

Fruchtfremdes Pektin in Ananassaft

Nachweis mittels Cavity-Ring-Down-Spektroskopie

Caroline Bertheau, Christoph Beer, Thorsten Fiedler, Mikko Hofsommer und Lothar W. Kroh

Exotische Säfte und Nektare sind nach den klassischen Apfel- und Orangensäften sehr beliebt bei Verbrauchern. Die Technologie der Saftkonzentrierherstellung und damit die Möglichkeit, tropische Früchte sicher und günstig zu importieren, haben zu ihrer Verbreitung beigetragen. Ananassäfte gehören mit einem Pro-Kopf-Verbrauch von 0,5 Liter pro Jahr in Deutschland mittlerweile zum Standardprogramm des Fruchtsaft-Sortiments [1].

Im Handel sind dabei Produkte zu finden, bei denen sich Saftbestandteile am Boden abgesetzt haben. Diese verringerte Trubstabilität kann sowohl biologische als auch technologische Ursachen haben, führt aber nicht zu ernährungsphysiologischen Nachteilen.

Trubstabilisierung

Da für den Kunden der sensorische Gesamteindruck ein wichtiges Qualitätsmerkmal und Kaufkriterium ist, wird seit den neunziger Jahren an technologischen Lösungen zur Stabilisierung des Trubs geforscht, z. B. durch den Einsatz von Homogenisatoren [2]. Eine weitere Methode besteht in der Verwendung von fruchtfremdem Pektin, welches als Zusatzstoff in der EU zugelassen ist. Erlaubt ist ein Zusatz von bis zu 3 g/L nicht amidierter Pektine (E440) zu Ananassaft, Passionsfruchtsaft und Passionsfruchtnektar [3]. Pektine bilden als Hydrokolloide Gele aus, die die Viskosität des Saftes erhöhen. Außerdem bewirkt eine Hydratation der feinen Trubpartikel, dass deren relative Dichte verringert wird und sie so länger in Suspension

verbleiben [4]. Der Pektinzusatz ist laut Lebensmittelinformationsverordnung auf dem Etikett im Zutatenverzeichnis aufzuführen [5].

Um Verbrauchertäuschung vorzubeugen, werden Säfte und Nektare bezüglich ihrer Authentizität geprüft. Der Pektingehalt wird bislang über die fotometrische Messung des Galakturonsäuregehalts der alkoholunlöslichen Substanzen bestimmt (IFU-Methode Nr. 26). Durch Vergleich mit Richtwerten, wie dem AIJN Code of Practice, ist es möglich, einen Pektinzusatz zu ermitteln.

Der Pektingehalt der Säfte unterliegt aber natürlichen und technologischen Schwankungen. Daher ist es nicht ausgeschlossen, dass ein Saft auch nach Zugabe von fruchtfremdem Pektin noch als authentisch beurteilt wird. Auch die Gefahr von falsch positiven Befunden ist zu berücksichtigen. Es ist demnach notwendig, den Zusatz von Pektin mit anderen Methoden nachzuweisen. Eine im Rahmen einer wissenschaftlichen Abschlussarbeit entwickelte Methode wird im Folgenden vorgestellt.



Caroline Bertheau

» Zur Person

Studentin der Lebensmittelchemie, schrieb ihre wissenschaftliche Abschlussarbeit an der TU-Berlin in Kooperation mit GfL-Gesellschaft für Lebensmittelforschung Berlin «

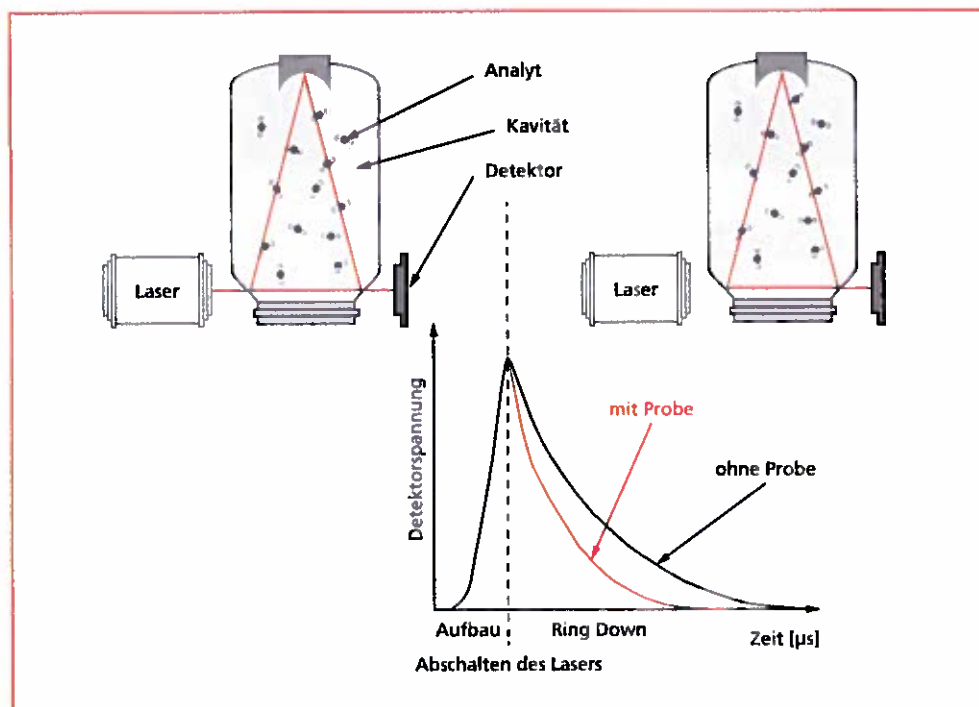


Abb. 1 Schematischer Messvorgang eines CRDS [www.picarro.com]

Cavity-Ring-Down-Spektroskopie

Die Verfälschung von Fruchtsäften mit Fremdzucker oder der Zusatz von Fremdwasser in einem Direktsaft wird seit einigen Jahren mithilfe von Isotopenuntersuchungen analysiert. Über den Anteil der schweren Isotope ^2H , ^{13}C und ^{18}O lassen sich Rückschlüsse auf die pflanzliche Quelle oder die geographische Herkunft der Fruchtsaftkomponenten ziehen. In der Routineanalytik werden die Isotopenanteile meist mithilfe der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS) oder der Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR-Spektroskopie) bestimmt. Die Cavity-Ring-Down-Spektroskopie (CRDS) ist dagegen eine verhältnismäßig junge absorptionsspektrometrische Methode, die 1988 von O'Keefe und Deacon entwickelt wurde [6]. Sie zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität aus, die die Messung von Spurengasen, Molekül- und Isotopenkonzentrationen ermöglicht. Ein allgemeiner Aufbau und die Schematik des Messvorgangs ist in Abbildung 1 gezeigt. Die sogenannte Cavity ist ein optischer Resonator, der aus min-

destens zwei Spiegeln besteht. Die Spiegel besitzen eine hohe Reflektivität von bis zu 99,999 %, erst die Entwicklung solcher hochreflektiver Spiegel ermöglichte die CRDS. In die Cavity wird durch einen Continuous-Wave-Laser Licht mit einer Wellenlänge im nahen Infrarotbereich eingestrahlt. Das Licht wird von den Spiegeln vielfach in der Cavity reflektiert, sodass effektive Messstrecken von über 20 km erreicht werden. Darin begründet sich u. a. nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz die hohe Sensitivität der Messung, da durch die Proportionalität von Messstrecke und Absorption ein rauscharmes Messsignal er-

reicht wird. Während der Einstrahlung nimmt die Intensität des am Detektor gemessenen Signals durch konstruktive Interferenz des reflektierten Lichts zu (Aufbauphase). Da die Spiegel nicht vollständig reflektieren, gelangt ein Teil des Lichts, der in seiner Intensität proportional zur Lichtintensität in der Cavity ist, durch Transmission zum Detektor. Erreicht das Signal am Detektor eine festgelegte Schwelle, so wird der Laser abgeschaltet. Die Intensität des Signals nimmt dann aufgrund der kontinuierlichen Transmission durch die Spiegel exponentiell ab. Dies ist der sogenannte Ring-Down, dessen Dauer am Detektor gemessen wird. Befindet sich eine Gasspezies in der Cavity, so verringert sich die Dauer des Ring-Downs, da das Licht zusätzlich zur Transmission Absorptionsverluste durch Vibrations- und Rotationsübergänge der Moleküle erfährt. Unabhängig von der absoluten Lichtintensität kann die Konzentration der angeregten Moleküle aus der jeweiligen Ring-Down-Zeit bestimmt werden. Um genaue Konzentrationen spezifischer Gase (z. B. $^{13}\text{CO}_2$, $^{12}\text{CO}_2$) zu ermitteln, wird bei verschiede-

>> Analyse von Isotopen zur Authentizitätskontrolle von Fruchtsäften und Nektaren <<

nen Wellenlängen unter genauer Kontrolle von Druck und Temperatur in der Cavity gemessen [7].

Um die Isotopenverhältnisse in festen und flüssigen Proben zu messen, wird dem CRDS ein Verbrennungsmodul (CM, Combustion Module) vorgeschaltet. Die Probe wird in eine Zinnkapsel eingewogen und gelangt über einen Autosampler in den Verbrennungsreaktor. In diesem herrscht eine Temperatur von 980 °C. Die Zinnkapsel schmilzt und reagiert exotherm mit eingeleitetem Sauerstoff, sodass Temperaturen von 1700–1800 °C erreicht werden. Dabei verbrennt die Probe schnell zu Wasser, Kohlenstoffdioxid,

Schwefeloxiden und Stickstoffoxiden. Eine Chrom(III)-oxid-Schicht im Reaktor katalysiert die vollständige Verbrennung. Überschüssiger Sauerstoff wird in einer Schicht aus Kupferdraht resorbiert, der außerdem die Stickstoffoxide zu Stickstoff reduziert. Die Schwefeloxide werden von versilbertem Cobalt(II/III)-oxid zurückgehalten. In das CRD-Spektrometer gelangen nur die zu analysierenden Gase Kohlenstoffdioxid und Wasser sowie Stickstoff, der als Trägergas eingesetzt wird [8,9]. Das aus den Gaskonzentrationen ermittelte Isotopenverhältnis wird als sogenannter δ -Wert im Bezug auf einen internationalen Standard angegeben:

$$\delta[\text{‰}] = \left(\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{Probe}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{Referenz}}} - 1 \right) \cdot 1000$$

Nachweis von fruchtfremdem Pektin

Als neue Methode zum Nachweis von fruchtfremdem Pektin mittels CRDS wurden die Kohlenstoffisotopenverhältnisse von Pektin und den unlöslichen Saftbe-

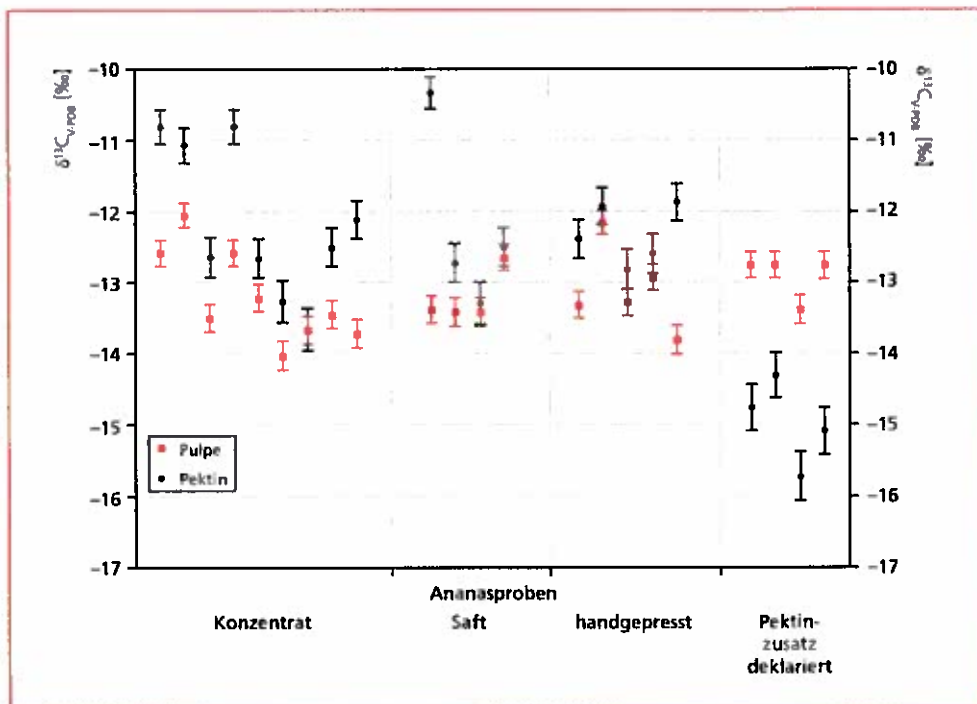


Abb. 2 Kohlenstoffisotopenverhältnisse in verschiedenen Ananasproben

standteilen (Pulpe) in Ananassaft und -nektar bestimmt und miteinander verglichen. Die Pulpe dient hierbei als innere Referenz.

Zur Analyse wurde das Pektin zunächst auf Grundlage der IFU-Methode Nr. 26 zur Bestimmung des Pektingehalts isoliert. Nach Abtrennung der Pulpe wurde das Pektin ethanolisch gefällt und zur Entfernung anhaftender Zucker mehrfach mit verdünntem Ethanol gewaschen. Gerade bei Nektaren besteht sonst die Möglichkeit, aufgrund fruchtfremden Zuckerzusatzes verfälschte Messergebnisse zu erhalten. Abschließend wurde das gereinigte Pektin getrocknet. Die Pulpe wurde nach der DIN V ENV 13070:1998 zur Bestimmung des Kohlenstoffisotopenverhältnisses in der Pulpe von Fruchtsäften aufgereinigt und getrocknet.

Anschließend wurden die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Pektin und Pulpe durch Messung im CM-CRDS ermittelt (Abb. 2). Sie lagen für authentische Proben zwischen circa -10 ‰ und -14 ‰, wobei die Pektine positivere Werte besaßen als die Pulpe. Die gemessenen Isotopenverhältnisse zeigten sich übereinstimmend mit



Mikko Hofsommer
Geschäftsführer GfL,
öffentlich bestellter
und vereidigter
Sachverständiger
der IHK Berlin für
Erfrischungsgetränke
und Fruchtsäfte

Kontakt:
Tel.: 030/2639200
info@gfl-berlin.de
www.gfl-berlin.com

Meldung

■ Vielseitig einsetzbar

Das Flame-NIR von Ocean Optics ist ein kompaktes Gerät, das nur etwa ein Viertel so viel kostet wie ein herkömmliches NIR-System. Mit einem Hochleistungs-InGaAs-Array-Detektor ohne Kühlung und einer kleinen optischen Bank ermöglicht es spektrale Messungen im Bereich zwischen 950 und 1650 nm. Das Spektrometer eignet sich ausgezeichnet für die OEM-Integration sowie für Laboranwendungen und Lebensmitteluntersuchungen.
oceanoptics.com

Literaturwerten von Ananasproben und stehen im Einklang mit dem Crassulaceen-Säure-Metabolismus der Ananas. Die Spannweite der gemessenen Pektinwerte führte zu der Notwendigkeit, eine innere Referenz-Substanz auszuwählen, um Abweichungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte trotz natürlicher Schwankungen einordnen zu können. Diese Methodik wird auch beim Nachweis von Fremdzucker mittels Isotopenanalytik genutzt. Als innere Referenz kommen prinzipiell sowohl Pulpe als auch Zucker infrage. Da jedoch der Zusatz von Zucker zu Ananasnektar erlaubt und zu Ananassaft zwar verboten, aber möglich ist, wurde die Pulpe bevorzugt.

Die handelsüblich zur Trubstabilisierung in Ananassäften eingesetzten Pektine werden aus Apfeltrestern oder Citrussschalen gewonnen. Apfel und Citruspflanzen gehören zu den C3-Pflanzen, die Kohlenstoffdioxid über den Calvin-Cyclus fixieren. Untersuchte kommerzielle Apfel- und Citruspektine zeigten für C3-Pflanzen typische Kohlenstoffisotopenverhältnisse um -25‰ . Die unterschiedlichen Veresterungs- und Amidierungsgrade hatten keinen erkennbaren Einfluss auf die gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte.

Fazit

Dotierungen von Ananassäften und -konzentraten mit hochverestertem Apfelpektin zeigten die zu erwartenden Veränderungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Proben. So veränderte sich z. B. bei einem Ana-

nassaft nach Zugabe von 200 mg Apfelpektin mit einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-25,49\text{‰}$ das Kohlenstoffisotopenverhältnis des isolierten Gesamtpektins von $-13,30\text{‰}$ auf $-14,14\text{‰}$. Je mehr fruchtfremdes Pektin zugesetzt wurde, umso stärker verschob sich der resultierende $\delta^{13}\text{C}$ -Wert. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Pulpe wurde von der Dotierung nicht beeinflusst, was dessen Eignung als innere Referenz bestätigte. Die Differenz ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Pektin}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{Pulpe}}$) wurde als Kriterium für den Nachweis eines Pektinzusatzes festgelegt. Das unterschiedliche Ausmaß der Verschiebung bei gleicher Dotierung von verschiedenen Proben ließ sich auf die jeweiligen fruchteigenen Pektinhalte der Ananasproben zurückführen. Je mehr natürliches Pektin enthalten war, desto geringer fiel die Verschiebung aus. In den untersuchten Handelsproben, bei denen ein Pektinzusatz deklariert war, lagen die Differenzen ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Pektin}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{Pulpe}}$) zwischen $-2,34\text{‰}$ und $-1,54\text{‰}$.

Anschließend wurde zur Verifizierung der Methode die Wiederholgrenze r bestimmt, die für Pektin $r = 0,23\text{‰}$ und für Pulpe $r = 0,15\text{‰}$ beträgt. Die erweiterte Messunsicherheit MU wurde durch Anlegen einer Regelkarte ermittelt, sie beträgt in der Vorperiode ($n = 8$) $\text{MU} = 0,28\text{‰}$ für Pektin und $\text{MU} = 0,20\text{‰}$ für Pulpe. Unter Berücksichtigung der ermittelten Messunsicherheit kann bei Überschreiten eines spezifischen Schwellenwertes von einem Pektinzusatz ausgegangen werden. Für den Nachweis von fruchtfremdem Pektin in Ananassaft hat sich die Kohlenstoffisotopenmessung mittels CRDS als geeignete Methode erwiesen.

Literatur

- [1] Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e. V.: Daten und Fakten; 13.05.2016; online unter www.fruchtsaft.de/branche/daten-und-fakten; letzter Zugriff am 24.08.2016.
- [2] Will F: Trubzusammensetzung und Trubstabilität von Ananassäften. *Flüss Obst* 62 (6), 258–262 (1995).
- [3] Verordnung (EU) Nr. 1129/2011
- [4] Mensah-Wilson M et al.: Cloud stabilizing potential of pectin on pulp-contain-

» Die Messung schwerer Isotope ermöglicht Rückschlüsse auf Quelle oder Herkunft. «

- ing fruit beverages. *Fruit Process* 2, 47–54 (2000).
- [5] EU: Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Oktober 2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel und zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1924/2006 und (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinie 87/250/EWG der Kommission, der Richtlinie 90/496/EWG des Rates, der Richtlinie 1999/10/EG der Kommission, der Richtlinie 2000/13/EG des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 2002/67/EG und 2008/5/EG der Kommission und der Verordnung (EG) Nr. 608/2004 der Kommission. *ABI EU L 304*, 18–63 (2011).
- [6] OKeefe A, Deacon DAG: Cavity ring-down optical spectrometer for absorption measurements using pulsed laser sources. *Rev Sci Instrum* 59 (12), 2544–2551 (1988).
- [7] Picarro: Cavity Ring-Down Spectroscopy (CRDS); 12.10.2015; online unter www.picarro.com/technology/cavity_ring_down_spectroscopy; letzter Zugriff am 24.08.2016.

- [8] Picarro: Picarro B2221-i User's Manual (2012).
- [9] Picarro: Datasheet B2221-i 13C + D Combustion Module-CRDS Isotope Analyzer (2012). ■

» Das Verfahren ermöglicht den Nachweis eines nicht deklarierten Pektinzusatzes. «

Anschrift der Autoren

Caroline Bertheau
 Prof. Dr. Lothar W. Kroh
 Technische Universität Berlin
 Institut für Lebensmitteltechnologie
 und Lebensmittelchemie
 FG Lebensmittelchemie und Analytik
 Sekr. TIB 4/3-1
 Gustav-Meyer-Allee 25
 13355 Berlin
lothar.kroh@tu-berlin.de

Christoph Beer
 Dr. Thorsten Fiedler
 Mikko Hofsommer
 GfL – Gesellschaft für
 Lebensmittelforschung mbH
 Landgrafenstraße 16
 10787 Berlin
 Tel.: 030/2639200



FCC – 10th edition 2016–2017 incl. Supplement 1, 2 and 3

Published by USP United States Pharmacopeial Convention Inc.

Print: 2016. Main work. 1850 pages. Hardcover, including supplement 1 (September 2016), supplement 2 (March 2017), supplement 3 (September 2017). € 678,- [D]

Prepublication price valid until 31.05.2016: € 598,- [D]
 ISBN 978-3-7692-6562-0

Online: Rolling system. 730 days access. Price per ID: € 555,- plus VAT
 Multi-user prices on demand.

Free shipping within Germany, export shipping charges are € 8.90.
 All prices include VAT [D] unless otherwise specified.

Food Chemicals Codex

10th edition 2016 – 2017 incl. Supplement 1, 2 and 3

The *Food Chemicals Codex (FCC)* is a compendium of internationally recognized standards for determining the purity and quality of food ingredients. It is a valuable resource for authenticating a wide variety of ingredients, including processing aids, preservatives, flavorings, colorants, and nutrients. The *FCC* is revised and updated through an open collaborative revision process involving industry, government, and the public.

The tenth edition of the indispensable food industry resource features:

- More than 45 additional monographs, including 8 probiotic monographs
- 9 new general tests and assays
- 17 appendices, including microbial food cultures
- Includes pomegranate juice identify standard
- PLUS: 2 International Food Additive Council QA documents on food additives and GRAS substances, and USP's new Food Fraud Mitigation Guidance.



Deutscher
 Apotheker Verlag

Deutscher Apotheker Verlag

Birkenwaldstraße 44 | D - 70191 Stuttgart
 Phone +49 711 25 82 341 | Fax +49 711 25 82 390
service@deutscher-apotheker-verlag.de
www.deutscher-apotheker-verlag.de