

Flavonoidprofile in Früchten und Fruchtprodukten definierter Herkünfte

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Hans Rainer Wollseifen

aus

Düren

Bonn 2009

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Prof. Dr. R. Galensa

2. Referent: Prof. Dr. G. König

Tag der Promotion: Freitag, der 15. Januar 2010

Erscheinungsjahr: 2010

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn

http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	vii
Abstract	ix
Veröffentlichungen	xi
Danksagung	xiii
1. Einleitung.....	1
1.1 Vorkommen, Eigenschaften, Funktionen, Bestimmung und Biosynthese von Polyphenolen	1
1.2 Botanik, Bedeutung und Verarbeitung von Aprikosen	4
1.3 Authentizität und Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln	6
1.4 Herkunftsbestimmung von Lebensmitteln.....	10
2. Ergebnisse und Diskussion	13
2.1 Probenaufarbeitung.....	13
2.1.1 Manuelle Extraktion.....	13
2.1.1.1 Wahl der organischen Lösungsmittelkomponente.....	14
2.1.1.2 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch.....	15
2.1.1.3 Einfluss des Verhältnisses von Extraktionsmittelmenge zu Probengut...	17
2.1.1.4 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen.....	18
2.1.2 Beschleunigte Lösungsmittelextraktion	19
2.1.2.1 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch.....	19
2.1.2.2 Einfluss der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen	20
2.1.2.3 Einfluss der Extraktionstemperatur.....	23
2.1.3 Festphasenextraktion	24
2.1.3.1 Bestimmung der Kartuschenkapazität	24
2.1.3.2 Überprüfung der Menge des Elutionsvolumens	25
2.1.3.3 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode für Aprikosenextrakte	27
2.1.3.4 Überprüfung einer wiederholten Verwendung von Polyamidkartuschen.....	28
2.1.3.5 Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung	29

2.1.3.6	Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch	30
2.1.3.7	Überprüfung der Lagerstabilität	33
2.1.4	Optimierung der chromatographischen Trennung	36
2.1.5	Selektive Anreicherung	40
2.2	Flavonoidprofile in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	47
2.2.1	Flavonolglykoside in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	49
2.2.2	Phenolcarbonsäuren in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	50
2.2.3	Flavan-3-ole in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	51
2.2.4	Proanthocyanidine in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	51
2.3	Flavonidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	53
2.3.1	Absolute Flavonidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	53
2.3.2	Relative Flavonoglykosidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	57
2.3.3	Relative Gehalte der Phenolcarbonsäuren in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	59
2.3.4	Relative Gehalte der Proanthocyanidine und Flavan-3-ole in Aprikosenrohware	61
2.4	Peakflächenverhältnisse von Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	63
2.4.1	Überprüfung der Sortendifferenzierung mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenrohware	63
2.4.2	Überprüfung der Jahrgangskonstanz von Polyphenolpeakflächen- verhältnissen in Aprikosenrohware	68
2.4.3	Vergleich von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenkonfitüre	71
2.4.4	Mischungen von Aprikosenrohware	75
2.5	Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre	80
2.5.1	Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe des Flavonidgehaltes	80
2.5.2	Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe sortenspezifischer und jahrgangsunabhängiger Anteile aprikosenspezifischer Flavonidgehalte am Gesamtflavonidgehalt	82
2.5.3	Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe sortenspezifischer und jahrgangsunabhängiger Peakflächenverhältnisse von Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykosiden	85

2.6	Beurteilung der Authentizität mit Hilfe von Stabilisotopenanalytik in Kombination mit der Polyphenolanalytik.....	90
2.7	Vorschlag eines Prüfverfahrens für die Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüren mit Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik	92
3. Material und Methoden		99
3.1.	Chemikalien.....	99
3.1.1	Lösungsmittel	99
3.1.2	Standardverbindungen.....	101
3.1.3	Weitere Materialien.....	101
3.1.4	Festphasenmaterialien für die automatisierte Festphasenextraktion	102
3.1.5	Analytische Trennsäulen	102
3.2.	Probenmaterialien.....	104
3.2.1	Rohware	104
3.2.2	Konfitüre	105
3.3	Methoden und Geräte	106
3.3.1	Optimierung der manuellen Extraktion.....	106
3.3.1.1	Bestimmung der organischen Lösungsmittelkomponente	106
3.3.1.2	Bestimmung des Methanolanteils im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser für Konfitüre.....	106
3.3.1.3	Bestimmung des Methanolanteils im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser für Aprikosenrohware.....	107
3.3.1.4	Bestimmung des optimalen Verhältnisses von Konfitüre zu Extraktionsmittelmenge im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser (v+v ; 50+50).....	107
3.3.1.5	Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen für die Extraktion von Aprikosenkonfitüre	107
3.3.1.6	Optimale manuelle Extraktion	108
3.3.1.7	Bedingungen der Zentrifugation im Rahmen der manuellen Extraktion.....	108
3.3.1.8	Einstellungen des Rotationsverdampfers im Rahmen der manuellen Extraktion.....	109
3.3.2	Automatisierte Extraktion	109

3.3.2.1	Optimierung der Extraktion unter Anwendung der beschleunigten Lösungsmittlextraktion für Aprikosenkonfitüre und Aprikosenrohware	109
3.3.2.2	Füllen der Edelstahlzellen	110
3.3.2.3	Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch.....	110
3.3.2.4	Einfluss der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen	111
3.3.2.5	Einfluss der Extraktionstemperatur	112
3.3.2.6	ASE-Einstellungen der optimierten Extraktionsmethode.....	113
3.4	Automatisierte Festphasenextraktion	114
3.4.1	Bestimmung der Kartuschenkapazität	114
3.4.2	Überprüfung der Menge des Elutionsvolumens	114
3.4.3	Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode für Aprikosenextrakte	115
3.4.4	Überprüfung einer wiederholten Verwendung von Polyamidkartuschen.....	115
3.4.5	Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung	115
3.4.6	Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch	116
3.4.7	Überprüfung der Lagerstabilität der Festphasenextraktionseluat.....	116
3.4.8	Optimierte Festphasenextraktionsbedingungen von Polyphenolen auf Polyamid	117
3.4.9	Optimierte Festphasenextraktionsbedingungen zur Trennung der Phenolcarbonsäuren von den Flavonolglykosiden auf C 18 Hydra.....	118
3.5	Hochleistungsflüssigchromatographie	119
3.5.1	HPLC für HPLC-UV-DAD-Messungen und semipräparative Isolierung	119
3.5.2	HPLC für HPLC-UV-DAD-MS ⁿ -Messungen	119
3.5.3	Gradientenprogramme	120
3.5.4	Weitere Parameter der chromatographischen Trennung für HPLC-UV-DAD-MS ⁿ -Messungen	122
3.5.5	Gradientenprogramme für den Test der polar modifizierten HPLC-Phasen im Rahmen des Säulentests.....	122
3.6	Quantifizierung.....	124
3.6.1	Kalibrationsgeraden	124
3.6.2	Nachweis-, Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze.....	127
3.7	Massenspektrometrie.....	128
3.8	Selektive Anreicherung und semipräparative Isolierung von Rutin	129

Anhang A – Abbildungen zur Optimierung der chromatographischen Trennung	131
Anhang B - Identifizierung	136
Anhang C – Massenspektren zur Identifizierung	141
Anhang D - Quantifizierung	169
Aprikosenrohware	169
Aprikosenkonfitüre.....	172
Anhang E – Abbildungen von Peakflächenverhältnissen phenolischer Inhaltsstoffe in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre	175
Abkürzungen und Konventionen.....	209
Angabe der Peakflächenverhältnisse.....	211
Angabe der Proanthocyanidine	213
Abbildungsverzeichnis	215
Tabellenverzeichnis	221
Literaturverzeichnis	223

Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Flavonoidprofile von Früchten und Fruchtprodukten definierter Herkunft, am Beispiel der Aprikose und Aprikosenkonfitüre bestimmt, sowie die Leistungsfähigkeit der Polyphenolanalytik in Kombination mit der Stabilsisotopenanalytik im Hinblick auf eine Authentizitätsprüfung untersucht. Zusammenfassend wurde ein Prüfschema für die Gewährleistung der Authentizität von Früchten und Fruchtprodukten vorgestellt und die Ermittlung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes diskutiert.

Für die Bestimmung von Flavonoidprofilen in Aprikosen und Aprikosenkonfitüre wurden möglichst schonende Analysenmethoden entwickelt, die ein Extraktionsverfahren mit und ohne Einsatz der beschleunigten Lösungsmittelextraktion, eine automatisierte Festphasenextraktion, eine Hochleistungsflüssigchromatographie mit Ultraviolett-Diodenarraydetektion und Massenspektrometrie beinhalten. Dabei wurden bestehende Verfahren für die Analyse von Flavonoiden im Brauprozess modifiziert und auf die veränderte Probenmatrix abgestimmt. Wesentliche Verbesserungen konnten bei der Festphasenextraktion durch die Kombination von Säureadditiven im Elutionsmittel erreicht werden. Die Kombination von Ameisensäure und Trifluoressigsäure als Säurezusatz führte zu einer optimalen Elution und Aufkonzentrierung der Analyten im Festphasenextraktionseluat und damit zu einer deutlichen Reduzierung der Probenmenge. Die Aufarbeitung von nur 2 g Frucht oder Konfitüre ermöglichte die Automatisierung der Extraktion.

Zusätzlich führten der Test verschiedener polar modifizierter RP-18-Phasen und eine anschließende Optimierung des Gradienten zu einer deutlichen Verbesserung der chromatographischen Trennung. Mit Hilfe optimierter chromatographischer Bedingungen konnte die für die exakte Bildung von spezifischen Polyphenolpeakflächenverhältnissen erforderliche Basislinientrennung für die meisten enthaltenen phenolischen Substanzgruppen erzielt werden. Dadurch konnten beinahe die maximale Anzahl an Polyphenolpeakflächenverhältnissen als potentielle Differenzierungsparameter für die Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre ermittelt werden.

Zusätzlich wurden Anreicherungsstrategien für eine schonende Isolierung von Quercetinrutinosid aus Aprikosen verschiedener Herkünfte vorgestellt und verglichen. Die analytischen Verfahren der Festphasenextraktion und semipräparativer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurden erfolgreich für die Isolierung von Rutin für Stabilsisotopenmessungen angewandt.

Die optimierte Probenaufarbeitung wurde anschließend für die Untersuchung von authentischem Probenmaterial, bestehend aus Aprikosen bekannter Herkunft und Sorte sowie Aprikosenkonfitüren bekannter Zusammensetzung eingesetzt. Im Flavonoidprofil der Aprikosensorte *Canino* konnten 40 phenolische Verbindungen aus den Gruppen der Phenolcarbonsäuren, der Proanthocyanidine, der Flavan-3-ole und der Flavonolglykoside identifiziert werden. Das Flavonoidprofil der Sorte *Canino* umfasste wesentlich mehr phenolische Inhaltsstoffe, so dass eine eindeutige Differenzierung der Sorten *Canino* und *Golden Bulida* erzielt wurde. Ebenso konnte eine Schälung von Aprikosenrohwaren eindeutig anhand des Flavonoidprofils nachgewiesen werden. Durch die Schälung wurden die in der Schale vorhandenen Flavonolglykoside entfernt und waren nur als Spuren nachweisbar. Die Quantifizierung der phenolischen Inhaltsstoffe von Aprikosenrohwaren und daraus hergestellten Aprikosenkonfitüren zeigte, dass die Gehalte von Phenolcarbonsäuren sowie Flavonolglykosiden durch das Kochverfahren der Konfitürenherstellung kaum beeinflusst wurden und dass diese Substanzen daher in Verbindung mit den Polyphenolpeakflächenverhältnissen für die Bestimmung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes herangezogen werden konnten.

Die Analyse der Polyphenolpeakflächenverhältnisse bestätigte die Vermutung, dass die Peakflächenverhältnisse jahrgangsunabhängig und sortenspezifisch waren. Aufgrund vieler unterschiedlicher Polyphenolpeakflächenverhältnisse konnten Mischungen von Rohwaren erkannt sowie die enthaltenen Mischungsanteile der Sorten quantifiziert werden. Ebenfalls wurde erfolgreich das Mischungsverhältnis einer Aprikosenkonfitüre bekannter Fruchtrezeptur belegt und der produktspezifische Fruchtgehalt überprüft.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Herkunft von Aprikosen und Aprikosenkonfitüren mit Stabilisotopenmessungen des Wassers und Stoffen des Primärstoffwechsels unterschieden. Stabilisotopenmessungen von aus Aprikosen isoliertem Quercetinrutinosid bestätigten die Ergebnisse der Herkunftsdifferenzierung.

Die Untersuchungsergebnisse führten zu einem Prüfverfahren, dass die Authentizität von Früchten und Fruchtprodukten mit der Polyphenolanalytik, mit der Stabilisotopenanalytik und mit der Kombination beider Verfahren gewährleistet.

Abstract

In this work, flavonoid profiles of fruit and fruit products (i.e. apricots and apricot jam) of known regional provenience were determined. A combination of HPLC-MS polyphenol analysis with the determination of stable isotope ratios was illustrated to be efficient for proving the authenticity of food. At the end of this work, an authenticity control plan for the investigation of fruit and fruit products is presented and a method for the calculation of the contribution to specific fruit content is discussed.

A gentle and automated methodology for the investigation of phenolic profiles in apricots and apricot jams was developed, composed of an extraction process (using either the accelerated solvent extraction or non automatised extraction processes), followed by a solid phase extraction, high performance liquid chromatography, ultraviolet diode array detection, and mass spectrometry. Established analytical methods for the investigation of flavonoids in brewing process were modified and adjusted to new sample matrix. Significant improvement was achieved in solid phase extraction by adding formic acid and trifluoroacetic acid to the dimethyl sulfoxide eluent. This modification of acid additives lead to optimised desorption and to higher concentration in the eluates. Thus, a reduction of the sample amount down to 2 gram of fruit or jam is possible which allows for using accelerated solvent extraction.

A comparison of several modified C-18 columns followed an optimisation of the chromatographic conditions resulted in significant improvement in determination of flavonoid profiles. Chromatographic baseline separation of relevant phenolic substances was achieved by optimisation of chromatographic conditions and specific peak ratios could so be calculated. Therefore, the analytical conditions were established so that nearly the maximum number of peak ratios for proving food authenticity in apricot fruits and jams could be determined.

Analytical strategies for enrichment and for gentle isolation of quercetinrutinoside of apricot fruits of different proveniences are also illustrated and compared. By employing solid phase extraction and semipreparative high performance liquid chromatography, adequate substance amounts required for determination of stable isotope ratios of the secondary metabolites were successfully isolated.

The flavonoid profiles of authentic apricot fruit and processed sample materials of known regional provenience were determined and analytical results for proving fruit authenticity were evaluated. In the flavonoid profile of the apricot variety *Canino*, 40 phenolic compounds were identified belonging to different phenolic classes like phenolic acids, proanthocyanidines, flavan-3-ols and flavonolglycosides. The flavonoid profile of the apricot species *Golden Bulida*

contained a lower number of phenolic compounds, so that differentiation of apricot variety was clearly possible.

Certain flavonolglycosides are located in the apricot peel, but not in the fruit. Absence of these compounds in fruit products indicates the use of peeled apricots.

The results of quantification of phenolic compounds in apricot fruit and processed apricot jams showed that the amounts of phenolic acids and flavonolglycosides were not influenced by steps in the production of jam and are therefore suitable in combination with phenolic peak ratios to prove product-specific fruit content. The relative contents of certain phenolic substance classes were specific to plant species and independent from growing year.

Phenolic peak ratios were calculated with baseline separated chromatographic signals. The peak ratios were also independent from growing year. Differentiation of plant species was achieved by many different phenolic peak ratios, so that blends of the apricots varieties *Canino* and *Golden Bulida* were detected and the relative composition of an apricot mixture could be calculated. Additionally, the fruit composition and content in an industrially produced apricot jam were successfully verified. In this work the determination of stable isotope ratios of water and of primary metabolites in plants and of quercetinrutinoside isolated of apricot fruit was investigated to prove plant origin.

Based on the investigation results, an authenticity control plan was developed to determine the authenticity of fruit and processed fruit products by examination of phenolic analysis and by determination of stable isotope ratios and in combination of both methodologies. The control plan consists of different investigation steps, which are the determination of flavonoid profiles, quantification of flavonoids, calculation of phenolic peak ratios, determination of stable isotopes of water and primary metabolites and determination of stable isotopes of isolated phenolic fruit compounds.

Veröffentlichungen

Vorträge

WOLLSEIFEN HR, BONER M, SPRENGER C, FÖRSTEL H, GALENSA R **2006**
Herkunftsbestimmung von Aprikosen mit Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik
Lebensmittelchemie 5 128-129

WOLLSEIFEN HR, STRATMANN A, SPRENGER C, GALENSA R *Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre mit Polyphenolanalytik* **Regionaltagung Bonn 2009**

Poster

WOLLSEIFEN HR, BONER M, STRATMANN A, SPRENGER C, FÖRSTEL H, GALENSA R **2007**
Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre in Kombination von Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik **Lebensmittelchemie 4 99-100**

WOLLSEIFEN HR, SPRENGER C, GALENSA R **2007** *Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre mit Polyphenolanalytik – Vergleich stationärer Phasen in Bezug auf die Anzahl der Analytverhältnisse* **Lebensmittelchemie 5 116**

WOLLSEIFEN HR, STRATMANN A, SPRENGER C, GALENSA R **2009** *Polyphenolanalytik von Früchten und Fruchtprodukten als Beitrag zur Lebensmittelsicherheit und Rückverfolgbarkeit* **Lebensmittelchemie 3 65-66**

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von März 2004 bis November 2009 am Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften (IEL), Bereich Lebensmittelchemie der Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Galensa durchgeführt. Herrn Professor Dr. Galensa danke ich herzlich für die stets hervorragende Betreuung. Für die gewährte vertrauensvolle Unterstützung, das große Interesse und seine Gesprächsbereitschaft bin ich ihm sehr dankbar.

Frau Professor Dr. König danke ich für ihr Interesse an dieser Arbeit und die Bereitschaft zur Übernahme des Zweitgutachtens.

Frau Privatdozentin Dr. van Echten-Deckert und Herrn Privatdozent Dr. Marx danke ich für ihre Bereitschaft, als Mitglieder der Promotionskommission zur Verfügung zu stehen.

Ich danke der Faethe Labor GmbH, besonders Herrn Dr. Sprenger für die Bereitstellung des Probenmaterials und das große Interesse an dieser Arbeit.

Ich danke der agroisolab GmbH, ganz besonders Herrn Professor Dr. Förstel und Herrn Dr. Boner, für die Durchführung der Stabilisotopenmessungen im Rahmen dieser Arbeit.

Ich danke Frau Kinitz und ganz besonders Herrn Dr. Papagiannopoulos für die Aufnahme in das LCMS-Team, die Hilfestellungen und praktischen Tipps sowie für das stets freundliche Arbeitsklima.

Frau Stratmann danke ich für ihre Hilfe und tatkräftige Unterstützung bei den praktischen Arbeiten im Rahmen der vielen Untersuchungen zur Probenaufarbeitung.

Ich danke Frau Theisen für die gute Zusammenarbeit und das freundschaftliche und vertrauensvolle Miteinander in den letzten Jahren.

Ich bedanke mich bei allen meinen jetzigen und ehemaligen Kollegen, die mich während der Arbeit unterstützt haben, für die gute Zusammenarbeit und die freundliche Atmosphäre im Arbeitskreis.

1. Einleitung

1.1 Vorkommen, Eigenschaften, Funktionen, Bestimmung und Biosynthese von Polyphenolen

Polyphenole sind Verbindungen des Sekundärstoffwechsels von Pflanzen und weisen als strukturelle Gemeinsamkeit aromatische Ringsysteme sowie die namensgebenden phenolischen Hydroxylgruppen im Molekül auf. Bedingt durch ihr chemisches Verhalten und die damit einhergehende Reaktivität gibt es eine fast unüberschaubare Anzahl von Verbindungen dieser Substanzklasse. Sie gehen Reaktionen untereinander oder auch zu anderen Stoffklassen des Primärstoffwechsels wie Zuckern und organischen Säuren ein. Einen Überblick der phenolischen Pflanzeninhaltsstoffe geben die Werke von Harborne [1, 2, 3]. Als wesentliche Untergruppen seien exemplarisch die Flavanone, die Flavone, die Leukoanthocyanidine, die Isoflavone, die Flavanole und die Flavonole genannt, die bei der Biosynthese dieser Stoffe näher beschrieben werden [1, 2, 3].

Als sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe sind sie im Pflanzenreich und damit auch in der Nahrung des Menschen weit verbreitet [1, 2, 3]. In deutlich höheren Gehalten sind sie in Tee, Kakao und Kaffee anzutreffen [4, 5, 6, 7]. Polyphenolen werden unterschiedliche Funktionen in der Pflanze zugeschrieben. Neben Farbe, Duft und Aroma sind auch Schutzfunktionen gegen Umwelteinflüsse wie UV-Licht, Ozon, Pestizide, Schädlinge oder Krankheitserreger bekannt. Ebenfalls zeigen Polyphenole auch östrogene Wirkungen und beeinflussen Enzymsysteme [8, 9, 10, 11].

Aufgrund ihrer antioxidativen Wirkung sind Polyphenole bzw. polyphenolreiche Lebensmittel in den Fokus von Lebensmittelherstellern und Verbrauchern gerückt. Durch ihren Verzehr möchte man vom breiten Wirkungsspektrum dieser Stoffgruppe für die menschliche Gesundheit profitieren, hervorzuheben ist sicherlich die postulierte antikanzerogene Wirkung. Die antioxidative Wirkung dieser Verbindungen ist vielfach belegt [12, 13, 14]. Ebenso wurden zahlreiche Bioverfügbarkeitsstudien hinsichtlich der Aufnahme und Wirkung nach Verzehr von polyphenolreichen Lebensmittelmitteln wie Tee, Kakao und Wein beschrieben [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21].

Die chemisch-physikalischen Eigenschaften müssen vielfach bei der Herstellung und Verarbeitung von Lebensmitteln berücksichtigt werden, da es ansonsten zu unerwünschten nachteiligen Veränderungen wie Fehlparfums, Farbverlusten, Bräunungsreaktionen, Trübungen

usw. kommen kann, die nicht nur die Haltbarkeit herabsetzen, sondern auch ein Inverkehrbringen der Erzeugnisse verhindern können.

Die Untersuchung von polyphenolhaltigen Lebensmitteln ist auf den Analysenzweck ausgerichtet. Werden Gesamtgehalte benötigt, so werden unspezifische Verfahren eingesetzt, bei denen Summenparameter Auskunft über den Gesamtpolyphenolgehalt geben. Diese Untersuchungsverfahren bedienen sich meist der zuvor angesprochenen Eigenschaften und beruhen auf gravimetrischen, iodometrischen, oxidometrischen und photometrischen Bestimmungsmethoden. Heutzutage ist der Folin-Ciocalteu-Assay am weitesten verbreitet. Die Bestimmungsmethoden der antioxidativen Kapazität durch TEAC oder TOSC erfassen ebenso nur summarisch die antioxidativen Eigenschaften der enthaltenen Polyphenole. Deutlich höherer analytischer Aufwand ist für die Identifizierung und Quantifizierung von Einzelsubstanzen, bzw. für die Ermittlung von Flavonoidmustern und –gehaltsprofilen aufzubringen. Üblicherweise werden chromatographische Verfahren verschiedenster Art, wie HPLC, UPLC und GC mit anschließender Diodenarray- und/oder massenspektrometrischer Detektion eingesetzt. Zusätzlich bedarf es vorab noch substanzgruppen- und matrixspezifischer Probenaufbereitungsverfahren zur Aufkonzentrierung von Analyten und zur Abtrennung von störenden Matrixbestandteilen.

Die Biosynthese der Polyphenole geht auf Ausgangsverbindungen des Kohlenhydratstoffwechsels zurück. Die einzelnen Bildungsschritte über Shikimisäure, Phenylalanin und Zimtsäure zu 4-Cumarsäure werden in Abbildung 1.1-1 vereinfacht dargestellt. Diesen Bildungsschritten liegen enzymatische Reaktionen von Phenylalanin-Ammonium-Lyase, Zimtsäure-4-Hydroxylyase und von 4-Cumarat:CoA-Ligase zugrunde. In aktivierter Form reagiert 4-Cumarsäure mit drei Malonyl-CoA-Einheiten zu Tetrahydroxychalkon. Diese Verbindung verfügt bereits über das typische C6-C3-C6-Grundgerüst der Flavonoide und kann anschließend zu Flavanonen, in der Abbildung stellvertretend als Naringenin dargestellt, unter Einwirkung der Chalkonisomerase cyclisieren. Ausgehend von dieser zentralen Verbindungsgruppe werden alle weiteren Verbindungsgruppen aufgrund weiterer spezifischer enzymatischer Reaktionen gebildet. Bei den Flavonen ist die Flavonsynthase, den Isoflavonen die 2-Hydroxyisoflavon-Synthase, den Dihydroflavonolen die (2S)-Flavon-3-Hydroxylase, den Flavonolen die Flavonol-Synthase, den Dihydroflavonolen die Dihydroflavonol-4-Reduktase und den Flavan-3-olen die Flavan-3,4-*cis*-diol-4-Reduktase beteiligt. Da den beschriebenen Bildungsschritten enzymatische Reaktionen zugrunde liegen, bestimmt das genetisch determinierte Enzymprofil der Pflanze das Flavonoidmuster sowie die relativen Anteile der gebildeten Substanzen zueinander und ermöglicht daher in vielen Fällen eine Sortendifferenzierung. Zusätzlich haben regionalklimatische Faktoren Einfluss auf die

Polyphenolbiosynthese, so dass bei ausreichend unterschiedlichen Wachstumsbedingungen der Pflanze auch Herkunftsinformationen im Flavonoidverhältnisprofil enthalten sind.

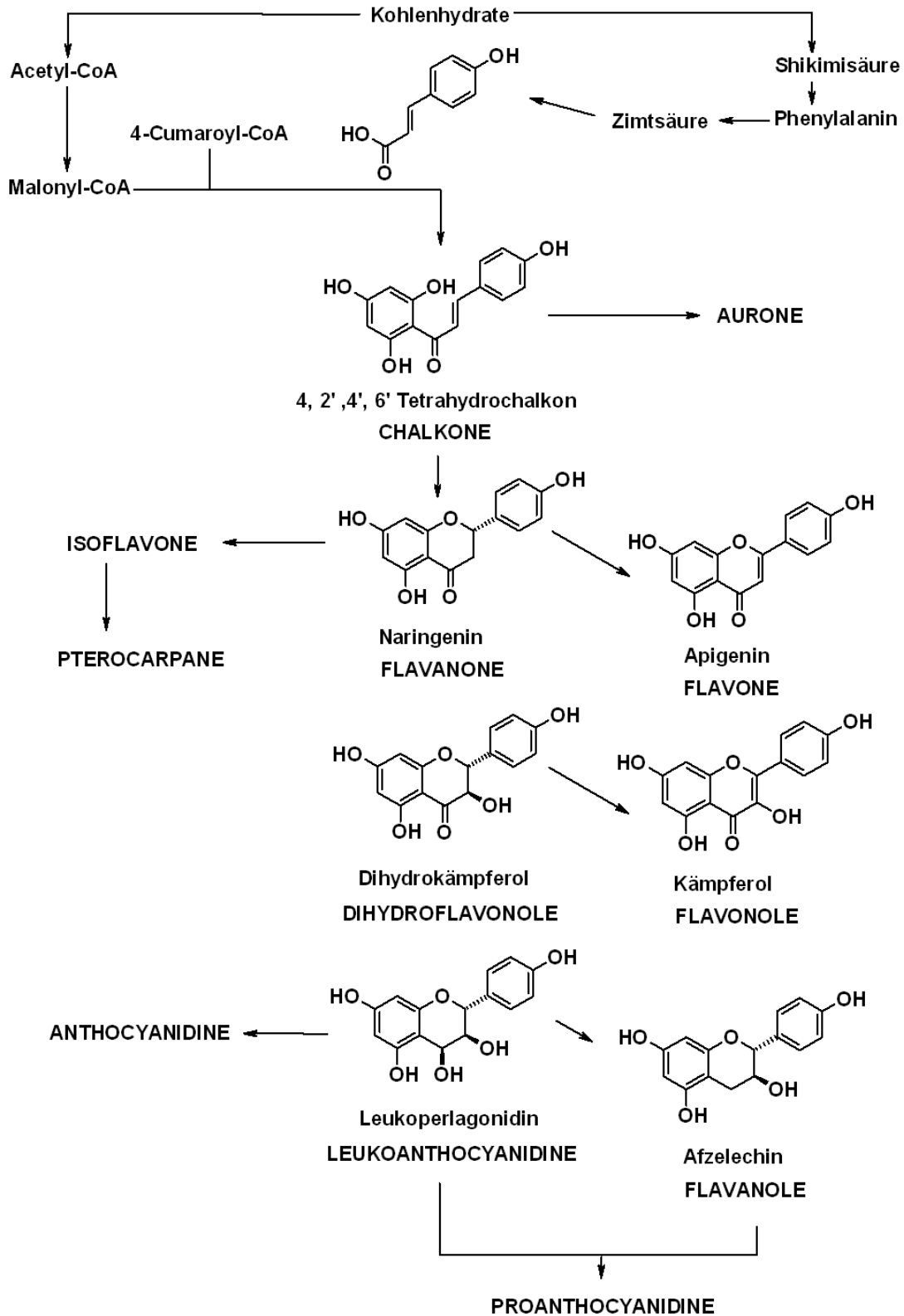


Abbildung 1.1-1: Polyphenolbiosynthese nach [1]

1.2 Botanik, Bedeutung und Verarbeitung von Aprikosen

Die Aprikose (botanisch: *Prunus armenica* L.) gehört zur Pflanzenfamilie der Rosaceae. Aprikosen sind im deutschsprachigen Raum, vor allem in Österreich, auch unter der Bezeichnung Marillen bekannt. Im deutschsprachigen Raum sind Anbaugebiete in Österreich, am Rhein und in Süddeutschland gelegen. Weltweit wird die Aprikose hauptsächlich in Spanien, Italien, Frankreich, Israel, Kalifornien und Griechenland angebaut. Daneben spielen noch weitere Anbauländer wie Pakistan, Iran, Ukraine, Marokko, China, Syrien, Libanon, USA und Südafrika eine nennenswerte Rolle. Als botanisches Ursprungsgebiet der Aprikose gelten der Norden Chinas und angrenzende Gebiete zum Iran, zur Sowjetunion und zur Türkei. In diesen Gegenden wird ihr Anbau schon seit fast 4000 Jahren praktiziert.

Der Aprikosenbaum gedeiht auf warmen, durchlässigen Böden, sandigen Lehmen, Löß und auf sandigen und steinigen Böden mit lehmigem Untergrund. Dabei sind die Wildformen anspruchsloser als die Kultursorten, deren Anbau bevorzugt an Südhängen und Weinbergslagen erfolgt. Der Baum benötigt intensive Sonne, verträgt trockene Hitze und ist nicht windempfindlich. Die Winterperiode übersteht er ohne Probleme. Dagegen wirken sich Kälterückschläge, Spätfröste sowie hohe Unterschiede zwischen Tages- und Nachttemperatur sehr ungünstig auf die Blüten und jungen Früchte der als sehr früh blühend unter den Kern- und Steinobstarten bezeichneten Aprikose aus. Nachteiligen Einfluss haben häufige Regenfälle auf Blüte und Frucht, die zum Ende der Reife Kältewettereinbrüchen nicht ausgesetzt sein sollte.

Die Weltjahresproduktion liegt bei über 2 Mio. t. Die Sortenwahl für den Anbau ist meist auf die Region abgestimmt, so dass oft Lokalsorten wie *Begeron*, *Heidesheimer Frühe*, *Königsaprikose*, *Mombacher Frühe*, *Tempoao de Villa*, *Franca*, *Wahre Große Frühaprikose* und viele andere lokal anzutreffen sind. Daneben sind auch *Marena* und *Ungarische Beste* als Sorten verbreitet.

Neben dem Verzehr als Frischobst werden Aprikosen zu Kompott, Konserven, Konfitüre, Branntwein, Dörrobst usw. weiterverarbeitet. Speziell für die Konfitürenproduktion nehmen die Sorten *Canino* und *Golden Bulida* aufgrund ihres Geschmacks und der Textur eine führende Rolle ein. Sie werden nicht als Frischware wie Tafelobst, sondern als eingekochte Rohwaren kommerziell gehandelt. Der Erntezeitpunkt der Aprikose wird durch die klimakterische Atmungssteigerung nach der Ernte stark beeinflusst [22, 23]. Die Früchte verbleiben daher nicht bis zur Vollreife an der Pflanze, sondern werden je nach Verwendungszweck pflückreif geerntet.

Bei der Konfitürenherstellung wird das Kochverfahren im offenen Kessel nur noch in wenigen kleineren Herstellerbetrieben angewandt. Stattdessen hat sich ein Kochverfahren in Vakuumkochkesseln etabliert. Vorteilhaft bei diesem Verfahren sind die niedrigeren Temperaturen und die kurzen Kochzeiten, so dass die Temperaturbelastung möglichst gering bleibt und ein schonend zubereitetes Endprodukt erhalten wird. Dies spiegelt sich in Aussehen, Farbe, Aroma und dem Gehalt an Wert gebenden Inhaltsstoffen wieder. Durch die geringeren Kochzeiten wird das Herstellungsverfahren aufgrund des damit einhergehenden geringeren Energiebedarfs ebenfalls verbessert. Bei der Herstellung werden meist vorgewärmte Frucht-Zucker-Mischungen zuerst eingedampft. Anschließend setzt man vorbereitete Lösungen von langsam bis mittelschnell gelierenden Pektinen zu und reduziert den Wassergehalt bis der gewünschte Trockensubstanzgehalt erreicht ist. Vor der Abfüllung wird der Kessel belüftet und der Säuregehalt eingestellt. Bei der Belüftung des Kessels steigt die Temperatur der Konfitürenmasse kurzfristig bis auf 80-85° C an, um eine keimfreie Abfüllung zu gewährleisten. Zuletzt wird das noch heiße Kochgut meist in Gläser abgefüllt, wobei ebenso Maßnahmen für eine verbesserte Haltbarkeit wie UV-Bestrahlung der Leergläser und Kopfraumbedampfung ergriffen werden. Eine schnelle Kühlung der Konfitüre verhindert anschließend Verfärbungen des Füllgutes sowie Karamellisation im Enderzeugnis.

1.3 Authentizität und Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln

Lebensmittelsicherheit umfasst unter anderem die Gewährleistung der gesetzlich vorgeschriebenen Rückverfolgbarkeit in der Lebensmittelproduktion. Nach Artikel 3 Nr. 15 der Lebensmittelrahmenverordnung 178/2002 wird der Begriff Rückverfolgbarkeit wie folgt definiert: „Rückverfolgbarkeit“ ist die Möglichkeit, ein Lebensmittel oder Futtermittel, ein der Lebensmittelgewinnung dienendes Tier oder einen Stoff, der dazu bestimmt ist oder von dem erwartet werden kann, dass er in einem Lebensmittel oder Futtermittel verarbeitet wird, durch alle Produktions-, Verarbeitungs- und Vertriebsstufen zu verfolgen.“ Die Verpflichtung der Herstellungsbetriebe ergibt sich nach Artikel 17 der Lebensmittelrahmenverordnung. Dieser sieht eine ausführliche Dokumentation der Warenflüsse in den und aus dem Herstellungsbetrieb vor, die jederzeit der Lebensmittelkontrolle zur Einsicht zur Verfügung stehen muss. Die Betriebe richten hierzu Warenwirtschaftssysteme im Rahmen eines Qualitätsmanagementsystems ein, um den gesetzlichen Vorgaben zu entsprechen. Der Erfolg derartiger Systeme beruht jedoch ebenfalls auf Kontrollmöglichkeiten, die eine eindeutige Authentizitäts- und Herkunftsbestimmung des Wareneingangs, meist international gehandelte Rohwaren, ermöglichen. Die Überprüfung der dokumentierten Herkunft und Authentizität erfolgt stets bevor die Rohwaren in die Produktion und Weiterverarbeitung einfließen. Die Polyphenolanalytik bietet neben oder in Kombination mit der Stabilisotopenanalytik diverse analytische Untersuchungsverfahren zur Kontrolle von Authentizität und Herkunft [24, 25, 26, 27, 28, 29].

Ebenso gilt es im Rahmen des Verbraucherschutzes, produktspezifische Vorgaben einzuhalten, so dass Lebensmittel hinsichtlich Verfälschungen und wertbestimmender Parameter überprüft werden müssen. Die europäische lebensmittelrechtliche Grundlage stellt Artikel 8 der Lebensmittelrahmenverordnung dar. Demnach müssen Praktiken des Betruges oder der Täuschung, der Verfälschungen von Lebensmitteln und alle sonstigen Praktiken, die den Verbraucher irreführen können, verhindert werden. National wird diese Forderung in § 11 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches umgesetzt.

Die lebensmittelrechtlichen Vorgaben für eines der wichtigsten Verarbeitungserzeugnisse von Früchten, die Konfitüren, werden in der Konfitürenverordnung zusammengefasst [30]. Auch diese beruht wiederum auf europäischem Lebensmittelrecht, der EG-Fruchtaufstrich-Richtlinie 113/2001. Der Verordnungstext der Konfitürenverordnung sieht die produktspezifischen Kennzeichnungsvorschriften, wie beispielsweise die Angabe des Fruchtgehaltes vor, und beschreibt Verstöße gegen die Verkehrsfähigkeit von Produkten ihres Anwendungsbereiches.

Ebenfalls werden Zutaten definiert und Herstellungsanforderungen für Konfitüren, Gelees und Marmeladen beschrieben. Im Fall von Konfitüre gibt es zwei Erzeugnisse, die Konfitüre extra und die Konfitüre, die sich in ihrem Fruchtgehalt unterscheiden. Für die Herstellung von einem Kilogramm Aprikosenkonfitüre extra beträgt die eingesetzte Menge Fruchtpülpe oder Fruchtmarm 450 Gramm, bei der Aprikosenkonfitüre sind es 100 Gramm weniger. Der Fruchtanteil wird in Form von Fruchtpülpe oder Fruchtmarm angegeben. Dabei handelt es sich um den genießbaren Teil der ganzen, soweit erforderlich geschälten oder entkernten Frucht, auch in Stücke geteilt oder zerdrückt. Bei Fruchtmarm wurde die Pülpe zusätzlich passiert oder durch ein anderes Verfahren zu Marm weiterverarbeitet. Laut Ziffl/Rathke dürfen der Frucht keine wesentlichen Bestandteile entzogen sein. Eine Verwendung von Nachpressen und ganz oder teilweise entsafteten Früchten wird daher ausgeschlossen [31]. Eine einheitliche Vorgabe, ob die Schälung einer Frucht erforderlich ist oder nicht, besteht nicht. Bei Früchten wie Äpfeln und Pfirsichen sei die Schale kein wesentlicher Bestandteil und kann daher vor der Verarbeitung entfernt werden [31]. Zudem müssen die verwendeten Früchte einwandfrei sein. Untersagt sind Fäulnis, Schimmel oder sonstige Verunreinigungen. Eine eindeutige Definition des Reifegrades der eingesetzten Früchte liegt ebenfalls nicht vor. Die Früchte müssen sich in einem geeigneten Reifezustand befinden. Dies besagt nicht, dass nur reife Früchte verwendet werden dürfen. Die Verarbeitung von unreifen oder halbreifen Früchten wäre nach Ziffl/Rathke ebenfalls zulässig, solange dem fertigen Erzeugnis die charakteristischen Eigenschaften der verwendeten Frucht gegeben werden. Derartige Freiräume erschweren die eindeutige Bestimmung des Fruchtgehaltes.

Laut Amtlicher Sammlung, §64 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches, werden Untersuchungsverfahren für die Beurteilung von Lebensmitteln vorgeschrieben. Für Konfitüren, Gelees, Marmeladen und Fruchtzubereitungen wird lediglich der Gehalt an löslichem Trockenstoff nach der Refraktometermethode als Untersuchungsmethode genannt. Allgemein anerkannte Methoden zur Bestimmung des Fruchtgehaltes werden nicht aufgeführt. Daher müssen der Fruchtgehalt sowie dessen Verfälschung nach speziellen analytischen Verfahren bestimmt werden.

In der Lebensmittelanalytik sind Verfahren zur Bestimmung des Fruchtgehaltes bekannt, die meist für Fruchtsäfte und fruchtsafthaltige Getränke entwickelt wurden. Sie beruhen auf Vergleichsberechnungen mit empirisch ermittelten Schwankungsbreiten von festgelegten Kennzahlen, die nach genau definierten analytischen Methoden bestimmt wurden. Die bekannteste Zusammenstellung derartiger Vergleichskennzahlen sind die RSK-Werte des Verbandes der deutschen Fruchtsaftindustrie [32]. Sie sind frucht- und zum Teil sortenspezifisch,

aber auch von weiteren Einflüssen wie Standort, Düngung und Kulturmaßnahmen beeinflussbar. Zusätzlich müssen verarbeitungsbedingte technologische Einflüsse berücksichtigt werden. Grundsätzlich sind daher die Schwankungsbreiten groß.

Auf europäischer Ebene existiert eine vergleichbare Zusammenstellung derartiger Kennzahlen, die Reference Guideline for Fruit Juices [33]. Die Reference Guideline der European Fruit Juice Association enthält verschiedene Parameter, die, unterschiedlich in Sektoren eingeteilt, zu werten sind. Einerseits gibt sie unter Sektor A Werte zur Bewertung der Qualität von Saft und Püree der Frucht an. Die Werte sind als absolute Mindest- und Höchstwerte zu betrachten. Zusätzlich gibt die Guideline in Sektor B Kriterien für die Bewertung von Authentizität sowie einige Qualitätskriterien an, die weniger Absolutwerte darstellen. Liegen die Werte einer Probe innerhalb oder außerhalb der angegebenen Bereiche, so ist nicht automatisch eine Authentizität gewährleistet oder eine Verfälschung belegt. Eine derartige vergleichende Formelanalytik wurde dahin gehend spezialisiert, dass man beispielsweise mit Hilfe des Mineralstoffspektrums im Aschegehalt oder mit Hilfe von Regressionsanalysen der Hauptaminosäuren eine Authentizitätsprüfung von Fruchtsäften zu etablieren versuchte [34, 35].

Als weiteren analytischen Ansatz zur Fruchtgehaltsbestimmung wurde auch die Untersuchung unterschiedlicher Gerüstsubstanzen diskutiert. So wird die Cellulose für die Fruchtgehaltsbestimmung vorgeschlagen. Ebenso wird Hemicellulose als unabhängig von Sorte, Herkunft und Reifegrad mit konstanten Mengenanteilen in Früchten wie Erdbeeren, Kirschen, Äpfeln, Aprikosen und Pfirsichen diskutiert [36, 37]. Zusätzlich wird eine Authentizitätskontrolle mittels Neutralzuckerbestimmung der Hemicellulosefraktionen beschrieben, die nach Fällung und mehrfachen hydrolytischen Fraktionierungsverfahren gewonnen werden [38, 39, 40, 41]. Bei der Verarbeitung von Früchten und Fruchtprodukten werden jedoch vielfach Verdickungsmittel eingesetzt, die aus verschiedenen Rohstoffen gewonnen werden können und maßgeschneidert auf den jeweiligen Verwendungszweck produziert werden. Aufgrund der Problematik der Dickungsmittel können derartige Verfahren zur Bestimmung des Fruchtgehaltes nur bedingt beitragen. Sie sollten jedoch durch weitere analytische Untersuchungsansätze wie beispielsweise die Polyphenolanalytik begleitet werden.

Sehr viele fruchtspezifische Flavonoidspektren wurden bisher beschrieben, mit deren Hilfe man Fremdfruchtzusätze oder Verfälschungen mit minderwertigen Fruchtrückständen bei verarbeiteten Fruchtprodukten nachweisen kann [42, 43]. Schon lange etabliert ist der Nachweis von Fremdfruchtzusätzen mit fruchtspezifischen phenolischen Inhaltsstoffen. Einen Überblick

gibt die Zusammenstellung von Verfahren nach [44]. Die Charakterisierung von Flavonoiden verschiedener Fruchttypen wie den Steinfrüchten ist in der Literatur ebenso beschrieben und ermöglicht somit eine Unterscheidung von botanisch eng verwandten Früchten wie Aprikose, Pfirsich, Nektarine oder Pflaume [45, 46, 47, 48]. Eine wichtige Rolle spielt auch die Verteilung der phenolischen Inhaltsstoffe in der Frucht. Meist sind die Konzentrationen von Polyphenolen in den äußeren Randschichten von Früchten besonders hoch, so dass es für die Analyse des Flavonoidspektrums und der Flavonoidgehalte der daraus hergestellten Fruchtprodukte von Bedeutung ist, wenn nicht die gesamte Frucht, sondern nur Fruchtteile verarbeitet wurden [49]. Für die Beurteilung von Fruchtprodukten wurden die Auswirkungen technologisch bedingter Einflüsse wie Trocknungs-, Extraktions-, Pasteurisierungsverfahren usw. auf Flavonoide sowie deren Gehalte häufig diskutiert, um potentielle Veränderungen gegebenenfalls erkennen und für eine sinnvolle Beurteilung entsprechend berücksichtigen zu können [50, 51]. Gegebenenfalls resultieren sogar eindeutige Nachweise, um bestimmte technologische Verfahren ausschließen zu können, die von besonderem Wert für ein Lebensmittel sein können. Der Vergleich von enantioselektiven Verhältnissen eignet sich ebenso zum Nachweis von technologischen Verfahren [52, 53]. Fremdzusätze wie Kürbis und Apfel zu Aprikosenpürees und Aprikosenkonfitüren konnten einfach nachgewiesen werden [54]. Ebenfalls sind Untersuchungen hinsichtlich einer Sortendifferenzierung und Herkunftsbestimmung aufgrund unterschiedlicher Flavonoidspektren und -gehalte bekannt. Jahrgangsbedingte Gehaltsunterschiede schränken die Ergebnislage jedoch ein [55]. Erfolgversprechender ist eine Sorten- und Herkunftsdifferenzierung mit Hilfe von sortenspezifischen jahrgangsunabhängigen Polyphenolpeakflächenverhältnissen [56], da die gebildete Absolutmenge phenolischer Inhaltsstoffe von unterschiedlichen Faktoren und Wachstumsbedingungen der Pflanze wie Licht, Temperatur, Temperaturstress, Trockenheit, Bodenbeschaffenheit usw. beeinflusst wird [8, 9, 10, 11]. Die Polyphenolpeakflächenverhältnisse bleiben jedoch aufgrund des Bildungsweges der Polyphenole und der enzymatischen Ausstattung der Pflanze konstant. Sie können in Polyphenolpeakflächendatenbanken gesammelt und anschließend über viele Jahre für eine Sorten- und Herkunftsdifferenzierung herangezogen werden. Eine Aktualisierung wäre gegebenenfalls bei Neuzüchtungen erforderlich. Bei verarbeiteten Fruchtprodukten können mit Polyphenolpeakflächenverhältnissen zudem die Sortenanteile der verarbeiteten Früchte nachvollzogen werden und damit einen wesentlichen Beitrag zur Bestimmung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes leisten [57].

1.4 Herkunftsbestimmung von Lebensmitteln

Früchte, nicht nur exotische oder Tropenfrüchte, sondern auch einheimische Fruchtarten, werden heutzutage in vielen Ländern angebaut und weltweit vermarktet. Produktionsketten, über die die gesetzlich geforderte Rückverfolgbarkeit gewährleistet werden muss, erstrecken sich daher meist weit über Landesgrenzen hinaus. Häufig verbindet der Verbraucher besondere Eigenschaften mit der Herkunft von Lebensmitteln und ist bereit, einen zum Teil deutlich höheren Preis für Lebensmittel bestimmter Herkunft zu zahlen. Bei tierischen Produkten ist beispielsweise mit Hilfe des Genusstauglichkeits- oder Identitätskennzeichens, eine geographische Zuordnung des Herstellerbetriebes direkt möglich [58, 59]. Bei Honigen wird eine geographische Angabe in der Etikettierung gefordert, ob es sich um Honig aus Ländern der Europäischen Union handelt oder nicht [60]. Bei Wein und Spirituosen beeinflusst die Herkunft die Kaufentscheidung des Verbrauchers schon sehr lange, so dass sich die Herkunft als Kennzeichnungselement auf den Fertigpackungen wieder findet [61]. Grundsätzlich hat die Ernährungsindustrie die Bedeutung der Regionalität von Lebensmitteln erkannt und versucht diese gezielt für Marketingzwecke einzusetzen. Das europäische Lebensmittelrecht offeriert einem Herstellungsbetrieb unter Einhaltung spezieller Auflagen bzw. Spezifikationen die Möglichkeit, sich mit Hilfe von geschützten geographischen Angaben und Ursprungsbezeichnungen abzugrenzen, um einen Bezeichnungsschutz zu erlangen [62]. Bei einheimischen Früchten oder Fruchtprodukten hat die Herkunft meist die größte Bedeutung, wenn die fruchtspezifische nationale Erntezeit begonnen hat. Rechtlich ist die Angabe des Erzeugerlandes vorgeschrieben.

Die Stabilisotopenanalyse stellt ein leistungsfähiges Instrument zur Überprüfung der Herkunft von Lebensmitteln über die gesamte Produktionskette dar [63, 64]. Sie wird für die Untersuchung tierischer als auch pflanzlicher Agrarerzeugnisse auf unterschiedlichsten Verarbeitungsstufen eingesetzt [65]. Die Analyse beruht auf einer Diskriminierung von schweren Stabilisotopen bei unvollständigen chemischen und physikalischen Prozessen [66]. Der bekannteste dieser Prozesse ist der Wasserkreislauf der Erde [67]. In Äquatornähe oder in Küstennähe regnet schweres Wasser der Wolken schneller ab. Dies führt zu einer Anreicherung von schwerem Wasser zu den Wendekreisen und von der Küstenregion zum Landesinneren hin. Die Unterschiede werden auf internationale Standards bezogen, die in Primär- und Sekundärstandards eingeteilt werden. Stellt man diese Unterschiede auf Karten graphisch dar, so sind die Analysendaten mit topographischen Kartenprofilen vergleichbar.

Wasser ist Lebensmittel und Hauptbestandteil von Lebewesen, so dass sich sowohl in Pflanzen als auch Tieren das in der Region vorliegende Isotopenverhältnis im Gewebewasser widerspiegeln sollte [68, 69, 70]. Verfälschungen durch Bewirtschaftungsformen mit künstlicher Bewässerung oder durch weltweit gehandelte Futtermittel erschweren eine eindeutige geographische Einordnung. Häufig wird daher nicht nur das Stabilisotopenverhältnis von Sauerstoff herangezogen, sondern zusätzlich diejenigen der Elemente Stickstoff, Schwefel und Kohlenstoff [71, 72]. In Kombination lassen sich auch Aussagen über Haltungs- und Anbauformen landwirtschaftlicher Produkte treffen, ob es sich bei einem Lebensmittel beispielsweise um ein ökologisch erzeugtes Produkt handelt. Die Verwendung von anorganischem oder tierischem Dünger spiegelt sich im Stabilisotopenprofil der Pflanze wieder und lässt damit eine Überprüfung zu [73].

Zeitgleich mit dem Fortschritt der Lebensmittelkontrolle verändern sich auch die Verfälschungsstrategien unredlicher Lebensmittelproduzenten. Die größte Sicherheit Manipulationen ausschließen zu können, bietet die Kombination verschiedener analytischer Verfahren. Bei der Stabilisotopenanalyse von Verbindungen des Primärstoffwechsels wird aufgrund der direkten Verfügbarkeit dieser Stoffe eine Verfälschung erleichtert. Bei der Untersuchung der Stabilisotopenverteilung in sekundären Pflanzeninhaltsstoffen wären derartige Verfälschungen nicht mehr rentabel. Die Kosten für eine Herstellung oder Isolierung der erforderlichen Mengen an Polyphenolen würde den Profit weit überschreiten. Die Authentizität des zu untersuchenden Lebensmittels kann in Kombination mit der Polyphenolanalytik sichergestellt werden.

2. Ergebnisse und Diskussion

2.1 Probenaufarbeitung

Für die Bestimmung von Flavonoidprofilen in Aprikosen und Aprikosenkonfitüren wurden Extraktions-, Anreicherungs- und chromatographische Verfahren optimiert. Dabei wurde stets auf das beste Gesamtergebnis im Verlauf der Probenaufarbeitung geachtet. Für die später erfolgende Identifizierung, Quantifizierung und Bestimmung von Peakflächenverhältnissen war es unbedingt erforderlich, dass für die betrachteten Analytgruppen der Phenolcarbonsäuren, der Flavan-3-ole und der Flavonolglykoside bei der Probenaufarbeitung möglichst schonende und für alle Analyten möglichst gleich gute Extraktionsbedingungen gewählt wurden. Ebenfalls fanden die gewonnenen analytischen Erkenntnisse Anwendung für eine selektive präparative Anreicherung von Polyphenolen.

2.1.1 Manuelle Extraktion

Im Rahmen der Optimierung wurden zwei Extraktionsverfahren entwickelt, die ermöglichten, dass unabhängig von der Laborausstattung eine Extraktion des Probengutes durchgeführt werden konnte. Einerseits wurde eine automatisierte Extraktionsmethode mit Hilfe der beschleunigten Lösungsmittelextraktion (allgemein: Pressurized Liquid Extraction, PLE; Bezeichnung der Firma Dionex: Accelerated Solvent Extraction, ASE[®]) entwickelt, andererseits wurden die besten Extraktionsbedingungen unter Anwendung einfachster Laborausstattung, von „Hand“ bzw. „manuell“ ermittelt. Die Einsatzmöglichkeiten für die beschleunigte Lösungsmittelextraktion sind zahlreich und vielfach beschrieben [74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82]. Ebenso bestand die Möglichkeit für eine Kopplung von beschleunigter Lösungsmittelextraktion mit direkter automatischer Festphasenextraktion [83, 84, 85, 86, 87]. Sie wurde allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht genutzt.

Die grundlegenden Extraktionsparameter wurden zuerst für die Matrix Aprikosenkonfitüre optimiert, da bei dieser Probenmatrix mit Zusatz von Geliermitteln, Saccharose, etc. die größeren Probleme bei der Extraktion erwartet wurden. Anschließend sollten die erzielten Ergebnisse auf kommerziell erhältliche Aprikosenrohware übertragen und falls erforderlich weiter optimiert werden.

2.1.1.1 Wahl der organischen Lösungsmittelkomponente

Begonnen wurde mit einem Vergleich verschiedener bekannter organischer Lösungsmittel, wie einfachen Alkoholen (Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol) sowie Aceton [88, 89, 90]. Die Extraktion wurde bei Raumtemperatur von Hand wie in 3.3.1.1 beschrieben durchgeführt und die Ergebnisse in Abbildung 2.1.1.1-1 nachfolgend dargestellt. Hierzu wurde jeweils ein Analyt aus den drei wichtigsten phenolischen Inhaltsstoffgruppen der Aprikose, eine Caffeoylechinolchinasäure aus der Gruppe der Phenolcarbonsäuren, Epicatechin aus der Gruppe der Flavan-3-ole und Rutin aus der Gruppe der Flavonolglykoside ausgewählt und die auf die Einwaage bezogene resultierende Peakfläche nachfolgend in einem Balkendiagramm zusammengestellt.

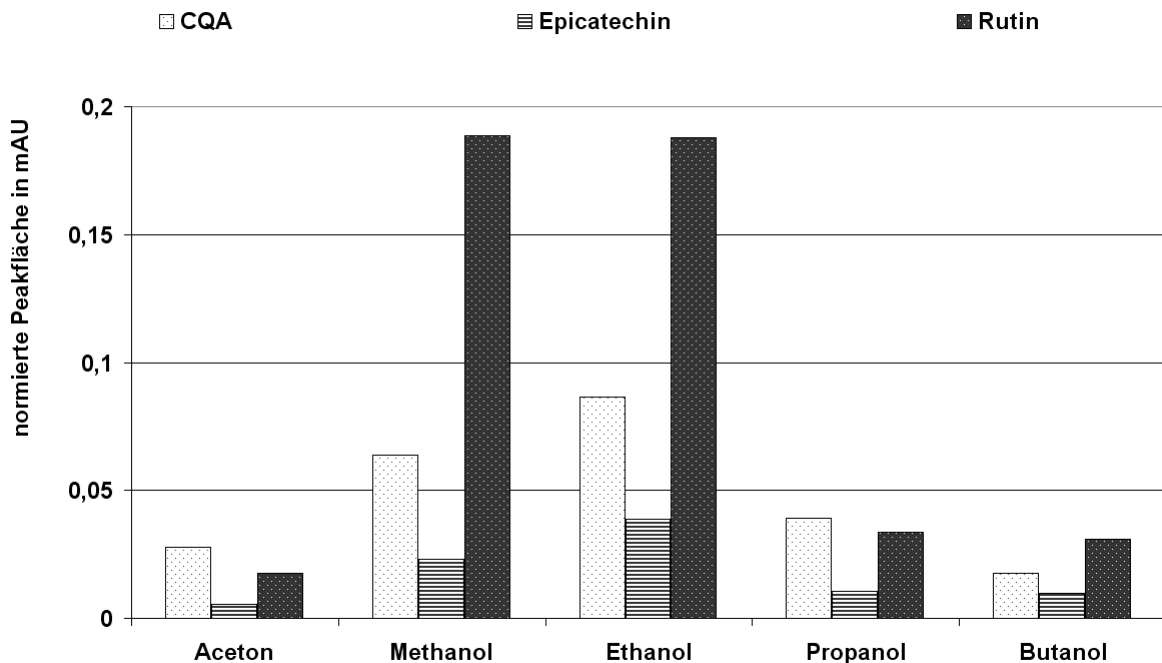


Abbildung 2.1.1.1-1: Einfluss des Lösungsmittels bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre

Die besten Extraktionsergebnisse konnten mit Ethanol und Methanol für die betrachteten Inhaltsstoffgruppen erreicht werden. Hingegen erwiesen sich Aceton, Propanol und Butanol im direkten Vergleich als ungeeignet. Da Methanol das preislich günstigere Lösungsmittel war und die Extrakte im weiteren Probenaufarbeitungsprozess bei der Entfernung der organischen Komponente vor der Festphasenextraktion einer geringeren thermischen Belastung ausgesetzt sein würden, wurde Methanol als organische Komponente festgelegt.

2.1.1.2 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch

Nach der Auswahl von Methanol als organische Lösungsmittelkomponente wurde die Zusammensetzung des Extraktionsmittelsystems Wasser-Methanol untersucht. Aprikosenkonfitüre wurde mit Extraktionsmittelgemischen unterschiedlichen Methanolanteils (siehe 3.3.1.2) extrahiert und die Ergebnisse wie zuvor beschrieben in einem Säulendiagramm zusammengefasst. Der organische Anteil variierte in 10%-Schritten. Die Unterschiede im Extraktionsergebnis waren nicht so ausgeprägt wie bei der Verwendung verschiedener Lösungsmitteltypen. Für die Gruppe der Flavonolglykoside und für die Gruppe der Phenolcarbonsäuren lag der optimale Methanolanteil bei 50% bis 60% im Extraktionsmittelgemisch. Die Extraktion von Epicatechin lieferte mit 100% Methanol die höchsten Werte, bei geringeren Methanolanteilen war jedoch kaum ein Unterschied zu erkennen.

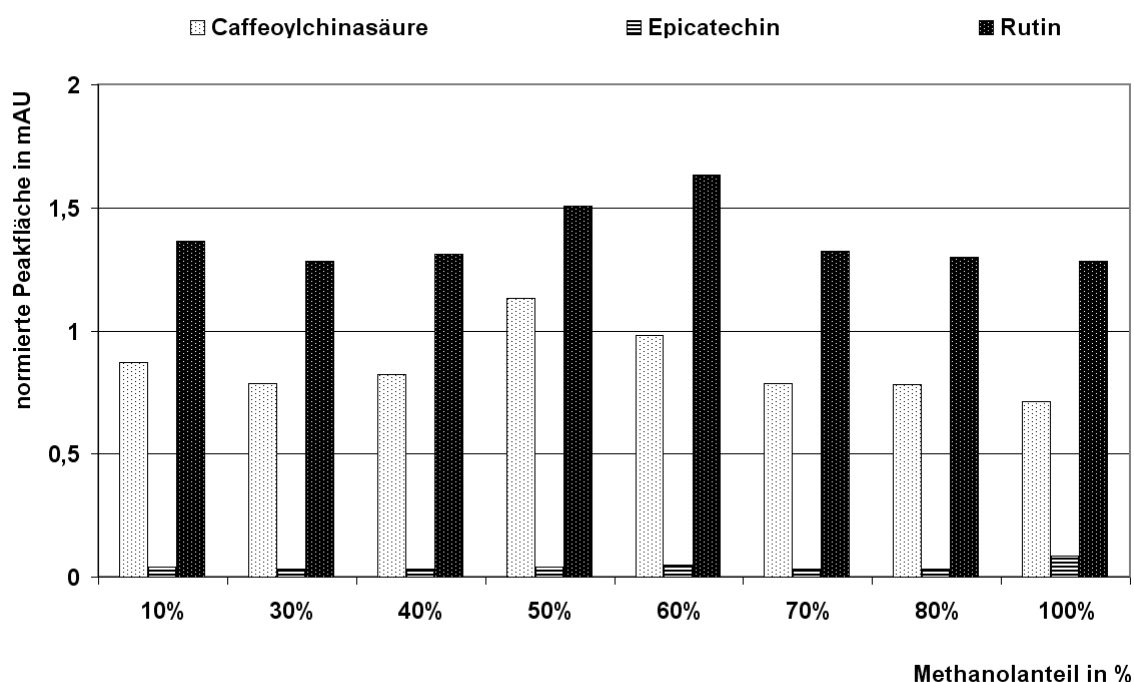


Abbildung 2.1.1.2-1: Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol-Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre

Mit steigenden organischen Anteilen im Extraktionsmittelgemisch und im resultierenden Probenextrakt vergrößerte sich der Aufwand bei der weiteren Probenaufarbeitung. Wie schon erwähnt, müsste der organische Anteil im Probenextrakt deutlich reduziert werden, damit es bei der Festphasenextraktion nicht zu Analytverlusten kommt. Sowohl Temperaturbelastung als auch das spätere Auftragsvolumen bei der Festphasenextraktion sollten jedoch möglichst gering

sein, so dass für die Extraktion und die weitere Probenaufarbeitung ein Methanolanteil von 50% festgelegt wurde. Anschließend wurde überprüft, ob die Extraktion von Aprikosenrohwaren unter den für die Konfitüre bisher ermittelten Bedingungen erfolgreich durchgeführt werden konnte. Es wurde die Extraktion nach 3.3.1.3 für Methanolanteile in Höhe von 30% bis 70% untersucht und wiederum auf die Einwaage normiert nachfolgend im Diagramm dargestellt.

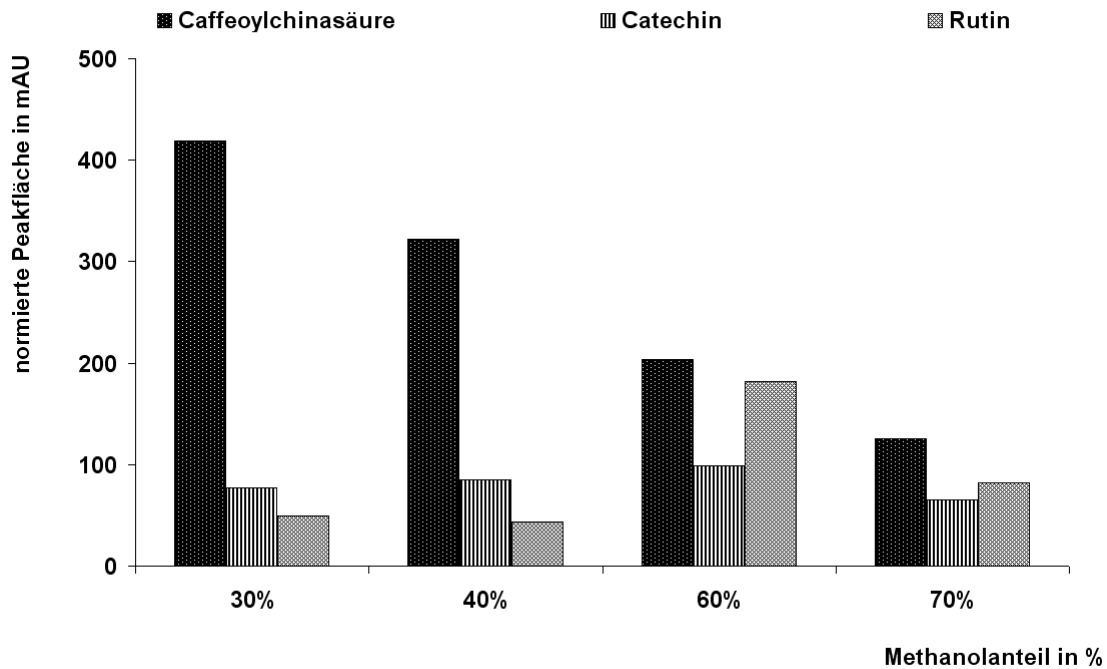


Abbildung 2.1.1.2-2 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol-Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenrohware

Bei der Extraktion der Aprikosenrohware zeigte sich in Abhängigkeit des Methanolanteils ein analytspezifischer Extraktionsverlauf. Für Caffeoylchinasäure, bzw. Phenolcarbonsäuren begünstigten geringere Methanolanteile deren Extraktion, bei Rutin hingegen waren höhere organische Anteile für eine zufrieden stellende Extraktion erforderlich. Für die Flavan-3-ole, bzw. Catechin, war der Extraktionsverlauf wie bei der Konfitüre unabhängig vom betrachteten Methanolanteil. Zusammenfassend ließ sich bestätigen, dass bei einem Methanolanteil von 50% im Extraktionsmittel für die betrachteten Analytgruppen ein gleichmäßiges Extraktionsergebnis erreicht werden konnte.

2.1.1.3 Einfluss des Verhältnisses von Extraktionsmittelmenge zu Probengut

Neben Art und Menge des organischen Anteils im Extraktionsmittel wurde das Verhältnis von Extraktionsmittelmenge zu Probengut, im vorliegenden Fall von Aprikosenkonfitüre, betrachtet. Dies erfolgte, indem wie in 3.3.1.4 beschrieben, Aprikosenkonfitüre mit unterschiedlichen Mengen Extraktionsmittel extrahiert wurde und die auf die Einwaage normierte Peakfläche in Abhängigkeit zum Verhältnis von Extraktionsmittelmenge zu Probeneinwaage ermittelt wurde. Die bisherigen Untersuchungen erfolgten bei einem Verhältnis von 1g Probengut zu 10 ml Extraktionsmittel, meist 10 g Aprikosenkonfitüre auf 100 ml Extraktionsmittel. Die Größe des Untersuchungsansatzes wurde gewählt, um einerseits potenzielle Extraktverluste bei den einzelnen Verfahrensschritten möglichst gering zu halten und andererseits ausreichende Signalintensitäten bei der chromatographischen Trennung zu gewährleisten. Wie erwartet, konnte mit einer Verdopplung der Extraktionsmittelmenge auf die gleiche Probeneinwaage keine Verbesserung erzielt werden. Eine Reduzierung der Extraktionsmittelmenge führte dazu, dass nur geringe Mengen Analyt extrahiert werden konnten und daher die Extraktion der phenolischen Inhaltsstoffe nur unvollständig erfolgte war.

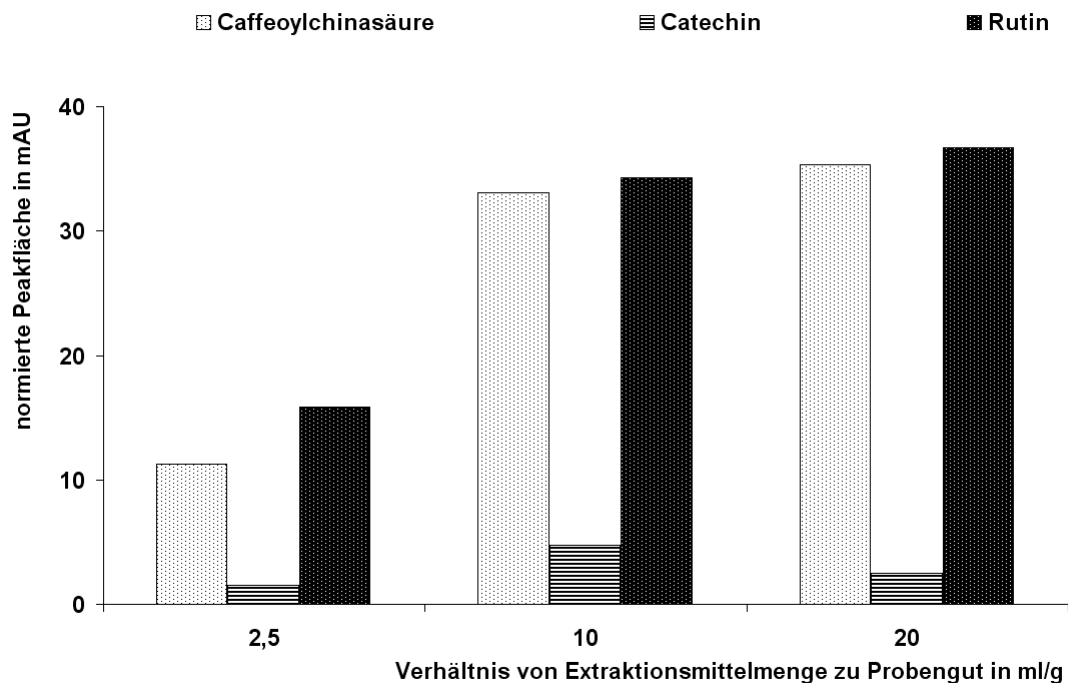


Abbildung 2.1.1.3-1 Einfluss des Verhältnisses Extraktionsmittelmenge zu Probengut (Aprikosenkonfitüre)

Aus dem Extraktionsverhalten, wie in Abbildung 2.1.1.3-1 dargestellt, lässt sich ebenfalls ableiten, dass beim ersten Extraktionszyklus der Aprikosenkonfitüre die betrachteten Analyten fast vollständig extrahiert wurden. Andernfalls hätten noch deutliche Verbesserungen mit Erhöhung der Extraktionsmittelmenge auftreten müssen.

2.1.1.4 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen

Bei der manuellen Extraktion war es abschließend erforderlich, den Extraktionsverlauf bzw. die Anzahl an Extraktionswiederholungen zu ermitteln, die eine quantitative Extraktion sicherstellte. Daher wurde nachfolgend Aprikosenrohware nach 3.3.1.5 mehrfach extrahiert. Die Extraktion wurde dreifach durchgeführt und die Extraktionsausbeute zur Gesamtextraktion nachfolgend im Diagramm dargestellt.

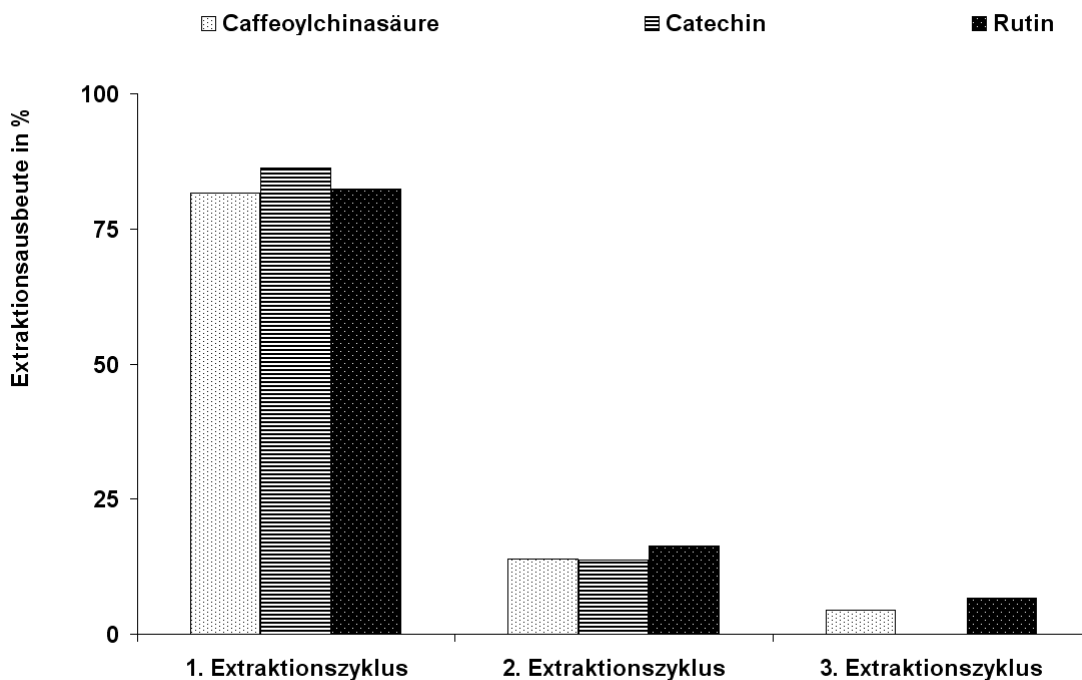


Abbildung 2.1.1.4-1 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre

Wie bei der Bestimmung des Verhältnisses von Extraktionsmittelmenge zu Probengut erkannt wurde, bestätigte sich, dass mit einem Extraktionszyklus etwa 80% der phenolischen Inhaltsstoffe extrahiert werden konnten. Im Extrakt des 2. Extraktionszyklus waren lediglich noch etwa 15 % der betrachteten Polyphenole enthalten. Auf einen 3. Extraktionszyklus konnte entsprechend der Abbildung 2.1.1.4-1 verzichtet werden. Zusätzlich zeigte das

Extraktionsergebnis, dass eine optimale gleichmäßige Extraktion für die Phenolcarbonsäuren, Flavan-3-ole und Flavonolglykoside unter den gewählten Extraktionsbedingungen sichergestellt werden konnte. Zusammenfassend haben die Untersuchungen gezeigt, dass eine quantitative Extraktion von Aprikosenkonfitüre und Aprikosenrohware unter Einhaltung folgender Extraktionsparameter sichergestellt werden konnte:

Tabelle 2.1.1.4-1 Optimale Extraktionsparameter für die manuelle Extraktion

<i>Extraktionsparameter</i>	<i>Einstellung</i>
Art der organischen Extraktionsmittelkomponente	Methanol
Anteil Methanol im Extraktionsmittel	50%
Verhältnis von Extraktionsmittel zu Probengut	10 ml auf ein 1 g
Anzahl der Extraktionszyklen	2

Anschließend wurden die Extraktionsbedingungen unter Einsatz der beschleunigten Lösungsmittlextraktion in Hinblick auf die Extraktion von Aprikosenkonfitüre und Aprikosenrohware untersucht. Ausgehend von den bei der manuellen Extraktion erhaltenen Extraktionsparametern wurde überprüft, ob unter vergleichbaren Bedingungen eine quantitative Extraktion möglich war. Betrachtet wurden der Anteil organischen Lösungsmittels am Extraktionsmittelgemisch, die Probeneinwaage, die Temperatur und die Anzahl der Extraktionszyklen.

2.1.2 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion

2.1.2.1 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch

Zuerst wurde überprüft, welche Auswirkungen der Methanolanteil im Extraktionsmittelgemisch bei der Extraktion von Aprikosenrohware hatte. Die Untersuchungsansätze umfassten Methanolanteile zwischen 0% und 75%, wobei ein Schwerpunkt bei 50% in der Untersuchungsserie gesetzt wurde. Betrachtet wurde jeweils eine Extraktion nach 3.2.2.1 mit nur einem Cycle. In Abbildung 2.1.2.1-1 ist die Extraktionsausbeute in Abhängigkeit vom Methanolanteil im Extraktionsmittel gegenübergestellt. Die besten Extraktionsergebnisse konnten bei Methanolanteilen von 40%, 50% und 75% erzielt werden. Bei 50% und 75%

Methanol im Extraktionsmittel zeigte sich ein sehr gleichmäßiges Extraktionsverhalten für Phenolcarbonsäuren, Flavan-3-ole und Flavonolglykoside. Dies entsprach der manuellen Extraktion. Hingegen wurde bei einem Methanolanteil von 40% im Extraktionsmittel die Gruppe der Flavonolglykoside verstärkt extrahiert, so dass sich wie bei der Extraktion von Hand ein Methanolanteil von 50% als optimal ergab.

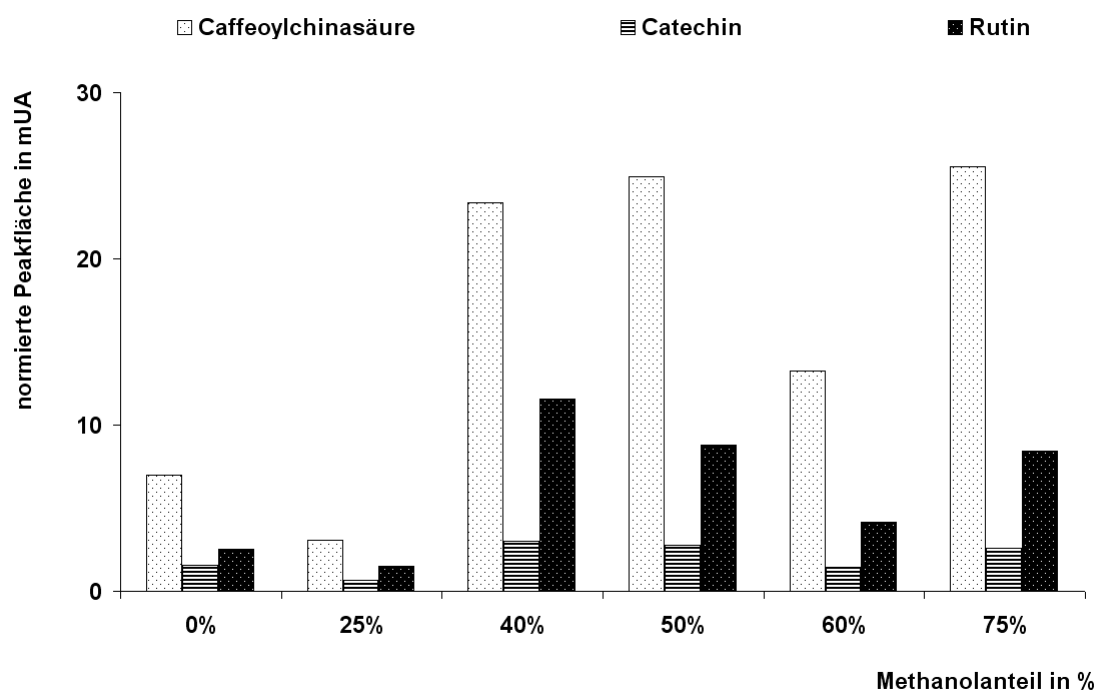


Abbildung 2.1.2.1-1 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol-Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenrohware mittels ASE

2.1.2.2 Einfluss der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen

Die beschleunigte Lösungsmittelextraktion wurde mit Extraktionszellen eines Nennvolumens von 11 ml durchgeführt. Da bei der Extraktion die Zelle stets komplett mit Extraktionsmittel gefüllt wird, werden Extraktionszellen bei gleicher Füllart (siehe 3.3.2.2) stets mit derselben Extraktionsmittelmenge extrahiert. Zur Gewährleistung einer quantitativen Extraktion kann eine Zelle gegebenenfalls mehrfach extrahiert werden. Somit hängen daher Probeneinwaage und die Anzahl der Extraktionszyklen direkt voneinander ab und sind so zu wählen, dass möglichst konzentrierte Probenextrakte geringen Volumens bei der Extraktion erhalten werden. Ein direkter Vergleich zwischen der manuellen und der beschleunigten Lösungsmittelextraktion ist jedoch aufgrund technischer Vorgaben nur begrenzt möglich (siehe 3.3.2.1). Eine ASE-Zelle

kann mehrfach hintereinander extrahiert werden, wobei die Extrakte anschließend in einem Auffanggefäß gesammelt werden. Am Ende einer Extraktion findet jedoch stets ein Spülschritt statt, bei dem die Zelle mit 50 bis 150% des Zellvolumens an Extraktionsmittel nachgespült wird. Eine Mehrfachextraktion von einer Zelle, bei der die jeweiligen Extrakte einzeln aufgefangen wurden, war jedoch nur in der Form möglich, dass eine Zelle dreifach mit derselben Methode extrahiert wurde. Somit bestand jeder Extrakt sowohl aus dem Extraktionsmittel der statischen Extraktionsphase als auch aus dem zusätzlichen Extraktionsschritt des Spülens. Um noch eine gewisse Vergleichbarkeit mit der manuellen Extraktion zu ermöglichen, wurde das Spülvolumen auf die kleinstmögliche Größe von 50% festgesetzt. Im Anschluss wurde die Extraktion bei einem Methanolanteil von 50 % von 1 g und 2 g Probenmenge untersucht. Die genaue Vorgehensweise ist in Kapitel 3.3.2.4 beschrieben.

Wie bei den zuvor beschriebenen Untersuchungsserien wurden in den nachfolgend dargestellten Diagrammen für je einen Vertreter der phenolischen Inhaltsstoffgruppen der Aprikose die Extraktionsausbeuten der einzelnen Extrakte zusammengefasst. Wurde nur 1 g Probenmaterial extrahiert, so waren etwa 90% der phenolischen Inhaltsstoffe im 1. Extrakt enthalten. Erhöhte man die Probeneinwaage auf 2 g, so wurden nur noch 75% mit der 1. Extraktion und 25% mit der 2. Extraktion aus dem Probenmaterial extrahiert. Bei beiden Ansätzen waren die im Extrakt der 3. Extraktion enthaltenen phenolischen Inhaltsstoffe in vernachlässigbaren Mengen enthalten, so dass auf einen dritten Extraktionszyklus im weiteren Verlauf der Arbeiten verzichtet werden konnte. Würde man die Einwaage weiter erhöhen, so müsste sicherlich ein dritter Extraktionszyklus für eine quantitative Extraktion durchgeführt werden. Damit würde allerdings wiederum das Extraktvolumen erhöht und ein größeres Auftragsvolumen bei der Festphasenextraktion erforderlich werden. Die damit resultierende Erhöhung der Signalintensität bei der chromatographischen Untersuchung stünde allerdings nicht in einem vertretbaren Verhältnis zum erhöhten Analysenaufwand. Somit wird eine Probeneinwaage von 2 g Probenmaterial unter Einsatz von zwei Extraktionszyklen als geeigneter Kompromiss für die weitere Probenaufarbeitung gehalten.

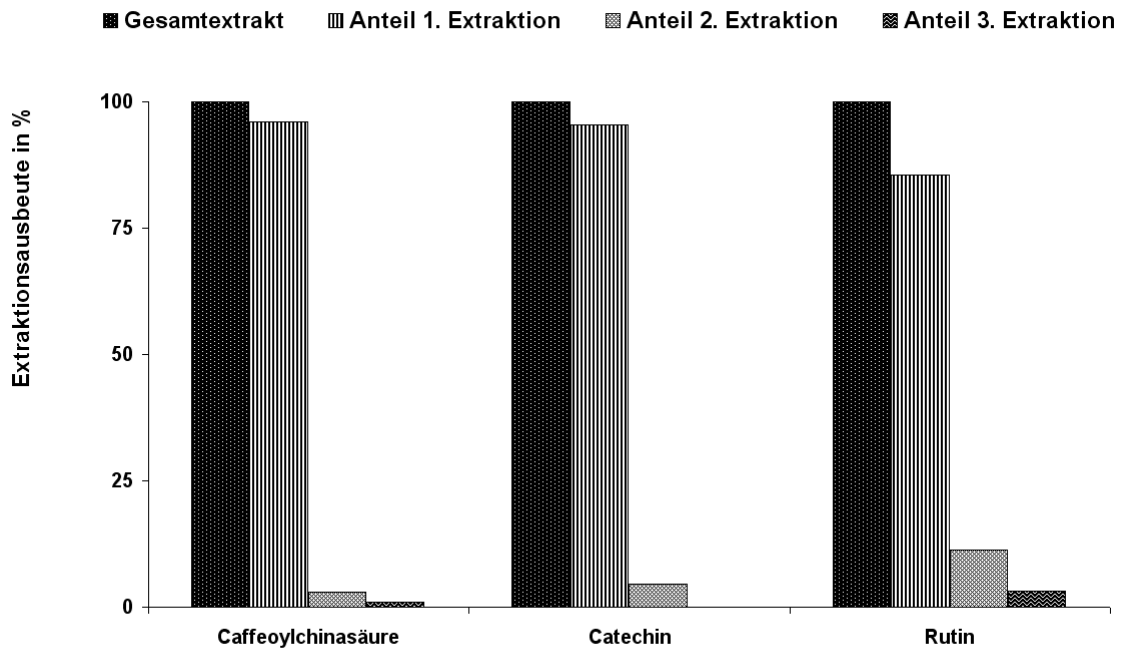


Abbildung 2.1.2.2-1 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von 1 g Aprikosenrohware mittels ASE

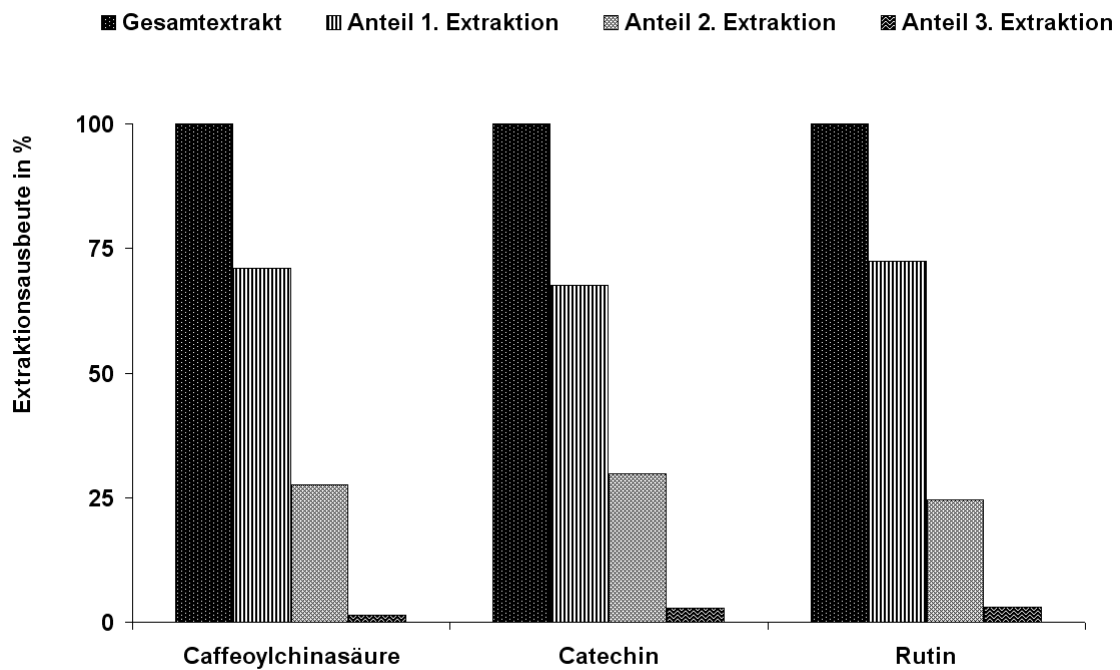


Abbildung 2.1.2.2-2 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von 2 g Aprikosenrohware mittels ASE

2.1.2.3 Einfluss der Extraktionstemperatur

Die beschleunigte Lösungsmittlextraktion ermöglicht die Extraktion bei höheren Temperaturen, aufgrund der hohen Drücke bis zu 200 bar sogar überhalb der Siedepunkte bei Atmosphärendruck der jeweils eingesetzten Extraktionsmittel. Da neben Aprikosenrohware auch Aprikosenkonfitüre als Probenmaterial zur Verfügung stand, konnte mit Hilfe der beschleunigten Lösungsmittlextraktion eine Temperaturbelastung der phenolischen Inhaltsstoffe simuliert werden. Diese war selbstverständlich nicht direkt mit den Belastungen während des Konfitürenkochprozesses vergleichbar, jedoch ließen sich Abschätzungen hinsichtlich der Temperaturstabilität bzw. -instabilität der einzelnen Analyten bzw. der zugehörigen Verbindungsklasse treffen. Bei der nachfolgenden Untersuchungsserie wurden die optimalen Extraktionsbedingungen dahingehend verändert, dass ein Temperaturspektrum von 20° C bis 120° C bei der Extraktion angewendet wurde. Die weiteren Extraktionsparameter wurden nicht verändert. In der Abbildung 2.1.2.3-1 wurden die Extraktionsergebnisse der Versuchsreihe auf das maximal erreichte Extraktionsergebnis bezogen und prozentual im Säulendiagramm dargestellt.

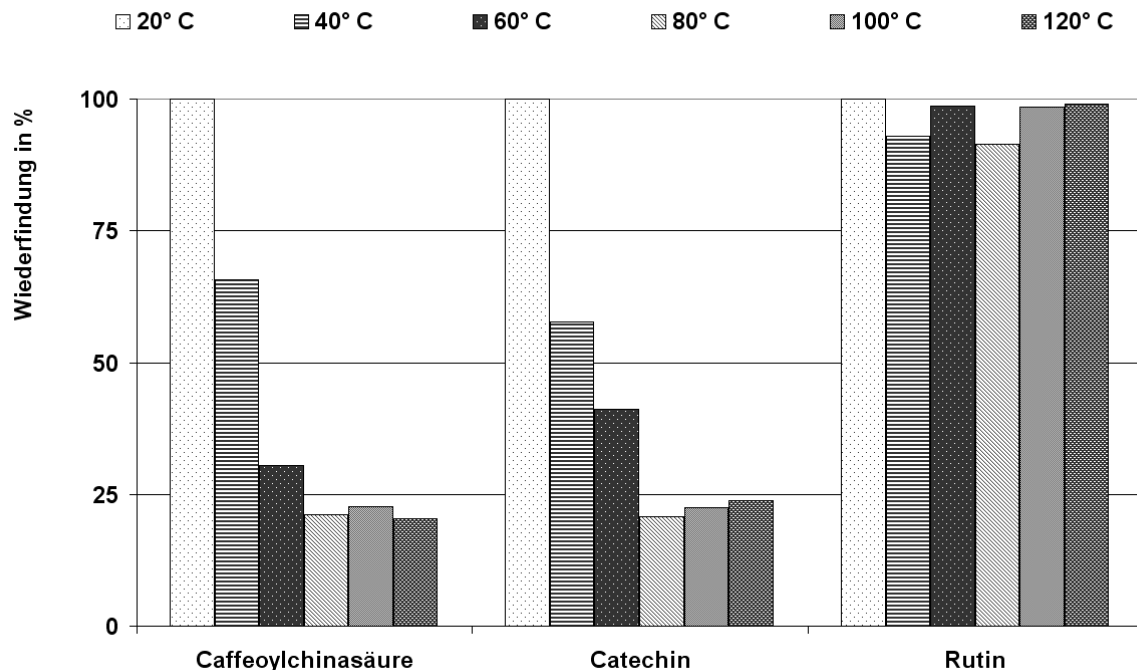


Abbildung 2.1.2.3-1 Einfluss der Extraktionstemperatur auf die Extraktion von Aprikosenkonfitüre mittels ASE

Erhöhte Temperaturen bei der Extraktion führten zu einem schlechteren Extraktionsergebnis bei den Phenolcarbonsäuren und den Flavan-3-olen, bei den Flavonolglykosiden zeigte sich jedoch keine Auswirkung. Sowohl bei der Caffeoylchinasäure als auch bei Catechin nahmen die Extraktionsausbeuten bis zu einer Extraktionstemperatur von 80° C stark ab, pendelten sich bei höherer Temperaturbelastung jedoch auf ein konstantes Niveau ein. Somit zeichnete sich ab, dass speziell die Gruppe der Flavonolglykoside aufgrund ihrer in der Versuchsserie gezeigten Temperaturstabilität für die Bestimmung von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenkonfitüre besser geeignet wäre als Phenolcarbonsäuren oder Flavan-3-ole. Als Extraktionstemperatur wurde entsprechend der Ergebnislage die Raumtemperatur (20°C) gewählt.

2.1.3 Festphasenextraktion

Polyphenole gehören zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und sind daher bis auf wenige Ausnahmen nur in geringen Gehalten in pflanzlichen Proben enthalten. Grundsätzlich bedurfte es einer Aufkonzentrierung der phenolischen Inhaltsstoffe, um bei einer anschließenden chromatographischen Untersuchung gute Signalintensitäten zur Identifizierung, zur Quantifizierung und zur Ermittlung der Polyphenolpeakflächenverhältnisse zu gewährleisten. Die Festphasenextraktion hat sich daher für die Untersuchung von polyphenolhaltigen Lebensmitteln als bedeutender Probenaufarbeitungsschritt etabliert [91, 92, 93, 94, 95, 96, 97]. Eine automatisierte Anreicherung von Polyphenolen unter Anwendung eines Pipettierroboters (ASPEC) wurde in vorherigen Doktorarbeiten für die Probenmatrices Gerste, Malz, Bier u. a. entwickelt und etabliert. Ausgehend von vorhandenen Methoden [92, 96] wurde zuerst überprüft, ob sich diese auch für Aprikosenextrakte eigneten.

2.1.3.1 Bestimmung der Kartuschenkapazität

Um eine Überladung bzw. einen Durchbruch von phenolischen Inhaltsstoffen bei Verwendung von Polyamidkartuschenmaterial weitgehend ausschließend zu können, wurde zuerst untersucht, welches Volumen einer definierten Aprikosenauftragslösung ohne Analytverluste auf eine Kartusche aufgebracht werden konnte. Bei rein wässrigen Auftragslösungen ohne organischen Anteil sollte ein Durchbruch von Analyten festgestellt werden, wenn das Verhältnis von Analytsignal zu Auftragsvolumen abnahm. Es wurde daher, wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben,

eine rein wässrige Auftragslösung aus einem Aprikosenextrakt hergestellt und mit definierten Volumina eine Festphasenextraktion durchgeführt. Abbildung 2.1.3.1-1 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungsserie. Dargestellt ist wie zuvor beschrieben das Verhältnis von Analytsignal zu Auftragsvolumen einer Caffeoylchinasäure und von Rutin.

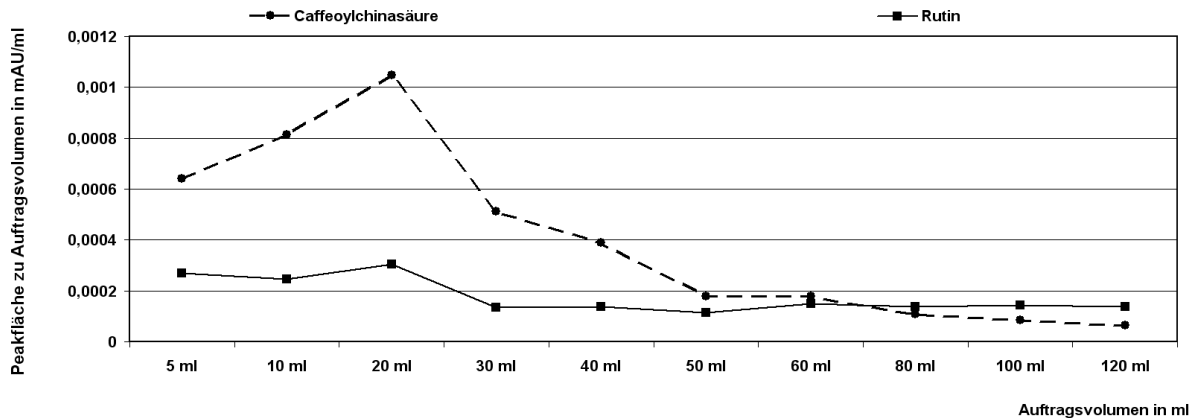


Abbildung 2.1.3.1-1 Bestimmung der Kartuschenkapazität mittels ASPEC

Wider Erwarten nahm das Verhältnis von Auftragsvolumen zu Analytsignal bei der Caffeoylchinasäure zuerst bis zum Auftragsvolumen von 20 ml zu und fiel anschließend stark ab. Rutin zeigte bis zu einem Auftragsvolumen von 20 ml ein konstantes Verhältnis und fiel anschließend auf ein wiederum konstantes Verhältnis ab. Die Untersuchungsserie zeigte, dass ein Auftragsvolumen von 20 ml, umgerechnet phenolische Inhaltsstoffe von 2,5 g Aprikosenrohware, auf eine Polyamidkartusche (500 mg) ohne Durchbruch aufgetragen werden konnten. Mit Zunahme des Auftragsvolumens waren die Polyamidphasen auch nach der Elution immer noch deutlich gefärbt, umso intensiver, je höher das aufgetragene Volumen war. Ebenfalls fiel auf, dass die Auftragslösung nach passieren des Polyamidphase weitgehend farblos gegenüber der ursprünglichen Auftragslösung war. Es konnte aufgrund dieser Beobachtung angenommen werden, dass ab einer gewissen „Fracht an phenolischen Inhaltsstoffen“ nicht die gesamten Analyten vom Kartuschenmaterial eluiert wurden.

2.1.3.2 Überprüfung der Menge des Elutionsvolumens

Der Elutionsverlauf von phenolischen Analyten von Polyamid wurde mit einer Multicollectmethode überprüft. Anstelle von Waschvolumen und Elutionsvolumen der bisherigen Methode wurde mit kleinen definierten Elutionsmittelvolumina die beladene

Kartusche nacheinander eluiert. Die Menge Elutionsmittel, bisher als Waschvolumen verworfen, wurde ebenfalls aufgefangen und auf ihren Gehalt an Polyphenolen überprüft. Für Caffeoylchinasäure und Rutin wurde der Elutionsverlauf in Abbildung 2.1.3.2-1 dargestellt.

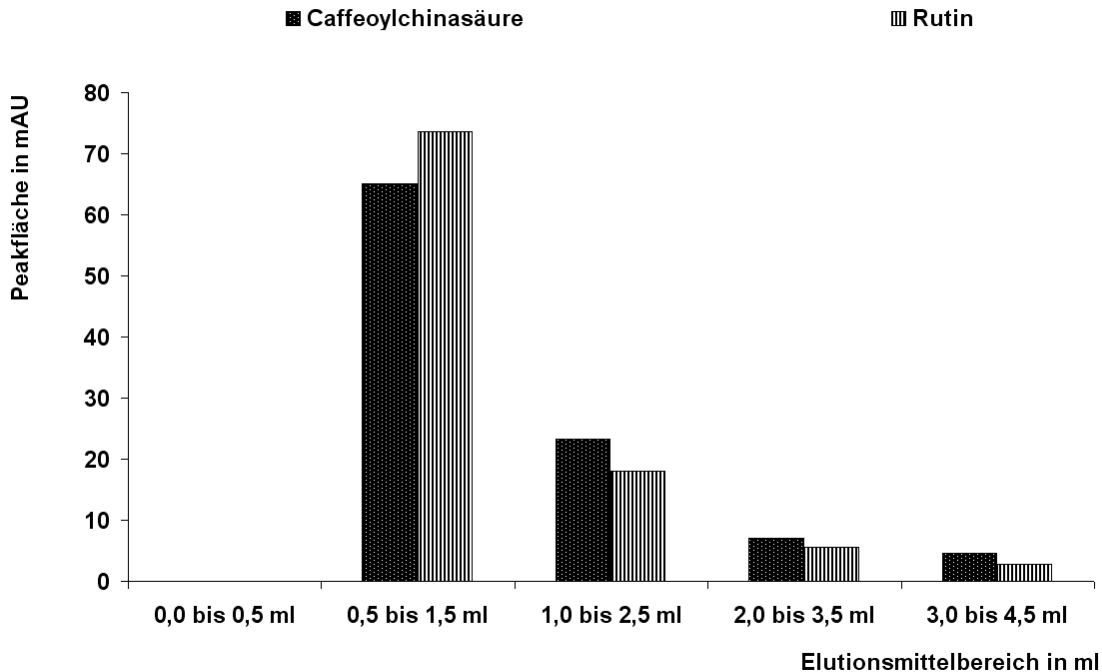


Abbildung 2.1.3.2-1 Elutionsverhalten von Caffeoylchinasäure und Rutin bei der SPE von Polyamid mittels ASPEC

Die Untersuchung bestätigte, dass der Waschschrift zu keinen Analytverlusten führte. Im Waschvolumen konnten keine phenolischen Inhaltsstoffe detektiert werden. Der größte Anteil von beiden betrachteten Analyten wurde in der zweiten Fraktion nachgewiesen. Im darauf folgenden Milliliter Elutionsmittel war der Anteil deutlich geringer. Mit weiteren Elutionsmittelmengen wurden nur noch sehr geringe Analytmengen eluiert. Es zeigte sich daher, dass die Elutionsmittelmenge von 2 ml bei einem Waschvolumen von 0,5 ml für die Elution mit Dimethylsulfoxid mit 1% Ameisensäurezusatz eine optimale Aufkonzentrierung der Probe gewährleistete.

Nach der Elution mit 4,5 ml Elutionsmittel sollte eine vollständige Elution der Analyten erreicht und optisch an einer Entfärbung des Festphasenmaterials erkennbar sein. Die Kartuschen blieben jedoch gelblich gefärbt, so dass angenommen wurde, dass Inhaltsstoffe der Aprikosenextrakte nicht von der Festphase desorbierten. Ob es sich dabei um Polyphenole handelt, wurde in den nachfolgenden Kapiteln untersucht.

2.1.3.3 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode für Aprikosenextrakte

Anhand einer Fünffachbestimmung sollte die Reproduzierbarkeit der bisher angewendeten SPE-Methode überprüft werden. Daher wurde, wie in Kapitel 3.4.3 beschrieben, verfahren und die Eluate miteinander verglichen. Am Beispiel von Caffeoylchinasäure und Rutin sollte die Reproduzierbarkeit aufgezeigt werden. Dargestellt ist wiederum das Verhältnis vom Analytsignal zu Auftragslösungsvolumen für jeden der 5 Versuchsansätze. Aus Abbildung 2.1.3.3-1 geht hervor, dass die Verhältnisse weitgehend konstant waren und somit die Reproduzierbarkeit der Methode bei einmaliger Verwendung der Kartuschen gegeben war.

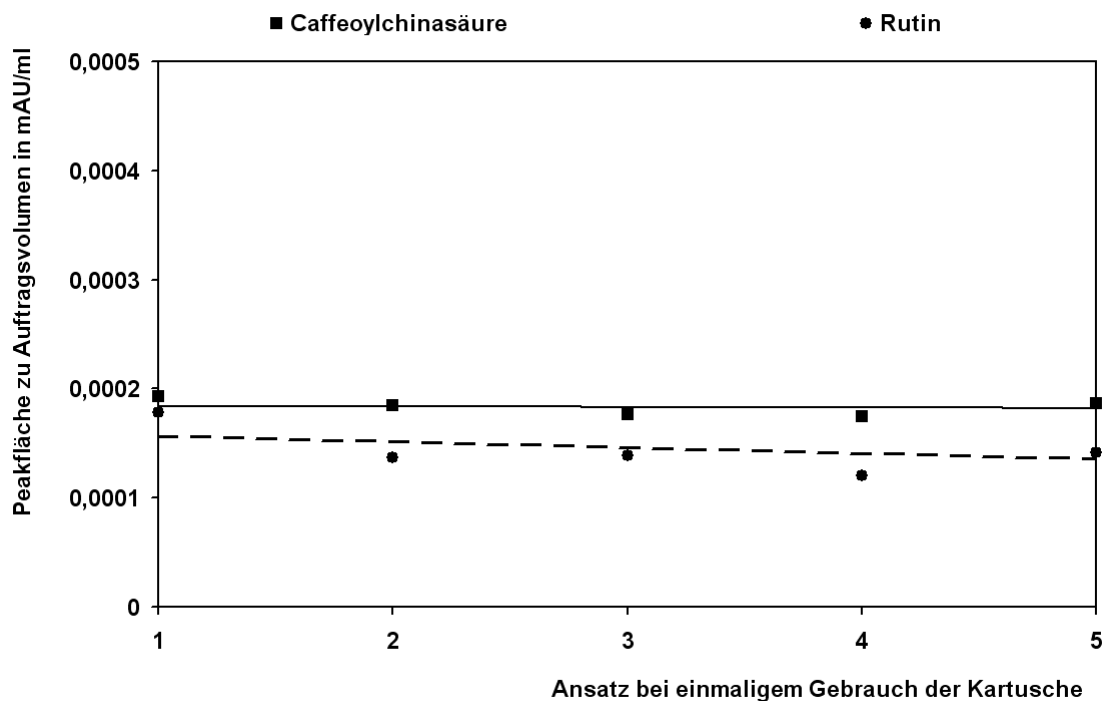


Abbildung 2.1.3.3-1 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode mittels ASPEC

2.1.3.4 Überprüfung einer wiederholten Verwendung von Polyamidkartuschen

Aufgrund einer möglichen Kostenersparnis sollte die Wiederverwendung von Polyamidkartuschen überprüft werden. Daher wurde wie bei der Prüfung der Reproduzierbarkeit verfahren, jedoch wurden die 5 Festphasenextraktionen mit der gleichen Polyamidkartusche durchgeführt. Sollte eine Wiederverwendung möglich sein, so müsste sich das gleiche Bild wie in Abbildung 2.1.3.3-1 zeigen. Dies war jedoch nicht der Fall. Für Rutin nahm das dargestellte Verhältnis in konstanten Schritten zu. Somit eluierte Rutin aus dem vorangegangenen Versuchsansatz bei der nachfolgenden Elution, umso mehr, je häufiger die Kartusche mit Probenextrakt beladen wurde. Eine Wiederverwendung der Polyamidkartuschen war daher bei Anwendung der bisherigen Methode auszuschließen.

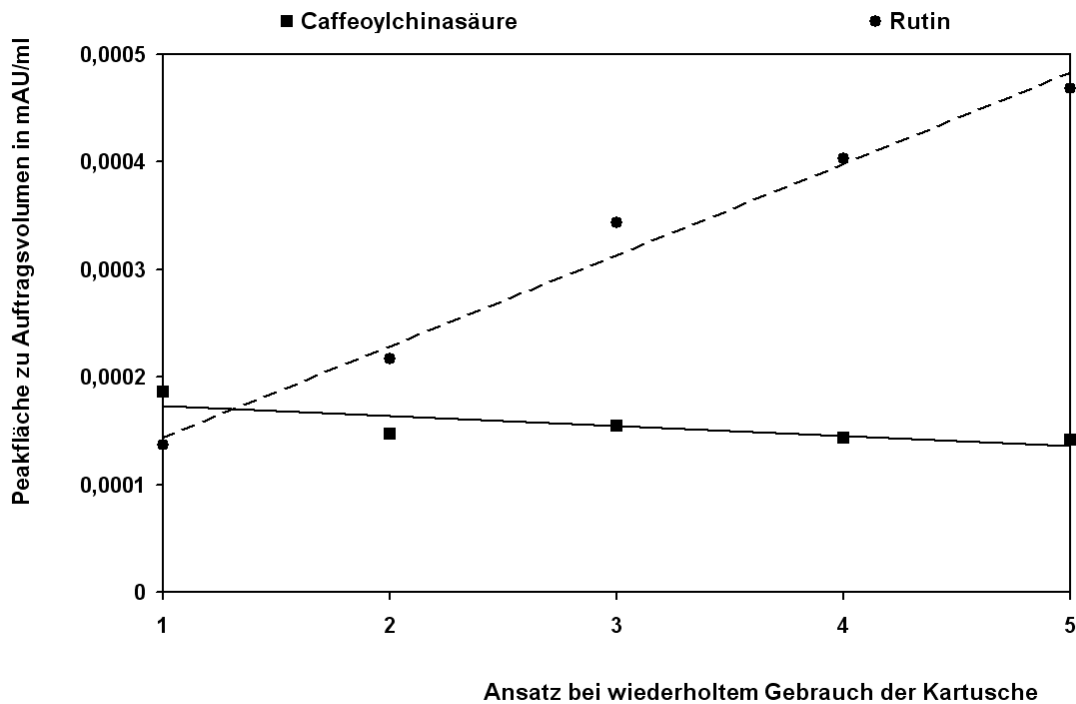


Abbildung 2.1.3.4-1 Überprüfung der Wiederverwendbarkeit von SPE-Kartuschen für Aprikosenextrakte mittels ASPEC

2.1.3.5 Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung

Der Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung war von besonderem Interesse, da vor der Festphasenextraktion der Aprikosenrohextrakt zur Hälfte aus Methanol bestand. Bei der manuellen Extraktion war das Volumen des Rohextraktes jedoch zu groß, als dass eine Verdünnung zur Reduzierung des organischen Anteils in Frage gekommen wäre. Bei der Extraktion mit der beschleunigten Lösemittelextraktion sollten die Volumina der Rohextrakte für eine Verdünnung geeignet sein. Daher wurde eine Untersuchungsreihe durchgeführt, bei der der Methanolanteil in der Auftragslösung variiert wurde. Betrachtet wurden Methanolanteile von 0% bis zu 50% in der Auftragslösung. Abbildung 2.1.3.5-1 zeigte, dass organische Anteile in der Auftragslösung die Aufkonzentrierung bei der SPE positiv beeinflussten. Für Caffeoylchinasäure und Rutin wirkten sich Anteile von 10% bis 12,5% Methanol in der Auftragslösung als optimal aus. Begründen ließ sich diese Beobachtung damit, dass einerseits eine ausreichende Löslichkeit der phenolischen Inhaltsstoffe in der Auftragslösung noch gegeben und andererseits die Elutionskraft der Auftragslösung bei diesen Methanolanteilen zu schwach war. Der optimale Bereich von 10% bis 12,5% entspricht dem Methanolanteil eines verdünnten ASE-Rohextraktes bei der Vorbereitung für die Festphasenextraktion. Somit konnte auf eine Entfernung des organischen Anteils in ASE-Rohextrakten verzichtet werden.

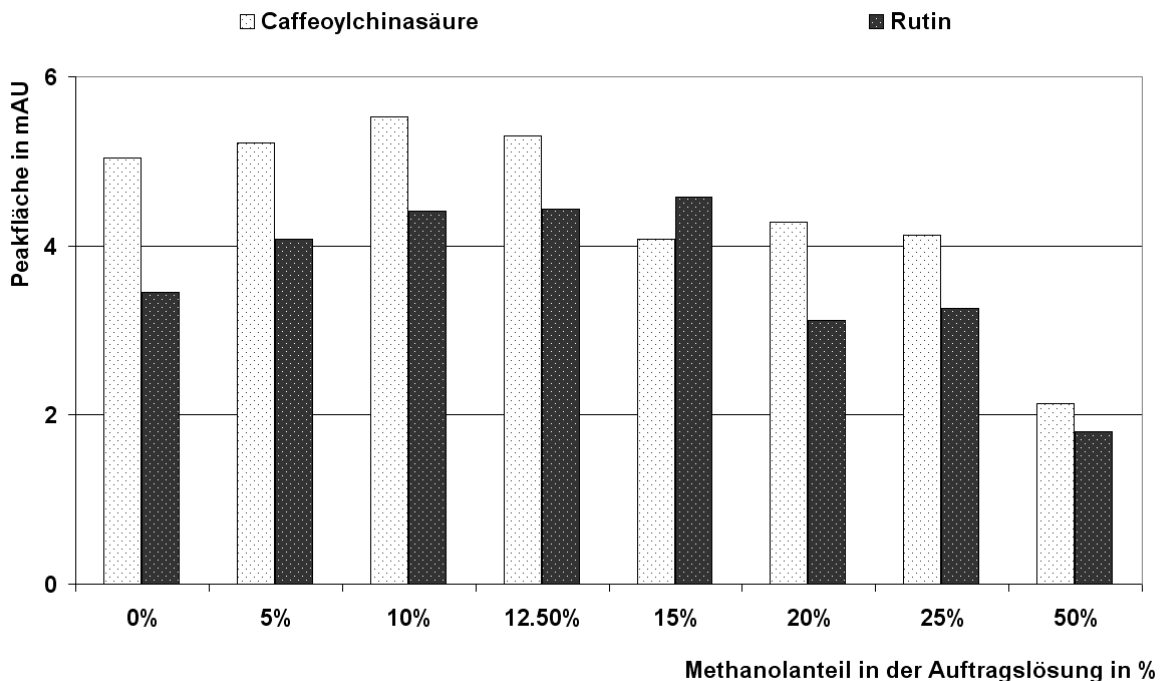


Abbildung 2.1.3.5-1 Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung bei der SPE von Aprikosenextrakten auf Polyamid mittels ASPEC

2.1.3.6 Bewertung der bisher angewandten Festphasenextraktionsmethode

Die vorab beschriebenen Testreihen zeigten, dass die bisher eingesetzte Festphasenextraktionsmethode [96] für die Untersuchung von phenolischen Inhaltsstoffen aus Aprikose noch deutliche Schwächen bei der Elution aufwies. Die Konditionierungs-, Wasch- und Auftragungsschritte der Methode führten nicht zu Verlusten und konnten daher unverändert übernommen werden. Dagegen musste eine auf das Probengut, bzw. die probenspezifischen Analyten, abgestimmte Weiterentwicklung erfolgen, damit eine vollständige Elution für die phenolischen Inhaltsstoffe erreicht werden konnte. Speziell eine Erhöhung der Elutionskraft von Dimethylsulfoxid mit 1%-igem Ameisensäurezusatz sollte zielführend sein. Als ein möglicher Ansatzpunkt wurde die Zugabe starker Säuren als Wasserstoffbrückenspalter vermutet. Eine Zugabe von starken Wasserstoffbrückenspaltern setzte beispielsweise erfolgreich an Proteine gebundene Polyphenole frei, so dass diese bei einer Proteinfällung nicht verloren gingen [98, 99, 100].

2.1.3.6 Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch

Bisher wurde als Elutionsmittel ein Gemisch aus Dimethylsulfoxid (DMSO) und Ameisensäure eingesetzt, dessen Elutionskraft jedoch nicht für die phenolischen Inhaltsstoffe der Aprikose ausreichte. Daher wurde neben Ameisensäure ein weiterer Säurezusatz, Trifluoressigsäure in den Konzentrationen 0,1%, 0,2% und 0,3% getestet. Da schon 1% Ameisensäure im Elutionsmittel enthalten war, wurde der weitere Säurezusatz möglichst gering gehalten. Die Stabilität der Analyten in der Elutionslösung sollte gegeben bleiben und wurde später überprüft und bestätigt. Das Säulendiagramm 2.1.3.7-1 zeigt die Ergebnisse der Versuchsreihe. Dargestellt ist die fraktionierte Elution von Caffeoylchinasäure und Rutin in Abhängigkeit vom Trifluoressigsäurezusatz.

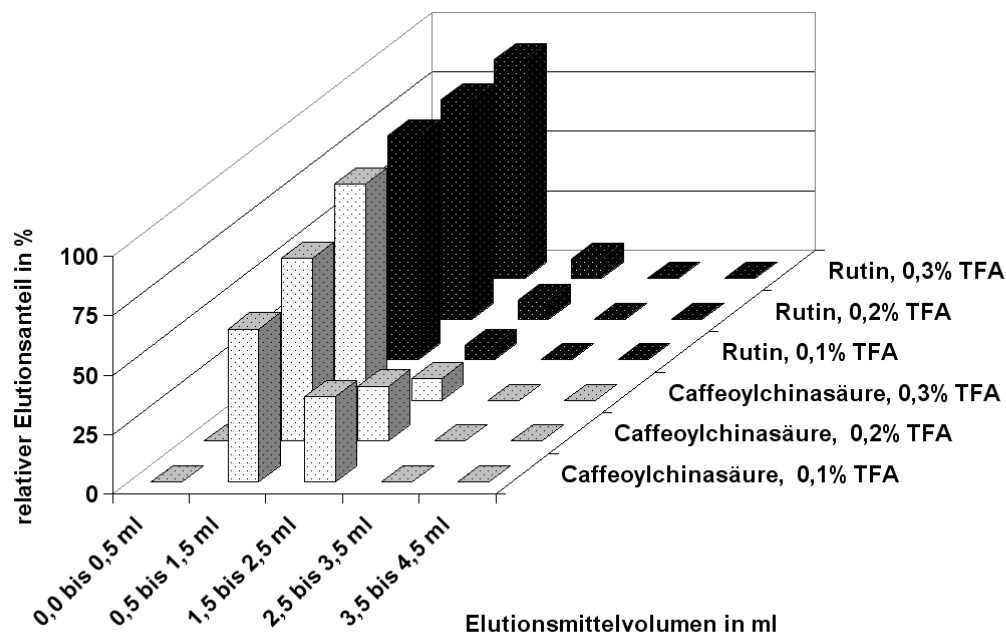


Abbildung 2.1.3.7-1 Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch bei der SPE von Caffeoylchinasäure und Rutin auf Polyamid mittels ASPEC

Die Elution der Phenolcarbonsäuren wird durch den Zusatz von Trifluoressigsäure stärker beeinflusst als bei Rutin. Je höher der Zusatz, desto kleiner war der Elutionsbereich, bzw. desto mehr Analyt war in der zweiten Fraktion (0,5 bis 1,5 ml) enthalten. Beim Quercetinrutinosid (Rutin) war kein signifikanter Unterschied im Elutionsverhalten zu beobachten. Der Analyt war bei den drei verschiedenen Trifluoressigsäurezugaben fast vollständig in der zweiten Fraktion enthalten. Somit wirkte sich die Zugabe des starken Wasserstoffbrückenspalterers auf beide phenolischen Verbindungsklassen positiv aus, jedoch erforderten die polareren Stoffe aufgrund der Ausbildung von stärkeren Wasserstoffbrückenbindungen zur stationären Phase einen höheren Zusatz, um mit möglichst wenig Elutionsmittel eine vollständige Desorption, bzw. Elution herbeizuführen. Zusätzlich zeigte die Abbildung 2.1.3.7-1, dass im Vergleich zu der für Malz optimierten Methode das benötigte Elutionsvolumen für eine Elution von über 90% der betrachteten Analyten auf die Hälfte reduziert werden konnte. Damit konnte eine Verdopplung der Signalintensität, bzw. eine Reduzierung der Probeneinwaage um 50% bei gleicher Signalintensität ermöglicht werden. Ein Vorteil, der sich sehr günstig auf die Extraktion kleiner Probenmengen wie bei der beschleunigten Lösungsmittlextraktion auswirkte.

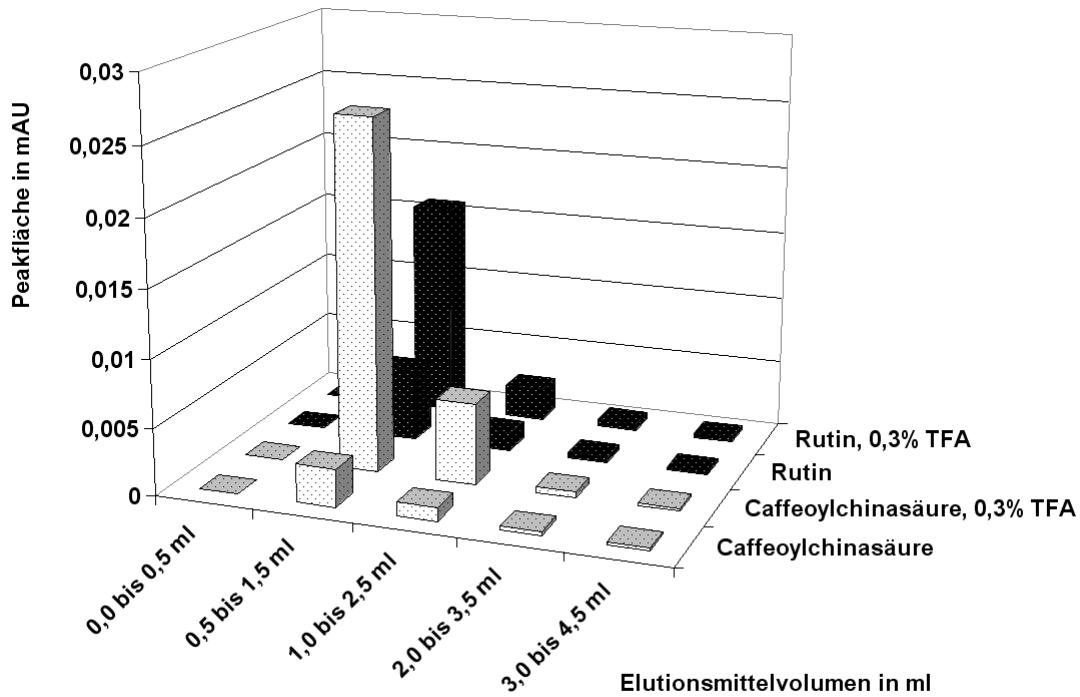


Abbildung 2.1.3.7-2 Vergleich der Elution von Rutin und Caffeoylchinasäure mit und ohne Zusatz von Trifluoressigsäure im Elutionsmittel bei der SPE auf Polyamid mittels ASPEC

Der direkte Vergleich beider Elutionsmittel in Abbildung 2.1.3.7-2 zeigt, dass nach der bisherigen Festphasenextraktionsmethode die Hauptanteile der phenolischen Inhaltsstoffe auf der Polyamidkartusche geblieben waren. Ein Ergebnis, welches im vorliegendem Ausmaß nicht erwartet wurde, da Elutionstests von Standardlösungen mit dem Elutionsmittelgemisch, bestehend aus DMSO und 1% Ameisensäure, eine ausreichende Elutionskraft und sehr gute Wiederfindungsraten ergaben. Somit haben nicht nur die Analyten selbst, sondern auch in den Auftragslösungen enthaltene Matrixkomponenten Einfluss auf die Adsorption der Analyten am Kartuschenmaterial. Diese Annahme wurde ebenfalls dadurch gestützt, dass rückverdünnte Aprikosenfestphasenextraktionseluat nach der Standardmethode deutlich besser eluiert wurden als Aprikosenrohextrakte vergleichbarer Konzentration. Stellte man die beiden Probenmatrices, für die jeweils die Festphasenextraktionsmethoden entwickelt wurden, gegenüber, so ist bei Fruchtexttrakten mit deutlich höheren Gehalten an gelösten organischen Fruchtsäuren und Zuckern zu rechnen als bei Malz. Dies könnte eine mögliche Begründung für das unterschiedliche Elutionsergebnis sein, müsste jedoch analytisch weiterverfolgt werden.

Wie erfolgreich die Optimierung der Festphasenextraktion für den Probenaufarbeitung von Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre gewesen ist, konnte direkt an den Chromatogrammen zweier identisch aufgearbeiteter Proben gezeigt werden, bei denen sich lediglich das Elutionsmittel der SPE wie zuvor beschrieben unterschied.

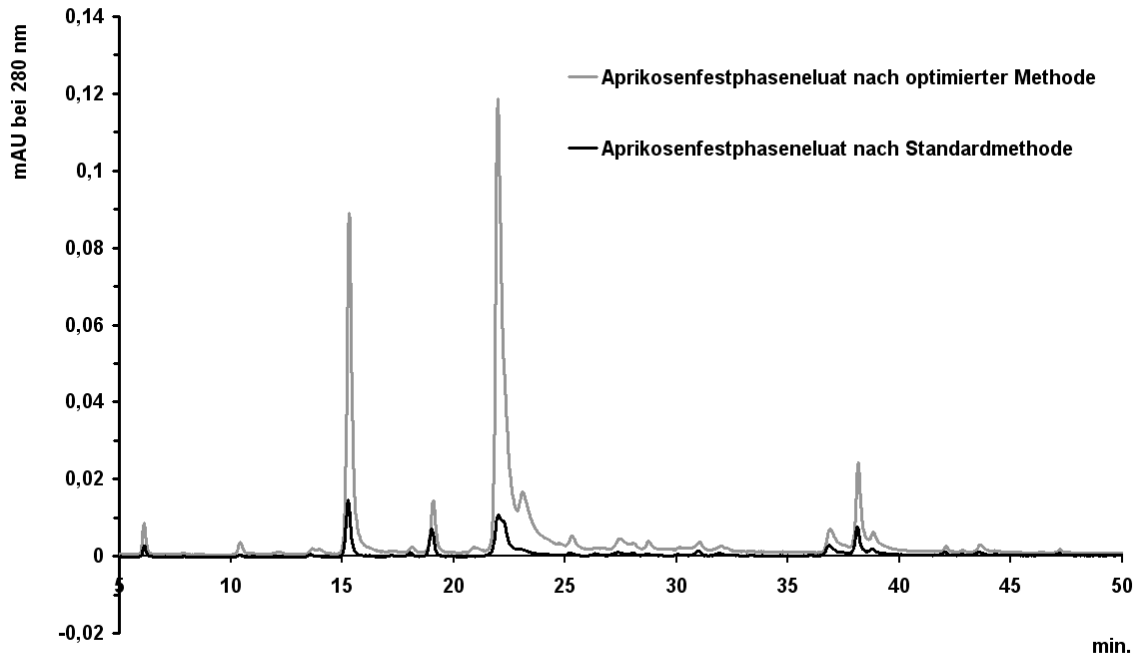


Abbildung 2.1.3.7-3 Vergleich zweier Aprikosenfestphaseneluat nach einer Standardmethode für Malz und einer auf die Probenmatrix Aprikose optimierten Methode auf Polyamid mittels ASPEC

Durch die Zugabe einer weiteren starken Säure zum Elutionsmittel musste überprüft werden, ob die Aprikosenfestphaseneluat mit den nun erhöhten Säuregehalten immer noch stabil waren, und es nicht zu säurebedingter Hydrolyse, Umlagerungen oder sonstigen Veränderungen bzw. Abnahmen im Eluat kam. Daher wurden Stabilitätstests durchgeführt.

2.1.3.7 Überprüfung der Lagerstabilität

Aufgrund des zusätzlichen Säurezusatzes war eine Überprüfung der Säurestabilität der Aprikosenfestphaseneluat erforderlich. Daher wurden einerseits direkt hergestellte sowie bei -80°C gelagerte Aprikosenfestphaseneluat chromatographisch untersucht und hinsichtlich möglicher Veränderungen im Flavonoidspektrums verglichen. Sollte beispielsweise eine

Hydrolyse glykosidischer Bindungen aufgetreten sein, so müssten ebenfalls die frei gesetzten Aglykone als Signale in den Chromatogrammen auftreten und deren Signalintensität weiter mit der Lagerungszeit zunehmen. Zusätzlich müssten sich die Peakflächenverhältnisse verändern. In Abbildung 2.1.3.8-1 werden Peakflächen und das jeweilige Verhältnis von zwei Analyten aus der Gruppe der Phenolcarbonsäuren und von zwei Verbindungen aus der Gruppe der Flavonolglykoside gegenüber gestellt.

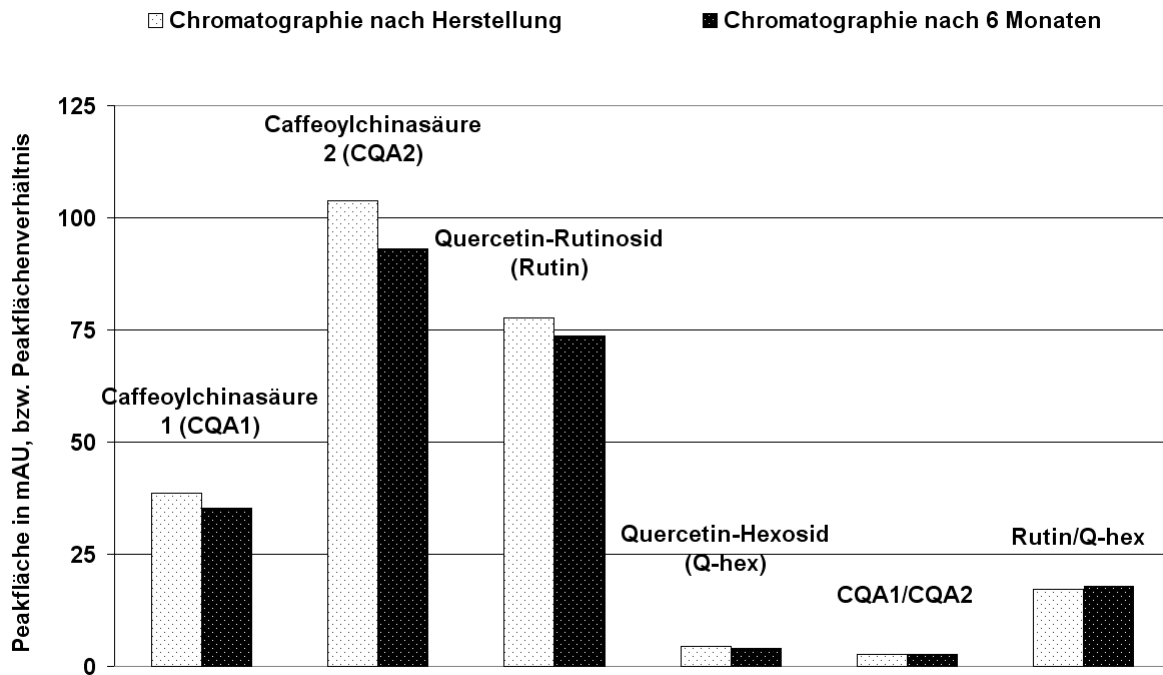


Abbildung 2.1.3.8-1 Lagerstabilität eines Aprikosenfestphaseneluates

Die hellen Balken wurden direkt nach der Probenaufarbeitung ermittelt, die dunklen Balken aus chromatographischen Daten des gleichen Aprikosenfestphaseneluates, das 6 Monate bei -80°C gelagert wurde. Klar zu erkennen ist, dass die Peakflächenverhältnisse konstant blieben und damit eine Lagerstabilität gegeben ist. Die Peakflächen der gelagerten Probenlösung sind absolut betrachtet kleiner als bei der direkten Messung, jedoch kann diese Beobachtung auch auf die Reproduzierbarkeit des gesamten chromatographischen Systems zurückzuführen sein. Alternativ müsste ein gleichmäßiger Abbau aller phenolischen Inhaltsstoffe aufgrund der weiterhin konstanten Peakflächenverhältnisse stattgefunden haben.

In einem weiteren Versuchsansatz wurden Phenolcarbonsäuren hinsichtlich ihrer thermischen Stabilität unter Einfluss von Säurezugaben überprüft. Chlorogensäurestandards wurden in verschiedenen angesäuerten Lösungsmitteln angesetzt. Ein Ansatz wurde direkt

chromatographisch untersucht, ein weiterer einer definierten Temperaturbelastung von 50° C für eine Stunde ausgesetzt. Anschließend wurde das Chromatogramm des thermisch belasteten Standards aufgenommen und mit dem der unbelasteten Standardlösung verglichen. Die Ergebnisse der Versuchsserie werden in Abbildung 2.1.3.8-2 zusammengefasst.

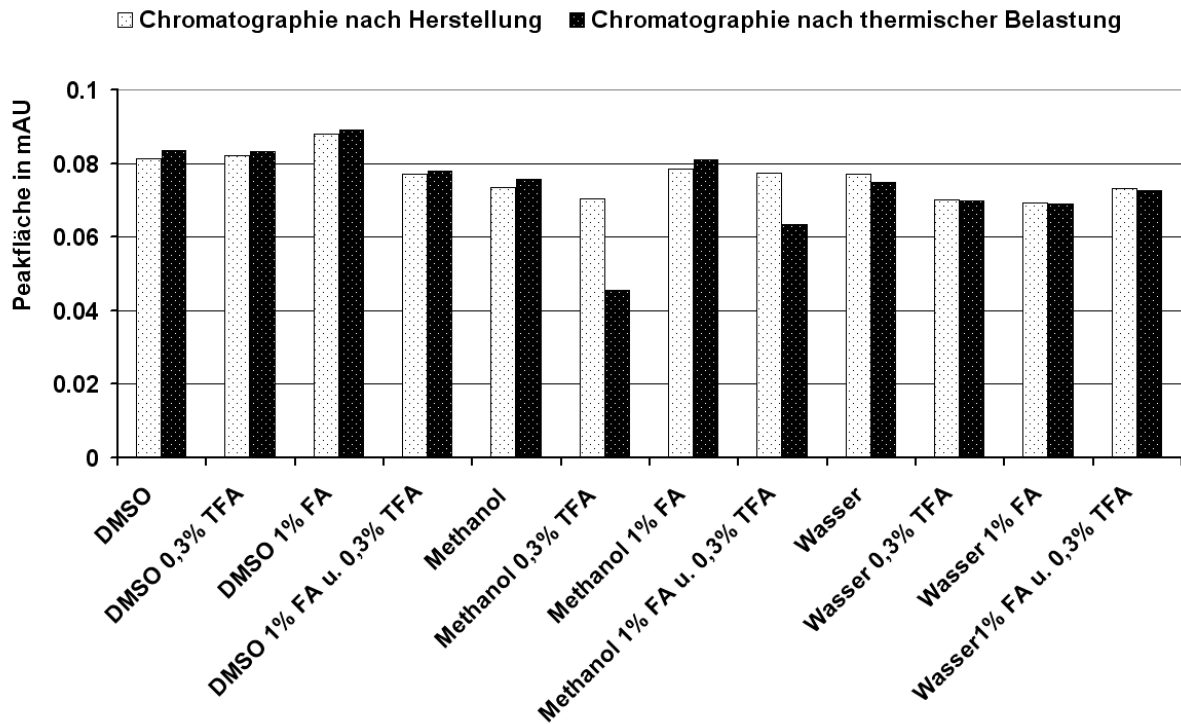


Abbildung 2.1.3.8-2 Einfluss von thermischer Belastung in unterschiedlich angesäuerten Lösungsmitteln auf Chlorogensäure

In Wasser und Dimethylsulfoxid spielte es keine Rolle, ob und in welcher Kombination ein Säurezusatz erfolgte. Es konnte keine Veränderung festgestellt werden. In Methanol war es jedoch von Bedeutung, ob Trifluoressigsäure oder Ameisensäure zugesetzt wurde. Die Abnahme bei der Zugabe von TFA war als alleiniger Säurezusatz ausgeprägter als in Kombination mit Ameisensäure, die wiederum als alleiniger Zusatz keine Veränderungen zeigte. Der Abnahme musste eine durch die TFA begünstigte Umlagerungsreaktion zugrunde liegen, da ein weiteres Signal in den jeweiligen Chromatogrammen detektiert wurde (siehe Abbildung 2.1.3.8-3). Das Signal war in den Chromatogrammen nach der Temperaturbelastung unter Einfluss von TFA noch größer, so dass man davon ausgehen konnte, dass die Reaktion thermisch begünstigt war. Für die Probenvorbereitung hatte die Instabilität von Chlorogensäure unter Einfluss von TFA in Methanol jedoch keine Auswirkungen, da eine Elution mit Methanol von Polyamid nicht

durchgeführt wurde. Die Elutionskraft mit Methanol von Polyamid führte zu keinen zufriedenstellenden quantitativen Elutionsergebnissen. Insgesamt bestätigten die Ergebnisse des zweiten Versuchsansatzes, dass der Säurezusatz in Höhe von 1% Ameisensäure und 0,3% Trifluoressigsäure keine negativen Auswirkungen in Dimethylsulfoxid hatte.

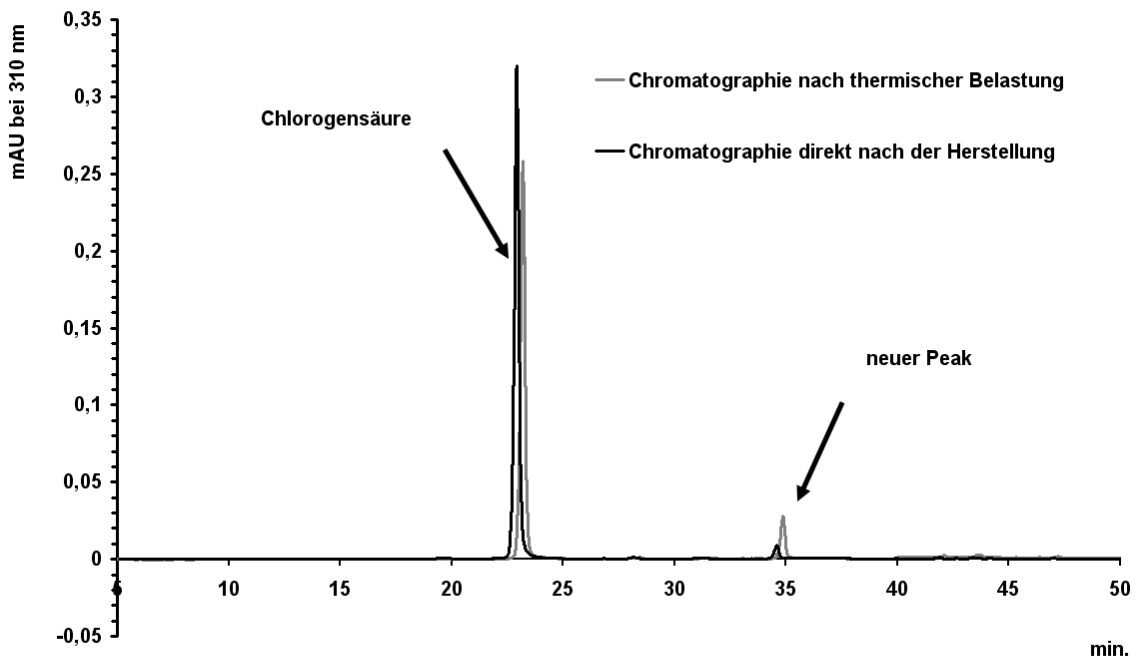


Abbildung 2.1.3.8-3 Chromatogramme von methanolischen Chlorogensäurestandards mit Trifluoressigsäurezusatz direkt nach Herstellung sowie nach thermischer Belastung

2.1.4 Optimierung der chromatographischen Trennung

Für die Bestimmung von eindeutigen Polyphenolpeakflächenverhältnissen benötigt man basisliniengetrennte Peaks. Andernfalls würden coeluiierende Substanzsignale addiert und als Summe bei der Verhältnisbildung eingesetzt. Die Analytspezifität der Verhältnisse ginge dabei verloren, da ein Einfluss potentiell gegenläufig zu- oder abnehmender coeluiierender Substanzen nicht betrachtet werden könnte. Ebenfalls wirkt sich eine unzureichende chromatographische Trennung dahingehend aus, dass die Anzahl spezifischer Analytverhältnisse abnimmt und damit ebenso die Wahrscheinlichkeit einer möglichen Sorten- und Herkunftsdifferenzierung des Probengutes.

Daher wurde ein stationärer Phasenvergleich zur Verbesserung der angewandten Chromatographiebedingungen durchgeführt. Ausgehend von den bisher etablierten chromatographischen Bedingungen wurden weitere acht polar modifizierte stationäre Phasen getestet. Dabei wurde auf den Einsatz eines Mischstandards verzichtet, sondern ein Aprikosenfestphaseneluat verwendet, um die in den Aprikoseneluaten vorliegenden chromatographischen Trennprobleme direkt betrachten zu können. Zuvor erhaltene massenspektrometrische Erkenntnisse wiesen darauf hin, dass der Fokus auf eine verbesserte Trennung der Phenolcarbonsäuren und der Proanthocyanidine ausgerichtet werden sollte. Auch wenn nicht unbedingt alle stationären Phasen aufgrund unterschiedlicher Säulendimensionen und Partikelgrößen direkt miteinander vergleichbar waren, sollte der Test einen ersten Eindruck hinsichtlich der Trennungsprobleme liefern, um entscheiden zu können, mit welchen der Phasen eine weitere Optimierung unter akzeptablem Aufwand sinnvoll erschien. Begonnen wurde mit der Phenomenex Aqua®, die jedoch für die Phenolcarbonsäuren und Proanthocyanidine bei optimierter chromatographischer Methode ein unzureichendes Trennergebnis, wie in Abbildung 2.1.4-1 zu sehen, lieferte. Weitere Abbildungen zum Vergleich werden im Anhang unter A1 bis A-8 (s. Seite 131 ff.) aufgeführt.

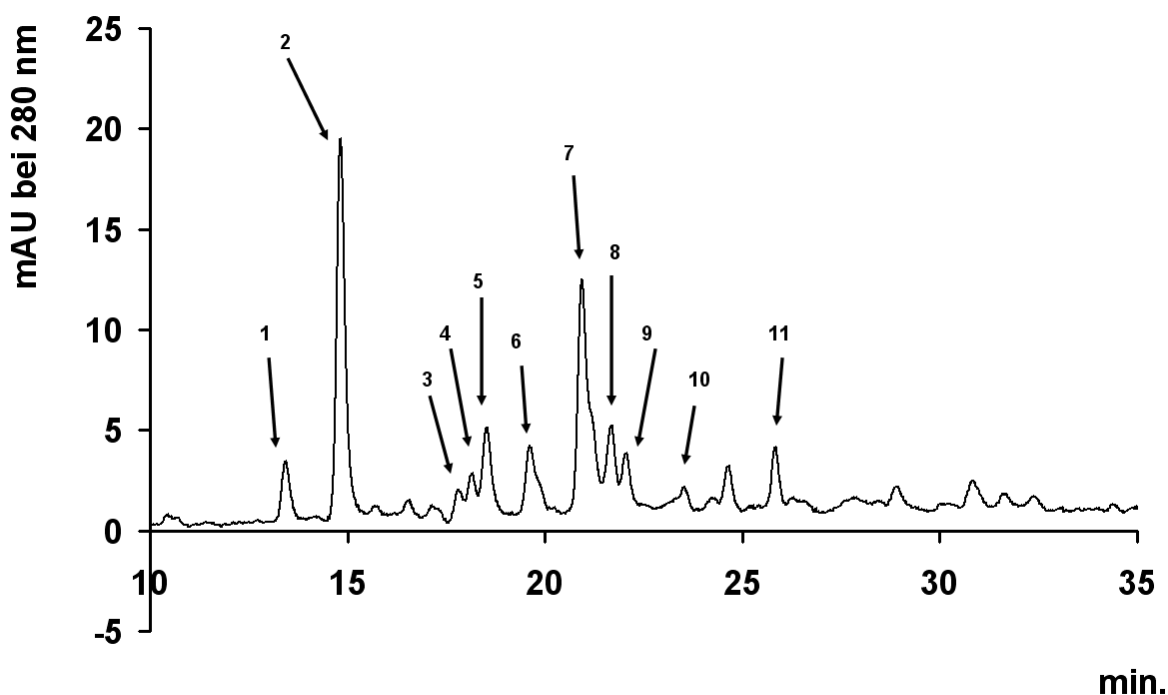


Abbildung 2.1.4-1 Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Phenomenex Aqua® nach 3.5.3

Tabelle 2.1.4-1 **Beschriftung der chromatographischen Trennung von Abbildung 2.1.4-1**

Nummer	Substanz
1	3-Caffeoylchinasäure
2	3-Caffeoylchinasäure
3	3-pCoumaroylchinasäure
4	Fla-Dimer
5	3-pCoumaroylchinasäure
6	Catechin
7	5-Caffeoylchinasäure
8	3-Feruloylchinasäure
9	4-Caffeoylchinasäure
10	Fla-Dimer
11	Epicatechin

Bei der Synergie Fusion RP von Phenomenex wurde aufgrund einer breiten Peakform bei kleinen Retentionszeiten auf eine weitere Methodenoptimierung verzichtet. Auf weitere Optimierungsversuche mit den Säulen Synergie Polar RP von Phenomenex[®], der Fluophase PFP und der Hypurity Advance von Thermo Fisher Scientific[®] und die Polaris Ether von Varian[®] wurde ebenfalls verzichtet. Viel versprechend sahen die Ergebnisse für die Nucleodur Sphinx RP von Macherey Nagel, für die Ascentis RP-Amide von Supelco[®] und für die Aquasil C18 von Thermo Fisher Scientific[®] (siehe Anhang A-2, A-3 und A-6, Seite 131 ff.) aus, die bei weiteren Optimierungsansätzen eine sehr gute chromatographische Trennung der Analyten zeigten. Für die weiteren Untersuchungen wurde die Ascentis RP-Amide von Supelco[®] ausgewählt, deren Optimierungsergebnis in der nachfolgenden Abbildung dargestellt wird. Die chromatographischen Bedingungen sind in 3.5.3 beschrieben.

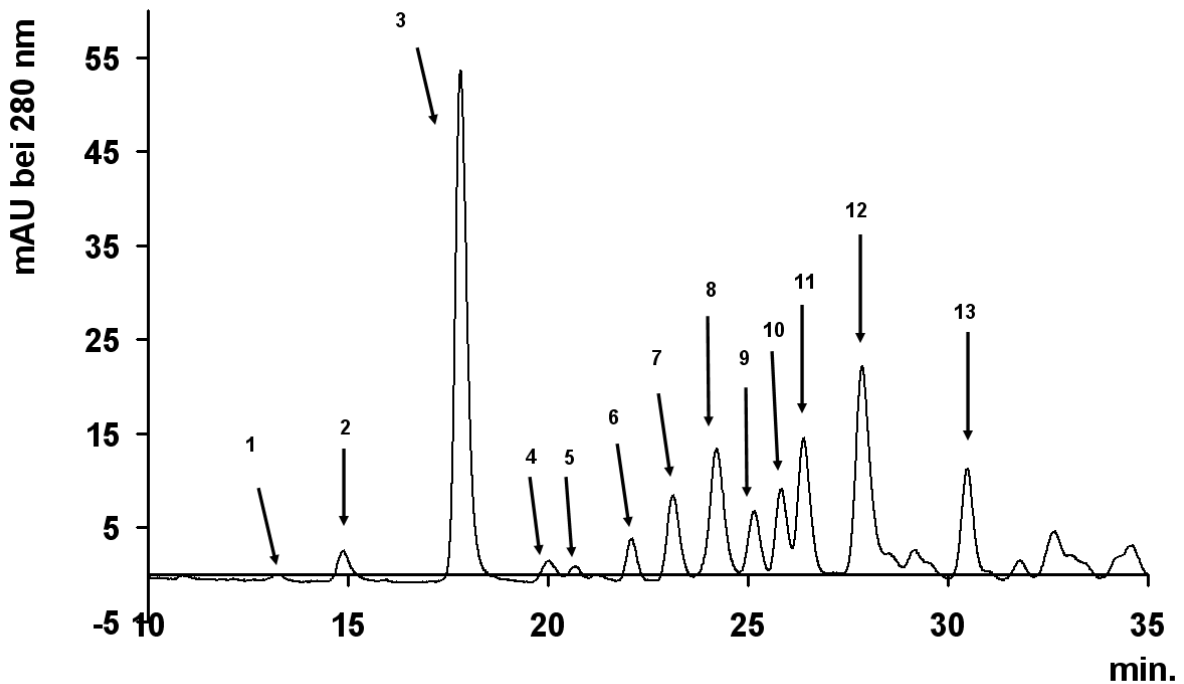


Abbildung 2.1.4-2 Chromatographische Trennung eines Aprikosensfestphaseneluates auf der Ascentis RP-Amide von Supelco[®], (chromatographische Bedingungen siehe 3.5.3)

Tabelle 2.1.4-2 Beschriftung der chromatographischen Trennung von Abbildung 2.1.4-2

Nummer	Substanz
1	Fla-Trimer
2	3-Caffeoylchinasäure
3	3-Caffeoylchinasäure
4	3-pCoumaroylchinasäure
5	3-Feruloylchinasäure
6	Fla-Dimer
7	3-pCoumaroylchinasäure
8	Catechin
9	Fla-Dimer
10	3-Feruloylchinasäure
11	4-Caffeoylchinasäure
12	5-Caffeoylchinasäure
13	Epicatechin

Die Optimierung der chromatographischen Bedingungen im Retentionszeitfenster 17 bis 23 min., in dem zuvor 6 Phenolcarbonsäuren und ein Proanthocyanidine coeluierten, wurde wesentlich verbessert. Dadurch konnten neue spezifische Peakflächenverhältnisse gebildet

werden und so die Anzahl bei der vorliegenden Probe bei den Proanthocyanidinen von 3 auf 6 und bei den Phenolcarbonsäuren von zuvor 10 auf 28 spezifische Analytverhältnisse gesteigert werden. Im Hinblick auf die Erstellung und Leistungsfähigkeit einer Analytverhältnisdatenbank ist festzustellen, dass beinahe die maximale Anzahl spezifischer Polyphenolpeakflächenverhältnisse der beiden hier betrachteten Substanzgruppen erreicht wurde. Der Einfluss potentiell gegenläufiger zu – und abnehmender coeluierender Analyten konnte weitgehend ausgeschlossen werden, so dass nun deutlich mehr mögliche Differenzierungsparameter für eine Authentizitätsprüfung vorlagen. Dies ist die Grundvoraussetzung für die Erstellung und die Leistungsfähigkeit einer Polyphenolpeakflächenverhältnisdatenbank, die noch jahrelang für eine Authentizitätsprüfung herangezogen werden kann.

2.1.5 Selektive Anreicherung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten erste Stabilisotopenmessungen von ^{13}C und ^{18}O von isolierten Polyphenolen aus Aprikosen durchgeführt werden. Die Werte sollten anschließend mit denen von Makrokomponenten der Aprikose verglichen werden. Für die Isolierung stand ein analytisches HPLC-System mit einem Schaltventil zur Verfügung, mit dem eine Substanz aus einem HPLC-Lauf aufgefangen werden konnte. Wurden hochangereicherte Analytlösungen injiziert, so führte dies zu einer Belastung und Überladung der stationären Phase bis zu irreversiblen Schäden. Somit mussten für eine erfolgreiche Isolierung die Analyten zuvor selektiv angereichert werden, um einerseits den Erfordernissen der HPLC zu genügen und andererseits nicht alle weiteren phenolischen Substanzen des Probenextraktes zu verlieren. Höchste Priorität hatte jedoch die Vorgabe, dass jede Maßnahme immer zu einer vollständigen Anreicherung oder Isolierung des Analyten führte, um eine Verfälschung aufgrund analytischer Isotopendiskriminierung auszuschließen. Betrachtet man das Flavonoidspektrum von Aprikosen, so dominieren im Wesentlichen die Flavonolglykoside, die Phenolcarbonsäuren sowie die Flavan-3-ole und Proanthocyanidine je nach Sorte. Phenolcarbonsäuren und Flavan-3-ole sowie die Proanthocyanidine der Aprikose sind im RP-Chromatogramm aufgrund ihres polaren Charakters im vorderen Chromatogrammabschnitt vertreten, hingegen weist die Gruppe der Flavonolglykoside wesentlich höhere Retentionszeiten auf. Die Leitsubstanz der Flavonolglykoside in der Aprikose ist Quercetinrutinosid, die weiteren Verbindungen sind von deutlich geringerem Gehalt. Daher erschien Quercetinrutinosid als am besten für eine erste Isolierung geeignet.

Um die erforderlichen Mengen von mehreren Milligramm Quercetinrutosid für mehrfache Stabilisotopenmessungen aus Aprikosen isolieren zu können, bedurfte es einer selektiven Festphasenextraktion der Analyten aus großen methanolischen oder wässrigen Rohextraktvolumina. Beide Möglichkeiten, Stoffe gezielt an die stationäre Phase binden zu lassen sowie einen gelenkten „Durchbruch“ von Analyten zu erzielen, wurden in Erwägung gezogen.

Begonnen wurde mit der Untersuchung der Elution von Quercetinrutosid von Polyamid. Es sollte daher überprüft werden, wie sich ein Wasserzusatz zum Elutionsmittel Dimethylsulfoxid mit 1% Ameisensäure- und 0,3% Trifluoressigsäurezusatz aufgrund der Polaritätszunahme auswirkte. Der organische Anteil wurde in 10%-Schritten über den gesamten Bereich von 0% bis 100% gesteigert, der Säurezusatz blieb konstant. Eluiert wurde jeweils in 6 Elutionsfraktionen a 0,5 ml, so dass man einen umfassenden Überblick über die Elution von phenolischen Inhaltsstoffen erhielt. In Abbildung 2.1.5-1 ist die Elution von Quercetinrutosid dargestellt. Jede aufgeführte Säule entspricht dem absoluten Flächensignal von Rutin in der jeweiligen Eluatfraktion.

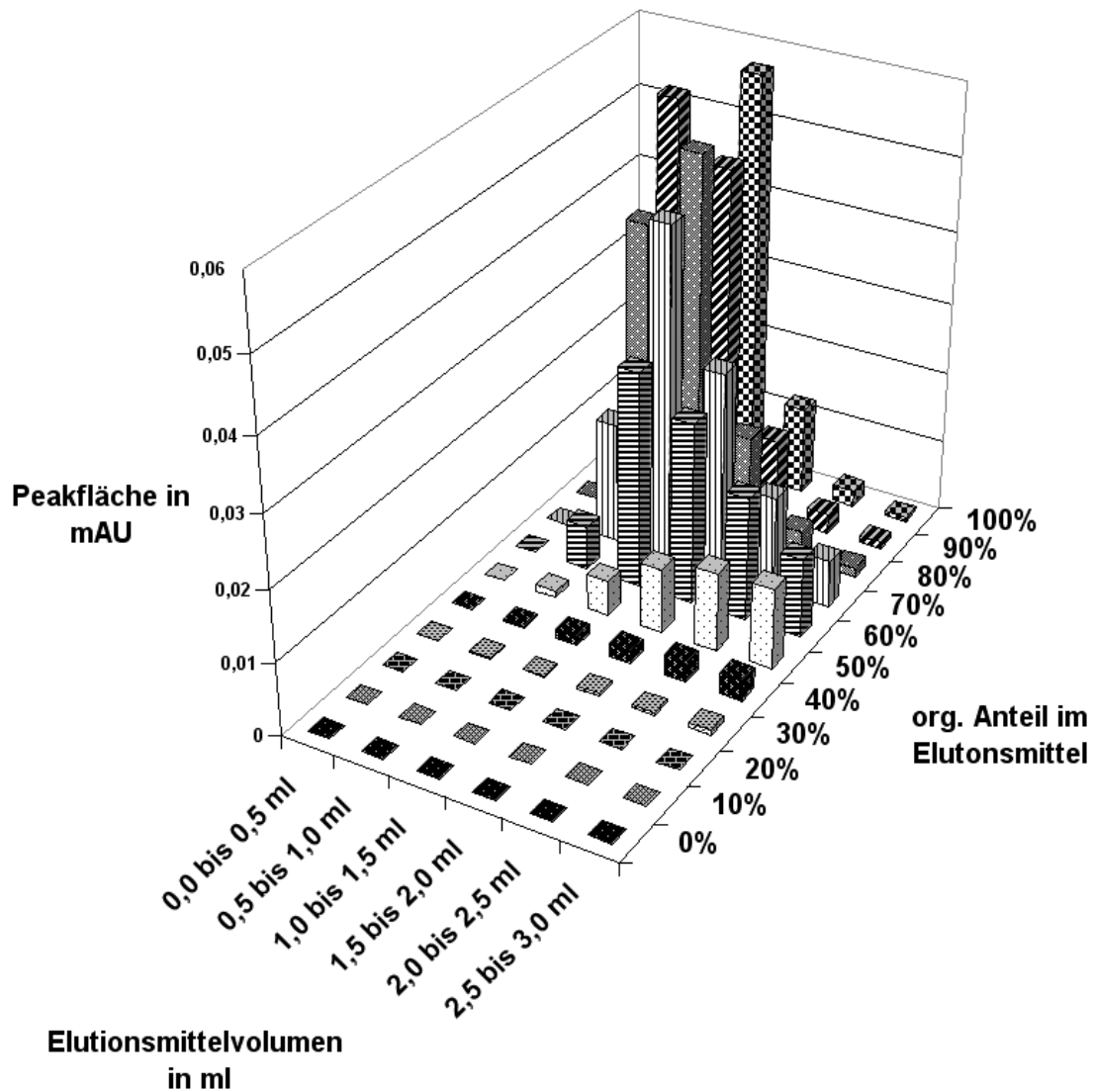


Abbildung 2.1.5-1 Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Quercetinrutinosid von Polyamid

Bis zu einem organischen Anteil von 30% DMSO konnte fast keine Elution von Rutin festgestellt werden. Die Elution setzte erst ab 40% DMSO-Anteil langsam ein und verbesserte sich mit steigendem organischem Anteil. Erhöhte man den organischen Anteil um weitere 10% bis 20%, so steigerte sich der eluierte Anteil Rutin in den aufgefangenen Eluatvolumina kontinuierlich. Für eine vollständige Elution müsste jedoch mit einem Vielfachen des eingesetzten Elutionsvolumens eluiert werden. Höhere organische Anteile verringern das benötigte Elutionsvolumen beträchtlich bis zu der für die analytische Aufarbeitung geforderten vollständigen Elution in kleinsten Elutionsvolumina.

Analog wurde die Elution für Caffeoylchinasäure untersucht. Der Elutionsverlauf ist in Abbildung 2.1.5-2 beschrieben. Das Elutionsverhalten von Caffeoylchinasäure wies deutliche Unterschiede zu Rutin bei geringen organischen Anteilen im Elutionsmittelgemisch auf. Ab einem 50%-DMSO-Anteil entsprachen die anteiligen Mengen und die Verteilung des Caffeoylchinasäureflächensignals denen von Rutin. Mit Elutionsmitteln, die einen organischen Anteil an DMSO von über 50% aufweisen, war eine selektive Anreicherung nicht möglich. Hingegen sollte eine selektive Anreicherung von Caffeoylchinasäure und Rutin mit einem Elutionsmittelgemisch von 30%-DMSO realisierbar sein. Zuerst würde Caffeoylchinasäure eluiert, anschließend Rutin und die verbliebenen Analyten. Eine nachfolgende Festphasenextraktion des wässrig rückverdünnten Caffeoylchinasäureeluats unter analytischen Bedingungen könnte dann zusätzlich die geforderte Aufkonzentrierung gewährleisten.

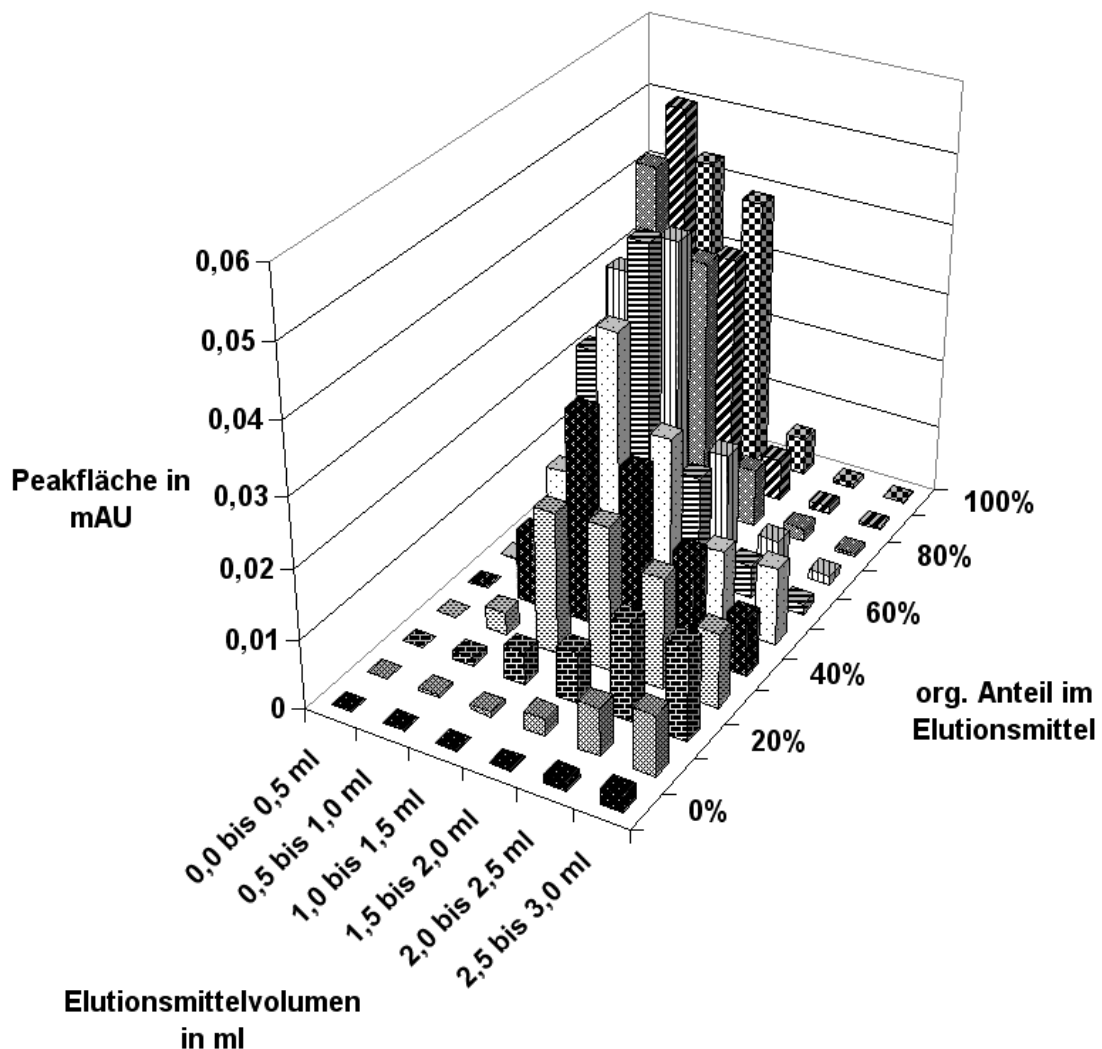


Abbildung 2.1.5-2 Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Caffeoylchinasäure von Polyamid

Eine Möglichkeit zur selektiven Anreicherung von Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykosiden aus Aprikosen bot somit der Einsatz der Festphasenextraktion auf Polyamid. Innerhalb einer Polyphenolkategorie reichen die Polaritätsunterschiede jedoch nicht aus, so dass im Anschluss auf weitere analytische Schritte mit größerer Trennleistung nicht verzichtet werden konnte. Durch die geleistete Vorarbeit verringerten sich jedoch die Leistungsanforderungen an das chromatographische System soweit, dass kurze isokratische Methoden für die gewünschte Trennung innerhalb der Gruppe der Flavonolglykoside ausreichten. Zeitaufwendige Wasch- und Equilibrierungsphasen entfielen (siehe Kapitel 3.8).

Neben Polyamid wurde auch polar modifiziertes C18-Hydra-Material für eine Anreicherung getestet. Vorteilhaft erschien hier, dass die Elution mit Methanol oder Methanol/Wassergemischen ohne Säurezusatz durchgeführt werden konnte. Der organische Anteil des Eluats könnte im Anschluss entfernt werden und würde zu einer weiteren Aufkonzentrierung der Analytsubstanzen führen.

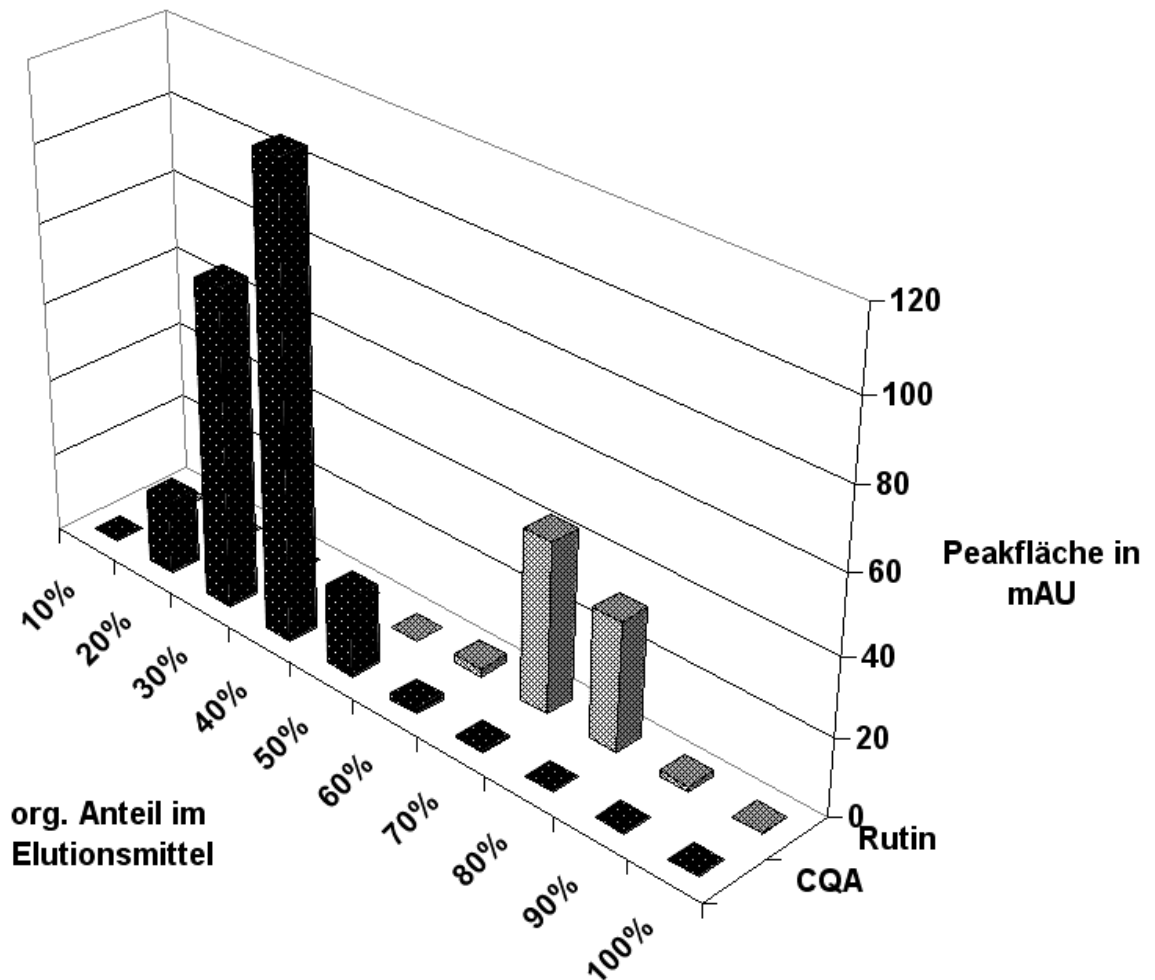


Abbildung 2.1.5-3 Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Caffeoylchinasäure und Rutin von C18-Hydra-Material

Der Elutionsverlauf von Rutin und Caffeoylchinasäure wurde mit einem verkürzten Untersuchungsansatz geprüft. Im Gegensatz zur Elution von Polyamid wurde nur eine SPE-Kartusche eingesetzt. Die Kartusche wurde mit 10 ml Elutionsmittel eluiert, dabei enthielt der erste Milliliter 10% Methanol, der zweite ml 20%, usw. Im Gegensatz zum vorherigen Versuchsansatz beruht nun das Elutionsergebnis auf der Elutionswirkung der jeweiligen Elutionsmittelfraktion, aber auch auf der „Vorelution“ durch die zuvor aufgetragenen Elutionsvolumina. Abbildung 2.1.5-3 stellt das Elutionsergebnis der Caffeoylchinasäure direkt dem des Rutins gegenüber. Auch von C18-Hydrakartuschenmaterial erscheint eine selektive Anreicherung möglich. Nach der 5. Elutionsmittelgabe war die Elution der Caffeoylchinasäure abgeschlossen, die von Rutin umfasste den Bereich des 7. bis 8. Milliliters. Wie die nachfolgende Abbildung 2.1.5-4 zeigt, konnte eine selektive Anreicherung erreicht werden. Die Zielvorgabe, die Flavonolglykoside und damit auch Rutin anzureichern, konnte erfolgreich mit Hilfe der SPE erfüllt werden. Die Anreicherung beruhte auf einer Vorelution mit 30%-igem Methanol (schwarz dargestelltes Chromatogramm) und einer anschließenden Elution der Flavonolglykoside mit 70%-igem Methanol (hellgrau dargestelltes Chromatogramm). Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde aufgrund der beschriebenen Vorteile für eine selektive Anreicherung von Rutin mit einer SPE auf C18-Hydra-Material gearbeitet.

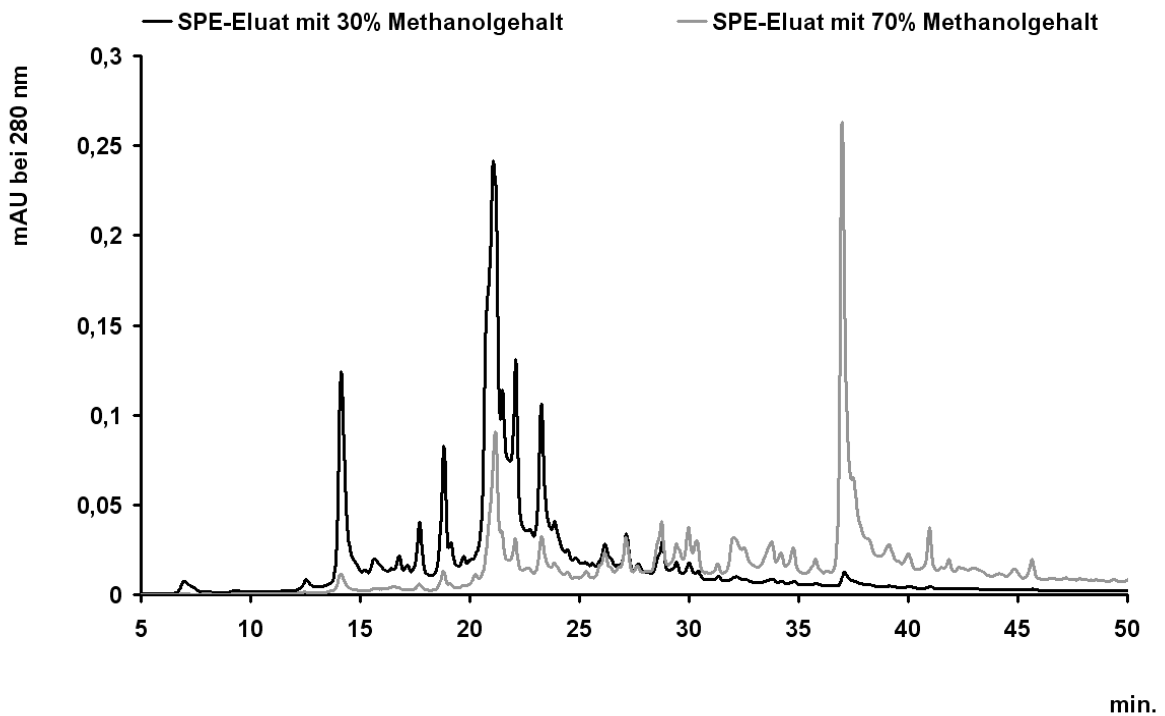


Abbildung 2.1.5-4 Anreicherungsergebnis der Phenolcarbonsäuren und der Flavonolglykoside mit einer SPE von C18-Hydra-Material

Die Beurteilung der Authentizität von Früchten und Fruchtprodukten mit Hilfe von Stabilisotopenanalytik in Kombination mit der Polyphenolanalytik erfolgt in Kapitel 2.6.

2.2 Flavonoidprofile in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Flavonoide in Aprikosen und verarbeiteten Aprikosenprodukten sind mehrfach beschrieben worden [45, 46, 48, 50, 54, 55, 101, 102, 103, 109]. Einen detaillierten Überblick zeigt Tabelle 2.2-1. Im Wesentlichen wurden Vertreter von vier Substanzklassen, die Flavonolglykoside, die Phenolcarbonsäuren, die Flavanole und die Proanthocyanidine, identifiziert. Bisher wurde kein umfassender Überblick über das gesamte Flavonoidspektrum der Aprikose dargestellt. Stattdessen hat man sich häufig auf ein oder zwei Substanzklassen und deren Leitsubstanzen konzentriert. Dies lässt sich sicherlich einerseits damit begründen, dass die hochleistungsflüssigkeitschromatographische und massenspektrometrische Messtechnik erst nach und nach die Identifizierung zuließen, aber auch andererseits damit, dass anspruchsvolle analytische Methoden erforderlich sind, um bei allen genannten Substanzklassen ein gutes Trennergebnis für eine Identifizierung zu erreichen.

Tabelle 2.2-1 **Bisher in Aprikosen und Aprikosenkonfitüre beschriebene phenolische Substanzen**

<i>Substanz</i>	<i>Literatur</i>
3-Caffeoylchinasäure	46, 55, 104, 101, 102, 103, 54, 50, 109
5-Caffeoylchinasäure	46, 104, 103, 50
3-pCoumaroylchinasäure	46, 49
3-Feruloylchinasäure	46
Caffeesäure	101, 102, 54
p-Coumarsäure	101, 102, 54
Ferulasäure	101, 102, 54
Catechin	46, 101, 104, 54, 50, 109, 110
Epicatechin	46, 101, 104, 54, 50, 109, 110
Procyanidin B1	104, 110
Procyanidin B2	104, 109,
Procyanidin B3	110
Procyanidin B4	104, 109
Procyanidin B7	110
Procyanidin C1	109, 110
Cyanidinhexosid	104
Cyanidinrutosid	104
Quercetinrutosid	55, 54, 49, 45, 48, 101, 102, 103, 54, 50, 109
Quercetinhexosid	45, 48, 102, 50, 109
Quercetinacetylhexosid	45, 48
Quercetin	102
Kämpferolglukosid	102, 45, 48
Kämpferolrutosid	55, 104, 49, 45, 48, 54, 101, 109
Kämpferolgalaktosid	45

Im Rahmen dieser Arbeit konnten 40 Flavonoide mit Hilfe der RP-UV-DAD-MSⁿ – Untersuchung nachgewiesen werden. Beispielhaft ist in Abbildung 2.2-1 ein Chromatogramm eines Aprikosenfestphaseneluates bei der Wellenlänge 280 nm dargestellt. Ein umfassender Überblick ist in tabellarischer Form in Anhang B (s. Seite 134 ff.) angegeben. In den Tabellen sind die typischen Massenfragmente aufgeführt, auf die zugehörigen MS-Spektren wird in Anhang C (s. Seite 141 ff.) hingewiesen. Nachfolgend werden die für das Probenmaterial erzielten Ergebnisse für jede einzelne Substanzklasse vorgestellt.

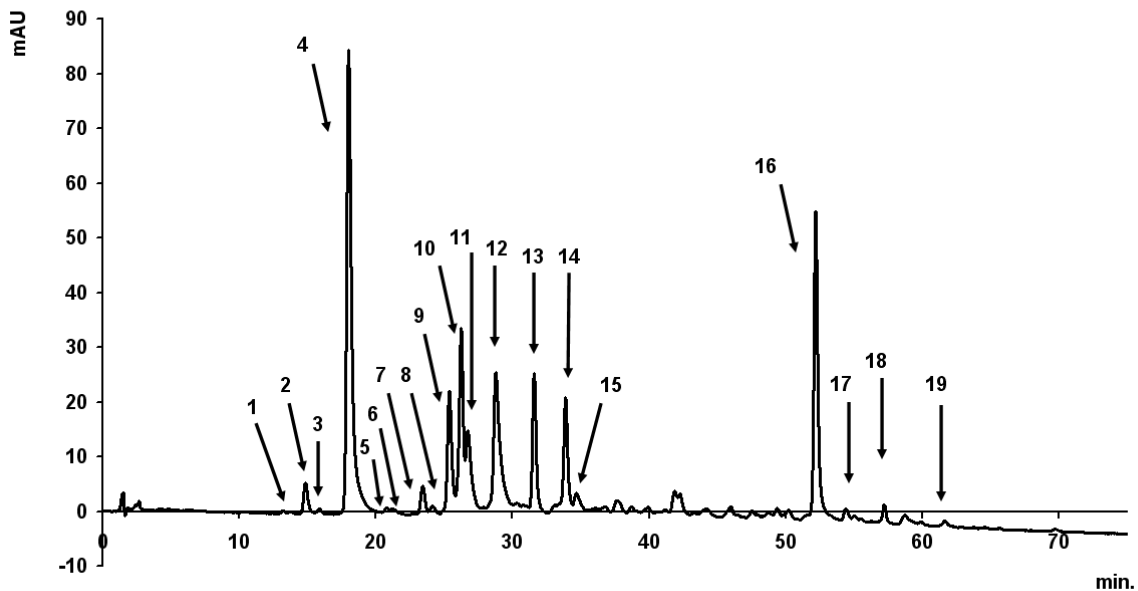


Abbildung 2.2-1 Chromatogramm eines Aprikosenfestphaseneluates bei einer Wellenlänge von 280 nm

Tabelle 2.2-2 **Beschriftung des Chromatogramms eines Aprikosenfestphasenuates aus Abbildung 2.2-1**

<i>Nr.</i>	<i>Substanz</i>	<i>Abkürzung</i>
1	Procyanidindimer	Fla-Dimer
2	3-Caffeoylchinasäure	3-CQA
3	Procyanidintrimer	Fla-Trimer
4	3-Caffeoylchinasäure	3-CQA
5	3-pCoumaroylchinasäure	3-pCoQA
6	4-Caffeoylchinasäure	4-CQA
7	3-pCoumaroylchinasäure	3-pCoQa
8	3-Feruloylchinasäure	3-FQA
9	Catechin	Cat
10	Procyanidindimer	Fla-Dimer
11	4-Caffeoylchinasäure	4-CQA
12	5-Caffeoylchinasäure	5-CQA
13	Epicatechin	Epicat
14	Procyanidindimer	Fla-Dimer
15	Procyanidintrimer	Fla-Trimer
16	Quercetinrutinosid	Q-rut
17	Quercetinhexosid	Q-hex
18	Kämpferolrutinosid	K-rut
19	Quercetinacetylhexosid	Q-acetylhex

2.2.1 Flavonolglykoside in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

In ungeschälter Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre konnte Quercetinrutinosid, Quercetinhexosid, Quercetinacetylhexosid und Kämpferolrutinosid identifiziert werden. Die Sorte, ob *Canino* oder *Golden Bulida*, und der Jahrgang 2004 und 2005, ggf. auch 2006 spielten dabei keine Rolle. Weitere Quercetin- und Kämpferol-3-glucoside und -3-galaktoside konnten in den untersuchten Probenmengen von 2 g bis 5 g nicht nachgewiesen werden.

Einen deutlichen Unterschied hinsichtlich des Flavonoidspektrums zeigten die geschälten Aprikosenrohwaren der Sorte *Golden Bulida*. Es konnten in den gleichen aufgearbeiteten Probenmengen nur Spuren von Rutin nachgewiesen werden. Für die anderen Flavonolglykoside konnte kein positiver Nachweis erbracht werden. Die Flavonolglykoside in der Aprikosensorte *Golden Bulida* müssen somit vorwiegend in der Schale der Aprikose enthalten sein und gehen mit der Schälung verloren. Untersuchungen von [104] bestätigten eine derartige Konzentrierung der Flavonolglykoside auf den Schalenbereich, jedoch sollten sortenbedingte Unterschiede berücksichtigt werden. Eine Untersuchung geschälter Aprikosenrohware der Sorte *Canino* wäre daher noch durchzuführen. Das Probenmaterial lag jedoch nicht vor. Auf eine nachträgliche

Schälung eingekochter kommerzieller Aprikosenrohware wurde verzichtet, da aufgrund des Verarbeitungsprozesses die Konsistenz des Probengutes eine Schälung nicht zuließ und die Werte mit einer Schälung der unverarbeiteten Frucht nicht vergleichbar gewesen wären. Ebenfalls wäre mit Analytübergängen in Sud und Frucht zu rechnen.

2.2.2 Phenolcarbonsäuren in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Die Gruppe der Phenolcarbonsäuren nimmt im Flavonoidspektrum von Aprikosenrohwaren und Aprikosenverarbeitungsprodukten ebenfalls eine bedeutende Rolle ein. Die Stellungsisomere der Phenylpropanoide wurden nach [105, 106, 107] entsprechend der Signalintensität der Tochterfragmente des jeweiligen Esters bestimmt. Bei der Caffeoylchinasäure konnten zwei Signale dem Stellungsisomer in 3-Position zugeordnet werden. Bei zwei weiteren Signalen konnte die Esterbindung in 4-Position und bei einem Signal in 5-Position lokalisiert werden. Die jeweiligen Stellungsisomerpaare mussten daher Stereoisomere darstellen, die nach [108] durch unterschiedliches Verhalten auf Expositionieren mit UV-Licht zu unterscheiden sind. Bei einem Coumaroylchinasäuresignal konnte wie in der Literatur beschrieben, die Esterbindung in der 3-Position bestimmt werden. Die Lokalisierung in 3-Position konnte auch bei den Feruloylchinasäuren bestätigt werden.

Bei allen untersuchten kommerziellen Aprikosenrohwaren konnten die zuvor genannten Phenolcarbonsäuren nachgewiesen werden. Ein Unterschied bei den vorliegenden Jahrgängen des Probenmaterials trat nicht auf. Lediglich bei einer Biorohware, die im Rahmen des AIF-Projektes Nr. 14583 zur Verfügung stand, konnten nicht alle beschriebenen Analyten nachgewiesen werden. Die Unterschiede sind in Tabelle B-2 aufgeführt. Das Spektrum der in den untersuchten Aprikosenkonfitüren enthaltenen Phenolcarbonsäuren entsprach dem der kommerziellen Rohwaren.

2.2.3 Flavan-3-ole in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Catechin und Epicatechin waren in den untersuchten Aprikosenrohwaren enthalten. Der Vergleich von Sorte und Jahrgang zeigte keine Unterschiede. Hingegen war ein Nachweis in extrahierten Aprikosenkonfitüremengen trotz einer sehr guten Ionisierbarkeit dieser Substanzgruppe im Massenspektrum nicht möglich. Dies spricht für einen thermisch bedingten Abbau während des Herstellungsprozesses.

2.2.4 Proanthocyanidine in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

In der Literatur wurden bisher Procyanidine des B-Typen B1, B2, B3, B4, B7 und C1 sowie einige Trimere in Aprikosen beschrieben [109, 110]. Im Rahmen dieser Arbeit konnten 7 dimere Proanthocyanidine, 7 trimere Proanthocyanidine und 5 tetramere Proanthocyanidine in den Massenspuren von Aprikosen nachgewiesen werden. Zusätzlich entsprachen 6 Analytsignale Procyanidinen, die mit Hexosen glykosiliert sind. In der untersuchten Aprikosenrohware waren bei den Procyanidinen 5 dem B-Typ und zwei dem zweifach verknüpften A-Typ zuzuordnen. Die einfach verknüpften Procyanidine zeigten zwei unterschiedliche Muster der Fragmentintensitäten (siehe Anhang C, Seite 141 ff.), die nach [111] auf eine 4 → 6 Verknüpfung oder eine 4 → 8 Verknüpfung hindeuten. Beide Verknüpfungsarten wurden in der Literatur für Aprikosen beschrieben.

Jahrgangsunterschiede waren im Proanthocyanidinspektrum der untersuchten kommerziellen Aprikosenrohwaren nicht festzustellen, jedoch deutliche Sortenunterschiede. Die zuvor beschriebenen Proanthocyanidine konnten alle in der Aprikosensorte *Canino* identifiziert werden. In der Sorte *Golden Bulida* war die Anzahl von dimeren (4-5) und trimeren (2-4) Proanthocyanidinen deutlich geringer, Tetramere konnten nicht nachgewiesen werden. Glykosilierte Procyanidine (1) waren ebenfalls von deutlich geringerer Anzahl. Eine Schälung verkleinerte nicht die Anzahl an Proanthocyanidinen. Im Gegenteil zeigte sich bis auf wenige Substanzen bei den trimeren Proanthocyanidinen sowie den tetrameren Proanthocyanidinen ein mit der Sorte *Canino* vergleichbares Spektrum. Sollten die Proanthocyanidine eher im Fruchtfleisch der Aprikose enthalten sein, so würde eine Schälung eine geringe Aufkonzentrierung verursachen, jedoch ließe sich ein Anwachsen des Flavonoidspektrums mit dem Verarbeitungsschritt nicht erklären. Es stellt sich somit die Frage, ob eine rein mechanische Verarbeitung, bzw. Schälung erfolgte. Bei einer Biorohware, die im Rahmen des AiF-Projektes

Nr. 14583 zur Verfügung stand, konnte lediglich ein dimeres Proanthocyanidin bestimmt werden.

Bei der Aprikosenkonfitüre extra konnten in den aufgearbeiteten Probenmengen keine Proanthocyanidine nachgewiesen werden. In der Literatur wurden diese lediglich in der Frucht oder in Säften beschrieben, bei denen keine thermische Belastung wie bei einer Konfitürenherstellung Anwendung findet. Wie bei den Monomeren spricht dies für einen thermisch bedingten Abbau während des Herstellungsprozesses.

2.3 Flavonoidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

2.3.1 Absolute Flavonoidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Die Flavonoidgehalte von Aprikosen, von Aprikosensäften und von Aprikosenkonfitüre wurden mehrfach in der Literatur beschrieben [45, 46, 48, 50, 54, 55, 101, 102, 103]. Es wurden verschiedene national bedeutende Aprikosensorten, wie „*Ungarische Beste*“, „*Aprikose von Nancy*“, „*Mombacher Frühe*“ sowie Sorten in weiteren europäischen Anbauländern („*Bulida*“, „*Mayero*“, „*Colorao*“, „*Pepito*“, „*Holaico*“, usw.) untersucht und die Flavonoidgehalte hinsichtlich einer möglichen Sortendifferenzierung verglichen. Die ermittelten Flavonoidgehalte unterschieden sich zum Teil sehr voneinander, beispielsweise wurde nach [45] bei der „*Mombacher Frühe*“ ein Rutingehalt von etwa 10 ppm und nach [50] bei der Sorte „*Cafona*“ ein Gehalt von 167,2 ppm Rutin quantifiziert. Zusätzlich wurden die Veränderungen der Flavonoidgehalte im Laufe des Reifungsprozesses der Aprikose sowie die Verteilung der Flavonoide in Fruchtfleisch und der Schale betrachtet. Es wurden zum Teil gegenläufige Entwicklungen bei einzelnen Analytgehalten festgestellt. Neben der Untersuchung der Rohwaren wurden zusätzlich die Flavonoidgehalte von Aprikosenkonfitüren, -säften und -nektaren und mögliche Auswirkungen auf die Flavonoidgehalte aufgrund technologischer Verarbeitungsprozesse betrachtet.

Im zur Verfügung stehenden Probenmaterial wurden die Flavonoidgehalte, wie in Kapitel 3.6 beschrieben, ermittelt, summiert und die ungeschälten und geschälten Sorten und Jahrgänge im nachfolgenden Diagramm verglichen. Für die Quantifizierung wurden die Peakflächen bei den substanzgruppenspezifischen Wellenlängen herangezogen. Bei der Wellenlänge 280 nm wurden die Verbindungen Catechin, Epicatechin und Proanthocyanidine über die Bezugssubstanz Epicatechin, bei der Wellenlänge 310 nm die Phenolcarbonsäuren über die Bezugssubstanz Chlorogensäure und bei der Wellenlänge 360 nm die Flavonolglykoside über die Bezugssubstanz Rutin quantifiziert.

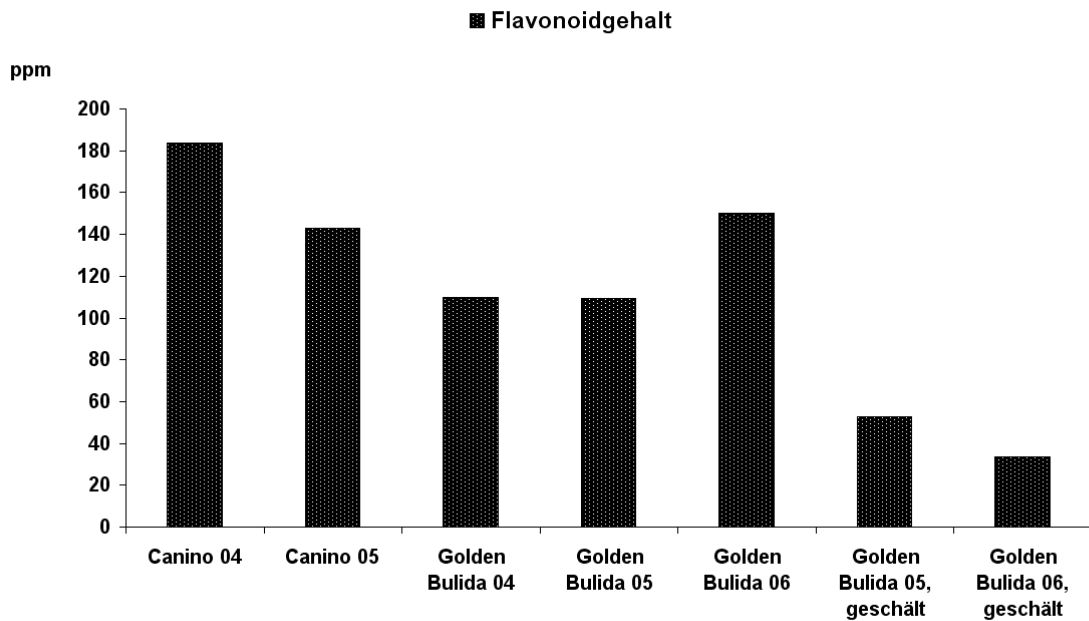


Abbildung 2.3.1-1 Flavonoidgehalt in Aprikosenrohware definierter Erntejahrgänge und Sorte

So lag der Flavonoidgehalt für die Sorte *Canino* im Erntejahrgang 2004 bei etwa 180 ppm und im Erntejahr 2005 um etwa 40 ppm niedriger bei 140 ppm. Für die Sorte *Golden Bulida* wiesen die Erntejahrgänge 2004 und 2005 fast identische Gehalte von etwa 110 ppm auf. Hingegen wurde im darauf folgenden Jahr ein Flavonoidgehalt von etwa 150 ppm quantifiziert. Bei den geschälten Rohwaren waren die quantifizierten Flavonoidgehalte wesentlich geringer als in den ungeschälten Rohwaren. Die absoluten Flavonoidgehalte stellen wie erwartet aufgrund der fehlenden Jahrgangskonstanz keine Möglichkeit zur Sortendifferenzierung dar.

Betrachtete man jedoch die Mittelwerte der prozentualen Anteile der jeweiligen Flavonoidgruppe, so unterschieden sich die Sorte *Canino* und die Sorte *Golden Bulida* deutlich. Abbildung 2.3.1-2 stellt die Mittelwerte der Jahrgänge der beiden Sorten gegenüber. Dabei wurde aus praktischen Gründen die Gruppe der Flavan-3-ole und die Gruppe der Proanthocyanidine zusammengefasst, da beide bei der gleichen Wellenlänge (280 nm) und als Epicatechin quantifiziert wurden (siehe Kapitel 3.6 Quantifizierung). Bei der Sorte *Canino* betrug der Anteil der Flavonolglykoside knapp 20 %, der Anteil der Phenolcarbonsäuren etwa 45% und der Flavan-3-ole und Proanthocyanidine etwa 35% in beiden Erntejahrgängen.

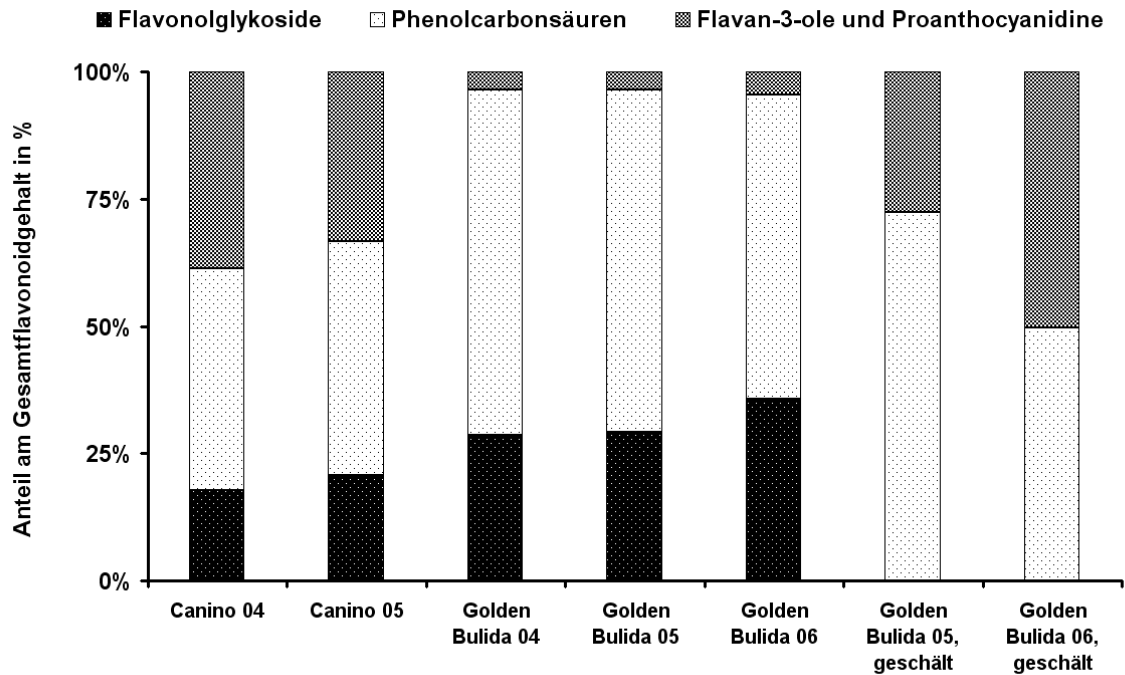


Abbildung 2.3.1-2 Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt in Aprikosenrohware definierter Erntejahrgänge

Bei der Sorte *Golden Bulida* stellten die Phenolcarbonsäuren etwa 65%, die Gruppe der Flavonolglykoside etwa 30% und die Gruppe der Flavan-3-ole und Proanthocyanidine ca. 5% des Gesamtflavonoidgehaltes. In den geschälten Rohwaren wurden keine Flavonolglykoside quantifiziert, da sie durch die Schälung entfernt worden waren. Im Gegensatz zu den Gesamtgehalten waren die gebildeten relativen Mengen der untersuchten Flavonoidgruppen über die betrachteten Erntejahrgänge konstant und für die jeweilige Sorte charakteristisch.

Die Ergebnisse der Bestimmung des Flavonoidgehaltes in den untersuchten Aprikosenkonfitüren werden in Abbildung 2.3.1-3 verglichen. Die absoluten Gehalte variieren von 40 ppm bis 90 ppm je nach Produzent. Die Aprikosenkonfitüren Schwartau, Primadonna, Tamara und Grandessa wiesen Gehalte von über 75 ppm auf, die zweite Gruppe mit wesentlich niedrigeren Werten beinhaltete die Produkte der Label Symphonie, Gut und Billig sowie Classic.

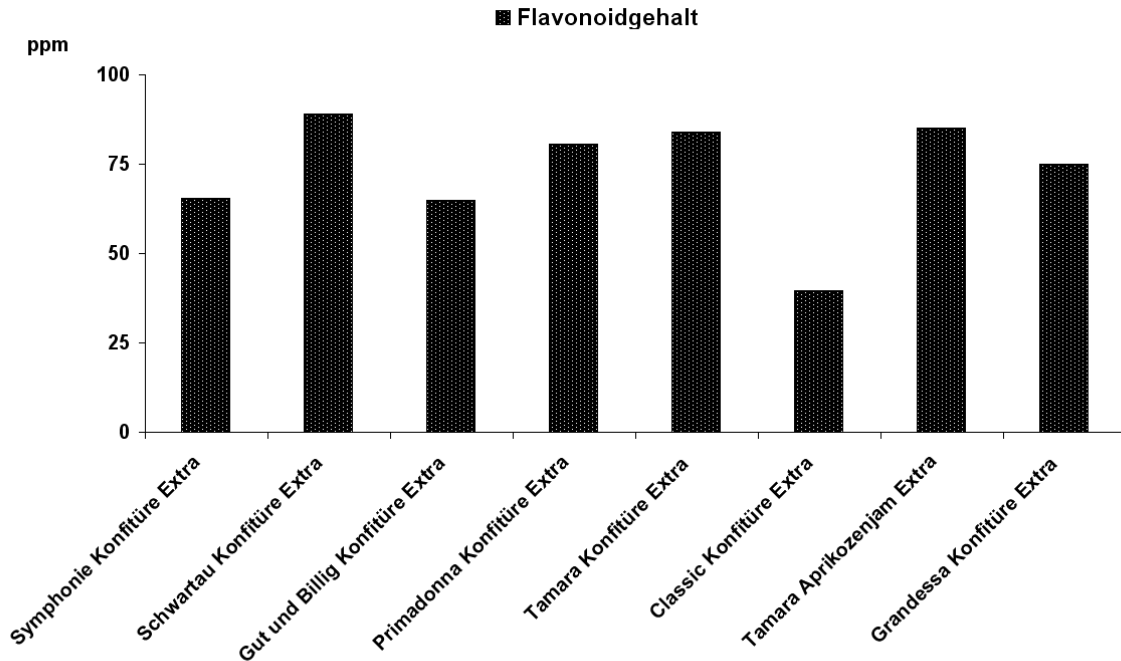


Abbildung 2.3.1-3 Flavonoidgehalt in Aprikosenkonfitüre Extra

Im Vergleich zur Aprikosenrohware konnten keine Proanthocyanidine und Flavan-3-ole quantifiziert werden. Der Gesamtflavonoidgehalt setzte sich aus den Substanzgehalten der Phenolcarbonsäuren und der Flavonolglykoside zusammen. Abbildung 2.3.1-4 zeigt die jeweiligen prozentualen Anteile der beiden Gruppen am Gesamtflavonoidgehalt in den untersuchten Konfitüren. Im Gegensatz zur Rohware konnten auf ein Gewichtsanteil Flavonolglykoside in der Konfitüre bis zu drei Gewichtsanteile Phenolcarbonsäuren bestimmt werden. Bei der Aprikosenrohware betrug das Gewichtsverhältnis noch 1 zu 2. Diese Verschiebung wäre einerseits auf unterschiedlich starke substanzgruppenspezifische Abbauprozesse während der Konfitürenherstellung und andererseits auf die Verwendung von geschälter Aprikosenpülpe zurückzuführen.

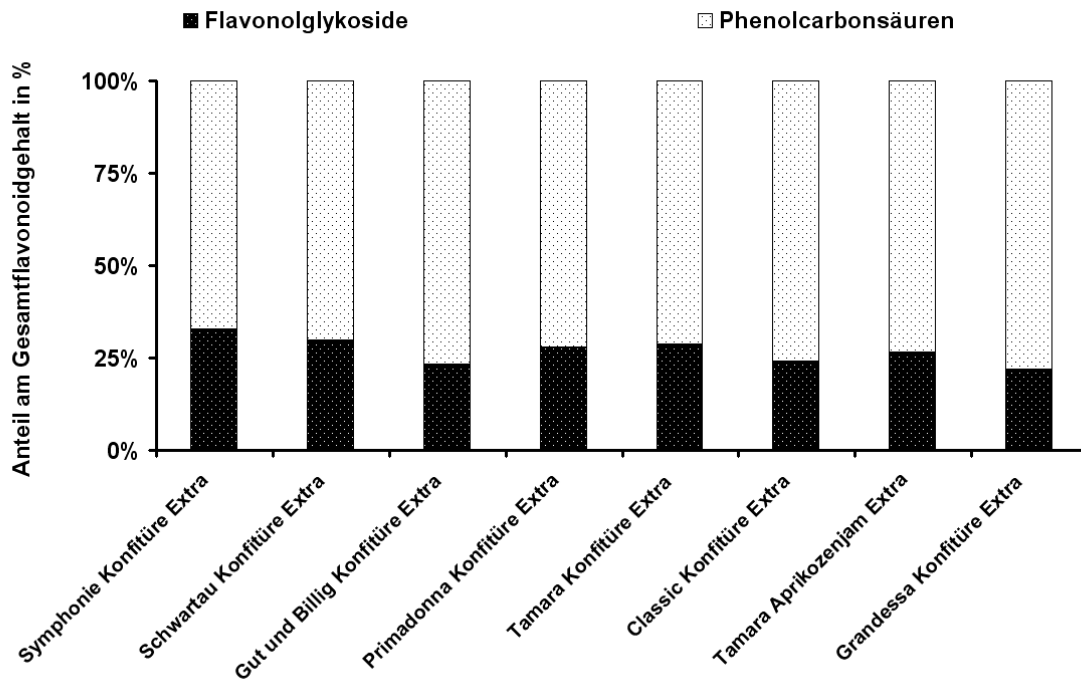


Abbildung 2.3.1-4 Prozentuale Anteile des einzelnen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt in Aprikosenkonfitüre Extra

Bei den untersuchten Konfitüren waren somit weder die absoluten Flavonoidgehalte noch die relativen Anteile der jeweiligen Leitsubstanzgruppen direkt für eine eindeutige Charakterisierung geeignet.

2.3.1 Relative Flavonolglykosidgehalte in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Flavonolglykosidgehalte der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten kommerziell erhältlichen Aprikosenrohwaren sowie von definierter Aprikosenkonfitüre wurden in den Tabellen D-1 bis D-9 im Anhang (s. Seite 169 ff.) zusammengefasst. Die Leitsubstanz dieser Verbindungsgruppe ist mit großem Abstand das Quercetinrutinosid, dessen Gehalte meist um den Faktor 10 oder mehr höher lagen als die der anderen Flavonolglykoside. Auch im verarbeiteten Aprikosenerzeugnis wurde Rutin als dominierende Substanz quantifiziert. Mit Hilfe der absoluten Substanzgehalte konnte keine Sortencharakterisierung, bzw. Sortendifferenzierung durchgeführt werden. Betrachtet man, wie in Abbildung 2.3.2-1 dargestellt, die relativen Anteile der Einzelverbindungen am Gesamtgehalt, so stellt Rutin bei beiden Sorten mit Abstand den

größten Anteil, bei der Sorte *Canino* folgt anschließend das Kämpferolrutosid, gefolgt von Quercetinhexosid und Quercetinacetylhexosid. Bei der Sorte *Golden Bulida* sind hingegen die relativen Anteile von Kämpferolrutosid, Quercetinhexosid und Quercetinacetylhexosid etwa gleich groß.

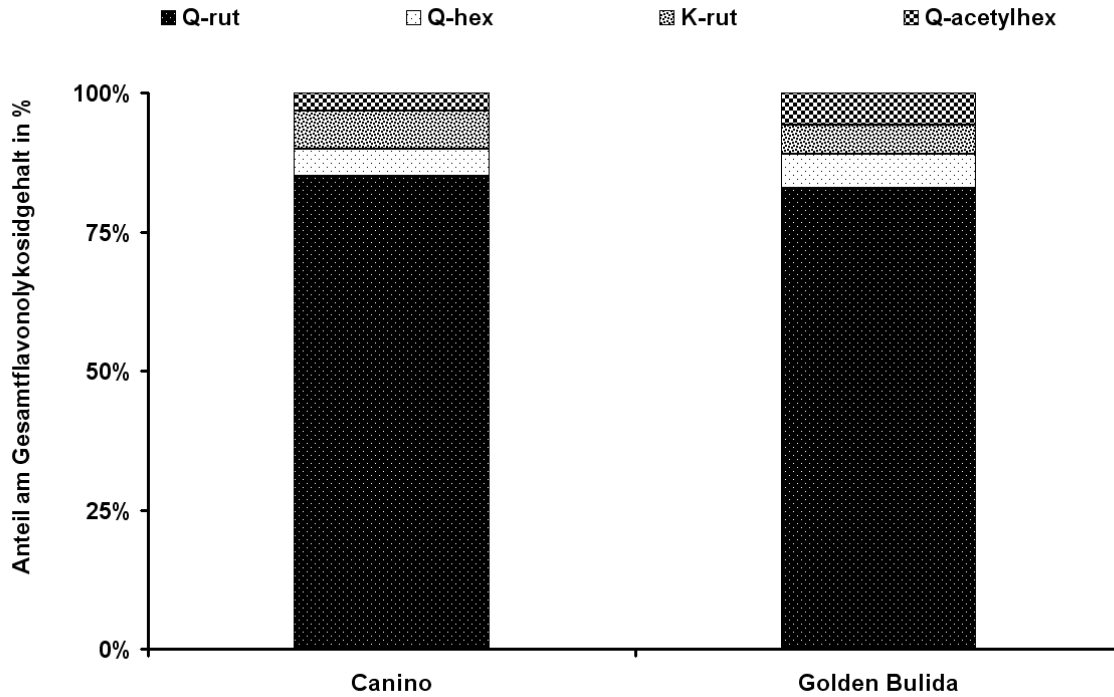


Abbildung 2.3.2-1 Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt in Aprikosenrohware definierter Sorte

Bei den untersuchten Aprikosenkonfitüren war, wie in Abbildung 2.3.2-2 zu sehen ist, Rutin ebenfalls die Leitsubstanz mit relativen Anteilen von 75% bis 85% des Gesamtflavonolglykosidgehaltes. Bei den Konfitüren Classic und Primadonna waren die Anteile von Quercetinhexosid, von Kämpferolrutosid und Quercetinacetylhexosid gleich groß. Bei den anderen Konfitüren wie Schwartau, Gut und Billig, Tamara und Grandessa waren teilweise geringere Quercetinacetylhexosidanteile zu verzeichnen. Gleichzeitig war jedoch ein leichter Zuwachs des Quercetinhexosidanteils erkennbar. Dies könnte auf eine Hydrolyse der Acetylgruppe hindeuten.

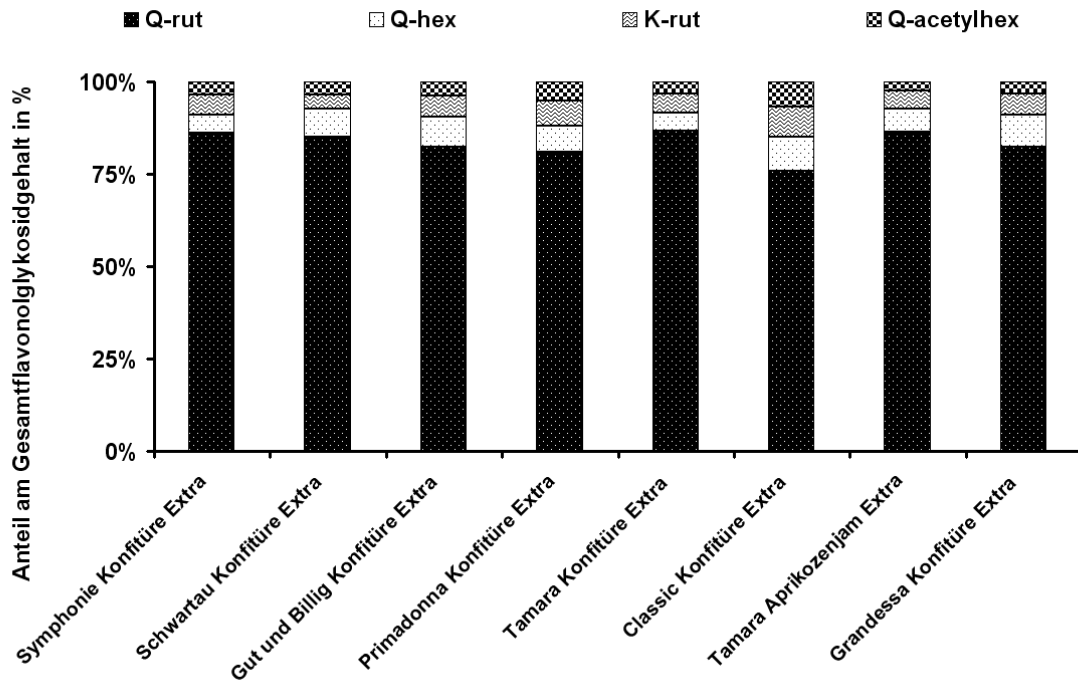


Abbildung 2.3.2-2 Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt in Aprikosenkonfitüre

2.3.2 Relative Gehalte der Phenolcarbonsäuren in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Die Phenolcarbonsäuregehalte der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten kommerziell erhältlichen Aprikosenrohwaren sowie von Aprikosenkonfitüre wurden in den Tabellen D-1 bis D-9 (s. Seite 169 ff.) zusammengefasst. Abbildung 2.3.3-1 stellt die relativen Anteile der Einzelsubstanzen in den untersuchten Rohwaren gegenüber. Die beiden Leitsubstanzen waren die 3-Caffeoylchinasäure (CQA 2) und die 5-Caffeoylchinasäure (CQA 5). Bei der Sorte *Canino* betrug der Anteil der 3-Caffeoylchinasäure ca. 55%, der der 5-Caffeoylchinasäure etwa 25% des Gesamtgehaltes an Phenolcarbonsäuren. Hingegen waren die Anteile bei der Sorte *Golden Bulida* umgekehrt zu Gunsten der 3-Caffeoylchinsäure verteilt. Unterlag die Sorte *Golden Bulida* einer Schälung, so kehrte sich das Mengenverhältnis der Leitpeaks um und glich dem der Sorte *Canino*. Dies würde auf einen höheren schälungsbedingten Verlust an 5-Caffeoylchinasäure hindeuten. Er wäre jedoch mit einer einfachen mechanischen Schälung wiederum nicht zu erklären.

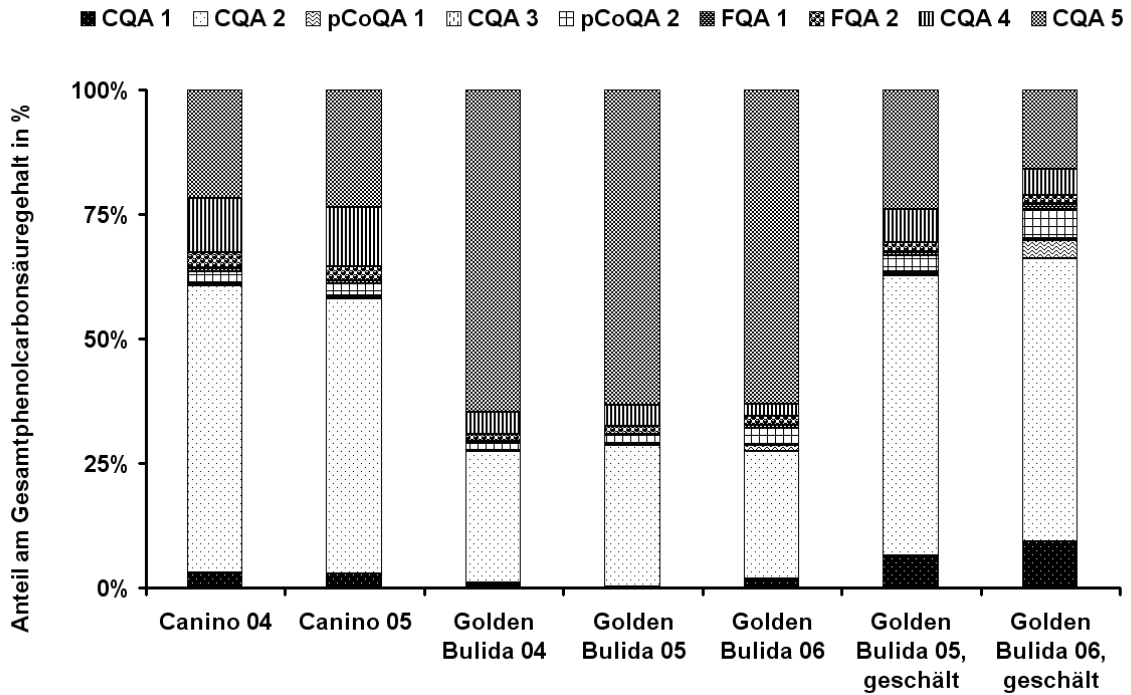


Abbildung 2.3.3-1 Prozentuale Anteile der einzelnen Phenolcarbonsäuren am Gesamtphenolcarbonsäuregehalt in Aprikosenrohware

Bei den untersuchten Aprikosenkonfitüren zeigte sich, wie in Abbildung 2.3.3-2 zu sehen ist, ein zum Teil sehr unterschiedliches Bild. Bei den Konfitüren Schwartau, Gut und Billig, Classic, Tamara Aprikozenjam und Grandessa dominierte die 5-Caffeoylchinasäure und deutete auf einen wesentlichen Anteil von der Sorte *Golden Bulida* im Fruchtanteil hin. Bei den Konfitüren Symphonie und Tamara hingegen könnte man auf die Verwendung von Früchten der Sorte *Canino* und bei der Konfitüre Primadonna auf ein ausgeglichenes Verhältnis der beiden Sorten schließen. Diese Annahme kann allerdings aufgrund dieses vereinfachten Modells nur unter Vorbehalt getroffen werden. Die Betrachtung macht jedoch Sinn, da die Sorten *Golden Bulida* und *Canino* laut Herstellerangabe die bedeutendsten Sorten mit größtem Marktanteil für die Aprikosenkonfitürenherstellung sind.

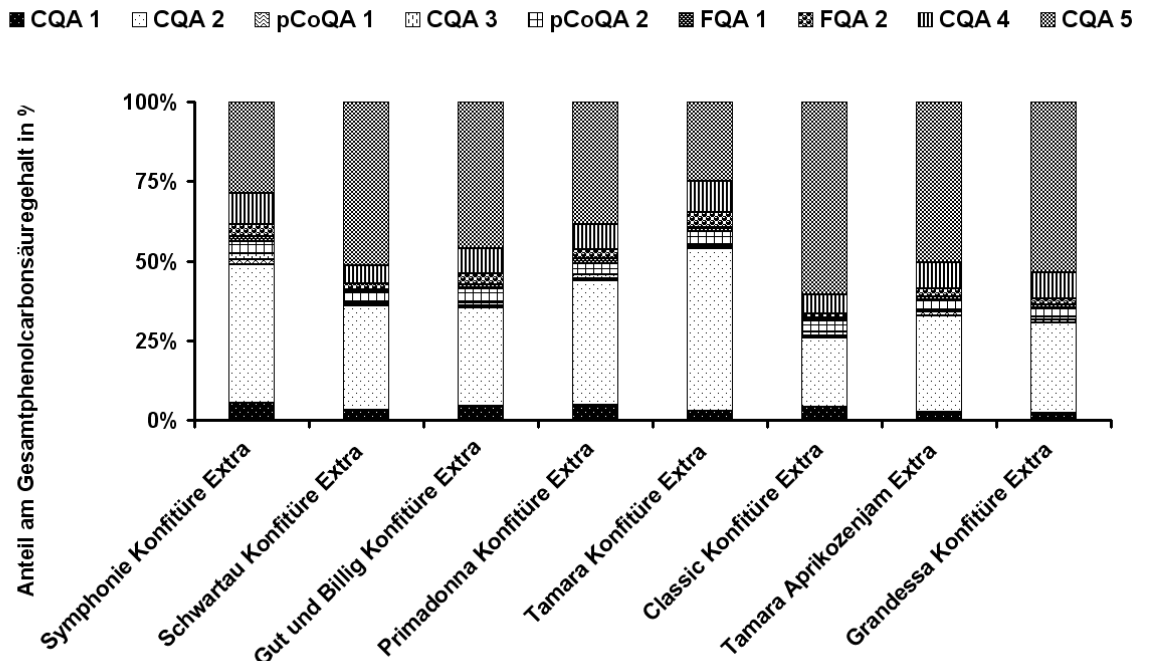


Abbildung 2.3.3-2 Prozentuale Anteile der einzelnen Phenolcarbonsäuren am Gesamtphenolcarbonsäuregehalt in Aprikosenkonfitüre

2.3.3 Relative Gehalte der Proanthocyanidine und Flavan-3-ole in Aprikosenrohware

Die Gehalte an Proanthocyanidinen und Flavan-3-olen der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten kommerziell erhältlichen Aprikosenrohwaren wurden in den Tabellen D-1 bis D-9 im Anhang (s. Seite 169 ff.) zusammengefasst. Bei den untersuchten Aprikosenkonfitüren, in Abbildung 2.3.4-1 zusammengestellt, konnten keine Substanzen dieser Verbindungsgruppe quantifiziert werden. Bei der Sorte *Canino* wiesen Catechin und Epicatechin gleiche Mengenanteile von ca. 22% auf. Daneben waren noch zwei Proanthocyanidine (Fla-Dimer 2 und 3) in Mengenanteilen von 30% und 20% enthalten. Für die Sorte *Golden Bulida* zeigte sich eine andere Verteilung. Catechin nahm einen Anteil von ca. 50% ein, Epicatechin konnte hingegen nicht quantifiziert werden. Zusätzlich waren noch Proanthocyanidine, zwei Dimere und ein Trimer in höheren relativen Anteilen vertreten. Bei der geschälten Sorte *Golden Bulida* glich die Verteilung wiederum der Sorte *Canino*.

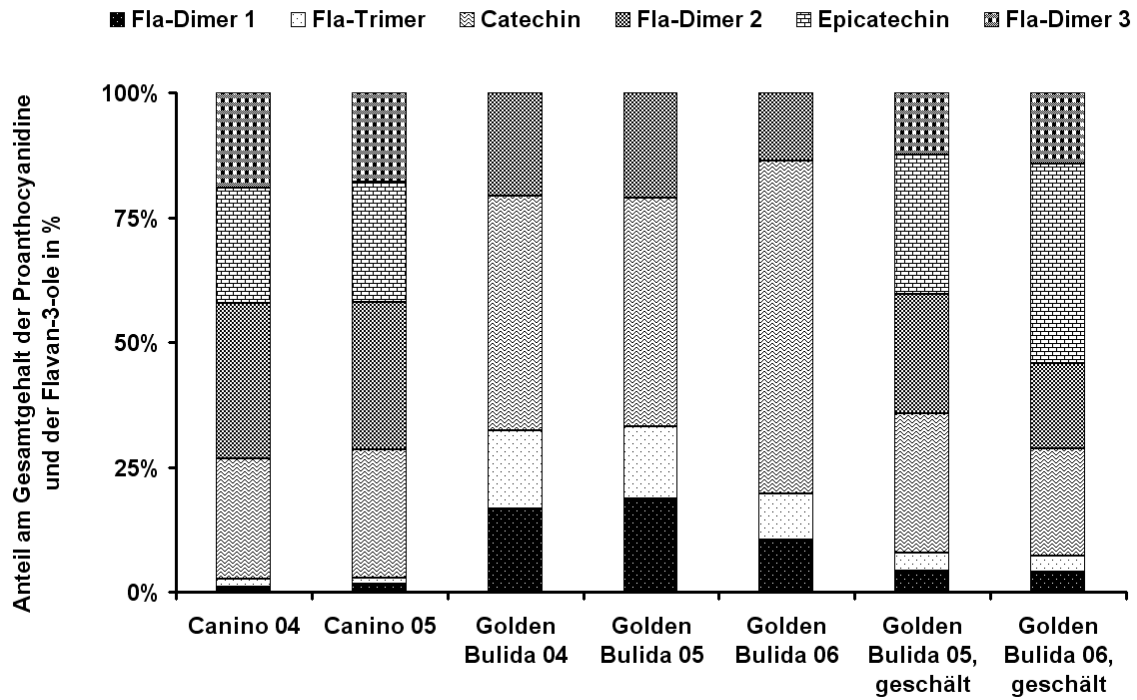


Abbildung 2.3.4-1 Prozentuale Anteile einzelner Proanthocyanidine und Flavan-3-ole am Gesamtphenolgehalt dieser Verbindungsgruppen in Aprikosenrohware

2.4 Peakflächenverhältnisse von Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Die Ermittlung der Peakflächenverhältnisse erfolgte wie in Anhang E (s. Seite 175 ff.) beschrieben. Die Ergebnisse zu den einzelnen Probenmaterialien wurden in den Abbildungen E-1 bis E-62 nach manueller und automatisierter Extraktion dargestellt. Nachfolgend wurden die Mittelwerte der Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside und der Phenolcarbonsäuren für die Überprüfung einer potentiellen Sortendifferenzierung sowie zu einer möglichen Jahrgangskonstanz herangezogen. In den nachfolgenden Diagrammen wurden nur die Peakflächenverhältnisse dargestellt, bei denen das Probengut einer automatisierten Extraktion unterzogen wurde. Für einen Vergleich der Ergebnisse der manuellen Probenaufarbeitung stehen die zuvor genannten Abbildungen des Anhangs E zur Verfügung.

Die Peakflächenverhältnisse wurden aus dem zur Verfügung stehenden Probenmaterial für die Beantwortung unterschiedlicher Fragestellungen ermittelt. Dabei wurden die Sortendifferenzierung, die Herkunftsbestimmung, die Überprüfung einer potentiellen Jahrgangskonstanz sowie die Bestimmung Mischungsverhältnissen bei den Aprikosenrohwaren durchgeführt. Für eine direkte Unterscheidung der Herkunft der Aprikosenware hätte Probenmaterial einer Sorte von zwei unterschiedlichen Standorten zur Verfügung stehen müssen. Dies war jedoch nicht der Fall, da nur authentische Aprikosenrohware der Sorte *Canino* aus Marokko und Aprikosenrohware der Sorte *Golden Bulida* aus Spanien erhältlich waren. Daher war eine Herkunfts-differenzierung mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen nicht möglich.

2.4.1 Überprüfung der Sortendifferenzierung mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenrohware

Als Probenmaterial standen eingekochte kommerzielle Aprikosenrohwaren der Sorten *Canino* und *Golden Bulida* zur Verfügung. Daneben war eine Biorohware, tiefgefrorene entsteinte Aprikosenhälften, die im Rahmen des AIF PNr. – 14583 zur Verfügung gestellt wurden, unbekannter Sorte für eine Untersuchung vorhanden. Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der beiden Sorten sowie die der Biorohware wurden in Abbildung 2.4.1-1 gegenübergestellt. Mit vier Peakflächen konnten 6 Peakflächenverhältnisse berechnet werden, die sich bei den beiden Sorten zum Teil signifikant unterschieden. Bei der Sorte *Canino* war bei

den ersten drei Peakflächenverhältnissen eine Steigerung im Wert zu erkennen. Das Peakflächenverhältnis Quercetinrutinosid zu Quercetinacetylhexosid war von wesentlich höherem Zahlenwert. Das Peakflächenverhältnis von Quercetinhexosid zu Kämpferolrutinosid war mit deutlichem Abstand der kleinste Zahlenwert. Bei der Sorte *Golden Bulida* war das zweite Peakflächenverhältnis etwas größer als die Verhältnisse von Quercetinrutinosid zu Quercetinhexosid und von Quercetinrutinosid zu Quercetinacetylhexosid, die beide wiederum von etwa gleicher Größenordnung waren. Deutlichere Unterschiede waren bei den letzten drei Peakflächenverhältnissen sichtbar. Das Verhältnis Quercetinhexosid zu Kämpferolrutinosid von *Golden Bulida* übertraf signifikant das entsprechende Verhältnis der Sorte *Canino*. Bei den beiden letzten Verhältnissen in der Abbildung war es umgekehrt. Somit wies jede Sorte charakteristische Verhältnisse auf. Eine Sortendifferenzierung zwischen *Canino* und *Golden Bulida* konnte mit Hilfe der Peakflächenverhältnisse der Gruppe der Flavonolglykoside erfolgreich durchgeführt werden.

Betrachtete man die Peakflächenverhältnisse der Biorohware, so entsprachen die Werte denen der Sorte *Golden Bulida*. Bei den geschälten Aprikosenrohwaren konnte nur Rutin in den untersuchten Probenmengen nachgewiesen werden, weitere Flavonolglykoside jedoch nicht. Daher war eine Berechnung der Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von geschälter Aprikosenrohware der Sorte *Golden Bulida* nicht möglich.

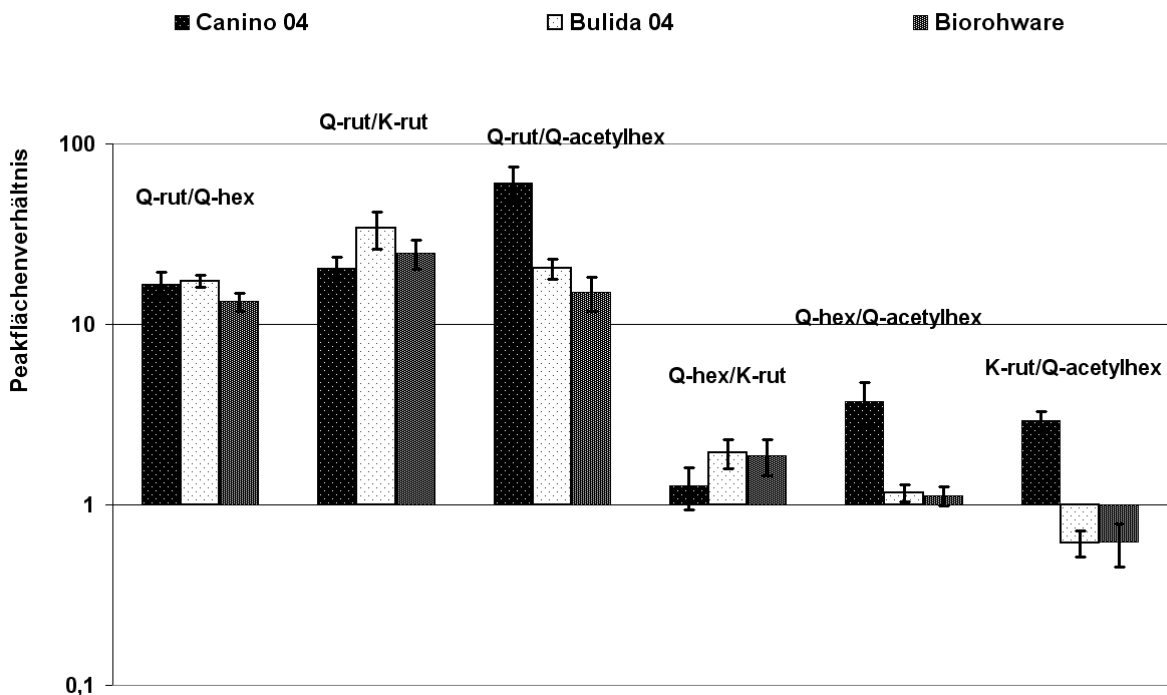


Abbildung 2.4.1-1 Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse zur Sortendifferenzierung

Ebenfalls wurde eine mögliche Sortendifferenzierung mit Hilfe der Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse überprüft. Abbildung 2.4.1-2 beinhaltet den Vergleich der Verhältnisse der beiden ungeschälten Sorte sowie geschälter *Golden Bulida*. Bei den 15 dargestellten Peakflächenverhältnissen waren die Werte zum Teil auf gleichem Niveau wie bei den Verhältnissen CQA1/CQA2, CQA2/FQA, CQA2/CQA3 oder FQA/CQA3. Dagegen gab es auch Verhältnisse, die signifikant unterschiedlich waren, beispielsweise CQA1/CQA4, CQA2/CQA4 oder FQA/CQA4. Diese eignen sich für eine Charakterisierung bzw. für eine Sortendifferenzierung der ungeschälten Sorten *Golden Bulida* und *Canino*.

Ein Vergleich von geschälter und ungeschälter Rohware wurde ebenfalls durchgeführt. Die Lage der einzelnen Verhältnisse war zum Teil sehr unterschiedlich. Einzelne Werte zeigten keine Unterschiede, andere dagegen entsprachen eher vom Zahlenwert denen der Sorte *Canino*, wie bei CQA2/CQA4, dem Verhältnis der beiden Leitsubstanzen dieser Verbindungsgruppe. Die beiden unterschiedlichen Jahrgänge der geschälten Ware zeigten überwiegend Übereinstimmungen. Dies deutet auf einem identischen Schälungsprozess bei Annahme gleicher Verhältnisse bei den ursprünglich ungeschälten Rohwaren hin. Dies wäre ein weiterer Hinweis für die Jahrgangsunabhängigkeit von Peakflächenverhältnissen. Die Unterscheidung von geschälter und ungeschälter Rohware wäre bei der untersuchten Sorte *Golden Bulida* möglich. Eine Mischung von geschälter und ungeschälter Rohware der Sorte *Golden Bulida* würde dazu führen, dass sich die Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside und der Phenolcarbonsäuren nicht mehr entsprechen. Weitere Untersuchungen im Hinblick auf die Auswirkungen des Schälungsverfahrens oder unterschiedlicher Schälungsverfahren und Bedingungen müssten zur Erweiterung der Datenlage jedoch durchgeführt werden.

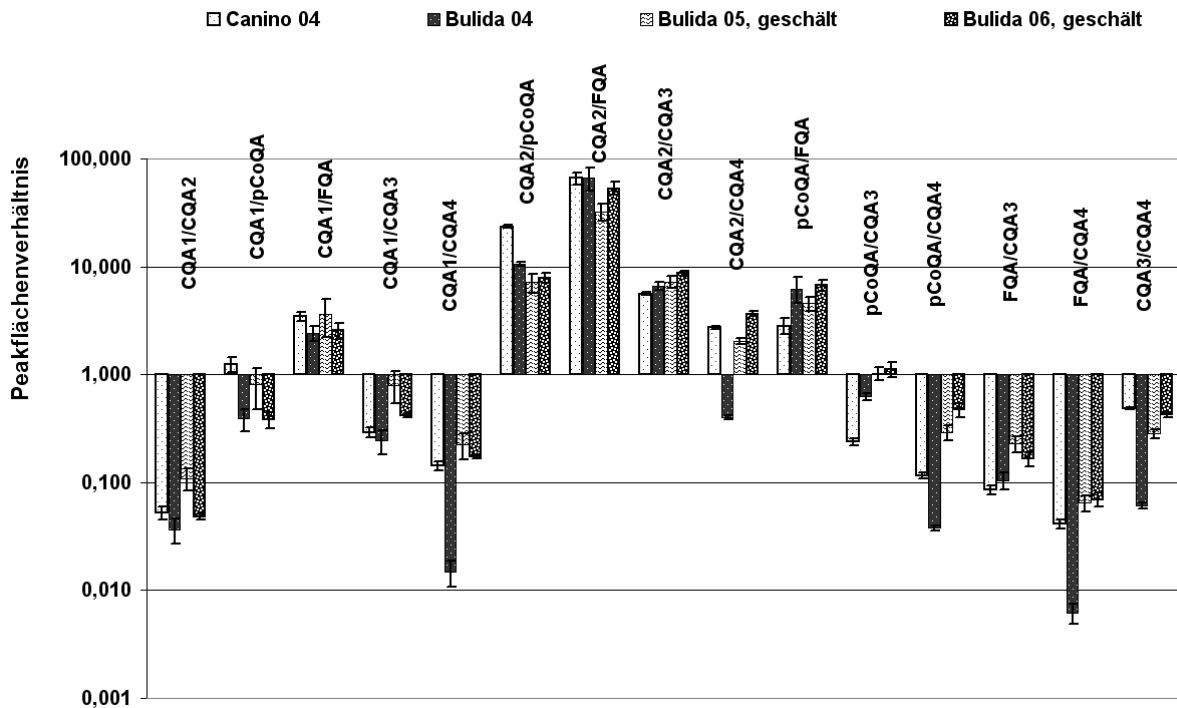


Abbildung 2.4.1-2 Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse zur Sortendifferenzierung

Im Rahmen der Sortendifferenzierung wurde nachfolgend auf die Möglichkeit zur Bestimmung von Peakflächenverhältnissen aus massenspektrometrischen Daten eingegangen. Neben der UV-Detektion wurde das Massenspektrometer für die Identifizierung, speziell für die Strukturaufklärung der Stellungsisomere der Phenolcarbonsäuren herangezogen. Mit Hilfe der massenspektrometrischen Daten konnten ebenfalls Peakflächenverhältnisse der einzelnen Massenspuren berechnet und mit denen der UV-Detektion verglichen werden. Zu erwarten waren vergleichbare Signale, da man innerhalb der beiden Substanzgruppen bei den Flavonolglykosiden von einer guten Ionisierbarkeit aller enthaltenen Verbindungen ausgehen konnte, bei den Phenolcarbonsäuren für alle Substanzen entsprechend von einer gleich schlechten Ionisierbarkeit über die gesamte Gruppe. Die Ionisierbarkeit sollte daher als konstanter Faktor bei der Verhältnisbildung keinen Einfluss haben. Dies würde sich allerdings ändern, wenn gruppenübergreifend Verhältnisse gebildet würden. Es wurde exemplarisch für die ungeschälten Sorten *Canino* und *Golden Bulida* aus dem Erntejahrgang 2004 die Bestimmung durchgeführt und in den Abbildungen 2.3.4-3 und 2.3.4-4 für die betrachteten Verbindungsgruppen zusammengefasst. Für einen direkten Vergleich wurden nur die zuvor ermittelten Peakflächenverhältnisse dargestellt.

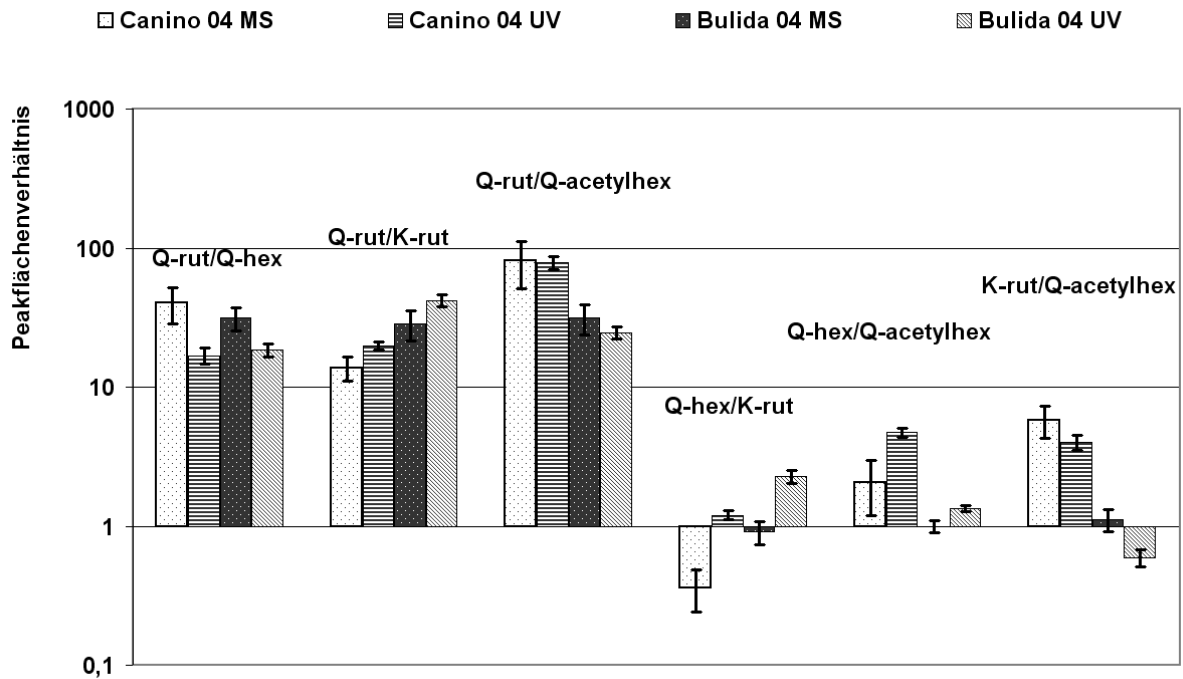


Abbildung 2.4.1-3 Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen aus massenspektrometrischer und UV-Detektion zur Sortendifferenzierung

Bei den Flavonolglykosiden zeigte sich, dass sich Peakflächenverhältnisse aus UV- und MS-Detektion nicht wie zuvor angenommen entsprachen. Bei Werten, die nur aus Quercetinderivaten gebildet wurden, war zu erkennen, dass die Ionisierung bei Verbindungen, die eine Rutinose als Zuckerkomponente aufwiesen, begünstigt war und sich in einer Erhöhung des Verhältnisses äußerte. Verglich man die Werte der beiden Sorten miteinander, so waren die Unterschiede ebenfalls ausreichend für eine Sortendifferenzierung.

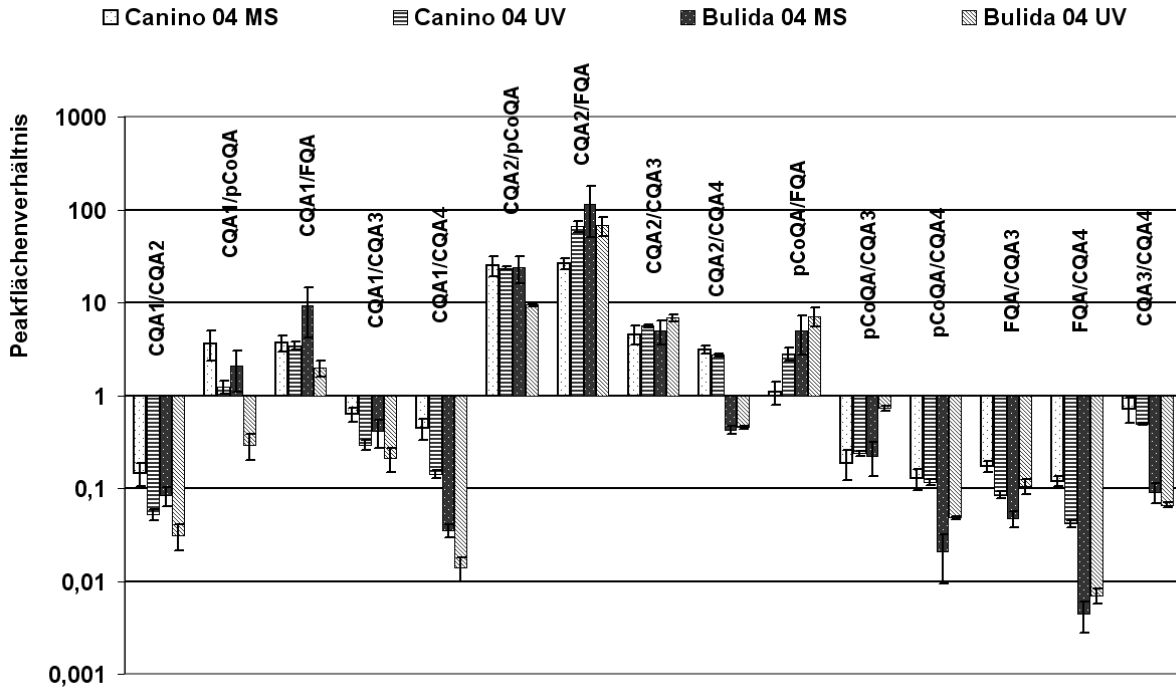


Abbildung 2.4.1-4 Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen aus massenspektrometrischer und UV-Detektion zur Sortendifferenzierung

Bei der Gruppe der Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse zeigte sich ein differenziertes Ergebnis. Unterschiede waren häufig bei Verhältnissen unterschiedlicher Chinasäureester ausgeprägter. Teilweise waren Werte jedoch miteinander vergleichbar oder bei beiden Sorten in die gleiche „Richtung“ verschoben. Eine Umrechnung von Peakflächenverhältnissen aus UV-Detektion zu MS-Detektion mit Hilfe eines allgemeinen Faktors für alle gezeigten Werte war nicht möglich. Insgesamt waren die ersten Ergebnisse dennoch als sehr viel versprechend zu bewerten.

2.4.2 Überprüfung der Jahrgangskonstanz von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenrohware

Von der Sorte *Canino* standen die Erntejahrgänge 2004 und 2005, von der Sorte *Golden Bulida* stand zusätzlich der Erntejahrgang 2006 als Probenmaterial zur Verfügung. Die Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside aus den Jahrgängen wurden für jede Sorte

getrennt in den Abbildungen 2.4.2-1 und 2.4.2-2 gegenübergestellt. Für den überwiegenden Teil der Peakflächenverhältnisse konnte bei beiden Sorten eine Jahrgangskonstanz belegt werden.

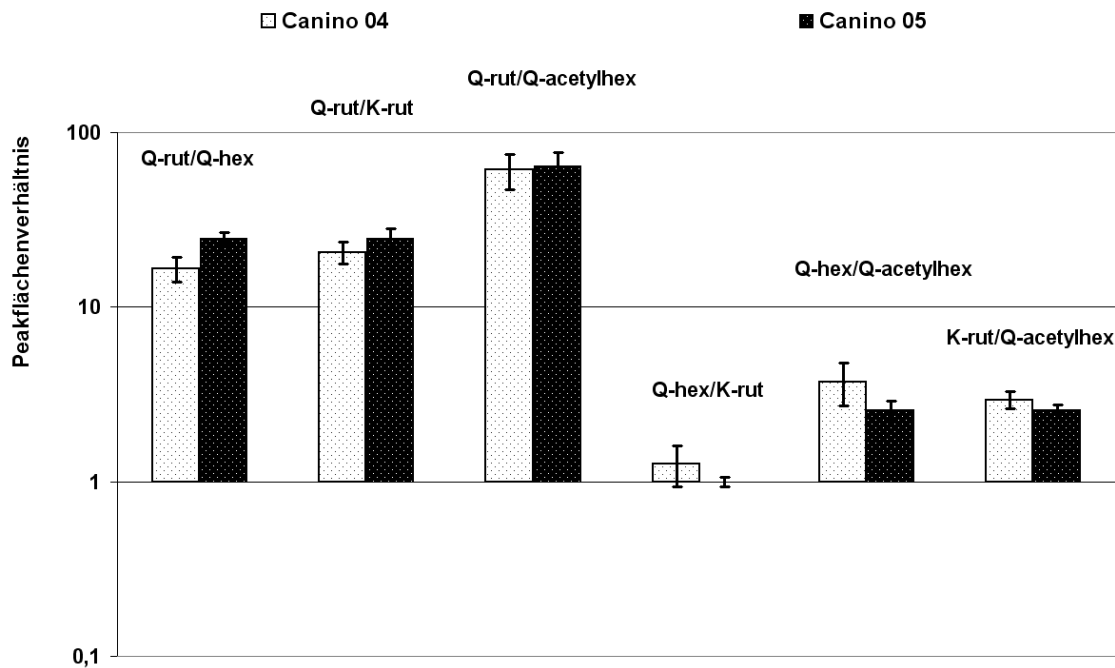


Abbildung 2.4.2-1 Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen der Sorte Canino

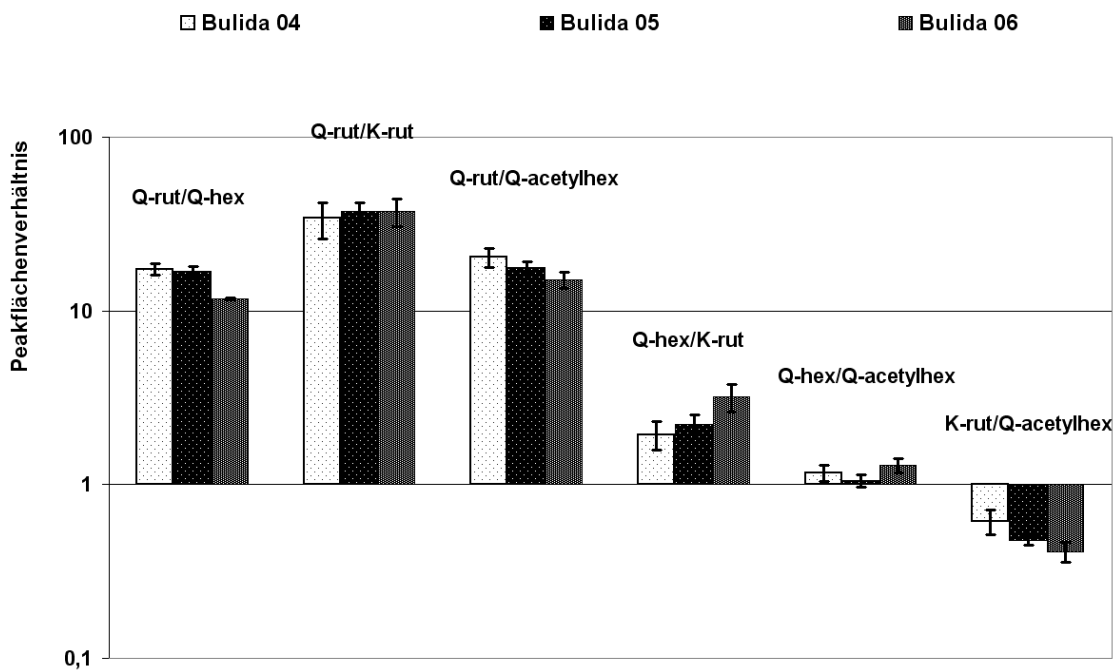


Abbildung 2.4.2-2 Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen der Sorte Golden Bulida

2. Ergebnisse und Diskussion

Die Jahrgangskonstanz wurde auch für die Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse überprüft und für die Sorten *Canino* und *Golden Bulida* in den Abbildungen 2.4.2-3 und 2.4.2-4 nachfolgend dargestellt. Auch für diese Gruppe Peakflächenverhältnisse konnte für den überwiegenden Teil eine Jahrgangskonstanz nachgewiesen werden.

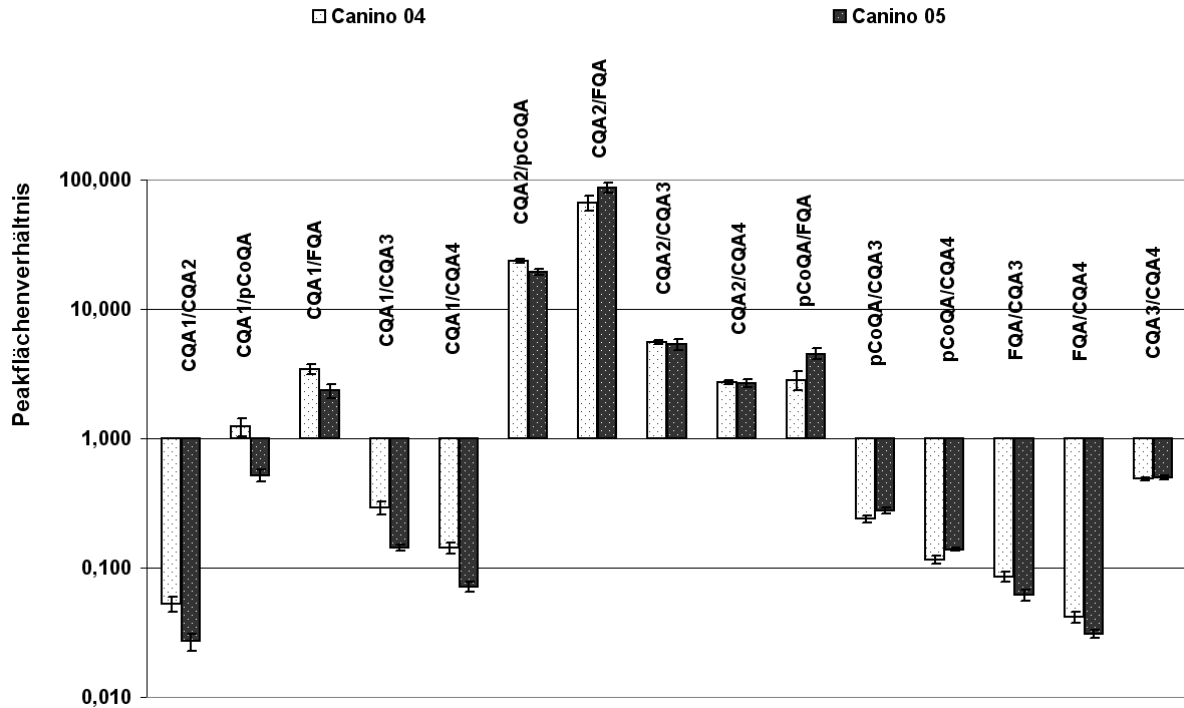


Abbildung 2.4.2-3 Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen der Sorte Canino

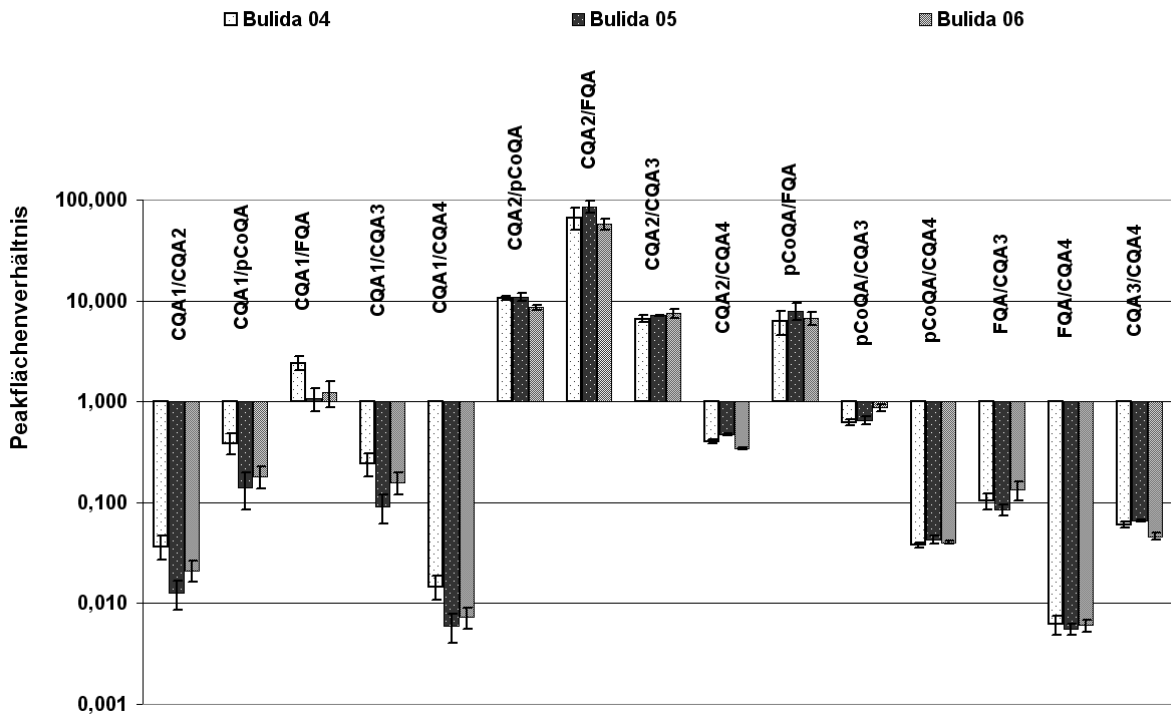


Abbildung 2.4.2-4 Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Phenol-carbonsäurepeakflächenverhältnissen der Sorte Golden Bulida

2.4.3 Vergleich von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosenkonfitüre

Die Polyphenolpeakflächenverhältnisse von 8 Aprikosenkonfitüren wurden ermittelt und verglichen. Bei ähnlichen Peakflächenverhältnissen könnte daher, vergleichbare technologische Verarbeitungsbedingungen vorausgesetzt, auf die Rezeptur der Fruchtanteile geschlossen werden. Ein direkter Vergleich mit den Werten der beiden Rohwaren war nur bedingt möglich, da Veränderungen während der Verarbeitung aufgrund thermischer Belastungen oder der Zugabe von Säuerungsmittel wie Citronensäure einen unterschiedlich ausgeprägten Einfluss auf die Substanzen und damit Veränderungen der Peakflächenverhältnisse verursachen könnten. In den Abbildungen 2.4.3-1 und 2.4.3-2 wurden die Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von jeweils 4 Konfitürenproben zusammengefasst.

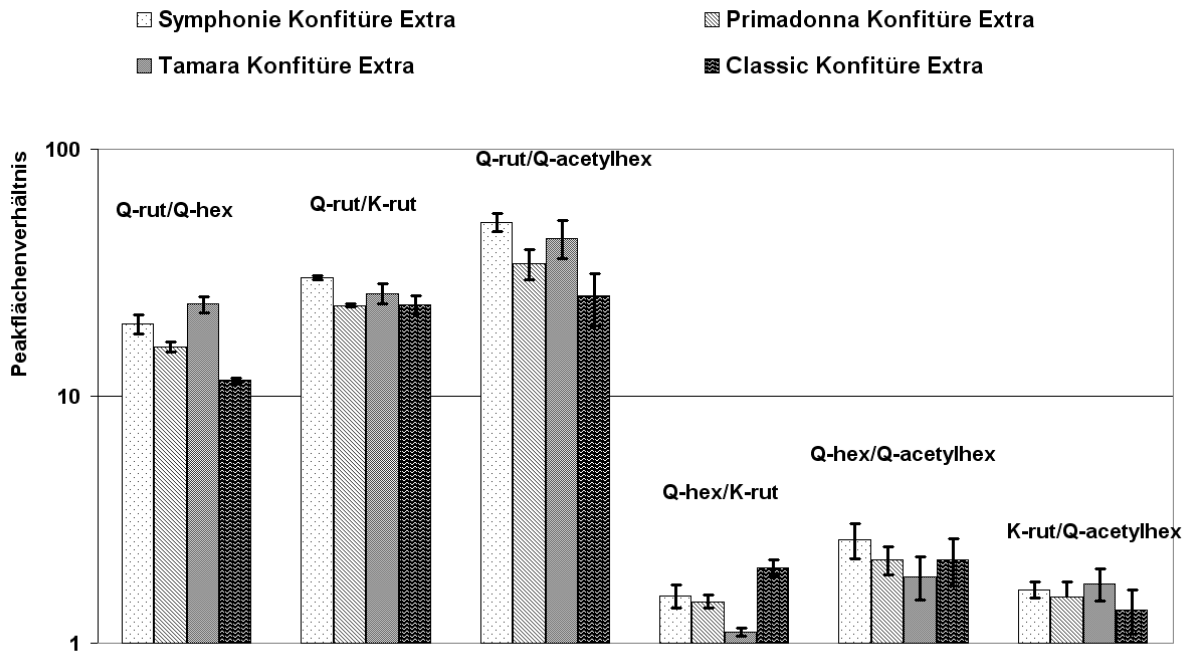


Abbildung 2.4.3-1 Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren

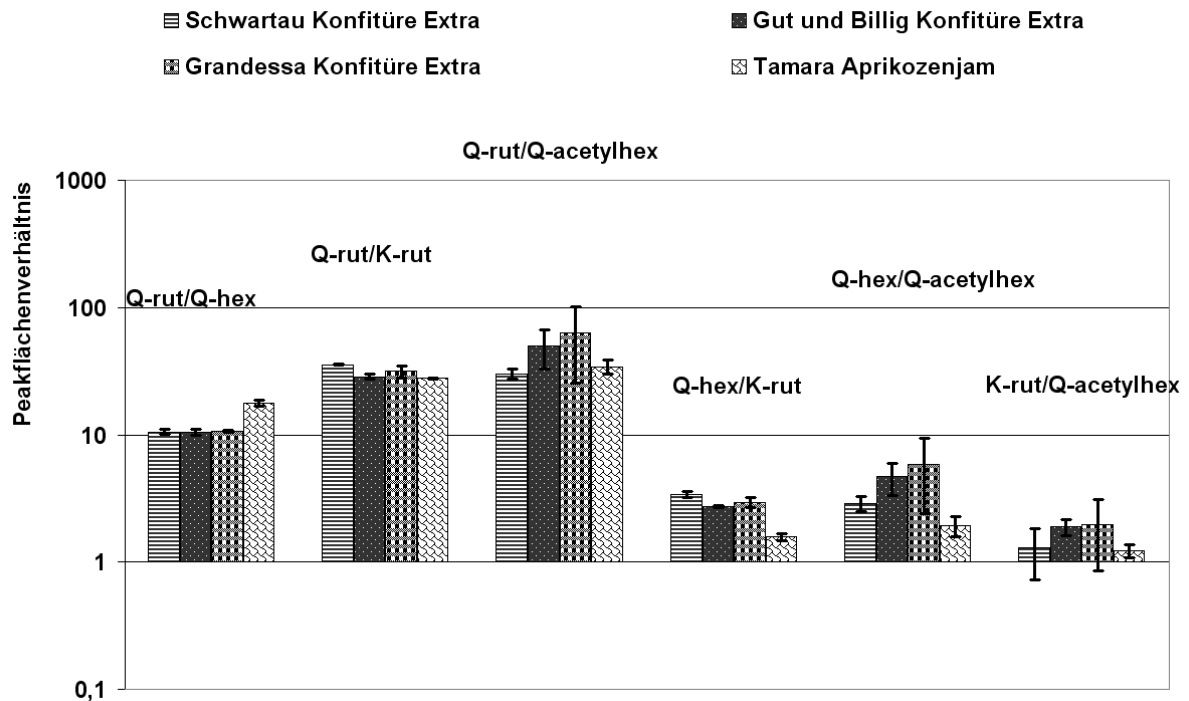


Abbildung 2.4.3-2 Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren

Grundsätzlich konnten bei allen Konfitüren Peakflächenverhältnisse berechnet werden, die von gleicher Größenordnung wie in Aprikosenrohwaren waren, so dass sich die zuvor angesprochenen thermischen Belastungen eine untergeordnete Rolle spielten. Daneben sprachen die ermittelten Verhältnismerte dafür, dass die Sorten *Canino* und *Golden Bulida* als mögliche Rohwaren bei der Produktion dieser Konfitüren verwendet wurden. Eine Ausnahme stellte die Grandessa Konfitüre Extra dar, die erhöhte Verhältnismerte zeigte, sobald das Quercetinacetylhexosid den Nenner eines Verhältnisses darstellte. Nur bei dieser Probe musste von einem differenzierten thermisch bedingten Abbau, bzw. einer Hydrolyse ausgegangen werden. Somit war daher in diesem Fall das Peakflächenverhältnis der beiden Rutoside für eine Beurteilung von größter Bedeutung und würde für einen überwiegenden Aprikosenfruchtanteil der Sorte *Golden Bulida* sprechen. Dies wäre ebenso aus den Verhältnissen der Schwartau Konfitüre Extra, der Gut und Billig Konfitüre Extra und des Tamara Aprikozenjam abzuleiten. Bei der Tamara Aprikosenkonfitüre Extra würden die Verhältnisse auf einen dominierenden *Canino* Rohwarenanteil hindeuten. Zumindest ein ausgeglichenes Verhältnis bis leichtes Übergewicht zu Gunsten der Rohware *Canino* müsste bei der Symphonie Aprikosenkonfitüre Extra, der Primadonna Konfitüre Extra und der Classic Konfitüre Extra vorliegen. Diese Annahmen wurden anschließend mit den Peakflächenverhältnissen der Phenolcarbonsäuren aus den Abbildungen 2.4.3-3 und 2.4.3-4 überprüft.

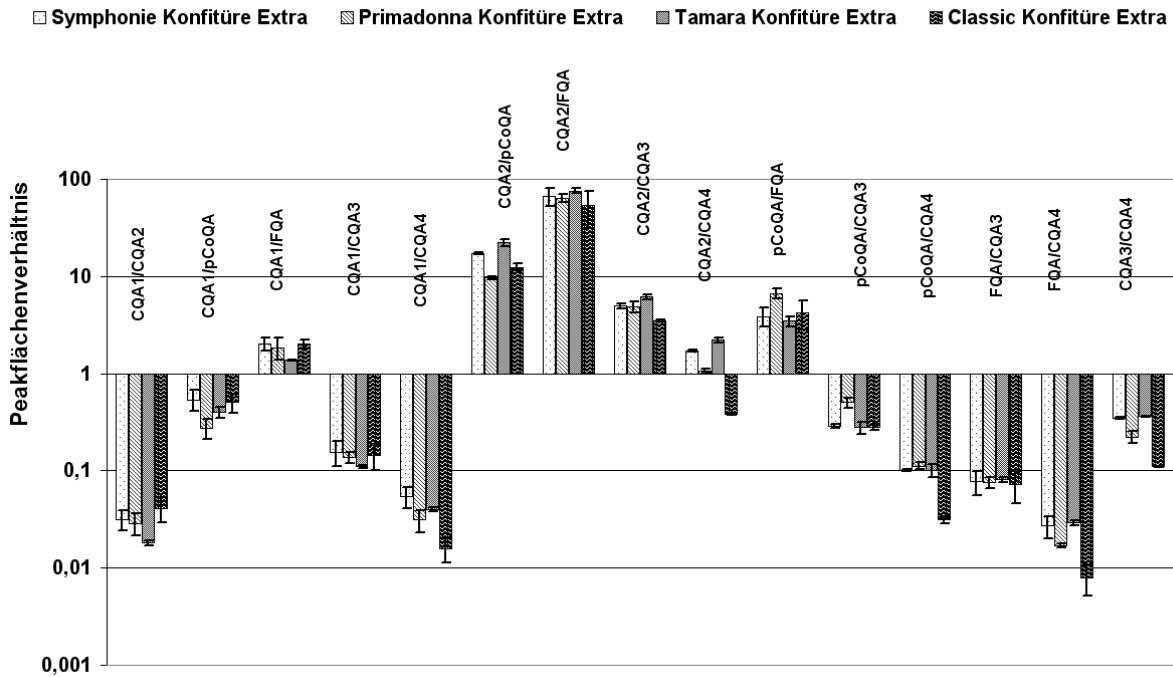


Abbildung 2.4.3-3 Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren

Eine Aussage bei den Peakflächenverhältnissen der Phenolcarbonsäuren hinsichtlich der anteilmäßigen Verwendung der Sorte *Canino* oder *Golden Bulida* in den Konfitüren konnte direkt über das Peakflächenverhältnis der beiden Leitsubstanzen, dem Verhältnis CQA2/CQA4 getroffen werden. Demnach würde die Annahme, dass die Tamara Konfitüre Extra zum überwiegenden Teil aus Früchten der Sorte *Canino* produziert wurde bestätigt. Des Weiteren wurde die Annahme gestützt, dass in der Symphonie Konfitüre Extra und der Primadonna Konfitüre extra der Hauptanteil der für die Herstellung eingesetzten Fruchtmenge der Sorte *Canino* zuzuordnen war. Bei der Classic Konfitüre Extra war der Wert des betrachteten Verhältnisses am geringsten und daher der Anteil der Sorte *Canino* mit Abstand am größten. Ebenfalls konnte nachvollzogen werden, dass die Schwartau Konfitüre Extra, die Gut und Billig Konfitüre Extra, die Grandessa Konfitüre Extra und das Tamara Aprikozenjam einen dominierenden Fruchtanteil der Sorte *Golden Bulida* aufwiesen.

Für den Beleg der getroffenen Aussagen konnten noch weitere Peakflächenverhältnisse betrachtet werden, die sich signifikant unterschiedlich bzw. charakteristisch für die jeweilige Aprikosensorte erwiesen hatten.



Abbildung 2.4.3-4 Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren

Grundsätzlich stimmten die Ergebnisse, die aus den Peakflächenverhältnissen der beiden Gruppen abgeleitet werden konnten, überein. Für die Beurteilung einer potentiellen Zusammensetzung der Sorten im Fruchtanteil der Konfitüren standen zahlreiche Beurteilungsparameter zur Verfügung, die jedoch zusammenhängend zu betrachten waren. Für die vereinfachte Hypothese, dass im Wesentlichen nur die beiden Sorten *Canino* und *Golden Bulida* im Falle der untersuchten Konfitüren Teil der Rezeptur waren, war eine Abschätzung der jeweiligen Anteile möglich. Würden weitere Sorten in die Produktion einfließen, würde eine Abschätzung deutlich erschwert und nur mit entsprechender Auswertungssoftware zu leisten sein.

2.4.4 Mischungen von Aprikosenrohware

Die bisherigen Ergebnisse zeigten, dass mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen eine Sortendifferenzierung zwischen *Canino* und *Golden Bulida* aufgrund jahrgangsunabhängiger Peakflächenverhältnisse möglich war. Zusätzlich unterschieden sich die beiden Sorten im Flavonoidprofil, so dass ein Zusatz der Sorte *Canino* zu *Golden Bulida* leicht erkannt werden

konnte, wenn die jeweiligen für *Canino* sortenspezifischen Analytsignale in *Golden Bulida* nachgewiesen werden konnten. Eine allgemeine Nachweisgrenze für eine derartige Mischung der Sorten war analytspezifisch und systemspezifisch. Der umgekehrte Fall, ein Zusatz der Sorte *Golden Bulida* zu der Sorte *Canino* war aufgrund des jeweils identifizierten Flavonoidspektrums jedoch nicht möglich, da keine Veränderung des Flavonoidspektrums auftrat. Es stellte sich daher die Frage, ob in beiden Sorten gemeinsam vorhandene Polyphenolpeakflächenverhältnisse Auskunft über gemischte Aprikosenrohwaren geben könnten. Am Modell der beiden Sorten *Canino* und *Golden Bulida* sollte aufgezeigt werden, wie sich die Polyphenolpeakflächenverhältnisse analog zum Mischungsverhältnis verändern sollten und welche Verhältniswerte bei einem im Labormaßstab durchgeführten Mischungsversuch erzielt werden konnten.

Daher wurden zuerst nach Sortencharakterisierung die Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside und Phenolcarbonsäuren berechnet. Es wurden die theoretischen Peakflächen des jeweiligen Sortenanteils der Mischung addiert. Anschließend erfolgten die Verhältnisbildung und die Darstellung in Diagrammen. In den Abbildungen 2.4.4-1 und 2.4.4-2 wurde der theoretische Verlauf aufgezeigt. Die Verhältnisse vom Ausgangswert der Sorte *Golden Bulida* näherten sich dem Wert der Sorte *Canino* entsprechend des jeweiligen Mischungsverhältnisses an. Je unterschiedlicher die Ausgangswerte, bzw. die Verhältnisse der geprüften Sorten waren, umso schneller traten signifikante Änderungen des ursprünglichen Peakflächenverhältnisses in den Berechnungen auf. Bei Mischungen mehrerer Sorten aus diversen Jahrgängen würden statistische Auswerteprogramme die komplizierten Simulationsrechnungen leisten müssen. Die Sortenreinheit konnte somit aufgrund der beispielhaft gezeigten Veränderungen der Peakflächenverhältnisse unabhängig vom Erntejahrgang auch für die Sorte *Golden Bulida* überprüft werden.

Um jedoch Mischungsanteile verschiedener Aprikosensorten im vorliegenden Modell nachvollziehen zu können, mussten zusätzlich die Erntejahrgänge der enthaltenen Sorten bekannt sein, da bei der Verhältnisbildung die Summen der absoluten Peakflächen der jeweiligen Analyten zu Grunde gelegt wurden und diese, wie die durchgeführte Quantifizierung gezeigt hatte, wiesen zum Teil beträchtliche Jahrgangsunterschiede auf. Die absolute Menge jeweils eines Analyten aus der Gruppe der Phenolcarbonsäuren und der Flavonolglykoside musste somit für die Berechnung des Mischungsmodelles vorliegen, da bisher keine Polyphenolpeakflächendatenbank für alle Sorten und Herkünfte der weltweit gehandelten Aprikosen für eine Überprüfung zur Verfügung steht.

2. Ergebnisse und Diskussion

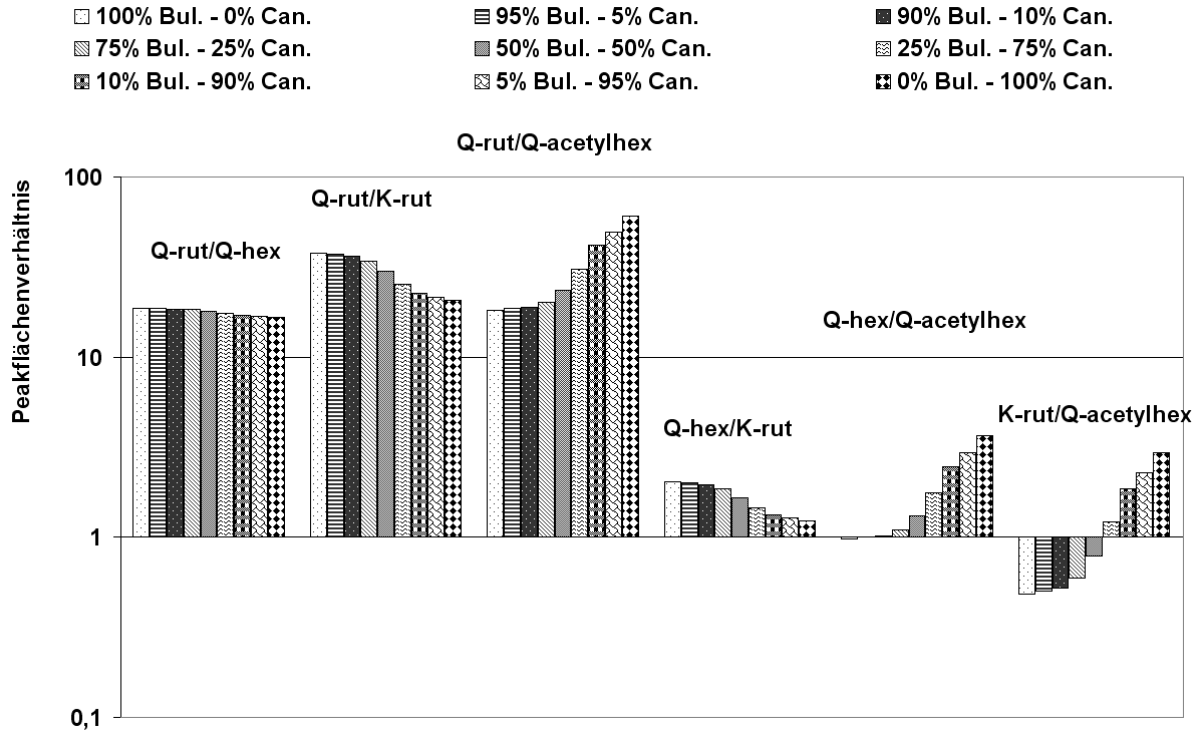


Abbildung 2.4.4-1 Berechnete Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350)

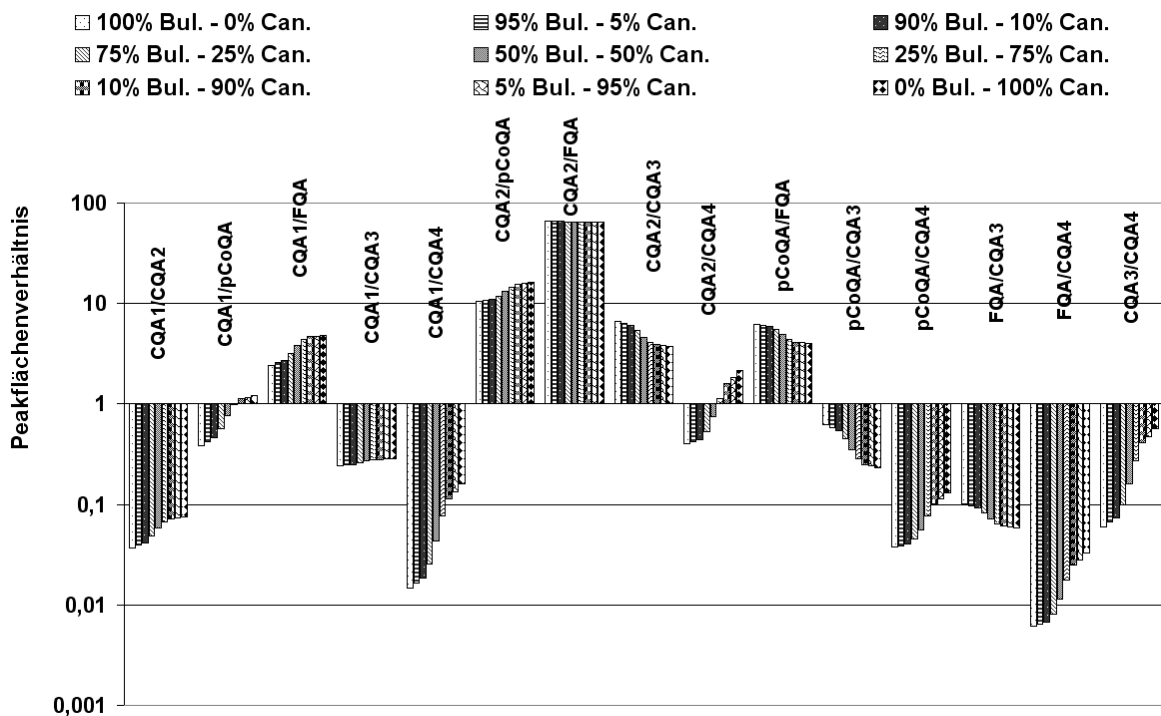


Abbildung 2.4.4-2 Berechnete Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350)

Ein Vergleich mit den in Abbildung 2.4.4-3 dargestellten im Mischungsversuch bestimmten Peakflächenverhältnissen der Flavonolglykoside wies eine weitgehende Übereinstimmung bei den einzelnen Verhältnissen auf. Die Werte des Mischungsverhältnis 90% der Sorte *Canino* zu 10% der Sorte *Golden Bulida* wurden als Ausreißer betrachtet und vernachlässigt.

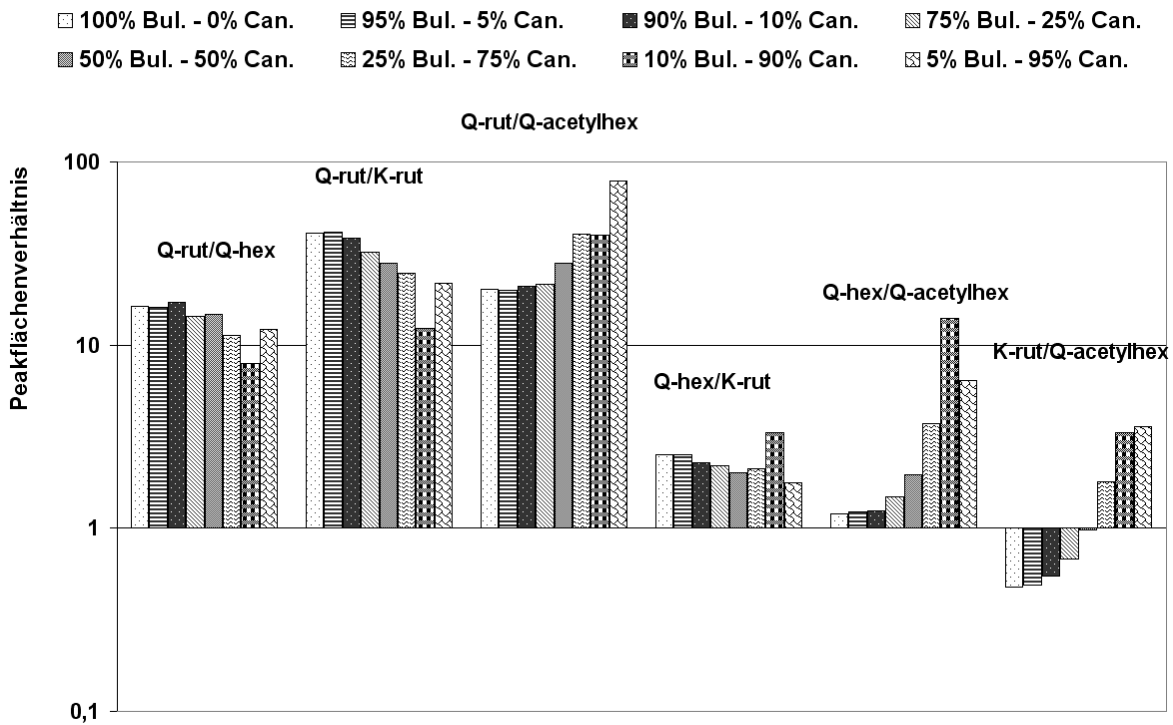


Abbildung 2.4.4-3 Bestimmte Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350)

Bei den im Mischungsversuch ermittelten Peakflächenverhältnissen der Phenolcarbonsäuren zeigte sich, dass lediglich Peakflächenverhältnisse der Leitverbindungen (CQA2, CQA3 und CQA4) zu den erwarteten Ergebnissen führten. Diese sind in Abbildung 2.4.4-4 hervorgehoben. Gründe, warum die Werte bei den anderen Verhältnissen derart streuten, konnten analytisch nicht nachvollzogen werden, sondern wurden bei der Mischung des Probengutes vermutet. Als ursächlich wurden ein unzureichender Homogenisierungsgrad des für die Mischungen eingewogenen Probengutes und eine unzureichende Durchmischung der jeweiligen Probenansätze angenommen. Auf eine Wiederholung wurde jedoch verzichtet, da die einzelnen Peakflächenverhältnisse grundsätzlich im Zusammenhang zu bewerten waren. Bei verarbeiteten Erzeugnissen müsste der technologische Kontext noch größere Beachtung finden, damit

mögliche Auswirkungen durch Verarbeitungsprozesse auf die Peakflächenverhältnisse berücksichtigt werden können.

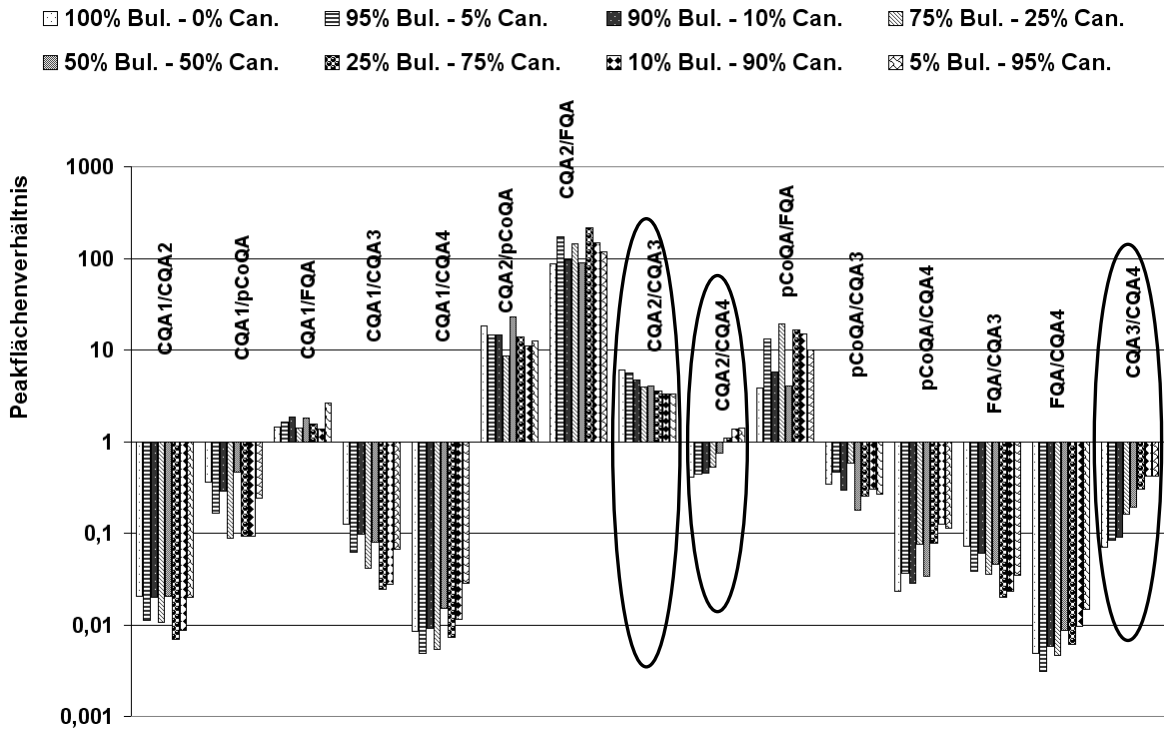


Abbildung 2.4.4-4 Bestimmte Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350)

2.5 Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre

Für die Ermittlung des Fruchtgehaltes von Fruchtprodukten gibt es keine amtlichen Bestimmungsmethoden nach §64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch. Stattdessen findet häufig eine komplizierte Formelanalytik Anwendung, die auf empirisch ermittelte Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte, kurz RSK-Werte, zurückgreift. Betrachtet werden dabei die charakteristischen Schwankungsbreiten von Mineralstoffen, Aminosäuren, organischen Säuren, des Zuckergehaltes und deren anteilige Zusammensetzung. Diese Parameter, speziell die Aminosäuren und damit der Formolwert, unterliegen technologisch bedingt Einflüssen, die unberechenbare Veränderungen dieser Gehalte verursachen. Damit eignen sich diese Parameter nur bedingt für die Ermittlung des Fruchtgehaltes von verarbeiteten Fruchtprodukten. Hingegen bietet die Polyphenolanalytik verschiedene Möglichkeiten zur Beurteilung von Früchten und verarbeiteten Fruchtprodukten. Neben verschiedensten Verfälschungsnachweisen ermöglicht sie auch eine Beurteilung des Fruchtgehaltes.

Am Beispiel von zwei Aprikosenkonfitüren bekannter Zusammensetzung des Fruchtanteils sollten die einzelnen Möglichkeiten der Polyphenolanalytik aufgezeigt und hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit geprüft werden.

2.5.1 Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe des Flavonoidgehaltes

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit standen zwei Konfitüren extra bekannter Zusammensetzung des Fruchtanteils sowie die bei der Herstellung eingesetzten Rohwaren für Untersuchungen zur Verfügung. Ausgehend von einem deklarierten Mindestfruchtgehalt von 50% ließen sich daher die Mindestflavonoidgehalte für den deklarierten Fruchtgehalt aus den Ergebnissen der untersuchten Rohwaren berechnen. Gegebenenfalls auftretende Veränderungen, wie thermischer oder hydrolytischer Abbau durch den Herstellungsprozess, wurden bei der Berechnung der Gesamtflavonoidgehalte anteilig für die Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykosidgehalte nicht berücksichtigt, da man keine Untersuchungen zum Polyphenolgehalt während des Herstellungsprozesses durchgeführt hatte und diese daher nicht abgeschätzt werden konnten. Hingegen wurde zusätzlich der Gesamtflavonoidgehalt der Konfitüren bei einem vollständigen Abbau der Flavan-3-ole und Proanthocyanidine zum Vergleich berechnet, da in den betrachteten Aprikosenkonfitürenmengen keine Analyten dieser Verbindungsgruppen identifiziert werden

konnten. Somit ergaben sich für jede Konfitüre drei Gesamtflavonoidgehalte, die in Abbildung 2.5.1-1 gegenübergestellt sind. Die berechneten Sollwerte stellen Mindestwerte dar, die bei einem Mindestfruchtanteil von 50% enthalten sein müssen.

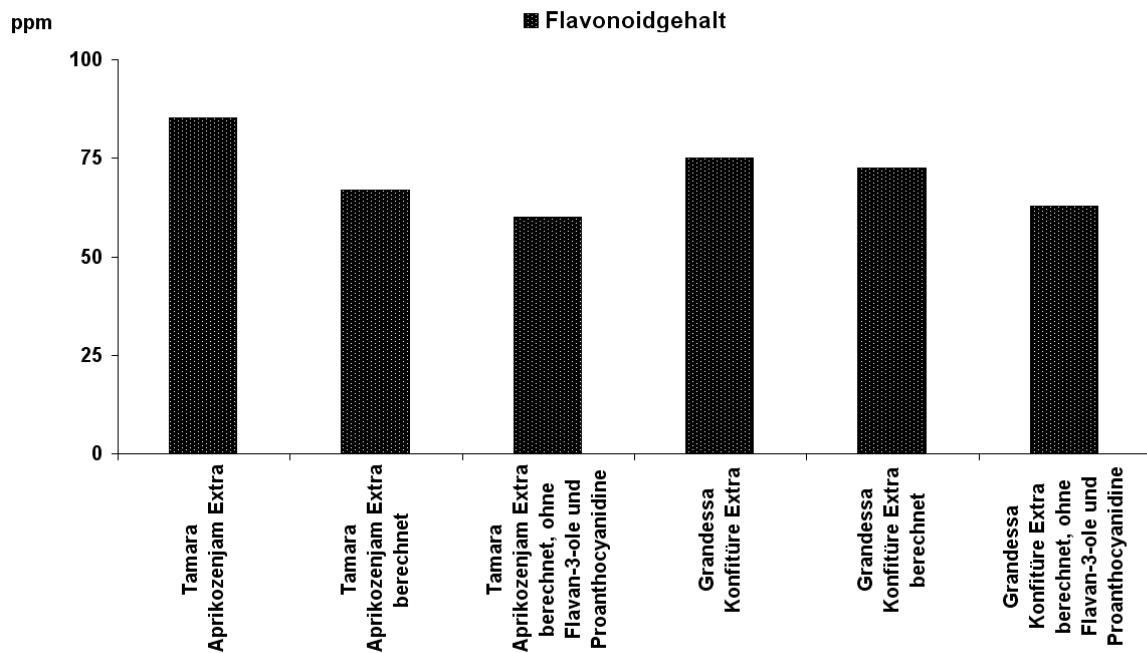


Abbildung 2.5.1-1 Vergleich des Gesamtflavonoidgehaltes von Aprikosenkonfitüre extra mit einem Mindestfruchtanteil von 50% bei bekannter anteilmäßiger Zusammensetzung der Erntejahrgänge und Sorten der verwendeten Aprikosenrohwaren

Die Abbildung 2.5.1-1 zeigt, dass sowohl für die Grandessa Aprikosenkonfitüre extra als auch die für die Tamara Aprikozenjam berechneten Mindestgehalte übertroffen wurden und damit gemäß der Gesamtflavonoidgehalte der vorgeschriebene Fruchtanteil enthalten sein müsste. Waren sowohl Erntejahrgänge als auch Sorten der zu Konfitüre verarbeiteten Früchte bekannt, so konnte der Mindestfruchtgehalt mit Hilfe des Gesamtflavonoidgehaltes überprüft werden. Ohne diese Informationen könnten lediglich Simulationsrechnungen verschiedener Sorten und Erntejahrgänge für Aprikosen durchgeführt werden, um eine mögliche Schwankungsbreite des Gesamtflavonoidgehaltes abzuschätzen.

2.5.2 Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe sortenspezifischer und jahrgangsunabhängiger Anteile aprikosenspezifischer Flavonoidgehalte am Gesamtflavonoidgehalt

Bei der Quantifizierung der in den Probenmaterialien enthaltenen Materialien konnte gezeigt werden, dass die Mengenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren, der Flavonolglykoside sowie der Flavan-3-ole und Proanthocyanidine sortenspezifisch und jahrgangsunabhängig waren. Sowohl die Verteilung der Anteile der jeweiligen Gruppen am Gesamtflavonoidgehalt als auch die prozentualen Anteile der Leitsubstanzen in den jeweiligen Gruppen sollten daher für eine Überprüfung der Fruchtgehalte in Betracht gezogen werden.

Bei den Aprikosenkonfitüren wurden daher aus den Flavonoidgehalten der Einzelverbindungen der verwendeten Rohwaren die Anteile der jeweiligen Gruppen berechnet und mit denen in den Konfitüren bestimmten Werten in Abbildung 2.5.2-1 verglichen.

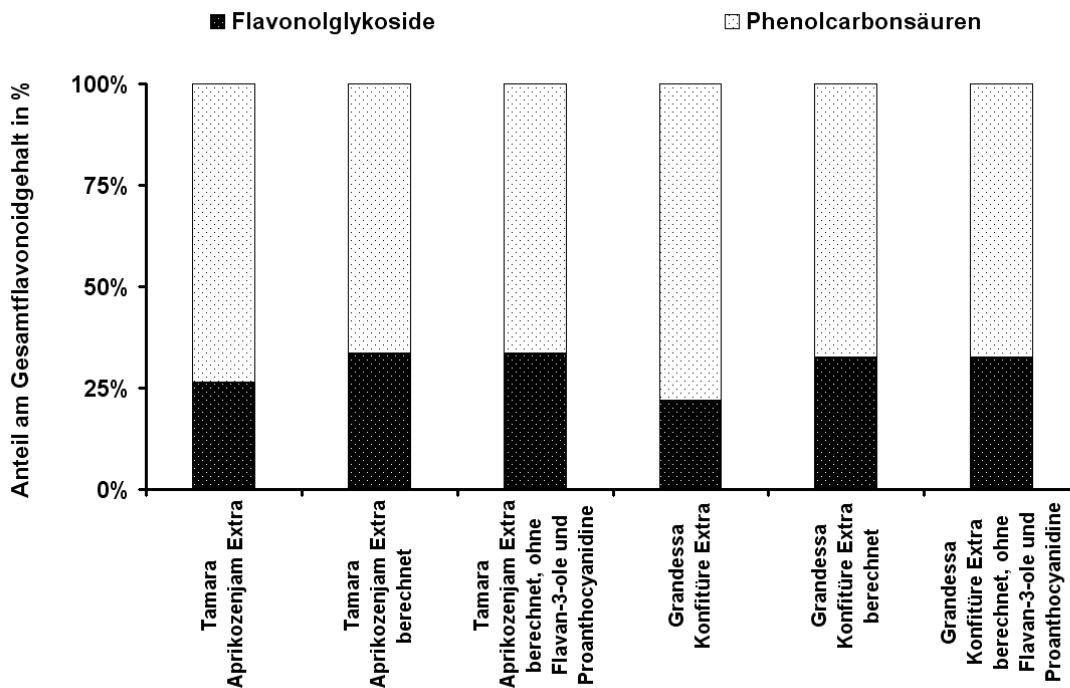


Abbildung 2.5.2-1 Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt bei Aprikosenkonfitüre

Die Abbildung 2.5.2-1 zeigt, dass wie erwartet die berechneten und die in der Probe ermittelten Anteile der Phenolcarbonsäuren und der Flavonolglykoside weitgehend vergleichbar waren. In den Konfitüreproben waren die Anteile der Phenolcarbonsäuren etwas größer als berechnet. Der Herstellungsprozess hatte daher größeren Einfluss auf die Gruppe der Flavonolglykoside. Der Zusatz von geschälten Aprikosenrohwaren würde zu höheren Anteilen von Phenolcarbonsäuren gegenüber Flavonolglykosiden führen und müsste näher geprüft werden. Dies könnte durch die anteiligen Mengenverhältnisse der Flavonoidgehalte in den jeweiligen Gruppen geschehen. Stimmen die Ergebnisse der Flavonolglykoside und die der Phenolcarbonsäuren überein, so wäre ein Zusatz von geschälter Rohware weitgehend auszuschließen. Unterschiede hingegen würden auf einen Zusatz geschälter Früchte hindeuten.

Daher wurden entsprechend der anteiligen Rezeptur die Mengenanteile der Flavonolglykoside und Phenolcarbonsäuren berechnet und mit denen des Konfitüererzeugnisses in den Abbildungen 2.5.2-2 und 2.5.2-3 verglichen.

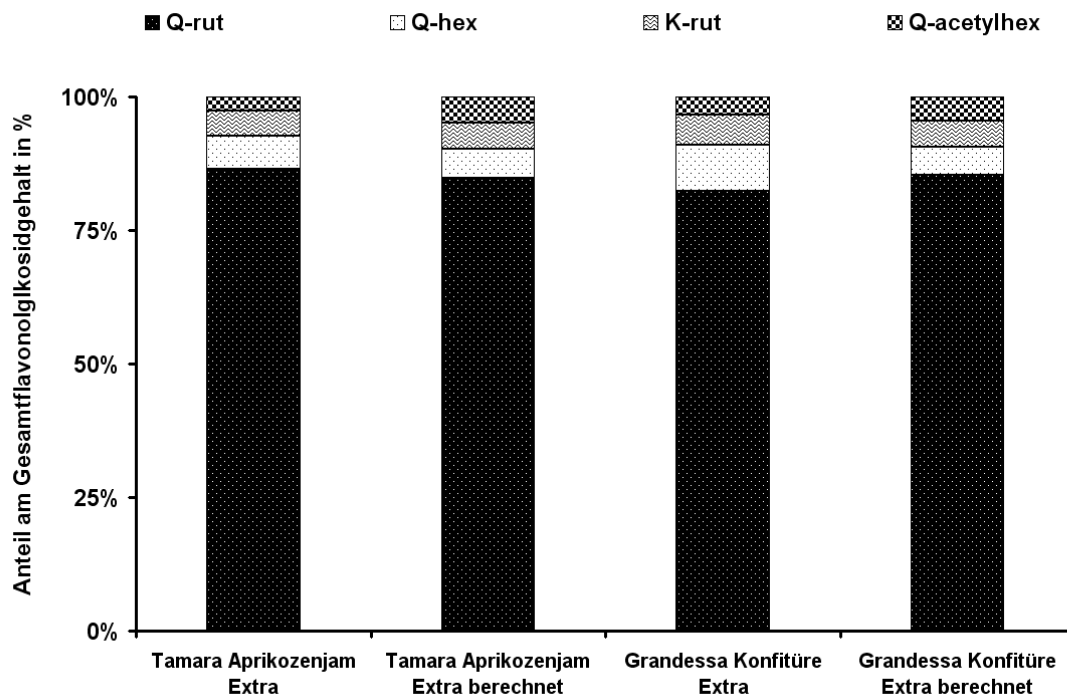


Abbildung 2.5.2-2 Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt bei Aprikosenkonfitüre

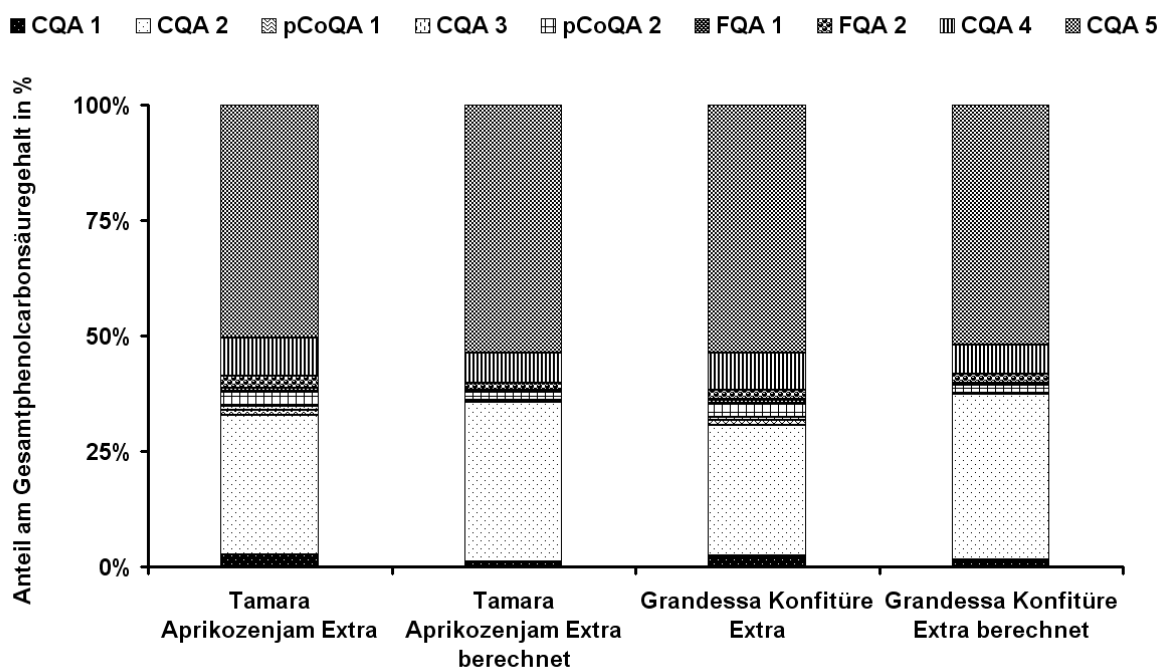


Abbildung 2.5.2-3 Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Phenolcarbonsäuren am Gesamtphenolcarbonsäuregehalt bei Aprikosenkonfitüre

Die Verteilung der Mengenanteile in beiden phenolischen Substanzgruppen entsprach dem erwarteten Bild. Bei der Gruppe der Flavonolglykoside wurden höhere Anteile an Quercetinhexosid und geringere Mengen Quercetinacetylhexosid in den Konfitürenproben bestimmt. Dies sprach für eine säurebedingte Hydrolyse der Acetylgruppe und damit einhergehend für eine Steigerung des Quercetinhexosidgehaltes. Für Quercetrinrutinosid und Kämpferolrutinosid waren die berechneten und die ermittelten Werte beinahe deckungsgleich. Somit wirkten sich bei diesen beiden Verbindungen die Einflüsse des Herstellungsprozesses gleichermaßen aus. In der Gruppe der Phenolcarbonsäuren waren ebenfalls nur geringfügige Unterschiede zwischen berechneten Werten und den Untersuchungsergebnissen der Konfitüren zu verzeichnen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Untersuchung der relativen Mengenanteile der Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykoside am Gesamtflavonoidgehalt sowie die relativen Mengenanteile der Verbindungen in den einzelnen Gruppen für die Überprüfung der Zusammensetzung der herstellerseits verwendeten Rohwaren geeignet ist. In Verbindung mit dem Gesamtflavonoidgehalt konnte daher erfolgreich eine produktspezifische Kontrolle des Mindestfruchtanteils erfolgen.

2.5.3 Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre mit Hilfe sortenspezifischer und jahrgangsunabhängiger Peakflächenverhältnisse von Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykosiden

Als weitere Möglichkeit zur Überprüfung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüre sollten sortenspezifische und jahrgangsunabhängige Peakflächenverhältnisse von Phenolcarbonsäuren und Flavonolglykosiden vorgestellt werden. Es wurden in der vorliegenden Arbeit für die Konfitüre Tarmara Aprikozenjam die Polyphenolpeakflächenverhältnisse ermittelt und mit denen verglichen, die das Produkt gemäß Herstellerangabe aufweisen sollte. Die Peakflächenverhältnisse wurden für beide Substanzgruppen in den Abbildungen 2.5.3-1 und 2.5.3-2 gegenübergestellt.

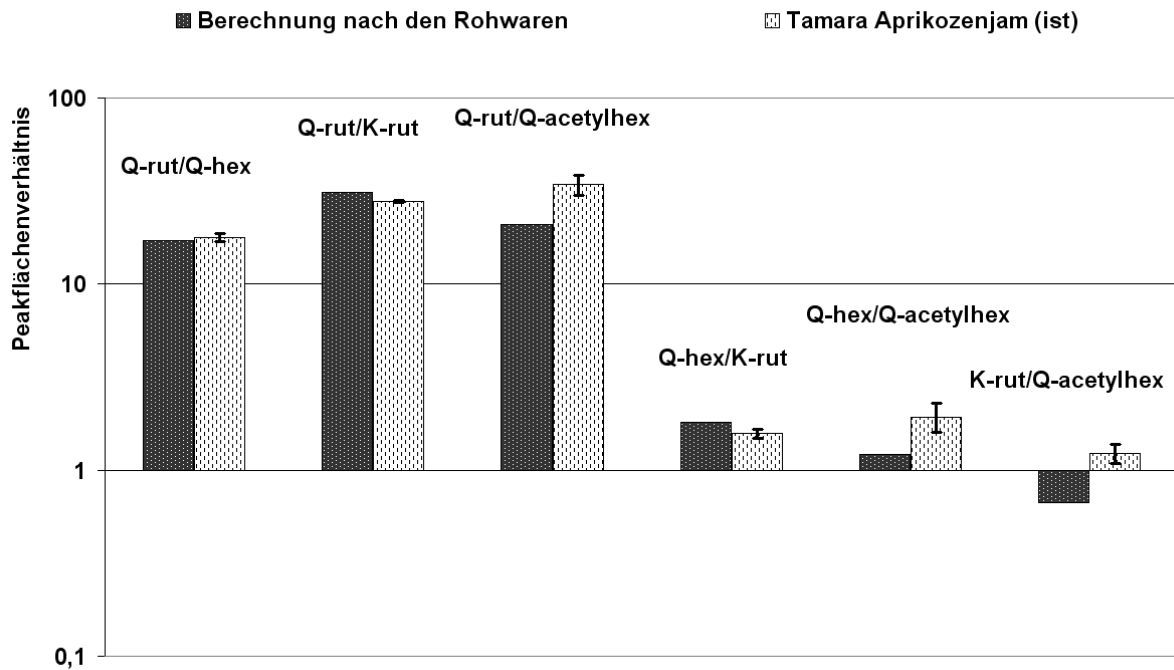


Abbildung 2.5.3-1 Vergleich von berechneten und in Konfitüre sowie Rohwarenmischungen erzielten Peakflächenverhältnissen der Gruppe der Flavonolglykoside

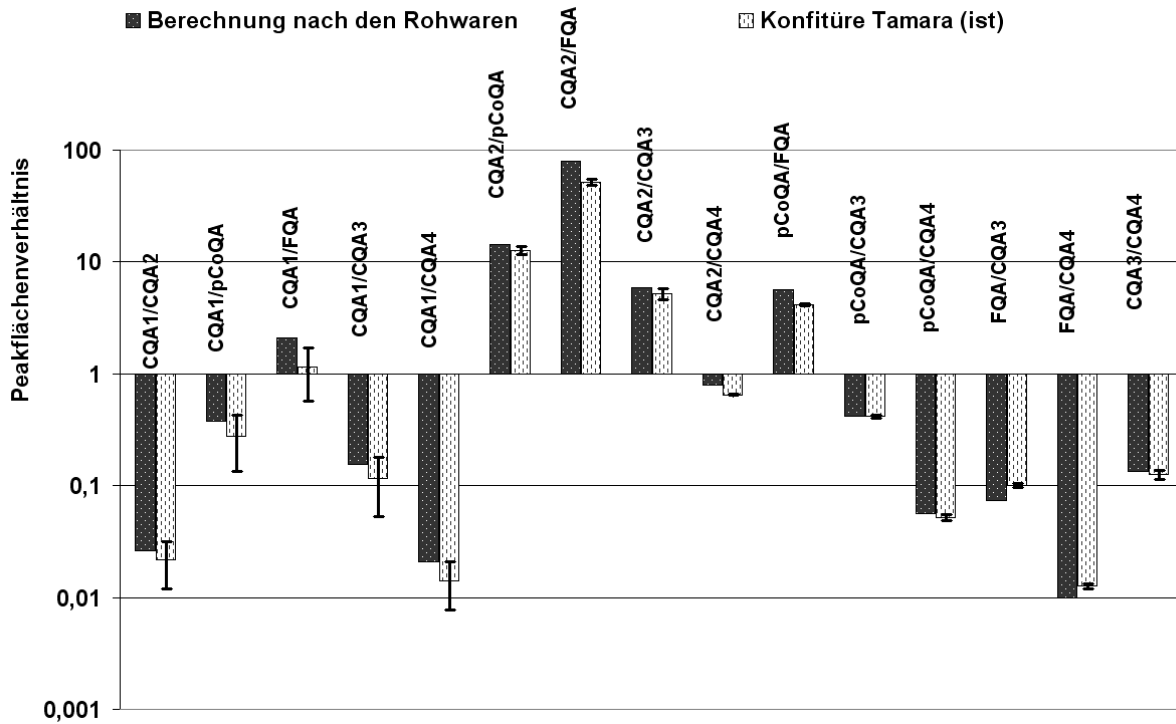


Abbildung 2.5.3-2 Vergleich von berechneten und in Konfitüre sowie Rohwarenmischungen erzielten Peakflächenverhältnissen der Gruppe der Phenolcarbonsäuren

Bei den Peakflächenverhältnissen der Flavonolglykoside zeigten die Verhältnisse von Quercetinrutinosid zu Kämpferolrutinosid, von Quercetinrutinosid zu Quercetinhexosid und von Quercetinhexosid zu Kämpferolrutinosid sehr gute Übereinstimmungen. Erst bei Verhältnissen, bei denen Quercetinacetylhexosid im Nenner stand, war eine Zunahme der Verhältniswerte sichtbar. Somit war diesen Verhältnissen bei der Beurteilung der Zusammensetzung des Fruchtanteils einer Konfitüre eine geringere Wertigkeit beizumessen. Bei den Peakflächenverhältnissen der Phenolcarbonsäuren konnten ebenfalls viele Verhältnisse ermittelt werden, bei denen der berechnete Wert und der Wert im verarbeiteten Erzeugnis übereinstimmten. Somit stellten die Peakflächenverhältnisse dieser Substanzgruppe ebenfalls eine Vielzahl von möglichen Überprüfungsparametern für die Beurteilung eines produktspezifischen Mindestfruchtgehaltes dar. In Ergänzung zum Gesamtflavonoidgehalt sowie der Verteilung der Mengenanteile der Leitsubstanzgruppen bietet somit die Polyphenolanalytik in Kombination verfälschungssichere Möglichkeiten für die Beurteilung des Fruchtgehaltes von Aprikosenkonfitüren.

Zusätzlich wurde ein Vergleich von 6 Aprikosenkonfitüren unbekannter Zusammensetzung mit Hilfe von Peakflächenverhältnissen durchgeführt. Das Verfahren war allerdings sehr vereinfacht und auf ein Mischungsmodell der Sorten *Canino* und *Golden Bulida* eines bestimmten Erntejahrganges eingegrenzt. Es war vorab erforderlich aus den Flavonoidpeakflächen der Rohwaren die Peakflächenverhältnisse in einem theoretischen Mischungsversuch zu berechnen und diese Werte als Funktion zu beschreiben. Mit entsprechenden Programmen, in der vorliegenden Arbeit mit der Software Table Curve, konnten aus den Mischungen und den zugehörigen Peakflächenverhältnissen Funktionen mit hohen Bestimmtheitsmaßen ermittelt werden. Die berechnete Funktion für die Verhältnisse Quercetinrutinosid zu Kämpferolrutinosid und Caffeoylchinasäure 2 zu Caffeoylchinasäure 4 wurde jeweils in den Abbildungen 2.5.3-3 und 2.5.3-4 präsentiert.

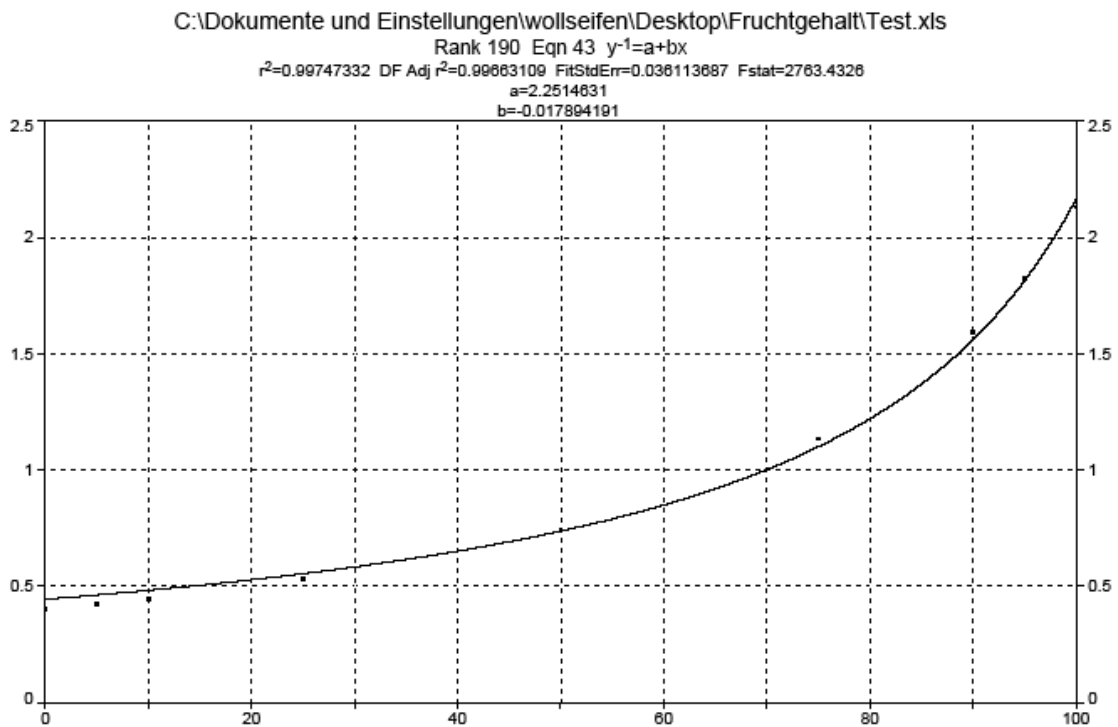


Abbildung 2.5.3-3 Funktion des Verhältnisses Quercetinrutinosid zu Kämpferolrutinosid für ein Mischungsmodell der Sorten Canino und Golden Bulida bestimmter Jahrgänge

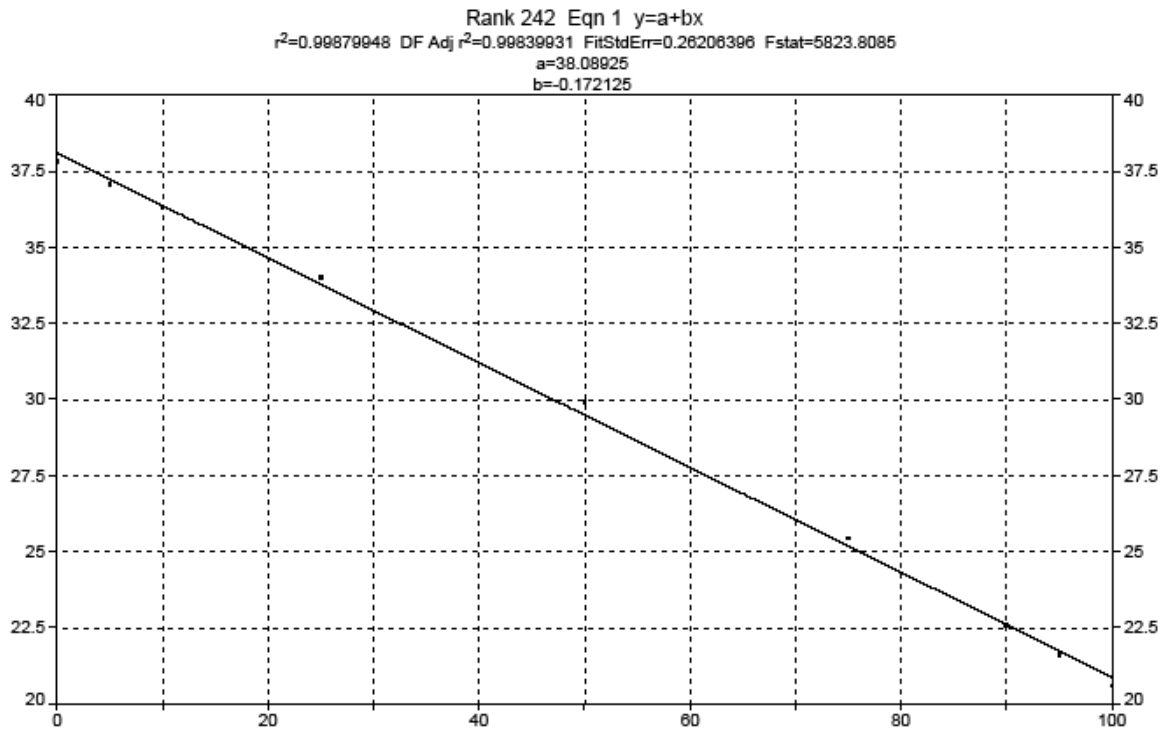


Abbildung 2.5.3-4 Funktion des Verhältnisses Caffeoylchinasäure 2 zu Caffeoylchinasäure 4 für ein Mischungsmodell der Sorten Canino und Golden Bulida bestimmter Jahrgänge

Berechnete man nun die mögliche Zusammensetzung des Fruchtanteils für die 6 Aprikosenkonfitüren aus den erhaltenen Funktionen und den jeweiligen Peakflächenverhältnissen der Konfitürenproben, so ergab sich ein erster Vorschlag für die Zusammensetzung der eingesetzten Fruchtmenge. Die Vorschläge wurden in Abbildung 2.5.3-5 zusammengefasst. Bei den Handelswaren Schwartz Konfitüre Extra, Gut und Billig Konfitüre Extra und Primadonna liegen die prozentualen Anteile für beide Verhältnisse auf etwa gleichem Niveau. Für die anderen 3 Aprikosenkonfitüren waren die vorgeschlagenen Gehalte unterschiedlich und zum Teil gegenläufig. Um in diesen Fällen ebenfalls Aussagen treffen zu können, müsste das betrachtete Mischungssystem um weitere Sorten ergänzt und entsprechende Auswertesoftware eingesetzt werden, wie dies schon erfolgreich in verschiedenen Dissertationen im Arbeitskreis praktiziert wurde.

Ebenfalls wurden die Aprikosenkonfitüren bekannter Zusammensetzung dem beschriebenen Vergleich unterzogen. Für das Produkt Grandessa Aprikosenkonfitüre extra treffen beide Verhältniswerte die vorhandene Zusammensetzung relativ genau. Gemäß dem Phenolcarbonsäureverhältnis betrug der Anteil der Sorte *Canino* knapp 30%, laut dem Flavonolglykosidverhältnis knapp 40%. Laut Hersteller sollte ein Drittel der verwendeten

Fruchtmenge aus der Sorte *Canino* bestehen. Der restliche Teil besteht aus der Sorte *Golden Bulida*, jedoch aus unterschiedlichen Regionen Spaniens mit wiederum unterschiedlichen absoluten Flavonoidgehalten, so dass das zugrunde gelegte Screening nicht zu den exakten Werten führen konnte, jedoch einen guten Zusammensetzungsvorschlag lieferte. Bei der Tamara Aprikozenjam liegen die berechneten Werte des Sortenanteils von *Canino* höher als das Drittel laut Herstellerangabe. Dies war damit zu erklären, dass nur eine Sorte zutreffenden Jahrgangs im Mischungsmodell bei der Konfitürenherstellung verwendet wurde.

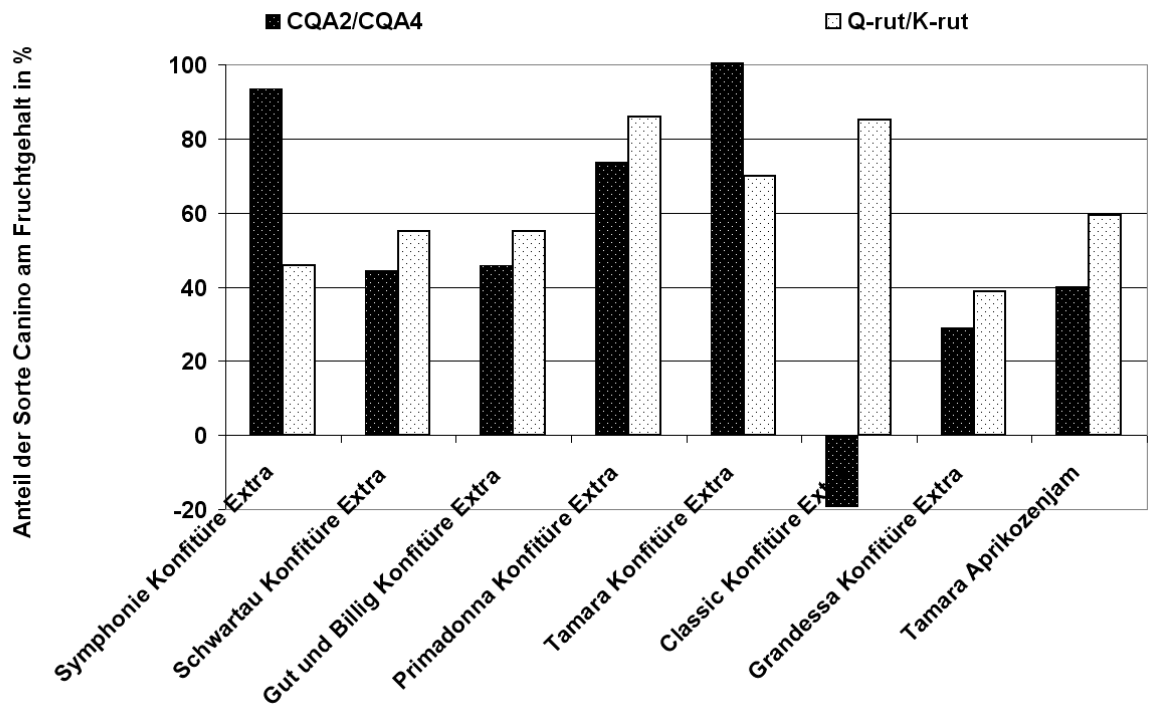


Abbildung 2.5.3-5 Vorschlag der Sortenanteile von *Canino* und *Golden Bulida* im Fruchtgehalt für Aprikozenkonfitüren

2.6 Beurteilung der Authentizität mit Hilfe von Stabilisotopenanalytik in Kombination mit der Polyphenolanalytik

Bei der Authentizitätsprüfung von Frucht und Fruchtprodukten spielt auch die Herkunftsbestimmung eine bedeutende Rolle. Bei Früchten und Fruchtprodukten kann diese mit verschiedenen analytischen Möglichkeiten sichergestellt werden. Eine Möglichkeit ist die bekannte Stabilisotopenanalytik des Wassers bzw. von Inhaltsstoffen des Primärstoffwechsels, mit der die Herkunft von Lebensmitteln ermittelt werden kann. Das ^{13}C -Stabilisotopenmuster ($d^{13}\text{CVPDB}$) wurde für die Rohwaren und daraus hergestellten Konfitüren extern bei der agroisolab GmbH ermittelt und in Abbildung 2.6-1 dargestellt. Eine Unterscheidung der beiden Herkünfte Spanien oder Marokko war aufgrund signifikant unterschiedlicher ^{13}C -Stabilisotopenwerte möglich. Um andere Anbauregionen jedoch ebenfalls ausschließen zu können, müssten vorab Datenbanken der ^{13}C -Stabilisotopenwerte von Aprikosen der jeweiligen Anbauregionen erstellt werden. Die ^{13}C -Stabilisotopenwerte der Aprikosenkonfitüren lagen entsprechend des höheren Fruchtanteils an spanischen Aprikosen im Erzeugnis näher am ^{13}C -Stabilisotopenwert der spanischen Rohware.

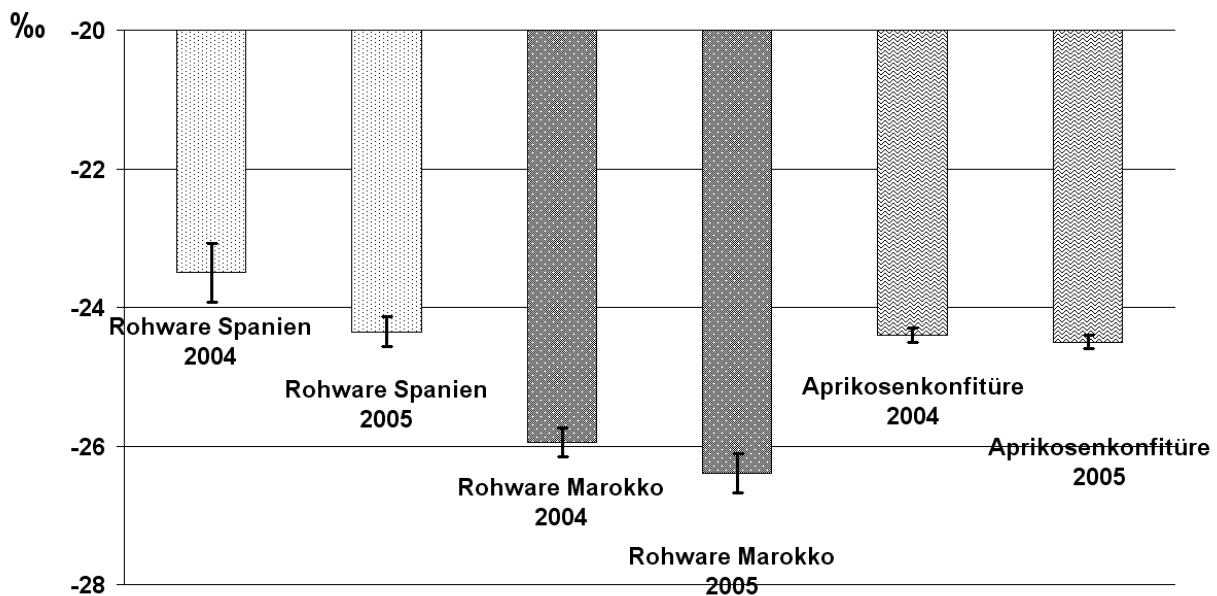


Abbildung 2.6-1 ^{13}C -Stabilisotopenmuster ($d^{13}\text{CVPDB}$) von Aprikosenrohwaren und Aprikosenkonfitüren

Ferner wurden Stabilisotopenmuster (C, O) von isoliertem Quercetinrutosid hinsichtlich ihrer Herkunftsspezifität untersucht und in Abbildung 2.6-2 gegenüber gestellt.

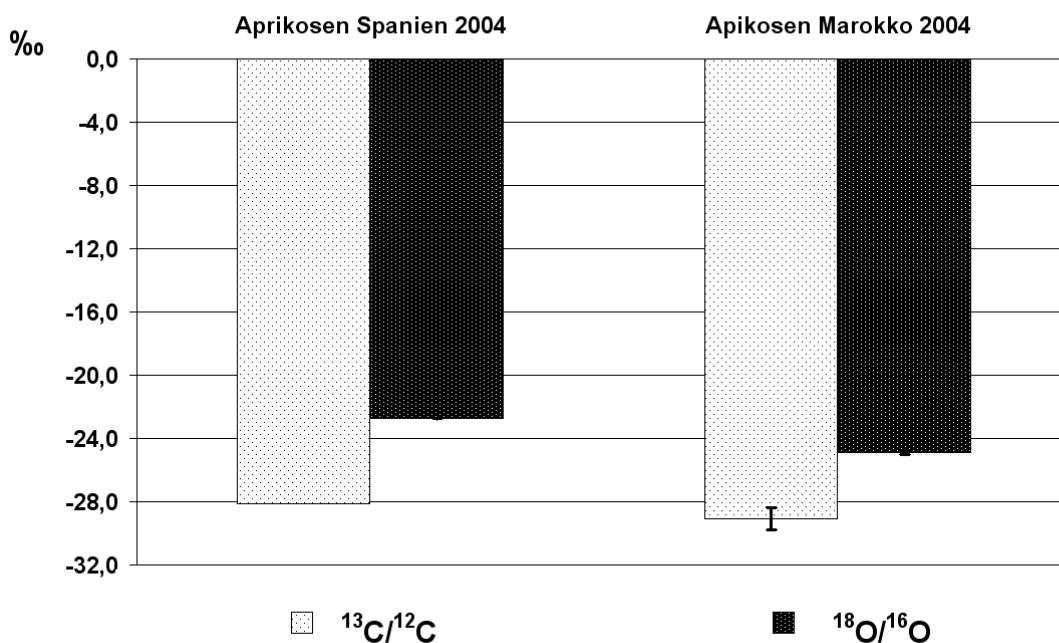


Abbildung 2.6-2 ^{18}O - und ^{13}C -Stabilisotopenmuster von isoliertem Rutin aus Aprikosen spanischer und marokkanischer Herkunft

Abbildung 2.6-2 zeigt die ^{18}O - und ^{13}C -Stabilisotopenwerte von isoliertem Rutin der jeweiligen Herkunft. Die ^{13}C -Stabilisotopenwerte des Rutins liegen mit -28‰ und -29‰ tiefer als bei den Rohwaren. Der Unterschied zwischen den Herkünften ist geringer. Aufgrund der ^{18}O -Stabilisotopenwerte isolierten Quercetinrutosids wäre eine Unterscheidung der beiden vorliegenden Herkünfte Spanien und Marokko möglich. Die Stabilisotopenmuster einzelner isolierter phenolischer Inhaltsstoffe könnten daher als verfälschungssichere Zusatzinformation einen wesentlichen Beitrag für die Herkunftsbestimmung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüren leisten.

2.7 Vorschlag eines Prüfverfahrens für die Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüren mit Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik

Im Rahmen dieser Arbeit wurde aufgezeigt, dass mit der Polyphenolanalytik zahlreiche Möglichkeiten für die Authentizitätsprüfung von Aprikosenrohwaren und Aprikosenkonfitüre zur Verfügung stehen. Abbildung 2.7-1 stellt ein Prüfschema vor, bei dem aufeinander folgend Prüfungsschritte durchlaufen werden, um potentielle Verfälschungen zu belegen oder auszuschließen. Die Leistungsfähigkeit des vorgeschlagenen Authentizitätsprüfungsverfahrens ist dabei in der Kombination der einzelnen Prüfungsschritte begründet. Jeder einzelne Prüfungsschritt kann die Authentizität nicht in ihrer Gesamtheit gewährleisten, sondern erst die Abfolge bzw. die Kombination der Prüfungsschritte führt nach dem Prinzip des Ausschlussverfahrens zur Sicherstellung der Authentizität.

Die Authentizitätsprüfung muss zuerst mit der Bestimmung des Flavonoidprofils beginnen. Polyphenole kommen als sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe ubiquitär in Früchten vor und gelangen daher auch gegebenenfalls mit der Verfälschung in das Probenmaterial. Werden fruchtfremde phenolische Inhaltsstoffe im Flavonoidprofil bestimmt, so ist eine Verfälschung eindeutig nachgewiesen. Der Nachweis von mehreren zusätzlichen Substanzen lässt dabei auf einen Zusatz einer anderen, meist kostengünstigeren Frucht, schließen. Ebenfalls könnte auf wertmindernde Verarbeitungsschritte der Früchte geschlossen werden, wenn das fruchtspezifische Flavonoidprofil um charakteristische phenolische Reaktions- oder Abbauprodukte eines Herstellungsverfahrens erweitert ist. Im Rahmen dieser Arbeit konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Flavonoidprofile von Aprikosen nicht nur frucht- sondern sortenspezifisch sind. Das Polyphenolinhaltsstoffspektrum der Aprikosensorte *Canino* zeigte im Vergleich zu dem der Aprikosensorte *Golden Bulida* signifikante Unterschiede, die eine Überprüfung der Sortenreinheit einer Aprikosenrohware ermöglichen. Hiermit wäre eine Authentizitätsprüfung des Wareneingangs eines fruchtverarbeitenden Betriebes gewährleistet. Neben dem Flavonoidprofil der gesamten Frucht kann zusätzlich die Verteilung der Flavonoide in den einzelnen Fruchtbestandteilen wie Fruchtfleisch, Schale oder Saft für eine Authentizitätsprüfung herangezogen werden. Viele Polyphenole sind vermehrt entsprechend ihrer Funktion in den äußeren Schichten von Früchten zu finden und werden fast quantitativ mit einer Schälung entfernt. Eine industriell oft vorgenommene Schälung von Aprikosenrohware ist, wie im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen vorgestellt, aufgrund der Entfernung der

Flavonolglykoside mit der Schale eindeutig nachweisbar. Dies ist für die Beurteilung des Flavonoidgehaltes von Fruchtprodukten von enormer Bedeutung.

Nach der Bestimmung des Flavonoidspektrums folgt die Quantifizierung der phenolischen Inhaltsstoffe. Aufgrund der zuvor ermittelten oder vorerst ausgeschlossenen Verfälschungsmöglichkeiten des betreffenden Probengutes kann der Flavonoidgehalt eindeutig der identifizierten Frucht zugeordnet werden. Liegen Vergleichswerte von authentischem Material vor, dann wäre eine Überprüfung des Fruchtgehaltes im Wareneingang von Rohwaren oder auch bei verarbeiteten Erzeugnissen direkt möglich. Zuvor genannte Verfälschungen, wie die Verwendung geschälter Früchte oder der Zusatz von Fruchtreiststoffen wären quantifizierbar. Bei verarbeiteten Fruchtprodukten, wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit an Aprikosenkonfitüre überprüft, zeigte sich, dass phenolische Substanzgruppen, wie die Phenolcarbonsäuren und die Flavonolglykoside während des Herstellungsverfahrens einer Aprikosenkonfitüre nicht oder nur in sehr geringem Maße abgebaut wurden. Die thermischen Belastungen des Herstellungsprozesses einer Aprikosenkonfitüre führten jedoch zum Abbau der Flavan-3-ole und Proanthocyanidine, so dass Verluste dieser phenolischen Substanzgruppe bei der Berechnung des Gesamtflavonoidgehaltes zu berücksichtigen waren. Lagen keine Informationen bezüglich der verwendeten Früchte bei verarbeiteten Fruchtprodukten vor, dann stellte der Gesamtflavonoidgehalt vorerst einen Richtwert dar. Dieser musste innerhalb gewisser Schwankungsbreiten liegen, vergleichbar mit denen der RSK-Werte oder denen der Guideline des A.I.J.N. Code of Practice. Im weiteren Verlauf des Prüfverfahrens wurde der Flavonoidgehalt bei der Ermittlung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes jedoch erneut aufgegriffen und bewertet.

Mit Hilfe des Flavonoidprofils und der Quantifizierung der phenolischen Inhaltsstoffe können die relativen Flavonoidgehalte bestimmter Polyphenolgruppen oder auch die prozentualen Mengenanteile von phenolischen Einzelverbindungen berechnet werden. Die relativen Flavonoidgehalte ermöglichen wiederum die Überprüfung bzw. Bestätigung und Quantifizierung von zuvor aufgedeckten Verfälschungen. Wird beispielsweise bei der Herstellung von Aprikosenkonfitüre zur Sorte *Canino* oder *Golden Bulida* nur ein Teil geschälte Rohware der Sorte *Canino* eingesetzt, so nehmen die prozentualen Anteile der Phenolcarbonsäuren zu. Der Anteil an Flavonolglykosiden nimmt hingegen ab. Der Zusatz von Schalenanteilen oder Fruchtreiststoffen würde ebenso zu Abweichungen der relativen Anteile führen. Zusätzlich kann in Verbindung mit den absoluten Polyphenolmengen überprüft werden, ob der angegebene Fruchtgehalt von Herstellern nachvollziehbar ist oder ob eine weitere Überprüfung der Fruchtrezeptur mit Hilfe der Polyphenolpeakflächenverhältnisse erforderlich

wird. Setzt ein Hersteller nur eine begrenzte Anzahl unterschiedlicher Aprikosensorten ein, wie im vorliegenden Fall die Sorten *Canino* und *Golden Bulida*, so können die relativen Flavonoidgehalte zur Überprüfung des angewandten Herstellungsprozesses, bzw. der Rezeptur genutzt werden, und damit einen wertvollen Beitrag zur Qualitätssicherung im Rahmen der Eigenkontrolle von Herstellerbetrieben leisten.

Im Rahmen der durchgeführten Arbeiten konnte zusätzlich gezeigt werden, dass Polyphenolpeakflächenverhältnisse zum Nachweis einer Vielzahl von Verfälschungen genutzt werden können. Am Beispiel von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre wurde verdeutlicht, dass Polyphenolpeakflächenverhältnisse jahrgangsunabhängig und sortenspezifisch sind. In vorhergehenden Doktorarbeiten konnte ebenfalls bestätigt werden, dass Polyphenolpeakflächenverhältnisse von Majoran und Gewürzpaprika neben der Sortendifferenzierung auch für die Herkunftsbestimmung geeignet sind. Dies setzte allerdings voraus, dass sich neben den regional klimatischen Einflüssen auch die Anbauggebiete hinsichtlich der geographischen Breite signifikant unterscheiden und unterschiedlichen Einfluss auf die Polyphenolbiosynthese ausüben. Für Aprikosen müssen daher weitere Untersuchungen für die Absicherung einer Herkunfts-differenzierung durchgeführt werden. Mit Hilfe der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten und optimierten probenspezifischen Aufarbeitungs- und Nachweismethoden sind die analytischen Voraussetzungen geschaffen worden, um die beinahe maximale Anzahl von Polyphenolpeakflächenverhältnissen in Aprikosen bestimmen zu können. Damit steht eine Vielzahl von potentiellen Unterscheidungsparametern für die Überprüfung von Sorte und Herkunft zur Verfügung. Neben dem Nachweis der zuvor dargestellten Verfälschungen von Aprikosenrohwaren und von Aprikosenkonfitüren ist eine Quantifizierung mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen direkt möglich. Die exakte Quantifizierung einer Verfälschung kann bei der lebensmittelrechtlichen Beurteilung und bei der Festsetzung des Strafmaßes helfen, um eventuelle fahrlässige Verunreinigungen im Produktionsverfahren von einer vorsätzlichen Täuschung zu unterscheiden. Die Bestimmung eines produktspezifischen Fruchtgehaltes für Aprikosenkonfitüre konnte mit Hilfe von Polyphenolpeakflächenverhältnissen ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden. Die Angaben des Herstellers konnten bei Aprikosenkonfitüre bekannten Fruchtgehaltes und bekannter Mengen der verarbeiteten Aprikosensorten belegt werden. Wenn eine Polyphenolpeakflächendatenbank zur Verfügung steht, in der authentische Peakverhältnisse von Aprikosen aller Sorten und Herkünfte enthalten sind, dann ist aufgrund der nachgewiesenen Stabilität der Polyphenole gegenüber den herstellungsbedingten thermischen Belastungen des Konfitürenkochprozesses die Berechnung des Fruchtgehaltes einer Konfitüre verfälschungssicher möglich. In der Datenbank wären wenige

Aprikosensorten und Herkünfte aufzunehmen, da nur eine begrenzte Anzahl industriell verarbeitet und international vermarktet werden. Sind die Aprikosenrohwaren, die für die Herstellungen eines Produktes eingesetzt wurden mit Hilfe der Peakflächenverhältnisse identifiziert und deren Anteile bestimmt, so kann der produktspezifische Flavonoidgehalt berechnet und im vorliegenden Produkt der Fruchtgehalt überprüft werden. Große Schwankungsbreiten, wie sie bisher bei der Überprüfung des Fruchtgehaltes anhand von Richtwerten berücksichtigt werden mussten, entfallen.

Neben der Polyphenolanalytik hat sich die Stabilisotopenanalytik des Wassers und von Inhaltsstoffen des Primärstoffwechsels als eine weitere Methode für die Herkunftsbestimmung etabliert. Die Faktoren, die eine Diskriminierung schwerer Isotope bewirken, unterscheiden sich wesentlich von denen, die Einfluss auf die Polyphenolbiosynthese nehmen. Daher kann der Einsatz der Stabilisotopenanalytik in den Fällen eine Alternativmethode für die Herkunftsbestimmung darstellen, falls eine Unterscheidung mit Hilfe von Polyphenolpeakflächen nicht möglich ist. Zusätzlich zeigt die Verteilung der Stickstoffstabilisotope, ob konventionelle Ware, die unter Einsatz von Mineraldünger produziert wurde, als ökologische Produkte deklariert wurde. Die Vortäuschung von Bioprodukten wäre in diesen Fällen auszuschließen.

Die Untersuchung der Stabilisotopenverteilung des Wassers und von Stoffen des Primärstoffwechsels weist jedoch aufgrund der leichten Zugänglichkeit der untersuchten Stoffe ein relativ hohes Verfälschungsrisiko auf. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Flavonolglykosid Rutin aus Aprikosenrohware isoliert und die Stabilisotopenverteilung dieser Verbindung bestimmt und mit der des Wassers und der der Verbindungen des Primärstoffwechsels verglichen. In beiden Fällen konnten die Herkünfte Spanien und Marokko unterschieden werden. Eine Verfälschung der Stabilisotopenverteilung in fruchteigenen phenolischen Substanzen ist jedoch auszuschließen, da der finanzielle Aufwand für die Synthese oder die Isolierung entsprechender Verbindungen die Kostenersparnis einer Verfälschung deutlich übersteigt. Ferner soll die bisherige Bestimmung der Stabilisotope von Rutin für das gesamte Flavonoidspektrum von Aprikosen unterschiedlicher Herkunft überprüft werden, um zweifelsfrei eine verfälschungssichere Bestimmung der Herkunft von Früchten und Fruchtprodukten gewährleisten zu können.

Zusammenfassend belegen die vorliegenden Ergebnisse, dass die Polyphenolanalytik in Kombination mit der Stabilisotopenanalytik einen wesentlichen Beitrag für die Gewährleistung der Authentizität von Aprikosen und Aprikosenkonfitüren leisten kann. Die

bisherigen Ergebnisse bei der Aprikose sind sehr viel versprechend und müssen im Hinblick auf die Erstellung einer Polyphenolpeakflächendatenbank komplettiert werden. Die an Aprikosen ermittelten Möglichkeiten der Authentizitätsprüfung sollen zudem auf weitere Fruchtarten übertragen werden.

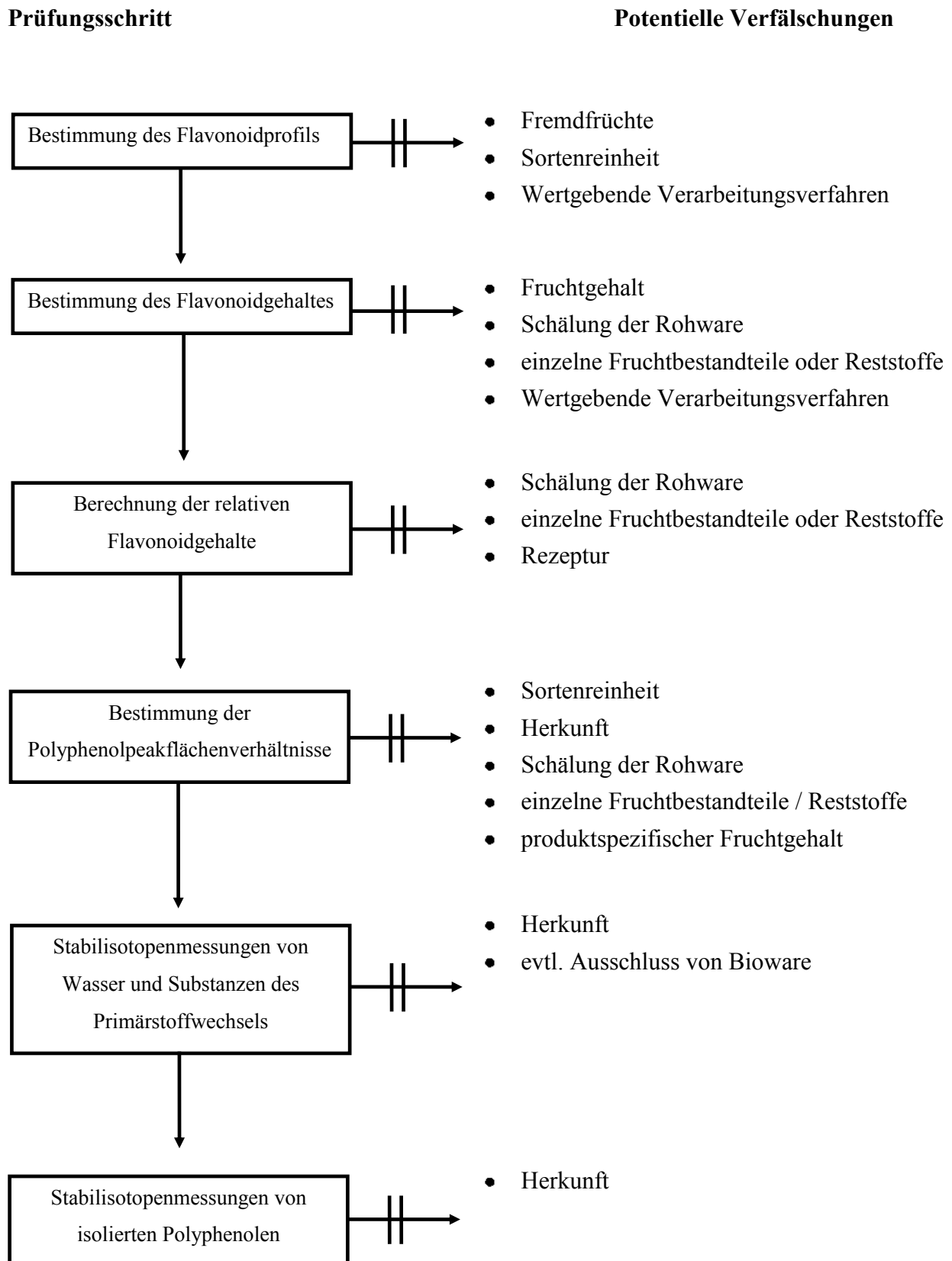


Abbildung 2.7-1 Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre

3. Material und Methoden

3.1. Chemikalien

3.1.1 Lösungsmittel

Für die Extraktion, die Festphasenextraktion und die Chromatographie wurden verschiedene Lösungsmittel mit der für die jeweilige Anwendung erforderlichen Reinheit, bzw. Qualität eingesetzt. Zur Ermittlung der optimalen Extraktionsbedingungen von automatisierter und manueller Extraktion wurden folgende Lösungsmittel verwendet:

Tabelle 3.1.1-1 Lösungsmittel für die automatisierte und manuelle Extraktion

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Qualität / Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
Methanol	HPLC	Acros Organics & Fisher Scientific
Aceton	p. A.	Merck, KGaA
Ethanol	p. A.	Merck, KGaA
Butanol	p. A.	Merck, KGaA

Zur Ermittlung der optimalen Festphasenextraktionsbedingungen wurden folgende Lösungsmittel verwendet:

Tabelle 3.1.1-2 Lösungsmittel für die Festphasenelution

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Qualität / Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
Methanol	HPLC	Acros Organics & Fisher Scientific
Dimethylsulfoxid	p. A.	VWR International S.A.S. Prolabo
Essigsäure	p. A.	AppliChem GmbH
Ameisensäure	p. A.	Fluka
Trifluoressigsäure	p. A.	Acros Organics

Zur Ermittlung der optimalen chromatographischen Bedingungen, bei der sich anschließenden Untersuchung des zur Verfügung stehenden Probenmaterials und der Isolierung von Aprikosenanalyten wurden folgende Lösungsmittel verwendet

Tabelle 3.1.1-3 Lösungsmittel für die RP-HPLC-UV-DAD-MSⁿ-Untersuchungen

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Qualität / Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
Methanol	HPLC	Fisher Scientific
Acetonitril	p. A.	Fisher Scientific
Essigsäure	p. A.	AppliChem GmbH

Für chromatographische Untersuchungen, bei denen lediglich UV-DAD-Detektion erfolgte, wurden folgende Lösungsmittel verwendet:

Tabelle 3.1.1-4 Lösungsmittel für die RP-HPLC-UV-DAD -Untersuchungen

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Qualität / Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
Methanol	HPLC	Fisher Scientific
Acetonitril	p. A.	Fisher Scientific
Essigsäure	p. A.	AppliChem GmbH

3.1.2 Standardverbindungen

Folgende Referenzsubstanzen wurden eingesetzt:

Tabelle 3.1.2-1 Referenzsubstanzen

<i>Referenzsubstanz</i>	<i>Qualität / Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
Chlorogensäure	p. A.	Sigma, Taufkirchen
Rutin	95%	Sigma, Taufkirchen
Kämpferol	p. A.	Roth, Karlsruhe
Catechin	p. A.	Sigma, Taufkirchen
Epicatechin	p. A.	Sigma, Taufkirchen

3.1.3 Weitere Materialien

- Hydromatrix für die ASE, HM-N, Separtis, Grenzach-Wyhlen
- Rundfilter für die ASE :Ø 19,1 mm, Whatman Schleicher & Schuell, Dassel

3.1.4 Festphasenmaterialien für die automatisierte Festphasenextraktion

Für die automatisierte Festphasenextraktion wurden Kartuschen mit folgenden Phasenmaterialien bezogen und eingesetzt:

Tabelle 3.1.4-1 Phasenmaterialien und Kartuschengrößen für die Festphasenextraktion

<i>Phasenmaterial</i>	<i>Kartuschenvolumen</i>	<i>Hersteller</i>
Chromabond PA	3 ml	Macherey-Nagel, Düren
	6 ml	Macherey-Nagel, Düren
	3 ml.	Macherey-Nagel, Düren
	6 ml	Macherey-Nagel, Düren

3.1.5 Analytische Trennsäulen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein Screening für verschiedene analytische Trennsäulen durchgeführt und anschließend mit den als viel versprechend bewerteten HPLC-Säulen weitere Optimierungen durchgeführt. Für das Säulenscreening standen folgende HPLC-Säulen zur Verfügung:

Tabelle 3.1.5-1 Analytische Trennsäulen

<i>Phasenmaterial</i>	<i>Säulendimensionen</i>	<i>Hersteller</i>
Aqua	3 µm, 2,0 x 150 mm 125A	Phenomenex, Aschaffenburg
Synergi Fusion-RP	4 µm, 2,0 x 150 mm 80A	Phenomenex, Aschaffenburg
Ascentis RP-Amide	3 µm, 2,1 x 150 mm	Supelco
Nucleodur Sphinx RP	3 µm, 2,0 x 150 mm	Macherey-Nagel, Düren
Fluophase PFP	5 µm, 2,0 x 250 mm	Thermo Fisher Scientific, Dreieich
Hypurity Advance	5 µm, 2,1 x 250 mm	Thermo Fisher Scientific, Dreieich
Aquasil C18	5 µm, 2,0 x 250 mm	Thermo Fisher Scientific, Dreieich
Synergie Polar RP	4 µm, 250mm x 2mm	Phenomenex, Aschaffenburg

3. Material und Methoden

Amide C18	3 μm , 150mm x 2mm	Varian
Polaris Ether	5 μm , 150mm x 4,6mm	Varian

3.2. Probenmaterialien

3.2.1 Rohware

Für die Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden kommerzielle Aprikosenrohwaren von der Faethe Labor GmbH zur Verfügung gestellt. Es handelte sich hierbei um sortenreine Früchte bekannter Herkunft, die ungeschält, halbiert und entsteint im eigenen Saft eingekocht wurden. Zusätzlich wurden zwei geschälte sortenreine kommerzielle Aprikosenrohwaren bekannter Herkunft für die Untersuchungen herangezogen. Die Konservengröße betrug 3,5 kg.

Daneben wurde Aprikosenbiorohware des AiF-Projektes 14583 untersucht. Die Aprikosen wurden als ungeschälte, halbierte, entsteinte, tiefgefrorene Früchte zur Verfügung gestellt.

Tabelle 3.2.1-1 Probenmaterial: Aprikosenrohwaren

<i>Sorte</i>	<i>Herkunft</i>	<i>Region</i>	<i>Jahrgang</i>	<i>E-Nr.</i>	<i>Bemerkung</i>
Golden Bulida	Spanien	Murcia	2004	96472	ungeschält
Golden Bulida	Spanien	Murcia	2005	106819	ungeschält
Golden Bulida	Spanien	Murcia	2005	110628	ungeschält
Golden Bulida	Spanien	Murcia	2006		ungeschält
Canino	Marokko	Marakesch	2004	103350	ungeschält
Canino	Marokko	Marakesch	2005	110033	ungeschält
Golden Bulida	Südafrika		2005		geschält
Golden Bulida	Südafrika		2006		geschält
unbekannt	Griechenland	unbekannt		unbekannt	Tiefkühlware

3.2.2 Konfitüre

Zusätzlich wurden neben kommerziellen Aprikosenrohwaren auch Aprikosenkonfitüren extra bekannter und unbekannter Zusammensetzung untersucht.

Tabelle 3.2.2-1 Probenmaterial: Aprikosenkonfitüren

<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Fruchtgehalt</i>	<i>MHD/Los</i>	<i>Zusammensetzung</i>
Grandessa Aprikosenkonfitüre extra	W.L: Ahrens GmbH & Co. KG. D- 33054 Paderborn	50%	10.09.06 M6 12:52	1/3 96472 1/3 103350 1/3 110628
Tamara Aprikozenjam extra	Spanien Beatrice Food B.V. Achtseweg Noord 36 NL-5651 GG Eindhoven	50%	01.05.07 M5 11:59	1/3 106819 1/3 110033 1/3 110628
<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Fruchtgehalt</i>	<i>MHD/Los</i>	
Classic – Aprikose - Konfitüre extra -	Hergestellt für Kaufland Warenhandel GmbH & Co. KG Postfach 1216 74149 Neckarsulm	50%		01.12.07 21:58
Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra	Hergestellt durch F. Göbber KG D-27324 Eystруп	50%		05.01.07 B12:30
Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra	Hergestellt für LIDL Stiftung & Co. KG. D-74167 Neckarsulm	50%		03.09.07 A22:52
Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra	Schwartauer Werke Bad Schwartau	50%		03.02.07
Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)	Hergestellt für Plus Vertriebs GmbH Postfach 101554 D-45466 Mülheim an der Ruhr	50%		nicht aufgedruckt
Tamara Aprikosen Konfitüre extra	Materne-Confilux SA B-5150 Floreffe (Belgien)	50%		L 12.10.2007 09:00

3.3 Methoden und Geräte

3.3.1 Optimierung der manuellen Extraktion

3.3.1.1 Bestimmung der organischen Lösungsmittelkomponente

Jeweils 10 g homogenisierte Aprikosenkonfitüre wurden in einen 100 ml Jodzahlkolben eingewogen und mit 20 ml Lösungsmittel (Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol oder Aceton) versetzt. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden auf einem Magnetprüher gerührt und anschließend zentrifugiert (10000 u/min, 5°C, 10 min.). Der Vorgang wurde dreimal wiederholt und die Extrakte anschließend vereinigt. Die organische Komponente wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen. Danach erfolgten eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie auf einer Aquasäule nach 3.5.3.

3.3.1.2 Bestimmung des Methanolanteils im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser für Konfitüre

Jeweils 10 g homogenisierte Aprikosenkonfitüre wurden in einen 250 ml Jodzahlkolben eingewogen und mit 100 ml Extraktionsmittelgemisch versetzt. Der Methanolanteil wurde jeweils in 10%-Schritten von 10% bis 100% Methanolanteil gesteigert. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden auf einem Magnetprüher gerührt und anschließend zentrifugiert (10000 u/min, 5°C, 10 min.). Die organische Komponente wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen. Danach erfolgten eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie auf einer Aquasäule nach 3.5.3.

3.3.1.3 Bestimmung des Methanolanteils im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser für Aprikosenrohware

Jeweils 10 g homogenisierte Aprikosenrohware wurden in einen 250 ml Jodzahlkolben eingewogen und mit 100 ml Extraktionsmittelgemisch versetzt. Der Methanolanteil wurde jeweils in 10%-Schritten von 30% bis 70% Methanolanteil gesteigert. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden auf einem Magnetrührer gerührt und anschließend zentrifugiert (10000 u/min, 5°C, 10 min.). Die organische Komponente wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen. Danach erfolgten eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie auf einer Aquasäule nach 3.5.3.

3.3.1.4 Bestimmung des optimalen Verhältnisses von Konfitüre zu Extraktionsmittelmenge im Extraktionsmittelsystem Methanol-Wasser (v+v ; 50+50)

Jeweils 10 g homogenisierte Aprikosenkonfitüre wurden in einen Jodzahlkolben eingewogen und jeweils mit 25, 100 und 200 ml Extraktionsmittelgemisch versetzt. Der Methanolanteil betrug 50%. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden auf einem Magnetrührer gerührt und anschließend zentrifugiert (10000 u/min, 5°C, 10 min.). Die organische Komponente wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der wässrige Rückstand entsprechend der eingesetzten Extraktionsmittelmenge mit Wasser auf die Volumina 50, 100 und 200 ml eingestellt. Danach erfolgten eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie auf einer Aquasäule nach 3.5.3.

3.3.1.5 Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen für die Extraktion von Aprikosenkonfitüre

Jeweils 10 g homogenisierte Aprikosenkonfitüre wurden in einen Jodzahlkolben eingewogen und jeweils mit 100 ml Extraktionsmittelgemisch versetzt. Der Methanolanteil betrug 50%. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden auf einem Magnetrührer gerührt und anschließend zentrifugiert (10000 u/min, 5°C, 10 min.). Die organische Komponente wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Anschließend wurde das Probengut noch zweimal entsprechend

den zuvor angegebenen Bedingungen extrahiert. Danach erfolgten eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie jedes einzelnen Extraktes auf einer Aquasäule nach 3.5.3.

3.3.1.6 Optimale manuelle Extraktion

Als manuelle Extraktion wird hier die nicht automatisierte Extraktion von Probenmaterialien bezeichnet, also die Extraktion von Hand. Dabei wurden 5 g homogenisiertes Probenmaterial in einen 100 ml Jodzahlkolben eingewogen und mit 50 ml Extraktionsmittel (Wasser / Methanol, 1:1) versetzt. Die Extraktionsdauer betrug 2 h bei Raumtemperatur. Anschließend wurde der Kolbeninhalt quantitativ in Zentrifugenbecher überführt und 10 min. bei 10000 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und das Zentrifugat erneut wie zuvor beschrieben extrahiert. Der organische Anteil der vereinigten Extrakte wurde mit Hilfe eines Rotationsverdampfers entfernt und der wässrige Rückstand filtriert und anschließend auf 60 ml mit Reinstwasser aufgefüllt. Der erhaltene Probenextrakt konnte anschließend der Festphasenextraktion nach [96] unterzogen werden.

3.3.1.7 Bedingungen der Zentrifugation im Rahmen der manuellen Extraktion

Bei der manuellen Extraktion wurde eine Highspeed Tischzentrifuge Biofuge® Stratos Heraeus bei der Anwendung der folgenden Einstellungen eingesetzt:

Tabelle 3.3.1.7-1 Bedingungen der Zentrifugation im Rahmen der manuellen Extraktion

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Beschleunigungsprofile	Stufe 9
Bremsprofile	Stufe 9
Temperatur	20 °C
Dauer	10 min.
Umdrehungen / min.	10000

3.3.1.8 Einstellungen des Rotationsverdampfers im Rahmen der manuellen Extraktion

Bei der manuellen Extraktion wurde ein Rotationsverdampfer unter folgenden Einstellungen angewendet:

Tabelle 3.3.1.8-1 Einstellungen des Rotationsverdampfers im Rahmen der manuellen Extraktion

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Druck	von 250 auf 70 mbar reduziert
Wasserbadtemperatur	40 °C

3.3.2 Automatisierte Extraktion

3.3.2.1 Optimierung der Extraktion unter Anwendung der beschleunigten Lösungsmittlextraktion für Aprikosenkonfitüre und Aprikosenrohware

Die ASE200 ermöglichte die Veränderung, bzw. Optimierung folgender Geräteparameter:

Tabelle 3.3.2.1-1 Variable Einstellungsbereiche der Extraktionsparameter der beschleunigten Lösungsmittlextraktion

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungsbereich</i>
Temperatur	0 (RT) bis 200 °C
Dauer Preheat	0 bis 99 min.
Dauer Extraktion	0 bis 99 min.
Cycles	1 bis 5
Flush Volume	10 bis 150 Vol-%
N ₂ Purge	0 bis 300 s
Lösungsmittelanteil A bis D	je 0 bis 100%

3.3.2.2 Füllen der Edelstahlzellen

Zuerst wurde auf den Stahlzylinder ein Zellenkopf aufgeschraubt und zum Schutz der Metallsinterfritte ein Cellulosefilter (Schleicher&Schüll, Dasseln) eingelegt. Anschließend wurden 0,5 g Hydromatrix HM-N (Separis, Grenzach-Wyhlen) in den Stahlzylinder gefüllt und zusammengepresst. Danach wurden 2 g Probenmaterial mit 2 g Hydromatrix gemischt, eingefüllt und zusammengepresst. Das Restvolumen wurde mit Hydromatrix aufgefüllt, komprimiert und mit einem weiteren Cellulosefilter zum Schutz der oberen Sinterfritte versehen. Zuletzt wurde der zweite Zellenkopf auf den Zylinder geschraubt.

3.3.2.3 Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch

Zuerst wurden die ASE-Zellen wie zuvor beschrieben mit 2 g Aprikosenfrucht gefüllt und mit der ASE extrahiert. Die Grundparameter der ASE-Methode lauteten:

Tabelle 3.3.2.3-1 ASE-Extraktionsbedingungen für die Optimierung des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Temperatur:	0, 40 bis 100 °C
Pressure:	0 bis 99 min.
Preheat:	0 bis 99 min.
Heat up Time	1 bis 5
Static Time:	10 bis 150 Vol-%
Flush Volume:	0 bis 300 s
Purge Time	je 0 bis 100%
SolventA: Water	X%
SolventB: Aceton	0%
SolventC: Methanol	Y%
SolventD: Other	0%
Static Cycles:	1

Der Methanolanteil Y wurde auf 0%, 25%, 40%, 50% 60% und 75% programmiert. Anschließend wurde der ASE-Extrakt mit Wasser auf 60 ml verdünnt und eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie jedes einzelnen Extraktes nach 3.5.3 auf einer Aquasäule durchgeführt.

3.3.2.4 Einfluss der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen

Zuerst wurden die ASE-Zellen wie zuvor beschrieben jeweils mit 1 g und 2 g Aprikosenfrucht gefüllt und mit der ASE extrahiert. Die Grundparameter der ASE-Methode lauteten:

Tabelle 3.3.2.4-1 ASE-Extraktionsbedingungen für die Untersuchung des Einflusses der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Temperatur:	0°C
Pressure:	199.9 bar
Preheat:	0 min with valve c
Heat up Time	0min
Static Time:	20 min
Flush Volume:	50% of cell
Purge Time	60 sec
SolventA: Water	50%
SolventB: Aceton	0%
SolventC: Methanol	50%
SolventD: Other	0%
Static Cycles:	1

Jede ASE-Zelle wurde dreimal extrahiert. Anschließend wurde jeder ASE-Extrakt mit Wasser auf 60 ml verdünnt und eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie jedes einzelnen Extraktes auf einer Aquasäule nach 3.5.3 durchgeführt.

3.3.2.5 Einfluss der Extraktionstemperatur

Zuerst wurden die ASE-Zellen wie zuvor beschrieben jeweils mit 2 g Aprikosenfrucht gefüllt und mit der ASE extrahiert. Die Grundparameter der ASE-Methode lauteten:

Tabelle 3.3.2.5-1 ASE-Extraktionsbedingungen für die Untersuchung des Einflusses der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Temperatur:	0°C
Pressure:	199.9 bar
PreHeat:	0 min with valve c
Heat up Time	0min
Static Time:	20 min
Flush Volume:	50% of cell
Purge Time	60 sec
SolventA: Water	50%
SolventB: Aceton	0%
SolventC: Methanol	50%
SolventD: Other	0%
Static Cycles:	2

Jede ASE-Zelle wurde einmal extrahiert. Anschließend wurde der ASE-Extrakt mit Wasser auf 60 ml verdünnt und eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie jedes einzelnen Extraktes auf der Aquasäule nach 3.5.3 durchgeführt.

3.3.2.6 ASE-Einstellungen der optimierten Extraktionsmethode

Tabelle 3.3.2.6-1 ASE-Extraktionsbedingungen für die optimierte Extraktion

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungen</i>
Temperatur	0°C
Dauer Preheat	5 min.
Dauer Extraktion	20 min.
Cycles	2
Flush Volume	50 Vol-%
N ₂ Purge	60 s
Methanolanteil	50%

3.4 Automatisierte Festphasenextraktion

Die Aufkonzentrierung der analytischen Zielsubstanzen konnte mit Hilfe eines Pipettierroboters, dem ASPEC XLi der Firma Gilson, durchgeführt werden. Wesentlicher Bestandteil des ASPEC XLi war die Spritzenpumpe 402, deren Spritzen die Volumina 1 ml und 25 ml hatten. Zusätzlich war das Gerät für die ASE-ASPEC-Kopplung modifiziert worden, die jedoch bei den durchgeführten Untersuchungen keine Anwendung fand. Die Gerätesteuerung erfolgte mit Hilfe der Software 735 V4.03 (Gilson, Bad Camberg). Die Extraktionsbedingungen können an die jeweilige Kartuschengröße angepasst werden. Dabei werden die benötigten Lösungsmittelvolumina für Konditionierung und Elution je nach Kartuschenvolumen verdoppelt oder halbiert. Eine Anpassung der Auftrags- und Waschvolumina wurde nicht vorgenommen.

3.4.1 Bestimmung der Kartuschenkapazität

Zuerst wurden 1000 ml Auftragslösung (Aprikosenrohextrakt mit 10% Methanolanteil) hergestellt. 16,7 g gefriergetrocknete Aprikosen wurden mit 250 mL MeOH/Wasser (50:50) einfach extrahiert. Der Extrakt wurde zentrifugiert, anschließend von MeOH am Rotationsverdampfer befreit und in einen Messkolben überführt. Nach Zugabe von 100 ml MeOH wurde mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Die SPE wurde nach einer für Malz optimierten Methode [96] in Doppelbestimmung durchgeführt, wobei die Auftragsvolumina wie folgt gewählt wurden:

5 ml, 10 ml, 20 ml, 30 ml, 40 ml, 60 ml, 80 ml, 100 ml, 120 ml.

3.4.2 Überprüfung der Menge des Elutionsvolumens

Ein Aprikosenextrakt wurde nach optimalen Bedingungen erstellt und mit Wasser auf 60 ml verdünnt. Die SPE-Methode nach [96] wurde zu einer Multicollectmethode modifiziert. Anstelle von Wasch – und beschriebenem Elutionsvolumen wurden alle Elutionsvolumina aufgefangen. Zusätzlich wurde mit 4,5 ml Elutionsmittel eluiert und dabei folgende Fraktionen aufgesammelt:

0,0 bis 0,5 ml, 0,5 bis 1,5 ml, 1,5 bis 2,5 ml, 2,5 bis 3,5 ml und 3,5 bis 4,5 ml.

Anschließend erfolgte eine chromatographische Untersuchung auf der Aquasäule nach 3.5.3.

3.4.3 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode für Aprikosenextrakte

5 ASE-Zellen wurden unter optimalen Bedingungen extrahiert. Die 5 Extrakte wurden anschließend vereinigt und mit Wasser auf 300 ml aufgefüllt. Der verdünnte Extrakt wurde gut durchmischt und danach in 5 Portionen aliquotiert. Dann wurden eine Festphasenextraktion nach [96] und eine Chromatographie jedes einzelnen Aliquots auf der Aquasäule nach 3.5.3 durchgeführt.

3.4.4 Überprüfung einer wiederholten Verwendung von Polyamidkartuschen

Es wurde wie bei der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode für Aprikosenextrakte verfahren, jedoch erfolgten alle Festphasenextraktionen mit der gleichen SPE-Kartusche.

3.4.5 Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung

Zuerst wurden 500 ml methanolfreier Aprikosenrohextrakt wie bei der Bestimmung der Kartuschenkapazität hergestellt. 45,0 g gefriergetrocknete Aprikosen wurden mit 250 ml MeOH/Wasser (50:50) einfach extrahiert. Der Extrakt wurde zentrifugiert, anschließend von MeOH am Rotationsverdampfer befreit, in einen Messkolben überführt und mit Wasser aufgefüllt.

Die Auftragslösungen wurden nach folgendem Schema erstellt. Dabei wurden der Anteil Rohextrakt und der Anteil Methanol mit Wasser auf 100 ml im Messkolben aufgefüllt.

Tabelle 3.4.5-1 Organische Anteile in der Auftragslösung bei der SPE

<i>Anteil Rohextrakt (ml)</i>	<i>Anteil Methanol (ml)</i>
10 ml	0 ml
10 ml	5 ml
10 ml	10 ml

<i>Anteil Rohextrakt (ml)</i>	<i>Anteil Methanol (ml)</i>
10 ml	12,5 ml
10 ml	15 ml
10 ml	20 ml
10 ml	25 ml
10 ml	50 ml

Dann wurden eine Festphasenextraktion nach [96] in Doppelbestimmung und eine Chromatographie auf der Aquasäule nach 3.5.3 durchgeführt.

3.4.6 Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch

Drei ASE-Zellen wurden unter optimalen Bedingungen extrahiert. Die drei Extrakte wurden anschließend vereinigt und mit Wasser auf 180 ml aufgefüllt. Der verdünnte Extrakt wurde gut durchmischt und danach in 3 Portionen aliquotiert. Dann wurden Festphasenextraktionsschritte bis zur Elution nach [96] durchgeführt. Die Elution erfolgte als Multicollectmethode. Dem Elutionsmittel wurden jeweils Trifluoressigsäurezusätze in Höhe von 0,1%, 0,2% und 0,3% zugesetzt. Anstelle von Wasch – und beschriebenem Elutionsvolumen wurden alle Elutionsvolumina aufgefangen. Zusätzlich wurde jeweils mit 4,5 ml Elutionsmittel eluiert und dabei folgende Fraktionen aufgesammelt:

0,0 bis 0,5 ml, 0,5 bis 1,5 ml, 1,5 bis 2,5 ml, 2,5 bis 3,5 ml und 3,5 bis 4,5 ml.

Anschließend erfolgte eine chromatographische Untersuchung auf der Aquasäule nach 3.5.3.

3.4.7 Überprüfung der Lagerstabilität der Festphasenextraktionseluat

Für die Überprüfung der Lagerstabilität wurden zwei Aprikosenproben optimal aufgearbeitet und direkt untersucht. Das restliche Aprikosenfestphaseneluat wurde bei -80° C gelagert und nach 6 Monaten erneut unter identischen Bedingungen untersucht.

Bei der zweiten Versuchsreihe wurden Chlorogensäurestandardlösungen einer Konzentration von etwa 5 mg/ml wie folgt hergestellt:

Tabelle 3.4.7-1 Testlösungen für die Überprüfung der Lagerstabilität

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Einwaage Chlorogensäure (mg)</i>
DMSO	4,9
Wasser 1% Ameisensäure (FA)	4,1
Methanol 1% FA	4,8
DMSO 1% FA	6,1
Wasser 0,3% Trifluoressigsäure (TFA)	5
Methanol 0,3% TFA	5
DMSO 0,3% TFA	5,8
Wasser 1% FA u. 0,3% TFA	5,7
Methanol 1% FA u. 0,3% TFA	4,5
DMSO 1% FA u. 0,3% TFA	4,9

Die Hälfte des jeweiligen Standards wurde sofort einer chromatographischen Untersuchung nach 3.5.3 auf der Aquasäule unterzogen, die andere Hälfte nach einer Temperaturbelastung von 1 Stunde im Trockenschrank bei 50° C.

3.4.8 Optimierte Festphasenextraktionsbedingungen von Polyphenolen auf Polyamid

Phasenmaterial und Kartuschengröße:

Chromabond PA, 0,5 g / 3 ml:

Ablaufschritte der Festphasenextraktion:

- Konditionierung mit 3 ml DMSO mit 1% Ameisensäure und 0,3% Trifluoressigsäure
- Waschen mit 5 ml Wasser
- Auftragen der Probe in 20 ml Schritten
- Waschen mit 10 ml Wasser nach jedem Auftragungsschritt und mit 20 ml Wasser nach dem letzten Auftragungsschritt
- Vorelutionsschritt mit 0,5 ml DMSO mit 1% Ameisensäure und 0,3% Trifluoressigsäure
- Elution mit 1,25 ml DMSO mit 1% Ameisensäure und 0,3% Trifluoressigsäure

3.4.9 Optimierte Festphasenextraktionsbedingungen zur Trennung der Phenolcarbonsäuren von den Flavonolglykosiden auf C 18 Hydra

Phasenmaterial und Kartuschengröße:
ml

Chromabond C18 Hydra, 1 g / 6

Ablaufschritte der Festphasenextraktion:

- Konditionierung mit 6 ml Methanol
- Waschen mit 5 ml Wasser
- Auftragen der Probe in 20 ml Schritten
- Waschen mit 10 ml Wasser nach jedem Auftragungsschritt und mit 20 ml Wasser nach dem letzten Auftragungsschritt
- Elution mit 3 ml 30% Methanol in Wasser
- Elution mit 3 ml 70% Methanol in Wasser
- Elution mit 3 ml Methanol

3.5 Hochleistungsflüssigchromatographie

3.5.1 HPLC für HPLC-UV-DAD-Messungen und semipräparative Isolierung

Für HPLC -UV-DAD-Messungen und für die semipräparative Isolierung wurde zuerst folgendes System eingesetzt.

Degasser	Dionex Solvent Rack SOR-100
Pumpe Betrieb)	Dionex HPLC-Pumpe P680A LPG (Standalone
Säulenofen	Dionex HPLC-Säulenthermostat TCC-100
Autosampler	Beckman Coulter, Autosamplermodul- Modell 507e
Detektor	Beckman Coulter, programmierbares Diodenarraydetektormodul- Modell 168
Steuerung/Daten	PC mit Software „32 Karat“, letzte Version 5.0 (Steuerung und Datenaufnahme)
Schaltventil	SYKAM, Valve Actuator S6351

3.5.2 HPLC für HPLC-UV-DAD-MSⁿ-Messungen

Für HPLC-UV-DAD-MSⁿ-Messungen wurde folgendes System eingesetzt:

HPLC „Summit“ (Dionex, Idstein) bestehend aus:

Degasser	Degasys DG-1310 (Uniflows, Tokio, Japan)
Pumpe	P-580 A HPG
Autosampler	ASI-100 T
Säulenofen	STH-585
Detektor	UVD-340S mit Kapillarzelle
Steuerung/Daten	PC mit Software „Chromeleon“, letzte Version 6.8 SP Build (Steuerung und Datenaufnahme)

3.5.3 Gradientenprogramme

Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“ nach [111]:

Tabelle 3.5.3-1 Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“

<i>Zeit</i>	<i>Anteil B in %</i>	<i>Bemerkung</i>
0 min.	0	Startbedingungen
60 min.	30	lineare Steigung (0,5% / min.)
61 min.	100	Start Waschschrift
70 min.	100	Ende Waschschrift
71 min.	0	Start Reequilibrieren
80 min.	0	Ende Reequilibrieren / Startbedingungen

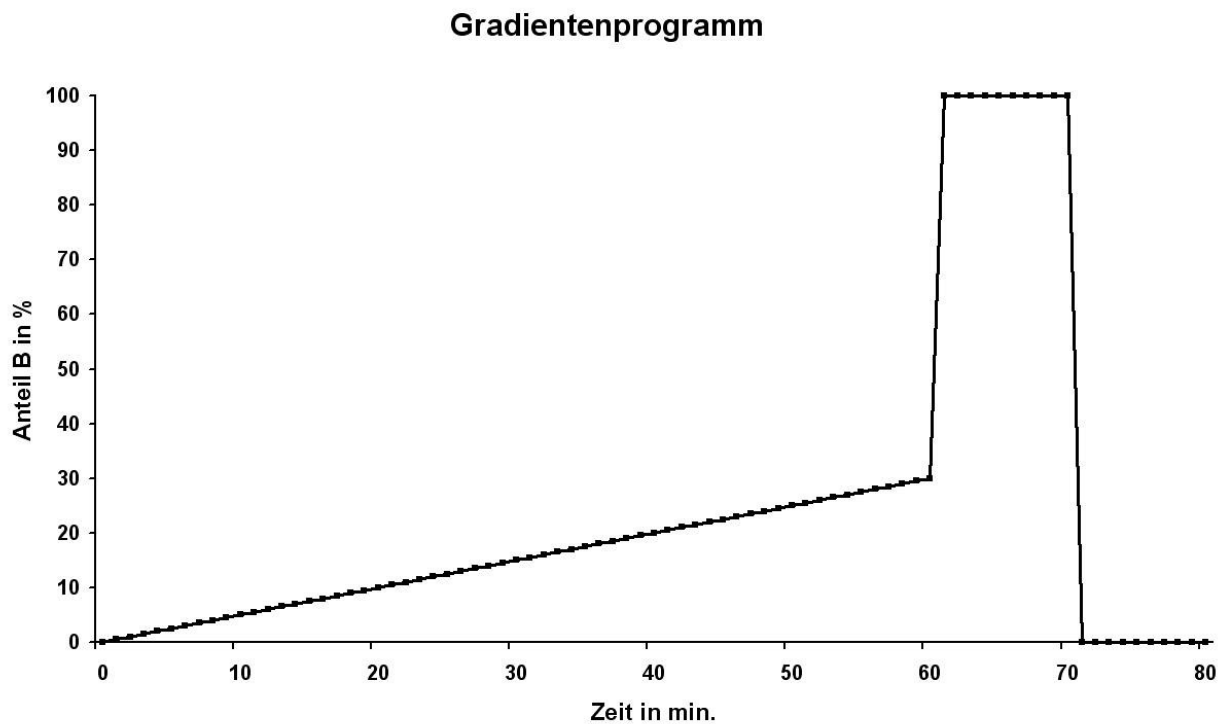


Abbildung 3.5.3-1 Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“

Gradientenprogramm für die Säule „Ascentis“:

Tabelle 3.5.3-2 Gradientenprogramm für die Säule „Ascentis“

<i>Zeit</i>	<i>Anteil B in %</i>	<i>Bemerkung</i>
0 min.	0	Startbedingungen
80 min.	32	lineare Steigung (0,4% / min.)
81 min.	100	Start Waschschrift
90 min.	100	Ende Waschschrift
91 min.	0	Start Reequilibrieren
100 min.	0	Ende Reequilibrieren / Startbedingungen

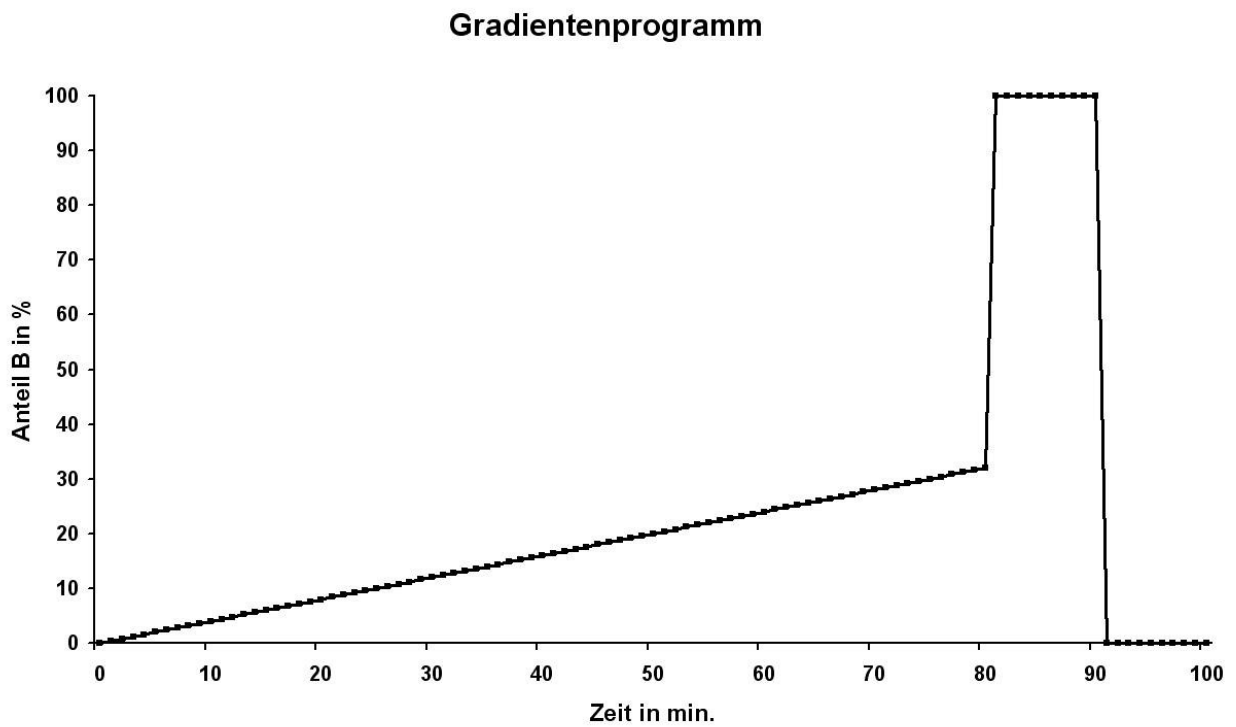


Abbildung 3.5.3-2 Gradientenprogramm für die Säule „Ascentis“

3.5.4 Weitere Parameter der chromatographischen Trennung für HPLC-UV-DAD-MSⁿ-Messungen

Tabelle 3.5.4-1 Weitere Parameter der chromatographischen Trennung für HPLC-UV-DAD-MSⁿ-Messungen

<i>Parameter</i>	<i>Einstellungsbereich</i>
Fluss	0,3 ml/min.
Temperatur	35 °C
Injektionsvolumen	5 µl
UV-DAD, 200-595 nm, ausgewählte Spuren bei	260, 280, 310, 360 nm

3.5.5 Gradientenprogramme für den Test der polar modifizierten HPLC-Phasen im Rahmen des Säulentests

Im Rahmen eines Säulentests wurden 8 stationäre Phasen hinsichtlich der chromatographischen Eignung von phenolischen Inhaltsstoffen der Aprikose getestet. Begonnen wurde mit dem Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“. Alle Säulen wurden vorab mit dieser HPLC-Methode einem Screening unterzogen.

Anschließend wurde für die am besten geeigneten Phasen mit folgenden Gradientenprogrammen eine weitere Optimierung durchgeführt. Jedes Programm schloss mit einem 10 minütigen Waschschrift und einer 10 minütigen Reequilibrierungsphase ab.

Tabelle 3.5.5-1 Gradientenprogramme für den Test der polar modifizierten HPLC-Phasen im Rahmen des Säulentests

<i>Startbedingungen, Anteil B in %</i>	<i>lineare Steigung bis 40% B-Anteil</i>
0%	0,6%
0%	0,3%

3. Material und Methoden

<i>Startbedingungen, Anteil B in %</i>	<i>lineare Steigung bis 40% B-Anteil</i>
0%	0,25%
0%	0,2%
0%	0,15%
4%	0,6%
4%	0,5%
4%	0,4%
4%	0,3%

3.6 Quantifizierung

Die Quantifizierung der identifizierten Verbindungen erfolgte substanzgruppenspezifisch bei der jeweils optimalen Wellenlänge über die Peakfläche. Die Quantifizierung von Catechin, Epicatechin und Proanthocyanidinen erfolgte bei der Wellenlänge 280 nm über die Bezugssubstanz Epicatechin, die der Phenolcarbonsäuren bei der Wellenlänge 310 nm über die Bezugssubstanz Chlorogensäure und die Quantifizierung der Flavonolglykoside bei der Wellenlänge 360 nm über die Bezugssubstanz Rutin.

3.6.1 Kalibrationsgeraden

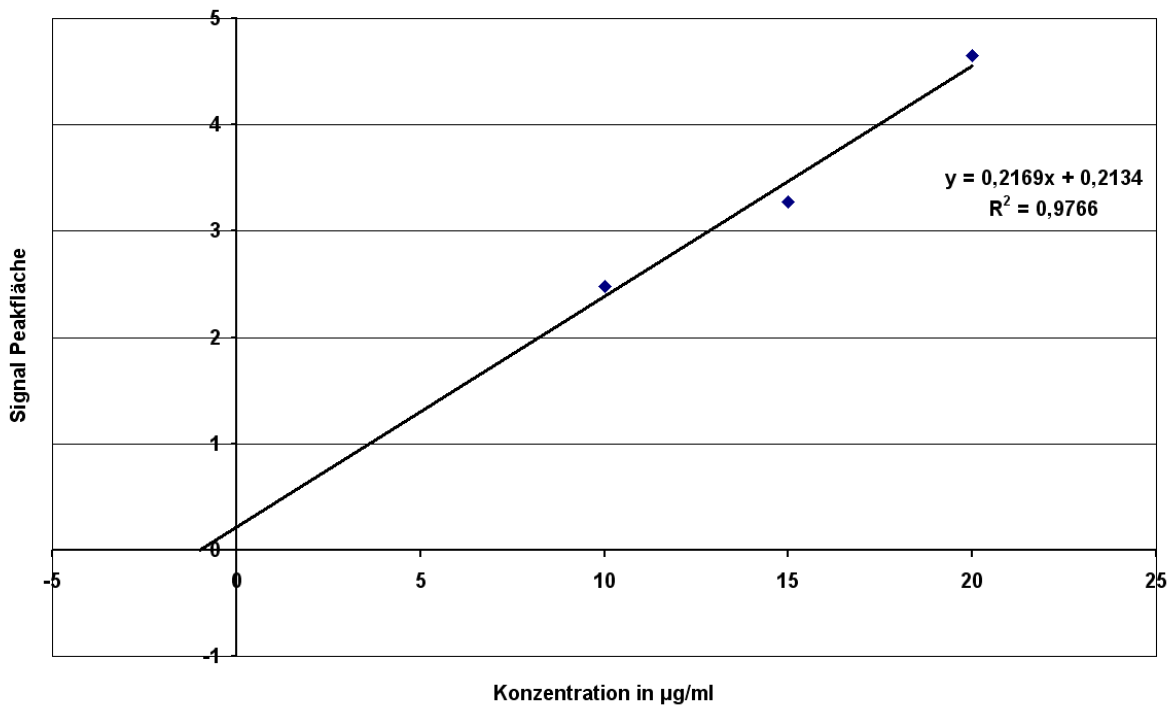


Abbildung 3.6.1-1 Regressionsgerade von Rutin

Tabelle 3.6.1-1 Kalibrationsreihe Rutin

<i>Konzentration µg/ml</i>	<i>Peakfläche bei 280 nm</i>
10	2,4798
15	3,2735
20	4,6492

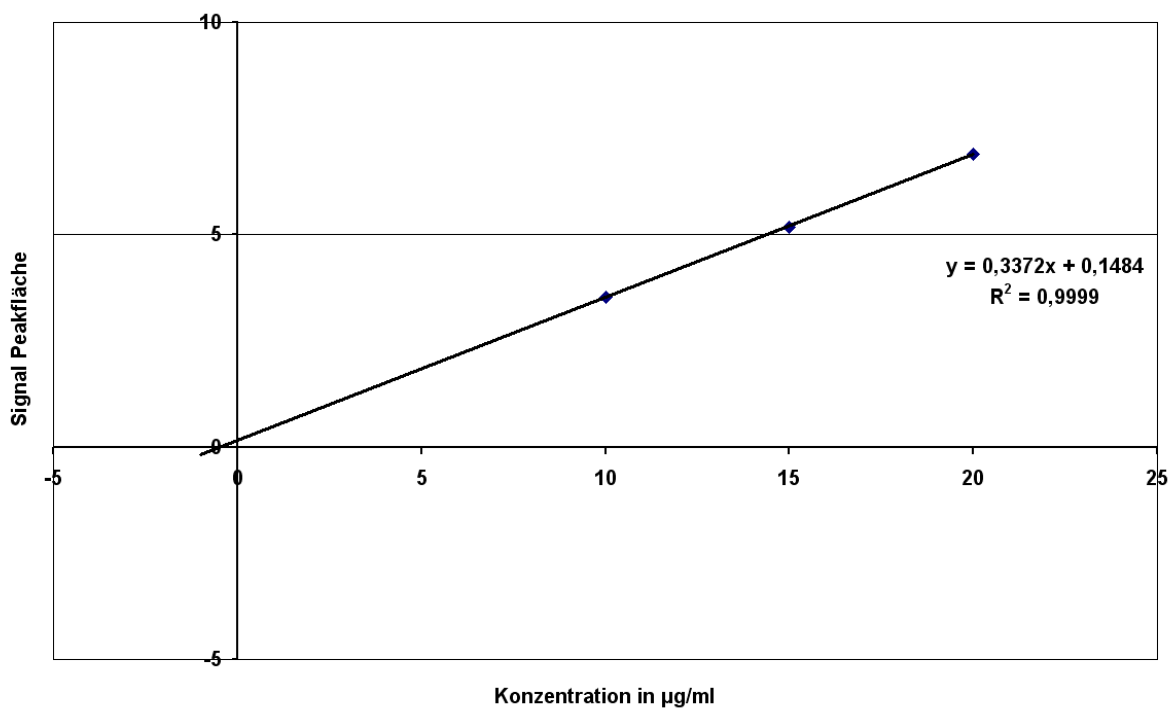


Abbildung 3.6.1-2 Regressionsgerade von Chlorogensäure

Tabelle 3.6.1-2 Kalibrationsreihe Chlorogensäure

<i>Konzentration µg/ml</i>	<i>Peakfläche bei 360 nm</i>
10	3,5313
15	5,1854
20	6,9035

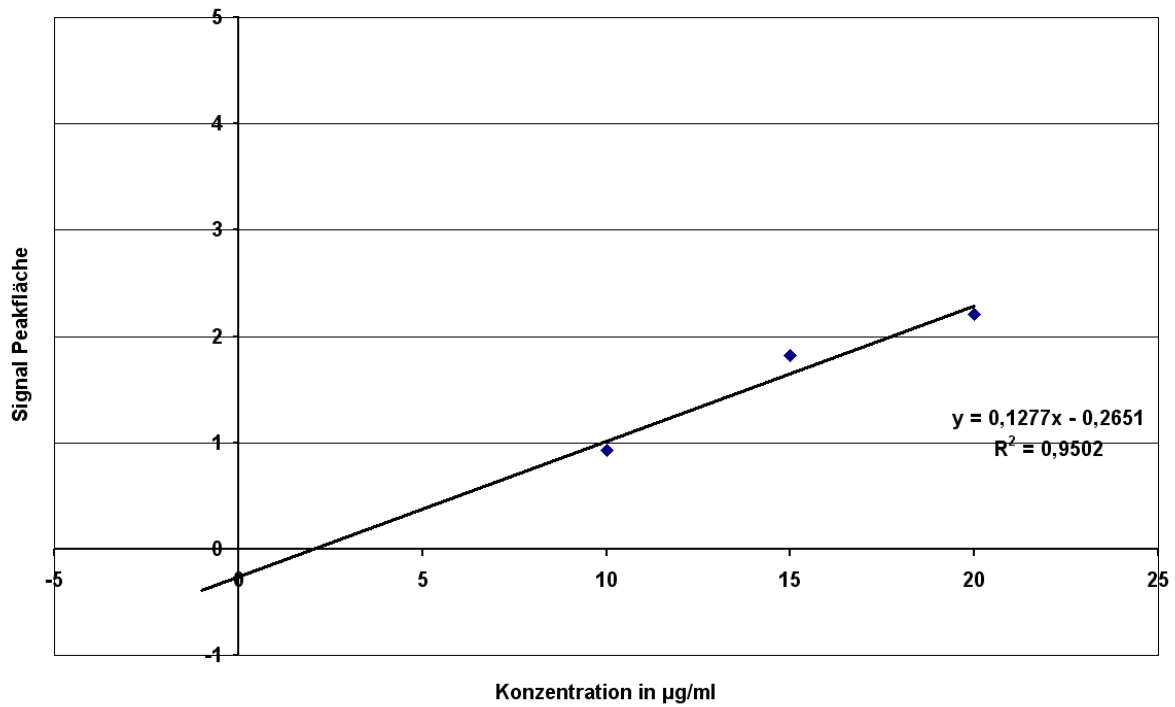


Abbildung 3.6.1-3 Regressionsgerade von Epicatechin

Tabelle 3.6.1-3 Kalibrationsreihe Epicatechin

<i>Konzentration µg/ml</i>	<i>Peakfläche bei 280 nm</i>
10	0,9271
15	1,8184
20	6,9035

3.6.2 Nachweis-, Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze

Die Nachweis-, Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze wurden mit Hilfe der Chromatographiesoftware, Chromeleon® Version 6.80, ermittelt, indem das Signal/Noise (s) im Blindwertchromatogramm zu der jeweiligen Retentionszeit bei der betrachteten Wellenlänge durch Chromeleon® ermittelt wurde. Anschließend wurden die Werte wie nachfolgend beschrieben berechnet:

$$\text{Nachweisgrenze} = b + 3s$$

$$\text{Bestimmungsgrenze} = b + 6s$$

$$\text{Quantifizierungsgrenze} = b + 10s$$

Mit b aus den jeweiligen Kalibrierfunktionen ergaben sich folgende Werte für die jeweiligen Standards bei 5 µl Injektionsvolumen.

Tabelle 3.6.1-3 Nachweis- Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze

<i>Standard</i>	<i>s</i>	<i>Nachweisgrenze</i> <i>(µg/ml)</i>	<i>Bestimmungsgrenze</i> <i>(µg/ml)</i>	<i>Quantifizierungsgrenze</i> <i>(µg/ml)</i>
Epicatechin	0,089	2,343	2,610	2,966
Chlorogensäure	0,132	0,040	0,520	1,160
Rutin	0,380	2,680	3,820	5,340

3.7 Massenspektrometrie

Die massenspektrometrische Untersuchung wurde mit einem Ionenfallen-Massenspektrometer LCQ Classic (Thermo Fisher Scientific, Dreieich), Steuerung durch Software Xcalibur, Version 1.2 SP1 durchgeführt. Die Ionisierung erfolgte durch ein Electrospray-Interface mit Metal Needle Kit.

Aufgrund des hohen wässrigen Anteils des HPLC-Eluenten wird zur Verbesserung der Ionisierung über eine HPLC-Pumpe (System Gold Programmable Solvent Module 116, Beckman, Unterschleißheim) Methanol zudosiert. Das Verhältnis von HPLC-Fluss und Methanol-Zudosage beträgt drei zu eins. Folgende Einstellungen wurden für die massenspektrometrischen Untersuchungen gewählt.

Tabelle 3.7-1 **Einstellungen für die Ionisierung und massenspektrometrische Detektion**

<i>MS-Parameter</i>	<i>Einstellungen für die Ionisierung und massenspektrometrische Detektion</i>
Source Voltage	4,0 kV
Sheath Gas	90
Auxiliary Gas	5
Capillary Voltage	10 V
Capillary Temperature	310 °C
Tube Lens Offset	20 V
First Octapole Offset	4,0 V
Interoctapole Lens	30 V
Second Octapole Offset	10 V
Trap DC Offset	10 V
Isolation width	2,8 m/z
Norm. Coll. Energy	40%
Fragmentation time	30 msec
Q	0,25

3.8 Selektive Anreicherung und semipräparative Isolierung von Rutin

Der erste Arbeitsschritt für eine selektive Anreicherung und semipräparative Isolierung von Rutin war eine Gefriertrocknung der Aprikosenware. Das trockene Probengut wurde anschließend mit Methanol dreifach extrahiert, die Extrakte vereinigt und am Rotationsverdampfer von Methanol befreit. Die quantitative Extraktion wurde per HPLC-UV-DAD überprüft.

Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen. Es folgte eine SPE auf C18 Hydra-Material nach 3.4.9. Die SPE-Eluate wurden gesammelt, getrennt nach Methanolanteil vereinigt und von Methanol befreit. Die selektive Anreicherung wurde ebenfalls per HPLC-UV-DAD überprüft.

Die ehemals 70%-ige Fraktion wurde anschließend einer isokratischen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie von 15 min. Dauer zur Isolierung von Rutin unterzogen. Als stationäre Phase wurde eine Phenomenex® Aqua, Säulendimension: 3 µm, 2,0 x 150 mm 125A eingesetzt. Der Eluent setzte sich zu 80% aus Wasser mit 1% Essigsäure und zu 20% aus ACN mit 1% Essigsäure zusammen. Das Schaltventil sammelte die Fraktion von 3,7 min. bis 7,2 min. Zuletzt erfolgte eine Überprüfung der Reinheit der Fraktionen per HPLC-UV-DAD-MSⁿ.

Anhang A – Abbildungen zur Optimierung der chromatographischen Trennung

Nachfolgend werden Abbildungen in Form von Chromatogrammausschnitten (10 min. bis 35 min.) dargestellt. Dieses Zeitfenster wurde gewählt, weil sich im dargestellten Chromatogrammabschnitt eine bisher unzureichende chromatographische Trennung vorlag. Die chromatographischen Bedingungen waren für alle getesteten stationären Phasen identisch.

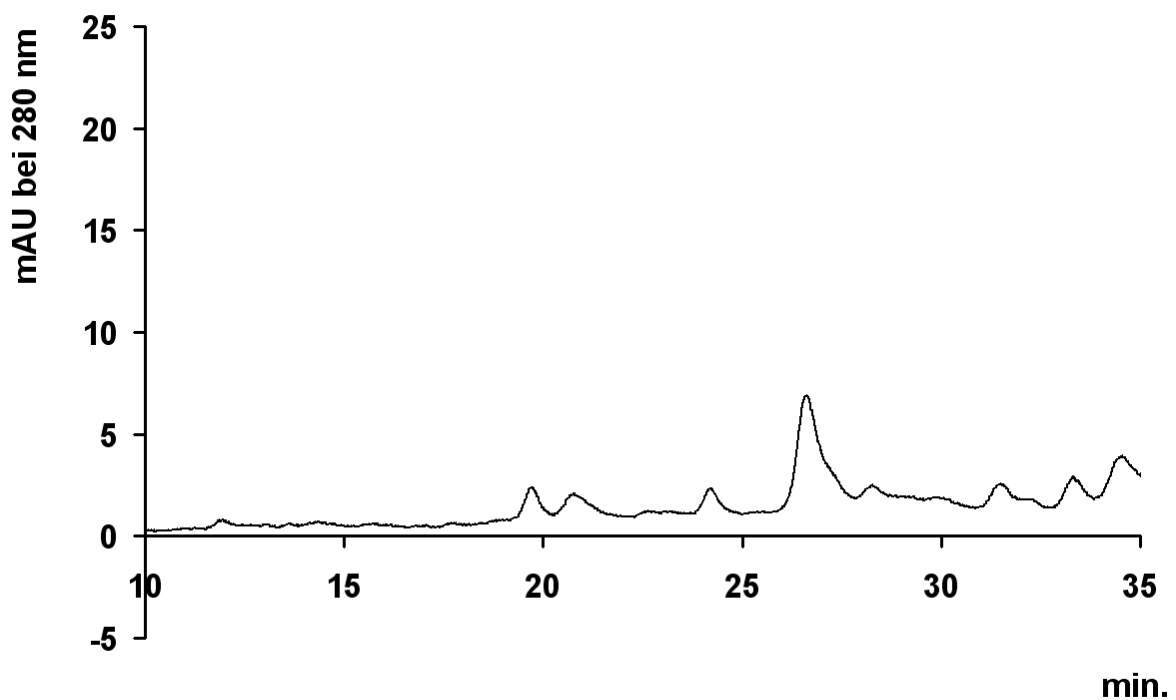


Abbildung A-1: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Hypurity Advance, Thermo Fisher Scientific®, nach 3.5.3

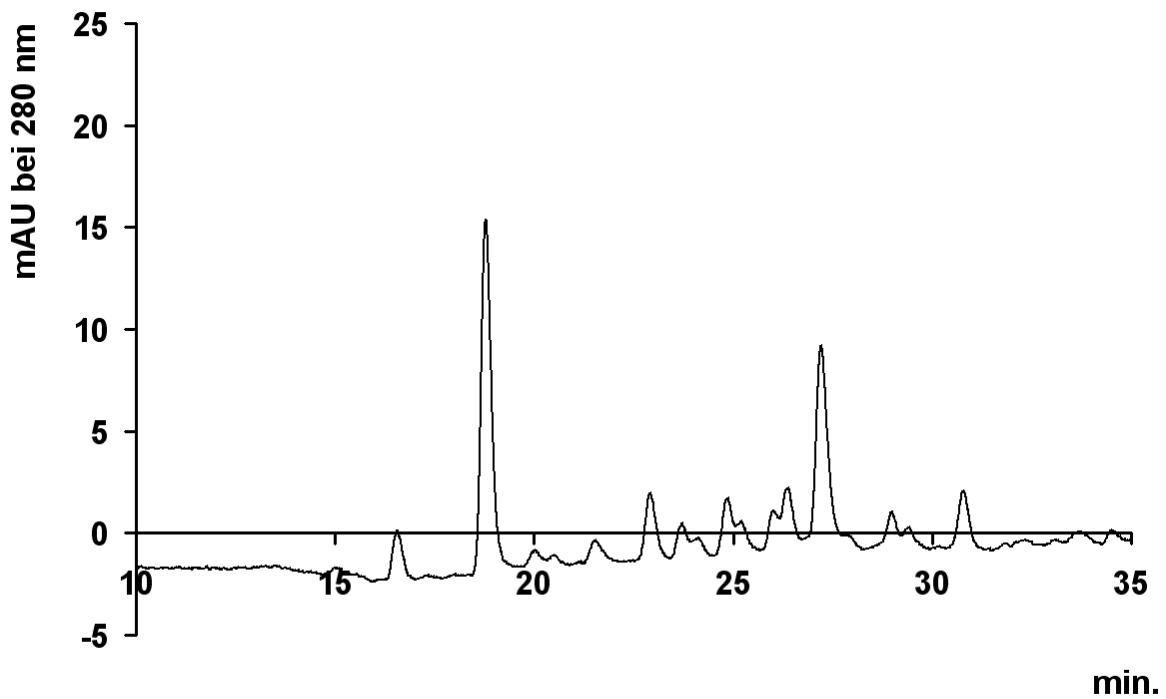


Abbildung A-2: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Aquasil C18, Thermo Fisher Scientific®, nach 3.5.3

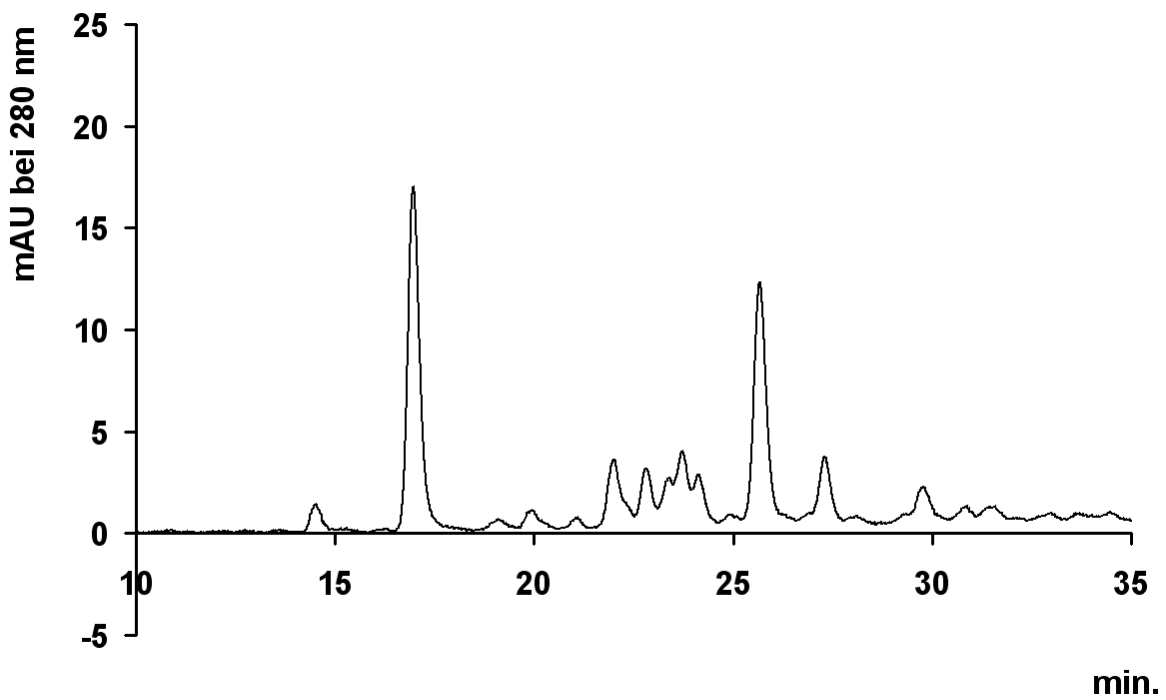


Abbildung A-3: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Ascentis RP-Amide, Supelco®, nach 3.5.3

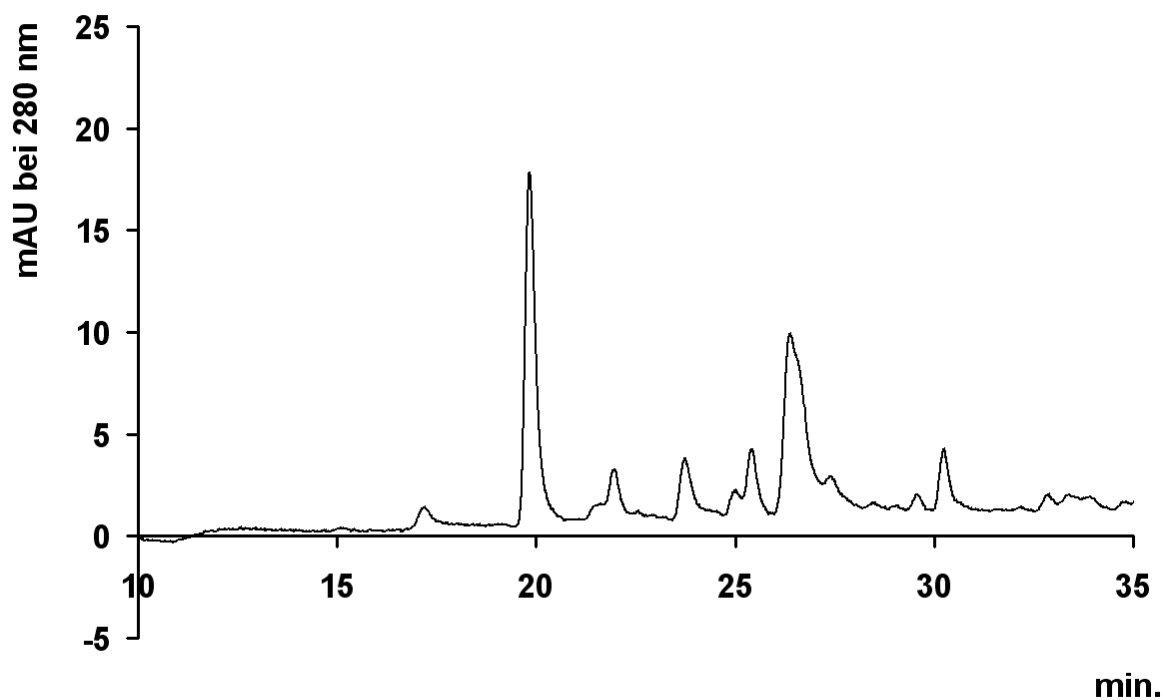


Abbildung A-4: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Fluophase PFP, Thermo Fisher Scientific®, nach 3.5.3

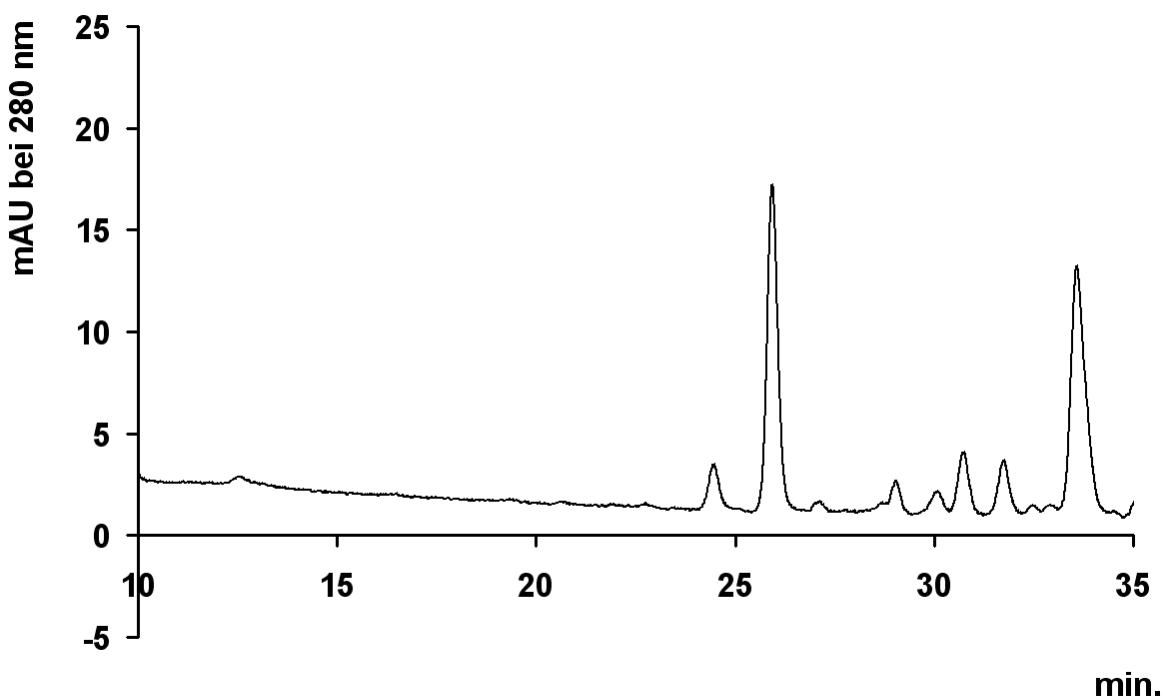


Abbildung A-5: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Polaris Ether, Varian®, nach 3.5.3

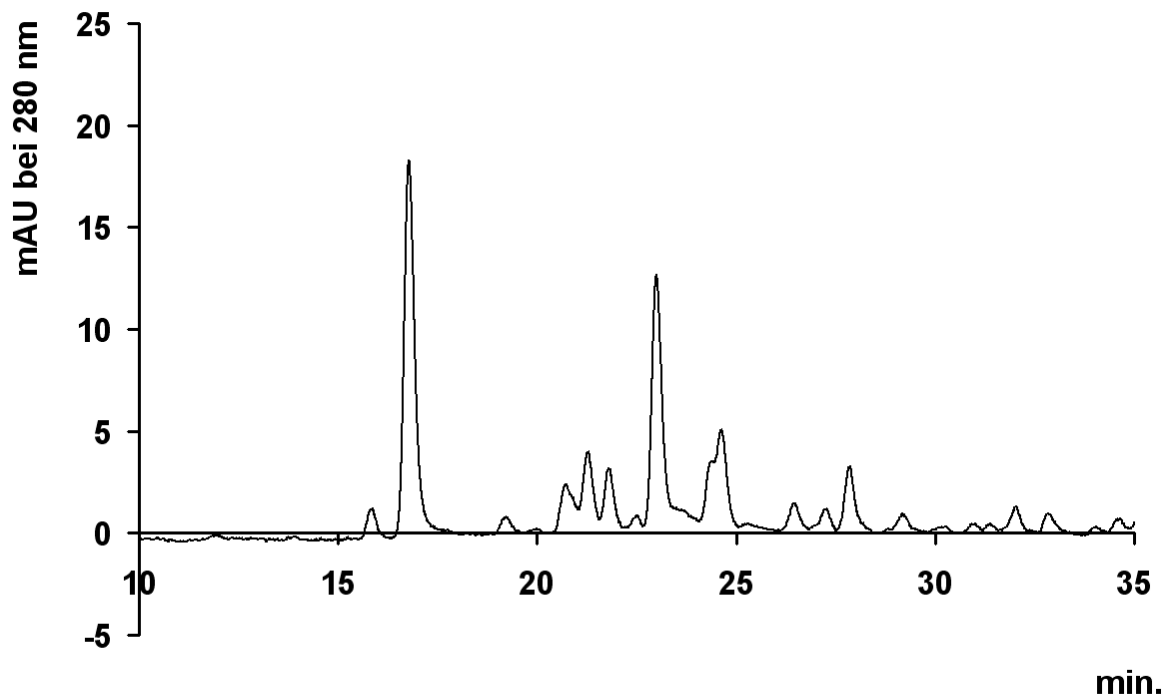


Abbildung A-6: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Nucleodur Sphinx RP, Macherey und Nagel, nach 3.5.3

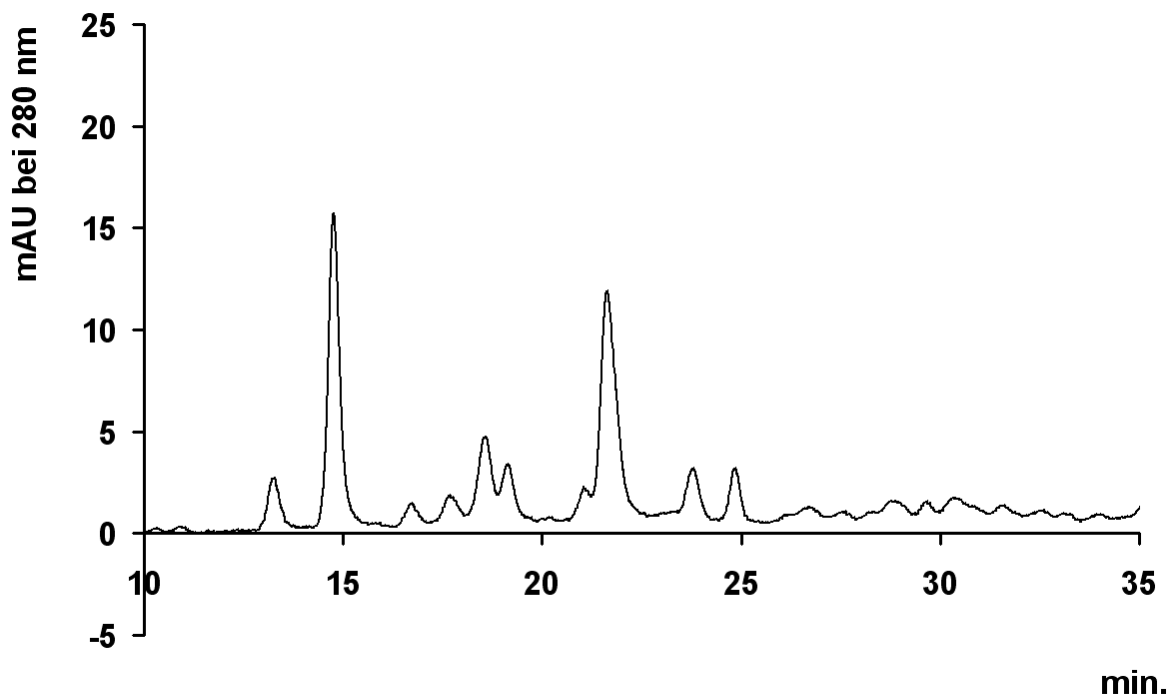


Abbildung A-7: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Synergie Fusion RP, Phenomenex®, nach 3.5.3

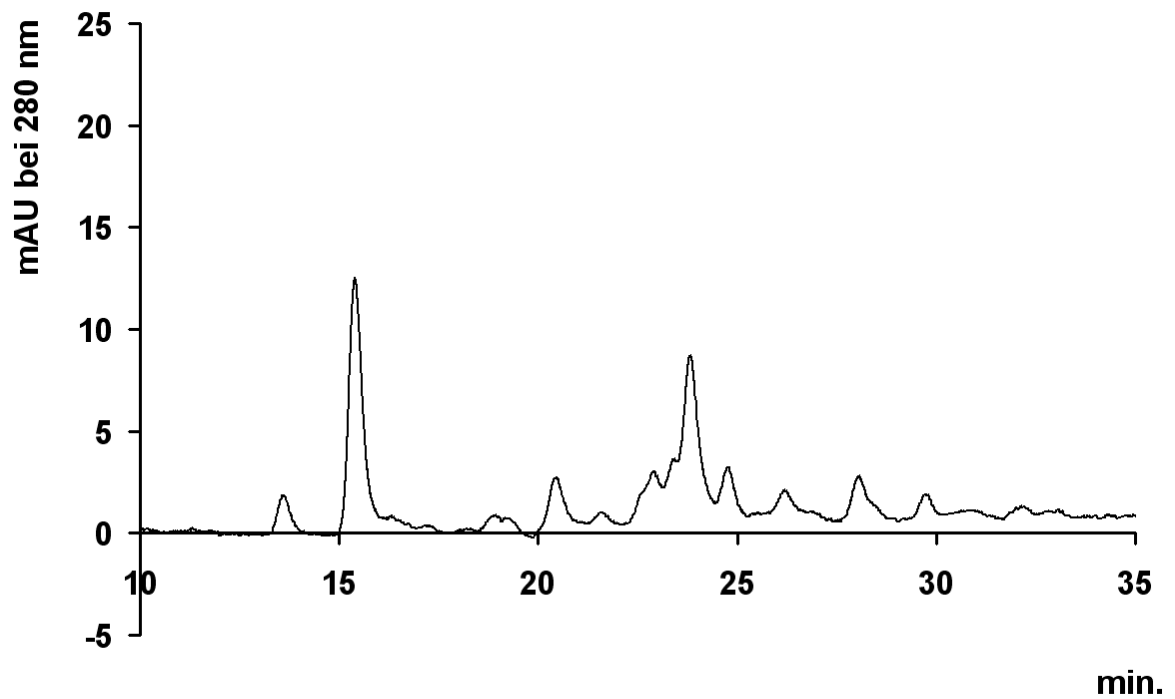


Abbildung A-8: Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Synergie Polar RP, Phenomenex®, nach 3.5.3

Anhang B - Identifizierung

Die Tabelle B-1 fasst die identifizierten phenolischen Substanzen, die im Rahmen der Untersuchung von Aprikosen identifiziert werden konnten, zusammen. Neben dem Base Peak sind auch die substanzspezifischen Fragmentationen aufgeführt. Die Überprüfung der Isomeren der Phenolcarbonsäuren erfolgte durch eine Isomerisierung und anschließendem Vergleich der LC-MS/MS-Fragmentspektren [105, 106, 107]. In Übereinstimmung mit [105, 106, 107] konnte aufgrund der vorliegenden Intensitäten der MS/MS-Fragmente eine Zuordnung vorgenommen werden.

Tabelle B-1 Identifizierte Analyten in Aprikose mit MS/MS-Fragmentationen

Nr.	Abbildung Anhang	RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	MS/MS Fragmentationen
1	C-23	13,37	Fla-Dimer	575	413, 423, 229, 491
2	C-10	15,00	3-CQA	353	191, 179, 135
3	C-43	16,01	Fla-Trimer	865	695, 577, 407, 713, 451
4	C-11	18,23	3-CQA	353	191, 179, 135
5	-	20,80	3-pCoQA	337	163, 119, 191
6	C12	21,38	4-CQA	353	179, 173, 191, 135
7	C-8	23,65	3-pCoQA	337	163, 119, 191
8	-	24,28	3-FQA	367	193, 149
9	C-36	24,43	Fla-Dimer mit Hex	739	619, 587, 449, 479
10	C-37	25,02	Fla-Dimer mit Hex	739	619, 649, 467, 497, 587
11	C-5	25,53	Catechin	289	245, 205, 179, 271, 203
12	-	26,12	3-FQA	367	193, 149
13	C-26	26,43	Fla-Dimer	577	407, 425, 451, 289
14	C-13	26,91	4-CQA	353	179, 173, 191, 135
15	C-28	28,50	Fla-Dimer	577	425, 407, 451, 289
16	C-14	28,92	5-CQA	353	191, 179, 173, 161
17	C-24	30,89	Fla-Dimer	575	413, 229, 437, 275
18	C-38	31,23	Fla-Dimer mit Hex	739	619, 587, 449, 479, 407
19	C-6	31,75	Epicatechin	289	245, 205, 179, 271, 203
20	C-44	31,75	Fla-Trimer	865	695, 577, 483, 739, 289
21	C-51	33,95	Fla-Tetramer	1153	983, 739, 1027, 831, 407
22	C-28	34,04	Fla-Dimer	577	425, 407, 451, 289, 559
23	C-45	34,87	Fla-Trimer	865	695, 577, 739, 407, 587
24	C-52	36,21	Fla-Tetramer	1153	863, 577
25	C-53	36,88	Fla-Tetramer	1153	865, 575, 577, 693, 695
26	C-46	37,88	Fla-Trimer	865	695, 577, 739, 407, 543
27	C-54	40,61	Fla-Tetramer	1153	983, 863, 577, 413
28	C-47	41,98	Fla-Trimer	865	695, 577, 407, 739
29	C-39	42,39	Fla-Dimer mit Hex	739	587, 435, 569, 449, 289

Anhang B - Identifizierung

Nr.	Abbildung Anhang	RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	MS/MS Fragmentionen
30	C-29	42,47	Fla-Dimer	577	407, 425, 451, 289
31	C-48	43,49	Fla-Trimer	865	695, 587, 739
32	C-55	44,50	Fla-Tetramer	1153	983, 863, 577, 695, 559
33	C-49	45,81	Fla-Trimer	865	695, 713, 577, 413
34	C-40	46,17	Fla-Dimer mit Hex	739	587, 435, 569, 449, 289
35	C-41	47,71	Fla-Dimer mit Hex	739	587, 568, 435, 449, 289
36	C-30	49,54	Fla-Dimer	577	407, 425, 451, 289
37	C-34	52,30	Q-rutinosid	609	301, 271, 343, 255, 179
38	C-19	54,56	Q-hex	463	301, 347, 179
39	C-32	57,36	K-rutinosid	593	285, 257, 211
40	C-21	61,89	Q-acetylhex	505	301, 463, 271

Die Tabelle B-2 zeigt einen Überblick über die in den jeweiligen Sorten identifizierten phenolischen Substanzen. Ein „+“ steht für einen positiven Nachweis, ein „-“ entsprechend für einen negativen Nachweis. Die Identifizierung erfolgte mit Hilfe massenspektrometrischer sowie UV- Signale. Dabei wurden sowohl „manuell“ aufgearbeitete Probenextrakte als auch die automatisiert erstellte Probenextrakte betrachtet.

Tabelle B-2 Identifizierte Analyten in untersuchten Aprikosensorten

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Canino	Golden Bulida	Golden Bulida (110628)	Golden Bulida geschält	Aprikose AiF PNr. - 14583
13,37	Fla-Dimer	575	+	+	+	+	-
15,00	3-CQA	353	+	+	+	+	-
16,01	Fla-Trimer	865	+	+	+	+	-
18,23	3-CQA	353	+	+	+	+	+
20,80	3-pCoQA	337	+	+	+	-	-
21,38	4-CQA	353	+	+	+	+	-
23,65	3-pCoQA	337	+	+	+	+	+
24,28	3-FQA	367	+	+	+	+	+
24,43	Fla-Dimer mit Hex	739	+	-	-	+	-
25,02	Fla-Dimer mit Hex	739	+	-	-	+	-
25,53	Catechin	289	+	+	+	+	+
26,12	3-FQA	367	+	+	+	+	+
26,43	Fla-Dimer	577	+	+	+	+	+
26,91	4-CQA	353	+	+	+	+	+
28,50	Fla-Dimer	577	+	+	+	+	-
28,92	5-CQA	353	+	+	+	+	+
30,89	Fla-Dimer	575	+	-	-	+	-

Anhang B - Identifizierung

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Canino	Golden Bulida	Golden Bulida (110628)	Golden Bulida geschält	Aprikose AiF PNr. - 14583
31,23	Fla-Dimer mit Hex	739	+	-	-	+	-
31,75	Epicatechin	289	+	+	+	+	+
31,75	Fla-Trimer	865	+	-	-	-	-
33,95	Fla-Tetramer	1153	+	-	-	-	-
34,04	Fla-Dimer	577	+	+	+	+	-
34,87	Fla-Trimer	865	+	+	+	+	-
36,21	Fla-Tetramer	1153	+	-	-	-	-
36,88	Fla-Tetramer	1153	+	-	-	-	-
37,88	Fla-Trimer	865	+	-	+	+	-
40,61	Fla-Tetramer	1153	+	-	-	-	-
41,98	Fla-Trimer	865	+	-	-	+	-
42,39	Fla-Dimer mit Hex	739	+	+	+	+	-
42,47	Fla-Dimer	577	+	-	+	+	-
43,49	Fla-Trimer	865	+	-	+	-	-
44,50	Fla-Tetramer	1153	+	-	-	-	-
45,81	Fla-Trimer	865	+	-	-	-	-
46,17	Fla-Dimer mit Hex	739	+	-	-	+	-
47,71	Fla-Dimer mit Hex	739	+	-	-	+	-
49,54	Fla-Dimer	577	+	-	-	+	-
52,30	Q-rutinosid	609	+	+	+	+	+
54,56	Q-hex	463	+	+	+	-	+
57,36	K-rutinosid	593	+	+	+	-	+
61,89	Q-acetylhex	505	+	+	+	-	+

Die Tabellen B-3 bis B-6 zeigen einen Überblick über die in den jeweiligen Konfitüren identifizierten phenolischen Substanzen. Ein „+“ steht für einen positiven Nachweis, ein „-“ entsprechend für einen negativen Nachweis. Die Identifizierung erfolgte mit Hilfe massenspektrometrischer sowie UV- Signale. Dabei wurden sowohl „manuell“ aufgearbeitete Probenextrakte als auch die automatisiert erstellten Probenextrakte betrachtet.

**Tabelle B-3 Identifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren,
Symphonie Extra und Schwartzau Extra**

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)	Schwartzau Aprikosen-Konfitüre Extra
15,00	3-CQA	353	+	+
18,23	3-CQA	353	+	+
20,80	3-pCoQA	337	+	+
21,38	4-CQA	353	+	+
23,65	3-pCoQA	337	+	+
24,28	3-FQA	367	+	+

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)	Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra
26,12	3-FQA	367	+	+
26,91	4-CQA	353	+	+
28,92	5-CQA	353	+	+
52,30	Q-rutinosid	609	+	+
54,56	Q-hex	463	+	+
57,36	K-rutinosid	593	+	+
61,89	Q-acetylhex	505	+	+

Tabelle B-4 Identifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren Extra, Gut und Billig und Primadonna

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra	Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra
15,00	3-CQA	353	+	+
18,23	3-CQA	353	+	+
20,80	3-pCoQA	337	+	+
21,38	4-CQA	353	+	+
23,65	3-pCoQA	337	+	+
24,28	3-FQA	367	+	+
26,12	3-FQA	367	+	+
26,91	4-CQA	353	+	+
28,92	5-CQA	353	+	+
52,30	Q-rutinosid	609	+	+
54,56	Q-hex	463	+	+
57,36	K-rutinosid	593	+	+
61,89	Q-acetylhex	505	+	+

Tabelle B-5 Identifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren Extra, Tamara und Classic

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Tamara Aprikosen Konfitüre extra	Classic – Aprikose - Konfitüre extra
15,00	3-CQA	353	+	+
18,23	3-CQA	353	+	+
20,80	3-pCoQA	337	+	+
21,38	4-CQA	353	+	+
23,65	3-pCoQA	337	+	+
24,28	3-FQA	367	+	+

Anhang B - Identifizierung

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Tamara Aprikosen Konfitüre extra	Classic – Aprikose - Konfitüre extra
26,12	3-FQA	367	+	+
26,91	4-CQA	353	+	+
28,92	5-CQA	353	+	+
52,30	Q-rutinosid	609	+	+
54,56	Q-hex	463	+	+
57,36	K-rutinosid	593	+	+
61,89	Q-acetylhex	505	+	+

Tabelle B-6 **Identifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren Extra, Tamara Aprikozenjam und Grandessa**

RT (min)	Substanz	MS [M-H]-	Tamara Aprikozenjam extra	Grandessa Aprikosenkonfitüre extra
15,00	3-CQA	353	+	+
18,23	3-CQA	353	+	+
20,80	3-pCoQA	337	+	+
21,38	4-CQA	353	+	+
23,65	3-pCoQA	337	+	+
24,28	3-FQA	367	+	+
26,12	3-FQA	367	+	+
26,91	4-CQA	353	+	+
28,92	5-CQA	353	+	+
52,30	Q-rutinosid	609	+	+
54,56	Q-hex	463	+	+
57,36	K-rutinosid	593	+	+
61,89	Q-acetylhex	505	+	+

Anhang C – Massenspektren zur Identifizierung

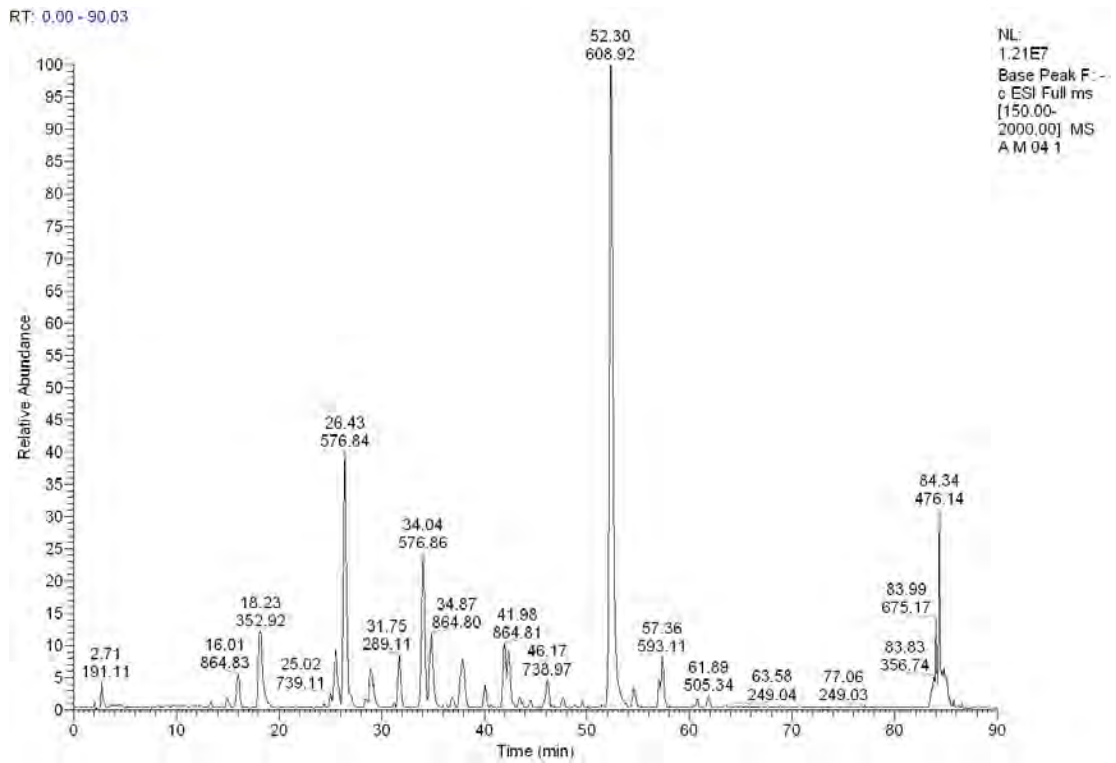


Abbildung C-1: Base Peak der Sorte Canino

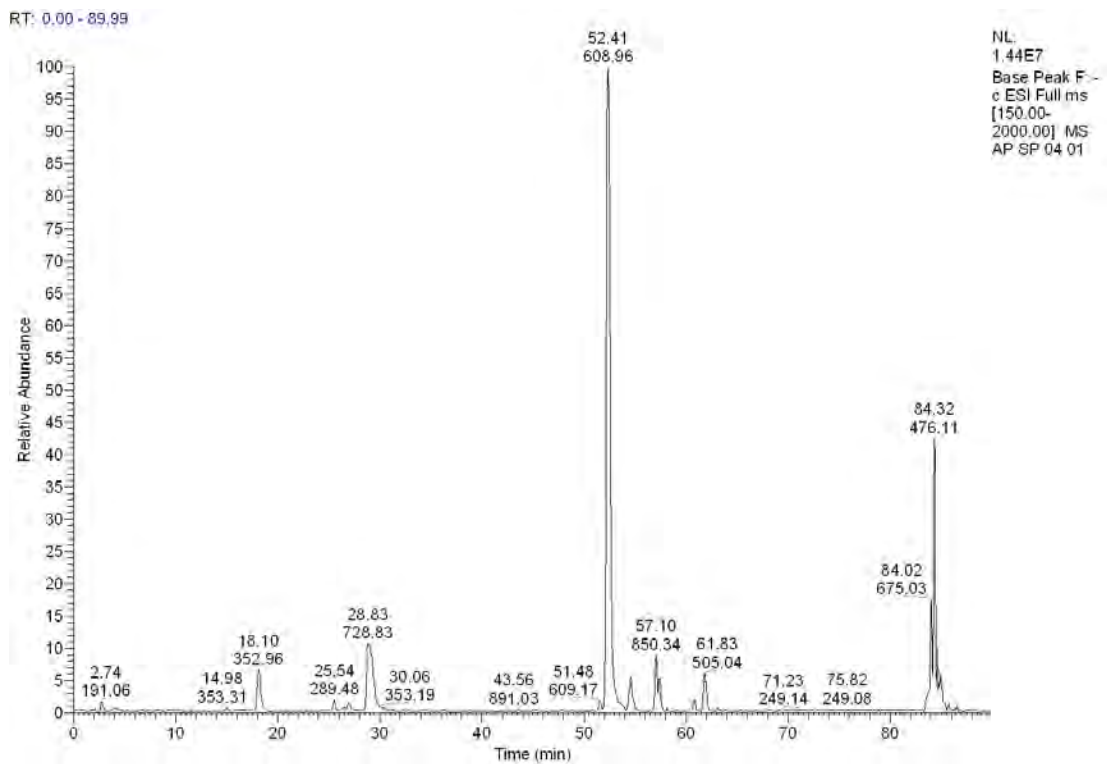


Abbildung C-2: Base Peak der Sorte Golden Bulida

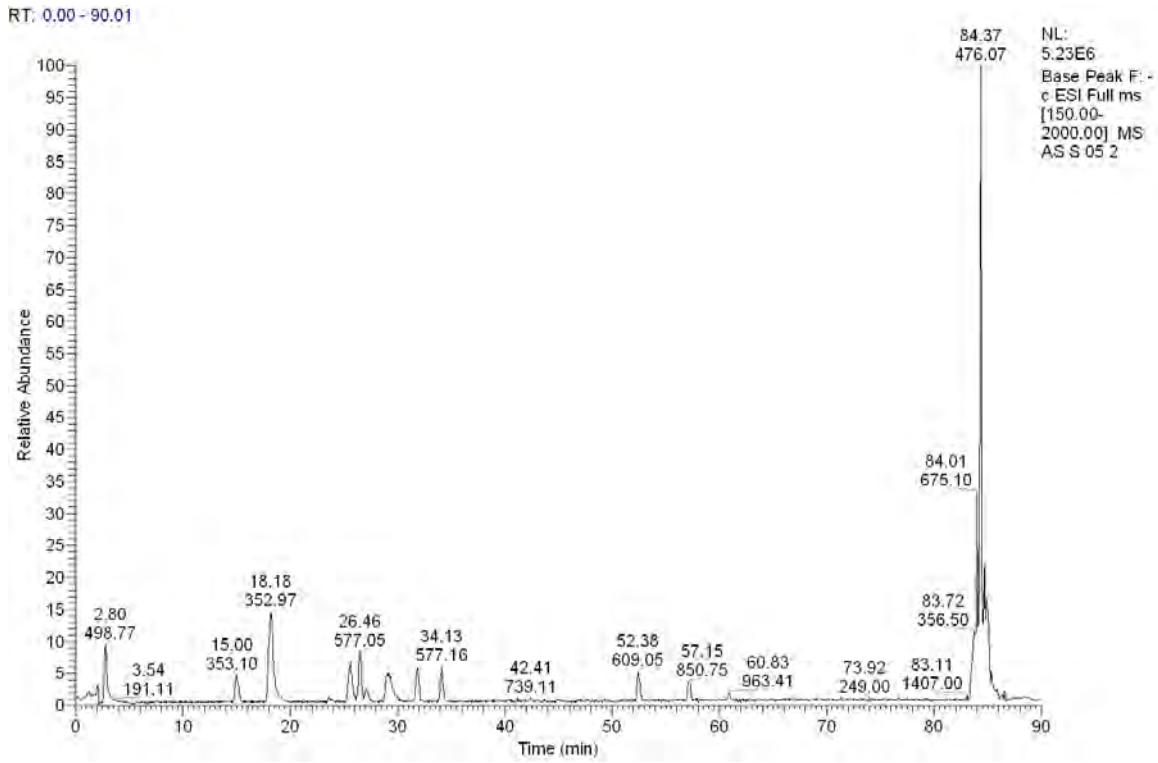


Abbildung C-3: Base Peak der Sorte Golden Bulida, geschält

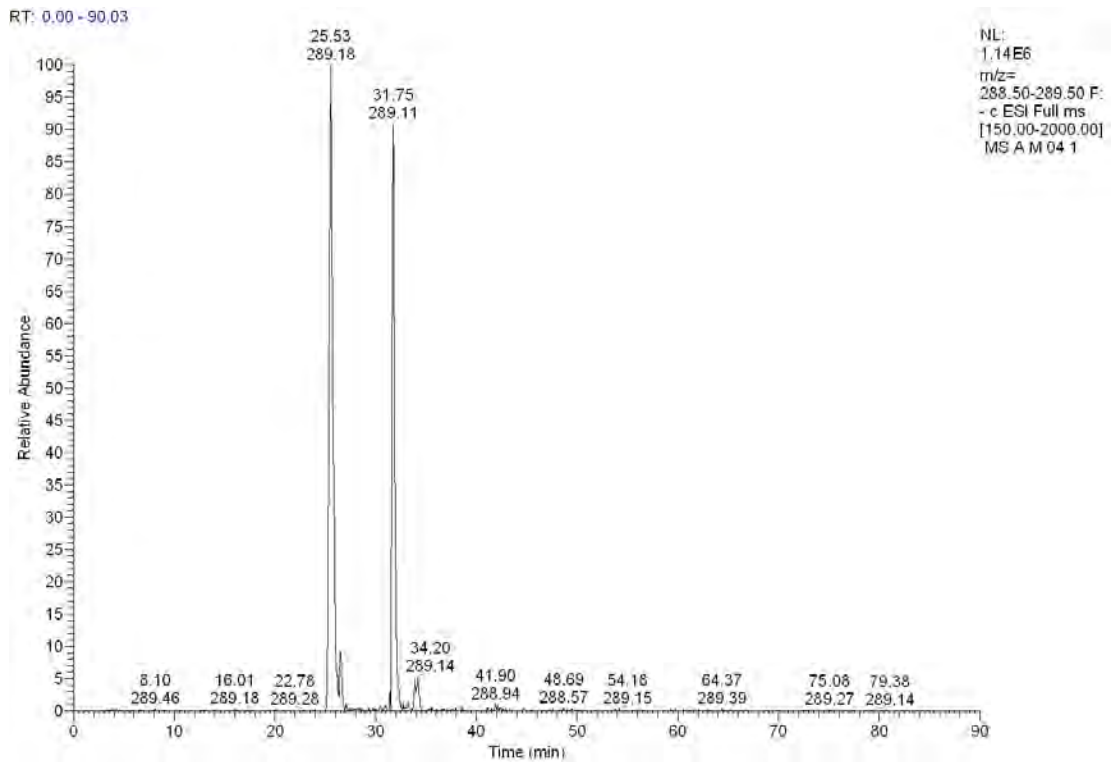


Abbildung C-4: Massenspur $[M-H]^-$ 289

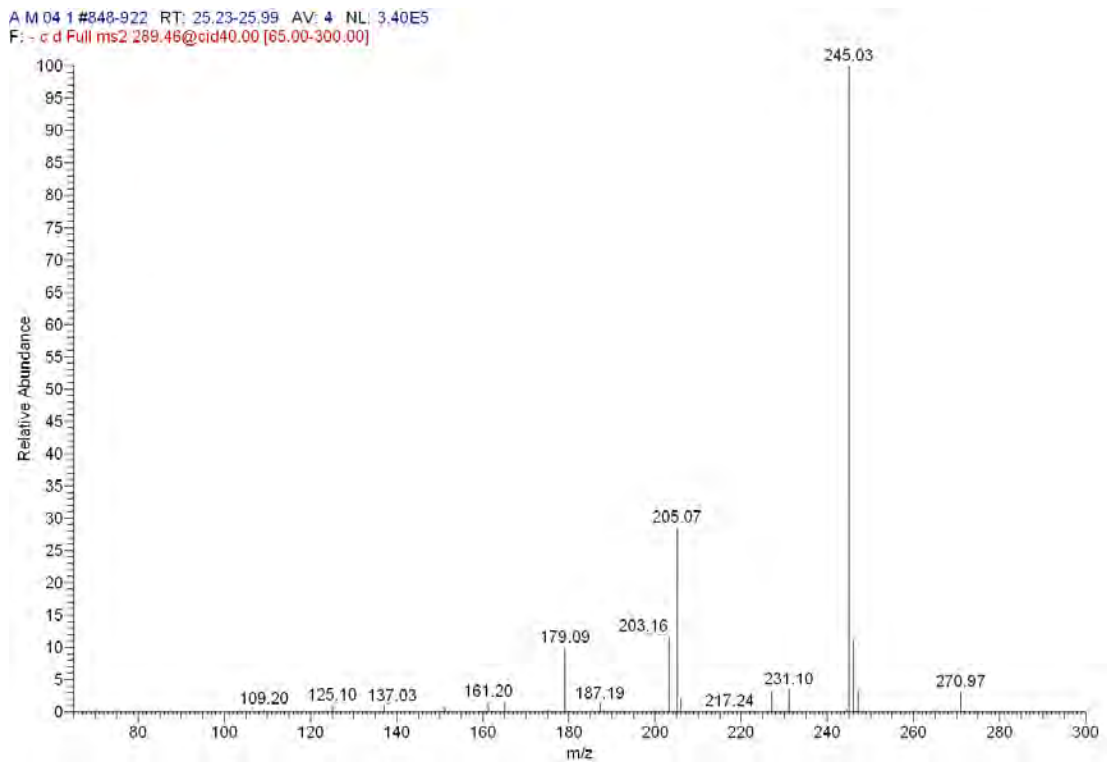


Abbildung C-5: MS^2 -Spektrum von m/z 289 bei RT 25,53 min.

A M 04 1 #1064-1118 RT: 31.45-32.15 AV: 4 NL: 2,41E5
 F: - c d Full ms2 289.38@cid40.00 [65.00-300.00]

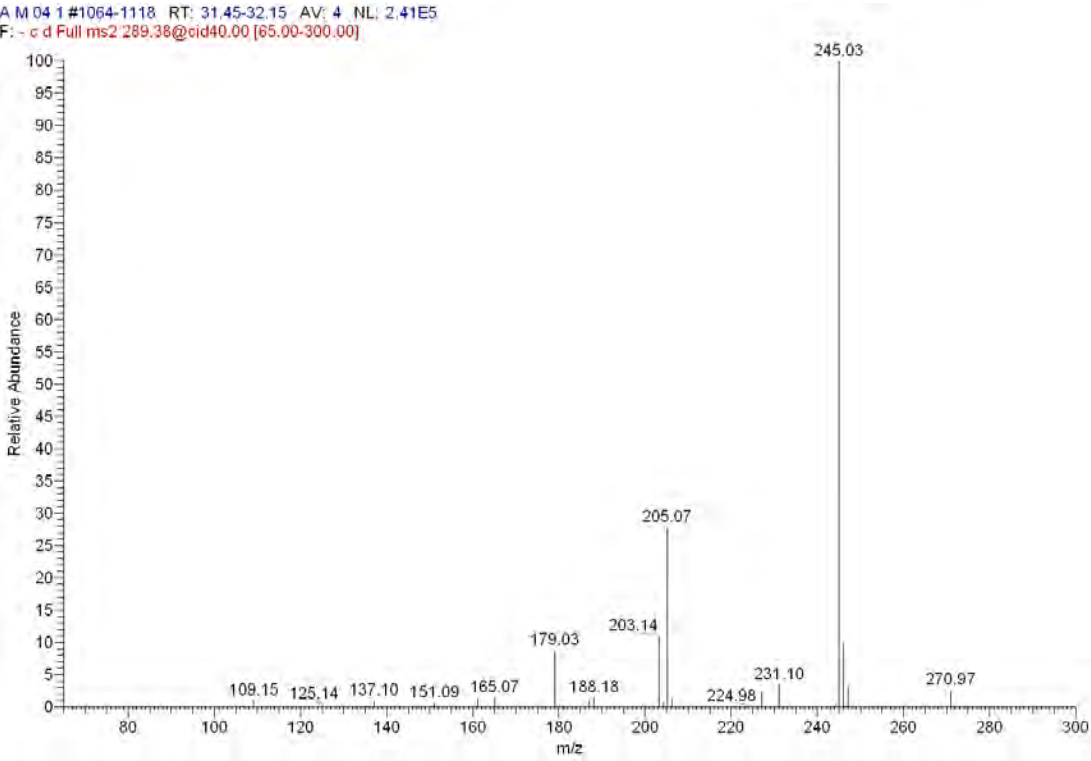
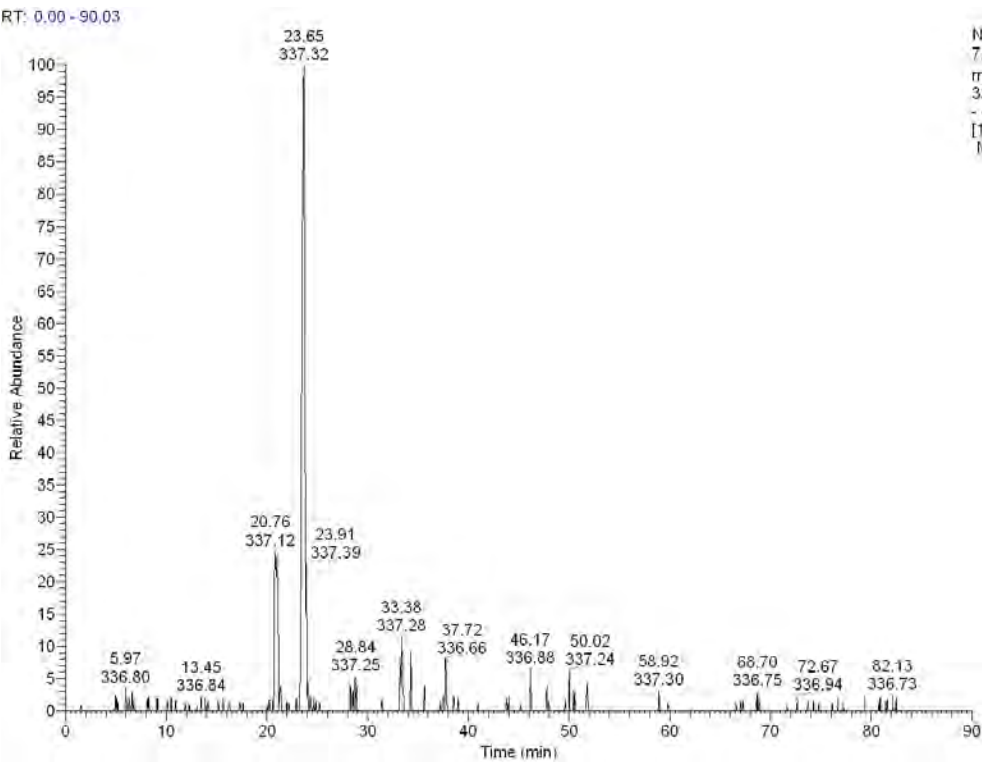


Abbildung C-6: MS²-Spektrum von m/z 289 bei RT 31,25 min.

RT: 0.00 - 90.03



NL:
 7,10E4
 m/z=
 336.50-337.50 F:
 - c ESI Full ms
 [150.00-2000.00]
 MS A M 04 1

Abbildung C-7: Massenspur [M-H]⁻ 337

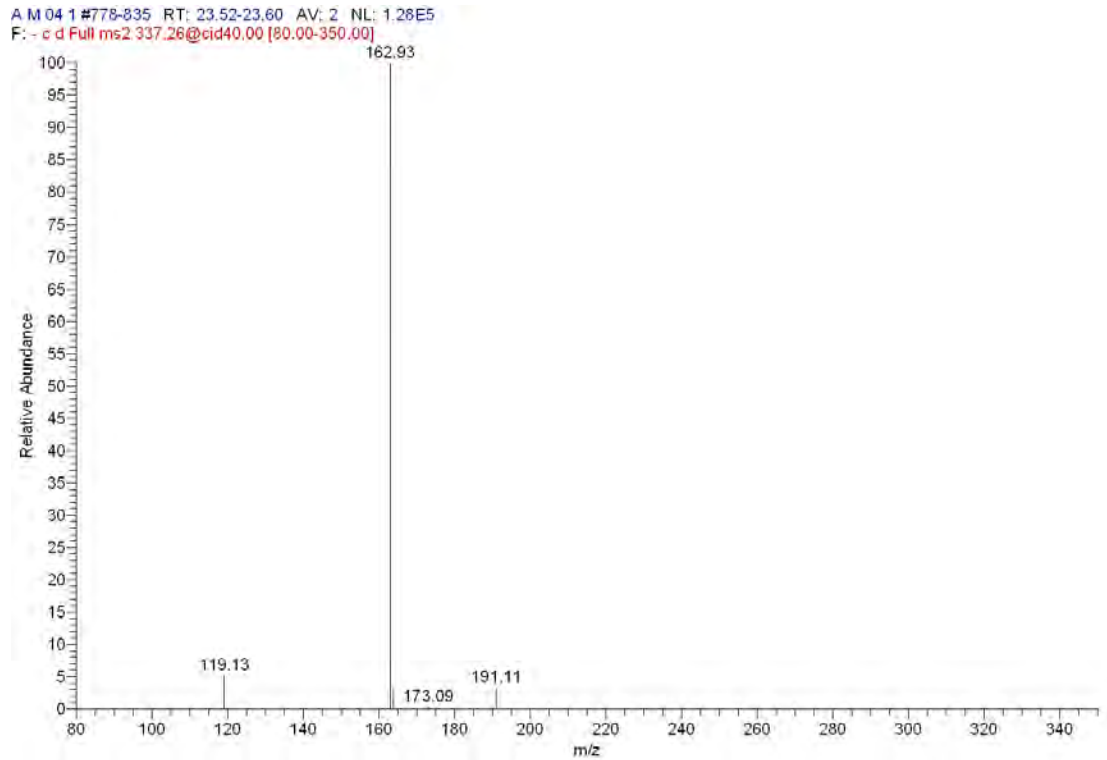


Abbildung C-8: MS²-Spektrum von m/z 337 bei RT 23,65 min.

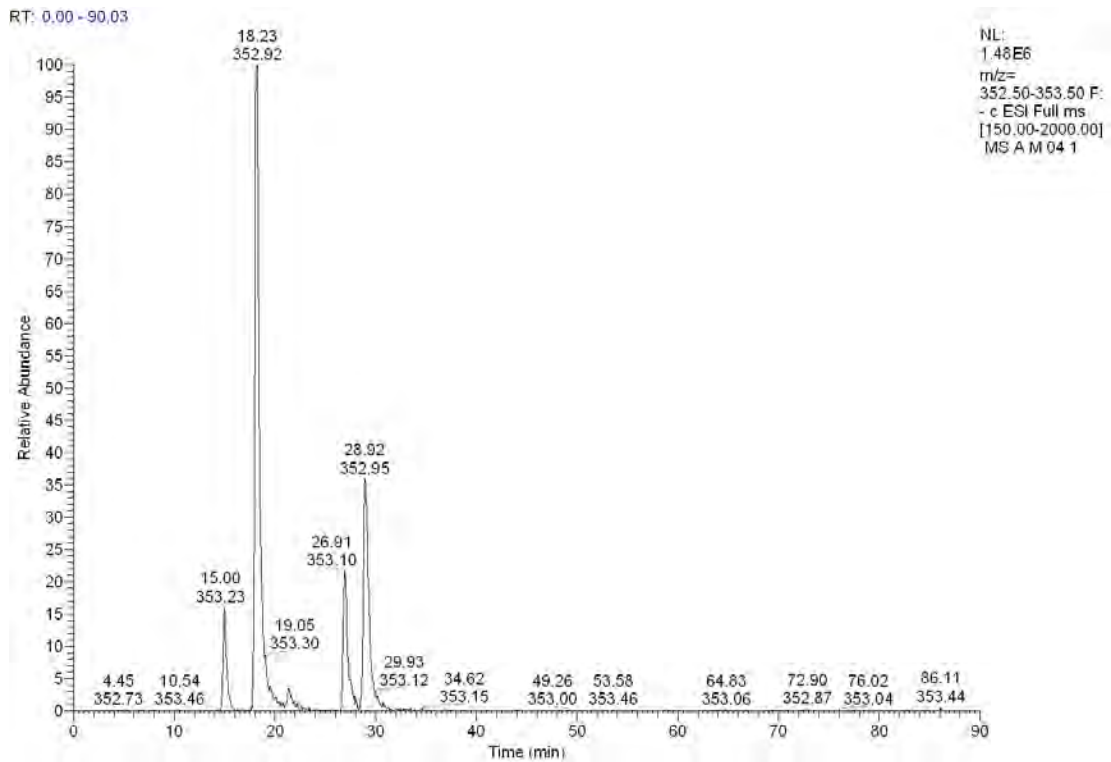


Abbildung C-9: Massenspur [M-H]⁻ 353

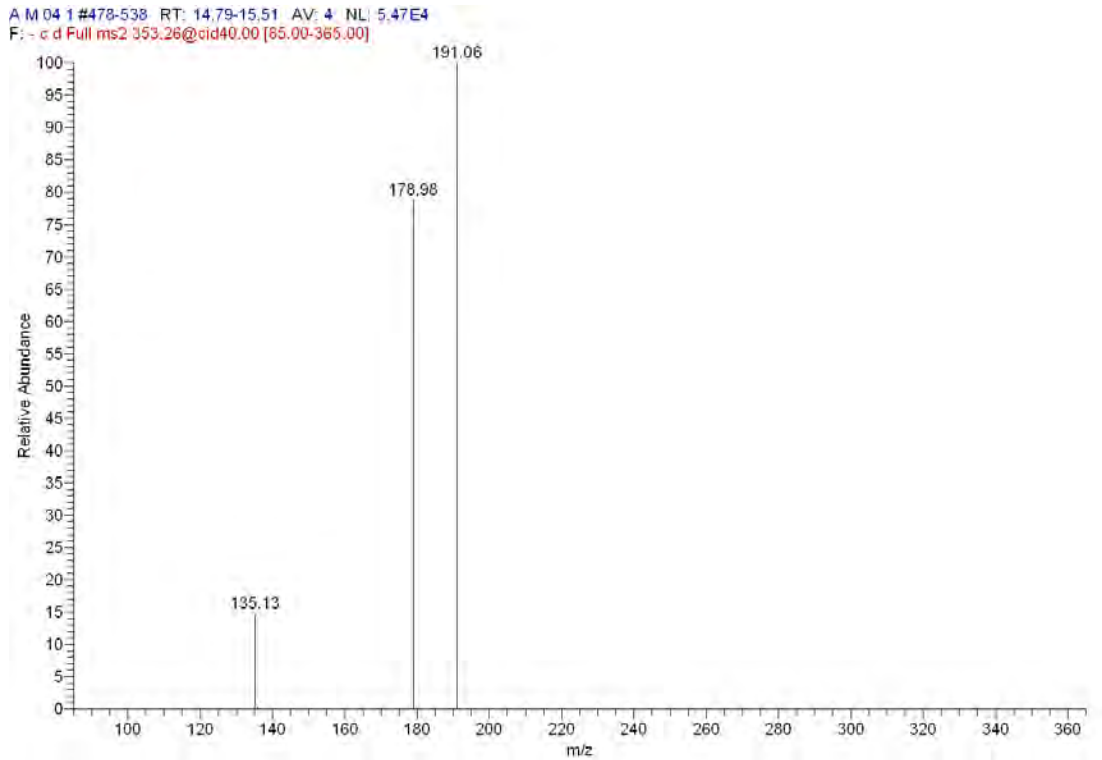


Abbildung C-10: MS²-Spektrum von m/z 353 bei RT 15,00 min.

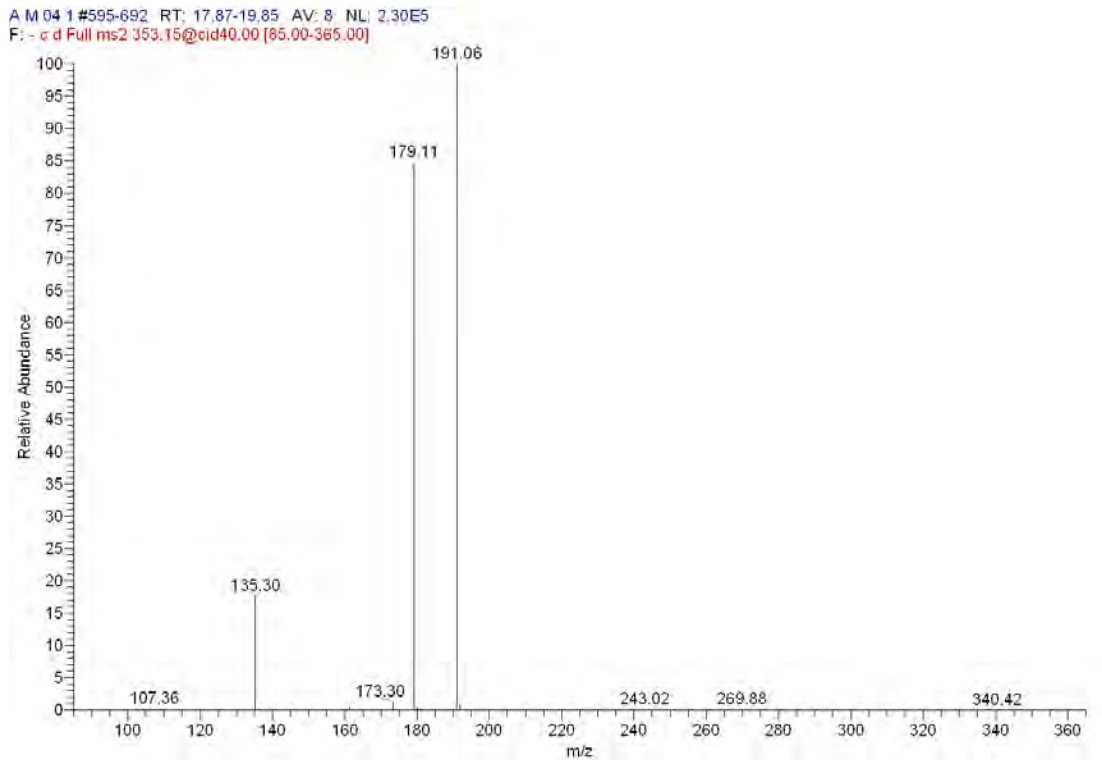


Abbildung C-11: MS²-Spektrum von m/z 353 bei RT 18,23 min.

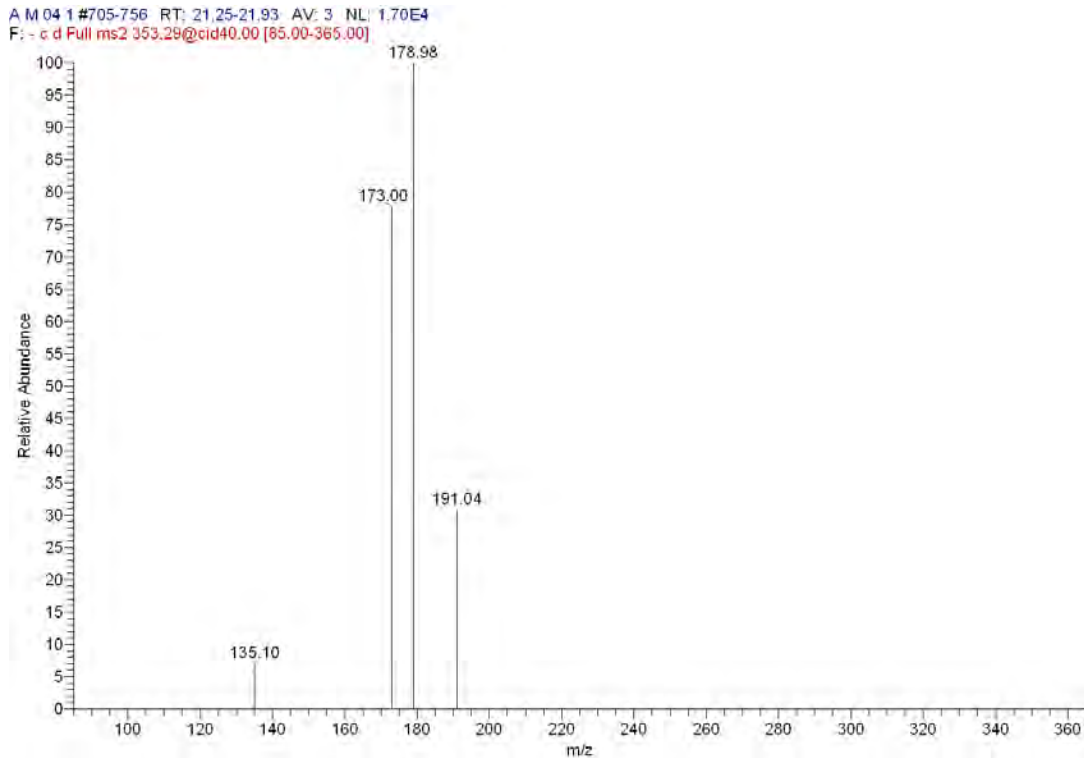


Abbildung C-12: MS²-Spektrum von m/z 353 bei RT 21,38 min.

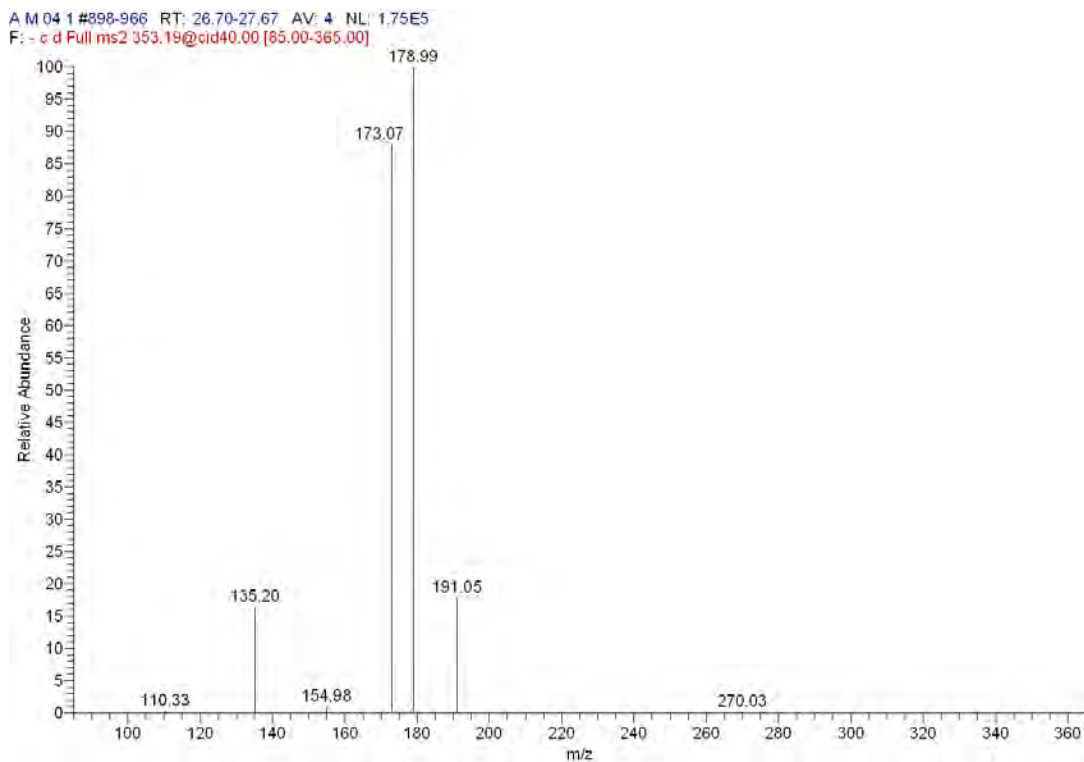


Abbildung C-13: MS²-Spektrum von m/z 353 bei RT 26,91 min.

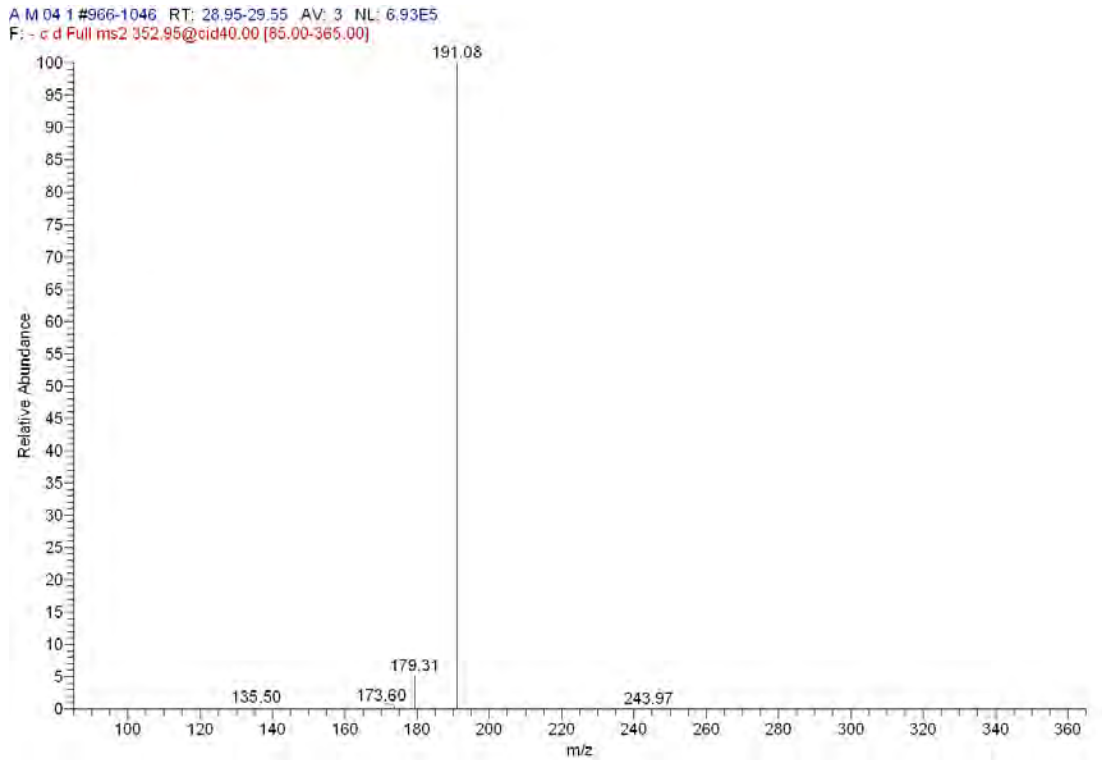


Abbildung C-14: MS²-Spektrum von m/z 353 bei RT 28,92 min.

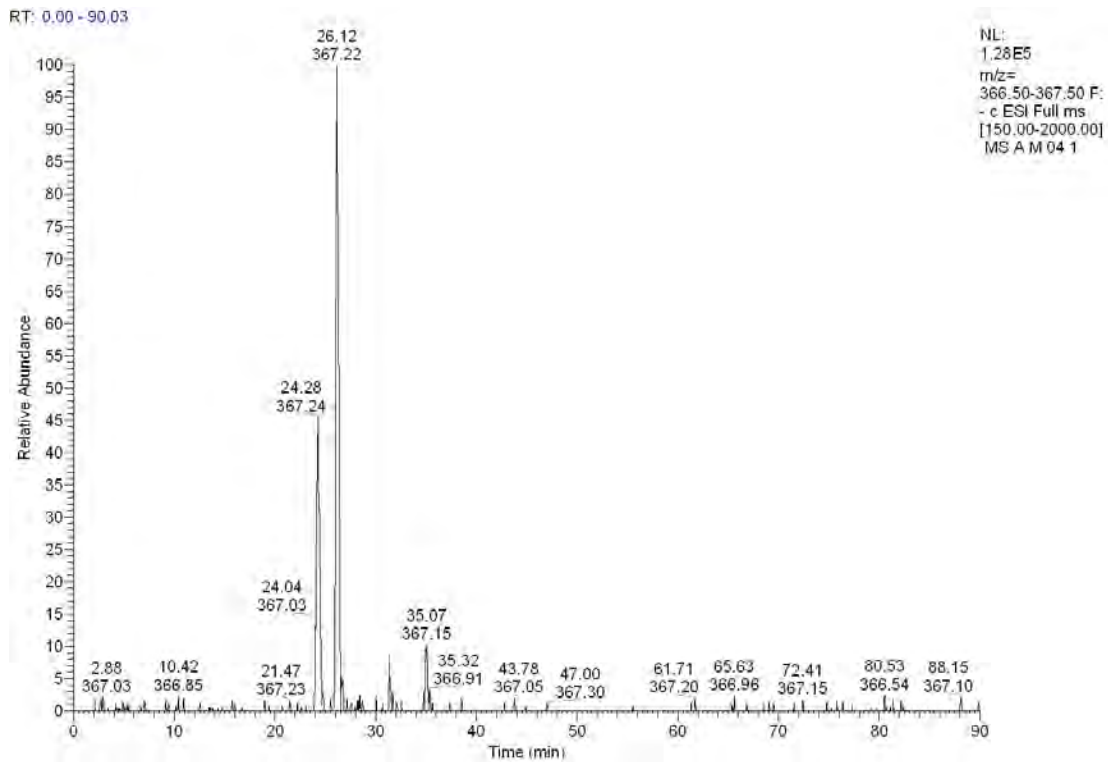


Abbildung C-15: Massenspur [M-H]⁻ 367

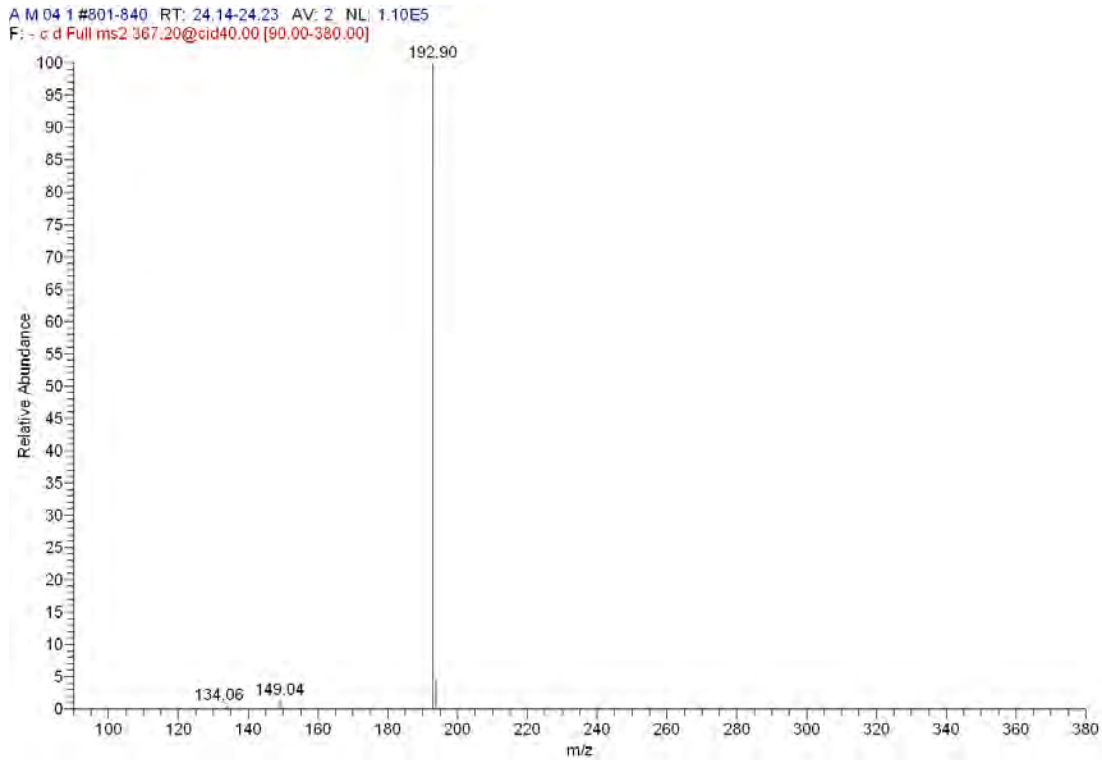


Abbildung C-16: MS²-Spektrum von m/z 367 bei RT 24,28 min.

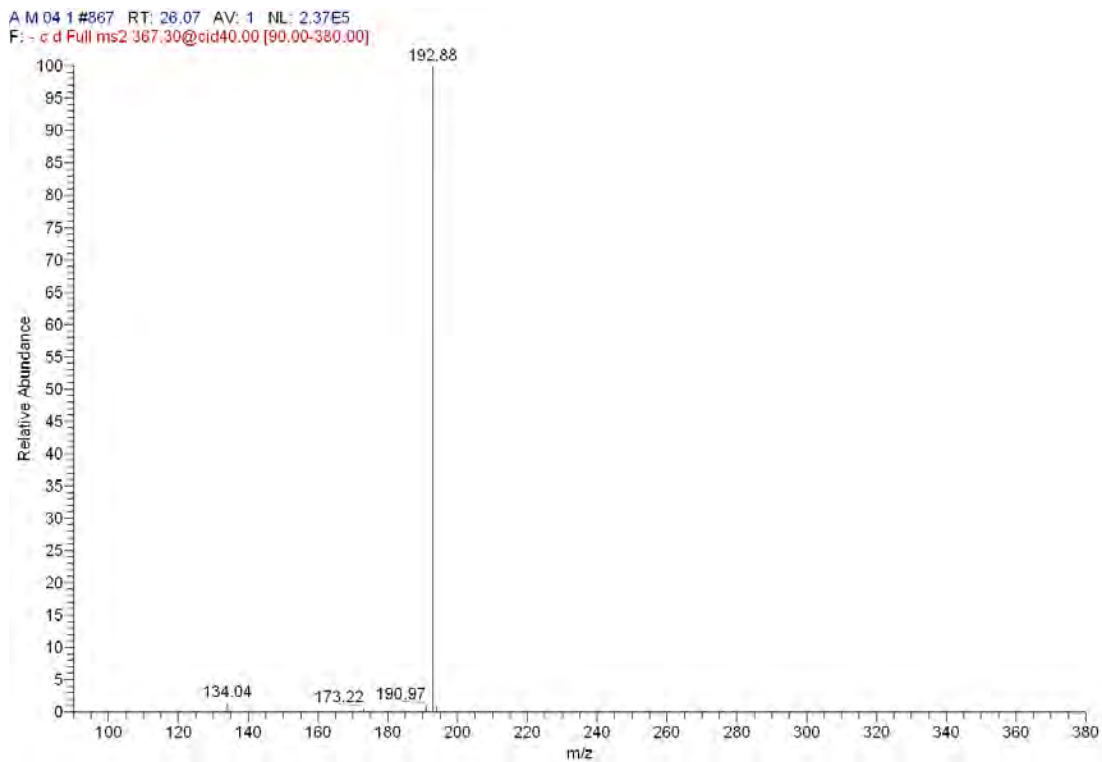


Abbildung C-17: MS²-Spektrum von m/z 367 bei RT 26,12 min.

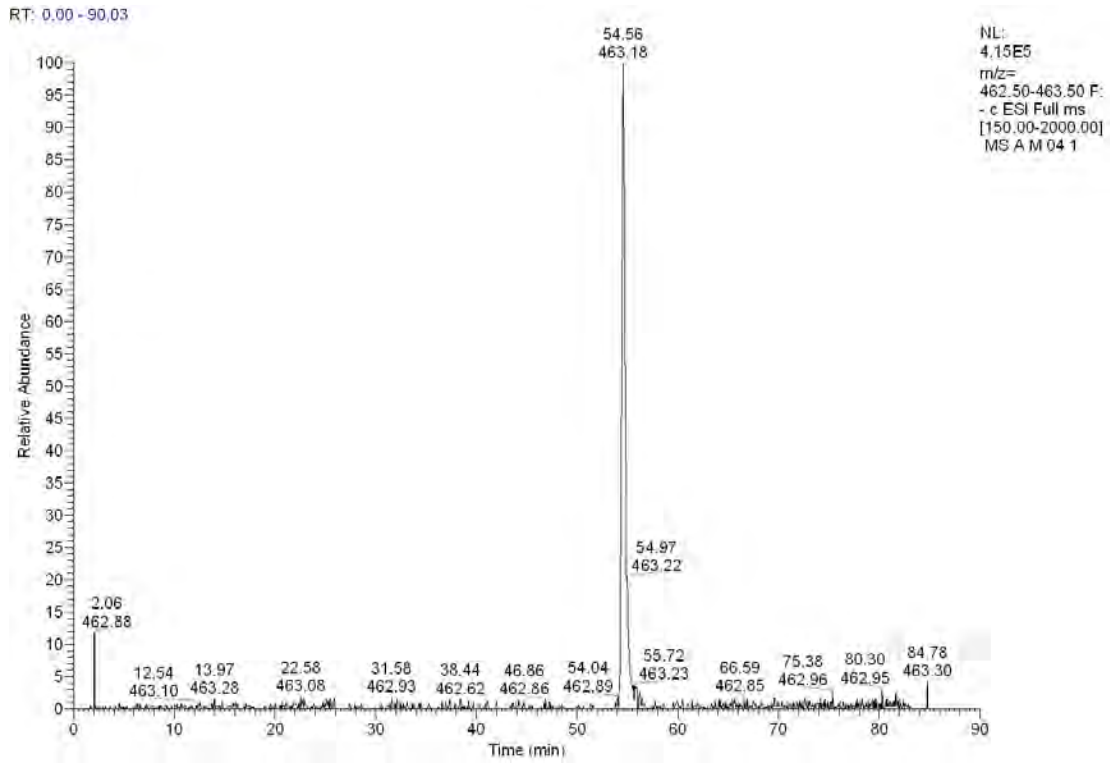


Abbildung C-18: Massenspur $[M-H]^-$ 463

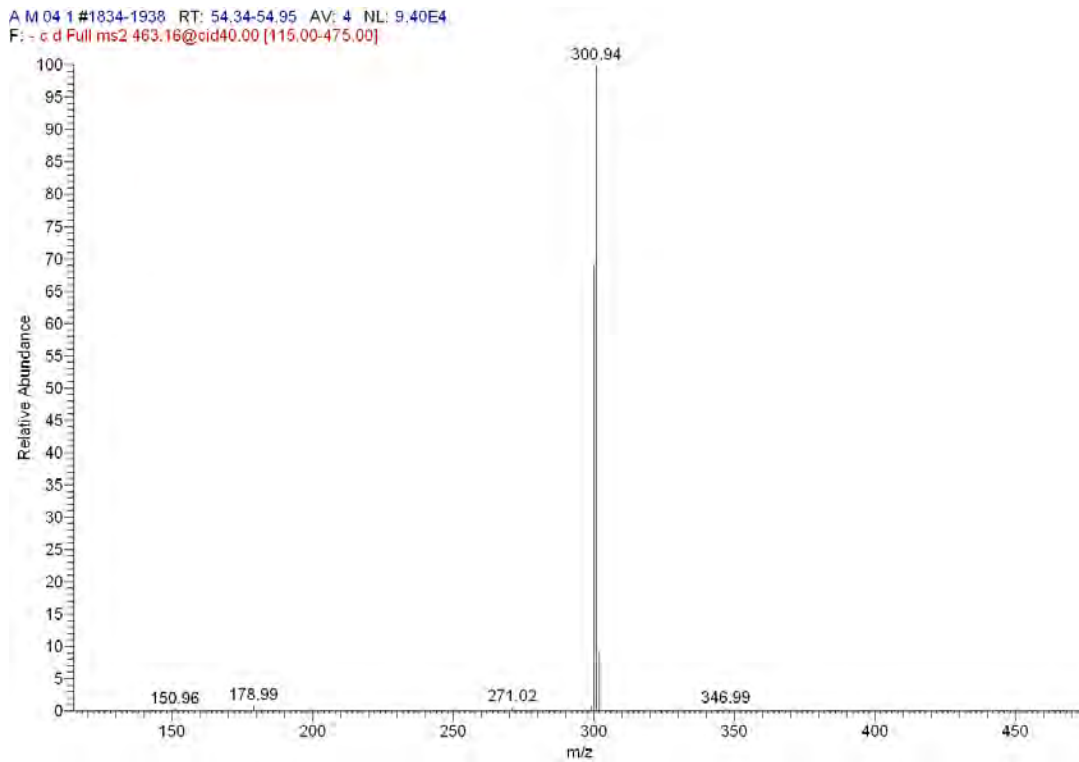


Abbildung C-19: MS^2 -Spektrum von m/z 463 bei RT 54,56 min.

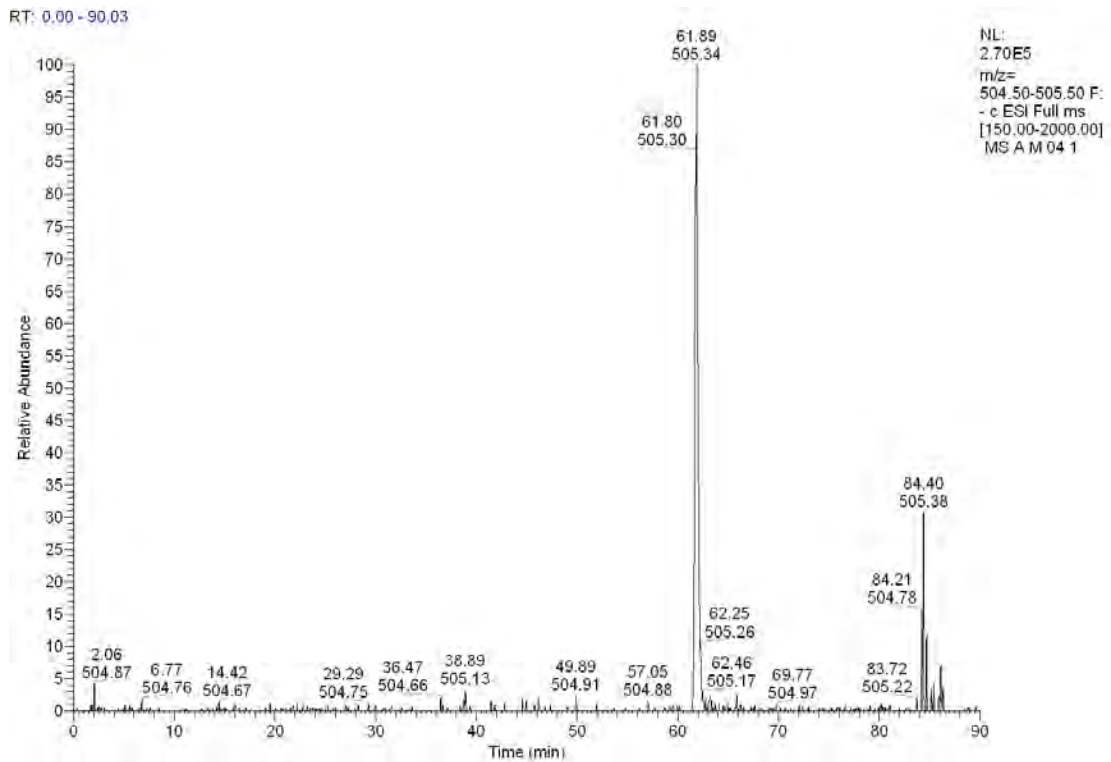


Abbildung C-20: Massenspur $[M-H]^-$ 505

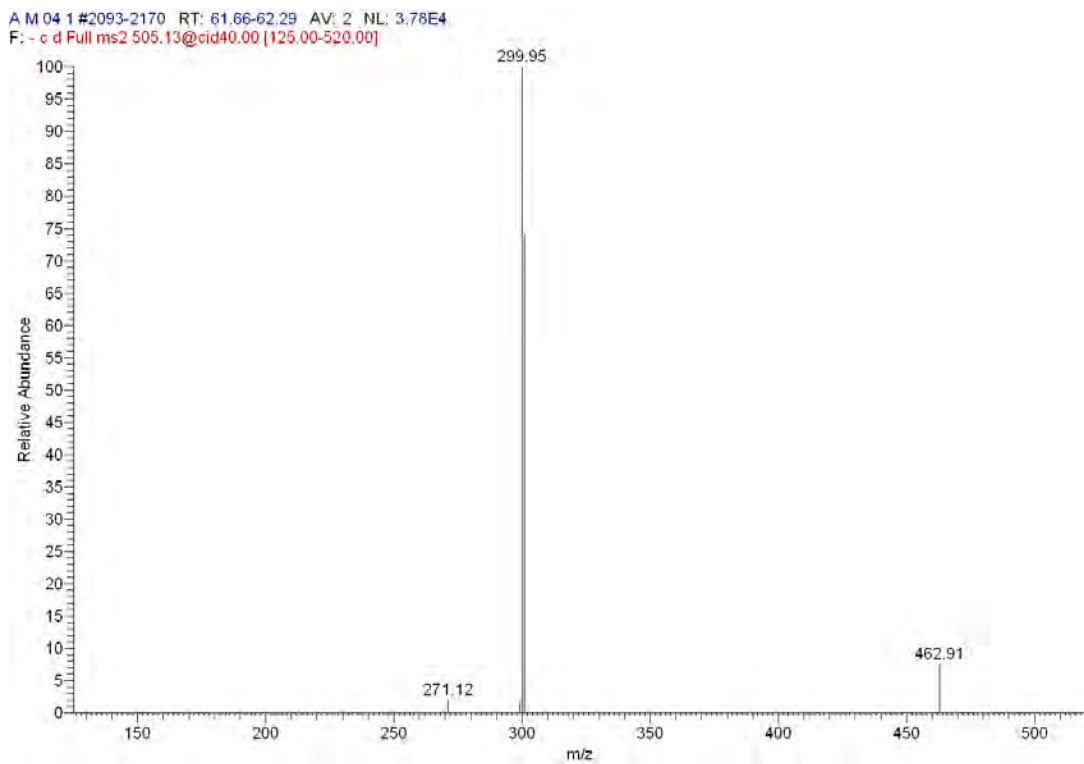


Abbildung C-21: MS^2 -Spektrum von m/z 505 bei RT 61,89 min.

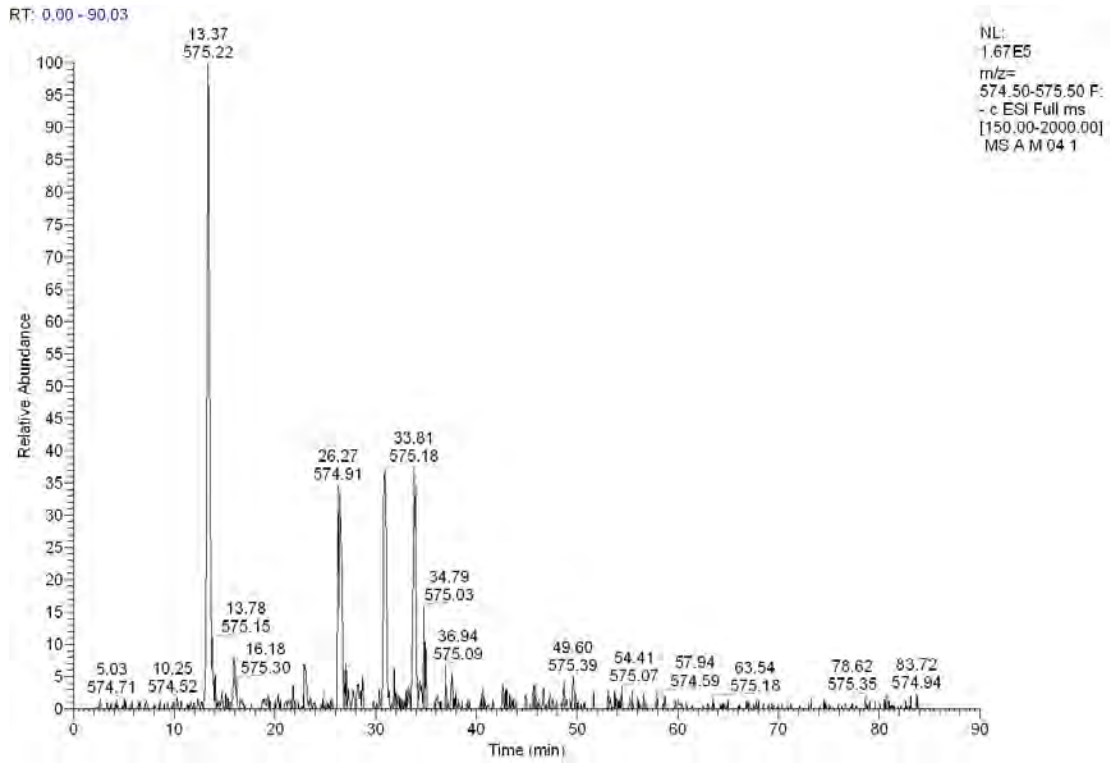


Abbildung C-22: Massenspur [M-H]⁻ 575

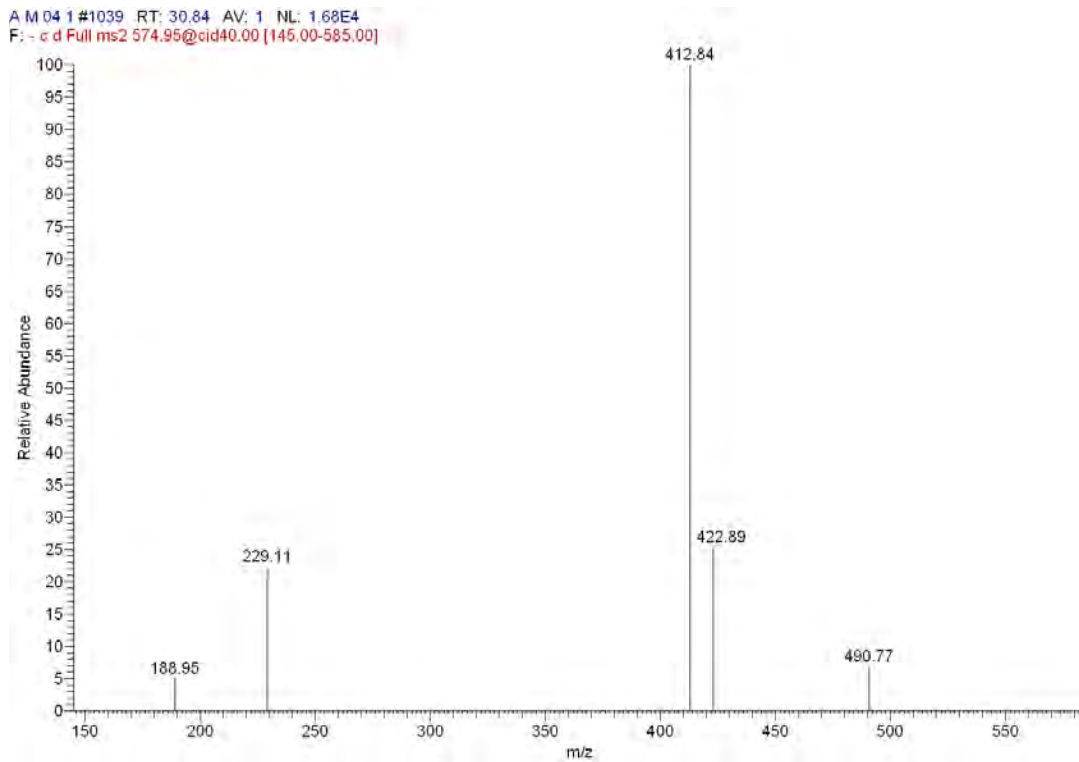


Abbildung C-23: MS²-Spektrum von m/z 575 bei RT 13,37 min.

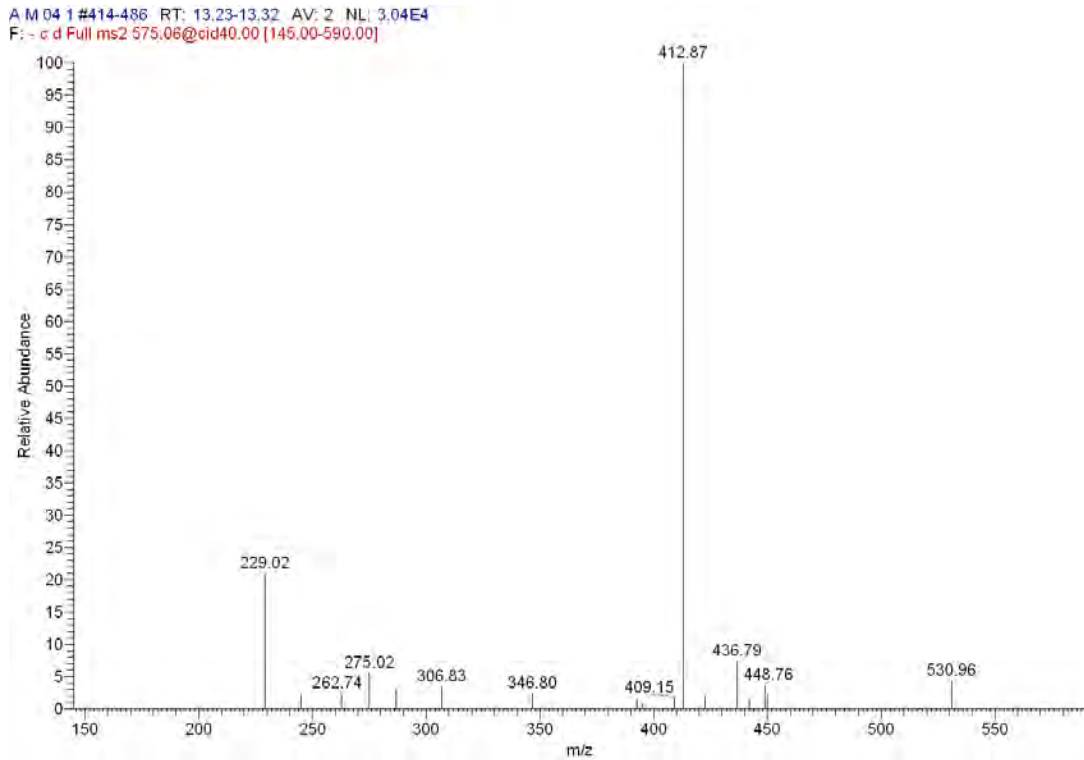


Abbildung C-24: MS²-Spektrum von m/z 575 bei RT 30,89 min.

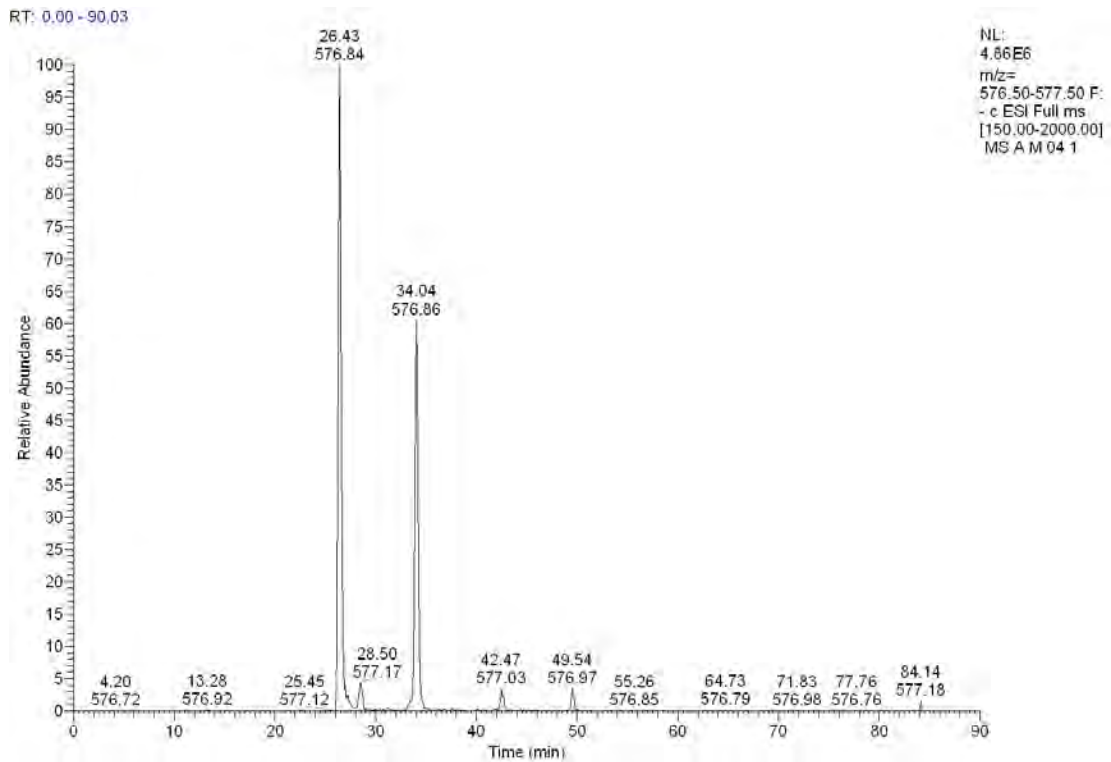


Abbildung C-25: Massenspur [M-H]⁻ 577

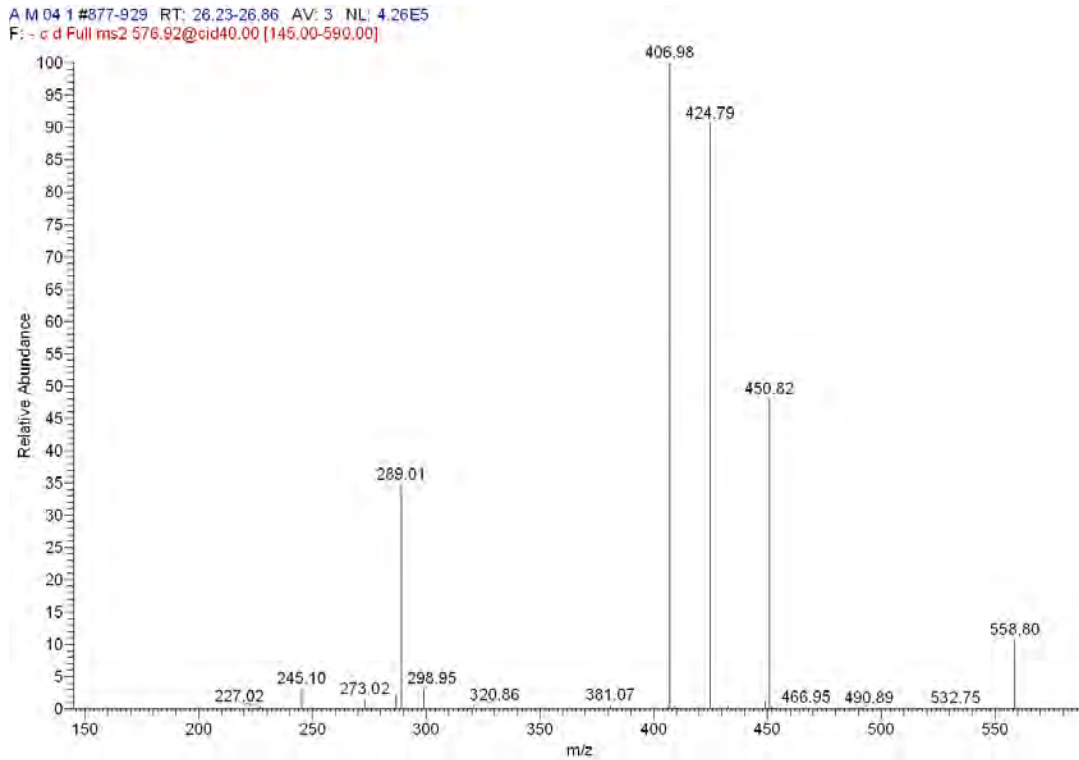


Abbildung C-26: MS^2 -Spektrum von m/z 577 bei RT 26,43 min.

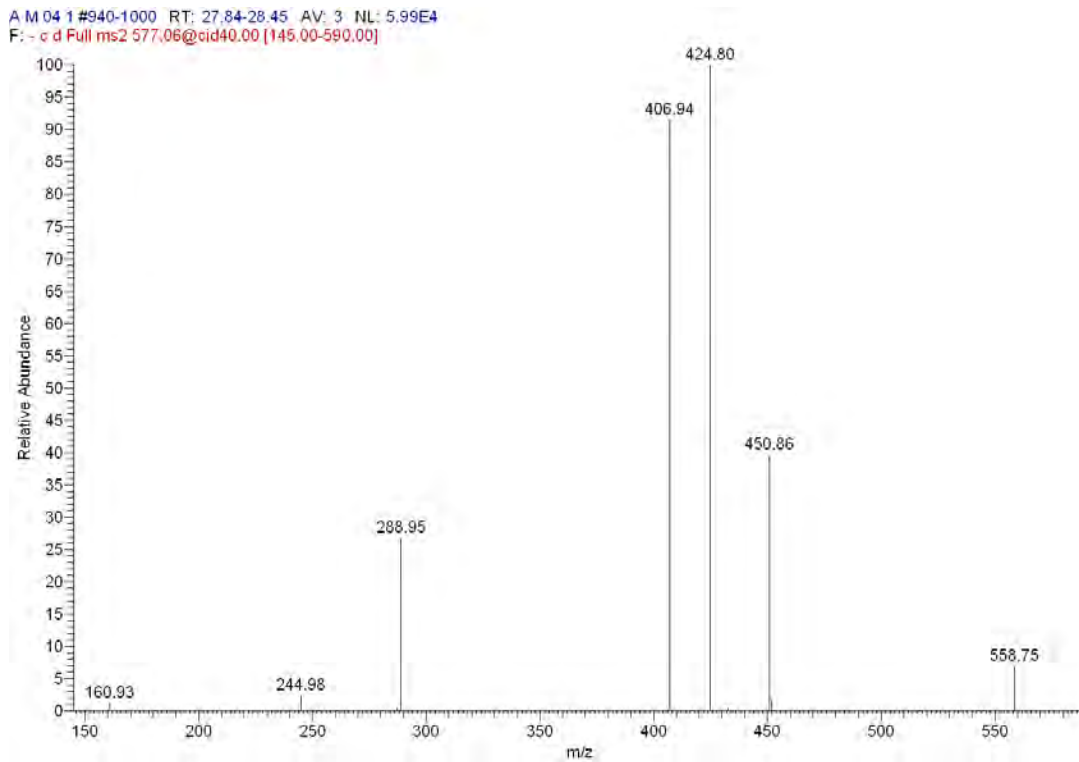


Abbildung C-27: MS^2 -Spektrum von m/z 575 bei RT 28,50 min.

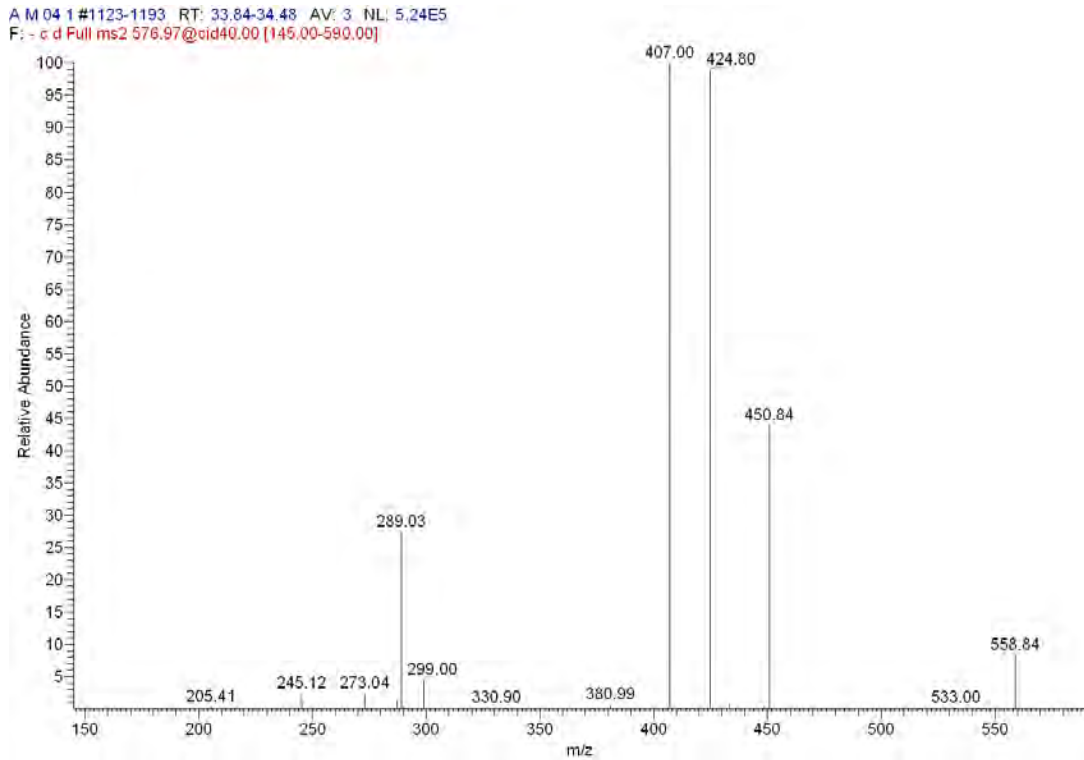


Abbildung C-28: MS²-Spektrum von m/z 577 bei RT 34,04 min.

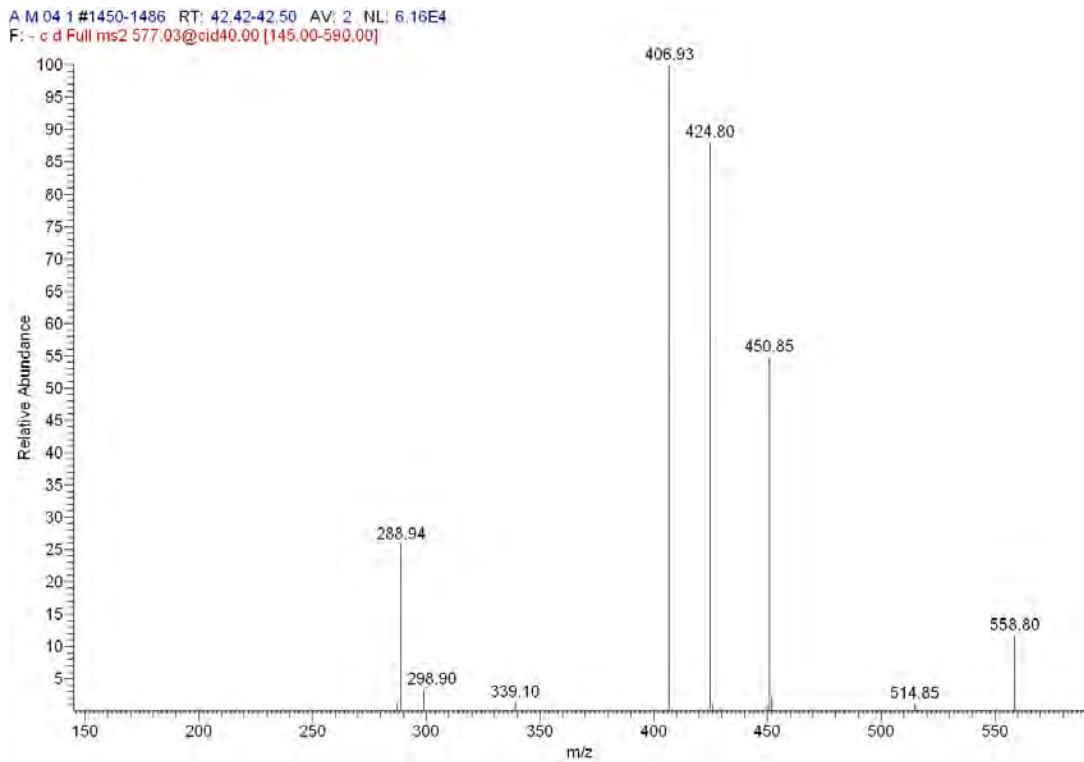


Abbildung C-29: MS²-Spektrum von m/z 577 bei RT 42,47 min.

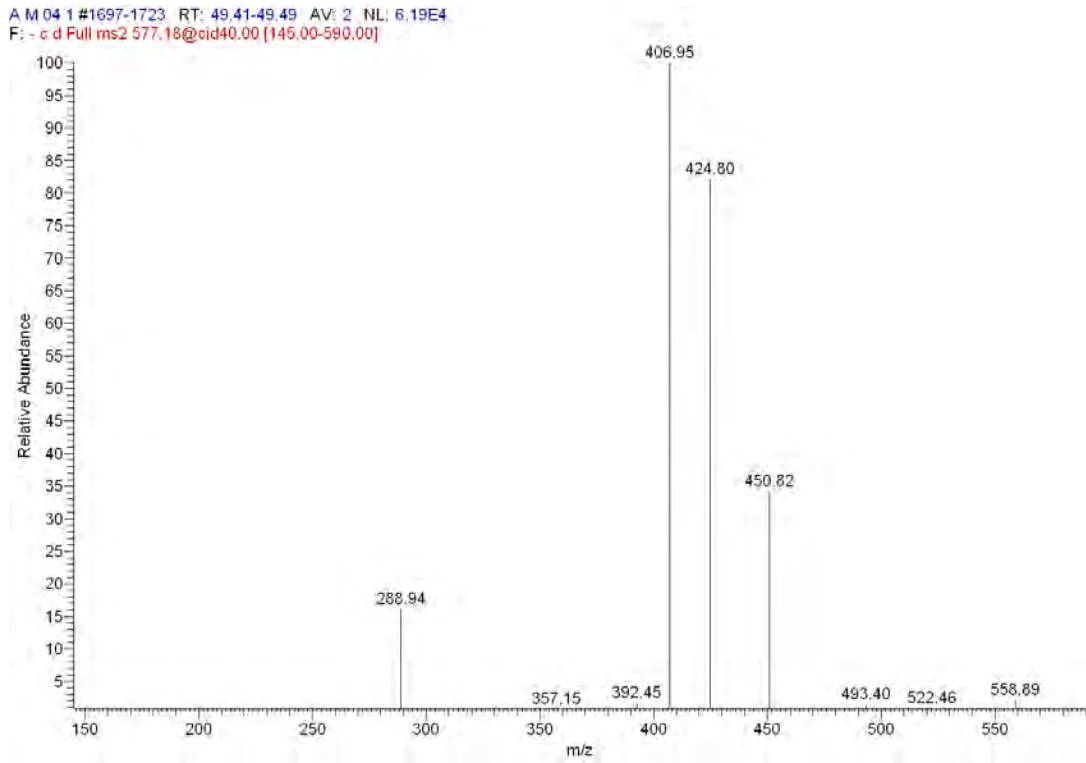


Abbildung C-30: MS²-Spektrum von m/z 577 bei RT 49,54 min.

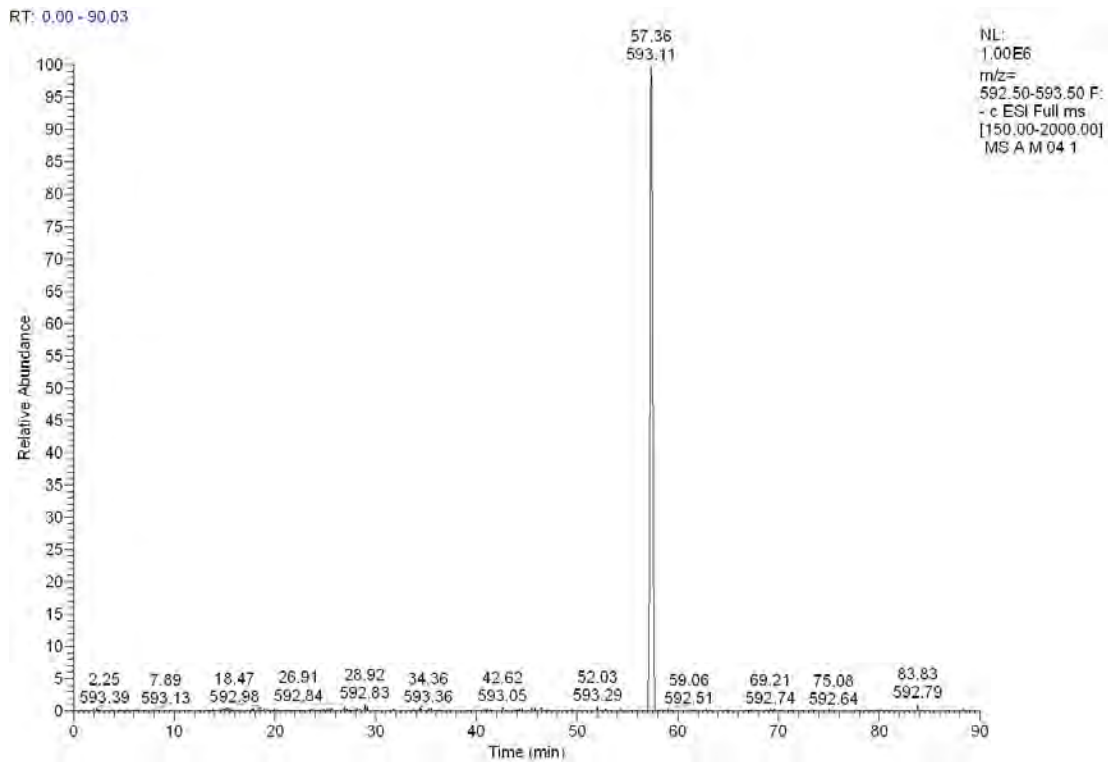


Abbildung C-31: Massenspur [M-H]⁻ 593

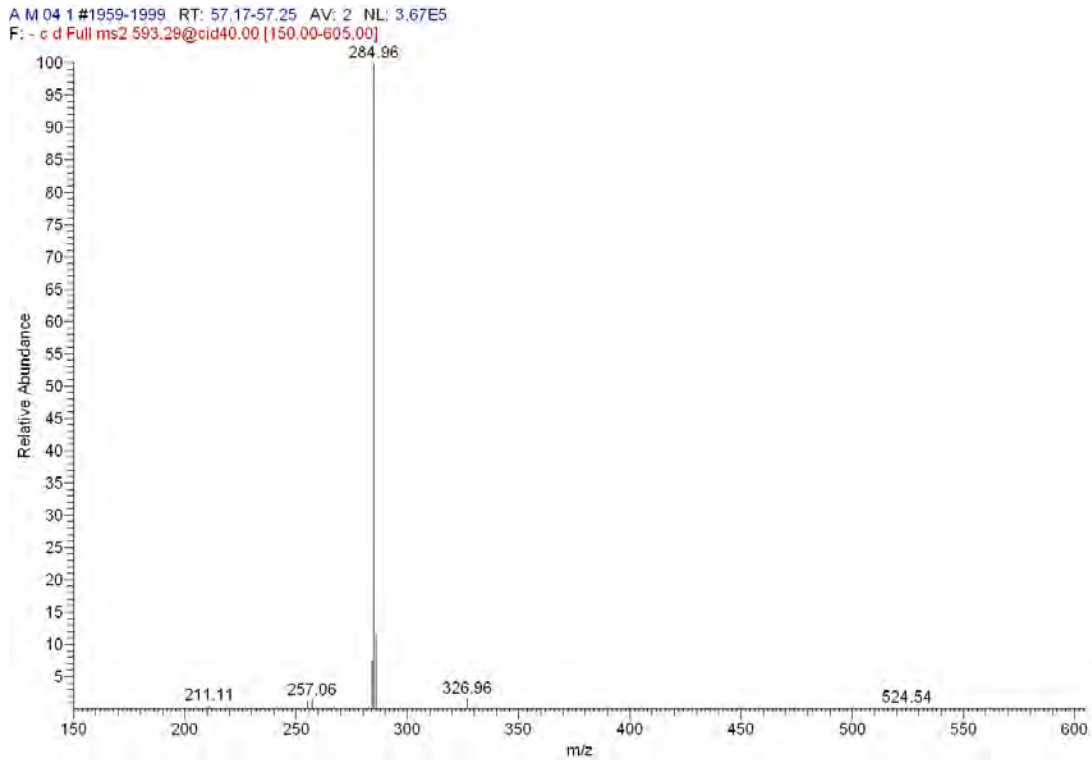


Abbildung C-32: MS^2 -Spektrum von m/z 593 bei RT 57,36 min.

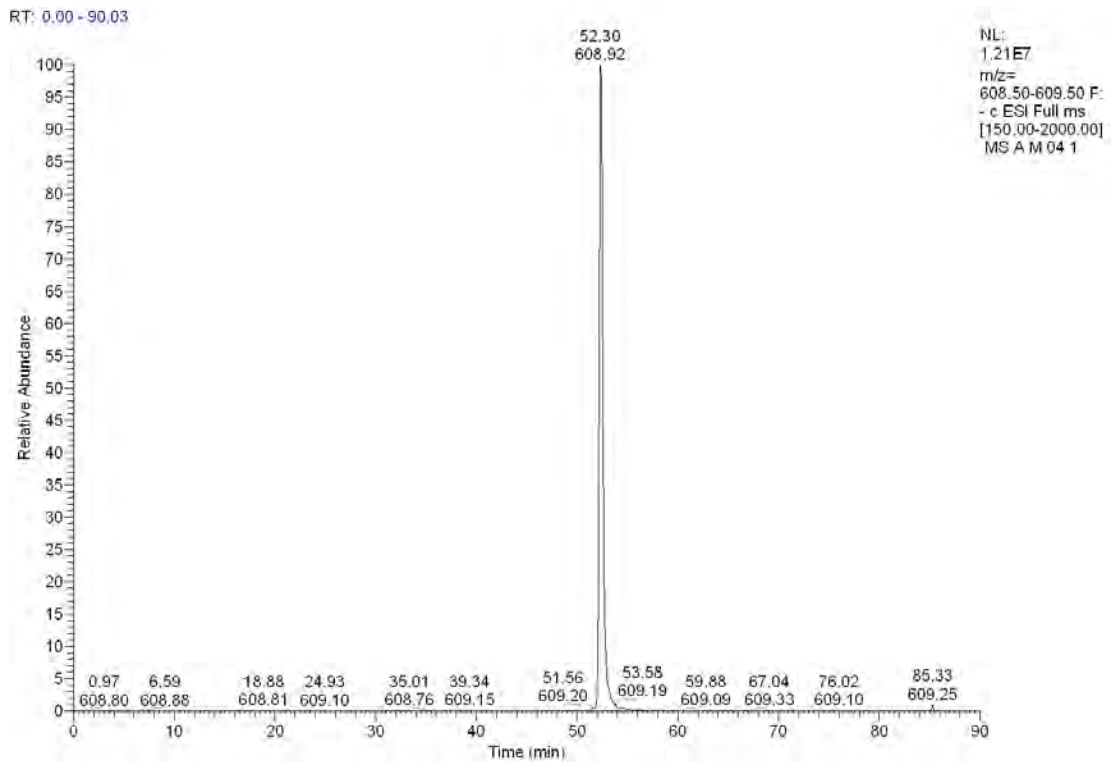


Abbildung C-33: Massenspur $[M-H]^-$ 609

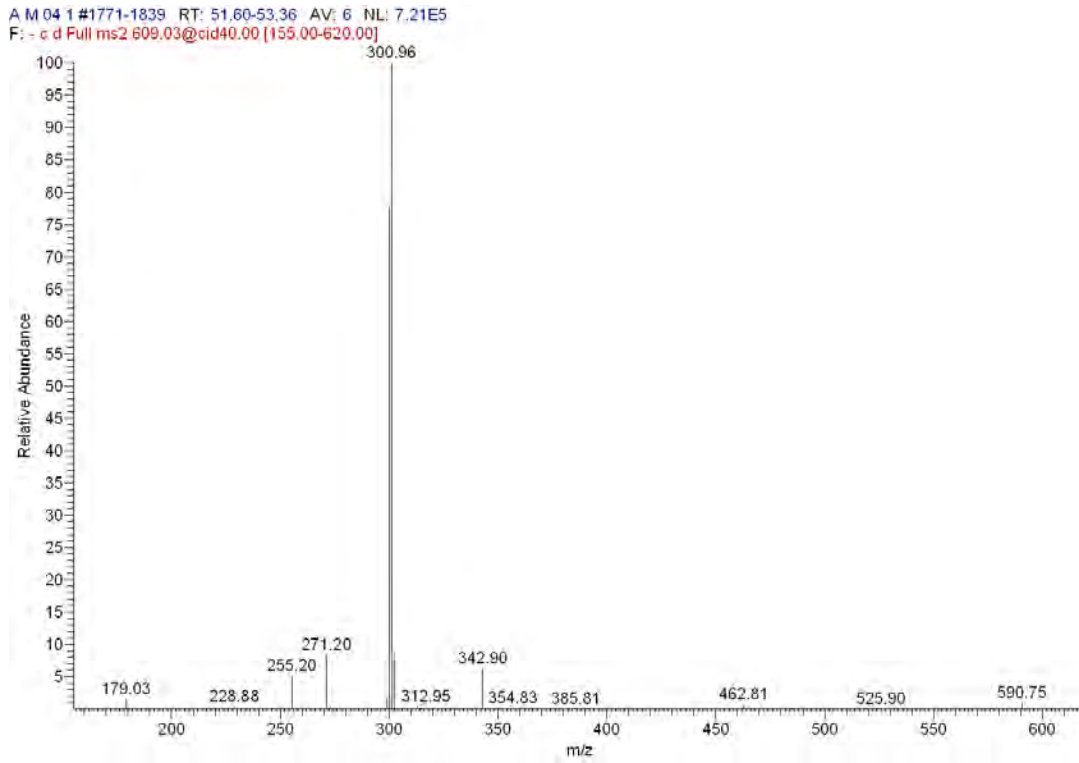


Abbildung C-34: MS²-Spektrum von m/z 609 bei RT 52,30 min.

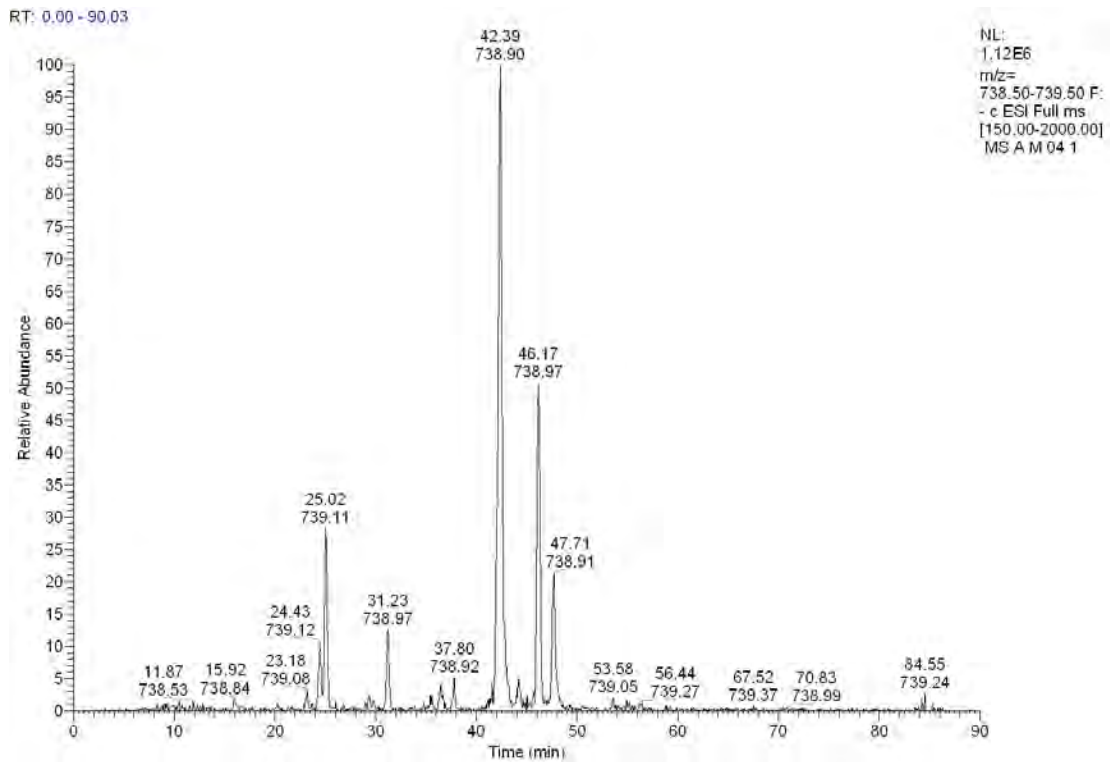


Abbildung C-35: Massenspur [M-H]⁻ 739

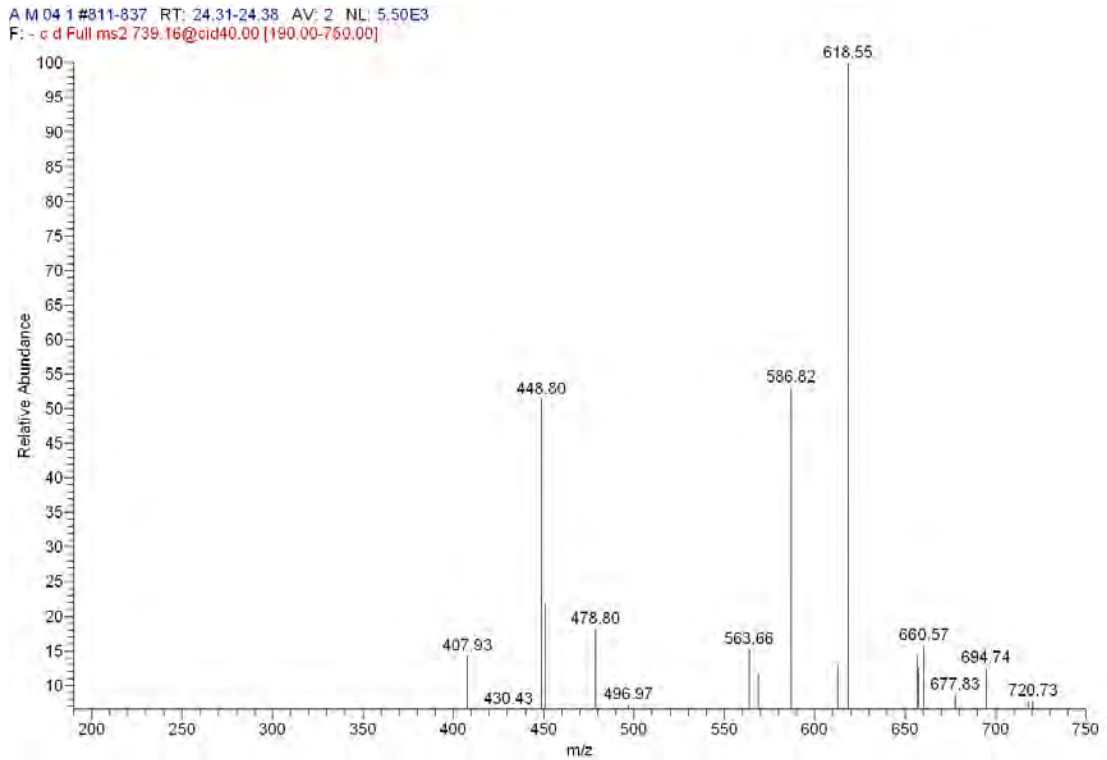


Abbildung C-36: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 24,43 min.

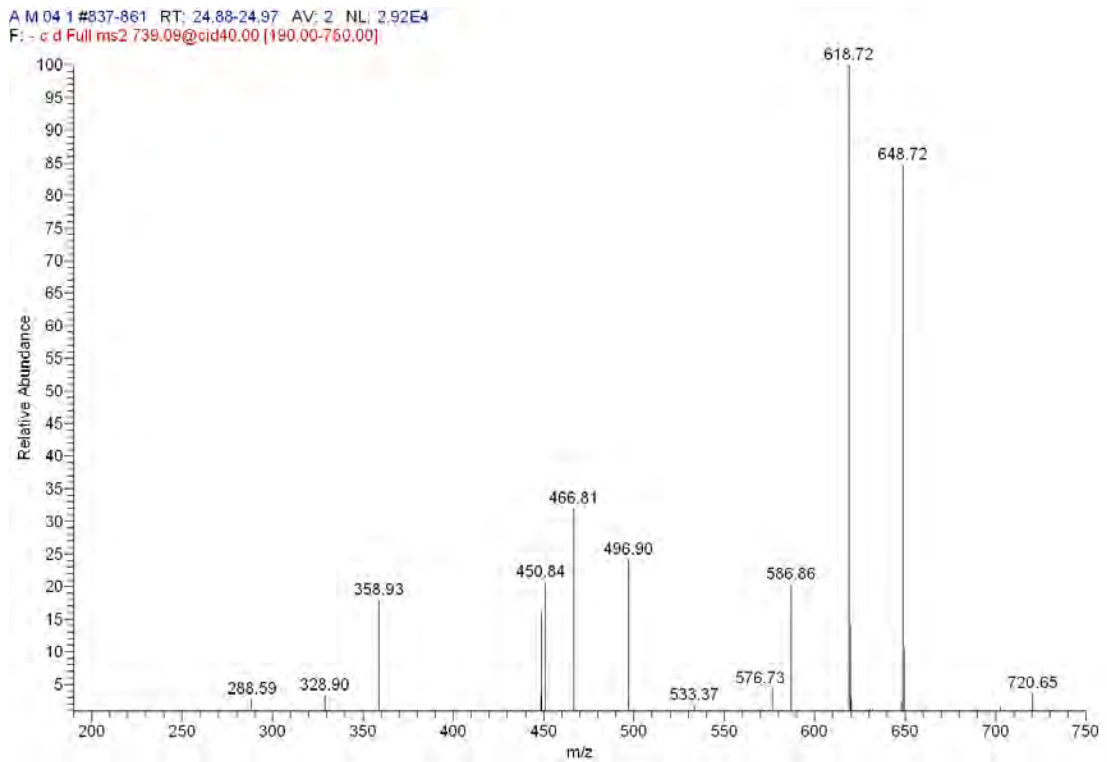


Abbildung C-37: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 25,02 min.

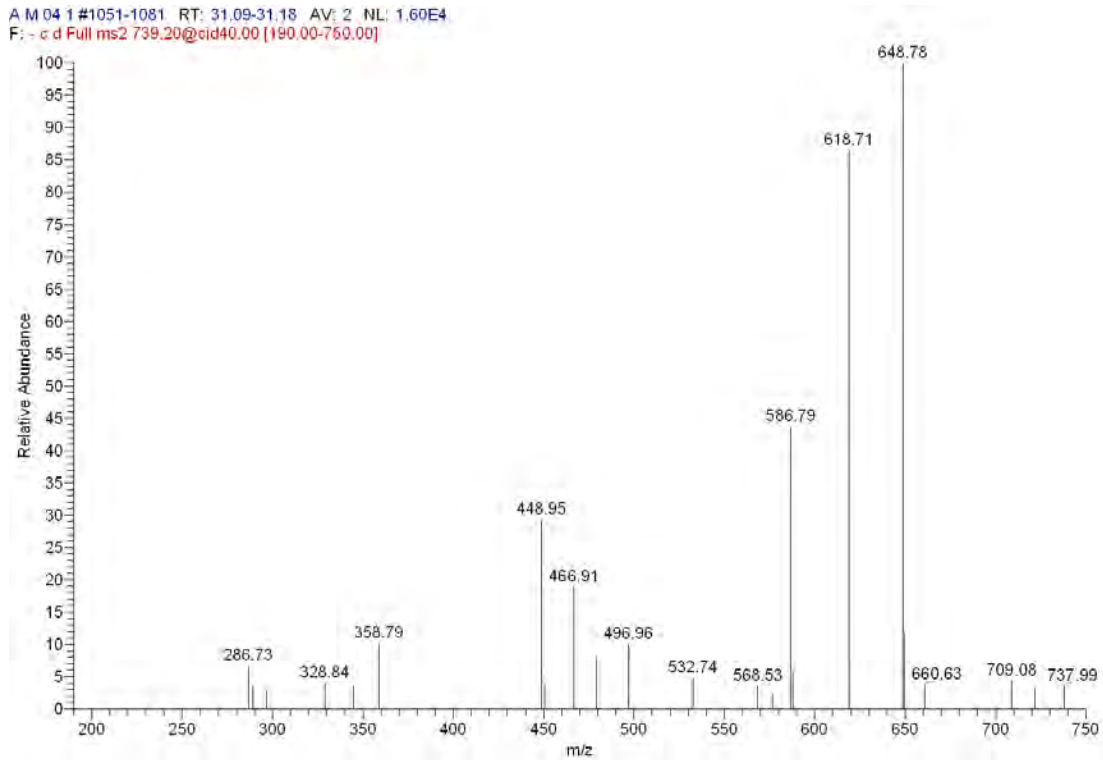


Abbildung C-38: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 31,23 min.

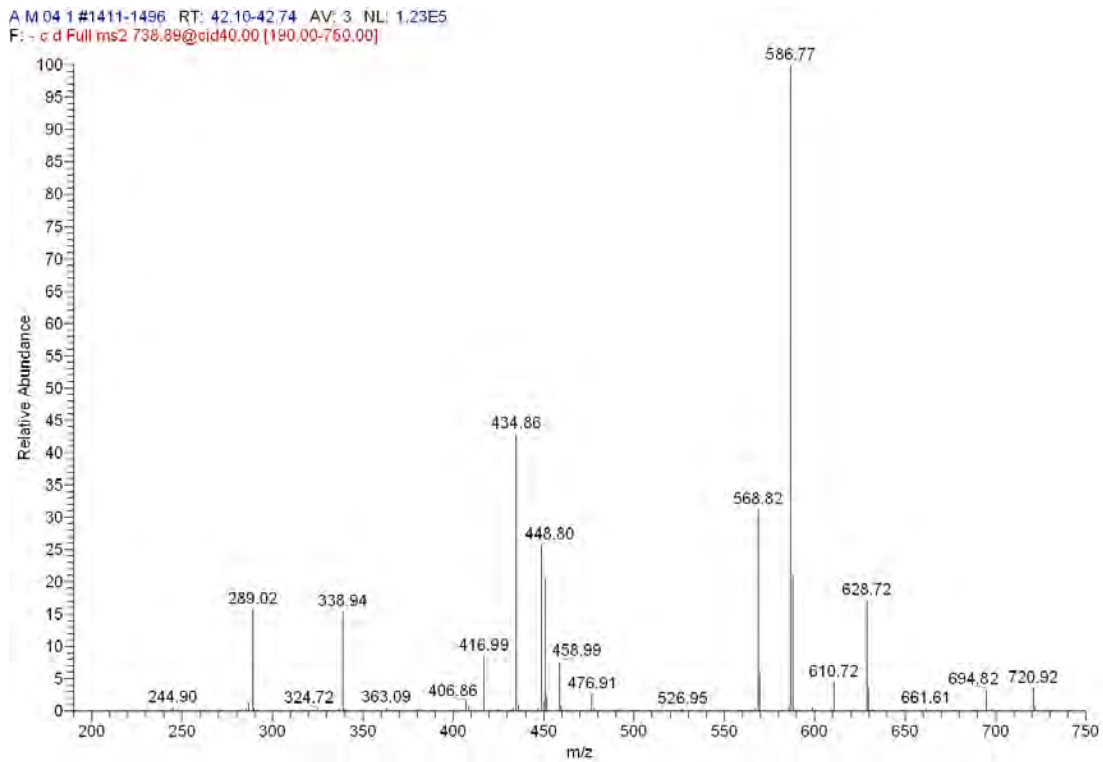


Abbildung C-39: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 42,39 min.

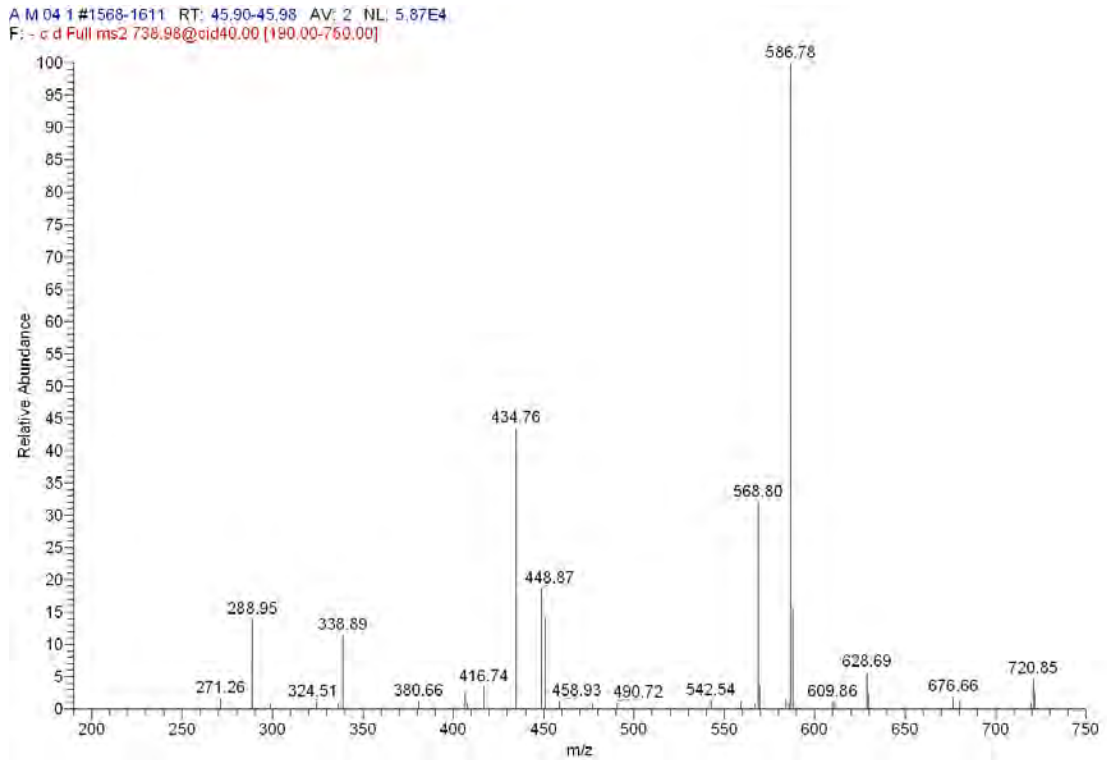


Abbildung C-40: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 46,17 min.

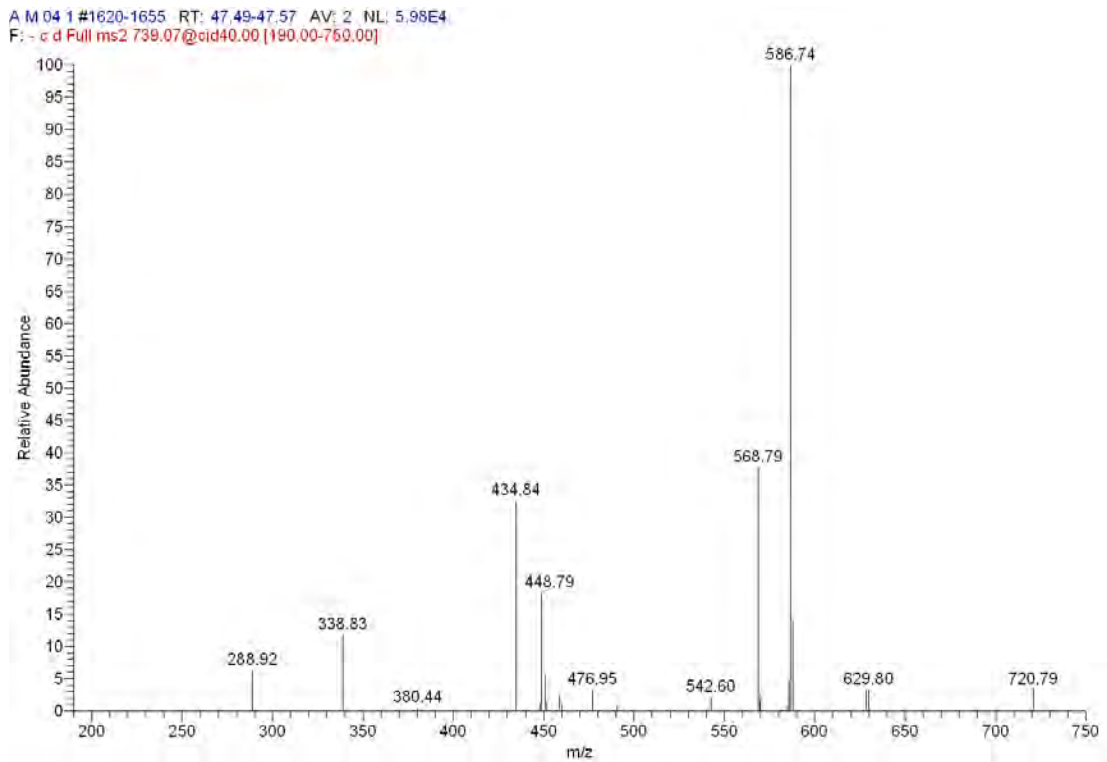


Abbildung C-41: MS²-Spektrum von m/z 739 bei RT 47,71 min.

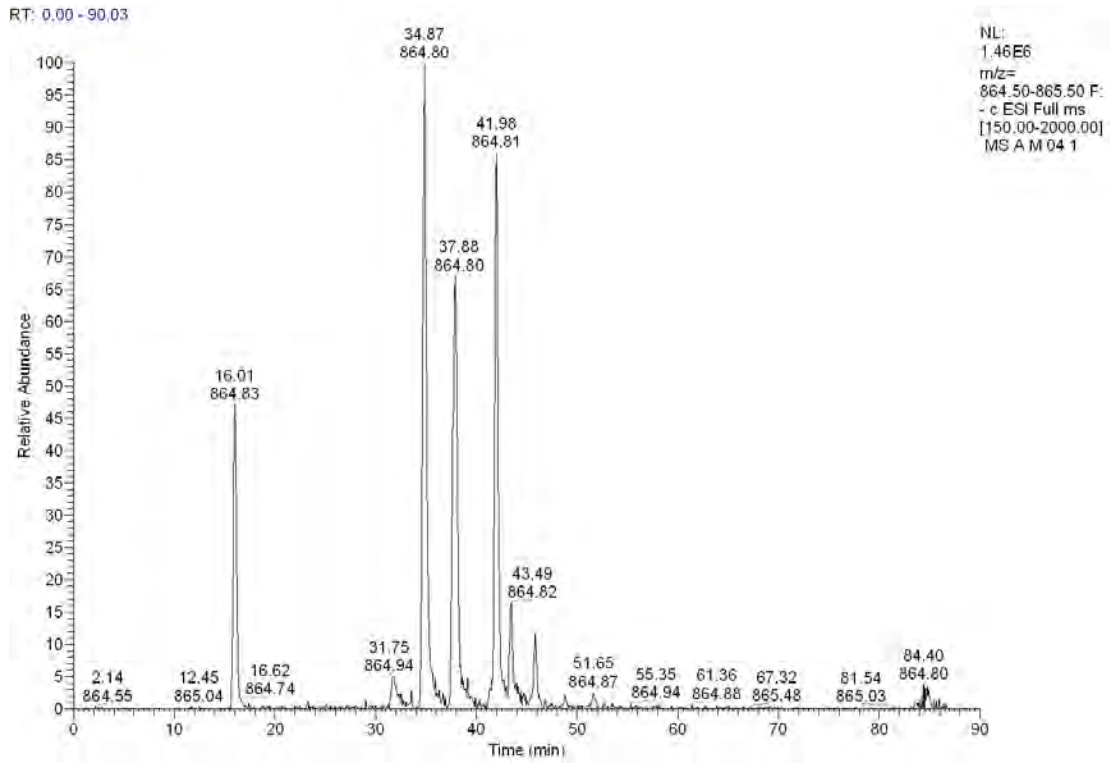


Abbildung C-42: Massenspur [M-H]⁻ 865

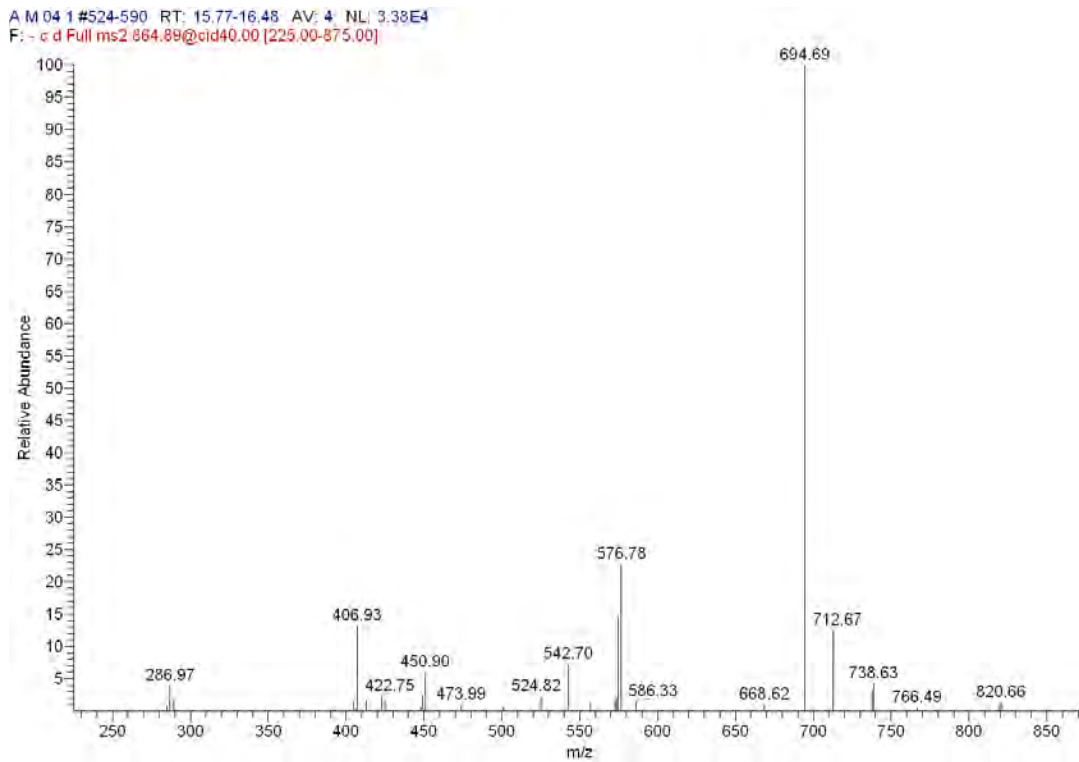


Abbildung C-43: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 16,01 min.

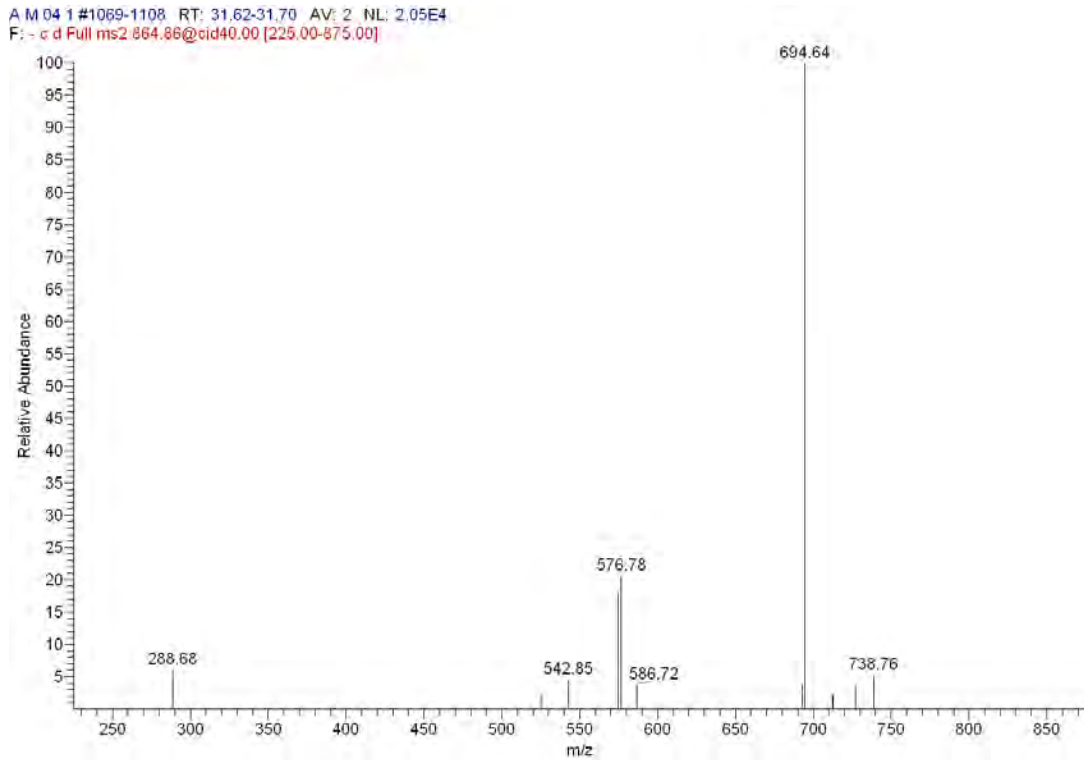


Abbildung C-44: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 31,75 min.

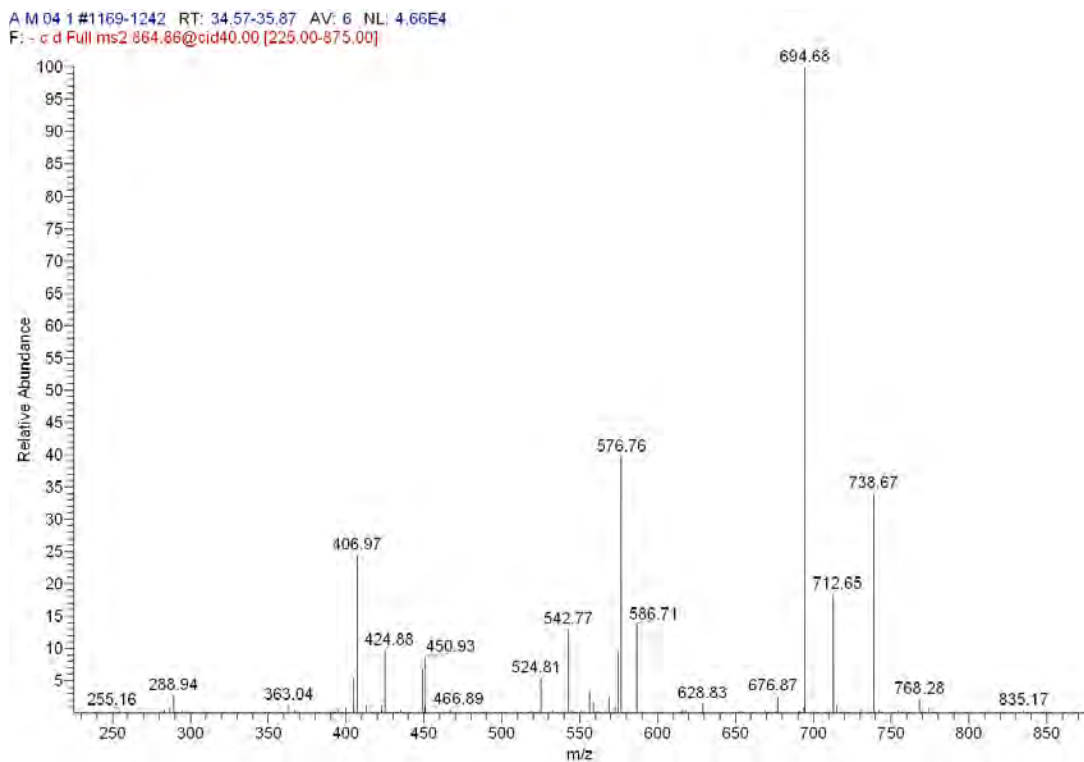


Abbildung C-45: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 34,87 min.

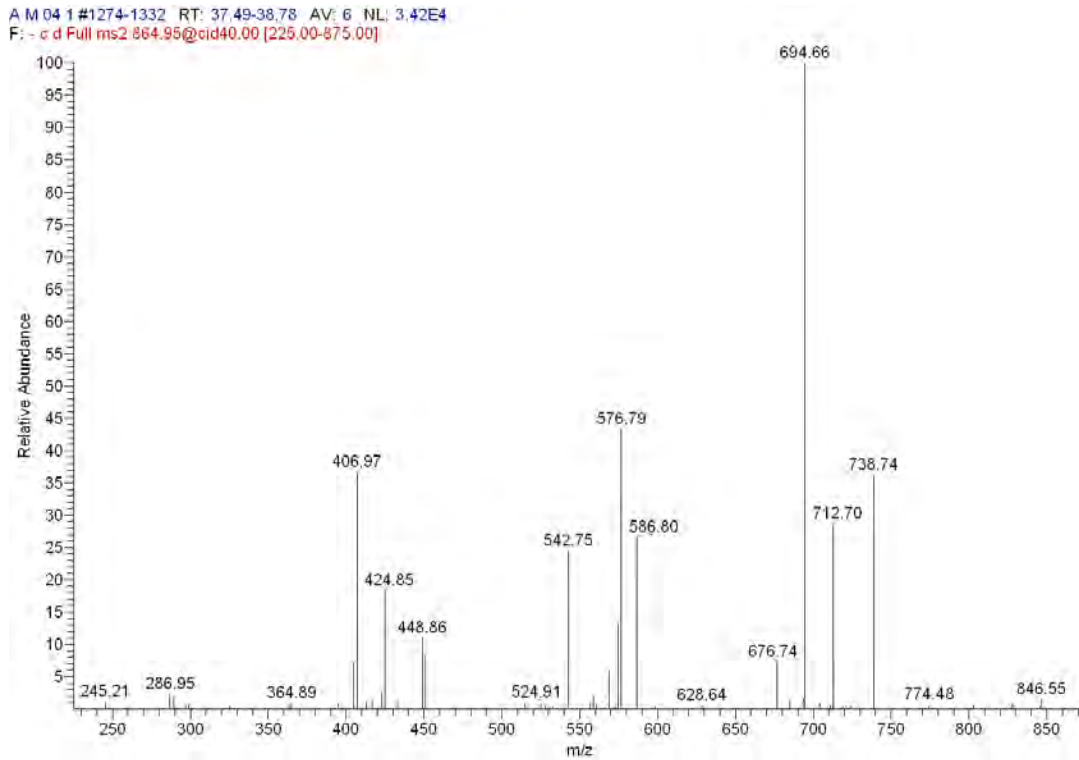


Abbildung C-46: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 37,88 min.

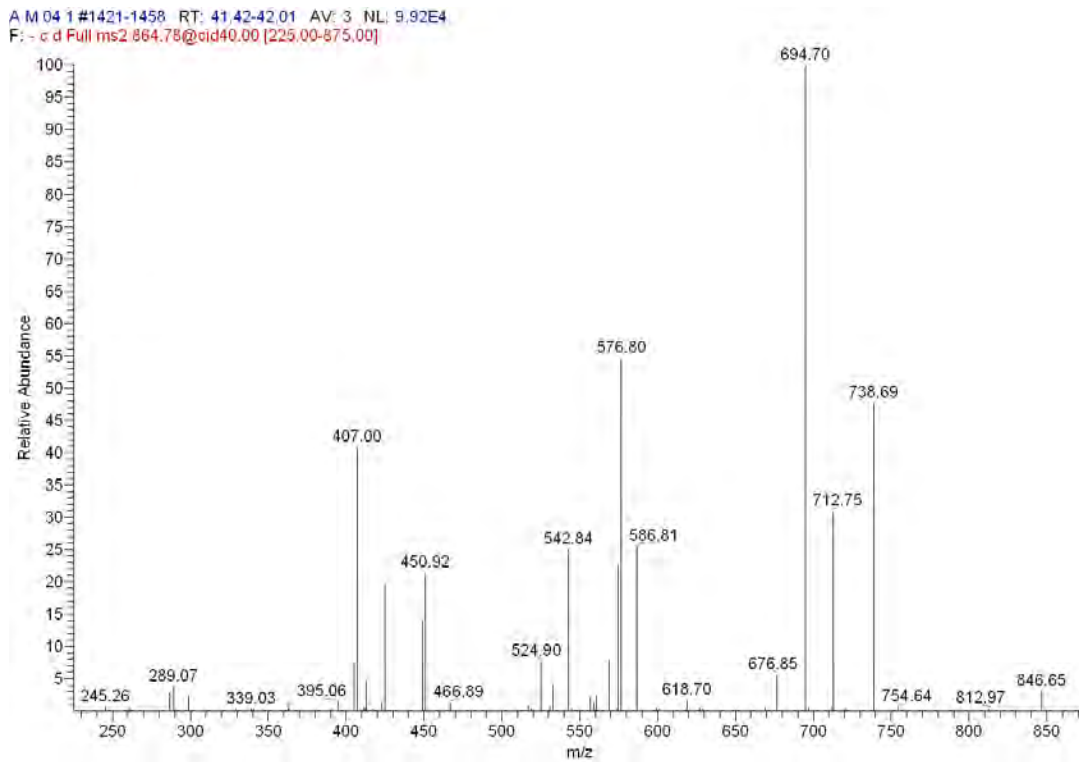


Abbildung C-47: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 41,98 min.

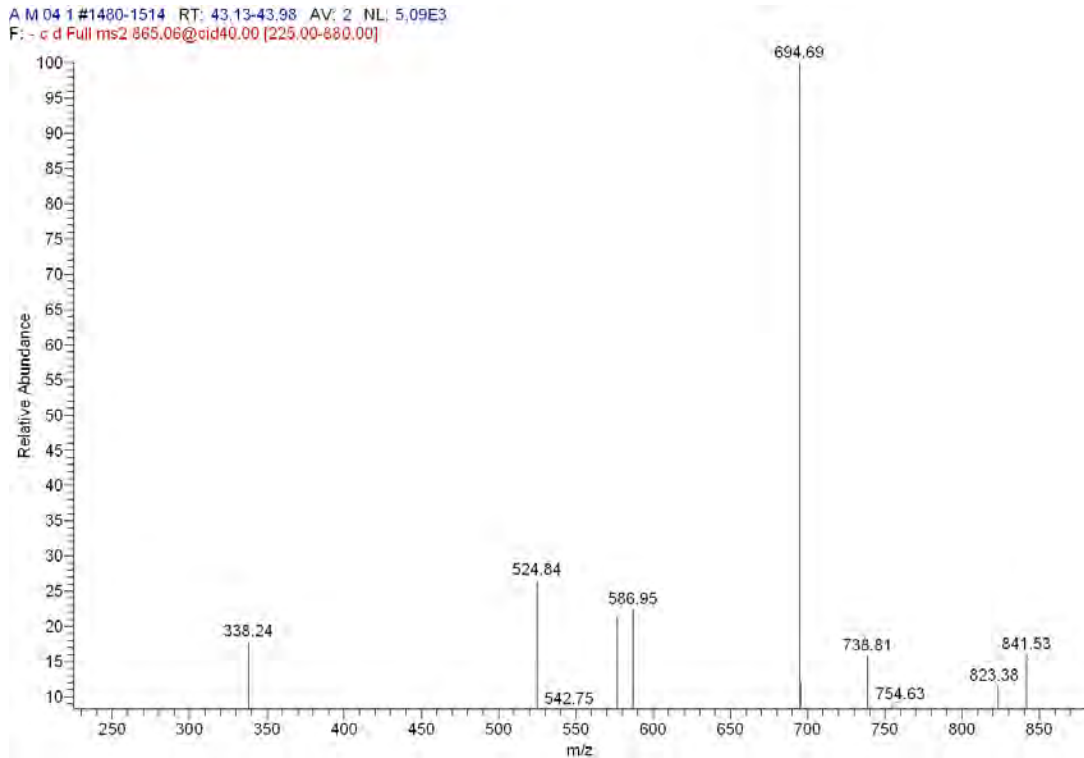


Abbildung C-48: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 43,49 min.

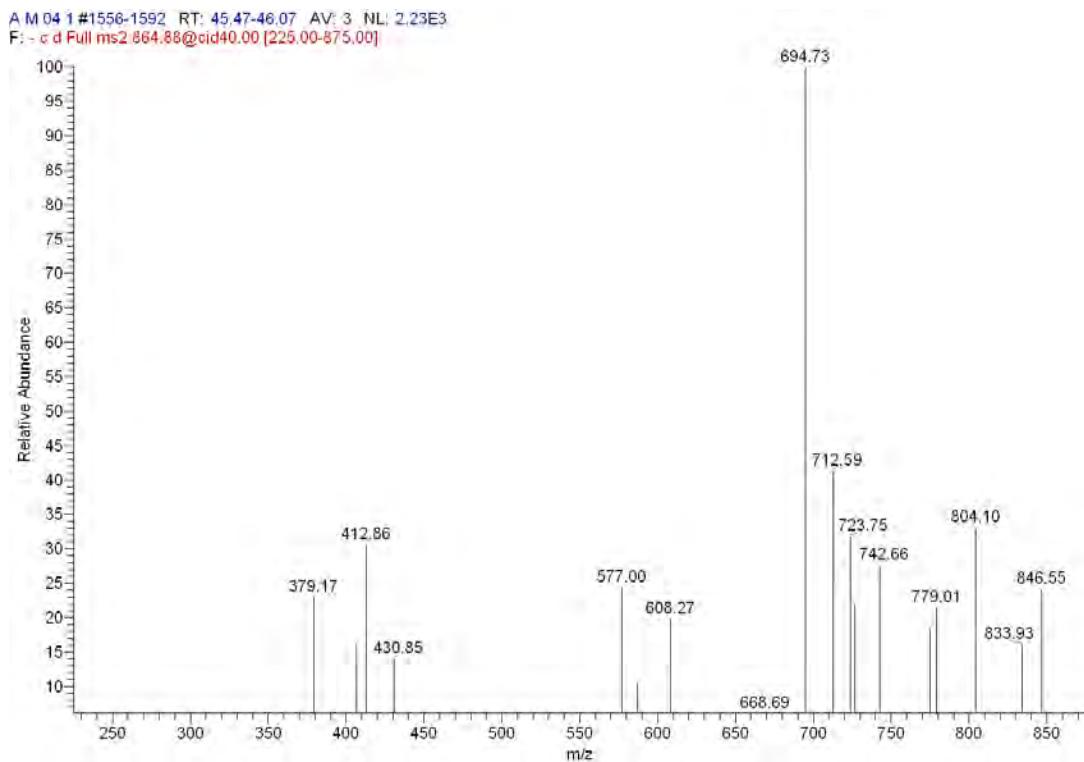


Abbildung C-49: MS²-Spektrum von m/z 865 bei RT 45,81 min.

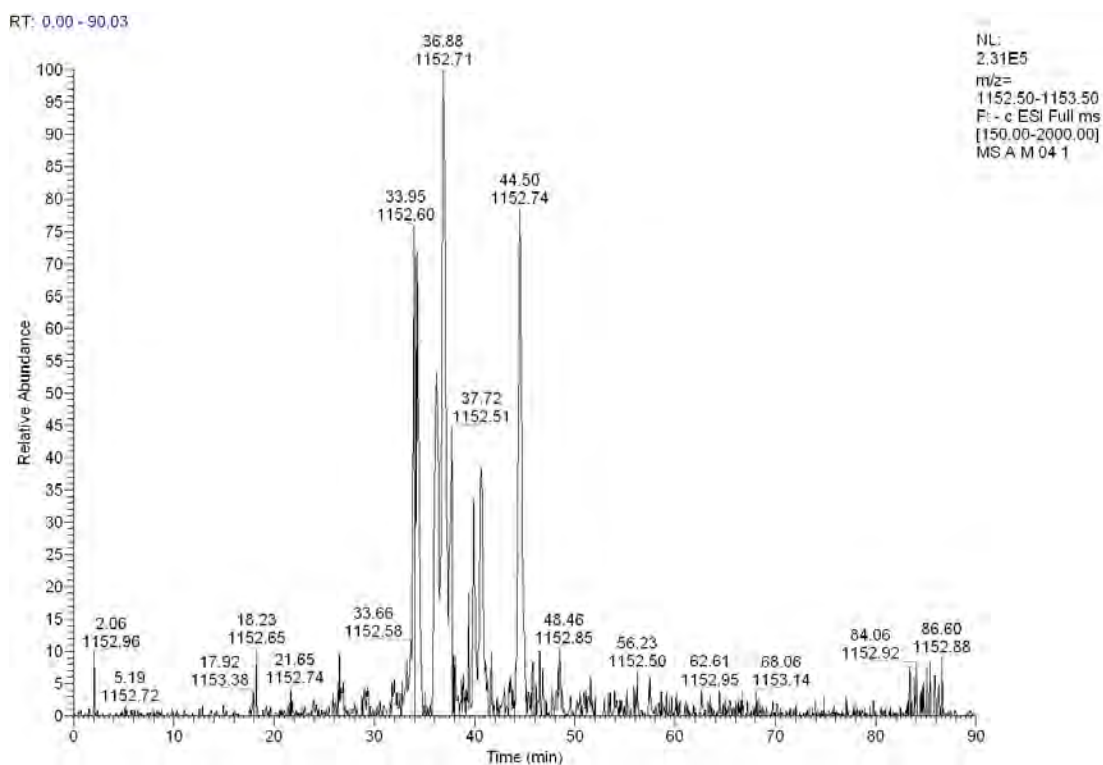


Abbildung C-50: Massenspur [M-H]⁻ 1153

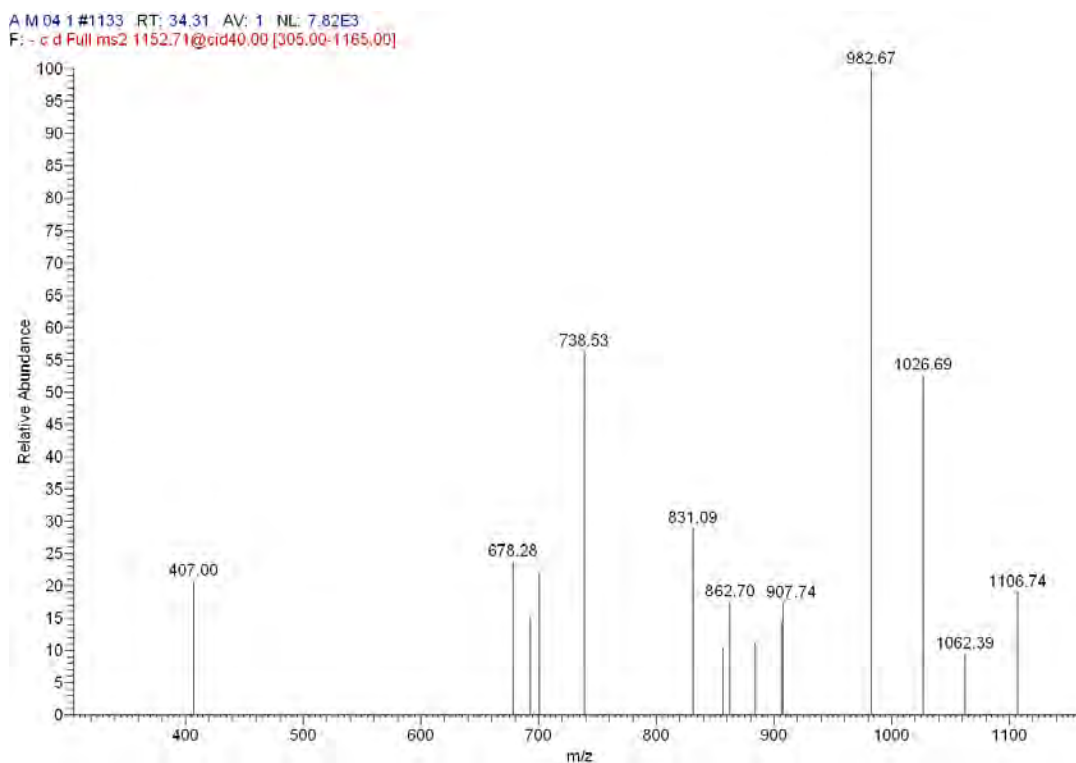


Abbildung C-51: MS²-Spektrum von m/z 1153 bei RT 33,95 min.

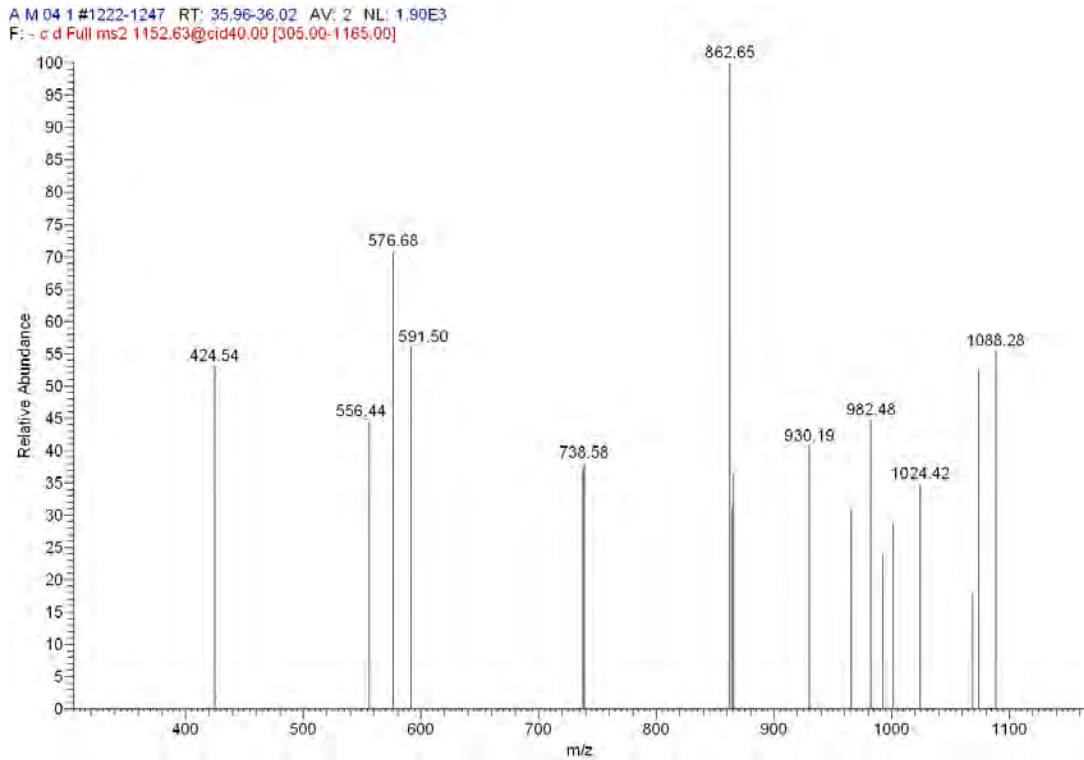


Abbildung C-52: MS²-Spektrum von m/z 1153 bei RT 36,21 min.

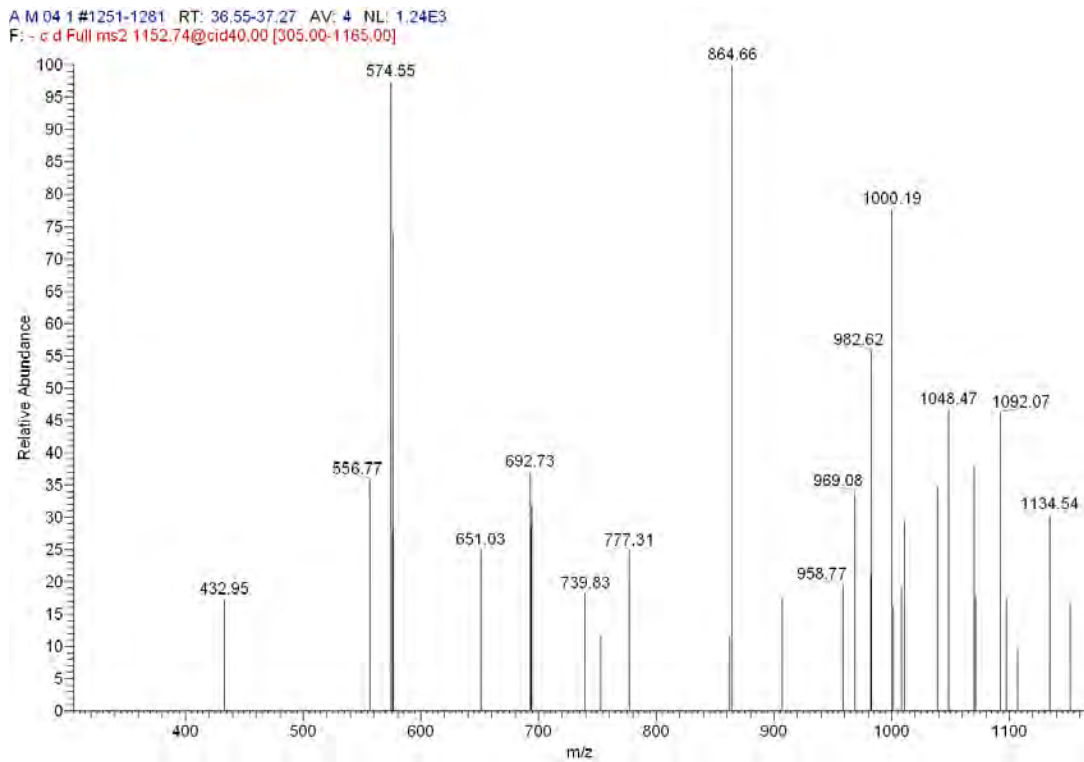


Abbildung C-53: MS²-Spektrum von m/z 1153 bei RT 36,88 min.

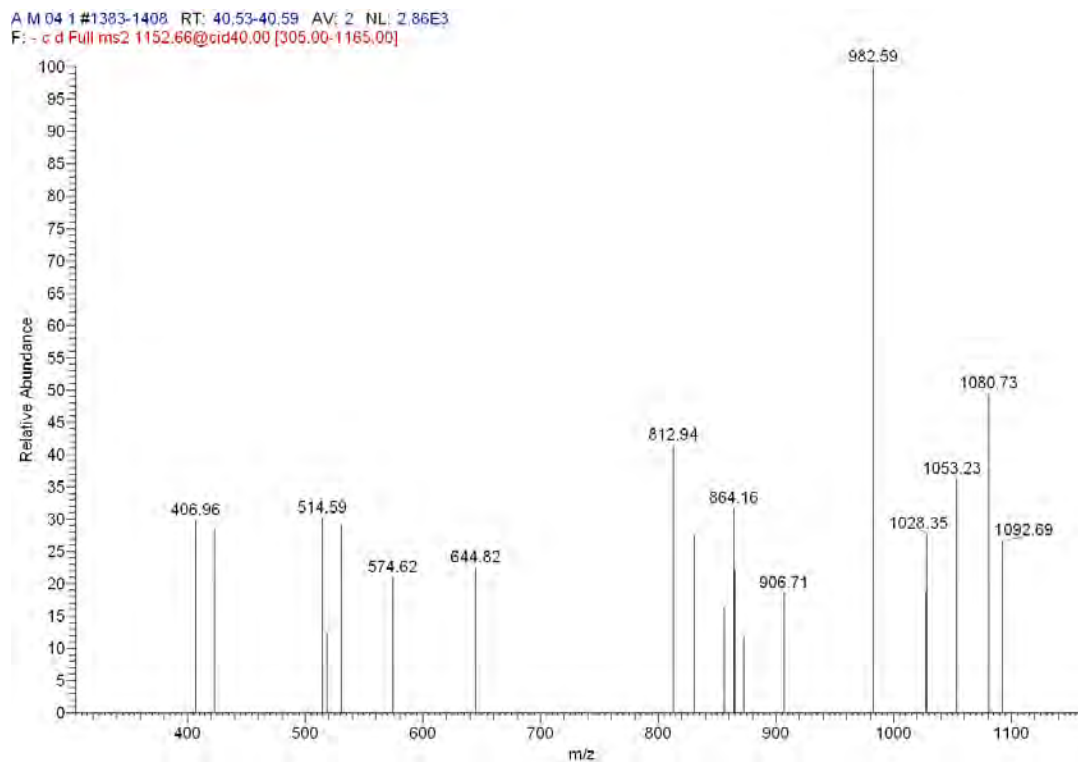


Abbildung C-54: MS²-Spektrum von m/z 1153 bei RT 40,61 min.

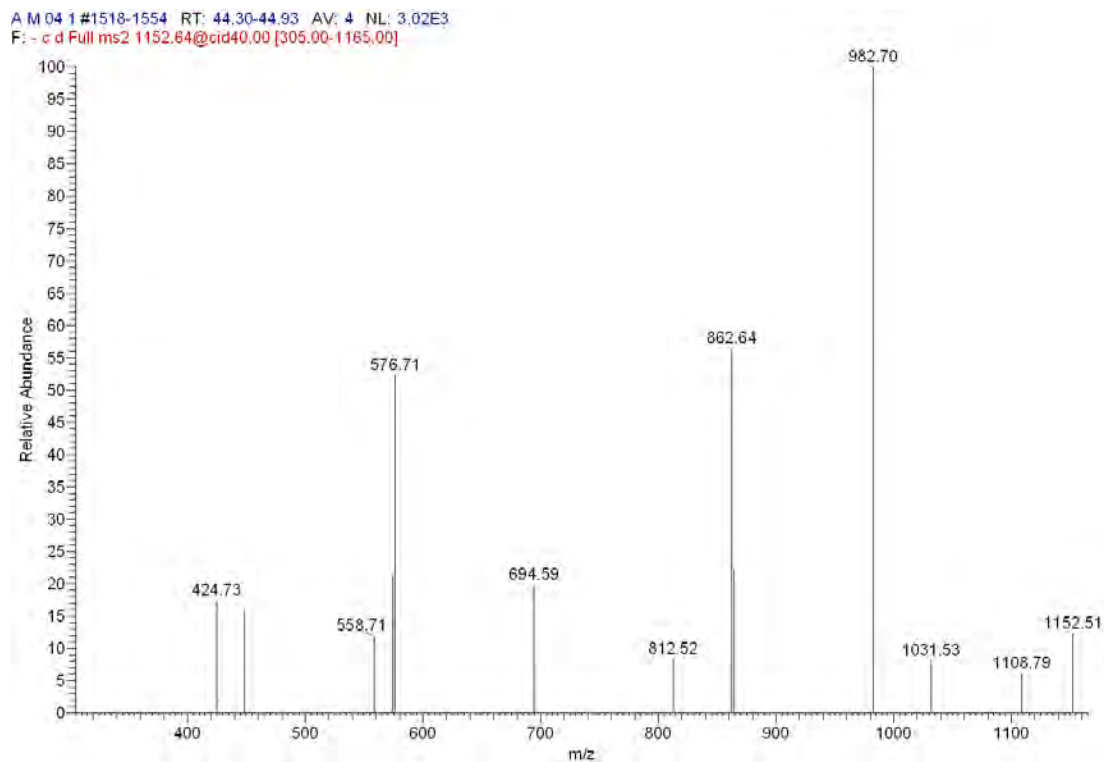


Abbildung C-55: MS²-Spektrum von m/z 1153 bei RT 44,50 min.

Anhang D - Quantifizierung

Aprikosenrohware

Die Tabellen D-1 bis D-5 zeigen einen Überblick über die in den jeweiligen Aprikosenrohwaren quantifizierten phenolischen Substanzen. Dabei wurden die Ergebnisse der „manuellen“ Extraktion der beschleunigten Lösungsmittelextraktion gegenüber gestellt.

Tabelle D-1 Quantifizierte phenolische Analyten in Canino 04 und Canino 05

RT (min)	Substanz	Canino 04				Canino 05			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
13,37	Fla-Dimer	0,78	0,02	1,67	0,23	0,80	0,15	1,71	0,05
15,00	3-CQA	2,44	0,33	2,33	0,78	1,79	0,61	1,47	0,22
16,01	Fla-Trimer	1,03	0,32	1,39	0,05	0,57	0,02	1,31	0,07
18,23	3-CQA	46,12	7,99	34,09	2,03	36,41	6,64	63,00	0,67
20,80	3-pCoQA	0,20	0,05	0,11	0,05	0,12	0,06	0,11	0,20
21,38	4-CQA	0,30	0,06	0,22	0,27	0,27	0,17	0,02	0,04
23,65	3-pCoQA	1,79	0,33	1,79	0,09	1,57	0,57	2,88	0,16
24,28	3-FQA	0,62	0,12	0,28	0,09	0,41	0,18	0,48	0,07
25,53	Catechin	17,23	6,66	5,11	0,32	12,23	7,85	20,38	1,15
26,12	3-FQA	2,50	0,68	1,46	0,14	1,77	0,63	3,86	0,13
26,91	4-CQA	8,72	0,87	8,78	0,88	7,86	1,69	11,65	1,17
28,92	5-CQA	17,43	1,97	15,77	1,37	15,51	3,18	23,45	1,64
31,75	Epicatechin	16,48	6,17	3,55	0,43	11,49	7,23	20,17	1,37
34,04	Fla-Dimer	13,51	6,29	1,25	0,02	8,47	6,29	12,99	1,72
52,30	Q-rutinosid	28,03	5,39	23,22	1,17	25,01	7,10	35,15	1,82
54,56	Q-hex	1,42	0,16	2,73	0,15	1,63	0,29	2,80	0,18
57,36	K-rutinosid	2,15	0,26	3,26	0,15	2,09	0,44	3,61	0,34
61,89	Q-acetylhex	1,04	0,13	1,95	0,10	1,02	0,15	2,24	0,15

Tabelle D-2 Quantifizierte phenolische Analyten in Golden Bulida 04 und Golden Bulida 05

RT (min)	Substanz	Golden Bulida 04				Golden Bulida 05			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
13,37	Fla-Dimer	0,67	0,01	1,58	0,14	0,71	0,05	1,35	0,04
15,00	3-CQA	0,73	0,12	0,41	0,22	0,21	0,09	0,12	0,02
16,01	Fla-Trimer	0,62	0,11	1,56	0,17	0,55	0,02	1,29	0,07

Anhang D-Quantifizierung

RT (min)	Substanz	Golden Bulida 04				Golden Bulida 05			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
18,23	3-CQA	19,61	2,29	21,09	1,10	20,89	2,58	22,64	0,77
20,80	3-pCoQA					0,12	0,14		
21,38	4-CQA					0,14			
23,65	3-pCoQA	1,23	0,18	1,92	0,09	1,25	0,30	1,78	0,15
24,28	3-FQA	0,23	0,03	0,10	0,07	0,14	0,01		
25,53	Catechin	1,87	0,28	2,30	0,27	1,75	0,20	2,42	0,07
26,12	3-FQA	0,94	0,07	1,51	0,07	1,07	0,29	1,37	0,12
26,91	4-CQA	3,38	0,30	2,87	0,23	3,12	0,33	2,96	0,11
28,92	5-CQA	48,08	4,74	46,97	3,09	46,65	3,84	48,53	1,01
52,30	Q-rutinosid	26,51	5,99	26,09	0,90	26,51	1,08	26,64	0,65
54,56	Q-hex	1,84	0,30	2,80	0,12	1,77	0,13	2,84	0,15
57,36	K-rutinosid	1,45	0,17	2,79	0,22	1,51	0,09	2,65	0,19
61,89	Q-acetylhex	1,66	0,21	2,86	0,18	1,97	0,16	3,02	0,20

Tabelle D-3 Quantifizierte phenolische Analyten in Golden Bulida 06 und Golden Bulida 05 (110628)

RT (min)	Substanz	Golden Bulida 06				Golden Bulida 05 (110628)			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
13,37	Fla-Dimer	0,71	0,07	1,32	0,10	0,65	0,03	1,43	0,07
15,00	3-CQA	1,60	0,25	0,14	0,10	0,77	0,18	0,74	0,19
16,01	Fla-Trimer	0,63	0,02	1,32	0,09	0,62	0,08	1,59	0,22
18,23	3-CQA	22,96	5,91	17,76	2,15	25,63	0,89	26,43	1,10
20,80	3-pCoQA	1,20	0,42			0,11	0,02		
21,38	4-CQA	0,13	0,08						
23,65	3-pCoQA	2,83	0,82	1,77	0,27	1,50	0,05	2,15	0,10
24,28	3-FQA	0,59	0,23	0,07	0,01	0,26	0,05	0,12	0,04
25,53	Catechin	4,52	0,92	3,63	0,42	2,84	0,06	3,20	0,20
26,12	3-FQA	1,60	0,63	0,60	0,14	1,08	0,04	1,52	0,02
26,91	4-CQA	2,29	0,56	2,19	0,49	4,37	0,20	3,97	0,15
28,92	5-CQA	56,55	12,19	52,36	6,73	66,82	2,65	66,42	1,83
34,04	Fla-Dimer					0,74	0,18	4,69	1,44
52,30	Q-rutinosid	43,31	6,73	26,12	2,00	49,87	3,97	48,02	0,89
54,56	Q-hex	3,55	0,73	3,41	0,23	3,18	0,13	4,01	0,21
57,36	K-rutinosid	3,35	0,64	2,62	0,27	2,24	0,05	3,26	0,13
61,89	Q-acetylhex	3,24	0,66	3,25	0,37	2,94	0,39	4,42	0,24

Tabelle D-4 Quantifizierte phenolische Analyten in Golden Bulida 05 (geschält) und Golden Bulida 06 (geschält)

RT (min)	Substanz	Golden Bulida 05 geschält				Golden Bulida 06 geschält			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
13,37	Fla-Dimer	0,60	0,05	1,35	0,15	0,67	0,04	1,57	0,15
15,00	3-CQA	2,49	0,20	1,49	0,72	1,54	0,10	0,83	0,10
16,01	Fla-Trimer	0,55	0,03	1,45	0,11	0,57	0,05	1,31	0,06
18,23	3-CQA	21,50	2,32	15,28	3,00	9,55	1,53	22,43	2,03
20,80	3-pCoQA	0,14	0,02	0,08	0,04	0,58	0,16	0,10	0,09
21,38	4-CQA	0,15	0,08						
23,65	3-pCoQA	1,28	0,23	1,84	0,19	0,95	0,22	2,54	0,44
24,28	3-FQA	0,26	0,06	0,24	0,07	0,24	0,06	0,19	0,03
25,53	Catechin	4,07	0,26	3,76	0,51	3,63	0,02	4,92	0,16
26,12	3-FQA	0,76	0,16	0,85	0,16	0,25	0,07	0,60	0,11
26,91	4-CQA	2,50	0,37	1,90	0,39	0,89	0,05	2,38	0,28
28,92	5-CQA	9,20	1,12	7,34	1,04	2,66	0,47	5,97	0,62
31,75	Epicatechin	4,07	0,37	2,82	0,25	6,74	0,38	7,87	0,23
34,04	Fla-Dimer	1,83	0,49	1,22	0,07	2,43	0,19	3,54	0,46

Tabelle D-5 Quantifizierte phenolische Analyten in Aprikose AiF PNr.-14583

RT (min)	Substanz	Aprikose AiF PNr. - 14583			
		Manuell	Std	ASE	Std
18,23	3-CQA	0,42	0,38		
26,12	3-FQA	0,70	0,35	0,15	0,03
28,92	5-CQA			0,12	0,07
31,75	Epicatechin	0,75	0,85		
52,30	Q-rutinosid	20,09	3,77	23,16	1,81
54,56	Q-hex	2,36	0,35	1,71	0,22
57,36	K-rutinosid	2,42	0,33	1,39	0,10
61,89	Q-acetylhex	2,47	0,40	1,92	0,33

Aprikosenkonfitüre

Die Tabellen D-6 bis D-9 zeigen einen Überblick über die in den jeweiligen Aprikosenkonfitüren quantifizierten phenolischen Substanzen. Dabei wurden die Ergebnisse der „manuellen“ Extraktion der beschleunigten Lösungsmittlextraktion gegenüber gestellt.

Tabelle D-6 Quantifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren, Symphonie Extra und Schwartzau Extra

RT (min)	Substanz	Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)				Schwartzau Aprikosen-Konfitüre Extra			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
15,00	3-CQA	2,39	0,08	0,52	0,19	2,01	0,04	0,33	0,14
18,23	3-CQA	19,17	0,50	20,60	1,12	20,53	0,17	13,75	2,31
20,80	3-pCoQA	0,73	0,07	0,29	0,08	0,40	0,06	0,26	0,03
21,38	4-CQA	0,71	0,08	0,10	0,13	0,36	0,04		
23,65	3-pCoQA	1,68	0,06	1,02	0,05	1,72	0,03	0,97	0,15
24,28	3-FQA	0,79	0,05	0,20	0,10	0,65	0,04		
26,12	3-FQA	1,59	0,04	1,28	0,10	1,22	0,04	0,62	
26,91	4-CQA	4,40	0,23	4,06	0,04	3,53	0,05	2,36	0,77
28,92	5-CQA	12,58	0,31	11,86	0,37	32,28	0,09	20,05	2,38
52,30	Q-rutinosid	18,38	0,39	18,85	0,48	22,42	0,23	19,55	2,89
54,56	Q-hex	1,06	0,01	1,45	0,08	1,97	0,03	2,09	0,17
57,36	K-rutinosid	1,16	0,05	1,54	0,03	1,00	0,05	1,47	0,11
61,89	Q-acetylhex	0,73	0,03	1,12	0,01	0,94	0,02	1,34	0,14

Tabelle D-7 Quantifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren, Gut und Billig und Primadonna

RT (min)	Substanz	Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra				Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
15,00	3-CQA	2,15	0,39	0,16	0,07	2,84	0,26	0,23	0,08
18,23	3-CQA	15,37	0,97	10,98	0,64	22,76	2,60	12,37	0,23
20,80	3-pCoQA	0,35	0,06	0,19	0,05	0,49	0,06	0,23	0,04
21,38	4-CQA	0,50	0,07			0,59	0,03		
23,65	3-pCoQA	2,20	0,15	0,89	0,02	2,11	0,21	1,12	0,03
24,28	3-FQA	0,64	0,08			0,87	0,10		
26,12	3-FQA	1,78	1,61	0,46	0,05	1,66	0,25	0,84	0,06

RT (min)	Substanz	Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra				Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
26,91	4-CQA	3,92	0,50	2,74	0,16	4,58	0,25	2,47	0,29
28,92	5-CQA	22,88	1,46	15,76	0,67	22,58	1,26	11,52	0,70
52,30	Q-rutinosid	12,38	1,49	13,37	0,52	18,06	0,92	15,25	0,13
54,56	Q-hex	1,23	0,12	1,67	0,10	1,57	0,22	1,41	0,04
57,36	K-rutinosid	0,84	0,03	1,41	0,05	1,53	0,28	1,52	0,01
61,89	Q-acetylhex	0,57	0,03	1,06	0,10	1,12	0,23	1,13	0,04

Tabelle D-8 Quantifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren, Tamara und Classic

RT (min)	Substanz	Tamara Aprikosen Konfitüre extra				Classic – Aprikose - Konfitüre extra -			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
15,00	3-CQA	1,72	0,28	0,29	0,03	1,27	0,16	0,13	0,06
18,23	3-CQA	30,62	1,85	23,37	1,29	6,50	0,39	5,18	0,51
20,80	3-pCoQA	0,35	0,04	0,31	0,07	0,22	0,08	0,06	
21,38	4-CQA	0,34	0,04			0,38	0,06		
23,65	3-pCoQA	2,58	0,19	0,90	0,06	1,00	0,05	0,32	0,04
24,28	3-FQA	0,69	0,10	0,19	0,02	0,36	0,02		
26,12	3-FQA	2,93	0,11	1,42	0,12	0,33	0,03	0,20	0,02
26,91	4-CQA	5,73	0,48	3,72	0,33	1,82	0,13	1,42	0,11
28,92	5-CQA	15,04	1,27	10,52	1,01	18,22	0,17	13,57	1,10
52,30	Q-rutinosid	20,92	2,17	19,60	1,89	7,18	0,13	6,50	0,44
54,56	Q-hex	1,14	0,10	1,34	0,12	0,89	0,16	0,87	0,07
57,36	K-rutinosid	1,25	0,04	1,64	0,16	0,75	0,19	0,86	0,07
61,89	Q-acetylhex	0,78	0,05	1,16	0,13	0,65	0,17	0,73	0,10

Tabelle D-9 Quantifizierte Analyten in untersuchten Aprikosenkonfitüren, Grandessa und Tamara Aprikozenjam

RT (min)	Substanz	Grandessa Aprikosenkonfitüre extra				Tamara Aprikozenjam extra			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
15,00	3-CQA	1,35	0,08	0,12	0,05	1,58	0,15	0,16	0,14
18,23	3-CQA	16,66	0,79	10,75	1,60	19,04	0,49	13,31	0,52
20,80	3-pCoQA	0,60	0,69	0,04		0,67	0,71	0,36	0,06
21,38	4-CQA	0,40	0,04			0,52	0,07		
23,65	3-pCoQA	1,74	0,11	1,01	0,08	1,93	0,10	0,89	0,04
24,28	3-FQA	0,59	0,05			0,61	0,02	0,13	0,01
26,12	3-FQA	1,09	0,11	0,60	0,02	1,57	0,05	0,93	0,11

Anhang D-Quantifizierung

RT (min)	Substanz	Grandessa				Tamara			
		Aprikosenkonfitüre extra				Aprikozenjam extra			
		Manuell	Std	ASE	Std	Manuell	Std	ASE	Std
26,91	4-CQA	4,76	0,09	2,06	0,28	5,19	0,07	2,45	0,19
28,92	5-CQA	31,52	0,66	18,66	2,09	31,66	0,33	20,51	0,54
52,30	Q-rutinosid	13,40	0,24	13,30	0,73	19,40	0,22	21,68	0,18
54,56	Q-hex	1,41	0,09	1,63	0,04	1,41	0,04	1,66	0,03
57,36	K-rutinosid	0,94	0,02	1,35	0,03	1,06	0,04	1,71	0,02
61,89	Q-acetylhex	0,54	0,04	1,02	0,09	0,57	0,04	1,34	0,07

Anhang E – Abbildungen von Peakflächenverhältnissen phenolischer Inhaltsstoffe in Aprikosenrohware und Aprikosenkonfitüre

Nachfolgend sind die Peakflächenverhältnisse von phenolischen Inhaltsstoffen in Aprikosensorten verschiedener Jahrgänge dargestellt. Zu jeder Sorte, bzw. Aprikosenkonfitüre Extra wurden die Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside und die Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren getrennt in Diagrammen dargestellt.

Aus der Gruppe der Flavonolglykoside wurden die Peakflächen des Quercetinrutinosid, des Quercetinhexosids, des Kämpferolrutinosids und des Quercetinacetylhexosids für die Berechnung herangezogen. Diese waren bis auf die geschälten Aprikosenrohwaren in allen untersuchten Probenmaterialien enthalten. Aus der Gruppe der Phenolcarbonsäuren wurden die 3-Caffeoylchinasäure (RT = 15,00 min.), die 3-Caffeoylchinasäure (RT = 18,23 min.), die 3-p-Coumaroylchinasäure (RT = 23,65 min.), die Feruloylchinasäure (RT = 24,28 min.), die 4-Caffeoylchinasäure (RT = 26,91 min.) und die 5-Caffeoylchinasäure (RT = 28,92 min.) ausgewählt und für die Berechnung von Peakflächenverhältnissen herangezogen, da diese in allen kommerziellen Probenmaterialien enthalten waren und damit für einen späteren Vergleich eingesetzt werden konnten. Bei den Caffeoylchinasäuren wurde entsprechend der Retentionszeit ein Zahlenindex, also 1 bis 4, an die übliche Abkürzung CQA angehängt. Aus der Gruppe der Flavan-3-ole und der Proanthocyanidine wurden keine Peakflächenverhältnisse berechnet, da sie nur in ausreichender Anzahl und in ausreichender Menge in der Sorte Canino enthalten waren. Für die untersuchten Konfitüren konnten ebenfalls für diese Gruppe keine Peakflächenverhältnisse gebildet werden.

Bei der Berechnung wurden die Peakflächen bei der substanzgruppenspezifischen Wellenlänge, d.h. für die Flavonolglykoside bei 360 nm und bei den Phenolcarbonsäuren bei 310 nm unabhängig von der Probeneinwaage für jeden einzelnen Ansatz ermittelt und anschließend arithmetisch gemittelt sowie die Standardabweichung bestimmt. Danach erfolgte eine Darstellung in Form eines Säulendiagrammes. Diese Diagramme ermöglichen bei Wahl einer logarithmischen Y-Skala zugleich die Präsentation von sehr kleinen und sehr großen Verhältnissen, die sich im Zahlenwert um einige Potenzen unterschieden. So konnten alle 6, zw. 15 Peakflächenverhältnisse direkt gegenübergestellt und verglichen werden.

Nachfolgend wurden zur Erklärung der Abkürzungen die Substanzen der jeweiligen phenolischen Leitgruppen in den Probenmaterialien zusammengestellt.

Tabelle E-1 Flavonolglykoside und Phenolcarbonsäuren für die Berechnung von Peakflächenverhältnissen sowie deren Abkürzungen

RT (min)	Substanz	Abkürzung
15,00	3-Caffeoylchinasäure	CQA 1
18,23	3- Caffeoylchinasäure	CQA 2
23,65	3-pCoumaroylchinasäure	pCoQA
24,28	3-Feruloylchinasäure	FQA
26,91	4- Caffeoylchinasäure	CQA 3
28,92	5- Caffeoylchinasäure	CQA 4
52,30	Quercetinrutinosid	Q-rut
54,56	Quercetinhexosid	Q-hex
57,36	Kämpferolrutinosid	K-rut
61,89	Quercetinacetylhexosid	Q-acetylhex

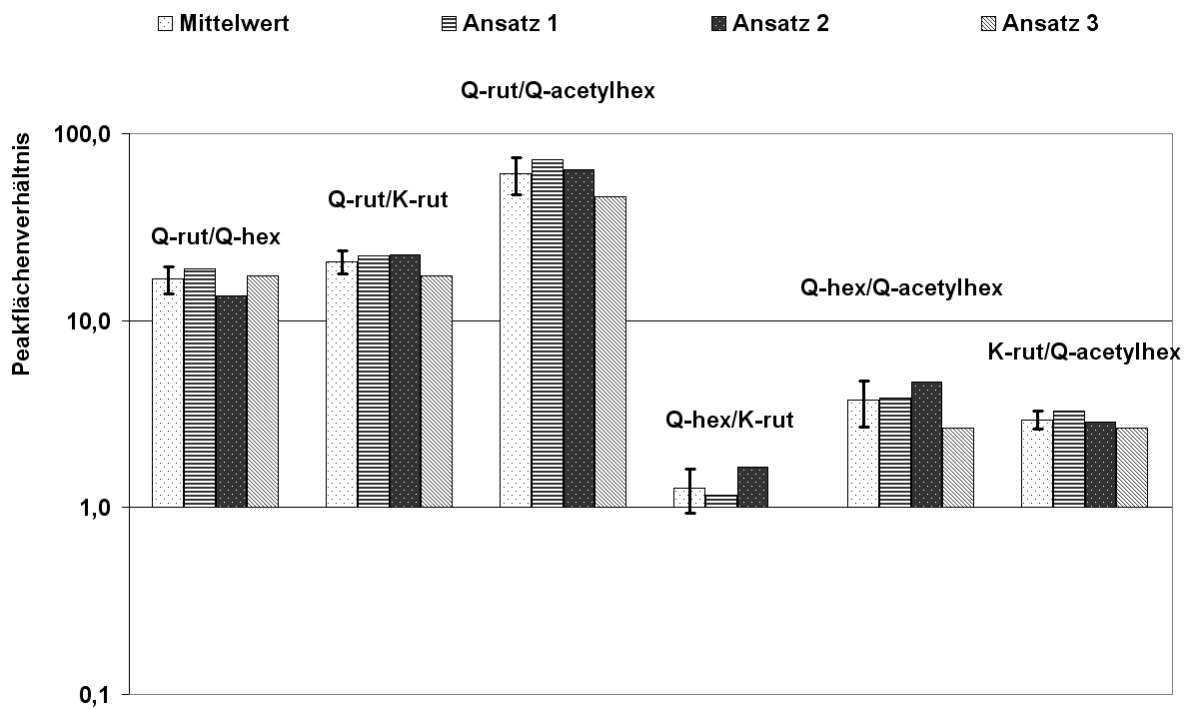


Abbildung E-1: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, automatisierte Extraktion

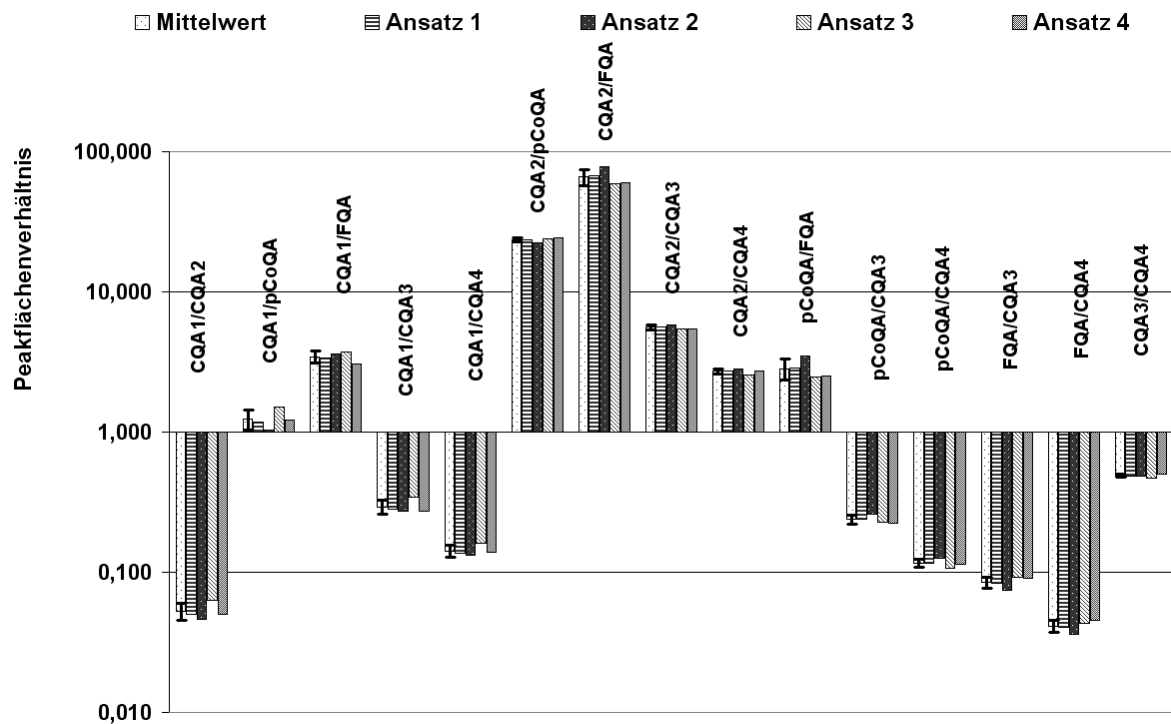


Abbildung E-2: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, automatisierte Extraktion

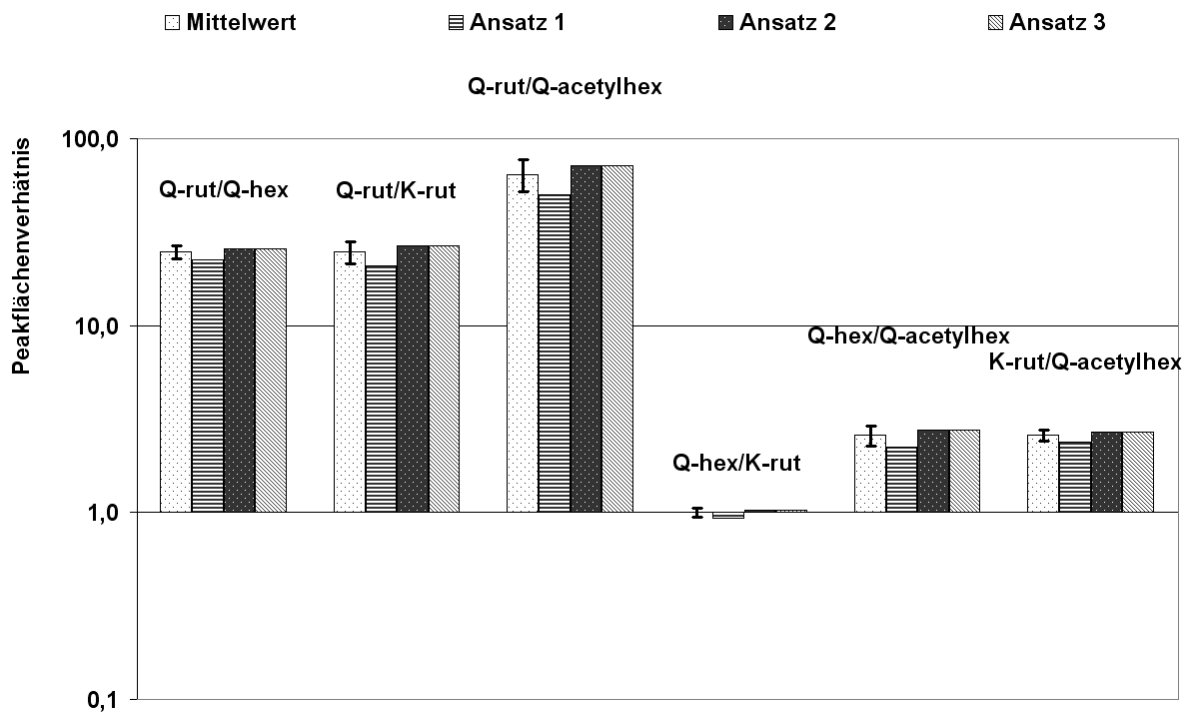


Abbildung E-3: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2005, automatisierte Extraktion

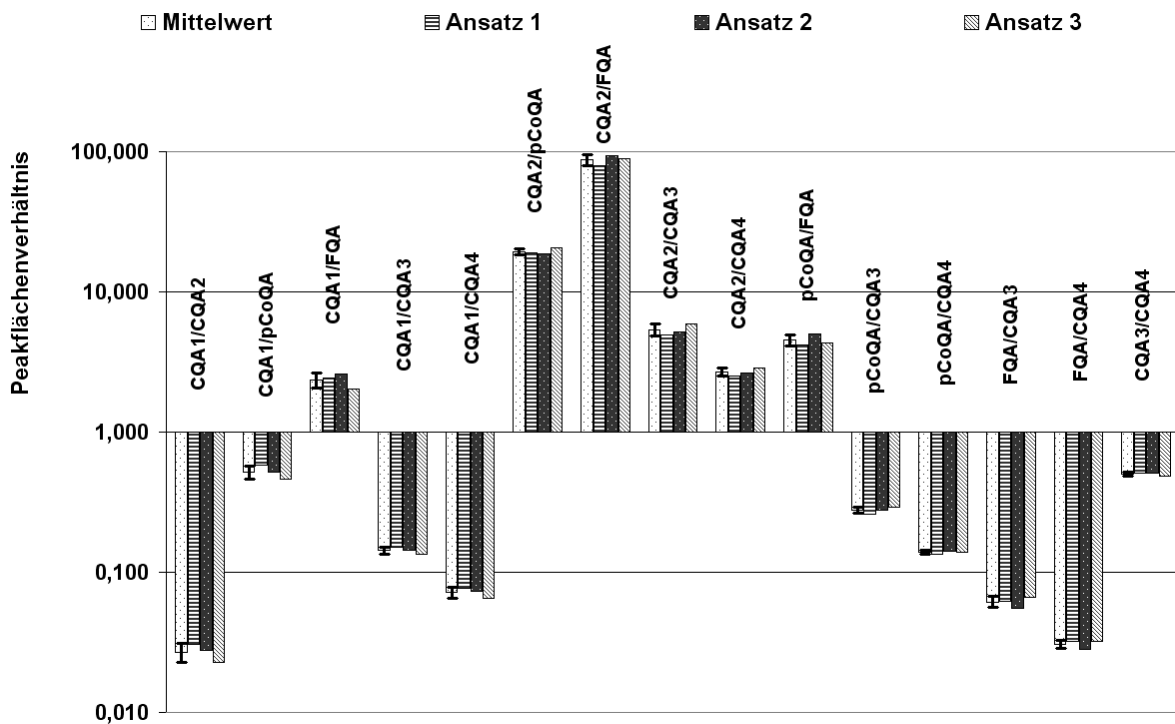


Abbildung E-4: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, automatisierte Extraktion

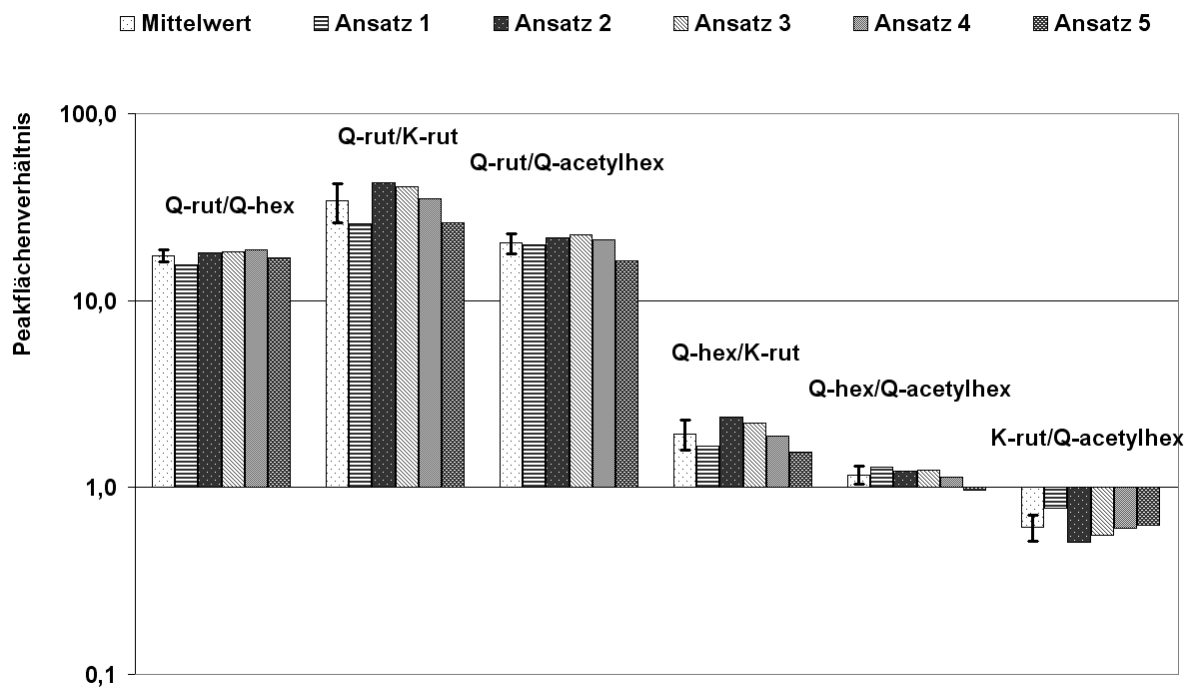


Abbildung E-5: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2004, automatisierte Extraktion

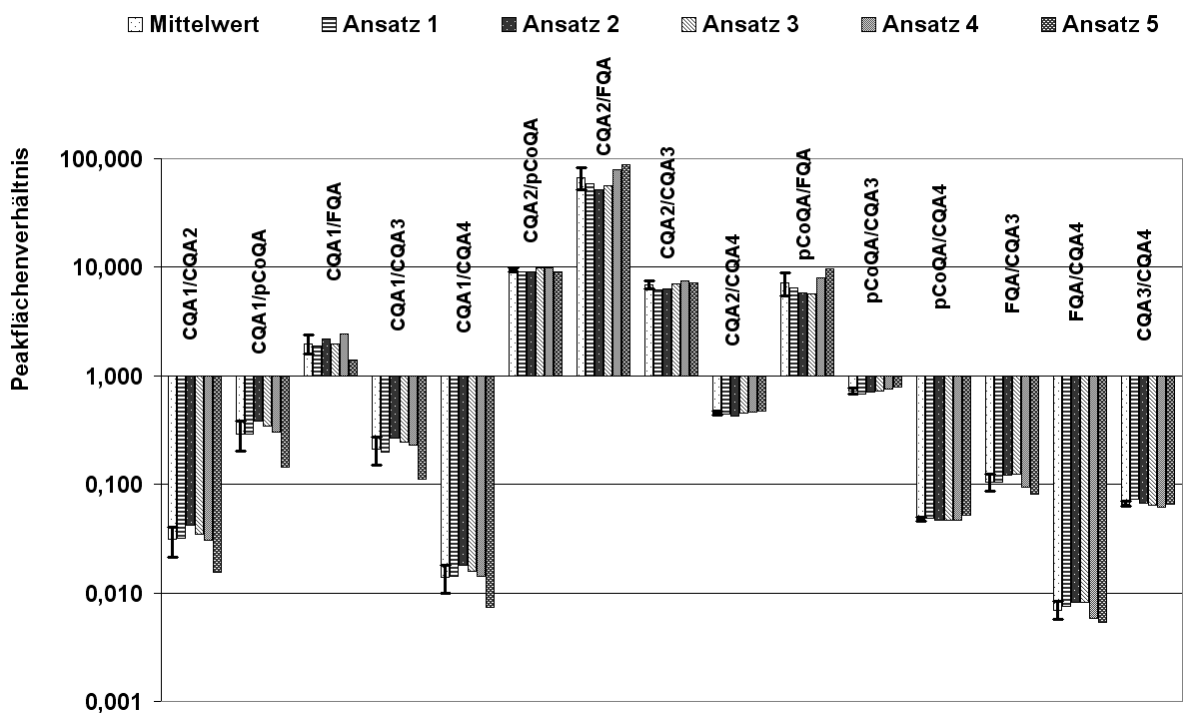


Abbildung E-6: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2004, automatisierte Extraktion

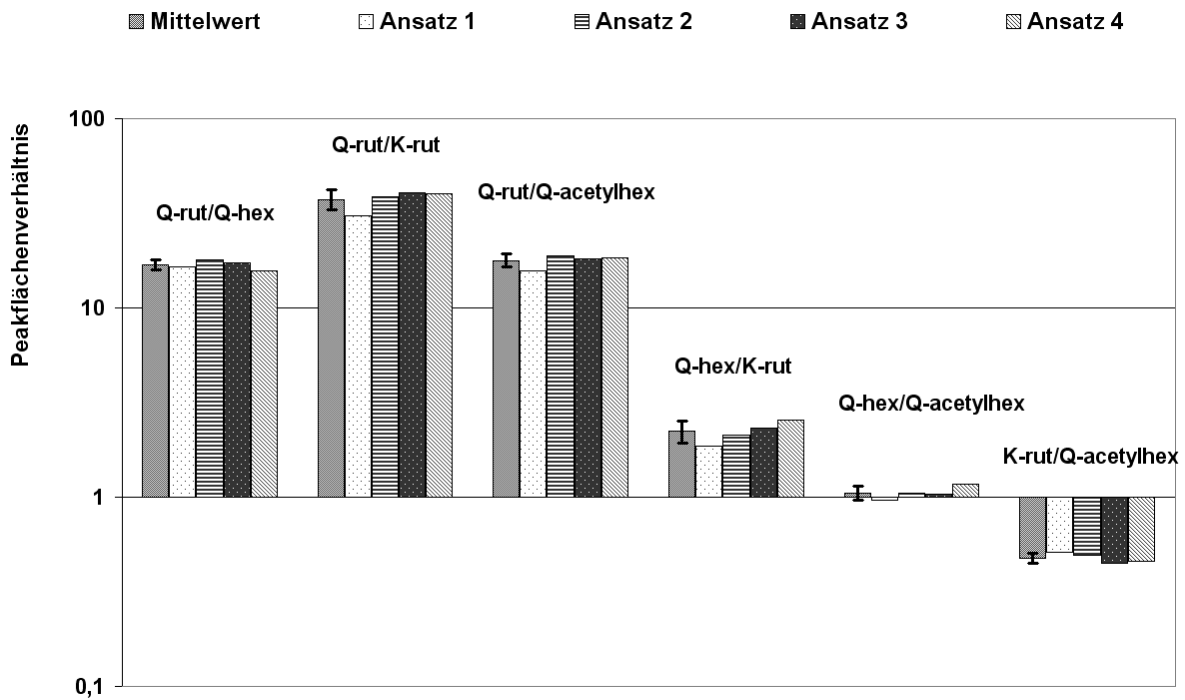


Abbildung E-7: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, automatisierte Extraktion

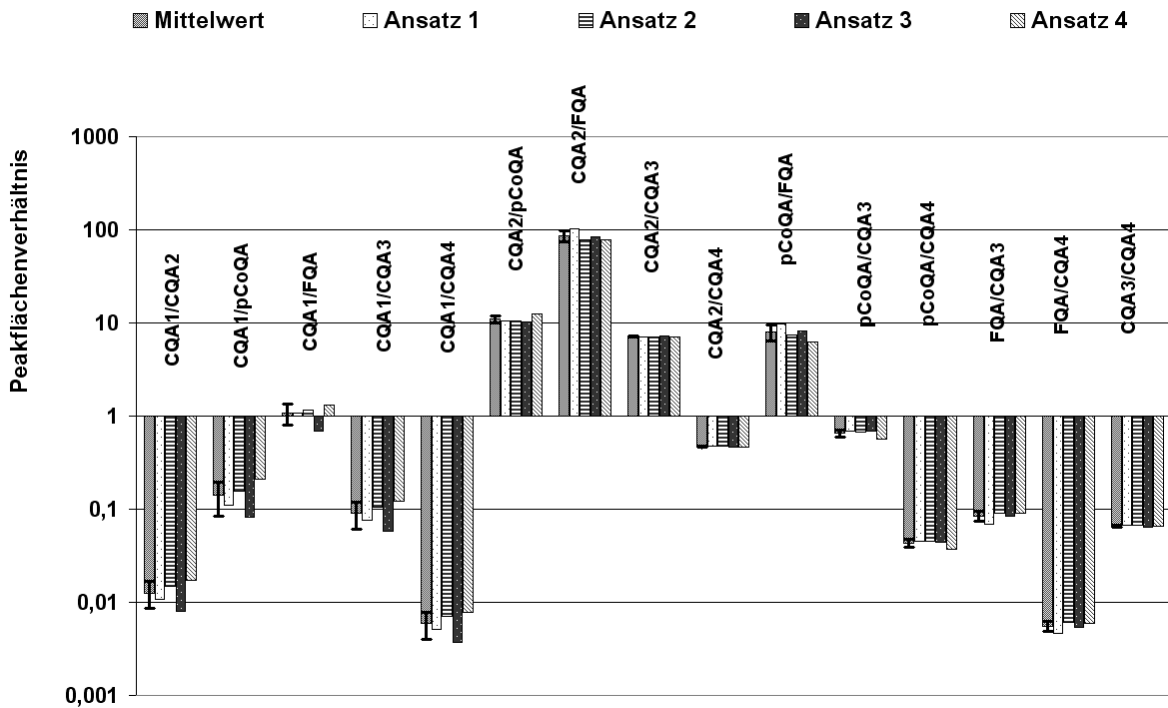


Abbildung E-8: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, automatisierte Extraktion

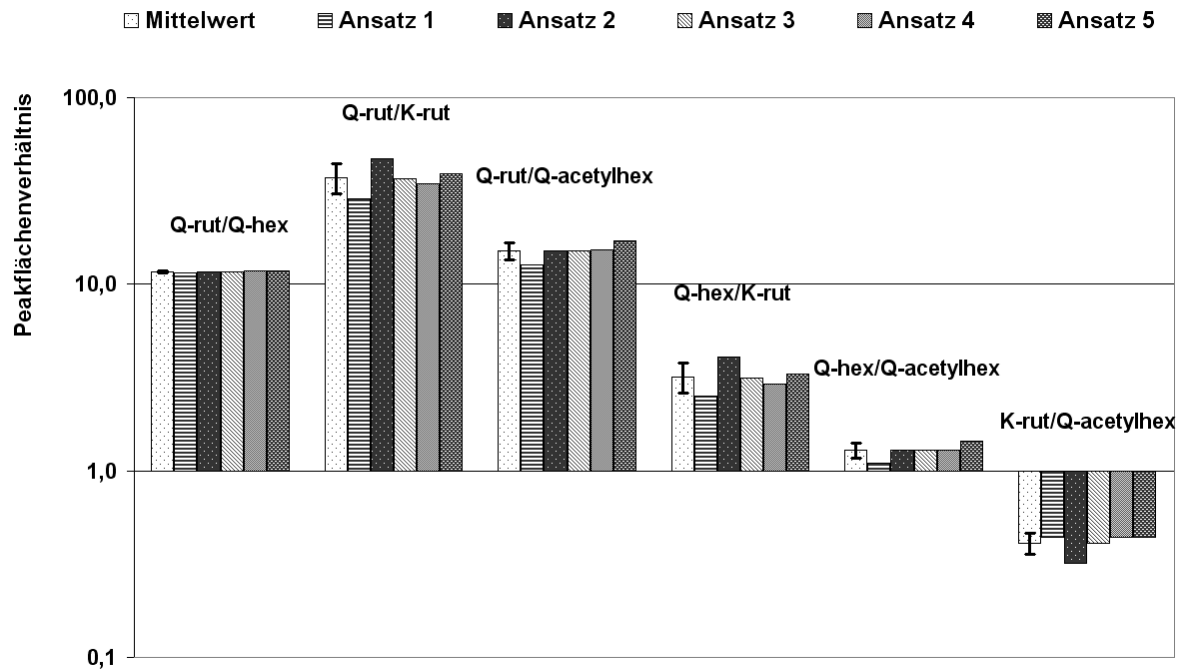


Abbildung E-9: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, automatisierte Extraktion

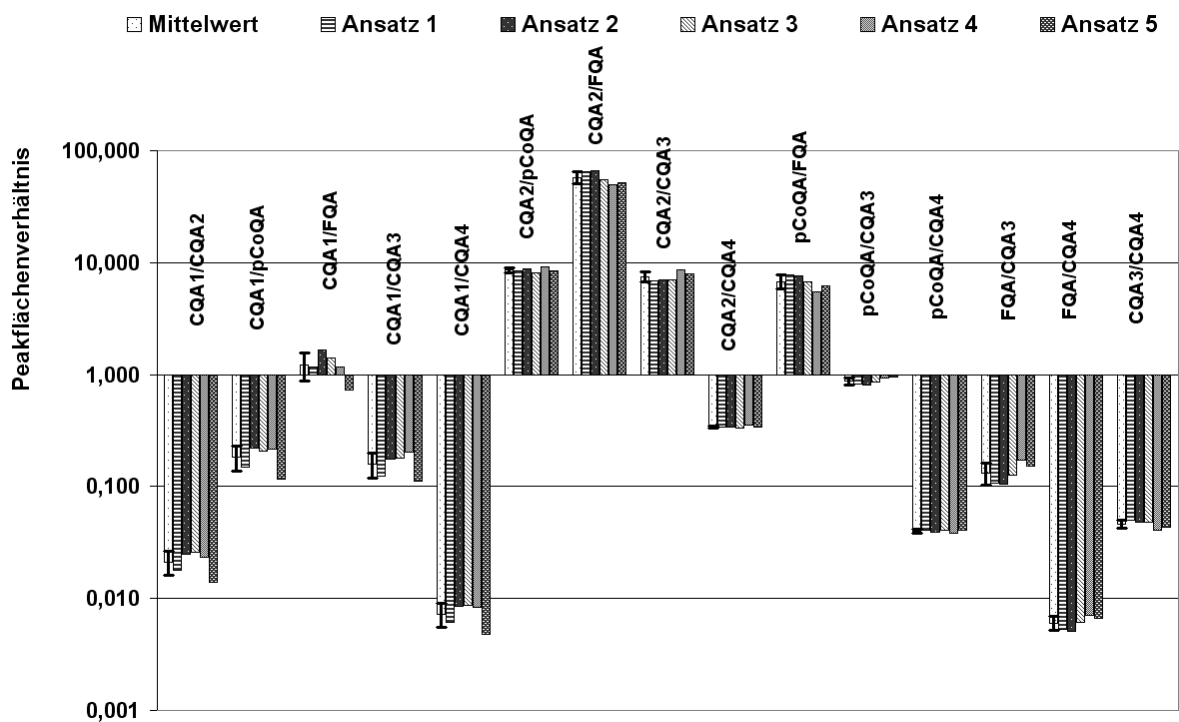


Abbildung E-10: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, automatisierte Extraktion

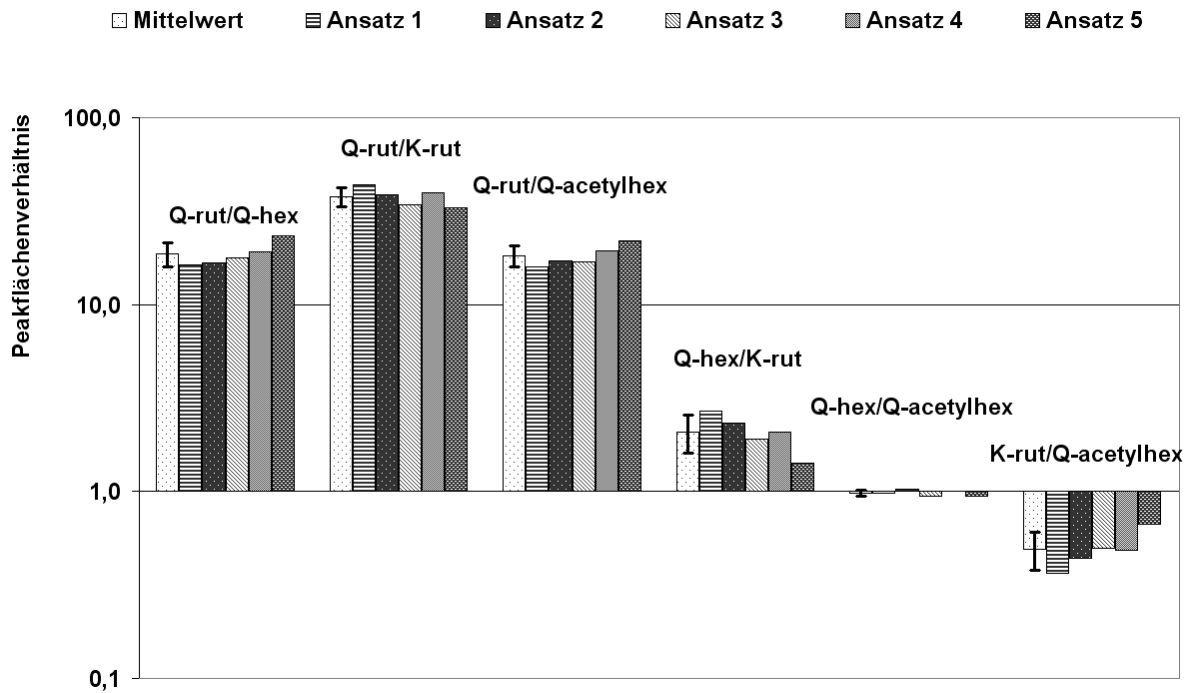


Abbildung E-11: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, Region Maduvo, automatisierte Extraktion

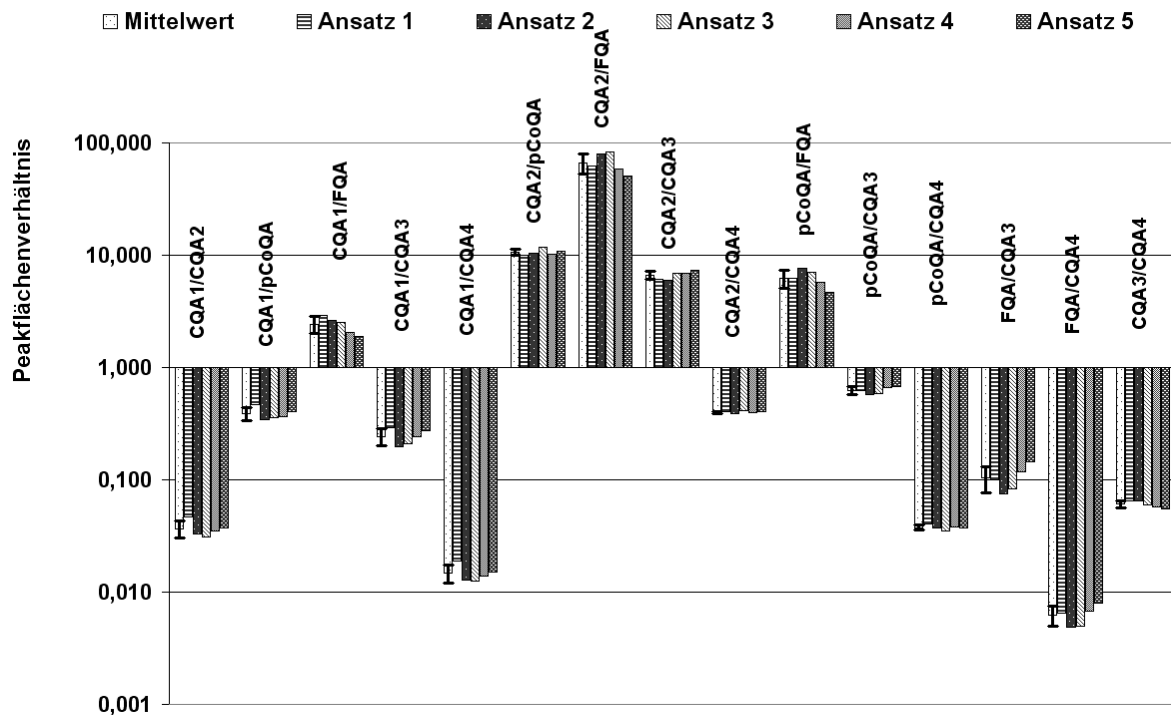


Abbildung E-12: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, geschält, automatisierte Extraktion

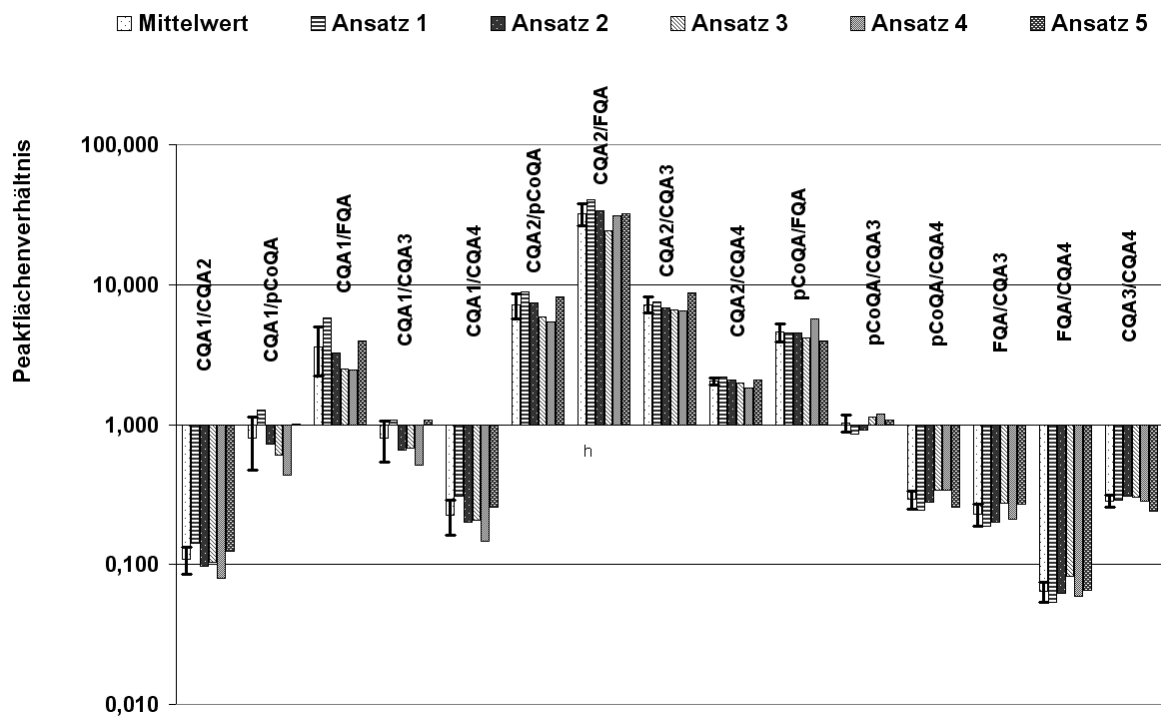


Abbildung E-13: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, geschält, automatisierte Extraktion

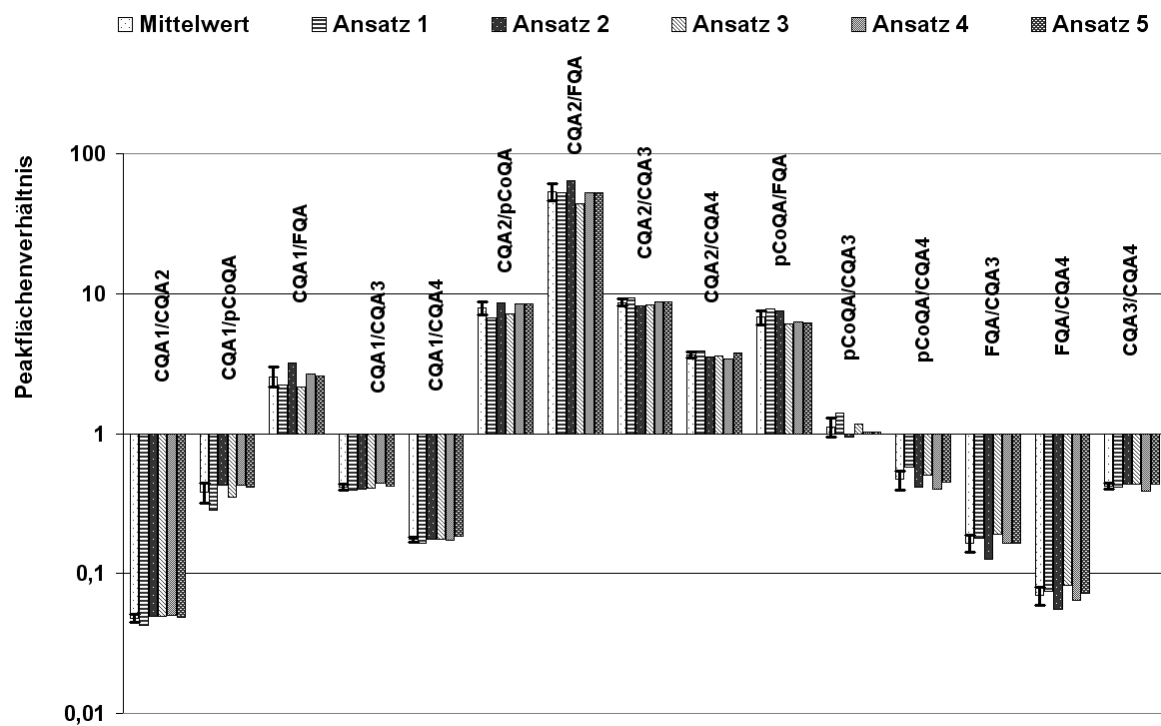


Abbildung E-14: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, geschält, automatisierte Extraktion

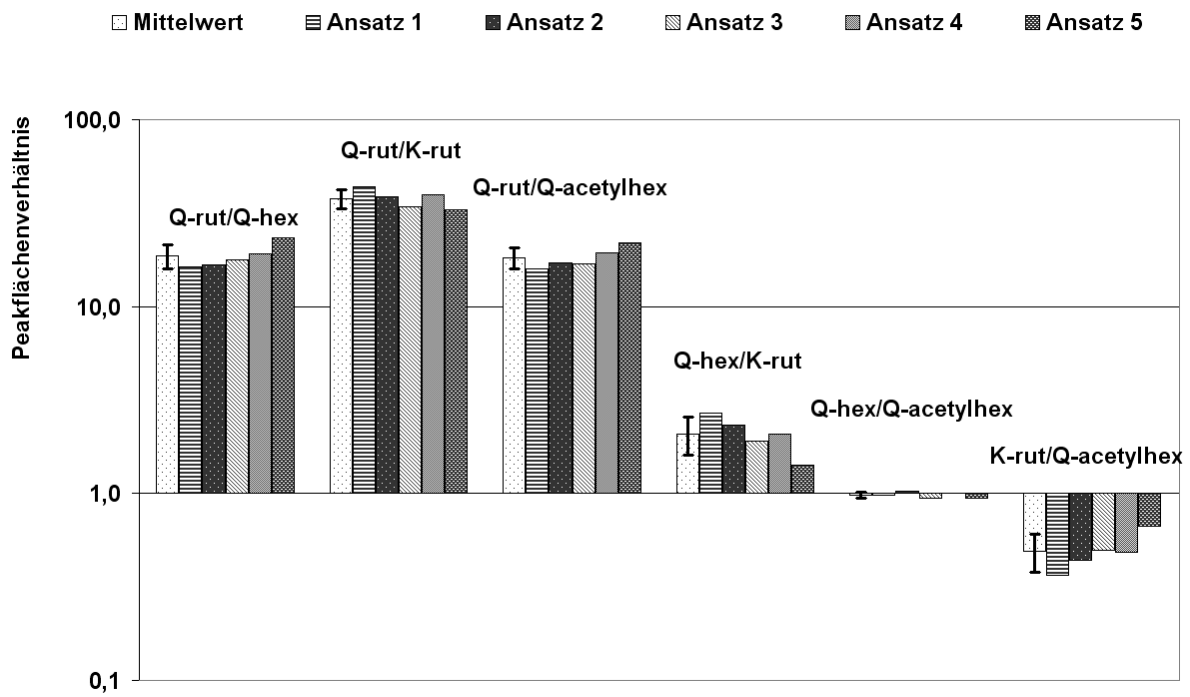


Abbildung E-15: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside von Aprikosen des AiF-Projektes, automatisierte Extraktion

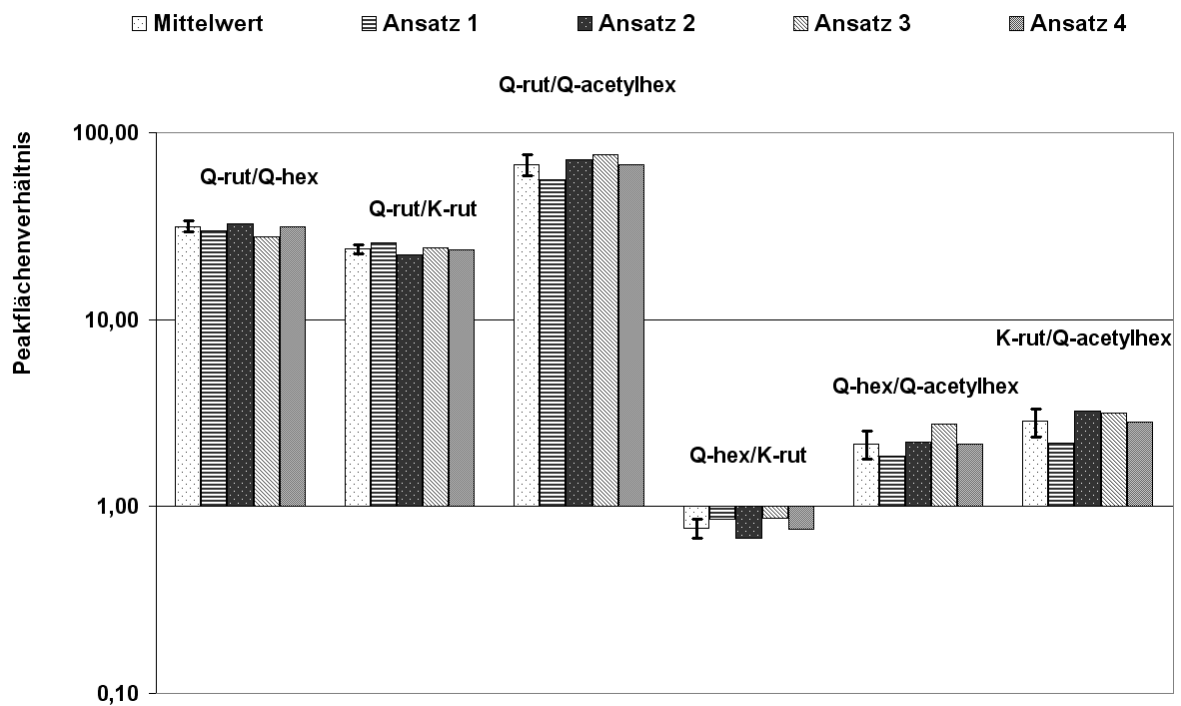


Abbildung E-16: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, manuelle Extraktion

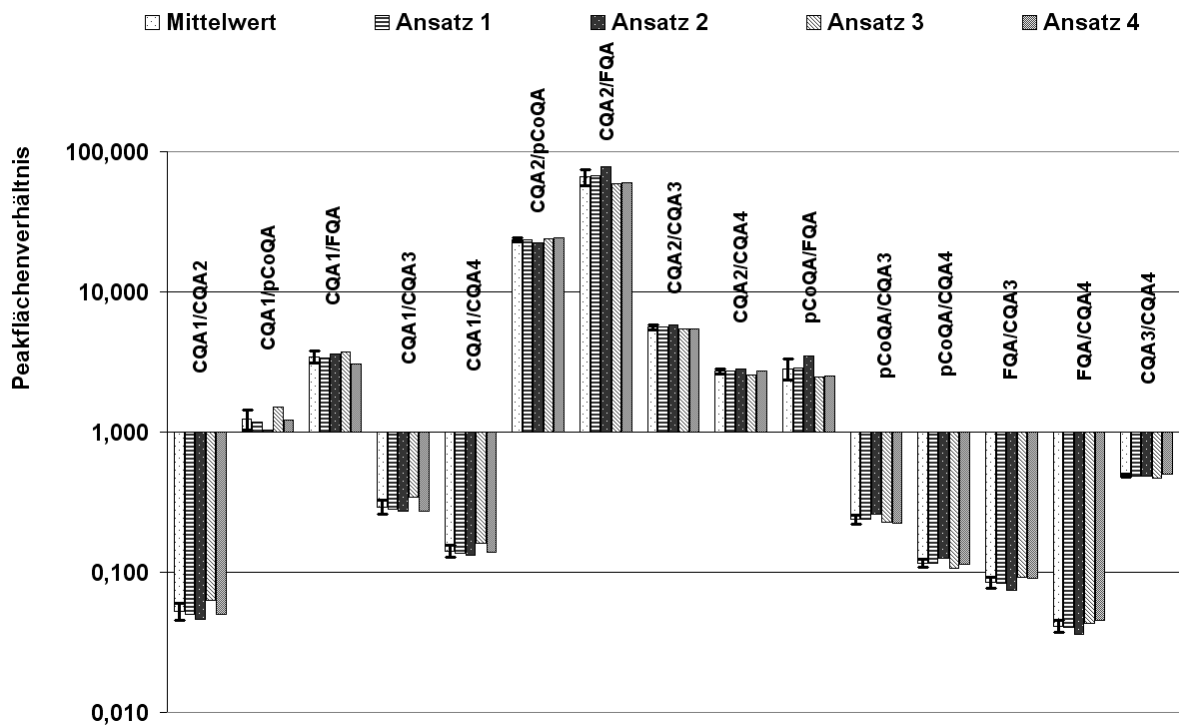


Abbildung E-17: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, manuelle Extraktion

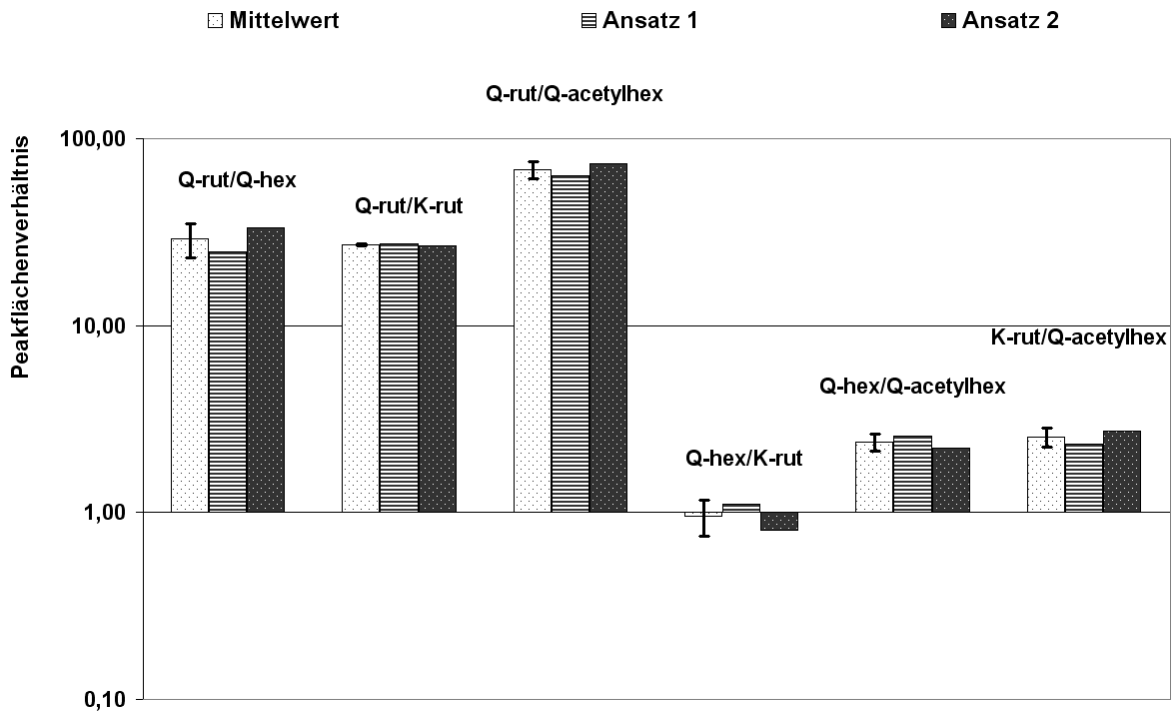


Abbildung E-18: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2005, manuelle Extraktion

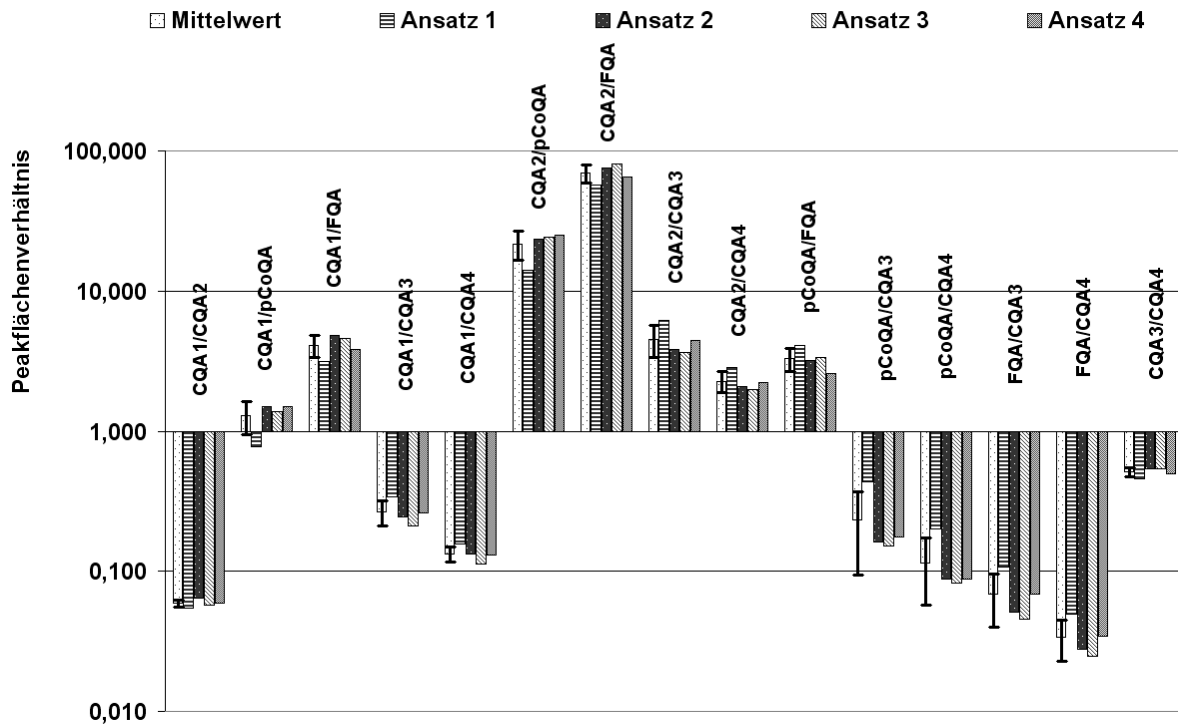


Abbildung E-19: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Canino des Erntejahrgangs 2004, manuelle Extraktion

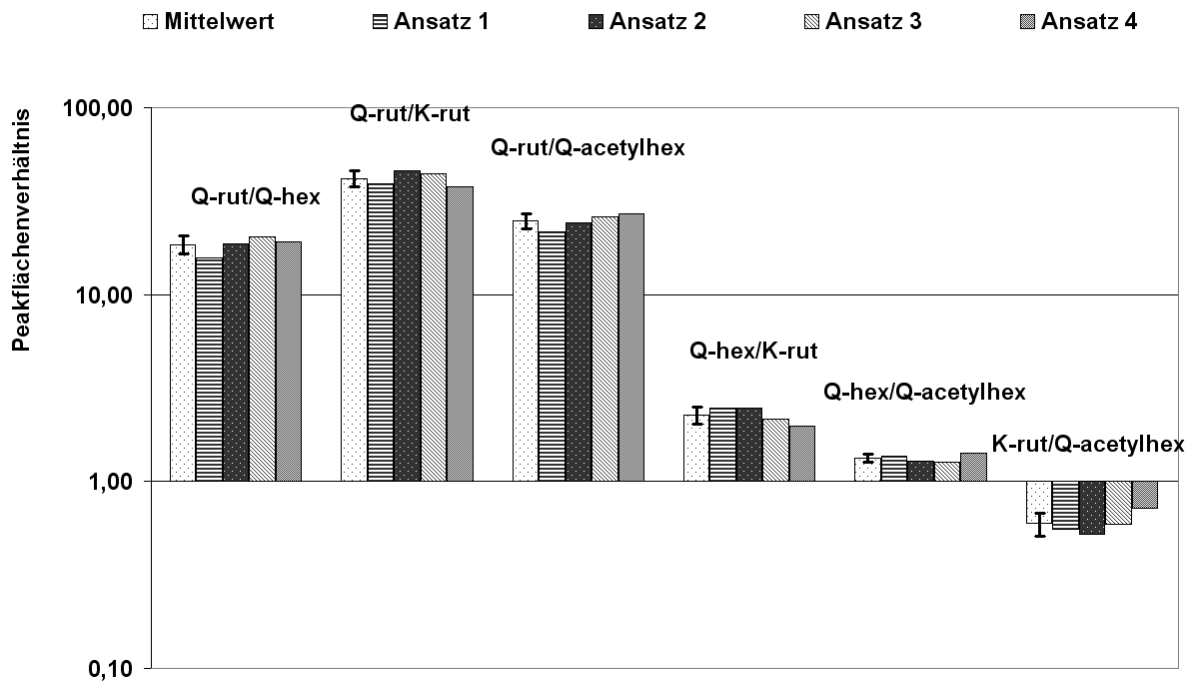


Abbildung E-20: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2004, manuelle Extraktion

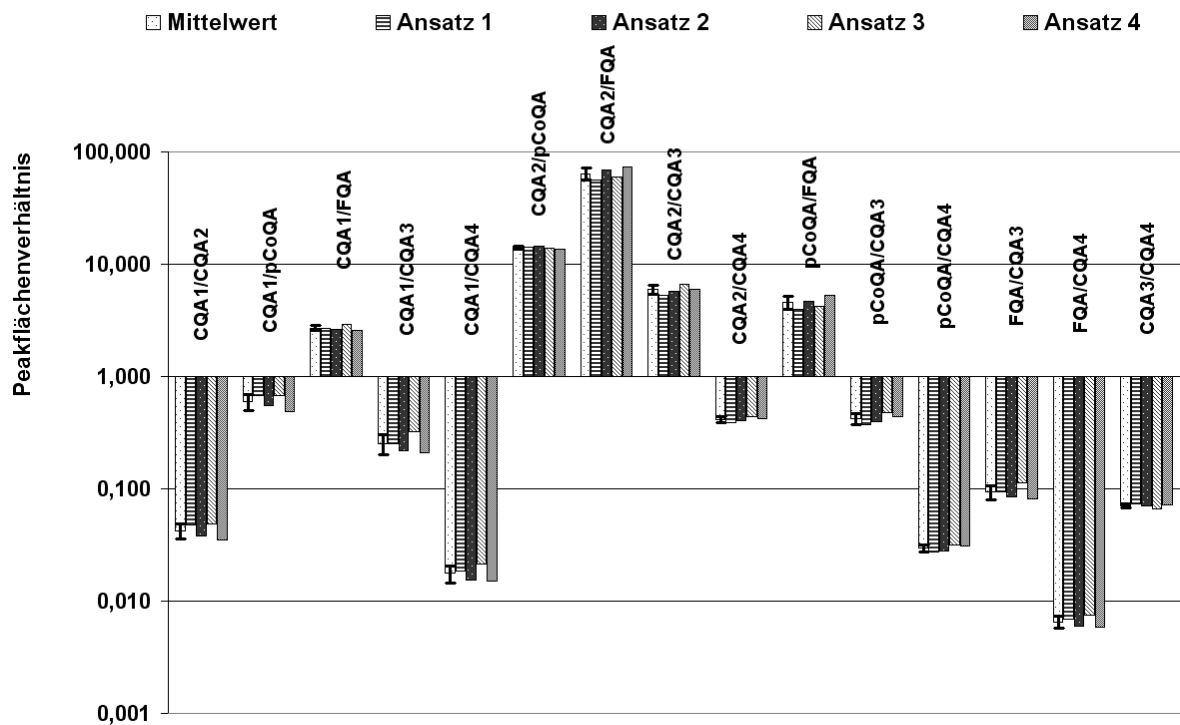


Abbildung E-21: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2004, manuelle Extraktion

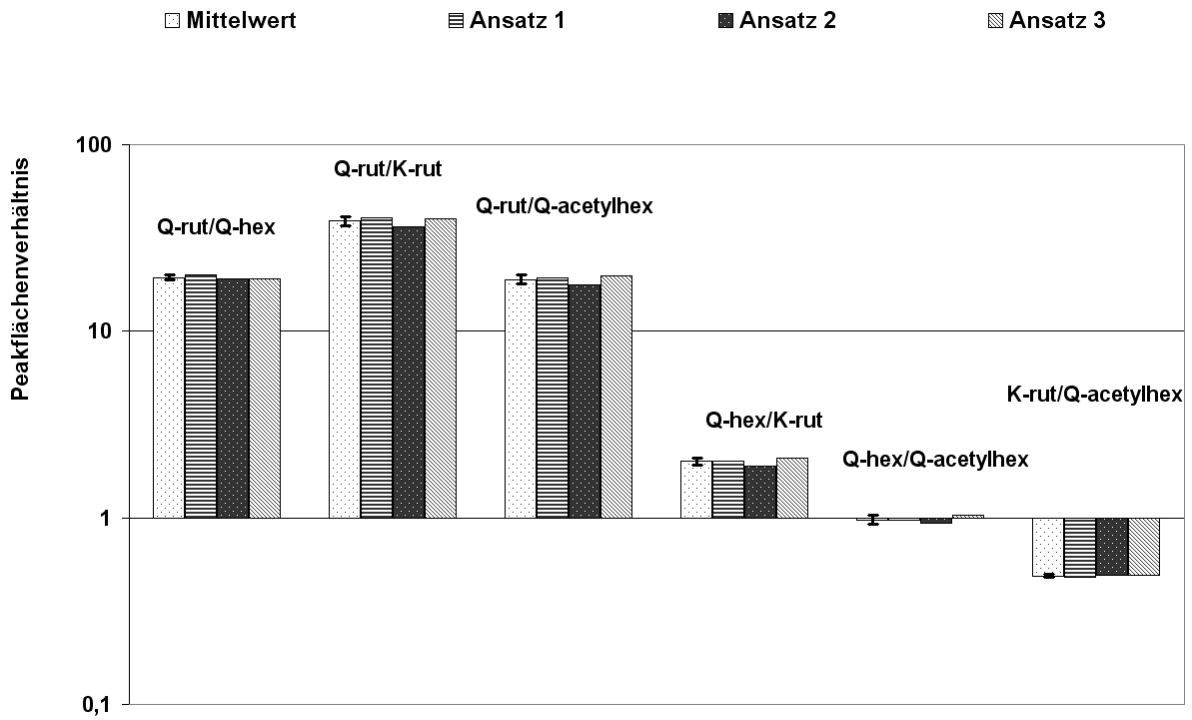


Abbildung E-22: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, manuelle Extraktion

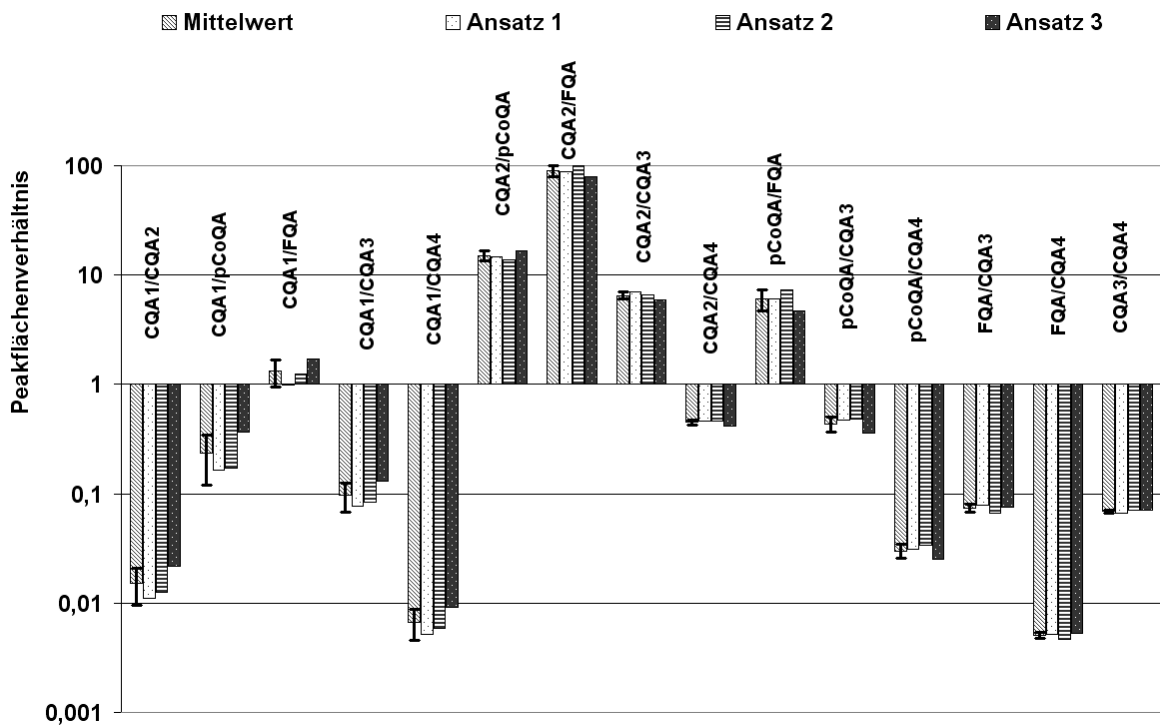


Abbildung E-23: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, manuelle Extraktion

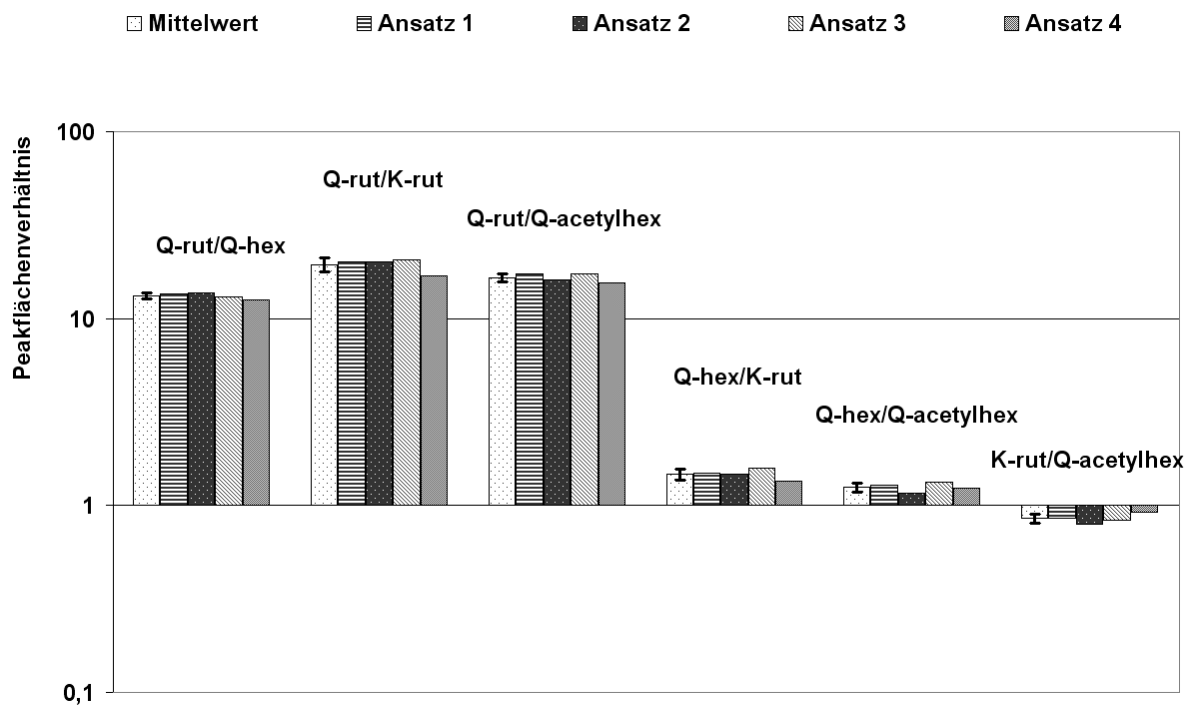


Abbildung E-24: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, manuelle Extraktion

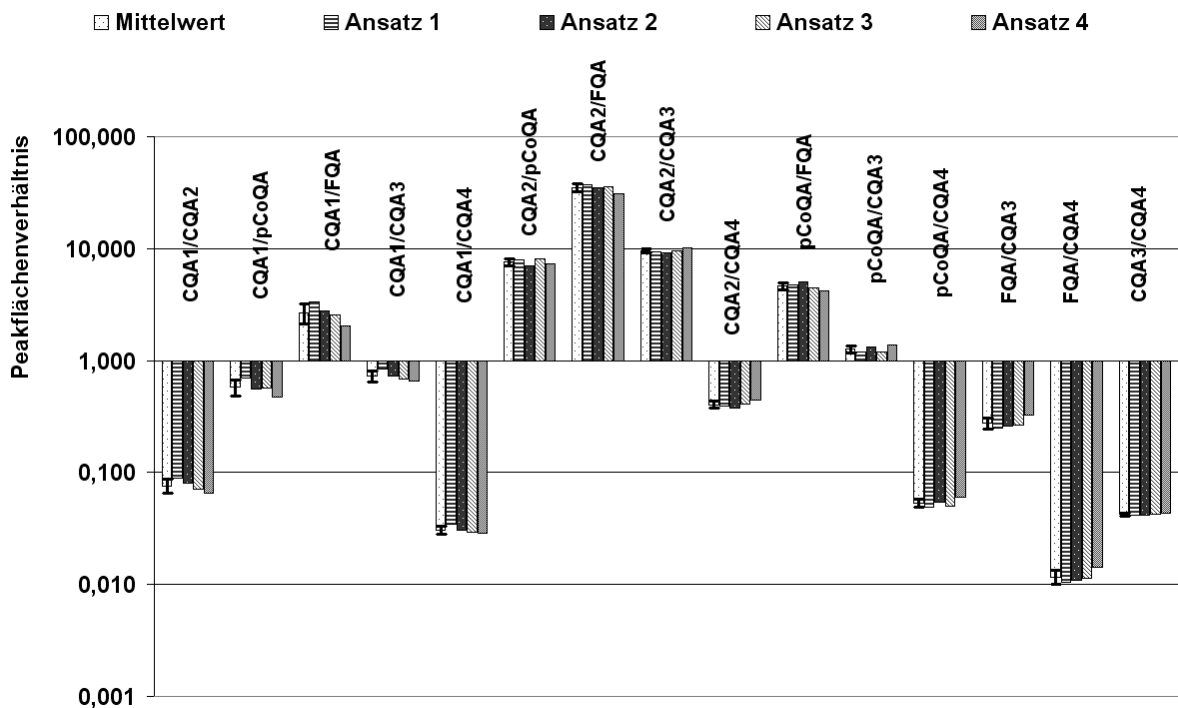


Abbildung E-25: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, manuelle Extraktion

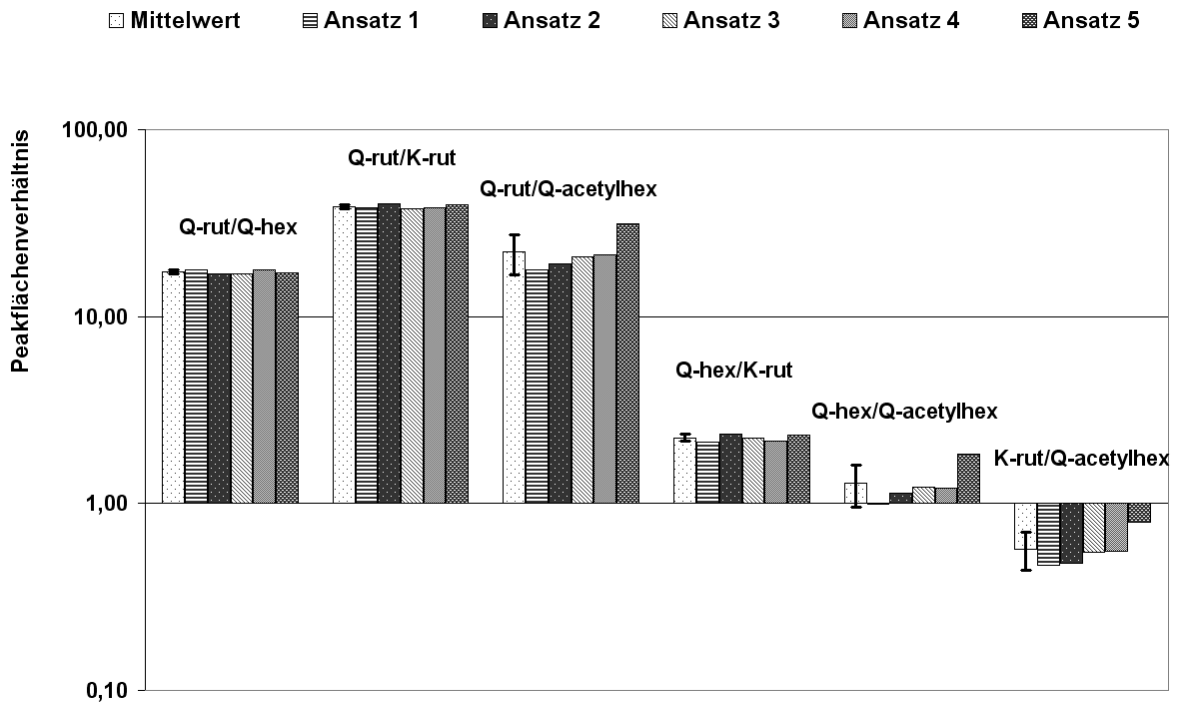


Abbildung E-26: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, Region Maduvo, manuelle Extraktion

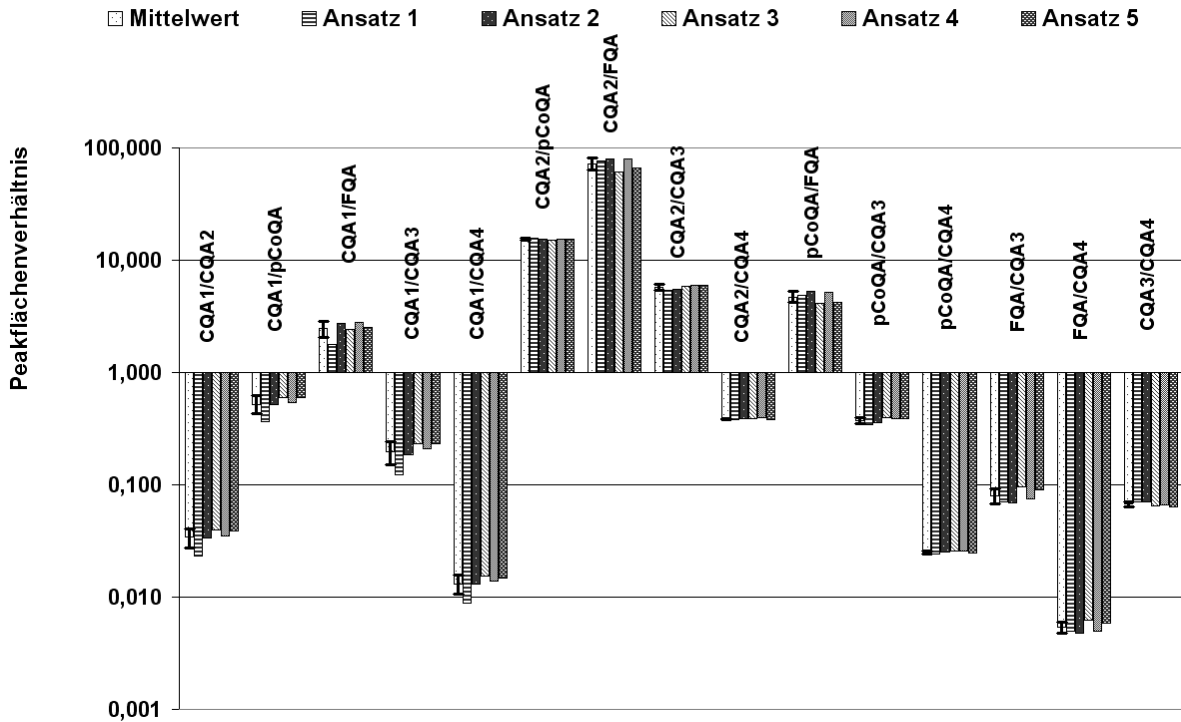


Abbildung E-27: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, Region Maduvo, manuelle Extraktion

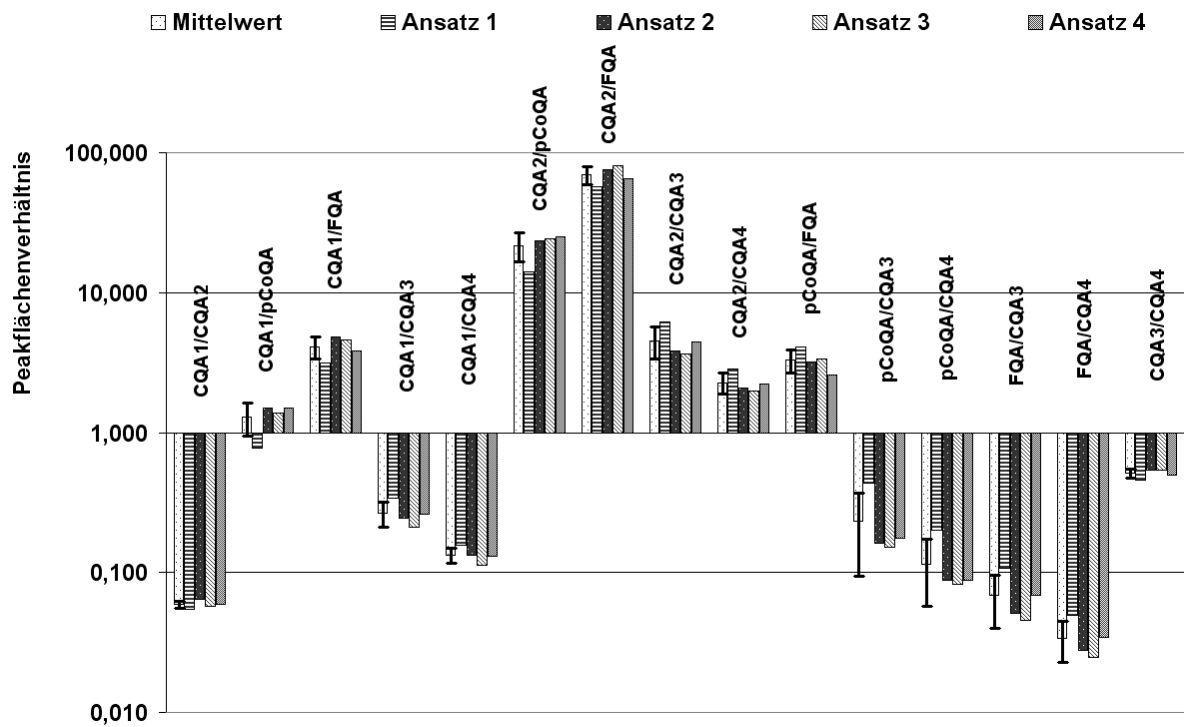


Abbildung E-28: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2005, geschält, manuelle Extraktion

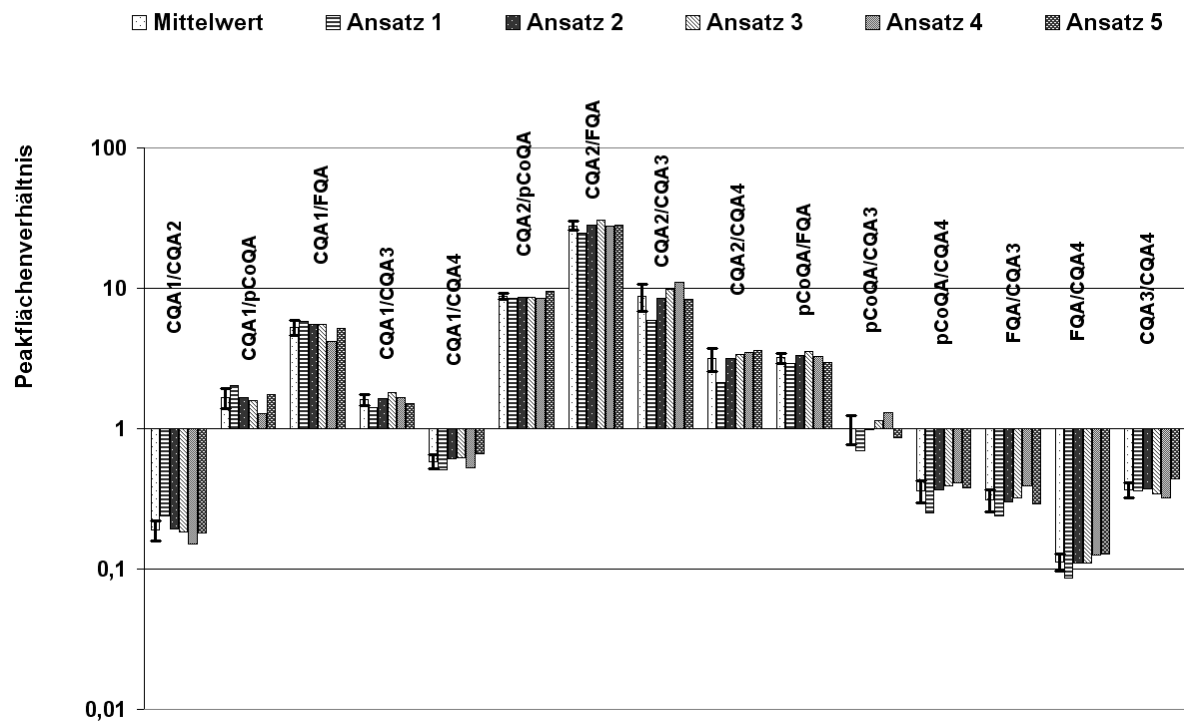


Abbildung E-29: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Sorte Golden Bulida des Erntejahrgangs 2006, geschält, manuelle Extraktion

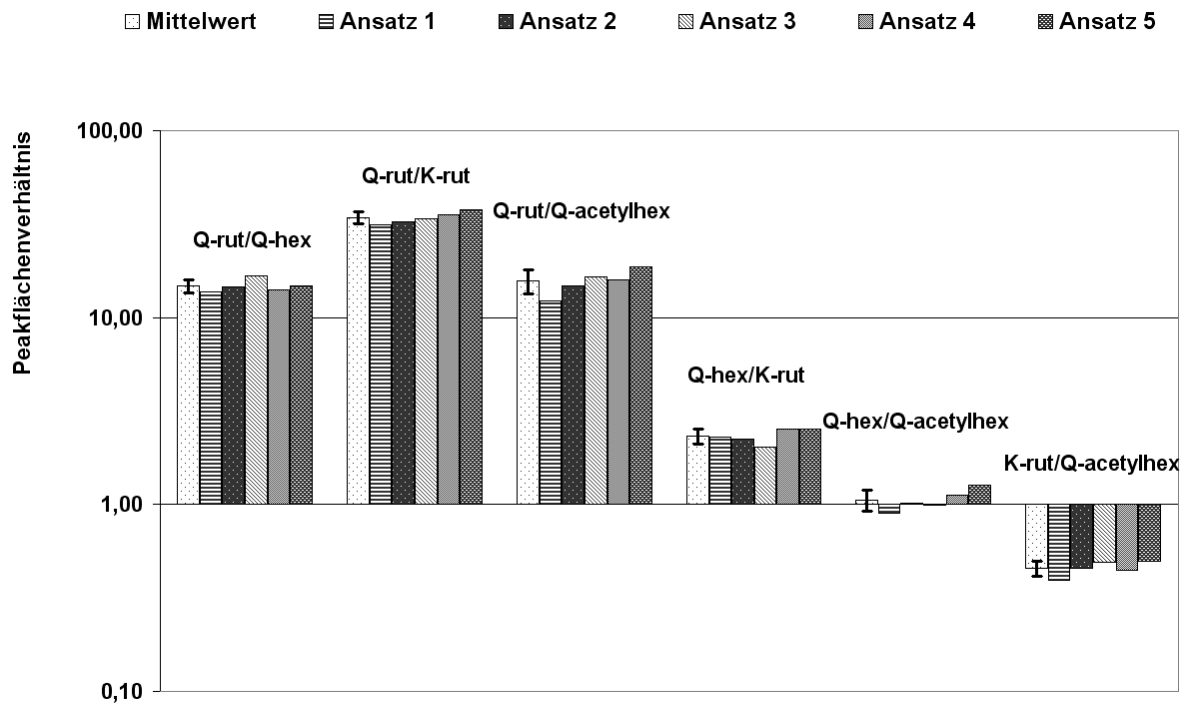


Abbildung E-30: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside von Aprikosen des AiF-Projektes, manuelle Extraktion

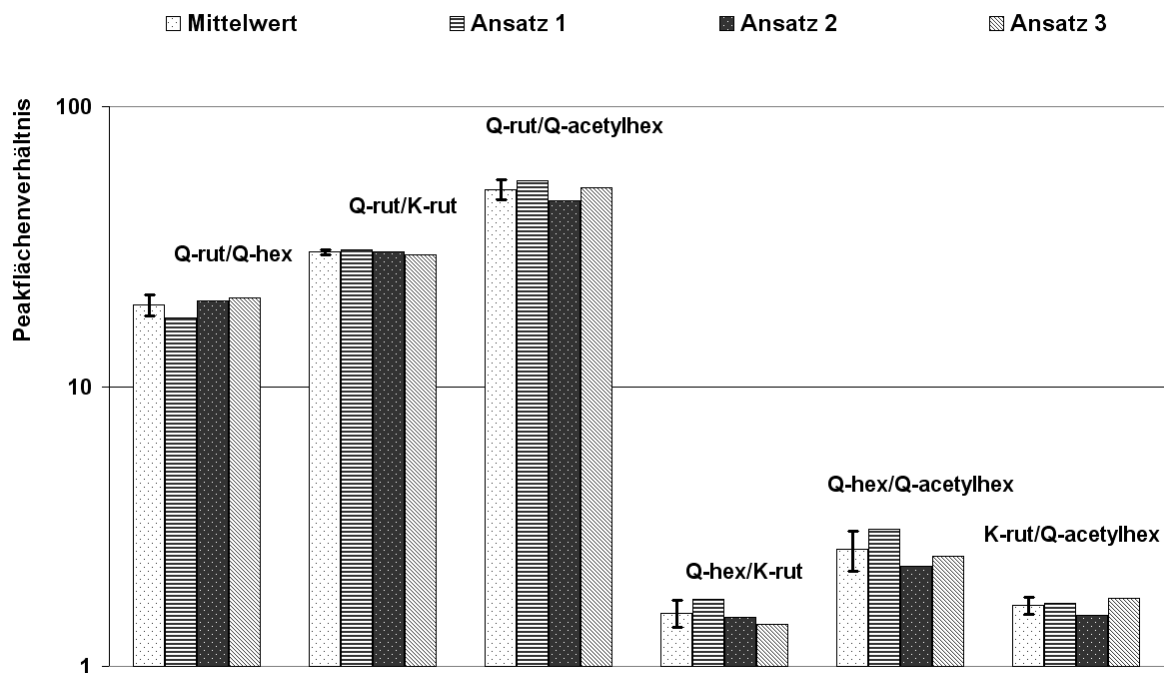


Abbildung E-31: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)“, automatisierte Extraktion

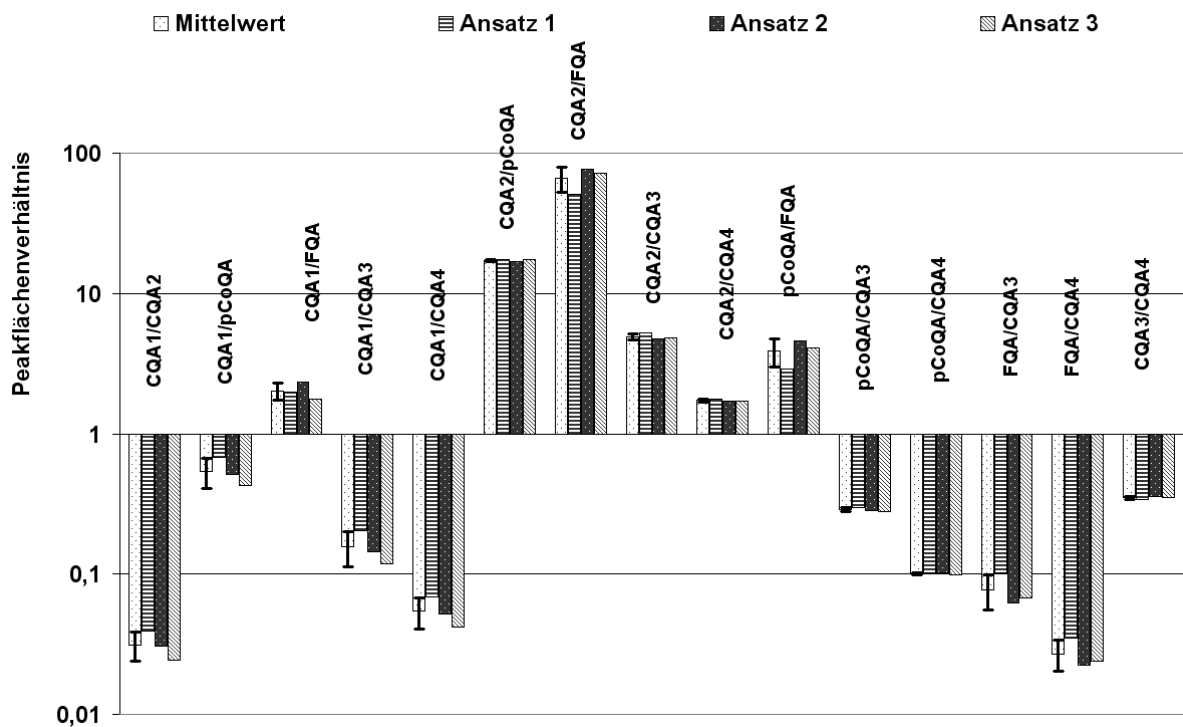


Abbildung E-32: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen (Marillen)“, automatisierte Extraktion

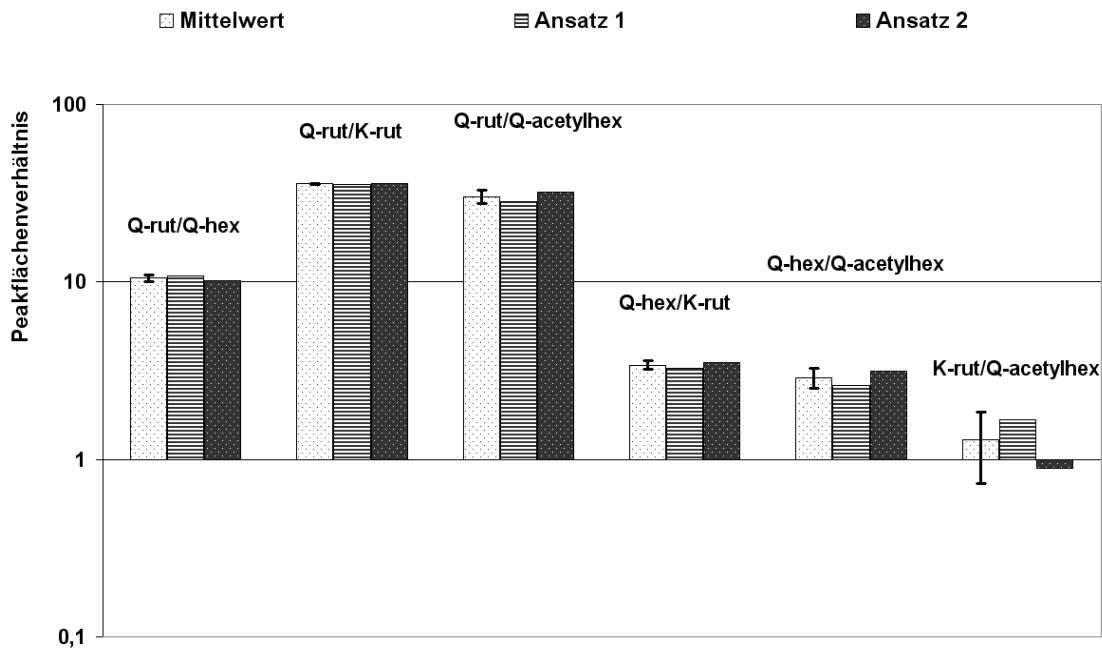


Abbildung E-33: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

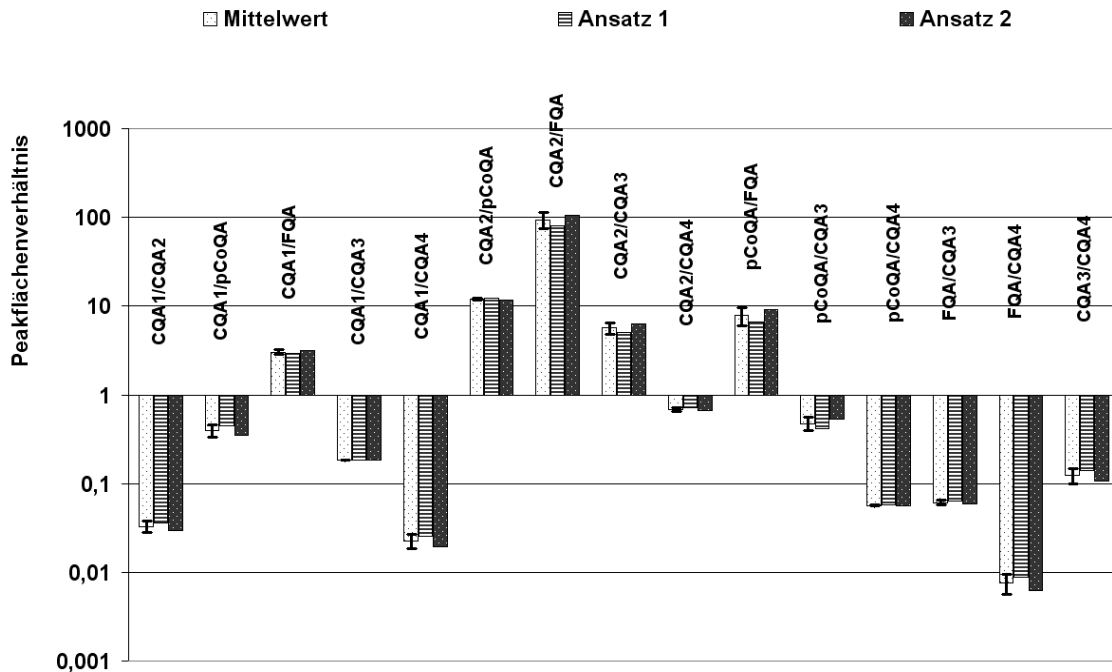


Abbildung E-34: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

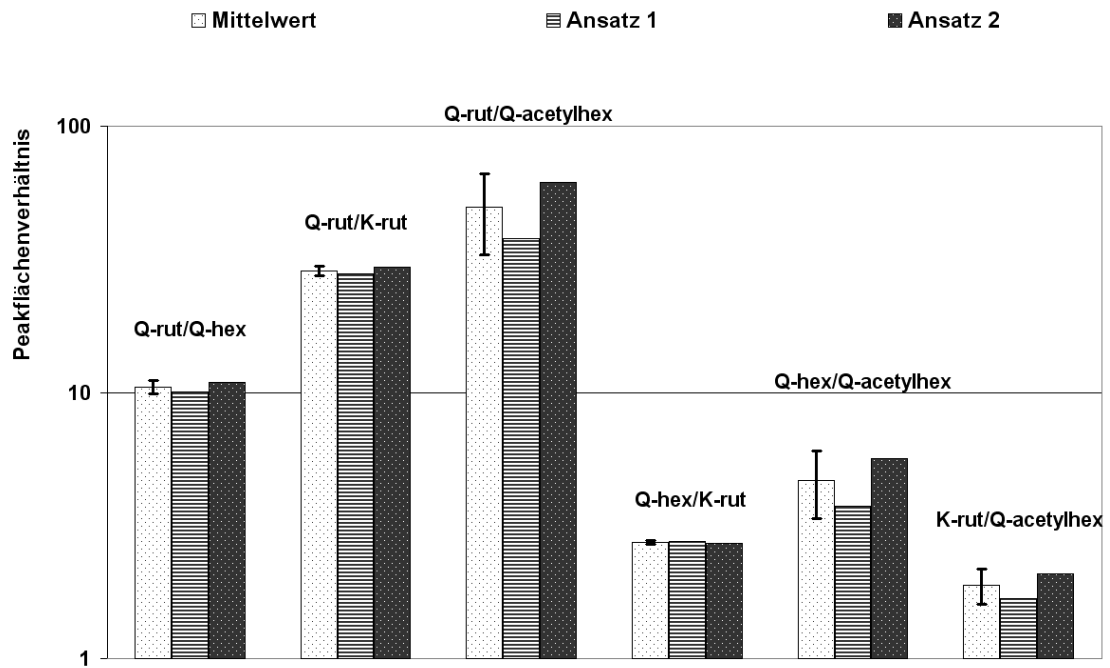


Abbildung E-35: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

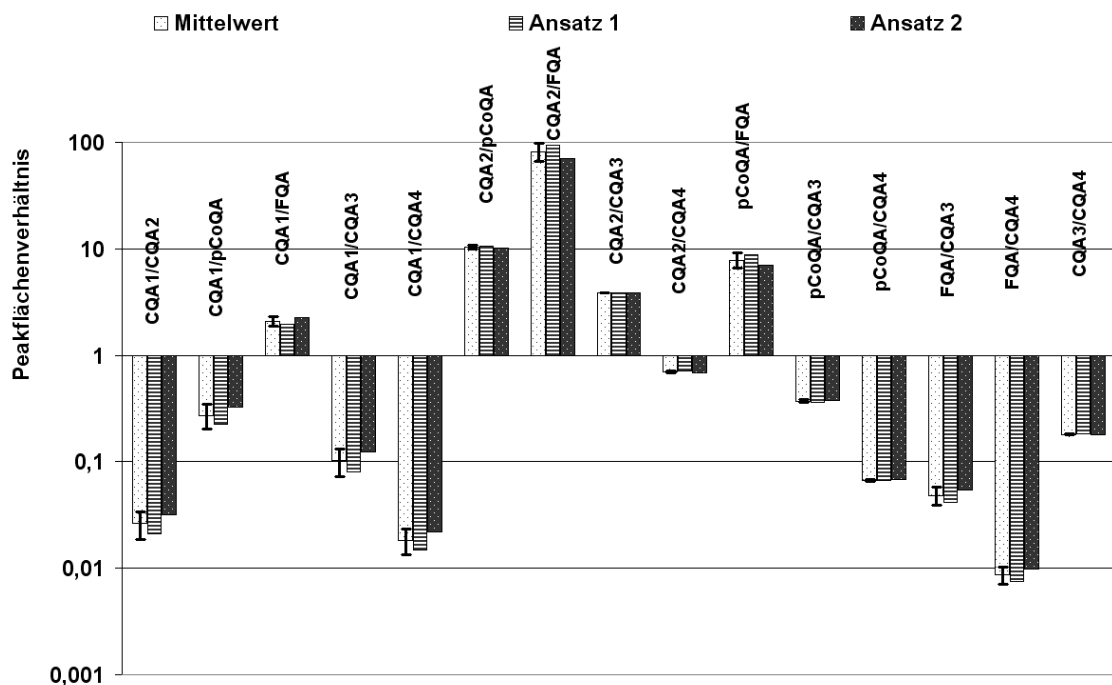


Abbildung E-36: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

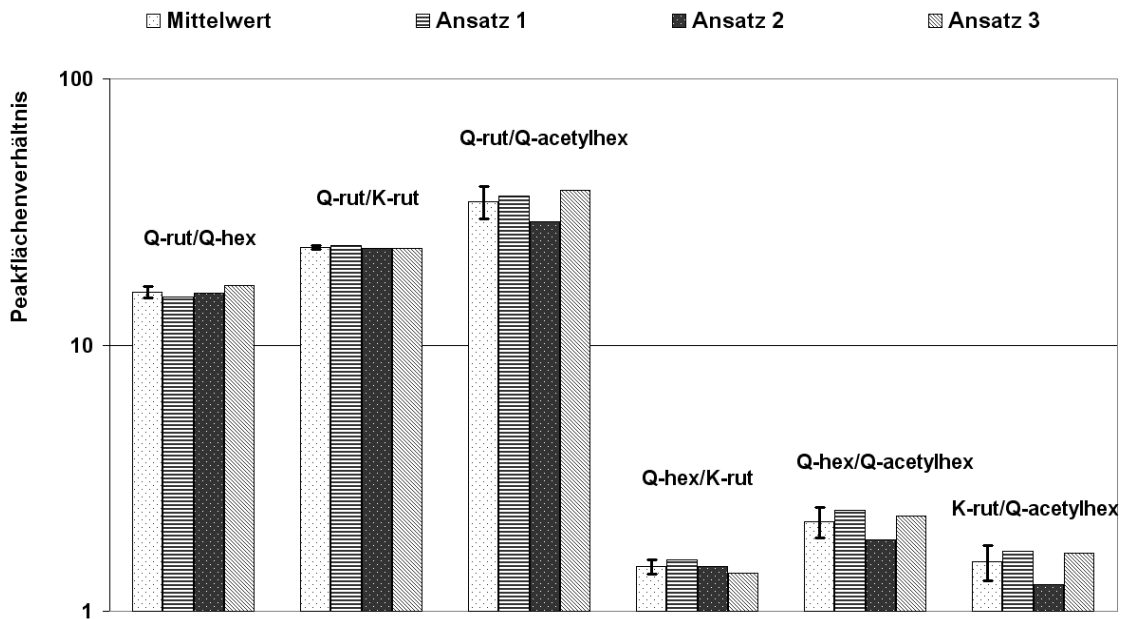


Abbildung E-37: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

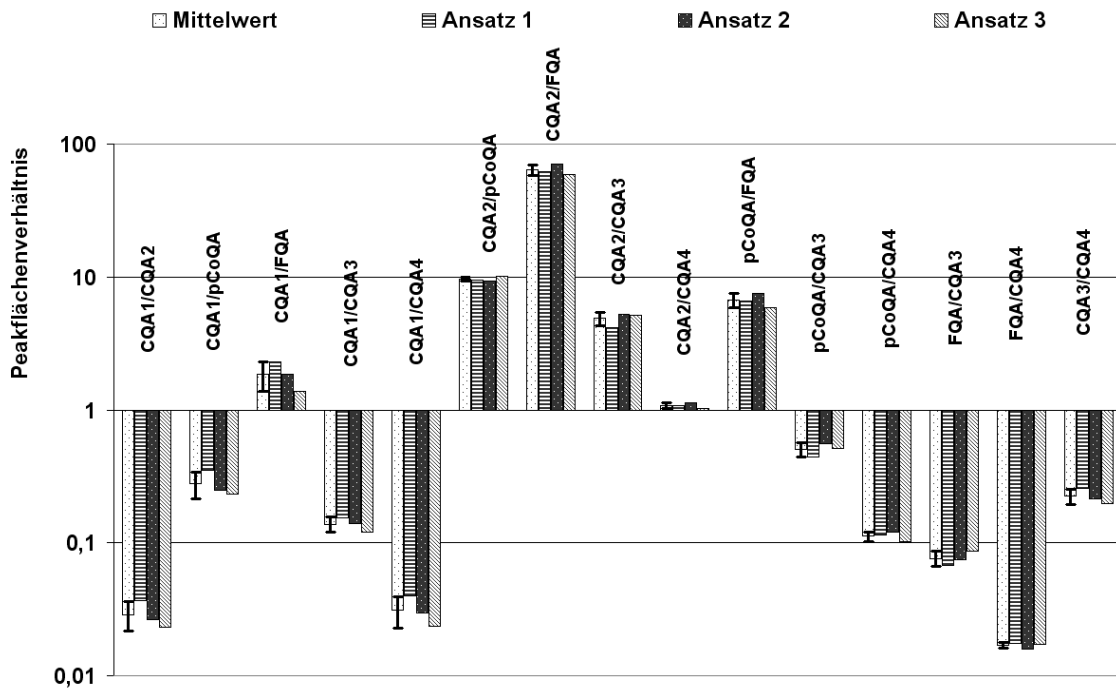


Abbildung E-38: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra“, automatisierte Extraktion

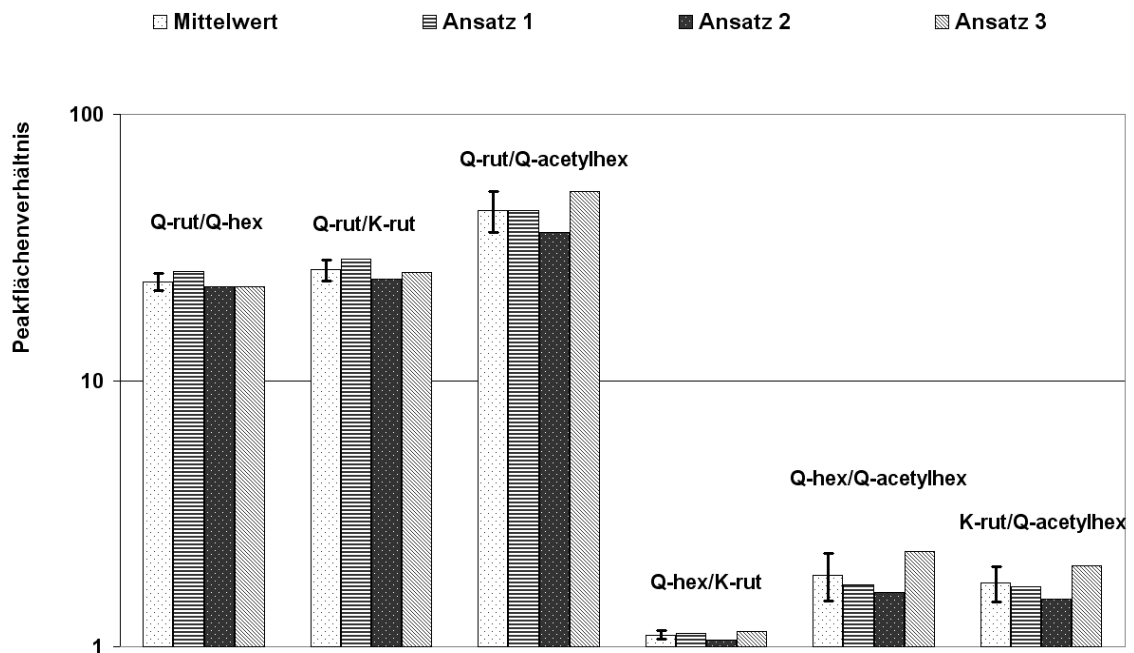


Abbildung E-39: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikosen Konfitüre extra“, automatisierte Extraktion

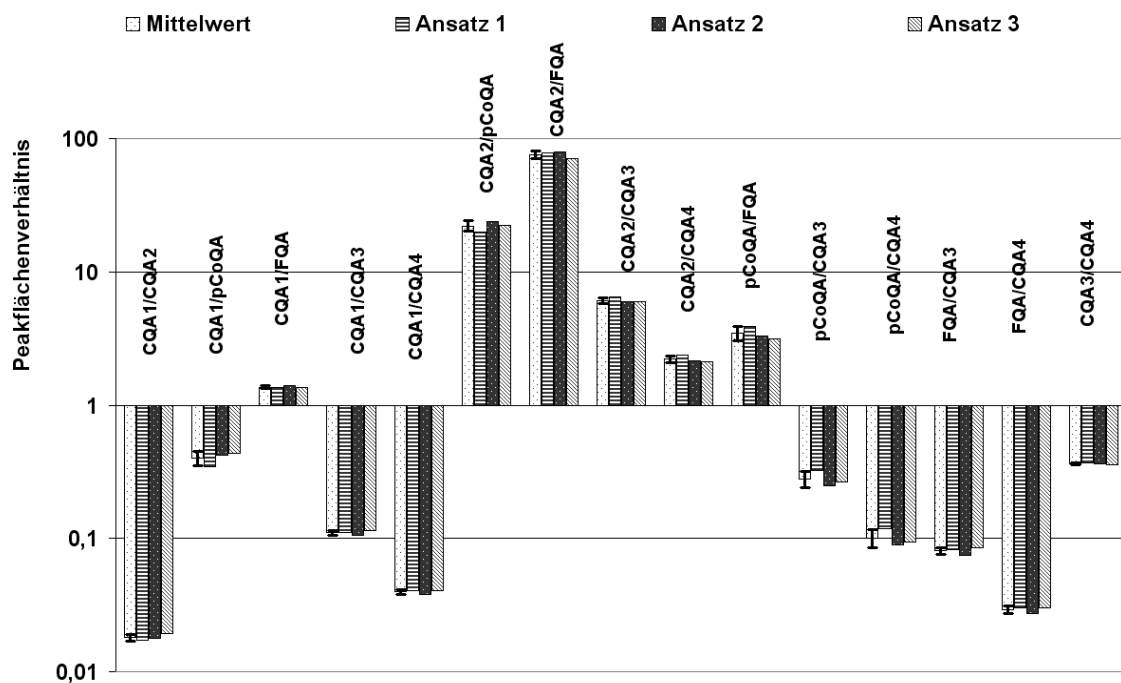


Abbildung E-40: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikosen Konfitüre extra“, automatisierte Extraktion

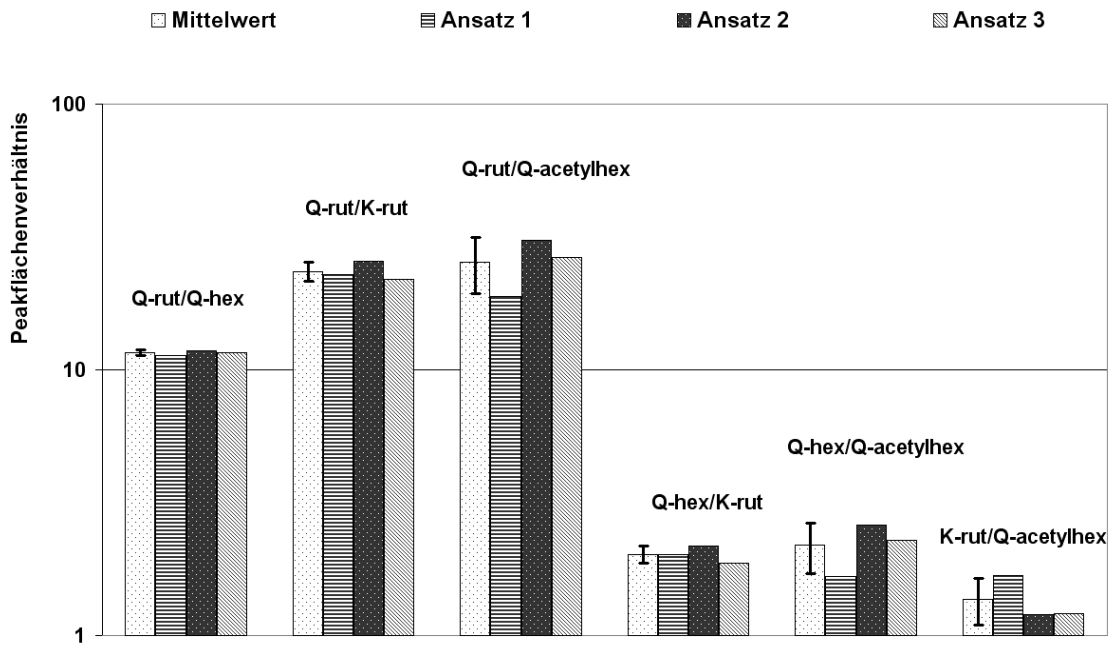


Abbildung E-41: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Classic - Aprikose - Konfitüre extra -“, automatisierte Extraktion

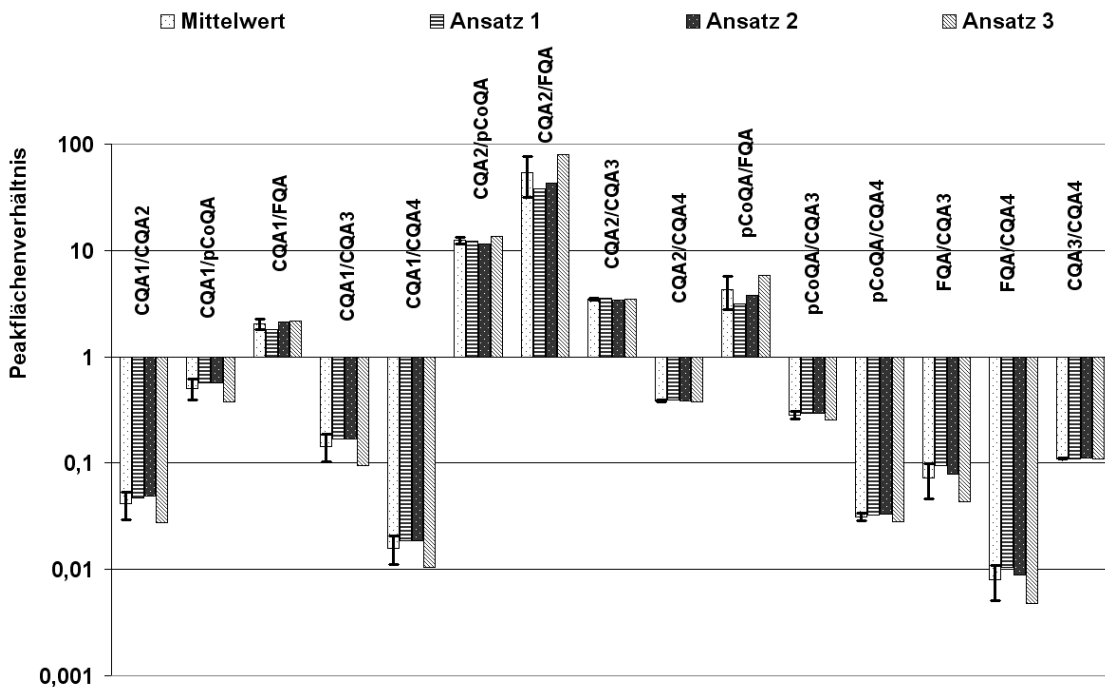


Abbildung E-42: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Classic - Aprikose - Konfitüre extra -“, automatisierte Extraktion

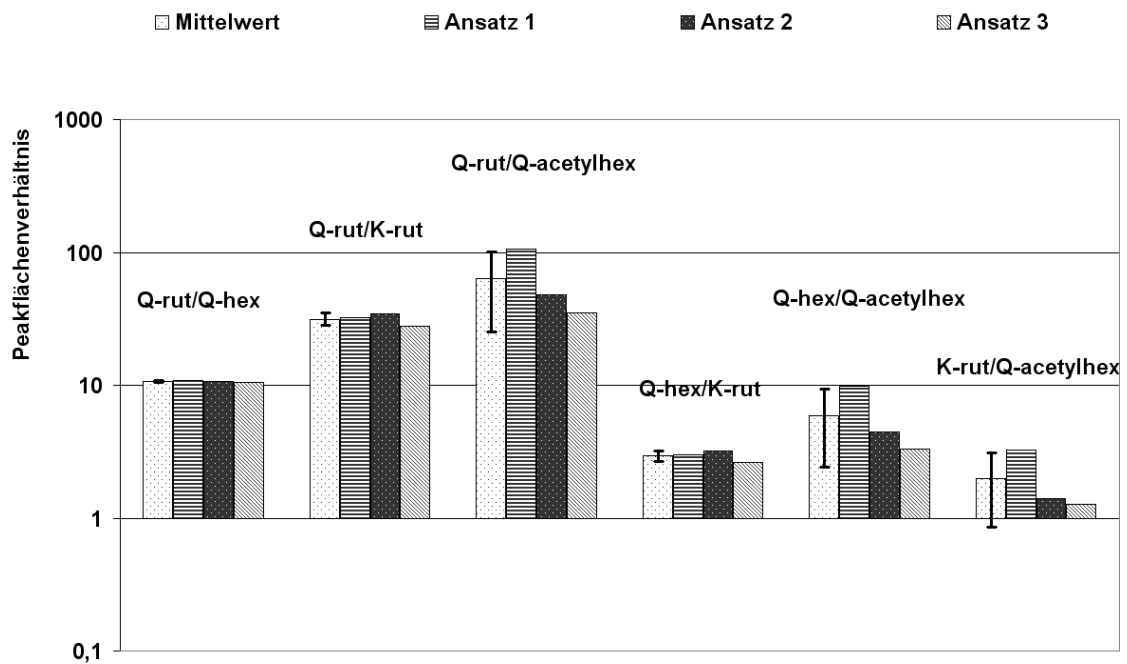


Abbildung E-43: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Grandessa Aprikosenkonfitüre extra“, automatisierte Extraktion

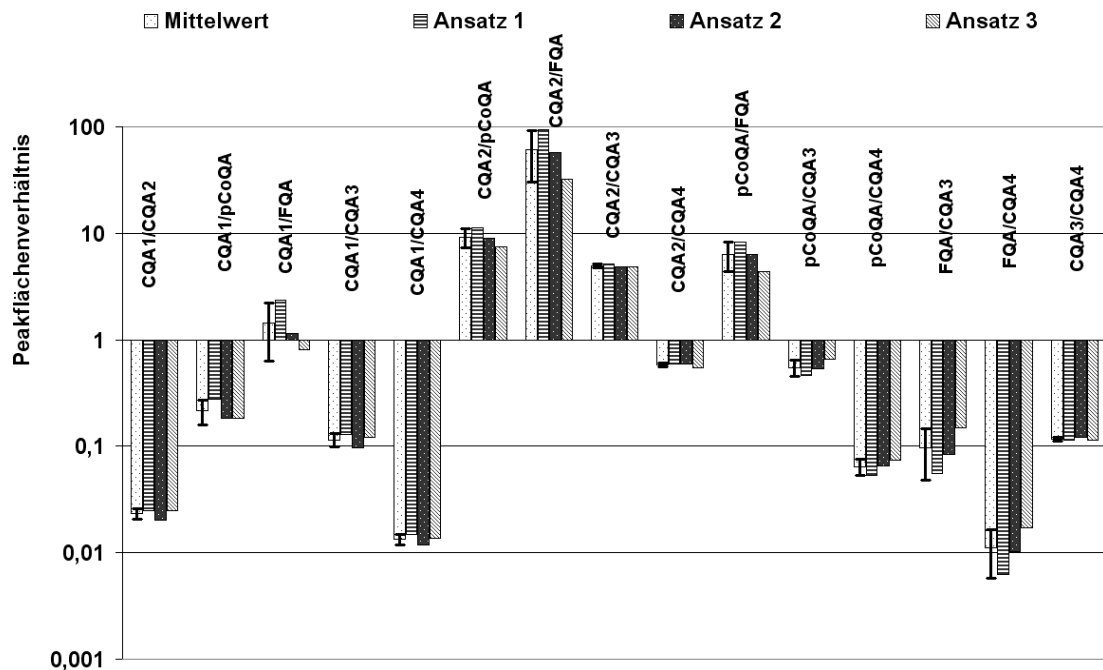


Abbildung E-44: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Grandessa Aprikosenkonfitüre extra“, automatisierte Extraktion

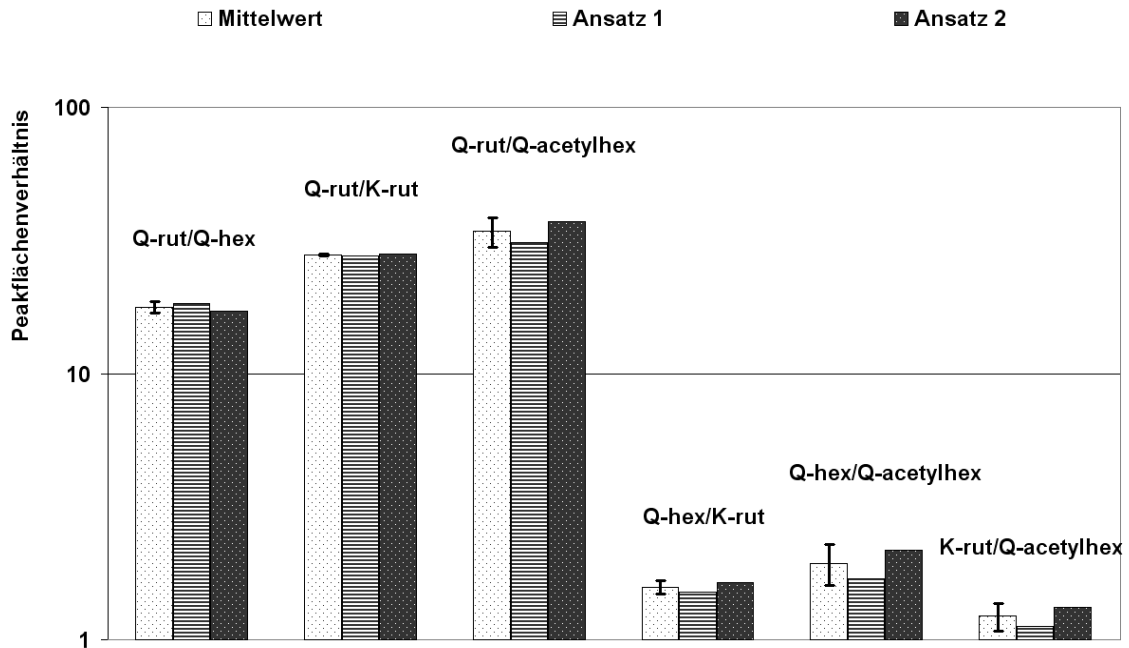


Abbildung E-45: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikozenjam extra“, automatisierte Extraktion

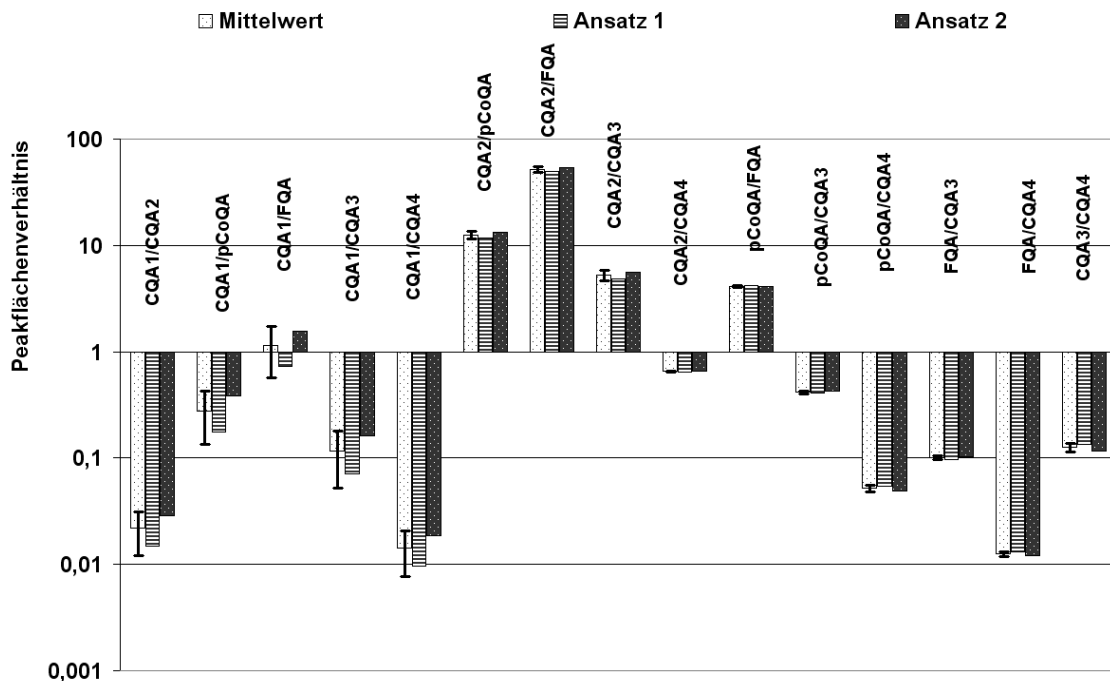


Abbildung E-46: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikozenjam extra“, automatisierte Extraktion

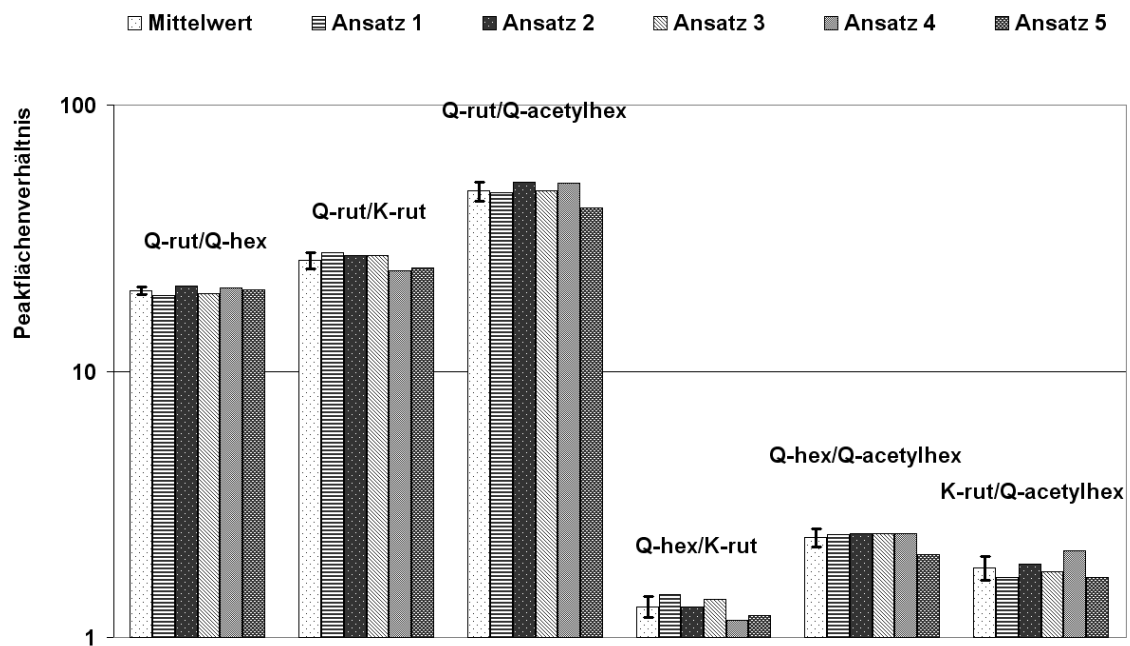


Abbildung E-47: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen“, manuelle Extraktion

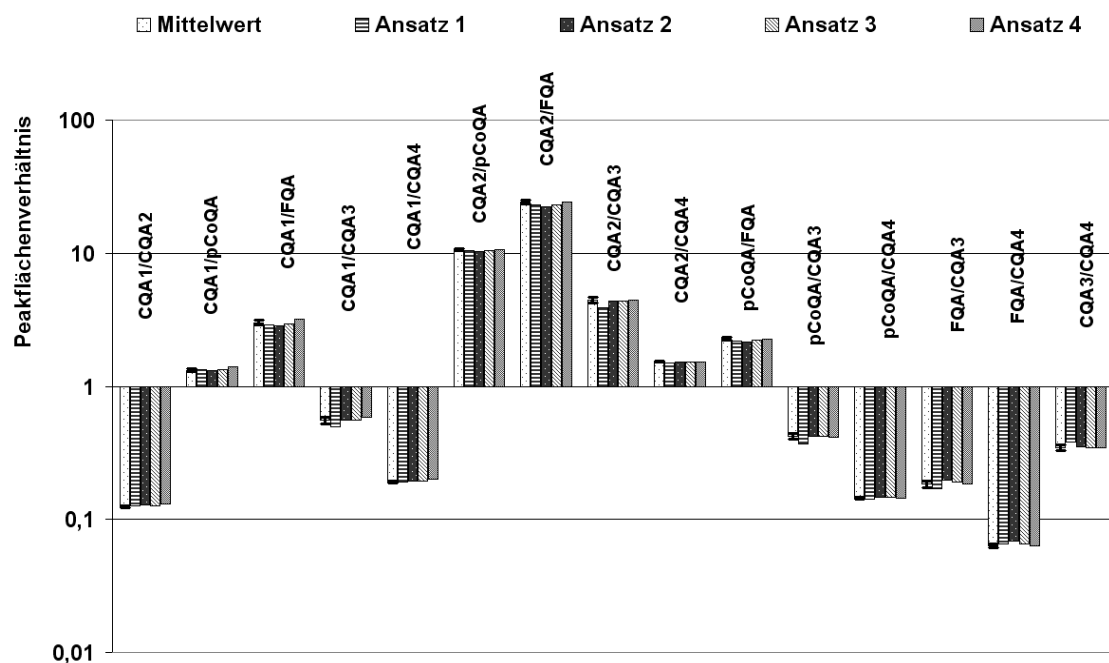


Abbildung E-48: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Symphonie Konfitüre Extra aus Aprikosen“, manuelle Extraktion

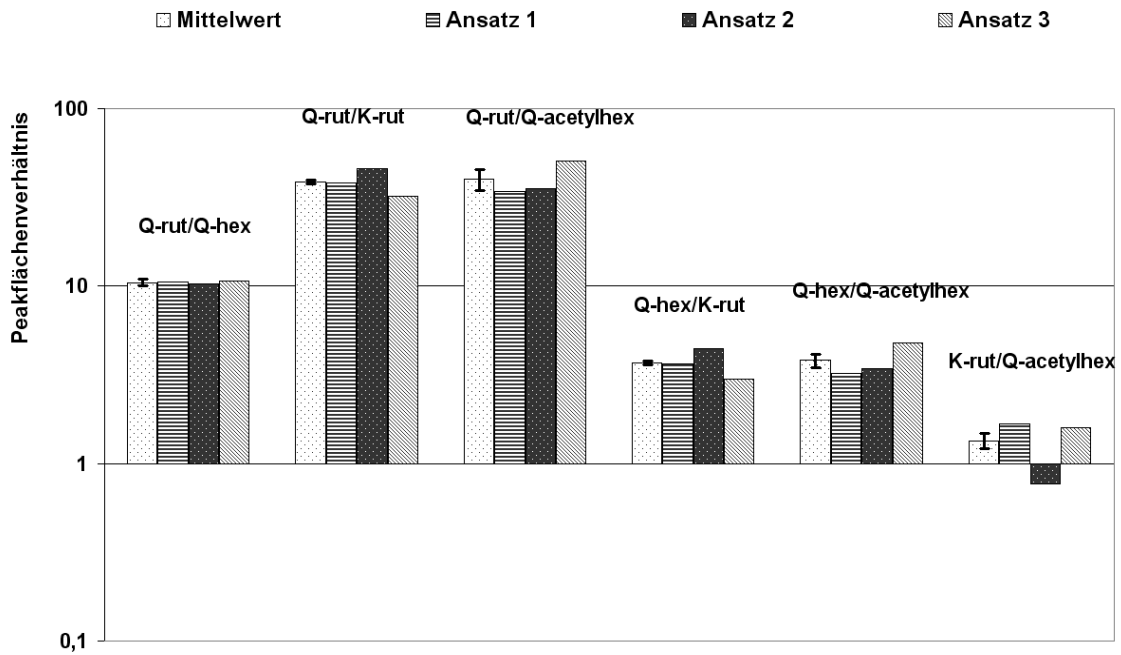


Abbildung E-49: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

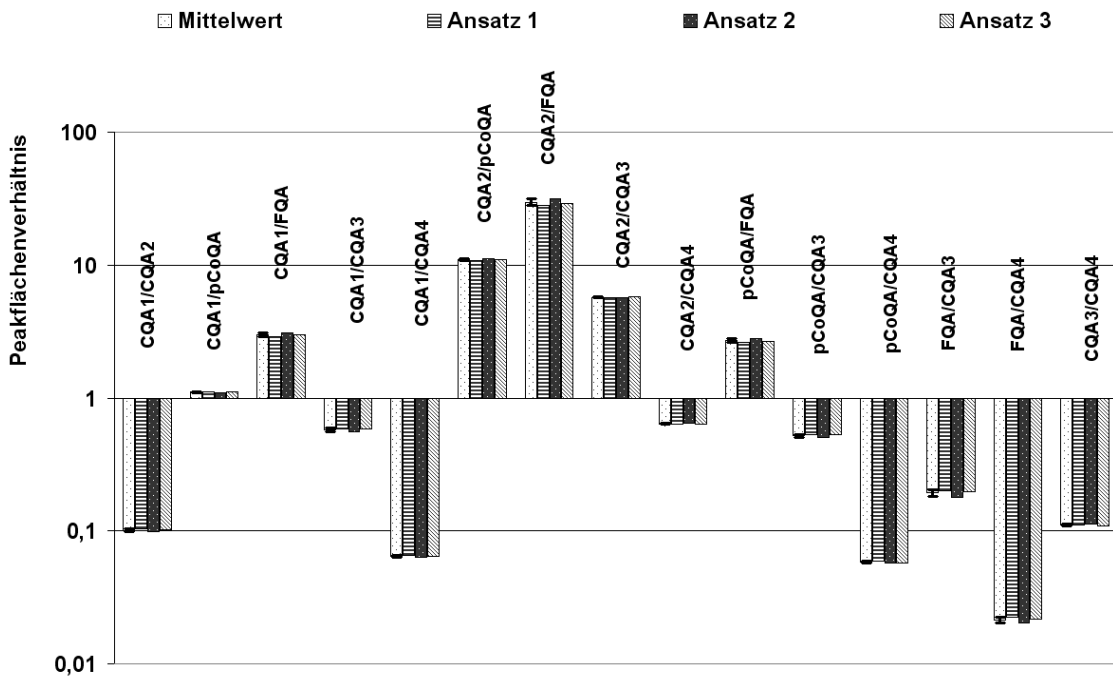


Abbildung E-50: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Schwartau Aprikosen-Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

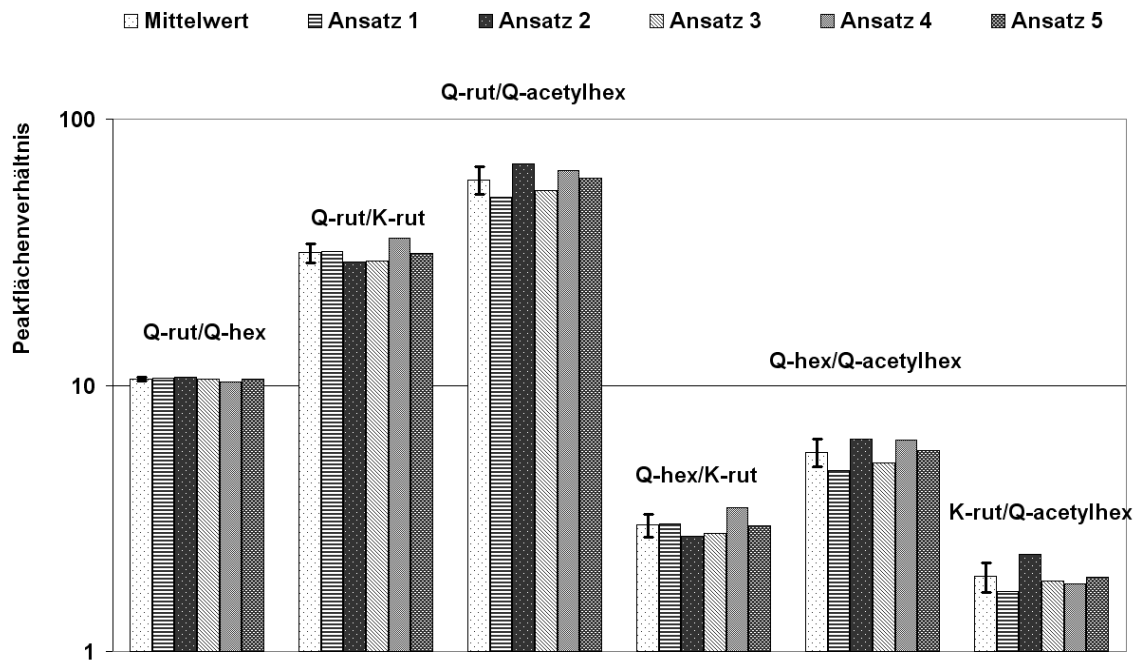


Abbildung E-51: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

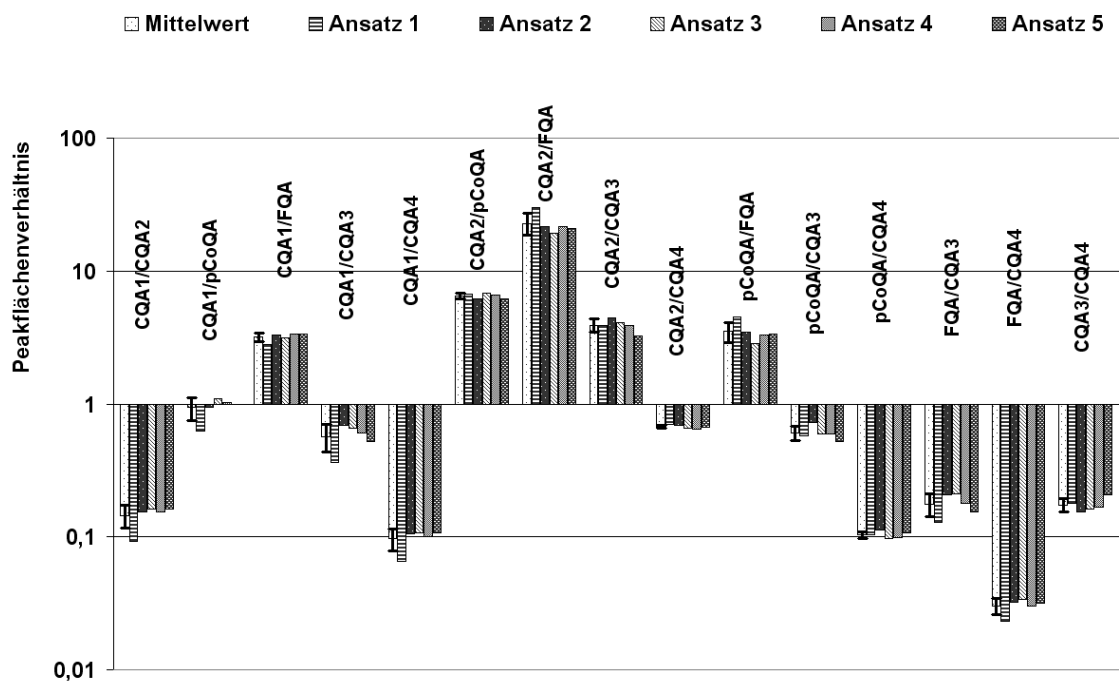


Abbildung E-52: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Gut und Billig Aprikosen-Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

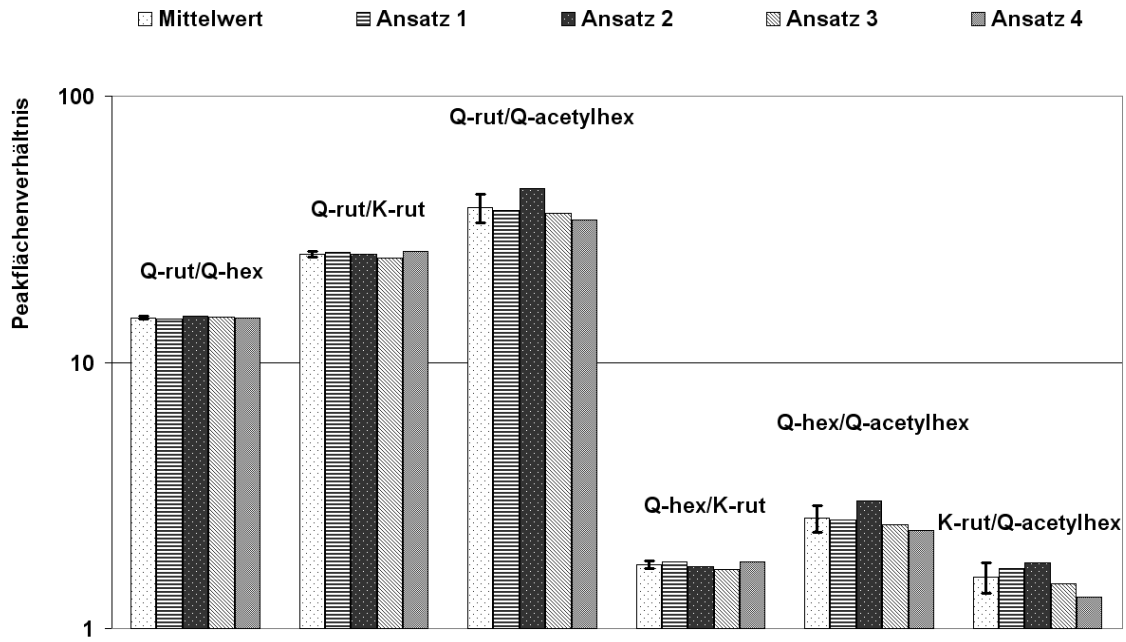


Abbildung E-53: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

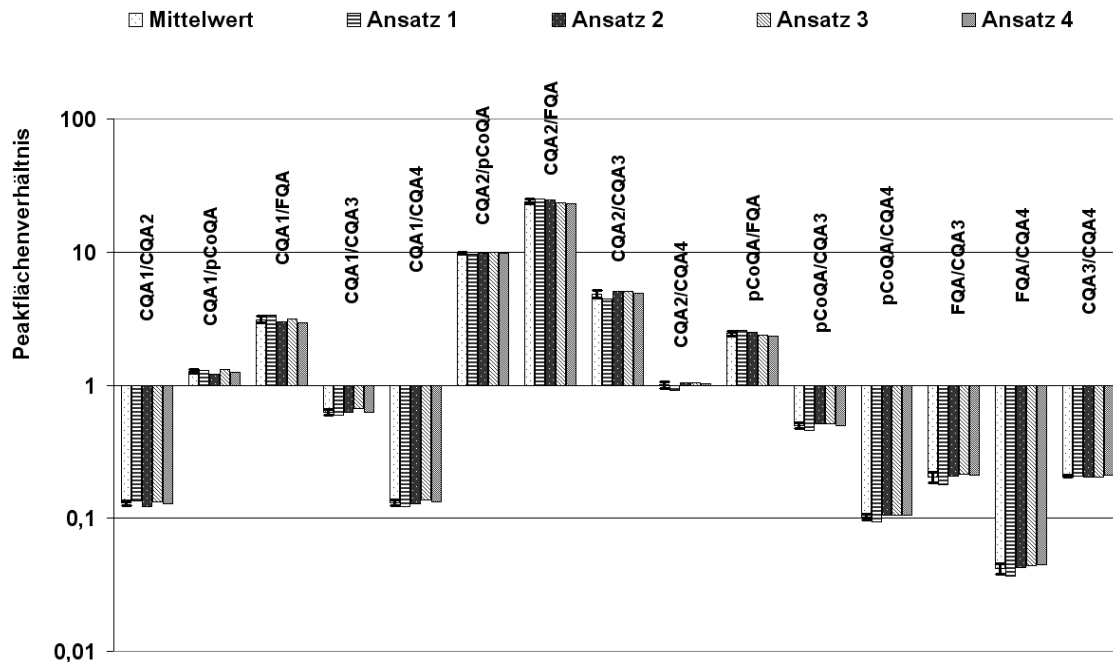


Abbildung E-54: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Primadonna Aprikose (Marille) Konfitüre Extra“, manuelle Extraktion

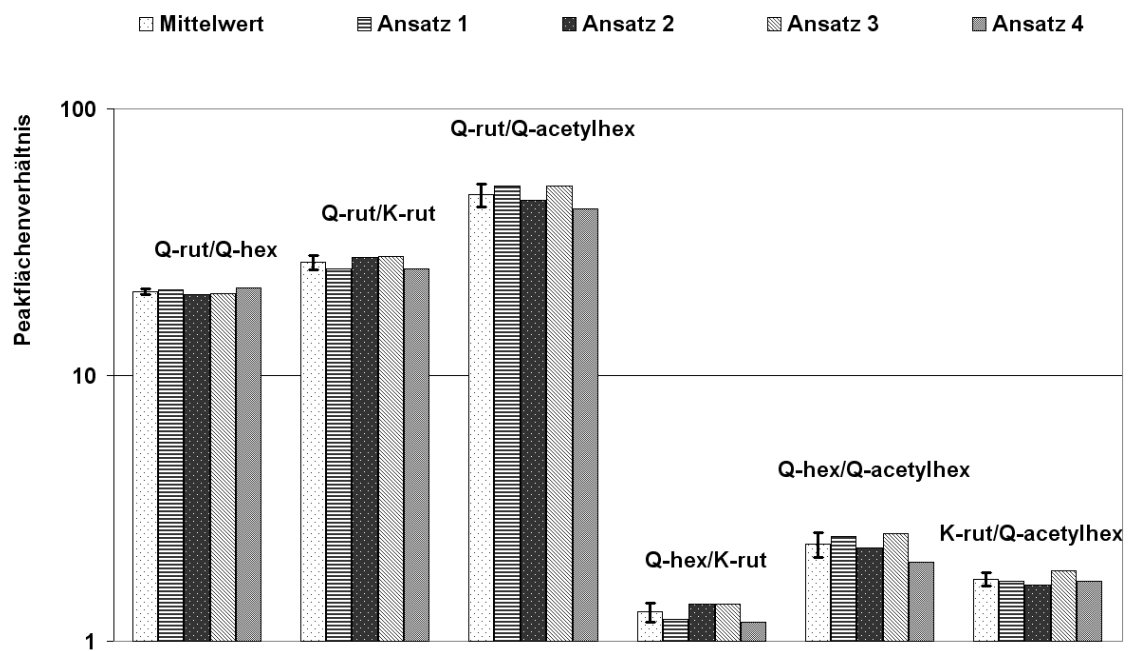


Abbildung E-55: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikosen Konfitüre extra“, manuelle Extraktion

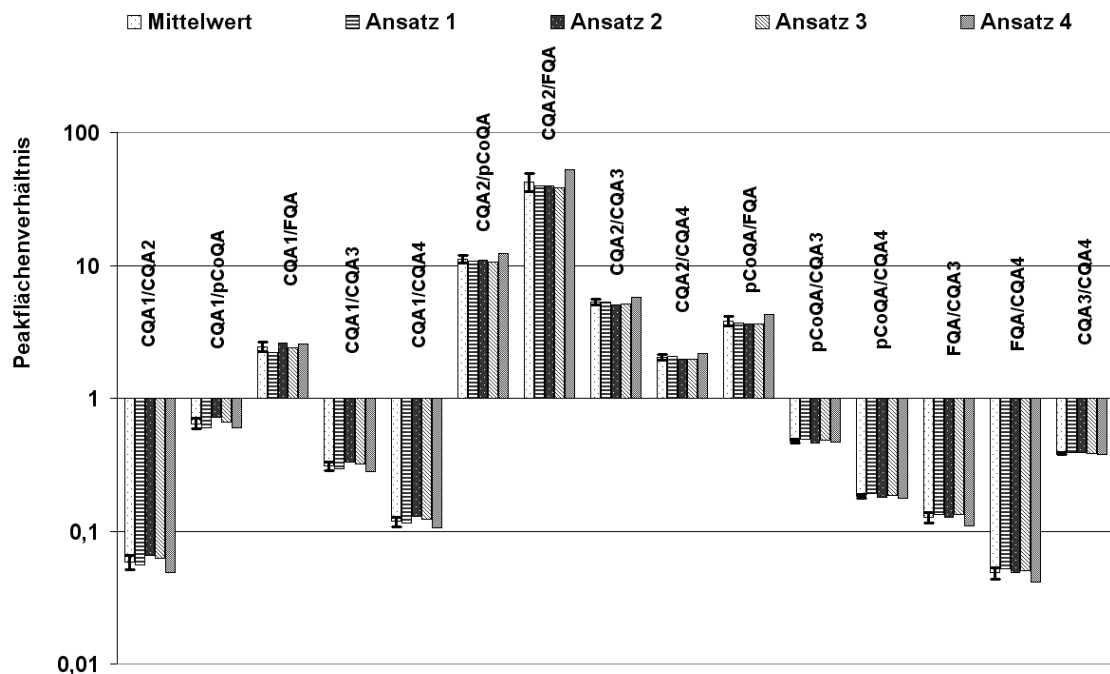


Abbildung E-56: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikosen Konfitüre extra“, manuelle Extraktion

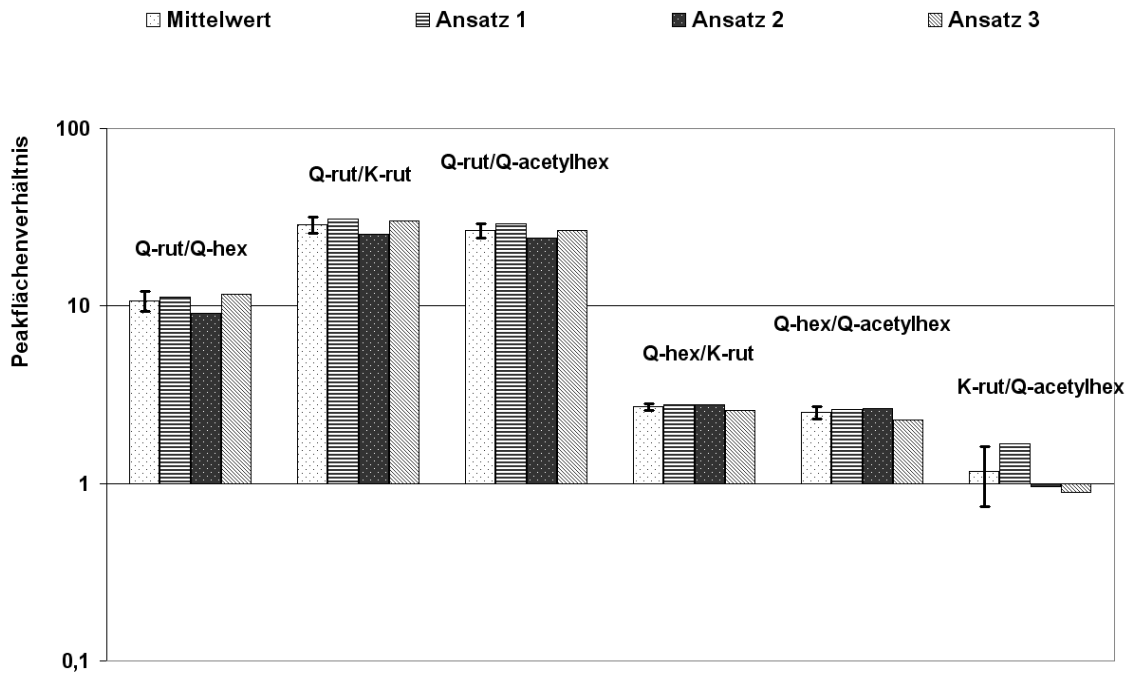


Abbildung E-57: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Classic - Aprikose - Konfitüre extra -“, manuelle Extraktion

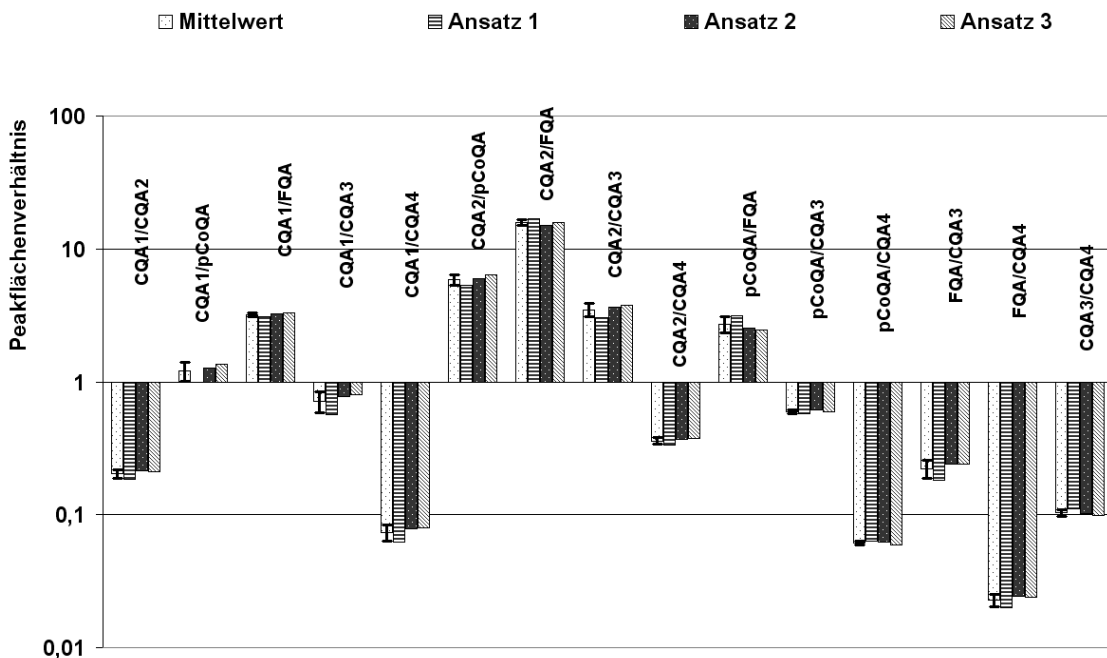


Abbildung E-58: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Classic - Aprikose - Konfitüre extra -“, manuelle Extraktion

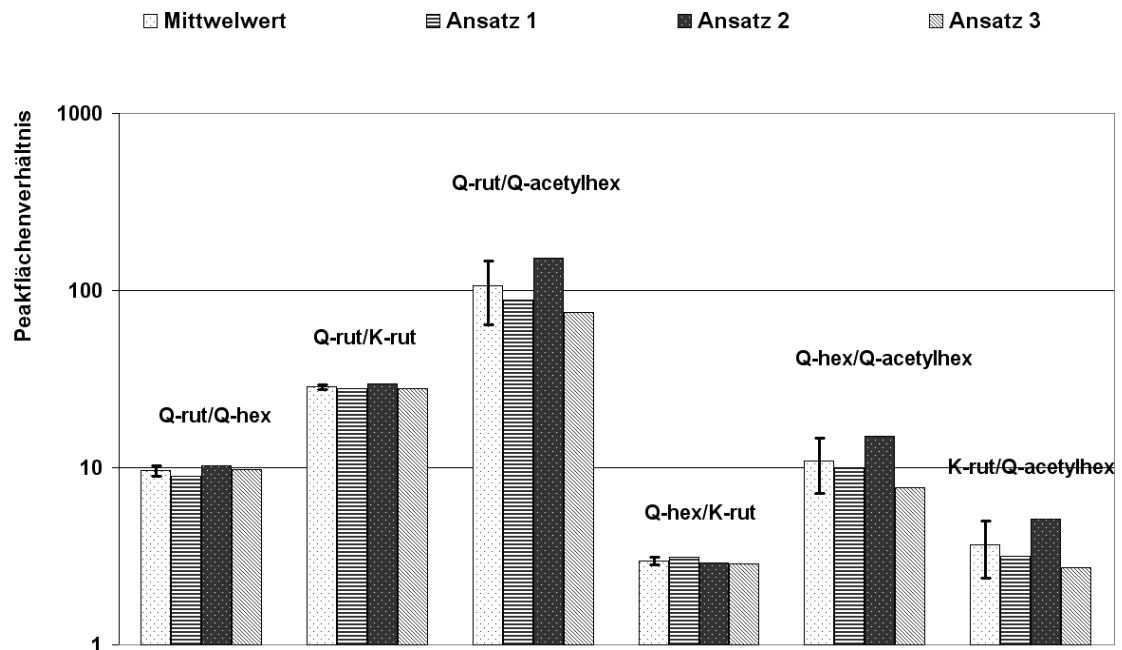


Abbildung E-59: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Grandessa Aprikosenkonfitüre extra“, manuelle Extraktion

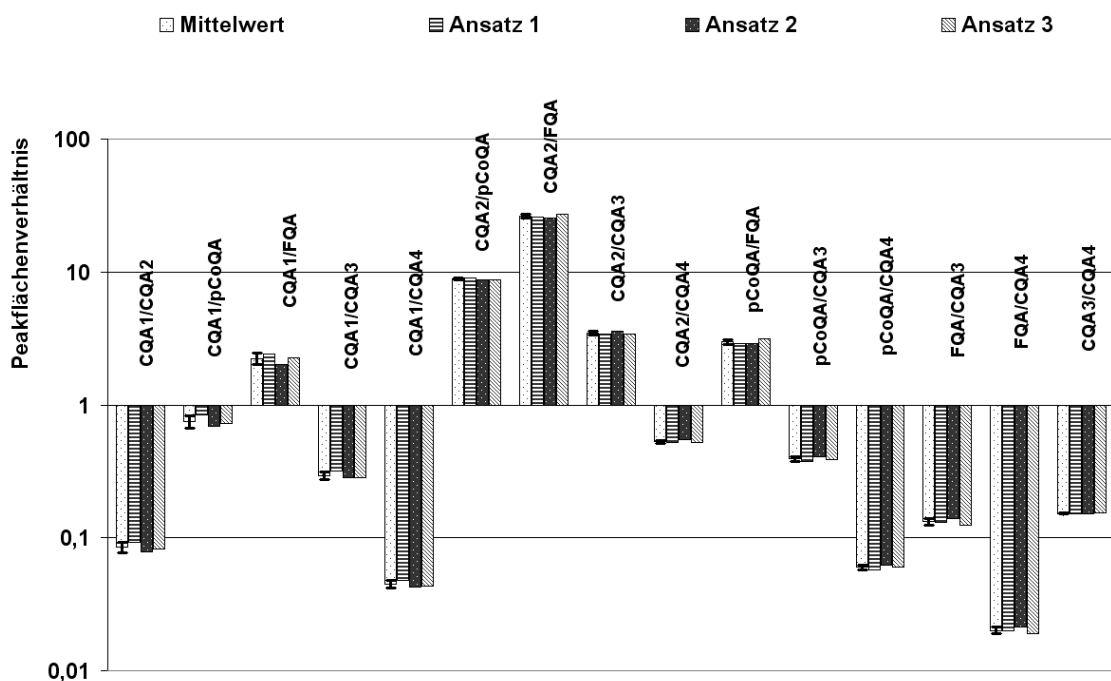


Abbildung E-60: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Grandessa Aprikosenkonfitüre extra“, manuelle Extraktion

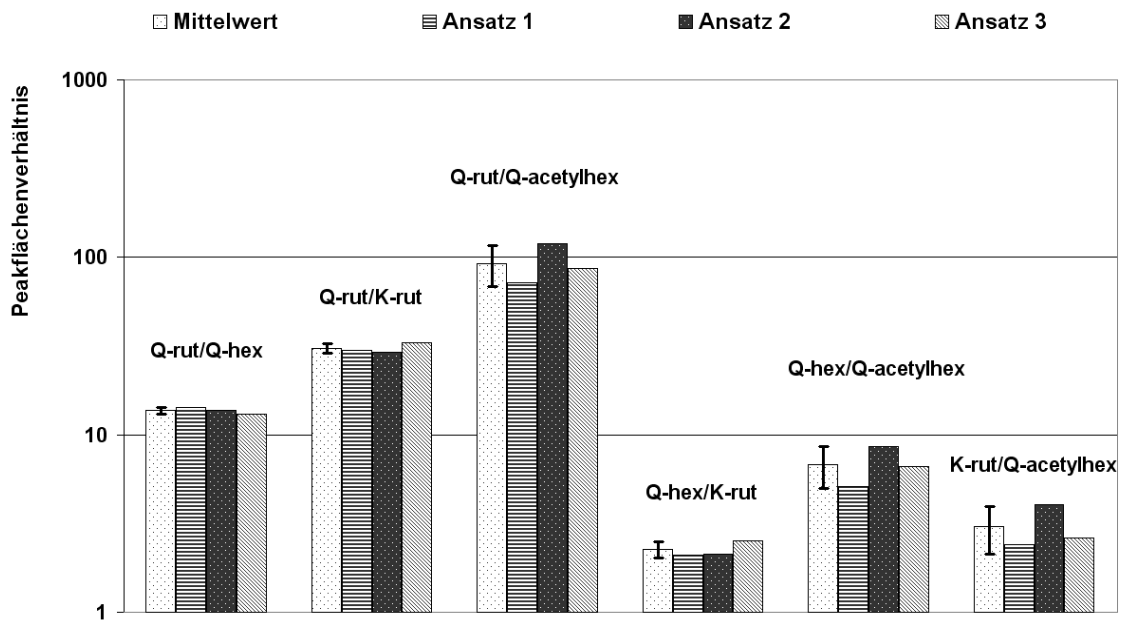


Abbildung E-61: Peakflächenverhältnisse der Flavonolglykoside der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikozenjam extra“, manuelle Extraktion

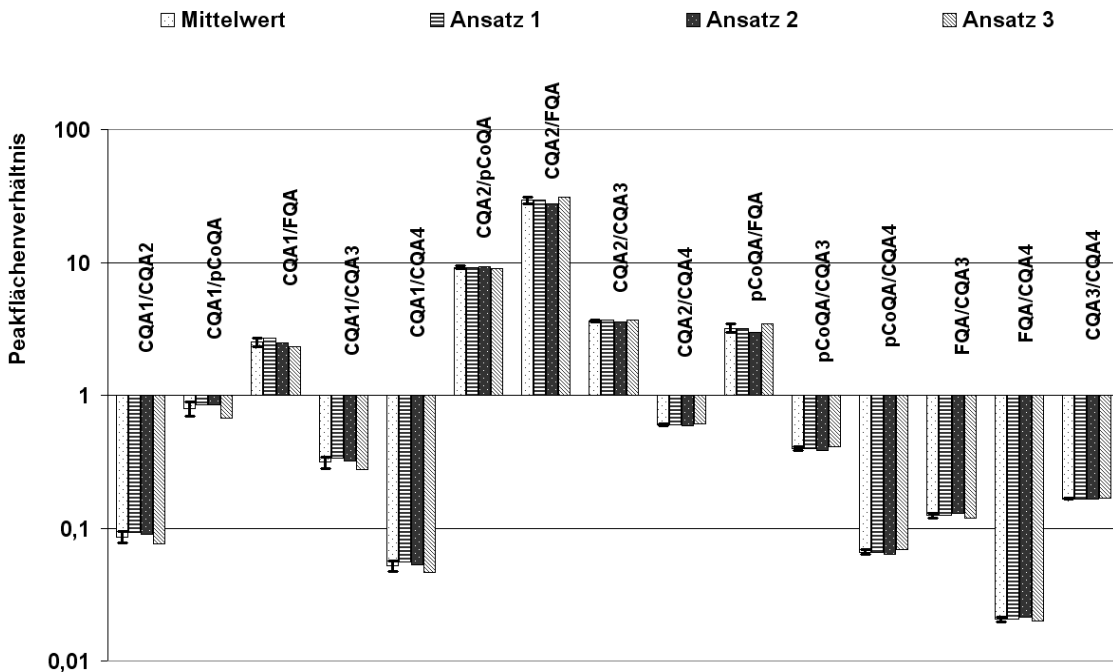


Abbildung E-62: Peakflächenverhältnisse der Phenolcarbonsäuren der Aprikosenkonfitüre „Tamara Aprikozenjam extra“, manuelle Extraktion

Abkürzungen und Konventionen

In dieser Arbeit werden die folgenden **Abkürzungen** verwendet:

Abs	Absorption bei der UV Detektion
ACN	Acetonitril
API	Atmospheric Pressure Ionization
ASE	Accelerated Solvent Extraction (Beschleunigte Lösungsmittlextraktion)
ASPEC	Automated Sample Preparation with Extraction Cartridges
AU	Absorption Units (Absorptions-Einheiten)
Fla	Catechin
CQA	Caffeoylchinasäure
DAD	Diode Array Detection (Diodenarray-Detektion)
DMSO	Dimethylsulfoxid
ESI	Electrospray Interface
FA	Formic Acid (Ameisensäure)
FQA	Feruloylchinasäure
Hex	Hexose
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie)
HPLC-MS	Kopplung von HPLC und MS
K-rut	Kämpferolrutosid
LC	Liquid Chromatography
LCMS	Kopplung von HPLC und MS
MHD	Mindesthaltbarkeitsdatum
m/z	Masse/Ladungsverhältnis
MeOH	Methanol
MS	Mass Spectrometry (Massenspektrometrie)

Abkürzungen und Konventionen

MS ²	Fragmentspektrum
MS ³	Fragmentspektrum eines Produkt-Ions aus einem MS ² -Fragmentspektrum
nn	nicht nachweisbar
nq	nicht quantifizierbar
E-Nr.	Eingangsnummer
pCoQA	para-Coumaroylchinasäure
Q-acetylhex	Quercetinacetylhexosid
Q-hex	Quercetinhexosid
Q-rut	Quercetinrutinosid
RT	Retention Time (Retentionszeit)
Rut	Rutinose
Rutin	Quercetinrutinosid
s	Signal/Noise
SPE	Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion)
TFA	Trifluoressigsäure
UV	Ultraviolett

Angabe der Peakflächenverhältnisse

Eine kurze und eindeutige Angabe von Peakflächenverhältnissen war in dieser Arbeit für die Beschriftung in Balkendiagrammen zur Darstellung der Verhältnisse erforderlich. Daher wurden Abkürzungen für den Verbindungsnamen und Ziffern, die der Retentionsreihenfolge in den Chromatogrammen der nachfolgenden Abbildungen F-1 und F-2 entsprechen, gewählt.

Das Peakflächenverhältnis CQA1/CQA2 wäre demnach:

Peakfläche von 3-Caffeoylchinasäure (RT 15.00 min.) zu Peakfläche Caffeoylchinasäure (RT 18.23 min.):

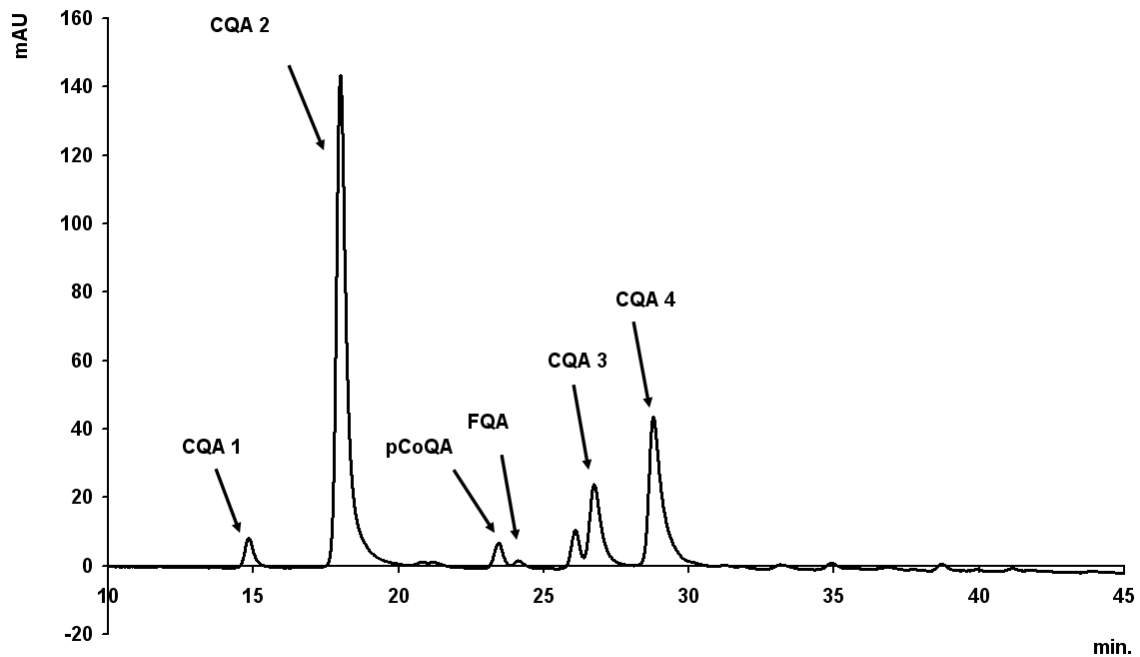


Abbildung F-1: Chromatogramm eines Aprikosenfestphaseneluates bei einer Wellenlänge von 310 nm

Tabelle F-1 Phenolcarbonsäuren für die Berechnung von Peakflächenverhältnissen sowie deren Abkürzungen

RT (min)	Substanz	Abkürzung
15,00	3-Caffeoylchinasäure	CQA 1
18,23	3- Caffeoylchinasäure	CQA 2
23,65	3-pCoumaroylchinasäure	pCoQA
24,28	3-Feruloylchinasäure	FQA
26,91	4- Caffeoylchinasäure	CQA 3
28,92	5- Caffeoylchinasäure	CQA 4

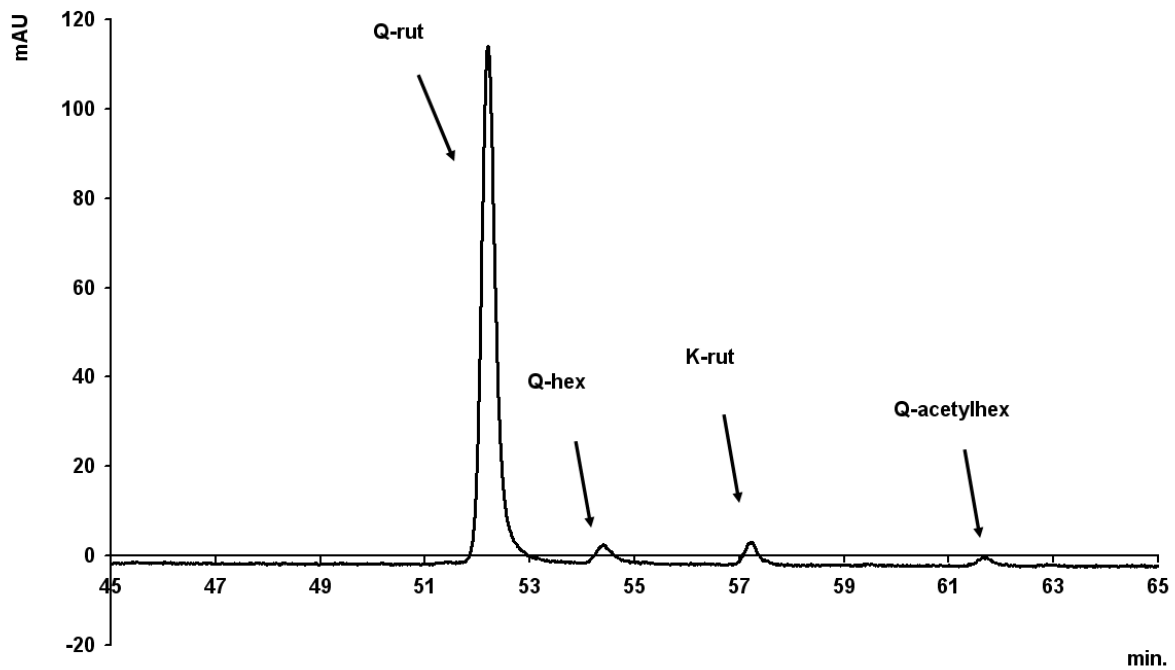


Abbildung F-2: Chromatogramm eines Aprikosenfestphaseneluates bei einer Wellenlänge von 360 nm

Tabelle F-2 Flavonolglykoside für die Berechnung von Peakflächenverhältnissen sowie deren Abkürzungen

RT (min)	Substanz	Abkürzung
52,30	Quercetinrutinosid	Q-rut
54,56	Quercetinhexosid	Q-hex
57,36	Kämpferolrutinosid	K-rut
61,89	Quercetinacetylhexosid	Q-acetylhex

Angabe der Proanthocyanidine

Die Angabe der Proanthocyanidine erfolgte über die monomeren Bausteine. Eine Unterscheidung zwischen Epicatechin und Catechin in den Oligomeren war aufgrund der massenspektrometrischen Daten nicht möglich. Es wurde daher stellvertretend für die beiden Monomere die Abkürzung Fla gewählt.

Beispiel: Fla-Dimer

Die Abkürzung Fla-Dimer steht für ein Proanthocyanidin aus den beiden möglichen Monomeren Catechin und Epicatechin.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1-1:	Polyphenolbiosynthese nach [1]	3
Abbildung 2.1.1.1-1:	Einfluss des Lösungsmittels bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre	14
Abbildung 2.1.1.2-1:	Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol- Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre	15
Abbildung 2.1.1.2-2	Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol- Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenrohware.....	16
Abbildung 2.1.1.3-1	Einfluss des Verhältnisses Extraktionsmittelmenge zu Probengut (Aprikosenkonfitüre)	17
Abbildung 2.1.1.4-1	Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von Aprikosenkonfitüre	18
Abbildung 2.1.2.1-1	Einfluss des Methanolanteils im Extraktionsmittelgemisch (Methanol- Wasser) bei der Extraktion von Aprikosenrohware mittels ASE	20
Abbildung 2.1.2.2-1	Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von 1 g Aprikosenrohware mittels ASE	22
Abbildung 2.1.2.2-2	Bestimmung der erforderlichen Anzahl an Extraktionszyklen bei der Extraktion von 2 g Aprikosenrohware mittels ASE	22
Abbildung 2.1.2.3-1	Einfluss der Extraktionstemperatur auf die Extraktion von Aprikosenkonfitüre mittels ASE.....	23
Abbildung 2.1.3.1-1	Bestimmung der Kartuschenkapazität mittels ASPEC	25
Abbildung 2.1.3.2-1	Elutionsverhalten von Caffeoylchinasäure und Rutin bei der SPE von Polyamid mittels ASPEC	26
Abbildung 2.1.3.3-1	Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Festphasenextraktionsmethode mittels ASPEC27	
Abbildung 2.1.3.4-1	Überprüfung der Wiederverwendbarkeit von SPE-Kartuschen für Aprikosenextrakte mittels ASPEC.....	28
Abbildung 2.1.3.5-1	Einfluss des organischen Anteils in der Auftragslösung bei der SPE von Aprikosenextrakten auf Polyamid mittels ASPEC2.1.3.6 Bewertung der bisher angewandten Festphasenextraktionsmethode	29
Abbildung 2.1.3.7-1	Einfluss der Zugabe von Trifluoressigsäure zum Elutionsmittelgemisch bei der SPE von Caffeoylchinasäure und Rutin auf Polyamid mittels ASPEC	31

Abbildung 2.1.3.7-2	Vergleich der Elution von Rutin und Caffeoylchinasäure mit und ohne Zusatz von Trifluoressigsäure im Elutionsmittel bei der SPE auf Polyamid mittels ASPEC.....	32
Abbildung 2.1.3.7-3	Vergleich zweier Aprikosenfestphaseneluates nach einer Standardmethode für Malz und einer auf die Probenmatrix Aprikose optimierten Methode auf Polyamid mittels ASPEC	33
Abbildung 2.1.3.8-1	Lagerstabilität eines Aprikosenfestphaseneluates	34
Abbildung 2.1.3.8-2	Einfluss von thermischer Belastung in unterschiedlich angesäuerten Lösungsmitteln auf Chlorogensäure	35
Abbildung 2.1.3.8-3	Chromatogramme von methanolischen Chlorogensäurestandards mit Trifluoressigsäurezusatz direkt nach Herstellung sowie nach thermischer Belastung	36
Abbildung 2.1.4-1	Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Phenomenex Aqua [®] nach 3.5.3	37
Abbildung 2.1.4-2	Chromatographische Trennung eines Aprikosenfestphaseneluates auf der Ascentis RP-Amide von Supelco [®] , (chromatographische Bedingungen siehe 3.5.3)	39
Abbildung 2.1.5-1	Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Quercetinrutinosid von Polyamid	42
Abbildung 2.1.5-2	Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Caffeoylchinasäure von Polyamid	43
Abbildung 2.1.5-3	Elutionsverlauf bei der Festphasenextraktion von Caffeoylchinasäure und Rutin von C18-Hydra-Material	44
Abbildung 2.1.5-4	Anreicherungsresultat der Phenolcarbonsäuren und der Flavonolglykoside mit einer SPE von C18-Hydra-Material	45
Abbildung 2.2-1	Chromatogramm eines Aprikosenfestphaseneluates bei einer Wellenlänge von 280 nm	48
Abbildung 2.3.1-1	Flavonoidgehalt in Aprikosenrohware definierter Erntejahrgänge und Sorte	54
Abbildung 2.3.1-2	Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt in Aprikosenrohware definierter Erntejahrgänge	55
Abbildung 2.3.1-3	Flavonoidgehalt in Aprikosenkonfitüre Extra	56
Abbildung 2.3.1-4	Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt in Aprikosenkonfitüre Extra	57

Abbildung 2.3.2-1	Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt in Aprikosenrohware definierter Sorte.....	58
Abbildung 2.3.2-2	Prozentuale Anteile der einzelnen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt in Aprikosenkonfitüre	59
Abbildung 2.3.3-1	Prozentuale Anteile der einzelnen Phenolcarbonsäuren am Gesamtphenolcarbonsäuregehalt in Aprikosenrohware.....	60
Abbildung 2.3.3-2	Prozentuale Anteile der einzelnen Phenolcarbonsäuren am Gesamtphenolcarbonsäuregehalt in Aprikosenkonfitüre	61
Abbildung 2.3.4-1	Prozentuale Anteile einzelner Proanthocyanidine und Flavan-3-ole am Gesamtphenolgehalt dieser Verbindungsgruppen in Aprikosenrohware.....	62
Abbildung 2.4.1-1	Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse zur Sortendifferenzierung	64
Abbildung 2.4.1-2	Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse zur Sortendifferenzierung ..	66
Abbildung 2.4.1-3	Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen aus massenspektrometrischer und UV-Detektion zur Sortendifferenzierung.....	67
Abbildung 2.4.1-4	Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen aus massenspektrometrischer und UV-Detektion zur Sortendifferenzierung.....	68
Abbildung 2.4.2-1	Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen der Sorte Canino	69
Abbildung 2.4.2-2	Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen der Sorte Golden Bulida	69
Abbildung 2.4.2-3	Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen der Sorte Canino.....	70
Abbildung 2.4.2-4	Überprüfung der Jahrgangsunabhängigkeit von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen der Sorte Golden Bulida.....	71
Abbildung 2.4.3-1	Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren	72
Abbildung 2.4.3-2	Vergleich von Flavonolglykosidpeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren	72
Abbildung 2.4.3-3	Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren	74

Abbildung 2.4.3-4	Vergleich von Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnissen handelsüblicher Aprikosenkonfitüren.....	75
Abbildung 2.4.4-1	Berechnete Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350).....	77
Abbildung 2.4.4-2	Berechnete Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350).....	77
Abbildung 2.4.4-3	Bestimmte Flavonolglykosidpeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350).....	78
Abbildung 2.4.4-4	Bestimmte Phenolcarbonsäurepeakflächenverhältnisse von Mischungen der Sorten Golden Bulida des Erntejahrganges 2004 (E 110628) und der Sorte Canino des Erntejahrganges 2004 (E 103350).....	79
Abbildung 2.5.1-1	Vergleich des Gesamtflavonoidgehaltes von Aprikosenkonfitüre extra mit einem Mindestfruchtanteil von 50% bei bekannter anteilmäßiger Zusammensetzung der Erntejahrgänge und Sorten der verwendeten Aprikosenrohwaren	81
Abbildung 2.5.2-1	Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Flavonoidgruppen am Gesamtflavonoidgehalt bei Aprikosenkonfitüre	82
Abbildung 2.5.2-2	Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Flavonolglykoside am Gesamtflavonolglykosidgehalt bei Aprikosenkonfitüre	83
Abbildung 2.5.2-3	Vergleich von berechneten und realen Mengenanteilen der aprikosenspezifischen Phenolcarbonsäuren am Gesamtgesamtphenolcarbonsäuregehalt bei Aprikosenkonfitüre	84
Abbildung 2.5.3-1	Vergleich von berechneten und in Konfitüre sowie Rohwarenmischungen erzielten Peakflächenverhältnissen der Gruppe der Flavonolglykoside	85
Abbildung 2.5.3-2	Vergleich von berechneten und in Konfitüre sowie Rohwarenmischungen erzielten Peakflächenverhältnissen der Gruppe der Phenolcarbonsäuren.....	86

Abbildung 2.5.3-3	Funktion des Verhältnisses Quercetinrutosid zu Kämpferolrutosid für ein Mischungsmodell der Sorten Canino und Golden Bulida bestimmter Jahrgänge.....	87
Abbildung 2.5.3-4	Funktion des Verhältnisses Caffeoylehinasäure 2 zu Caffeoylehinasäure 4 für ein Mischungsmodell der Sorten Canino und Golden Bulida bestimmter Jahrgänge	88
Abbildung 2.5.3-5	Vorschlag der Sortenanteile von Canino und Golden Bulida im Fruchtgehalt für Aprikosenkonfitüren	89
Abbildung 2.6-1	¹³ C-Stabilisotopenmuster (d ¹³ CVPDB) von Aprikosenrohwaren und Aprikosenkonfitüren	90
Abbildung 2.6-2	¹⁸ O- und ¹³ C-Stabilisotopenmuster von isoliertem Rutin aus Aprikosen spanischer und marokkanischer Herkunft.....	91
Abbildung 2.7-1	Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre	97
Abbildung 3.5.3-1	Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“	120
Abbildung 3.5.3-2	Gradientenprogramm für die Säule „Ascentis“	121
Abbildung 3.6.1-1	Regressionsgerade von Rutin.....	124
Abbildung 3.6.1-2	Regressionsgerade von Chlorogensäure	125
Abbildung 3.6.1-3	Regressionsgerade von Epicatechin.....	126

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1.1.4-1	Optimale Extraktionsparameter für die manuelle Extraktion	19
Tabelle 2.1.4-1	Beschriftung der chromatographischen Trennung von Abbildung 2.1.4-1	38
Tabelle 2.1.4-2	Beschriftung der chromatographischen Trennung von Abbildung 2.1.4-2	39
Tabelle 2.2-1	Bisher in Aprikosen und Aprikosenkonfitüre beschriebene phenolische Substanzen	47
Tabelle 2.2-2	Beschriftung des Chromatogramms eines Aprikosenfestphaseneluates aus Abbildung 2.2-1	49
Tabelle 3.1.1-1	Lösungsmittel für die automatisierte und manuelle Extraktion	99
Tabelle 3.1.1-2	Lösungsmittel für die Festphasenelution	99
Tabelle 3.1.1-3	Lösungsmittel für die RP-HPLC-UV-DAD-MS ⁿ -Untersuchungen	100
Tabelle 3.1.1-4	Lösungsmittel für die RP-HPLC-UV-DAD -Untersuchungen	100
Tabelle 3.1.2-1	Referenzsubstanzen	101
Tabelle 3.1.4-1	Phasenmaterialien und Kartuschengrößen für die Festphasenextraktion	102
Tabelle 3.1.5-1	Analytische Trennsäulen	102
Tabelle 3.2.1-1	Probenmaterial: Aprikosenrohwaren	104
Tabelle 3.2.2-1	Probenmaterial: Aprikosenkonfitüren	105
Tabelle 3.3.1.7-1	Bedingungen der Zentrifugation im Rahmen der manuellen Extraktion	108
Tabelle 3.3.1.8-1	Einstellungen des Rotationsverdampfers im Rahmen der manuellen Extraktion	109
Tabelle 3.3.2.1-1	Variable Einstellungsbereiche der Extraktionsparameter der beschleunigten Lösungsmittlextraktion	109
Tabelle 3.3.2.3-1	ASE-Extraktionsbedingungen für die Optimierung des Methanol- anteils im Extraktionsmittelgemisch	110
Tabelle 3.3.2.4-1	ASE-Extraktionsbedingungen für die Untersuchung des Einflusses der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen	111
Tabelle 3.3.2.5-1	ASE-Extraktionsbedingungen für die Untersuchung des Einflusses der Probenmenge sowie der Anzahl an Extraktionszyklen	112
Tabelle 3.3.2.6-1	ASE-Extraktionsbedingungen für die optimierte Extraktion	113

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.4.5-1	Organische Anteile in der Auftragslösung bei der SPE	115
Tabelle 3.4.7-1	Testlösungen für die Überprüfung der Lagerstabilität	117
Tabelle 3.5.3-1	Gradientenprogramm für die Säule „Phenomenex Aqua“	120
Tabelle 3.5.3-2	Gradientenprogramm für die Säule „Ascentis“	121
Tabelle 3.5.4-1	Weitere Parameter der chromatographischen Trennung für HPLC-UV-DAD-MS ⁿ -Messungen	122
Tabelle 3.5.5-1	Gradientenprogramme für den Test der polar modifizierten HPLC-Phasen im Rahmen des Säulentests	122
Tabelle 3.6.1-1	Kalibrationsreihe Rutin.....	125
Tabelle 3.6.1-2	Kalibrationsreihe Chlorogensäure	125
Tabelle 3.6.1-3	Kalibrationsreihe Epicatechin.....	126
Tabelle 3.6.1-3	Nachweis- Bestimmungs- und Quantifizierungsgrenze	127
Tabelle 3.7-1	Einstellungen für die Ionisierung und massenspektrometrische Detektion	128

Literaturverzeichnis

- 1 HARBORNE JB **1988** *The Flavonoids: Advances in Research Since 1980* (Chapman and Hall)
- 2 HARBORNE JB **1994** *The Flavonoids – Advances in Research Since 1986* (Chapman and Hall/CRC Press)
- 3 HARBORNE JB, BAXTER H **1999** *The Handbook of Natural Flavonoids Vol I&II* (John Wiley & Sons)
- 4 HIGDON JV, FREI B **2003** *Tea Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism, and Antioxidant Functions* Crit Rev Food Sci Nutr 43 1 89 143
- 5 HAMMERSTONE JF, LAZARUS SA, MITCHELL AE, RUCKER R, SCHMITZ HH **1999** *Identification of Procyanidins in Cocoa (Theobroma cacao) and Chocolate Using High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry* J Agric Food Chem 47 490 496
- 6 WOLLGAST J, PALLARONI L, AGAZZI ME, ANKLAM E **2001** *Analysis of procyanidins in chocolate by reversed phase high performance liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection* J Chromatogr A 926 211 220
- 7 KIEHNE A **1996** *Untersuchungen über Polyphenole in Tee und Kaffee mittels HPLC und Thermospray HPLC-MS*, Dissertation, TU Braunschweig
- 8 KOCH I **2008** *Analytik von ozoninduzierten phenolischen Sekundärmetaboliten in Nicotiana tabacum L. cv Bel W3 mittels LC-MS* Dissertation, Uni Bonn
- 9 SERAFINI M, BUGIANESI R, MAIANI G, VALTUENA S, SANTIS SD, CROZIER A **2003** *Plasma antioxidants from chocolate* Nature 424 1013
- 10 WÖLDECKE M, HERMANN K **1974** *Flavonole und Flavone der Gemüsearten. II. Flavonole des Spargels* Z Lebensm Unters Forsch 155 151-154
- 11 MOHR H **1969** *Photomorphogenesis* In: Wilkins, M.B. (Hrsg.): *The Physiology of Plant Growth Development*; McGraw-Hill, London, 507-556
- 12 RODRIGUES RB, LICHTENTHÄLER R, PAPAGIANNPOULOS M, ZIMMERMANN B, FABRICIUS H, MAIA JGS, ALMEIDA O, MARX F **2005** *Evaluation of the total antioxidant scavenging capacity of (Açaí) seeds (Euterpe oleracea MART.)* Lebensmittelchemie 59 37
- 13 RODRIGUES RB, LICHTENTHÄLER R, ZIMMERMANN BF, PAPAGIANNPOULOS M, FABRICIUS H, ALMEIDA O, MAIA JGS, MARX F **2006** *Total Oxidant Scavenging Capacity*

- of Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) Seeds and Identification of their Polyphenolic Compounds J Agric Food Chem 54 4162-4167
- 14 LICHTENTHÄLER R **2004** *Optimisation of the Total Oxidant Scavenging Capacity Assay and Application on Euterpe oleracea* MART. (Açaí) Pulps and Seeds Dissertation, Universität Bonn
- 15 MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉS C, JIMÉNEZ L **2004** *Polyphenols: food sources and bioavailability* Am J Clin Nutr 79 727-747
- 16 PALMBACH G, PAPAGIANNPOULOS M, GALENSA R **2004** *Flavonoids in Nutrition* Ernährung/Nutrition 28 201-210
- 17 SANTOS BUELGA C, SCALBERT A **2000** *Proanthocyanidins and tannin like compounds, nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health* J Sci Food Agric 80 1094-1117
- 18 SCALBERT A, WILLIAMSON G **2000** *Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols* J Nutr 130 2073S-2085S
- 19 SERAFINI M, BUGIANESI R, MAIANI G, VALTUENA S, SANTIS SD, CROZIER A **2003** *Plasma antioxidants from chocolate* Nature 424 1013
- 20 GU L, KELM MA, HAMMERSTONE JF, BECHER G, HOLDEN J, HAYTOWITZ D, GEBHARDT S, PRIOR RL **2004** *Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption* J Nutr 134 613-617
- 21 ZIMMERMANN BF, PAPAGIANNPOULOS M, BRACHMANN S, LORENZ M, STANGL V, GALENSA R **2009** *A shortcut from plasma to chromatographic analysis of green tea catechins in human plasma* J Chromatogr B 877 823-826
- 22 PRETEL MT, SERANO M, AMOROS A, ROMOJARO F **1999** *Ripening and ethylene biosynthesis in controlled atmosphere stored apricots* Eur Food Res Technol 209 130-134
- 23 PECH JC, BOUZAYEN M, LATCHE A **2008** *Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and indeoendent regulation of ripening pathways in melon fruit* Plant Science 175 114-120
- 24 WOLLSEIFEN H. R., BONER M., SPRENGER C., FÖRSTEL H., GALENSA, R. **2006** *Herkunftsbestimmung von Aprikosen mit Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik* Lebensmittelchemie 128-129
- 25 • WOLLSEIFEN H. R., BONER M., STRATMANN A., SPRENGER C., FÖRSTEL H., GALENSA, R. **2007** *Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre in Kombination von Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik* Lebensmittelchemie 4 99-100

- 26 HERMANN K **1979** *Zu den Möglichkeiten eines Verfälschungsnachweises von Obst und Gemüseprodukten über phenolische Inhaltsstoffe* Lebensmittelchemie u gerichtl Chemie 119 121
- 27 GALENSA R **1988** *Nachweis von Fruchtsaftverfälschungen durch die Bestimmung von Flavonoiden mittels HPLC* GIT Supplement 4 18 25
- 28 HEIMHUBER B **1989** *Flavonoide zur Qualitätsprüfung von Orangensaft. Benzoe-, Phenyllessig-, Phenylpropion- und Zimtsäure sowie Benzoylglucoseester in Obst und Gemüse* Dissertation Universität Hannover
- 29 WALD B, GALENSA R **1989** *Nachweis von Fruchtsaftmanipulationen bei Apfel- und Birnensaft* Z Lebensm Unters Forsch 188 107-114
- 30 Verordnung über Konfitüren und einige ähnliche Erzeugnisse, vom 23. Oktober 2003, zuletzt geändert durch Art. 5 VO zur Änd. lebensmittelrechtl. Vorschriften vom 30. 9. 2008 (BGBl. I S. 1911)
- 31 Zipfel/Rathke, Lebensmittelrecht, Loseblatt-Kommentar aller wesentlichen Vorschriften für das erstellen und Inverkehrbringen von Lebensmitteln, Futtermitteln, kosmetischen Mitteln, sonstigen Bedarfsgegenständen sowie Tabakerzeugnissen, Verlag C. H. Beck München
- 32 VERBAND DER DEUTSCHEN FRUCHTSAFTINDUSTRIE E.V. BONN **1987** *RSK-Werte Die Gesamtdarstellung* Flüssiges Obst GmbH
- 33 EUROPEAN FRUIT JUICE ASSOCIATION *A.I.J.N. Code of Practice Reference Guideline for: Fruit Juice (Apricot Puree/Juice)*
- 34 FISCHER-AYLOFF-COOK KP, HOFSSOMMER HJ **1994** *Rechnerische Ermittlung des Aschegehaltes in Fruchtsäften* Flüssiges Obst 61 95-97
- 35 OOGHE W **1990** *Contribution to the determination of the fruit juice content of fruit juice beverages and syrups* Z Lebensm Unters Forsch 191 199-205
- 36 FLÜGEL R, CARLE R, SCHIEBER A **2004** *A novel approach to quality and authenticity control of fruit products using fractionation and characterisation of cell wall polysaccharides* Food Chemistry 87 141-150
- 37 FLÜGEL R, SCHIEBER A, CARLE R **2006** *Determination of fruit content of cherry fruit preparations by gravimetric quantification* Food Chemistry 95 163-168
- 38 KURZ C, SCHIEBER A, CARLE R **2007** *Fruchtfälschern auf der Spur* labor&more 2 6-7
- 39 KURZ C, SCHIEBER A, CARLE R **2007** *Ein innovatives Verfahren zur Bestimmung des Fruchtgehaltes und der Fruchtauthentizität in Fruchtzubereitungen und Fruchtjoghurts* Deutsche Milchwirtschaft 58 350-353

- 40 KURZ C, CARLE R, SCHIEBER A **2008** *Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armenica* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for evaluation of fruit product authenticity* Food Chemistry 106 421-430
- 41 KURZ C, SCHIEBER A, CARLE R **2008** *Bestimmung des Fruchtgehaltes und der Fruchtauthentizität von Aprikosenprodukten* Lebensmittelchemie 63 1
- 42 BRONNER M **1996** *HPLC Bestimmung von Flavonoiden zur Überprüfung der Authentizität und zum Nachweis von Orangensaftverfälschungen* Dissertation, TU Braunschweig
- 43 BRONNER M, GALENSA R **1994** *Detection of authenticity and adulterations of orange juices by HPLC determination of flavanoids in: Report des SGF Symposiums: Progress in the Authenticity Assurance for Fruit Juices (SGF)*
- 44 ENGELHARDT U, GALENSA R **1997** *Analytik und Bedeutung von Polyphenolen in Lebensmitteln in: Analytiker Taschenbuch Band 15* (Springer, Berlin Heidelberg)
- 45 HENNING W **1980** *Bestimmung der in Pflaumen, Kirschen, Pfirsichen und Aprikosen vorkommenden Flavonolglykoside unter Anwendung der Hochdruckflüssigkeitschromatographie* Dissertation, Universität Hannover
- 46 RISCH B, HERRMANN K **1988** *Die Gehalte an Hydroxyzimtsäure-Verbindungen und Catechinen in Kern- und Steinobst* Z Lebensm Unters Forsch 186 225-230
- 47 TOMÁS-BARBERÁN FA, MARTOS I, FERRERES F, WATHERHOUSE AL, HESS-PIERCE B, KADER AA **2001** *HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums* J Sci Food Agric 49 4748-4760
- 48 HENNING W, HERRMANN K **1980** *Flavonolglykoside der Aprikosen (*Prunus armenica* L.) und der Pfirsiche (*Prunus persica* Batsch)* Z Lebensm Unters Forsch 171 183-188
- 49 TOMÁS-LORENTE F, GARCIA-VIGUERA C, FERRERES F, TOMÁS-BARBERÁN FA **1992** *Phenolic compounds analysis in the determination of fruit jam genuineness* J Agric Food Chem 40 1800-1804
- 50 MADRAU MA, PISCOPO A, SANUINETTI AM, DEL CARO A, POIANA M, ROMEO FV, PIGA A **2009** *Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots* Eur Food Res Technol 228 441-448
- 51 GARCIA-VIGUERA C, BRIDLE P, FERRERES F, TOMÁS-BARBERÁN FA **1994** *Influence of variety, maturity and processing on phenolic compounds of apricot juices and jams* Z Lebensm Unters Forsch 199 433-436

- 52 GEL MORETÓ N **2003** *Chirale Trennung von Polyphenolen in Citrus mittels Kapillarelektrophorese (CE) und Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)*
Dissertation, Universität Bonn
- 53 KOFINK M *Enantiomerentrennung von Polyphenolen mittels Kapillarelektrophorese*
Dissertation Universität Bonn
- 54 DRAGOVIC-UZELAC V, DELONGA K, LEVAJ B, DJAKOVIC S, POSPISIL J **2005**
Phenolic profiles of raw apricots, pumkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity
- 55 AKIN EB, KARABULUT I, TOPCU A **2008** *Some compositional properties of main Malatya apricot (Prunus armeniaca L.) varieties* Food Chemistry 107 939-948
- 56 ZIMMERMANN B, GALENSA R **2007** *One for all—all for one: proof of authenticity and tracing of foods with flavonoids. Analysis of proanthocyanidins in barley and malt* Eur Food Res Technol 224 385–393
- 57 WOLLSEIFEN HR, BONER M, STRATMANN A, SPRENGER C, FÖRSTEL H, GALENSA, R **2007**
Authentizitätsprüfung von Aprikosen und Aprikosenkonfitüre in Kombination von Polyphenol- und Stabilisotopenanalytik Lebensmittelchemie 4 99-100
- 58 Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs, Zuletzt geändert durch Art. 1 , Art. 2 ÄndVO (EG) 1020/2008 vom 17. 10. 2008 (ABl. Nr. L 277 S. 8)
- 59 Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs, Zuletzt geändert durch Art. 1 ÄndVO (EG) 1021/2008 vom 17. 10. 2008 (ABl. Nr. L 277 S. 15)
- 60 Honigverordnung, vom 16. Januar 2004, zuletzt geändert durch Art. 9 Lebensmittelhygienerecht-DurchführungsVO[2] vom 8. 8. 2007 (BGBl. I S. 1816)
- 61 Verordnung (EG) Nr. 1493/1999 des Rates vom 17. Mai 1999 über die gemeinsame Marktorganisation für Wein, zuletzt geändert durch Art. 20 ÄndVO (EG) 1332/2008 vom 16. 12. 2008 (ABl. Nr. L 354 S. 7)
- 62 Verordnung (EG) Nr. 510/2006 des Rates vom 20. März 2006 zum Schutz von geografischen Angaben und Ursprungsbezeichnungen für Agrarerzeugnisse und Lebensmittel, zuletzt geändert durch ÄndVO (EG) 417/2008 vom 8. 5. 2008 (ABl. Nr. L 125 S. 27)
- 63 DENNIS MJ **1998** *Recent developpements in food authentication* Analyst 123 151R-156R

- 64 ROSSMANN A **2001** *Determination of Stable isotope ratios in food analysis* Food Reviews International 17 347-381
- 65 BONER M **1996** *Überprüfung der Authentizität von Rindfleisch (Bio) mit Hilfe der stabilen Isotope der Bioelemente* Dissertation, Universität Bonn
- 66 CRISS RE **1999** *Principles of stable isotope distribution* Oxford University Press. Oxford
- 67 DRANSGAARD W **1964** *Stable isotopes in precipitation* Tellus 16, 436-467
- 68 DONGMANN G, NÜRNBERG HW, FÖRSTEL H, WAGENER K **1974** *On the enrichment of H₂O in leaves of transpiring plants* Rad. And Environm. Biophys. 11 41-52
- 69 DUNBARJ, WILSON AT **1983** *Oxygen and hydrogen isotopes in fruit and vegetable juices* Plant Physiol. 72 725-727
- 70 FÖRSTEL H **1985** *Die natürliche Fraktionierung der stabilen Sauerstoff-Isotope als Indikator für die Reinheit und Herkunft von Wein* Naturwissenschaften 72 449-455
- 71 ROSSMANN A, HABERHEAUER G, HÖZL S, HORN P, PICHLMAYER F, VOERKELIUS S **2000** *The potential of multielement stable isotope analysis for origin assignment of butter* Eur Food Res Technol 211 32-40
- 72 JAMIN E, WIETZERBIN K **2003** *Multielement, multicomponent, and multisite isotopic profiling for food and beverage authentication* American Laboratory 24-25
- 73 BONER M, FÖRSTEL H **2004** *Stabile isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef* Analytical and Bioanalytical Chemistry 378 301-310
- 74 ALONSO-SALCES RM, KORTA E, BARRANCO A, BERRUETA LA, GALLO B, VICENTE F **2001** *Determination of Polyphenolic Profiles of Basque Cider Apple Varieties Using Accelerated Solvent Extraction* J Agric Food Chem 49 3761-3767
- 75 ALONSO-SALCES RM, KORTA E, BARRANCO A, BERRUETA LA, GALLO B, VICENTE F **2001** *Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple* J Chromatogr A 933 37-4367
- 76 EZZEL J **2000** *Pressurized fluid extraction: non-environmental applications* Encycl Sep Sci 3993-3999
- 77 HÖFLER F **2000** *Beschleunigte Lösemittelextraktion (ASE)* (Dionex, ISBN 3-00-006626-8)
- 78 PIÑEIRO Z, PALMA M, BARROSO CG **2004** *Determination of catechins by means of extraction with pressurized liquids* J Chromatogr A 1026 19-23
- 79 PAPAGIANNOPOULOS M, MELLENTHIN A **2002** *Automated sample preparation by pressurized liquid extraction-solid-phase extraction for the liquid chromatographic-mass*

- spectrometric investigation of polyphenols in the brewing process* J Chromatogr A 976 345-358
- 80 RICHTER B, JONES B, EZZELL J, PORTER N, AVDALOVIC N, POHL C **1996** *Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation* Anal Chem 68 1033 1039
- 81 RICHTER B **1999** *The Extraction of Analytes from Solid Samples Using Accelerated Solvent Extraction* LC/GC 17 6S S22 S27
- 82 JU ZY, HOWARD LR **2003** *Effects of Solvent and Temperature on Pressurized Liquid Extraction of Anthocyanins and Total Phenolics from Dried Red Grape Skin* J Agric Food Chem 52 5207 5213
- 83 ZIMMERMANN B **2005** *Proanthocyanidins in barley and malt analyzed by pressurized liquid extraction, solid-phase extraction and HPLC* Dissertation, U Bonn
- 84 ZIMMERMANN B, PAPAGIANNPOULOS M, MELLENTHIN A, GALENSA R **2001** *Online Kopplung von ASE, SPE und HPLC am Beispiel der Polyphenolanalytik in Malz* Lebensmittelchemie 55 66 67
- 85 ZIMMERMANN B, PAPAGIANNPOULOS M, MELLENTHIN A, KRAPPE M, MAIO G, GALENSA R **2002** *Coupling of ASE, ASPEC and HPLC: Automated determination of Proanthocyanidins in malt* GIT Laboratory Journal Europe 4 175-177
- 86 PAPAGIANNPOULOS M, ZIMMERMANN B, MELLENTHIN A, KRAPPE M, MAIO G, GALENSA R **2001** *ASE-ASPEC-HPLC Kopplung – Automatisierte Bestimmung von Proanthocyanidinen in Malz* GIT Labor-Fachzeitschrift 09/2001 950-952
- 87 PAPAGIANNPOULOS M, ZIMMERMANN B, KRAPPE M, MAIO G, MELLENTHIN A, GALENSA R **2002** *Online coupling of pressurized liquid extraction, solid phase extraction and high performance liquid chromatography for automated analysis of proanthocyanidins in malt* J Chromatogr A 958 9 16
- 88 ROBARDS K, ANTOLOVICH M **1997** *Analytical chemistry of fruit bioflavonoids – A review* Analyst 122 11R 34R
- 89 NACZK M, SHAHIDI F **2004** *Extraction and analysis of phenolics in food* J Chromatogr A 1054 95-111
- 90 ROBARDS K **2003** *Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables* J Chromatogr A 1000 657-691
- 91 PAPAGIANNPOULOS M, WOLLSEIFEN HR, MELLENTHIN A, HABER B, GALENSA R **2004** *Identification and Quantification of Polyphenols in Carob Fruits (Ceratonia siliqua L.) and Derived Products by HPLC-UV-ESI/MSn* J Agric Food Chem 52 3784-3791

- 92 LACHENMEIER K **2001** *Untersuchung und Optimierung der Festphasenextraktion polyphenolischer Verbindungen für die Bieranalytik* Wissenschaftliche Abschlussarbeit, Institut für Lebensmittelwissenschaft, Universität Bonn
- 93 KRAEMER-SCHAFHALTER A, FUCHS H, PFANNHAUSER W **1998** *Solid-Phase Extraction (SPE) - a Comparison of 16 Materials for the Purification of Anthocyanins from Aronia Melanocarpa var Nero* J Sci Food Agric 78 435-440
- 94 FRIEDRICH W **2000** *Proanthocyanidine in den Braurohstoffen Gerste und Gerstenmalz: HPLC Bestimmung mit UV und Elektrodenarray Detektion* Dissertation, Universität Bonn
- 95 WOLLSEIFEN HR **2003** *Polyphenole in Johannisbrot (Ceratonia Siliqua L.) und daraus hergestellten Produkten* Wissenschaftliche Abschlussarbeit, Institut für Lebensmittelwissenschaft, Universität Bonn
- 96 KOFINK M, PAPAGIANNPOULOS M, GALENSA R **2007** *Enantioseparation of catechin and epicatechin in plant food by chiral capillary electrophoresis* Eur Food Res Technol 225 569-577
- 97 SIEWEK F **1984** *Isolierung, Identifizierung und hochleistungsflüssigkeits-chromatographische Bestimmung von Flavonoiden zur Beurteilung von Fruchtsafterzeugnissen* Dissertation, Universität Hannover
- 98 AMELVOORT JMV, HOF KHV, MATHOT JN, T.P. MULDER TP, WIERSMA A, TIJBURG LB **2001** *Plasma concentrations of individual tea catechins after a single oral dose in humans* Xenobiotica 31 891-901
- 99 CARANDO S, TEISSEDRE PL, CABANIS JC **1998** *Comparison of (+)-catechin determination in human plasma by high-performance liquid chromatography with two types of detection: fluorescence and ultraviolet* J. Chromatogr. B 707 195-201
- 100 MASUKAWA Y, MATSUI Y, SHIMIZU N, KONDOU N **2006** *Determination of green tea catechins in human plasma using liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry* J. Chromatogr. B 834 26-34
- 101 DRAGOVIC-UZELAC V, POSPISIL J, LEVAJ B, DELONGA K **2005** *The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for evaluation of apricotnectars and jams authenticity* Food Chemistry 91 373-383
- 102 FERNÁNDEZ DE SIMÓN B, PÉREZ-ILZARBE J, HERNÁNDEZ T, GOMÉZ-CORDOVÉS C, ESTERELLA I **1992** *Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices* J Agric Food Chem 40 1531-1535

-
- 103 VERSARI A, PARPINELLO GP, MATTIOLI AU, GALASSI S **2008** *Characterisation of italian commercial apricot juices by high-performance liquid chromatography analysis and multivariate analysis* Food Chemistry 108 334-340
- 104 RUIZ D, EGEA J, GIL MI, TOMÁS-BARBERAN FA **2005** *Characterization and quantification of phenolic compounds in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) Varieties* J Agric Food Chem 53 9544-9552
- 105 CLIFFORD MN, JOHNSTON KL, KNIGHT S, KUHNERT N **2003** *Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids* J Agric Food Chem 51 2900-2911
- 106 CLIFFORD MN, KNIGHT S, KUHNERT N **2005** *Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MSⁿ* J Agric Food Chem 53 3821-3832
- 107 CLIFFORD MN, KNIGHT S, SURUCU B, KUHNERT N **2006** *Characterization by LC-MSⁿ of four new classes of chlorogenic acids in green coffee beans: Dimethoxycinnamoylquinic Acids, caffeoyl-dimethoxycinnamoylquinic acids, and feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic acids* J Agric Food Chem 54 1957-1969
- 108 PARR AJ, BOLWELL GP **2000** *Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet y modifying the phenols content profile.* J Agric Food Chem 80 985-1012
- 109 RADI M, MAHROUZ M, JAOUAD A, AMIOT M **2004** *Characterization of some phenolic compounds in apricot fruit (*Prunus armeniaca* L.)* Sciences des Aliments 24 173-184
- 110 DE PASCUAL-TERESA S, SANTOS-BUELGA C, RIVAS-GONZALO JC **2000** *Quantitative Analysis of Flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages* J Agric Food Chem 48 5331-5337
- 111 PAPAGIANNOPOULOS M **2008** *Optimierte Analyse von Flavonoiden mit HPLC-MS*
Dissertation Universität Bonn