



Lebensmittelanalytik

Vorsicht, Fettnäpfchen!

Um den Nährwert eines Lebensmittels quantifizieren zu können, braucht es die instrumentelle Analytik, im Fall relevanter Fettparameter idealerweise die Gaschromatographie (GC). Dass es ein effizientes Verfahren zur Bestimmung deklarationspflichtiger Fettanteile in Lebensmitteln gibt, welches auch die *trans*-Fettsäuren berücksichtigt, zeigt folgender Beitrag.

Niemand kauft gerne die Katze im Sack. Geheimniskrämerei steht zudem im Widerspruch zum Verbraucherschutz. Die Prämisse lautet, als Konsument anhand überprüfbarer Fakten entscheiden zu können, welches Lebensmittel man verzehren oder als Betreiber einer Gaststätte/Kantine verarbeiten möchte. Vom Handel feilgebotene fertig verpackte Lebensmittel, also mit Ausnahme frisch verpackter Waren wie Fleisch, Käse, Obst und Gemüse, müssen dem Kunden auf einem Etikett oder als Aufdruck auf der Verpackung in hinreichender Weise Auskunft geben über Herkunft, Gewicht, Haltbarkeit, Zutaten sowie Nährstoffgehalt des Verpackungsinhalts [1]. Wie die Deklaration zu erfolgen hat, regelt hierzulande die Lebensmittel-Kennzeichnungsverordnung (LMKV) [2], die im Dezember kommenden Jahres abgelöst wird von der EU-Verordnung Nr. 1169/2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel, die laut Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) „mehr Transparenz für Verbraucher“ schafft [3].

Der Aufwand ist das Problem

Die Bestimmung des Nährstoffgehalts eines Lebensmittels ist alles andere als trivial. Unterschiedliche

analytische Verfahren und Methoden sind notwendig, um quantitative Aussagen darüber treffen zu können, welche Mengen an Fett, gesättigten Fettsäuren, Kohlenhydraten, Zucker, Eiweiß und Salz [4] enthalten sind; nicht selten bedarf es zahlreicher Arbeitsschritte und Umrechnungen, bevor man als Hersteller die gewünschte Information erhält. Um die Effizienz der Analytik zu steigern, erweist sich die Automatisierung der Probenvorbereitung als sinnvoll und richtig.

John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage von der in den USA ansässigen GERSTEL, Inc. waren vor die Aufgabe gestellt, die Effizienz der Analyse von Lebensmittelproben zwecks Bestimmung der Nährstoffparameter Gesamtfett, gesättigte, ungesättigte und *trans*-Fettsäuren zu erhöhen. Ziel war die vollständige Automatisierung der Probenvorbereitung unter Einsatz eines kommerziell erhältlichen Autosamplers, „was mit Bravour gelang“, bemerkten die Applikationsexperten. [5]

Was es mit den Fettwerten auf sich hat

Der Fettgehalt ist eine wichtige Kenngröße in der Lebensmittelanalytik. Einerseits gibt sie Auskunft über den Nährwert eines Lebensmittels und damit seine physiologische Bedeutung: Je höher der Nährwert,

desto größer der energetische Nutzen, den unser Organismus aus einem Lebensmittel ziehen kann. Da bekanntlich die Zufuhr großer Mengen fettreicher Nahrungsmittel zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen kann, ist eine ausgewogene Ernährung wichtig. Diese gelingt allerdings nur jenen Konsumenten, denen der Fettgehalt eines Lebensmittels bekannt ist. Nicht zuletzt benötigt der Hersteller selbst diese Information, bedingt durch die Pflicht zur Kennzeichnung von Lebensmitteln.

Ein Blick auf spannende Details

Zur Quantifizierung bewährt hat sich die Gaschromatographie (GC) mit Flammenionisationsdetektion (FID). Allerdings lässt sich der Fettgehalt nicht ohne Weiteres mittels GC/FID bestimmen. Hierzu bedarf es zunächst einmal einer Vielzahl unterschiedlicher Probenvorbereitungsschritte. Um den Fettgehalt bestimmen zu können, muss das Fett – gegebenenfalls nach vorheriger Trocknung – aus dem Lebensmittel extrahiert werden, üblicherweise unter Verwendung einer Soxhlet-Apparatur, mit der das Fett unter Einsatz von Lösemittel unter Rückfluss vollständig aus der Probe entfernt wird. Diesem Schritt schließt sich die Entfernung des Lösemittels aus dem Fettextrakt an. Alles in allem handelt es sich um einen viele



Komplettlösung für die FAME-Analyse: MPS-GC/FID-System mit integrierter Mikrowelle. Die Analysenbedingungen gestalteten sich wie folgt: KAS = Liner mit Verwirbelung, Split (50 ml/min), 40 °C – 12 °C/s – 260 °C (3 min). GC-Säule: 100 m CP Sil-88 (Agilent), di = 0,25 mm, df = 0,20 µm, Pneumatik: He, konst. Fluss (1,2 mL/min), Ofen: 80 °C (2 min) – 4 °C/min – 225 °C (25 min), FID: 260 °C.

Stunden beanspruchenden, arbeitsintensiven Prozess, der im weiteren Verlauf in der Verseifung und Derivatisierung der Fettbestandteile mündet:

Fette und fette Öle sind Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerin (Propan-1,2,3-triol) mit drei, meist verschiedenen, überwiegend geradzahigen und unverzweigten aliphatischen Monocarbonsäuren; Verbindungen dieser Art werden Triglyceride genannt. Triglyceride lassen sich allerdings nur schwer direkt gaschromatographisch analysieren. Im

Allgemeinen werden die Esterverbindungen geknackt und die freien Fettsäuren im Zuge einer Derivatisierung in die korrespondierenden Fettsäuremethylester (FAME, Fatty Acid Methyl Ester) überführt. Im Gegensatz zu den jeweiligen Fettsäuren sind FAMES unpolar, moderat flüchtig und GC-gängig. Aus deren Gehalt lassen sich im Anschluss an die Messung die relevanten Fettparameter durch Umrechnung ermitteln.

Hoher Automatisierungsgrad fördert die Effizienz der Analyse

Auch der Schritt der Derivatisierung erweist sich, von Hand ausgeführt, als aufwendig; allerdings lässt er sich erfolgreich automatisieren, wie es Ray Perkins und Kollegen von der in England ansässigen Firma Anature gezeigt haben [6]: Sie haben die vielfach beschriebene manuelle Derivatisierung der freien Fettsäuren mit Bortrifluorid (BF₃) und Methanol adaptiert und auf einen kommerziell erhältlichen, umfangreich ausgestatteten Autosampler (GERSTEL-MPS-PrepStation) übertragen. Perkins und seine Kollegen nutzten zur Fettextraktion statt des herkömmlichen Soxhlet-Verfahrens die sogenannte beschleunigte Lösemittelextraktion (Accelerated Solvent Extraction, ASE), was den Lösemittelsatz reduzierte und zu einem deutlichen Zeitgewinn führte. Eine komplette Automatisierung der Probenvorbereitung wurde jedoch noch nicht erreicht.

Dies gelang nun John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage, indem sie eine mikrowellenbeschleunigte Lösemittelextraktion durchführten. Die verwendete Mikrowelle wurde hardware- und softwareseitig in die Probenvorbereitung des Autosamplers eingebunden, was wiederum bedeutete, dass sich die gesamte quantitative Bestimmung deklarationsrelevanter Fettparameter erstmals vollständig automatisiert durchführen ließ – mehrere Proben sequenziell und auch über Nacht und am Wochenende.

Ohne Technik geht es nicht

Zur GC/FID-Analyse verwendeten die US-Applikationsexperten eine Gerätekombination von Agilent Technologies. Beim temperaturprogrammierbaren Probeneinlass des verwendeten GC 7890 handelt es sich um ein GERSTEL-KaltAufgabeSystem (KAS), bei dem Autosampler um einen GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS-Version: Single Rail, Dual Head); der MPS war ausgestattet mit einer 5-mL-Spritze für die im Zuge der Probenvorbereitung erforderliche Handhabung größerer Lösemittelmengen sowie einer 10-µL-Spritze zur Injektion der Probe ins GC-System. Die Mikrowellenextraktion erfolgte auf einer CEM-Mikrowelle Discover SP-D. Gesteuert wurde die Probenvorbereitung mittels der GERSTEL-MAESTRO-Software, die vollständig in die ChemStation von Agilent Technologie integriert ist.

Um ihre Komplettlösung für die Fettanalytik auf Herz und Nieren zu überprüfen, untersuchten John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage unterschiedliche fetthaltige Lebensmittelproben, darunter Erdnüsse, Karamell, verschiedene Käsesorten, pflanzlichen Brotaufstrich und Schokolade. Getestet wurde das System unter Einsatz einer FAME-Standardlösung, die 37 unterschiedliche Fettsäuremethylester enthält. In Chloroform (CHCl₃) angesetztes Tridecanoin diente als interner Standard (IS). Die Erdnüsse wurden zu Pulver vermahlen, sodann wie die anderen Proben auch in Mengen von 0,1 bis 0,3 Gramm je Probe in 35-mL-Mikrowellenbehälter vorgelegt und auf dem MPS-Autosampler platziert. Alle weiteren Probenvorbereitungsschritte bis zur GC-Analyse erfolgten wie folgt dargestellt vollständig automatisiert:

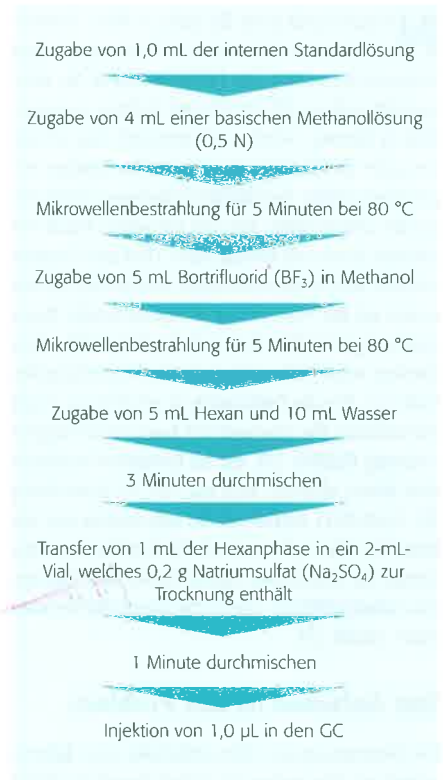
Durchschnittliche Nährwerte		
	Pro 100 g Müsli	1 Portion**
Brennwert	1891 kJ 451 kcal	1147 kJ 273 kcal
Eiweiß	9,3 g	8,0 g
Kohlenhydrate	62,8 g	36,2 g
davon Zucker	17,4 g	13,5 g
Fett	16,5 g	9,9 g
davon gesättigte Fettsäuren	7,5 g	4,9 g
Ballaststoffe	6,9 g	3,5 g
Natrium	0,15 g	0,12 g

**1 Portion = 50 g Müsli mit 100 ml fettarmer Milch

1 Portion (50 g Müsli mit 100 ml fettarmer Milch) enthält				
Brennwert	Zucker	Fett	gesättigte Fettsäuren	Natrium
273 kcal	13,5 g	9,9 g	4,9 g	0,12 g
14%	15%	14%	25%	5%

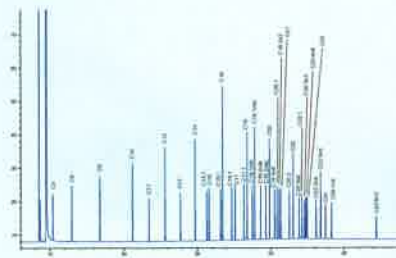
% des Richtwertes für die Tageszufuhr (GDA)*
*Guideline Daily Amount (GDA). Die deklarierten Werte basieren auf einer Ernährung von täglich 2000 kcal (Quelle: FoodDrinkEurope).

Die Deklaration von Nährstoffen auf Lebensmittelverpackung ist aktiver Verbraucherschutz. Der aber schützt nicht vor Übergewicht. Nur wer die vom Gesetzgeber geforderten Angaben auch liest, ist klar im Vorteil.

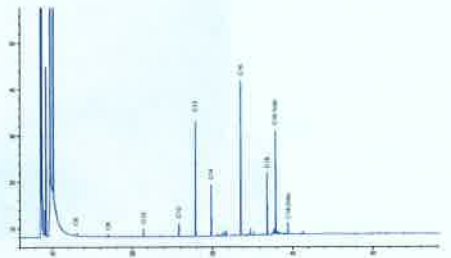


Automatisierung der Fettanalytik erfolgreich durchgeführt

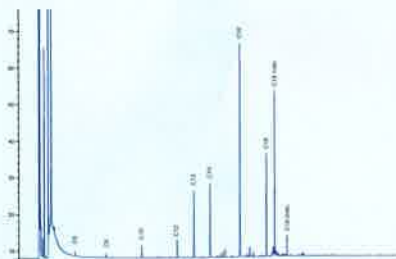
„Die Zeiten, als man deklarationsrelevante Fettwerte aufwendig von Hand ermittelt hat, gehören der Vergangenheit an“, freuen sich John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage über den erfolgreichen Einsatz ihres MPS-Mikrowellen-GC/FID-Komplettsystems für die automatische Bestimmung von Gesamtfett, gesättigten Fettsäuren, einfach ungesättigten Fettsäuren und vor allem auch *trans*-Fettsäuren in Lebensmitteln. Durch die Integration einer Mikrowelle sei es gelungen, die bislang stets separat durchgeführte Verseifung, Extraktion (Soxhlet, ASE) und Derivatisierung zu automatisieren und damit den Zeit- und Arbeitsaufwand drastisch zu reduzieren beziehungsweise die Fettanalytik durch die Möglichkeit von Analysenläufen über Nacht oder am Wochenende zu optimieren. Die US-Wissenschaftler rechnen vor, dass sich bei einer GC-Laufzeit pro Probe von rund einer Stunde für die gesamte Trennung und durch eine zeitliche Verschachtelung von Probenvorbereitung und GC-Analyse aktuell 15 Proben in nur 18 Stunden vollständig extrahieren und analysieren lassen, von der Reduktion des Lösemitelesatzes ganz zu schweigen. Die Identifikation der Analyten wird über die absoluten beziehungsweise relativen Retentionszeiten der Peaks im Chromatogramm zum internen Standard ermittelt. Die Auswertung des Fettgehalts geschieht durch Umrechnen in bekannter Manier. „Die im Zuge der automatisierten Probenvorbereitung und Analyse erzielten Messwerte zeugten von einer hohen Präzision und einer guten Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die unter den Bedingungen des zum Teil manuell durchgeführten Standardverfahrens erzielt wurden. Kurz: Die neue MPS-GC/FID-Komplettlösung ist erprobt und tauglich für den Einsatz in der Praxis“, bilanzieren John R. Stuff und Jacqueline A. Whitecavage.



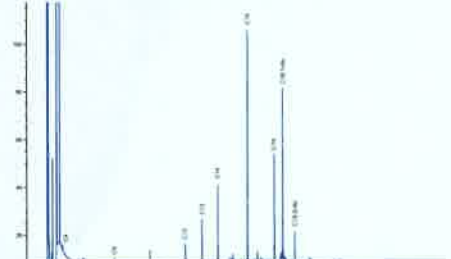
Chromatogramm des 37-komponentigen FAME-Standards.



Chromatogramm einer Joghurtprobe.



Chromatogramm einer Cheddarkäseprobe.



Chromatogramm einer Probe pflanzlichen Brotaufstrichs.

Stichwort: *trans*-Fettsäuren

trans-Fettsäuren sind ungesättigte Fettsäuren mit mindestens einer *trans*-konfigurierten Doppelbindung zwischen zwei Kohlenstoffatomen. In natürlichen Fetten sind *trans*-Fettsäuren meist nur in geringem Maße enthalten, sie können jedoch bei der industriellen Fetthärtung (z.B. in der Magerine- und Bratfettproduktion) oder bei hohen Temperaturen gebildet werden. Lebensmittel mit hohem Gehalten an *trans*-Fettsäuren führen zu einem Anstieg des Gesamt-Cholesterin und der Low-density-Lipoproteine-(LDL), die umgangssprachlich auch als „schlechtes“ Cholesterin bezeichnet werden und reduzieren den High-density-Lipoprotein-(HDL)-Spiegel, sprich: die Menge an „gutem“ Cholesterin im Blut. Epidemiologische Studien lassen auf einen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von *trans*-Fettsäuren und dem Entstehungsrisiko koronarer Herzerkrankungen schließen. 2004 hat die Euro-

päische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) *trans*-Fettsäuren bewertet. Eine europaweit einheitliche Regelung für diese Verbindungen gibt es nicht, wohl aber nationale Grenzwerte: In Dänemark und in der Schweiz etwa darf der Gehalt an *trans*-Fettsäuren in Nahrungsfetten zwei Prozent nicht übersteigen; in manchen US-Bundesstaaten wie New York und Philadelphia ist die Verwendung von *trans*-Fetten für die Zubereitung von Speisen in Restaurants, Imbissstuben, Lokalen, Cafés und Konditoreien per Gesetz verboten. Viele Nahrungsmittelhersteller haben mittlerweile Produkte mit deutlich reduzierten Gehalten oder ohne *trans*-Fettsäuren entwickelt. Bei Kontrollen fällt aber Importware auf, so etwa Backwaren aus Thailand, in denen schwedische Kontrollbehörden 2009 Gehalte von nahezu 40 Prozent nachwies. [Quelle: Bundesinstitut für Risikoforschung (BfR)]

Quellenverzeichnis

- [1] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Überblick über die Kennzeichnung von Lebensmitteln, www.bvl.bund.de/DE/01_Lebensmittel/03_Verbraucher/02_KennzeichnungLM/01_Ueberblick/Im_kennzeichnung_lebensmittel_Ueberblick_node.html
- [2] www.gesetze-im-internet.de/lmkv/index.html
- [3] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV): Einheitliche Kennzeichnung von Lebensmitteln in der EU schafft mehr Transparenz für Verbraucher (www.bmelv.de)
- [4] Artikel 30, VERORDNUNG (EU) Nr. 1169/2011
- [5] John R. Stuff, Jacqueline A. Whitecavage: Automated Determination of Total Fat, Saturated Fat, Monounsaturated Fat and Trans Fat Content in Food Samples, AppNote 2013-03, www.cem.de/documents/produkte/loesemittel/p-gc-an-2013-03.pdf oder www.gerstel.de/pdf/p-gc-an-2013-03.pdf
- [6] G. Deußing: Fettsäuren vollautomatisiert derivatisieren und bestimmen, LaborPraxis 12 (2008) 34-36

GERSTEL-Workshops

GC-Kurse für Fortgeschrittene

Gaschromatographie (GC) ist kein Hexenwerk, das wissen versierte Anwender, die sich mit dieser analytischen Trenntechnik tagaus, tagein beschäftigen, aus dem Effeff. Unabhängig davon gibt es Faktoren, die es sich lohnt, einmal genauer zu betrachten, da sie die Chromatographie gasförmiger und flüchtiger Verbindungen nachhaltig beeinflussen und den Informationsgewinn steigern. GERSTEL bietet dem interessierten Anwender im kommenden Jahr mehrere GC-Workshops zu folgenden Themen an:

- Derivatisierung für die GC und ihre Automatisierung (24.06.2014)
- Sinnliches Messen mit GC-O: Einführung in die olfaktorische Detektion (12./13.05.2014)

- Pyrolyse-GC/MS: Anwendung, Methodenentwicklung und Interpretation (04.07.2014)

Unter Anleitung ausgewiesener Experten wird den Workshop-Teilnehmer das notwendige Fachwissen in Theorie und Praxis vermittelt.

Detaillierte Informationen über die Workshop-Inhalten, Termine, Preise, maximale Teilnehmerzahl und Anmeldung erhalten Sie im Internet unter www.gerstel.de.



„Immer bestens informiert.“