

# Authentizitätsbewertung von Aromastoffen mittels enantio-GC und Isotopen-MS

Autor(en): **Mosandl, Armin**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene =  
Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **95 (2004)**

Heft 6

PDF erstellt am: **17.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-981845>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Authentizitätsbewertung von Aromastoffen mittels enantio-GC und Isotopen-MS\*

Armin Mosandl, Institut für Lebensmittelchemie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Marie-Curie-Strasse 9, D-60439 Frankfurt/Main, Deutschland

## Einleitung

Vor dem Hintergrund eines weltweit steigenden Bedarfs, limitierter Ressourcen und einer hohen Akzeptanz beim Verbraucher für alles, was «natürlich» ausgelobt ist, hat die Entwicklung objektiver Verfahren zur Authentizitätsbewertung von Duft- und Aromastoffen starke Beachtung gefunden. Es gilt, die analytische Differenzierung zwischen natürlichen und naturidentischen Aromastoffen zu realisieren. Darüber hinaus stehen wir auch vor der Herausforderung, nicht nur den biogenen Ursprung, sondern auch die Naturbelassenheit eines Aromas analytisch zuverlässig zu definieren.

Diesem hohen Qualitätsanspruch ist die Fruchtsaftindustrie in besonderem Masse verpflichtet, nachdem das Aroma von Fruchtsäften genuin sein muss. Zur Aromatisierung rückverdünnter Säfte aus Fruchtsaftkonzentraten können demnach nur authentische Aromen eingesetzt werden, die bei der Konzentrierung des ursprünglichen Fruchtsafts oder von Säften derselben Fruchtart gewonnen worden sind, so genannten «recovery»-Aromen.

In den letzten Jahren ist vielfach gezeigt worden, dass natürliche Isotopendiskriminierung oder Enantioselektivität während der Biosynthese gewissermaßen als «endogene» Parameter für die Echtheit von Naturstoffen herangezogen werden können, wenn hinreichend selektive und empfindliche Methoden sowie umfassendes Datenmaterial authentischer Proben zur Verfügung stehen (1).

## Isotopendiskriminierung

Ursachen hierfür sind Isotopeneffekte, die sowohl auf kinetische als auch auf thermodynamische Ursachen zurückzuführen sind. Insbesondere der kinetische Isotopeneffekt bei der primären CO<sub>2</sub>-Fixierung in der Photosynthese und Diskriminierungseffekte im Sekundärmetabolismus sind im Hinblick auf die herkunfts-

\* Vortrag gehalten an der Jahresversammlung der SGLUC vom 9./10. September 2004

spezifische Unterscheidung von Inhaltsstoffen aus Pflanzen analytisch relevant. Spezielle Techniken der Massenspektrometrie und der Kernresonanz werden zur Beurteilung der Isotopendiskriminierung eingesetzt (2).

### **Isotopenmassenspektrometrie**

Isotope ratio mass spectrometry, IRMS (stable isotope ratio analysis, SIRA)  
Verhältnisse stabiler Isotope:  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ .

### **Stellungsspezifische Isotopenverteilung**

Site-specific natural isotope fractionation, SNIF

SNIF-NMR: quantitative Bestimmung mittels  $^2\text{H}$ -NMR

Die Authentizitätsbewertung von Ethanol ist für die Beurteilung der Weinqualität von so grundsätzlicher Bedeutung, dass dieses Verfahren trotz erheblicher Investitionskosten in allen weinbautreibenden Ländern der EU und in der Schweiz amtlicherseits eingeführt worden ist.

### **Enantioselektivität**

*Chirales Erkennen* ist schon häufig als wichtiges Wirkprinzip in der belebten Natur beschrieben worden. Es gibt zahllose Beispiele in der Natur, in der Kunst und Architektur, deren Form durch (planare oder helicale) Chiralität geprägt ist. Das Prinzip von *Bild-* und *Spiegelbild* ist auch für Aromastoffe sehr wichtig. Die Enantiomeren vieler Duft- und Aromastoffe weisen charakteristische Unterschiede auf. Auch wenn sensorische Beschreibungen ihrem Wesen nach subjektiv sind und nur als bildhafte Umschreibungen gelten können, lässt sich daraus bereits die Bedeutung der Chiralität für geruchsaktive Stoffe ableiten. Damit stellt sich jedoch die Frage nach objektiven und zugleich selektiven Methoden zur analytischen Differenzierung zwischen natürlichen und nicht natürlichen Duft- und Aromastoffen. Enzym katalysierte Reaktionen verlaufen im Allgemeinen mit hoher Selektivität. Für chirale Naturstoffe darf deshalb hohe Enantiomerenreinheit erwartet werden. Enantioselektive Kapillar-GC hat sich für die Analyse chiraler Duft- und Aromastoffe als Methode der Wahl erwiesen (1, 3, 4).

### **Enantioselektive Kapillar-GC**

#### **Kriterien der Authentizitätsbewertung**

Enantioselektive Analyse als Schlüssel zur Authentizitätsbewertung setzt Folgendes voraus:

- Chirale Stationärphasen geeigneter Enantioselektivität; insbesondere modifizierte Cyclodextrine haben sich als effiziente Phasen erwiesen.
  - Kenntnis der Enantiomerenverteilung in natürlichen Quellen
- Strukturstabilität chiraler Verbindungen während der Herstellung und Lagerung von Lebensmitteln

- Charakteristische, herkunftsspezifische Enantiomerenverteilung mit geringer Schwankungsbreite, in Korrelation zum Gesamtgehalt der Aromastoffe eines Produkts.
- Nachweisgrenze möglichst im Bereich des Geruchsschwellenwertes. Im Einzelfall können hochaktive Aromastoffe (Pyrazine, 1-p-Menthen-8-thiol u.a.) allerdings so niedrige Schwellenwerte aufweisen, dass sie in entsprechenden Lebensmitteln instrumentell-analytisch nicht erfasst werden können. In solchen Fällen muss die Authentizitätsbewertung auf Aromen fokussiert werden (Rohstoffkontrolle).
- Spurenkomponenten, deren Konzentrationen wesentlich unter den jeweiligen Geruchsschwellen liegen (*odour activity value*, OAV < 1), sollten nicht beachtet werden, da sie keinen relevanten Beitrag zu einem Lebensmittelaroma liefern werden. Es ist davon auszugehen, dass sie unbeabsichtigt in das Lebensmittel gelangt sind. Im Sinne der Qualitätssicherung wäre in diesem Falle allenfalls zu prüfen, inwieweit eine solche «Aromaverschleppung» als technisch unvermeidbar bewertet werden kann oder nicht.

### Enantioselektive multidimensionale Kapillar-GC

Zur exakten Bestimmung und Quantifizierung der Enantiomerenverhältnisse chiraler Aromastoffe aus komplexer Naturstoffmatrix ist die enantioselektive multidimensionale Gaschromatographie in der Kombination achirale Vorsäule/chirale Hauptsäule mit massenselektiver Detektion (enantio-MDGC/MS) als Methode der Wahl einzustufen (Abb. 1).

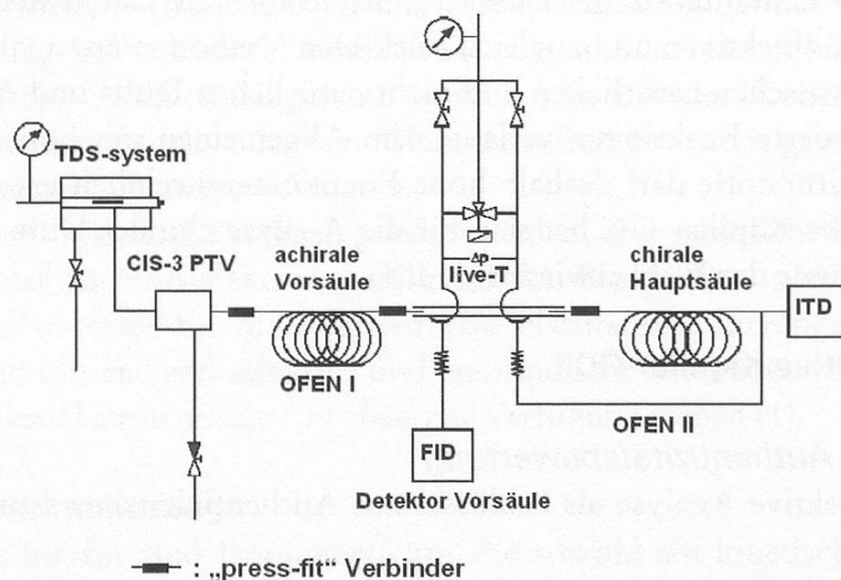


Abbildung 1 Enantioselektive multidimensionale Gaschromatographie (*enantio*-MDGC), «Live-T» Säulenschaltung (druckgesteuert), Siemens Sichromat, direkt gekoppelt mit Thermodesorptions-(TDS) und Kaltaufgabesystem (CIS), Gerstel, Mühlheim (8)

Die Vorsäule des Systems dient der online-Probenaufbereitung. Die Zielkomponenten werden aus dem Eluat der Vorsäule direkt auf die chirale Hauptsäule transferiert und stereodifferenziert und mittels Massenspektrometrie strukturspezifisch detektiert.

Abb. 2 zeigt die enantio-MDGC Analyse von  $\alpha$ -Ionon aus einer Himbeerfrucht und die Stereodifferenzierung naturidentischen  $\alpha$ -Ionons (5).

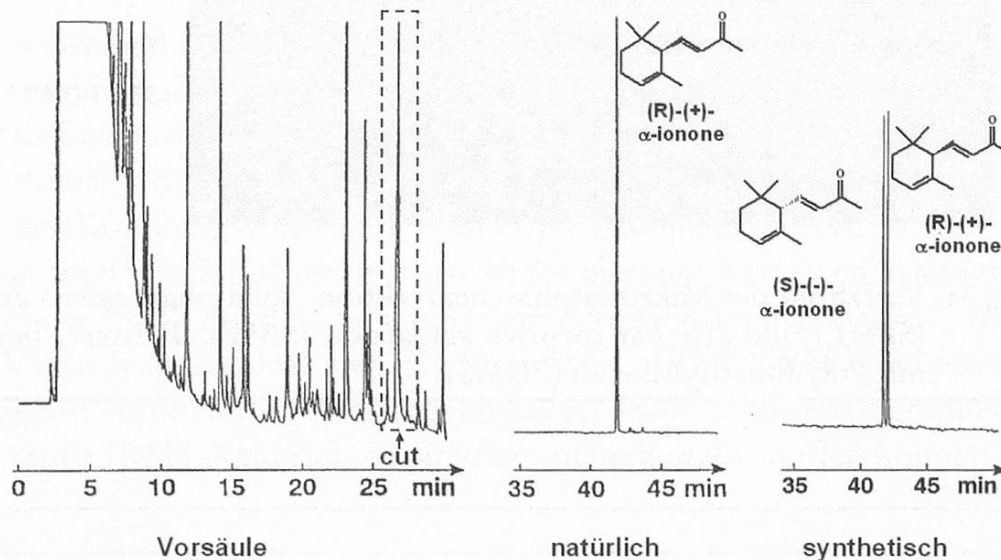


Abbildung 2 *Enantio*-MDGC-MS eines Aromaextraktes aus Himbeeren (Vorsäule); Nachweis natürlichen  $\alpha$ -Ionons aus Himbeeren (reines (R)-Enantiomer); Stereodifferenzierung racemischen  $\alpha$ -Ionons, Beweis für synthetisches  $\alpha$ -Ionon

Die Weiterentwicklung der Mikrofestphasenextraktion (Solid Phase Micro Extraction, SPME) hat zum SBSE-Verfahren (Stir Bar Sorptive Extraction) geführt. In Verbindung mit enantio-MDGC/MS wird auf diese Weise die direkte online-Aromastoffanalyse aus komplexer Naturstoffmatrix ermöglicht. SBSE wurde von *P. Sandra et al.* (6, 7) entwickelt. Es handelt sich um einen Rührkern, der mit Polydimethylsiloxan umhüllt ist (Twister®). Die Probe wird bis zur Gleichgewichtseinstellung gerührt, der Rührfisch anschliessend in ein Thermodesorptionssystem überführt, wo die extrahierten Substanzen verdampfen, in einem Kaltaufgabesystem für die enantioselektive Analyse fokussiert und schliesslich der enantio-MDGC Analyse zugeführt werden. In Abb. 3a sind die Methoden der Mikrofestphasenextraktion aufgezeigt, Abb 3b skizziert die Wirkungsweise der Thermodesorption für das SBSE-Verfahren (8).

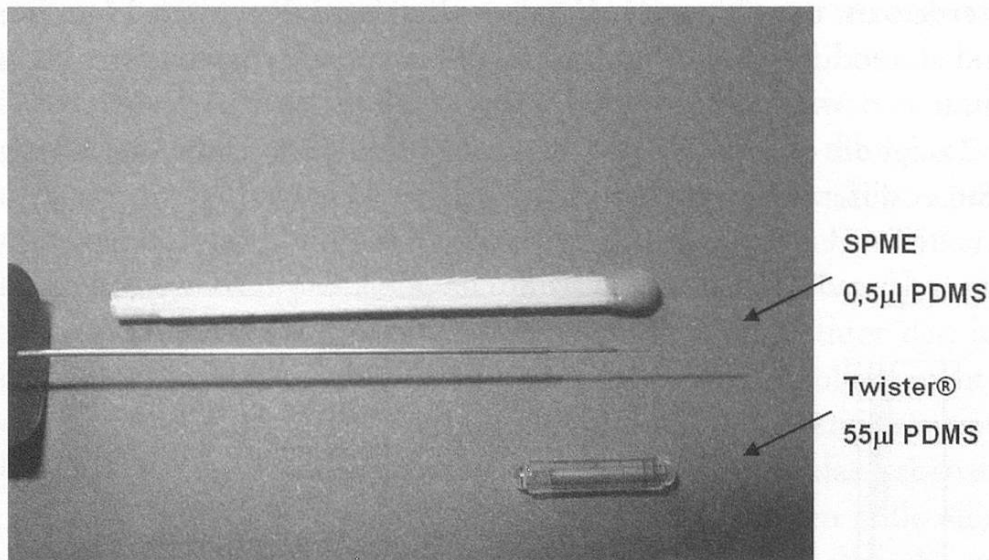


Abbildung 3a Verfahren der Mikrofestphasenextraktion: *Solid phase micro extraction* (SPME) und *Stir bar sorptive extraction* (SBSE), Twister®, beschichtet mit Polydimethylsiloxan (PDMS)

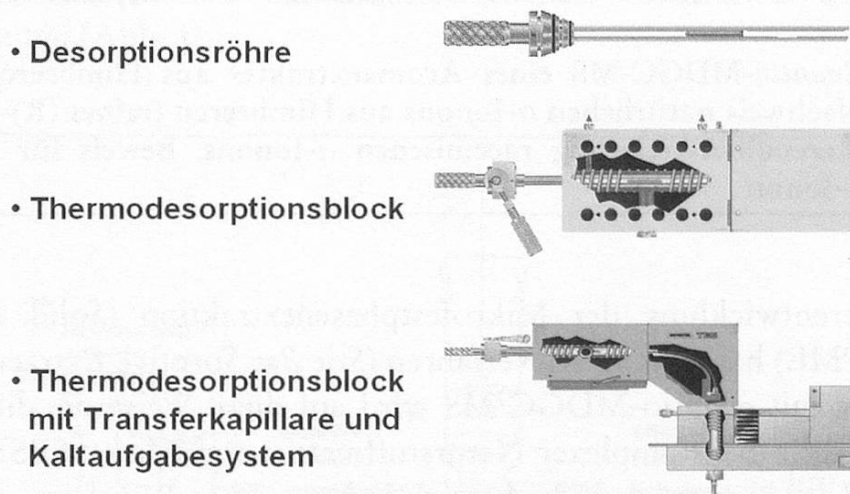


Abbildung 3b Funktion des Thermodesorptionssystems (Gerstel, Mühlheim)

### Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)

Die Bestimmung stabiler Isotope gewinnt zunehmend an Bedeutung für die Grundlagenforschung in den Bereichen Biochemie, Klinische- und Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie (9–11).

## Messprinzip

Der Analyt muss in ein Messgas überführbar sein, das mittels Massenspektrometrie untersucht werden kann. Gemessen werden keine Absolutwerte, sondern Isotopenverhältnis-Abweichungen, relativ zu einem Standard ( $\delta$ -Werte).

Zum Zwecke der Kalibrierung des Referenzgases werden international vereinbarte Primärstandards als Bezugspunkte gesetzt, die von der International Atomic Energy Agency (IAEA) definiert und verwaltet werden. Als Sekundärstandards stehen auf Primärstandards bezogene Referenzmaterialien der IAEA zur Verfügung, z.B. die Polyethylenfolie CH<sub>7</sub> oder NBS-Öl. Beide Sekundärstandards sind allerdings nicht in jedem Fall einsetzbar, da sie nicht GC-gängig sind. Als Tertiärstandards verwendet man GC-gängige Referenzen aus unterschiedlichen Stoffklassen, die sowohl im Direkt-Einlass mittels Element-Analyzer als auch mittels GC-IRMS bestimmt und auf Primär- oder Sekundärstandards bezogen werden (Kreuzvalidierung).

Mit der Kopplung von Kapillar-GC und Isotopen-MS (GC-IRMS) über verschiedene interface-Einheiten werden heute elegante Verfahren realisiert, die die Präzision der IRMS mit dem hohen Reinigungseffekt der Kapillar-GC verknüpfen. In dem kürzlich abgeschlossenen EU-Projekt GC-IRMS CRM konnte gezeigt werden, dass mit zertifizierten Referenzsubstanzen sowohl chromatographische Trennung als auch IRMS-Kalibrierung simultan sichergestellt werden können.

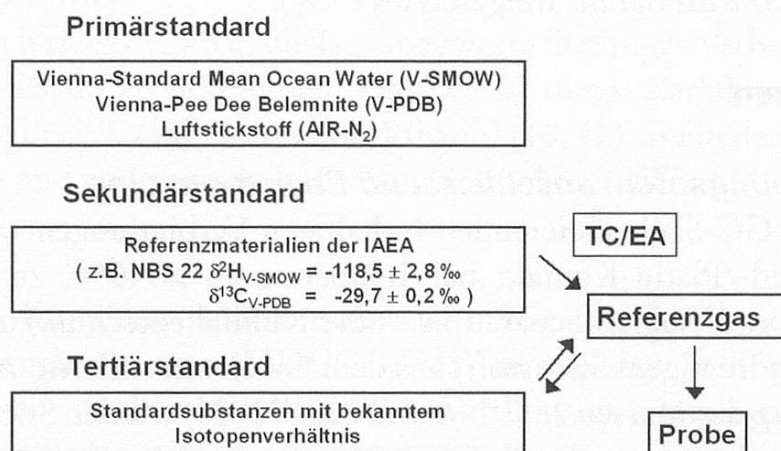


Abbildung 4 Isotopenverhältnismassenspektrometrie (IRMS), Kalibrierung des Referenzgases

Isotopomere können sich in ihrem chromatographischen Verhalten unterscheiden, wobei das Ausmass der partiellen Trennung sowie die Elutionsfolge der Isotopomeren vom angewandten Chromatographiesystem, von der Temperatur und von strukturellen Eigenschaften der zu analysierenden Substanz abhängig ist. Zuverlässige und richtige Ergebnisse können nur dann erwartet werden, wenn die Probe diskriminierungsfrei, quantitativ und chemisch rein ( $R_s \geq 1,5$ ) aufbereitet wurde.

Weitere Untersuchungen haben gezeigt, dass Isotopeneffekte auch bei der technologischen Gewinnung von Aromastoffen eine Rolle spielen können (12).

Eine exakte Isotopenanalytik erfordert daher nicht nur eine genaue Überprüfung aller zur Probenaufbereitung angewandten Verfahren, sondern auch eine kritische Bewertung von Herkunft und technologischer Behandlung der Probe (13).

### **<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C-Analysen**

#### *Mikroverbrennungsofen (combustion interface)*

Die von der GC-Säule eluierenden Verbindungen werden am Ni-/Cu-Oxid-/Platinkontakt bei Temperaturen >850 °C zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O umgesetzt und das Wasser aus dem Gasstrom durch Separations- oder Kühlfallentechnik entfernt.

Aus der simultanen Registrierung der Massen 44 (<sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sub>2</sub>), 45 (<sup>13</sup>C<sup>16</sup>O<sub>2</sub> und <sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sup>17</sup>O) und 46 (<sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sup>18</sup>O) können Kohlenstoffisotopenverhältnisse im nmol-Bereich bestimmt werden. Die Genauigkeit des Verfahrens ist besser als 0,3 ‰.

Als Beurteilungsgrößen werden in der Regel δ<sup>13</sup>C-Werte als <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C-Verhältnisaabweichungen relativ zu einem Standard bestimmt.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} = ((R_{\text{SA}}/R_{\text{ST}}) - 1) \times 1000 \text{ [‰]}$$

Isotopenverhältnis der Probe (R<sub>SA</sub>); Isotopenverhältnis des Standards (R<sub>ST</sub>); PDB-Standard (PeeDeeBelemnite: fossiles CaCO<sub>3</sub> mit einem Isotopenverhältnis <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C=0,0112372 für daraus freigesetztes CO<sub>2</sub>).

### **<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-Analysen**

#### *Mikroverbrennungsofen, anschliessend Reduktionsofen*

Die von der GC-Säule eluierenden N-haltigen Verbindungen werden zunächst am Ni-/Cu-Oxid-/Platin-Kontakt bei Temperaturen >940 °C zu N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, und H<sub>2</sub>O umgesetzt und Wasser (Separations- oder Kühlfallentechnik) und CO<sub>2</sub> (Kühlfallentechnik mit flüssigem Stickstoff) aus dem Gasstrom entfernt. Aus der simultanen Registrierung der Massen 28 (<sup>14</sup>N<sub>2</sub>) und 29 (<sup>14</sup>N<sup>15</sup>N) werden Stickstoffisotopenverhältnisse relativ zu einem Standard bestimmt.

$$\delta \text{N}_{\text{AIR}} = ((R_{\text{SA}}/R_{\text{ST}}) - 1) \times 1000 \text{ [‰]}$$

Atmosphärischer Stickstoff enthält 0,366 atom% <sup>15</sup>N, definiert als δ<sup>15</sup>N<sub>AIR</sub>=0 ‰ (universell konstant) (14).

### **<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O-Analysen**

#### *Pyrolyse – Interface*

Die von der GC-Säule eluierenden O-haltigen Verbindungen werden zunächst am Kohlenstoff-/Platin-/Nickel-Kontakt unter Wasserstoff-Atmosphäre bei 1280 °C



zu CO umgesetzt. Aus der simultanen Registrierung der Massen 28 ( $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ ) und 30 ( $^{12}\text{C}^{18}\text{O}$ ) werden Sauerstoffisotopenverhältnisse relativ zu einem Standard bestimmt (15).

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = ((R_{\text{SA}}/R_{\text{ST}}) - 1) \times 1000 \text{ [‰]}$$

VSMOW-Standard (Vienna Standard Mean Ocean Water)  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = 0 \text{ ‰}$

## **$^2\text{H}/^1\text{H}$ -Analysen**

### *Hochtemperatur-Umsetzungs-Interface (high temperature conversion interface)*

Aus den von der GC-Säule eluierenden H-haltigen Verbindungen wird bei Temperaturen  $> 1450^\circ\text{C}$  Wasserstoff freigesetzt. Aus der simultanen Registrierung der Massen 2 ( $^1\text{H}_2$ ) und 3 ( $^1\text{H}^2\text{H}$ ) werden Wasserstoffisotopenverhältnisse relativ zu einem Standard bestimmt.

$$\delta^2\text{H}_{\text{VSMOW}} = ((R_{\text{SA}}/R_{\text{ST}}) - 1) \times 1000 \text{ [‰]}$$

VSMOW-Standard (Vienna Standard Mean Ocean Water)  $\delta^2\text{H}_{\text{VSMOW}} = 0 \text{ ‰}$

## **Online Verfahren**

### *Headspace-GC-IRMS*

Grundsätzlich ist es denkbar, die Isotopenwerte flüchtiger Verbindungen mittels Headspace-GC-IRMS zu bestimmen. Zur Zeit ist dieses Verfahren allerdings erst für die Messung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Werte von Ethanol (16, 17) sowie der  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Werte (18) aus Weinen und anderen alkoholischen Getränken validiert.

### *MDGC-IRMS*

Die direkte Kopplung multidimensionaler Kapillar-Gaschromatographie mit Isotopenmassenspektrometrie (MDGC-IRMS) ist die derzeit höchst entwickelte online Methode zur direkten Authentizitätsbewertung aus komplexer Naturstoffmatrix. Sie verbindet die Vorteile beider leistungsfähiger Analysenmethoden. Allerdings sind erst einige grundlegende Arbeiten zur  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverteilung realisiert (19). Denkbar sind grundsätzlich alle MDGC-IRMS Verfahren, auch in der Kopplung achiral-chiral, sofern flusskontrollierte GC-GC-Systeme eingesetzt werden.

Die MDGC-IRMS bietet folgende Vorteile: Durch Kombination von Säulen unterschiedlicher Polarität und durch die Option unterschiedlicher Temperaturprogramme auf Vor- und Hauptsäule wird eine optimale chromatographische Effizienz gewährleistet.

Vorsäulen mit hoher Kapazität ermöglichen auch die direkte Analyse von Minorkomponenten unter Ausblendung der Hauptkomponenten.

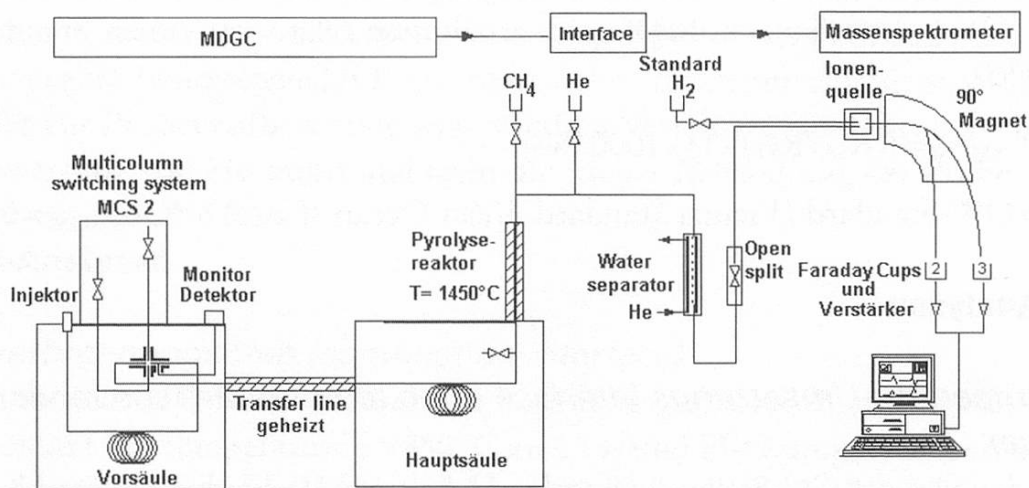


Abbildung 5 Schema der online Kopplung MDGC-pyrolisis-IRMS mit flusskontrollierter Säulenschaltung (MCS 2 System, Gerstel, Mühlheim)

Aus dem selektiven Transfer vorgetrennter Komponenten auf die Hauptsäule resultiert ein minimaler Untergrund im Massenspektrometer.

Durch die Möglichkeit der Trägergasstrom-Umkehr auf der Vorsäule können hochsiedende schwerflüchtige Komponenten, die nicht von Interesse sind, schnell und effektiv zurückgespült werden.

Ganz entscheidend ist es zu beachten, dass zuverlässige Aussagen zur Stabilisotopenverteilung nur aus quantitativer IRMS-Analyse abgeleitet werden können. Der Einsatz der heart-cut Technik, die sich im enantio-MDGC-Verfahren bewährt hat, ist für Kopplungsverfahren mit IRMS grundsätzlich unzulässig (19, 26, 27).

### Multikomponenten-Analyse

Während sich genuine Inhaltsstoffe von  $C_3$ - und  $C_4$ -Pflanzen mittels IRMS-Analyse leicht differenzieren lassen, sind der Echtheitsbewertung von Aromastoffen auch Grenzen gesetzt, da die meisten Kulturpflanzen dem  $C_3$ -Pflanzentypus angehören, dessen  $\delta^{13}C$ -Werte mehr oder minder mit denen von synthetischen Substanzen aus fossilen Kohlenstoffquellen überlappen. Um diese grundsätzliche Limitierung zu überwinden, wurde zunächst die Multikomponenten-Analyse eingeführt und *Isotopenfingerprints* für eine gegebene Probe (Aromaextrakt, ätherisches Öl) erstellt.

In entsprechenden 3D-Plots können dann alle analytischen Parameter – Quantifizierung, Enantiomerenverteilung und Isotopenfingerprint – zusammengefasst werden (20).

Als weitere Optimierung wurden *interne Isotopenstandards* (i-IST) eingeführt.

Auf diese Weise können der hauptsächlich diskriminierende Einfluss während der primären  $CO_2$ -Fixierung in der Photosynthese sowie standortbedingte Einflüsse eliminiert werden. Man erhält charakteristische Authentizitätsprofile, die aus-

schliesslich den Einfluss enzymatischer Reaktionen während sekundärer Biogenese widerspiegeln.

Verbindungen, die als interner Isotopenstandard verwendet werden sollen, müssen folgende Voraussetzungen erfüllen:

- charakteristische genuine Verbindung von geringem sensorischen Interesse,
- in ausreichender Menge verfügbar und frei von Diskriminierung während Extraktion, Aufbereitung und Analyse,
- nach Möglichkeit biogenetische Verwandtschaft mit den zu untersuchenden Verbindungen,
- chemische Inertheit während Lagerung und/oder technologischer Prozesse und
- die als i-IST gewählte Verbindung darf kein gesetzlich erlaubter Zusatzstoff sein.

### Multielement-Analyse

Die Kombination der Isotopen-Verhältnisse verschiedener Elemente, z.B.  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  und  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  liefert weitere wertvolle Informationen zur Echtheitsbewertung von Aromastoffen (21–24), wie dies auch für Linalool und Linalylacetat, die Hauptkomponenten des Lavendelöls, gezeigt werden kann (29).

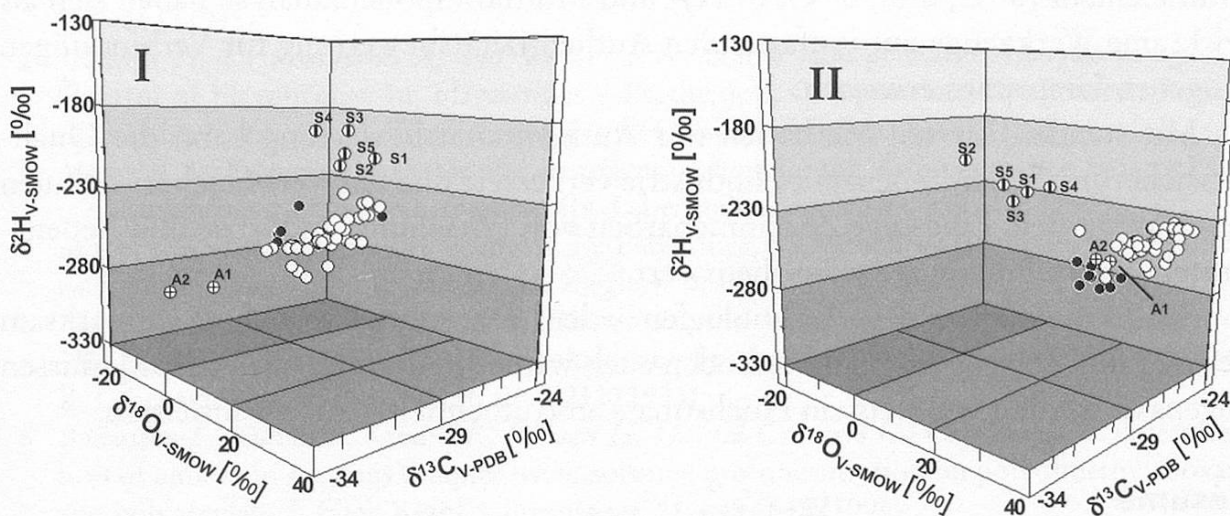


Abbildung 6 Multielement-IRMS-Analyse von Linalool (I) und Linalylacetat (II) in Lavendelölproben unterschiedlicher Herkunft: authentische Proben (●), kommerzielle Proben, die als authentisch eingestuft werden (○), kommerzielle Proben S1–S5, die als nicht authentisch eingestuft werden (⊙), bisher nicht nachweisbare Verfälschung in den Proben A1, A2 (⊕).

### Umfassende Authentizitätsbewertung

In Abb. 6 sind die 3D plots der  $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ ,  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  und  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte für Linalool bzw. Linalylacetat in authentischen und kommerziellen Lavendelölen dargestellt. Die kommerziellen Proben S1–S5 unterscheiden sich klar von jenen aus authentischen

tischen Quellen. Es lässt sich mittels enantioselektiver Analyse auch zeigen, dass die Proben S1–S5 mit mehr oder minder grossen Mengen synthetischen Linalools und Linalylacetats verschnitten sind, nachdem (R)-Linalool und (R)-Linalylacetat als charakteristische Kenngrössen für echtes Lavendelöl beschrieben wurden (25).

Während der 3D-Plot der Isotopenwerte für Linalylacetat die Proben A1 und A2 unverdächtig erscheinen lässt, wird (R)-Linalylacetat in A1 und A2 mit einer Enantiomerenreinheit (>99,9%) identifiziert, wie sie in authentischen Ölen bislang nicht nachgewiesen wurde. Gleichzeitig aber wird Linalool der Proben A1 und A2 mittels 3D-Plot als nicht authentisch erkannt, während sich die Enantiomerenreinheit des Linalools (96,2 bzw. 95,9% (R)-Enantiomer) dieser Proben an der Untergrenze der zulässigen Reinheit für Linalool in GMP-konform hergestelltem Lavendelöl bewegt (26).

Im Hinblick auf die vielfältigen Verfälschungsmöglichkeiten, zu denen neuerdings auch der Verschnitt mit hochreinen Enantiomeren synthetischen Ursprungs zu zählen ist, die mittels präparativ-chromatographischer Racemattrennung gewonnen werden (27), kann eine schlüssige Authentizitätsbewertung letztlich nur aus dem Zusammenspiel aller verfügbaren Methoden abgeleitet werden (28–30).

## Zusammenfassung

Enantio-MDGC/MS und/oder (enantio)-MDGC/IRMS, in Verbindung mit Multielement ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^2\text{H}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ )- und Multikomponentanalyse haben sich als wirksame Werkzeuge zur umfassenden Authentizitätsbewertung für Verbindungen biogenen Ursprungs erwiesen.

Mit standardisierten Methoden zur Authentizitätsbewertung kann die Qualitätssicherung in der Lebensmittelindustrie verbessert und das Verbrauchervertrauen gestärkt werden. Eine enge Zusammenarbeit von Forschung, Industrie und Lebensmittelüberwachung wäre wünschenswert.

Schliesslich sollten neue Technologien in der Lebensmittelherstellung aufmerksam verfolgt und die analytischen Methoden auch weiterhin den aktuellen Erfordernissen angepasst werden, um stets ein Höchstmass an Authentizität zu gewährleisten.

## Résumé

Enantio-MDGC et/ou (enantio)-MDGC/IRMS combiné avec l'analyse multi-élément ( $\delta^{12}\text{C}$ ,  $\delta^2\text{H}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) et multicomposant sont établis comme outils efficaces dans l'évaluation d'authenticité détaillée des composés d'origine biologique.

En utilisant des méthodes standard pour l'évaluation d'authenticité, l'assurance de la qualité dans l'industrie alimentaire peut être améliorée et en conséquence les consommateurs sont rendus plus confiants. Une collaboration constructive entre les chercheurs, l'industrie et les organes de contrôle alimentaire est désirable.

Finalement des nouvelles techniques de production alimentaire devraient être suivies attentivement pour que les méthodes analytiques puissent être adaptées aux besoins afin d'être capable de garantir une authenticité maximale.

## Summary "Authenticity assessment of flavour compounds using enantio-GC and isotope-MS"

Enantio-MDGC and/or (enantio)-MDGC/IRMS in conjunction with multielement ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^2\text{H}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ )- and multicomponent analysis are proved to be powerful tools in the comprehensive authenticity assessment of compounds originating from biogenesis.

Standardized methods of authentication will be stimulating to quality assessment in the food industry and enhancing in consumer confidence. Constructive cooperation between food research people, food industry and administration is desirable.

Last but not least, analytical methods should be adapted to the necessities of new trends in food technology, in order to guarantee optimum authentication.

### Key words

Authenticity assessment, flavours, enantioselective capillary GC, MDGC coupling systems, isotope ratio mass spectrometry

### Literatur

- 1 *Mosandl A.*: Enantioselective capillary gas chromatography and stable isotope ratio mass spectrometry in the authenticity control of flavors and essential oils. *Food Reviews Int.* **11**, 597–664 (1995)
- 2 *Schmidt H.-L., Rossmann A. and Werner R.A.*: Stable Isotope Ratio Analysis in Quality Control of Flavourings. In: *Flavourings – Production, Composition, Application, Regulations* (eds.: E. Ziegler, H. Ziegler), Wiley-VCH Weinheim, pp. 539–594 (1998)
- 3 *Mosandl A.*: Enantioselektivität und Isotopendiskriminierung als biogenetisch fixierte Parameter natürlicher Duft- und Aromastoffe. *Lebensmittelchemie* **49**, 130–133 (1995)
- 4 *Mosandl A.*: Enantioselective Analysis. In: *Flavourings, – Production, Composition, Application, Regulations* (eds.: E. Ziegler, H. Ziegler), Wiley-VCH Weinheim, pp. 595–633 (1998)
- 5 *Lehmann D., Dietrich A., Schmidt S., Dietrich H. und Mosandl A.*: Stereodifferenzierung von  $\gamma(\delta)$ -Lactonen und (E)- $\alpha$ -Ionon verschiedener Früchte und ihrer Verarbeitungsprodukte. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **196**, 207–213 (1993)
- 6 *Baltussen E., David F., Sandra P., Janssen H.-G. and Cramers C.*: Capillary GC determination of amines in aqueous samples using sorptive preconcentration on polydimethylsiloxane and polyacrylate. *J. High Resol. Chromatogr.* **21**, 645–648 (1998)
- 7 *Baltussen E., Sandra P., David F. and Cramers C.*: Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles. *J. Microcol. Sep.* **11**, 737–747 (1999)
- 8 *Kreck M., Scharrer A., Bilke S. and Mosandl A.*: Enantioselective analysis of monoterpene compounds in essential oils by stir bar sorptive extraction (SBSE)-enantio-MDGC-MS. *Flav. Fragr. J.* **17**, 32–40 (2002)
- 9 *Schmidt H.-L., Werner R.A. and Rossmann A.*:  $^{18}\text{O}$  Pattern and biosynthesis of natural plant products. *Phytochemistry* **58**, 9–32 (2001)
- 10 *Werner R.A. and Schmidt H.-L.*: The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. *Phytochemistry* **61**, 465–484 (2002)
- 11 *Schmidt H.-L., Werner R.A. and Eisenreich W.*: Systematics of  $^2\text{H}$  patterns in natural compounds and its importance for the elucidation of biosynthetic pathways. *Phytochemistry Reviews* **2**, 61–85 (2003)

- 12 Braunsdorf R., Hener U., Przibilla G., Piecha S. und Mosandl A.: Analytische und technologische Einflüsse auf das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis von Orangenöl-Komponenten Z. Lebensm. Unters. Forsch. **197**, 24–28 (1993)
- 13 Mosandl A., Hener U. und Fuchs S.: Natürliche Duft- und Aromastoffe – Echtheitsbewertung mittels enantioselektiver Kapillar-GC und/oder Isotopenmassenspektrometrie. In: Analytiker-Taschenbuch **21**, pp. 37–63, Verlag Springer, Berlin Heidelberg New York (2000)
- 14 Faulhaber S., Hener U. und Mosandl A.: GC-IRMS Analysis of Mandarin Essential Oils Part I:  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ -values of Methyl-N-Methyl-anthranilate. J. Agric. Food Chem. **45**, 2579–2583 (1997)
- 15 Hener U., Brand W., Hilkert A., Juchelka D., Mosandl A. and Podebrad F.: Simultaneous on-line analysis of  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios of organic compounds using GC-Pyrolysis-IRMS Z. Lebensm. Unters. Forsch. **206**, 230–232 (1998)
- 16 Hener U., Mosandl A., Hagenauer-Hener U. und Dietrich H.: Stabil-Isotopenanalyse mittels Headspace-GC-IRMS – ein Beitrag zur Analytik alkoholhaltiger Getränke. Vitic. Enol. Sci. **50**, 113–117 (1995)
- 17 Hener U., Mosandl A., Hilkert A., Bahrs-Windsberger J., Grossmann M. und Sponholz W.R.: (Headspace) GC-IRMS zur  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Analyse von Ethanol aus alkoholhaltigen Getränken und Destillaten. Vitic. Enol. Sci. **53**, 49–53 (1998)
- 18 Christoph N.: Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope and meteorological data, data banks and statistical tests. Part 1: Wines from Franconia and Lake Constance 1992–2001. Mitt. Klosterneuburg **53**, 23–40 (2003)
- 19 Juchelka D., Beck T., Hener U., Dettmar F. and Mosandl A.: Multidimensional gas chromatography, online coupled with isotope ratio mass spectrometry (MDGC-IRMS): Progress in the analytical authentication of genuine flavor components. J. High Resolut. Chromatogr. **21**, 145–151 (1998)
- 20 Juchelka D. and Mosandl A.: Authenticity profiles of bergamot oil. Pharmazie **51**, 417–422 (1996)
- 21 Scharrer A. und Mosandl A.: Progress in the Authenticity Assessment of Vanilla. 2.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Correlations and Methodical Optimisations. Dtsch. Lebensm. Rundsch. **98**, 117–121 (2002)
- 22 Bilke S. and Mosandl A.: Measurements by gas chromatography/pyrolysis/mass spectrometry: fundamental conditions in  $^2\text{H}/^1\text{H}$  isotope ratio analysis. Rapid Commun. Mass Spectrom. **16**, 468–472 (2002)
- 23 Bilke S. and Mosandl A.: Authenticity assessment of lavender oil using GC-P-IRMS:  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -ratios of linalool and linalyl acetate. Eur. Food Res. Technol. **214**, 532–535 (2002)
- 24 Sewenig S., Hener U. und Mosandl A.: Online determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios of cinnamaldehyde from different sources using gas chromatography isotope ratio mass spectrometry. Eur. Food Res. Technol. **217**, 444–448 (2003)
- 25 Kreis P. and Mosandl A.: Chiral compounds of essential oils XI: Simultaneous stereoanalysis of Lavandula oil constituents. Flavour Fragr. J. **7**, 187–193 (1992)
- 26 Kreis P., Dietrich A., Juchelka D. und Mosandl A.: Methodenvergleich zur Stereodifferenzierung von Linalool und Linalylacetat in ätherischen Ölen von Lavandula angustifolia MILLER. Pharm. Ztg. Wiss. **138**, 149–155 (1993)
- 27 Juza M., Mazzotti M. and Morbidelli M.: Simulated moving-bed chromatography and its application to chirotechnology. TIBTECH **18**, 108–118 (2000)
- 28 Mosandl A.: Authenticity assessment – a permanent challenge in food flavor and essential oil analysis J. Chromatogr. Sci., (2004), **42**, 440–449 (2004)
- 29 Jung J., Sewenig S., Hener U. und Mosandl A.: Comprehensive authenticity assessment of lavender oils using multielement-/multicomponent IRMS-analysis and enantioselective MDGC. Eur. Food Res. Technol. (2004), in press

- 30 Sewenig S., Bullinger D., Hener U. and Mosandl A.: Comprehensive authentication of (E)- $\alpha$ ( $\beta$ )-ionone from raspberries, using constant flow MDGC-C/P-IRMS and enantio-MDGC/MS. J. Agric. Food Chem. (2004), in press

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. Armin Mosandl, Institut für Lebensmittelchemie, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Marie-Curie-Strasse 9, D-60439 Frankfurt/Main, E-Mail: [mosandl@em.uni-frankfurt.de](mailto:mosandl@em.uni-frankfurt.de)