

# Massenspektrometrische Techniken der Lebensmittelanalytik

Die Kopplung der Hochleistungsflüssigchromatographie mit der Massenspektrometrie unter Verwendung der Elektrosprayionisierung und der chemischen Ionisierung bei Atmosphärendruck hat sich als erfolgreiche Methode für die Lebensmittelanalytik erwiesen. Neben unbewältigten methodischen Problemen der HPLC-MS-Analytik gibt es viel versprechende experimentelle Methoden, deren breite Verwendung in der nahen Zukunft zu erwarten ist.

Erfolgreiche HPLC-MS-Analytik konzentriert sich bei lebensmittelchemischen Untersuchungen auf die vier Aufgabengebiete Rückstandsanalytik, quantitative Bestimmung von Spurenkomponenten in komplexen Matrices, Nachweis von schwer zu erfassenden Analyten und Strukturaufklärung bisher unbekannter Lebensmittelinhaltsstoffe.

## Rückstandsanalytik

Der Trend in der Rückstandsanalytik lässt sich mit den Stichworten „schneller, besser, billiger“ zusammenfassen. So können pflanzliche Metabolite von Xenobiotika effizient mit der Online-Kopplung HPLC-NMR-MS identifiziert werden. Derartige Experimente sind zwar aufwendig, benötigen dafür aber keine Ausgangsverbindungen, die zuvor mit Fluor oder mit radioaktiven Isotopen markiert wurden.<sup>1a)</sup> Fortschritte bei der quantitativen Bestimmung von Rückständen bringt die geschickte Kombination von schneller Probenvorbereitung, leistungsfähiger flüssigchromatographischer Trennung und strukturspezifischer MS/MS-Detektion. Das vereinfacht bei HPLC-MS/MS-Analysen signifikant die aufwendige Probenvorbereitung. Ein aktuelles Beispiel ist eine viel versprechende Multimethode zum Nachweis von Pestiziden unterschiedlichster Polarität in pflanzlichen Matrices, bei der nach dem Homogenisieren der Probe lediglich ein Filtrationsschritt folgt. Anschließend wird die HPLC-MS/MS-Analyse mit einer „large volume injection“ – also der direkten Aufgabe von 900 µl Extrakt – gestartet.<sup>1b)</sup> Sie trägt – ein kleines experimentelles Detail – entscheidend dazu bei, die geforderten Nachweisgrenzen zu erreichen. Sollen dagegen Rückstände mit der Kapillar-HPLC-MS nachgewiesen werden, ist aufgrund der Injektionsvolumina im nL-Bereich ein Vorkonzentrierungsschritt beim Nachweis von Spurenkomponenten unbedingt erforderlich. Dabei kann eine miniaturisierte Festphasenextraktion elegant die Analyte direkt anreichern. Hierdurch gelingt beispielsweise der Nachweis von Pflanzenschutzmitteln, die in der Landwirtschaft das Beregnungswasser kontaminieren.<sup>2)</sup>

Die stetig zunehmende Bedeutung von HPLC-MS-Analysen bei routinemäßigen Rückstandsuntersuchungen demonstrieren die zahlreichen neuentwickelten Methoden zur Bestimmung von Tierarzneimitteln<sup>3)</sup> und Masthilfsmitteln mit hormoneller Wirkung<sup>4)</sup> sowie zum Nachweis von Pflanzenschutzmitteln<sup>5)</sup> und Wachstumsregulatoren wie Chlormequat.<sup>6)</sup> Häufig gelingt es, mit der HPLC-MS in einer Analyse den eingesetzten Wirkstoff und seine Leitmetabolite gemeinsam zu quantifizieren.<sup>3c,4a,5b)</sup> Ein weiteres „heißes Eisen“ unter den Kontaminanten anthropogenen Ursprungs sind Verunreinigungen mit BPA (Bisphenol-A Diglycidylether) und verwandten Verbindungen, die in großem Maßstab als Beschichtung von Konservendosen eingesetzt werden. Das Fehlen geeigneter Referenzmaterialien und die heterogenen technischen Gemische erschweren konventionelle HPLC-Analysen. Die HPLC-APCI-MS/MS (APCI, chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck) kann nicht nur die Leitsubstanzen nachweisen, sondern anhand der Produkt-Ionenspektren lassen sich jetzt auch die zahlreichen Synthesebei- und Hydrolyseprodukte im Lebensmittel identifizieren. Das macht wertvolle Rückschlüsse auf die Produktionsbedingungen bei der Herstellung der Konservenverpackungen möglich.<sup>7)</sup> Mit Blick auf Kontaminanten natürlichen Ursprungs liegt der Schwerpunkt der neuentwickelten HPLC-MS-Methoden wie bereits in den vergangenen Jahren<sup>8)</sup> auf der Untersuchung toxikologisch relevanter Mykotoxine wie Patulin, Ochratoxin oder verschiedenen Fusarientoxinen,<sup>9,10)</sup> sowie auf der Bestimmung heterozyklischer aromatischer Amine (HAA) in hitzebehandelten proteinreichen Lebensmitteln.<sup>11)</sup>

## Quantitative Analysen

Wie die Beispiele<sup>3-11)</sup> aus der Rückstandsanalytik zeigen, sind für die quantitative Bestimmung von Spurenkomponenten idealerweise Standardsubstanzen erforderlich, die mit stabilen Isotopen markiert wurden (ID-MS, Isotopenverdünnungs-Analyse). Alternativ wird das Standard-Additionsverfahren oder eine Kalibration mit externen Standards eingesetzt.<sup>10a)</sup> Allerdings kann grundsätzlich nicht a priori davon ausgegangen werden, dass die relativen Intensitäten einzelner Ionen in einem Elektrospray-Massenspektrum (ESI-MS) die relativen Konzentrationen der entsprechenden Analyte in der Probenlösung widerspiegeln. Zudem hängt die Ionisierungsrate einer zu quantifizierenden Verbindung speziell bei der ESI nicht nur vom Tuning und dem Wartungszustand des Interfaces ab. Damit wird das massenspektrometrisch erfassbare Signal ganz entscheidend von der Gegenwart weiterer Elektrolyte, von Matrixkomponenten und ko-eluierenden Inhaltsstoffen beeinflusst.<sup>12,14a)</sup> So können sich quantitative Bestimmungen auf der Basis von externen Kalibrierungen speziell mit Blick auf die heterogene Matrix von Lebensmitteln als außerordentlich problematisch erweisen. In der Praxis stehen häufig keine isotopen-markierten Referenzsubstanzen zur Verfügung. Gilt es zudem, den Mehraufwand des Standardadditions-Verfahrens (für das gleichermaßen hinreichend reine und stabile Standardsubstanzen benötigt werden)

zu vermeiden, so kann die Ionisierungsleistung der ESI-MS-Kopplung durch den Zusatz eines weiteren externen Standards kontrolliert werden, der zwischen HPLC-Trennsäule und ESI-Interface wahlweise permanent, regelmäßig gepulst oder gezielt den eluierenden chromatographischen Peaks zudosiert wird. Allerdings bleibt abzuwarten, in welchem Umfang sich derartige Lösungsansätze in der Routine bewähren werden.

### Nachweis von schwer zu erfassenden Analyten

Zu den schwer zu erfassenden Analyten zählen Verbindungen, die sich mangels geeigneter chromophorer Gruppen nur nach zusätzlichen Derivatisierungsreaktionen mit ausreichender Empfindlichkeit mittels HPLC analysieren lassen und Moleküle, die aufgrund ihrer Polarität, thermischen Instabilität oder zu niedriger Flüchtigkeit nicht mit der GC-MS erfasst werden können. Zu nennen ist in diesem Zusammenhang beispielsweise die Analyse von Triacylglyceridformulierungen, die bei der Herstellung von maßgeschneiderten Margarinen und von Ölen und Fetten mit partiell hydrierten, ungesättigten Fettsäureresten (Shortenings) Verwendung finden.<sup>13)</sup> Ein weiteres aktuelles Beispiel aus diesem Aufgabengebiet ist die Entwicklung von HPLC-MS-Multimethoden zum Nachweis von kationischen, anionischen und nicht-ionischen Tensiden und deren Abbauprodukten in Abwasser- und Umweltprouben.<sup>14)</sup> Diese Applikationen liegen mit Blick auf die aktuelle Diskussion zur hormonellen Wirksamkeit derartiger Umweltkontaminanten besonders im Trend. Schließlich ist auch das Potential der ESI-MS als Alternative oder Ergänzung zur ICP-MS<sup>15)</sup> bei der Bestimmung von anorganischen Ionen und metallorganischen Verbindungen bei weitem noch nicht ausgereizt: So können anhand von ESI-MS-Analysen die natürlich vorkommenden Organoarsenverbindungen Arsenobetain und Arsenocholin, aber auch zahlreiche Arsenozucker in marinen Organismen und Wasserproben nachgewiesen werden;<sup>16)</sup> analog gelingt die Identifizierung von Organoselenverbindungen sowie Organozinnkontaminanten.<sup>17)</sup> Ein weiterer Trend ist die Kopplung der Ionenchromatographie mit der ESI-MS. Erste Applikationen demonstrieren z. B. den Nachweis von Perchlorat in Trinkwasser, der auf eine Verunreinigung mit Munitionsrückständen hinweisen kann.<sup>18)</sup>

### Strukturaufklärung mittels HPLC-MS/MS

HPLC - MS• /• MS - Untersuchungen tragen entscheidend zum Nachweis und zur Identifizierung bisher unbekannter Inhaltsstoffe von Lebensmitteln bei. Wie in den Biowissenschaften stellen in diesem Zusammenhang die Identifizierung bioaktiver Peptide und natürlicher Peptidantibiotika in Joghurt und in Käseproben, aber auch die strukturelle Charakterisierung von Lebensmittelproteinen neuerschlossene Aufgabengebiete dar.<sup>19)</sup> So gelingt mit der ESI-MS/MS zum Beispiel die Identifizierung von Myoglobinen und damit der Nachweis der Tierart selbst anhand erhitzter Proteinproben.<sup>20a)</sup> Ebenso können die Molekulargewichtsverteilung und Teile der Aminosäuresequenzen der Gliadine und Glutenine in Weizenmehl massenspektrometrisch bestimmt werden. So lassen sich anhand des ermittelten Proteinmusters unerwünschte Weizenbeimengungen in glutenfreien Nahrungsmitteln für Zöliakiepatienten dokumentieren.<sup>20b)</sup> Schließlich kann mit der ESI-MS die Interaktion von Eisen- und Citrat-Ionen mit Lysozym aus Hühnereiweiß genauso studiert werden<sup>20c)</sup> wie die technisch bedingte Konformations- und Funktionsänderung von Lebensmittelproteinen.<sup>19c)</sup>

Eine Renaissance ist auf dem Gebiet der Maillard-Chemie zu beobachten. Etabliert ist der HPLC-MS-Nachweis bekannter Produkte der Reaktion von Kohlenhydraten mit Aminogruppen, beispielsweise die Bestimmung von Laktuloselysin.<sup>21a)</sup> Aktuelle Arbeiten konzentrieren sich auf die Identifizierung von neuen natürlichen Bitter- und Farbstoffen,<sup>21b,c)</sup> die bei der nichtenzymatischen Kondensation von reduzierenden Zuckern mit Aminosäuren entstehen. Ebenso im Trend liegen ESI-MS-Untersuchungen der Maillard-Reaktion mit Biomakromolekülen, also der Glykosylierung von Lecithinen oder Proteinen wie Lysozym.<sup>21d)</sup> Studien zeigen die hohe Reaktivität von Aminophospholipiden gegenüber Kohlenhydraten, wodurch beispielsweise die Emulgierereigenschaften von Trockeneigelb beeinflusst werden können.<sup>21e)</sup> Als weitere Anwendungen der HPLC-MS-Kopplung zur Strukturaufklärung unbekannter Lebensmittelinhaltsstoffe seien exemplarisch Untersuchungen zur Identifizierung bioaktiver Tryptophanmetabolite<sup>22)</sup> oder Analysen der Abbauprodukte des Süßstoffes Aspartam genannt.<sup>23)</sup>

Verstärkt werden Untersuchungen zu Vorkommen, Identität, Reaktivität, Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Polyphenolen<sup>24)</sup> durchgeführt, weil derartige Pflanzeninhaltsstoffe auch in vivo als natürliche Antioxidantien wesentliche Komponenten einer durch die Nahrung vermittelten Chemoprävention darstellen könnten. Im Mittelpunkt stehen Catechine aus Tee<sup>25)</sup> und Proanthocyanidine aus Wein<sup>26)</sup> sowie Kondensationsprodukte von Catechinen mit anderen Weininhaltsstoffen.<sup>27)</sup> Daneben werden aber auch Flavonoide, Flavonoidglykoside und Zimtsäurederivate bearbeitet, die beispielsweise in Essig, Litchifrüchten oder Orangen vorkommen.<sup>28)</sup> Eingesetzt werden sowohl ESI als auch APCI; der Nachweis der Verbindungen kann anhand der Molekülionen  $[M-H]^-$  oder  $[M+H]^+$ , ihre Identifizierung anhand der charakteristischen Produkt-Ionenspektren erfolgen. Die Detektion der Phenolat-Anionen führt dabei in der Regel zu niedrigeren Nachweisgrenzen. Allerdings bleibt anzumerken, dass bei den der Massenspektrometrie vorgeschalteten chromatographischen Trennungen häufig angesäuerte Fließmittel verwendet werden, deren pH-Wert die erzielbaren Nachweisgrenzen beeinflusst. Generell ist festzuhalten, dass derartige Polyphenole aufgrund ihres Ionisierungsverhaltens

bei ESI- oder APCI-MS-Experimenten zwar selektiver, aber auch unempfindlicher erfasst werden als bei konventionellen HPLC-UV-Analysen. Die Zukunft wird zeigen, ob sich die Ionisierung der Polyphenole bei der HPLC-ESI-MS-Analytik durch gezielte Bildung von Addukt-Ionen z. B. mit zweiwertigen Metallkationen (Nachweis als  $[M+Cu]^{2+}$ ) weiter verbessern lässt.<sup>29)</sup>

### HPLC-MS-Analytik schwer ionisierbarer Analyte

Wie bereits im vorangegangenen Kapitel gezeigt, eignet sich die Elektrospraytechnik vor allem zum Nachweis von Analyten, die bereits in Lösung ionisiert vorliegen. Problematisch bleiben aber HPLC-ESI-MS-Untersuchungen von „neutralen“ Molekülen wie Kohlenhydraten oder Polyphenolen und damit auch von bisher nur partiell strukturell charakterisierten Biomakromolekülen wie Oligosacchariden und Tanninen. Zur Lösung dieses Problems können Ionisierungstechniken beitragen, die eine „aktive“ Ionisierung der Analyte forcieren. So erhalten wir Molekülionen von Neutralverbindungen mittels elektrochemischer Oxidationsreaktionen im ESI-Interface, durch die gezielte Initiierung elektrischer Entladungen an der ESI-Spray-Kapillare („rim dis-charge mode“) oder nach Protonentransferreaktionen in der Gasphase.<sup>30a,b)</sup>

Bereits kommerziell verfügbar sind Interfacemodelle zur „aktiven“ chemischen Ionisierung bei Atmosphärendruck APCI. Eine viel versprechende Weiterentwicklung auf diesem Gebiet stellt die Photoionisation (APPI, atmospheric pressure photoionization) dar.<sup>30c)</sup> Noch attraktiver erscheinen aber Interface-Techniken, die eine Kombination der bei GC-MS-Analysen weit verbreiteten Elektronenstoßionisierung (EI, electron impact) mit HPLC-Trennungen ermöglichen.<sup>30d)</sup>

Die Zukunft wird zeigen, ob sich die HPLC-EI-MS-Technik gegenüber der ESI-Analytik durchsetzen wird. Voraussetzungen dafür wären die universelle Ionisierung praktisch aller Analyte mit matrixunabhängigen Ionenausbeuten sowie die zuverlässige und schnelle Identifizierung unbekannter Verbindungen mit Hilfe der etablierten EI-Spektrenbibliotheken.

Stetig populärer, da bereits mit kommerziell verfügbaren ESI-Massenspektrometern zu realisieren, sollten in der Zukunft experimentelle Methoden zum Nachweis von Neutalmolekülen werden, die sich unter ESI-Standardbedingungen nicht oder nur schwer protonieren oder deprotonieren lassen. Sie werden durch Adduktbildung mit extern zugeführten Anionen oder Kationen ionisiert. So gelingt mit der ESI-MS/MS der Nachweis und die strukturelle Charakterisierung von Kohlenhydraten nach Komplexbildung mit Metallkationen.<sup>31)</sup> Mit einer Nano-ESI-Quelle lässt sich die Nachweisempfindlichkeit weiter verbessern.<sup>32)</sup> Ungesättigte Fettsäuren und die daraus abgeleiteten Fette sowie andere Polyene wie Carotinoide und Tocopherole lassen sich nach Komplexbildung mit  $Ag^+$  erfolgreich mit der HPLC-ESI-MS untersuchen.<sup>33)</sup> Werden die HPLC-Trennungen der zu untersuchenden neutralen Moleküle mit chloroformhaltigen Fließmittelsystemen durchgeführt, so ist der Nachweis von Addukt-Ionen mit  $Cl^-([M+Cl]^-)$  eine viel versprechende Alternative, deren Potential gerade erst erkannt wurde.<sup>34)</sup>

### MS-Analytik von Aromastoffen

Neue Perspektiven für die schnelle und empfindliche Online-Analytik von Aromastoffen während der Produktion und Lagerung von Lebensmitteln ergeben sich durch Kopplung etablierter massenspektrometrischer Techniken mit innovativen Ionisierungsverfahren. Zu nennen sind in diesem Zusammenhang die Remp-Technik (Remp, resonance enhanced multi photon ionization), die PTR-Massenspektrometrie (PTR, proton transfer reaction) und eine Variante der Ionenmobilitätsspektrometrie (Faims, high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry).<sup>35)</sup> Eine andere interessante Entwicklung, die eine wertvolle Ergänzung etablierter sensorischer Verfahren darstellt, beruht auf der aus der HPLC-MS-Analytik bekannten APCI-Technik: Mit einer eigens konstruierten Sonde können die im Rachenraum des Menschen freigesetzten Aromastoffe vor Ort erfasst und zeitaufgelöst massenspektrometrisch identifiziert werden.<sup>36)</sup>

Bei der Authentizitätskontrolle sowie bei Studien zur Biosynthese von Aromastoffen werden Online-Messungen der Isotopenverhältnisse von Spurenkomponenten (IR-MS, isotope ratio-MS) in komplex zusammengesetzten Proben immer wichtiger: So lassen sich neben den  $\delta^2H$ - und  $\delta^{13}C$ -Werten auch das  $^{18}O/^{16}O$ -Verhältnis von Leitsubstanzen wie Vanillin oder  $\gamma$ -Decalacton direkt im Anschluss an die GC-Trennung der Aromastoffe bestimmen.<sup>37)</sup>

Erst in der Zukunft wird sich dagegen zeigen, ob eine direkte massenspektrometrische Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse chiraler Aromastoffe ohne vorherige chromatographische Trennung der optischen Antipoden realisiert werden kann. Im Prinzip beruhen derartige Analysen auf der Erzeugung diastereomerer Komplexe in Gegenwart chiraler Hilfsreagenzien und dem Nachweis spezifischer Produkte. Mit der ESI-MS gelingt so bereits die enantiospezifische Analyse von chiralen Aminosäuren und Kohlenhydraten.<sup>38)</sup> Gelingt es, dieses Konzept auf weitere Verbindungsklassen zu übertragen, sollten sich damit Biosynthese und Herkunft von Naturstoffen unabhängig von den immer noch empirisch ausgewählten chiralen chromatographischen Trennsäulen ermitteln lassen.

*Markus Herderich, Institut für Lebensmittelchemie, Universität Würzburg, E-Mail mherderi@pzc.uni-wuerzburg.de*

- 1) a) N. Bailey et al., *Rapid Comm. Mass Spec.* 2000, 14, 679; b) A. C. Hogenboom et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 892, 379.
- 2) A. Cappiello et al., *Anal. Chem.* 2000, Web release 8. Dec.
- 3) *APCI*: a) M. S. Ali et al., *J. AOAC Int.* 2000, 83, 39; b) H. Nakazawa et al., *J. Chromatogr. B* 1999, 732, 55. *ESI*: c) G. Bartolucci et al., *Rapid. Comm. Mass Spec. B* 2000, 14, 967; d) P. A. Guy et al., *J. Chromatogr. B* 1999, 736, 209; e) D. Hurtaud-Pessel et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 882, 89; f) K. Takeba et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 882, 99.
- 4) a) R. Draisci et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 870, 511; b) M. Horie, H. Nakazawa, *J. Chromatogr. A* 2000, 882, 53.
- 5) a) A. R. Fernandez-Alba et al., *J. AOAC Int.* 2000, 83, 748; b) G. S. Nunes et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 888, 113; c) K. Yoshii et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 896, 75.
- 6) J. Hau et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 878, 77.
- 7) U. Berger, M. Oehme, *J. AOAC Int.* 2000, 83, 1367; b) W. Rauter, J. Lintschinger, *DLR* 2000, 96, 417.
- 8) H.-U. Humpf, W. Schwack, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 1999, 48, 355.
- 9) a) M. Hartl, H.-U. Humpf, *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 5078; b) V. Sewram et al., *J. Chromatogr. A* 1999, 858, 175; c) V. Sewram et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 897, 365.
- 10) a) B. Lau et al., *J. Mass Spectrom.* 2000, 35, 23; b) K. Jorgensen, M. Vahl, *Food Add. Contam.* 1999, 16, 451.
- 11) a) H. Kataoka, J. Pawliszyn, *Chromatographia* 1999, 50, 532; b) Toribio et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 869, 307. *Reviews*: c) P. Pais, M. G. Knize, *J. Chromatogr. B* 2000, 747, 139; d) Toribio et al., *J. Chromatogr. B* 2000, 747, 171.
- 12) a) R. King et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2000, 11, 942; b) P. Kebarle, L. Tang, *Anal. Chem.* 1993, 65, 972A. c) P. Kebarle, M. Peschke, *Anal. Chim. Acta* 2000, 406, 11; d) T. L. Constantopoulos et al., *Anal. Chim. Acta* 2000, 406, 37.
- 13) W. C. Byrdwell et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, Web release 30. Nov.
- 14) a) P. L. Ferguson et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 4322; b) M. Petrovic, D. Barceló, *Anal. Chem.* 2000, 72, 4560; c) M. Radke et al., *Anal. Chem.* 1999, 71, 5362.
- 15) J. Broekaert, *Fres. J. Anal. Chem.* 2000, 368, 15.
- 16) a) S. A. Pergantis et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 357; b) J. Wu et al., *Anal. Chim. Acta* 2000, 424, 211.
- 17) a) M. Kotrebai et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 866, 51; b) S. White et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 794, 211.
- 18) a) W. W. Buchberger, *J. Chromatogr. A* 2000, 884, 3; b) E. T. Urbansky et al., *J. Sci. Food Agric.* 2000, 80, 1798.
- 19) a) A. Schieber, H. Bruckner, *Eur. Food Res. Tech.* 2000, 210, 310; b) M. Carnio et al., *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2378; c) H. Alomirah et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 893, 1; d) J. Léonil et al., *J. Chromatogr. A* 2000, 881, 1.
- 20) a) E. Ponce-Alquicira, A. Taylor, *Food Chem.* 2000, 69, 81; b) G. Mamone et al., *Rap. Comm. Mass Spec.* 2000, 14, 897; c) T. Croguennec et al., *Food Chem.* 2000, 68, 29.
- 21) a) F. Vinale et al., *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 4700; b) O. Frank et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, Web release 30. Nov. c) O. Frank, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 6303; d) F. Yeboah et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 2766; e) C. Utzmann, M. Lederer, *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1000.
- 22) a) B. Gutsche et al., *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999, 467, 757; b) T. Herraiz, *J. Chromatogr. A* 2000, 881, 483; c) S. Diem et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4913.
- 23) S. Pattanaargson, C. Sanchavanakit, *Rap. Comm. Mass Spec.* 2000, 14, 987.
- 24) J. B. Harborne, C. A. Williams, *Phytochem.* 2000, 55, 481.
- 25) a) D. J. Zeeb et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 5020; b) J. J. Dalluge, B. C. Nelson, *J. Chromatogr. A* 2000, 881, 411.
- 26) a) S. de Pascual-Teresa et al., *Int. J. Food Sci. Tech.* 2000, 35, 33; b) W. Friedrich et al., *Eur. Food Res. Technol.* 2000, 211, 56; c) S. Lazarus et al., *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 3693. d) Y. Yang, M. Chien, *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3990.
- 27) a) N.-E. Es-Safi et al., *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 1917; b) N.-E. Es-Safi et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5946; c) N.-E. Es-Safi et al., *Int. J. Food Sci. Tech.* 2000, 35, 63; d) N.-E. Es-Safi et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4233.
- 28) a) W. Andlauer et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3533; b) G. Jungbluth, W. Ternes, *Fres. J. Anal. Chem.* 2000, 367, 661; c) U. Justesen, *J. Chromatogr. A* 2000, 902, 369; d) U. Justesen et al., *Lebensm. Wiss. Technol.* 2000, 33, 424; e) P. Sarni-Manchado et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5995; f) P. Swatsitang et al., *Anal. Chim. Acta* 2000, 417, 231. *Review*: g) M. Stobiecki, *Phytochem.* 2000, 54, 237.
- 29) M. Satterfield, J. S. Brodbelt, *Anal. Chem.* 2000, 72, 5898.
- 30) a) R. B. Van Breemen, *Anal. Chem.* 1995, 67, 2004; b) S. Zhou, K. D. Cook, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2000, 11, 961; c) D. B. Robb et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 3653; d) A. Cappiello et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 3841.
- 31) a) A. Fura, J. Leary, *Anal. Chem.* 1993, 65, 2805; b) M. Kohler, J. Leary, *Anal. Chem.* 1995, 67, 3501. c) G. Smith, J. Leary, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1996, 7, 953; d) E. M. Sible et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1997, 8, 32; e) E. Koenig, J. Leary, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1998, 9, 1125; f) S. P. Gaucher, J. Leary, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1999, 10, 269.
- 32) a) B. Finke et al., *Anal. Chem.* 1999, 71, 3755; b) M. Karas et al., *Fres. J. Anal. Chem.* 2000, 366, 669.
- 33) a) E. Bayer et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, 38, 992; b) C. M. Havrilla et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 8042.
- 34) J. Zhu, R. B. Cole, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2000, 11, 932.
- 35) a) U. Boesl, *J. Mass Spec.* 2000, 35, 289. b) A. Boschetti et al., *Postharv. Biol. Technol.* 1999, 17, 143; c) B. Ells et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 4555.
- 36) a) J. M. Davidson et al., *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 4336; b) A. J. Taylor et al., *Food Chem.* 2000, 71, 327. *Review*: c) R. Linforth, *J. Sci. Food Agric.* 2000, 80, 2044.
- 37) a) K. Hör et al., *J. Agric. Food Chem.* 2000, Web release 15. Dec.; b-d) in *Frontiers of Flavour Sciences (Hrsg.: P. Schieberle, K.-H. Engel), Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittel, Garching, 2000*: b) S. Asche et al., pp 102–106; c) K. Hör et al., pp. 107–110; d) G. E. Krammer et al., pp. 111–116.
- 38) a) G. Grigorean et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 4275; b) W. A. Tao et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 10598; c) Z.-P. Yao et al., *Anal. Chem.* 2000, 72, 5394; d) H. Desaire, J. Leary, *Anal. Chem.* 1999, 71, 1997; e) H. Desaire, J. Leary, *Anal. Chem.* 1999, 71, 4142.