

Zauberhafte Vanille

Es gibt nicht eine Vanille, sondern viele Sorten. Deren charakteristisches Geschmacksmuster wird nicht allein durch Vanillin, den Hauptaromastoff der Vanille, geprägt, sondern durch eine Komposition zahlreicher Verbindungen. Zu deren Aufklärung und Identifizierung sowie zur Qualitätssicherung und Herkunftsbestimmung von Vanilleschoten und Vanilleextrakten leisten Headspace-Techniken und die Thermodesorption einen wichtigen Beitrag. Der nachfolgende Beitrag wirft einen Blick auf einen interessanten Ansatz zur Analyse von Vanilleschoten und Vanilleextrakten.

Gebäck gehört in die Vorweihnachtszeit wie der Adventskranz oder Kerzenglanz. Allein der Duft feinen Backwerks weckt in vielen Menschen schönste Erinnerungen an daheim, etwa an die beschürzte Mutter, die Berge von Teig durch den mit einem Spritzgebäckvorsatz aus Eisenguss bewehrten Fleischwolf drehte und sternförmige Teigrohlinge herauspresste, die sie auf gefettete Backbleche legte, um sie alsdann im vorgeheizten Backofen goldgelb abzubacken. Was für ein wundervoller Anblick hinterher: Schüsseln und Blechdosen, gefüllt mit stern-, streifen- oder halbmondförmigen Plätzchen. Und in der Luft: ein würziger Duft von Zimt und Vanille.

Kaum ein Gewürz wird so häufig zur Aromatisierung eingesetzt wie Vanille – nicht nur zur Weihnachtszeit und auch nicht nur in Lebensmitteln. Vanillearoma findet ebenso Anwendung bei der Herstellung von Parfums, Kosmetika und Arzneien. Der Vanille wird nachgesagt, sie beruhige den Geist und belebe den Körper. Man setzt das Gewürz in der Aromatherapie ein; inhaliert wirkt es entspannend und belebend auf den Körper, heißt es. Aktuelle Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass Vanillin, der Hauptbestandteil des Vanillegewürzes, auch eine krebshemmende Wirkung haben könnte. Nicht ohne Grund, möchte man meinen, sahen schon die Azteken in der Vanille einen geradezu göttlichen Nektar.

Heute zählt Vanillin zu den wichtigsten und beliebtesten Aromastoffen der Welt, weil es sich kostengünstig, etwa aus Rückständen der Papierherstellung, gewinnen lässt. Hingegen ist die Vanille selbst mit rund 80.000 US-Dollar pro Tonne [1] horrend teuer und deckt nur einen Bruchteil des aktuellen Aromabedarfs. Bei diesem Preis steht außer Frage, die Güte der Ware mit Argusaugen zu überwachen: Im Fokus stehen vor allem Geschmack und Aroma, Authentizität und Herkunft und ebenso die Frage, ob Verfälschungen, Kontaminationen oder Qualitätsmängel vorliegen. Das zu überprüfen, liegt im Interesse der Endverbraucher, insbesondere aber der ver-

arbeitenden Betriebe, die Vanille in ihrer Produktion einsetzen. Den erforderlichen Erkenntnisgewinn bietet einzig die instrumentelle Analytik.

Allerdings erweist sich die Untersuchung von Vanille als Herausforderung: Mit einer einzigen Methode jedenfalls lasse sich Vanille nicht vollständig charakterisieren, weiß Stephen J. Toth. Zu komplex sei die Chemie der Vanille. Im Rahmen seiner Dissertation „Comparison and integration of analytical methods for the characterization of vanilla chemistry“ [1] an der State University of New Jersey, USA, hat sich der Wissenschaftler damit beschäftigt, einen integrierten analytischen Ansatz zu finden, um ganze fermentierte Vanilleschoten und Vanilleextrakte auf ihre flüchtigen und schwerflüchtigen Bestandteile zu analysieren. Die Lösung lag, so seine Schlussfolgerung, in der Kombination von Flüssig- und Gaschromatographie, wobei Toth vor allem den verschiedenen Headspace-Techniken und der Thermodesorption eine große Bedeutung beimisst.

Analyse der Vanillebestandteile

Zwecks Bestimmung schwerflüchtiger Vanillebestandteile wie Vanillin, 4-Hydroxybenzaldehyd, Vanilinsäure und 4-Hydroxybenzoesäure, lässt sich die HPLC einsetzen. Stephen J. Toth weist in seiner Dissertation auf eine Vielzahl in der Literatur beschriebener HPLC-Methoden hin (vornehmlich eingesetzt zur Analyse von Vanilleextrakten), die ihm eine Orientierung bei der Methodenentwicklung boten. Die Leistung des von Toth verwendeten Standard-HPLC-Systems ließe sich deutlich steigern, insbesondere vermittels des Einsatzes von UPLC-Säulen, also kurzen Säulen mit geringer Partikelgröße. Letztlich habe er, Toth, eine um das Siebenfache schnellere Trennung als zu Beginn der Messreihe erreichen können. Die ursprüngliche HPLC-Analysezeit für Vanillin und einige verwandte phenolische Komponenten sei



Wissenswertes über Vanille

Die Vanille zählt zu den Orchideen, ist aber die einzige ihrer Art, die eine kommerziell verwertbare Frucht hervorbringt. Beheimatet ist sie in tropischen Gefilden. Ursprünglich stammt sie aus Mexiko, wird heute jedoch vorwiegend in Indonesien und auf Madagaskar angebaut. Mehr als 100 verschiedene Vanillespezies unterscheidet man, von kommerzieller Bedeutung sind indes nur zwei: *Vanilla planifolia* und *Vanilla tahitensis*. Deren grüne, geruchlose, bittere Vanilleschoten werden im Laufe eines etwa fünfmonatigen aufwendigen Fermentierungsprozesses in dunkelbraune, aromatische, schmackhafte Schoten umgewandelt. Unter anderem bildet sich im Verlauf der Fermentierung infolge der Hydrolyse von Glucovanillin das Vanillin. Die Prozessführung kann das Aromaprofil, den Geschmack und die Gesamtqualität der Schoten maßgeblich beeinflussen. In den Handel gelangt die fermentierte Vanille auf zwei Arten: Zum einen als Extrakt (extraction grade) in alkoholischer Lösung, zum anderen unverarbeitet (gourmet grade). Eine Vanilleschote von hoher Qualität hat ein angenehmes Aroma und einen angenehmen Geschmack, einen Feuchtegehalt von 18 bis 25 Prozent, eine dunkle, schokoladige Färbung. Die Oberfläche ist ölig und frei von Defekten und Schimmel. Der Vanillingehalt liegt bei > 2 Prozent; er ist zwar wichtig, nicht aber der einzig entscheidende Qualitätsfaktor: Viele Vanillearten besitzen trotz einer geringen Vanillinkonzentration einen sehr guten Gesamtgeschmack, was schlussfolgern lässt, dass auch andere Inhaltsstoffe maßgeblich an der Geschmacksbildung beteiligt sind. [1]

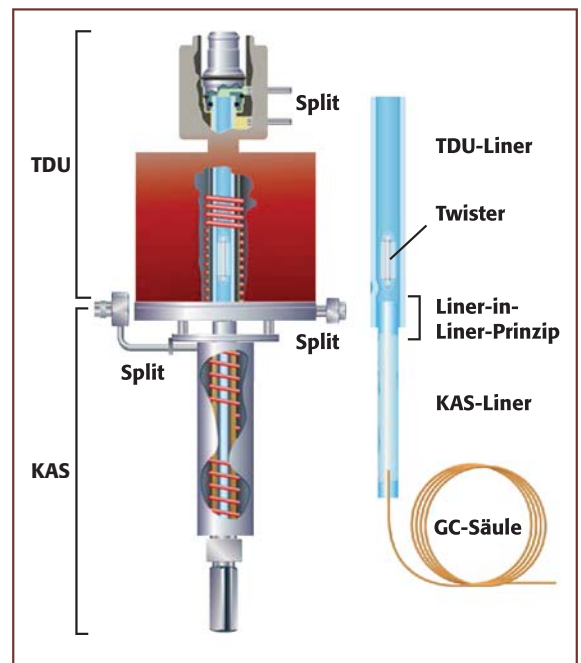


von 13,45 auf 1,86 Minuten verkürzt worden. Obendrein habe sich der Verbrauch von Acetonitril um rund zwei Drittel reduzieren lassen.

Ungeachtet dieses Erfolges eigne sich die HPLC nur in begrenztem Maß dazu, die Gesamtheit der flüchtigen Verbindungen in der Vanille, geschweige denn bislang unbekannt Aromakomponenten zu identifizieren, meint Toth. Wie die Praxis zeige, tauge hierfür aber die Gaschromatographie in Verbindung mit Headspace-Techniken und der massenselektiven Detektion. Um einen Überblick zu erhalten, womit sich die besten Resultate erzielen lassen, verglich der Wissenschaftler folgende Techniken miteinander: die Solid Phase Micro Extraction (SPME), die Headspace Sorptive Extraction (HSSE) unter Einsatz des GERSTEL-PDMS-Twisters und die dynamische Headspace-Technik. Zudem erfolgte eine direkte thermische Desorption (DTD) tiefgekühlt gemahlener Vanilleschoten. Untersucht wurde u. a. die aromatische Zusammensetzung zweier Bourbon-Vanilleschoten, wobei es sich um eine einwandfreie („gute“) Schote handelte sowie um ein vom Handel abgelehntes Mängel exemplar („schlechte“ Schote), das einen alkoholischen Fremdgeruch aufwies; der Verdacht ging in Richtung eines bakteriellen Abbaus u. a. von Vanillin zu Guajacol unter anaeroben Bedingungen.

Solid Phase Micro Extraction (SPME)

Mehrfach wurde in der Literatur über die Analyse von Vanilleextrakten mittels SPME berichtet, insbesondere von polaren Komponenten aus alkoholischer Matrix, schreibt Toth. Dank zahlreicher verfügbarer SPME-Extraktionsphasen, der einfachen Automatisierung und der schnellen Thermodesorption der angereicherten Analyten habe sich die SPME in den Experimenten als selektiv und praktisch bei der Extraktion flüchtiger Verbindungen aus dem Headspace erwiesen. Von Nachteil sei indes die geringe Phasenmenge (0,5 µL) gewesen. Entsprechend erweise sich die SPME zwar als praktisch und vielseitig, jedoch begrenzt in ihrer



Thermodesorption des Twisters in der TDU, dann Cryofokussierung der Analyten im KAS mit anschließender temperaturprogrammierter Überführung auf die GC-Säule.

Sorptionskapazität und damit der Sensitivität. Deswegen ungeachtet wurden mittels SPME aus Vanille 35 Verbindungen extrahiert, darunter auch Schadstoffe aus Verpackungsmaterialien sowie acht bislang noch nicht identifizierte Komponenten.

Headspace Sorptive Extraction (HSSE)

Die HSSE ist eine Weiterentwicklung der Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), die sich bereits vielfach bei der Bestimmung u. a. von Aromen bewährt hat [2], und basiert auf dem Einsatz des GERSTEL-Twisters in der Funktion als Passivsammler: Bei der SBSE extrahiert der Twister die Analyten, während er die Probe durchmischt. Bei der HSSE wird der Twister im Dampfraum über der Probe im Vial positioniert; die Extraktion der Analyten erfolgt also aus dem Headspace. Sobald sich ein stabiles Gleichgewicht der Analyten zwischen Sorptionsphase und dem Headspace beziehungsweise der Probe eingestellt hat, wird der Twister entnommen. Die thermische Desorption und Überführung der Analyten auf den GC erfolgt (wie bei der SBSE) mittels der GERSTEL-ThermalDesorption-Unit (TDU) automatisiert mit dem GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS). Aufgrund ihres gegenüber der SPME (0,5 µL) signifikant größeren Phasenvolumens (PDMS-Twister: 125 µL) erweist sich die HSSE als besonders sensitiv für mittel- bis unpolare Verbindungen im Spurenbereich; inzwischen ist ein Ethylenglycol-Silikon-Twister verfügbar, der für die Extraktion unpolarer und bestimmter polarer Verbindungen ausgelegt ist. Insgesamt wurden 19 Verbindungen identifiziert, darunter vier neue, die im Zuge der Vanilleanalyse bislang noch nicht bestimmt und dokumentiert worden waren.

Dynamische Headspace-Technik (DHS)

Mithilfe eines Trägergases, das durch den Headspace der Probe geleitet wird, werden die Analyten auf einem nachgeschalteten geeigneten Trägermaterial angereichert (im vorliegenden Fall handelte es sich um Tenax TA). Im Gegensatz zu SPME und HSSE zeigte Tenax TA keine spezifische Affinität für bestimmte Verbindungsklassen, sondern reicherte Analyten über einen etwas weiteren Polaritätsbereich an. Schwierigkeiten hätten allerdings solche mit drei oder weniger Kohlenstoffatomen bereitet, schreibt Toth. Insgesamt habe er in der hochwertigen Vanille mittels der DHS 24 Verbindungen identifiziert, darunter zehn bislang noch nicht in Vanille gefundene Komponenten.

Direkte Thermische Desorption (DTD)

Die Probe wurde in einem geeigneten inertem Glasröhrchen (Liner) zwischen zwei Pfropfen aus Glaswolle gegeben und in der ThermalDesorptionUnit (TDU) über eine Temperaturrampe (30 °C – 60 °C/min – 275 °C) thermisch extrahiert. Die Analyten wurden im KaltAufgabeSystem (KAS) des verwendeten Agilent GC 6890 cryofokussiert und anschließend temperaturprogrammiert auf die GC-Säule überführt. In der untersuchten „guten“ wie „schlechten“ Vanilleschote identifizierte Toth mittels der DTD-TDU-GC/MS-Methode jeweils 74 Verbindungen (weitere Analysen förderten 30 bislang nicht in Vanilleschoten gefundene Verbindungen zutage). Bemerkenswert sei die unterschiedliche Vanillinkonzentration gewesen: In der „guten“ Vanilleschote lag sie bei 1,2 Prozent, in der „schlechten“ nur bei 0,1 Prozent.

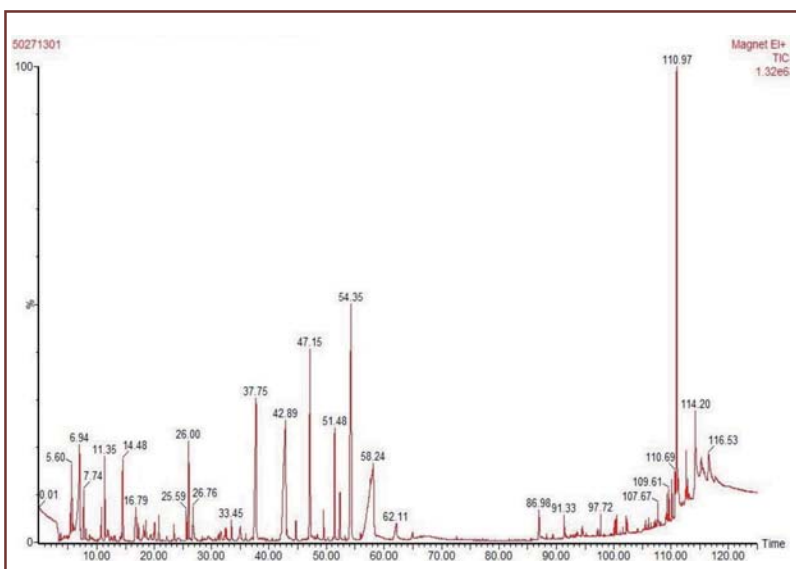
In der vom Handel akzeptierten Vanilleschote fand Toth hohe Konzentrationen an Essigsäure,



2-Methoxyphenol, Hydroxydihydromaltol, 5-(Hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyd, 4-Hydroxybenzaldehyd, Vanillin, Hexadecansäure und 1-Octadecanol. „Die in der Analyse identifizierten Verbindungen für diese Bourbon-Vanilleschote stimmen mit vorherigen Daten, die in der Literatur dokumentiert wurden, überein“, schreibt Toth. Zum ersten Mal in Vanilleschoten nachweisen konnte er unter anderem Aceton, 2-Methylpropanal, 3-Hydroxy-3-penten-2-on, 2(5H)-Furanon, 2-Hydroxy-2-cyclopenten-1-on, 4-Hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanon, 2-Furanocarboxylsäure, Liliälsäure, 4-(4-Hydroxyphenyl)-3-buten-2-on, 4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-on (E), zwei Isomere von Vanillinglycerylacetat, 1-Octadecanol,

Ethylheptadecanoat, Ethyloctadecanoat, z-12-Pentacosen und z-14-Nonacosen. In der „schlechten“ Schote bestimmte Toth u. a. hohe Konzentrationen an 2-Methoxyphenol, 2-Methoxy-4-methylphenol, Hexadecansäure und 1-Octadecanol.

Zu den größten Unterschieden zwischen der „guten“ und „schlechten“ Bourbon-Vanilleschote, die durch die DTD-TDU-GC/MS-Analyse aufgedeckt wurden, zähle der Verlust von Vanillin, die Erhöhung von 2-Methoxy-4-methylphenol und 2-Methoxyphenol sowie der Verlust von Hydroxydihydromaltol und Hydroxymethylfurfural, schreibt Toth. Fuselalkohole konnten im Gegensatz zu den SPME-, HSSE- und DHS-Experimenten mit der DTD-TDU-GC/MS-Technik nicht nachgewiesen werden. Dass in der vom Handel abgelehnten Vanilleschote unterschiedliche Mengen an Fuselalkoholen nachgewiesen wurden (der Nachweis an sich bestärkt die anfängliche Theorie eines bakteriellen Abbaus), mache die unterschiedlichen Stärken jeder einzelnen Headspace-Technik deutlich. Während jede einzelne ihre Schwächen haben mag, ermöglicht ihre Kombination, das Gesamtbild der Inhaltsstoffe einer Aromaprobe vollends rund zu machen. Als günstig erweist es sich für den Anwender, wenn er auf alle Headspace-Techniken, sprich: SPME, HSSE, dynamische Headspace (DHS) und die direkte thermische Desorption (DTD) zurückgreifen kann. Realisieren lassen sie sich jedenfalls auf einem automatisierten Komplettsystem von GERSTEL.



Total-Ion-Chromatogramm einer tahitianischen Vanille mittels DTD-TDU-GC/MS. Gefunden wurden folgende Komponenten: 2-(5H)-Furanon, 2-Hydroxy-2-cyclopenten-1-on, 2-Acetyl-2-hydroxy-gamma-butyrolacton, 3,5-Dihydroxy-2-methylpyran-4-on, 3-Phenyl-2-propensäure, 4-Hydroxy-2-methoxyzimaldehyd, 4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-on (E), 2 Isomere von 2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-dioxan-5-ol, Kauren und z-12-Pentacosen.

Quellen

- [1] Stephen J. Toth: Comparison and integration of analytical methods for the characterization of vanilla chemistry. Proquest, Umi Dissertation Publishing 2012
- [2] Flavor, Fragrance, and Odor Analysis, 2. Ausgabe, CRC Press, Taylor & Francis Group 2012