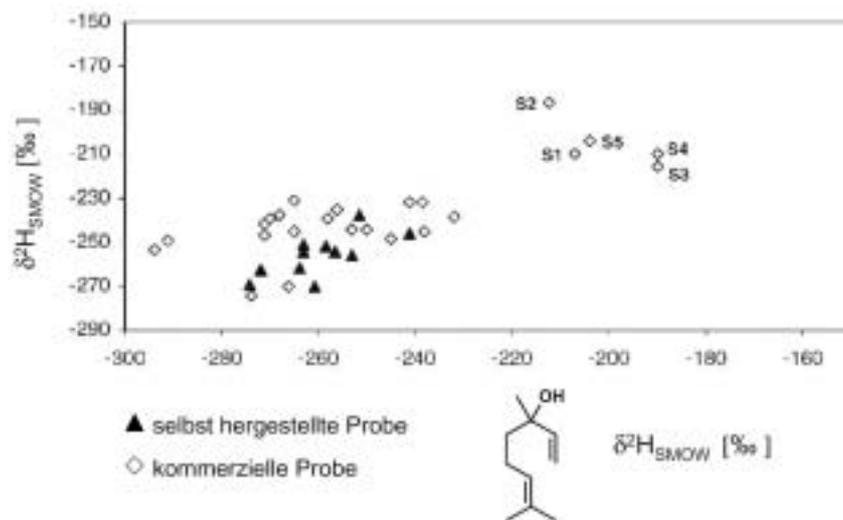
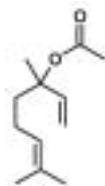


Die Aufgabe der Lebensmitteltoxikologie ist es, zu definieren, welche Dosis das Ding zum Gift macht. Angesichts der zum Teil sehr weit greifenden Veränderungen und Entwicklungen auf dem Lebensmittelmarkt ist dies eine große Herausforderung für die Lebensmitteltoxikologie.

Sabine E. Kulling, Karlsruhe

- 1) E. Tareke, P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson, M. Törnquist, J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 4998–5006.
- 2) Zusammenfassung aktueller Daten über Acrylamid: [www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/acrylamide\\_workshop.html](http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/acrylamide_workshop.html).
- 3) D. S. Mottram, B. L. Wedzicha, A. T. Dodson, Nature 2002, 419, 448–449.
- 4) R. H. Stadler, I. Blank, N. Varga, F. Robert, J. Hau, P. A. Guy, M. C. Robert, S. Riediker, Nature 2002, 419, 449–450.
- 5) R. Weißhaar, B. Gutsche, Dtsch. Lebensmitt. Rdsch. 2002, 11, 397–400.
- 6) C. Gertz, S. Klostermann, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2002, 104, 762–771.
- 7) F. L. Martin, J. M. Ames, J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 3885–3892.
- 8) US-EPA: Acrylamide. EPA Integrated Risk Information System (IRIS, 1993); [www.epa.gov/iris](http://www.epa.gov/iris)
- 9) WHO: Acrylamide. In: Guidelines for drinking-water quality, Vol. 2, Health criteria and other supporting information. International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva (1996), Switzerland.
- 10) S. Yellayi, A. Naaz, M. A. Szweczykowski, T. Sato, J. A. Woods, J. Chang, M. Segre, C. D. Allred, W. G. Helferich, P. S. Cooke, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002, 99, 7616–7621.
- 11) B. L. Pool-Zobel, H. Adlercreutz, M. Glei, U. M. Liebigel, J. Sittlington, I. Rowland, G. Rechkemmer, Carcinogenesis 2001, 21, 1247–1252.
- 12) S. E. Kulling, B. Rosenberg, E. Jacobs, M. Metzler, Arch. Toxicol. 1999, 73, 50–54.
- 13) T. Abe, Leukemia 1999, 13, 317–320.
- 14) R. R. Newbold, E. P. Banks, B. Bullock, W. N. Jefferson, Cancer Res. 2001, 61, 4325–8.
- 15) W. N. Jefferson, J. F. Couse, E. P. Banks, K. S. Korach, R. R. Newbold, Biol. Reprod. 2002, 67, 1285–1296.
- 16) C. A. Lamartiniere, M. S. Cotroneo, W. A. Fritz, J. Wang, R. Mentor-Marcel, A. Elgavish, J. Nutr. 2002, 132, 5525–5585.
- 17) Y. H. Ju, C. D. Allred, K. F. Allred, K. L. Karko, D. R. Doerge, W. G. Helferich, J. Nutr. 2001, 131, 2957–2962.
- 18) C. D. Allred, Y. H. Ju, K. F. Allred, J. Chang, W. G. Helferich, Carcinogenesis 2001, 22, 1667–1673.



## Authentizitätskontrolle von Lebensmitteln

◆ Der Nachweis von Verfälschungen in Lebensmitteln durch Verschnitt mit nicht zugelassenen oder nicht deklarierten Zutaten bleibt weiterhin eine Herausforderung für die Lebensmittelchemie. So wird die gesamte Bandbreite moderner spektroskopischer, chromatographischer und molekularbiologischer Techniken eingesetzt, um unerlaubte Zusätze aufzudecken.<sup>1)</sup>

### Stabilisotopenanalytik

◆ Die Stabilisotopenanalytik ist eine der leistungsfähigsten Nachweismethoden zur Authentizitätskontrolle von Lebensmitteln. Sie beruht auf dem kinetischen Isotopeneffekt bei der Biosynthese von Naturstoffen, der zu einer charakteristischen Isotopenverteilung führt. Die so genannte Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS), online gekoppelt mit der hochauflösenden, kapillaren Gaschromatographie (HRGC), erlaubt heute, Isotopenverhältnisse in Naturstoffen aus komplexen Gemischen präzise zu bestimmen. Bisher war die HRGC-IRMS-Kopplung auf die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  beschränkt. Seit kurzem sind Geräte kommerziell verfügbar, die durch Pyrolyse bei hohen Temperaturen (High-Temperatur-

re Conversion, TC) erlauben,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ - und  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisse zu bestimmen. Es besteht somit die Möglichkeit zur Multikomponenten-/Multi-element-Analyse von Lebensmittelinhaltsstoffen.

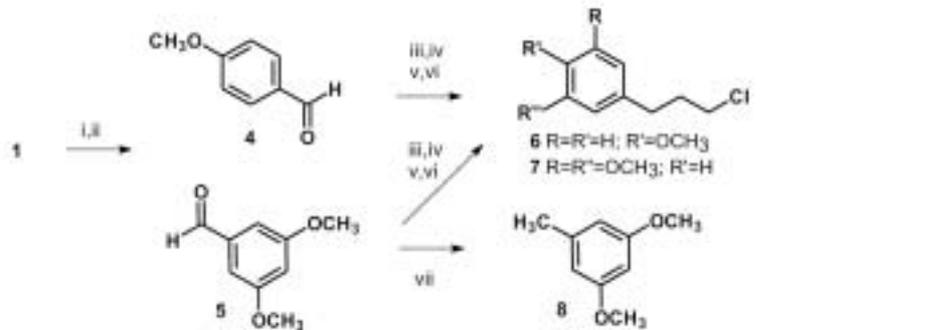
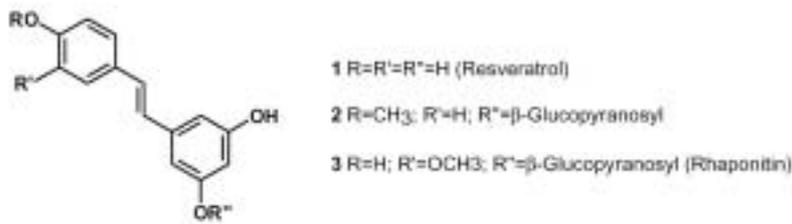
Die Praxis hat gezeigt, dass HRGC-IRMS-Systeme der gründlichen Validierung bedürfen. Hierzu gibt es mehrere Standardsubstanzen, deren Isotopenwerte vorher durch einen High Temperature Conversion Elemental Analyzer (TC-EA/IRMS) ermittelt werden müssen.<sup>2)</sup> Eine Multielement-Analyse von trans-Anethol ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ ,  $\delta^2\text{H}_{\text{SMOW}}$ )<sup>3)</sup> und anderen Aromastoffen wurde auf diese Weise durchgeführt.

Die simultane Bestimmung der  $\delta^2\text{H}_{\text{SMOW}}$ -Werte von Linalool und Linalylacetat konnte zur Authentizitätskontrolle von Lavendelölen eingesetzt werden<sup>4)</sup> (Abbildung 1). Ei-

Abb. 1. Korrelation der  $\delta^2\text{H}_{\text{SMOW}}$ -Werte von Linalool und Linalylacetat aus Lavendelölen. Die Proben S1-S5 sind mit synthetischem Öl verfälscht.



**Matthias Wüst**, Jahrgang 1968, studierte Lebensmittelchemie in Frankfurt, wo er 1999 bei Armin Mosandl promovierte. Von 1999 bis 2000 war er als Postdoc im Arbeitskreis von Rodney Croteau an der Washington State University (USA). Bis 2002 arbeitete er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Lebensmittelchemie der Universität Frankfurt. Seit Januar 2003 ist er Dozent für Lebensmittelchemie an der Hochschule Walis (Schweiz). Sein Forschungsgebiet ist die Analytik und die Biogenese von terpenoiden Aromastoffen.



(i) Diazomethan; (ii) Ozonolyse; (iii) Ph<sub>3</sub>PCHCO<sub>2</sub>Et/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (iv) H<sub>2</sub>/Pd-C/AcOEt; (v) LiAlH<sub>4</sub>/THF; (vi) Ph<sub>3</sub>P/CCl<sub>4</sub>; (vii) H<sub>2</sub>/Pd/C

Abb. 2. Chemischer Abbau von Resveratrol 1 zur Bestimmung der Deuteriumverteilung in 4 und 5 und zur positionsspezifischen Messung der  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$  Werte in 6-8.

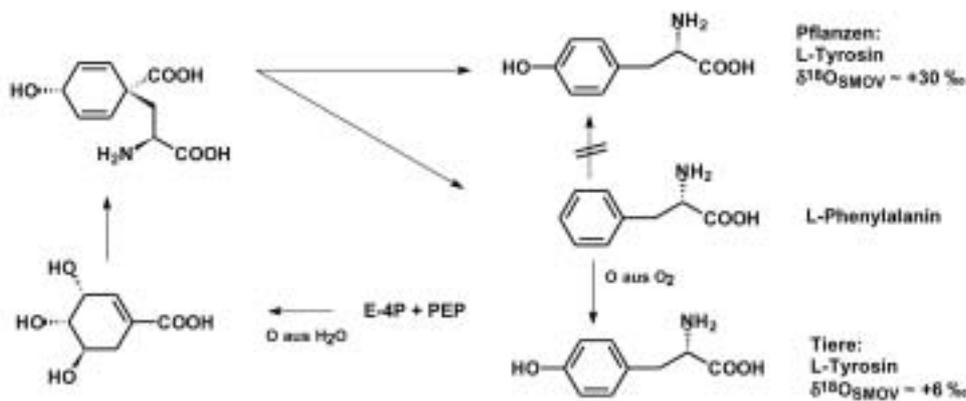
Abb. 3. Biosynthese von L-Tyrosin in Pflanzen und in Tieren und entsprechende  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Werte der para-Hydroxygruppe.

ne ergänzende enantioselektive Analyse bestätigte, dass einige Lavendelöle im Handel mit synthetischen Racematen von Linalool und Linalylacetat versetzt waren.

Die Authentizitätskontrolle von Tequila gelang durch die Bestimmung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ - und  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Werte. Dazu wurde die HRGC-IRMS, bei der eine PLOT-Säule (Porous Layer Open Tubular) verwendet wurde, mit der Festphasen-Mikroextraktion SPME, Solid Phase Microextraction) gekoppelt. Mit dieser Methode ist es möglich, Verschnitt von Spirituosen bei minimalem Aufwand für die Probenaufbereitung sicher zu bestimmen, da sich diese Isotopenwerte bei C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-/CAM-Pflanzen deutlich unterscheiden: C<sub>3</sub>-Pflanzen fixieren den

Kohlenstoff über den Calvin-Zyklus, C<sub>4</sub>-Pflanzen über den Hatch-Slack-Weg und CAM-Pflanzen (Crassulacean Acid Metabolism) über eine Variante des Hatch-Slack-Wegs.

Isotopenwerte von schwerflüchtigen Verbindungen, die durch eine HRGC-IRMS-Analyse nicht bestimmbar sind, können im Elemental Analyzer (EA) im Verbrennungsmodus ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ ) oder im Pyrolysemodus ( $\delta^2\text{H}_{\text{SMOW}}$ ,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ ) gemessen werden. Allerdings muss die entsprechende Verbindung in reiner Form aus dem Lebensmittel in Milligramm-Mengen diskriminierungsfrei, also ohne den Isotopenwert zu verändern, isoliert werden. Für Koffein aus Guarana-Produkten (*Paullinia cupana*) wurde dies erreicht. Die Bestimmung der



$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ - und  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Werte erlaubt es, natürliches Guarana-Koffein von synthetischem Koffein zu unterscheiden.<sup>5)</sup>

### Positionsspezifische Isotopenwerte

◆ Durch diskriminierungsfreie Isolierung eines Lebensmittelinhaltsstoffs und definierten chemischen Abbau erhält man auch positionsspezifische Isotopenwerte. So wurden die  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Werte der vergleichsweise komplexen, bioaktiven Verbindungen Resveratrol, 4'-O-Methylresveratrol-Glucosid und Rapontin nach Ozonolyse und weiteren Reaktionsschritten stellungsspezifisch bestimmt (Abbildung 2).<sup>6)</sup>

Die D/H-Isotopenverhältnisse der Abbauprodukte Anisaldehyd und 3,5-Dimethoxybenzaldehyd wurden stellungsspezifisch mit SNIF-NMR (Site-specific Natural Isotope Fractionation NMR) ermittelt. Durch einfache chemische Abbaureaktionen war es dabei möglich, stellungsspezifische Isotopenwerte in strukturell komplexen Lebensmittelinhaltsstoffen zu bestimmen.

Die intramolekulare Verteilung der Isotopenwerte lässt sich anhand des jeweiligen Biosynthesewegs nachvollziehen und in begrenztem Maß voraussagen. So erlaubt der  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Wert der para-Hydroxygruppe von L-Tyrosin Rückschlüsse auf die Herkunft des Stoffes:<sup>7)</sup> Tierisches Tyrosin wird über eine Monooxygenierung von Phenylalanin mit atmosphärischem Sauerstoff gebildet ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Wert der p-OH-Gruppe ca. +6‰), pflanzliches Tyrosin hingegen stammt aus dem Shikimatstoffwechsel ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ -Wert der p-OH-Gruppe ca. +30‰) (Abbildung 3). Inwieweit diese Methode geeignet ist, zu bestimmen, ob ein Protein tierischer oder pflanzlicher Herkunft ist (Stichwort: Tiermehlverfütterung), bleibt allerdings abzuwarten.

Die Ester der Phenyllessigsäure tragen zum Geschmack vieler Lebensmittel bei und werden in großen Mengen Aromastoffformulierungen zugesetzt. Um natürliche von synthetischer Phenyllessigsäure

zu unterscheiden, wurden diese zu Benzoesäure abgebaut. Durch SNIF-NMR wurden die D/H-Werte der *ortho*-, *meta*- und *para*-Wasserstoffatome des Benzolrings bestimmt.<sup>8)</sup> Während Deuterium im synthetischen Material statistisch verteilt ist, zeigt die natürliche Verbindung eine Anreicherung an Deuterium in der Reihenfolge *para*>*ortho*>*meta*. Diese charakteristische Verteilung ergibt sich vermutlich aus der Biosynthese des Precursors L-Phenylalanin über den Shikimat-Stoffwechsel.

Um die Herkunft von Zuckern (Glucose, Fructose, Saccharose) mit der SNIF-NMR-Methode zu bestimmen, mussten diese bisher kontrolliert zu Ethanol vergoren werden. Durch eine Derivatisierung der Zucker wurde jedoch eine genügend große Dispersion der chemischen Verschiebungen der Wasserstoffatome am Kohlenstoff erreicht.<sup>9)</sup> So wird Glucose als 3,6-Anhydro-1,2-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranose (MAGFA) analysiert, Fructose als 2,3,4,5-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -D-fructopyranose (DAFP) (Abbildung 4). Die stellungsspezifische Isotopenanalyse dieser Verbindungen aus verschiedenen C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>- und CAM-Pflanzen erlaubt es, bis zu sieben CH-Positionen simultan zu bestimmen. Die Ergebnisse belegen einen starken Einfluss des photosynthetischen Metabolismus auf die Deuteriumverteilung in den Zuckermolekülen. Die Methode liefert somit eine wertvolle Ergänzung zur etablierten Ethanol-Methode.

### Ausblick

Die hier gezeigten neueren Entwicklungen demonstrieren die Einsatzmöglichkeiten der Stabilisotopenanalytik in der Authentizitätskontrolle von Lebensmitteln. Allerdings müssen zur stellungsspezifischen Isotopenanalyse, sowohl mit SNIF-NMR, als auch nach chemischem Abbau mit IRMS, die entsprechenden Verbindungen in reiner Form aus dem Lebensmittel isoliert werden. Dies ist bei Minorcomponenten nicht immer praktikabel. Hier bietet die GC-Pyrolysis-IRMS eine interessante Alternative. So

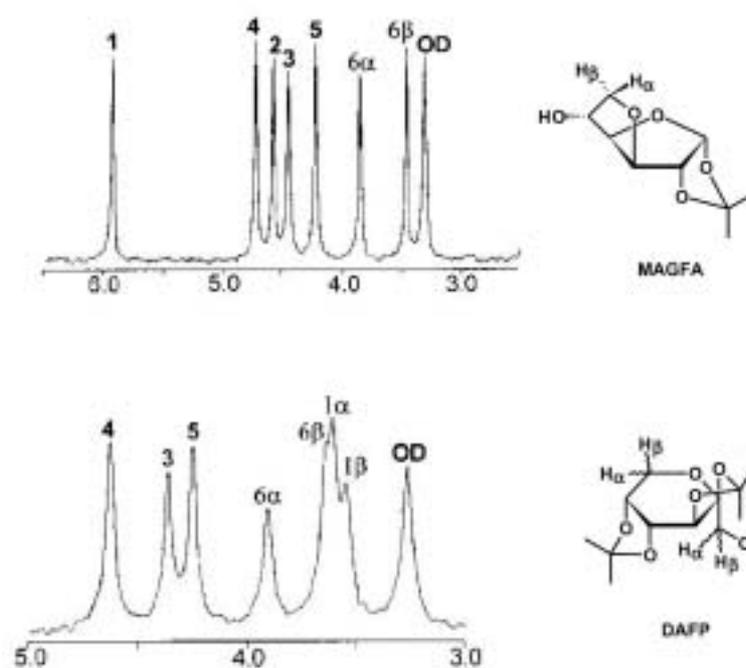


Abb. 4. <sup>2</sup>H-NMR-Spektren der Glucose- und Fructosederivate 3,6-Anhydro-1,2-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranose (MAGFA) bzw. 2,3,4,5-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -D-fructopyranose (DAFP).

kann bei einer niedrigen Pyrolysetemperatur das Carboxylat-Kohlenstoffatom der organischen Säuren (C2 bis C6) nach GC-Trennung als CO<sub>2</sub> abgespalten und anschließend online mit <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C-IRMS vermessen werden.<sup>10)</sup> Da sich viele organische Verbindungen durch eine kontrollierte Pyrolyse in definierte Abbauprodukte überführen lassen, wird dieser neuere Ansatz vielleicht die stellungsspezifische Isotopenanalyse von Minorcomponenten mit IRMS ermöglichen.

Matthias Wüst, Sion/Schweiz

- 1) C. Cordella et al., J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 1751–1764.
- 2) S. Bilke, A. Mosandl, Rapid Commun. Mass Spectrom. 2002, 16, 468–472.
- 3) S. Bilke, A. Mosandl, J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 3935–3937.
- 4) B. S. Bilke, A. Mosandl, Eur. Food Res. Technol. 2002, 214, 532–535.
- 5) B. Weckerle et al., Deutsche Lebensmittel-Rundschau 2002, 98, 122–124.
- 6) G. Fronza et al., J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 2748–2754.
- 7) G. Fronza, Eur. Food Res. Technol. 2002, 215, 55–58.
- 8) J. Aleu, Eur. Food Res. Technol. 2002, 214, 63–66.
- 9) B.-L. Zhang, J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 1574–1580.
- 10) R. F. Dias et al., Org. Geochem. 2002, 33, 161–168.
- 11) O. Blanca et al. J. Agric Food Chem. 2002, 50, 7520–7523

**Das Jahr der Chemie bei der GDCh**

Justus von Liebig  
"Historische Stätten der Chemie"  
16.5. in Gießen

Woche der Chemie  
6. - 10.10. in München

GDCh  
GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

Während des ganzen Jahres zahlreiche Aktionen durch Ortsverbände, Jungchemikerforen und Fachgruppen an vielen Orten Deutschlands.

www.jahr-der-chemie.de

**Chemie** 2003