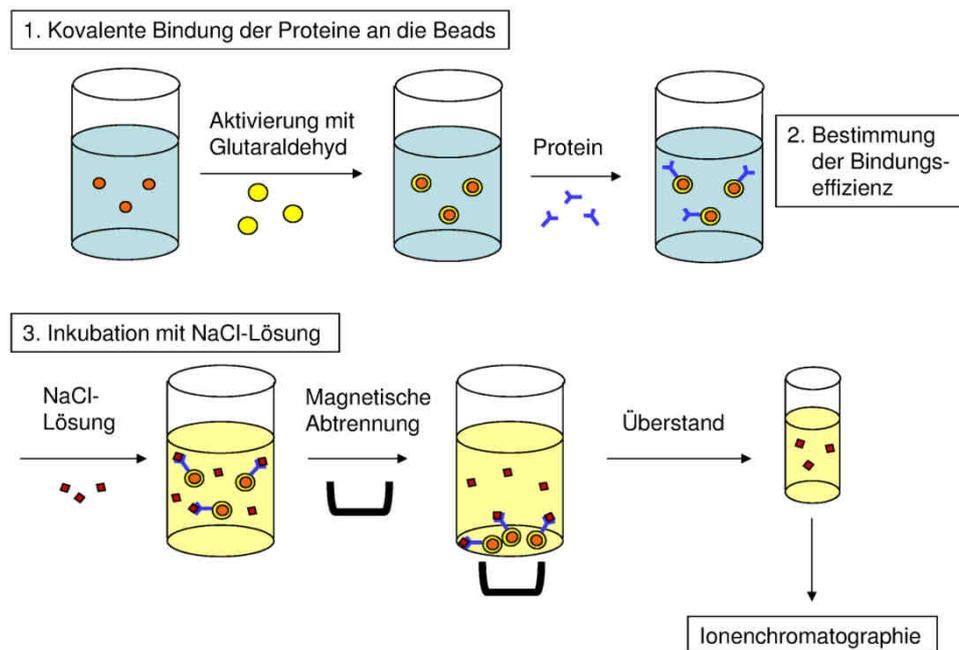
**Abbildung 12:** Kovalente Bindung der Proteine an die amino-funktionalisierten Magnetic Beads mit Glutaraldehyd als Vernetzungsreagenz.

Die magnetischen Eigenschaften der Beads ermöglichen eine schnelle und vollständige Abtrennung der proteingebundenen von den freien Natriumionen. Die freien Natriumionen können mittels Kationenchromatographie quantitativ bestimmt werden. Durch Einstellung einer konstanten Konzentration von  $2 \cdot 10^{-4}$  mmol Protein/mL können zudem verschiedene Proteine miteinander verglichen werden.

Die Durchführung des Magnetic Beads Assays mit anschließender Inkubation der gebundenen Proteine mit Natriumchloridlösung ist in **Abbildung 13** schematisch dargestellt. Um die

Proteine kovalent an die amino-funktionalisierten Beads zu binden, wird ein definiertes Volumen (2,5 mL) der Magnetic Beads Suspension mit bidest. Wasser und danach 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer (pH 6,0) gewaschen und zur Aktivierung 3 h bei Raumtemperatur unter Schütteln mit 5%iger Glutaraldehydlösung inkubiert. Nach magnetischer Abtrennung der aktivierten Beads wird der Überschuss an Glutaraldehyd entfernt, erneut mit Pyridinpuffer gewaschen und mit der entsprechenden Proteinlösung („pre-coupling“ Lösung) definierter Konzentration 22 h bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubiert. Die mit Protein beladenen Beads werden magnetisch abgetrennt und 200  $\mu$ L des Überstands („post-coupling“ Lösung) aufbewahrt. Durch Bestimmung der Differenz der Proteinkonzentrationen zwischen der „pre-coupling“ und der „post-coupling“ Lösung mittels BCA-Assay lässt sich die Menge an Protein ermitteln, die an die Beads gebunden hat. Um noch freie Aldehydgruppen abzufangen, wird 0,1 mol/L Glycinlösung zugegeben, diese nach 30-minütigem Schütteln wieder entfernt und erneut mit Pyridinpuffer gewaschen. Die Beads werden im entsprechenden Volumen 0,1 mol/L BIS-TRIS-Propan/HCl-Puffer (pH 5,0; pH 7,0; pH 9,0) aufgenommen, sodass die Endkonzentration stets  $2 \cdot 10^{-4}$  mmol Protein/mL Puffer beträgt.

Zur Bestimmung der Natriumbindungs Kapazität der Proteine wird ein konstantes Volumen der NaCl-Lösung mit unterschiedlichen Konzentrationen der mit Protein beladenen Magnetic Beads inkubiert. Nach magnetischer Abtrennung der mit Protein beladenen Magnetic Beads mitsamt der an die Proteine gebundenen Natriumionen wird die Konzentration der freien Natriumionen im verbleibenden Überstand mittels Kationenchromatographie analysiert.

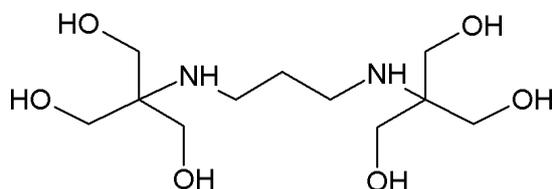


**Abbildung 13:** Schematische Darstellung des Magnetic Beads Assays zur quantitativen Bestimmung der Natriumbindung an Proteine.

### Natriumbindung an $\beta$ -Lactoglobulin und $\beta$ -Casein

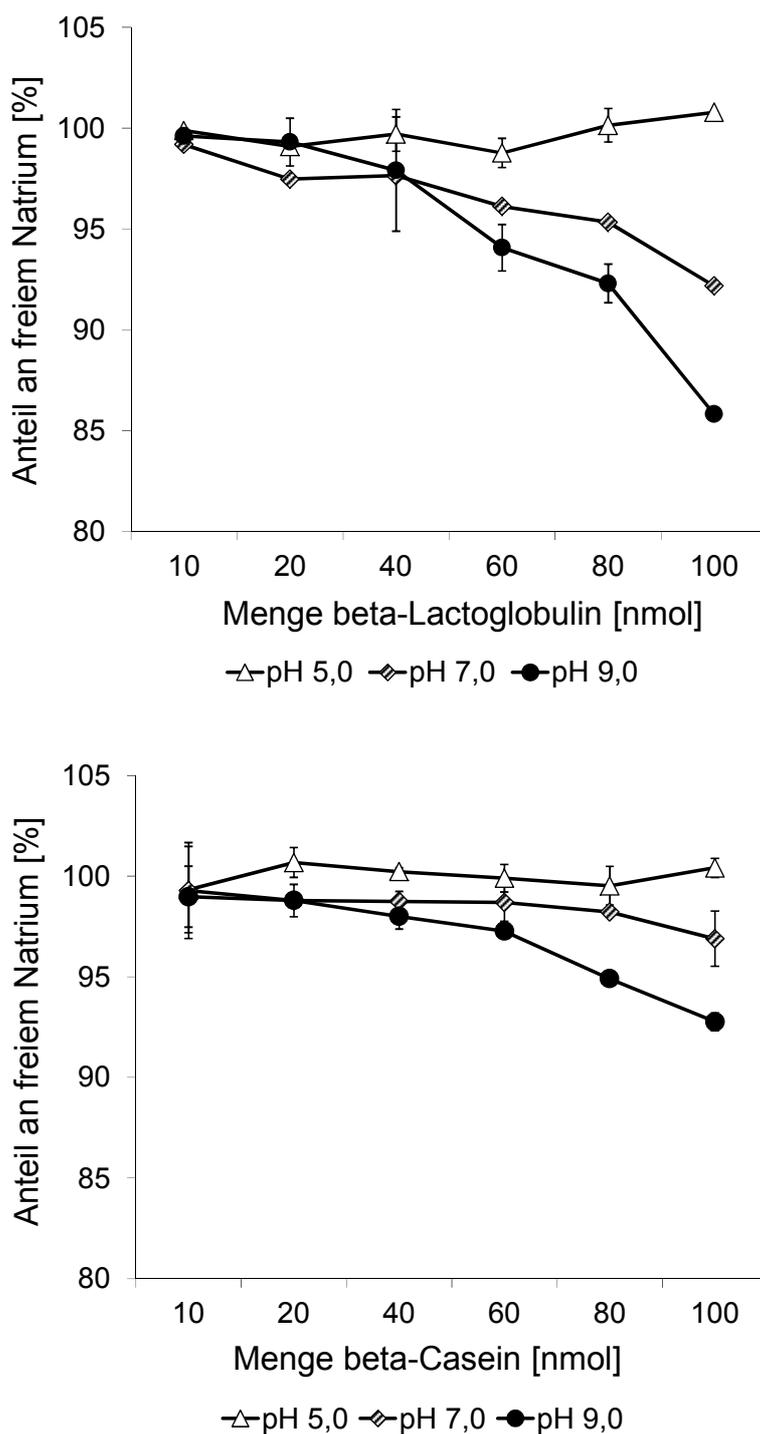
Um den Einfluss möglicher ionischer Wechselwirkungen zwischen Natriumionen und den Weizenproteinfraktionen zu untersuchen, wurden mittels modifizierter Osborne-Fraktionierung isolierte Weizenalbumine, -globuline und -gliadine mit Hilfe des Magnetic Beads Assays untersucht. Zunächst war jedoch eine Methodvalidierung nötig, die mit den Milchproteinen  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\beta$ -Casein durchgeführt wurde, da aus der Literatur (*Baker und Saroff, 1965; Strange et al., 1994*) bekannt war, dass diese beiden Proteine in der Lage sind, Natrium zu binden.

Die Bestimmungen wurden zunächst in Kaliumdihydrogenphosphat/Dikaliumhydrogenphosphat-Puffer durchgeführt. Da sich jedoch zum einen bei der Messung des Puffers zeigte, dass die beiden Kaliumsalze erhebliche Mengen an Natrium enthielten und zum anderen ein größeres, organisches Molekül geeigneter erschien, wurde für die folgenden Messungen BIS-TRIS-Propan/HCl als Puffer verwendet. BIS-TRIS-Propan (**Abbildung 14**) enthielt nach der Überprüfung mittels Kationenchromatographie nur vernachlässigbar geringe Mengen an Natrium als Verunreinigung und bot im Vergleich zu Kaliumsalzen den Vorteil, dass dieses Molekül deutlich größer ist und sich somit stark von den Natriumionen unterscheidet. Darum war anzunehmen, dass BIS-TRIS-Propan nicht oder nur unwesentlich mit Natrium um die Bindungsstellen an den Proteinen konkurriert.



**Abbildung 14:** Strukturformel von BIS-TRIS-Propan.

Die Ergebnisse (**Abbildung 15**) zeigten, dass sowohl  $\beta$ -Lactoglobulin als auch  $\beta$ -Casein bei den pH-Werten 7 und 9 Natrium gebunden hatten, da der Anteil an freiem Natrium in der überstehenden Lösung abgenommen hatte. Bei pH 5 ließ sich bei beiden Milchproteinen keine Natriumbindung beobachten. Im Neutralen konnte eine Natriumbindung beobachtet werden, die im Basischen zunahm, was auf eine Beteiligung von sauren Aminosäureseitenketten hinweist. Je mehr Protein zugegeben wurde, umso mehr sank der Anteil an freiem Natrium im Überstand. Der maximale Anteil an gebundenem Natrium betrug bei pH 7 für  $\beta$ -Lactoglobulin 7,8 % und für  $\beta$ -Casein 3,1 %, während die Werte bei pH 9 auf 14,2 % für  $\beta$ -Lactoglobulin und 7,2 % für  $\beta$ -Casein anstiegen. Da alle Bedingungen für beide Proteine gleich waren, hatte  $\beta$ -Lactoglobulin offensichtlich eine höhere Affinität zu Natrium als  $\beta$ -Casein.



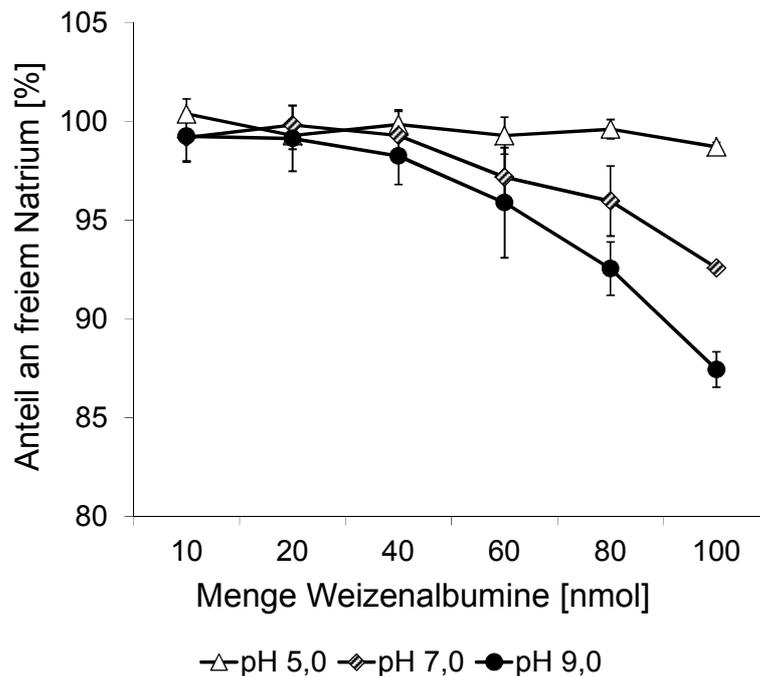
**Abbildung 15:** Natriumbindung an  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\beta$ -Casein in Abhängigkeit vom pH-Wert (pH 5,0; 7,0 und 9,0) und der Menge an Protein [nmol]. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung (n = 3) an.

Anhand dieser Daten konnte gezeigt werden, dass der Magnetic Beads Assay gut dafür geeignet ist, die Natriumbindung an Proteine zu untersuchen, sodass im Folgenden die modifizierten Osborne-Fractionen aus Weizenmehl untersucht wurden.

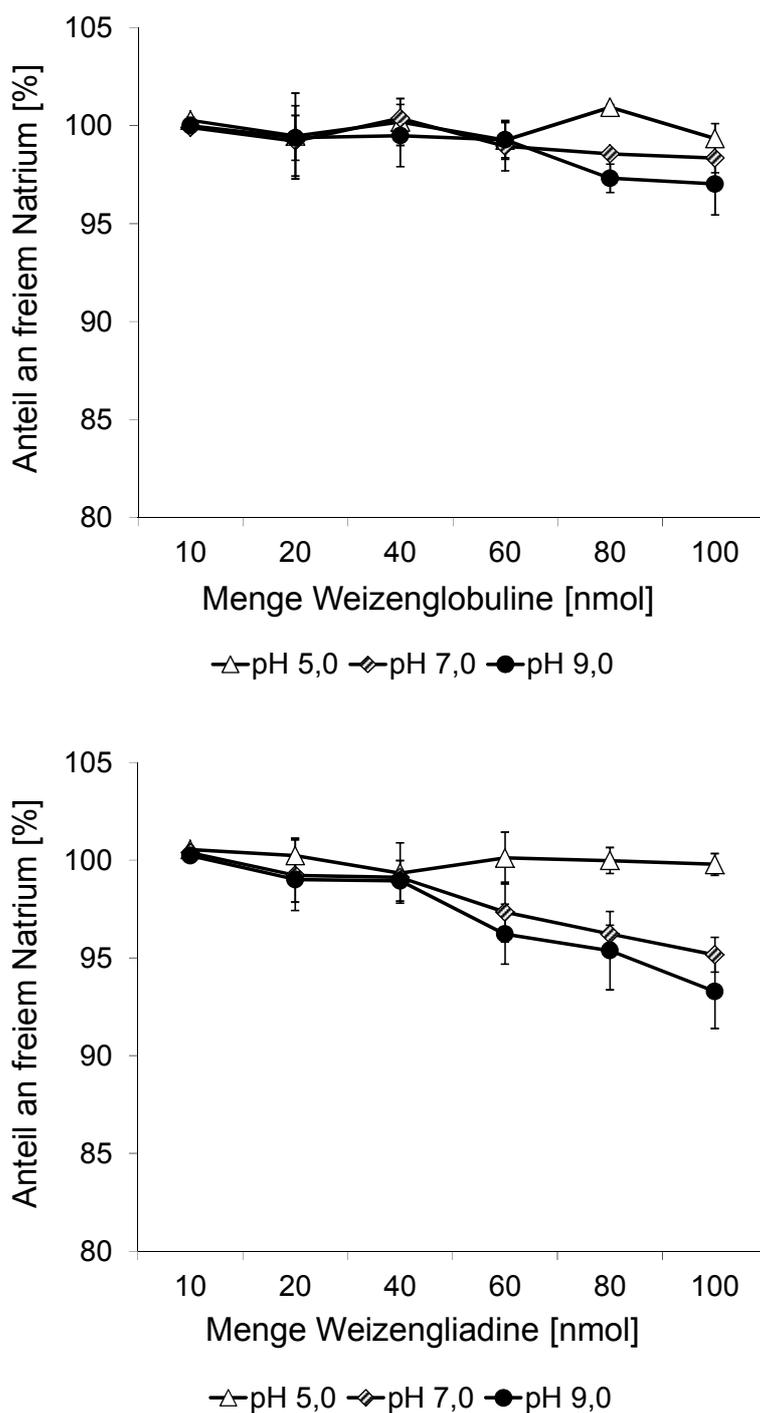
### Natriumbindung an Weizenalbumine, -globuline und -gliadine

Weizenalbumine, -globuline und -gliadine wurden durch eine modifizierte Osborne-Fraktionierung (Wieser *et al.*, 1998) aus Weizenmehl (Sorte Tommi, Ernte 2008) isoliert und genau wie die Milchproteine an die Magnetic Beads gebunden, mit Natriumchlorid-Lösung inkubiert und die Natriumkonzentration im Überstand mittels Kationenchromatographie gemessen.

Bei den pH-Werten 7 und 9 zeigten die Weizenalbumine eine deutliche Natriumbindung (**Abbildung 16**). Der maximale Anteil an gebundenem Natrium bei pH 7 betrug 7,4 % und stieg auf 12,6 % bei pH 9 an. Im Vergleich dazu zeigten die Weizenglobuline im Rahmen der Standardabweichungen eine vernachlässigbar geringe Natriumbindung (**Abbildung 17**), da der Anteil an gebundenem Natrium selbst bei pH 9 lediglich 3,0 % betrug. Die Weizengliadine zeigten bei pH 7 und 9 ebenfalls eine Natriumbindung (**Abbildung 17**), aber der Anteil an gebundenem Natrium lag mit 4,8 % bei pH 7 und 6,7 % bei pH 9 niedriger als bei den Weizenalbuminen. Im Sauren bei pH 5 zeigte sich ebenso wie bei den Milchproteinen  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\beta$ -Casein keine signifikante Natriumbindung.



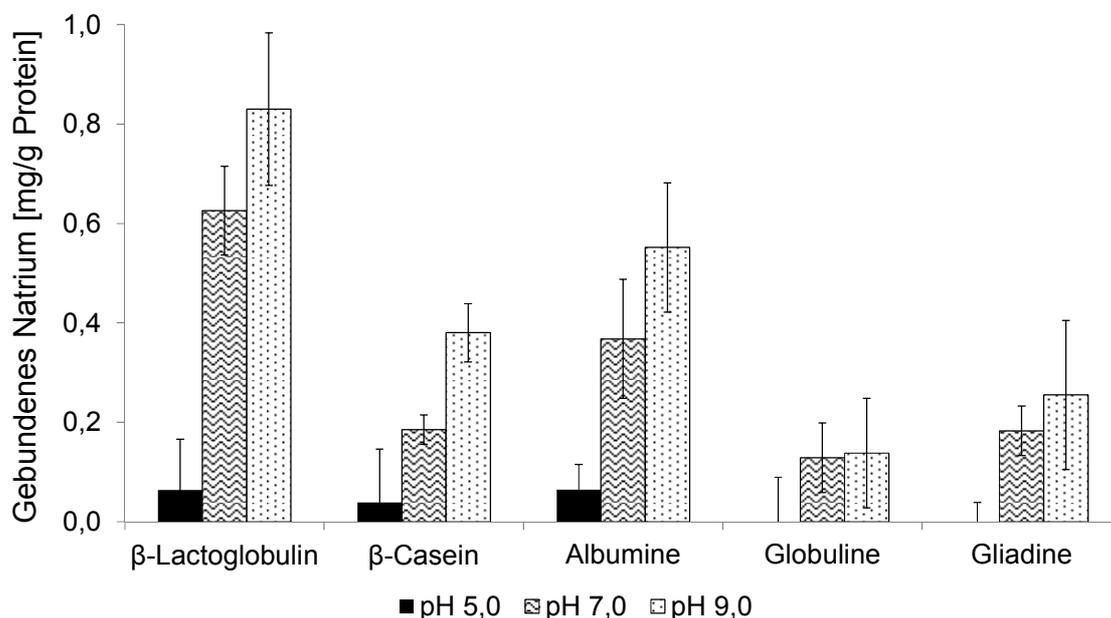
**Abbildung 16:** Natriumbindung an Weizenalbumine in Abhängigkeit vom pH-Wert (pH 5,0; 7,0 und 9,0) und der Menge an Protein [nmol]. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung (n = 3) an.



**Abbildung 17:** Natriumbindung an Weizenglobuline und -gliadine in Abhängigkeit vom pH-Wert (pH 5,0; 7,0 und 9,0) und der Menge an Protein [nmol]. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung (n = 3) an.

Beim Vergleich der NatriumbindungsKapazitäten aller untersuchten Proteine fiel auf, dass im Sauren bei pH 5 bei keinem der Proteine eine signifikante Natriumbindung vorlag. Im Neutra-len bei pH 7 wurde von allen Proteinen Natrium gebunden und der Anteil stieg im Basischen

bei pH 9 weiter an, wobei die Globuline und Gliadine Ausnahmen bildeten, da der gebundene Anteil hier konstant sehr niedrig blieb (**Abbildung 18**).



**Abbildung 18:** Vergleich der Natriumbindung [mg Natrium/g Protein] aller untersuchten Proteine ( $\beta$ -Lactoglobulin,  $\beta$ -Casein, Weizenalbumine, -globuline und -gliadine) in Abhängigkeit vom pH-Wert (pH 5,0; 7,0 und 9,0). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung ( $n = 3$ ) an.

Insgesamt weist die erhöhte Natriumbindungs­kapazität bei höheren pH-Werten auf eine Beteiligung der sauren Aminosäureseitenketten hin, da diese im Alkalischen zunehmend deprotoniert vorliegen und somit ionische Wechselwirkungen mit den positiv geladenen Natriumionen eingehen können. Die Aminosäurezusammensetzung der fünf untersuchten Proteine ist in **Tabelle 4** dargestellt, um mögliche Korrelationen zwischen der Natriumbindungs­kapazität, der Aminosäurezusammensetzung und speziell dem Verhältnis saurer zu basischer Aminosäuren erkennen zu können. Berechnet man die Verhältnisse aus der Summe der sauren Aminosäuren zu den basischen Aminosäuren ergibt sich für  $\beta$ -Lactoglobulin (1,30),  $\beta$ -Casein (1,15) und Weizenalbumine (1,06) ein Überschuss an sauren Aminosäuren. Im Gegensatz dazu weisen Weizenglobuline (0,70) und -gliadine (0,55) einen Überschuss an basischen Aminosäuren auf, sodass hier eine geringere Natriumbindungs­kapazität zu erwarten ist.

**Tabelle 4:** Aminosäurezusammensetzung der untersuchten Proteine [mol-%] (*ExpASy Proteindatenbank, Wieser et al., 1983*).

Aminosäure	$\beta$ -Lactoglobulin	$\beta$ -Casein	Weizenalbumine	Weizenglobuline	Weizengliadine
Ala	9,3	2,4	6,9	7,5	2,8
Arg	1,9	1,9	4,0	6,4	1,7
Asn	3,1	2,4	9,7	7,7	2,7
Asp	6,2	1,9	*	*	*
Cys	3,1	0,0	3,2	3,6	2,2
Gln	5,6	9,6	20,9	15,2	37,1
Glu	9,9	9,1	*	*	*
Gly	2,5	2,4	6,9	8,3	2,9
His	1,2	2,4	1,8	2,4	1,7
Ile	6,2	4,8	3,3	3,8	4,1
Leu	13,6	10,5	6,4	7,3	6,9
Lys	9,3	5,3	3,0	4,0	0,8
Met	2,5	2,9	1,6	2,0	1,1
Phe	2,5	4,3	3,1	3,1	4,6
Pro	4,9	16,7	9,3	6,9	16,6
Ser	4,3	7,7	6,2	6,6	5,9
Thr	4,9	4,3	3,8	4,6	2,3
Trp	1,2	0,5	1,1	0,9	0,4
Tyr	2,5	1,9	2,8	2,9	2,0
Val	5,6	9,1	6,0	6,8	4,2
* Asp+Glu			9,3	9,0	2,3

Die Ergebnisse des Magnetic Beads Assays zeigen auch deutlich (**Abbildung 18**), dass die Weizenglobuline und -gliadine die geringsten Natriumbindungskapazitäten aufwiesen, die auch bei pH 9 im Vergleich zu pH 7 nicht signifikant anstiegen. Bei den Weizenalbuminen hingegen konnte bei pH 9 ein höherer Anteil an Natrium gebunden werden, was damit erklärt werden kann, dass die sauren Aminosäuren leicht im Überschuss vorliegen. Bei den Milchproteinen, bei denen die sauren Aminosäuren stärker überwiegen als bei den Weizenproteinen, konnte zumindest für  $\beta$ -Lactoglobulin auch die höchste Natriumbindungskapazität gefunden werden. Der Anteil an gebundenem Natrium an  $\beta$ -Casein lag jedoch niedriger, sogar unterhalb des Werts für die Weizenalbumine, sodass das Verhältnis von sauren zu basi-

schen Aminosäuren nicht als alleinige Erklärung für die beobachteten Unterschiede dienen kann.

Um die Auswirkung der beobachteten NatriumbindungsKapazitäten der Weizenproteine auf die Salzwahrnehmung in Brotkrume beurteilen zu können, wurden aus den gemessenen Werten (mg gebundenes Natrium pro g Protein) anhand der mengenmäßigen Verteilung der Osborne-Fractionen in Bezug auf das Mehl zunächst die entsprechenden Werte für 100 g Mehl berechnet (**Tabelle 5**). Bezog man diese Werte auf die übliche Angabe in Natriumchlorid, bezogen auf die Mehlmenge, ergaben sich für die Summe aller Proteine Gehalte von unter 0,01 %.

**Tabelle 5:** Natriumbindung an die Osborne-Fractionen von Weizenmehl (Sorte Tommi, 2008) bei pH 7,0 und Berechnung der entsprechenden NaCl-Mengen in Brot. Die Werte sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung einer Dreifachbestimmung angegeben.

Proteinfraktion	Gehalt im Mehl [g/100 g Mehl]	Na <sup>+</sup> gebunden bei pH 7 [mg/g Protein]	Na <sup>+</sup> gebunden in 100 g Mehl [mg]	NaCl bezogen auf Mehl [%]
Albumine	0,87 $\pm$ 0,07	0,37 $\pm$ 0,12	0,32	< 0,001
Globuline	0,29 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,07	0,04	< 0,001
Gliadine	5,73 $\pm$ 0,15	0,18 $\pm$ 0,05	0,96	0,002
Glutenine (ISE) <sup>a</sup>	3,34 $\pm$ 0,17	0,01 $\pm$ 0,01	0,02	< 0,001

<sup>a</sup> Bestimmung mittels Natrium-selektiver Elektrode (ISE) (*Pflaum, 2013*)

In den vorausgegangenen 2-AFC-Tests konnte jedoch gezeigt werden, dass der kleinste, sensorisch sicher wahrnehmbare Unterschied 0,3 % betrug, wenn Brot mit 1 % NaCl als Referenz diente. Selbst wenn Brot ohne NaCl als Referenz diente und die sensorische Auflösung bei sehr geringen absoluten Mengen an NaCl größer war, waren noch 0,075 % nötig, um einen Unterschied feststellen zu können (Kapitel 3.1.4). Somit war die Natriumbindung durch die Weizenproteine mit unter 0,01 % vernachlässigbar gering und konnte keinen signifikanten Einfluss auf die sensorische Salzwahrnehmung haben. Aus diesem Grund wurden im Folgenden weitere Parameter wie die Natriumfreisetzung aus Brotkrume, die Natriumverteilung in Brotkrume und die Krumentextur untersucht.

### 3.2.1.3 Diskussion

Nachdem der Einsalz- sowie der Aussalzeffekt von Proteinen bekannt ist (*Curtis et al., 1998, 2002*) und zahlreiche Veröffentlichungen die Wechselwirkungen zwischen Weizen-, insbesondere Kleberproteinen und Natriumchlorid beschreiben (*Preston, 1981, 1989; Salovaara,*

1982a; Kieffer et al., 1983; He, 1992; Wellner et al., 2003; Ukai et al., 2008; Beck et al., 2012a), wurden diese Studien zur Natriumbindungskapazität der Proteinfractionen durchgeführt. Geringe Mengen Natriumchlorid (3,6 % bezogen auf Trockenkleber) hatten Kleberschwächende Eigenschaften, da durch Interaktion mit geladenen Aminosäureseitenketten intermolekulare, ionische Bindungen gespalten werden, während höhere Mengen (> 5 %) Kleberstärkend wirkten, da sie die Wasserstruktur ordnen und die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophoben Wechselwirkungen begünstigen (Kieffer et al., 1983). Die Visualisierung der Proteine in Weizenmehlteigen mit 0, 2 und 4 % NaCl mittels CLSM ergab, dass die Proteine in Teigen ohne Salz weniger stark vernetzt sind, als in Teigen mit 2 und 4 % NaCl, bei denen längere Proteinstränge entstanden (Beck et al., 2012a). Basierend auf diesem Wissen wurde eine Bindung von Natriumionen an die Weizenproteine angenommen, da diese offensichtlich einen erheblichen Einfluss insbesondere auf die Kleberstruktur in Teigen hatten.

Der Magnetic Beads Assay zur Untersuchung der Natriumbindung an Proteine hat die Vorteile, dass die Methode sehr schonend ist, die Funktionalität der Proteine erhalten bleibt und die Abtrennung der Proteine schnell und vollständig ist, sodass keine Veränderung des chemischen Gleichgewichts in der Lösung zu erwarten ist. Mit kleinen Modifikationen konnten sogar die salzlösliche Globulin- und die in wässrigen Alkoholen lösliche Gliadinfraktion untersucht werden.

Die Methodvalidierung mit den für ihre Fähigkeit, Natrium zu binden, bekannten Milchproteinen  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\beta$ -Casein (Baker und Saroff, 1965; Strange et al., 1994) zeigte, dass der Magnetic Beads Assay dafür geeignet war, die Natriumbindung an Proteine zu untersuchen, da auch deutliche Unterschiede zwischen den beiden Proteinen gezeigt werden konnten. Baker und Saroff (1965) fanden für  $\beta$ -Lactoglobulin eine Natriumbindung von 1,3 (pH 7) bzw. 4,5 mg/g Protein (pH 9). Die Untersuchung mittels Magnetic Beads ergab im Mittel eine Natriumbindung von  $0,6 \pm 0,1$  (pH 7) bzw.  $0,8 \pm 0,1$  mg/g Protein (pH 9). Die ermittelten Werte liegen im Vergleich zu den Literaturdaten bei pH 7 noch im gleichen Bereich, bei pH 9 jedoch deutlich niedriger. Dieser Unterschied kann auf die verschiedenen Messmethoden zurückgeführt werden, da Baker und Saroff (1965) eine Membrantitration unter Verwendung von permselektiven Membranen durchgeführt hatten. Da es sich bei der Natriumbindung an Proteine mit großer Wahrscheinlichkeit um eine reversible Gleichgewichtsreaktion handelt, ist die Angabe der verwendeten Methode sehr wichtig.

Bei pH 5 wies keines der fünf untersuchten Proteine bzw. keine der Proteinfractionen eine signifikante Natriumbindung auf. Die freien Asparaginsäure- und Glutaminsäurereste, die mit den  $\text{Na}^+$ -Ionen aufgrund der entgegengesetzten Ladungen Wechselwirkungen eingehen könnten, liegen offensichtlich noch größtenteils protoniert vor, obwohl die pK-Werte für Aspa-

raginsäure (3,65) und Glutaminsäure (4,25) (*Belitz et al., 2007*) deutlich im Sauren liegen. Bei einem komplexen Protein muss allerdings die chemische Umgebung der Aminosäurereste sowie die Tertiärstruktur berücksichtigt werden, sodass diese pK-Werte lediglich als Anhaltspunkt dienen können. Im Neutralen steigt der Anteil an deprotonierten Aminosäureresten an, sodass hier bei  $\beta$ -Lactoglobulin,  $\beta$ -Casein und den Weizenalbuminen eine deutliche Reduktion des Anteils an freiem Natrium im Überstand zu beobachten war. Im Alkalischen bei pH 9 war bei diesen drei Proteinen der Anteil an freiem Natrium noch stärker reduziert. Bei den Weizenglobulinen war selbst im Alkalischen bei pH 9 keine und bei den Gliadinen nur eine relativ schwache Natriumbindung zu erkennen, obwohl dort alle freien Carboxylgruppen deprotoniert vorliegen müssten.

Die Natriumbindung ist jedoch allein aufgrund des Anteils an freien Carboxylgruppen nicht zu erklären, was am Beispiel der Globuline deutlich wird. Globuline enthalten mit durchschnittlich 9,0 mol-% fast genauso viele saure Aminosäuren wie die Albumine mit 9,3 mol-% (**Tabelle 4**). Dennoch zeigten die Globuline im Gegensatz zu den Albuminen eine vernachlässigbar geringe Natriumbindung. Eine mögliche Ursache könnte die Lage und damit die Zugänglichkeit der Aminosäurereste innerhalb der Proteine sein. Das Verhältnis aus der Summe der sauren Aminosäuren zu den basischen Aminosäuren gab schon mehr Aufschluss über die zu erwartende Natriumbindung, da sowohl Globuline als auch Gliadine einen Überschuss an basischen Aminosäuren aufweisen und gleichzeitig die geringsten Natriumbindungskapazitäten zeigten. Für die Albumine und  $\beta$ -Lactoglobulin eignete sich das Verhältnis ebenfalls zur Voraussage, aber  $\beta$ -Casein wies eine im Vergleich zur Erwartung zu niedrige Natriumbindungskapazität auf, da die Werte zwischen denen von  $\beta$ -Lactoglobulin und den Albuminen liegen müssten, tatsächlich jedoch unterhalb denen der Albumine lagen. Ein Vergleich zwischen  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\beta$ -Casein einerseits und den Proteinfractionen aus Weizenmehl andererseits ist allerdings nur bedingt möglich, da es sich bei den Fraktionen um Proteinmischungen und nicht um reine Proteine handelt. Außerdem werden zusätzlich zu ionischen Wechselwirkungen komplexere Bindungsmechanismen wie Chelatbildung an den ionisierbaren Carboxyl-, Imidazol-, Guanidin- oder  $\epsilon$ -Aminogruppen diskutiert (*Baker und Saroff, 1965*).

Die Umrechnung der gemessenen Natriumbindungskapazitäten auf die übliche Angabe in Natriumchlorid, bezogen auf die Mehlmenge, ergab, dass alle untersuchten Proteinfractionen zusammengenommen weniger als 0,01 % NaCl binden können. Obwohl offensichtlich ein Einfluss von NaCl auf die Kleberproteine vorhanden ist, scheinen die ionischen Wechselwirkungen schwach und vollständig reversibel zu sein, sodass die Natriumbindung an Proteine in Weizenmehl vernachlässigbar gering war und insgesamt keinen Einfluss auf die sensorische Salzwahrnehmung haben konnte.

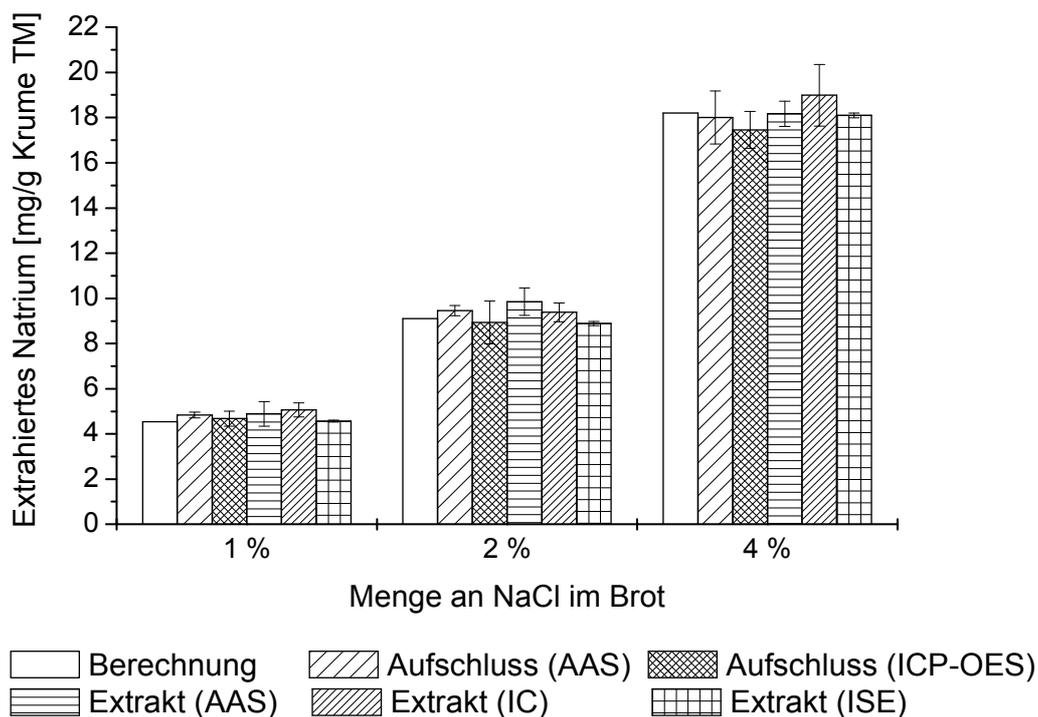
### 3.2.2 Quantitative Studien zur Natriumfreisetzung beim Verzehr von Brotkrume

Obwohl in Modellstudien keine signifikante Natriumbindung an isolierte Weizenproteine ermittelt werden konnte (3.2.1), bestand weiterhin die Möglichkeit, dass die Natriumionen mit anderen Mehlinhaltsstoffen wie Stärke oder Nicht-Stärke-Polysacchariden Wechselwirkungen eingehen. Außerdem war denkbar, dass sich die in die Proteinstruktur des Brots eingebundenen Natriumionen anders verhalten als in den wässrigen Modelllösungen. Um herauszufinden, welcher Anteil der Natriumionen aus Brotkrume extrahierbar ist und ob ein Teil möglicherweise irreversibel in der Krume zurückbleibt, wurde die absolute Natriumfreisetzung aus Brotkrume bestimmt.

#### 3.2.2.1 Absolute Natriumfreisetzung aus Brotkrume

Zunächst wurden die exakten Natriumgehalte in Brotkrume mit Zusatz von je 1, 2 und 4 % NaCl nach Aufschluss mit Salpetersäure und Wasserstoffperoxid mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) und Optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) bestimmt. Anschließend wurde Brotkrume 1 min lang im Kaumodell mit bidest. Wasser extrahiert und der Natriumgehalt mittels AAS, Kationenchromatographie (IC) und einer Natrium-selektiven Elektrode (ISE) quantifiziert. Als Kaumodell diente dabei ein modifizierter Potter S-Homogenisator, wobei die Kaubewegung durch Kombination einer automatisierten Rotation (150 Umdrehungen/Minute) und einer manuellen Auf- und Abbewegung (1/s) eines PTFE-Stempels simuliert wurde (4.4.2; **Abbildung 86**).

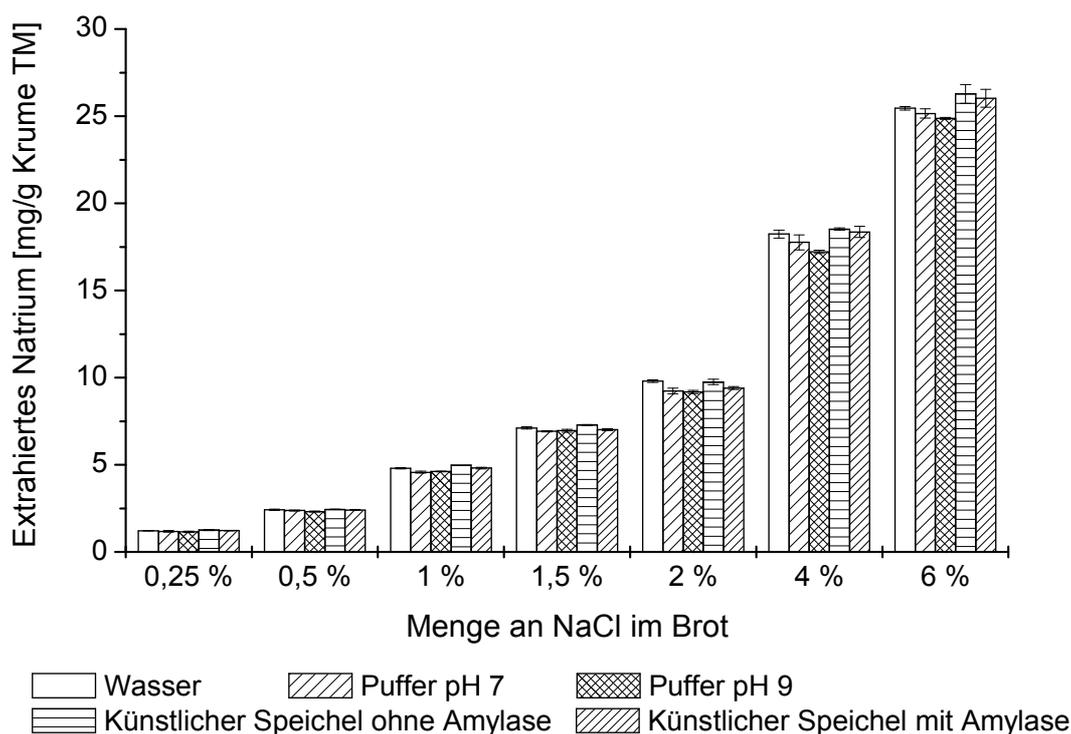
Die ermittelten Gesamt-Natriumgehalte nach Aufschluss der Krume stimmten sehr gut mit der jeweiligen Natriummenge überein, die sich aus der Brotrezeptur berechnen ließ. Außerdem zeigte sich zwischen dem Gesamt-Natriumgehalt nach salpetersaurem Aufschluss und dem Natriumgehalt der im Kaumodell gewonnenen, wässrigen Extrakte kein signifikanter Unterschied. Folglich waren die Natriumionen im Kaumodell mit bidest. Wasser vollständig aus allen Brotkrumen mit 1, 2 oder 4 % NaCl extrahierbar. Die verschiedenen Quantifizierungsmethoden zeigten keine signifikanten Unterschiede, wobei die Messung mit der Natrium-selektiven Elektrode die kleinsten Standardabweichungen ergab (**Abbildung 19**).



**Abbildung 19:** Gesamt-Natriumgehalte in Brotkrume mit 1, 2 und 4 % NaCl ermittelt durch Berechnung aus der Rezeptur, durch Messung mittels AAS und ICP-OES nach salpetersaurem Aufschluss und durch Messung mittels AAS, IC und ISE nach Extraktion mit bidest. Wasser. Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

Um den Einfluss von pH-Wert und Speichelinhaltsstoffen wie anorganischen Salzen und  $\alpha$ -Amylase auf die Extrahierbarkeit von Natriumionen aus Brotkrume zu bewerten, wurden dieselben Versuche im Kaumodell mit anderen Extraktionsmitteln anstelle von bidest. Wasser durchgeführt. Hierbei wurden Pufferlösungen (0,1 M Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, pH 7 oder 9), künstlicher Speichel mit anorganischen Salzen (NaCl,  $K_2HPO_4$ , KCl,  $CaCl_2 \times 2 H_2O$  und  $MgCl_2 \times 6 H_2O$ ) oder künstlicher Speichel mit anorganischen Salzen und  $\alpha$ -Amylase verwendet. Brotkrume mit je 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4 und 6 % NaCl wurde extrahiert und die mittels ISE quantifizierten Natriummengen im Überstand verglichen. Unabhängig vom verwendeten Extraktionsmittel war stets wiederum die gesamte in der Brotkrume enthaltene Natriummenge extrahierbar (**Abbildung 20**).

In weiterführenden Versuchen, die dem realen Kauvorgang im Mund möglichst nahe kommen sollten, wurde Humanspeichel von zwei Panelisten als Extraktionsmittel im Kaumodell verwendet. Nach Extraktion von Brotkrume mit 1,5 % NaCl zeigte sich, dass auch mit Humanspeichel die Natriummenge nach 60 s vollständig extrahierbar war (**Abbildung 21**).



**Abbildung 20:** Mit bidest. Wasser, Pufferlösungen (pH 7 und pH 9), und künstlichem Speichel ohne und mit  $\alpha$ -Amylase extrahierbare Natriumgehalte aus Brotkrume mit 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4 und 6 % NaCl. Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

Offensichtlich hatten weder anorganische Salze, noch  $\alpha$ -Amylase, noch andere in Human-speichel enthaltene Inhaltsstoffe wie Enzyme, weitere Proteine und Glykoproteine wie Mucin einen Einfluss auf die absolute Natriumextrahierbarkeit aus Brotkrume, da mit allen verwendeten Extraktionsmitteln im Kaumodell nach 60 s stets eine 100%ige Natriumfreisetzung erfolgte. Somit waren die Wechselwirkungen zwischen Natriumionen und Brotinhaltsstoffen so schwach und/oder vollständig reversibel, dass die komplette Natriummenge nach 60 s bereits mit bidest. Wasser in Lösung ging.

Nachdem die Natriumfreisetzung stets nach einer Extraktionszeit von 60 s untersucht worden war, war denkbar, dass diese Zeit im Vergleich zu einer durchschnittlichen Kaudauer von 15 - 25 s im Mund bereits zu lang war. Daher wurde im Folgenden die zeitabhängige Natriumfreisetzung mit zwei diskontinuierlichen Messmethoden (Kauen im Mund und im Kaumodell) und einer kontinuierlichen Messmethode (Kauen im Mund) detaillierter untersucht.

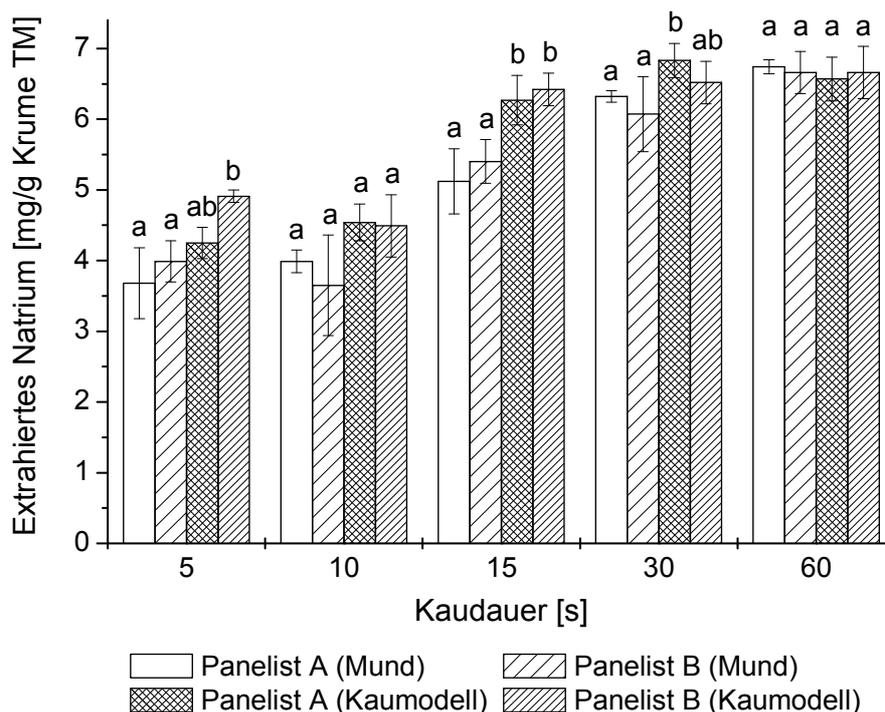
### 3.2.2.2 Diskontinuierliche Messung der Zeitabhängigkeit der Natriumfreisetzung aus Brotkrume

Zunächst kauten zwei Panelisten 3 g Brotkrume im Mund und spuckten den Kaubrei aus, wobei die jeweils sekretierte Speichelmenge gravimetrisch bestimmt wurde. Anschließend wurden 3 g Brotkrume mit zuvor gesammeltem Humanspeichel der gleichen zwei Panelisten im Kaumodell extrahiert, wobei die zur Extraktion zugegebene Speichelmenge der jeweils sekretierten Menge im Mund entsprach. Die Extraktionszeiten betragen je 5, 10, 15, 30 und 60 s und das verwendete Brot enthielt 1,5 % NaCl.

Nach einer Kaudauer im Mund von 5 s waren nur  $3,7 \pm 0,5$  (Panelist A) und  $4,0 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+$ /g Krume bezogen auf die Trockenmasse (TM) (Panelist B) extrahiert. Diese Werte entsprechen  $55 \pm 7$  % (Panelist A) und  $60 \pm 4$  % (Panelist B) der gesamten Natriummenge. Nach 10 s war der extrahierte Anteil vergleichbar. Dieser stieg nach einer Kaudauer von 15 s auf  $5,1 \pm 0,5$  (Panelist A) und  $5,4 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+$ /g Krume TM (Panelist B) an und nahm nach 30 s mit  $6,3 \pm 0,1$  (Panelist A) und  $6,1 \pm 0,5$  mg  $\text{Na}^+$ /g Krume TM (Panelist B) auf über 91 % zu. Eine vollständige Natriumextraktion erfolgte im Mund nach einer Kaudauer von 60 s (**Abbildung 21**).

Im Kaumodell betragen die extrahierten Natriummengen nach 5 s im Mittel  $4,3 \pm 0,3$  (Speichel Panelist A) und  $4,9 \pm 0,1$  mg  $\text{Na}^+$ /g Krume TM (Speichel Panelist B). Die entsprechenden prozentualen Anteile sind  $63 \pm 3$  % (Speichel Panelist A) und  $73 \pm 1$  % (Speichel Panelist B) des gesamten Natriumgehalts. Im Vergleich zur Extraktion im Mund wurden im Kaumodell bereits zu Beginn leicht erhöhte Natriummengen gemessen. Nach einer Extraktionsdauer von 10 s waren die Werte ähnlich wie nach 5 s. Allerdings waren im Kaumodell nach 15 s mit  $6,3 \pm 0,4$  (Speichel Panelist A) und  $6,4 \pm 0,2$  mg  $\text{Na}^+$ /g Krume TM (Speichel Panelist B) bereits über 94 % der enthaltenen Natriummenge extrahiert, während es nach dem Kauen im Mund nur etwa 80 % waren (**Abbildung 21**).

Dieser Unterschied ließ sich auf die gründlichere Homogenisierung der Krume im Kaumodell zurückführen, die eine schnellere Natriumfreisetzung erleichterte. Da die Werte für beide Panelisten sowohl beim Kauen im Mund als auch im Kaumodell eine gute Übereinstimmung zeigten, wurden sie für die Vergleiche verschiedener Arten von Brotkrume (3.2.3.6, 3.2.4.2, 3.2.4.4) gemittelt.

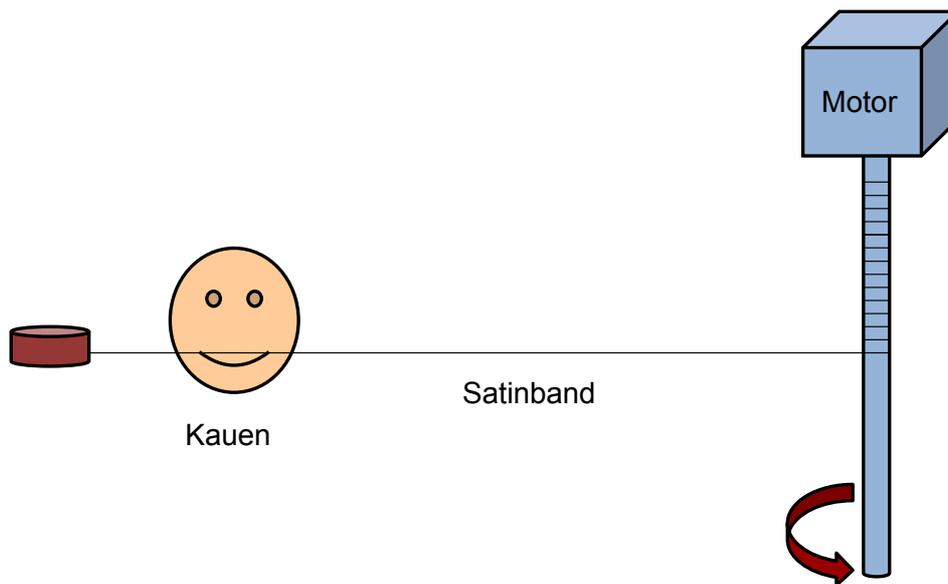


**Abbildung 21:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Brotkrume mit 1,5 % NaCl im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

Ein Nachteil beider diskontinuierlicher Messmethoden war, dass eine zusätzliche Natriumextraktion während des Zentrifugationsschritts (4.4.1, 4.4.2) denkbar war. Aus diesem Grund wurde eine weitere, kontinuierliche Messmethode zur Bestimmung der zeitabhängigen Natriumfreisetzung entwickelt.

### 3.2.2.3 Kontinuierliche Messung der Zeitabhängigkeit der Natriumfreisetzung aus Brotkrume

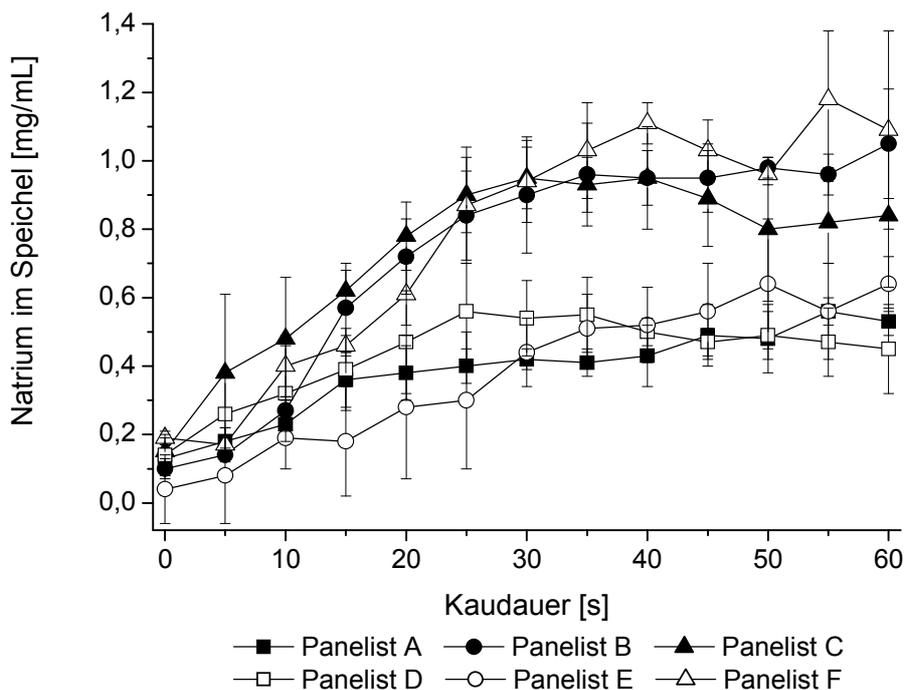
Die Natriumkonzentration im Mund wurde während des Kauens von 3 g Brotkrume mit 1,5 % NaCl mit Hilfe eines Satinbands bestimmt, das über einen rotierenden Glasstab mit einer konstanten Geschwindigkeit von 1,1 cm/s durch den Mund gezogen wurde. Während des Kauens wurde Speichel mit den darin gelösten Natriumionen an das Satinband absorbiert (**Abbildung 22**).



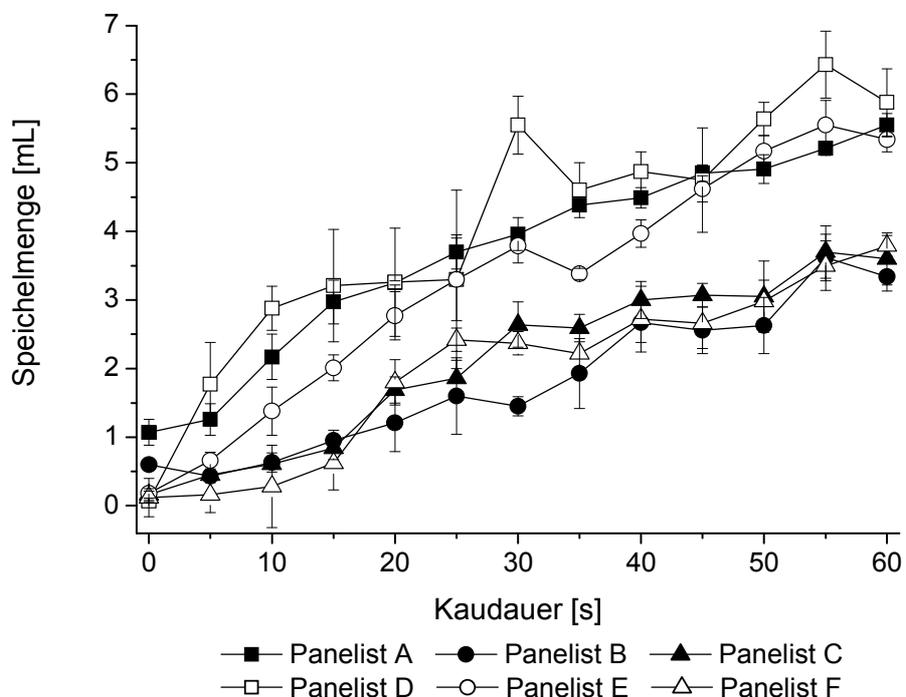
**Abbildung 22:** Schematische Darstellung der kontinuierlichen Messmethode zur Bestimmung der Natriumfreisetzung aus Brotkrume.

Das Satinband wurde anschließend in Stücke geschnitten, die einer Kaudauer von 5 s entsprachen. Diese Stücke wurden mit TRIS/HCl-Puffer extrahiert und die Natriumkonzentration wurde mittels ISE bestimmt. Als Leerwerte dienten die Werte, die beim Kauen von Brot ohne Zusatz von Salz bestimmt wurden. Zusätzlich wurde die an das Satinband absorbierte Speichelmenge gravimetrisch bestimmt, um dadurch auftretende individuelle Unterschiede ausgleichen zu können.

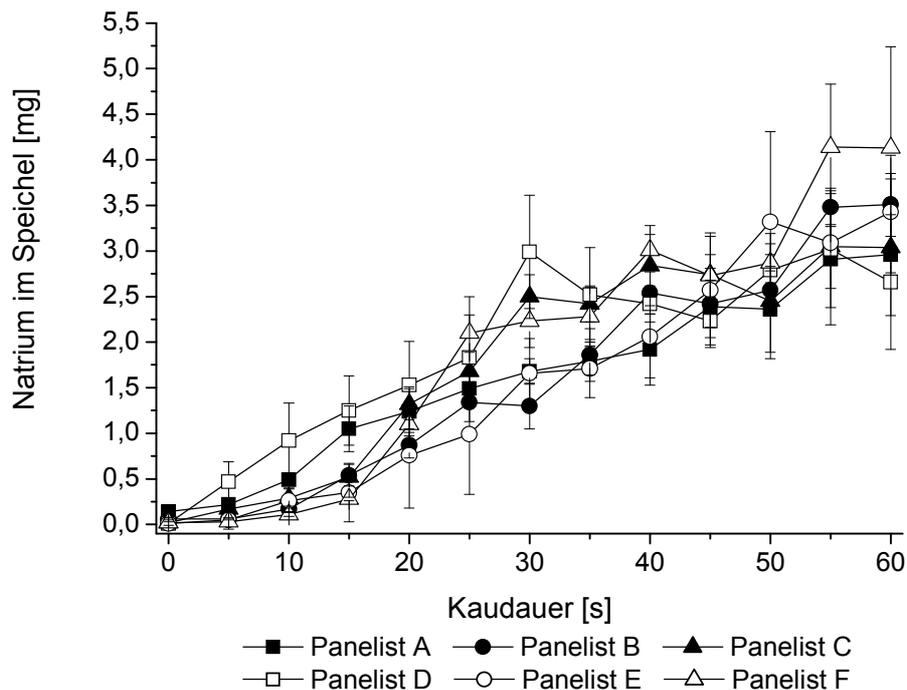
Die Messungen ergaben bei beiden Panelisten A und B über die gesamte Kaudauer hinweg einen signifikanten Anstieg der Natriumkonzentration im Speichel (**Abbildung 23**). Allerdings lagen die Natriumkonzentrationen im Speichel von Panelist A stets niedriger als bei Panelist B. Die gravimetrische Bestimmung der Speichelsekretion beim Kauen von 3 g Brotkrume ergab, dass Panelist A durchweg eine höhere Speichelsekretion hatte als Panelist B (**Abbildung 24**). Nach Multiplikation der Natriumkonzentration im Speichel mit der jeweils sekretierten Speichelmenge ergaben sich absolute Natriumgehalte, die für beide Panelisten wieder sehr gut übereinstimmten (**Abbildung 25**). Diese Beobachtungen wurden durch Erweiterung des Panels um vier weitere Personen (Panelisten D und E mit hoher Speichelsekretion und Panelisten C und F mit niedriger Speichelsekretion) verifiziert (**Abbildungen 23 - 25**).



**Abbildung 23:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Natriumkonzentration im Speichel beim Kauen von Brotkrume mit 1,5 % NaCl (Panelisten A, B, C, D, E und F). Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.



**Abbildung 24:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Speichelmenge beim Kauen von Brotkrume mit 1,5 % NaCl (Panelisten A, B, C, D, E und F). Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.



**Abbildung 25:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der absoluten Natriummenge im Speichel beim Kauen von Brotkrume mit 1,5 % NaCl (Panelisten A, B, C, D, E und F). Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

### 3.2.2.4 Diskussion

Während die diskontinuierlichen Messmethoden die Bestimmung des prozentualen Anteils an extrahiertem Natrium ermöglichten, eignete sich die kontinuierliche Messmethode zur Bestimmung der tatsächlichen Natriumkonzentration im Mund während des Kauens. Nach Ermittlung der Speichelsekretion der jeweiligen Panelisten ließen sich durch Multiplikation der Natriumkonzentration im Speichel mit der sekretierten Speichelmenge absolute Natriummengen berechnen. Allerdings ergaben sich beim Vergleich der kontinuierlichen Messmethode mit den beiden diskontinuierlichen Methoden einige Unterschiede. Beispielsweise waren nach 5 s mit der kontinuierlichen Methode nur sehr geringfügige Natriummengen messbar (**Abbildung 23**), obwohl mit der diskontinuierlichen Methode bereits mehr als 50 % der enthaltenen Natriummenge (**Abbildung 21**) freigesetzt waren. Diese Diskrepanz ließ sich damit erklären, dass der Bereich im vorderen Teil des Mundraums durch den das Satinband gezogen wurde, nicht mit dem Kaubereich im hinteren Teil des Mundraums übereinstimmte. Aufgrund dessen war eine gewisse Zeit nötig, um während des Kauens eine ausreichende Natriumverteilung im gesamten Mundraum zu erzielen. Daher spiegelten die Ergebnisse nicht exakt die Natriumfreisetzung aus dem Kaubrei im hinteren Bereich des Mundraums

wider, da eine gewisse Zeit vonnöten war, um die freigesetzte Natriummenge mit dem Speichel in den vorderen Mundraum zum Satinband hin zu transportieren.

Andererseits erfolgte bei den diskontinuierlichen Messmethoden möglicherweise eine gewisse zusätzliche Extraktion während des Zentrifugierens, sodass die Werte für den prozentual extrahierten Natriumanteil eventuell etwas zu hoch lagen.

Mit Hilfe der zwei diskontinuierlichen und der kontinuierlichen Methoden ließ sich jedoch insgesamt die zeitabhängige Natriumfreisetzung während des Kauens von Brotkrume sehr gut eingrenzen und sie ermöglichten eine deutliche Differenzierung bei der Untersuchung verschiedener Arten von Brotkrume (3.2.3.6, 3.2.4.2, 3.2.4.4).

Die quantitativen Studien zur absoluten Natriumfreisetzung während des Verzehrs von Brotkrume zeigten, dass Natriumionen mit Wasser vollständig aus Brotkrume extrahierbar waren. Dies bestätigte die Ergebnisse der Modellstudien bei denen keine signifikante Natriumbindung an isolierte Proteinfractionen aus Weizenmehl nachgewiesen werden konnte (3.2.1). Offensichtlich hatten andere Mehlinhaltsstoffe wie Stärke und Nicht-Stärke-Polysaccharide genauso wie die Proteine keinen Einfluss auf die absolute Natriumextrahierbarkeit aus Brotkrume. Die Wechselwirkungen zwischen Natriumionen und Brotinhaltsstoffen waren somit schwach genug, um eine 100%ige Natriumfreisetzung zu erhalten. Andere Extraktionsmittel wie Pufferlösungen, künstlicher Speichel mit und ohne  $\alpha$ -Amylase und natürlicher Humanspeichel hatten ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Natriumfreisetzung, da diese im Rahmen der analytischen Schwankung stets 100 % betrug.

In früheren Untersuchungen wurde der Natriumgehalt von Weizen- und Roggenbrot nach Extraktion von getrockneter und gemahlener Krume mit TRIS-Puffer (pH 7,8) mittels ISE gemessen. Ein Vergleich der Natriumgehalte, die nach einem sauren Aufschluss mittels AAS ermittelt wurden, ergab für die ISE-Messung (ca. 100 %) sogar höhere Wiederfindungsraten als für die AAS-Bestimmung (ca. 95 %). Nachdem mit Hilfe der ISE nur freie Natriumionen messbar sind, konnte nur ein minimaler Anteil der Natriumionen in Brot komplex gebunden sein (*Rabe, 1983*). Die hier durchgeführten Untersuchungen bestätigten die Ergebnisse von *Rabe (1983)*, da die Natriumfreisetzung aus Brotkrume ebenfalls 100 % betrug, sodass keine Hinweise auf einen nicht-extrahierbaren, komplex gebundenen Anteil an Natriumionen in Brotkrume vorliegen. Aus diesem Grund war es auch nicht möglich, den salzigen Geschmack von Brotkrume durch Erhöhung der absoluten Natriumfreisetzung zu beeinflussen.

Neben der absoluten Natriumfreisetzung aus Brotkrume nach einer Kaudauer von 1 min wurde die zeitabhängige Natriumfreisetzung mit zwei diskontinuierlichen Methoden im Mund und im Kaumodell untersucht. Die Natriumfreisetzung aus Brotkrume hing von der Dauer und Gründlichkeit der Homogenisierung ab, sodass die komplette Natriummenge im Kaumodell

mit effektiverer Durchmischung bereits nach 15 s frei vorlag, während im Mund dafür 60 s nötig waren. Neben dem bereits erwähnten Nachteil der möglichen zusätzlichen Extraktion von Natriumionen während des Zentrifugierens konnte der zeitliche Verlauf der Natriumfreisetzung mit Hilfe dieser zwei diskontinuierlichen Methoden nur näherungsweise beschrieben werden, da der Kauprozess zur Messung nach definierten Zeitintervallen unterbrochen werden musste. Obwohl die Zeitintervalle besonders zu Kaubeginn möglichst kurz gewählt wurden, um eine gute Darstellung der Freisetzungskinetik von Natrium zu gewährleisten, wurde eine weitere, kontinuierliche Methode mit Hilfe eines Satinbands entwickelt, die eine Messung des Konzentrationsanstiegs von Natrium im Speichel im Mund ohne Unterbrechung des Kauprozesses erlaubte. Das Satinband wurde am Rand der Mundwinkel durch den vorderen Bereich des Mundes geführt, um den natürlichen Kauprozess so wenig wie möglich zu beeinflussen. Nachdem bekannt ist, dass allein schon die mechanische Bewegung des Kauens den Speichelfluss erhöhen kann (*Neyraud et al., 2003*), wurden zunächst Messungen ohne Brot gemacht, um die Speichelabsorption an das Satinband zu bestimmen. Darüber hinaus wurde ein Leerwert mit Brot ohne Salz erstellt und alle weiteren Messungen darauf bezogen. Frühere Untersuchungen zur Natriumfreisetzung während des Kauens verschiedener salziger Lebensmittel beruhten auf der Bestimmung der Leitfähigkeit und des pH-Werts des Speichels mit Hilfe einer speziell entwickelten Zahnspange im Oberkiefer mit zwei Elektroden. Bei Kartoffelchips dauerte es nach Kaubeginn 22 s, bis ein Anstieg der Leitfähigkeit detektierbar war, da der Speichel zunächst von den Chips absorbiert wurde und nicht sofort an die Elektroden gelangte (*Davidson et al., 1998*). Dieser Effekt wurde auch bei Brotkrume beobachtet, da eine gewisse Zeit von 10 bis 15 s bis zum Anstieg der gemessenen Natriumkonzentration im Speichel nötig war. Außerdem konnte das Satinband aus anatomischen Gründen nicht direkt durch den Kaubrei gezogen werden, sodass erst eine Durchmischung im Mund erfolgen musste. Da die Messung der Leitfähigkeit nicht ionenspezifisch ist, wurden in folgenden, bereits publizierten Untersuchungen neben der Leitfähigkeit zusätzlich der Speichelfluss, die Freisetzung von NaCl und die Geschmacksintensität während des Kauens von gesalzenem Kaugummi bestimmt. Unabhängig von der Ausgangskonzentration an Salz im Kaugummi ergab sich eine Korrelation zwischen Salzgeschmack und dem Gehalt an freien Natrium- und Chloridionen im Speichel (*Neyraud et al., 2003*).

Nachdem mit allen drei Messmethoden festgestellt wurde, dass je nach Gründlichkeit der Homogenisierung eine gewisse Zeit von 15 - 60 s zur maximalen Natriumfreisetzung aus Brotkrume nötig ist, konnte erklärt werden, warum Brotkrume bei gleichem Salzgehalt signifikant weniger salzig bewertet wurde als eine wässrige NaCl-Lösung, bei der die gesamte Menge NaCl schnell zur Geschmackswahrnehmung auf der Zunge zur Verfügung steht (3.1.6). Da die sensorische Wahrnehmung des Salzgeschmacks von der Differenz der Natri-

umkonzentration abhängt und kurze, intensive Stimuli stärker empfunden werden (*Meiselmann und Halpern, 1973*), vor allem wenn sich diese Stimuli mit geschmacklosen Stimuli abwechseln (*Busch et al., 2009*), war somit der Anstieg der Natriumkonzentration zu Beginn des Kauvorgangs entscheidend. Aufgrund der Korrelation zwischen wahrgenommenem Salzgeschmack und dem Gehalt an freien Natrium- und Chloridionen im Speichel (*Neyraud et al., 2003*) wurden im Folgenden Methoden zur Erhöhung der Geschwindigkeit der Natriumfreisetzung aus Brotkrume entwickelt, die zu einer schnelleren Extrahierbarkeit der Natriumionen besonders während der ersten 5 bis 10 s des Kauprozesses führen sollten. Die sensorische Bewertung der Salzigkeit mit Hilfe von 2-AFC-Tests diente zur Identifizierung von Broten, die bei gleichem Salzgehalt im Vergleich zur Referenz einen intensiveren Salzgeschmack hervorriefen. Bei positivem sensorischen Ergebnis wurde die Kinetik der Natriumfreisetzung mit allen drei Methoden bestimmt. Die beiden Ansätze, die dabei verfolgt wurden, beruhten zum einen auf dem Prinzip des sensorischen Kontrasts (3.2.3) und zum anderen auf der Modifikation der Krumentextur (3.2.4).

### 3.2.3 Natriumverteilung in Brotkrume

Kurz einwirkende und intensive Stimuli, die sich mit weniger intensiven Stimuli abwechseln, können die Geschmackswahrnehmung erhöhen, da die Geschmacksrezeptoren durch die alternierende Stimulierung nicht an einen konstanten Reiz adaptieren können (*Meiselman und Halpern, 1973*). Die Patente WO 2009/108057 (*Stieger et al., 2009*) und WO 2009/108058 (*Stieger et al., 2009*) machen sich dieses Phänomen zu Nutze, um eine Salzgeschmacksverstärkung durch eine inhomogene Salzverteilung in Brot zu erreichen (*Noort et al., 2010; Noort et al., 2012*). Basierend auf diesem Ansatz wurde eine weitere Methode zur Erzielung einer inhomogenen Salzverteilung unter Verwendung von grobkörnigem Kochsalz entwickelt.

#### 3.2.3.1 Einfluss des Verhältnisses fein-/grobkörniges Kochsalz auf die Salzwahrnehmung in Brotkrume

Im Spiralknetzer wurde ein Grundteig mit einem geringen Anteil an feinkörnigem NaCl hergestellt und der Rest als grobkörniges NaCl (gk NaCl) 30 s vor Ende der Knetzeit hinzugegeben, sodass der Anteil an NaCl insgesamt stets 1,5 % NaCl betrug. Die inhomogenen Brote mit vier verschiedenen Verhältnissen von im Grundteig enthaltenem NaCl zu grobkörnigem NaCl (Kapitel 4.3.2.1, **Tabelle 17**) wurden sensorisch bewertet. Die späte Hinzugabe von grobkörnigem Salz mit einer Partikelgröße von 2 - 3,5 mm führte zu einer inhomogenen, räumlichen Verteilung von NaCl in der Brotkrume, da sich die Salzkristalle während der letzten 30 s der Knetzeit nur in geringem Maße im Grundteig lösten und größtenteils als Kristall erhalten blieben. Dadurch entstanden Stellen mit einer deutlich höheren Natriumkonzentration im Vergleich zur umgebenden Krume. Diese salzigen Stellen in der Krume waren für einen uninformierten, untrainierten Panelisten nicht erkennbar. Es ist daher unwahrscheinlich, dass ein Verbraucher mit bloßem Auge den Unterschied erkennen würde. Nach sehr eingehender, visueller Untersuchung der Krume waren kleine, feuchte Stellen sichtbar, die deutlich salzig schmeckten und vermutlich durch Wassermigration an die Stellen mit höherer Salzkonzentration entstanden waren.

Mit Hilfe von 2-AFC-Tests wurde die Salzigkeit der vier verschiedenen inhomogenen Brote bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % jeweils gegen das homogene Referenzbrot bewertet. Das Brot mit 0,5/1,0 % gk NaCl konnte nicht von der Referenz unterschieden werden, vermutlich weil der sensorische Kontrast zwischen den salzigen Stellen und der umgebenden Krume noch zu schwach war. Alle anderen Brote mit inhomogener Salzverteilung wurden vom Panel als signifikant ( $\alpha = 0,01$  für 0,25/1,25 % gk NaCl und  $\alpha = 0,05$  für 0,1/1,4 % gk NaCl und 0/1,5 % gk NaCl) salziger als das homogene Referenzbrot bewertet (**Tabelle 6**).

**Tabelle 6:** 2-AFC-Tests zur Bewertung der Salzintensität in Broten mit inhomogener Salzverteilung (0,5/1,0 % gk NaCl, 0,25/1,25 % gk NaCl, 0,1/1,4 % gk NaCl und 0/1,5 % gk NaCl) im Vergleich zu Broten mit homogener Salzverteilung (1,5 % NaCl).

Brot 1	Brot 2	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau
		Insgesamt	Brot 1	Brot 2	$\alpha$
1,5 % NaCl	0,5/1,0 % gk NaCl	14	6	8	> 0,20
		16	5	11	0,20
		15	5	10	0,20
1,5 % NaCl	0,25/1,25 % gk NaCl	14	2	12	0,01
		14	1	13	0,001
		16	2	14	0,01
1,5 % NaCl	0,1/1,4 % gk NaCl	14	3	11	0,05
		13	3	10	0,05
		15	2	13	0,01
1,5 % NaCl	0/1,5 % gk NaCl	13	3	10	0,05
		14	3	11	0,05
		15	3	12	0,05

Die Kombination aus einem Grundteig mit 0,25 % NaCl mit der späten Zugabe von 1,25 % grobkörnigem NaCl erwies sich in Bezug auf Teigeigenschaften und Salzgeschmack am geeignetsten, sodass diese Rezeptur für alle folgenden Experimente herangezogen wurde.

In weiterführenden 2-AFC-Tests wurde die maximal erreichbare Natriumreduzierbarkeit durch die Verwendung von grobkörnigem Salz bestimmt. Das Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl und damit einem Gesamtsalzgehalt von 1,5 % wurde gegen homogenes Brot mit 1,9 % NaCl verkostet. Obwohl das homogene Brot absolut 0,4 % mehr Salz enthielt, konnte vom Panel kein Unterschied in Bezug auf die Salzigkeit geschmeckt werden ( $\alpha > 0,2$ ) (**Tabelle 7**). Darauf aufbauend wurde das Verhältnis Salz im Grundteig zu grobkörnigem Salz von 1:5 konstant gehalten, aber der Gesamtsalzgehalt auf 1 % NaCl gesenkt, was einer Zusammensetzung von 0,17/0,83 % gk NaCl entsprach. Die Salzintensität dieses inhomogenen Brots wurde mit 2-AFC-Tests mit der eines homogenen Brots mit 1,35 % NaCl verglichen. Der absolute Unterschied im Salzgehalt von 0,35 % hätte bei zwei homogenen Broten vom Panel eindeutig detektiert werden müssen (Kapitel 3.1.4). Unter Verwendung von grobkörnigem Salz konnte jedoch erneut kein signifikanter ( $\alpha > 0,2$ ) Unterschied im Salzgeschmack erkannt werden (**Tabelle 7**).

**Tabelle 7:** 2-AFC-Tests zur Bestimmung der maximal erreichbaren Reduzierbarkeit von Natrium durch Verwendung von grobkörnigem Salz: Vergleich der homogenen Brote mit 1,9 bzw. 1,35 % NaCl mit den inhomogenen Broten mit 0,25/1,25 % gk NaCl bzw. 0,17/0,83 % gk NaCl in Bezug auf die Salzwahrnehmung.

Brot 1	Brot 2	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau
		Insgesamt	Brot 1	Brot 2	$\alpha$
1,9 % NaCl	0,25/1,25 % gk NaCl	15	9	6	> 0,20
		13	9	4	0,20
		16	10	6	> 0,20
1,35 % NaCl	0,17/0,83 % gk NaCl	12	7	5	> 0,20
		12	6	6	> 0,20
		14	8	6	> 0,20

Daher ließ sich der Salzgehalt in Brot ohne Einsatz von Zusatzstoffen und ohne negative Auswirkungen auf die sensorische Qualität unter Verwendung von grobkörnigem Salz um bis zu 25 % reduzieren.

Das Volumen des inhomogenen Brots mit 0,25/1,25 % gk NaCl war im Vergleich zur homogenen Referenz mit 1,5 % NaCl signifikant erhöht und entsprach dem Volumen des homogenen Brots mit nur 0,25 % NaCl (**Tabelle 8**). Dies war ein weiterer Hinweis darauf, dass sich die grobkörnigen Salzkristalle kaum im Teig auflösten und somit die Hefeaktivität weniger stark gehemmt wurde. Daraus resultierten eine höhere Fermentationsrate und letztlich ein größeres Brotvolumen.

Texturmessungen der Brotkrume zwei Stunden nach Ende der Backzeit zeigten, dass die Krumenhärte des inhomogenen Brots der des homogenen Brots mit 0,25 % NaCl glich und etwas weicher war als die des homogenen Referenzbrots mit 1,5 % NaCl (**Tabelle 8**).

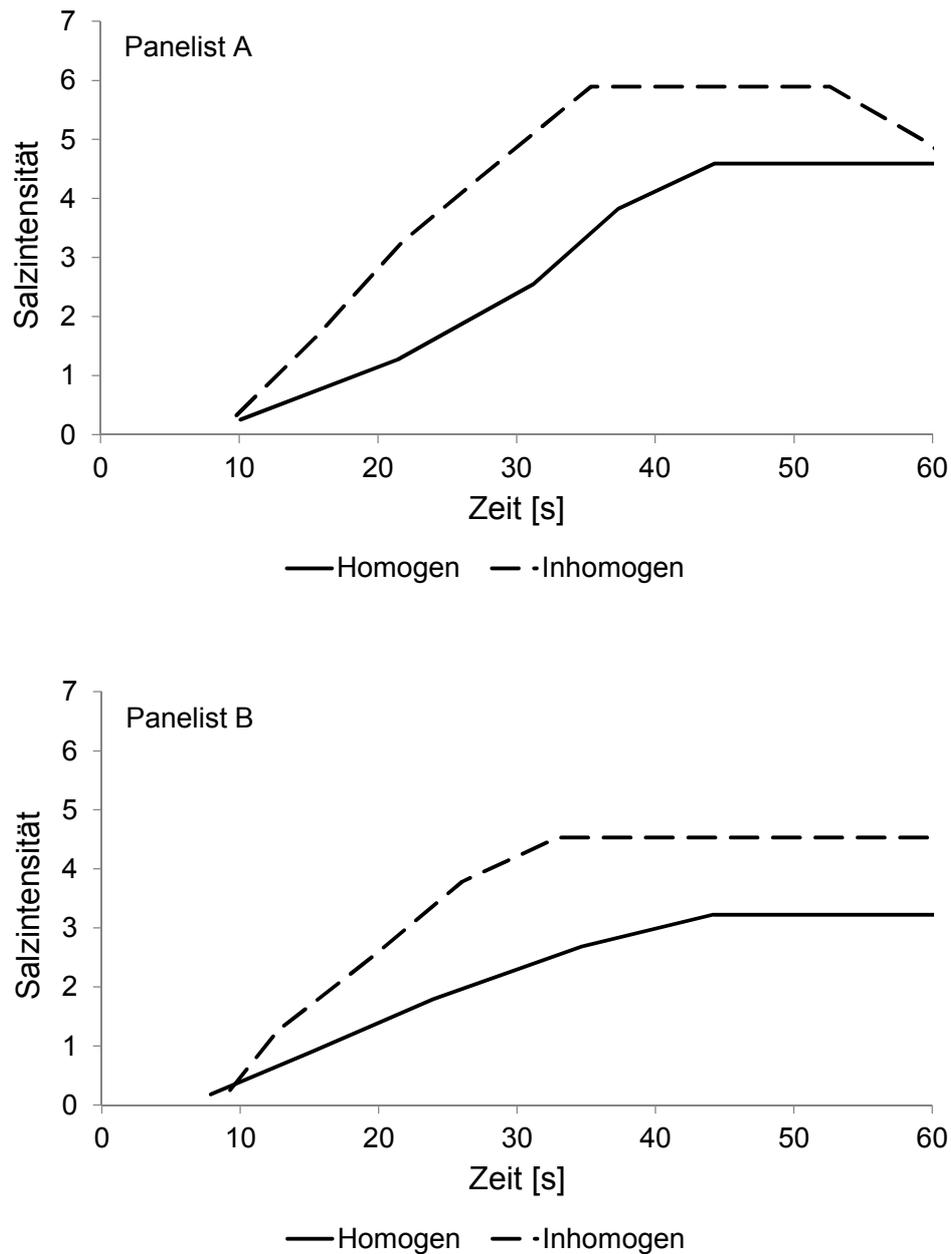
**Tabelle 8:** Messungen von Volumen ( $n = 3$ ) und Textur (Krumenhärte,  $n = 27$ ) der homogenen Brote mit 0,25 % NaCl und 1,5 % NaCl im Vergleich zum inhomogenen Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl.

Brot	Volumen [mL]	Textur [N/g]
0,25 % NaCl	1341 ± 47	1,33 ± 0,11
1,5 % NaCl	1147 ± 61	1,74 ± 0,16
0,25/1,25 % gk NaCl	1395 ± 43	1,19 ± 0,20

### 3.2.3.2 Sensorische Bewertung des zeitlichen Verlaufs der Salzwahrnehmung bei Broten mit grobkörnigem Kochsalz

In Anlehnung an die kontinuierliche Methode zur Quantifizierung der Natriumfreisetzung aus Brotkrume während des Kauprozesses im Mund (**Abbildung 23**) wurden Time-Intensity (TI)-Kurven aufgenommen. Dabei wurde die wahrgenommene Salzintensität der Brotkrume während der gesamten Kaudauer bewertet. Der Aufbau des sensorischen Experiments wurde so gestaltet, dass es der instrumentellen Messmethode so nahe wie möglich kam, um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Gesamtdauer der instrumentellen Messung betrug 60 s. Außerdem hatten die vorhergehenden sensorischen Analysen mit 2-AFC-Tests in Kombination mit allen drei Messmethoden zur zeitaufgelösten Natriumfreisetzung ergeben, dass die ersten 5 - 15 s des Kauens in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität entscheidend sind. Da Brot nach einer ausreichenden Homogenisierung und Vermischung mit Speichel einfach hinuntergeschluckt wird, was eine schnelle Abnahme der Salzintensität nach sich zieht, und 60 s bereits eine sehr lange Kaudauer waren, wurde die TI-Messung nach 60 s durch Schlucken des Brots und Bewegen des Cursors zurück zum linken Ende der Skala gestoppt, da nicht zu erwarten war, dass der abfallende Teil der TI-Kurve Unterschiede zeigen würde. Ausgehend von den quantitativen Messungen zur Natriumfreisetzung (3.2.2.2, 3.2.2.3) war der ansteigende Teil der TI-Kurven von besonderem Interesse.

Die gemittelten trapezoiden TI-Kurven beider Panelisten (Panelist A und B) zeigen den zeitlichen Verlauf der wahrgenommenen Salzintensität während des Kauens des homogenen Referenzbrots mit 1,5 % NaCl im Vergleich zum inhomogenen Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl (**Abbildung 26**). Bei beiden Panelisten war die maximale Intensität  $I_{\max}$  (Panelist A:  $6,6 \pm 0,4$  und Panelist B:  $5,1 \pm 0,4$ ) für das Brot mit inhomogener Natriumverteilung jeweils signifikant höher als bei der homogenen Referenz (Panelist A:  $5,1 \pm 0,4$  und Panelist B:  $3,6 \pm 0,7$ ). An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass das in den Diagrammen dargestellte Plateau der Trapeze 90 %  $I_{\max}$  entspricht. Es war deutlich zu erkennen, dass beim Brot mit inhomogener Natriumverteilung die Steigung der Kurven größer war. Dies entsprach einer signifikant höheren Steigungsrate ( $R_i$ ) und somit einer signifikant kürzeren Zeit ( $D_i$ ) bis zum Erreichen der maximalen Intensität (**Tabelle 9**).



**Abbildung 26:** Time-Intensity-Kurven: Salzwahrnehmung in Brot mit inhomogener Natriumverteilung (0,25/1,25 % gk NaCl) im Vergleich zu homogener Natriumverteilung (1,5 % NaCl) jeweils für Panelist A und B (n = 6).

**Tabelle 9:** Sekundäre Parameter (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 12$ ), die aus den TI-Kurven extrahiert wurden: Brot mit grobkörnigem NaCl (inhomogene Natriumverteilung mit 0,25/1,25 % gk NaCl) im Vergleich zum homogenen Referenzbrot bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % NaCl. „\*“ bezeichnet statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Broten (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ , **Tabelle 25**).

Parameter	1,5 % NaCl homogen	0,25/1,25 % gk NaCl inhomogen
$D_i$	35,2 $\pm$ 7,7	24,6 $\pm$ 2,9*
$R_i$	0,11 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,04*
$A_i$	65,2 $\pm$ 21,8	66,3 $\pm$ 12,1
$D_m$	15,8 $\pm$ 7,9	22,1 $\pm$ 5,9
$A_m$	56,5 $\pm$ 30,4	106,5 $\pm$ 22,6*
A	128,6 $\pm$ 34,7	196,2 $\pm$ 24,8*

$D_i$ : Dauer der ansteigenden Phase;  $R_i$ : Steigungsrate in der ansteigenden Phase;  $A_i$ : Fläche unterhalb der Kurve in der ansteigenden Phase;  $D_m$ : Dauer der Plateauphase;  $A_m$ : Fläche unterhalb der Kurve in der Plateauphase; A: Gesamtfläche unterhalb der Kurve

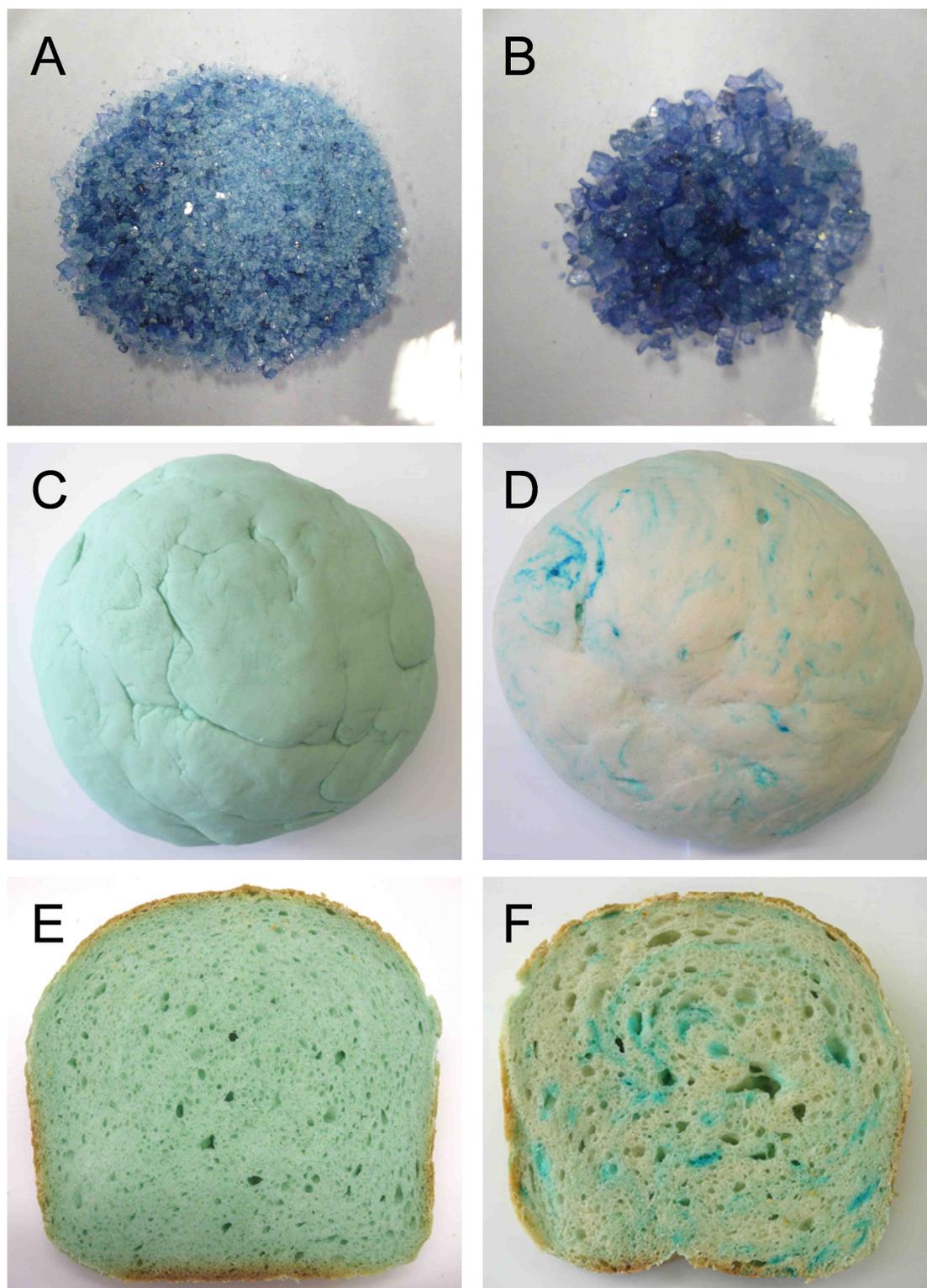
Bei den Flächen unterhalb der Kurve in der ansteigenden Phase ( $A_i$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, da die kürzere Zeit ( $D_i$ ) bis zum Erreichen der maximalen Intensität mit einer höheren  $I_{max}$  einherging. Die Fläche unterhalb des Plateaus ( $A_m$ ) zeigte jedoch signifikante Unterschiede, welche beim inhomogenen Brot größer war. Das gleiche galt für die Gesamtfläche (A) unter der Kurve, was auf den schnelleren Anstieg und vor allem auf die höhere maximal wahrgenommene Salzintensität zurückzuführen ist. Interessanterweise begann für Panelist A die Salzintensität des inhomogenen Brots nach 53 s abzunehmen, was sicherlich auf einer gewissen Adaption beruht, da die Natriumkonzentration im Speichel im Mund immer noch leicht anstieg (**Abbildung 35**). Dieser Effekt war bei der Referenz nicht zu beobachten, sodass die beginnende Abnahme der Salzintensität in der Probe mit der insgesamt höheren Intensität eher bemerkbar war. Bei Panelist B trat dieser Effekt nicht auf, was möglicherweise an individuellen Unterschieden im Kauverhalten, in der Salzwahrnehmung und in der sensorischen Bewertung liegt.

### 3.2.3.3 Indirekte Visualisierung der Natriumverteilung in Brotkrume durch mit Patentblau V gefärbte NaCl-Kristalle

Um die inhomogene Natriumverteilung im Teig und in der Brotkrume sichtbar zu machen, wurden über einen Zeitraum von zwei Monaten hinweg NaCl-Kristalle aus einer gesättigten

Lösung gezogen, die zusätzlich mit dem Lebensmittelfarbstoff Patentblau V (E 131) angefärbt war. Nach dem Sieben erhielt man zwei Fraktionen blau gefärbter NaCl-Kristalle, eine mit einer Partikelgröße  $> 2$  mm (**Abbildung 27 B**) und eine  $< 2$  mm (**Abbildung 27 A**), die somit je grob- bzw. feinkörnigem Tafelsalz entsprachen. Der Gehalt an Patentblau V in den NaCl-Kristallen wurde über die Extinktion bei 638 nm und externer 5-Punkt-Kalibrierung bestimmt und betrug  $1,05 \pm 0,05$  mg Patentblau V/g blau gefärbtes NaCl. Wie in Kapitel 3.2.3.1 beschrieben, wurden die grobkörnigen, blau gefärbten NaCl-Kristalle mit einer Partikelgröße von 2 - 3,5 mm 30 s vor Ende der Knetzeit zum ungefärbten Grundteig zugegeben, sodass der Teig (**Abbildung 27 D**) und die daraus resultierende Brotkrume (**Abbildung 27 F**) an den Stellen, wo ein gefärbter NaCl-Kristall eingebaut wurde, blau gefärbt war. Außerdem war zu sehen, dass sich zwar die grobkörnigen Kristalle in geringem Maße während der letzten 30 s der Knetzeit im Teig lösten, aber der größte Teil intakt blieb und als salziger Punkt inmitten der Krume sichtbar war. Beim Referenzbrot wurden die feinkörnigen, blau gefärbten NaCl-Kristalle mit einer Partikelgröße  $< 2$  mm zu Beginn der Knetzeit hinzugefügt, sodass die Gehalte an NaCl (1,5 %) und Farbstoff (1,3 mg Patentblau V/100 g Weizenmehl) sowohl im homogenen als auch im inhomogenen Brot gleich waren. Hier war die blaue Farbe gleichmäßig über den gesamten Teig (**Abbildung 27 C**) und die Krume (**Abbildung 27 E**) verteilt, sodass man von einer vollständig homogenen Natriumverteilung ausgehen kann.

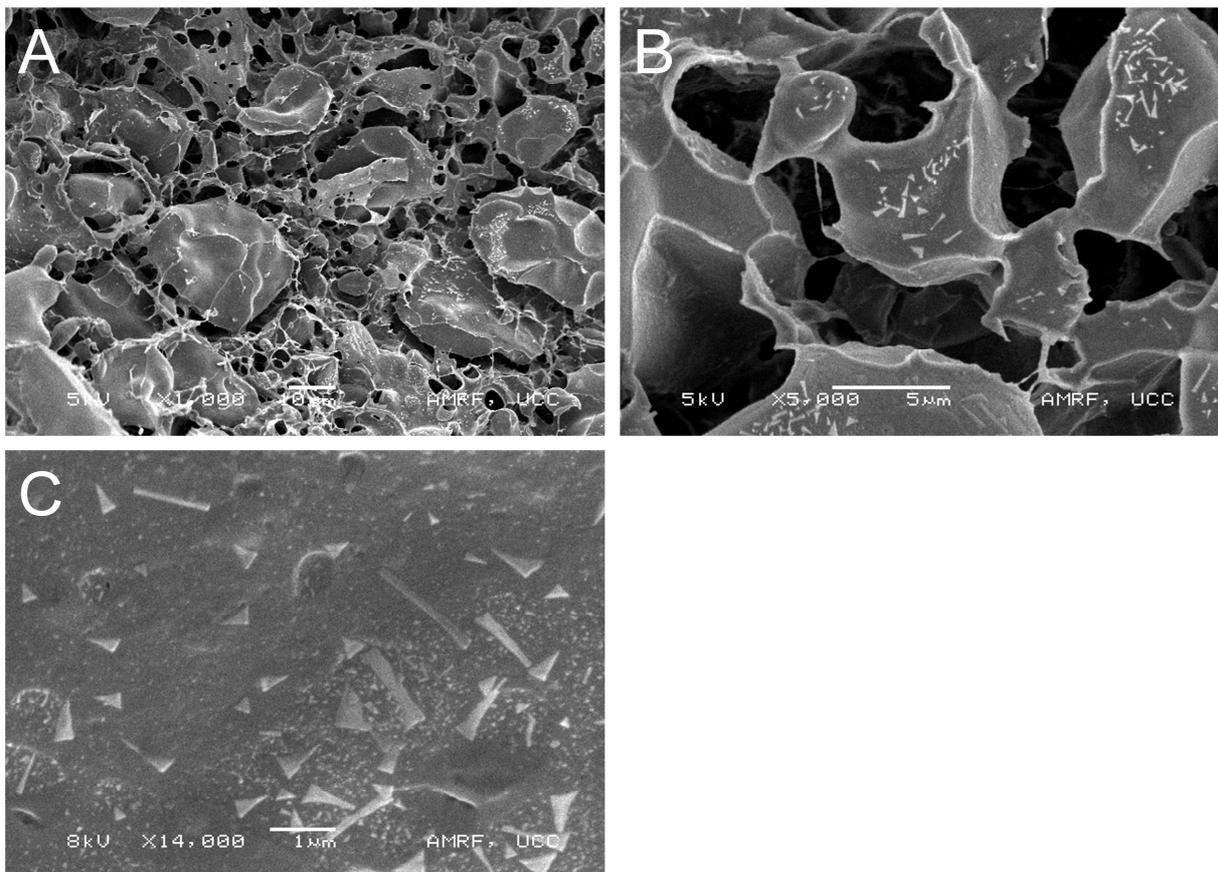
Da visuell zu erkennen war, dass Patentblau V in die kristalline Struktur des Natriumchlorids eingebaut worden war, konnte der Farbstoff als Indikator für die Natriumverteilung in Brotkrume dienen. Dies wurde auch durch Verkostung der blau gefärbten Stellen verifiziert, da diese sehr salzig schmeckten und die ungefärbten Stellen vergleichsweise fad. Allerdings waren Unterschiede im Diffusionsverhalten zwischen Patentblau V und Natriumchlorid zu erwarten, sodass der Farbstoff lediglich als indirekter Indikator für die Natriumverteilung dienen konnte. Aus diesem Grund wurde mit Hilfe der Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) unter Verwendung eines Natrium-selektiven Fluoreszenzfarbstoffs eine Methode entwickelt, um die Natriumverteilung in Brotkrume direkt sichtbar zu machen.



**Abbildung 27:** Mit Patentblau V gefärbte NaCl-Kristalle (**A**: Partikelgröße <math>< 2\text{ mm}</math>; **B**: Partikelgröße > 2 mm); Teig nach Zugabe von 1,5 % blauem, feinkörnigen NaCl zu Beginn der Knetzeit (**C**) und daraus resultierende Brotkrume (**E**) mit homogener Natriumverteilung; Teig mit einem Grundgehalt von 0,25 % ungefärbtem NaCl nach Zugabe von 1,25 % blauem, grobkörnigen NaCl 30 s vor Ende der Knetzeit (**D**) und daraus resultierende Brotkrume (**F**) mit inhomogener Natriumverteilung.

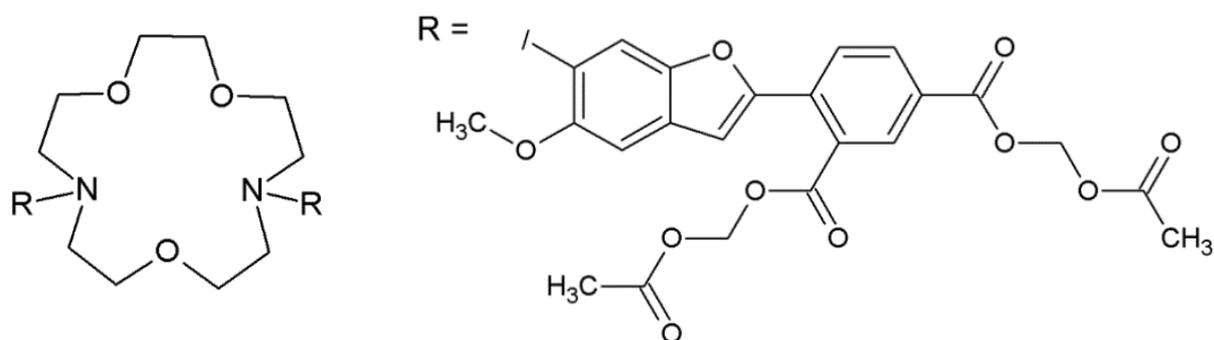
### 3.2.3.4 Direkte Visualisierung der Natriumverteilung in Brotkrume durch Scanning Electron Microscopy (SEM) und Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

SEM-Aufnahmen von gefriergetrockneter und gemahlener Brotkrume mit grobkörnigem Salz (0,25/1,25 % gk NaCl) zeigten bei 1 000facher Vergrößerung (**Abbildung 28 A**) die für Brot aus Weizenmehl typischen, rundlichen bis ovalen Stärkekörner, die in ein Proteinnetzwerk eingebettet vorlagen. Interessanterweise konnte man aber zusätzlich sehr helle, scharfkantige Strukturen sowohl auf den Stärkekörnern als auch auf dem Proteinnetzwerk erkennen. Diese kristallinen Strukturen waren bei 5 000facher Vergrößerung (**Abbildung 28 B**) noch deutlicher zu erkennen. Eine noch stärkere Vergrößerung (14 000fach, **Abbildung 28 C**) bei gleichzeitiger Erhöhung der Beschleunigungsspannung des Primärelektronenstrahls von 5 auf 8 kV erlaubte einen noch besseren Einblick. Es waren sowohl dreieckige als auch längliche kristalline Strukturen zu sehen, die in keiner der anderen Brotproben mit homogener Natriumverteilung beobachtet wurden, bei denen die gesamte Salzmenge stets zu Beginn der Knetzeit zugegeben wurde. Daher lag der Schluss nahe, dass es sich hierbei um nicht vollständig gelöste Natriumchlorid-Kristalle handelt, die nach der späten Zugabe 30 s vor Ende der Knetzeit lokal gehäuft in der Brotkrume vorlagen.



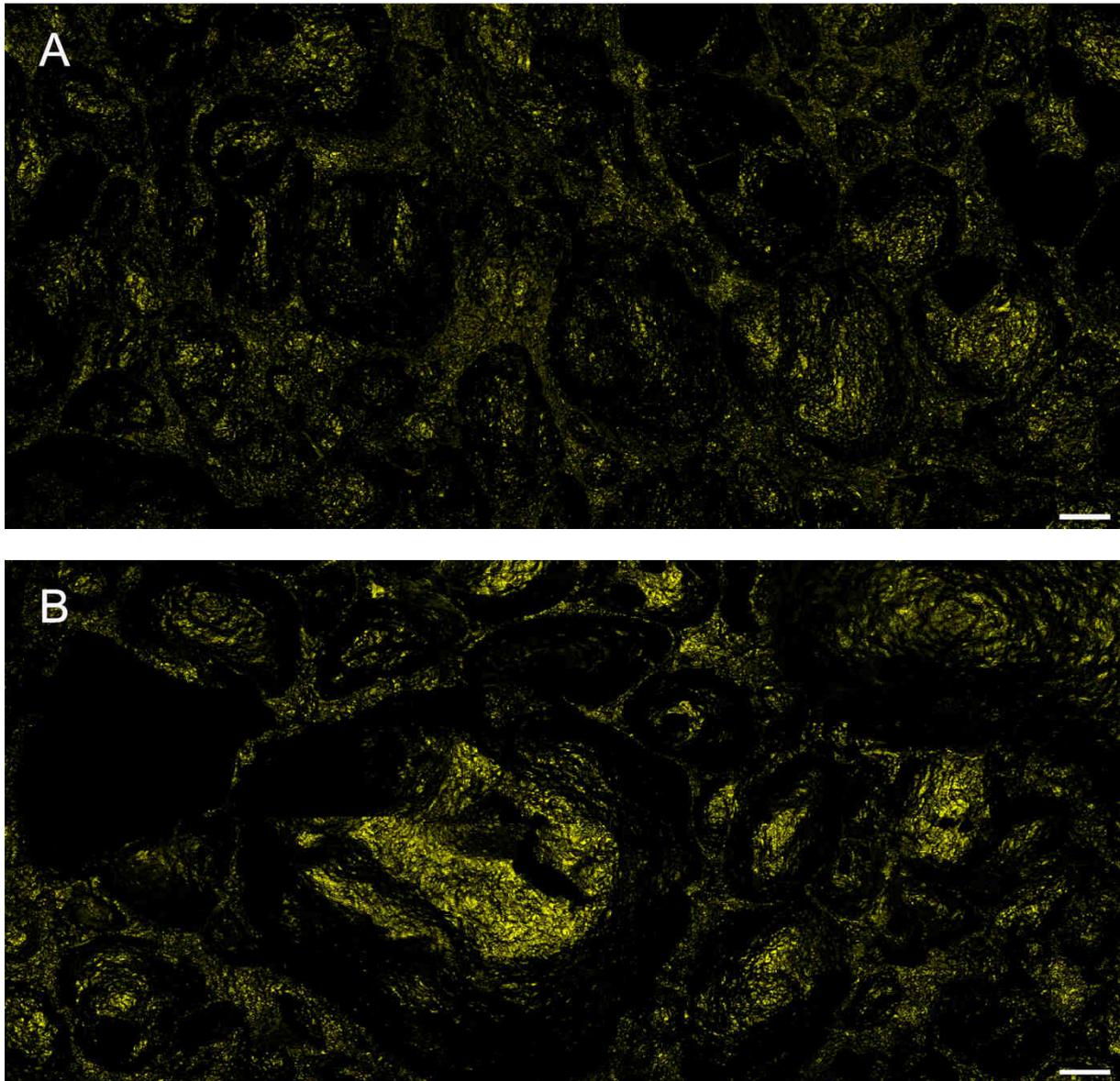
**Abbildung 28:** SEM-Aufnahmen von Brot mit inhomogener Natriumverteilung (0,25/1,25 % grobkörniges NaCl) bei unterschiedlichen Vergrößerungen. **A:** 1 000fache; **B:** 5 000fache und **C:** 14 000fache Vergrößerung.

Für die direkte Visualisierung der Natriumverteilung mittels CLSM wurde der Natrium-selektive Fluoreszenzfarbstoff SBFI-AM (Sodium-Binding Benzofuran Isophthalate Acetoxymethylester) verwendet, der aus zwei fluorophoren Benzofuranen besteht, die jeweils an ein Stickstoffatom einer Kronenetherstruktur gebunden sind (**Abbildung 29**). Die Größe des Hohlraums innerhalb des Kronenethers entspricht der des zu bindenden Liganden (Natrium) und gewährleistet daher eine sehr gute Selektivität beispielsweise im Vergleich zu Kalium, da die Affinität zu Kalium nur 1/18 der Affinität zu Natrium beträgt. Die Bindung von Natriumionen innerhalb der Kronenetherstruktur von SBFI-AM führt zu einer 2,5fachen Verstärkung der Fluoreszenzintensität (*Minta und Tsien, 1989*).



**Abbildung 29:** Strukturformel von SBFI-AM (*Minta und Tsien, 1989*).

Ein repräsentativer Bereich im homogenen Referenzbrot mit 1,5 % NaCl ist auf **Abbildung 30 A** zu sehen. Die Aufnahme besteht aus sechs zusammenhängenden, wieder aneinander gefügten Einzelbildern, bei denen jeweils, so wie für alle Bilder, alle Einstellungen für konfokale Apertur, Laserintensität, Helligkeit und Rauschkorrektur konstant gehalten wurden (4.7.7.1). Die Fluoreszenzintensität war gleichmäßig über die gesamte, schwammartige Krumenstruktur verteilt. Da die Fluoreszenz von SBFI-AM überall in der Krume zu sehen war, konnte man keine lokale Anreicherung von Natrium erkennen. Im Gegensatz dazu war in der Mitte der Probe aus dem inhomogenen 0,25/1,25 % gk NaCl Brot ein kumulierter Bereich mit sehr hoher Fluoreszenzintensität erkennbar, wobei die umgebende Krume viel dunkler erschien (**Abbildung 30 B**). Die umgebende Krume enthielt 0,25 % NaCl, sodass die Fluoreszenzemission etwas höher war als im Brot ohne Zugabe von NaCl, das zur Hintergrundkorrektur als Nullwert herangezogen wurde. Diese homogene bzw. inhomogene Verteilung der Fluoreszenz konnte durch weitere Aufnahmen von je zwei weiteren Krumenstücken bestätigt werden. Unter Zuhilfenahme des Natrium-selektiven Fluoreszenzfarbstoffs SBFI-AM konnte mittels CLSM somit die Natriumverteilung in Brotkrume direkt sichtbar gemacht werden. Die Ergebnisse stimmten zudem sehr gut mit denen der indirekten Visualisierung mit Patentblau V gefärbten NaCl-Kristallen überein.

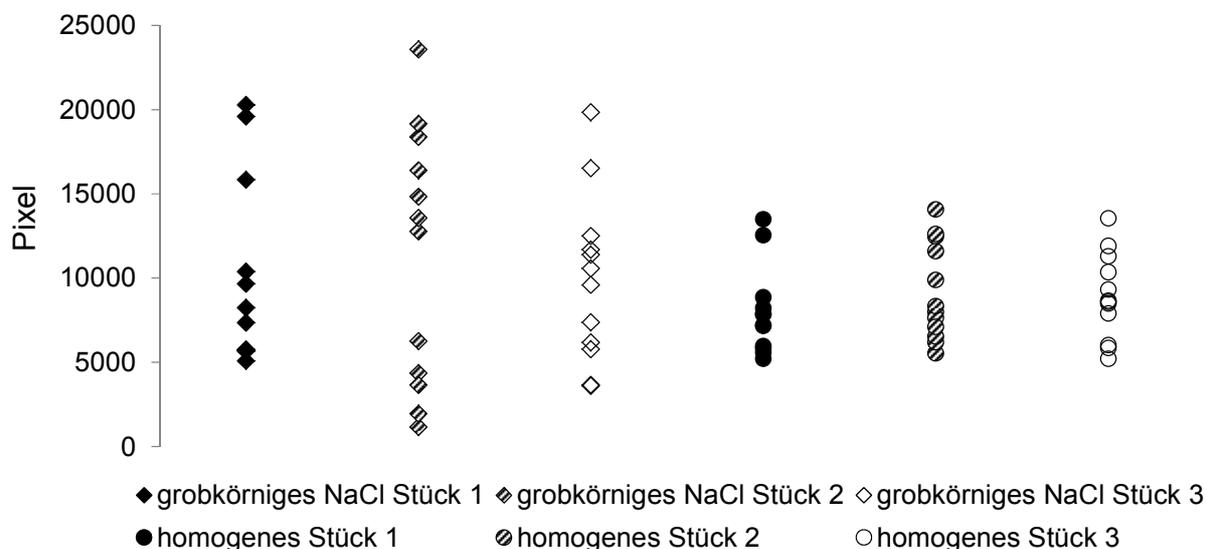


**Abbildung 30:** CLSM-Aufnahmen von Brotkrume mit insgesamt 1,5 % NaCl. Die Aufnahmen bestehen jeweils aus sechs benachbarten Einzelbildern, die wieder aneinander gefügt wurden und einen repräsentativen Bereich darstellen. Der weiße Balken entspricht 200  $\mu\text{m}$ . **A:** homogene Natriumverteilung (1,5 % NaCl); **B:** inhomogene Natriumverteilung (0,25/1,25 % grobkörniges NaCl).

Um diese rein visuellen Beobachtungen mit Daten zu untermauern, wurden je 36 ( $3 \times 12$ ) Einzelbilder für die homogenen Brote mit 0 und 1,5 % NaCl und das inhomogene Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl nach Reduzierung auf Graustufen analysiert und Histogramme erstellt.

**Abbildung 31** zeigt die Verteilung von SBF1-AM mit Natrium innerhalb einer aus zwölf zusammenhängenden Einzelbildern bestehenden Aufnahme nach Hintergrundkorrektur durch Abziehen des Nullwerts von Brot ohne Zusatz von Salz. Ein Datenpunkt entspricht der Summe der Pixel mit hellen RGB-Werten von 136 - 255 in einem der zwölf zusammenhängenden Einzelbilder pro Aufnahme, sodass es pro Aufnahme zwölf Datenpunkte gibt und je

drei Aufnahmen für das homogene und das inhomogene Brot. Eine Aufnahme entspricht hierbei jeweils einem Stück Brotkrume.



**Abbildung 31:** Häufigkeit der Pixel (Summe der RGB-Werte 136 - 255) pro Bild in Krumenstücken mit homogener Natriumverteilung (1,5 % NaCl) im Vergleich zu Broten mit grobkörnigem NaCl (inhomogene Natriumverteilung mit 0,25/1,25 % gk NaCl). Je drei verschiedene Stücke wurden pro Brotsorte analysiert und ein Datenpunkt stellt je eines von zwölf Bildern pro Krumenstück dar.

Betrachtet man die drei Krumenstücke aus homogenem Brot mit 1,5 % NaCl, war die kleinste Summe der hellen Pixel pro Einzelbild 5 196 (Bild 8 im homogenen Stück 1) und die größte 14 070 (Bild 9 im homogenen Stück 2). Alle anderen Summenwerte lagen im vergleichsweise engen Bereich dazwischen, sodass die Helligkeit relativ homogen über die zwölf Einzelbilder pro Stück verteilt war. Da die Helligkeit der Fluoreszenz von SBFI-AM mit Natrium entspricht, konnte geschlossen werden, dass eine gleichmäßige Natriumverteilung in den homogenen Krumenstücken vorlag.

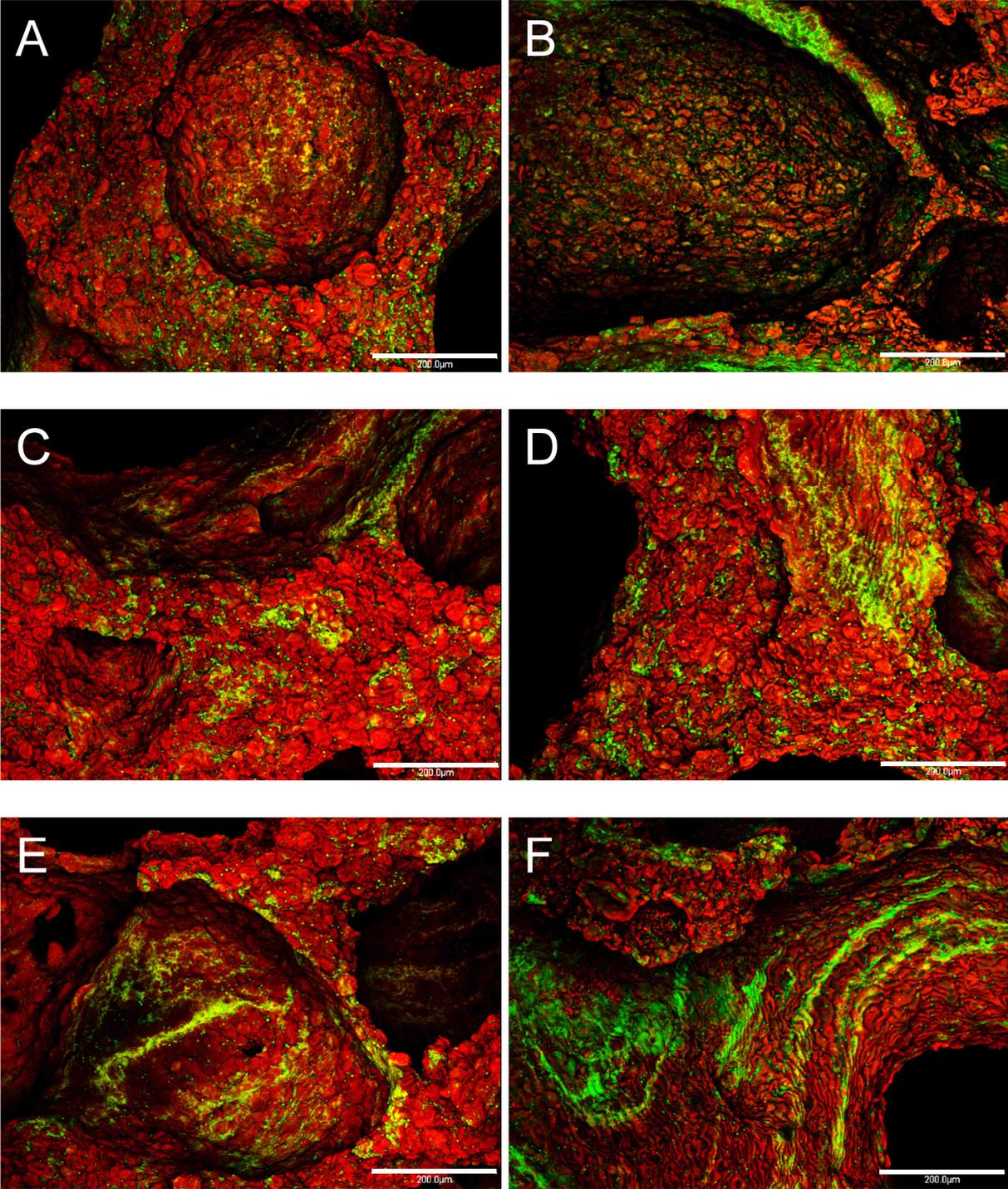
Im Gegensatz dazu betrug im Brot mit grobkörnigem Salz die kleinste Summe der hellen Pixel pro Einzelbild lediglich 1 146 (Bild 1 im grobkörnigen Stück 2) und die größte 23 578 (Bild 11 im grobkörnigen Stück 2). Diese Verteilung der Helligkeit über die zwölf Einzelbilder hinweg zeigte, dass es einige sehr helle Bilder mit intensiver Fluoreszenz gab und andere vergleichsweise dunkle Bilder mit wenig Fluoreszenz. Die Differenz von über 22 400 zwischen der kleinsten und der größten Summe der hellen Pixel war viel größer als in den homogenen Stücken, wo die Differenz nur 8 874 betrug. Außerdem waren die Datenpunkte innerhalb eines Brotstücks mit grobkörnigem Salz über diesen viel größeren Bereich verteilt. Für alle drei Stücke mit grobkörnigem Salz konnte diese ungleichmäßige Verteilung der Helligkeit nachgewiesen werden. Es gab sowohl Bereiche mit niedriger als auch Bereiche mit sehr hoher Natriumkonzentration (salzige Punkte) innerhalb eines Stücks aus Brot mit grob-

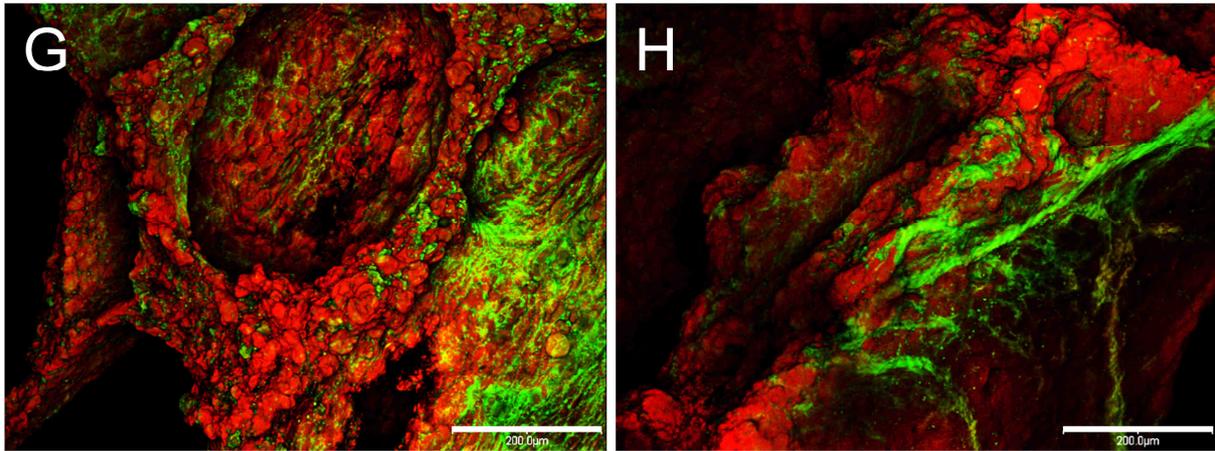
körnigem Salz. Daher konnte mit Hilfe der CLSM und anschließender Bildanalyse die inhomogene räumliche Verteilung von Natrium in Brotkrume sichtbar gemacht werden, die durch die späte Zugabe von grobkörnigem Salz erzielt wurde. Kristalle, wie sie bei der SEM sichtbar gemacht wurden, waren mit der CLSM nicht auszumachen, da die Vergrößerung mit 10 - 40fach viel zu gering war, um solche kristallinen Strukturen, die erst bei 5 000 - 14 000facher Vergrößerung eindeutig zu erkennen waren, beobachten zu können.

### 3.2.3.5 Direkte Visualisierung der Proteinstruktur in Broten mit inhomogener im Vergleich zu homogener Natriumverteilung durch CLSM

Brote mit inhomogener Natriumverteilung wurden nicht nur mit SBFI-AM angefärbt, um die Natriumverteilung sichtbar zu machen, sondern in getrennten Ansätzen auch mit Rhodamin B und Fluoresceinisothiocyanat (FITC), um die Stärke und die Proteinstruktur sichtbar zu machen. Auf den Bildern (**Abbildungen 32 - 33**) wurden jeweils die Stärke rot und das Proteinnetzwerk grün pseudokoloriert. Um die Strukturen, vor allem die der Proteine, in Broten mit inhomogener Natriumverteilung richtig deuten zu können, wurden zunächst vergleichende Aufnahmen von Broten mit homogener Natriumverteilung mit Salzgehalten von 0, 0,25, 1, 1,5, 2, 4 und 6 % NaCl erstellt. Pro Salzgehalt wurden drei Brote gebacken, von denen jeweils drei Krumenstücke untersucht wurden, wobei jeweils repräsentative Stellen innerhalb der angefärbten Krumenstücke für die Einzelaufnahmen ausgewählt wurden. Die Laserintensitäten wurden mit Hilfe des High-/Low-Profiles jeweils so angepasst, dass keine gesättigten Bereiche in Bezug auf die Helligkeit auftraten.

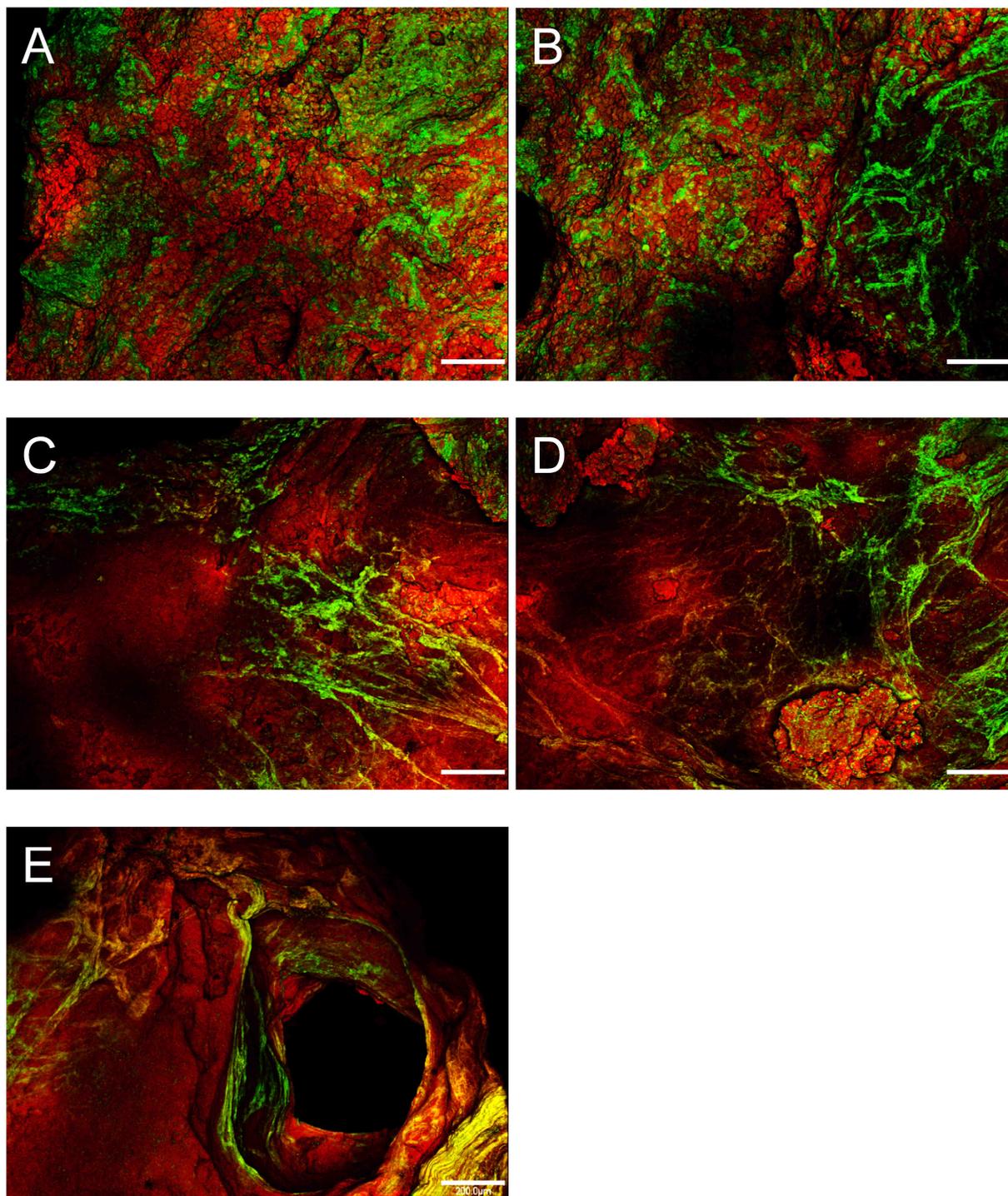
**Abbildung 32 A** zeigt bei 20facher Vergrößerung einen typischen Ausschnitt aus Brot ohne Zugabe von Salz. Das grün pseudokolorierte Proteinnetzwerk war fein zwischen den Stärkekörnern verteilt und längere, festere Proteinstränge fehlten. Die Proteinstruktur in Brot mit 0,25 % NaCl (**Abbildung 32 B**) war sehr ähnlich, da diese sehr geringe Zugabe von Salz offensichtlich nur zu sehr geringfügigen Änderungen der Proteinstruktur führte. In Brot mit 1,5 % NaCl (**Abbildung 32 C**) und 2 % NaCl (**Abbildung 32 D**) ließen sich sowohl feine Proteinstrukturen als auch Bereiche mit stärker verknüpften, längeren Proteinsträngen erkennen. Erst ab einem Zusatz von 4 % NaCl (**Abbildung 32 E**) und 6 % NaCl (**Abbildung 32 F**), konnte man sehr signifikante Veränderungen in der Proteinstruktur erkennen, da hier deutlich sehr lange, feste Proteinstränge zu sehen waren. Das Brotvolumen war außerdem aufgrund der viel stärker ausgeprägten Kleberstruktur im Vergleich zum Referenzbrot mit 1,5 % NaCl ( $1147 \pm 61$  mL) im Mittel um 11 % (4 % NaCl) und um 24 % (6 % NaCl) erniedrigt.





**Abbildung 32:** CLSM-Aufnahmen repräsentativer Ausschnitte von Brotkrume mit verschiedenen Salzgehalten bei 20facher Vergrößerung. Der weiße Balken entspricht jeweils 200  $\mu\text{m}$ . **A:** 0 % NaCl; **B:** 0,25 % NaCl; **C:** 1,5 % NaCl; **D:** 2 % NaCl; **E:** 4 % NaCl; **F:** 6 % NaCl; **G** und **H:** inhomogene Natriumverteilung mit 0,25/1,25 % grobkörnigem NaCl.

In Brot mit Zusatz von grobkörnigem Salz (0,25/1,25 % gk NaCl) waren sowohl Bereiche mit feinen Proteinstrukturen (**Abbildung 32 G**) als auch sehr lange, feste Proteinstränge (**Abbildung 32 H**) zu finden. Zur Erstellung der Aufnahmen wurden vor allem Bereiche ausgewählt, die durch Wassermigration leicht feucht geworden waren, was auf eine erhöhte Salzkonzentration hinwies. Am Rand dieser salzigen Stellen konnten feine Proteinstrukturen sichtbar gemacht werden, die denen in Broten mit 0 und 0,25 % NaCl ähnelten. Dies war auch zu erwarten, da der verwendete Grundteig nur 0,25 % NaCl enthielt. Interessant war dagegen, dass besonders in der Mitte dieser salzigen Stellen stark verknüpfte und lange Proteinstränge auftraten, wie es sonst nur in Broten mit 4 und 6 % NaCl der Fall war. Diese signifikante Veränderung der Proteinstruktur innerhalb der salzigen Stellen war ein weiterer Beweis dafür, dass in Brot mit grobkörnigem Salz tatsächlich punktförmige Bereiche mit stark erhöhter Salzkonzentration vorhanden waren. Um einen noch größeren Ausschnitt der salzigen Stellen zu untersuchen, wurde anstelle der 20fachen nur eine 10fache Vergrößerung gewählt, sodass besonders der Übergang von der umgebenden Krumenstruktur zur salzigen Stelle beobachtet werden konnte. **Abbildung 33 A** zeigt die umgebende Krumenstruktur, wobei hier wieder das ziemlich gleichmäßig, aber fein verteilte Proteinnetzwerk zu sehen war. Der Übergang von der umgebenden Krumenstruktur zum punktförmigen Bereich mit sehr hoher Salzkonzentration ist auf **Abbildung 33 B** zu erkennen. Auf der linken Seite war das Proteinnetzwerk wie zuvor zwischen den Stärkekörnern verteilt, während auf der rechten Seite deutlich lange und festere Proteinstränge beobachtet wurden.



**Abbildung 33:** CLSM-Aufnahmen repräsentativer Ausschnitte von Brotkrume mit inhomogener Natriumverteilung (0,25/1,25 % grobkörniges NaCl) bei 10facher Vergrößerung. Der weiße Balken entspricht jeweils 200 µm. **A:** Krume neben einer salzigen Stelle; **B:** Krume am Übergang zu einer salzigen Stelle; **C, D** und **E:** Krume jeweils innerhalb einer salzigen Stelle.

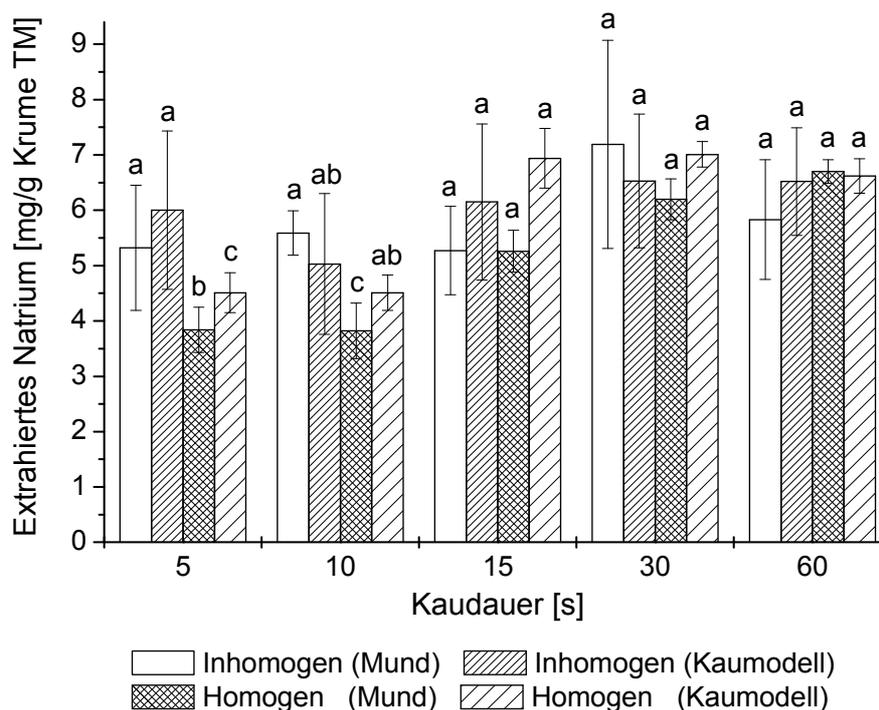
Weitere Aufnahmen von der Mitte des salzigen Bereichs (**Abbildung 33 C** und **D**) bestätigten, dass in Bereichen hoher Salzkonzentration sehr lange, aber dafür weniger verzweigte Proteinstrukturen auftraten. Besonders an der Oberfläche der salzigen Stellen (**Abbildung**

**33 E)** bildete sich ein Proteinnetzwerk mit langen, faserähnlichen Strukturen aus, die auch untereinander vernetzt waren. Insgesamt wies die Proteinstruktur innerhalb der salzigen Stellen eine deutliche Ähnlichkeit zu der in Brotkrume mit 4 und 6 % NaCl auf. Der Zusatz von grobkörnigem Salz hatte somit einen Einfluss auf die Proteinstruktur in den Bereichen mit hoher Salzkonzentration, an denen ein Salzkristall in den Teig, bzw. dann in die Brotkrume eingebaut wurde, während die umgebende Krume mit wenig Salz im Vergleich zu homogenem Brot unverändert blieb.

#### 3.2.3.6 Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Broten mit inhomogener bzw. homogener Natriumverteilung

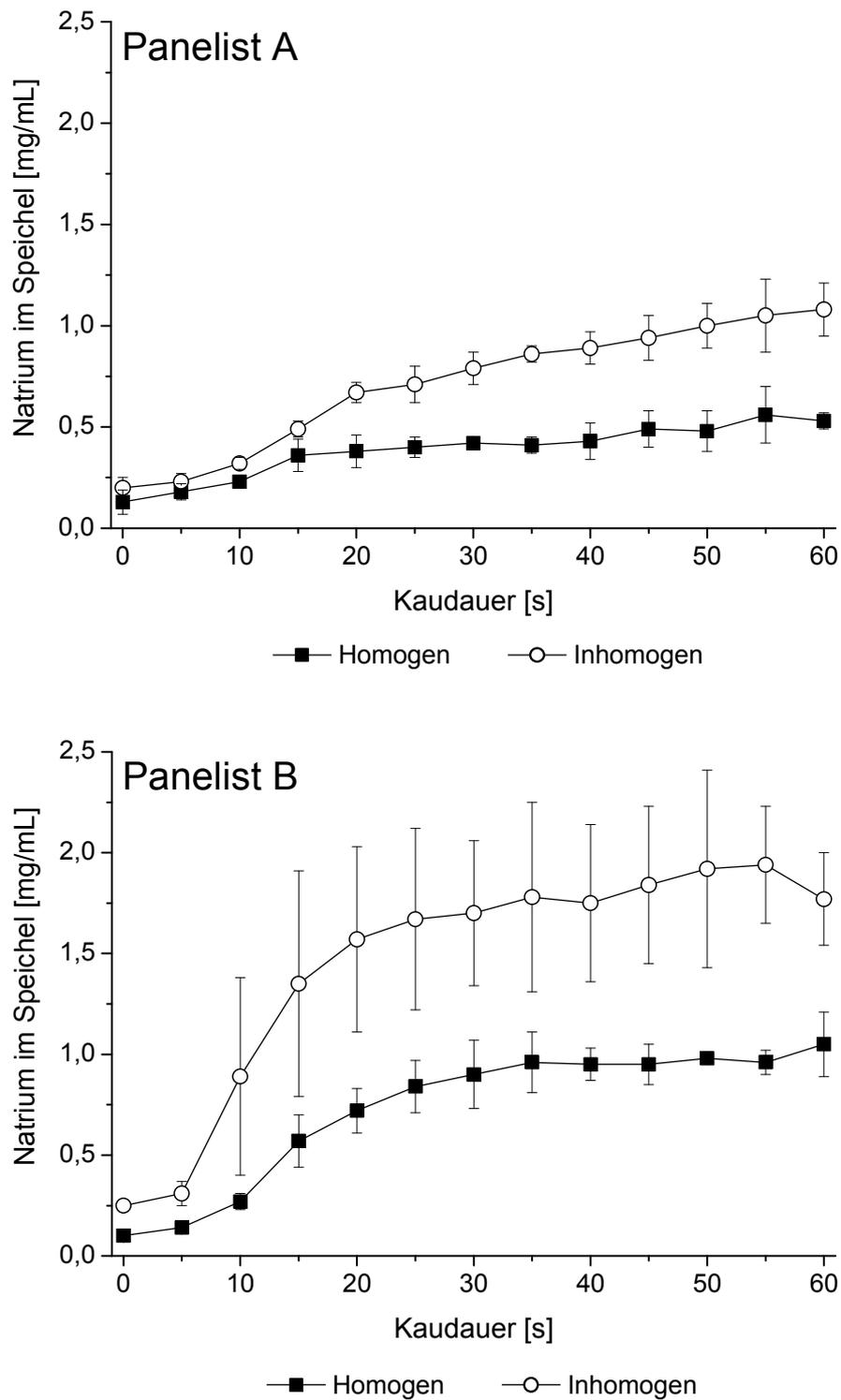
Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, wurde die Natriumfreisetzung des inhomogenen Brots mit 0,25/1,25 % gk NaCl im Vergleich zum homogenen Brot mit 1,5 % NaCl im Mund und im Kaumodell mit zwei diskontinuierlichen und mit einer kontinuierlichen Messmethode im Mund untersucht. Die Standardabweichungen der Messungen waren erwartungsgemäß vergleichsweise hoch, da der absolute Salzgehalt aufgrund der inhomogenen Salzverteilung in den 3 g Krümestücken ebenfalls variierte.

Dennoch ergab sich mit der diskontinuierlichen Messmethode im Mund nach einer Kaudauer von 5 s mit  $5,3 \pm 1,1$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume bezogen auf die Trockenmasse (TM) aus dem inhomogenen Brot ( $79 \pm 17$  % des mittleren Natriumgehalts) eine signifikant höhere Natriumfreisetzung als aus dem homogenen Brot, aus dem nach der gleichen Kaudauer lediglich  $3,8 \pm 0,4$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM ( $57 \pm 6$  %) frei vorlagen. Mit der zweiten diskontinuierlichen Messmethode, dem Kaumodell, wurden aufgrund der gründlicheren Homogenisierung für beide Brote jeweils höhere Werte gemessen. Trotzdem blieb der Unterschied zwischen den beiden Broten bestehen, da nach einer Kaudauer von 5 s  $6,0 \pm 1,4$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM aus dem inhomogenen Brot ( $90 \pm 21$  %) und nur  $4,5 \pm 0,4$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM aus dem homogenen Brot ( $67 \pm 6$  %) frei vorlagen (**Abbildung 34**). Nach 10 s zeigte sich beim Kauen im Mund aus dem Brot mit inhomogener Natriumverteilung ( $5,6 \pm 0,4$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM;  $83 \pm 6$  %) ebenfalls eine schnellere Natriumfreisetzung als aus dem homogenen Brot ( $3,8 \pm 0,5$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM;  $57 \pm 7$  %). Im Kaumodell war der Unterschied zwischen beiden Broten nach 10 s nicht mehr signifikant. Bei längeren Kauzeiten ab 15 s gab es in Bezug auf die Natriumfreisetzung keine signifikanten Unterschiede mehr. Somit war die Natriumfreisetzung aus dem Brot mit inhomogener Natriumverteilung in den ersten 5 - 10 s beim Kauen im Mund höher als aus dem homogenen Brot.



**Abbildung 34:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Brotkrume mit inhomogener (0,25/1,25 % gk NaCl) im Vergleich zu homogener Natriumverteilung (1,5 % NaCl) im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

Die Ergebnisse der kontinuierlichen Messmethode bestätigten die der diskontinuierlichen Methoden. Beim Kauen des inhomogenen Brots wurden sogar über die gesamte Kaudauer hinweg im Vergleich zur homogenen Referenz bei beiden Panelisten A und B höhere Natriumkonzentrationen im Speichel gemessen (**Abbildung 35**). Bei Panelist B waren die Standardabweichungen beim Kauen des inhomogenen Brots sehr viel höher, da Panelist B offensichtlich zwei Stücke mit höherem und ein Stück mit niedrigerem absoluten Natriumgehalt erhalten hatte. Aufgrund der inhomogenen Natriumverteilung war dies durchaus zu erwarten. Panelist A hatte zufälligerweise trotz der inhomogenen Natriumverteilung drei Stücke mit sehr ähnlichen absoluten Natriumgehalten bekommen. Insgesamt konnte mit allen drei zeit aufgelösten Methoden eine schnellere Natriumfreisetzung aus dem Brot mit inhomogener im Vergleich zu homogener Natriumverteilung festgestellt werden.



**Abbildung 35:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Natriumkonzentration im Speichel beim Kauen von Brotkrume mit inhomogener (0,25/1,25 % gk NaCl) im Vergleich zu homogener Natriumverteilung (1,5 % NaCl) (Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

### 3.2.3.7 Diskussion

Die späte Zugabe von grobkörnigem Kochsalz zu einem Grundteig mit sehr geringem Salzgehalt führte zu einer inhomogenen Natriumverteilung in Brotkrume, die sowohl indirekt mit Patentblau V gefärbten Salzkristallen als auch direkt mit CLSM unter Verwendung des Natrium-selektiven Farbstoffs SBF1-AM sichtbar gemacht werden konnte. Die inhomogene Natriumverteilung in Brotkrume mit punktförmigen Bereichen sehr hoher, umgeben von Bereichen niedriger Natriumkonzentration, führte bei gleichem absoluten Salzgehalt von 1,5 % zu einer hoch signifikant wahrnehmbaren Salzgeschmacksverstärkung, wobei sich hier der Gehalt von 0,25 % NaCl im Grundteig mit der späten Zugabe von 1,25 % grobkörnigem NaCl (Verhältnis 1:5) sowohl sensorisch als auch technologisch am geeignetsten erwies. Zahlreiche Untersuchungen zum Phänomen des sensorischen Kontrasts konnten bereits diesen geschmacksverstärkenden Effekt in Lösungen mit abwechselnd hoher und niedriger Konzentration an Geschmacksstoff beobachten (*Meiselman und Halpern, 1973; Busch et al., 2009; Burseg et al., 2010*). Speziell für Brot konnte gezeigt werden, dass Brote, die aus abwechselnden Teigschichten mit viel und wenig Salz gebacken wurden, im Vergleich zu homogenen Broten bei gleichem Gehalt ebenfalls einen intensiveren Salzgeschmack aufwiesen (*Noort et al., 2010*). Die Verwendung von mit Fett verkapselten Salzkristallen zur Erzielung einer inhomogenen Salzverteilung in Brot ermöglichte durch Verstärkung der wahrgenommenen Salzintensität ebenfalls eine bis zu 50%ige Salzreduktion in Brot (*Noort et al., 2012*). Somit lieferte die Literatur bereits Hinweise zur Erklärung der beobachteten Verstärkung der Salzwahrnehmung in inhomogenen Broten mit grobkörnigem Salz.

Allerdings fehlten bisher systematische Untersuchungen zur Natriumfreisetzung während des Kauens, da unterschiedliche Freisetzungsraten eine weitere Erklärung für die wahrgenommene Salzverstärkung liefern könnten. Die Natriumfreisetzung des inhomogenen Brots mit 0,25/1,25 % gk NaCl war im Vergleich zum homogenen Brot mit 1,5 % NaCl in den ersten 5 - 10 s beim Kauen im Mund höher (diskontinuierliche Messmethode). Bei der kontinuierlichen Messmethode wurden bei beiden Panelisten über die gesamte Kaudauer hinweg beim Kauen des inhomogenen Brots höhere Natriumkonzentrationen im Speichel gemessen. Die intensivere Salzwahrnehmung in Broten mit inhomogener Natriumverteilung ließ sich darum auch aufgrund der schnelleren Natriumfreisetzung während des Kauens erklären.

Um die kontinuierlichen, instrumentellen Messungen wieder mit der Sensorik zu vergleichen, wurden während des Kauens der Brotkrume von den beiden gleichen Panelisten Time-Intensity-Kurven aufgenommen. Die Geschmackswahrnehmung ist ein dynamischer Prozess, der durch Kauverhalten, Zungenbewegungen, Atmung und Speichelsekretion beeinflusst wird, sodass sich die wahrgenommene Intensität einer bestimmten Geschmacksart über die Kaudauer hinweg verändert. Daher ermöglichen TI-Kurven detailliertere Aussagen

über die maximal wahrgenommene Intensität, die Zeit bis die maximale Intensität erreicht wird, die Steigung und Form des ansteigenden und abfallenden Teils der Kurve sowie die Dauer eines möglichen Plateaus (*Lawless und Heymann, 2010*). Außerdem ist bekannt, dass jeder Panelist eine sehr individuelle charakteristische Kurve mit unterschiedlicher Ausnutzung der zur Verfügung stehenden Skala zeichnet (*Liu und MacFie, 1990; Lallemand et al., 1999; Lawless und Heymann, 2010*). Dies ist einer der Gründe, warum sich die wahrgenommenen maximalen Salzintensitäten bei der gleichen Probe zwischen Panelist A und B unterscheiden. Andere Gründe können individuelle Unterschiede in Bezug auf Kauverhalten, Speichelsekretion, Zungenbewegungen und Essgewohnheiten sein. In diesem speziellen Fall spielt die Gewöhnung an salzige oder eher salzarme Kost sicherlich eine Rolle.

Insgesamt bestätigten die TI-Messungen die Ergebnisse der sensorischen Analysen mittels 2-AFC-Tests, bei denen Brotkrume mit inhomogener Natriumverteilung bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % im Vergleich zu homogener Natriumverteilung als signifikant salziger bewertet wurde. Die verstärkte Salzwahrnehmung ließ sich zum einen aufgrund des Prinzips des sensorischen Kontrasts erklären. Zum anderen konnte mit Hilfe von quantitativen Messungen zur Natriumfreisetzung mit drei verschiedenen Methoden gezeigt werden, dass die Geschwindigkeit der Natriumfreisetzung besonders während der ersten 5 - 10 s des Kauvorgangs in Brotkrume mit inhomogener Natriumverteilung schneller war als in der homogenen Referenz.

Die Visualisierung der inhomogenen Salzverteilung in Brotkrume erfolgte sowohl indirekt durch Verwendung von mit Patentblau V gefärbten NaCl-Kristallen als auch direkt durch SEM und CLSM mit dem Natrium-selektiven Farbstoff SBFI-AM. Mit Hilfe der gefärbten NaCl-Kristalle konnte die inhomogene Natriumverteilung sowohl in Teig als auch in Brot makroskopisch durch die blaue Färbung sichtbar gemacht werden. Beim Referenzbrot, bei dem die blau gefärbten NaCl-Kristalle (< 2 mm) zu Beginn der Knetzeit hinzugefügt worden waren, ergab sich eine homogen blau gefärbte Krume. Die NaCl-Kristalle lösten sich nach Zugabe des Wassers vollständig im Teig auf und wurden gleichmäßig verteilt. Die Zugabe der grobkörnigen NaCl-Kristalle (2 - 3,5 mm) 30 s vor Ende der Knetzeit resultierte dagegen in einer inhomogen gefärbten Krume. Die grobkörnigen Kristalle lösten sich zu einem geringen Maß im Teig, sodass die Krume teilweise ungefärbt und teilweise leicht blau gefärbt vorlag. Sehr deutlich zu erkennen waren außerdem sehr intensiv blaue, punktförmige Stellen, wo ein gefärbter NaCl-Kristall in die Krume eingebaut war. *Noort et al. (2010)* hatten bei Broten mit alternierenden Schichten aus Teig mit viel und wenig Salz zur Visualisierung der Teigschichten mit hohem Salzgehalt bereits eine Mischung aus Azorubin und Ponceau 4R zur Färbung verwendet. Bei der Verwendung von mit Fett verkapseltem Salz zur Erzielung einer inhomogenen Salzverteilung in Krume wurde dem Fett  $\beta$ -Carotin als visueller Marker

zugesetzt (Noort *et al.*, 2012). Diese indirekten Methoden erlaubten eine makroskopische Visualisierung der NaCl-Verteilung in Brotkrume und bestätigten die Erzielung einer inhomogenen NaCl-Verteilung mit punktförmigen Stellen hoher Salzkonzentration. Da aufgrund der sehr verschiedenen chemischen und strukturellen Eigenschaften von Patentblau V und NaCl Unterschiede im Diffusionsverhalten jedoch nicht ausgeschlossen werden konnten, wurden zwei mikroskopische Methoden zur direkten Visualisierung von NaCl in Brotkrume eingesetzt.

Die SEM eignet sich zur Charakterisierung von Oberflächenstrukturen in 18 - 300 000facher Vergrößerung mit einer Auflösung bis zu 3,5 nm (*JSM-5510LV Datasheet, JEOL, Tokio, Japan*). Beispielsweise konnte die Mikrostruktur von Stärkekörnern in Rispenhirse und deren Veränderung während des Mälzens (Zarnkow *et al.*, 2007), die Struktur von Amaranth-, Quinoa-, Buchweizen-, Reis- und Weizenmehl (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010) und der Einfluss von Hochdruckbehandlung auf Teige aus Sorghum (Vallons *et al.*, 2010) und auf Teige aus Buchweizen, weißem Reis und Teff (Vallons *et al.*, 2011) mittels SEM untersucht werden. In Brotkrume mit grobkörnigem Salz konnte das für Brote aus Weizenmehl typische Stärke-Protein-Netzwerk sichtbar gemacht werden. Außerdem waren sehr helle, scharfkantige Strukturen auf der Oberfläche des Stärke-Protein-Netzwerks zu erkennen, bei denen es sich um NaCl-Kristalle handeln musste. Die SEM erlaubte somit einen völlig neuartigen Einblick in die Mikrostruktur von Broten mit grobkörnigem Salz, insbesondere an den Stellen, wo ein NaCl-Kristall in die Krumenstruktur eingebaut wurde.

Während bei der SEM Oberflächenstrukturen mit starker Vergrößerung untersucht werden können, eignet sich die CLSM bei schwächerer Vergrößerung (10 - 60fach) durch optische Schnitte in z-Richtung zur dreidimensionalen Abbildung von Proben (Dürrenberger *et al.*, 2001). Durch Detektion der Autofluoreszenz beispielsweise von Proteinen (Bugusu *et al.*, 2002) oder der Verwendung von spezifischen Fluoreszenzfarbstoffen wie Acid Fuchsin (Dürrenberger *et al.*, 2001; Zarnkow *et al.*, 2007) und Fluoresceinisothiocyanat (Bugusu *et al.*, 2002; Lynch *et al.*, 2009) für Proteine, Safranin O (Dürrenberger *et al.*, 2001) für Stärke sowie Rhodamin B (Zarnkow *et al.*, 2007, Jekle und Becker, 2011b) und Nilblau (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010) für Proteine und Stärke können Protein-Stärke-Netzwerke in Teig und Krume sichtbar gemacht und strukturelle Veränderungen beobachtet werden.

Die Verwendung des Natrium-selektiven Fluoreszenzfarbstoffs SBFI-AM ermöglichte die direkte Visualisierung der Natriumverteilung in Brotkrume. Während in Brotkrume mit Zugabe von 1,5 % Kochsalz zu Beginn der Knetzeit eine homogene Verteilung über die gesamte schwammartige Krumenstruktur zu erkennen war, fanden sich in Brotkrume mit später Zugabe von 1,25 % grobkörnigem Kochsalz zu einem Grundteig mit 0,25 % NaCl punktförmige Bereiche mit sehr intensiver Fluoreszenz, die von schwach fluoreszierender Krume umgeben

waren. CLSM-Aufnahmen von Brot mit inhomogener Salzverteilung durch Verkapselung mit Fett unter Verwendung des Natrium-selektiven Farbstoffs CoroNa™ Green zeigten ebenfalls Bereiche mit sehr hoher Fluoreszenzintensität, die mit der umgebenden Krume kontrastierten. Die Bereiche mit intensiver Fluoreszenz stimmten zudem mit den durch  $\beta$ -Carotin angefärbten Stellen überein, die den Einbau eines verkapselten Salzkristalls anzeigten (*Noort et al., 2012*). Zusätzlich zur visuellen Analyse wurde nach Reduktion auf Graustufen und Hintergrundkorrektur über jeweils drei repräsentative Bereiche auf Basis von Histogramm-Daten eine Bildanalyse durchgeführt, um nur die hellsten Bereiche zu berücksichtigen, die der Fluoreszenz von SBF1-AM mit Natrium entsprechen. Die Häufigkeit der Summe der hellsten Pixel mit RGB-Werten von 136 - 255 in den zwölf zusammenhängenden Einzelbildern lag im Referenzbrot in einem relativ engen Bereich. Dagegen streuten diese Werte über die zwölf Einzelbilder im Brot mit grobkörnigem Salz deutlich stärker, da einige Bilder eine sehr hohe und andere eine sehr geringe Helligkeit aufwiesen. Somit konnte die inhomogene Verteilung der Fluoreszenzintensität und damit der Natriumionen über den Bildausschnitt aus zwölf Einzelbildern hinweg verifiziert werden.

Weiterhin wurde der Einfluss des Zusatzes von grobkörnigem Salz auf die Proteinstruktur in Brotkrume durch Färbung mit Rhodamin B und FITC aufgeklärt. Zum Vergleich wurden Brote mit homogener Natriumverteilung mit 0, 0,25, 1, 1,5, 2, 4 und 6 % NaCl herangezogen. In Brot ohne Salz lag die Proteinstruktur zwischen den Stärkekörnern fein verteilt vor, was mit den Untersuchungen von *Lynch et al. (2009)* und *Beck et al. (2012a)* übereinstimmt. Die Zugabe von 0,25 % NaCl führte zu keinen signifikanten Veränderungen. Dagegen führten höhere Salzgehalte von 1 - 2 % NaCl zu einer stärkeren Verknüpfung der Proteinstränge, die mit 4 - 6 % NaCl ein noch deutlich festeres Proteinnetzwerk mit langgezogenen Proteinsträngen zeigten. Diese Zunahme langer, fester und verknüpfter Proteinstränge bei höheren Salzgehalten wurde ebenfalls bereits beschrieben (*Lynch et al., 2009; Beck et al., 2012a*).

In Brot mit Zusatz von 1,25 % grobkörnigem Salz zu einem Grundteig von 0,25 % NaCl wurden an den interessanten Stellen, wo ein Salzkristall in den Teig eingebaut worden war, sowohl fein verteilte Proteinstrukturen als auch lange Proteinstränge sichtbar gemacht. Die feinen Proteinstrukturen glichen denen in homogenem Brot mit 0 und 0,25 % NaCl und traten stets am Rand der Bereiche auf, wo ein Salzkristall in die Krumenstruktur eingebettet vorlag. In der Mitte dieser Bereiche zeigten sich dagegen sehr lange Proteinstränge, die große Ähnlichkeit mit denen in homogenem Brot mit 4 und 6 % NaCl aufwiesen. Somit konnten erstmals die Proteinstrukturen in Broten mit inhomogener Salzverteilung mittels CLSM visualisiert werden. Die beobachtete Veränderung der Proteinstrukturen diente als weiterer Nachweis für die Erzielung einer inhomogenen Salzverteilung in Brotkrume und bestätigte beson-

ders bei hohen Salzkonzentrationen den bereits bekannten Einfluss von NaCl auf die Proteinstruktur.

### 3.2.4 Textur von Brotkrume und Teig

#### 3.2.4.1 Sensorische Bewertung von Teig im Vergleich zu Brotkrume

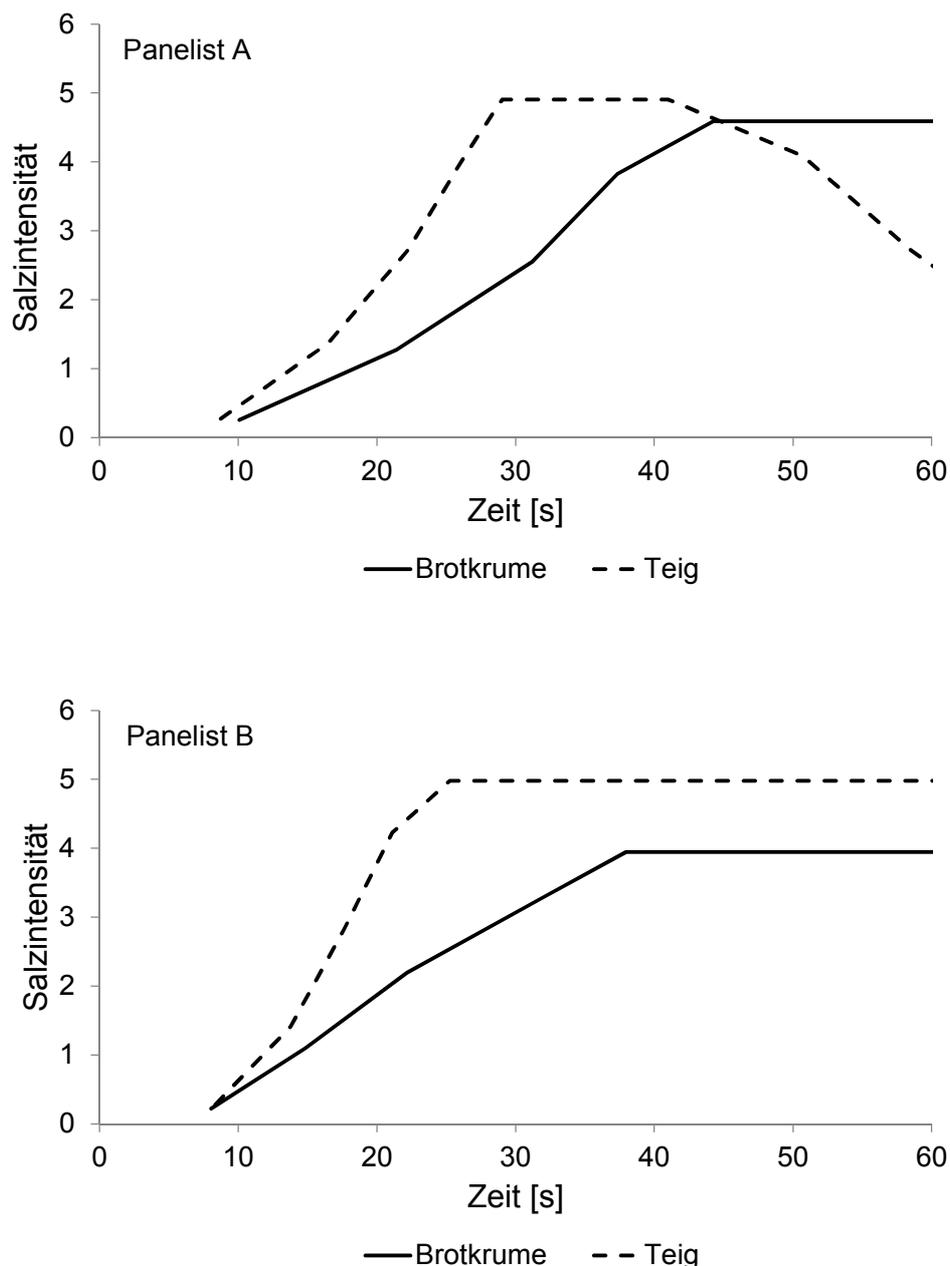
Frischer Teig mit 1,5 % NaCl wurde vom Sensorikpanel im 2-AFC-Test als signifikant salziger ( $\alpha = 0,05$ ) bewertet als die gleiche Menge (3 g) Brotkrume mit 1,5 % NaCl, die aus dem gleichen Teig hergestellt worden war (**Tabelle 10**).

**Tabelle 10:** 2-AFC-Tests zur Bewertung der Salzintensität in Teig im Vergleich zu Brotkrume je mit 1,5 % NaCl bei konstantem Gewicht (3 g).

Teig	Brot	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau $\alpha$
		Insgesamt	Teig	Brot	
1,5 % NaCl	1,5 % NaCl	14	11	3	0,05
		14	12	2	0,01
		15	12	3	0,05

Der Wassergehalt der Brotkrume betrug  $44,9 \pm 0,5$  % und war somit etwas niedriger als der von Teig mit  $46,3 \pm 0,5$  %. Das bedeutet, dass die Natriumkonzentration bezogen auf den Wassergehalt in Brotkrume etwas höher lag als in Teig. Die Salzwahrnehmung war jedoch trotzdem im Teig intensiver.

Zusätzlich zu den 2-AFC-Tests wurden analog zu dem in Kapitel 3.2.3.2 beschriebenen sensorischen Aufbau Time-Intensity-Kurven aufgenommen, um die zeitliche Abhängigkeit der Salzwahrnehmung in Teig im Vergleich zu Brotkrume darstellen zu können. **Abbildung 36** zeigt die gemittelten trapezoiden Kurven, die den zeitlichen Verlauf der wahrgenommenen Salzintensität von frisch zubereitetem Teig im Vergleich zu Brotkrume bei gleichem Gewicht von 3 g, jeweils mit 1,5 % NaCl, darstellen. Das Plateau in den gezeigten Diagrammen entspricht wieder je 90 % der maximal wahrgenommenen Intensität  $I_{max}$ . Panelist A gab keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die maximale Salzintensität zwischen Teig ( $5,5 \pm 0,5$ ) und Brotkrume ( $5,1 \pm 0,4$ ) an. Im Gegensatz dazu empfand Panelist B den Teig insgesamt salziger ( $I_{max}$ :  $5,6 \pm 0,5$ ) als Brotkrume ( $I_{max}$ :  $4,4 \pm 0,2$ ).



**Abbildung 36:** Time-Intensity-Kurven: Salzwahrnehmung in Teig im Vergleich zu Brotkrume je mit 1,5 % NaCl bei konstantem Gewicht (3 g) jeweils für Panelist A und B ( $n = 6$ ).

Die gemittelten Werte über alle Kurven beider Panelisten ergaben für Teig eine signifikant höhere Steigungsrate ( $R_i$ ), die mit einer signifikant kürzeren Zeit ( $D_i$ ) bis zum Erreichen der maximalen Intensität einherging (**Tabelle 11**). Die Fläche unter der Kurve in der ansteigenden Phase ( $A_i$ ) war bei der sensorischen Bewertung des Teigs ebenfalls signifikant kleiner, was vor allem auf die kürzere Zeitspanne zurückzuführen war. In Bezug auf die Dauer ( $D_m$ ) und die Fläche unterhalb des Plateaus von 90 %  $I_{max}$  ( $A_m$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Ein Grund dafür war, dass die wahrgenommene Salzintensität für Panelist A bereits nach 41 s wieder abzunehmen begann. Panelist B bemerkte keine Ab-

nahme der Salzintensität vor Ende der Messung. Die Gesamtfläche unter der Kurve (A) war für Teig im Vergleich zu Brotkrume signifikant höher.

**Tabelle 11:** Sekundäre Parameter (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 12$ ), die aus den TI-Kurven extrahiert wurden: frischer Teig mit 1,5 % NaCl im Vergleich zu Brotkrume mit 1,5 % NaCl (je 3 g). „\*“ bezeichnet statistisch signifikante Unterschiede zwischen Teig und Brotkrume (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ , **Tabelle 26**).

Parameter	Brotkrume 1,5 % NaCl	Teig 1,5 % NaCl
$D_i$	$32,0 \pm 7,2$	$18,6 \pm 4,0^*$
$R_i$	$0,13 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,06^*$
$A_i$	$62,5 \pm 15,6$	$38,4 \pm 16,9^*$
$D_m$	$18,9 \pm 7,8$	$23,4 \pm 11,9$
$A_m$	$75,7 \pm 31,0$	$110,2 \pm 57,9$
A	$144,8 \pm 27,1$	$190,8 \pm 25,8$

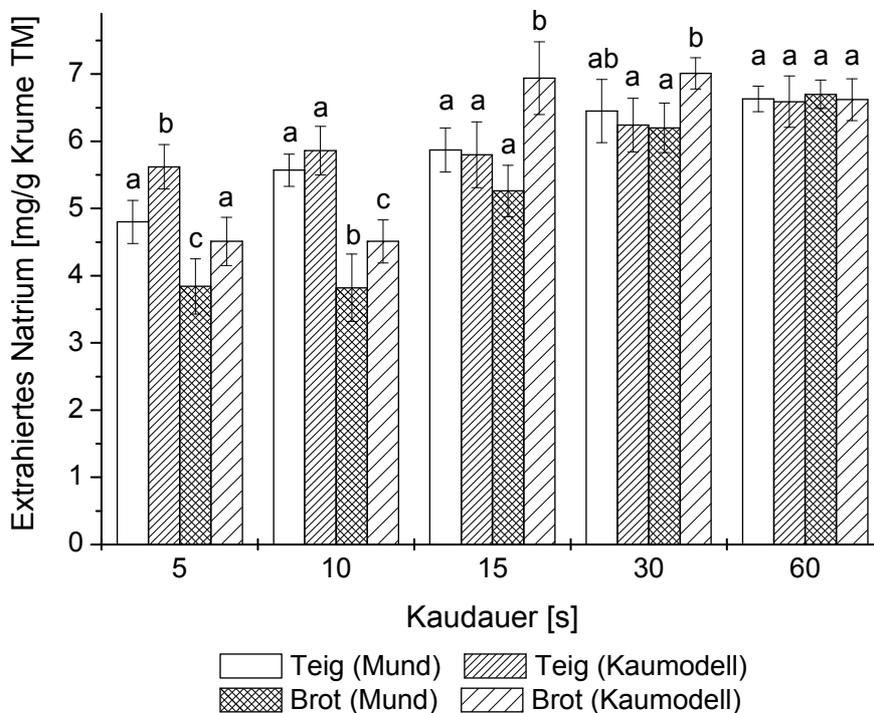
$D_i$ : Dauer der ansteigenden Phase;  $R_i$ : Steigungsrate in der ansteigenden Phase;  $A_i$ : Fläche unterhalb der Kurve in der ansteigenden Phase;  $D_m$ : Dauer der Plateauphase;  $A_m$ : Fläche unterhalb der Kurve in der Plateauphase; A: Gesamtfläche unterhalb der Kurve

Insgesamt konnten die TI-Kurven die Ergebnisse der 2-AFC-Tests bestätigen, in denen Teig als signifikant salziger bewertet wurde. Grundlegende Unterschiede in der Wahrnehmung der Salzigkeit wurden vor allem in der ansteigenden Phase der Kurven zu Beginn der Kauzeit beobachtet.

### 3.2.4.2 Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Teig im Vergleich zu Brotkrume

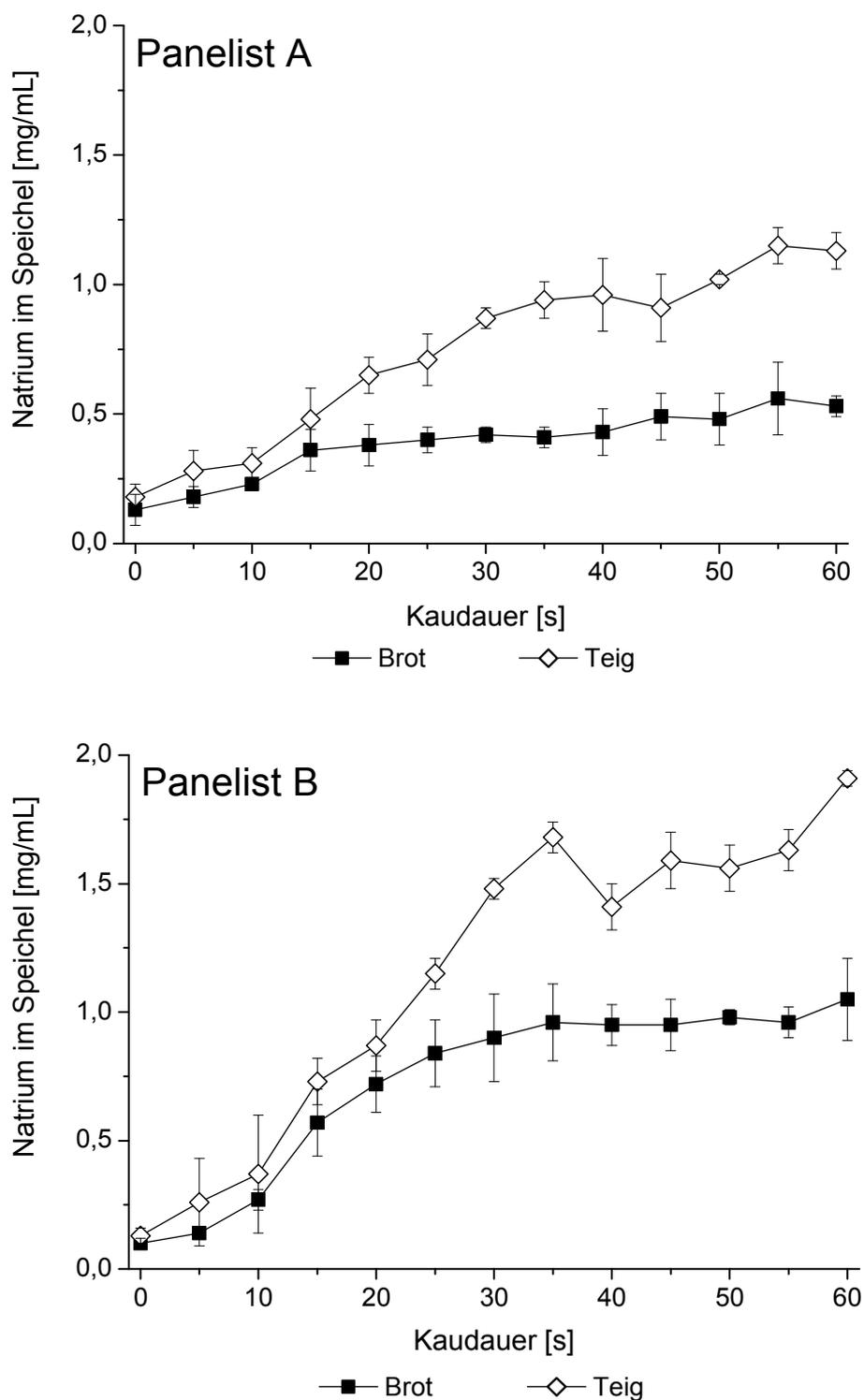
Die zeitabhängige Natriumfreisetzung während des Kauens von Teig wurde mit Hilfe der beiden diskontinuierlichen Messmethoden mit der Freisetzung aus Brotkrume (3.2.2.2) verglichen. Sowohl der frische Teig als auch die Brotkrume enthielten jeweils 1,5 % NaCl. Nach einer Kaudauer von 5 s im Mund war aus Teig mit  $4,8 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM ( $72 \pm 5$  %) mehr Natrium extrahiert als aus Brotkrume mit  $3,8 \pm 0,4$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM ( $57 \pm 6$  %). Auch im Kaumodell ließ sich nach 5 s aus Teig mit  $5,6 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM ( $84 \pm 5$  %) eine schnellere Natriumfreisetzung als aus Brotkrume mit  $4,5 \pm 0,4$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM ( $67 \pm 6$  %) feststellen. Die Unterschiede zwischen Teig ( $5,6 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM im Mund und  $5,9 \pm 0,4$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM im Kaumodell) und Brotkrume ( $3,8 \pm 0,5$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM im Mund und  $4,5 \pm 0,3$  mg  $\text{Na}^+/\text{g}$  TM im Kaumodell) waren bei einer Kaudauer von 10 s sogar noch deutlicher. Bei längeren Kauzeiten ab 15 s waren die aus Teig und Brotkrume freigesetzten Natriumgehalte vergleichbar. Im

Kaumodell war die Natriumfreisetzung bei 15 s aus Teig, vermutlich aufgrund der kohäsiven, viskoelastischen Teigstruktur, sogar langsamer als aus Brotkrume. Nach 60 s war aus Teig ebenso wie aus Brotkrume die gesamte Natriummenge extrahiert (**Abbildung 37**).



**Abbildung 37:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Teig im Vergleich zu Brot (je 1,5 % NaCl, 3 g) im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

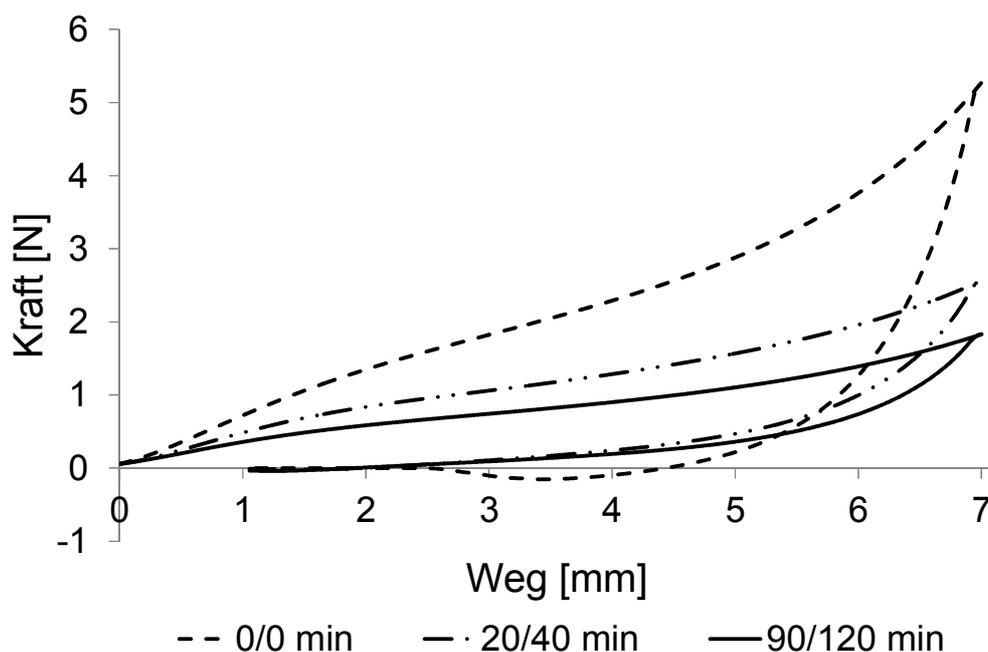
Mit beiden diskontinuierlichen Messmethoden wurde in den ersten 5 - 10 s der Kauzeit eine schnellere Natriumfreisetzung aus Teig im Vergleich zu Brotkrume ermittelt. Die kontinuierliche Messmethode bestätigte diese Ergebnisse. Ab einer Kauzeit von 20 s (Panelist A) und 25 s (Panelist B) bis zum Ende der Messung bei 60 s wurden während des Verzehr von Teig höhere Natriumkonzentrationen im Speichel gemessen (**Abbildung 38**). Der im Vergleich zu beiden diskontinuierlichen Messmethoden verspätet auftretende Unterschied zwischen Teig und Brot liegt in der Durchführung der kontinuierlichen Methode begründet. Da das Satinband nicht direkt durch den Kaubrei gezogen wurde, war eine gewisse Zeit nötig, um eine Verteilung der freigesetzten Natriumionen im Mundraum zu ermöglichen. Aufgrund der individuell unterschiedlichen Speichelsekretion (3.2.2.3) wurden die Ergebnisse jeweils für Panelist A und B separat dargestellt.



**Abbildung 38:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Natriumkonzentration im Speichel beim Kauen von Teig im Vergleich zu Brotkrume je mit 1,5 % NaCl bei konstantem Gewicht (3 g) jeweils für Panelist A und B. Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

### 3.2.4.3 Sensorische Bewertung von Broten unterschiedlicher Textur

Zur Erzielung möglichst unterschiedlicher Krumentexturen wurden die Standardgärzeiten von 20 (1. Gare) und 40 min (2. Gare) verändert. Beim standardmäßigen Zusatz von 7 % Frischhefe, bezogen auf die Mehlmenge, konnten jedoch nur geringe Veränderungen der Krumentextur festgestellt werden. Daher wurde der Gehalt an Frischhefe auf 1,75 % reduziert, was einem Viertel der ursprünglichen Menge entsprach. Eine sehr feinporige Krumenstruktur mit im Vergleich zur Referenz ( $1,74 \pm 0,16$  N/g) signifikant höherer Festigkeit ( $2,80 \pm 0,50$  N/g;  $p = 0,001$ ; **Abbildung 39**) ergab sich für die Brote ohne Gärzeit (0/0 min, **Abbildung 49 A**), bei denen die Brote direkt nach dem Anteigen und einer 5-minütigen Ruhezeit bei Raumtemperatur zum Entspannen des Teigs gebacken wurden. Nach einer insgesamt 210-minütigen Gärzeit (1. Gare: 90 min, 2. Gare: 120 min, **Abbildung 49 B**) war hingegen die Krumenstruktur viel grobporiger und weicher ( $1,46 \pm 0,10$  N/g;  $p = 0,002$ ; **Abbildung 39**) als die der Referenz (**Abbildung 49 C**). Beide Brote wurden aus demselben Teig gefertigt, der auf einem 600 g Mehl-Ansatz beruhte und nach dem Anteigen durch Auswiegen in zwei gleich große Hälften geteilt wurde, um so eine möglichst gute Vergleichbarkeit zu erzielen.



**Abbildung 39:** Texturmessungen der Brote mit variablen Gärzeiten: 0/0 min, 20/40 min (Referenz) und 90/120 min. Die Kurven stellen den Mittelwert aus einer Doppelmessung von je drei Krumenstücken aus drei unterschiedlichen Scheiben von je drei Broten dar (27 Messungen).

Das Volumen der 0/0 min-Brote war mit  $771 \pm 6$  mL signifikant kleiner ( $p = 0,001$ ) als das der Referenz mit  $1147 \pm 61$  mL, während das Volumen der 90/120 min-Brote mit  $1353 \pm 72$  mL im Vergleich zur Referenz signifikant zunahm ( $p = 0,036$ ).

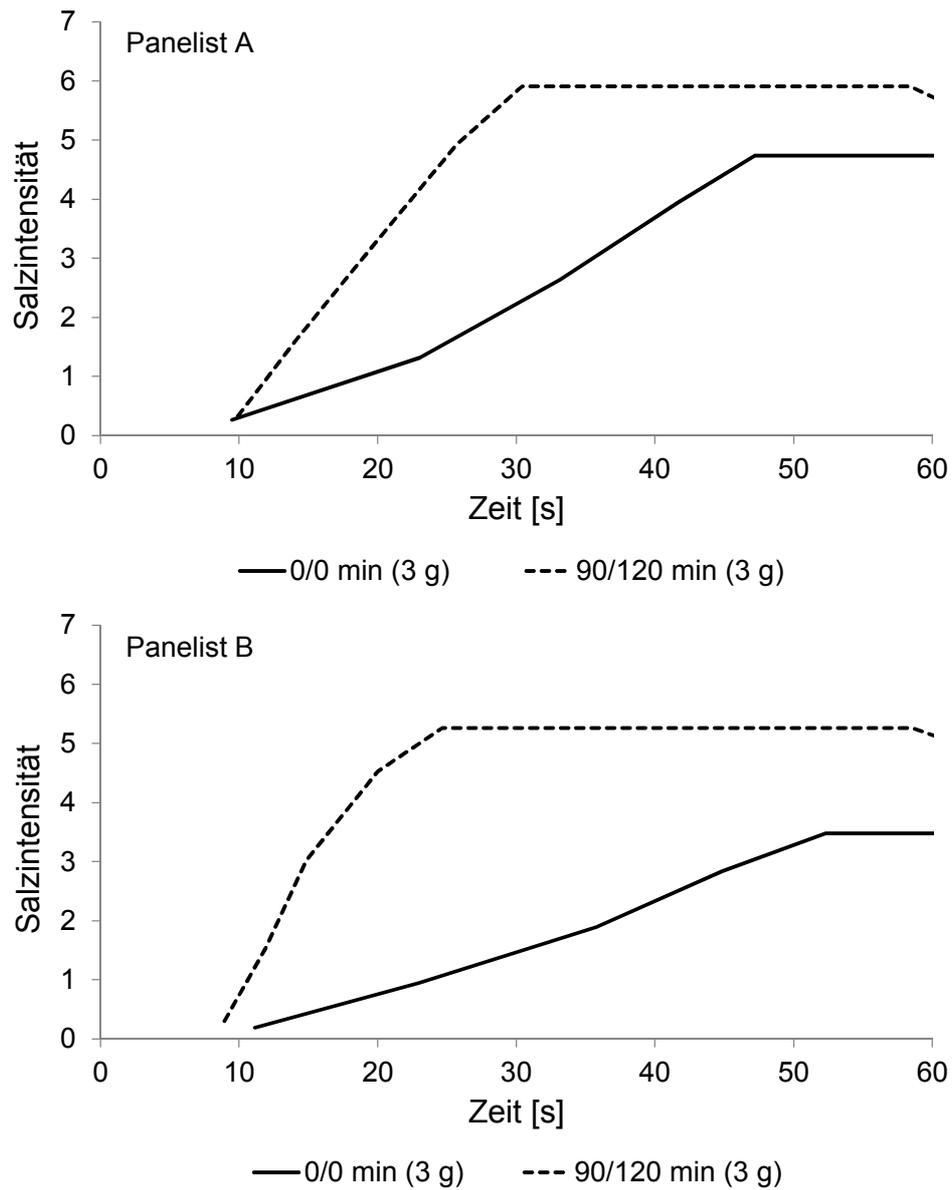
Die Salzintensität des 0/0 min-Brots wurde mit Hilfe von 2-AFC-Tests bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Probengewicht von 3 g mit der des 90/120 min-Brots verglichen. Das Sensorikpanel bewertete das grobporigere 90/120 min-Brot als signifikant salziger ( $\alpha = 0,05$ ) als das feinporige, festere 0/0 min-Brot (**Tabelle 12**).

Interessanterweise wurde das 90/120 min-Brot vom Panel immer noch als signifikant salziger ( $\alpha = 0,05$ ) als das 0/0 min-Brot bewertet, auch wenn nicht das Probengewicht, sondern das Probenvolumen mit  $3,375 \text{ cm}^3$  konstant gehalten wurde (**Tabelle 12**). Durch die grobporigere Krumenstruktur ergab sich damit für das 90/120 min-Brot ein wesentlich geringeres Probengewicht mit 2,04 g, im Vergleich zu 3 g des 0/0 min-Brots. Durch das geringere Probengewicht war somit die zur Geschmackswahrnehmung zur Verfügung stehende Menge NaCl um etwa ein Drittel niedriger. Umso erstaunlicher war das Ergebnis der 2-AFC-Tests, da das 90/120 min-Brot trotz geringerer, absoluter Natriummenge als signifikant salziger empfunden wurde.

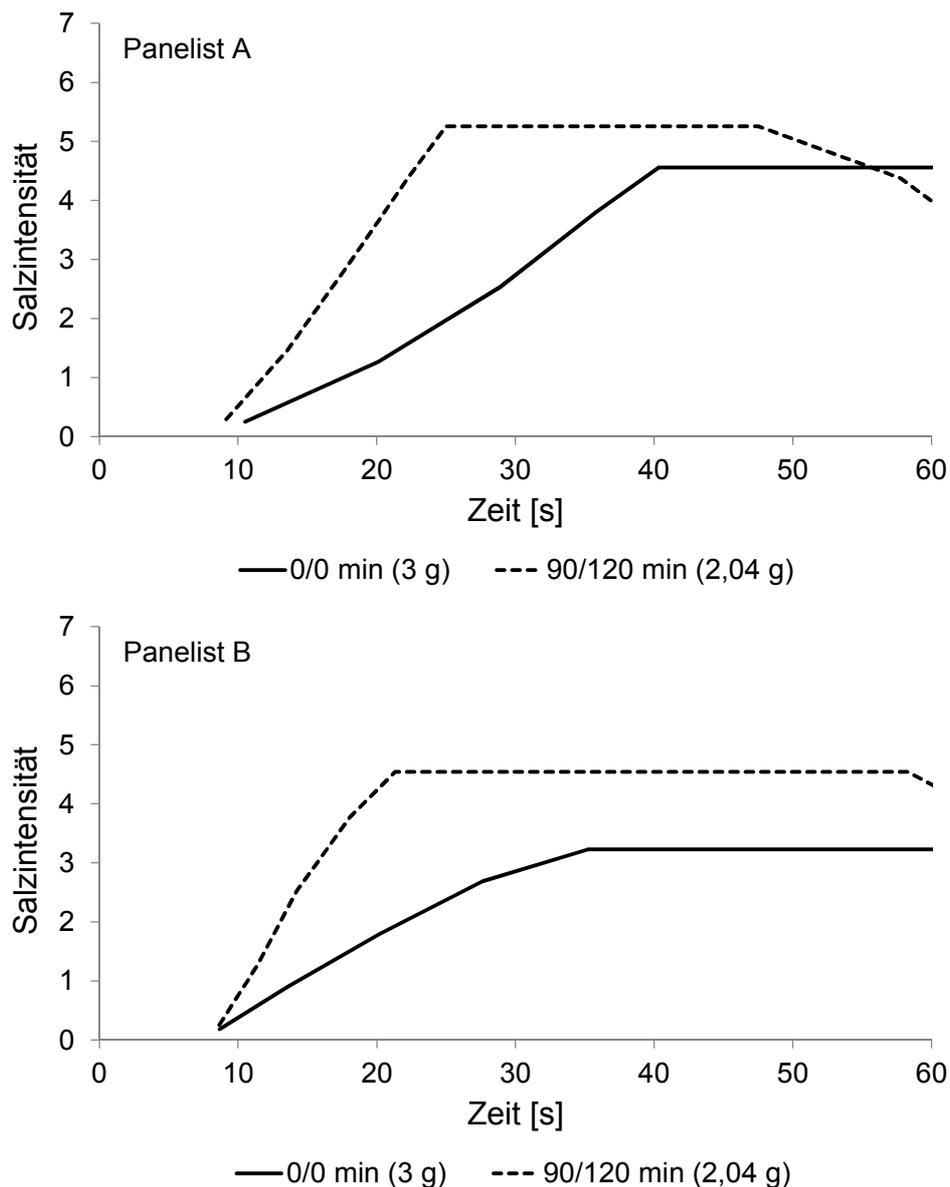
**Tabelle 12:** 2-AFC-Tests zur Bewertung der Salzintensität in Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % bei konstantem Gewicht (3 g) und bei konstantem Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) mit resultierendem Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min.

0/0 min	90/120 min	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau $\alpha$
		Insgesamt	0/0 min	90/120 min	
1,5 % NaCl (3 g)	1,5 % NaCl (3 g)	13	2	11	0,05
		14	2	12	0,01
		14	3	11	0,05
1,5 % NaCl (3 g)	1,5 % NaCl (2,04 g)	14	3	11	0,05
		13	2	11	0,05
		15	3	12	0,05

Zusätzlich zu den 2-AFC-Tests wurden TI-Kurven aufgenommen, bei denen der zeitliche Verlauf der wahrgenommenen Salzintensität beim Kauen des 0/0 min-Brots mit dem des 90/120 min-Brots bei gleichen Salzgehalt von 1,5 % NaCl verglichen wurde. Wie bei den 2-AFC-Tests wurde einmal das Gewicht (3 g; **Abbildung 40, Tabelle 13**) konstant gehalten und einmal das Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ; **Abbildung 41, Tabelle 13**).



**Abbildung 40:** Time-Intensity-Kurven: Vergleich der Salzwahrnehmung von Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Gewicht (3 g) jeweils für Panelist A und B (n = 6).



**Abbildung 41:** Time-Intensity-Kurven: Vergleich der Salzwahrnehmung von Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) mit resultierendem Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min jeweils für Panelist A und B ( $n = 6$ ).

Bei einem konstanten Gewicht von 3 g war die maximale Salzintensität beim 90/120 min-Brot (Panelist A:  $6,6 \pm 0,3$ ; Panelist B:  $6,0 \pm 0,6$ ) signifikant höher als beim 0/0 min-Brot (Panelist A:  $5,3 \pm 0,3$ ; Panelist B:  $3,8 \pm 0,6$ ). Die Betrachtung der Mittelwerte aller TI-Kurven beider Panelisten (**Tabelle 13**) ergab signifikante Unterschiede bei der Dauer der ansteigenden Phase ( $D_i$ ), die kürzer war, und bei der Steigungsrate ( $R_i$ ), bei der Fläche unter der Kurve unterhalb des Plateaus bei 90 %  $I_{\text{max}}$  ( $A_m$ ) und bei der Gesamtfläche unter der Kurve ( $A$ ), die allesamt beim 90/120 min-Brot höher waren. Der mittlere Wert für  $A_m$  war etwa dreimal und

der für A etwa zweimal so groß wie der für das 0/0 min-Brot, da die maximale Intensität signifikant höher war und früher erreicht wurde. Nur bei der Fläche unter der Kurve in der ansteigenden Phase  $A_i$  konnte kein Unterschied ermittelt werden, da die kürzere Zeit  $D_i$  mit einem höheren  $I_{\max}$  zusammenfiel.

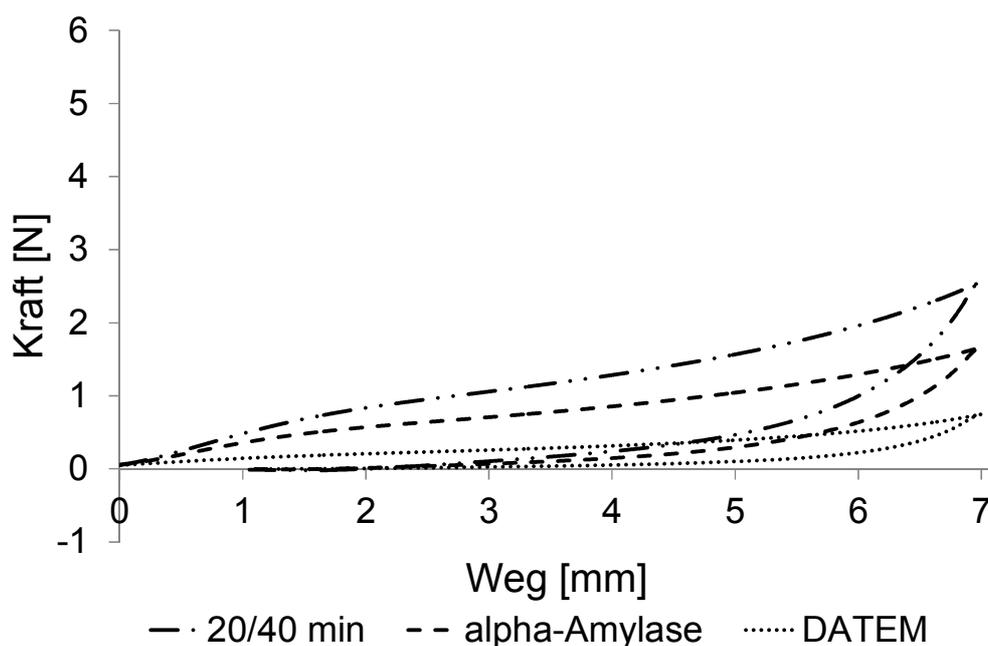
Bei konstantem Volumen von  $3,375 \text{ cm}^3$  war die wahrgenommene, maximale Salzintensität beim 90/120 min-Brot ebenfalls höher (Panelist A:  $5,8 \pm 0,3$ ; Panelist B:  $5,1 \pm 0,4$ ) als beim 0/0 min-Brot (Panelist A:  $5,1 \pm 0,3$ ; Panelist B:  $3,6 \pm 0,2$ ). Obwohl die Unterschiede in Bezug auf  $I_{\max}$  bei beiden Panelisten noch signifikant waren, war die relative Differenz zwischen den maximalen Intensitäten bei konstantem Volumen kleiner als bei konstantem Gewicht. Wie zuvor war bei den gemittelten Werten aller TI-Kurven beim 90/120 min-Brot  $D_i$  signifikant kürzer und die Werte für  $R_i$ ,  $D_m$ ,  $A_m$  und A signifikant höher. Sogar die Fläche unter der ansteigenden Phase der Kurve  $A_i$  war beim 90/120 min-Brot signifikant kleiner, weil eine kürzere Dauer  $D_i$  mit einer niedrigeren maximalen Intensität zusammenfiel. Panelist A gab bei der Bewertung des 90/120 min-Brots außerdem ab 48 s eine Abnahme der Salzintensität an, während dies bei Panelist B erst bei 58 s kurz vor Ende der Messung auftrat.

**Tabelle 13:** Sekundäre Parameter (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 12$ ), die aus den TI-Kurven extrahiert wurden: Brote mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Gewicht (3 g) bzw. konstantem Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) mit resultierendem Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min. „\*“ bezeichnet statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Broten (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ , **Tabelle 27**).

Parameter	Konstantes Gewicht (3 g)		Konstantes Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ )	
	0/0 min (3 g)	90/120 min (3 g)	0/0 min (3 g)	90/120 min (2,04 g)
$D_i$	$39,4 \pm 5,5$	$18,1 \pm 4,3^*$	$28,2 \pm 4,5$	$14,3 \pm 3,1^*$
$R_i$	$0,10 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,08^*$	$0,13 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,03^*$
$A_i$	$66,5 \pm 13,7$	$54,1 \pm 15,5$	$51,5 \pm 10,6$	$34,0 \pm 8,1^*$
$D_m$	$12,3 \pm 5,9$	$31,7 \pm 5,7^*$	$22,2 \pm 5,2$	$30,6 \pm 8,9^*$
$A_m$	$50,2 \pm 30,0$	$168,6 \pm 30,5^*$	$80,3 \pm 17,0$	$138,4 \pm 30,6^*$
A	$117,4 \pm 31,6$	$238,8 \pm 24,5^*$	$131,8 \pm 15,1$	$208,7 \pm 12,2^*$

$D_i$ : Dauer der ansteigenden Phase;  $R_i$ : Steigungsrate in der ansteigenden Phase;  $A_i$ : Fläche unterhalb der Kurve in der ansteigenden Phase;  $D_m$ : Dauer der Plateauphase;  $A_m$ : Fläche unterhalb der Kurve in der Plateauphase; A: Gesamtfläche unterhalb der Kurve

Die Krumtextur lässt sich nicht nur durch Variation der Gärzeiten, sondern auch durch Einsatz von Zusatzstoffen wie Emulgatoren oder Enzymen beeinflussen. Im Folgenden wurde der Einfluss zweier ausgewählter Zusätze, DATEM als Emulgator, und  $\alpha$ -Amylase als Enzym, auf die Brottextur und die Salzwahrnehmung untersucht. Der Zusatz von 0,6 % DATEM (80 % DATEM, 20 % Calciumcarbonat als Antiagglomerationsmittel) bewirkte im Vergleich zur Referenz mit  $1147 \pm 61$  mL eine sehr deutliche Zunahme des Brotvolumens auf  $2011 \pm 39$  mL (**Abbildung 49 E**), während die Zugabe von 5 mg/100 g Mehl hitzelabiler  $\alpha$ -Amylase aus *Aspergillus oryzae* nur zu einer geringeren Volumenzunahme auf  $1396 \pm 24$  mL führte (**Abbildung 49 D**). Beide Zusätze riefen im Vergleich zur Referenz ohne Zusatz eine Erniedrigung der Krumfestigkeit hervor (**Abbildung 42**). Während diese bei der Referenz  $1,74 \pm 0,16$  N/g betrug, nahm die Festigkeit mit  $\alpha$ -Amylase auf  $1,53 \pm 0,32$  N/g und mit DATEM auf lediglich  $1,07 \pm 0,47$  N/g ab. Die haptische Beschaffenheit der Krume des Brots mit DATEM war sehr weich und kompressibel, was sich auch beim Verkosten bemerkbar machte, da das Krumenstück im Mund zu Beginn des Kauvorgangs zu einem Klumpen zusammengedrückt wurde.



**Abbildung 42:** Texturmessung der Brote mit Zusatz von  $\alpha$ -Amylase (5 mg/100 g Mehl) und DATEM (0,6 %) im Vergleich zur Referenz (20/40 min) ohne Zusatz. Die Kurven stellen den Mittelwert aus einer Doppelmessung von je drei Krumenstücken aus drei unterschiedlichen Scheiben von je drei Broten dar (27 Messungen).

Das Brot mit Zusatz von  $\alpha$ -Amylase konnte im 2-AFC-Test bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % in Bezug auf die Salzigkeit nicht signifikant von der Referenz ohne Zusatz unterschieden werden. Die Verkostung des Brots mit Zusatz von DATEM gegen die Referenz ohne

Zusatz lieferte im 2-AFC-Test bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % ebenfalls kein signifikantes Ergebnis (**Tabelle 14**).

**Tabelle 14:** 2-AFC-Tests zur Bewertung der Salzintensität in Broten mit verschiedenen Zusätzen (5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl bzw. 0,6 % DATEM) im Vergleich zur Referenz ohne Zusatz bei konstantem Salzgehalt von 1,5 %.

Brot ohne Zusatz	Brot mit Zusatz	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau $\alpha$
		Insgesamt	ohne	mit Zusatz	
1,5 % NaCl	1,5 % NaCl	13	4	9	0,20
	+ $\alpha$ -Amylase	13	5	8	> 0,20
		15	5	10	0,20
1,5 % NaCl	1,5 % NaCl	15	8	7	> 0,20
	+ DATEM	15	8	7	> 0,20
		14	6	8	> 0,20

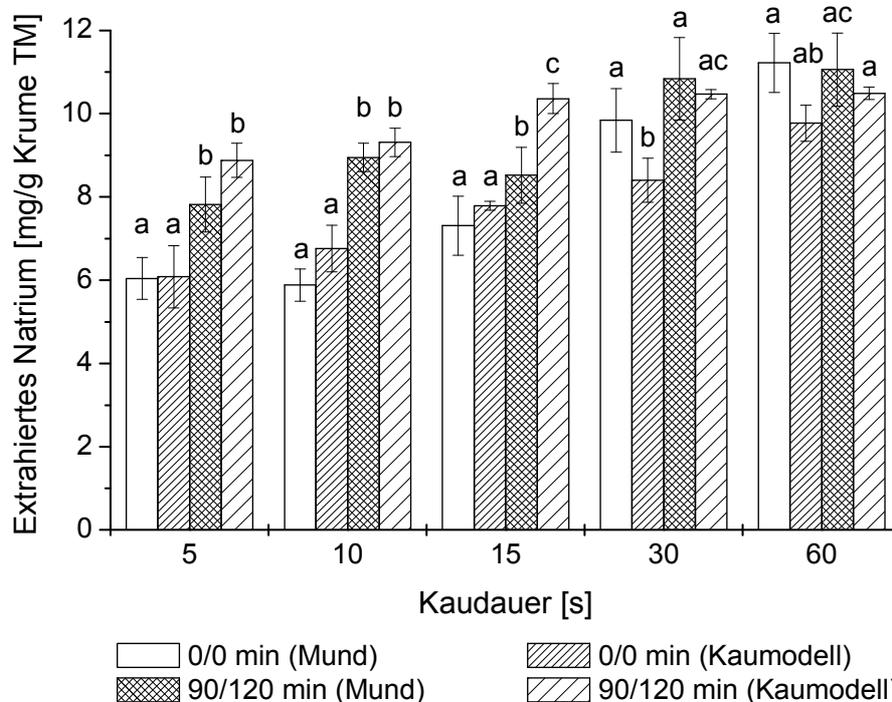
Nachdem mittels 2-AFC-Tests weder mit  $\alpha$ -Amylase noch mit DATEM ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Salzwahrnehmung festgestellt werden konnte und die quantitativen Messungen zur zeitaufgelösten Natriumfreisetzung ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zeigten (**Abbildungen 47 - 48**), wurde auf weitere sensorische Untersuchungen verzichtet.

#### 3.2.4.4 Zeitabhängige Natriumfreisetzung aus Broten mit unterschiedlicher Textur

Als mögliche Erklärung für die in den sensorischen Experimenten festgestellten Unterschiede zwischen Broten mit veränderter Textur wurde die zeitabhängige Natriumfreisetzung mit allen drei Methoden bestimmt. Dazu wurde das 0/0 min-Brot mit dem 90/120 min-Brot bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % verglichen. Die Natriumfreisetzung aus beiden Broten wurde zum einen bei konstantem Gewicht von 3 g und zum anderen bei konstantem Volumen von 3,375 cm<sup>3</sup> (resultierendes Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min) verglichen.

Bei konstantem Gewicht wurden im Mund nach einer Kauzeit von 5 s aus dem 0/0 min-Brot  $6,0 \pm 0,5$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM ( $55 \pm 5$  %) und aus dem 90/120 min-Brot  $7,8 \pm 0,7$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM ( $74 \pm 6$  %) freigesetzt. Im Kaumodell waren die freigesetzten Natriumgehalte nach 5 s beim 0/0 min-Brot mit  $6,1 \pm 0,8$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM ( $56 \pm 7$  %) ähnlich, aber beim 90/120 min-Brot mit  $8,9 \pm 0,4$  mg Na<sup>+</sup>/g Krume TM ( $84 \pm 4$  %) höher als im Mund. Innerhalb der ersten 15 s (Mund) bzw. 30 s (Kaumodell) zeigte sich im Vergleich zum 0/0 min-Brot aus

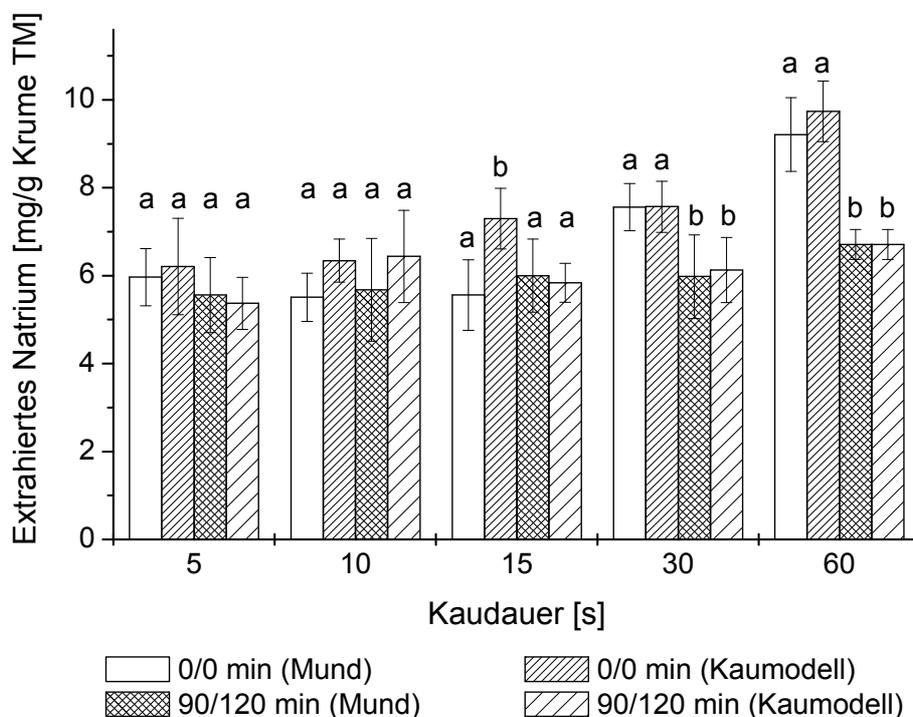
dem 90/120 min-Brot eine signifikant schnellere Natriumfreisetzung. Erst bei 60 s ließen sich keine signifikanten Unterschiede mehr feststellen, da aus beiden Broten die gesamte enthaltene Natriummenge frei vorlag (**Abbildung 43**).



**Abbildung 43:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Gewicht (3 g) im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung ± Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

Bei konstantem Volumen waren die insgesamt enthaltenen Natriumgehalte in beiden Proben unterschiedlich, da aufgrund der verschiedenen Krumendichten 3 g vom 0/0 min-Brot, aber nur 2,04 g vom 90/120 min-Brot eingesetzt wurden. Nach einer Kauzeit von 5 s waren im Mund aus dem 0/0 min-Brot  $6,0 \pm 0,7 \text{ mg Na}^+/\text{g Krume TM}$  ( $62 \pm 7 \%$ ) und aus dem 90/120 min-Brot  $5,6 \pm 0,9 \text{ mg Na}^+/\text{g Krume TM}$  ( $83 \pm 13 \%$ ) freigesetzt. Im Kaumodell waren die freigesetzten Natriummengen nach 5 s mit  $6,2 \pm 1,1 \text{ mg Na}^+/\text{g Krume TM}$  ( $64 \pm 11 \%$ ) aus dem 0/0 min-Brot und mit  $5,4 \pm 0,6 \text{ mg Na}^+/\text{g Krume TM}$  ( $80 \pm 9 \%$ ) aus dem 90/120 min-Brot ebenfalls vergleichbar. Folglich waren die absoluten extrahierten Natriummengen aus beiden Broten nach einer Kaudauer von 5 s nicht signifikant unterschiedlich. Ähnlich verhielt es sich bei einer Kauzeit von 10 s. Im Kaumodell war der extrahierte Natriumanteil aus dem 0/0 min-

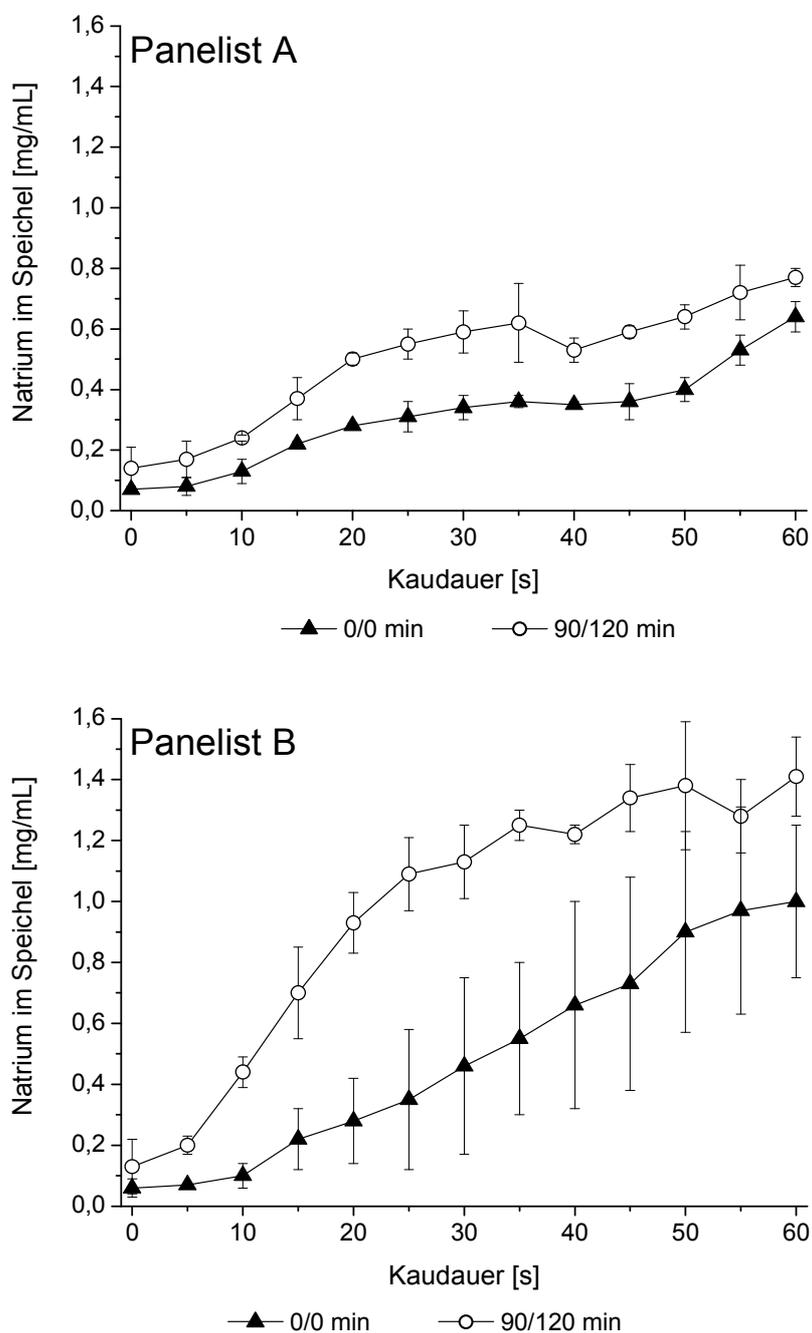
Brot nach 15 s bereits etwas höher als im Mund. Ab einer Kauzeit von 30 s lagen dann die extrahierten Natriumgehalte aus dem 0/0 min-Brot im Mund und im Kaumodell höher als beim 90/120 min-Brot, weil aufgrund des größeren Probengewichts absolut mehr Natrium enthalten war (**Abbildung 44**).



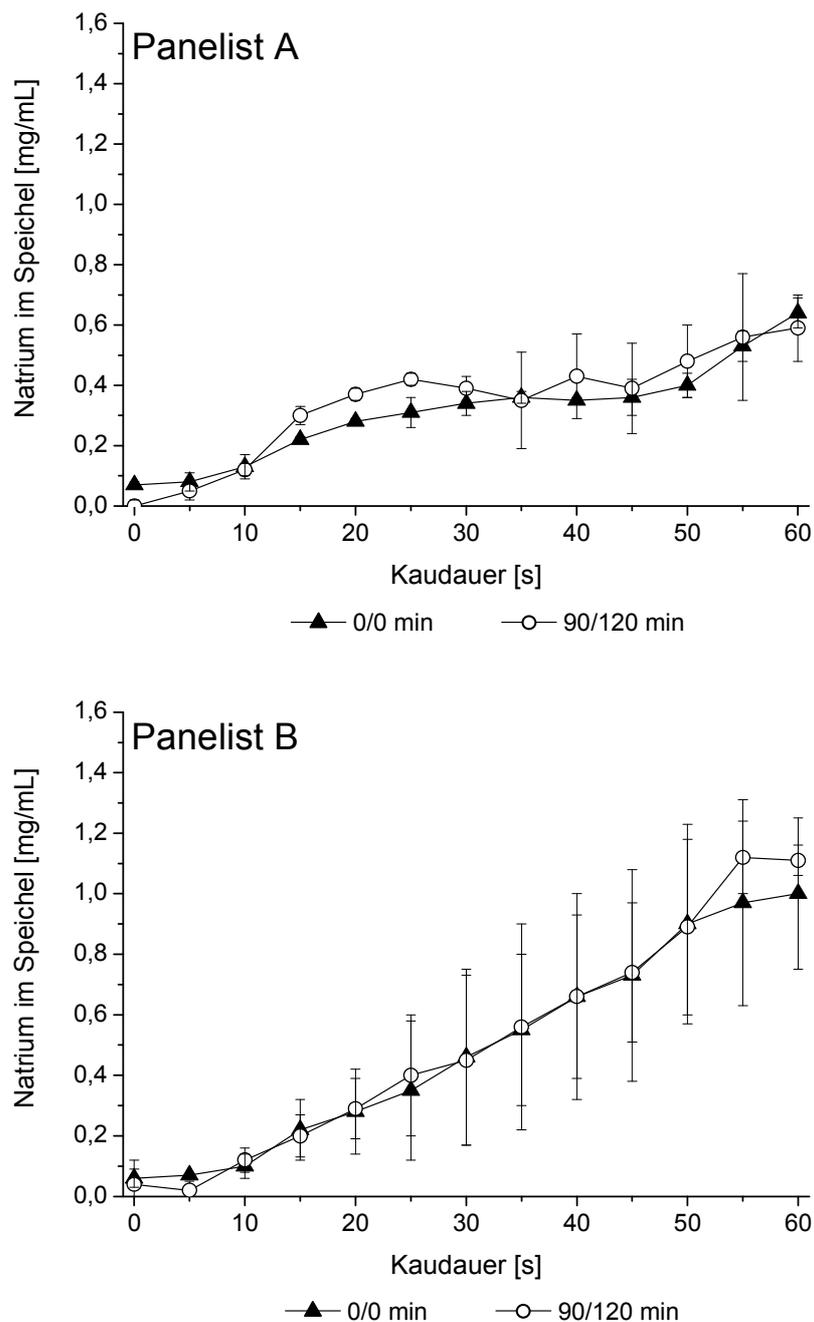
**Abbildung 44:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) mit resultierendem Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

Analog zu den diskontinuierlichen Experimenten, wurde die Natriumfreisetzung aus dem 0/0 min-Brot und dem 90/120 min-Brot mit jeweils 1,5 % NaCl bei konstantem Gewicht von 3 g und bei konstantem Volumen von  $3,375 \text{ cm}^3$  mit der kontinuierlichen Messmethode bestimmt. Bei konstantem Gewicht wurde bei beiden Panelisten über die gesamte Kaudauer hinweg eine schnellere Natriumfreisetzung aus dem 90/120 min-Brot ermittelt (**Abbildung 45**). Dagegen waren bei konstantem Volumen die Natriumkonzentrationen im Speichel bei beiden Panelisten bei beiden Broten gleich (**Abbildung 46**). Trotz des höheren absoluten Natriumgehalts in den 3 g des 0/0 min-Brots stieg die Natriumkonzentration im Speichel während der 60 s nicht über die des 90/120 min-Brots mit 2,04 g. Betrachtet man die ersten 5 - 10 s der

diskontinuierlichen Messungen, stimmten die Ergebnisse der kontinuierlichen Messmethoden damit sehr gut überein. Die schnellere Natriumfreisetzung aus dem 90/120 min-Brot bei konstantem Gewicht (**Abbildung 43**) konnte bestätigt werden ebenso wie der nicht vorhandene Unterschied bei konstantem Volumen (**Abbildung 44**).



**Abbildung 45:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Natriumkonzentration im Speichel beim Kauen von Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Gewicht (3 g) jeweils für Panelist A und B. Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

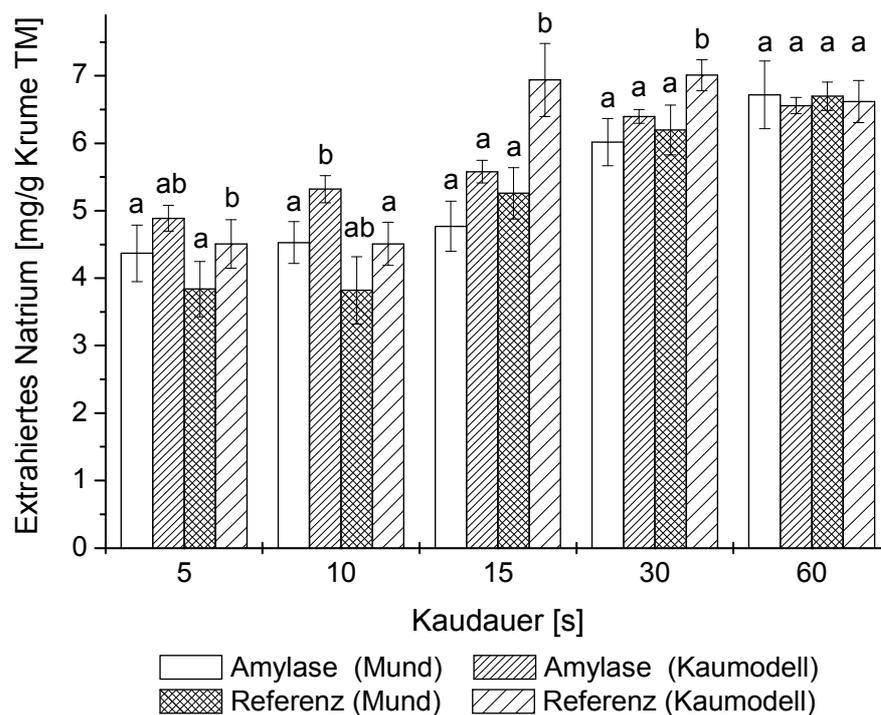


**Abbildung 46:** Zeitabhängiger Anstieg (Kontinuierliche Messmethode) der Natriumkonzentration im Speichel beim Kauen von Broten mit verschiedenen Gärzeiten (0/0 min und 90/120 min) bei konstantem Salzgehalt von 1,5 % und konstantem Volumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) mit resultierendem Gewicht von 3 g bei 0/0 min und von 2,04 g bei 90/120 min jeweils für Panelist A und B. Die Werte sind als Mittelwert einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. In Kooperation mit T. Pflaum.

In der Sensorik konnte bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % NaCl zwischen dem Referenzbrot und den Broten mit Zusatz von  $\alpha$ -Amylase oder DATEM kein signifikanter Unterschied fest-

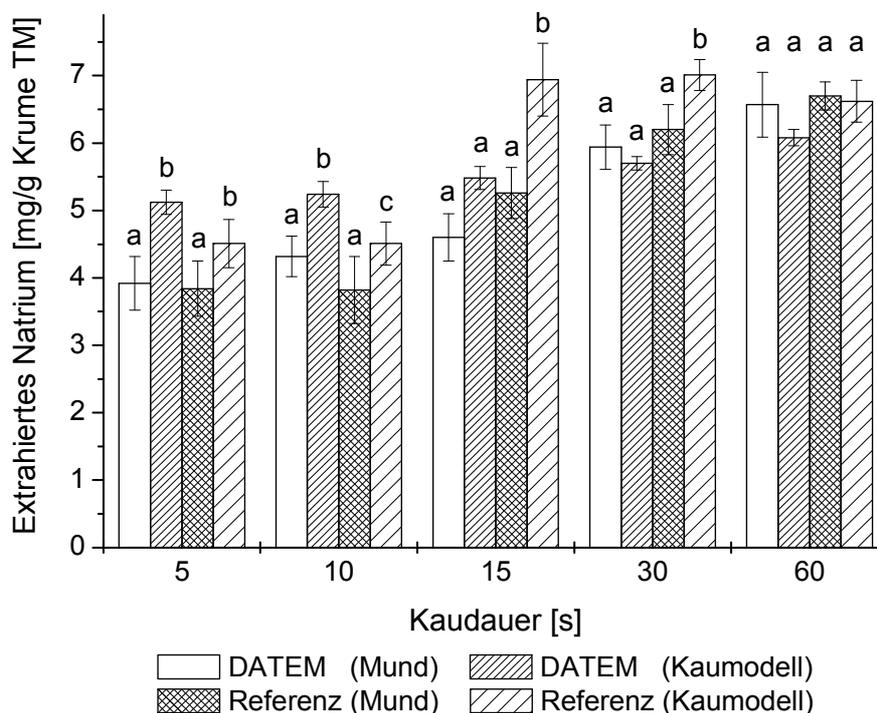
gestellt werden (**Tabelle 14**). Aufgrund der veränderten Textur erschien es jedoch möglich, dass bei der Natriumfreisetzung Unterschiede bestehen. Aus diesem Grund wurden beide diskontinuierlichen Messmethoden angewandt, um die zeitabhängige Natriumfreisetzung aus dem Brot mit  $\alpha$ -Amylase und dem Brot mit DATEM jeweils mit dem Referenzbrot ohne Zusatz zu vergleichen. Der Salzgehalt in allen drei Broten betrug je 1,5 %.

Beim Vergleich des Brots mit Zusatz von 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl mit dem Referenzbrot konnte nach 5 s weder im Mund noch im Kaumodell ein signifikanter Unterschied zwischen den Broten ermittelt werden. Nach 10 s war die Natriumfreisetzung aus dem Brot mit  $\alpha$ -Amylase im Kaumodell etwas höher, aber die Werte beim Kauen im Mund waren nicht signifikant unterschiedlich. Dagegen wurde im Kaumodell bei Kauzeiten von 15 und 30 s mehr Natrium aus dem Referenzbrot extrahiert, während beim Kauen im Mund keine signifikanten Unterschiede gemessen wurden (**Abbildung 47**). Nachdem die Natriumfreisetzung aus beiden Broten besonders zu Beginn vergleichbar war, konnte damit der nicht vorhandene Unterschied in Bezug auf die Salzwahrnehmung erklärt werden.



**Abbildung 47:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Brotkrume (1,5 % NaCl) ohne (Referenz) und mit Zusatz von 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

Die Natriumfreisetzung aus dem Brot mit Zusatz von 0,6 % DATEM unterschied sich im Mund und im Kaumodell nach einer Kauzeit von 5 s nicht vom Referenzbrot. Betrachtet man die diskontinuierliche Methode im Mund, konnte bei keiner der untersuchten Kauzeiten ein signifikanter Unterschied zwischen den Broten gemessen werden. Im Kaumodell war die Natriumfreisetzung nach 10 s aus dem DATEM-Brot höher, aber nach 15 und 30 s niedriger als aus dem Referenzbrot (**Abbildung 48**). Ähnlich wie beim Zusatz von  $\alpha$ -Amylase konnte auch mit DATEM keine eindeutige Beschleunigung der Natriumfreisetzung während des Kauens erreicht werden.



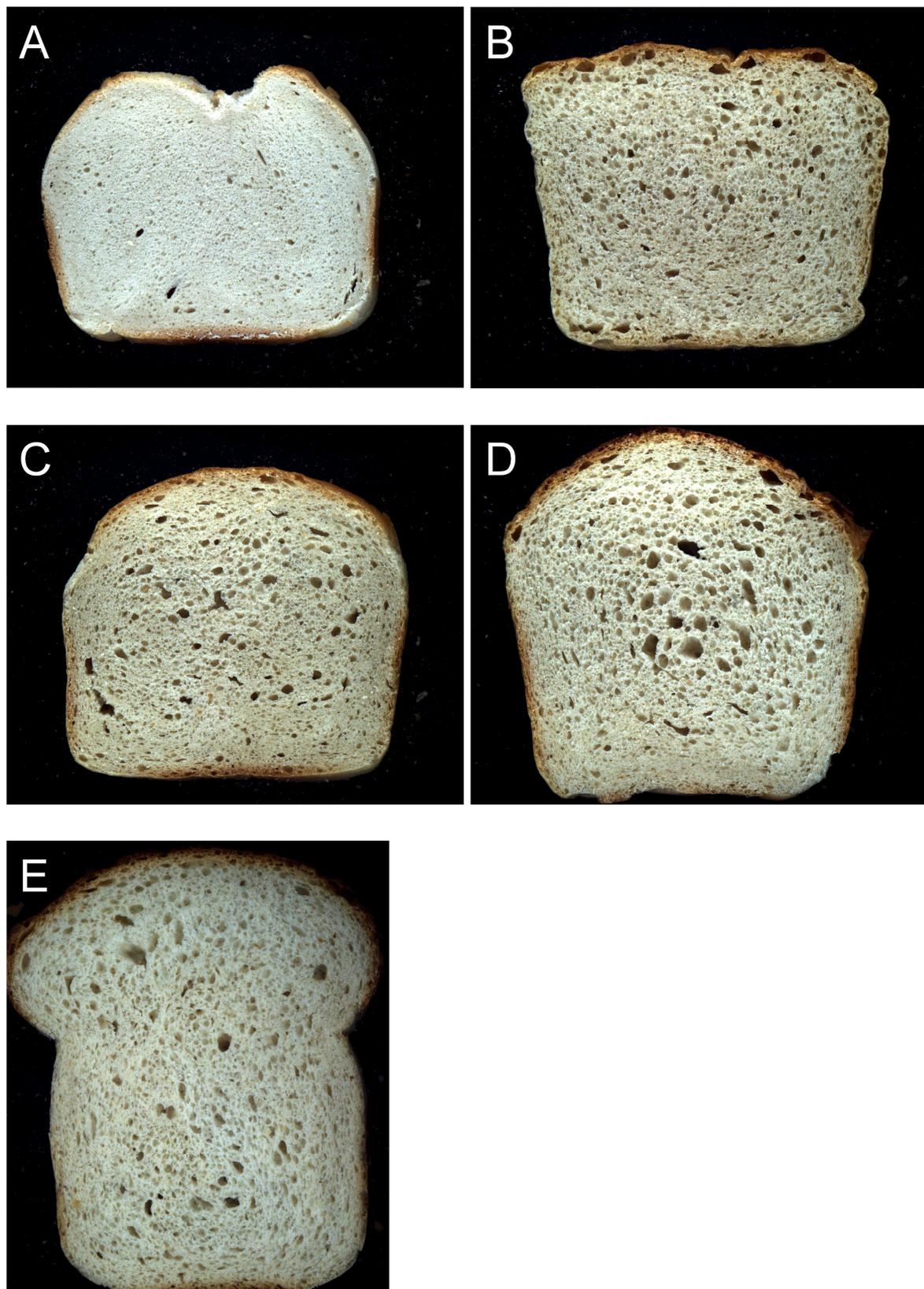
**Abbildung 48:** Zeitabhängige Natriumfreisetzung (Diskontinuierliche Messmethode) aus Brotkrume (1,5 % NaCl) ohne (Referenz) und mit Zusatz von 0,6 % DATEM im Mund (Panelisten A und B) sowie im Kaumodell (Speichel von Panelisten A und B). Die Werte sind als Mittelwert beider Panelisten je in Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung dargestellt und verschiedene kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede innerhalb einer Kauzeit an (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ). In Kooperation mit T. Pflaum.

### 3.2.4.5 Zusammenhang zwischen Salzwahrnehmung, Textur, Natriumfreisetzung und Porengröße

Die Kombination aus humansensorischen Untersuchungen der Salzwahrnehmung in Brotkrume mit unterschiedlichen Krumentexturen mittels 2-AFC-Tests und Time-Intensity-Studien und zwei diskontinuierlichen und einer kontinuierlichen Messmethode zur Quantifizierung der Natriumfreisetzung während des Kauprozesses konnte beispielsweise die erhöhte Salzintensität von Teig im Vergleich zu Brotkrume mit einer schnelleren Natriumfreisetzung in den ersten 10 s erklären. Ebenso konnte die stärkere Salzwahrnehmung vom 90/120 min-Brot im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei konstantem Krumengewicht von 3 g erklärt werden. Bei den Broten mit  $\alpha$ -Amylase oder DATEM, bei denen in der Sensorik mittels 2-AFC-Tests kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte, wurde auch bei den quantitativen Untersuchungen zur Natriumfreisetzung während des Kauens im Mund kein signifikanter Unterschied beobachtet.

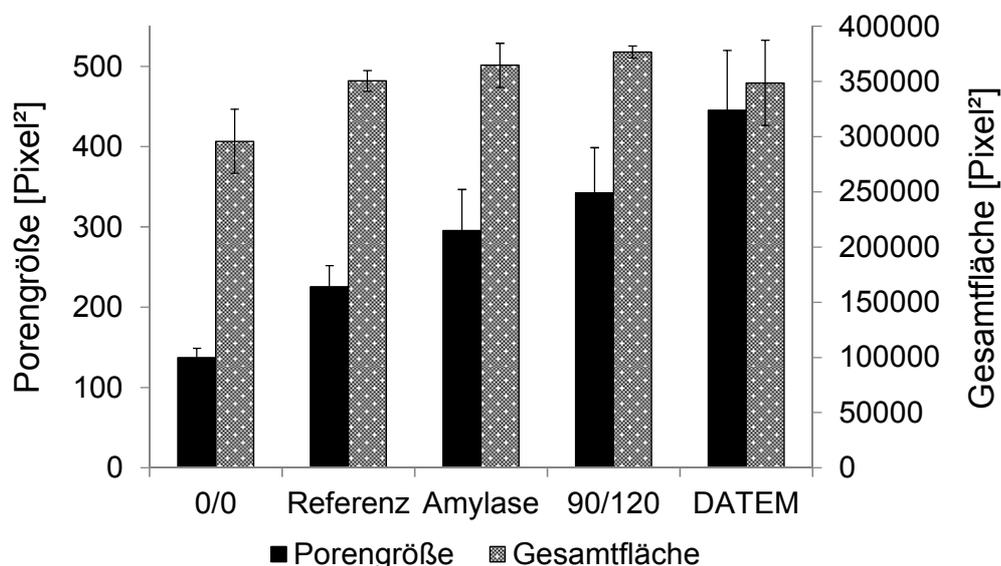
Allerdings konnte die erhöhte wahrgenommene Salzintensität des 90/120 min-Brots im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei konstantem Probenvolumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) sowie die intensivere Salzwahrnehmung im Referenzbrot (20/40 min) im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei konstantem Probengewicht (3 g) nicht mit Unterschieden in der Natriumfreisetzung erklärt werden, da diese besonders zu Beginn der Kaudauer in den ersten 5 - 10 s gleich waren. Daher wurden zur Erklärung dieser Unterschiede die Textureigenschaften der Brotkrumen genauer untersucht und die Krumenfestigkeit sowie die Porengröße als charakteristische Parameter herangezogen.

Zur Bestimmung der Porengröße und weiterer verwandter Parameter wie Gesamtfläche, Anzahl, Umfang, Feret's Durchmesser, Zirkularität und Festigkeit der Poren wurden die folgenden Brote mit je 1,5 % NaCl in Dreifachbestimmung gebacken: 0/0 min, 20/40 min als Referenz, 90/120 min,  $\alpha$ -Amylase (5 mg/100 g Mehl) und DATEM (0,6 %). Von diesen Broten wurden jeweils 7 Scheiben unter definierten Lichtbedingungen und Kameraeinstellungen fotografiert, sodass pro Brot 21 Aufnahmen ausgewertet wurden. Nach Reduzierung der Aufnahmen auf Graustufen (*Jekle und Becker, 2011a*) und Anwendung eines Schwellenwerts-Algorithmus zur Differenzierung von Poren und umgebender Krume (*Huang und Wang, 1995*) wurden die oben genannten Parameter bestimmt.



**Abbildung 49:** Krumenstruktur der unterschiedlichen Brote mit 1,5 % NaCl. **A:** 0/0 min-Brot; **B:** 90/120 min-Brot; **C:** Referenzbrot (20/40 min); **D:** Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl; **E:** Brot mit 0,6 % DATEM.

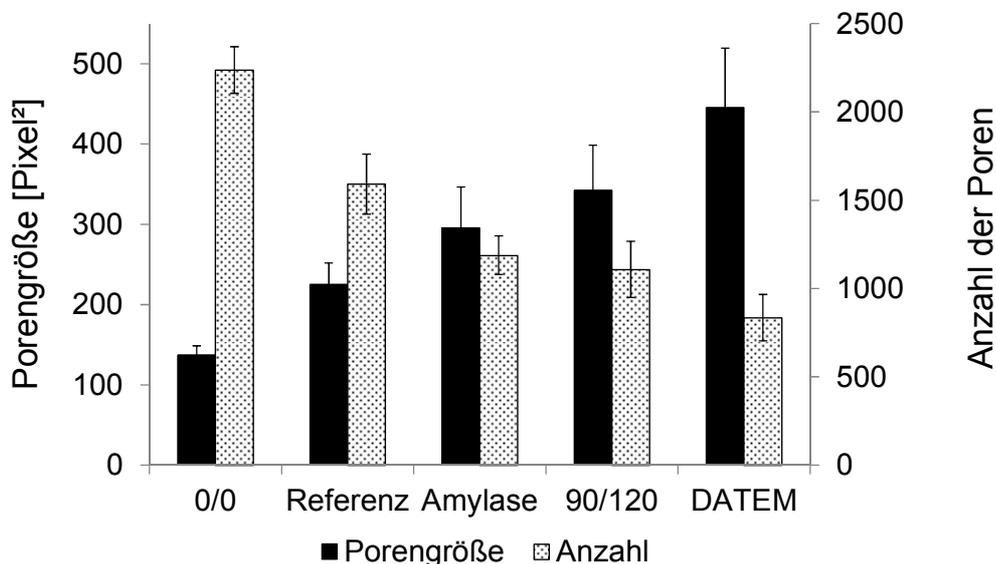
Die untersuchten Brote sind im Folgenden nach aufsteigender Porengröße aufgelistet, wobei die Unterschiede zwischen den jeweiligen Broten stets statistisch signifikant waren: 0/0 min, Referenz,  $\alpha$ -Amylase, 90/120 min, DATEM (**Tabelle 28**). Die Gesamtfläche der Poren war beim 0/0 min-Brot ebenfalls signifikant geringer als die aller anderen Brote. Ansonsten unterschied sich in Bezug auf die Gesamtfläche der Poren nur noch die Referenz signifikant vom 90/120 min-Brot (**Abbildung 50, Tabelle 29**). Alle anderen Werte waren nicht signifikant unterschiedlich und es ergab sich keine signifikante Korrelation ( $p > 0,05$ ) zwischen beiden Parametern, sodass die Gesamtfläche der Poren ein weniger aussagekräftiges Kriterium zur Differenzierbarkeit der Brote war als die Porengröße. Mit zunehmender Porengröße nahm im Gegenzug die Anzahl der Poren ab ( $r: -0,962, p = 0,0088$ ; **Abbildung 51**), wobei auch hier die Unterschiede zwischen den Broten jeweils signifikant waren, bis auf den Vergleich des  $\alpha$ -Amylase-Brots mit dem 90/120 min-Brot (**Tabelle 30**). Die Anzahl diente somit neben der Größe der Poren ebenfalls als gutes Kriterium, das eine Unterscheidbarkeit der Brote zuließ.



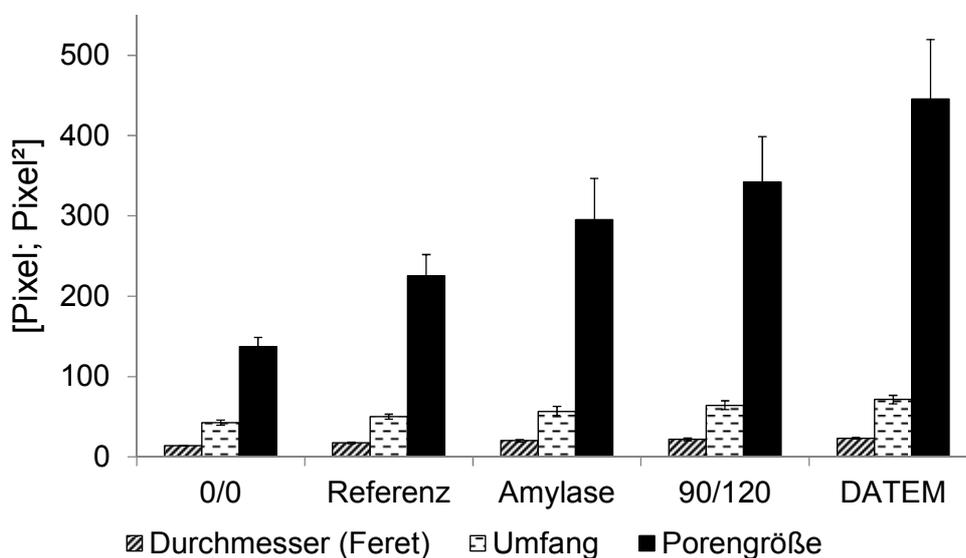
**Abbildung 50:** Mittlere Größe und Gesamtfläche der Poren in Brotkrume mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Die Werte sind als Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

Wie zu erwarten war, zeigte sich eine sehr gute Korrelation zwischen der Porengröße und dem Feret's Durchmesser ( $r: 0,979, p = 0,0036$ , **Tabelle 31**) beziehungsweise dem Umfang ( $r: 0,993, p = 0,0007$ , **Tabelle 32**) der Poren (**Abbildung 52**). Die Zirkularität der Poren ist ein Maß für die Abweichung der Porenform von einem Kreis, wobei der Wert für die Zirkularität 1 wäre, wenn die Poren perfekt kreisförmig wären. Die Festigkeit gibt an, inwieweit der Rand der Poren uneben geformt ist und somit von einer gedachten Ideallinie um die jeweilige Pore abweicht. Die ermittelten Werte für die Festigkeit waren für alle Brote sehr ähnlich (**Tabelle 33**). Bei der Zirkularität konnte man einen Trend zur Abnahme der Rundheit mit

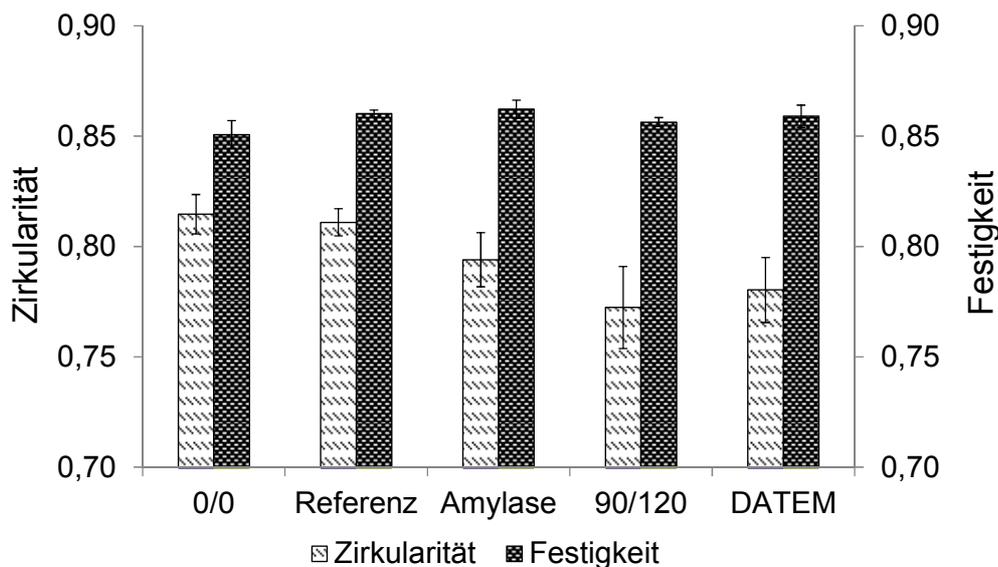
steigender Porengröße beobachten, wobei die Werte zwischen 0/0 min-Brot und Referenz sowie zwischen Amylase, 90/120 min-Brot und DATEM nicht signifikant unterschiedlich waren (**Tabelle 34**). Zirkularität und Festigkeit waren jedoch nicht signifikant miteinander korreliert ( $p > 0,05$ ; **Abbildung 53**).



**Abbildung 51:** Mittlere Größe und Anzahl der Poren in Brotkrume mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Die Werte sind als Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.



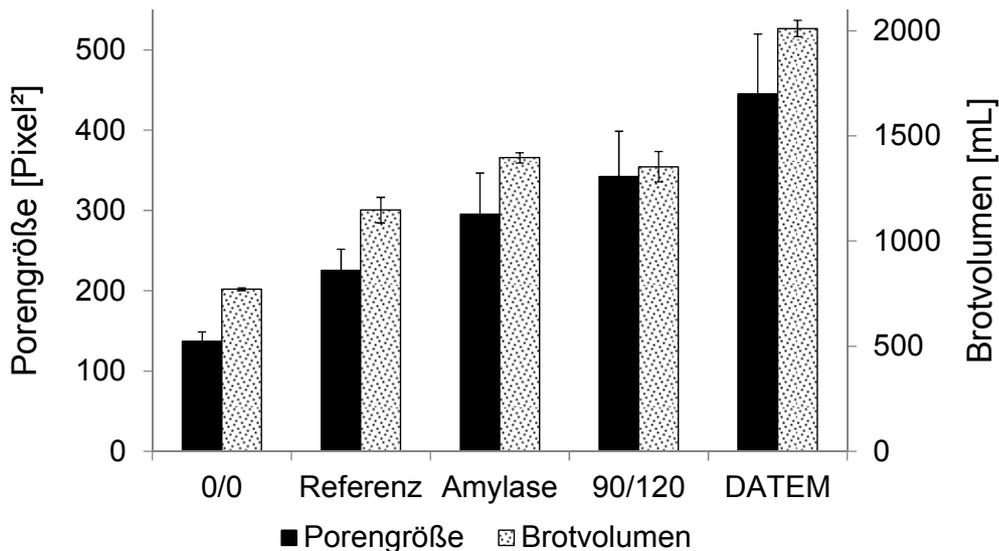
**Abbildung 52:** Mittlere Porengröße, Feret's Durchmesser und Umfang der Poren in Brotkrume mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Die Werte sind als Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.



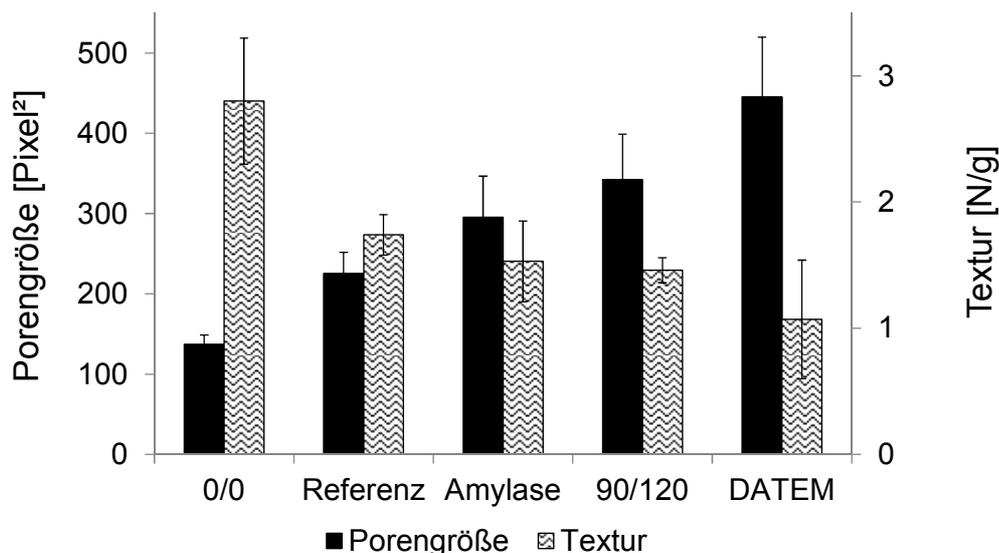
**Abbildung 53:** Zirkularität und Festigkeit der Poren in Brotkrume mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Die Werte sind als Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

Zusätzlich zu den optischen Kenngrößen wurden weitere Parameter wie Brotvolumen (**Tabelle 35**) und Krumenfestigkeit (**Tabelle 36**) mit der Porengröße korreliert, da diese die beste Differenzierbarkeit ermöglichte. Das Brotvolumen reichte von  $771 \pm 6$  mL beim 0/0 min-Brot bis hin zu  $2011 \pm 39$  mL beim Brot mit Zusatz von DATEM. Mit steigendem Brotvolumen nahm auch die Porengröße zu ( $r: 0,972, p = 0,0056$ ), wobei sich das Brotvolumen fast aller Brote jeweils signifikant unterschied. Die einzige Ausnahme waren das Brot mit Amylase und 90/120 min, bei denen das Brotvolumen mit  $1396 \pm 24$  mL und  $1353 \pm 72$  mL praktisch gleich war, obwohl die mittlere Porengröße im 90/120 min-Brot signifikant höher war (**Abbildung 54**).

Ein weiteres wichtiges Merkmal der Textur ist die Krumenfestigkeit, die jeweils zwei Stunden nach Ende der Backzeit mittels Texture Analyser bestimmt wurde. Wie zu erwarten war, wies das 0/0 min-Brot die mit Abstand höchste Festigkeit auf. Das Referenzbrot hatte eine signifikant höhere Festigkeit als das Brot mit  $\alpha$ -Amylase und das mit der sehr langen Gärzeit von 90/120 min. Die beiden letztgenannten konnten in Bezug auf die Textur nicht signifikant voneinander unterschieden werden. Der Zusatz von DATEM wirkte stark erweichend auf die Krume, die sehr leicht kompressibel war und sich nach dem ersten Zusammendrücken nur langsam wieder entspannte. Die Porengröße und die maximale Kraft [N/g] als Maß für die Textur zeigten eine inverse Korrelation ( $r: -0,929, p = 0,0226$ , **Abbildung 55**).



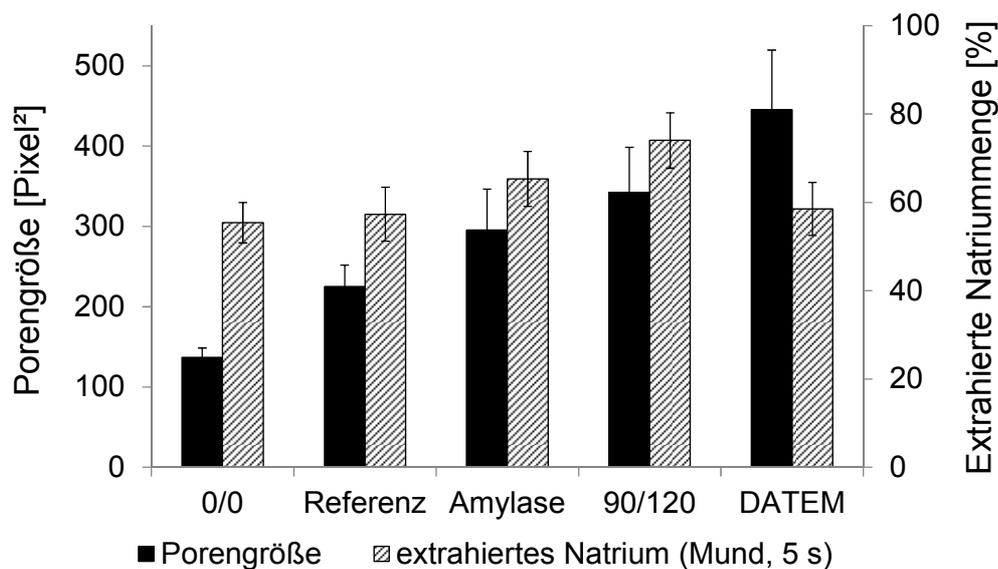
**Abbildung 54:** Mittlere Porengröße in Brotkrume und Brotvolumen von Broten mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung (Porengröße) und drei Broten (Brotvolumen).



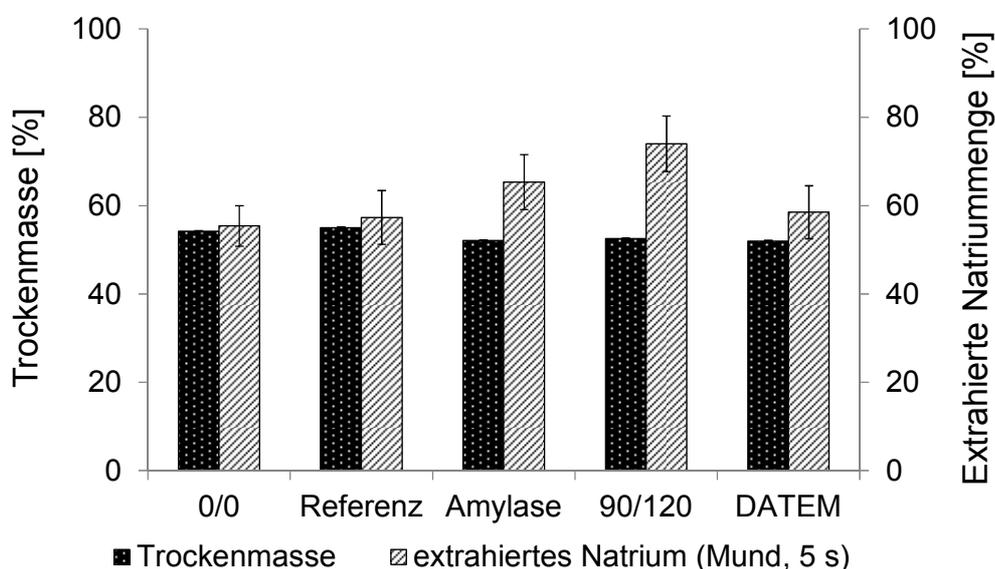
**Abbildung 55:** Mittlere Porengröße in Brotkrume und Krumenfestigkeit als Maß für die Textur von Broten mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung (Porengröße) und einer Dreifachbestimmung aus drei verschiedenen Scheiben aus drei Broten (Textur).

Um einen möglichen Einfluss der Porengröße oder der Trockenmasse auf die extrahierte Natriummenge beim Kauen im Mund nach 5 s zu erkennen, wurde die Natriumfreisetzung jeweils mit diesen beiden Parametern korreliert. Allerdings korrelierte weder die Porengröße

mit der Natriumfreisetzung ( $p > 0,05$ , **Abbildung 56**) noch die Trockenmasse mit der Natriumfreisetzung ( $p > 0,05$ , **Abbildung 57**).



**Abbildung 56:** Mittlere Porengröße in Brotkrume und extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund für 5 s von Broten mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Mittelwert aus 21 Bildern  $\pm$  Standardabweichung (Porengröße) und einer Dreifachbestimmung von je zwei Panelisten (extrahierte Natriummenge).



**Abbildung 57:** Trockenmasse und extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund für 5 s von Broten mit je 1,5 % NaCl (0/0 min-Brot, Referenzbrot (20/40 min), Brot mit 5 mg  $\alpha$ -Amylase/100 g Mehl, 90/120 min-Brot und Brot mit 0,6 % DATEM). Mittelwert einer Dreifachbestimmung von je zwei Panelisten (extrahierte Natriummenge) und einer Dreifachbestimmung  $\pm$  Standardabweichung (Trockenmasse).

Obwohl die Poren des Referenzbrots signifikant größer und die Textur signifikant weniger fest war, entsprach der Anteil an freigesetztem Natrium nach 5 s dem des 0/0 min-Brots. Ebenso wie die Porengröße nahm die extrahierte Natriummenge jeweils mit Zusatz von Amylase und 90/120-minütiger Gärzeit zu. Im Gegensatz dazu zeigte das Brot mit DATEM wieder eine geringere Natriumfreisetzung, obwohl es die größten Poren und die niedrigste Krumenfestigkeit aufwies. Bei den Krumenfestigkeitsmessungen und beim Kauen des Brots mit DATEM fiel allerdings auf, dass die Krume durch ihre weiche Konsistenz sehr leicht zusammengedrückt und eher zu einem Klumpen geformt wurde, was offensichtlich die Natriumfreisetzung erschwerte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die durch Krumenfestigkeit und Porengröße charakterisierte Brottextur die fehlende Erklärung für die erhöhte wahrgenommene Salzintensität des 90/120 min-Brots im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei konstantem Probenvolumen ( $3,375 \text{ cm}^3$ ) sowie die intensivere Salzwahrnehmung im Referenzbrot (20/40 min) im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei konstantem Probengewicht (3 g) liefern konnte. Obwohl sich die Natriumfreisetzung bei beiden Paarungen nicht unterschied, ließen sich signifikante Unterschiede in der Porengröße und der Krumenfestigkeit feststellen. Die sehr feste Textur des 0/0 min-Brots führte offensichtlich zu einer Verringerung der Salzwahrnehmung. Das 90/120 min-Brot erwies sich als optimal, da es zwar bereits eine grobe Porung aufwies, die sicherlich zur schnelleren Natriumfreisetzung beitrug, aber trotzdem noch keine zu weiche Textur hatte, die zur Bildung eines Klumpens während des Kauens geführt hätte. Nachdem sich die Brote in Bezug auf die Trockenmasse nur sehr wenig unterschieden (Mittelwert: 53,2 % mit einer sehr geringen Spanne von 52,0 - 55,0 %) und sich zur Natriumfreisetzung keine signifikante Korrelation ergab, hatte der Wassergehalt höchstens einen vernachlässigbar geringen Einfluss auf die Natriumfreisetzung während des Kauens.

#### 3.2.4.6 Diskussion

Anhand des Zusammenhangs zwischen der sensorischen Bewertung der Salzintensität in Brotkrume, der Natriumfreisetzung und der Textur, die durch Krumenfestigkeit und Porengröße charakterisiert wurde, konnten die sensorischen Ergebnisse mit einer Kombination aus Natriumfreisetzung und Textur erklärt werden. Die Trockenmasse hatte aufgrund der fehlenden Korrelation zur Natriumfreisetzung und der in allen Broten sehr ähnlichen Werte keinen Einfluss auf die Natriumextrahierbarkeit während des Kauens. Vielmehr scheint der freie, ungebundene Wasseranteil eines Produkts für die Natriumfreisetzung entscheidend zu sein, da aus Teig im Gegensatz zu Brot eine schnellere Natriumfreisetzung beobachtet wurde. Dies kann mit dem sogenannten „dough liquor“ erklärt werden, der wasserlöslichen Phase in Teig, die durch Ultrazentrifugation erhalten werden kann und freies, ungebundenes Wasser

enthält (*Salt et al., 2006*). Beim Kauen von Teig können die in dieser freien Wasserphase bereits gelösten Natriumionen somit schneller in den Speichel migrieren. Untersuchungen an Modellkäsen mit unterschiedlichen Fett/Protein/Wasser-Verhältnissen hatten gezeigt, dass ein höherer Wassergehalt *in vitro* (*Lauverjat et al., 2009*) und *in vivo* zu einer schnelleren Freisetzung von Natrium führte (*Phan et al., 2008; Lawrence et al., 2012a*). Für Brot, das keine vergleichbare freie Wasserphase enthält, konnte folglich kein Effekt des Wassergehalts auf die Natriumextrahierbarkeit festgestellt werden.

Die signifikanten Unterschiede in der wahrgenommenen Salzintensität von Brotkrume mit gleichem Salzgehalt bei unterschiedlichen Gärzeiten konnten somit nur anhand der Kombination aus Natriumfreisetzung und Textur erklärt werden. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Freisetzung von Geschmacksstoffen neben den Produkteigenschaften vom individuellen Kauverhalten abhängt. Ein niedrigerer Speichelfluss und geringere Kau-effizienz führten beispielsweise zu einer Verlängerung der Zeit zum Erreichen der maximalen Salzkonzentration im Speichel (*Pionnier et al., 2004b*). Dagegen führte höhere Muskelaktivität beim Kauen zu höheren Natriumgehalten im Speichel (*Lawrence et al., 2012b*). Diese individuellen Charakteristika wurden bei den 2-AFC-Tests durch die Größe des Panels und die jeweils dreifache Wiederholung der Untersuchungen minimiert. Bei den Methoden zur Bestimmung der Natriumfreisetzung wurden die bereits beschriebenen (*Pionnier et al., 2004b; Phan et al., 2008; Lawrence et al., 2012a*) individuellen Unterschiede in der Natriumkonzentration im Speichel und im Speichelfluss berücksichtigt sowie die Kaufrequenz und -dauer kontrolliert (4.4.3). Folglich konnten die Unterschiede in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität und die Natriumfreisetzung tatsächlich auf die Eigenschaften der Brote zurückgeführt werden.

Bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % NaCl führten weder der Zusatz von  $\alpha$ -Amylase noch von DATEM zu einer im Vergleich zur Referenz verstärkten Salzwahrnehmung. Das Brot mit  $\alpha$ -Amylase hatte im Vergleich zur Referenz zwar signifikant größere und weniger Poren, ein höheres Brotvolumen und eine weichere Textur, aber keine höhere Natriumfreisetzung. Trotz der genannten Parameter waren die absoluten Unterschiede im Vergleich zur Referenz offensichtlich zu gering, um einen Einfluss auf die Natriumfreisetzung oder die Salzwahrnehmung zu haben. Der Zusatz von DATEM bewirkte im Vergleich zur Referenz ähnliche Effekte wie  $\alpha$ -Amylase, nur sehr viel stärker ausgeprägt, sodass die Textur sehr leicht kompressibel und weich wurde. Beim Kauen bildete sich aufgrund der offensichtlich zu weichen Textur sehr schnell ein Klumpen, der die Natriumfreisetzung behinderte, sodass dieser Ansatz ebenfalls nicht zur Steigerung der Salzintensität geeignet war.

Signifikante Unterschiede in Bezug auf wahrgenommene Salzintensität und Natriumfreisetzung wurden bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % durch Variation der Gärzeiten erzielt. Während die höhere Salzintensität des 90/120 min-Brots im Vergleich zum 0/0 min-Brot bei

konstantem Probengewicht von 3 g mit der schnelleren Natriumfreisetzung erklärt werden konnte, war die Natriumfreisetzung bei konstantem Probenvolumen von 3,375 cm<sup>3</sup> gleich. Trotzdem schmeckte das 90/120 min-Brot intensiver salzig. Vergleichbares wurde bei gleichem Gewicht von 3 g beim Vergleich der Referenz mit dem 0/0 min-Brot beobachtet, da die Referenz trotz gleicher Natriumfreisetzung als salziger bewertet wurde. Die Korrelationen mit Porengröße und -anzahl sowie Krumenfestigkeit ergaben, dass bei gleicher Natriumfreisetzung diese Textureigenschaften für die sensorische Differenzierbarkeit verantwortlich sein mussten. Im Vergleich zur Referenz weniger, aber größere Poren und eine etwas weichere Textur ohne zu viel Verlust an Festigkeit (wie bei DATEM) führten beim 90/120 min-Brot zu einer gesteigerten Salzintensität, selbst bei gleicher Natriumfreisetzung. Dagegen führte die sehr feste, feinporige Textur des 0/0 min-Brots trotz gleich hoher Natriumfreisetzung zu einer Verringerung der Salzwahrnehmung. Als Erklärung für die sensorische Differenzierbarkeit trotz gleicher Natriumfreisetzung kommen nur taktil-gustatorische Interaktionen in Frage, da mit Ausnahme der Textur alle anderen Parameter konstant waren.

Dieser entscheidende Einfluss der Textur auf die Geschmackswahrnehmung wurde bereits in Modellversuchen gezeigt, da die verringerte Süßintensität von Saccharose in viskosen Polysaccharidlösungen nur sehr schlecht mit der Diffusion korrelierte und somit die Modulation der Wahrnehmung von Geschmacksstoffen durch somatosensorisch-taktile Stimuli eine Rolle spielen musste (Cook *et al.*, 2003). Neben einer Veränderung der Textur durch Erhöhung der Viskosität (Moskowitz und Arabie, 1970; Hollowood *et al.*, 2002; Cook *et al.*, 2002, 2003; Keast und Breslin, 2002; Delwiche, 2004; Tournier *et al.*, 2007) war das Fett/Protein/Wasser-Verhältnis von Modellkäsen für Natriumfreisetzung und Salzwahrnehmung entscheidend, wobei ein höherer Wasseranteil zu einer schnelleren Natriumfreisetzung führte. Die Salzwahrnehmung hing dagegen vor allem vom Fettanteil ab und wurde durch höhere Gehalte an Fett inhibiert (Phan *et al.*, 2008). Weitere Untersuchungen zum Einfluss der Zusammensetzung verschiedener Lipoprotein-Matrices und deren Textur auf die *in vivo* Natriumfreisetzung und Salzwahrnehmung bestätigten den Effekt der Zusammensetzung der Matrix auf beide Parameter, wobei jedoch die Natriumfreisetzung vor allem vom Wassergehalt und die Salzwahrnehmung am meisten vom Fettgehalt abhängig waren. Wie bei den Untersuchungen zu den Broten mit unterschiedlichen Gärzeiten konnte zudem die Salzwahrnehmung nicht allein aufgrund der frei verfügbaren Menge an Natrium erklärt werden, sodass Interaktionen zwischen Salz- und Texturwahrnehmung vorliegen mussten (Lawrence *et al.*, 2012a).

Insgesamt konnte anhand der Variation der Brottextur gezeigt werden, dass eine grobporige Textur ohne zu starke Erweichung der Krume zu einer verstärkten Salzwahrnehmung führt. Untersuchungen bei gleichem Gewicht und Volumen zeigten, dass die höhere Salzintensität

---

auf einer Kombination aus schnellerer Natriumfreisetzung und der weicheren, gröberen Textur beruhte. Eine feste, feinporige Textur war aufgrund taktil-gustatorischer Interaktionen für die Salzigkeit hinderlich, da trotz gleicher Natriumfreisetzung die Wahrnehmung der Salzin- tensität inhibiert wurde. Zur Reduktion des Natriumgehalts in Brotkrume war daher die grob- porige Textur des 90/120 min-Brots sehr gut geeignet. Allein durch Variation der Gärzeit mit Anpassung der verwendeten Hefemenge konnte der Natriumgehalt um 25 % ohne negative Auswirkungen auf die Geschmacksqualität gesenkt werden.

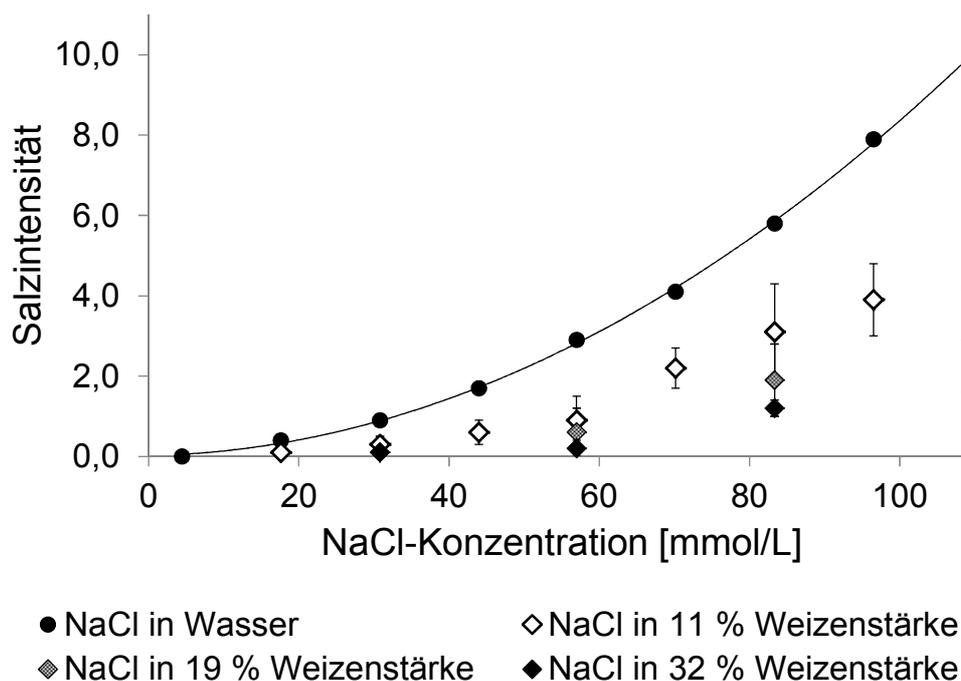
### 3.3 Einfluss von Texturkomponenten auf die humane Salzwahrnehmung in Modellsystemen

Zur Beurteilung der Wahrnehmung des Salzgeschmacks in Modellsystemen mit Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen wurde eine Dosis-Wirkungs-Kurve linearer Verdünnungen von NaCl-Lösungen (4 - 110 mmol/L, **Abbildung 58**) erstellt. Diese Dosis-Wirkungs-Kurve wurde für alle weiteren Experimente als Referenz verwendet, um eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse für verschiedene Polysaccharide sowie für unterschiedliche Konzentrationen an Polysaccharid zu ermöglichen. Zu Beginn wurden die Panelisten in der Beurteilung der Salzintensität ihnen unbekannter Referenzlösungen mit Hilfe der Dosis-Wirkungs-Kurve trainiert, indem die wahrgenommenen Salzintensitäten der mit dreistelligen Zufallszahlen verschlüsselten Lösungen mit den vorher festgelegten Intensitäten verglichen wurden. Diese Vorgehensweise erlaubte außerdem eine stetige Überprüfung der Reproduzierbarkeit und Leistung des Panels, da die angegebenen Werte für die Salzintensitäten der Referenzlösungen zwischen den trainierten Panelisten und separaten Sitzungen höchstens um  $\pm 0,3$  Einheiten abwich.

#### 3.3.1 Salzwahrnehmung in Weizenstärke-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung

In einer ersten Versuchsreihe wurden 11%ige Weizenstärke-Gele mit je 17,6, 30,8, 44,0, 57,0, 70,2, 83,3 96,5 und 109,7 mmol NaCl/L hergestellt, sodass die NaCl-Konzentration im Weizenstärke-Gel jeweils einem der Punkte der Dosis-Wirkungs-Kurve entsprach. Im Vergleich zu wässrigen Lösungen waren die wahrgenommenen Salzintensitäten in 11%igen Weizenstärke-Gelen bei allen Salzkonzentrationen signifikant erniedrigt (**Abbildung 58**).

Die Standardabweichungen bei der Bewertung der Weizenstärke-Gele über drei aufeinanderfolgende Sitzungen des Panels reichten von 0,2 bis 1,2 Einheiten, da es deutliche individuelle Unterschiede in Bezug auf Salzgeschmack und Texturwahrnehmung gab. Manche Panelisten bewerteten die Salzintensität konstant niedriger als andere, die zu höheren Werten tendierten. Diese Abweichungen wurden durch stetiges Paneltraining minimiert, aber einige individuelle Unterschiede aufgrund von Kauverhalten, Gewöhnung an salzreiche oder eher -arme Kost, Salzsensitivität und Abneigung gegen das durch die Geltextur hervorgerufene Mundgefühl blieben erhalten.

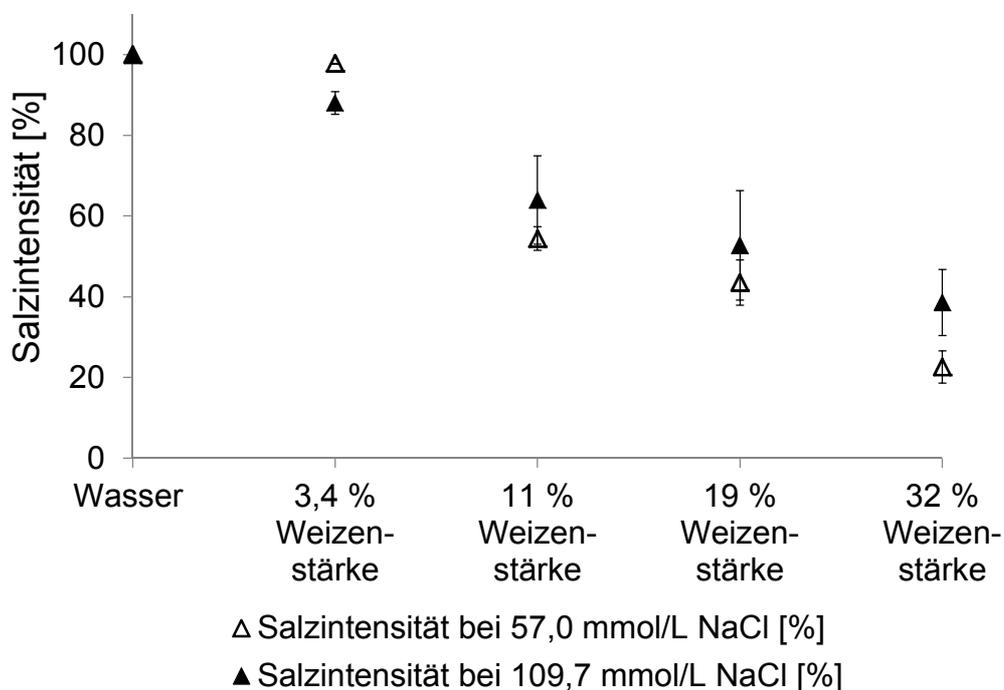


**Abbildung 58:** Dosis-Wirkungs-Kurve für Natriumchlorid (4 - 110 mmol/L) in Wasser und jeweils wahrgenommene Salzintensitäten auf einer Skala von 0 - 10 in Weizenstärke-Gelen mit korrespondierenden Salzgehalten mit 11, 19 und 32 % Weizenstärke. Die Werte sind wie folgt dargestellt: Mittelwert von acht Panelisten in dreifacher Wiederholung  $\pm$  Standardabweichung.

Das Ausmaß der Reduktion der wahrgenommenen Salzintensität war über den gesamten Konzentrationsbereich leicht variabel. Bei der niedrigsten NaCl-Konzentration von 17,7 mmol/L betrug die im Mittel wahrgenommene Salzintensität in 11%iger Weizenstärke nur  $45 \pm 17$  % im Vergleich zu 100 % in Wasser, da einige Panelisten im Gel gar keine Salzigkeit mehr schmeckten. Bei 30,8 mmol NaCl/L betrug die mittlere, wahrgenommene Salzintensität  $54 \pm 14$  %, bei 57,0 mmol NaCl/L  $54 \pm 9$  %, stieg bei 83,3 mmol NaCl/L auf  $72 \pm 10$  % und lag bei 109,7 mmol NaCl/L bei  $64 \pm 11$  %.

Die Abhängigkeit der wahrgenommenen Salzintensität von der Salzkonzentration in Gelen wurde auch mit 19 und 32%igen Weizenstärke-Gelen bei vier ausgewählten NaCl-Konzentrationen (30,8, 57,0, 83,3 und 109,7 mmol NaCl/L) weiter untersucht (**Abbildung 58**). In 19%igen Weizenstärke-Gelen war die mittlere wahrgenommene Salzintensität  $26 \pm 12$  % bei 30,8 mmol NaCl/L,  $44 \pm 9$  % bei 57,0 mmol NaCl/L,  $56 \pm 7$  % bei 83,3 mmol NaCl/L und  $53 \pm 8$  % bei 109,7 mmol NaCl/L, während sie in 32%igen Weizenstärke-Gelen auf  $26 \pm 10$  % bei 30,8 mmol NaCl/L,  $23 \pm 5$  % bei 57,0 mmol NaCl/L,  $44 \pm 4$  % bei 83,3 mmol NaCl/L und  $39 \pm 8$  % bei 109,7 mmol NaCl/L sank. Bei der niedrigsten Salzkonzentration von 30,8 mmol NaCl/L konnte kein Unterschied mehr zwischen 19 und 32 % Weizenstärke festgestellt werden, da einige Panelisten wie bereits zuvor bei 11 % Weizenstärke

keine Salzigkeit mehr schmeckten. Da die Salzintensitäten der Gele mit höheren Salzkonzentrationen für das Panel leichter zu bewerten waren, wurden zwei Salzkonzentrationen (57,0 und 109,7 mmol NaCl/L) für alle weiteren Experimente ausgewählt (**Abbildung 59**).

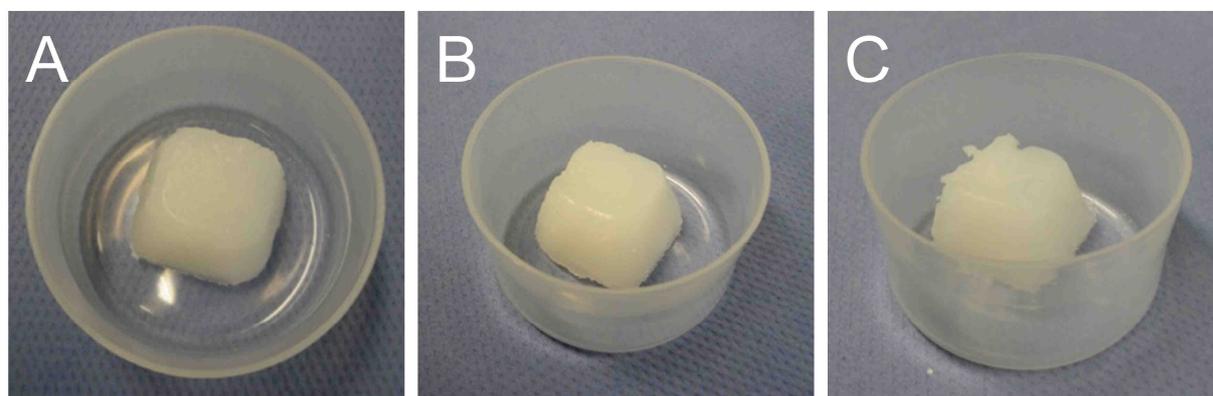


**Abbildung 59:** Wahrgenommene Salzintensitäten [%] bei 57,0 und 109,7 mmol NaCl/L in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an Weizenstärke. Die Werte sind wie folgt dargestellt: Mittelwert von acht Panelisten in dreifacher Wiederholung  $\pm$  Standardabweichung.

Die prozentual wahrgenommenen Salzintensitäten bei beiden Konzentrationen wurden miteinander verglichen und die Werte lagen mit 11, 19 und 32 % Weizenstärke bei 57 mmol NaCl/L etwas niedriger als bei 109,7 mmol NaCl/L. Eine Ausnahme bildete die viskose Weizenstärke-Lösung mit 3,4 %, da hier die wahrgenommene Salzintensität bei 57 mmol NaCl/L höher lag und sich auch nicht signifikant von 57 mmol NaCl/L in Wasser unterschied. Insgesamt zeigte sich nicht nur bei sensorischen Untersuchungen mit Weizenstärke, sondern auch mit Agar und Maisstärke, dass die über das Panel bei drei separaten Sitzungen gemittelten Bewertungen der Salzintensität bei 109,7 mmol NaCl/L die beste Reproduzierbarkeit aufwiesen und die Unterschiede in der Salzwahrnehmung in verschiedenen Gelen und Gelkonzentrationen am besten hervortraten. Aus diesen Gründen wurden die weiteren Ergebnisse auf die höchste Salzkonzentration mit 109,7 mmol/L bezogen dargestellt.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden 3,4, 11, 19 und 32 % Weizenstärke zur gewählten Konzentration von 109,7 mmol NaCl/L zugesetzt. Während der Zusatz von 3,4 % Weizenstärke in einer milchig-trüben, viskosen Lösung (Viskosität:  $210,2 \pm 8,3$  mPa·s) resultierte, ergaben die höheren Mengen von 11 - 32 % Weizenstärke feste, homogene Gele

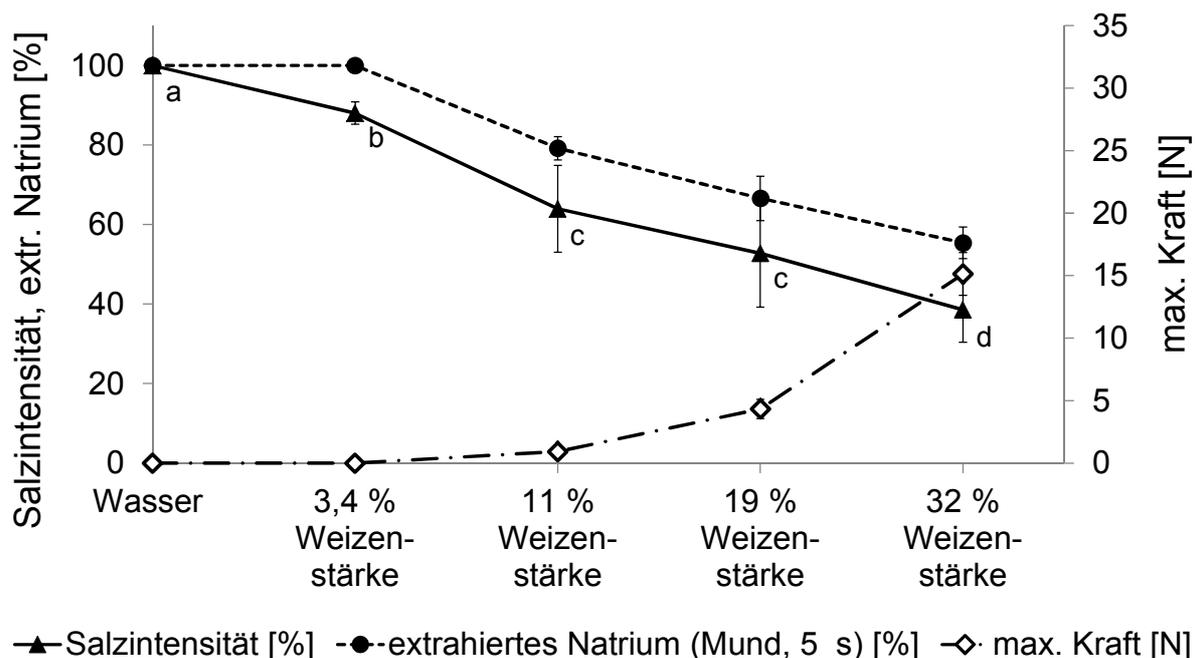
(**Abbildung 60**), die mit zunehmender Menge an Stärke spröder und krümeliger wurden und ein trockeneres Mundgefühl aufwiesen.



**Abbildung 60:** Weizenstärke-Gele. **A:** 11 %; **B:** 19 %; **C:** 32 %.

Je höher der Gehalt an Weizenstärke war, desto stärker stieg die maximale Kraft [N], die nötig war, um das Gel 4 mm einzudrücken, und als Maß für die Gelfestigkeit diente (**Abbildung 61**, rechte Ordinate). Die mittlere, wahrgenommene Salzintensität in Prozent, bezogen auf 100 % in Wasser, ist auf der linken Ordinate aufgetragen. Zusätzlich ist der prozentuale Anteil an extrahiertem Natrium nach 5 s beim Kauen der Gele im Mund auf der linken Ordinate dargestellt.

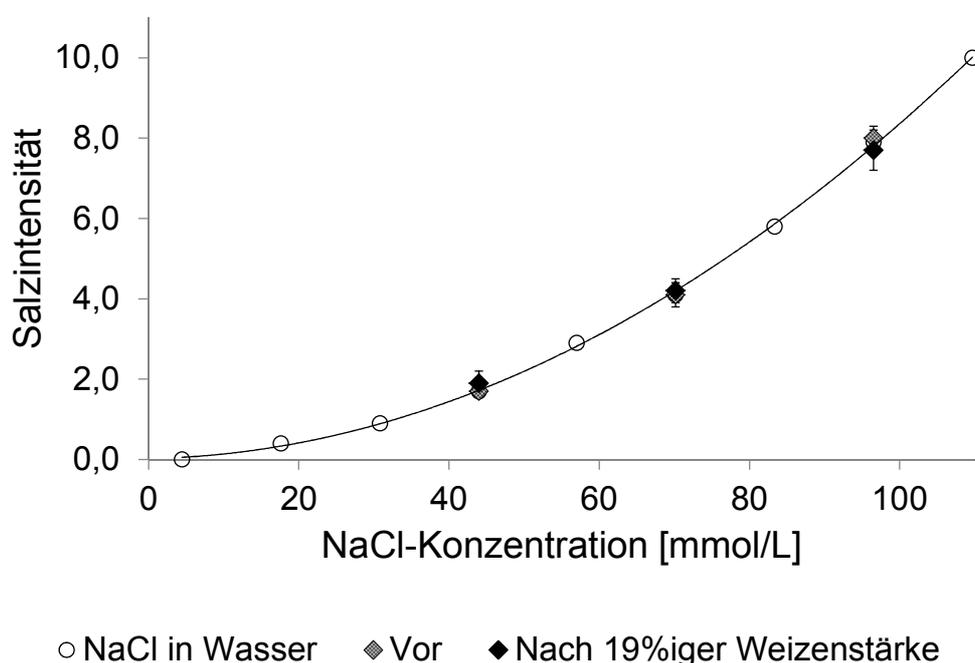
Während in der viskosen 3,4%igen Weizenstärke-Lösung 100 % des enthaltenen Natriums frei vorlagen, waren nach einer Kaudauer von 5 s nur  $79 \pm 3$ ,  $67 \pm 6$  und  $55 \pm 4$  % des Natriums je aus 11, 19 und 32 % Weizenstärke extrahiert. Die wahrgenommenen Salzintensitäten nahmen gleichzeitig auf  $64 \pm 11$ ,  $53 \pm 13$  und  $37 \pm 8$  % je in 11, 19 und 32 % Weizenstärke ab ( $r: 0,979$ ,  $p = 0,0006$ ). Dies konnte auf die geringere Verfügbarkeit von freien Natriumionen zurückgeführt werden. Im Gegensatz dazu war die Salzintensität in der 3,4%igen Weizenstärke-Lösung bereits signifikant auf  $88 \pm 3$  % reduziert, obwohl 100 % des enthaltenen Natriums für die Geschmackswahrnehmung im Mund frei verfügbar vorlagen.



**Abbildung 61:** Salzintensität [%] (Tabelle 37), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (Tabelle 38) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an Weizenstärke. Die Werte sind wie folgt dargestellt: Mittelwert von acht Panelisten in dreifacher Wiederholung  $\pm$  Standardabweichung (SD); verschiedene, kleine Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede an (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ ) für die Salzintensität bei 109,7 mmol NaCl/L [%] (linke Ordinate); Mittelwert von zwei Panelisten jeweils in Dreifachbestimmung  $\pm$  SD für die extrahierte Natriummenge (linke Ordinate); Mittelwert von drei getrennten Ansätzen jeweils in Dreifachmessung  $\pm$  SD für die Textur (rechte Ordinate).

Nachdem die Panelisten besonders beim Kauen der Gele mit höheren Stärkekonzentrationen ein viskoses, zähes und leicht klebriges Gefühl auf der Zunge und im Mundraum spürten, wurde ein möglicher Effekt einer Belegung der Zunge durch die Gele genauer untersucht, da dies eine weitere mögliche Erklärung für die Abnahme der Salzintensität liefern könnte. Die Annahme war, dass der Zugang der Natriumionen zu den für die Geschmackswahrnehmung verantwortlichen Ionenkanälen durch die Belegung der Zunge mit dem Gel erschwert sein könnte. Zur sensorischen Untersuchung dieses Effekts sollten die Panelisten die Salzintensität einer verschlüsselten NaCl-Lösung bewerten, den Mund gründlich mit Wasser spülen, 3 g eines 19%igen Weizenstärke-Gels ohne Salz kauen und nach 10 s ausspucken. Ohne zu spülen, bewerteten sie sofort danach die Salzintensität einer zweiten, verschlüsselten NaCl-Lösung. Dieser Test wurde sowohl mit gleichen als auch mit unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen in den beiden Lösungen vor und nach dem Kauen der Weizenstärke durchgeführt.

Bei 44,0 mmol NaCl/L (Salzintensität: 1,7) war die mittlere, wahrgenommene Salzintensität vor dem Kauen der Weizenstärke  $1,7 \pm 0,1$  und nachher  $1,9 \pm 0,3$  ( $p = 0,225$ ), sodass kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Das Gleiche galt für 70,2 mmol NaCl/L (Salzintensität: 4,1), wo die Salzintensitäten  $4,1 \pm 0,3$  vor und  $4,2 \pm 0,3$  nach dem Kauen der Stärke ( $p = 0,732$ ) waren und auch für 96,5 mmol NaCl/L (Salzintensität: 7,9), wo die Salzintensitäten  $8,0 \pm 0,3$  vor und  $7,7 \pm 0,5$  nach dem Kauen der Stärke ( $p = 0,514$ ) betragen. Bei der Verwendung unterschiedlicher NaCl-Konzentrationen vor und nach dem Kauen des Weizenstärke-Gels konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Salzigkeit festgestellt werden (**Abbildung 62**).

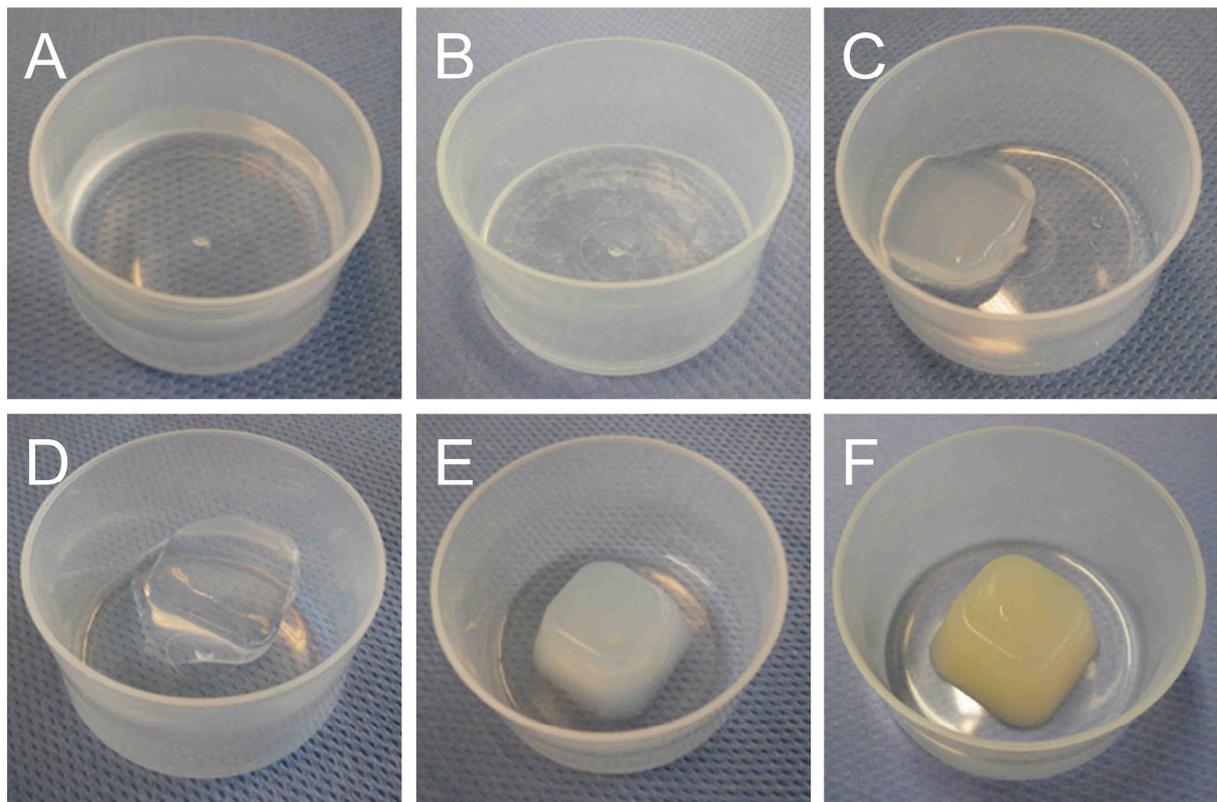


**Abbildung 62:** Dosis-Wirkungs-Kurve für Natriumchlorid (4 - 110 mmol/L) in Wasser und jeweils wahrgenommene Salzintensitäten einer NaCl-Lösung mit 44,0, 70,2 bzw. 96,5 mmol NaCl/L vor und nach dem Kauen von 3 g eines 19%igen Weizenstärke-Gels ohne NaCl. Die Werte sind wie folgt dargestellt: Mittelwert von acht Panelisten in dreifacher Wiederholung  $\pm$  Standardabweichung.

Infolgedessen konnte ein durch Belegung der Zunge mit Stärkegel hervorgerufener Effekt auf die Salzwahrnehmung ausgeschlossen werden, da die Reduktion der wahrgenommenen Salzintensität nur auftrat, wenn Salz und Stärkegel gleichzeitig in den Mund genommen wurden und nicht nacheinander.

### 3.3.2 Salzwahrnehmung in Agar-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung

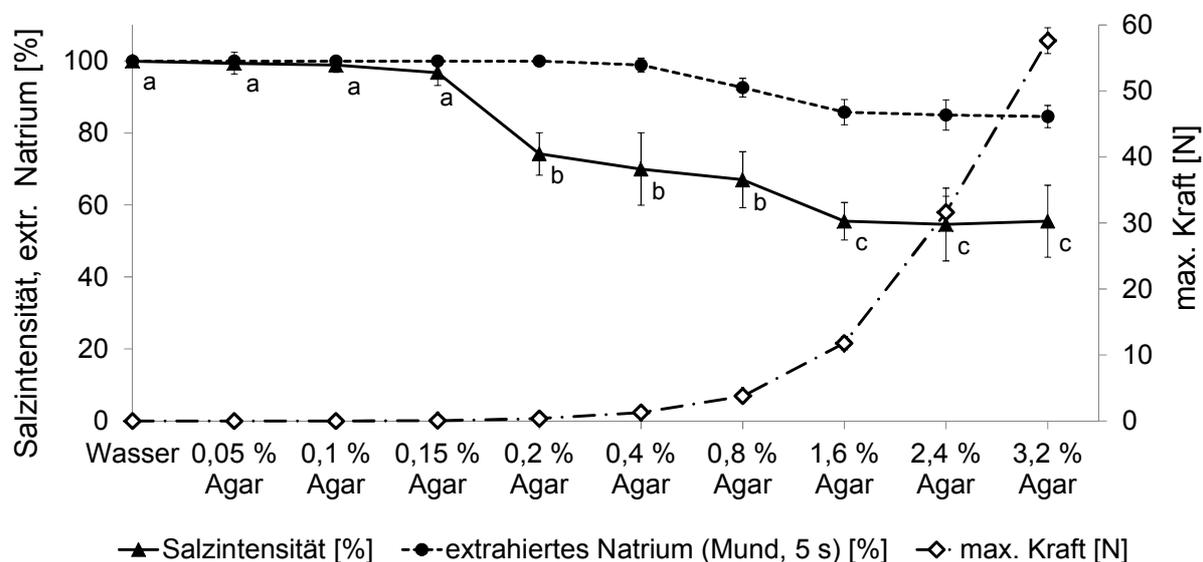
Zur Erzielung ausreichender Gelfestigkeiten waren bei Weizenstärke (maximal 15,1 N in 32%iger Weizenstärke) recht hohe Gehalte erforderlich. Um einen möglichen Effekt dieses hohen Anteils an Trockenmasse auszuschließen, wurden inhärent geschmacklose Agar-Agar-Gele in Lebensmittelqualität als zweites Modellsystem verwendet, da der Gehalt an Agar, der zur Erzielung vergleichbarer oder sogar höherer Gelfestigkeiten nötig ist, mit höchstens 3,2 % sehr viel geringer ist. In Analogie zu den Weizenstärke-Gelen wurden je 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2,4 und 3,2 % Agar zu 109,7 mmol NaCl/L hinzugefügt. Die Agar-Konzentrationen von 0,05 - 0,15 % (**Abbildung 63 A, B**) waren zu gering, um eine Gelierung zu ermöglichen, sodass sich viskose Lösungen bildeten. Ein Zusatz von 0,2 und 0,4 % Agar ergab Gele, die zur Synärese neigten und deren Struktur sich nach einer ersten Kompression auflöste (**Abbildung 63 C, D**). Alle anderen Gele mit 0,8 - 3,2 % Agar waren nicht mehr anfällig für Synärese und formten homogene, feste Gele (**Abbildung 63 E, F**) mit zunehmender Festigkeit bis zu  $57,6 \pm 2,0$  N in 3,2 % Agar (rechte Ordinate, **Abbildung 64**).



**Abbildung 63:** Agar-Agar-Gele. **A:** 0,05 %; **B:** 0,1 %; **C:** 0,2 %; **D:** 0,4 %; **E:** 1,6 %; **F:** 3,2 %

100 % des enthaltenen Natriums wurde nach einer Kaudauer von 5 s aus den Gelen mit bis zu 0,4 % Agar freigesetzt, was aufgrund der geringen Gelfestigkeiten und der Neigung zur Synärese mit den Erwartungen übereinstimmte. Ein signifikant niedrigerer Anteil an Natrium

( $93 \pm 3 \%$ ) wurde aus 0,8 % Agar nach 5 s freigesetzt und dieser Prozentsatz nahm bei 1,6 % Agar auf  $86 \pm 3 \%$  weiter ab. Trotz des sehr hohen Anstiegs der Gelfestigkeit wurde keine weitere Abnahme des extrahierten Natriumanteils aus 2,4 und 3,2 % Agar beobachtet, da die prozentualen Anteile weiterhin bei jeweils  $85 \pm 4$  und  $85 \pm 3 \%$  lagen (linke Ordinate, **Abbildung 64**).



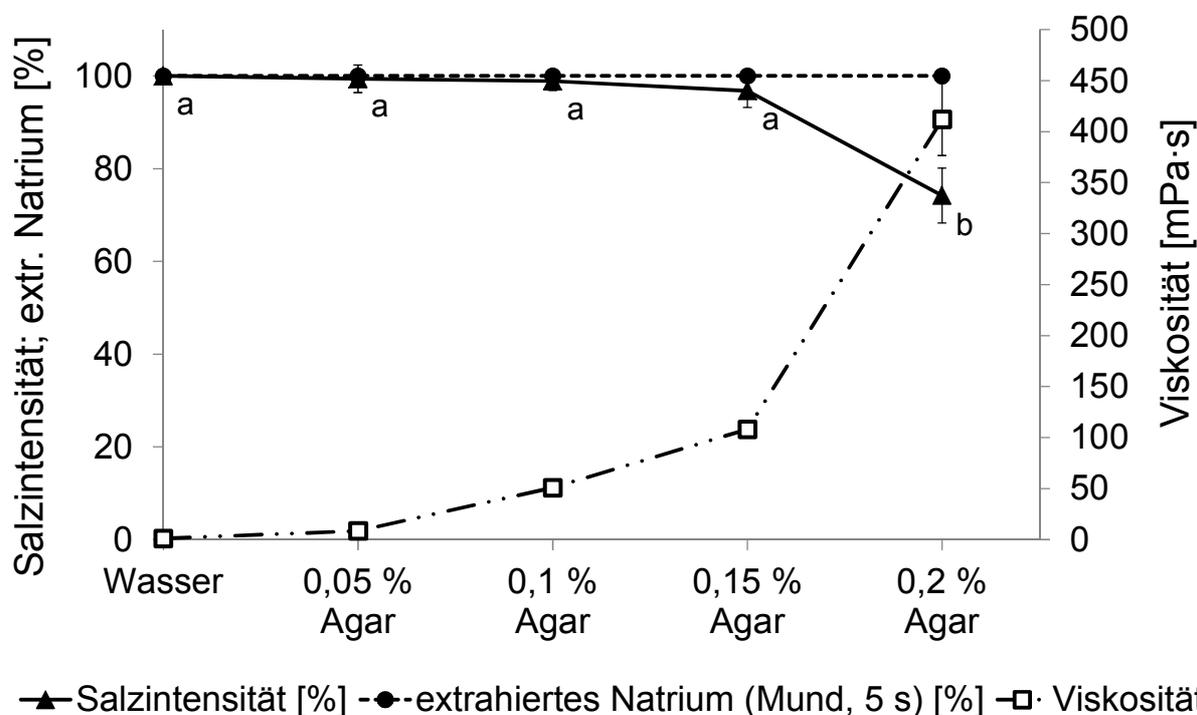
**Abbildung 64:** Salzintensität [%] (**Tabelle 39**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 40**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an Agar. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

In Bezug auf die Salzigkeit trat in Gelen mit bis zu 0,15 % Agar keine signifikante Reduktion der Intensität auf. Allerdings nahm die wahrgenommene Salzintensität in 0,2 % Agar abrupt auf  $74 \pm 6 \%$  ab, obwohl 100 % der enthaltenen Natriummenge im Mund nach einer Kaudauer von 5 s freigesetzt waren.

Der Zusatz von 0,2 % Agar war die niedrigste Konzentration, die bereits zu einer Gelbildung führte, die mit einem plötzlichen Anstieg der Viskosität von  $108,2 \pm 1,7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  in 0,15 % Agar auf  $412,0 \pm 35,4 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  in 0,2 % Agar zusammenfiel (rechte Ordinate, **Abbildung 65**).

Gleichermaßen war die Salzintensität nur  $70 \pm 10 \%$  in 0,4 % Agar, obwohl die Natriumfreisetzung ebenfalls vollständig war. In 0,8%igem Agar-Gel lag die Menge an freigesetztem Natrium mit  $93 \pm 3 \%$  zwar niedriger, aber die Salzintensität ( $67 \pm 8 \%$ ) war im Vergleich zu 0,2 und 0,4 % Agar nicht signifikant weiter reduziert. Offensichtlich war die absolute Differenz der Natriumfreisetzung mit  $7 \pm 3 \%$  zu gering, um wahrgenommen zu werden. Im Gegensatz dazu nahm die Salzintensität im Vergleich zu  $67 \pm 8 \%$  in 0,8 % Agar auf nur  $56 \pm 5 \%$  in 1,6 % Agar ab, während gleichzeitig die extrahierte Natriummenge auf  $86 \pm 3 \%$  reduziert war. Ungeachtet des merklichen Anstiegs der Gelfestigkeit von  $11,8 \pm 1,0 \text{ N}$  (1,6 % Agar) auf  $31,6 \pm 2,4 \text{ N}$  (2,4 % Agar) und  $57,6 \pm 2,0 \text{ N}$  (3,2 % Agar) blieben sowohl der Anteil an extra-

hiertem Natrium nach einer Kaudauer von 5 s im Mund als auch die wahrgenommenen Salzintensitäten mit  $55 \pm 10 \%$  (2,4 % Agar) und  $56 \pm 10 \%$  (3,2 % Agar) konstant. Nachdem offensichtlich nicht nur die Gelfestigkeit, sondern auch die Art des Polysaccharids einen Einfluss auf die wahrgenommenen Salzintensitäten hatte, wurden im Folgenden drei weitere Stärke-Gele mit unterschiedlichen Amylose/Amylopektin-Verhältnissen untersucht.

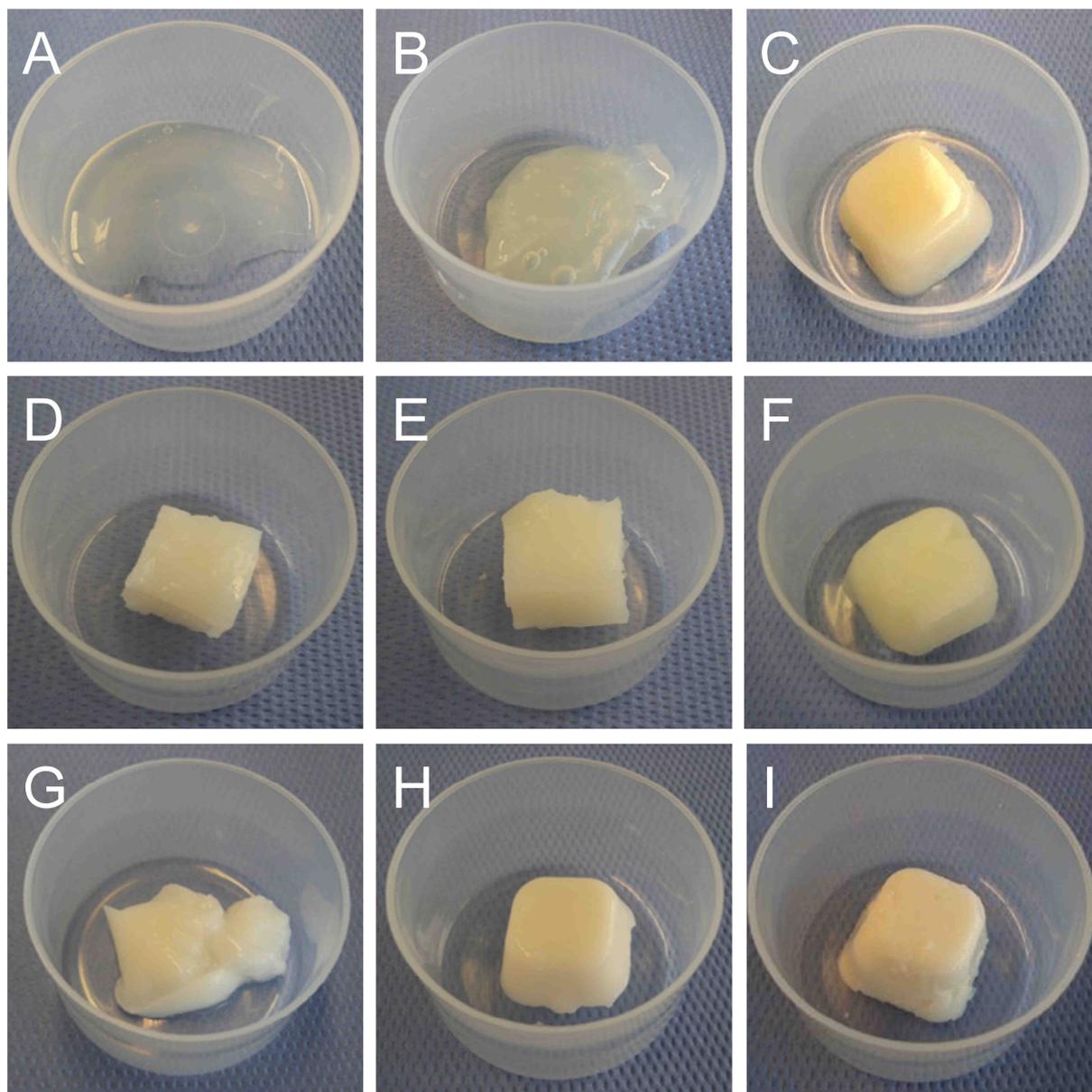


**Abbildung 65:** Salzintensität [%] (**Tabelle 39**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und Viskosität [mPa·s] (**Tabelle 41**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an Agar. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

### 3.3.3 Salzwahrnehmung in Maisstärke-Gelen in Abhängigkeit von Textur und Natriumfreisetzung

Vor den sensorischen Experimenten wurden zunächst der Amylose- und der Gesamtstärke-Gehalt der drei Maisstärken (amylopektinreich, normal und amylosereich) enzymatisch bestimmt. Amylopektinreiche Maisstärke enthielt nur 1 %, normale Maisstärke 25 % und amylosereiche Maisstärke 61 % Amylose. Genauso wie bei den Weizenstärke-Gelen wurden wässrige Lösungen mit 109,7 mmol NaCl/L mit je 11, 19 und 32 % der drei verschiedenen Maisstärken versetzt. Außerdem wurden für alle drei Maisstärken Lösungen mit gleicher Viskosität hergestellt, sodass sich Lösungen mit 3,9 % amylopektinreicher Maisstärke (Viskosität:  $207,4 \pm 2,8$  mPa·s), 4,1 % normaler Maisstärke (Viskosität:  $204,7 \pm 3,5$  mPa·s) und 3,7 % amylosereicher Maisstärke (Viskosität:  $206,4 \pm 16,9$  mPa·s) ergaben. Aufgrund des beinahe vollständigen Fehlens von Amylose, waren die amylopektinreichen Gele äußerst dehnbar,

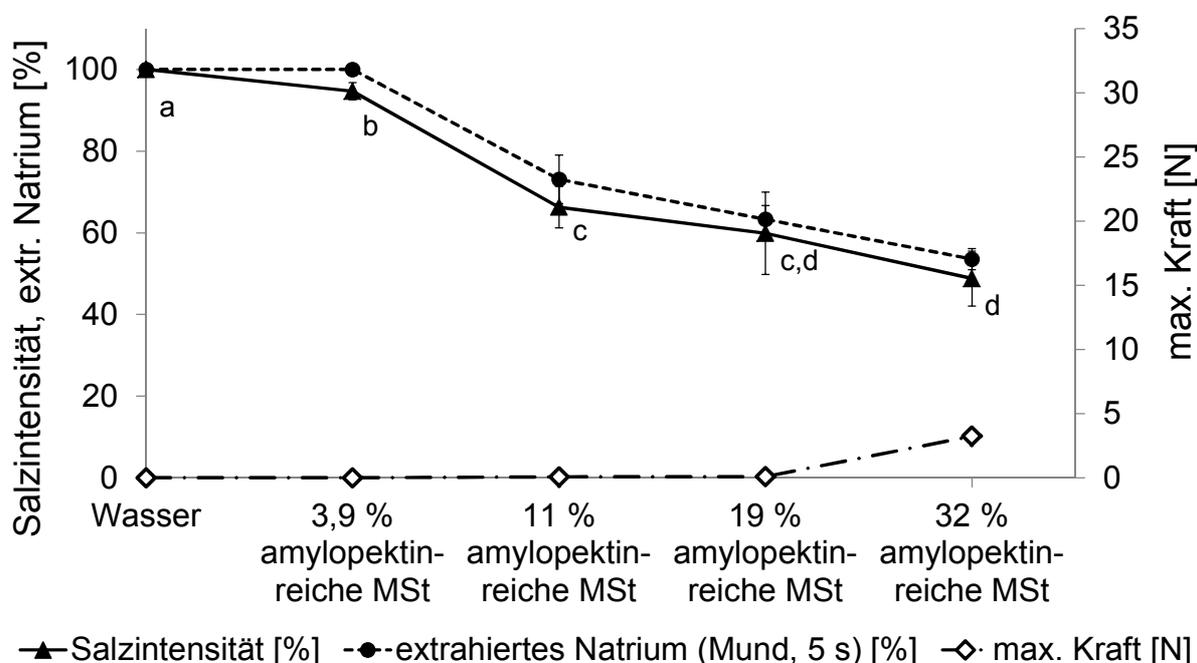
zähflüssig und klebrig (**Abbildung 66 A-C**). Normale Maisstärke-Gele entsprachen in ihrem Aussehen im Wesentlichen den Weizenstärke-Gelen (28 % Amylose), aber wiesen bei gleichem Stärkeanteil im Vergleich höhere Gelfestigkeiten auf (**Abbildung 66 D-F**). Amylosereiche Gele neigten zur Synärese, waren wenig kohärent, bröckelig und enthielten durch die Retrogradation der Amylose Partikel, die ein kreideartiges Mundgefühl auf der Zunge hervorriefen (**Abbildung 66 G-I**).



**Abbildung 66:** Gele aus verschiedenen Maisstärken. **A:** 11 %; **B:** 19 %; **C:** 32 % amylopektinreiche Maisstärke. **D:** 11 %; **E:** 19 %; **F:** 32 % Maisstärke. **G:** 11 %; **H:** 19 %; **I:** 32 % amylosereiche Maisstärke.

### 3.3.3.1 Amylopektinreiche Maisstärke

Die Textur der amylopektinreichen Maisstärke unterschied sich vollständig von Weizenstärke, da die maximale Kraft [N], die nötig war, um die 11 und 19%igen Gele 4 mm einzudrücken, beinahe null war (**Abbildung 67**). Erst ab einem Zusatz von 32 % nahm die Gelfestigkeit zu ( $3,2 \pm 0,3$  N), die im Vergleich zu allen anderen Stärkearten bei gleichem Gehalt von 32 % am niedrigsten war. Ebenso wie bei Weizenstärke nahm der prozentuale Anteil an extrahiertem Natrium nach einer Kaudauer von 5 s mit zunehmendem Stärkegehalt von 100 % ( $3,9$  %), auf  $73 \pm 6$  % (11 %),  $63 \pm 3$  % (19 %) und  $54 \pm 3$  % (32 % amylopektinreiche Maisstärke) ab. Zwischen dem extrahierten Natriumanteil und den wahrgenommenen Salzintensitäten von  $95 \pm 2$  % ( $3,9$  %),  $66 \pm 5$  % (11 %),  $60 \pm 10$  % (19 %) und  $49 \pm 7$  % (32 % amylopektinreiche Maisstärke) konnte eine sehr gute Korrelation ( $r: 0,994$ ,  $p = 0,0005$ , **Abbildung 67**), festgestellt werden.



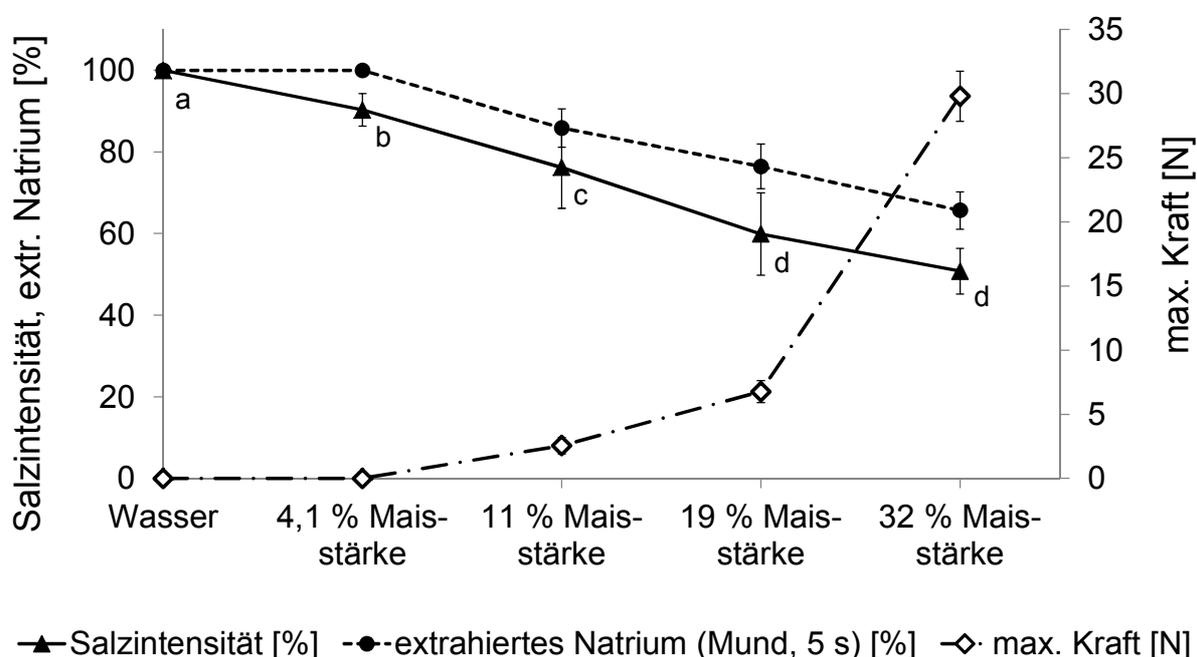
**Abbildung 67:** Salzintensität [%] (**Tabelle 42**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 43**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an amylopektinreicher Maisstärke (MSt). Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Bei der Bewertung der 3,9%igen Stärkelösung mit Hilfe der Dosis-Wirkungs-Kurve war die Salzintensität mit  $95 \pm 2$  % im Vergleich zu Wasser nur leicht, wenn auch bereits signifikant, erniedrigt. Um dieses Ergebnis abzusichern, wurden zusätzlich 2-AFC-Tests zum direkten Vergleich von Wasser und 3,9%iger amylopektinreicher Maisstärke-Lösung bei NaCl-Konzentrationen von 57,0 und 109,7 mmol/L durchgeführt. Die 2-AFC-Tests bestätigten das Ergebnis, da auch hier die wässrige Lösung im Vergleich zur Maisstärke-Lösung als signifi-

kant salziger ( $\alpha = 0,05$ ) bewertet wurde, obwohl 100 % des Natriums in beiden Lösungen frei vorlagen.

### 3.3.3.2 Maisstärke

Wie bei den zuvor untersuchten Stärkearten führten höhere Gehalte an normaler Maisstärke wieder zu ansteigenden Gelfestigkeiten und dies korrelierte invers mit der wahrgenommenen Salzintensität und der Natriumfreisetzung im Mund nach einer Kaudauer von 5 s (**Abbildung 68**). Aus 4,1 % Maisstärke waren nach 5 s 100 % des Natrium extrahiert, aus 11 % Maisstärke  $86 \pm 5$  %, aus 19 % Maisstärke  $76 \pm 6$  % und aus 32 % Maisstärke  $66 \pm 5$  %. Die Salzintensitäten wurden mit  $90 \pm 4$  % in 4,1 %,  $76 \pm 10$  % in 11 %,  $60 \pm 10$  % in 19 % und  $51 \pm 6$  % in 32 % Maisstärke bewertet.

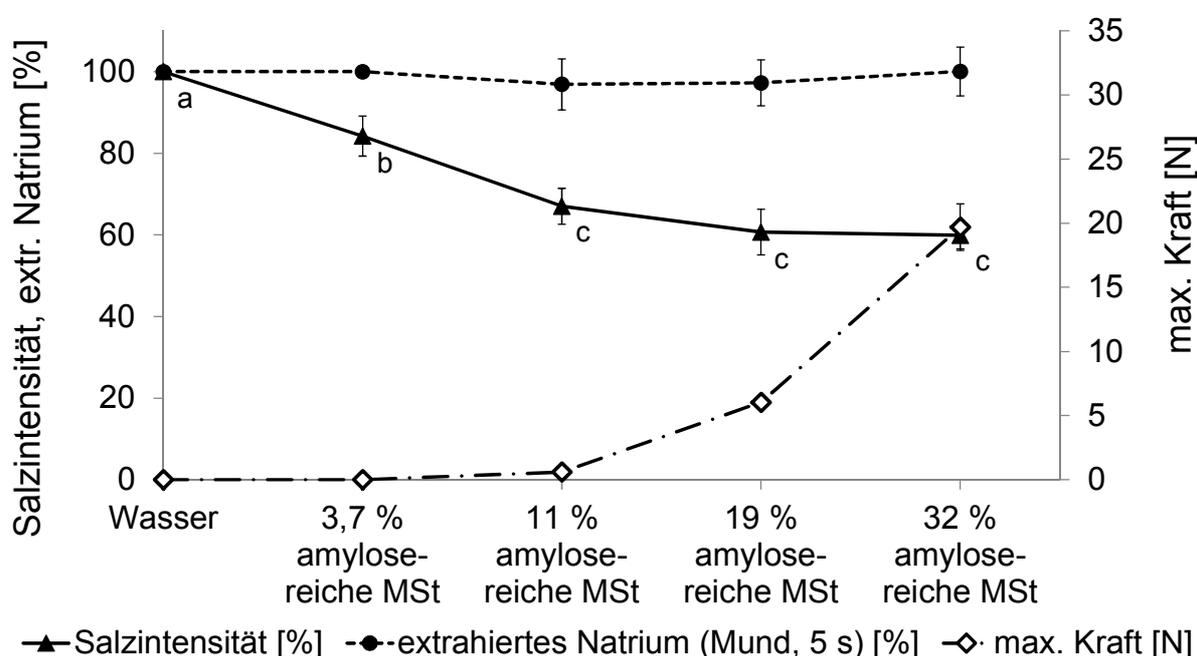


**Abbildung 68:** Salzintensität [%] (**Tabelle 42**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 43**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an Maisstärke. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Die Natriumfreisetzung korrelierte ähnlich wie bei Weizenstärke wieder gut mit der wahrgenommenen Salzintensität ( $r: 0,981$ ,  $p = 0,0031$ ), aber nicht mehr ganz so deutlich wie bei amylopektinreicher Maisstärke, bei der der Korrelationskoeffizient mit  $0,994$  berechnet wurde. Allerdings war auch bei normaler Maisstärke wieder zu beobachten, dass die Salzintensität in der 4,1%igen Lösung im Vergleich zu Wasser bereits signifikant erniedrigt war, obwohl 100 % des Natriums frei vorlagen.

### 3.3.3.3 Amylosereiche Maisstärke

Entsprechende Experimente zur Bewertung der Salzigkeit in 3,7, 11, 19 und 32%iger amylosereicher Maisstärke resultierten in einer wahrgenommenen Salzintensität von  $84 \pm 5$  % in 3,7 %, von  $67 \pm 4$  % in 11 %, von  $61 \pm 6$  % in 19 % und von  $60 \pm 3$  % in 32 % amylosereicher Maisstärke (**Abbildung 69**). Im Gegensatz zu Weizenstärke und den anderen beiden Maisstärken waren jedoch die extrahierten Natriummengen komplett unterschiedlich, da aus allen Gelen unabhängig von der Trockenmasse  $97 \pm 6$  bis  $100$  % des enthaltenen Natriums nach einer Kaudauer von 5 s bereits freigesetzt waren. Daher konnte zwischen Natriumfreisetzung und wahrgenommener Salzintensität auch keine Korrelation ( $r: 0,533$ ,  $p = 0,3550$ ) gefunden werden.



**Abbildung 69:** Salzintensität [%] (**Tabelle 42**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 43**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an amylosereicher Maisstärke (MSt). Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Diese schnelle, vollständige Natriumfreisetzung ließ sich auf die durch Amylose-Retrogradation sehr bröckelige Textur zurückführen, die ihren Strukturzusammenhalt gleich nach der ersten Kompression verlor und eine sofortige Freisetzung des eingeschlossenen Wassers erleichterte. Alle Panelisten berichteten zudem ein krümeliges, kreideartiges Mundgefühl besonders auf der Zungenoberfläche, das durch die enthaltenen Amylose-Partikel hervorgerufen wurde. Trotz der sofortigen und vollständigen Natriumfreisetzung aus allen amylosereichen Gelen waren die Salzintensitäten im Vergleich zu Wasser signifikant reduziert. Nur 3,7 % amylosereiche Maisstärke waren bereits genug, um die Salzintensität signifi-

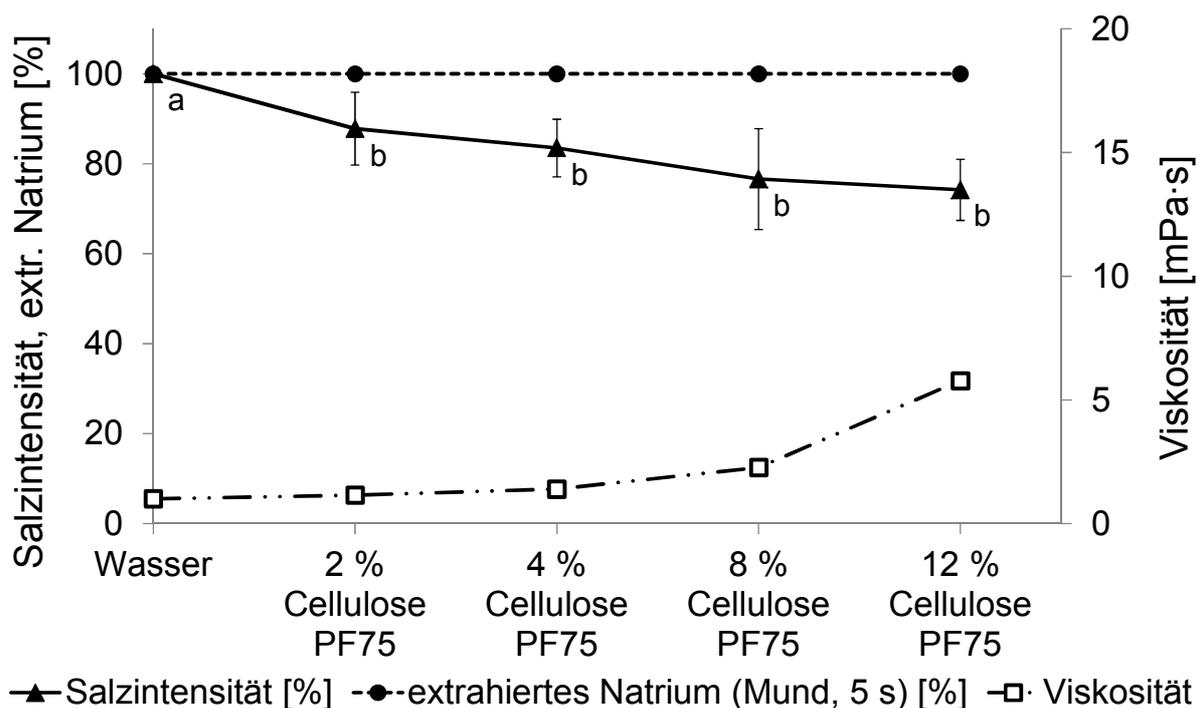
kant auf  $84 \pm 5$  % zu senken. Beim Zusatz von 11 % amylosereicher Maisstärke war die Salzintensität sogar schon auf  $67 \pm 4$  % reduziert, allerdings konnte keine weitere signifikante Erniedrigung beobachtet werden, obwohl die Gelfestigkeit deutlich von  $0,6 \pm 0,1$  N in 11 % auf  $6,0 \pm 0,3$  N in 19 % und auf  $19,7 \pm 1,8$  N in 32 % amylosereicher Maisstärke anstieg.

### 3.3.4 Salzwahrnehmung in Cellulose-Suspensionen in Abhängigkeit von Viskosität und Natriumfreisetzung

Mit amylosereicher Maisstärke, die auf der Zunge wahrnehmbare Partikel aus retrogradierter Amylose enthielt, konnte gezeigt werden, dass die Salzwahrnehmung trotz einer 100%igen Freisetzung der enthaltenen Natriummenge signifikant beeinträchtigt war. Um diesen Effekt auf die wahrgenommene Salzigkeit genauer zu untersuchen, wurden Cellulose-Suspensionen mit verschiedenen Partikelgrößen hergestellt. Die Unlöslichkeit der Cellulose-Partikel in Wasser stellte zudem sicher, dass keine Natriumionen innerhalb der Polysaccharidstruktur eingeschlossen oder gebunden werden können. Alle Suspensionen wurden während der sensorischen Experimente und vor den Viskositätsmessungen stets gerührt, um eine gründliche Homogenisierung sicherzustellen und eine Sedimentation der wasserunlöslichen Partikel zu verhindern. Die Messung der Natriumfreisetzung nach einer Kaudauer von 5 s im Mund ergab, dass in allen untersuchten Cellulose-Lösungen unabhängig von Art und Menge an Cellulose 100 % des Natriums sofort frei vorlag.

#### 3.3.4.1 Feine Cellulose-Partikel

Zunächst wurden Suspensionen mit zunehmenden Gehalten (2, 4, 8 und 12 %) an feinen Cellulose-Partikeln (PF75) mit einer durchschnittlichen Größe von  $75 \mu\text{m}$  in  $57,0 \text{ mmol NaCl/L}$  hergestellt. Die Viskositäten der Suspensionen wurden gemessen und obwohl die Viskosität in 2 % Cellulose PF75 nur  $0,1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  höher war als in der wässrigen  $57,0 \text{ mmol/L}$  Salzlösung, wurde die Salzintensität mit  $88 \pm 8$  % als signifikant weniger intensiv empfunden. Der Zusatz von höheren Gehalten an Cellulose PF75 zeigte einen klaren Trend zu einer weiteren Reduktion der wahrgenommenen Salzintensitäten auf  $84 \pm 6$  % in 4 %, auf  $77 \pm 11$  % in 8 % und auf  $74 \pm 7$  % in 12 % Cellulose PF75 (**Abbildung 70**). Allerdings waren die jeweiligen Unterschiede zwischen den einzelnen Cellulose-Konzentrationen nicht mehr signifikant.



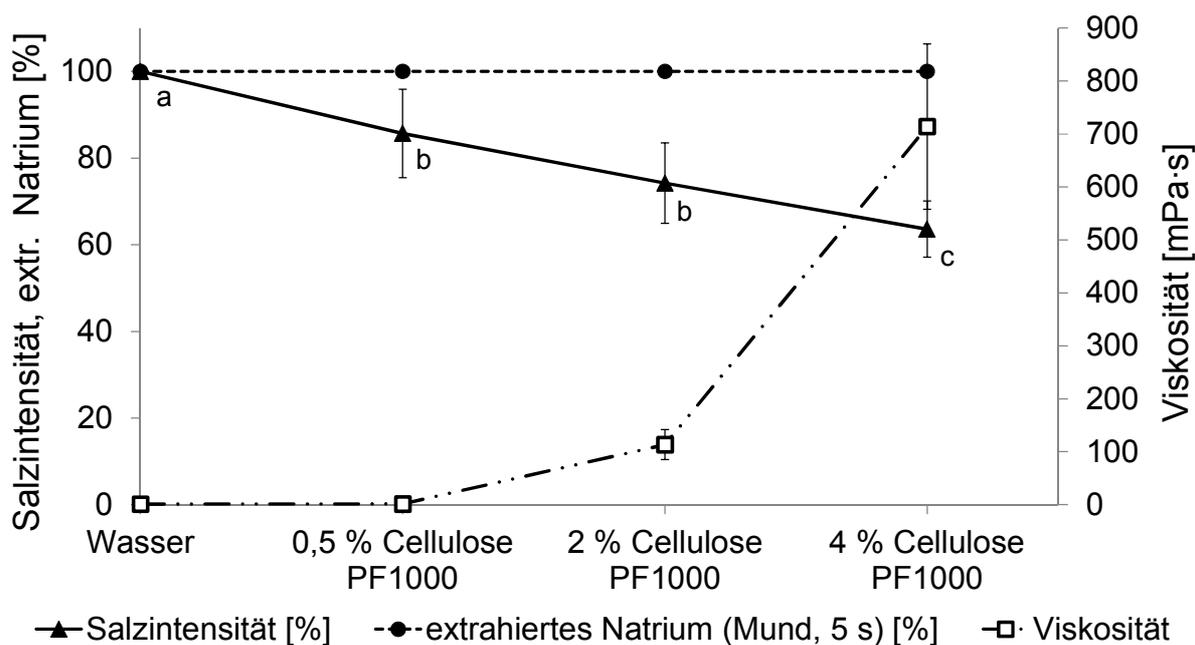
**Abbildung 70:** Salzintensität [%] (**Tabelle 44**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und Viskosität [mPa·s] (**Tabelle 45**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an feinen Cellulose-Partikeln (PF75). Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Die Panelisten spürten aufgrund des Vorhandenseins der Cellulose-Partikel ein kreideartiges, raues Gefühl, besonders auf der Zungenoberfläche. Da der Anstieg der Viskosität in den Cellulose-Suspensionen im Vergleich zu Wasser nur sehr gering war, beispielsweise um nur 0,1 mPa·s in 2 % Cellulose PF75, konnte die verringerte Wahrnehmung der Salzintensität nur auf die Präsenz von unlöslichen Partikeln zurückzuführen sein. Nachdem neben der Konzentration an Partikeln die Partikelgröße sicherlich ebenfalls einen Einfluss auf die wahrgenommene Salzintensität hat, wurden weiterführende Experimente mit gröberen, faserartigen Cellulose-Partikeln durchgeführt.

#### 3.3.4.2 Grobe, faserartige Cellulose-Partikel

Die verwendete Cellulose PF1000 mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von 1000  $\mu\text{m}$  hatte eine faserartige Struktur, die bei gleicher Trockenmasse im Vergleich zur feinen Cellulose PF75 einen deutlich höheren Viskositätsanstieg bewirkte (**Abbildung 71**). Beispielsweise wurde für 2 % Cellulose PF1000 eine Viskositätszunahme um 112,2 mPa·s gemessen, während die Zunahme bei 2 % Cellulose PF75 nur 0,1 mPa·s betrug. Das Vorhandensein von faserartigen Partikeln in Kombination mit einem höheren Viskositätsanstieg führte im Vergleich zur feinen Cellulose zu einer signifikant stärkeren Reduktion der wahrgenommenen Salzintensität, die in 2 % Cellulose PF1000 nur  $74 \pm 9$  % im Vergleich zu  $88 \pm 8$  % in

Cellulose PF75 betrug. In 4 % Cellulose PF1000 ging die Salzintensität weiter auf  $64 \pm 7 \%$  zurück. Allerdings ging der Zusatz von 4 % Cellulose PF1000 mit einem sehr deutlichen Anstieg der Viskosität um  $713 \pm 156 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  einher, sodass der sensorische Effekt sicherlich auf einer Kombination aus dem Anstieg der Viskosität und dem Vorhandensein von faserartigen Partikeln beruhte. Wie an der relativ hohen Standardabweichung bei der Viskositätsmessung erkennbar war, handelte es sich bei der 4%igen Cellulose PF1000-Suspension um eine inhomogene Mischung von Bereichen mit höherer und niedrigerer Viskosität, da die faserartigen Partikel dazu neigten, sich zusammenzuballen.



**Abbildung 71:** Salzintensität [%] (**Tabelle 44**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und Viskosität [mPa·s] (**Tabelle 45**) in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen an groben, faserartigen Cellulose-Partikeln (PF1000). Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Der Einfluss eines noch höheren Zusatzes von Cellulose PF1000 (8 %) auf die Salzwahrnehmung wurde ebenfalls untersucht, aber nicht in **Abbildung 71** aufgenommen, da die Viskosität zu hoch war, um im Viskosimeter gemessen zu werden. Stattdessen wurde wie bei den Stärke- und Agar-Gelen die Textur von 8 % Cellulose PF1000 bestimmt. Ähnlich wie zuvor bei 1,6 - 3,2 % Agar (**Abbildung 64**) und 11 - 32%iger amylosereicher Maisstärke (**Abbildung 69**) ging jedoch die wahrgenommene Salzintensität mit  $66 \pm 7 \%$  trotz der sehr deutlichen Zunahme der Viskosität bzw. der Textur (max. Kraft:  $0,82 \pm 0,08 \text{ N}$ ) im Vergleich zu 4 % Cellulose PF1000 nicht weiter zurück. Um den Einfluss der Partikelgröße auf die Salzwahrnehmung noch detaillierter zu untersuchen, wurden vier weitere Arten von Cellulose sensorisch bewertet.

### 3.3.4.3 Abhängigkeit der Salzwahrnehmung von der Partikelgröße

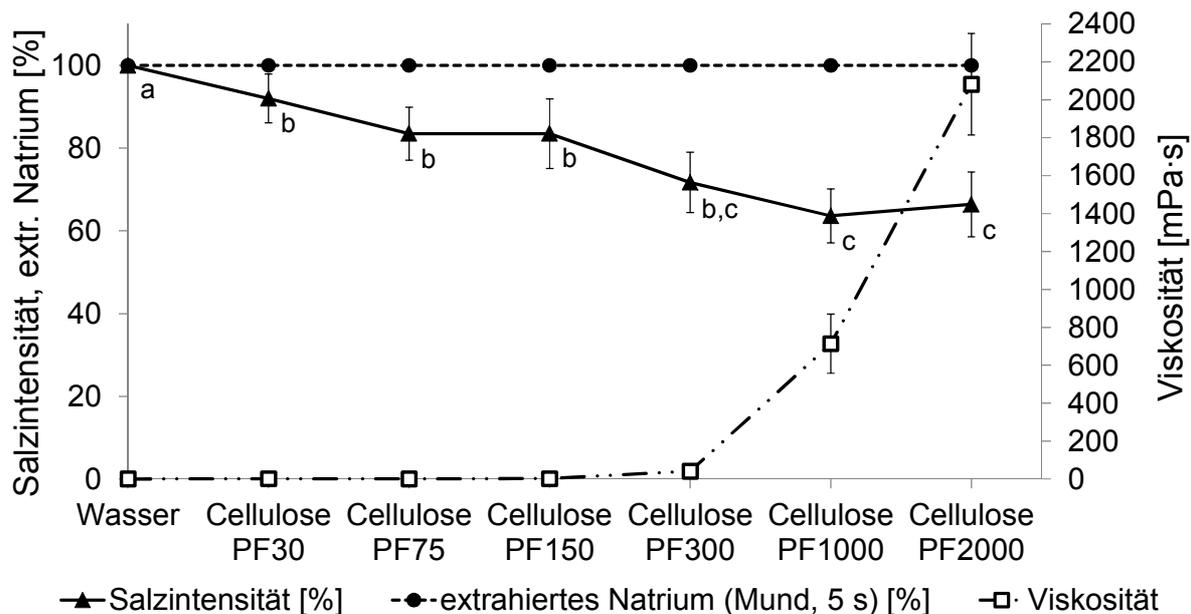
Die Salzwahrnehmung in Abhängigkeit von der Partikelgröße wurde in insgesamt sechs verschiedenen 4%igen Cellulose-Suspensionen sensorisch bewertet, die hier in aufsteigender Reihenfolge in Bezug auf die Partikelgröße aufgeführt sind: Cellulose PF30, PF75, PF150, PF300, PF1000 und PF2000 mit je einer durchschnittlichen Partikelgröße von 30, 75, 150, 300, 1000 und 2000  $\mu\text{m}$  (**Abbildung 72**).



**Abbildung 72:** Cellulose-Partikel mit unterschiedlichen, durchschnittlichen Partikelgrößen. **A:** 30  $\mu\text{m}$ ; **B:** 2000  $\mu\text{m}$ .

Der Zusatz von 4 % Cellulose PF30, PF75 oder PF150 führte nur zu geringfügigen Viskositätszunahmen um je 0,5, 0,6 und 1,2 mPa·s. Die wahrgenommene Salzintensität war jedoch signifikant auf je  $92 \pm 6$ ,  $84 \pm 6$  und  $84 \pm 8$  % verringert (**Abbildung 73**).

Die 4%igen Suspensionen je mit Cellulose PF300, PF1000 und PF2000 waren klumpig, da sich die faserartigen Partikel leicht zusammenballten, und wurden von Panelisten als „aufgelöstes Papiertaschentuch“ beschrieben. Diese faserartige Struktur führte zu höheren Anstiegen der Viskosität von  $40,8 \pm 10,8$  mPa·s in 4 % Cellulose PF300,  $714,0 \pm 156,0$  mPa·s in 4 % Cellulose PF1000 und bis zu  $2082,9 \pm 267,9$  mPa·s in 4 % Cellulose PF2000. Es ergaben sich die entsprechenden wahrgenommenen Salzintensitäten von  $72 \pm 7$ ,  $64 \pm 6$  und  $66 \pm 8$  %. Auffallend war, dass die Salzintensität von 4 % Cellulose PF1000 auf PF2000 nicht weiter abnahm, obwohl die Viskosität stark zunahm.



**Abbildung 73:** Salzintensität [%] (**Tabelle 46**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und Viskosität [mPa·s] (**Tabelle 47**) in Abhängigkeit von der Cellulose-Partikelgröße (PF30, PF75, PF150, PF300, PF1000, PF2000) bei gleicher Konzentration von 4 %. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

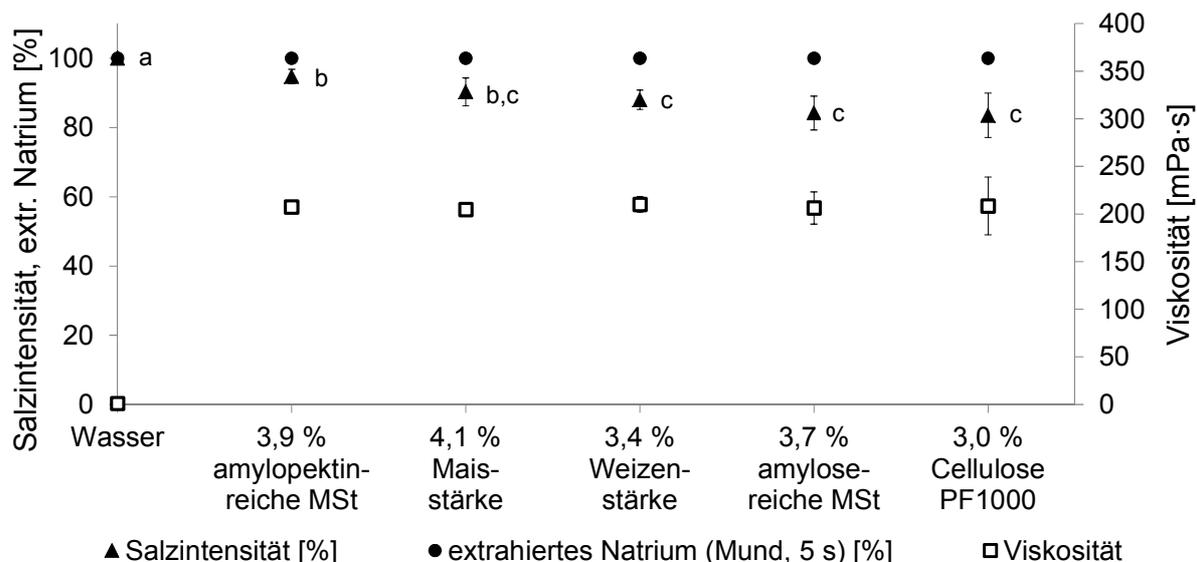
Dieser Effekt, der auf eine Art von Sättigung hindeutet, konnte zuvor schon bei 1,6 - 3,2 % Agar (**Abbildung 64**), 11 - 32 % amylosereicher Maisstärke (**Abbildung 69**) und 4 - 8 % Cellulose PF1000 (3.3.4.2; **Abbildung 71**) beobachtet werden. Nachdem die Zunahme der Viskosität bei den feinen Cellulose-Partikeln (PF30 - 150) vernachlässigbar gering ausfiel, aber bei den gröberen, faserartigen Cellulose-Partikeln (PF300 - 2000) zusätzlich zur Präsenz von unlöslichen Partikeln ebenfalls einen Einfluss auf die Salzwahrnehmung haben könnte, wurde in weiterführenden, sensorischen Experimenten die Viskosität einer Cellulose PF1000-Suspension auf einen definierten Wert (200 mPa·s) eingestellt und mit Stärke-Lösungen bei gleicher Viskosität verglichen.

### 3.3.5 Vergleich der Salzwahrnehmung in Gelen und Suspensionen

Die Salzwahrnehmung in Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen hing von der Art und Konzentration des Polysaccharids ab, die wiederum einen Einfluss auf die Viskosität bzw. Textur, das Vorhandensein von Partikeln, das Mundgefühl und die Natriumfreisetzung hatten. Um Klarheit zu schaffen, welche dieser Einflussgrößen entscheidend sind, wurden im Folgenden Experimente mit gleicher Viskosität bzw. gleicher Textur durchgeführt, um den jeweiligen Einfluss dieser Parameter auszuschließen.

### 3.3.5.1 Vergleich der Salzwahrnehmung bei gleicher Viskosität

Zunächst wurden Stärke-Lösungen und Cellulose-Suspensionen gleicher Viskosität von 200 mPa·s hergestellt, um den Effekt der Viskosität ausschließen und die Eigenschaften der einzelnen Polysaccharide besser miteinander vergleichen zu können. Während die Anpassung der Viskosität durch Verdünnen mit der entsprechenden NaCl-Lösung bei den Lösungen mit amylopektinreicher und normaler Maisstärke und Weizenstärke einfach war, da die Lösungen vollständig homogen waren, war dies in Lösungen mit amylosereicher Maisstärke und Cellulose PF1000 schwieriger, weil die suspendierten Amylose- bzw. Cellulose-Partikel trotz der vorherigen, gründlichen Homogenisierung bereits während der Viskositätsmessung an den Boden des Zylinders sanken. Daher wurde die Messzeit so kurz wie möglich gewählt, aber die Standardabweichungen der Messungen waren trotzdem höher. Insgesamt wurden die Viskositäten der Lösungen mit amylopektinreicher, normaler und amylosereicher Maisstärke, Weizenstärke und Cellulose PF1000 auf 200 mPa·s angepasst, sodass keine signifikanten Unterschiede mehr vorhanden waren (**Abbildung 74**). Der Anteil der Trockenmasse wurde nach Anpassung der Viskositäten bestimmt, wobei keine großen Unterschiede vorhanden waren, da der Bereich mit 3,0 % Cellulose PF1000 bis 4,1 % Maisstärke sehr eng war. Die sensorische Bewertung der Salzigkeit erfolgte durch Kombination von 2-AFC-Tests, um zwei Proben direkt miteinander vergleichen zu können und der Dosis-Wirkungs-Kurve, um eine Aussage über das Ausmaß der Inhibierung der Salzwahrnehmung treffen zu können. Der direkte Vergleich zweier Proben erleichterte es dem Panel, kleine Unterschiede in der Salzwahrnehmung zu erkennen, die sonst verloren gegangen wären. Das Ergebnis aller 2-AFC-Tests mit allen möglichen Kombinationen der Lösungen ergab die folgende Reihenfolge mit abnehmender Salzintensität: Wasser > 3,9 % amylopektinreiche Maisstärke > 4,1 % Maisstärke = 3,4 % Weizenstärke > 3,7 % amylosereiche Maisstärke = 3,0 % Cellulose PF1000, wobei „>“ einem statistisch signifikanten Unterschied mit  $\alpha \leq 0,05$  entspricht und „=“ für keinen signifikanten Unterschied steht. Diese Reihenfolge wurde durch Bewertung der Salzintensität der gleichen Lösungen mit Hilfe der Dosis-Wirkungs-Kurve bestätigt (**Abbildung 74**).



**Abbildung 74:** Salzintensität [%] (**Tabelle 48**) und extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] in Abhängigkeit von der Art des Polysaccharids bei gleicher Viskosität von 200 mPa·s (**Tabelle 49**). Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Wie bei den 2-AFC-Tests schmeckten alle Stärke- und Cellulose-Lösungen signifikant weniger salzig als Wasser. Allerdings waren einige Unterschiede zwischen zwei Proben aufgrund der anderen Vorgehensweise zur sensorischen Bewertung nicht mehr signifikant. Amylopektinreiche Maisstärke (3,9 %) wurde immer noch jeweils salziger empfunden als 3,4 % Weizenstärke, 3,7 % amylosereiche Maisstärke oder 3,0 % Cellulose PF1000, aber der Unterschied zwischen 3,9 % amylopektinreicher Maisstärke und 4,1 % normaler Maisstärke war genauso wie der Unterschied zwischen 4,1 % Maisstärke und 3,4 % Weizenstärke sowie 3,7 % amylosereicher Maisstärke nicht mehr signifikant. Trotzdem war das Ausmaß des inhibierenden Effekts auf die Salzwahrnehmung bei gleicher Viskosität von 200 mPa·s im Vergleich zu wässriger Salzlösung in 3,7 % amylosereicher Maisstärke (Salzintensität:  $84 \pm 5$  %) und 3,0 % Cellulose PF1000 (Salzintensität:  $84 \pm 6$  %) eindeutig größer als in 3,9 % amylopektinreicher Maisstärke (Salzintensität:  $95 \pm 2$  %) und 4,1 % Maisstärke (Salzintensität:  $90 \pm 4$  %). Somit führte bei gleicher Viskosität das zusätzliche Vorhandensein von retrogradierten Amylose- oder Cellulose-Partikeln zu einer stärkeren Reduktion der Intensität des Salzgeschmacks.

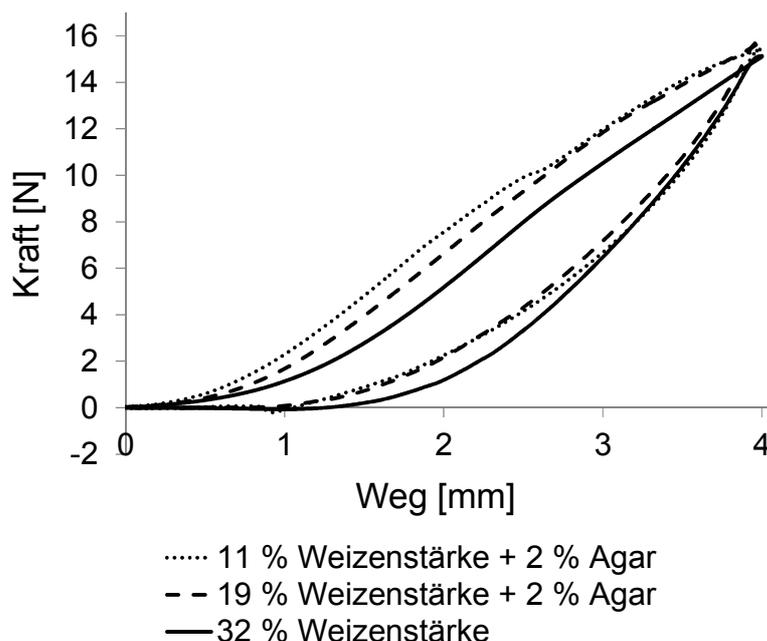
Agar wurde nicht in die Darstellung aufgenommen, da hier die Viskosität im Bereich um 200 mPa·s schwierig zu bestimmen war, weil es sich bei 0,15 % Agar noch um eine viskose Lösung mit  $108 \pm 2$  mPa·s handelte, bei 0,2 % Agar aber schon um ein Gel, das nach der ersten Kompression seine Form verlor. Die Viskositätsmessungen, die die erste Kompression mit berücksichtigten, ergaben eine mittlere Viskosität von  $412 \pm 35$  mPa·s (**Abbildung 65**). Zerstörte man jedoch die Gelstruktur vor der Messung durch gründliches Schütteln und

berücksichtigte die zur ersten Kompression benötigte Kraft nicht, ergab sich eine niedrigere, mittlere Viskosität von  $249 \pm 4$  mPa·s, die in etwa mit den anderen Polysaccharidlösungen bei 200 mPa·s vergleichbar war. Bei einer ebenfalls 100%igen Natriumfreisetzung ergab sich in 0,2 % Agar jedoch nur eine Salzintensität von  $74 \pm 6$  %, die im Vergleich zu den anderen Stärke-Lösungen und Cellulose-Suspensionen deutlich geringer war. Daher musste die bereits vorhandene, wenn auch labile Gelstruktur ebenfalls einen Einfluss auf die Salzwahrnehmung haben.

Alles in allem waren trotz gleicher Viskosität und einer 100%igen, sofortigen Natriumfreisetzung sensorisch Unterschiede im Salzgeschmack zwischen verschiedenen Stärke-Lösungen und Cellulose-Suspensionen wahrnehmbar, die auf den taktilen Eigenschaften der Polysaccharide beruhen müssen. Um diese taktilen Eigenschaften und deren Einfluss auf die Salzwahrnehmung noch detaillierter zu untersuchen, wurden Gele mit höheren Anteilen an Polysaccharid hergestellt, sodass sie in der Textur vergleichbar waren.

#### 3.3.5.2 Vergleich der Salzwahrnehmung bei gleicher Textur

Die Textur von 11 und 19%igen Weizenstärke-Gelen sollte durch Zusatz von Agar erhöht werden, sodass sie in der Festigkeit der von 32%igen Weizenstärke-Gelen entsprachen. Dazu wurden Weizenstärke und Agar aufgrund ihrer unterschiedlichen Gelierungseigenschaften zunächst getrennt voneinander angesetzt und erst nach dem Erhitzen und Lösen des Agars vereinigt. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass der Gehalt an Agar für die Festigkeit bestimmend war. Aufgrund dessen erhielt man durch Zusatz von 2 % Agar zu je 11 oder 19 % Weizenstärke ein Gel, das in der Festigkeit dem 32%igen Weizenstärke-Gel entsprach (**Abbildung 75**). An der Texturmessung ist ersichtlich, dass die maximale Kraft [N] bei allen drei Gelen sehr gut überein stimmte. Zu Beginn der Messung bei einer Eindringtiefe von 2 - 3 mm zeigte sich jedoch, dass 32%ige Weizenstärke etwas weicher und elastischer war als die mit Agar versetzten Gele.



**Abbildung 75:** Texturmessung von Gelen (n = 9) mit 11 % Weizenstärke + 2 % Agar, mit 19 % Weizenstärke + 2 % Agar und mit 32 % Weizenstärke, je mit 83 mmol NaCl/L.

Die drei Gele wurden bei gleichem Salzgehalt (83 mmol NaCl/L) jeweils mit Hilfe von 2-AFC-Tests miteinander verglichen. In Bezug auf die Salzintensität ergaben sich jedoch zwischen allen möglichen Kombinationen keine signifikanten Unterschiede (**Tabelle 15**).

**Tabelle 15:** 2-AFC-Tests zum Vergleich der Salzwahrnehmung in Gelen mit 11 % Weizenstärke + 2 % Agar, mit 19 % Weizenstärke + 2 % Agar und mit 32 % Weizenstärke (WSt) bei gleichem Salzgehalt von 83 mmol NaCl/L.

Probe 1	Probe 2	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau $\alpha$
		Insgesamt	Probe 1	Probe 2	
11 % WSt + 2 % Agar	32 % WSt	17	10	7	> 0,20
		15	10	5	0,20
		14	10	4	0,20
19 % WSt + 2 % Agar	32 % WSt	17	7	10	> 0,20
		15	6	9	> 0,20
		14	10	4	0,20
11 % WSt + 2 % Agar	19 % WSt + 2 % Agar	16	9	7	> 0,20
		14	8	6	> 0,20
		13	8	5	> 0,20

Die Gele unterschieden sich in Bezug auf die Trockenmasse (13, 21 und 32 %), in Bezug auf die Art und Konzentration des Polysaccharids und die Natriumfreisetzung war aus den Gelen mit 11 bzw. 19 % Weizenstärke mit 2 % Agar höher als bei 32 % Weizenstärke. In diesem Fall von vergleichsweise hoher Gelfestigkeit (max. Kraft: 15,1 N) war trotz der genannten Unterschiede offensichtlich die Textur der Gele für die wahrgenommene Salzintensität entscheidend, da in Bezug auf die Salzintensität kein signifikanter Unterschied mehr wahrgenommen werden konnte.

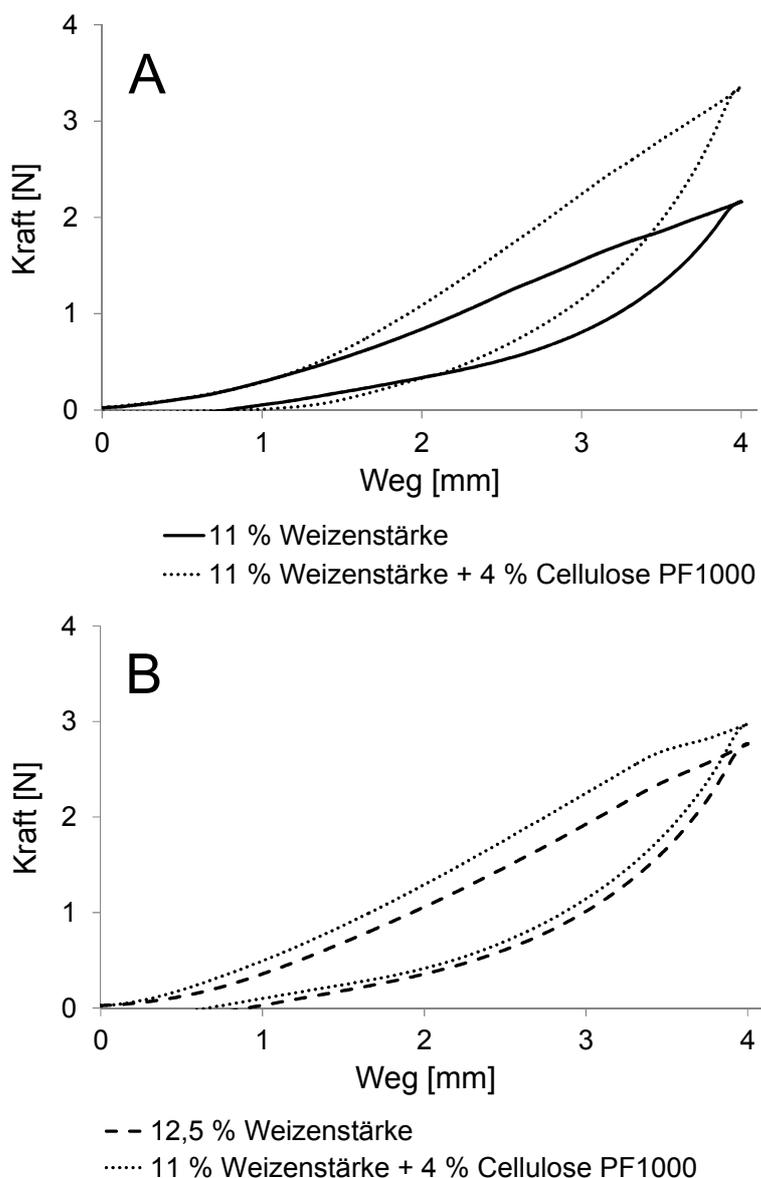
### 3.3.5.3 Einfluss von Partikeln auf die Salzwahrnehmung bei gleicher Textur

Bei diesen drei in Kapitel 3.3.5.2 untersuchten Gelen handelte es sich um vollständig homogene Gele ohne Partikel. Da aber gezeigt werden konnte, dass das Vorhandensein von unlöslichen Partikeln allein genügte, um die Salzwahrnehmung zu beeinträchtigen, wurde im Weiteren der Effekt eines Zusatzes von unlöslichen Partikeln zu einem homogenen Gel auf die Salzwahrnehmung bewertet. Dazu wurde eine Suspension mit 4 % Cellulose PF1000 zusätzlich mit 11 % Weizenstärke versetzt und zur Gelierung erhitzt, wobei die Cellulose-Partikel erhalten blieben. Die Texturmessung ergab im Vergleich zum 11%igen Weizenstärke-Gel ohne Cellulose einen Anstieg der Gelfestigkeit durch den Zusatz von Cellulose (**Abbildung 76 A**). Um einen möglichen Effekt dieses Texturanstiegs auszugleichen, wurde daraufhin die Weizenstärkemenge auf 12,5 % erhöht, damit die Textur der Weizenstärke-Gele mit und ohne Cellulose wieder vergleichbar war und keinen signifikanten Unterschied mehr aufwies (**Abbildung 76 B**).

Die wahrgenommene Salzintensität von 12,5 % Weizenstärke ohne Cellulose wurde mittels 2-AFC-Tests mit der von 11 % Weizenstärke mit 4 % Cellulose PF1000 verglichen. Die Gele ohne Cellulose wurden bei gleichem Salzgehalt (83 mmol NaCl/L) als signifikant ( $\alpha = 0,01$ ) salziger bewertet (**Tabelle 16**). Bei angepasster Textur und gleicher Natriumfreisetzungsrates konnte dieser Unterschied nur auf das Vorhandensein von unlöslichen Cellulose-Partikeln zurückzuführen sein, die das Mundgefühl veränderten und zur Inhibierung der Salzwahrnehmung beitrugen.

**Tabelle 16:** 2-AFC-Tests zum Vergleich der Salzwahrnehmung in Gelen mit 11 % Weizenstärke + 4 % Cellulose PF1000 und mit 12,5 % Weizenstärke (WSt) bei gleichem Salzgehalt von 83 mmol NaCl/L.

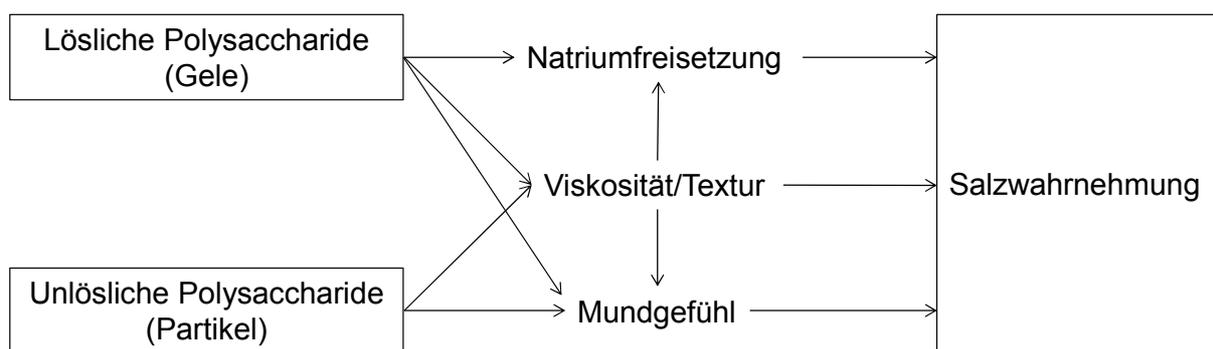
Probe 1	Probe 2	Anzahl der Panelisten			Signifikanzniveau
		Insgesamt	Probe 1	Probe 2	$\alpha$
11 % WSt	12,5 % WSt	12	0	12	0,001
+ 4 % Cellulose		14	2	12	0,01
PF1000		15	2	13	0,01



**Abbildung 76:** Texturmessung von Gelen (n = 9) je mit 83 mmol NaCl/L.  
**A:** 11 % Weizenstärke und 11 % Weizenstärke + 4 % Cellulose PF1000.  
**B:** 12,5 % Weizenstärke und 11 % Weizenstärke + 4 % Cellulose PF1000.

### 3.3.6 Diskussion

Die sensorischen Untersuchungen an Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen hatten gezeigt, dass die wahrgenommene Salzintensität von einer Vielzahl von Faktoren abhängig war. Die Art und Konzentration des Polysaccharids waren wichtige Kenngrößen, die wiederum einen Einfluss auf die Viskosität bzw. die Textur, das Vorhandensein von Partikeln, das Mundgefühl und die Natriumfreisetzung hatten. **Abbildung 77** vermittelt einen Überblick über die für die Salzwahrnehmung wichtigen Parameter sowie deren wechselseitigen Einfluss auf jeweils andere Parameter.



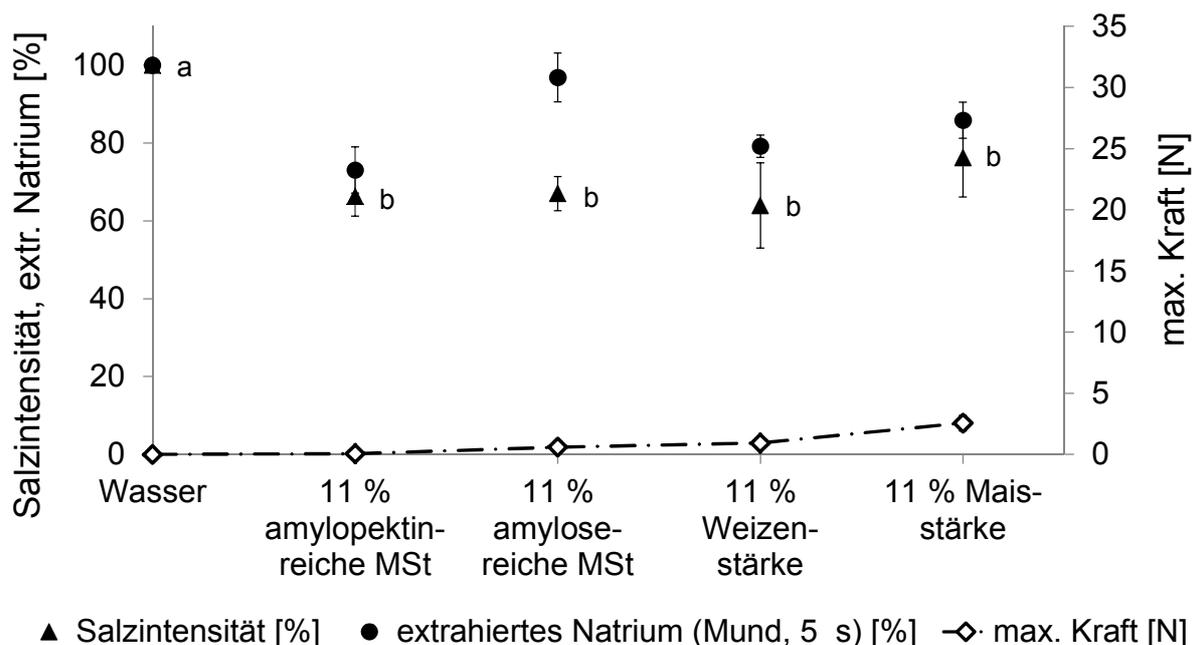
**Abbildung 77:** Parameter, die die Salzwahrnehmung in Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen beeinflussen und deren jeweiliger Einfluss auf andere Parameter.

Zunächst hatte die Konzentration des Polysaccharids einen entscheidenden Einfluss auf die Salzwahrnehmung, da sich dadurch Unterschiede in Bezug auf Mundgefühl, Viskosität oder Textur und Natriumfreisetzung ergaben. Allgemein führte eine steigende Konzentration an Stärke oder Agar zu einem Anstieg der Viskosität bzw. zu höheren Gelfestigkeiten (**Abbildungen 61 - 69**) und bei den Cellulose-Suspensionen zu einem höheren Anteil an unlöslichen Partikeln, der besonders bei den faserartigen, groben Cellulose-Arten mit einer Zunahme der Viskosität einherging (**Abbildungen 71 und 73**). Innerhalb einer Art von Polysaccharid korrelierte zudem die Konzentration invers mit der wahrgenommenen Salzintensität (**Abbildungen 61 - 71**). Dies stimmt sehr gut mit früheren Untersuchungen überein, bei denen steigende Konzentrationen an Carboxymethylcellulose (CMC) die Salzwahrnehmung verringerten (*Moskowitz und Arabie, 1970*). Mit anderen Verdickungsmitteln wie Xanthan und Alginat (*Pangborn, 1973*), Hydroxypropylmethylcellulose (*Cook et al., 2002*) und Stärke (*Ferry et al., 2006*) wurde diese Reduktion der Salzwahrnehmung in viskosen Lösungen bereits beschrieben.

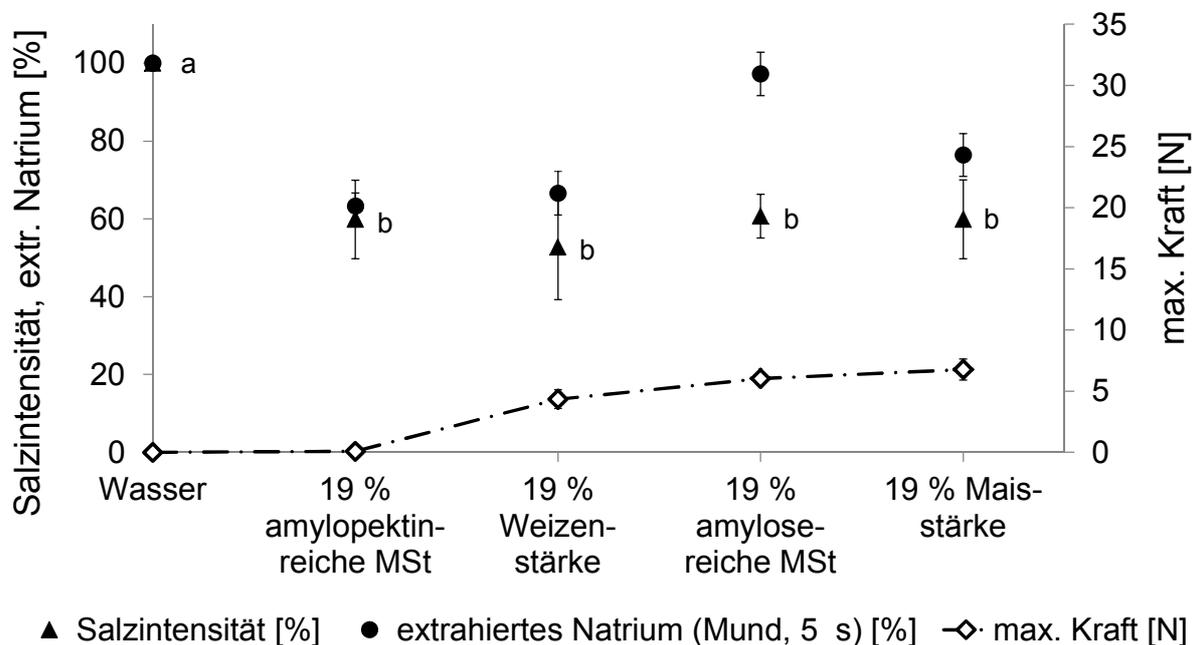
Die Konzentration an Polysaccharid hatte außerdem einen Einfluss auf die Natriumfreisetzung nach einer Kaudauer von 5 s im Mund, wobei hier nur in bestimmten Fällen (11 - 32 % Weizenstärke, 11 - 32 % amylopektinreiche Maisstärke, 11 - 32 % Maisstärke) direkte Korre-

lationen gefunden wurden. Dagegen hatten beispielsweise geringe Zugabemengen an Stärke ebenso wie der Zusatz von 0,05 - 0,4 % Agar, bis zu 32 % amylosereicher Maisstärke, 2 - 12 % Cellulose PF75 und 0,5 - 8 % Cellulose PF1000 keinen Einfluss auf die Natriumextrahierbarkeit, die in allen Fällen 100 % betrug. Trotz Erhöhung der Konzentration an Agar konnte auch zwischen 1,6, 2,4 und 3,2 % Agar kein Unterschied in Bezug auf die Natriumfreisetzung ermittelt werden. Bisher ist in der Literatur kaum etwas über die Natriumfreisetzung aus viskosen Lösungen oder Gelen bekannt. Eine Studie konnte jedoch zeigen, dass die Natriumfreisetzung aus 5 - 25%igen Gelatine-Lösungen mit steigenden Gelatine-Konzentrationen konstant blieb, da die Lösungen eine sehr gute Mischbarkeit mit Wasser zeigten. Dagegen nahm die messbare Natriumkonzentration in 0,2 - 1%igen Johannisbrotkernmehl-Lösungen mit steigender Konzentration an Verdickungsmittel ab, da die Mischbarkeit mit Wasser deutlich schlechter war (*Koliandris et al., 2008*). Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit den hier dargestellten Untersuchungen überein, da alle viskosen Lösungen und Suspensionen eine gute Mischbarkeit mit Wasser zeigten, oder im Fall der 0,2 - 0,4%igen Agar-Gele und der 11 - 32%igen amylosereichen Maisstärke-Gele zu einer schnellen Synärese neigten. Alle anderen Gele, bei denen eine erniedrigte Natriumfreisetzung gemessen wurde, waren fest und nur schlecht mit Wasser mischbar.

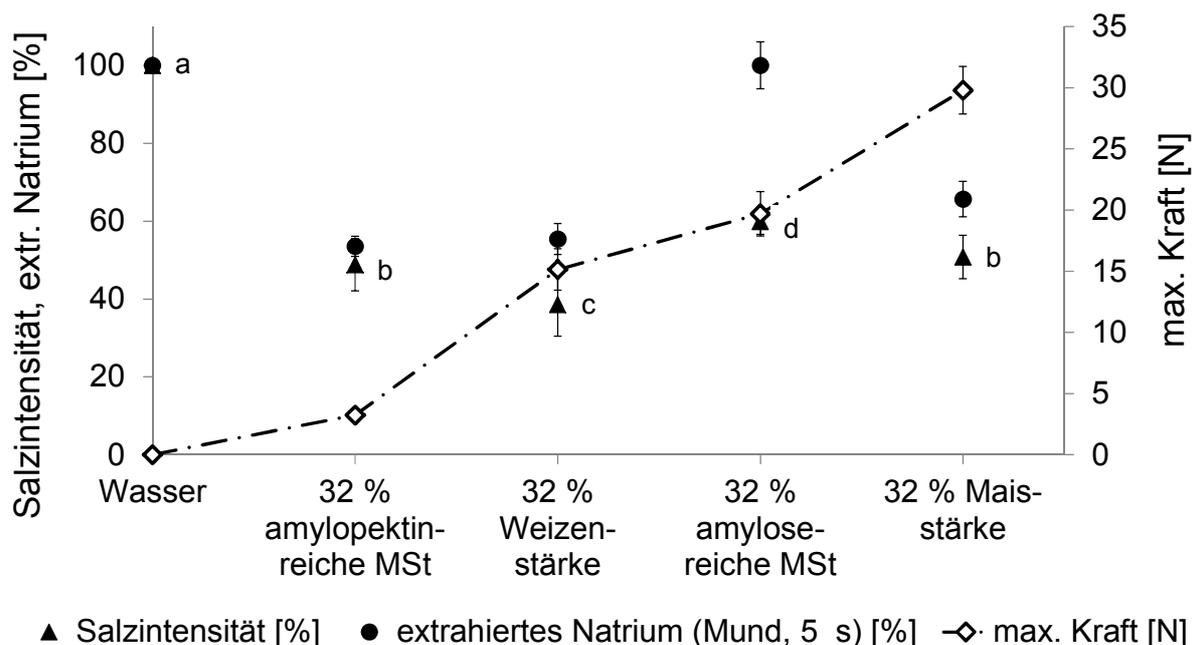
Vergleicht man nun die verschiedenen Stärke-Arten bei gleicher Konzentration von 11 % (**Abbildung 78**), fällt auf, dass hier im Bereich vergleichsweise geringer Gelfestigkeiten trotz der Unterschiede in Bezug auf Textur, Mundgefühl, Natriumfreisetzung und das Vorhandensein von Partikeln in amylosereicher Maisstärke die wahrgenommenen Salzintensitäten nicht signifikant unterschiedlich waren. Selbst bei einer Konzentration von 19 % ließen sich zwischen den Stärke-Arten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität erkennen (**Abbildung 79**). Erst bei einer Konzentration von 32 % ließen sich zwischen Weizenstärke, amylosereicher Maisstärke und den anderen beiden Maisstärke-Arten signifikante Unterschiede in Bezug auf die Salzintensität erkennen (**Abbildung 80**).



**Abbildung 78:** Salzintensität [%] (Tabelle 50), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (Tabelle 51) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 11 %. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.



**Abbildung 79:** Salzintensität [%] (Tabelle 52), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (Tabelle 53) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 19 %. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

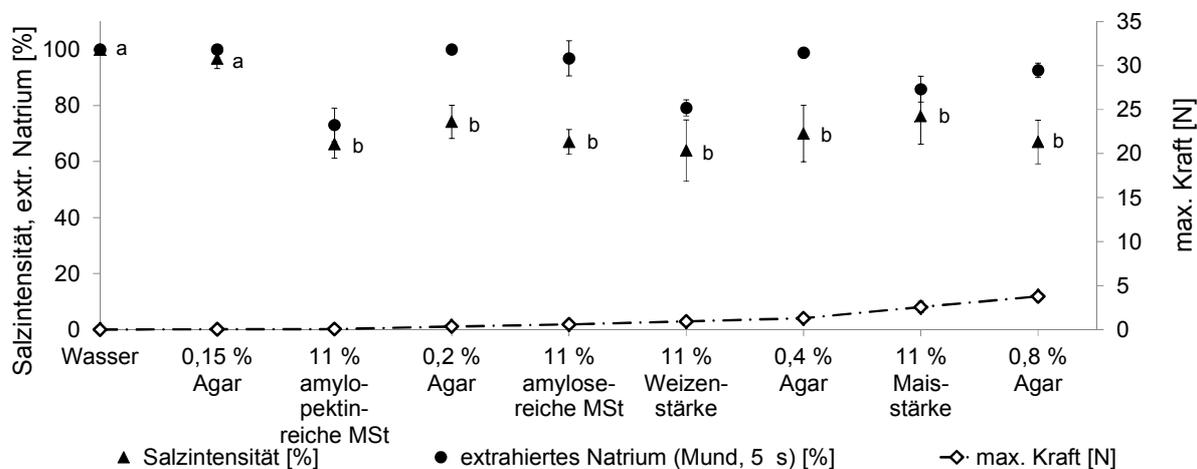


**Abbildung 80:** Salzintensität [%] (**Tabelle 54**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 55**) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 32 %. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

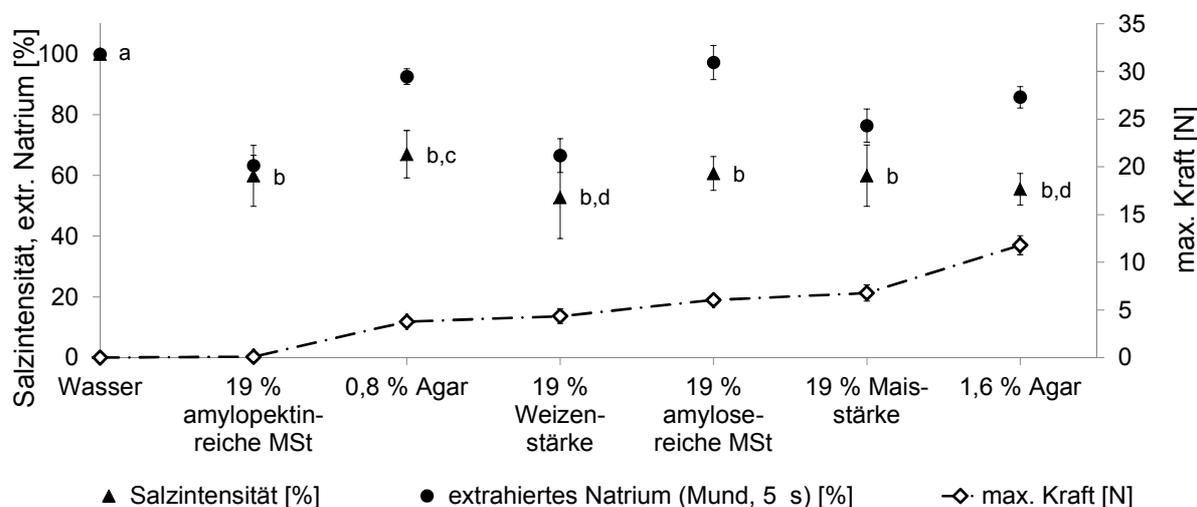
Daher scheint bei Gehalten von 11 und 19 % bei den verschiedenen Stärke-Arten die Konzentration der für die wahrgenommene Salzintensität entscheidende Parameter zu sein, obwohl innerhalb einer Stärke-Konzentration sowohl die Gelfestigkeit als auch die Natriumfreisetzung signifikante Unterschiede zeigten. Erst ab einem Gehalt von 32 % Stärke traten bei der Bewertung der Salzintensität signifikante, sensorische Unterschiede zwischen den einzelnen Stärke-Arten hervor. So wurde Weizenstärke signifikant weniger salzig als beispielsweise amylopektinreiche Maisstärke bewertet, obwohl die Natriumfreisetzung vergleichbar war. Zwar war die Festigkeit von Weizenstärke im Vergleich zu amylopektinreicher Maisstärke erhöht, was sicherlich zu einer Verringerung der Salzwahrnehmung beitrug, aber im Vergleich zu amylose-reicher Maisstärke und Maisstärke lag die Gelfestigkeit niedriger. Die signifikant höhere Salzintensität von amylose-reicher Maisstärke konnte dagegen mit der 100%igen Natriumfreisetzung erklärt werden.

Alles in allem traten bei 32%igen Stärke-Gelen trotz gleicher Stärke-Konzentration signifikante Unterschiede in Bezug auf die Salzintensität auf. Außerdem waren bei gleicher Konzentration an Cellulose mit 4 % ebenfalls sensorische Unterschiede zwischen verschiedenen feinen und groben Cellulose-Arten wahrnehmbar (**Abbildung 73**). Daher konnte die Polysaccharid-Konzentration allein nicht für die beobachteten Effekte verantwortlich sein.

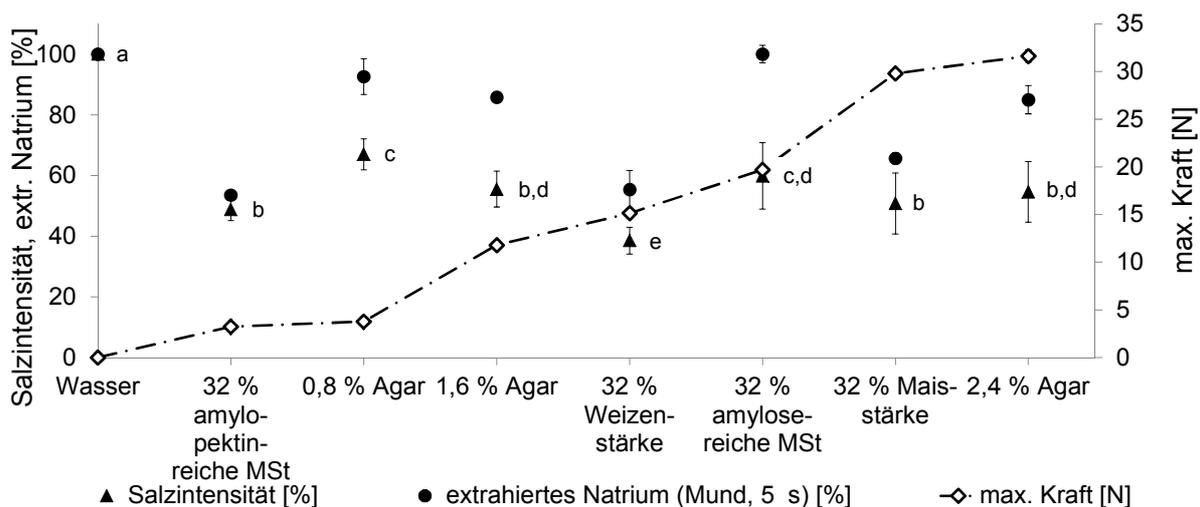
Der wichtige Einfluss der Textur auf die Salzwahrnehmung zeigt sich erst, wenn man die in Bezug auf die Gelfestigkeit ähnlichen Agar-Gele mit in die Darstellung der verschiedenen Stärke-Gele einreicht (**Abbildungen 81 - 83**).



**Abbildung 81:** Salztintensität [%] (**Tabelle 50**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 51**) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 11 % unter Berücksichtigung in Bezug auf Textur und Salztintensität ähnlicher Agar-Gele. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.



**Abbildung 82:** Salztintensität [%] (**Tabelle 52**), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (**Tabelle 53**) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 19 % unter Berücksichtigung in Bezug auf Textur und Salztintensität ähnlicher Agar-Gele. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.



**Abbildung 83:** Salzintensität [%] (Tabelle 54), extrahierte Natriummenge nach dem Kauen im Mund (5 s) [%] und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit (Tabelle 55) in Abhängigkeit von der Art der Stärke bei gleichem Gehalt von 32 % unter Berücksichtigung in Bezug auf Textur und Salzintensität ähnlicher Agar-Gele. Die Werte sind wie in **Abbildung 61** dargestellt.

Erst so wird deutlich, dass den Stärken vergleichbare Salzintensitäten auch mit sehr viel geringerer Konzentration an Polysaccharid erzielt werden konnten. Beispielsweise führte bereits der Zusatz von 0,4 % Agar zu einer mit 11 % Weizenstärke vergleichbaren Gelfestigkeit und ebenfalls nicht signifikant voneinander unterscheidbaren Salzintensitäten, sodass die Textur eine entscheidende Rolle bei der Salzwahrnehmung spielen musste. Im Bereich verhältnismäßig geringer Gelfestigkeiten (max. Kraft: 0 - 3,8 N, **Abbildung 81**) ließen sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Salzintensität zwischen den verschiedenen Stärke-Arten und Agar erkennen. Die einzige Ausnahme bildete 0,15 % Agar, da es sich trotz mit 11 % amylopektinreicher Maisstärke vergleichbarer Gelfestigkeit (mittlere max. Kraft: 0,06 N) bei 0,15 % Agar um eine viskose Lösung mit 100%iger Natriumfreisetzung und bei 11 % amylopektinreicher Maisstärke um ein sehr zähes, kohäsives Gel mit nur 73%iger Natriumfreisetzung handelte.

Im Bereich mittlerer Gelfestigkeiten (max. Kraft: 0,1 - 11,8 N, **Abbildung 82**) waren die wahrgenommenen Salzintensitäten noch immer sehr ähnlich. Allerdings traten auch erste Unterschiede auf, da die Salzintensität in 0,8 % Agar im Vergleich zu 19 % Weizenstärke und 1,6 % Agar höher bewertet wurde. Die höhere Salzintensität in 0,8 % Agar ließ sich mit der niedrigeren Gelfestigkeit und der besseren Natriumextrahierbarkeit (93 vs. 86 %) im Vergleich zu 1,6 % Agar erklären. Dagegen war die Gelfestigkeit bei 0,8 % Agar im Vergleich zu 19 % Weizenstärke ähnlich (max. Kraft: 4,1 N), sodass hier ebenfalls die bessere Natriumextrahierbarkeit aus 0,8 % Agar für die höhere Salzintensität verantwortlich sein musste. Insgesamt zeigte sich außerdem, dass die Salzwahrnehmung nur mit Hilfe einer Kombinati-

on aus Textur und Natriumfreisetzung erklärt werden konnte. In einem Fall zeigte sich der Einfluss der Textur besonders deutlich, da die Salzigkeit in 19 % amylosereicher Maisstärke und 19 % Maisstärke bei gleicher Gelfestigkeit (mittlere max. Kraft: 6,4 N) trotz unterschiedlicher Natriumfreisetzungsraten gleich bewertet wurde. Hier war offensichtlich die Textur das salzgeschmacksbestimmende Kriterium, die jedoch nicht nur durch die Gelfestigkeit bestimmt wurde, sondern auch von der Art des Polysaccharids und das dadurch induzierte Mundgefühl abhing. Im vorliegenden Beispiel enthielt die amylosereiche Maisstärke zusätzlich unlösliche Partikel aus retrogradierter Amylose, die trotz schnellerer Natriumfreisetzung zu einer weiteren Verringerung der wahrgenommenen Salzintensität beitrugen. Auf dieses Phänomen wird im Folgenden bei der Diskussion der Cellulose-Suspensionen noch genauer eingegangen.

Bei höheren Gelfestigkeiten (max. Kraft: 3,2 - 31,6 N, **Abbildung 83**) waren deutlichere Unterschiede in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität zu erkennen. Zudem konnte die Textur jedoch wiederum nicht das alleinige entscheidende Kriterium für die Salzwahrnehmung sein, da die beiden Parameter nicht miteinander korrelierten. 32 % amylopektinreiche Maisstärke zeigte bei vergleichbarer Gelfestigkeit (mittlere max. Kraft: 3,5 N) eine geringere Salzintensität als 0,8 % Agar, was mit der niedrigeren Natriumfreisetzung erklärt werden konnte. Die vergleichsweise höhere Salzintensität in 0,8 % Agar und die niedrigere Salzintensität in 32%iger Weizenstärke ließ sich in Kombination mit den jeweiligen Natriumfreisetzungsraten erklären. Dagegen zeigten 32 % Maisstärke und 2,4 % Agar bei vergleichbarer Textur (mittlere max. Kraft: 30,4 N) die gleiche Salzintensität, obwohl die Natriumfreisetzung aus 2,4 % Agar höher war. Dies stimmte sehr gut mit dem unter 3.3.5.2 beschriebenen Experiment bei gleicher Textur überein, da auch dort trotz unterschiedlicher Natriumfreisetzung kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Salzigkeit wahrgenommen werden konnte.

Insgesamt konnte neben der Konzentration an Polysaccharid somit die Textur als weiterer, salzgeschmacksbestimmender Parameter identifiziert werden. Die beobachteten sensorischen Ergebnisse ließen sich jedoch nur mit Hilfe einer Kombination aus Textur und Natriumfreisetzung erklären, weshalb im Folgenden noch genauer auf die Natriumfreisetzung eingegangen werden soll.

Bei Zusatz von 11 - 32 % Weizenstärke (**Abbildung 61**), 0,8 - 3,2 % Agar (**Abbildung 64**), 11 - 32 % amylopektinreicher Maisstärke (**Abbildung 67**) und 11 - 32 % Maisstärke (**Abbildung 68**) konnte die Verringerung der sensorisch wahrgenommenen Salzintensität mit einer niedrigeren Natriumfreisetzung erklärt werden. Die Korrelation war bei amylopektinreicher Maisstärke am stärksten ausgeprägt, sodass die Natriumfreisetzung der entscheidende Parameter für die Salzwahrnehmung war. Obwohl bei Weizenstärke, Maisstärke und Agar ebenfalls eine sehr deutliche Korrelation zwischen Salzwahrnehmung und Natriumfreiset-

zung zu erkennen war, konnte nicht das gesamte Ausmaß der Verringerung der Salzintensität allein aufgrund der geringeren Natriumfreisetzung erklärt werden, da besonders bei 1,6 - 3,2 % Agar etwa 85 % der Natriummenge nach einer Kaudauer von 5 s im Mund frei vorlag, während die Salzintensität auf 55 % fiel. Daraus war ersichtlich, dass die frei vorliegende Menge an Natrium nicht allein für die Verringerung der Salzintensität verantwortlich sein konnte.

Besonders klar wurde die Diskrepanz zwischen frei vorliegender Natriummenge und sensorischer Bewertung bei den viskosen Stärkelösungen, 11 - 32 % amylosereicher Maisstärke und den Cellulose-Suspensionen. Obwohl in allen genannten Modellsystemen 100 % der enthaltenen Natriummenge frei verfügbar vorlag, waren die wahrgenommenen Salzintensitäten auf bis zu lediglich 60 % in 32 % amylosereicher Maisstärke verringert. In allen viskosen Lösungen mit verschiedenen Stärke-Arten und Cellulose PF1000 ließ sich die Abnahme der wahrgenommenen Salzintensität mit der Erhöhung der Viskosität auf 200 mPa·s erklären. Der inhibierende Einfluss der Erhöhung der Viskosität von Lösungen auf die Geschmacksintensität wurde in der Literatur bereits vielfach beschrieben (*Moskowitz und Arabie, 1970; Pangborn, 1973; Kokini, 1987; Cook et al., 2002; Ferry et al., 2006 und Koliandris et al., 2008*). Der zugrundeliegende Mechanismus dieser Interaktion zwischen Geschmack und taktilen Stimuli ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Eine reduzierte Natriumfreisetzung und verringerte Mischbarkeit viskoser Lösungen mit Wasser wurden diskutiert (*Koliandris et al., 2008*), die den Transport der Geschmacksstoffe zu den Rezeptoren bzw. Ionenkanälen behindern. Ein ähnlicher Erklärungsansatz basierte auf der Verringerung des Anteils an freiem Wasser in HPMC-Lösungen (*Hollowood et al., 2002*). Da in allen untersuchten Lösungen die gesamte Natriummenge in Lösung frei vorlag, kam von diesen diskutierten Erklärungsmöglichkeiten nur ein durch die erhöhte Viskosität verlangsamter Transport von Natrium zu den Ionenkanälen in Frage. Außerdem konnten zusätzlich auftretende taktil-gustatorische Interaktionen sowie kognitive Assoziationen nicht ausgeschlossen werden.

Allerdings ließen sich vor allem in 2-AFC-Tests bei gleicher Viskosität in Bezug auf die Salzintensität trotzdem Unterschiede zwischen den verschiedenen Stärke-Arten und Cellulose PF1000 erkennen. Die Abnahme der Salzintensität war in Lösungen mit amylosereicher Maisstärke und Cellulose PF1000 am stärksten ausgeprägt. Der einzige Unterschied bestand jedoch darin, dass diese Lösungen zusätzlich suspendierte, unlösliche Partikel aus retrogradierter Amylose bzw. Cellulose enthielten. Das durch die Partikel verursachte kreideartige, raue Mundgefühl, besonders auf der Zunge, führte offensichtlich zu einer weiteren Reduktion der wahrgenommenen Salzintensität. Da in den viskosen Lösungen mit 200 mPa·s die geringere Salzwahrnehmung auf dem kombinierten Effekt der Viskosität und dem Vorhandensein von Partikeln beruhte, wurden weitere Cellulose-Suspensionen unter-

sucht, bei denen die Viskosität im Vergleich zu Wasser nur minimal erhöht war. Dadurch konnte der Einfluss der Viskosität auf die Salzgeschmackswahrnehmung ausgeschlossen und gezeigt werden, dass allein das Vorhandensein von unlöslichen Partikeln zu einer Reduktion der wahrgenommenen Salzintensität führte. Hier konnte somit auch ein verlangsamter Transport von Natrium zu den Ionenkanälen durch erhöhte Viskosität als Erklärung ausgeschlossen werden. Daher musste die verringerte Wahrnehmung auf taktil-gustatorischen Interaktionen im Mundraum, vor allem auf der Zunge, oder bei der Signalverarbeitung im Gehirn beruhen. Untersuchungen zum Einfluss unlöslicher, 2 - 230  $\mu\text{m}$  großer Siliciumdioxid- und Polystyrol-Partikel auf verschiedene Aroma- und Texturattribute von CMC-basierten Vanilledesserts fanden eine erhöhte Intensität der mit Rauigkeit assoziierten Attribute bei gleichzeitiger Abnahme vorteilhafter Attribute wie gleichmäßiges Fließverhalten, Cremigkeit und Fettigkeit. Sogar bei einer Partikelgröße von 2  $\mu\text{m}$  traten bereits diese signifikanten Effekte auf, die mit steigender Partikelgröße zunahm. Allerdings wurden keine Aussagen über einen möglichen Einfluss auf den Geschmack gemacht (*Engelen et al., 2005*).

Die Viskosität oraler Stimuli aktivierte den humanen, primären Geschmackscortex im vorderen *Cortex insularis* (*de Araujo und Rolls, 2004*), der ebenfalls durch gustatorische Stimuli aktiviert wird, sodass bereits im primären Geschmackscortex viskose und gustatorische Stimuli konvergieren. Darüber hinaus wurden durch viskose Stimuli Regionen im mittleren *Cortex insularis* aktiviert, die auf orale, somatosensorische Stimuli ansprechen (*de Araujo und Rolls, 2004*). Während im primären Geschmackscortex durch Viskosität und Geschmack verschiedene Neuronen angeregt wurden, liefen beide Signale in der Amygdala und im orbitofrontalen Cortex auf einzelne Neuronen zusammen (*Kadohisa et al., 2005, Rolls, 2005*). Diese Studien auf Basis von Neuronen und funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRI) belegen somit mögliche taktil-gustatorische Interaktionen im Gehirn. Die meisten Studien wurden mit viskosen Lösungen mit CMC durchgeführt, sodass die auf humansensorischer Ebene beobachteten Effekte zwischen Viskosität und Geschmack eine neuronale Repräsentation aufweisen. Interessanterweise wurden in allen drei Gehirnregionen, dem *Cortex insularis*, der Amygdala und dem orbitofrontalen Cortex Neuronen identifiziert, die auf grobkörnige Stimuli (harte, hohle Mikrokügelchen mit einem Durchmesser von 100 - 300  $\mu\text{m}$  in Methylcellulose bei einer Viskosität von 1000 cP) ansprachen, wobei die Aktivierung dieser Neuronen nicht auf die Viskosität zurückzuführen war (*Verhagen et al., 2004; Kadohisa et al., 2005*). Über mögliche Interaktionen zwischen Partikeln und Geschmack auf neuronaler Ebene konnten keine Aussagen getroffen werden, da die untersuchte Lösung geschmacklos war. Nachdem es sich um Neuronen in den gleichen Gehirnregionen handelte, die auch durch viskose und gustatorische Stimuli aktiviert wurden, erscheinen Interaktionen jedoch möglich. Die beschriebene Aktivierung von Neuronen durch grobkörnige Stimuli, unabhängig

von der Viskosität, liefert somit einen klaren Hinweis auf einen möglichen Einfluss von partikulären Stimuli auf die Geschmackswahrnehmung bei der Signalverarbeitung im Gehirn. Bislang fehlen allerdings detailliertere Untersuchungen auf neuronaler Ebene.

Neben der Konzentration des Polysaccharids, der Viskosität bzw. der Textur, der Geschwindigkeit der Natriumfreisetzung und dem Vorhandensein von unlöslichen Partikeln hatte natürlich die Art des Polysaccharids einen Einfluss auf die Salzwahrnehmung, da die Art des Polysaccharids wiederum die anderen Parameter inklusive des induzierten Mundgefühls beeinflusste (**Abbildung 77**). Studien an viskosen Lösungen mit Weizenstärke, Maisstärke und HPMC hatten bereits gezeigt, dass die Art des Polysaccharids einen Einfluss auf die Salzwahrnehmung hatte, wobei die Salzigkeit in HPMC-Lösungen bei vergleichbarer Viskosität am stärksten reduziert war. Dies wurde auf die schlechte Mischbarkeit mit Wasser und nicht allein auf die Viskosität (*Hollowood et al., 2002; Cook et al., 2003*), sondern das gesamte Mundgefühl zurückgeführt (*Ferry et al., 2006*). Am deutlichsten zeigte sich dies beim Vergleich der Salzwahrnehmung in verschiedenen Stärke-Arten und Cellulose bei gleicher Viskosität mittels 2-AFC-Tests (3.3.5.1). Die ermittelten Unterschiede bestätigten die Aussage, dass nicht die Viskosität, sondern das gesamte Mundgefühl entscheidend war, das seinerseits von der Art des Polysaccharids abhing. Während die vollständig homogene, viskose Lösung mit amylopektinreicher Maisstärke nur zu einer leichten Reduktion der Salzintensität führte, bewirkte das zusätzliche Vorhandensein von unlöslichen Partikeln aus retrogradierter Amylose oder Cellulose eine stärkere Inhibierung der Salzwahrnehmung. Die Gesamtheit der Untersuchungen bestätigte die Aussage, dass die Textur an sich eine sensorische Eigenschaft darstellt, die durch eine Vielzahl an Parametern beschrieben wird und sich von der Struktur des Lebensmittels ableitet (*Szczesniak, 2002*).

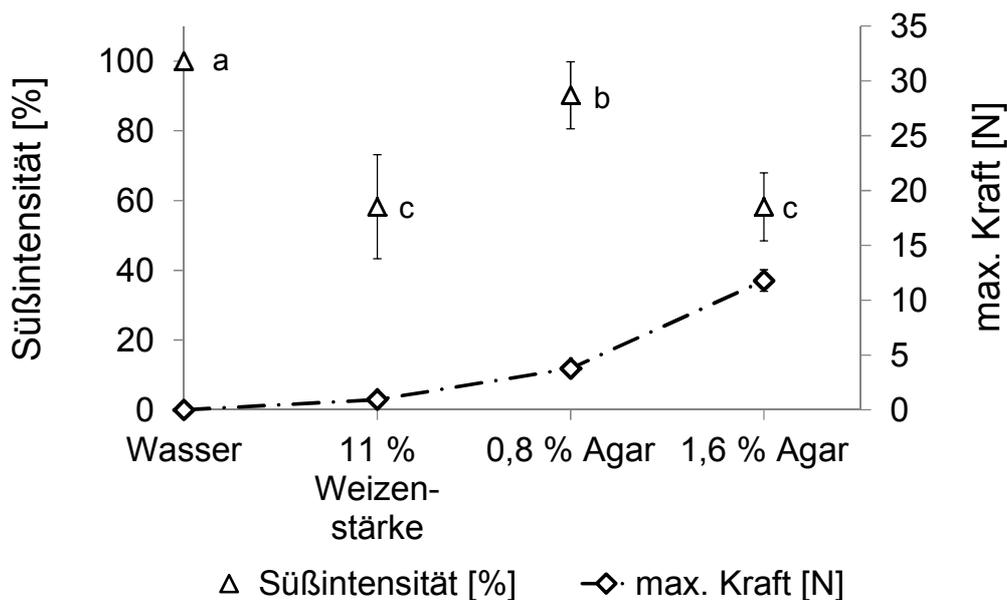
Unter Berücksichtigung aller Ergebnisse hing die wahrgenommene Salzintensität vom komplexen Zusammenspiel aus Art und Konzentration des Polysaccharids, Viskosität bzw. Textur, Natriumfreisetzung, dem Vorhandensein von unlöslichen Partikeln und dem gesamten Mundgefühl ab. Als Erklärung für die beobachteten Phänomene dienten zum einen die instrumentell-analytisch bestimmten Parameter wie Viskosität, Gelfestigkeit und Natriumfreisetzung. Da diese allein aber nicht alle Effekte erklären konnten, fanden sich zum anderen Hinweise auf taktil-gustatorische Wechselwirkungen bei der Signalverarbeitung im Gehirn sowie auf mögliche kognitive Assoziationen.

### 3.4 Wahrnehmung von anderen Geschmacksarten in Modellsystemen

Nach den zahlreichen Untersuchungen zur Wahrnehmung des Salzgeschmacks in Polysaccharid-Gelen, Lösungen und Suspensionen als Modellsystemen war die Frage, ob auch andere Geschmacksarten dadurch beeinflusst werden können. Besonders interessant war die Frage, ob die durch G-Protein gekoppelte Geschmacksrezeptoren vermittelten Geschmacksrichtungen wie süß, bitter und umami ebenfalls inhibiert werden können, oder ob es sich um einen salzspezifischen Effekt handelte, da die Wahrnehmung des Salzgeschmacks über Ionenkanäle wie den epithelialen Natriumkanal (ENaC) erfolgt. Daher wurde der Süßstoff Sucralose (E 955) mit einer sehr hohen Süßkraft ausgewählt, um zunächst den Einfluss der Textur auf die Süßwahrnehmung zu untersuchen.

#### 3.4.1 Süßgeschmackswahrnehmung in Weizenstärke- und Agar-Gelen

In Analogie zu den sensorischen Studien zur Wahrnehmung des Salzgeschmacks wurde vom Sensorikpanel eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für Sucralose in Wasser erstellt. Bei zwei ausgewählten Sucralose-Konzentrationen (157,2 und 628,7  $\mu\text{mol/L}$ ) wurde die wahrgenommene Süßintensität in 11 % Weizenstärke sowie 0,8 und 1,6 % Agar bewertet. In 11 % Weizenstärke war die mittlere Süßintensität nur noch  $58 \pm 10$  % im Vergleich zu 100 % in Wasser. In 0,8 % Agar lag die mittlere Süßintensität bei  $90 \pm 9$  % und in 1,6 % Agar bei  $58 \pm 9$  % (**Abbildung 84**).



**Abbildung 84:** Süßintensität [%] bei 628,7  $\mu\text{mol}$  Sucralose/L und maximale Kraft [N] als Maß für die Texturfestigkeit in 11 % Weizenstärke, 0,8 % und 1,6 % Agar.

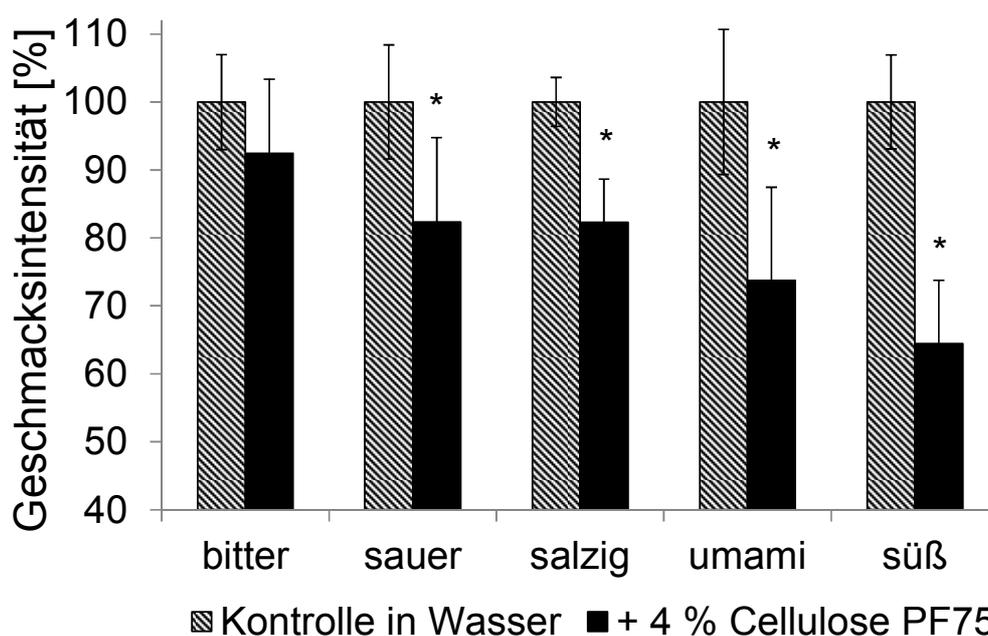
Vergleicht man die prozentualen Süßintensitäten mit den prozentualen Salzintensitäten (Kapitel 3.3.1 und 3.3.2: 11 % Weizenstärke:  $64 \pm 11$  %, 0,8 % Agar:  $67 \pm 8$  %, 1,6 % Agar:  $56 \pm 5$  %), lagen die Werte für 11 % Weizenstärke und 1,6 % Agar im gleichen Bereich. Nur für 0,8 % Agar war die Abnahme der Süßintensität im Vergleich zur Salzintensität weniger deutlich.

### 3.4.2 Geschmackswahrnehmung in Cellulose-Suspensionen

Da in den Weizenstärke- und Agar-Gelen mit Sucralose eine Reduktion der wahrgenommenen Süßintensität gezeigt werden konnte, wurden weitere Untersuchungen in Suspensionen von 4 % Cellulose PF75 durchgeführt, da die gesamte Menge Sucralose in diesen Suspensionen frei vorlag und somit die Geschmackswahrnehmung nicht durch eine verzögerte Freisetzung oder durch Wechselwirkungen mit der Gelstruktur beeinträchtigt werden konnte. 4 % Cellulose PF75 wurde als besonders geeignet angesehen, da hier für die Salzwahrnehmung bereits eine signifikante Reduktion der wahrgenommenen Intensität auftrat, während gleichzeitig die Viskosität der Suspension nur minimal erhöht war (Kapitel 3.3.4.1). Zusätzlich zur Süßintensität wurden auch die anderen Geschmacksmodalitäten bitter, umami und sauer mit einbezogen. Zunächst wurden drei weitere Dosis-Wirkungs-Kurven mit Koffein für den Bitter-, Mononatriumglutamat (MSG) für den Umami- und Zitronensäure für den Sauergeschmack vom Panel bewertet. Anschließend wurden jeweils drei Konzentrationen für den jeweiligen Geschmacksstoff ausgewählt (0,63, 1,25 und 2,50 mmol/L für Koffein, 3,75, 7,50 und 15,00 mmol/L für MSG und 4,88, 9,75 und 19,50 mmol/L für Zitronensäure), damit die

Geschmacksmodalitäten zwar deutlich wahrnehmbar, aber nicht zu stark waren. Die gewählten Konzentrationen wurden mit 4 % Cellulose PF75 versetzt und die erhaltene Suspension im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve bewertet. Die Lösung mit der gleichen Konzentration an Geschmacksstoff ohne Cellulose diente als Kontrolle, wobei je die Hälfte der Panelisten die Lösung mit Cellulose und die andere Hälfte der Panelisten die Lösung ohne Cellulose zuerst verkosteten, um einen möglichen Effekt der Reihenfolge der Probenpräsentation auszuschließen. **Abbildung 85** zeigt die wahrgenommenen Geschmacksintensitäten in 4%igen Cellulose PF75-Suspensionen im Vergleich zur Kontrolle ohne Zusatz von Cellulose.

Einzig die Bitterintensität von Koffein war in 4 % Cellulose PF75 nicht signifikant reduziert. Alle anderen Geschmacksrichtungen wurden in den Suspensionen mit 4 % Cellulose PF75 als signifikant weniger intensiv empfunden. Der Effekt war bei Zitronensäure am wenigsten stark ausgeprägt (Sauerintensität:  $86 \pm 10$  %), gefolgt von Natriumchlorid (Salzintensität:  $84 \pm 6$  %). Bei Mononatriumglutamat (Umami-Intensität:  $73 \pm 13$  %) und Sucralose (Süßintensität:  $67 \pm 9$  %) zeigte sich die deutlichste Reduktion der Geschmacksintensität.



**Abbildung 85:** Geschmacksintensität [%] in 4 % Cellulose PF75 im Vergleich zu wässriger Lösung ohne Cellulose für die Geschmacksrichtungen bitter (2,5 mmol Koffein/L), sauer (19,5 mmol Zitronensäure/L), salzig (109,7 mmol NaCl/L), umami (15,0 mmol Mononatriumglutamat/L) und süß (628,7  $\mu$ mol Sucralose/L). Die Werte sind wie folgt dargestellt: Mittelwert von 8 Panelisten in dreifacher Wiederholung  $\pm$  Standardabweichung; „\*“ bezeichnet statistisch signifikante Unterschiede (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test,  $p \leq 0,05$ , **Tabelle 56**).

Somit konnte gezeigt werden, dass die Verringerung der wahrgenommenen Geschmacksintensität nicht auf Salzigkeit beschränkt war, sondern auch bei der Sauer-, Umami- und Süßgeschmackswahrnehmung auftrat. Die einzige Ausnahme war hierbei der Bittergeschmack, für den keine signifikante Reduktion feststellbar war.

### 3.4.3 Diskussion

Die verringerte Wahrnehmung der Geschmacksrichtungen sauer, umami und süß mit Ausnahme von bitter in 4%igen Cellulose PF 75-Suspensionen zeigte, dass der unterdrückende Effekt auf den Geschmack nicht auf die Salzwahrnehmung beschränkt war. Aus der Literatur sind zahlreiche Studien zu den Wechselwirkungen zwischen Geschmack und Viskosität bekannt (*Keast und Breslin, 2002; Delwiche, 2004; Tournier et al., 2007*), wobei zum Süßgeschmack die meisten Untersuchungen vorliegen. Der Zusatz von steigenden Mengen Carboxymethylcellulose zur Viskositätserhöhung führte zu einer Abnahme der Geschmacksintensität, wobei kein Unterschied zwischen bitter, sauer, süß und salzig festgestellt wurde (*Moskowitz und Arabie, 1970*). Der Zusatz von Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) in Mengen oberhalb der sogenannten „random coil overlap concentration“ ( $c^*$ ) führte ebenfalls zu einer Abnahme der Süßintensität (*Hollowood et al., 2002; Cook et al., 2002*) und der Salzintensität, wobei die Sauer- und Bitterintensität nicht signifikant beeinflusst wurden (*Cook et al., 2002*). Dies stimmt gut mit den hier erzielten Ergebnissen überein, da die Bitterintensität in 4 % Cellulose PF75 ebenfalls nicht signifikant beeinflusst wurde und die Sauerintensität im Vergleich zu den anderen Geschmacksrichtungen am wenigsten abnahm. Bisher nicht untersucht war jedoch der Einfluss auf die Geschmackswahrnehmung von unlöslichen, suspendierten Partikeln mit einer nur sehr geringfügigen Zunahme der Viskosität um 0,6 mPa·s, da die aus der Literatur bekannten Untersuchungen stets in Hydrokolloid-Lösungen mit deutlich höherer Viskosität durchgeführt wurden. Somit konnte gezeigt werden, dass allein das Vorhandensein von unlöslichen Partikeln bereits einen signifikanten Einfluss auf die Geschmackswahrnehmung hatte.

Außerdem zeigten die Ergebnisse, dass die Geschmackswahrnehmung nicht direkt auf Rezeptorebene inhibiert werden kann, da nicht nur der über Ionenkanäle vermittelte Sauer- und Salzgeschmack, sondern auch der über metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren vermittelte Süß- und Umamigeschmack beeinflusst wurde, während der ebenfalls über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren vermittelte Bittergeschmack nicht beeinflusst wurde. *Cook et al. (2002)* kamen zu der gleichen Schlussfolgerung und machten psychologische Interaktionen für die beobachteten Unterschiede verantwortlich. Der vor allem als Warnung vor der Aufnahme von toxischen Substanzen dienende Bittergeschmack wurde nicht durch das Vorhandensein von Partikeln gehemmt. Wenn man vom Ausmaß des inhibierenden Effekts aus-

geht, wurden weniger angenehme oder sogar aversive Geschmacksarten wie sauer und bitter mit Cellulose fast oder genauso stark wahrgenommen wie ohne Cellulose, während angenehme Geschmacksempfindungen wie salzig, umami und süß stärker beeinflusst wurden. Nachdem aufgrund der im Vergleich zu Wasser kaum erhöhten Viskosität ein verlangsamter Transport der Geschmacksstoffe ebenfalls ausgeschlossen werden kann, konnten diese durch das kreideartige, partikuläre Mundgefühl der Cellulose hervorgerufenen Unterschiede in der sensorischen Wahrnehmung nur auf taktil-gustatorischen Interaktionen während der Signalverarbeitung im Gehirn basieren (siehe 3.3.6).

Kognitive Assoziationen (*Rolls, 2005; Bult et al., 2007*) könnten auch eine Rolle spielen, da die Cellulose-Suspensionen allgemein als unangenehm empfunden wurden, sodass der Bittergeschmack in Kombination mit der Cellulose-Suspension zwar negative, aber kongruente Assoziationen hervorrief. Im Gegensatz dazu induzierten angenehme Geschmacksqualitäten und Cellulose-Suspensionen inkongruente Assoziationen, die wiederum zu einer Verringerung der Wahrnehmung der positiv assoziierten Geschmacksempfindung beitragen konnten.

## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Chemikalien und Materialien

#### Chemikalien

Aceton, Sigma-Aldrich, Steinheim

Acetonitril LiChrosolv, Merck, Darmstadt

Agar-Agar, Dragonspice Naturwaren, Reutlingen

$\alpha$ -Amylase aus *Aspergillus oryzae* (10065, 35.7 U/mg), Sigma-Aldrich, Steinheim

Amylose from potato, Sigma-Aldrich, Steinheim

Ascorbinsäure, Merck, Darmstadt

$\beta$ -Casein,  $\geq 90$  %, Sigma-Aldrich, Steinheim

$\beta$ -Lactoglobulin,  $\approx 90$  %, Sigma-Aldrich, Steinheim

Bicinchoninsäure-Lösung, Sigma-Aldrich, Steinheim

BIS-TRIS-Propan, Sigma-Aldrich, Steinheim

Cellulose (Jelucel<sup>®</sup> PF30, PF75, PF150), JELU-Werk, Rosenberg

Cellulose (Jelucel<sup>®</sup> PF300, PF1000X, PF2000), JELU-Werk, Rosenberg

DATEM (Lametop<sup>®</sup> 300), Cognis, Illertissen

Dikaliumhydrogenphosphat, Merck, Darmstadt

Dithiothreitol, Sigma-Aldrich, Steinheim

Eisessig, Merck, Darmstadt

Ethanol, Merck, Darmstadt

Fluoresceinisothiocyanat, Sigma-Aldrich, Steinheim

Glutaraldehyd-Lösung (25 %), Sigma-Aldrich, Steinheim

Glycin, Merck, Darmstadt

Kaliumchlorid puriss., Sigma-Aldrich, Steinheim

Kaliumdihydrogenphosphat, Merck, Darmstadt

Kaliumhydroxid, Merck, Darmstadt

Koffein, Merck, Darmstadt

Kupfer-(II)-sulfat Pentahydrat-Lösung (4 %, w/v), Sigma-Aldrich, Steinheim

Methanol LiChrosolv, Merck, Darmstadt

Methansulfonsäure, Sigma-Aldrich, Steinheim

Mikropartikel, magnetisch, amino-funktionalisiert, Sigma-Aldrich, Steinheim

Mononatriumglutamat, Sigma-Aldrich, Steinheim

Natriumchlorid, Sigma-Aldrich, Steinheim

Natriumchlorid, grobkörnig, 1,5 - 2 mm, esco-Salt, Hannover

Natriumhydrogencarbonat, Sigma-Aldrich, Steinheim

Natriumhydroxid, Sigma-Aldrich, Steinheim

Patentblau V, Calciumsalz, Sigma-Aldrich, Steinheim

2-Propanol, Sigma-Aldrich, Steinheim

Pyridin, Sigma-Aldrich, Steinheim

Rhodamin B, Sigma-Aldrich, Steinheim

Saccharose, Merck, Darmstadt

Salzsäure 25 %, Merck, Darmstadt

SBFI-AM, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA

Stärke aus Mais (Wachsmaisstärke, amylopektinreich), Sigma-Aldrich, Steinheim

Stärke aus Mais, Sigma-Aldrich, Steinheim

Stärke aus Mais (amylosereich), Sigma-Aldrich, Steinheim

Stärke aus Weizen, Sigma-Aldrich, Steinheim

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris), Merck, Darmstadt

Zitronensäure Monohydrat, Sigma-Aldrich, Steinheim

## **Materialien**

Frischhefe, Wieninger, Passau

Weizenmehl, cv. Tommi, Ernte 2008, Nordsaat, Langenstein

Weizenmehl, Type 550, Rosenmühle, Ergolding

Mikrotiterplatten, BRAND, Wertheim

Mikrotiterplatten, Abdeckfolien, Carl Roth, Karlsruhe

## 4.2 Mehl

### 4.2.1 Mehlcharakterisierung

Die Bestimmung des Wassergehalts erfolgt nach der ICC-Standardmethode Nr. 110 durch Trocknung bei 130 °C. Der Aschegehalt wird nach der ICC-Standardmethode Nr. 104 nach Glühen bei 900 °C ermittelt. Der Stickstoffgehalt wird nach der Methode von Dumas (ICC-Standardmethode Nr. 167) mit einem Stickstoffanalysator FP328 (Leco, Kirchheim) gemessen und der Proteingehalt berechnet (Faktor 5,7).

### 4.2.2 Modifizierte Osborne-Fraktionierung

#### 4.2.2.1 Entfettung

100 g Mehl werden dreimal mit jeweils 250 mL Pentan/Ethanol (95/5; v/v) und anschließend einmal mit 250 mL Pentan entfettet, wobei das Mehl pro Extraktionsschritt 30 min gerührt wird. Das Mehl/Lösungsmittelgemisch wird 15 min zentrifugiert (3750 g, 20 °C), der Überstand abdekantiert, filtriert und am Rotationsverdampfer bei max. 30 °C vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand (das entfettete Mehl) wird über Nacht bei Raumtemperatur auf Filterpapier getrocknet, fein verrieben und im Vakuum über Phosphorpentoxid vollständig getrocknet.

#### 4.2.2.2 Albumine

50 g des entfetteten Mehles werden in einen Metallzentrifugenbecher eingewogen. Die Extraktion der Albumine erfolgt dreimal mit jeweils 200 mL bidest. Wasser. Das Gemisch wird 5 min mit dem Ultra-Turrax homogenisiert, 25 min zentrifugiert (3750 g, 20 °C) und die erhaltenen Überstände werden vereinigt.

#### 4.2.2.3 Globuline

Der Rückstand der Albuminextraktion wird dreimal mit je 200 mL der modifizierten Osborne-Salzlösung (0,067 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH 7,6; 0,4 mol/L KCl), wie in 4.2.2.2 beschrieben, extrahiert.

#### 4.2.2.4 Gliadine

Aus dem Rückstand der gemeinsamen Albumin-/Globulinextraktion mit modifizierter Osborne-Salzlösung werden die Gliadine mit dreimal je 200 mL 60%igem Ethanol (v/v), wie in 4.2.2.2 beschrieben, extrahiert. Die vereinigten Überstände werden am Rotationsverdampfer bei 30°C eingengt, wobei darauf geachtet wird, dass der Vorgang abgebrochen wird, bevor die Gliadine aggregieren und ausfallen.

#### 4.2.2.5 Glutenine

Der Rückstand der Gliadinextraktion (4.2.2.4) wird unter Stickstoffatmosphäre dreimal mit je 200 mL 0,1 mol/L Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan/HCl (pH 7,5)/Isopropanol 1+1 (v/v) mit 10 mg Dithiothreitol/mL extrahiert. Die Extraktion erfolgt wie für die Albumine (4.2.2.2), mit dem Unterschied, dass nach der Ultra-Turrax-Behandlung 30 min bei 60 °C (Wasserbad) gerührt wird.

Die erhaltenen Globulin-, Gliadin- und Gluteninlösungen werden in Dialyseschläuche gefüllt, die zuvor mindestens eine Stunde lang in 50%iger Essigsäure eingelegt worden sind. Die Lösungen werden drei Tage lang gegen 0,01 mol/L Essigsäure dialysiert, die dreimal täglich ausgewechselt wird. Nach Prüfung des Dialysats auf Chloridfreiheit mit Silbernitrat werden die dialysierten Proteinlösungen drei Tage lang gefriergetrocknet. Die erhaltenen Proteine werden im Mörser vorsichtig verrieben und bei -18 °C aufbewahrt.

### 4.2.3 Amino-funktionalisierter Magnetic Beads Assay

Amino-funktionalisierte Magnetic Beads liegen als wässrige Suspension superparamagnetischer Eisenoxidpartikel (Durchmesser: 1 µm) vor, deren Oberfläche mit freien, primären Aminogruppen beschichtet ist. Die Proteine werden mittels Glutaraldehyd als Vernetzungsreagenz kovalent gebunden, wobei die Kopplungseffizienz 10 mg Protein/mL Bead Suspension beträgt. Nach der kovalenten Bindung an die Magnetic Beads bleibt die Enzymaktivität größtenteils intakt, sodass auf einen weitgehenden Erhalt der Tertiärstruktur geschlossen werden kann (*Weston und Avrameas, 1971*). Die gesamte Funktionsweise des Assays ist schematisch in **Abbildung 13** (Kapitel 3.2.1.2) dargestellt.

#### 4.2.3.1 Kovalente Bindung der Proteine an die Magnetic Beads

2,5 mL der Magnetic Beads-Suspension werden mit 12,5 mL bidest. Wasser versetzt, mittels Vortex homogenisiert und in einen Magneten gestellt, damit sich die paramagnetischen Beads an der Wand des Sovirelglases absetzen können. Die überstehende Lösung wird abpipettiert und verworfen (→ waschen). Dieser Vorgang wird noch zweimal mit bidest. Wasser wiederholt. Anschließend wird dreimal mit 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer (pH 6,0) gewaschen.

Zur Aktivierung der Beads werden 5 mL 5%ige Glutaraldehydlösung zugegeben und 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Der Überstand wird verworfen und die Beads dreimal mit 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer gewaschen.

100 mg Protein ( $\beta$ -Lactoglobulin,  $\beta$ -Casein, Weizenalbumine, -globuline und -gliadine) werden in 10 mL 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer bzw. 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer/Ethanol (40/60; v/v; für Weizengliadine) gelöst. 1 mL dieser Lösung wird als „pre-coupling“ Lösung entnommen. 2,5 mL der Proteinlösung werden zu den aktivierten Magnetic Beads gegeben und 22 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach magnetischer Abtrennung der Beads werden 200  $\mu$ L des Überstands als „post-coupling“ Lösung aufbewahrt. Der restliche Überstand wird verworfen, die Beads mit 12,5 mL Glycin Quenching Lösung (1,0 mol/L Glycin/KOH, pH 8,0) versetzt und 30 min geschüttelt. Nach Entfernung der Glycin Quenching Lösung werden die Magnetic Beads dreimal mit 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer gewaschen. Der Pyridin/HCl-Puffer wird komplett abpipettiert, die Beads im entsprechenden Volumen 0,1 mol/L BIS-TRIS-Propan/HCl-Puffer (pH 5,0; pH 7,0; pH 9,0) aufgenommen und in Braunglas bei 4 °C höchstens eine Woche gelagert.

#### 4.2.3.2 Bestimmung der Bindungseffizienz mittels BCA-Assay

Zur Bestimmung der Konzentration an gebundenem Protein wird die BCA-Reaktion (*Smith et al., 1985*) verwendet. Der BCA-Assay Kit besteht aus Reagenz A (Bicinchoninsäure, Natriumcarbonat, Natriumtartrat und Natriumbicarbonat in 0,1 mol/L Natronlauge) und Reagenz B (Kupfer-(II)-sulfat Pentahydrat-Lösung 4%ig). Um eine Kalibriergerade zu erstellen, werden 20 mg des jeweiligen Proteins ( $\beta$ -Lactoglobulin,  $\beta$ -Casein, Weizenalbumine, -globuline und -gliadine) in einen 20 mL Messkolben eingewogen, mit 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer bzw. 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer/Ethanol (40/60; v/v; für Weizengliadine) aufgefüllt und zweimal getrennt 1:6, 1:3, 1:2, 1:1,5 und 1:1,2 verdünnt. Die „pre-coupling“ Lösung wird 1:10 und die „post-coupling“ Lösung 1:2 verdünnt. Von allen Lösungen werden jeweils 10  $\mu$ L in Doppelbestimmung in die 96 Kavitäten einer Mikrotiterplatte pipettiert, wobei der 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer bzw. 0,01 mol/L Pyridin/HCl-Puffer/Ethanol (40/60; v/v; für Weizengliadine) in den Randkavitäten als Leerwert dient. Nach Zugabe von 200  $\mu$ L Kupfersulfat-Bicinchoninsäure-Lösung (Reagenz A + B, 25 + 0,5; v/v) wird die Mikrotiterplatte zugeklebt und 30 min im Wasserbad bei 37 °C inkubiert. Nach 2-minütiger Abkühlung auf Raumtemperatur wird die Extinktion der violetten Lösungen bei 562 nm im ELISA-Reader (FLUOstar OPTIMA, BMG Labtech, Ortenberg) gemessen und der Gehalt an Protein über die erstellte Kalibriergerade berechnet. Aus der Differenz der Proteinkonzentrationen der „pre-coupling“ und der „post-coupling“ Lösungen ergibt sich die Menge an Protein, die an die Magnetic Beads gebunden hat, sodass das benötigte Volumen BIS-TRIS-Propan-Puffer berechnet

werden kann, damit die Endkonzentration stets  $2 \cdot 10^{-4}$  mmol Protein/mL Puffer beträgt. Die Kopplungseffizienz der verwendeten Proteine lag stets bei mehr als 57 %.

#### 4.2.3.3 Inkubation der an die Magnetic Beads gebundenen Proteine mit NaCl-Lösung

Zur Bestimmung der Natriumbindung der Proteine werden unterschiedliche Volumina der mit Protein beladenen Magnetic Beads mit NaCl-Lösung inkubiert. 10 mg NaCl werden in 10 mL BIS-TRIS-Propan/HCl-Puffer (0,1 mol/L, pH 5,0; pH 7,0; pH 9,0) gelöst und 1:20 verdünnt. 500  $\mu$ L der NaCl-Lösung werden in ein 1,5 mL Vial pipettiert, unterschiedliche Volumina mit Proteinen beladene Beads (50 - 500  $\mu$ L) zugegeben und mit Puffer auf ein konstantes Volumen von 1000  $\mu$ L ergänzt. 500  $\mu$ L NaCl-Lösung mit 500  $\mu$ L Puffer dienen als Leerwert. Nach gründlichem Durchmischen aller Lösungen (Vortex) wird 15 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Mit Hilfe eines Magneten werden die Magnetic Beads abgetrennt, der Überstand wird in ein neues Vial überführt und mittels Kationenchromatographie (4.7.2.1) über externe Kalibrierung die Konzentration an Natriumionen bestimmt. Die Auswertung der Messungen erfolgt durch Bildung der Differenz zwischen Leerwert und gemessenem Wert, da dies der Konzentration der an die Proteine gebundenen Natriumionen entspricht.

## 4.3 Brotherstellung

Alle prozentualen Angaben [%] beziehen sich stets auf die Mehlmenge [g/100 g Weizenmehl].

### 4.3.1 Normalbackversuch

Die Brote werden aus 300 g Mehl (Weizenmehl T550, Rosenmühle, Ergolding) zusammen mit 1 % Saccharose, 7 % Frischhefe und 0 - 6 % NaCl gebacken. Alle Zutaten werden nach Zugabe von dest. Wasser 8 min bei 60 U/min in einem Farinograph (Brabender, Duisburg) bei 22 °C zum Teigoptimum von 550 BU geknetet. Der Teig wird 20 min bei 30 °C in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre ruhen gelassen, gewirkt, gewogen, einer zweiten 40-minütigen Gare unterworfen und 28 min bei 230 °C ( $2 \times 25$  mL dest. Wasser Schwadengabe) gebacken. Nach einer Abkühlzeit von 2 h werden die Brote gewogen, das Volumen bestimmt (4.7.4) und zur Texturmessung (4.7.5.1) in 1,5 cm dicke Scheiben geschnitten. Die Lagerung erfolgt in luftdichten Gefrierbeuteln bei -18 °C.

### 4.3.2 Backversuch mit grobkörnigem Salz

#### 4.3.2.1 Optimierung des Verhältnisses fein-/grobkörniges NaCl

Eine inhomogene Natriumverteilung in Brotkrume wird erzielt, indem ein Grundteig mit 0,5, 0,25, 0,1 oder 0 % NaCl angeteigt wird und 30 s vor Ende der Knetzeit 1, 1,25, 1,4 oder 1,5 % grobkörniges NaCl zugesetzt werden, sodass der Gesamtsalzgehalt stets 1,5 % NaCl beträgt (**Tabelle 17**). Der fertige Teig wird, wie in 4.3.1 beschrieben, weiter verarbeitet.

**Tabelle 17:** Zusammensetzung der verschiedenen Brote mit grobkörnigem (gk) NaCl.

Bezeichnung	NaCl [%]	Grobkörniges NaCl [%]
Referenz	1,5	0
0,5/1,0 % gk	0,5	1,0
0,25/1,25 % gk	0,25	1,25
0,1/1,4 % gk	0,1	1,4
0/1,5 % gk	0	1,5

#### 4.3.2.2 Indirekte Visualisierung der Natriumverteilung durch mit Patentblau V gefärbte NaCl-Kristalle

Zur Sichtbarmachung der inhomogenen Natriumverteilung in Brotkrume werden 54 g NaCl in 150 mL bidest. Wasser gelöst, um eine gesättigte Lösung zu erhalten. Nach kurzem Aufkochen wird die heiße Lösung in ein neues, sehr sauberes Becherglas filtriert und mit 0,5 g Patentblau V Calciumsalz angefärbt. Ein Stück Nylonfaden dient als Kristallisationskeim und nach erneutem Filtrieren wird das Becherglas mit Aluminiumfolie mit kleinen Löchern abgedeckt und 2 Monate an einem ruhigen Ort bei einer konstanten Temperatur von 22 °C aufbewahrt. Die entstandenen Kristalle werden bei Raumtemperatur getrocknet und durch ein 2 mm Sieb gegeben, sodass man eine grobkörnige Fraktion mit einer Korngröße > 2 mm erhält. Um den Gehalt an Patentblau V in allen Backversuchen konstant zu halten, wird die grobkörnige Fraktion vorsichtig in einem Mörser zerstoßen und erneut gesiebt, sodass eine feinkörnige Fraktion mit einer Korngröße < 2 mm erhalten wird. Zur Quantifizierung des Gehalts an Patentblau V in den NaCl-Kristallen werden 50 - 150 mg der blauen Kristalle in 25 mL Messkolben eingewogen und in dest. Wasser gelöst. Die Extinktion der Lösungen wird bei 638 nm in einem UV-VIS Spektrophotometer (UV-2401 PC, Shimadzu, Kyoto, Japan) gemessen. Die 5-Punkt Kalibrierung erfolgt extern gegen dest. Wasser als Leerwert und alle Messungen werden in Dreifachbestimmung durchgeführt.

Die Brote werden mit gefärbten NaCl-Kristallen anstelle von normalen, ungefärbten NaCl-Kristallen, wie in 4.3.2.1 beschrieben, gebacken.

### 4.3.3 Backversuche mit veränderter Textur

Brote mit veränderter Textur werden zum einen durch Veränderung der Standardgärzeiten von 20 und 40 min erhalten. Eine feste, feinporige Brotkrume ergibt sich, wenn beide Gärzeiten entfallen und der Teig nach einer kurzen Ruhezeit von 5 min bei Raumtemperatur sofort gebacken wird (0/0 min-Brot). Dagegen resultiert eine lockere, grobporige Brotkrume, wenn die Gärzeiten auf 90 und 120 min verlängert werden (90/120 min-Brot).

Zum anderen wird die Krumtextur durch Zusatz von  $\alpha$ -Amylase (aus *Aspergillus oryzae*, 35.7 U/mg, Zusatz von 5 mg/100 g Mehl als wässrige Lösung) und DATEM (Lametop® 300: 80 % Diacetylweinsäureester von Mono- und Diacylglyceriden (DATEM) und 20% Calciumcarbonat als Antiagglomerationsmittel, Zusatz von 0,6 g/100 g Mehl als Feststoff) bei den Standardgärzeiten modifiziert.

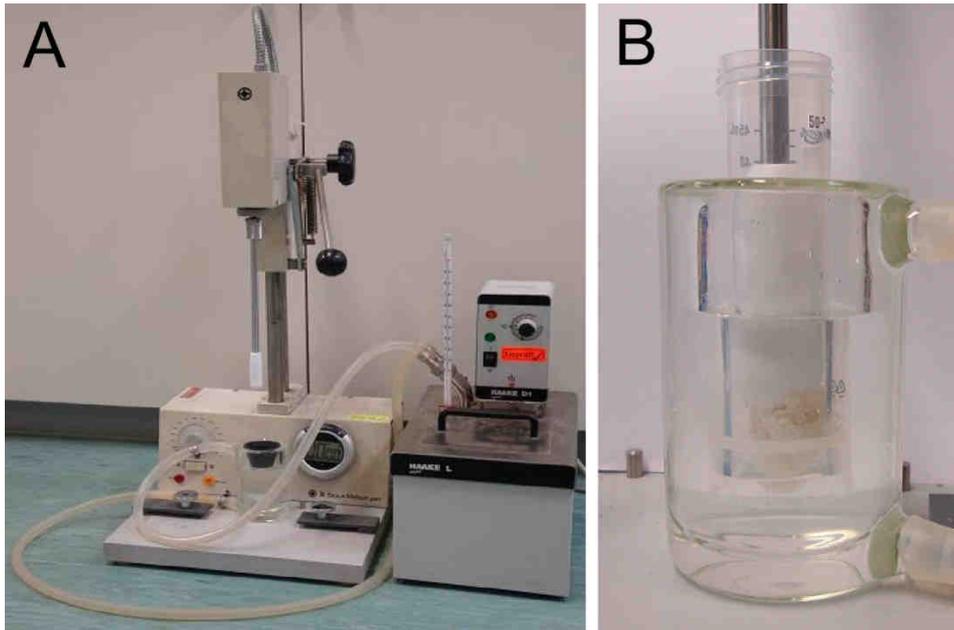
## 4.4 Bestimmung der zeitabhängigen, quantitativen Natriumfreisetzung aus Brotkrume

### 4.4.1 Diskontinuierliche Messmethode im Mund

Nach 1-minütigem Spülen des Mundraums mit Mineralwasser werden 3 g Brotkrume 5, 10, 15, 30 und 60 s lang im Mund gekaut. Der Kaubrei wird ausgespuckt, zentrifugiert (3750 g, 10 min, 20 °C) und die Natriumkonzentration im Überstand mittels ISE (4.7.2.4) quantifiziert. Zwei Panelisten führen jeweils eine Dreifachbestimmung durch.

### 4.4.2 Diskontinuierliche Messmethode im Kaumodell

Die Kaubewegung wird mit Hilfe eines modifizierten Potter S Homogenisators (B. Braun Melsungen AG, Melsungen) durch Kombination einer automatisierten Rotation (150 U/min) und einer manuellen Auf- und Abbewegung (1/s) eines PTFE-Stempels simuliert (**Abbildung 86**).



**Abbildung 86:** Kaumodell. **A:** Modifizierter Potter S Homogenisator mit thermostatierbarem Wasserbad. **B:** Nahaufnahme des Zentrifugenröhrchens im Wasserbad mit Brotkrume und rotierendem PTFE-Stempel.

3 g Brotkrume werden in ein Zentrifugenröhrchen eingewogen, das in einem Wasserbad auf 37 °C temperiert und 1 min mit 5 mL Extraktionsmittel (bidest. Wasser, 0,1 mol/L Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (pH 7 oder 9), künstlichem Speichel: 0,85 g/L NaCl, 0,13 g/L  $K_2HPO_4$ , 1,2 g/L KCl, 0,17 g/L  $CaCl_2 \times 2 H_2O$  und 0,107 g/L  $MgCl_2 \times 6 H_2O$ ; mit und ohne  $\alpha$ -Amylase (200 000 U/L), oder Humanspeichel von zwei Panelisten) extrahiert wird. Die erhaltenen Kaubreie werden zentrifugiert (3750 g, 10 min, 20 °C) und der Natriumgehalt im Überstand mittels IC (4.7.2.1), AAS (4.7.2.2) oder ISE (4.7.2.4) gemessen. Leerwerte werden auf gleiche Weise durch Extraktion des Brots ohne NaCl erhalten. Alle Messungen werden in Dreifachbestimmung durchgeführt.

Für die diskontinuierliche, zeitabhängige Messung der Natriumfreisetzung im Kaumodell werden 3 g Brotkrume 5, 10, 15, 30 und 60 s mit Humanspeichel von zwei Panelisten, wie oben beschrieben, extrahiert, wobei die Speichelmenge jeweils an die im Mund sekretierte Menge angepasst wird.

#### 4.4.3 Kontinuierliche Messmethode im Mund

3 g Brotkrume werden 60 s im Mund gekaut, wobei die Kaufrequenz mit Hilfe eines Metro-noms auf 72 Kaubewegungen pro Minute festgelegt wird. Während des Kauens wird ein Sa-tinband (Breite: 3 mm) von einem Motor mit einer Geschwindigkeit von 1,1 cm/s durch den Mund gezogen. Das Satinband wird anschließend in 5,5 cm lange Stücke geschnitten, die

somit einer Kaudauer von 5 s entsprechen. Diese Stücke werden 5 min in einem Vortex-Mixer mit 5 mL TRIS-Puffer (0,5 mol/L Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan, pH 7,0) extrahiert und die Natriumkonzentrationen mittels ISE (4.7.2.4) quantifiziert. Je Panelist werden Dreifachbestimmungen durchgeführt.

#### 4.4.4 Bestimmung der Speichelsekretion

3 g Brotkrume werden 5, 10, 15, 30 und 60 s gekaut und der Kaubrei quantitativ in tarierte Zentrifugenröhrchen gespuckt. Die Speichelsekretion wird gravimetrisch durch Bildung der Differenz bestimmt. Je Panelist werden Dreifachbestimmungen durchgeführt.

## 4.5 Polysaccharid-Gele und Suspensionen

### 4.5.1 Bestimmung des Verhältnisses Amylose/Amylopektin

Die enzymatische Bestimmung des Amylose- bzw. des Gesamtstärkegehalts erfolgt für Amylose, amylosereiche, normale und amylopektinreiche Maisstärke und Weizenstärke nach Anleitung des Herstellers (Amylose/Amylopektin Enzymkit, Megazyme, Bray, Irland).

### 4.5.2 Herstellung von Polysaccharid-Gelen und Suspensionen

#### 4.5.2.1 Stärke

100 mL Mineralwasser mit 0, 57,0 bzw. 109,7 mmol NaCl/L werden auf einem Heizrührer auf 40 °C erwärmt und je 5, 12, 24 bzw. 48 g Stärke aus Weizen oder aus Mais (amylopektinreich, normal, amylosereich) eingerührt. Das Gemisch wird unter Rühren weiter auf 95 °C erwärmt. Diese Temperatur wird 5 min gehalten, um eine vollständige Gelierung zu ermöglichen. Nach weiteren 5 min wird das Gel in verschließbare Sensorikbecher ( $\varnothing = 5$  cm) gefüllt, sodass sich konstant eine Schichtdicke von 1,5 cm ergibt. Alle Proben werden vor den sensorischen und instrumentellen Analysen 16 h bei 4 °C aufbewahrt. Die Reproduzierbarkeit dieser Methode wird ständig durch Texturmessungen (4.7.5.2) überprüft, bei denen die maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm einzudrücken, nicht mehr als 10 % vom Mittelwert abweichen darf. Nach der Viskositätsmessung (4.7.3) der Gele mit 5 g Stärke wird die Viskosität durch Verdünnen mit 57,0 bzw. 109,7 mmol NaCl/L-Lösungen auf 200 mPa·s eingestellt.

#### 4.5.2.2 Agar-Agar

100 mL Mineralwasser mit 57,0 bzw. 109,7 mmol NaCl/L werden auf einem Heizrührer auf 90 °C erhitzt und je 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,40, 0,81, 1,62, 2,46 bzw. 3,31 g Agar unter Rüh-

ren hinzugefügt. Die Temperatur von 90 °C wird 5 min lang gehalten, bis die Lösung klar wird. Die noch heiße Lösung wird in verschließbare Sensorikbecher gefüllt und, wie in 4.5.2.1 beschrieben, weiter behandelt.

#### 4.5.2.3 Cellulose

Je 2,07, 4,17, 8,70 bzw. 13,67 g Cellulose PF75, 0,50, 2,07 bzw. 4,17 g Cellulose PF1000X sowie je 4,17 g Cellulose PF30, PF150, PF300 und PF2000 werden zu 57,0 oder 109,7 mmol NaCl/L in 100 mL Mineralwasser gegeben. Nachdem die Suspensionen 30 min bei Raumtemperatur gerührt wurden, werden 30 mL für die Sensorik (4.6.6.6) entnommen und der Rest für die Messung des Wassergehalts, der Natriumfreisetzung (4.5.3) und der Viskosität (4.7.3) eingesetzt.

#### 4.5.2.4 Weizenstärke und Agar

6 bzw. 12 g Weizenstärke werden bei 40 °C in 50 mL Mineralwasser mit 83,3 mmol NaCl/L eingerührt. In einem separaten Gefäß werden 50 mL Mineralwasser mit 83,3 mmol NaCl/L unter Rühren auf 90 °C erwärmt, 2,05 g Agar hinzugefügt und 5 min bei 90 °C gehalten, bis die Lösung klar wird. Die Agar-Lösung wird unter Rühren mit der Weizenstärke-Lösung vereinigt, wobei das Gemisch zur Gelierung der Stärke auf 95 °C erhitzt und, wie in 4.5.2.1 beschrieben, weiter behandelt wird.

#### 4.5.2.5 Weizenstärke und Cellulose

4,17 g Cellulose PF1000X werden in 100 mL Mineralwasser mit 83,3 mmol NaCl/L eingerührt. Nach Erwärmung auf 40 °C werden 12 g Weizenstärke hinzugefügt. Anschließend wird, wie unter Punkt 4.5.2.1 beschrieben, weiter verfahren. Um Effekte auszuschließen, die auf der erhöhten Texturfestigkeit aufgrund der Cellulosezugabe beruhen, wird ein Gel mit 12,5 anstatt 11 % Weizenstärke ohne Cellulosezusatz hergestellt, sodass die Textur des 11%igen Weizenstärkegels mit Cellulose der des 12,5%igen Weizenstärkegels ohne Cellulose entspricht.

### 4.5.3 Bestimmung der Natriumfreisetzung

3 g Stärke- bzw. Agar-Gel werden von zwei Panelisten jeweils in Dreifachbestimmung 5 s im Mund gekaut. Der gesamte Kaubrei wird in ein tariertes 50 mL Zentrifugenröhrchen ausgespuckt, zentrifugiert (3750 g, 10 min, 20 °C) und die Natriumkonzentration im Überstand mittels Natrium-selektiver Elektrode (4.7.2.4) bestimmt. Bei viskosen Stärke- bzw. Agar-Lösungen und Cellulose-Suspensionen wird die Konzentration an freien Natriumionen mit der Natrium-selektiven Elektrode direkt in der Lösung bzw. Suspension gemessen.

## 4.6 Sensorische Experimente

### 4.6.1 Allgemeine Bedingungen und Training des Panels

Das Sensorikpanel, das aus 15 Teilnehmern (10 Frauen und 5 Männer) im Alter von 25 - 31 Jahren besteht, die alle regelmäßig an sensorischen Tests teilnehmen und daher mit den Arbeitsweisen vertraut sind, wird darin trainiert, wässrige Lösungen von Standardsubstanzen zu bewerten: Sucralose (80  $\mu\text{mol/L}$ ) für den Süßgeschmack, Koffein (5  $\text{mmol/L}$ ) für den Bittergeschmack, Mononatrium-L-glutamat (4  $\text{mmol/L}$ ) für den Umamigeschmack, Zitronensäure (10  $\text{mmol/L}$ ) für den Sauergeschmack und Natriumchlorid (30  $\text{mmol/L}$ ) für den Salzgeschmack. Evian<sup>®</sup> wird für alle sensorischen Experimente als Standardmineralwasser verwendet, da es mit 500 mg/L eine sehr geringe Mineralisierung und somit einen vernachlässigbar geringen Eigengeschmack aufweist. Alle Sensoriken werden in je drei voneinander unabhängigen Sitzungen in einem klimatisierten Raum mit separaten Boxen bei 20 - 22 °C durchgeführt. Um die orthonasale Aromawahrnehmung zu verhindern, werden Nasenklammern verwendet. Die Reproduzierbarkeit des Panels wird regelmäßig überprüft, indem eine definierte, kodierte Testlösung, die einem der Punkte der zuvor aufgenommenen Dosis-Wirkungs-Kurve entspricht, bewertet wird. Speziell für die Brotsensorik erfolgt die Schulung des Panels mit Hilfe von 2-AFC-Tests mit Broten unterschiedlicher Salzgehalte, wobei der Unterschied zwischen beiden Proben mit 0,5 bis 1 % zu Beginn relativ groß gewählt und sukzessive verkleinert wird.

### 4.6.2 Erstellung der Aroma- und Geschmacksprofile

Die folgenden Parameter werden auf einer Skala von 0 (nicht wahrnehmbar) bis 5 (stark wahrnehmbar) bewertet: süß, salzig, säuerlich, bitter, hefeartig, mehlig/wässrig und muffig. Als Referenz wird zuerst das Brot mit 1,5 % NaCl bewertet. Alle anderen Brote mit 0, 0,7 und 2 % werden gegen das Brot mit 1,5 % NaCl als Referenz bewertet. Die statistische Signifikanz wird mit zweifaktorieller ANOVA (Faktoren: Brot, Panelist; Tukey-Test) mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) ermittelt.

### 4.6.3 2-Alternative Forced Choice (2-AFC)-Tests

Je zwei 3 g Brotkrume bzw. Polysaccharid-Würfel werden in Sensorikbecher mit Deckel gefüllt, die mit einer dreistelligen Zufallszahl verschlüsselt sind. Jeder Panelist erhält je zwei Sensorikbecher mit unterschiedlichen Proben und die Aufstellung wird für jeden Panelisten variiert. Die paarweise Vergleichsprüfung wird nach der attributbezogenen „forced-choice“ Methode durchgeführt, wobei eine Probe angegeben werden muss, selbst wenn kein Unterschied bemerkt wird (Zwangsauswahlprüfung). Das zu bewertende Attribut ist die Salzigkeit

in Brotkrume bzw. Polysaccharid-Würfeln, wobei die konkrete Fragestellung lautet, welche der zwei Proben salziger schmeckt. Beim Vergleich der Brote mit unterschiedlichen Salzgehalten handelt es sich um einen einseitigen Paarvergleich, da dem Prüfungsleiter bekannt ist, welche der beiden Proben salziger ist. Die Auswertung erfolgt statistisch anhand einer Signifikanztabelle für einseitige, paarweise Vergleichsprüfungen nach DIN/ISO 5495 (*Behr's Verlag, 2008*). Aus der Anzahl der richtigen Antworten ergibt sich ein Signifikanzniveau  $\alpha$  von entweder 0,20, 0,10, 0,05, 0,01 oder 0,001 (**Tabelle 18**). Alle  $\alpha$ -Werte über 0,05 wurden als statistisch nicht signifikant gewertet, während  $\alpha = 0,05$  (signifikant) einer statistischen Sicherheit von 95 %,  $\alpha = 0,01$  (hoch signifikant) einer statistischen Sicherheit von 99 % und  $\alpha = 0,001$  (sehr hoch signifikant) einer statistischen Sicherheit von 99,9 % entspricht. Der Vergleich der Brote mit Zusätzen, grobkörnigem Salz oder unterschiedlichen Gärzeiten, jeweils bezogen auf die Referenz ohne Zusatz, wird als zweiseitiger Paarvergleich angesehen, da hier dem Prüfungsleiter der Unterschied zwischen beiden Proben nicht genau bekannt ist. Alle 2-AFC-Tests werden an verschiedenen Tagen dreifach wiederholt.

**Tabelle 18:** Signifikanztabelle – Einseitige bzw. zweiseitige paarweise Vergleichsprüfung: Minimale Anzahl richtiger Antworten bei 15 Panelisten, um sicherzustellen, dass ein signifikant wahrnehmbarer Unterschied auf der Grundlage einer einseitigen bzw. zweiseitigen paarweisen Vergleichsprüfung ( $\alpha$ -Level) existiert.

Anzahl Panelisten	$\alpha$				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
15 (Einseitig)	10	11	12	13	14
15 (Zweiseitig)	11	12	12	13	14

#### 4.6.4 Bestimmung der Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwelle in Brotkrume

Zur Bestimmung der Wahrnehmungs- und Salzerkennungsschwelle in Brotkrume werden Brote mit 0,05, 0,075, 0,1, 0,2, 0,3 und 0,4 % NaCl gegen Brot mit 0 % NaCl im 2-AFC-Test in aufsteigender Konzentration verkostet. Die Prüfer sollen die jeweils abweichende Probe kennzeichnen und zusätzlich angeben, ab wann tatsächlich ein Salzgeschmack wahrgenommen wird. Als richtig erkannt gilt dabei nur die Probe, ab der jede weitere Probe in der Reihe richtig angegeben wurde. Die Berechnung der Schwellenwerte erfolgt über die Bildung des geometrischen Mittelwerts (*ASU: L 00.90-9, 1999*).

Für eine Prüfperson:

$$E = \sqrt{c_e \times c_{e-1}}$$

$c_{e-1}$ : arithmetischer Mittelwert der Konzentration der ersten richtig erkannten Schwelle

$c_e$ : arithmetischer Mittelwert der Konzentration der vorangegangenen Probe

Für das Sensorikpanel:

$$\bar{E} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n E_i}$$

n: Anzahl der Prüfpersonen

$E_i$ : Erkennungsschwelle der einzelnen Prüfpersonen

$\prod_{i=1}^n E_i$ : Produkte aus n Werten  $E_i$

#### 4.6.5 Time-Intensity-Kurven

Time-Intensity-Kurven werden in separaten Sensorikkabinen mit Hilfe der FIZZ Acquisition Software v2.46 A (Biosystèmes, Courtenon, Frankreich) erstellt. Nach Berührung des Bildschirms nehmen die Panelisten 3 g Brotkrume in die Hand, nehmen diese 3 g nach 5 s in den Mund und beginnen zu kauen, während sie gleichzeitig den zeitlichen Verlauf der Salzintensität bewerten. Dazu bewegen sie ihren Finger entlang einer unstrukturierten, 14 cm langen Skala, wobei das linke Ende der Skala für eine Salzintensität von 0 und das rechte Ende für eine Salzintensität von 10 steht. Nach 60 s wird das Brot heruntergeschluckt und die Messung durch Bewegen des Cursors zurück an das linke Ende der Skala beendet. Die Wartezeit zwischen zwei Proben beträgt 60 s, die die Panelisten zum Spülen des Mundraums mit Wasser nutzen. Zunächst werden Übungssitzungen mit Referenzbrot mit 1,5 % NaCl durchgeführt, um die Panelisten mit der gesamten Prozedur und der Bedienung der Skala vertraut zu machen. Sensorische Bewertungen werden an drei aufeinanderfolgenden Tagen mit einem Latin square design durchgeführt, um Effekte der Probenaufstellung ausschließen zu können.

Das inhomogene Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl wird bei gleichem Probengewicht von 3 g gegen das homogene Referenzbrot mit 1,5 % NaCl bewertet, Teig mit 1,5 % NaCl bei gleichem Probengewicht von 3 g gegen das Referenzbrot mit 1,5 % NaCl, und das 0/0 min-Brot und das 90/120 min-Brot jeweils mit 1,5 % NaCl bei gleichem Probengewicht (3 g) und bei gleichem Probenvolumen (3,375 cm<sup>3</sup>) gegen das Referenzbrot mit 1,5 % NaCl.

Die erhaltenen Time-Intensity-Kurven werden mit Hilfe der Software FIZZ Calculations v2.46A (Biosystèmes, Courtenon, Frankreich) ausgewertet und gemittelte, trapezförmige Kurven anhand der Vorgehensweise von *Lallemant et al. (1999)* erstellt. Die maximalen Intensitäten ( $I_{\max}$ ),  $t_{i5}$ ,  $t_{i25}$ ,  $t_{i50}$ ,  $t_{i75}$  und  $t_{i90}$  (die Zeitpunkte, die 5 %  $I_{\max}$ , 25 %  $I_{\max}$ , 50 %  $I_{\max}$ , 75 %

$I_{\max}$  und 90 %  $I_{\max}$  in der ansteigenden Phase der Kurve entsprechen) werden aus den einzelnen Kurven herausgelesen. Wenn das Ende des Plateaus bei 90%  $I_{\max}$  vor Ende der Messung nach 60 s bereits erreicht ist, werden zusätzlich entsprechende Zeiten  $t_{d90}$ ,  $t_{d75}$ ,  $t_{d50}$ ,  $t_{d25}$  and  $t_{d5}$  (die Zeitpunkte, die 5 %  $I_{\max}$ , 25 %  $I_{\max}$ , 50 %  $I_{\max}$ , 75 %  $I_{\max}$  und 90 %  $I_{\max}$  in der abfallenden Phase der Kurve entsprechen) ausgelesen. Die Dauer  $D_i$ , Rate  $R_i$  und Fläche  $A_i$  im ansteigenden Teil der Kurve, die Dauer  $D_m$  und Fläche  $A_m$  des Plateaus bei 90%  $I_{\max}$  und die Gesamtfläche  $A$  des Trapezes werden berechnet. Die statistische Signifikanz wird mit zweifaktorieller ANOVA (Faktoren: Brot, Panelist; Tukey-Test) mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) ermittelt.

#### 4.6.6 Dosis-Wirkungs-Kurven

##### 4.6.6.1 Salzgeschmack: Natriumchlorid

Die Salzintensitäten linearer Verdünnungen von NaCl-Lösungen (4 - 110 mmol/L) werden von den Panelisten in Dreifachbestimmung in aufsteigender Konzentration auf einer selbstgewählten Skala frei bewertet. Die individuellen, freien Bewertungen werden auf einer Skala von 0 - 10 normiert, sodass die höchste NaCl-Konzentration einer Intensität von 10 entspricht und die Mittelwerte der drei Bestimmungen des gesamten Panels ergeben die Salzintensität der jeweiligen Lösungen (**Tabelle 19**).

**Tabelle 19:** Konzentrationen und Salzintensitäten der NaCl-Lösungen für die Dosis-Wirkungs-Kurve.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
NaCl [mmol/L]	4,4	17,6	30,8	44,0	57,0	70,2	83,3	96,5	109,7
Salzintensität	0,0	0,4	0,9	1,7	2,9	4,1	5,8	7,9	10,0

Die wahrgenommenen Salzintensitäten werden linear über der NaCl-Konzentration aufgetragen. Im gewählten Konzentrationsbereich wird die Kurvenform am besten durch die quadratische Funktion  $f(x) = 0,2338 x^2 + 0,0608 x + 0,0218$  ( $r^2 = 0,9996$ ) beschrieben.

##### 4.6.6.2 Süßgeschmack: Sucralose

Analog zur Bewertung des Salzgeschmacks (4.6.6.1), werden die Süßintensitäten von 1:1 Verdünnungen von Sucralose-Lösungen (5 - 5030  $\mu\text{mol/L}$ ) von den Panelisten frei bewertet (**Tabelle 20**).

**Tabelle 20:** Konzentrationen und Süßintensitäten der Sucralose-Lösungen für die Dosis-Wirkungs-Kurve.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Sucralose [ $\mu\text{mol/L}$ ]	5	10	20	39	79	157	314	629	1258	2515	5030
Süßintensität	0,0	0,2	0,4	0,7	1,4	2,4	3,6	5,1	6,8	8,2	10,0

Die wahrgenommenen Süßintensitäten werden halblogarithmisch über der Sucralose-Konzentration aufgetragen.

#### 4.6.6.3 Umamigeschmack: Mononatriumglutamat

Wie in 4.6.6.1 beschrieben, werden die Umami-Intensitäten von 1:1 Verdünnungen von Mononatriumglutamat (MSG)-Lösungen (0,2 - 60 mmol/L) von den Panelisten bewertet (**Tabelle 21**).

**Tabelle 21:** Konzentrationen und Umami-Intensitäten der Mononatriumglutamat-Lösungen für die Dosis-Wirkungs-Kurve.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
MSG [mmol/L]	0,2	0,5	0,9	1,9	3,8	7,5	15,0	30,0	60,0
Umami-Intensität	0,2	0,5	0,9	1,7	2,8	4,3	5,8	7,6	10,0

Die wahrgenommenen Umami-Intensitäten werden halblogarithmisch über der MSG-Konzentration aufgetragen.

#### 4.6.6.4 Bittergeschmack: Koffein

Die Bitterintensitäten von 1:1 Verdünnungen von Koffein-Lösungen (0,04 - 10 mmol/L) werden analog zu Punkt 4.6.6.1 von den Panelisten frei bewertet (**Tabelle 22**).

**Tabelle 22:** Konzentrationen und Bitterintensitäten der Koffein-Lösungen für die Dosis-Wirkungs-Kurve.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Koffein [mmol/L]	0,04	0,08	0,16	0,31	0,63	1,3	2,5	5,0	10,0
Bitterintensität	0,1	0,2	0,4	0,6	1,0	1,8	3,0	5,5	10,0

Die wahrgenommenen Bitterintensitäten werden halblogarithmisch über der Koffeinkonzentration aufgetragen.

#### 4.6.6.5 Sauergeschmack: Zitronensäure

Die freie Bewertung der Sauerintensitäten von 1:1 Verdünnungen von Zitronensäure-Lösungen (0,3 - 78 mmol/L) erfolgt wie in 4.6.6.1 beschrieben (**Tabelle 23**).

**Tabelle 23:** Konzentrationen und Sauerintensitäten der Zitronensäure-Lösungen für die Dosis-Wirkungs-Kurve.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Zitronensäure [mmol/L]	0,3	0,6	1,2	2,4	4,9	9,8	19,5	39,0	78,0
Sauerintensität	0,1	0,2	0,3	0,5	1,4	2,6	4,2	6,2	10,0

Die wahrgenommenen Sauerintensitäten werden halblogarithmisch über der Zitronensäurekonzentration aufgetragen.

#### 4.6.6.6 Bewertung der relativen Salzintensität in Stärke- und Agar-Gelen sowie Cellulose-Suspensionen im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve

2 × 3 g der Stärke- bzw. Agar-Gele mit 57,0 bzw. 109,7 mmol NaCl/L werden in verschließbare Sensorikbecher eingewogen. Die Panelisten sollen die Intensität des Salzgeschmacks der Gele durch Vergleich mit den bereitgestellten Referenzlösungen der Dosis-Wirkungs-Kurve für NaCl (4.6.6.1) bewerten. Die Bewertung der Salzintensität der Cellulose-Suspensionen mit 57,0 bzw. 109,7 mmol NaCl/L verläuft analog, mit dem einzigen Unterschied, dass die Suspensionen in kleinen, mit dreistelligen Zufallszahlen verschlüsselten Sensorikbechern präsentiert werden, die mit Aluminiumfolie umwickelt sind, um eine visuelle Beeinflussung auszuschließen. Außerdem werden die Suspensionen ständig auf einem Magnetrührer homogenisiert, um ein Absetzen der Partikel am Boden zu verhindern. Aufgrund des unangenehmen Mundgefühls, das durch einige Polysaccharid-Gele hervorgerufen wird, ist es den Panelisten erlaubt, das Gel nach der sensorischen Bewertung auszuspucken, obwohl alle verwendeten Polysaccharide in Lebensmittelqualität rein vorliegen. Die Mittelwerte der wahrgenommenen Salzintensitäten in Gelen und Suspensionen werden für das Panel berechnet und die Salzintensität in Wasser als 100 % definiert. Alle Salzintensitäten in Gelen und Suspensionen sind als Prozent in Bezug auf diese 100 % in Wasser angegeben. Die statistische Signifikanz wird mit zweifaktorieller ANOVA (Faktoren: Gel, Panelist; Tukey-Test) mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) ermittelt. Pearson Korrelations-

koeffizienten und zugehörige  $p$ -Werte zwischen wahrgenommener Salzintensität und Natriumfreisetzung werden mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) berechnet.

#### 4.6.6.7 Bewertung eines möglichen Effekts durch Belegung der Zunge mit Weizenstärke-Gel

Die Panelisten werden aufgefordert, die Salzintensität einer verschlüsselten 57,0 mmol NaCl/L-Lösung (Salzintensität: 2,9) mit Hilfe der Dosis-Wirkungs-Kurve zu bewerten, den Mundraum gründlich mit Wasser zu spülen, 3 g eines 19%igen Weizenstärke-Gels ohne Salz zu kauen und den Kaubrei nach 10 s auszuspucken. Ohne den Mundraum zu spülen, sollen sie nun direkt im Anschluss, so schnell wie möglich, die Salzintensität einer zweiten, verschlüsselten 57,0 mmol NaCl/L-Lösung bewerten. Das gleiche Experiment wird mit verschiedenen Salzkonzentrationen wiederholt, sodass sich die Konzentration der ersten NaCl-Lösung von der zweiten unterscheidet. Die mittleren Salzintensitäten vor und nach dem Kauen des Stärkegels werden miteinander verglichen. Die statistische Signifikanz wird mit einfaktorieller ANOVA (Tukey-Test) mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) ermittelt.

#### 4.6.6.8 Bewertung der relativen Geschmacksintensität in Cellulose-Suspensionen im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve

Die Bewertung der relativen Geschmacksintensität in 4%igen Cellulose-Suspensionen erfolgt wie bereits für den Salzgeschmack (4.6.6.6) beschrieben. Die Cellulose-Suspensionen enthalten dabei ausgewählte Konzentrationen der Geschmacksstoffe, die deutlich wahrnehmbar, aber nicht zu intensiv sind. Für Sucralose werden 157,2 und 628,7  $\mu\text{mol/L}$ , für Koffein 0,63, 1,25 und 2,59 mmol/L, für MSG 3,75, 7,50 und 15 mmol/L und für Zitronensäure 4,88, 9,75 und 19,5 mmol/L gewählt. Als Kontrolle dienen Lösungen ohne Cellulose. Die Mittelwerte der wahrgenommenen Geschmacksintensitäten in den Suspensionen werden für das Panel berechnet und die Geschmacksintensität in Wasser jeweils als 100 % definiert. Alle Geschmacksintensitäten in Cellulose-Suspensionen sind als Prozent in Bezug auf diese 100 % in Wasser angegeben. Die statistische Signifikanz wird mit einfaktorieller ANOVA (Tukey-Test) mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA) ermittelt.

## 4.7 Apparativer Teil

### 4.7.1 RP-HPLC zur Charakterisierung der Osborne-Fractionen

Pumpe:	Thermo SpectraSystem P2000 mit Autosampler AS3000, Entgaser SCM1000, Controller SN4000
Detektor:	Thermo SpectraSystem UV1000
Software:	ChromQuest 4.2.34
Injektionsvolumen:	Albumine/Globuline: 20 µL, Gliadine: 10 µL, Glutenine: 10 µL
Säule:	Dionex Acclaim® 300 C18, 3 µm, 2,1 × 150 mm
Temperatur:	60 °C
Fluss:	0,3 mL/min
Detektion:	210 nm
Fließmittel:	A: Wasser/TFA (99,9/0,1; v/v); B: Acetonitril/TFA (99,9/0,1; v/v)
Gradient:	Albumine/Globuline: 100 % A für 0,9 min, in 0,1 min auf 80 % A, in 10 min auf 40 % A, in 0,1 min auf 10 % A, 2,9 min halten, in 0,1 min auf 100 % A, 5,9 min halten Gliadine und Glutenine: 100 % A für 1 min, in 0,1 min auf 76 % A, in 15,9 min auf 48 % A, in 0,1 min auf 10 % A, 5,9 min halten, in 0,1 min auf 100 % A, 6,9 min halten

### 4.7.2 Quantitative Bestimmung von Natrium

#### 4.7.2.1 Kationenchromatographie (IC)

Die Quantifizierung des Natriumgehalts der Proben erfolgt mittels Kationenchromatographie über externe Kalibrierung im Bereich von 0,5 - 50 mg Na/L.

Gerät:	Dionex ICS-2000 Ion Chromatography System
Detektor:	Dionex DS 6 Heated Conductivity Cell
Suppressor:	Dionex CSRS® 300 (2-mm)
Software:	Dionex Chromeleon 6.80
Autosampler:	Dionex AS Autosampler

Injektionsvolumen:	2 $\mu$ L
Säule:	Dionex IonPac <sup>®</sup> CS 18 (Vorsäule: IonPac <sup>®</sup> CG 18)
Temperatur:	Raumtemperatur
Fluss:	0,3 mL/min
Eluentengenerator:	Dionex RFIC <sup>™</sup> EluGen <sup>®</sup> Cartridge; EGC II MSA
Fließmittel:	5 mmol/L Methansulfonsäure (0 – 20 min)

#### 4.7.2.2 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Natrium wird über Flammenatomabsorptionsspektroskopie mit dem Atomabsorptionsspektrometer Varian SpectrAA 100 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) quantifiziert. Die Proben werden bei einer Wellenlänge von 589,6 nm und einer Spaltbreite von 1,0 mm ohne Hintergrundkorrektur gemessen. Die Quantifizierung erfolgt mittels externer 5-Punkt Standardkalibrierung im Bereich von 0,2 - 2 mg Na/L.

#### 4.7.2.3 Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES)

Die Quantifizierung von Natrium erfolgt an einem ICP-OE Spektrometer Optima 3000 (Perkin Elmer Inc., Waltham, Massachusetts, USA) mittels externer 1-Punkt Kalibrierung mit einer Lösung von 100 mg Na/L.

#### 4.7.2.4 Natrium-selektive Elektrode (ISE)

Alternativ zur Ionenchromatographie wird der Natriumgehalt mittels einer Natrium-selektiven Elektrode bestimmt. Zur Kalibrierung werden NaCl-Lösungen mit Natriumkonzentrationen von 5, 50, 125, 250, 500, 1000, 2500 und 5000 mg/L hergestellt.

Gerät:	Metrohm 781 pH-/Ionenmeter
Elektrode:	Polymermembranelektrode
TISAB:	1 mol/L Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, pH mit 2 mol/L Salpetersäure auf 7,0 einstellen  Die Kalibrier- und Messlösungen werden für die Messung 1:1 mit der TISAB-Lösung (Total Ionic Strength Adjustment Buffer) zur Einstellung einer konstanten Ionenstärke und eines pH-Werts von 7,0 verdünnt.
Bezugselektrolyt:	Kaliumchloridlösung (3 mol/L)

### 4.7.3 Bestimmung der Viskosität

Die Viskosität von 3 × 20 mL Aliquoten der Polysaccharid-Lösungen und Suspensionen wird nach *Galindo et al. (2012)* mit einer Schergeschwindigkeit von 50 1/s bestimmt, da diese den Kaubedingungen im Mund am nächsten kommt (*Wood und Goff, 1973*). Die Messungen erfolgen sechsfach in Intervallen von je 30 s direkt nacheinander.

Gerät: DV-II+ Pro Extra Digital Viskosimeter (Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, USA)

Spindel: YULA-15(E) 304, LV-1, LV-2, LV-3 302 (Edelstahl)

Adapter: ULA-31(E)Y

Software: Rheocalc V3.2

Schergeschwindigkeit: 50 1/s

Temperatur: Raumtemperatur (22 °C)

### 4.7.4 Bestimmung des Brotvolumens

Das Brotvolumen wird zwei Stunden nach Ende der Backzeit lasergestützt in einem VolScan Profiler (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK) bestimmt. Alle Brote werden in Dreifachbestimmung gebacken und jedes Brot dreifach gemessen.

### 4.7.5 Bestimmung der Textur

#### 4.7.5.1 Textur von Brotkrume

Direkt im Anschluss an die Volumenmessung der Brote werden Krumentzylinder (Durchmesser: 20 mm) mit Hilfe eines Korkschniders aus den 1,5 cm dicken Brotscheiben ausgestanzt. Die Texturmessung der zuvor gewogenen Krumentzylinder erfolgt in Dreifachbestimmung aus drei verschiedenen Scheiben von je drei Broten mittels TA.XT plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, UK). Der Krumentzylinder wird mit Hilfe eines Plexiglas-Zylinders um 7 mm eingedrückt und es werden zwei Messungen direkt nacheinander gemacht. Kraft-Weg und Kraft-Zeit Diagramme werden aufgenommen und die Auswertung der Daten erfolgt mit der Software Exponent.

#### 4.7.5.2 Textur von Stärke- und Agar-Gelen

Die Texturmessung der Stärke- und Agar-Gele verläuft ähnlich wie in 4.7.5.1 beschrieben. Dazu werden die Gele mit einer Schichtdicke von 1,5 cm mit Hilfe des Plexiglas-Zylinders direkt im Sensorikbecher ( $\varnothing = 5$  cm) um 4 mm eingedrückt.

#### 4.7.6 Bestimmung der Porengröße

Zur Bestimmung der Porengröße und weiterer verwandter Parameter wie Gesamtfläche, Anzahl, Umfang, Feret's Durchmesser, Zirkularität und Festigkeit der Poren werden die in Dreifachbestimmung gebackenen Brote 2 h nach Ende der Backzeit in 1,5 cm dicke Scheiben geschnitten. Je Brot werden jeweils 7 Scheiben unter definierten Lichtbedingungen und Kameraeinstellungen in einer speziellen Dunkelkammer fotografiert, sodass pro unterschiedliche Brotsorte 21 Aufnahmen ausgewertet wurden. Nach Reduzierung der Aufnahmen auf Graustufen (*Jekle und Becker, 2011a*) und Anwendung eines Schwellenwerts-Algorithmus (*Huang und Wang, 1995*) zur Differenzierung von Poren und umgebender Krume werden die oben genannten Parameter bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgt mit einfaktorieller ANOVA (Tukey-Test) und Pearson Korrelationskoeffizienten mit SigmaPlot v11 (Systat, San José, CA, USA).

#### 4.7.7 Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

##### 4.7.7.1 Durchführung der CLSM

Brotkrumenstücke (1 × 1 × 0.5 cm) werden mit einer Rasierklinge aus der Mitte des frischen Brotlaibs ausgeschnitten, angefärbt und auf ein Deckglas gelegt. Für CLSM-Aufnahmen von Stärke und Proteinen in Brotkrume wird das Krumenstück zunächst 15 min mit Rhodamin B (0,02 % in Aceton) zur Färbung der Stärke und danach 1 min mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC, 0,1 % in Aceton) zur Färbung der Proteine behandelt. Zur Sichtbarmachung der Natriumionen wird das Krumenstück 5 min lang mit SBFI-AM (3,3 % in Aceton) angefärbt. Ein FluoView 300 konfokales Laser-Scanning-System (Olympus, Tokio, Japan) wird mit einem inversen Mikroskop IX 81 (Olympus, Tokio, Japan) mit verschiedenen Objektiven (10-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung) verwendet. Die jeweiligen Einstellungen sind in **Tabelle 24** zusammengefasst.

**Tabelle 24:** Fluoreszenzfarbstoffe, Anregungswellenlängen, Emissionsfilter und allgemeine Messbedingungen für die CLSM.

Farbstoff	Anregung [nm]	Emissionsfilter [nm]	Konfokale Apertur	Helligkeit	Rauschkorrektur
Rhodamin B	543	560 - 600	1	2	2
FITC	488	505 - 525	1	2	2
SBFI-AM	405	> 510	1	1	1

Die CLSM-Aufnahmen werden erstellt, indem durch Scannen entlang der z-Achse in 5  $\mu\text{m}$ -Schritten Einzelaufnahmen gemacht werden, die durch Projektion aller Einzelaufnahmen eine dreidimensionale Gesamtaufnahme ergeben. Mit Rhodamin B und FITC werden Helligkeit und Rauschkorrektur stets konstant gehalten und nur die Laserintensität jeweils so angepasst, dass im High-/Low-Profil keine lichtgesättigten Bereiche zu finden sind. Mit SBFI-AM wird die Laserintensität zu Beginn auf 399 angepasst und anschließend genauso wie Helligkeit und Rauschkorrektur exakt konstant gehalten. Für die Aufnahmen zur Visualisierung der Natriumverteilung mit SBFI-AM wird von jedem Brotstück durch Bewegung in x-Richtung eine zusammenhängende Reihe aus fünf Aufnahmen gemacht. Anschließend wird die Probe einmal in y-Richtung bewegt und eine weitere Reihe von fünf Aufnahmen direkt unter der ersten Reihe erstellt. Diese Prozedur wird fortgeführt, bis das gesamte Brotstück erfasst ist. Um die Autofluoreszenz von SBFI-AM ohne Natrium zu berücksichtigen und im Anschluss eine Hintergrundkorrektur zu ermöglichen, wird Brot ohne Zusatz von NaCl als Kontrolle verwendet. Je 30 Bilder werden von drei repräsentativen Stücken der Brotkrume mit 1,5 % NaCl (homogene Natriumverteilung) und 0 % NaCl sowie von Brotkrume mit 0,25/1,25 % gk NaCl (inhomogene Natriumverteilung) gemacht.

Grün-pseudokolorierte Bereiche zeigen Proteine, und Stärke ist rot pseudokoloriert. Die Bereiche mit heller, gelb pseudokolorierter Fluoreszenz weisen auf eine höhere Natriumkonzentration hin, da die Fluoreszenzintensität von SBFI-AM durch Bindung von Natrium innerhalb der Kronenether-Struktur verstärkt wird.

#### 4.7.7.2 CLSM-Bildanalyse zur Visualisierung der Natriumverteilung

Nach Reduzierung der CLSM-Aufnahmen auf Graustufen werden mittels Scion Image Software (Scion Corporation, Frederick, MD, USA) Histogramme erstellt. Die Daten der Histogramme, die die Anzahl der Pixel pro RGB-Wert von 0 (schwarz) bis 255 (weiß) angeben, werden in Microsoft Excel 2010 exportiert. Die Histogramm-Analyse aller Bilder von Broten ohne Zusatz von NaCl zeigte, dass der mittlere, hellste RGB-Wert 135 (grau) war. Daher wird in allen Aufnahmen von Krumenstücken mit NaCl die Summe aller Pixel von RGB 0 bis 135, die Poren und Bereiche außerhalb des Fokus (schwarz) sowie die Hintergrundfluoreszenz von SBFI-AM ohne Natrium darstellt, von der Gesamtanzahl der Pixel (48 000) abgezogen. Somit verbleibt nur die Summe der Pixel mit helleren RGB-Werten von 136 bis 255, was den Bereichen mit viel SBFI-AM mit Natrium entspricht. Sowohl vom homogenen Brot mit 1,5 % NaCl als auch vom inhomogenen Brot mit 0,25/1,25 % gk NaCl werden je drei unterschiedliche Brotproben herangezogen und pro Probe werden je zwölf Bilder analysiert, die einen repräsentativen Bereich abdecken.

#### 4.7.8 Scanning Electron Microscopy (SEM)

1 × 1 × 0.5 cm große Brotkrumenstücke werden zuerst bei -18 °C, danach bei -70 °C eingefroren und gefriergetrocknet. Nach vorsichtiger Zerkleinerung in einem Mörser werden möglichst feine Krumenstückchen mit doppelseitig klebender Kohlenstoffolie (Agar Scientific, Stansted, UK) auf zylinderförmigen Probenhaltern (Agar Scientific, Stansted, UK, Ø = 10 mm) fixiert und mit einem dünnen Goldfilm überschichtet. Die Aufnahmen werden mit einem JEOL Scanning Electron Mikroskop Typ 5510 (JEOL, Tokio, Japan) mit Spannungen von 5 - 8 kV und 1 000, 2 000, 5 000 bzw. 14 000facher Vergrößerung gemacht.

## 5 Zusammenfassung

Zahlreiche wissenschaftliche Studien belegen besonders bei salzsensitiven Personen einen kausalen Zusammenhang zwischen erhöhter Zufuhr von Natriumchlorid und Bluthochdruck. Zudem gilt die in industrialisierten Ländern derzeit übliche Aufnahme von 6 - 11 g Kochsalz pro Tag als Risikofaktor für kardiovaskuläre und renale Erkrankungen sowie für eine erhöhte Inzidenz von Magenkrebs. Aufgrund dieser Gesundheitsrisiken wird von nationalen und internationalen Organisationen eine drastische Reduktion der Kochsalzaufnahme befürwortet, die neben gesundheitlicher Aufklärung der Bevölkerung durch Verringerung der Natriumchloridgehalte in verarbeiteten Lebensmitteln erreicht werden soll. Eine Senkung der Kochsalzgehalte in Brot und Getreideprodukten ist besonders wünschenswert, da sie in Deutschland etwa ein Viertel zur täglichen Natriumzufuhr beitragen. Die vielfältigen technologischen und sensorischen Funktionen von Natriumchlorid in Backwaren machen eine einfache Verringerung des Gehalts jedoch unmöglich, sodass neue Strategien gefordert werden, die eine Kochsalzreduktion bei gleichzeitigem Erhalt der Verarbeitungs- und Geschmacksqualität ermöglichen.

Als Grundlage für die Entwicklung verbesserter Strategien war das Ziel dieser Arbeit, die salzgeschmacksbestimmenden Parameter in Brotkrume und Polysaccharid-basierten Modellsystemen zu identifizieren, um diese zur Verstärkung der Salzgeschmackswahrnehmung gezielt beeinflussen zu können.

Der Kochsalzgehalt von Brotkrume hatte einen entscheidenden Einfluss auf das gesamte Aroma- und Geschmacksprofil, da mit zunehmendem Kochsalzgehalt nicht nur die Salzigkeit zunahm, sondern auch mehlig-wässrige, hefeartige und muffige Eindrücke abnahmen. Die Salzwahrnehmung hing zudem vom absoluten Salzgehalt ab. Zur sensorischen Differenzierbarkeit war, bezogen auf Brotkrume mit 1 % NaCl, ein absoluter Unterschied von 0,3 % NaCl notwendig, während der Unterschied nur 0,075 % NaCl betrug, wenn Brotkrume ohne Salz als Referenz diente. Der Vergleich der Salzwahrnehmung von Brotkrume mit Wasser bei gleichem Salzgehalt ergab, dass Wasser aufgrund der sofortigen Verfügbarkeit der gesamten gelösten Natriummenge sehr hoch signifikant salziger schmeckte, sodass im Folgenden die Parameter untersucht wurden, die die Salzwahrnehmung in Brotkrume beeinträchtigen.

Der erste Parameter war die Natriumbindung an isolierte Proteinfractionen aus Weizenmehl, da irreversibel an die Proteine gebundene Natriumionen nicht mehr für die Geschmackswahrnehmung zur Verfügung stehen könnten. Mit Hilfe eines Magnetic Beads Assays und einer Natrium-selektiven Elektrode konnte gezeigt werden, dass die Natriumbindung an die Proteine vernachlässigbar gering war und somit keinen inhibierenden Einfluss auf die Salzwahrnehmung ausüben konnte.

Als zweiter Parameter wurde die quantitative Natriumfreisetzung während des Verzehrs von Brotkrume bestimmt. Durch Vergleich der nach salpetersaurem Aufschluss ermittelten und der aus der Rezeptur berechneten Werte mit den nach 1-minütiger Extraktion mit Wasser, wässrigen Pufferlösungen, künstlichem Speichel und Humanspeichel gemessenen Natriumgehalten wurde festgestellt, dass 100 % der in Brotkrume enthaltenen Natriummenge extrahierbar war. Daraufhin wurde die zeitabhängige Natriumfreisetzung von 0 - 60 s mit zwei diskontinuierlichen Methoden beim Kauen im Mund und in einem Kaumodell sowie mit einer kontinuierlichen Methode während des Kauens im Mund quantifiziert. Die Natriumfreisetzung hing von der Dauer und Gründlichkeit der Homogenisierung ab, sodass eine Steigerung der Salzwahrnehmung in Brotkrume durch Beschleunigung der Natriumfreisetzung möglich erschien.

Die Erzielung einer inhomogenen Natriumverteilung in Brotkrume durch späte Zugabe von 1,25 % grobkörnigem Kochsalz zu einem Grundteig mit nur 0,25 % NaCl führte im Vergleich zur homogenen Natriumverteilung mit 1,5 % NaCl zu einer verstärkten Salzwahrnehmung. Diese beruhte zum einen auf einer schnelleren Natriumfreisetzung und zum anderen auf dem Prinzip des sensorischen Kontrasts, da abwechselnde Stimuli niedriger und hoher Konzentration intensiver wahrgenommen werden als eine kontinuierliche Stimulierung. Die inhomogene Natriumverteilung wurde makroskopisch mit Natriumchlorid-Kristallen, die mit Patentblau V gefärbt waren, sichtbar gemacht. Mit Hilfe eines Natrium-selektiven Fluoreszenzfarbstoffs SBF1-AM wurde Natrium in Brotkrume mittels CLSM visualisiert und die inhomogene Verteilung bestätigt. Der Einbau von Natriumchlorid-Kristallen hatte zudem einen Einfluss auf die Proteinstruktur, da diese in den salzigen Stellen der in Brotkrume mit 4 und 6 % NaCl glich. SEM-Aufnahmen zeigten in Brotkrume mit grobkörnigem Salz kristalline Strukturen auf dem Stärke-Protein-Netzwerk. Durch Erzielung einer inhomogenen Natriumverteilung war eine Kochsalzreduktion um 25 % unter Beibehalt der Geschmackseigenschaften möglich.

Die Variation der Gärzeiten lieferte Brote mit sehr fester, feinporiger Krume (0/0 min-Brot) und mit weicherer, grobporiger Krume (90/120 min-Brot). Bei gleichem Salzgehalt von 1,5 % wurde das 90/120 min-Brot im Vergleich zum 0/0 min-Brot sowohl bei konstantem Probenvolumen als auch bei konstantem Probengewicht vom Panel als salziger bewertet. Die intensivere Salzwahrnehmung ließ sich bei konstantem Probengewicht mit der schnelleren Natriumfreisetzung aus dem 90/120 min-Brot erklären. Allerdings war trotz des sensorischen Unterschieds die Natriumfreisetzung bei konstantem Probenvolumen zu Beginn der Kaudauer (0 - 15 s) aus beiden Broten gleich. Korrelationen von sensorischen Ergebnissen, Texturmessungen, Natriumfreisetzungsraten und optischen Kenngrößen wie Anzahl und Größe der Poren ergaben, dass die Textur ein weiterer salzgeschmacksbestimmender Parameter in

Brotkrume war. Die Generierung einer grobporigeren Krumenstruktur führte zu einer verstärkten Salzwahrnehmung und konnte somit als weitere Strategie zur Kochsalzreduktion identifiziert werden.

Modellsysteme auf Basis von Weizen- und Maisstärke, amylopektinreicher und amylosereicher Maisstärke, Agar-Agar und Cellulose erlaubten die Untersuchung des Einflusses von Art und Konzentration des Polysaccharids auf die Salzwahrnehmung. Je nach Art und Konzentration des Polysaccharids ergaben sich außerdem Unterschiede in Bezug auf Viskosität, Gelfestigkeit, Mundgefühl, Natriumfreisetzung während des Verzehrs und das Vorhandensein oder Fehlen von unlöslichen Partikeln, die alle wiederum die wahrgenommene Salzintensität beeinflussten. Allgemein führte der Zusatz von Polysacchariden zu einer verringerten Salzwahrnehmung, die sich nur in manchen Fällen mit einer langsameren Natriumfreisetzung erklären ließ. Eine Behinderung der Diffusion von Natrium zu den Ionenkanälen durch Belegung der Zungenoberfläche durch das Gel konnte ausgeschlossen werden und der salzinhibierende Effekt trat nur bei gleichzeitiger Präsentation der textuellen und salzigen Stimuli auf. In Lösungen und Suspensionen mit vollständig und sofort frei verfügbarer Natriummenge musste die verringerte, wahrgenommene Salzintensität auf taktil-gustatorischen Interaktionen und möglicherweise kognitiven Assoziationen bei der Verarbeitung der Reize im Gehirn beruhen.

Besonders interessant war der Effekt von unlöslichen Cellulose-Partikeln, die sogar bei vernachlässigbar geringer Erhöhung der Viskosität im Vergleich zu Wasser einen inhibierenden Effekt auf die Salzwahrnehmung hatten. Ein direkter Effekt speziell auf Ionenkanäle konnte ebenfalls ausgeschlossen werden, da neben dem Salz- und Sauergeschmack auch der über G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelte Süß- und Umamigeschmack weniger stark wahrgenommen wurde, während der Bittergeschmack unbeeinflusst blieb. Die Gesamtheit der Untersuchungen an Modellsystemen lieferte somit neue Evidenz für Interaktionen zwischen taktilen und gustatorischen Stimuli, die bei der sensorischen Integration in polymodalen Gehirnregionen zu einer Beeinflussung der Geschmackswahrnehmung führten.



## Literaturverzeichnis

Ainsworth, P; Plunkett, A. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 296-315

Alvarez-Jubete, L.; Auty, M.; Arendt, E. K.; Gallagher, E. Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *Eur. Food Res. Technol.* **2010**, *230*, 437-445

Amtliche Sammlung von Untersuchungsmethoden nach § 35 LMBG: Schulung von Prüfpersonen für sensorische Prüfungen. Hrsg.: BGA, Beuth Verlag GmbH, Berlin, **1997**, L 00.90-10

Amtliche Sammlung von Untersuchungsmethoden nach § 35 LMBG: Sensorische Prüfverfahren – Bestimmung der Geschmacksempfindlichkeit. Hrsg.: BGA, Beuth Verlag GmbH, Berlin, **1999**, L 00.90-9

Amtliche Sammlung von Untersuchungsmethoden nach § 35 LMBG: Sensorische Prüfverfahren – Paarweise Vergleichsprüfung. Hrsg.: BGA, Beuth Verlag GmbH, Berlin, **2007**, L 00.90-8

Bachmanov, A. A.; Beauchamp, G. K. Taste receptor genes. *Annu. Rev. Nutr.* **2007**, *27*, 389-414

Baker, H. P.; Saroff, H. A. Binding of sodium ions to  $\beta$ -lactoglobulin. *Biochemistry.* **1965**, *4*, 1670-1677

Beck, M.; Jekle, M.; Becker, T. Impact of sodium chloride on wheat flour dough for yeast-leavened products. I. Rheological attributes. *J. Sci. Food Agric.* **2012a**, *92*, 585–592

Beck, M.; Jekle, M.; Becker, T. Impact of sodium chloride on wheat flour dough for yeast-leavened products. II. Baking quality parameters and their relationship. *J. Sci. Food Agric.* **2012b**, *92*, 299-306

Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle, P. Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer Verlag: Heidelberg, Deutschland, **2007**, S. 13

Bledsoe, G. E.; Bledsoe, C. D.; Rasco, B. Caviars and fish roe products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2003**, *43*, 317-356

Breslin, P. A. S. Interactions among salty, sour and bitter compounds. *Trends Food Sci. Technol.* **1996**, *7*, 390-399

Breslin, P. A. S.; Beauchamp, G. K. Suppression of bitterness by sodium: Variation among bitter taste stimuli. *Chem. Senses.* **1995**, *20*, 609-623

Brown, I. J.; Tzoulaki, I.; Candeias, V.; Elliott, P. Salt intakes around the world: implications for public health. *Int. J. Epidemiol.* **2009**, *38*, 791-813

Brown, R. E.; Jarvis, K. L.; Hyland, K. J. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Anal. Biochem.* **1989**, *180*, 136-139

Bugusu, B. A.; Rajwa B., Hamaker, B. R. Interaction of maize zein with wheat gluten in composite dough and bread as determined by confocal laser scanning microscopy. *Scanning.* **2002**, *24*, 1-5

Bult, J. H.; de Wijk, R. A.; Hummel, T. Investigations on multimodal sensory integration: texture, taste, and ortho- and retronasal olfactory stimuli in concert. *Neurosci. Lett.* **2007**, *411*, 6-10

Burseg, K. M. M.; Brattinga, C.; de Kok, P. M. T.; Bult, J. H. F. Sweet taste enhancement through pulsatile stimulation depends on pulsation period not on conscious pulse perception. *Physiol. Behav.* **2010**, *100*, 327-331

Burseg, K. M. M.; Camacho, S.; Bult, J. H. F. Effects of pulsation rate and viscosity on pulsation-induced taste enhancement: New insights into texture-taste interactions. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 5548-5553

Busch, J. L. H. C.; Tournier, C.; Knoop, J. E.; Kooyman, G.; Smit, G. Temporal contrast of salt delivery in mouth increases salt perception. *Chem. Senses* **2009**, *34*, 341-348

Busch, J. L. H. C.; Yong, F. Y. S.; Goh, S. M. Sodium reduction: optimizing product composition and structure towards increasing saltiness perception. *Trends Food Sci. Technol.* **2013**, *29*, 21-34

Busch-Stockfisch M. Behr's Praxishandbuch Sensorik in der Produktentwicklung und Qualitätssicherung. *Behr's Verlag, Hamburg. 2002*

Cappuccio, F. P.; Kalaitzidis, R.; Duneclift, S.; Eastwood, J. B. Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. *J. Nephrol. 2000, 13, 169-177*

Cauvain, S. P. Reduced salt in bread and other baked products. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 283-295

Chandrashekar, J.; Hoon, M. A.; Ryba, N. J. P.; Zuker, C. S. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature. 2006, 444, 288-294*

Chandrashekar, J.; Kuhn, C.; Oka, Y.; Yarmolinsky, D. A.; Hummler, E.; Ryba, N. J. P.; Zuker, C. S. The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature. 2010, 464, 297-302*

Chatzigeorgiou, M.; Bang, S.; Hwang, S. W.; Schafer, W. R. *tmc-1* encodes a sodium-sensitive channel required for salt chemosensation in *C. elegans*. *Nature. 2013, 494, 95-99*

Chaudhari, N.; Roper, S. D.; The cell biology of taste. *J. Cell Biol. 2010, 190, 285-296*

Chobanian, A. V.; Bakris, G. L.; Black, H. R. Cushman, W. C.; Green, L. A.; Izzo, J. L.; Jones, D. W.; Materson, B. J.; Oparil, S.; Wright, J. T.; Roccella, E. J. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension. 2003, 42, 1206-1252*

Christensen, C. M. Effects of taste quality and intensity on oral perception of viscosity. *Percept. Psychophys. 1980a, 28, 315-320*

Christensen, C. M. Effects of solution viscosity on perceived saltiness and sweetness. *Percept. Psychophys. 1980b, 28, 347-353*

Cook, D. J.; Hollowood, T. A.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J. Perception of taste intensity in solutions of random-coil polysaccharides above and below  $c^*$ . *Food Qual. Prefer. 2002, 13, 473-480*

Cook, D. J.; Hollowood, T. A.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J. Oral shear stress predicts flavour perception in viscous solutions. *Chem. Senses*. **2003**, *28*, 11-23

Cordain, L.; Eaton, S. B.; Sebastian, A.; Mann, N.; Lindeberg, S.; Watkins, B. A.; O'Keefe, J. H. O.; Brand-Miller, J. Origins and evolution of the Western diet: health implication for the 21<sup>st</sup> century. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 341-354

Coste, B.; Patapoutian, A. Salty sensations. *Nature*. **2013**, *494*, 44-45

Curtis, R. A.; Prausnitz, J. M.; Blanch, H. W. Protein-protein and protein-salt interactions in aqueous protein solutions containing concentrated electrolytes. *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, *57*, 11-21

Curtis, R. A.; Ulrich, J.; Montaser, A.; Prausnitz, J. M.; Blanch, H. W. Protein-protein interactions in concentrated electrolyte solutions. *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *79*, 367-380

Cutler, J. A.; Follmann, D.; Allender, P. S. Randomized trials of sodium reduction: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* **1997**, *65* (2 Suppl.), 643-651

Danno, G.; Hosney, R. C. Effect of sodium chloride and sodium dodecyl sulfate on mixograph properties. *Cereal Chem.* **1982**, *59*, 202-204

Davidson, J. M.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J. In-mouth measurement of pH and conductivity during eating. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5210-5214

De Araujo, I. E.; Rolls, E. T. Representation in the human brain of food texture and oral fat. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 3086-3093

Delwiche, J.; O'Mahony, M. Changes in secreted salivary sodium are sufficient to alter salt taste sensitivity: use of signal detection measures with continuous monitoring of the oral environment. *Physiol. Behav.* **1996**, *59*, 605-611

Delwiche, J. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. *Food Qual. Prefer.* **2004**, *15*, 137-146

Denton, D.; Weisinger, R.; Mundy, N. I.; Wickings, E. J.; Dixon, A.; Moisson, P.; Pingard, A. M.; Shade, R.; Carey, D.; Ardaillou, R.; Paillard, F.; Chapman, J.; Thillet, J.; Michel, J. B. The effect of increased salt intake on blood pressure of chimpanzees. *Nat. Med.* **1995**, *1*, 1009-1016

De Simone, J. A.; Lyall, V.; Heck, G. L.; Phan, T.-H. T.; Alam, R. I.; Feldman, G. M.; Buch, R. M. A novel pharmacological probe links the amiloride-insensitive NaCl, KCl, and NH<sub>4</sub>Cl chorda tympani taste responses. *J. Neurophysiol.* **2001**, *86*, 2638-2641

De Wardener, H.; MacGregor, G. A. Harmful effects of dietary salt in addition to hypertension. *J. Hum. Hypertens.* **2002**, *16*, 213-223

Doyle, M. E.; Glass, K. A. Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **2010**, *9*, 44-56

Dunkel, A.; Hofmann, T. Carboanhydrase IV vermittelt das Prickeln der Kohlensäure in Getränken. *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3037-3039

Dürrenberger, M. B.; Handschin, S.; Conde-Petit, B.; Escher, F. Visualization of food structure by confocal laser scanning microscopy (CLSM). *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **2001**, *34*, 11-17

Eaton, S. B.; Konner, M. Paleolithic nutrition: A consideration of its nature and current implications. *New Engl. J. Med.* **1985**, *312*, 283-289

Engelen, L. Oral receptors. In *Food oral processing: Fundamentals of eating and sensory perception*. Chen, J., Engelen, L., Eds; Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, **2012**, 15-43

Engelen, L.; de Wijk, R. A.; van der Bilt, A.; Prinz, J. F.; Janssen, A. M.; Bosman, F. Relating particles and texture perception. *Physiol. Behav.* **2005**, *86*, 111-117

Engelen, L.; van der Bilt, A. Oral physiology and texture perception of semisolids. *J. Texture Stud.* **2008**, *39*, 83-113

Engelen, L.; de Wijk, R. A. Oral processing and texture perception. In *Food oral processing: Fundamentals of eating and sensory perception*. Chen, J., Engelen, L., Eds; Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, **2012**, 159-176

European Food Safety Authority (EFSA) – Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Sodium, Request N° EFSA-Q-2003-018. *The EFSA Journal*. **2005**, *209*, 1-26

Ferry, A. L.; Hort, J.; Mitchell, J. R.; Cook, D. J.; Lagarrigue, S.; Pamies, B. V. Viscosity and flavour perception: why is starch different from hydrocolloids? *Food Hydrocolloid*. **2006**, *20*, 855-862

Foegeding, E. A.; Daubert, C. R.; Drake, M. A.; Essick, G.; Trulsson, M.; Vinyard, C. J.; van de Velde, F. A comprehensive approach to understanding textural properties of semi- and soft-solid foods. *J. Texture Stud.* **2011**, *42*, 103-129

Food and Nutrition Board (FNB) – Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. *The National Academies Press*, Washington D. C., **2004**

Forte, J. G.; Miguel, J. M.; Miguel, M. J.; de Pádua, F.; Rose, G. Salt and blood pressure: a community trial. *J. Hum. Hypertens.* **1989**, *3*, 179-184

Frank, M. E.; Gent J. F.; Hettinger, T. P. Effects of chlorhexidine on human taste perception. *Physiol. Behav.* **2001**, *74*, 85-99

Frank, O.; Ottinger, H.; Hofmann, T. Characterization of an intense bitter-tasting 1H,4H-quinolizinium-7-olate by application of the taste dilution analysis, a novel bioassay for the screening and identification of taste-active compounds in foods. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 231-238

Frasch-Melnik, S.; Norton, I. T.; Spyropoulos, F. Fat-crystal stabilised w/o emulsions for controlled salt release. *J. Food Eng.* **2010**, *98*, 437-442

Galindo, M. M.; Voigt, N.; Stein, J.; van Lengerich, J.; Raguse, J.-D.; Hofmann, T.; Meyerhof, W.; Behrens, M. G-protein coupled receptors in human fat taste perception. *Chem. Senses.* **2012**, *37*, 123-139

Gates, P. E.; Tanaka, H.; Hiatt, W. R.; Seals, D. R. Dietary sodium restriction rapidly improves large elastic artery compliance in older adults with systolic hypertension. *Hypertension*. **2004**, *44*, 35-41

Girgis S.; Neal B.; Prescott J.; Prendergast J.; Dumbrell S.; Turner C.; Woodward M. A one-quarter reduction in the salt content of bread can be made without detection. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 616-620

Gou, P.; Guerrero, L.; Gelabert, J.; Arnau, J. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Sci.* **1996**, *42*, 37-48

Graudal, N. A.; Hubeck-Graudal, T.; Jürgens, G. Effects of low sodium diet versus high sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterols, and triglyceride. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2011**, *11*, CD004022

Gray, J. A.; Bemiller, J. N. Bread staling: Molecular basis and control. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **2003**, *2*, 1-21

He, F. J.; MacGregor, G. A. How far should salt intake be reduced? *Hypertension*. **2003**, *42*, 1093-1099

He, F. J.; MacGregor, G. A. Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2004**, *3*, CD004937

He, F. J.; Markandu, N. D.; MacGregor, G. A. Modest salt reduction lowers blood pressure in isolated systolic hypertension and combined hypertension. *Hypertension*. **2005**, *46*, 66-70

He, F. J.; MacGregor, G. A. Dietary salt, high blood pressure and other harmful effects on health. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 18-54

He, H.; Roach, R. R.; Hosney, R. C. Effect of nonchaotropic salts on flour bread-making properties. *Cereal Chem.* **1992**, *69*, 366-371

He, J.; Tell, G. S.; Tang, Y. C.; Mo, P. S.; He, H. Q. Relation of electrolytes to blood pressure in men. The Yi people study. *Hypertension*. **1991**, *17*, 378-385

Heaney, R. P. Role of dietary sodium in osteoporosis. *J. Am. Coll. Nutr.* **2006**, *25 (Suppl. 3)*, 271-276

Heck, G. L.; Mierson, S.; DeSimone, J. A. Salt taste transduction occurs through an amiloride-sensitive sodium transport pathway. *Science*. **1984**, *223*, 403-405

Hlynka, I. Influence of temperature, speed of mixing, and salt on some rheological properties of dough in the farinograph. *Cereal Chem.* **1962**, *39*, 286-303

Hollowood, T. A.; Linforth, R. S.; Taylor, A. J. The effect of viscosity on the perception of flavour. *Chem. Senses*. **2002**, *27*, 583-591

Holmes, J. T.; Hoskeney, R. C. Chemical leavening: Effect of pH and certain ions on bread-making properties. *Cereal Chem.* **1987**, *64*, 343-348

Huang, L.-K.; Wang, M.-J. J. Image thresholding by minimizing the measures of fuzziness. *Pattern Recogn.* **1995**, *28*, 41-51

Intersalt Cooperative Research Group. Intersalt: an international study on electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *BMJ*. **1988**, *297*, 319-328

James, W. P. T.; Ralph, A.; Sanchez-Castillo, C. P. The dominance of salt in manufactured food in the sodium intake of affluent societies. *Lancet*. **1987**, *1*, 426-429

Jekle, M.; Becker, T. Implementation of a novel tool to quantify dough microstructure. *Procedia Food Science*. **2011a**, *1*, 1-6

Jekle, M.; Becker, T. Dough microstructure: novel analysis by quantification using confocal laser scanning microscopy. *Food Res. Int.* **2011b**, *44*, 984-991

JSM-5510LV Datasheet, JEOL, Tokio, Japan

Jula, A. M.; Karanko, H. M. Effects of left ventricular hypertrophy of long-term nonpharmacological treatment with sodium restriction in mild-to-moderate essential hypertension. *Circulation*. **1994**, *89*, 1023-1031

Juteau, A.; Tournier, C.; Guichard, E. Influence of type and amount of gelling agent on flavour perception: physicochemical effect or interaction between senses? *Flavour Fragr. J.* **2004**, *19*, 483-490

Kadohisa, M.; Rolls, E. T.; Verhagen, J. V. Neuronal representations of stimuli in the mouth: The primate insular taste cortex, orbitofrontal cortex and amygdala. *Chem. Senses.* **2005**, *30*, 401-419

Karppanen, H.; Mervaala, E. Sodium intake and hypertension. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2006**, *49*, 59-75

Katina, K.; Arendt, E.; Liukkonen, K.-H.; Autio, K.; Flander, L.; Poutanen, K. Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci. Technol.* **2005**, *16*, 104-112

Keast, R. S. J.; Breslin, P. A. S. An overview of binary taste-taste interactions. *Food Qual. Prefer.* **2002**, *14*, 111-124

Kellenberger, S.; Schild L. Epithelial sodium channel/degenerin family of ion channels: a variety of functions for a shared structure. *Physiol. Rev.* **2002**, *82*, 735-767

Kieffer, R.; Kim, J.-J.; Belitz, H.-D. Einfluss niedermolekularer ionischer Verbindungen auf die Löslichkeit und die rheologischen Eigenschaften von Weizenkleber. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* **1983**, *176*, 176-182

Kilcast, D.; den Ridder, C. Sensory issues in reducing salt in food products. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 201-220

Kokini, J. L.; Kadane, J. B.; Cussler, E. L. Liquid texture perceived in the mouth. *J. Texture Stud.* **1977**, *8*, 195-218

Kokini, J. L. The physical basis of liquid food texture and texture-taste interactions. *J. Food Eng.* **1987**, *6*, 51-81

Koliandris, A.; Lee, A.; Ferry, A.-L.; Hill, S.; Mitchell, J. Relationship between structure of hydrocolloid gels and solutions and flavor release. *Food Hydrocolloid.* **2008**, *22*, 623-630

Koliandris, A.-L.; Morris, C.; Hewson, L.; Hort, J.; Taylor, A. J.; Wolf, B. Correlation between saltiness perception and shear flow behaviour for viscous solutions. *Food Hydrocolloid*. **2010**, *24*, 792-799

Konner, M.; Eaton, S. B. Paleolithic nutrition – twenty-five years later. *Nutr. Clin. Pract.* **2010**, *25*, 594-602

Kuschmann, S. Salzreduktion in Backwaren. Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V, Detmold, **2008**

Lallemand, M.; Giboreau, A.; Rytz, A.; Colas, B. Extracting parameters from time-intensity curves using a trapezoid model: the example of some sensory attributes of ice cream. *J. Sensory Stud.* **1999**, *14*, 387-399

Lang, C. E.; Neises, E. K.; Walker, C. E. Effects of additives on flour-water dough mixograms. *Cereal Chem.* **1992**, *69*, 587-591

Lauverjat, C.; Déléris, I.; Tréléa, I. C.; Salles, C.; Souchon, I. Salt and aroma compound release in model cheeses in relation to their mobility. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 9878-9887

Law, M. R.; Frost, C. D.; Wald, N. J. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? III – Analysis of data from trials of salt reduction. *BMJ.* **1991**, *6780*, 819-824

Lawless, H.; Stevens, D. A. Effects of oral chemical irritation on taste. *Physiol. Behav.* **1984**, *32*, 995-998

Lawless, H. T.; Heymann, H. Time-Intensity Methods. In *Sensory Evaluation of Food – Principles and Practices*. Springer Science+Business Media: New York, USA, **2010**, 179-201

Lawrence, G.; Salles, C.; Palicki, O.; Septier, C.; Busch, J.; Thomas-Danguin, T. Using cross-modal interactions to counterbalance salt reduction in solid foods. *Int. Dairy J.* **2011**, *21*, 103-110

Lawrence, G.; Buchin, S.; Achilleos, C.; Bérodiér, F.; Septier, C.; Courcoux, P.; Salles, C. In vivo sodium release and saltiness perception in solid lipoprotein matrices. 1. Effect of composition and texture. *J. Agric. Food Chem.* **2012a**, *60*, 5287-5298

Lawrence, G.; Septier, C.; Achilleos, C.; Courcoux, P.; Salles, C. In vivo sodium release and saltiness perception in solid lipoprotein matrices. 2. Impact of oral parameters. *J. Agric. Food Chem.* **2012b**, *60*, 5299-5306

Liebson, P. R.; Grandits, G. A.; Dianzumba, S.; Prineas, R. J.; Grimm, R. H.; Neaton, J. D.; Stamler, J. Comparison of five antihypertensive monotherapies and placebo for change in left ventricular mass in patients receiving nutritional-hygienic therapy in the Treatment of Mild Hypertension Study (TOMHS). *Circulation.* **1995**, *91*, 698-706

Lifton, R. P.; Gharavi, A. G.; Geller, D. S. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell.* **2001**, *104*, 545-556

Lindsay, R. C.; Hargett, S. M.; Bush, S. C. Effect of sodium/potassium (1:1) chloride and low sodium chloride concentrations on quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **1982**, *65*, 360-370

Liu, Y.-H.; MacFie, H. J. H. Methods for averaging time-intensity curves. *Chem. Senses.* **1990**, *15*, 471-484

Loffing, J.; Schild, L. Functional domains of the epithelial sodium channel. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2005**, *16*, 3175-3181

Lynch, E. J.; Dal Bello, F.; Sheehan, E. M.; Cashman, K. D.; Arendt, E. K. Fundamental studies on the reduction of salt on dough and bread characteristics. *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 885-891

Maher Galal, A.; Varriano-Marston, E.; Johnson, J. A. Rheological dough properties as affected by organic acids and salt. *Cereal Chem.* **1978**, *55*, 683-691

Man, C. M. D. Technological functions of salt in food products. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 157-173

Mancilha-Carvalho, J. de J.; de Souza e Silva, N. A. The Yanomami Indians in the INTERSALT study. *Arq. Bras. Cardiol.* **2003**, *80*, 295-300

Mattes, R. D.; Donnelly, D. Relative contributions of dietary-sodium sources. *J. Am. Coll. Nutr.* **1991**, *10*, 383-393

Matz, S. A. Water and salt. In *Bakery Technology and Engineering*. Van Nostrand Reinhold/AVI: New York, USA, **1992**, 123-150

McBurney, D. H.; Collings, V. B.; Glanz, L. M. Temperature dependence of human taste responses. *Physiol. Behav.* **1973**, *11*, 89-94

McCaughey, S. Dietary salt and flavor: mechanisms of taste perception and physiological controls. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 77-98

McKemy, D. D. How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation. *Mol. Pain.* **2005**, *1*, 16

Meiselman, H. L.; Halpern, B. P. Enhancement of taste intensity through pulsatile stimulation. *Phys. Behav.* **1973**, *11*, 713-716

Meneton, P.; Jeunemaitre, X.; de Wardener, H. E.; MacGregor, G. A. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular disease. *Physiol. Rev.* **2005**, *85*, 679-715

Mestres, M.; Kieffer, R.; Buettner A. Release and perception of ethyl butanoate during and after consumption of whey protein gels: relation between textural and physiological parameters. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 1814-1821

Midgley, J. P.; Matthew, A. G. Greenwood, C. M.; Logan, A. G. Effect of reduced dietary sodium on blood pressure – A meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Amer. Med. Assoc.* **1996**, *20*, 1590-1597

Miller, R. A.; Hosney, R. C. Role of salt in baking. *Cereal Food World.* **2008**, *53*, 4-6

Mills, T.; Spyropoulos, F.; Norton, I. T.; Bakalis, S. Development of an in-vitro mouth model to quantify salt release from gels. *Food Hydrocolloid.* **2011**, *25*, 107-113

Ming, D.; Ninomiya, Y.; Margolskee, R. F. Blocking taste receptor activation of gustducin inhibits gustatory responses to bitter compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, *96*, 9903-9908

Minta, A.; Tsien R. Y. Fluorescent indicators for cytosolic sodium. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 19449-19457

Mole, R. H. Sodium in man and the assessment of radiation dose after criticality accidents. *Phys. Med. Biol.* **1984**, *29*, 1307-1327

Morris, C.; Koliandris, A.-L.; Wolf, B.; Hort, J.; Taylor, A. J. Effect of pulsed or continuous delivery of salt on sensory perception over short time intervals. *Chem. Percept.* **2009**, *2*, 1-8

Morrison, A. C.; Ness, R. B. Sodium intake and cardiovascular disease. *Annu. Rev. Public Health.* **2011**, *32*, 71-90

Moskowitz, H. R.; Arabie, P. Taste intensity as a function of stimulus concentration and solvent viscosity. *J. Texture Stud.* **1970**, *1*, 502-510

Moyer, B.; Zlotnik, A.; Hevezi, P.; Soto, H.; Lu, M.; Gao, N.; Servant, G.; Brust, P.; Williams, M.; Kalabat, D.; White, E. C.; Saganich, M.; Laita, B.; Dahan, D. Identification of TRPML3 (MCOLN3) as a salty taste receptor and use in assays for identifying taste (salty) modulators and/or therapeutics that modulate sodium transport, absorption or excretion and/or aldosterone and/or vasopressin production or release. *WO2009008950*, **2009**

Nationale Verzehrsstudie II (NVS II), Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Max Rubner-Institut, Karlsruhe, Deutschland, **2008**

Neyraud, E.; Prinz, J.; Dransfield, E. NaCl and sugar release, salivation and taste during mastication of salted chewing gum. *Physiol. Behav.* **2003**, *79*, 731-737

Noort, M. W. J.; Bult, J. H. F.; Stieger, M.; Hamer, R. J. Saltiness enhancement in bread by inhomogeneous spatial distribution of sodium chloride. *J. Cereal Sci.* **2010**, *52*, 378-386

Noort, M. W. J.; Bult, J. H. F.; Stieger, M. Saltiness enhancement by taste contrast in bread prepared with encapsulated salt. *J. Cereal Sci.* **2012**, *55*, 218-225

Okiyama, A.; Beauchamp, G. K. Taste dimensions of monosodium glutamate (MSG) in a food system: role of glutamate in young American subjects. *Physiol. Behav.* **1998**, *65*, 177-181

Osborne, T. B. The proteins of the wheat kernel. Carnegie Institution of Washington, Washington D.C. **1907**, publication No. 84

Ossebaard, C. A.; Smith, D. V. Effect of amiloride on the taste of NaCl, Na-gluconate and KCl in humans: implications for Na<sup>+</sup> receptor mechanisms. *Chem. Senses*. **1995**, *20*, 37-46

Ottinger, H.; Hofmann, T. Identification of the taste enhancer alapyridaine in beef broth and evaluation of its sensory impact by taste reconstitution experiments. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6791-6796

Pangborn, R. M.; Trabue, I. M.; Szczesniak, A. S. Effect of hydrocolloids on oral viscosity and basic taste intensities. *J. Texture Stud.* **1973**, *4*, 224-241

Patapoutian, A.; Peier, A. M.; Story, G. M.; Viswanath, V. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat. Rev. Neurosci.* **2003**, *4*, 529-539

Penney, M. D. Sodium, water and potassium. In *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. Marshall, W. J., Bangert, S. K., Eds; Churchill Livingstone: Oxford, UK, **2008**, 28-66

Perry, I. J.; Beevers, D. G. Salt intake and stroke: a possible direct effect. *J. Hum. Hypertens.* **1992**, *6*, 23-25

Pfaffmann, C. Taste mechanisms in preference behavior. *Am. J. Clin. Nutr.* **1957**, *5*, 142-147

Pflaum, T. Studien zur Natriumfreisetzung aus Weißbrot als Grundlage für die Kochsalzreduktion in Backwaren. *Dissertation*. **2013**, Technische Universität München

Phan, V. A.; Yven, C.; Lawrence, G.; Chabanet, C.; Reparet, J. M.; Salles, C. In vivo sodium release related to salty perception during eating model cheeses of different textures. *Int. Dairy J.* **2008**, *18*, 956-963

Pionnier E.; Chabanet C.; Mioche, L.; Taylor, A. J.; le Quéré, J.-L.; Salles, C. 1. In vivo aroma release during eating of a model cheese: relationships with oral parameters. *J. Agric. Food Chem.* **2004a**, *52*, 557-564

Pionnier E.; Chabanet C.; Mioche, L.; Taylor, A. J.; le Quéré, J.-L.; Salles, C. 2. In vivo non-volatile release during eating of a model cheese: relationships with oral parameters. *J. Agric. Food. Chem.* **2004b**, *52*, 565-571

Poulter, N. R.; Khaw, K. T.; Hopwood, B. E.; Mugambi, M.; Peart, W. S.; Rose, G.; Sever, P. S. The Kenyan Luo migration study: observations on the initiation of a rise in blood pressure. *BMJ.* **1990**, *300*, 967-972

Preston K. R. Effects of neutral salts upon wheat gluten protein properties. I. Relationship between the hydrophobic properties of gluten proteins and their extractability and turbidity in neutral salts. *Cereal Chem.* **1981**, *58*, 317-324

Preston K. R. Effects of neutral salts of the lyotropic series on the physical dough properties of a Canadian Red Spring wheat flour. *Cereal Chem.* **1989**, *66*, 144-148

Rabe, E. Zur Natrium- und Kaliumbestimmung mit ionenselektiven Elektroden. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* **1983**, *176*, 270-274

Robinson T. Reducing salt in canned foods. In *Reducing salt in foods*. Kilcast, D., Angus, F., Eds; Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK, **2007**, 358-368

Rolls, E. T. The orbitofrontal cortex and reward. *Cereb. Cortex.* **2000**, *10*, 284-294

Rolls, E. T. Taste, olfactory, and food texture processing in the brain, and the control of food intake. *Physiol Behav.* **2005**, *85*, 45-56

Rolls, E. T.; Verhagen, J. V.; Kadohisa, M. Representations of the texture of food in the primate orbitofrontal cortex: neurons responding to viscosity, grittiness, and capsaicin. *J. Neurophysiol.* **2003**, *90*, 3711-3724

Roos, J. C.; Koomans, H. A.; Dorhout Mees, E. J.; Delawi, I. M. K. Renal sodium handling in normal humans subjected to low, normal, and extremely high sodium supplies. *Am. J. Physiol.* **1985**, *249*, 941-947

Sacks, F. M.; Svetkey, L. P.; Vollmer, W. M.; Appel, L. J.; Bray, G. A.; Harsha, D.; Obarzanek, E.; Conlin, P. R.; Miller III, E. R.; Simons-Morton, D. G.; Karanja, N.; Lin, P.-H. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *1*, 3-10

Salovaara H. Effect of partial sodium chloride replacement by other salts on wheat dough rheology and breadmaking. *Cereal Chem.* **1982a**, *59*, 422-426

Salovaara H. Sensory limitations to replacement of sodium with potassium and magnesium in bread. *Cereal Chem.* **1982b**, *59*, 427-430

Salt, L. J.; Wilde, P. J.; Georget, D.; Wellner, N.; Skeggs, P. K.; Mills, E. N. C. Composition and surface properties of dough liquor. *J. Cereal Sci.* **2006**, *43*, 284-292

Schepers, R. J.; Ringkamp, M. Thermoreceptors and thermosensitive afferents. *Neurosci. Biobehav. R.* **2009**, *33*, 205-212

Schiffman, S. S.; McElroy, A. E.; Erickson, R. P. The range of taste quality of sodium salts. *Physiol. Behav.* **1980**, *24*, 217-224

Schindler, A.; Dunkel, A.; Stähler, F.; Backes, M.; Ley, J.; Meyerhof, W.; Hofmann, T. Discovery of salt taste enhancing arginyl dipeptides in protein digests and fermented fish sauces by means of a sensomics approach. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 12578-12588

Schmieder, R. E.; Messerli, F. H.; Garavaglia, G. E.; Nunez, B. D. Dietary salt intake. A determinant of cardiac involvement in essential hypertension. *Circulation.* **1988**, *78*, 951-956

Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). Salt and Health. The Stationery Office, London, **2003**

Scientific Committee for Food (SCF). Reports of the Scientific Committee for Food (31<sup>st</sup> series). Nutrient and energy intakes for the European Community. Commission of the European Community, Luxemburg, **1993**, pp. 177-189

Scott, C. L.; Downey, R. G. Types of food aversions: animal, vegetable, and texture. *J. Psychol.* **2007**, *141*, 127-134

Simons, C. T.; Boucher, Y.; Carstens, E. Suppression of central taste transmission by oral capsaicin. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 978-985

Small, D. M.; Zald, D. H.; Jones-Gotman, M.; Zatorre, R. J.; Pardo, J. V.; Frey, S.; Petrides, M. Human cortical gustatory areas: a review of functional neuroimaging data. *Neuroreport.* **1999**, *10*, 7-14

Smith, P. K.; Krohn, R. I.; Hermanson, G. T.; Mallia, A. K.; Gartner, F. H.; Provenzano, M. D. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **1985**, *150*, 76-85

Soldo, T.; Blank, I.; Hofmann, T. (+)-(S)-Alapyridaine – A general taste enhancer? *Chem. Senses.* **2003**, *28*, 371-379

Stähler, F.; Riedel, K.; Demgensky, S.; Neumann, K.; Dunkel, A.; Täubert, A.; Raab, B.; Behrens, M.; Raguse, J.-D.; Hofmann, T.; Meyerhof, W. A role of the epithelial sodium channel in human salt taste transduction? *Chem. Percept.* **2008**, *1*, 78-90

Stamler, J.; Elliott, P.; Dennis, B.; Dyer, A. R.; Kesteloot, H.; Liu, K.; Ueshima, H.; Zhou, B. F. INTERMAP: background, aims, design, methods, and descriptive statistics (nondietary). *J. Hum. Hypertens.* **2003**, *17*, 591-608

Stevens, D. A.; Lawless, H. T. Putting out the fire: effects of tastants on oral chemical irritation. *Percept. Psychophys.* **1986**, *39*, 346-350

Stieger, M. A.; Bult, J. H. F.; Hamer, R. J.; Noort, M. W. J. Food product with inhomogeneous tastant bulk distribution and method for making such food product. Patent WO 2009/108057

Stieger, M. A.; Bult, J. H. F.; Hamer, R. J.; Noort, M. W. J. Flour-based food product with inhomogeneous tastant bulk distribution and method for making such food product. Patent WO 2009/108058

Strange, E. D.; van Hekken, D. L.; Holsinger, V. H. Effect of sodium chloride on the solubility of caseins. *J. Dairy Sci.* **1994**, *77*, 1216-1222

Strazzullo, P.; D'Elia, L.; Kandala, N.-B.; Cappuccio, F. P. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ.* **2009**, *339*, b4567

Szczesniak, A. S. Texture is a sensory property. *Food Qual. Prefer.* **2002**, *13*, 215-225

Tanaka, K.; Furukawa, K.; Matsumoto, H. The effect of acid and salt on the farinogram and extensigram of dough. *Cereal Chem.* **1967**, *44*, 675-680

Thefeld, W. Verbreitung der Herz-Kreislauf-Risikofaktoren Hypercholesterinämie, Übergewicht, Hypertonie und Rauchen in der Bevölkerung. *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz.* **2000**, *43*, 415-423

Tian, H. G.; Guo, Z. Y.; Hu, G.; Yu, S. J.; Sun, W.; Pietinen, P.; Nissinen, A. Changes in sodium intake and blood pressure in a community-based intervention project in China. *J. Hum. Hypertens.* **1995**, *9*, 959-968

Toldrá, F., Barat, J. M. Recent patents for sodium reduction in foods. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* **2009**, *1*, 80-86

Toshio, M.; Satoshi, I.; Yukio, U. Method for enhancing the salty-taste and/or delicious-taste of food products. *EP0813820*, **1997**

Tournier, C.; Sulmont-Rossé, C.; Guichard, E. Flavour perception: aroma, taste and texture interactions. *Food.* **2007**, *1*, 246-257

Tournier, C.; Sulmont-Rossé, C.; Sémon, E., Vignon, A., Issanchou, S.; Guichard, E. A study on texture-taste-aroma interactions: physio-chemical and cognitive mechanisms. *Int. Dairy J.* **2009**, *19*, 450-458

Treesukosol, Y.; Lyall, V.; Heck, G. L.; DeSimone, J. A.; Spector, A. C. A psychophysical and electrophysiological analysis of salt taste in TRPV1 null mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2007**, *292*, R1799-R1809

Trivedi, B. P. The finer points of taste. *Nature.* **2012**, *486*, S2-S3

Trulsson, M. Sensory-motor function of human periodontal mechanoreceptors. *J. Oral Rehabil.* **2006**, *33*, 262-273

Trulsson, M. Force encoding by human periodontal mechanoreceptors during mastication. *Arch. Oral Biol.* **2007**, *52*, 357-360

Trulsson, M.; Essick, G. K. Low-threshold mechanoreceptive afferents in the human lingual nerve. *J. Neurophysiol.* **1997**, *77*, 737-748

Tuomilehto, J.; Jousilahti, P.; Rastenyte, D.; Moltchanov, V.; Tanskanen, A.; Pietinen, P.; Nissinen, A. Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. *Lancet.* **2001**, *357*, 848-851

Ugawa, T.; Konosu, S.; Kurihara, K. Enhancing effects of NaCl and Na phosphate on human gustatory responses to amino acids. *Chem. Senses.* **1992**, *17*, 811-815

Ukai, T.; Matsumura, Y.; Urade, R. Disaggregation and reaggregation of gluten proteins by sodium chloride. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 1122-1130

Vallons, K. J. R.; Ryan, L. A. M.; Koehler, P.; Arendt, E. K. High pressure-treated sorghum flour as a functional ingredient in the production of sorghum bread. *Eur. Food Res. Technol.* **2010**, *231*, 711-717

Vallons, K. J. R.; Ryan, L. A. M.; Arendt, E. K. Promoting structure formation by high pressure in gluten-free flours. *LWT – Food Sci. Technol.* **2011**, *44*, 1672-1680

Verhagen, J. V.; Kadohisa, M.; Rolls, E. T. Primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature, and taste of foods. *J. Neurophysiol.* **2004**, *92*, 1685-1699

Verhagen, J. V.; Engelen, L. The neurocognitive bases of human multimodal food perception: sensory integration. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2006**, *30*, 613-650

Wang, X.-Q.; Terry, P. D.; Yan, H. Review of salt consumption and stomach cancer risk: Epidemiological and biological evidence. *World J. Gastroenterol.* **2009**, *15*, 2204-2213

Weinberger, M. H. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension.* **1996**, *2*, 481-490

Wellner, N.; Bianchini, D.; Mills, E. N. C.; Belton, P. S. Effect of selected Hofmeister anions on the secondary structure and dynamics of wheat prolamins in gluten. *Cereal Chem.* **2003**, *80*, 596-600

Weston, P. D.; Avrameas, S. Proteins coupled to polyacrylamide beads using glutaraldehyde. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1971**, *45*, 1574-1589

Wieser, H.; Seilmeier, W.; Eggert, M.; Belitz, H. D. Tryptophangehalt von Getreideproteinen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1983**, *177*, 457-460

Wieser, H.; Antes, S.; Seilmeier, W. Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* **1998**, *75*, 644-650

Wilson, C. E.; Brown, W. E. Influence of food matrix structure and oral breakdown during mastication on temporal perception of flavor. *J. Sensory Stud.* **1997**, *21*, 69-86

Wood F. W.; Goff, T. C. The determination of the effective shear rate in the Brabender Vis-cograph and in other systems of complex geometry. *Starch – Stärke.* **1973**, *25*, 89-91

Woolf, C. J.; Ma, Q. Nociceptors-noxious stimulus detectors. *Neuron.* **2007**, *55*, 353-364

World Health Organization. Reducing salt intake in populations: report of a WHO forum and technical meeting. WHO Press, Geneva, Switzerland, **2007**

Zarnkow, M.; Mauch, A.; Back, W.; Arendt, E. K.; Kreis, S. Proso millet (*Panicum miliaceum* L.): An evaluation of the microstructural changes in the endosperm during the malting process by using scanning-electron and confocal laser microscopy. *J. Inst. Brewing.* **2007**, *113*, 355-364

Zhou, B. F.; Stamler, J.; Dennis, B.; Moag-Stahlberg, A.; Okuda, N.; Robertson, C.; Zhao, L.; Chan, Q.; Elliott, P. Nutrient intakes of middle-aged men and women in China, Japan, United Kingdom, and United States in the late 1990s: The INTERMAP study. *J. Hum. Hypertens.* **2003**, *17*, 623-630

## Anhang

### Statistik

**Tabelle 25:** Statistische Signifikanzen der sekundären Parameter (Mittelwert aller Kurven,  $n = 12$ ), die aus den Time-Intensity-Kurven extrahiert wurden: Vergleich von Brot mit grobkörnigem NaCl (inhomogene Natriumverteilung) und Brot mit homogener Natriumverteilung (Referenz), bei gleichem NaCl-Gehalt von 1,5 %; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Parameter	0,25/1,25 % gk NaCl (inhomogen) vs. 1,5 % NaCl (homogen)
$I_{\max}$	< 0,001***
$D_i$	< 0,001***
$R_i$	< 0,001***
$A_i$	0,842
$D_m$	0,021*
$A_m$	< 0,001***
A	< 0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 26:** Statistische Signifikanzen der sekundären Parameter (Mittelwert aller Kurven,  $n = 12$ ), die aus den Time-Intensity-Kurven extrahiert wurden: Vergleich von Teig und Brotkrume, bei gleichem NaCl-Gehalt von 1,5 %; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Parameter	Brotkrume vs. Teig
$I_{\max}$	0,001***
$D_i$	< 0,001***
$R_i$	< 0,001***
$A_i$	< 0,001***
$D_m$	0,258
$A_m$	0,063
A	< 0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 27:** Statistische Signifikanzen der sekundären Parameter (Mittelwert aller Kurven,  $n = 12$ ), die aus den Time-Intensity-Kurven extrahiert wurden: Vergleich von 0/0 min-Brot und 90/120 min-Brot, bei gleichem NaCl-Gehalt von 1,5 %; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Parameter	0/0 min vs. 90/120 min (konstantes Gewicht)	0/0 min vs. 90/120 min (konstantes Volumen)
$I_{\max}$	< 0,001***	< 0,001***
$D_i$	< 0,001***	< 0,001***
$R_i$	< 0,001***	< 0,001***
$A_i$	0,277	< 0,001***
$D_m$	< 0,001***	0,006**
$A_m$	< 0,001***	< 0,001***
$A$	< 0,001***	< 0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 28:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Porengröße in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	< 0,001***			
Amylase	< 0,001***	< 0,001***		
90/120 min	< 0,001***	< 0,001***	0,007**	
DATEM	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***	0,001**

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 29:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Gesamtfläche der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>0,001**</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	0,288		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,011*</b>	0,340	
DATEM	<b>0,008**</b>	0,882	0,543	0,166

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 30:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Anzahl der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>&lt; 0,001***</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	0,179	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 31:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf den Feret's Durchmesser der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>&lt; 0,001***</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,013*</b>	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	0,111

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 32:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf den Umfang der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>0,005**</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,010*</b>		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,003**</b>	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,023*</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 33:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Festigkeit der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>0,002**</b>			
Amylase	<b>0,001**</b>	0,317		
90/120 min	0,084	0,103	<b>0,028*</b>	
DATEM	<b>0,013*</b>	0,591	0,203	0,345

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 34:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Zirkularität der Poren in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	0,560			
Amylase	<b>0,001**</b>	<b>&lt; 0,001***</b>		
90/120 min	<b>0,001**</b>	<b>0,002**</b>	0,071	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	0,063	0,545

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 35:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf das Brotvolumen in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>0,001**</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,006**</b>		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,036*</b>	0,468	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 36:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede in Bezug auf die Krumenfestigkeit in verschiedenen Broten: Referenz, Brote mit Gärzeiten von 0/0 min und 90/120 min, Brote mit Zusatz von DATEM oder  $\alpha$ -Amylase; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	vs. 0/0 min	vs. Referenz	vs. Amylase	vs. 90/120 min
Referenz	<b>0,001**</b>			
Amylase	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,027*</b>		
90/120 min	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,002**</b>	0,537	
DATEM	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,031*</b>	<b>0,035*</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 37:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der 0, 3,4, 11, 19 und 32%igen Weizenstärkegele in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Weizenstärke	0 %	3,4 %	11 %	19 %
3,4 %	<b>0,045*</b>			
11 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,001***</b>		
19 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,942	
32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,040*</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 38:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der 3,4, 11, 19 und 32%igen Weizenstärkegele in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	3,4 % Weizenstärke	11 % Weizenstärke	19 % Weizenstärke
11 % Weizenstärke	<b>&lt; 0,001***</b>		
19 % Weizenstärke	<b>0,003**</b>	<b>0,008**</b>	
32 % Weizenstärke	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 39:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2,4 und 3,2%igen Agar-Gele in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Agar	0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,4	0,8	1,6	2,4
0,05	0,998								
0,1	0,997	0,999							
0,15	0,995	0,999	0,998						
0,2	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,002**</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,005**</b>					
0,4	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	0,975				
0,8	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	0,964	0,901			
1,6	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,006**</b>	<b>0,043*</b>		
2,4	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,033*</b>	<b>0,038*</b>	<b>0,044*</b>	0,679	
3,2	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>&lt; 0,001***</b>	<b>0,047*</b>	<b>0,053*</b>	<b>0,049*</b>	0,687	0,731

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 40:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der 0,15, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2,4 und 3,2%igen Agar-Gele in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Agar	0,15	0,2	0,4	0,8	1,6	2,4
0,2	<0,001***					
0,4	<0,001***	0,012*				
0,8	<0,001***	<0,001***	0,001***			
1,6	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***		
2,4	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	
3,2	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 41:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der 0, 0,05, 0,1, 0,15 und 0,2%igen Agar-Gele in Bezug auf die Viskosität [mPa·s]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Agar	0	0,05	0,1	0,15
0,05	<0,001***			
0,1	<0,001***	<0,001***		
0,15	<0,001***	<0,001***	<0,001***	
0,2	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 42:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 4,1, 11, 19 und 32 % Maisstärke (AP), 3,7, 11, 19 und 32 % amylosereicher Maisstärke (A) oder 3,9, 11, 19 und 32 % amylopektinreicher Maistärke (P) in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als *p*-Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Mais- stärke	AP4,1	AP11	AP19	AP32	A3,7	A11	A19	A32	P3,9	P11	P19
AP11	<b>0,011*</b>										
AP19	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,048*</b>									
AP32	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,008**</b>	0,998								
A3,7	0,125	0,090	<b>0,014*</b>	<b>&lt;0,001***</b>							
A11	<b>0,011*</b>	0,148	0,216	<b>0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>						
A19	<b>0,003**</b>	<b>0,019*</b>	0,788	<b>0,016*</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,312					
A32	<b>0,013*</b>	<b>0,026*</b>	0,980	<b>0,037*</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,351	0,727				
P3,9	0,765	<b>0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,042*</b>	<b>0,014**</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>			
P11	<b>0,017*</b>	0,147	0,237	<b>0,002**</b>	<b>0,023*</b>	0,955	0,180	0,830	<b>0,012**</b>		
P19	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,017*</b>	0,995	0,100	<b>0,011*</b>	0,201	0,743	0,937	<b>&lt;0,001***</b>	0,220	
P32	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,002**</b>	0,091	0,590	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,004**</b>	<b>0,023*</b>	<b>0,045*</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,005**</b>	0,103

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 43:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 4,1, 11, 19 und 32 % Maisstärke (AP), 3,7, 11, 19 und 32 % amylosereicher Maisstärke (A) oder 3,9, 11, 19 und 32 % amylopektinreicher Maistärke (P) in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Mais- stärke	AP4,1	AP11	AP19	AP32	A3,7	A11	A19	A32	P3,9	P11	P19
AP11	<0,001***										
AP19	<0,001***	<0,001***									
AP32	<0,001***	<0,001***	<0,001***								
A3,7	0,967	<0,001***	<0,001***	<0,001***							
A11	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***						
A19	<0,001***	<0,001***	0,061	<0,001***	<0,001***	<0,001***					
A32	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***				
P3,9	0,945	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,998	<0,001***	<0,001***	<0,001***			
P11	<0,001***	0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***		
P19	<0,001***	0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,904	
P32	<0,001***	0,092	0,024*	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,001***	<0,001***

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 44:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Suspensionen mit 0, 2, 4, 8 und 12 % Cellulose PF75 und 0,5, 2 und 4 % Cellulose PF1000 in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Cellulose	0 %	PF75 2 %	PF75 4 %	PF75 8 %	PF75 12 %	PF1000 0,5 %	PF1000 2 %
PF75 2 %	<b>0,037*</b>						
PF75 4 %	<b>0,034*</b>	0,256					
PF75 8 %	<b>0,004**</b>	0,129	0,342				
PF75 12 %	<b>0,001***</b>	0,115	0,275	0,825			
PF1000 0,5 %	<b>0,040*</b>	0,532	0,755	0,264	0,218		
PF1000 2 %	<b>0,012**</b>	<b>0,010**</b>	0,051	0,955	0,843	0,088	
PF1000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,032*</b>	0,084	<b>0,001***</b>	<b>0,011**</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 45:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Suspensionen mit 0, 2, 4, 8 und 12 % Cellulose PF75 und 0,5, 2 und 4 % Cellulose PF1000 in Bezug auf die Viskosität [mPa·s]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Cellulose	0 %	PF75 2 %	PF75 4 %	PF75 8 %	PF75 12 %	PF1000 0.5 %	PF1000 2 %
PF75 2 %	<b>&lt;0,001***</b>						
PF75 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>					
PF75 8 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>				
PF75 12 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>			
PF1000 0,5 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,110	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>		
PF1000 2 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	
PF1000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 46:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Suspensionen mit 0 und 4 % Cellulose PF30, PF75, PF150, PF300, PF1000 und PF2000 in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Cellulose	0 %	PF30 4 %	PF75 4 %	PF150 4 %	PF300 4 %	PF1000 4 %
PF30 4 %	<b>0,036*</b>					
PF75 4 %	<b>0,034*</b>	0,992				
PF150 4 %	<b>0,015*</b>	0,991	0,999			
PF300 4 %	<b>0,003**</b>	0,762	0,998	0,191		
PF1000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,003**</b>	0,852	
PF2000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,007**</b>	<b>0,032*</b>	0,848	0,994

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 47:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Suspensionen mit 0 und 4 % Cellulose PF30, PF75, PF150, PF300, PF1000 und PF2000 in Bezug auf die Viskosität [mPa·s]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Cellulose	0	PF30 4 %	PF75 4 %	PF150 4 %	PF300 4 %	PF1000 4 %
PF30 4 %	<b>&lt;0,001***</b>					
PF75 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>				
PF150 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>			
PF300 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>		
PF1000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	
PF2000 4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 48:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele oder Suspensionen mit 0, 3,9 % amylopektinreicher Stärke (P), 4,1 % Maisstärke (AP), 3,4 % Weizenstärke, 3,7 % amylosereicher Stärke (A) und 3,0 % Cellulose PF1000 in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 3,9 %	AP 4,1 %	Weizenstärke 3,4 %	A 3,7 %
P 3,9 %	<b>0,050*</b>				
AP 4,1 %	<b>0,029*</b>	0,765			
Weizenstärke 3,4 %	<b>0,024*</b>	<b>0,040*</b>	0,895		
A 3,7 %	<b>0,018*</b>	<b>0,042*</b>	0,125	0,789	
PF1000 3 %	<b>0,016*</b>	<b>0,049*</b>	0,112	0,843	0,976

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 49:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele oder Suspensionen mit 0, 3,9 % amylopektinreicher Stärke (P), 4,1 % Maisstärke (AP), 3,4 % Weizenstärke, 3,7 % amylosereicher Stärke (A) und 3,0 % Cellulose PF1000 in Bezug auf die Viskosität [mPa·s]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 3,9 %	AP 4,1 %	Weizenstärke 3,4 %	A 3,7 %
P 3,9 %	<b>&lt;0,001***</b>				
AP 4,1 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,208			
Weizenstärke 3,4 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,489	0,202		
A 3,7 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,901	0,829	0,662	
PF1000 3 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,924	0,672	0,817	0,875

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 50:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,15, 0,2, 0,4 und 0,8 % Agar, 11 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 11 % amylosereicher Maisstärke (A), 11 % Weizenstärke (WSt) und 11 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	Agar 0,15 %	P 11 %	Agar 0,2 %	A 11 %	WSt 11 %	Agar 0,4 %	AP 11 %
Agar 0,15 %	0,995							
P 11 %	<0,001***	0,001***						
Agar 0,2 %	<0,001***	0,005**	0,168					
A 11 %	<0,001***	0,001***	0,955	0,172				
WSt 11 %	<0,001***	<0,001***	0,579	0,058	0,552			
Agar 0,4 %	<0,001***	<0,001***	0,594	0,975	0,614	0,255		
AP 11 %	<0,001***	0,007**	0,147	0,742	0,148	0,065	0,299	
Agar 0,8 %	<0,001***	<0,001***	0,980	0,964	0,941	0,490	0,901	0,078

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 51:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,15, 0,2, 0,4 und 0,8 % Agar, 11 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 11 % amylosereicher Maisstärke (A), 11 % Weizenstärke (WSt) und 11 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	Agar 0,15 %	P 11 %	Agar 0,2 %	A 11 %	WSt 11 %	Agar 0,4 %	AP 11 %
Agar 0,15 %	<0,001***							
P 11 %	<0,001***	0,073						
Agar 0,2 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***					
A 11 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,026*				
WSt 11 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,017*	<0,001***			
Agar 0,4 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,012*	<0,001***	0,188		
AP 11 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,003**	0,015*	
Agar 0,8 %	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,021*

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 52:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,8 und 1,6 % Agar, 19 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 19 % Weizenstärke (WSt), 19 % amylosereicher Maisstärke (A) und 19 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 19 %	Agar 0,8 %	WSt 19 %	A 19 %	AP 19 %
P 19 %	<b>&lt;0,001***</b>					
Agar 0,8 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,137				
WSt 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,236	<b>0,012*</b>			
A 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,743	0,200	0,170		
AP 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,955	0,152	0,218	0,788	
Agar 1,6 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,116	<b>0,043*</b>	0,744	0,080	0,105

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 53:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,8 und 1,6 % Agar, 19 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 19 % Weizenstärke (WSt), 19 % amylosereicher Maisstärke (A) und 19 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 19 %	Agar 0,8 %	WSt 19 %	A 19 %	AP 19 %
P 19 %	<b>&lt;0,001***</b>					
Agar 0,8 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>				
WSt 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,089			
A 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>		
AP 19 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,061	
Agar 1,6 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 54:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,8, 1,6 und 2,4 % Agar, 32 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 32 % Weizenstärke (WSt), 32 % amylosereicher Maisstärke (A) und 32 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die wahrgenommene Salzintensität [%]; ausgedrückt als  $p$ -Wert (zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 32 %	Agar 0,8 %	Agar 1,6 %	WSt 32 %	A 32 %	AP 32 %
P 32 %	<b>&lt;0,001***</b>						
Agar 0,8 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,002**</b>					
Agar 1,6 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,996	<b>0,043*</b>				
WSt 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,039*</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,039*</b>			
A 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,045*</b>	0,161	0,180	<b>0,003**</b>		
AP 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,590	<b>0,006**</b>	0,692	<b>0,027*</b>	<b>0,037*</b>	
Agar 2,4 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,350	<b>0,044*</b>	0,679	<b>0,019*</b>	0,365	0,488

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 55:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der Gele mit 0, 0,8, 1,6 und 2,4 % Agar, 32 % amylopektinreicher Maisstärke (P), 32 % Weizenstärke (WSt), 32 % amylosereicher Maisstärke (A) und 32 % Maisstärke (AP) in Bezug auf die Textur, gemessen als maximale Kraft [N], die nötig ist, um das Gel 4 mm zu komprimieren; ausgedrückt als  $p$ -Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

	0 %	P 32 %	Agar 0,8 %	Agar 1,6 %	WSt 32 %	A 32 %	AP 32 %
P 32 %	<b>&lt;0,001***</b>						
Agar 0,8 %	<b>&lt;0,001***</b>	0,657					
Agar 1,6 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>				
WSt 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,015*</b>			
A 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>0,002**</b>		
AP 32 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	
Agar 2,4 %	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	<b>&lt;0,001***</b>	0,154

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

**Tabelle 56:** Statistische Signifikanzen der Unterschiede der wahrgenommenen Geschmacksintensität [%] der Suspensionen ohne (Kontrolle) und mit 4,0 % Cellulose PF75; ausgedrückt als p-Wert (einfaktorielle ANOVA, Tukey-Test).

Kontrolle vs. 4,0 % Cellulose PF75	
bitter (Koffein)	0,585
sauer (Zitronensäure)	<b>0,027*</b>
salzig (NaCl)	<b>0,021*</b>
umami (MSG)	<b>0,001***</b>
süß (Sucralose)	<b>0,008**</b>

\* signifikant ( $p \leq 0,05$ ); \*\* hoch signifikant ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* sehr hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ )

## Lebenslauf

Name: Katharina Anne Konitzer  
Geburtsdatum: 06. April 1985  
Geburtsort: München  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Eltern: Hansjörg Konitzer  
Barbara Konitzer, geb. Karsen

### Schul Ausbildung

1991 – 1995 Grundschule an der Johann-Schmid-Straße, Unterschleißheim  
1995 – 2004 Carl-Orff-Gymnasium, Unterschleißheim  
25.06.2005 Allgemeine Hochschulreife

### Studium

Okt. 2004 – Okt. 2008 Grund- und Hauptstudium der Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München  
Okt. 2004 – Okt. 2008 Förderung durch das Bayerische Begabtenförderungsgesetz und das Max-Weber-Programm Bayern  
13.10.2006 Lebensmittelchemisches Vorexamen  
07.10.2008 1. Staatsexamen Lebensmittelchemie  
24.07.2009 Verleihung des Jürgen Manchot Studienpreises

### Promotionsstudium

Juni 2009 – Mai 2012 Dissertation am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik an der Technischen Universität München in Freising unter der Leitung von Prof. Dr. Thomas Hofmann  
März 2012 – April 2012 Forschungsaufenthalt am Department of Food and Nutritional Sciences des University College Cork, Irland, im Arbeitskreis von Prof. Dr. Elke Arendt

### Berufstätigkeit

Sept. 2007 Forschungsarbeit an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in Garching unter Betreuung von PD Dr. Michael Rychlik  
Okt. 2007 – Juli 2008 Leitung des praktikumsbegleitenden Tutoriums des Studiengangs Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München

- Nov. 2008 – April 2009      Forschungsarbeit im Bereich Forschung und Entwicklung der Bioanalytik Weihenstephan am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) unter Betreuung von Prof. Dr. Michael Rychlik
- Juni 2009 – Mai 2012      Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik an der Technischen Universität München in Freising
- seit Juni 2012              Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in Freising