

Schimmelgeruch in Früchten und Gemüsen?

Bestimmung von Trichloranisol und Tribromanisol mit SPME gekoppelt mit einer Comprehensive GCxGC und einem massenspektrometrischen Nachweis (HS-SPME-GCxGC-qMS-NCI)

Erich Leitner¹, Susanne Kräher²

¹Institut für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie, Technische Universität Graz, Österreich

²Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Deutschland

Die Verbindung 2,4,6-Trichloranisol (TCA) wird in der Literatur oft erwähnt, insbesondere seit H.R. Busers Veröffentlichung, in der TCA als die Schlüsselsubstanz für den „Korkgeschmack“ im Wein identifiziert wurde.[1] Zahlreiche andere Berichte sind hinsichtlich sensorischer Effekte in Nahrungsmitteln durch TCA und auch 2,4,6-Tribromanisol (TBA) publiziert worden. 1990 fand J.C. Spadone heraus, dass 20 % des brasilianischen Rohkaffees mit TCA kontaminiert war.[2] Zuletzt war TBA in den Nachrichten bezüglich der Produktrückrufe der Pharmaunternehmen Pfizer und Johnson & Johnson, die Produkte wegen kontaminierter Verpackungen vom Markt zurückziehen mussten. Eine verlässliche und empfindliche Methode zur Bestimmung von TBA und TCA in Früchten und Gemüsen, die unerwünschten Schimmelgeruch aufweisen, wurde entwickelt.

Sensorische Eigenschaften und Quellen von TBA und TCAs

TCA und TBA besitzen einen unangenehmen schimmeligen Geruch, den Menschen selbst in sehr geringen Konzentrationen registrieren. Diese Verbindungen lassen sich von Menschen mit unterschiedlicher Intensität in unterschiedlichen Lebensmitteln wahrnehmen.[3] Abbildung 1 zeigt die chemischen Strukturen der beiden Verbindungen.

Keine dieser Substanzen wird vorsätzlich Lebensmittelprodukten zugegeben, aber beide Verbindungen werden aus chlorierten Phenolen gebildet, die als Bakterizide (PCP) gegen Mikroorganismen zum Einsatz kommen. Der Entstehungsmechanismus konnte bei der Produktion von Weinflaschenschlüssen aus Naturkork nachgewiesen werden. Mehrere Arten von Mikroorganismen konnten in als auch auf Naturkork als Ergebnis des Produktionsprozesses gefunden werden. Die Bildung erfolgt entweder durch direkte Methylierung von Trichlor-

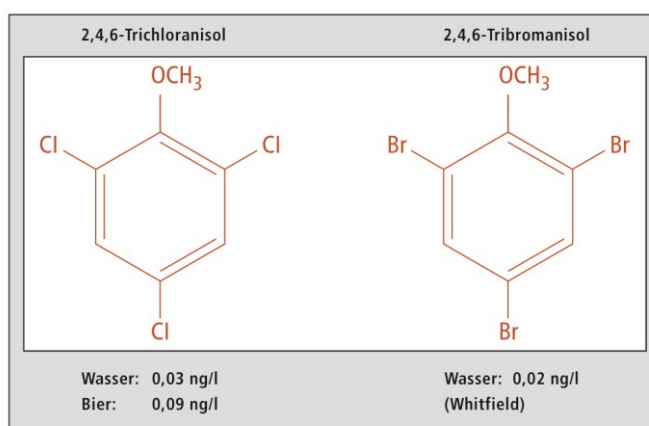


Abb. 1: Trichloroanisole und Tribromoanisole

phenol und/oder Tribromphenol oder durch eine Methylierungsreaktion nach Dechlorierung von chlorierten Phenolen mit mehr als drei Chlor- oder Bromatomen. Aus der großen Anzahl halogener Anisolverbindungen werden TCA und TBA in den geringsten Konzentrationen wahrgenommen.

Analyse-Techniken

Auf Grund der hohen Flüchtigkeit der Verbindungen ist eine hochauflösende Gas Chromatographie (GC) die Methode der Wahl für die Analyse. Ein Elektroneneinfangdetektor (ECD) oder ein Massenspektrometer wird für den selektiven und sensitiven Nachweis halogener Substanzen empfohlen. Erste Messungen an verschiedenen Früchten und Gemüsen mit einem gering auflösenden Quadrupol-MS im selected ion monitoring Modus (SIM) zeigten allerdings, dass eine derartige Technik zur Analyse von

Proben aus der Praxis wegen der massiven spektralen Interferenzen nicht geeignet ist (Abbildung 2).

Zur Lösung dieses Problems wurde eine Kombination aus einer multidimensionalen Chromatographie (Comprehensive GCxGC) mit einer negativen chemischen Ionisierung (NCI) eingesetzt. Bei der Comprehensive GCxGC werden zwei Säulen unterschiedlicher

Polarität in Reihe geschaltet. Bei diesem Aufbau besitzt die erste Säule üblicherweise die konventionellen Dimensionierungen, wohingegen die zweite Säule erheblich kürzer ist (0,5 - 3 m).

Alle, von der ersten Säule eluierten Verbindungen werden im Kopfraum der zweiten Säule kryothermisch durch Einblasen von kaltem Stickstoffgas fokussiert und danach für eine konstante Zeitspanne (Modulationsfrequenz, gewöhnlich 2 bis 8 Sekunden)

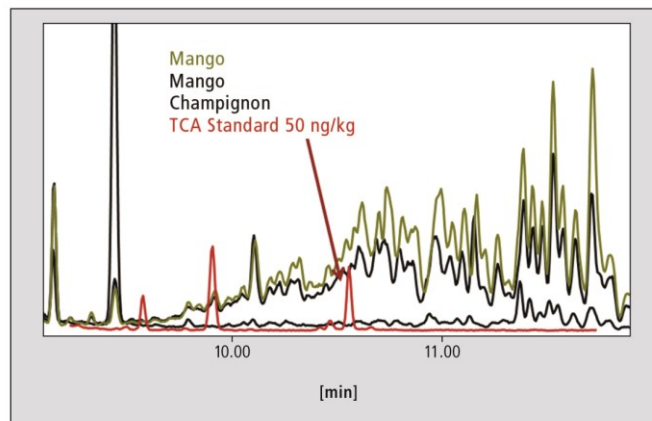


Abb. 2: Extrahierte Ionen (m/z 212) durch GC-qMS-EI

durch Einblasen von heißem Stickstoff in die zweite Säule freigesetzt. Auf diese Weise werden Peaks aus der ersten Dimension fraktioniert und auf der zweiten Säule findet eine zusätzliche Trennung statt.

Für einen besseren Überblick der Trennung werden die resultierenden Daten gewöhnlich in einem sogenannten Kontour-Plot anstelle von Chromatogrammen dargestellt. Im Kontour-Plot wird die Retentionszeit der ersten Säule gegen die Retentionszeit der zweiten Säule grafisch dargestellt, wobei die maximale Länge der y-Achse der Modulationsfrequenz entspricht. Verbindungen, die parallel zur y-Achse dargestellt sind, werden in einem eindimensionalen Chromatographiesystem nicht getrennt. Zusätzlich führt die Modulation der Peaks zu einer besseren Empfindlichkeit, da eine Peakbreite von normalerweise fünf bis sechs Sekunden in einem Comprehensive System auf 200 bis 400 Millisekunden vermindert wird.

Einsatz der negativen chemischen Ionisierung

Das Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) für 10 ng/kg TCA wurde von 18:1 (Elektronenstoßionisation (EI) im SIM-Modus) auf 72:1 (NCI im SIM-Modus) gesteigert. Wenn NCI in Verbindung mit der Comprehensive GCxGC eingesetzt wird, lässt sich eine weitere Steigerung des S/N auf 300:1 beobachten, woraus eine Quantifizierungsgrenze von 0,1 ng/kg resultiert. Der einzige Nachteil der Methode besteht in der Bildung von Fragmenten, die mit den Halogenatomen korrespondieren ($m/z = 35$ und 37 für Chloranisole und $m/z = 79$ und 81 für Bromanisole), was den Einsatz von deuterierten Standards unmöglich macht. Abbildung 2 zeigt den Kontour-Plot der Standardprobe mit der Konzentration von 10 ng/kg für jede der unterschiedlichen halogenisierten Anisole. Abbildung 3 zeigt Kontour-Plots von halogenisierten Anisolen einer Mangoprobe aus der Praxis. Die Probenaufbereitung wurde mit einer automatisierten Headspace-Festphasen-Mikroextraktion (HS-SPME) durchgeführt, wobei eine 2 cm 50/30 μm Divinylbenzol/Carboxene/Polydimethylsiloxan-Kapillare bei 80 °C für 60 min zum Einsatz kam. Die Probenmenge betrug 1 g des homogenisierten Materials. Der Kalibrierbereich lag zwischen 1 - 100 ng/kg.

Schlussfolgerung

Für die comprehensive, zweidimensionale Gas-Chromatographie gekoppelt an eine automatisierte SPME unter Zuhilfenahme von NCI wurde gezeigt, dass es sich um eine selektive und empfindliche Methode zur Bestimmung der geruchsaktiven Verbindungen

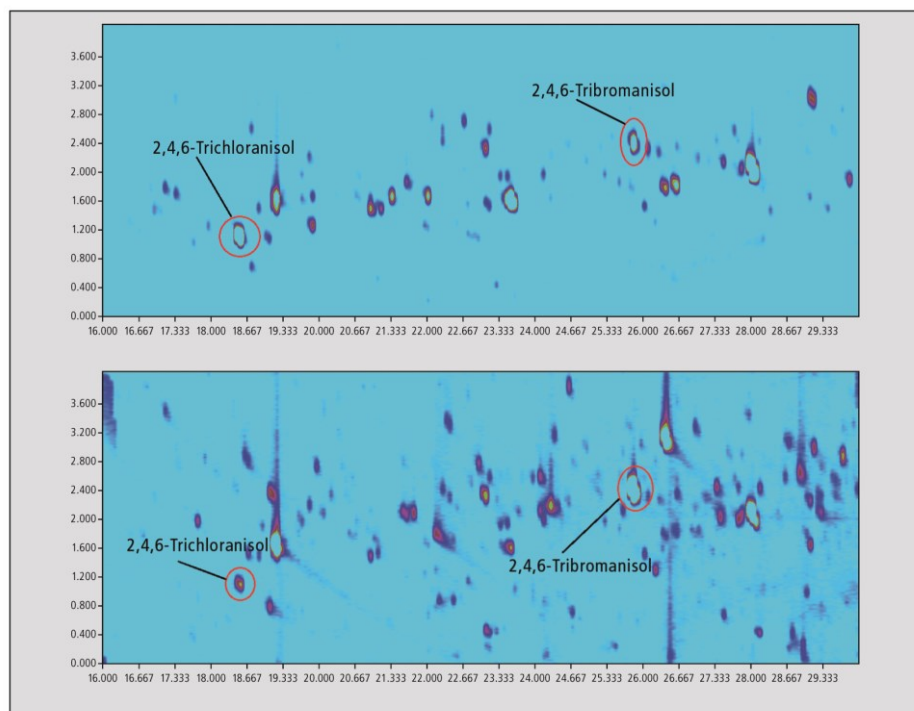


Abb. 3: (a) Mango 1 / (b) Mango 2

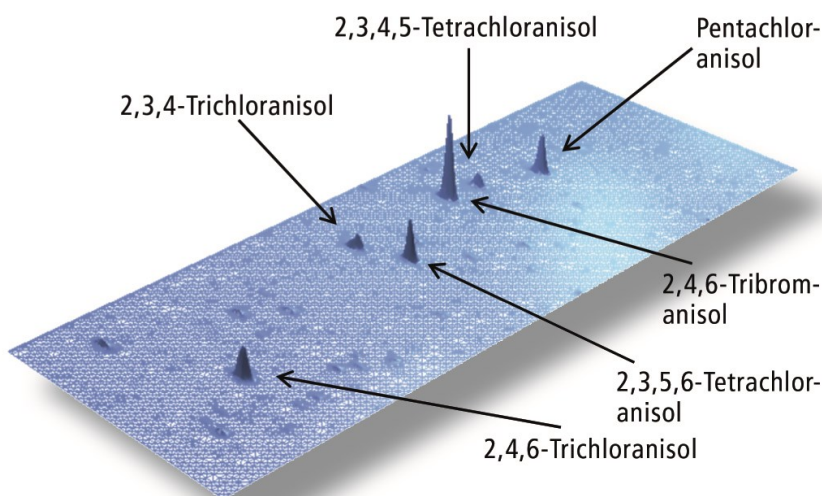


Abb. 4: Standard je 10 ng/kg, Haloanisole

2,4,6-Trichloranisol und 2,4,6-Tribromanisol handelt. Gleichzeitig ist die Technik verlässlich und einfach. Die Bestimmung der Zielsubstanzen ohne irgendeine Interferenz aus einer Matrix ist mit dieser Kombinationsmethode möglich.

Erste Ergebnisse von Proben aus der Praxis (Mango, Knoblauch und verschiedene Speisepilze), bezogen über ein Lebensmittelgeschäft, zeigten erschreckend hohe Kontaminationsgehalte. Eine gründliche Untersuchung von verschiedenen Früchten und Gemüsearten ist in Planung.

Referenzen

1. H.R. Buser, *J. Agric Food Chem.* 30, 359-362 (1982).
2. J.C. Spadone, *J. Agric. Food Chem.* 38(1), 226-233 (1990).
3. Anonymous: <http://www.knowabouthealth.com/third-tylenolrecall-by-jjs-mcneil/4075/>