



Abstract-Vorlage DLG-Innovation Award „Junge Ideen“

Thema:

Qualitätssicherung

Titel der Arbeit:

Food Fingerprinting: LC-ESI-IM-QTOF-Based Identification of Blumeatin as a New Marker Metabolite for the Detection of *Origanum majorana* Admixtures to *O. onites/vulgare*

Erstellungsjahr der Forschungsarbeit:

2023

Art der Arbeit:

Sonstige Forschungsarbeit (Research Paper)

Autoren und Anschriften:

Dr. Marina Creydt¹, Dr. Friedemann Flügge^{2,3}, Robin Dammann¹, Dr. Burkhard Schütze³, Prof. Dr. Ulrich L. Günther², Prof. Dr. Markus Fischer¹

¹Hamburg School of Food Science – Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hamburg, Grindelallee 117, 20146 Hamburg, Deutschland, Tel. +49 40 42838-8803, Fax +49 40 42838-4342, marina.creydt@uni-hamburg.de

²Institut für Chemie und Metabolomics, Universität zu Lübeck, Lübeck, Deutschland

³LADR GmbH Medizinisches Versorgungszentrum Dr. Kramer & Kollegen, Geesthacht, Deutschland

Abstract:

Problemstellung und Vorstellung der Lösungsstrategie

Oregano (*Origanum vulgare* und *O. onites*) zählt zu den weltweit am häufigsten gefälschten Gewürzen. Gemäß einer Studie des Joint Research Centers der Europäischen Kommission aus dem Jahr 2021 konnten in 48 % von 295 untersuchten Oreganoproben fremde Pflanzenbestandteile nachgewiesen werden¹. Neben Olivenblättern wird Oregano insbesondere mit Majoran (*O. majorana*) gestreckt, um einen höheren finanziellen Gewinn zu erzielen. Allerdings ist die Detektion von Majoran in Oreganoproben herausfordernd, da abgesehen von der Verbindung Arbutin, einem Hydrochinonglukosid, bis dato keine weiteren Markerverbindungen bekannt sind, welche sich für einen verlässlichen quantitativen Nachweis eignen². Zudem ist Arbutin im Pflanzenreich weit verbreitet und kann auch auf die Anwesenheit anderer Pflanzenbestandteile hinweisen. Aus diesem Grund bestand das Ziel dieser Studie in der Identifizierung weiterer Markersubstanzen, mit denen Zureichungen von Majoran in Oregano zuverlässig detektiert werden können.

Aus der genetischen Prädisposition von Organismen und den externen Umweltfaktoren, denen diese ausgesetzt sind, resultieren Unterschiede im Auftreten und der Menge von Stoffwechselprodukten (Metabolite bzw. kleine organische Moleküle). Je mehr Stoffwechselprodukte detektiert werden können, desto detaillierter kann die chemische Charakterisierung eines Organismus erfolgen. Dadurch nimmt auch die Wahrscheinlichkeit zu, geeignete Markerverbindungen für eindeutige Nachweise identifizieren zu können. In der hier vorgestellten Arbeit wurde für das Screening nach geeigneten Markerverbindungen ein *non-targeted Lipidomics*-Ansatz gewählt. Bei diesem stand die hypothesenfreie Detektion möglichst vieler lipophiler Stoffwechselverbindungen im Vordergrund, um die Gewürze voneinander zu unterscheiden. Potentielle Stoffklassen, die mit diesem Ansatz detektiert werden können, sind beispielsweise Mono-, Di- oder Triglyceride sowie Phospholipide. Zu Beginn der Methodenentwicklung ist es nicht erforderlich, eine umfassende Identifizierung sämtlicher Analyten durchzuführen oder absolute Konzentrationen zu bestimmen. Stattdessen wird ein semi-quantitativer Screening-Ansatz verfolgt, bei dem lediglich unterschiedliche Signalintensitäten der einzelnen Stoffwechselverbindungen zueinander in Relation gesetzt werden.

Material und Methoden

Insgesamt wurden 39 Oregano- und Majoranproben vermessen. Bei 14 dieser Proben handelte es sich um Oreganomuster aus der Türkei, zehn weitere Oreganoproben stammten aus Griechenland. Zusätzlich wurden zehn Majoranproben aus Ägypten und fünf Proben aus Chile analysiert. Die Detektion der Analyten erfolgte aus flüssigen Extrak-

ten der Proben nach einer flüssigkeitschromatographischen Auftrennung und Analyse mit einem hochauflösendem Massenspektrometer (Agilent Technologies 6560 Ion Mobility Q-TOF LC/MS-System). Neben den reinen Proben wurden zudem Mischungen aus den Oregano- und Majoranproben untersucht. Hierfür wurden jeweils drei der Oreganoproben aus der Türkei und aus Griechenland in Verhältnissen von 95/5, 90/10, 85/15, 80/20, 75/25, 70/30, 50/50 mit Majoranproben versetzt. Auf diese Weise war es möglich abzuschätzen, in welchen Verhältnissen Majoranzumischungen in Oregano nachweisbar sind. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels bioinformatischer Verfahren, um die geeigneten Markersignale zu extrahieren. Anschließend wurde eine Identifizierung der relevantesten Signale mit Hilfe der erhaltenen Informationen der Messungen (Retentionszeit, hochaufgelöste Masse, Fragmentierungsmuster und Stoßquerschnitte) vorgenommen.

Ergebnisse und Diskussion

Mittels der *non-targeted Lipidomics*-Analysen konnten in den reinen Proben ca. 6.000 Signale detektiert werden. Mehr als 2.000 dieser Signale wiesen auf signifikante Unterschiede zwischen den Probengruppen hin. Nur vier Markerverbindungen erwiesen sich bereits als ausreichend, um die Gruppen zuverlässig unterscheiden zu können. Um die Mischungen aus Oregano und Majoran erkennen zu können, wurde gezielt nach Signalen gesucht, die in auf- oder absteigenden Konzentrationen in den verschiedenen Mischungsverhältnissen vorlagen. Auf diese Weise konnten mehrere Signale extrahieren werden, die es ermöglichten Majoranzumischungen in Verhältnissen $\geq 10\%$ zu erkennen. Lediglich ein Signal erwies sich auch als geeignet, um Majoranzumischungen in Verhältnissen $\geq 5\%$ zu detektieren. Dieses Signal konnte als Blumeatin identifiziert werden. Es handelt sich dabei um ein Flavonoid, das bislang hauptsächlich in *Blumea balsamifera* nachgewiesen wurde und vermutlich antioxidative, antikanzerogene und antientzündliche Eigenschaften aufweist. Unseren Recherchen nach wurde Blumeatin bislang noch nicht in Majoran identifiziert. Um abschätzen zu können, ob Blumeatin eine Markerverbindung ist, die vorrangig für den Nachweis von Majoranzumischungen in Oregano geeignet ist, wurden zusätzlich jeweils drei Extrakte von Olivenblättern (*Olea europaea*), Thymian (*Thymus serpyllum* und *T. vulgaris*), Salbei (*Salvia officinalis* und *S. apiana*), Pfefferminz (*Mentha piperita*) und Myrte (*Myrtus communis*) analysiert, da diese Pflanzen gemäß dem Bericht des Joint Research Centers ebenfalls häufig für Oreganoverfälschungen eingesetzt werden¹. In keinem der analysierten Extrakte konnte ein entsprechendes Signal nachgewiesen werden, sodass Blumeatin nach dem aktuellen Forschungsstand voraussichtlich eine einzigartige Verbindung ist, um Majoranzumischungen in Oregano erkennen zu können.

Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Um den Transfer von der Forschung in die direkte Anwendung bspw. bei den staatlichen Untersuchungsämtern oder Handelslaboren zu gewährleisten, sind hochauflösende Massenspektrometer nicht zwingend erforderlich. Herkömmliche Triple-Quadrupol-Massenspektrometer, die in lebensmittelchemischen Laboren weit verbreitet sind, sollten für die Detektion von Blumeatin in Oregano/Majoranmischungen vollkommen ausreichend sein. Da diese Geräte, insbesondere im sogenannten *Multiple-Reaction-Monitoring* (MRM)-Modus, empfindlichere Nachweisgrenzen aufweisen als das in der Studie verwendete Massenspektrometer, sollten zudem noch geringere Mengen an Majoranzmischungen in Oregano erkannt werden können. In diesem Rahmen stehen aktuell weitere Studien noch aus. Weiterhin liegen bislang keine Erkenntnisse vor, in welchen variablen Konzentrationen, Blumeatin in Majoranpflanzen vorkommt. Folglich müssten die Untersuchungen auf einen größeren Datensatz ausgeweitet werden, um weitere Einflussfaktoren, wie bspw. das Anbauland oder das Erntejahr besser berücksichtigen zu können.

Die beschriebenen Forschungsergebnisse wurden unter folgenden bibliographischen Daten publiziert: Creydt, M.; Flügge, F.; Dammann, R.; Schütze, B.; Günther, U.L.; Fischer, M. Food Fingerprinting: LC-ESI-IM-QTOF-Based Identification of Blumeatin as a New Marker Metabolite for the Detection of *Origanum majorana* Admixtures to *O. onites/vulgare*. *Metabolites* 2023, 13, 673. <https://doi.org/10.3390/metabo13050673>.

Die Studie kann unter dem angegebenen Link frei zugänglich aufgerufen werden: <https://www.mdpi.com/2218-1989/13/5/673>

Quellen

[1] European Commission. JRC Technical Report, Results of an EU Wide Coordinated Control Plan to Establish the Prevalence of Fraudulent Practices in the Marketing of Herbs and Spices. 2021. Online verfügbar: <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC126785> (zugegriffen am 20.06.2023).

[2] Flügge, F.; Kerkow, T.; Kowalski, P.; Bornhöft, J.; Seemann, E.; Creydt, M.; Schütze, B.; Günther, U.L. Qualitative and quantitative food authentication of oregano using NGS and NMR with chemometrics. *Food Control* 2023, 145, 109497.