

5. Symposium über Lebensmittelauthentizität, La Baule, Frankreich

• Analyseverfahren • Authentizität • Flavonoide • Isotopenverfahren • SNIF-NMR

Vom 9. - 11. Juni 1999 fand in La Baule (Frankreich) das 5. Symposium über Lebensmittelauthentizität mit ca. 250 Teilnehmern statt. Schwerpunkte der diesjährigen Veranstaltung waren insbesondere moderne Analyseverfahren, mit deren Hilfe versucht wurde, die Authentizität von Fruchtprodukten, Ölen und anderen Lebensmitteln zu beurteilen. Dabei spielten neben chromatographischen Verfahren vor allem molekularbiologische und die verschiedensten spektroskopischen Techniken sowie Isotopenverfahren eine bedeutende Rolle. Ein wichtiger Aspekt vieler Vorträge war die Bewertung der erzielten Ergebnisse mit Hilfe von mathematisch-statistischen Modellen. Neben allgemeinen Darstellungen über verschiedenste Verfälschungsmöglichkeiten und die dafür notwendigen analytischen Methoden wurden insbesondere folgende fruchtsaftspezifische Fragestellungen diskutiert:

"The importance of spectroscopic and chromatographic techniques in the identification of plant pigments in food products"

Dr. B. Schoefs, (Südböhmische Universität, Tschechien)

Der Vortrag brachte eine umfassende, aber nichts Neues enthaltende, Zusammenstellung aller in der Natur vorkommenden Pflanzenfarbstoffe -wie Carotinoide, Anthocyane, Tetrapyrrolstrukturen, phenolische Verbindungen und die Gruppe der stickstoffhaltigen färbenden Inhaltsstoffe. Am Beispiel der verschiedenen Carotinoide wurden die physikalischen Zusammenhänge der Farbe und die damit gegebenen analytischen Möglichkeiten, vor allem hinsichtlich der UV-Absorptionen aufgezeigt, was bei der Analytik der Chlorophylle und Anthocyane ausgenutzt wird. Untersuchungen zeigten, daß die meisten Pflanzenpigmente Veränderungen sowie verschiedenen Abbauprozessen in Abhängigkeit von den jeweiligen Technologien und Bedingungen unterliegen. Einige gewünschte Farbveränderungen in Lebensmitteln entstehen erst unter bestimmten Einflüssen, z.B. Hitzebehandlung; die meisten sind aber negativer Art und beeinflussen die Qualität der Produkte beträchtlich, weshalb die Kennt-

nis der verschiedenen Prozesse und Stabilisierungsmöglichkeiten von entscheidender Bedeutung ist. Beispiele dafür sind der Abbau von Chlorophyll zu Phäophytin, die Isomerisierung und Oxydation der Carotinoide sowie die Braunfärbung von thermisch behandelten Produkten, die Anthocyane enthalten. Vom analytischen Gesichtspunkt aus, gibt es neben den spektroskopischen eine Vielzahl von chromatographischen Verfahren, von denen die HPLC in den letzten Jahren den größten Zuwachs verzeichnet hat. Neue methodische Ansätze wurden nicht diskutiert, lediglich für spezielle chemische Fragestellungen (Chlorophyll, Carotinoide) könnten massenspektroskopische und NMR-Methoden aufgrund höherer Empfindlichkeit empfehlenswert sein.

"The potential of DNS-profiling to detect Citrus Reticulata in Citrus Sinensis"

Dr. E. Gachet (Eurofins, Frankreich)

Da molekularbiologische Methoden inzwischen auf vielen Gebieten etabliert sind, wird auch in der Fruchtsaftanalytik nach Möglichkeiten gesucht, solche Techniken neben den klassischen Analysen zur Unterscheidung verschiedener Varietäten heranzuziehen. Als Beispiel aus der Praxis ging es in dieser Arbeit um die Unterscheidung von Citrus sinensis und Citrus reticulata. Der Autor wies auf die klassischen analytischen Bestimmungen hin, mit deren Hilfe eine Differenzierung erreicht werden kann. Im Gegensatz zur Analyse der Carotinoide, die thermisch instabil und sehr lichtempfindlich sind und mit deren Hilfe nur Zusätze von ca. 10 % Reticulata zu Sinensis nachgewiesen werden können, ist die DNA nur wenig hitzeempfindlich und darüberhinaus weitgehend unabhängig von Umweltbedingungen. Mit Hilfe der PCR (polymerase chain reaction) ist eine Verstärkung spezifischer Fragmente der DNA möglich, die eine Identifizierung von Spezies erlauben. Diese Technologie soll, verglichen mit chromatographischen Methoden, eine deutlich höhere Empfindlichkeit haben. Die Charakterisierung der genetischen Polymorphie basiert auf der Identifizierung bestimmter DNA-Fragmente nach ihrer Größe und Anzahl. Dieses DNA-Profil ist damit einem Fingerprint ver-

gleichbar. Die erhaltenen PCR-Produkte von C. sinensis und C. reticulata wiesen eine Größe zwischen 580 und 2700 Basenpaaren auf. Dabei wurden 10 verschiedene Citrus sinensis-Züchtungen getestet; alle zeigten das gleiche Pattern von 4 Banden mit einer Größe zwischen 700 und 1500 Basenpaaren. Die 10 getesteten C. reticulata-Arten hingegen ergaben verschiedene Banden. Über Mischungen wurden allerdings keine Aussagen getroffen. Dennoch gehen die Autoren davon aus, daß diese Methode, wenn auch nicht für die Routine, so doch als zusätzliche Nachweismöglichkeit mit hoher Selektivität und Empfindlichkeit angesehen werden kann.

"Varietal characterization of grape juices using DNA analysis"

Dr. M.A. Faria (Universität Porto, Portugal)

Hierbei wurde die DNA-Analytik zur Unterscheidung von verschiedenen portugiesischen Traubensorten herangezogen. Mit der sogenannten Mikrosatellitenmethode (SSR= simple sequence repeats), bei der sehr kleine Einheiten (weniger als 4 Nucleotide) als Marker verwendet werden, ist ein hoher Grad in der Polymorphie zwischen den verschiedenen untersuchten Varietäten zu erreichen. Mit dieser Technik ließen sich verschiedene Sorten deutlich unterscheiden, so dass in einem Traubenmost, gemischt aus 5 dieser Varietäten, eine enthaltene Sorte zu erkennen war, wenn sie mindestens zu 2% vorlag. Vom wissenschaftlichen Standpunkt sehr interessant, wurde aber über Anwendungen auf unbekannte kommerzielle Produkte und andere Regionen keine Aussagen gemacht.

"High field high resolution proton NMR for analysis of foods"

Prof. P. Belton (Institut of Food Research, Norwich, England)

Dieser sehr interessante Vortrag über hochauflösende NMR mit hohen Feldstärken zeigte ganz neue, wenn auch sehr kostenintensive Möglichkeiten für die Analytik von Lebensmitteln auf. Mit einem einzigen ein- bzw. zweidimensionalen

Spektrum innerhalb von 10 - 15 Minuten ist es möglich, den gesamten Bereich aller in Lebensmitteln vorkommenden Bestandteile wie z.B. Säuren, Zucker und phenolische Verbindungen in einem Fingerprint zu erfassen. Begrenzt ist die Anwendung dieser Methode auf flüssige Proben, wie z.B. Fruchtsäfte und alkoholische Getränke. Es waren deutliche Unterschiede im Spektrum von Apfel-, Ananas-, Grapefruit- und Orangensaft zu sehen. Auch verschiedene Apfelsorten sind unterscheidbar, eine Quantifizierung erlaubt diese Methode jedoch nicht. Im sogenannten Contour-plot solcher NMR-Spektren ist jedes Signal (ähnlich zum Photodiodenarray-Detektor in der HPLC) durch zwei verschiedene chemische Verschiebungen charakterisiert. Darüberhinaus sind aber auch Abhängigkeiten der chemischen Verschiebung sowie der Intensität der Signale vom pH-Wert der Probe zu beobachten. Diese Analysetechnik ist für wissenschaftliche Forschungen sehr interessant, scheint aber für Routineanalysen nicht geeignet zu sein.

"Flavonoids as authenticity markers for Citrus Sinensis juice"

Prof. W. Ooghe (Universität Gent, Belgien)

Flavonoide sind als Authentizitätsmarker für Citrus sinensis schon lange bekannt. Die polymethoxylierten Flavone werden jedoch seltener zur Unterscheidung der verschiedenen Citrus Varietäten herangezogen.

Mit Hilfe einer Gradienten HPLC-Methode mit Photodiodenarraydetektion wurden die Flavanoglycoside bestimmt. Narirutin, Hesperidin und Didymin sind immer in Citrusaft enthalten. In Citrus sinensis nicht nachweisbar sind z.B. Neohesperidin, Naringin, Neohesperidin und Poncirin und dienen damit als Marker für Nicht-Sinensisarten, wie z.B. Citrus paradisi, C. aurantium, C. bergamia. Ein Zusatz von ca. 2% dieser Varietäten zu C.

sinensis ist damit nachweisbar. Ein niedriges (<3) bzw. sehr hohes (>15) Hesperidin/Narirutin-Verhältnis dient ebenfalls als Hinweis auf Verwendung von Nicht-Sinensis. Auch abweichende Didymingehalte (<10 bzw. >50 mg/l) können auf Mitverwendung anderer Citrusvarietäten hindeuten. Eine Unterscheidung zwischen C. reticulata und C. sinensis ist mittels Flavanoglycosiden nicht immer eindeutig. Mit Hilfe einer Gradienten-HPLC-Methode nach Benzolextraktion ist eine Differenzierung über die polymethoxylierten Flavane (PMF) jedoch möglich. Nicht-Sinensis hat kleinere Gehalte an Sinensetin, Quercetagenin und /oder Scutellarein, aber höhere an Nobiletin und/oder Tangeretin. Darüberhinaus sind Peaks nachweisbar, die nach Tangeretin in der HPLC eluiert werden. Mit dieser Bestimmung ist es möglich ca. 10% Fremdcitruszusatz (Reticulata und Hybride) zu Orangensaft nachzuweisen. Eine Kombination beider Methoden ist als optimale Nachweismöglichkeit für den Fremdzusatz von Nicht-Sinensisarten zu Orangensäften anzusehen. Der Vortrag brachte eine gute Zusammenstellung des bekannten Wissens über Vorkommen und Analytik der Flavonoide und PMF's. Neue Ansätze im Hinblick auf den Nachweis von Verfälschungen ergeben sich daraus aber nicht. Didymin und Ponciringehalte werden relativ selten herangezogen, könnten aber vielleicht noch zusätzliche Informationen liefern.

"Combined SNIF-NMR and SNIP-IRMS analyses as a means of characterising the flavour components of fruit juices"

Dr. G.G.Martin (Eurofins, Frankreich)

Eine Kombination von SNIF-NMR und IRMS (Isotope Ratio Mass Spectroscopy) ermöglicht zusätzliche Informationen und erhöht die Zuverlässigkeit von Methoden zur Authentizitätserkennung bei Frucht-

säften. Jede Pflanze hat ihr eigenes einheitliches Pattern an natürlich vorkommenden stabilen Isotopen (^{13}C , ^2H , ^{18}O), die Verteilung wird jedoch durch eine Vielzahl physikalischer und/oder biochemischer Prozesse beeinflusst. Die SNIP-IRMS (Specific Natural Isotopic Profile studied by Isotope Ratio Mass Spectroscopy) basiert auf den spezifischen Korrelationen der ^{13}C -Werte spezieller Moleküle. Die ^{13}dC -Werte von Proteinen, Äpfelsäure, Citronensäure, Glucose, Fructose, Saccharose geben ein spezifisches Pattern für jede Fruchtart und werden daher als neues Authentizitätskriterium angesehen. Allerdings zeigen vollständige SNIP-IRMS-Analysen, daß die ^{13}C -Verteilung zwischen jeder Komponente eines Fruchtsaftes nicht statistischen Werten entspricht. Da sich jede Fruchtart darüberhinaus unterschiedlich verhält, sind spezifische Referenzdaten erforderlich.

Beispiele für die Anwendung dieser Technik sind vor allem der Nachweis von Zusätzen organischer Säuren und Zucker (C3 und C4). Die Nachweismenge eines Zuckerzusatzes ist limitiert durch die natürlichen Schwankungen des $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses in Fruchtsäften, wie sie auch im AIJN festgelegt sind. Bei Citronensäure gibt es deutliche Unterschiede im Deuteriumgehalt zwischen natürlicher Herkunft z.B. aus Fruchtsäften (Zitrone, Orange, Grapefruit, Ananas, Erdbeere, schwarze Johannisbeere) und industriell hergestelltem Produkt, so dass die SNIF-NMR dafür als Routinemethode genutzt werden kann.

Aber auch für die Analytik von natürlichen Aromakomponenten in Citrusaft (z.B. Citral) scheint diese Technik anwendbar zu sein. Es wurden Unterschiede im spezifischen D/H-Verhältnis von Citral aus Citrusproben (Zitrone und Orange) sowie verschiedenen anderen Herkunftsfunden. Inwieweit daraus Vorteile gegenüber anderen Methoden zur Flavouranalyse bestehen, läßt sich jedoch heute noch nicht abschätzen.

Red/s.k.



• Aktuell

Die Firma Bonjuice GmbH; eine Tochtergesellschaft der Neue Einkaufsgesellschaft der Deutschen Konservenindustrie mbH, mit Sitz in Braunschweig, hat von der Fa. Jucon Lebensmittel- Hilfs- und Rohstoffe GmbH & Co. KG den Produktionsbetrieb sowie das Kühlhaus von der Fa. Jucon Frost GmbH in Schwalmatal, Nähe Mönchengladbach,

übernommen. Die Geschäftsführung übernimmt Dr.-Ing. Franz Michael Rouwen. Bonjuice wird mit den bewährten Mitarbeitern eine bestmögliche Fortführung der Geschäfte gewährleisten. Darüber hinaus will man eigene Akzente setzen, insbesondere in den Bereichen Fruchtsäfte, Konzentrate und Fruchtverarbeitung. Dabei wird den Geschäftspartner die lang-

jährige Erfahrung der Neue Einkaufsgesellschaft und ihres Geschäftsführers Dr. Rouwen zugute kommen.

Die neue Anschrift lautet:

- Bonjuice GmbH, Industriestrasse 19, D-41366 Schwalmatal, Tel: 021 63-4670, Fax: 021 63-3875, e-mail: bonjuice@t-online.de. •