

Analytik von Cumarin

Neue LC-MS/MS-Methode im LCI

In jüngster Zeit wurde von Behörden und Medien vermehrt über erhöhte Cumarinhalte in Weihnachtsgebäck und anderen Lebensmitteln berichtet. Cumarin ist ein natürlich vorkommender sekundärer Pflanzenstoff, der in vielen Gräsern, Schmetterlingsblütlern, im Waldmeister, in Datteln, in der Tonkabohne und insbesondere in bestimmten Zimtarten enthalten ist (vergleiche hierzu LCI Focus „Active Principles – Cumarin“, süsswaren Heft 4/2000 S. 8). Cumarin gilt als hepatotoxisch und verfügt im Tierversuch bei Gabe sehr hoher Mengen, die über lange Zeiträume verabreicht wurden, über eine cancerogene Wirkung. Für den Menschen gibt es jedoch keine Hinweise auf eine cumarinbedingte Tumorentstehung. In einer gesundheitlichen Neubewertung im Juni 2006 kam das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin) zu dem Schluss, dass Verbraucher, die viel Zimt verzehren, zu hohe Cumarinmengen aufnehmen. Ob der Höchstwert der Aromenverordnung von 2 mg/kg für Cumarin für zimthaltige Lebensmittel anwendbar ist, ist strittig. Dennoch bestand dringender Bedarf an einer empfindlichen Analysenmethode zur Bestimmung von Cumarin in Zimt und zimthaltigen Lebensmitteln, da üblicherweise eingesetzte Analyseverfahren, wie beispielsweise per HPLC-UV bzw. per GC-MS, zu unempfindlich bzw. zu aufwändig sind.

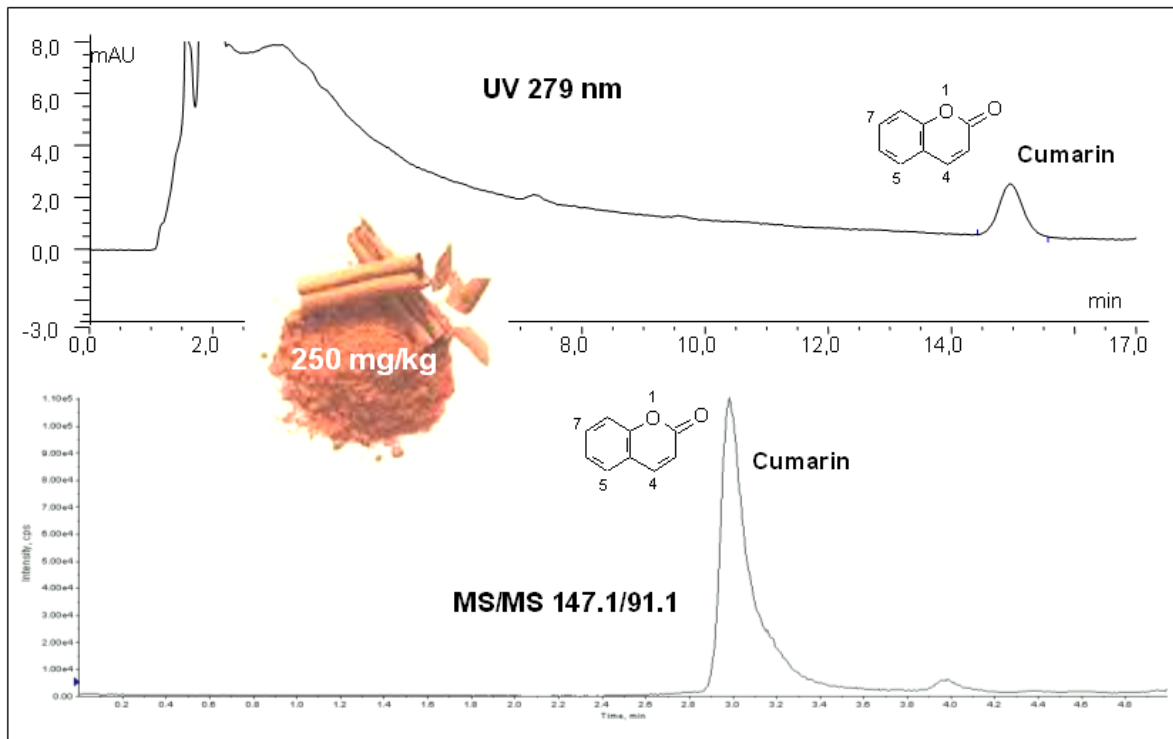
Die „alten“ Messmethoden

Ein für die Cumarinbestimmung üblicherweise angewandtes Messverfahren ist die hochleistungsflüssigchromatographische Trennung des Probenextraktes über ein Gradientenprogramm und die anschließende Quantifizierung mittels UV-Detektion bei 275 nm (HPLC-UV). Vorweg erfolgt eine Extraktion mit einer alkoholischen Lösung. Hierbei handelt es sich um ein zwar recht schnelles und einfaches, jedoch eher unselektives und vor allem unsensitives Bestimmungsverfahren. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 2, die Bestimmungsgrenze bei 5 mg/kg. Ein anderes häufig für die quantitative Bestimmung von Cumarin angewandtes Verfahren ist die gaschromatographische Trennung mit anschließender massenspektrometrischer Detektion (GC-MS). Vorweg ist hierbei eine aufwendige Soxhlet-Extraktion oder eine Wasserdampfdestillation erforderlich. Nachteilig an diesem Verfahren ist der hohe Zeitaufwand sowie die schlechte Reproduzierbarkeit.

Die neue LC-MS/MS-Methode

Die im LCI entwickelte neue LC-MS/MS-Methode basiert, ähnlich der bei der HPLC beschriebenen Aufarbeitung, auf einer alkoholischen Extraktion. Die anschließende Flüssigchromatographie erfolgt isokratisch. Das Tandem-Massenspektrometer (MS/MS) wird im positiven Messmodus betrieben; zur Identifizierung des Cumarins wird die Elektrospray-Ionisation (ESI) eingesetzt und es werden die zwei intensivsten Massenübergänge ausgewählt (MRM = Multi Reaction Monitoring). Die quantitative Bestimmung erfolgt mittels

externer Kalibrierung, da bisher kein geeigneter interner Standard zur Verfügung steht. Die von uns etablierte Methode wurde u. a. auf Wiederholbarkeit, Linearität sowie Nachweisempfindlichkeit getestet. Details zur Methodik können der unten angegebenen Publikation entnommen werden.



Fazit

Es ist uns gelungen, eine sehr sensitive, praxistaugliche LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Cumarin in Lebensmitteln zu entwickeln, die es ermöglicht, Cumarin-Gehalte im $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich selektiv und schnell zu erfassen. Die Abbildung zeigt den chromatographischen Vergleich der Analyse eines Zimtpulvers mit einem Cumarin-Gehalt von 250 mg/kg mittels UV- bzw. mittels MS/MS-Detektion. Mit der neuen Methode wurden in unserem Institut bisher ca. 500 Proben, u. a. Gewürze und Lebkuchen, untersucht. Die Methode wurde bei der Zeitschrift EUROPEAN FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY unter dem Titel „Analysis of Coumarin in Various Food Using Liquid Chromatography Mass Spectrometry“ zur Publikation eingereicht.

SÜSSWAREN (2007) Heft 3