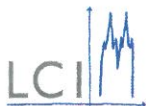


GC-Methode zur Bestimmung von trans-Fettsäuren in Lebensmitteln

DIFFERENZIERUNG VON ELAIDIN- UND VACCENSÄURE



^{1,2}Katerina Papaspirou, ¹Anna Dingel, ¹Reinhard Matissek, ²Michael Petz

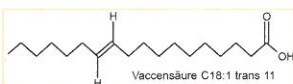
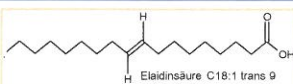


¹LCI, Lebensmittelchemisches Institut des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie, Adamsstraße 52-54, 51063 Köln, www.lci-koeln.de

²Bergische Universität Wuppertal, Gaußstr. 20, 42119 Wuppertal

Hintergrund

Trans-Fettsäuren (engl. trans fatty acid – TFA) sind ungesättigte Fettsäuren mit mindestens einer isolierten Doppelbindung in trans-Konfiguration. Ruminante TFA (natürlichen Ursprungs) und nicht-ruminante TFA (industriellen Ursprungs) weisen ernährungsphysiologisch vergleichbare negative Effekte auf [1]. Daher empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) nicht mehr als 1 % der Nahrungsenergie in Form von TFA aufzunehmen [2].



Die Europäische Richtlinie 2006/141/EG gibt einen Höchstwert für TFA in Säuglingsnahrung von max. 3 % des Gesamtfettes vor. Die Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 begrenzt den TFA-Gehalt in Olivenöl [3, 4]. In Deutschland gibt es keine weiteren gesetzlichen Regulierungen der TFA-Gehalte in Lebensmitteln.

Den größten Anteil der TFA in Lebensmitteln machen die C18:1-trans-Isomere aus. Je nach Herkunft liegt eine charakteristische Isomerenverteilung vor. In Wiederkäuerfett dominiert die ruminante Vaccensäure (C18:1 trans 11), während in nicht-ruminanten Fetten hauptsächlich Elaidinsäure (C18:1 trans 9) vorliegt [1].

Ziel

Ziel dieser Arbeit ist es, eine gaschromatographische Analysenmethode so zu optimieren, dass die Identifizierung und Quantifizierung der in Lebensmitteln mengenmäßig vorherrschenden C18:1-trans-Isomere möglich ist. Die routinemäßig durchführbare Differenzierung von Vaccen- und Elaidinsäure und damit die Unterscheidung, ob es sich um ruminante oder nicht-ruminante TFA handelt, wird angestrebt. Ferner soll die in dieser Arbeit entwickelte Methode nach den Vorgaben von Kromidas validiert werden [5].



Gaschromatographie

Vor der gaschromatographischen Analyse wird das aus dem Probenmaterial extrahierte Fett in tert. Butylmethylether gelöst und die Fettsäuren mit Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) in die leicht flüchtigen Methylester überführt [6]. Die Trennung erfolgt durch ein abgestuftes Temperaturprogramm über eine 105 m lange, hochpolare Trennsäule mit einer Cyanopropyl-Polysiloxan-Phase und nachfolgender Detektion mit einem Flammenionisationsdetektor (FID). Die Wahl des Temperaturprogramms (in Stufen von 40°C bis 230°C) ermöglicht sowohl die Quantifizierung von kurzkettigen Fettsäuren als auch die Trennung der C18:1-trans-Isomere.

Abbildung 1 zeigt einen Chromatogramm-Ausschnitt mit der erreichten Trennung von Vaccen- und Elaidinsäure. Sind weitere TFA-Isomere vorhanden, wie in Wiederkäuerfett, kommt es zu einer Überlagerung der Isomere. Die Abschätzung des Vaccen- und Elaidinsäuregehaltes kann zufriedenstellend durch Lotfällung erreicht werden (siehe Abbildung 2).

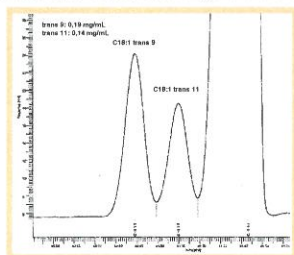


Abbildung 1: Chromatogramm einer Standard-Lösung von Elaidin- und Vaccensäure

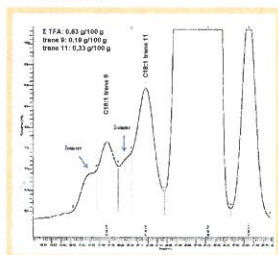


Abbildung 2: Probenchromatogramm mit überlagerten TFA-Isomeren

Literatur

- [1] European Food and Safety Authority (EFSA) (2004) The EFSA Journal 81: 1-49
- [2] Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung (Hrsg.) (2000): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr 1. Auflage, Umschau Braus, Frankfurt am Main, S. 56
- [3] Europäische Kommission (2006) Richtlinie (EG) Nr. 141/2006 über Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung und zur Änderung der Richtlinie 1990/21/EG
- [4] Die Kommission der Europäischen Gemeinschaften (1991) Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 DER KOMMISSION vom 11 Juli 1991 über die Merkmale von Olivenöl und Olivenresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung
- [5] Kromidas S (2000) Handbuch Validierung in der Analytik. Wiley-VCH, Weinheim
- [6] BVL (Hrsg.) Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB L 13.00-27, Untersuchung von Lebensmitteln: Herstellung von Fettsäuremethylestern in tierischen und pflanzlichen Ölen, Juni 2008
- [7] Kuhlnt K, Baeh M, Rohrer C, Jahreis G (2011) Eur J Lipid Technol: 1-12

Validierung

Die vorgestellte Methode wurde in Anlehnung an die Vorgaben von Kromidas validiert [5]. Das hierfür verwendete extrahierte Fett enthält die charakteristischen Isomere natürlichen Ursprungs.

In Tabelle 1 sind einige ermittelte Validierungsdaten, wie Wiederholbarkeit und Wiederholgenze, Wiederfindung sowie Nachweis- und Bestimmungsgrenze, zusammengestellt.



Tabelle 1: Validierungsdaten der C18:1-trans-Fettsäureanalytik

	ΣTFA [%]	C18:1 trans 9 [%]	C18:1 trans 11 [%]
Wiederholbarkeit (RSDr)	0,63 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,33 ± 0,01
Wiederholgenze	0,02	0,01	0,01
Wiederfindung		101,7	107,3
Nachweisgrenze (LOD)	0,02	0,01	0,01
Bestimmungsgrenze (LOQ)	0,05	0,03	0,03

Die vorgestellte Analysenmethode ermöglicht die selektive und spezifische Identifizierung sowie die Quantifizierung der charakteristischen C18:1-trans-Isomere, Elaidin- und Vaccensäure in der Untersuchungsmatrix. Sie verfügt über eine gute Reproduzierbarkeit und Wiederfindung. Die Methode ist in einem Arbeitsbereich von 20 bis 200 mg Probeneinwaage linear.

t9/t11-Index

Aufgrund der charakteristischen Isomerenverteilung und der Tatsache, dass Vaccensäure (lat. Vacca = die Kuh) fast ausnahmslos nur in Wiederkäuerfett zu finden ist, kann mit Hilfe des sog. t9/t11-Index eine Differenzierung zwischen ruminanten und nicht-ruminanten TFA erfolgen. Der quantifizierte Gehalt an C18:1 trans 9 wird durch den Gehalt an C18:1 trans 11 dividiert. Ein t9/t11-Index <1 weist auf einen höheren Anteil ruminanter TFA hin, während ein t9/t11-Index >1 mit einem höheren Gehalt an nicht-ruminanten TFA zusammenhängt [7].

Monitoring

Im Rahmen dieser Arbeit wurde auch ein Monitoring an ausgewählten Süßwaren durchgeführt. Hierzu wurden Proben verschiedener Kategorien auf ihren Gehalt an TFA untersucht.

Die Lebensmittelindustrie setzt bereits seit fast 20 Jahren freiwillige Maßnahmen zur Reduzierung der TFA-Gehalte in Lebensmitteln um. Durch Verwendung von ungehärteten oder vollständig gehärteten Fetten im Austausch gegen teilgehärtete Fette oder weitere Rezepturanpassungen konnten die TFA-Gehalte erfolgreich minimiert werden.

Wie aus Abbildung 3 zu entnehmen, konnte für Feine Backwaren und Knabberartikel, wie z.B. Kartoffelchips der Erfolg der industriellen Minimierungsarbeiten bestätigt werden. Die TFA-Gehalte liegen hierbei meist sogar weit unter 1 % des Gesamtfettgehaltes.

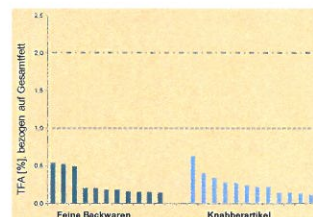


Abbildung 3: Aktuelle TFA-Gehalte in verschiedenen Produkten bezogen auf den Gesamtfettgehalt

Fazit

In dem vorgestellten Projekt wurde eine gaschromatographische Analysenmethode zur selektiven und spezifischen Erfassung sowie zur Quantifizierung der charakteristischen C18:1-trans-Isomere, Elaidin- und Vaccensäure, entwickelt und erfolgreich validiert.

Diese Methode stellt ein für die Routineanalytik praxistaugliches und schnelles Verfahren dar. Ohne großen apparativen Aufwand und mit kurzen Analysenzeiten kann der TFA-Gehalt in Lebensmitteln bestimmt und auch der Gehalt an Vaccen- und Elaidinsäure quantifiziert werden. Unter Zuhilfenahme des sog. t9/t11-Index kann zwischen nicht-ruminanten und ruminanten TFA unterschieden werden.