

## Multielement-Isotopenverhältnisanalyse zur Herkunftsbewertung von Aromastoffen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Universität Würzburg Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie Prof. Dr. P. Schreier
<b>Industriegruppe:</b>	Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V., Meckenheim
	Projektkoordinator: Dr. D. A. Müller, Takasago Europe GmbH, Zülpich
<b>Laufzeit:</b>	2001 - 2003
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 225.100,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Mit einem Marktanteil von etwa zwei Drittel der in Deutschland verwendeten Aromen spielen ‚natürliche‘ Produkte eine herausragende Rolle. Für spezifische Lebensmittelgruppen ist deren Anwendung vorgeschrieben, darüber hinaus ist ihre Verwendung für die Unternehmen der Lebensmittelindustrie ein wichtiges Qualitätsmerkmal und Marketingargument. Der gegenüber synthetischen („naturidentischen“) Produkten 10-100fach höhere Preis der ‚natürlichen‘ Stoffe und die damit einhergehende Gefahr von Verfälschungen machen eine effektive Qualitätskontrolle erforderlich, mit der die Authentizität von Aromen analytisch festgestellt werden kann. Einen umfassenden Einblick in die Herkunft gewährleistet die on-line-Kopplung der Gaschromatographie (HRGC) mit der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS), die bislang im sog. Verbrennungsmodus („combustion“, C) zur Bestimmung von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnissen zur Anwendung kam. Technische Neuerungen erlauben nunmehr zusätzlich die Anwendung der Pyrolyse („pyrolysis“, P) zur on-line HRGC-IRMS-Erfassung von  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - sowie  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Verhältnissen, wodurch eine Multielementanalyse mit korrelativen Anwendungen erschlossen wird.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, die HRGC-C/P-IRMS-Technik erstmals anhand von zwei industriell attraktiven Aromastoffgruppen, den Estern und C6-Lipidspaltprodukten, für auf unterschiedlichen Wegen erzeugte Einzelstoffe

und Naturstoffisolate, d.h. auch für Messungen direkt aus der Lebensmittel(Aromen)matrix, einzusetzen.

### Forschungsergebnis:

Messungen zur Linearität und Stabilität der Zielkomponenten lieferten die Grundlage für die nachfolgenden Untersuchungen in den beiden oben genannten Arbeitsbereichen. Die Bestimmungen erfolgten mit folgenden Standardabweichungen: 0,1 ‰ für  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ , 0,5 ‰ für  $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$  und 5 ‰ für  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ .

Ester: Es wurden systematische Studien unter Anwendung von vier Estersynthesevarianten mit jeweils anschließender Hydrolyse durchgeführt. Die Synthesen erfolgten mit Edukten aus synthetischen (S) und natürlichen (N) Quellen, d.h. in den Kombinationen SS, SN, NS, NN für die verwendeten Säuren/Alkohole. Nach Esterhydrolyse und anschließender IRMS-Analyse des jeweils frei gesetzten Alkoholanteils erlaubte sowohl dessen  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - als auch  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Bestimmung die Zuordnung der Herkunft der jeweils verwendeten Alkoholkomponente, womit erstmals ein wirksames analytisches Werkzeug zur Authentizitätskontrolle von Ester-Rohwaren bereitgestellt wurde.

Bei den Multielement-IRMS-Analysen der Estermoleküle, wie sie aus den oben genannten, verschiedenen Eduktquellen und auf unterschiedlichen Wegen gewonnen wurden („naturidentisch“, chemische Synthesen; „natürlich“, Naturstoffisolate/Biotechnologie), erwies sich das  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Verhältnis als entscheidender Parameter zur Authentizitätsbeurteilung. Dies zeigte sich insbesondere auch bei der anschließend durchgeführten IRMS-Analytik einschlägiger Fruchtisolate. Zusätzlich wurde die Bedeutung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Analytik zur Bewertung der Herkunft aus C3- bzw. C4-Pflanzen bestätigt. Diese bei den Untersuchungen an Estern erstmals vorgelegten Ergebnisse stellen einen Meilenstein in der analytischen Authentizitätsbewertung von Aromastoffen dar. Massenspektrometrische  $\delta^2\text{H}$ -Bestimmungen sind mit guter Reproduzierbarkeit - und im Vergleich zu  $\delta^{18}\text{O}$ -Analysen - vergleichsweise einfach durchführbar; sowohl Rohwaren (mittels Elementaranalysator[EA]-IRMS) als auch verarbeitete Produkte (mittels HRGC-IRMS) sind der Analytik zugänglich.

**C<sub>6</sub>-Lipidspaltprodukte:** Aufgrund der Untersuchungen liegen nunmehr Multielement-Isotopendaten für alle themenrelevante C<sub>6</sub>-Komponenten unterschiedlicher Herkunft einschließlich industriell verwendeter „natürlicher“ Handelswaren vor. Für die ökonomisch wichtigsten Verbindungen E-2-Hexenal und Z-3-Hexenol erlaubt die Multielement-Stabilisotopen-Analytik eine eindeutige Differenzierung des jeweils „naturidentischen“ Produktes von solchen aus „natürlichen“ Quellen.

Mit dem Ziel der Erarbeitung maßgeblicher Parameter zur analytischen Unterscheidung innerhalb der Gruppen „natürlicher“ C<sub>6</sub>-Aromastoffe erfolgten enzymatische Studien sowie Prozessvarianten unter Einbeziehung von Hefegärungen, jeweils mit IRMS-Kontrolle der biogenetisch relevanten Edukte, Intermediate und C<sub>6</sub>-Produkte. Auch hier ergaben die IRMS-Analysen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ) von Frucht- und Blattisolaten eine umfangreiche Datengrundlage zur gesicherten Authentizitätsbewertung von C<sub>6</sub>-Komponenten in Apfel- und anderen Fruchtprodukten. Industriebegleitet sind Aufbau und Verwaltung der aus den Ergebnissen resultierenden Datenbank erarbeitet und festgelegt worden.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Ester und C<sub>6</sub>-Aromastoffe sind Produkte hoher Wertschöpfung. Für die Aromenindustrie sind die nunmehr gesichert vermittelten Kenntnisse der C, H, O-Isotopenverhältnisse von Aromaschlüsselkomponenten entscheidende Parameter für die Rohwarenauswahl und -kontrolle sowie für definierte Produktionslinien, insbesondere auch im Hinblick auf die Entwicklung neuer Herstellungsverfahren. Für die kleinen und mittelständischen Unternehmen der deutschen Aromenindustrie ermöglicht die Verfügbarkeit eines standardisierten und überprüfbareren Analyseverfahrens sowie die damit verbundene Erstellung einer Datenbank die gezielte Überprüfung der verwendeten Rohstoffe sowie der Zwischen- und Endprodukte. Eine Nutzung der Ergebnisse kann des Weiteren auch über Handelslabors erfolgen.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2003.
2. Richling, E., Heckel, F. und Schreier, P.: Flavor authenticity studies. Progress in multielement HRGC-IRMS techniques. *Chimia* 57 (1/2), 39-41 (2003).
3. Preston, C., Richling, E., Elss, S., Appel, M., Heckel, F. Hartlieb, A. und Schreier, P.: On-line gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-C/P-IRMS) of pineapple (*Ananas comosus L. Merr.*) volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 51, 8027-8031 (2003).
4. Fink, K., Richling, E., Heckel, F. und Schreier, P.: Determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios of (E)-methyl cinnamate from different sources using isotope ratio mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3065-3068 (2004).
5. Schreier, P.: Fortschritte in der Authentizitätsbewertung von Aromastoffen. Tagungsband 62. Diskussionstagung des Forschungskreises der Ernährungsindustrie, 89-100 (2004).
6. Kahle, K., Preston, C., Richling, E., Heckel, F. und Schreier, P.: On-line gas chromatography combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-C/P-IRMS) of major volatiles from pear fruit (*Pyrus communis*) and pear products. *Food Chem.* 91, 449-455 (2005).

**Weiteres Informationsmaterial:**

Universität Würzburg  
Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie  
Am Hubland, 97074 Würzburg  
Tel.: 0931/888-5481, Fax: 0931/888-5484  
E-Mail: schreier@pzlc.uni-wuerzburg.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150  
E-Mail: fei@fei-bonn.de