

Überprüfung der Authentizität von Vanillearomen

Mit der Stabilisotopenmassenspektrometrie (IRMS) zum Ziel

Vanillearomen zählen zu den weltweit am häufigsten eingesetzten Aromen. Sie werden für die Aromatisierung zahlreicher Lebensmittel und auch in Kosmetika eingesetzt.

Aus der Schote gewonnene Vanillearomen mit dem Hauptaromastoff Vanillin sind aufgrund des aufwändigen Herstellungsprozesses und der begrenzten Verfügbarkeit deutlich teurer als biotechnologisch oder chemosynthetisch gewonnenes Vanillin. Infolgedessen ist die Motivation möglicher Verfälschungen und irreführender Angaben zur Herkunft und Natürlichkeit hier besonders groß.

Im Jahr 2022 wurde von den AGs Aromastoffe und Stabilisotopenanalytik der LChG ein überarbeitetes Grundlagenpapier zum Thema „Vanillearomen - Herkunft, Analytik und Charakterisierung der Vanillebestandteile“ veröffentlicht. [1]

Im Grundlagenpapier wird auf den Anbau, die Verarbeitung und die Inhaltsstoffe der Vanilleschoten eingegangen sowie Verfahren zur Herstellung von Vanilleschotenextrakten, die der Basisbestandteil vieler Vanillearomen sind, vorgestellt. Zudem beinhaltet das Grundlagenpapier eine Beschreibung der Zusammensetzung der am Markt verfügbaren Vanillequalitäten sowie Rechtsgrundlagen und Kennzeichnung nach EG-AromenV und gibt einen Überblick über die aktuellen Verfahren zur Authentizitätsprüfung von Vanillearomen und dem Aromastoff Vanillin (HPLC, GC, IRMS, ^2H -NMR, ^{13}C -NMR und ^{14}C -Radiocarbonmessung).

Die Stabilisotopenanalytik mittels (GC)-IRMS hat sich in der Praxis bewährt und wird seit vielen Jahren für die Authentizitätsprüfung von Vanillearomen eingesetzt. Dabei gibt das Verhältnis der stabilen Isotope spezifisch Auskunft über den Ursprung bzw. über

Ausgangsprodukte oder Herstellungsbedingungen eines Vanillearomas. Die Differenzierung beruht auf dem speziellen Fotosyntheseweg der Vanillepflanze, der zu charakteristischen Stabilisotopenverhältnissen im natürlichen Vanillin aus der Schote führt. Dadurch kann Vanillin aus der Vanilleschote verlässlich von Vanillin aus anderen Quellen unterschieden werden, obwohl die chemische Struktur der Moleküle identisch ist.

Analytik mittels Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS)

Zur Authentizitätsbewertung von Vanillin wird üblicherweise das Stabilisotopenverhältnis des Kohlenstoffs bestimmt. Auch das Wasserstoffisotopenverhältnis kann zur Überprüfung der Authentizität herangezogen werden.

Wenn der Aromastoff Vanillin als Reinstoff vorliegt, wird dieser zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse direkt mittels Elementaranalysator bzw. Pyrolyseeinheit in die entsprechenden Messgase Kohlendioxid (CO_2) bzw. Wasserstoff (H_2) umgesetzt und online dem IRMS zugeführt. Aus den Isotopenverhältnissen der Messgase wird das Kohlenstoff- bzw. Wasserstoffisotopenverhältnis des Vanillins errechnet. Bei komplexen Matrices wie Aromen oder Lebensmitteln erfolgt zunächst die Extraktion des Vanillins aus der Matrix. Der Extrakt wird gaschromatografisch getrennt, online über entsprechende Reaktoren zu CO_2 bzw. zu H_2 umgesetzt und dem IRMS zugeführt.

Beurteilung der Authentizität von Vanillin über den $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^2\text{H}$ -Wert

In der Praxis erfolgt die Beurteilung der Authentizität von Vanillearomen vor allem über das Kohlenstoffisotopenverhältnis des Vanillins $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, ausgedrückt als $\delta^{13}\text{C}$ -Wert in ‰. Für die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts von Vanillin werden regelmäßig Laborvergleichsun-

Tab. 1: Stabilisotopenverhältnisse des Kohlenstoffs und Wasserstoffs von Vanillin verschiedener Herkunft und Herstellungsverfahren

Herkunft/Rohstoff des Vanillins	Herstellungsverfahren	$\delta^{13}\text{C}$ VPDB (‰)	$\delta^2\text{H}$ VSMOW (‰)
<i>V. planifolia</i> -Schote, (z. B. Bourbon-Vanille)[1]	Extraktion	-21,5 bis -17,8	-92 bis -10
<i>V. tahitensis</i> -Schote[1]	Extraktion	-19,1 bis -14,6	-82 bis -3
Ferulasäure aus C_3 -Pflanzen (z. B. Reis)[1]	biotechnologisch	-37,4 bis -35,4	-174 bis -158
Ferulasäure aus C_4 -Pflanzen (z. B. Mais)[1]	biotechnologisch	-19,9 bis -18,2	-99 bis -97
Curcumin (Kurkuma)[1]	biotechnologisch	-30,4 bis -27,8	-155 bis -128
Eugenol, Isoeugenol (Nelke)[1]	chemosynthetisch/biotechnologisch	-32,4 bis -30,4	-114 bis -62
Lignin (Holz)[1]	chemosynthetisch	-32,5 bis -27,4	-182 bis -62
Guajacol (Erdöl)[2-4]	chemosynthetisch	-31,7 bis -25,9	-25 bis +117
Glucose (unbek. Herkunft; Einzelwert)[1]	biotechnologisch	-12,5	-95

tersuchungen angeboten, wodurch die Reproduzierbarkeit der $\delta^{13}\text{C}$ -Analyse von Vanillin bestätigt werden konnte. Basierend auf den in der Literatur veröffentlichten mehr als 120 Kohlenstoffisotopendaten für Vanillin, das aus der Vanilleschote stammt, liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im Bereich von $-14,6$ bis $-21,5$ ‰ VPDB (siehe Tabelle).

Bei einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der negativer als $-21,5$ ‰ VPDB ist, kann davon ausgegangen werden, dass das Vanillin nicht bzw. nicht ausschließlich aus der Schote stammt. Dieser sog. „Cut-Off Wert“ von $-21,5$ ‰ VPDB berücksichtigt dabei bereits die natürlichen Schwankungsbreiten des Isotopenverhältnisses von Vanillin bedingt durch z. B. geografische Herkunft, klimatische sowie jahrgangsspezifische Besonderheiten oder technologische Verfahren. Bei der Beurteilung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts von Vanillin, ist die erweiterte Messunsicherheit zu berücksichtigen.

In der Tabelle sind neben der Vanillepflanze weitere Rohstoffe für die Gewinnung von Vanillin aufgeführt, wobei die Herstellung sowohl biotechnologisch als auch chemosynthetisch erfolgt sein kann.

Auch das Wasserstoffisotopenverhältnis $^2\text{H}/^1\text{H}$ ($\delta^2\text{H}$) kann herangezogen werden, um zu prüfen, ob Vanillin ausschließlich aus der Schote stammt, oder aus anderen Rohstoffen biotechnologisch bzw. durch andere Verfahren hergestellt worden ist.

Der $\delta^2\text{H}$ -Wert von Vanillin, das ausschließlich aus der Schote stammt, liegt zwischen -92 und -3 ‰ VSMOW. Vanillin, biotechnologisch hergestellt aus Ferulasäure oder anderen Vorstufen aus C_3 -Pflanzen, hat negativere $\delta^2\text{H}$ -Werte als Vanillin aus der Schote. Die $\delta^2\text{H}$ -Werte von chemosynthetisch hergestelltem Vanillin sind sehr variabel und können sowohl sehr negative als auch sehr positive Werte annehmen. Da die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^2\text{H}$ -Werte des Vanillins in Zusammenhang stehen, ergibt sich durch die Verknüpfung dieser Werte eine erweiterte Möglichkeit der Prüfung, ob Vanillin ausschließlich aus der Schote stammt.

Fazit

Mit der Stabilisotopenmassenspektrometrie (IRMS) steht eine verlässliche Routinemethode zur Verfü-

Korrekturhinweis

Im Grundlagenpapier der AGs Aromastoffe und Stabilisotopenanalytik der LChG „Vanillearomen - Herkunft, Analytik und Charakterisierung der Vanillebestandteile“ aus dem Jahr 2020 fehlt in der Tabelle 3 der Eintrag zu Guajacol.

Ergänzung: Tabelle 3:

Herkunft/Rohstoff des Vanillins	Herstellungsverfahren	$\delta^{13}\text{C}$ VPDB (‰)	$\delta^2\text{H}$ VSMOW (‰)	Literatur
Guajacol (Erdöl)	chemosynthetisch	$-31,7$ bis $-25,9$	-25 bis $+117$	[1]

[1] Literatur 45-46 des Grundlagenpapiers „Vanillearomen - Herkunft, Analytik und Charakterisierung der Vanillebestandteile“

gung, die es ermöglicht aus der Schote gewonnenes Vanillin von Vanillin aus anderen Quellen zu unterscheiden. Eine sachgerechte Beurteilung der analytischen Ergebnisse sollte unter Berücksichtigung der Herstellung und Zusammensetzung des Vanillearomas oder des mit Vanillearomen hergestellten Lebensmittels erfolgen. Die Beweislast des Herstellers sollte daran mitwirken.[5]

Quellen:

- [1] AG Aromastoffe und AG Stabilisotopenanalytik der Lebensmittelchemischen Gesellschaft (2022) Grundlagenpapier der Lebensmittelchemischen Gesellschaft zum Thema Vanillearomen - Herkunft, Analytik und Charakterisierung der Vanillebestandteile; Lebensmittelchemie, 76(S1): S1-016 bis S1-026.
- [2] Greule M, Tumino L D, Kronewald T, Hener U, Schleucher J, Mosandl A, Keppler F (2010) Improved rapid authentication of vanillin using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ values; European Food Research and Technology, 231(6): 933–941
- [3] Hansen, A M S, Fromberg A, Frandsen, H L (2014) Authenticity and traceability of vanilla flavours by analysis of stable isotopes of carbon and hydrogen; Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(42): 10326–10331
- [4] Geißler K, Greule M, Schäfer U, Hans J, Geißler T, Meier L, Keppler F, Krammer G (2017) Vanilla authenticity control by DNA barcoding and isotope data aggregation; Flavour and Fragrance Journal, 32(4): 228–237
- [5] AG Aromastoffe der Lebensmittelchemischen Gesellschaft (2004) Authentizität von Aromastoffen; Lebensmittelchemie 58: 54 URL: https://www.gdch.de/fileadmin/downloads/Netzwerk_und_Strukturen/Fachgruppen/Lebensmittelchemiker/Arbeitsgruppen/aromastoffe/aroma_posi1.pdf [31.05.2023]

Autorin:

AG Stabilisotopenanalytik

Kontakt:

Dr. Antje Schellenberg

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit

Veterinärstraße 2

85764 Oberschleißheim

www.lgl.bayern.de

Tel.: 09131/6808-5586

E-Mail: antje.schellenberg@lgl.bayern.de

doi: <https://doi.org/10.1002/lemi.202300501>