

# Vergleich der Fettsäuren und der Isomerenverteilung der *trans*-C18:1-Fettsäuren von Milchfett, Margarine, Back-, Brat- und Diätfetten

Von D. Precht und J. Molzentin

Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Milchforschung, Postfach 60 69, 24121 Kiel

## 1. Einleitung

*Trans*-Fettsäuren (TFS) in bovinem Milchfett entstehen aufgrund von mikrobieller Hydrierung im Pansen der Kühe sowie bei Margarine und Bratfetten als Folgeprodukt der partiellen Fetthydrierung zur Erzielung einer gewünschten Konsistenz.

In den letzten Jahren führten Publikationen über Diätstudien an Frauen und Männern insbesondere von Mensink, Katan und Zock (1-3), Judd et al. (4) und anderen sowie epidemiologische Studien u.a. von Willett et al. (5) zu einer weltweiten Diskussion über potentielle Risiken in Zusammenhang mit einem höheren Verzehr von TFS. Im Vordergrund der Auseinandersetzungen stehen hierbei eine vorzeitige Atherosklerose sowie kardiovaskuläre Erkrankungen. Hierbei sollen TFS eine höhere LDL- bzw. niedrigere HDL-Cholesterinkonzentration im Serum sowie eine Zunahme des Lipoprotein(a)-Spiegels verursachen. Darüber hinaus werden TFS noch einige weitere Eigenschaften zugeschrieben (6). Allerdings sei hervorgehoben, daß eine Reihe von Punkten durchaus kontrovers diskutiert wird. So konnte in der EURAMIC-Studie (7) kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem TFS-Konsum und KHE festgestellt werden und auch in einem 1995 erschienenen Übersichtsartikel des "Expert Panel" vom "International Life Science Institute" (ILSI) wird aufgrund der bisher veröffentlichten epidemiologischen Studien ein derartiger Zusammenhang als nicht eindeutig genug angesehen (8).

In Untersuchungen nach 1990 über europäische teilhydrierte Speisefette wurden von Pfalzgraf et al. (9) 1992 im Mittel 10,2 % *trans*-C18:1-Fettsäuren in Margarine (n=12), 10,8 % in Bratfetten (n=5) und 1,1 % in Diätfetten (n=4) gefunden. 1995 fanden dieselben Autoren in Margarine 5,9 % (n=18, *trans*-C18:1) sowie 0,6 % in Diätfetten (n=6, *trans*-C18:1) (10). Demmelmair et al. (11) ermittelten in deutschen Margarinen (inklusive von Diätprodukten) und Butterproben TFS-Gehalte von 3,5 % (n=13) bzw. 4,6 % (n=6). Henninger und Ulberth (12) fanden in österreichischen Margarinen (einschließlich der Diätprodukte) für den Zeitraum 1991/92 im Mittel 15,7 % (n=468) und für 1995 6,5 % (n=61) TFS. In spanischen Margarinesorten analysierten Boatella et al. (13) 1993 durchschnittlich 10,8 % (n=47) TFS und De Greyt et al. (14) in belgischen und ungarischen Margarineprodukten 1996 6,36 % (n=9, hiervon 5,7 % *trans*-C18:1) bzw. 14,06 % (n=7, hiervon 13 % *trans*-C18:1).

---

Abkürzungen: C18:1 = Octadecensäuren; TFS = *trans*-Fettsäuren; TPI = *trans*-Positionsisomere von C18:1; GC = Gaschromatographie; KHE = koronare Herzerkrankungen; TLC = Dünnschichtchromatographie; FAME = Fettsäuremethylester

In den wenigen bisher nach 1990 mit der kombinierten TLC/GC-Technik durchgeführten Untersuchungen fanden Henninger und Ulberth (15) in österreichischen Milchfetten (n=31) 3,33 % *trans*-C18:1-Fettsäuren. Bayard und Wolff (16) ermittelten in französischen Margarineprodukten 13,5% TFS (n=7). 4 von 12 untersuchten Margarinen waren frei von TFS, bei einem Produkt lagen weniger als 2 % vor. Weiterhin fand Wolff (17) in 24 untersuchten französischen Milchfetten im Mittel 3,8% *trans*-C18:1. Ratnayake et al. (18) fanden mit Hilfe einer exakten kombinierten IR/GC-Analysentechnik in kanadischen Margarinen *trans*-Gesamt-Anteile von 26 bis 50 % ("print", n=19) bzw. 0 bis 36 ("tub", n=31).

In der Literatur sind nur wenige verlässliche Angaben meist älteren Datums über die Verteilung von Positionsisomeren der *trans*-Octadecensäure veröffentlicht. Aber gerade derartige Ergebnisse könnten von zukünftigem Interesse sein. In epidemiologischen Studien kamen u. a. Willett et al. (5) zu dem Schluß, daß nur TFS aus hydrierten pflanzlichen Fetten nicht aber aus Milchfett das Risiko von KHE erhöhen. Weiterhin zeigten Auswertungen der Verzehrsgewohnheiten von 239 Patienten mit Myokardinfarkt im Vergleich zu 282 gesunden Personen von Ascherio et al. (19) einen signifikanten Zusammenhang zwischen der TFS-Aufnahme aus teilhydrierten Pflanzenfetten nicht aber einen Zusammenhang zwischen der Aufnahme tierischer Fette und dem Infarktrisiko. Als Erklärung hierfür wird von den Autoren die in Pflanzenfetten im Vergleich zu Milchfett verstärkt vorkommende Elaidinsäure (C18:1-*trans*  $\Delta$ 9) angeführt. Watts et al. (20) können allerdings aufgrund von Ernährungsstudien einen nachteiligen Einfluß der in tierischen Fetten vorherrschenden Vaccensäure auch nicht ausschließen. Ein Vergleich insbesondere der Gehalte verschiedener TPI in Milchfett (Butterfett) sowie Margarine und Bratfetten ist also von besonderem Interesse und soll neben der Gegenüberstellung der Gehalte verschiedener Hauptfettsäuren schwerpunktartig in diesen Ausführungen behandelt werden.

Die beschriebenen Untersuchungen beziehen sich im folgenden ausschließlich auf *trans*-C18:1-Fettsäuren, also auf Isomere der Octadecensäure, die beim Milchfett über 97 % aller *trans*-Isomere ausmachen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Fettproben und Herstellung der FAME

Von 123 norddeutschen Streichfetten (Margarine, Back-/Bratfette [im weiteren als Bratfette bezeichnet] und Diät-/Reformfette) vom August 1994 (n=93), Dezember 1994 (n=15) und Januar 1996 (n=15) sowie 1756 westdeutschen Butterproben wurde das Fett durch Aufschmelzen bei 70°C (Streichfette) bzw. 50°C (Butter) und Filtration der Fettphase gewonnen. Anschließend wurden 10%ige Fettlösungen in n-Heptan hergestellt und mit Natriumsulfat getrocknet.

FAME wurden durch Umesterung mit Natriummethylat hergestellt: Ein Gemisch von 1200  $\mu$ l n-Heptan, 300  $\mu$ l der 10%igen Fettlösung und 30  $\mu$ l 2 N Natriummethylatlösung (in Methanol) wurde 3 min kräftig geschüttelt (Vortex-Mixomat). Nach dem Zentrifugieren (2 min mit 2000 min<sup>-1</sup>) wurden die unten angegebenen Volumina des erhaltenen Überstands mit der "hot injection"-Technik eingespritzt.

### 2.2 Silberionen-Dünnschichtchromatographie

Mit 0,25 mm Kieselgel 60 beschichtete DC-Platten (20 x 20 cm, Glas, Fa. Merck/Darmstadt) wurden für 20 min in eine 20%igen Silbernitratlösung (in Wasser, w/v) getaucht und anschließend im Dunkeln luftgetrocknet. Vor Gebrauch wurden die Platten

30 min bei 120°C aktiviert und nach dem Abkühlen innerhalb einer Stunde zur Trennung verwendet. Unter Aussparung eines 1,5 cm breiten Randes an beiden Seiten wurde eine ca. 20%ige (v/v) Lösung von FAME in n-Heptan als schmales Band mit einer Konzentration von 0,4 mg FAME cm<sup>-1</sup> auf die Platte aufgetragen. Nach der Entwicklung in einer mit Fließpapier ausgekleideten DC-Kammer mit n-Heptan/Diethylether (90:10) wurde die Platte an der Luft getrocknet und die Fraktionen (von oben: gesättigte FAME, *trans*-Monoen-FAME, *cis*-Monoen-FAME) durch Einsprühen mit einer 0,2%igen Lösung von 2',7'-Dichlorofluorescein in *iso*-Propanol sichtbar gemacht. Nach dem Markieren unter UV-Licht wurden die Fraktionen einzeln abgekratzt und mehrfach mit Diethylether extrahiert. Durch Eindampfen der vereinigten Extrakte jeder Fraktion im Stickstoffstrom und Lösen des Rückstands in n-Heptan wurden Proben für die GC-Analyse erhalten.

### 2.3 Analyse der FAME und der Triglyceride

Von 100 der 1756 Milchfette, die sich über den gesamten natürlichen Schwankungsbereich kontinuierlich im C54-Triglyceridanteil (alle Triglyceride mit 54 Acyl-Kohlenstoffatomen) und damit bezüglich der Fütterungsbedingungen unterschieden, wurde die Gesamtfettsäurezusammensetzung (ca. 70 verschiedene Fettsäuren) gaschromatographisch quantifiziert. In gleicher Weise wurden alle Fettsäuren der auf pflanzlicher Basis beruhenden Streichfette analysiert. Die Messung der Gesamtfettsäurezusammensetzung erfolgte mit einem GC CP 9001 (Chrompack, Middelburg/Niederlande). Hierbei wurde eine Fused-Silica Kapillarsäule CP-Wax-58 CB (Chrompack) mit folgenden Versuchsparametern eingesetzt: 25 m Länge, i.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,20 µm; Trägergas: H<sub>2</sub> bei 40 kPa; Splitverhältnis 1:50; Detektor- und Injektortemperatur: 265°C; Ofentemperaturprogramm: 45°C, 1 min isotherm, dann mit 5°C/min auf 225°C, 15 min isotherm, dann mit 5°C/min auf 260°C. Die Einspritzmenge betrug 1 µl einer 2%igen Lösung. Zur Kalibrierung der einzelnen Fettsäuren wurde ein Standard aus Methylestern aller Hauptfettsäuren eingesetzt.

Die Messung der *cis/trans*-Isomere aller Milchfette und teilhydrierten Streichfette sowie der verschiedenen TLC-Fraktionen erfolgte mit einem GC 438 (Chrompack) und einer WCOT Fused-Silica Kapillarsäule CP-Sil-88 (Chrompack, 100% Cyanopropylpolysiloxan). Versuchsparameter: 100 m Säulenlänge, i.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,20 µm; Trägergas: 0,6 ml H<sub>2</sub>/min (162 kPa); Splitverhältnis 1:50; Detektor- und Injektortemperatur: 255°C; Ofentemperatur: isotherm 175°C. Die Einspritzmenge betrug 0,5 µl einer 1%igen Lösung. Weitere Analysen zur Optimierung der Auflösung verschiedener *trans*-Positionsisomere wurden bei isothermen Ofentemperaturen zwischen 175°C und 125°C sowie Säulenvordrücken zwischen 162 und 220 kPa H<sub>2</sub> durchgeführt. Die Kalibrierung der *trans*-Octadecensäuren erfolgte beim nichtfraktionierten Fett anhand der Stearinsäure, die mit der Gesamtfettsäureanalyse erfaßt wurde, bei der *trans*-TLC-Fraktion anhand von *trans* Δ11 (vom nichtfraktionierten Fett). Die Identifizierung der TPI wurde mittels der FAME-Standards *cis* Δ6, Δ7, Δ9, Δ11, Δ12, Δ13, Δ15 sowie *trans* Δ6, Δ7, Δ9, Δ11, Δ12, Δ13, Δ15 von Sigma (St. Louis, Missouri, USA) durchgeführt.

Die Triglyceride wurden mit einem GC 439 (Chrompack) mit 50-cm-Glassäulen (i.D. = 2 mm) analysiert. Belegung der Säule: 3% OV-1 auf 100/120 mesh Gas Chrom Q; Temperaturprogramm: 210°C, 1 min isotherm, dann mit 6°C/min bis 350°C, anschließend 5 min isotherm; Detektor- und Injektortemperatur jeweils 370°C; Trägergas N<sub>2</sub> mit ca. 40 ml/min. Einspritzen von 1 µl einer 5%igen Lösung von Fett in n-Heptan. Triglyceride mit ungerader Acyl-C-Zahl (2N+1) sind mit dem jeweils vorangehenden geradzahligem Triglycerid (2N) zusammengefaßt worden. Die nicht so gut reproduzierbaren geringen C56-Anteile fanden keine Berücksichtigung; die restlichen Triglyceride ein-



schließlich des Cholesterins wurden auf 100 normiert. Genauere Angaben über die Herstellung und Konditionierung der Säule sowie über die Kalibrierung einzelner Triglyceridpeaks sind früher beschrieben worden (21).

Da die kombinierte TLC/GC-Technik sehr aufwendig und zeitintensiv ist, wurde für die Bestimmung der TPI von MilCHFetten ein auf der Auswertung von Triglyceridkombinationen beruhendes Verfahren benutzt, mit dem man in etwa 20 min mit hoher Genauigkeit alle *trans*-Isomere von MilCHFett bestimmen kann. Dieses Verfahren beruht auf mittels der TLC/GC-Methode gewonnenen Daten und ist früher beschrieben worden (21).

## 2.4 Quantitative Auswertung der Chromatogramme

Die Integration sowie Bearbeitung aller Chromatogramme erfolgte an einer Hewlett-Packard 3365 II Chem-Station.

## 3. Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Analyse von *trans*-C18:1-Fettsäuren

Die Ergebnisse eigener GC-Untersuchungen zeigen, daß zahlreiche früher publizierte GC-Analysen bezüglich der TFS mit nicht geeigneten stationären Phasen oder zu kurzen Säulen, wie in Abb.1a und 1c dargestellt, zu unbefriedigenden Ergebnissen führten. Auch frühere IR-Analysen von Fettprodukten mit *trans*-Anteilen unter 15 % sind als fragwürdig einzustufen (6). Im Gegensatz zu diesen älteren IR-Methoden können mit Hilfe neuer FTIR-Verfahren und Spektrensubtraktionstechnik zwar weitgehend exakte *trans*-Gehalte in Fetten analysiert werden (22, 23). Allerdings umfassen alle auf IR basierenden Ergebnisse auch andere TFS wie *trans*-C16:1 oder *trans*-Formen von C18:2, wobei diese Anteile nicht von *trans*-C18:1 unterscheidbar sind. Die verschiedenen TPI können mit IR auf keinen Fall differenziert werden.

Es war daher dringend notwendig, verlässliche, exakte Methoden zur Quantifizierung der Gesamt-*trans*-C18:1-Fettsäuren sowie möglichst aller einzelnen TPI zu entwickeln. In der neueren Literatur angegebene, gaschromatographisch bestimmte Gesamt-*trans*-C18:1-Gehalte sind bisher fast immer mit Hilfe der direkten GC an 30-50 m-Säulen ermittelt worden. Diese erfaßt aufgrund von Überlappungen zwischen *cis*- und *trans*-Isomeren allerdings nur einen Teil aller *trans*-Octadecensäuren. Abb.1e verdeutlicht, daß mit der von uns eingesetzten Analytik mit 100 m-Säulen (100 % Cyanopropylpolysiloxan-Phase) erstmals die TPI  $\Delta 4$ ,  $\Delta 5$ ,  $\Delta 12$ ,  $\Delta 13$ - $\Delta 14$  und  $\Delta 15$  erfaßt bzw. die Isomere  $\Delta 6$ -8,  $\Delta 9$ ,  $\Delta 10$  und  $\Delta 11$  aufgelöst werden können. *Trans*  $\Delta 16$ , weit rechts vom Ölsäurepeak, wurde in der Literatur häufig nicht berücksichtigt. Bei der Optimierung unserer gaschromatographischen Bedingungen wurde bei der isothermen Analyse die Ofentemperatur mit 175°C so gewählt, daß möglichst die TPI *trans*  $\Delta 13/14$  und *trans*  $\Delta 15$  vom Ölsäurepeak (*cis*  $\Delta 9$ ) getrennt werden und damit ein Höchstmaß an Informationen zur Verfügung steht. Bei zu niedrigen (Abb.1b) oder zu hohen (Abb.1d) Temperaturen können diese Isomere zum Teil nicht aufgelöst werden. Aus Abb.1e geht weiterhin hervor, daß einige *cis*-Isomere, wie *cis*  $\Delta 6$ -8 oder *cis*  $\Delta 14$  unter den *trans*-Peaks liegen.

Eine exakte Erfassung aller *trans*-Anteile ist daher nur mit einer dünn-schichtchromatographischen Vortrennung (TLC) mittels silbernitratimprägnierter Silicagelplatten und anschließender gaschromatographischer Analyse der Methylester möglich. In Abb. 2 sind hierbei neben den nichtfraktionierten C18-Fettsäuren (Fettsäuren gesamt) einerseits die dünn-schichtchromatographisch isolierten *trans*-Isomere, andererseits die *cis*-Isomere dargestellt. Chromatogramme mit der in Abb. 2 gezeigten Auflösung konnten auch anhand der kombinierten Anwendung von TLC und der gaschromatographischen

Analyse der Isopropylester an Stelle der hier dargestellten Methyl ester von Wolff (24) gezeigt werden. Der französische Wissenschaftler bestätigte hierbei die in Abb.1 und 2 aufgeführte Zuordnung der TPI. Neue Untersuchungen mit Hilfe der kombinierten Anwendung von TLC und GC der epoxidierten *trans*-Octadecensäuren auf Trifluorpropylmethyl-Kapillarsäulen scheinen zwar zu einer besseren Auflösung von *trans*  $\Delta 6$  und  $\Delta 7$  zu führen (25). Allerdings kann hiermit bisher keine Trennung der im Milchfett überwiegend vorkommenden Vaccensäure (*trans*  $\Delta 11$ ) von *trans*  $\Delta 10$ ,  $\Delta 12$  und  $\Delta 13$  erreicht werden. Auch die insbesondere wichtige Trennung von Elaidin- und Vaccensäure ( $\Delta 9/\Delta 11$ ) ist hierbei offensichtlich schlechter.

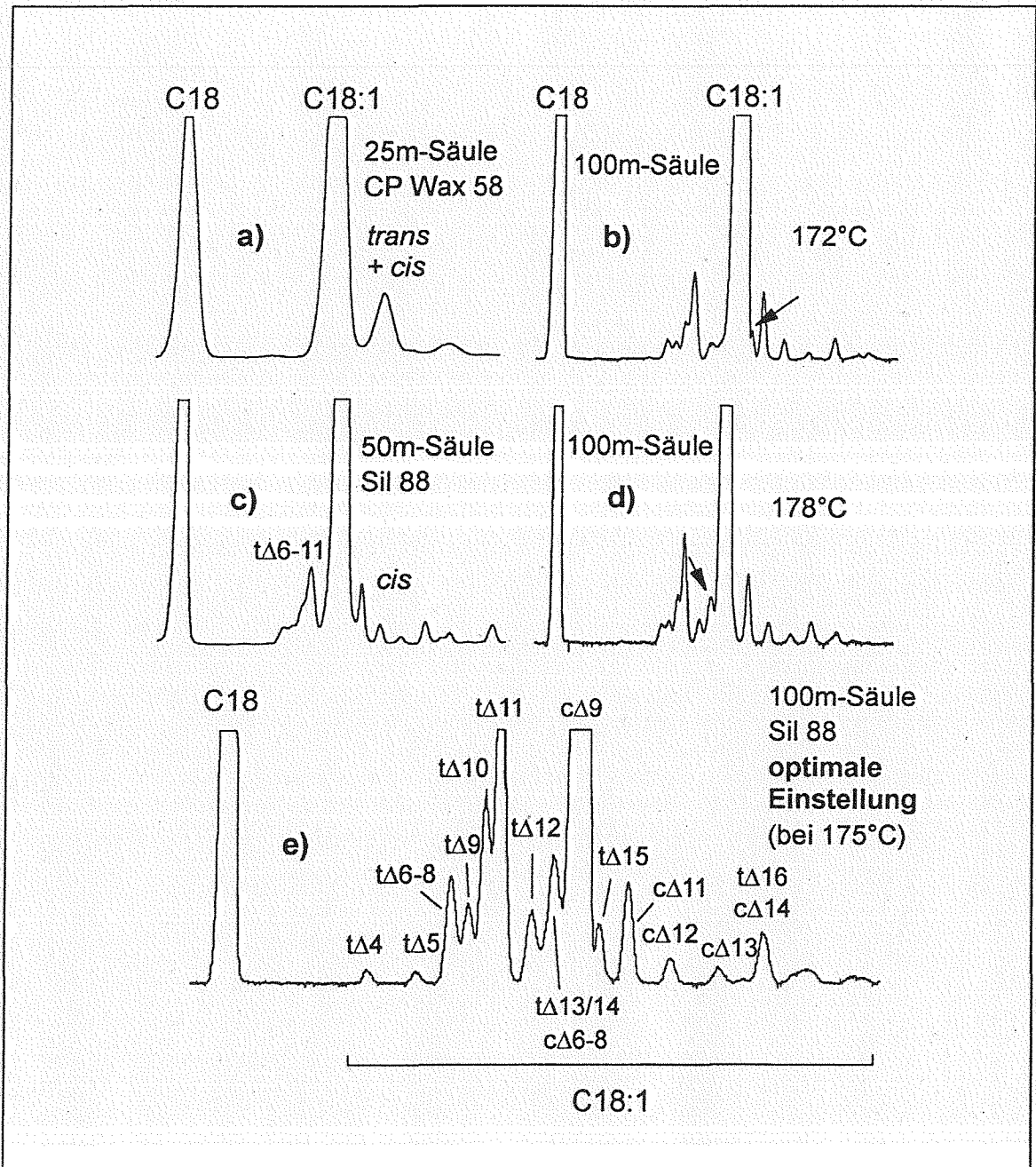


Abb. 1: Chromatogrammausschnitte der C18-Fettsäuren von Milchfett bei Verwendung verschiedener Säulen und Temperaturprogramme (a) und c): Temperaturprogramm siehe Methodenteil; b), d) und e): isotherm)

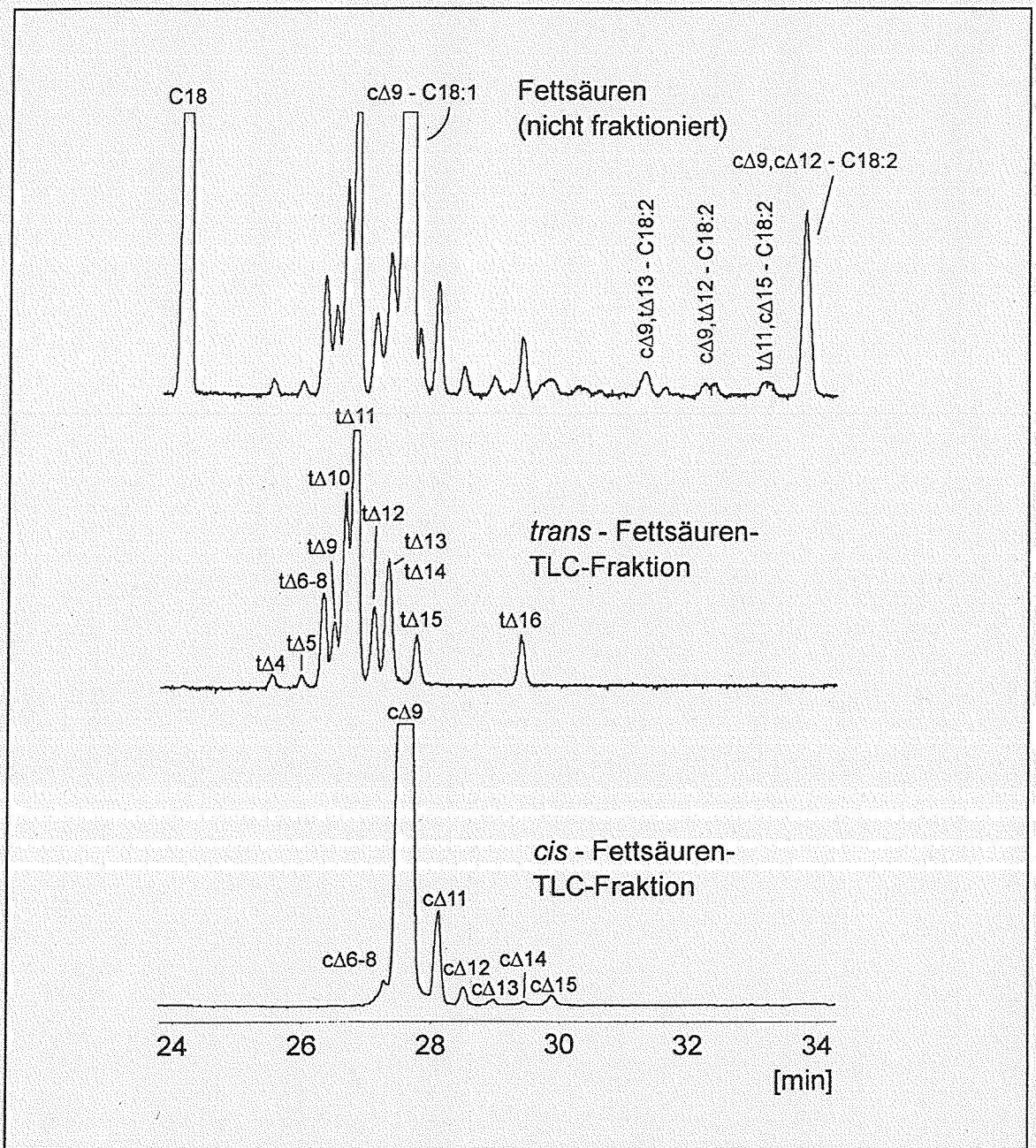


Abb. 2: Dünnschichtchromatographische Abtrennung der Methylester der *trans*- und der *cis*-Octadecensäuren von Milchfett (Analyse mit Hilfe einer 100 m - Sil 88-Kapillarsäule)

Nochmals optimierte gaschromatographische Bedingungen bei der FAME-Analyse führen nun auch zu einer erstmaligen gaschromatographischen Auftrennung von *trans*  $\Delta 13$  und  $\Delta 14$  sowie zu einer fast basislinientiefen Trennung einzelner TPI. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, ergeben sich damit allerdings sehr lange Analysenzeiten. Die Untersuchungen zeigen, daß *trans*  $\Delta 13$  und  $\Delta 14$  etwa zu gleichen Teilen in Milchfetten vertreten sind.

Eine Trennung der Isomere *trans*  $\Delta 6$  bis  $\Delta 8$  ist offensichtlich sehr schwierig, da, wie früher festgestellt worden ist, *trans*  $\Delta 6$  und  $\Delta 7$  im Vergleich zu  $\Delta 8$  nur sehr geringe Anteile aufweisen. Parodi (26) ordnet z.B. bei Milchfett von der Isomerengruppe *trans*  $\Delta 6-8$  71 % dem Isomer *trans*  $\Delta 8$  zu.



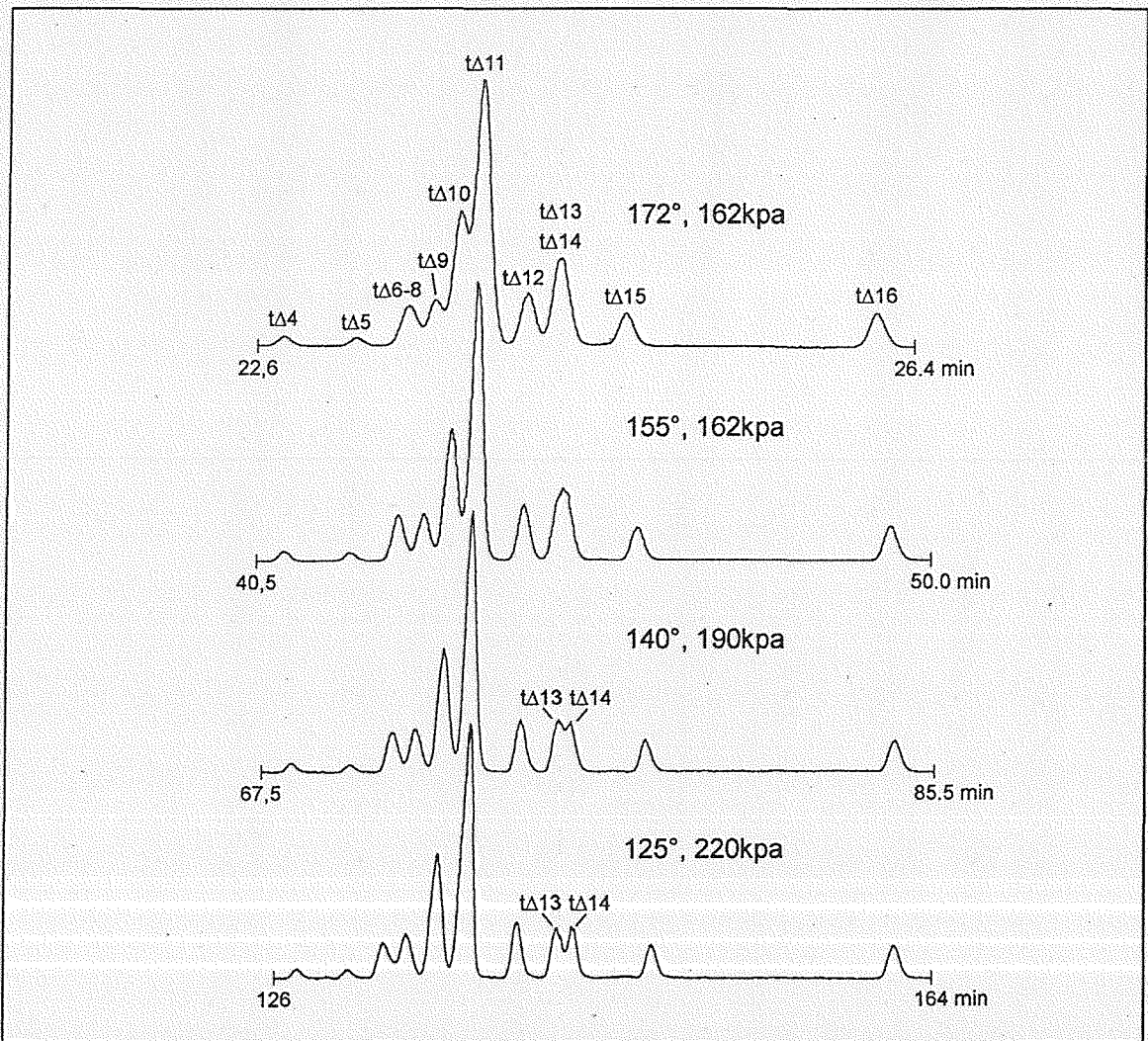


Abb. 3: Auflösung von C18:1-Positionsisomeren der *trans*-TLC-Fraktion (FAME) von Milchfett bei unterschiedlichen gaschromatographischen Bedingungen (Angabe der isothermen Ofentemperatur, des Säulenvordrucks und der Analysenzeiten)

Aus Abb. 4 geht hervor, daß bei der Auswertung von 1707 verschiedenen Milchfetten eine gaschromatographische Analyse mit nur 30 bis 50 m langen Säulen ohne Dünnschichtchromatographie (d. h. bei ausschließlicher Erfassung der *trans*  $\Delta$ 6 bis  $\Delta$ 11 - Isomere) nur 38 bis 92 % sowie im Mittel 60 % aller *trans*-C18:1-Fettsäuren erfaßt, die bei dünn- schichtchromatographischer Vortrennung und anschließender GC-Analyse gefunden werden. Entsprechende in Abb. 4 aufgeführte Untersuchungen an 46 verschiedenen Margarinesorten und 16 Bratfetten zeigen, daß mit diesen kürzeren Säulen ohne Vortrennung, abhängig von der Isomerenverteilung des untersuchten Fetts, nur 33 bis 90 % sowie im Mittel 76 % der *trans*-C18:1-Fettsäuren nachgewiesen werden, wobei *trans*  $\Delta$ 4 und  $\Delta$ 5 sowie *trans*  $\Delta$ 12 bis  $\Delta$ 16 nicht erfaßt werden.

Aus Abb. 2 geht hervor, daß beim Milchfett neben den *trans*-C18:1-Isomeren auch geringere *trans*-C18:2-Anteile hauptsächlich von *cis*  $\Delta$ 9, *trans*  $\Delta$ 13-, *cis*  $\Delta$ 9, *trans*  $\Delta$ 12- und *trans*  $\Delta$ 11, *cis*  $\Delta$ 15-C18:2 sowie von *cis*  $\Delta$ 9, *trans*  $\Delta$ 11 vorliegen (15, 23), die zusammen mit weiteren konjugierten C18:2-Fettsäuren etwa 1,8 % ausmachen (27). Entsprechend treten bei Margarine und Bratfetten insbesondere *trans*  $\Delta$ 9, *trans*  $\Delta$ 12- sowie *cis*  $\Delta$ 9, *trans*  $\Delta$ 12- und weiterhin *trans*  $\Delta$ 9, *cis*  $\Delta$ 12-C18:2-Gehalte (28) von insgesamt etwa 0,6 % auf (27).

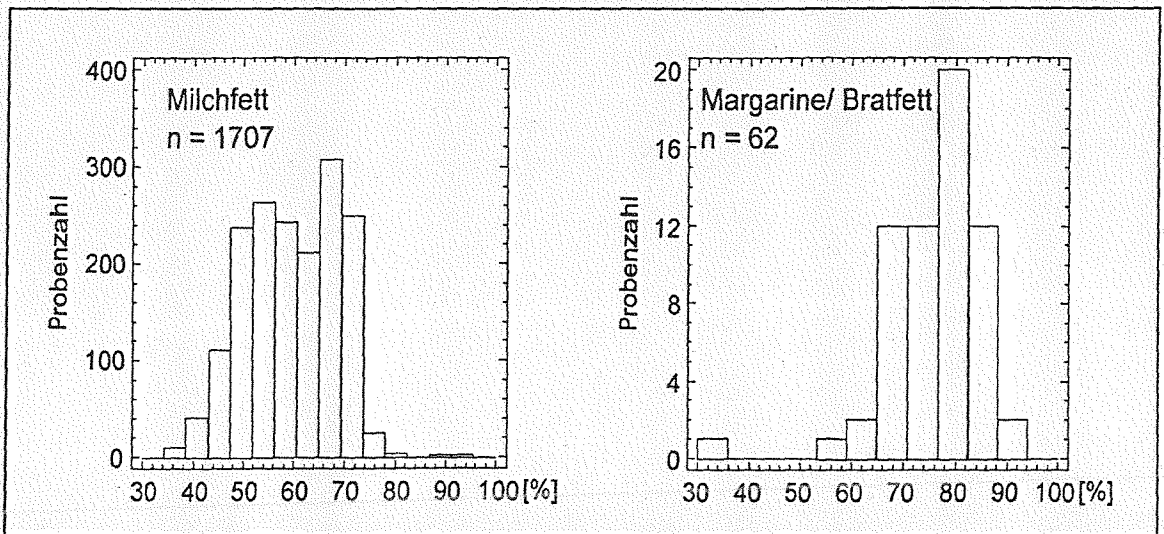


Abb. 4: Häufigkeitsverteilung der mit 30-50 m langen Säulen erfaßbaren *trans*-C18:1-Anteile (*trans* Δ6 bis Δ11) in Prozent der mit der kombinierten TLC/GC-Technik gefundenen Gehalte (*trans* Δ4 bis Δ16) bei 1707 Milchfetten bzw. 62 Margarine- und Bratfettproben

### 3.2 Fettsäuremuster und *trans*-C18:1-Isomere in Milchfett und teilhydrierten Pflanzenfetten

In Tab. 1 sind neben den Mittelwerten und Standardabweichungen auch die Schwankungsbereiche der Haupt- und fast aller Minorfettsäuren, der *cis*- und *trans*-Octadecensäuren sowie der Summe der gesättigten Fettsäuren C12, C14 und C16 sowie aller Monoensäuren sowohl der 100 fütterungsbedingt stark variierenden Milchfette als auch der weiteren 93 Streichfette auf pflanzlicher Basis aufgelistet. Die vorwiegend bei Milchfetten auftretenden verzweigt-kettigen Fettsäuren sind hierbei nicht aufgeführt.

Bekanntlich kommen die gesättigten, kurzkettigen, leicht verdaulichen Fettsäuren C4 bis C10 vorwiegend in Milchfetten (im Mittel etwa 10,7 %) vor, während in den übrigen Speisefetten nur geringe Anteile zu analysieren sind. C4-Anteile in Margarine, Brat- oder Diätfett zeigen hier Milchfettanteile an. Die gesättigten, langkettigen Fettsäuren C12-C16 kommen am meisten im Milchfett vor. Deren mittlere Gehalte steigen in den anderen Fetten von Margarine über Bratfett bis zu Diätfetten, wobei in diesen letztgenannten Fetten mit maximal fast 70 % außerordentlich hohe Anteile vorkommen können. Monoensäuren (ohne *trans*-C18:1-Anteile) sind mit ähnlich hohen mittleren Gehalten in Milchfetten und Margarine zu verzeichnen; dagegen finden sich in Diät- und Reformfetten im Mittel deutlich weniger dieser Fettsäuren.

Während *cis*-Octadecensäuren in Milch- und Diätfetten fast gleich hoch und in Margarine und Bratfetten erhöht vorliegen, weisen alle Pflanzenfette höhere Anteile an Octadecadiensäure C18:2 auf. Hohe Anteile von C18:2 in Bratfetten (bis ca. 38%) und Brat-Diätfetten (bis ca. 55%) können aus ernährungsphysiologischer Sicht nicht unbedingt als positiv angesehen werden, da durch die Erhitzung beim Bratvorgang gerade mehrfach-ungesättigte Fettsäuren zu Oxidation sowie zu *cis/trans*-Isomerisierung neigen. Unsere jüngsten Untersuchungen zeigten hier durch oxidative Prozesse erhaltene Verluste an C18:2 von teilweise über 80% sowie einen Anstieg von *trans*-C18:2-Isomeren von über 700% (27). Die temperaturbedingte Oxidation führt wie bei der Autoxidation zur Bildung von Hydroperoxiden, die bei hohen Temperaturen aufgrund ihrer großen Reaktivität schnell in eine Vielzahl sekundärer Oxidationsprodukte, u.a. Aldehyde und Ketone, zerfallen. Als weitere mögliche Reaktionen bei der Erhitzung von Fetten sind Dimerisierung und Polymerisierung von mehrfach-ungesättigten Fettsäuren bzw. Triglyceriden zu nennen.



**Tab. 1: Anteile der Fettsäuren (Gew. % aller Fettsäuren) in MilCHFetten, MargarineN, Brat- und DiätFetten**

	Milchfett (n=100)				Margarine (n=46)				Bratfett (n=16)				Diätfett (n=31)			
	MW <sup>1)</sup>	SA <sup>2)</sup>	Min <sup>3)</sup>	Max <sup>4)</sup>	MW	SA	Min	Max	MW	SA	Min	Max	MW	SA	Min	Max
C4	4,13	0,19	3,71	4,65	0,03	0,16	-	1,07	0,05	0,17	-	0,72	-	-	-	0,05
C6	2,35	0,18	2,01	2,87	0,06	0,11	-	0,67	0,05	0,11	-	0,46	0,13	0,19	-	0,79
C8	1,33	0,15	1,07	1,73	0,50	0,57	0,02	1,63	0,24	0,43	0,02	1,70	1,57	2,10	0,04	8,61
C10	2,89	0,44	2,13	4,11	0,37	0,43	-	1,23	0,20	0,32	0,02	1,16	1,16	1,48	0,03	6,00
C12	3,62	0,70	2,43	5,78	2,81	3,20	0,08	9,07	1,30	2,25	0,16	8,94	9,47	10,07	0,31	40,44
C14	11,09	1,15	8,90	13,57	1,71	1,48	0,18	5,45	2,01	1,41	0,27	4,49	4,15	4,51	0,62	19,90
C15	1,25	0,11	0,99	1,47	0,06	0,08	0,01	0,41	0,13	0,10	0,03	0,35	0,04	0,01	0,02	0,07
C16	28,56	3,66	22,81	36,69	19,39	7,50	6,93	31,02	25,70	10,12	11,90	43,36	18,63	9,29	9,29	44,11
C16:1	1,58	0,28	1,01	2,06	0,40	1,02	0,07	6,73	1,18	1,66	0,13	5,15	0,14	0,05	0,03	0,24
C17	0,66	0,09	0,47	0,88	0,09	0,06	0,05	0,39	0,15	0,10	0,08	0,33	0,06	0,02	0,01	0,10
C17:1	0,32	0,04	0,17	0,40	0,05	0,03	0,03	0,17	0,07	0,04	0,03	0,14	0,03	0,01	-	0,05
C18	9,46	1,51	6,12	12,50	6,90	2,94	3,77	16,44	6,85	2,14	4,37	12,26	5,30	1,94	3,38	10,81
C18:1c <sup>5)</sup>	23,63	3,79	14,96	29,76	28,63	6,37	19,61	46,70	29,66	7,44	17,47	44,26	22,02	6,28	9,77	39,04
C18:1t <sup>6)</sup>	3,83	1,34	1,91	6,34	9,32	7,35	0,17	25,90	9,79	8,51	0,04	32,51	0,66	0,64	0,03	2,94
C18:2 <sup>7)</sup>	1,23	0,17	0,73	1,74	25,01	8,02	8,80	40,83	16,09	7,92	7,32	38,32	34,40	17,09	2,91	55,28
C18:3	0,68	0,16	0,34	1,06	2,73	1,65	0,20	5,71	2,34	1,59	0,31	5,44	1,26	1,37	0,08	4,28
C20	0,16	0,02	0,11	0,22	0,33	0,23	0,14	1,68	0,46	0,40	0,18	1,61	0,22	0,07	0,06	0,32
C20:1	0,17	0,04	0,09	0,29	0,40	0,42	0,10	2,70	0,63	0,73	0,14	2,51	0,17	0,08	0,05	0,38
C20:4	0,09	0,02	0,04	0,14	0,02	0,04	-	0,23	0,06	0,08	-	0,21	-	0,01	-	0,02
C22	0,07	0,02	0,03	0,12	0,28	0,19	0,09	0,94	0,24	0,19	0,01	0,72	0,23	0,16	0,01	0,53
C22:1	0,03	0,02	-	0,15	0,11	0,22	-	1,44	0,21	0,30	-	1,03	0,03	0,05	-	0,26
C24	0,06	0,02	0,02	0,10	0,09	0,05	0,03	0,20	0,07	0,04	0,03	0,14	0,08	0,04	0,01	0,16
C12-16	43,27	5,34	34,97	55,35	23,92	10,49	7,24	40,14	29,01	10,38	12,91	44,70	32,24	15,11	11,14	68,73
C12-16+t <sup>8)</sup>	47,10	4,12	40,72	57,31	33,24	5,52	20,96	44,25	38,80	8,29	22,91	49,48	32,90	15,76	11,17	71,67
Monoens. <sup>9)</sup>	26,99	3,57	17,95	32,66	29,58	6,78	19,91	48,02	31,74	7,82	20,09	45,90	22,22	6,33	9,80	39,32

<sup>1)</sup> Mittelwert, <sup>2)</sup> Standardabweichung, <sup>3)</sup> minimaler Wert, <sup>4)</sup> maximaler Wert, <sup>5)</sup> cis-Isomere von C18:1, <sup>6)</sup> trans-Isomere von C18:1, <sup>7)</sup> nur cis, cis-C18:2, <sup>8)</sup> Summe von C12-C16 und trans-C18:1, <sup>9)</sup> Monoensäuren, bei Milchfett mit C14:1 (alle Angaben ohne C18:1)

Auffällig erscheinen die außerordentlich hohen ermittelten maximalen C16:1-Anteile in Margarine und Bratfetten. Die Untersuchungen (TLC/GC-Analytik) zeigten, daß in einigen Margarine- und Bratfettproben, denen anteilig hydrierte Fischöle zugrundeliegen, der *trans*-C16:1-Anteil bis auf 4 % steigen kann und sich damit hohe C16:1-Gesamtgehalte ergeben.

Allen angegebenen *trans*-Fettsäurenanteilen von Margarine und Bratfetten liegt ausschließlich die kombinierte TLC/GC-Technik zugrunde. Die mittleren TFS-Gesamtanteile der 1994 analysierten teilhydrierten Pflanzenfette wurden schon früher publiziert (29) und sollen nunmehr in Zusammenhang mit TFS-Gehalten bei bovinen Milchfetten und allen neu analysierten Haupt- und Minorfettsäuren diskutiert werden.

Abb. 5 zeigt die große Schwankungsbreite von *trans*-Octadecensäure-Anteilen in Margarine und Bratfetten. In der Abbildung sind die dünnenschichtchromatographisch abgetrennten *trans*-Fraktionen von jeweils 5 Margarinesorten sowie Bratfetten dargestellt, wobei allein bei diesen Fetten zwischen 2,6 und 32,5 % TFS vorliegen. Auffällig bei diesen Mustern ist, daß auch bei unterschiedlichen Gesamt-*trans*-Anteilen immer eine ähnliche relative Isomerenverteilung mit besonders viel *trans* Δ10 und Δ11 vorliegt.

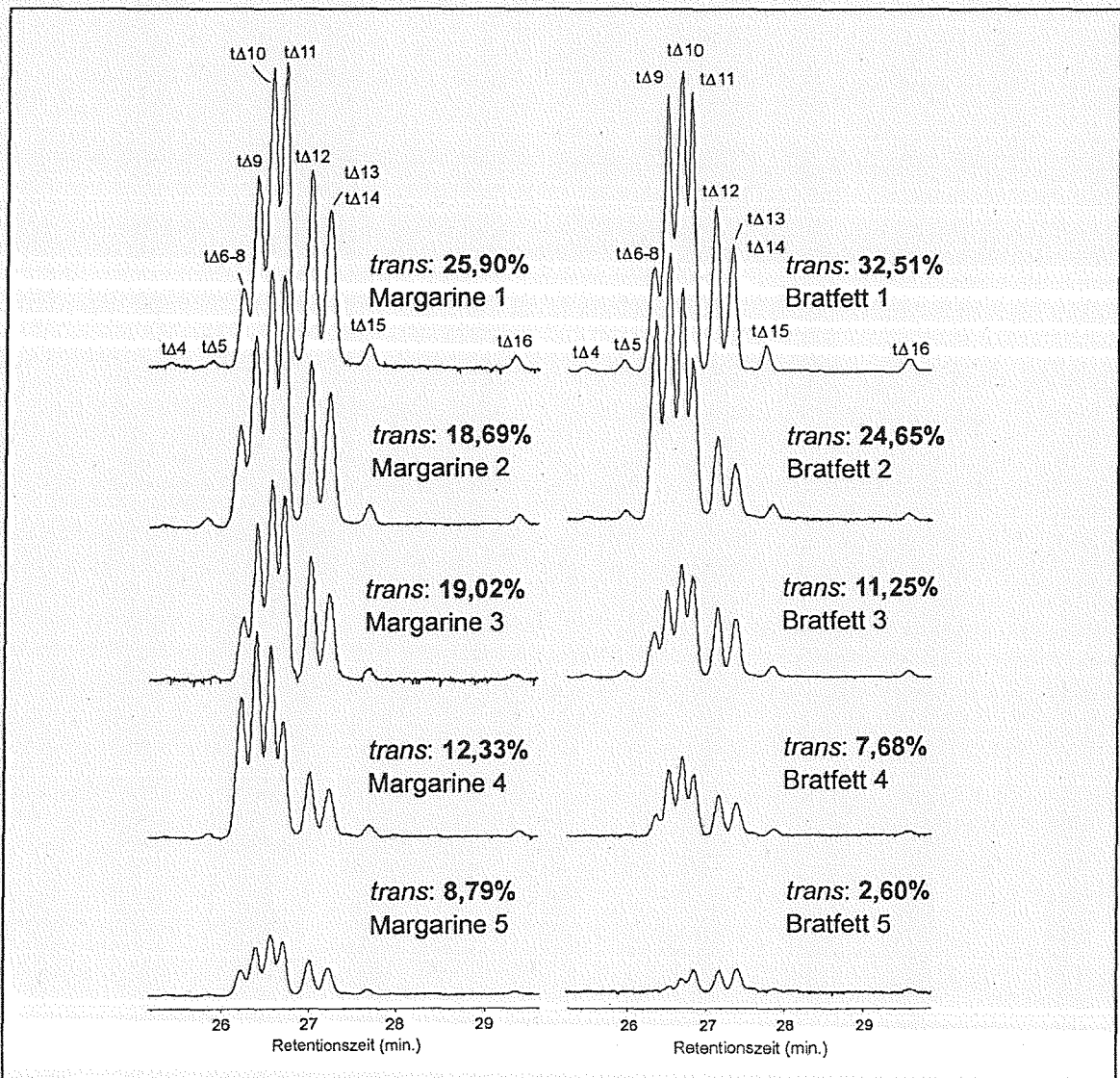


Abb. 5: *Trans*-C18:1-Fettsäuren (FAME) in verschiedenen Margarine- und Bratfettsorten aus dem Jahr 1994

Aus Abb. 6 gehen die besonders großen Schwankungsbreiten der Gesamt-*trans*-C18:1-Anteile insbesondere der in 1994 untersuchten Margarinesorten (n=46; 0,17 - 25,90 %) sowie der Bratfette (n=16; 0,04 - 32,51 %) hervor. Der Schwankungsbereich beträgt bei Milchfetten 1,29 - 6,75 %. Obwohl Diät- und Reformfette (n=31) keine partiell hydrierten Fette enthalten sollten, fanden sich - möglicherweise aufgrund thermischer Einflüsse während des Produktionsprozesses - auch in dieser Produktgruppe Gehalte an *trans*-Octadecensäuren von 0,03 - 2,94 %. Auffällig ist ein generell hoher Anteil an *trans*-C18:1-Fettsäuren von im Mittel 20,71 % in den 11 im Jahr 1994 untersuchten Sonnenblumenmargarinesorten (Teilmenge der 46 Margarinesorten). Hervorgerufen wird dies durch die hohen Anteile von etwa 70 % Linolsäure im ausschließlich zugrundeliegenden Sonnenblumenöl. Infolge der Fetthärtung entstehen aus dieser doppelt-ungesättigten C18-Fettsäure große Anteile von *trans*-C18:1.

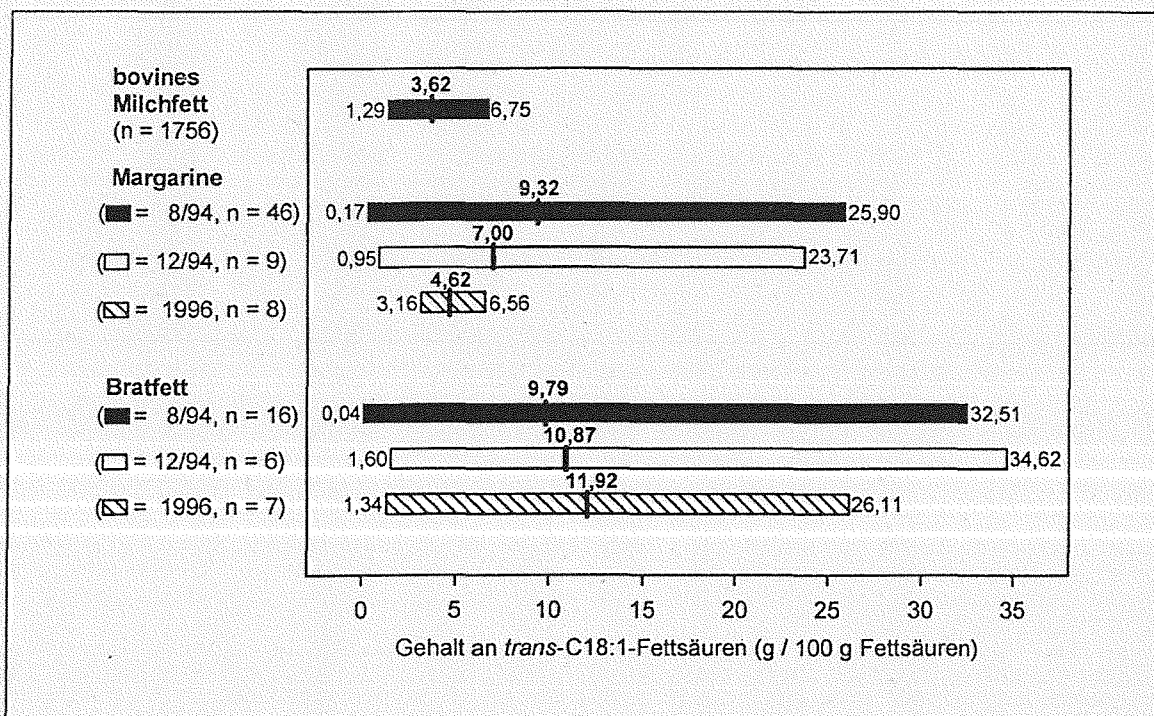


Abb. 6: Mittelwerte und Schwankungsbreiten der Gehalte an *trans*-C18:1-Fettsäuren verschiedener Speisefette

Die vom August 1994 stammenden Angaben der *trans*-Gehalte von Margarine- und Bratfettarten sind als repräsentativ für damalige deutsche teilhydrierte Speisefette anzusehen. Aufgrund der Analyse neuerer Chargen von jeweils 15 Marken-Speisefetten konnten im Dezember 1994 sowie im Januar 1996, wie aus Abb. 6 hervorgeht, Verminderungen im *trans*-C18:1-Gehalt von durchschnittlich relativ ca. 22 % bzw. 52 % bei den teilhydrierten Margarinesorten festgestellt werden, während die Bratfette praktisch unverändert hohe *trans*-Anteile aufweisen.

Pfalzgraf und Steinhart (10) stellten bei deutschen Margarinesorten 1995 ebenfalls eine Reduzierung des TFS-Gesamtanteils fest. Weiterhin beobachteten Bayard und Wolff (16) 1995 im Vergleich zu 1991 einen drastischen Rückgang bei Margarine, nicht aber bei Bratfetten.

In Abb. 7 sind von den 46 in 1994 untersuchten Margarinesorten sowie von 100 Milchfetten neben den *trans*-C18:1-Anteilen die Summen der gesättigten Fettsäuren Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure (C12 bis C16) aufgetragen. Die 100 Milchfette waren



in der Art aus den 1756 zugrundeliegenden Proben ausgesucht worden, daß sie aufgrund fütterungs- und laktationsbedingter Unterschiede hinsichtlich der Fettzusammensetzung als repräsentativ anzusehen sind. Aus Abb. 7 geht hervor, daß mit niedrigen TFS-Anteilen insbesondere bei der Margarine hohe Anteile der gesättigten Fettsäuren C12 bis C16 einhergehen, mit hohen *trans*-Anteilen dagegen niedrige Gehalte dieser gesättigten Fettsäuren. Bei Margarine ist die Summe aus beiden Gruppen (schwarze Dreiecke) also näherungsweise konstant (ca. 33 %). Dies Ergebnis deutet darauf hin, daß die gewünschte Konsistenz der Margarine entweder durch hohe Mengen gesättigter Fettsäuren (C12 bis C16) oder aber durch TFS erreicht wird. Bekanntlich werden gesättigte, langkettige Fettsäuren bis auf Stearinsäure ebenfalls in Zusammenhang mit einer Erhöhung des LDL-Cholesterinspiegels diskutiert. Eine durch die weltweite Diskussion über TFS bewirkte Senkung der *trans*-Anteile in Margarine könnte also zu einer Erhöhung dieser gesättigten Fettsäuren führen, was aus ernährungsphysiologischer Sicht kaum sinnvoll wäre. Die Industrie sollte vielleicht versuchen, die bei der Herstellung von Margarine und Bratfetten angestrebte Textur durch eine Erhöhung des Anteils an Stearinsäure oder noch eher durch größere Anteile kurzkettiger, gesättigter Fettsäuren an Stelle der TFS oder der gesättigten Fettsäuren C12-C16 zu erreichen. Hierdurch würde der Serumcholesterinspiegel nicht erhöht werden.

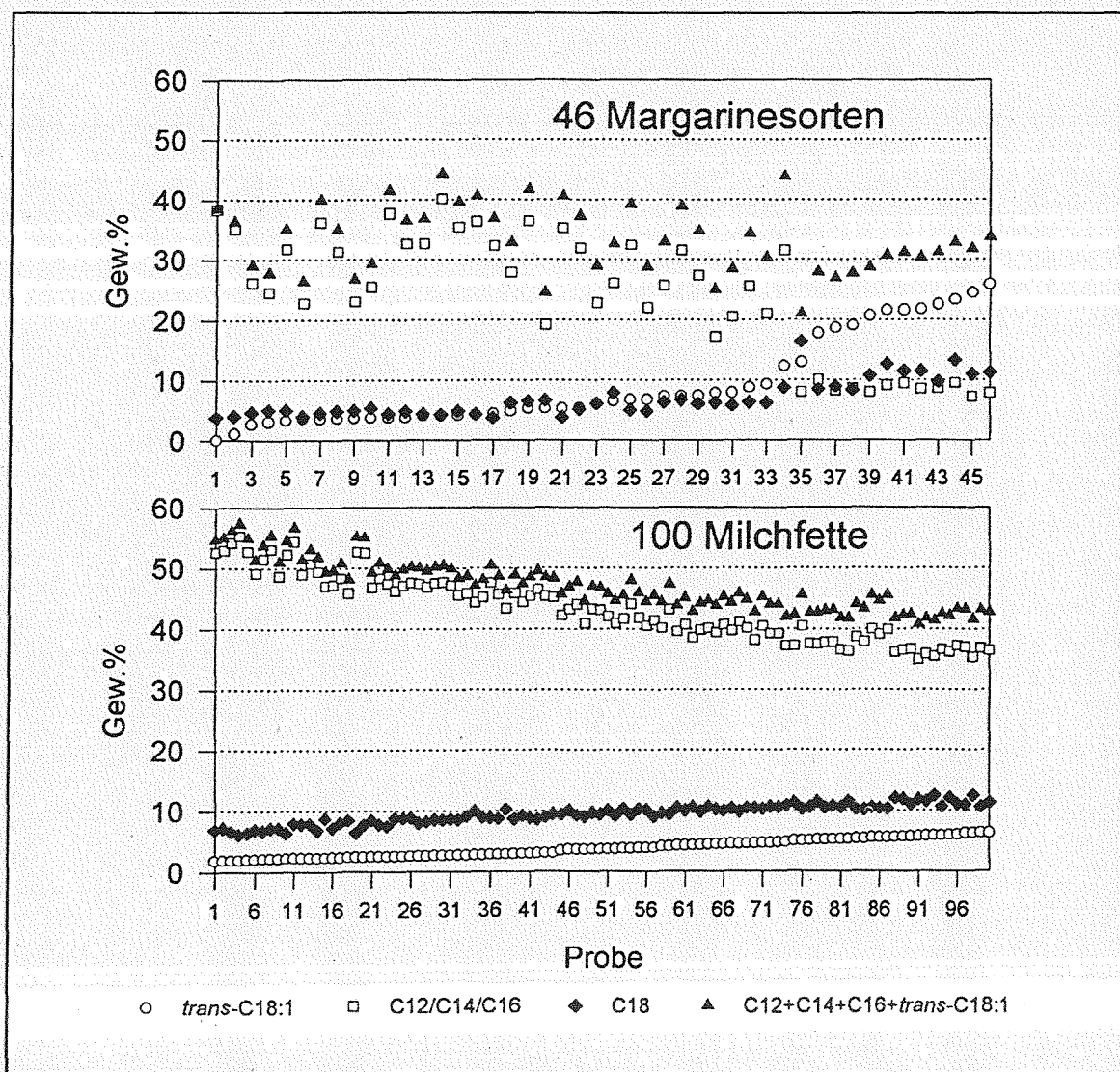


Abb. 7: Fettsäurenanteile in 46 Margarinesorten sowie 100 Milchfettproben

Aus Abb. 7 geht weiterhin hervor, daß Stearinsäure mit fast konstant niedrigen Anteilen bei allen Margarinesorten vorkommt, so daß hier eine Anhebung möglich erscheint. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß in kürzlich von Watts et al. (20) publizierten Untersuchungsergebnissen von Diätstudien eine Zunahme von KHE mit einer erhöhten Aufnahme von Stearinsäure korreliert war.

Eine Auswertung der Veränderungen der Fettzusammensetzung der Margarineproben von Januar 1996 gegenüber August 1994 zeigt, daß die Gehalte kurz- bis mittelkettiger Fettsäuren C6 bis C12 unverändert geblieben sind und damit kein erhöhter Zusatz von Kokos- oder Palmkernfetten vorgenommen worden ist. Auch bei den langkettigen gesättigten Fettsäuren C12, C14 und C16 sind nur unbedeutende Änderungen zu verzeichnen. Dagegen liegt im Mittel eine relative Erhöhung des Stearinsäureanteils um ca. 47 % sowie eine absolute Zunahme um ca. 3,5 % vor. Dies deutet darauf hin, daß bei neuen Margarineproben wohl eine Vermischung von geringeren Mengen teilhydrierter Fette mit vollständig hydrierten Chargen stattgefunden hat.

Neben der exakten Quantifizierung des Gesamt-C18:1-*trans*-Anteils von Milchfetten und teilhydrierten Pflanzenfetten war es das Ziel der Untersuchungen, auch sämtliche TPI dieser Fette zu erfassen. Hierbei konnten neben 9 *cis*- auch 11 *trans*-Octadecensäurepeaks (vgl. Abb. 3) aufgelöst werden. In die Auswertung gelangten jedoch wegen der langen Analysenzeiten nur 10 *trans*-Peaks (vgl. Abb. 2).

In Abb. 8 sind die mittleren Anteile an *trans*-C18:1-Positionsisomeren der analysierten Milchfette sowie die entsprechenden Anteile der untersuchten Margarineproben, der Sonnenblumenmargarinesorten und der Bratfette aufgeführt. Die 11 Sonnenblumenmargarinen sind hierbei auch in den 46 Margarinen enthalten. Über den Säulen sind jeweils die Standardabweichungen aufgezeichnet. Man erkennt die große Variation für fast alle Isomere bei den Margarinesorten sowie den Bratfetten, die durch den großen Schwankungsbereich der Gesamt-*trans*-C18:1-Gehalte verursacht wird (Abb. 6). Dagegen ist bei Milchfetten nur bei der Vaccensäure (*trans*  $\Delta$ 11) eine große Schwankungsbreite von 0,35 % bis 4,43 % zu verzeichnen. *Trans*  $\Delta$ 11 kommt mit 43,2 % aller TPI weitaus am meisten im Milchfett vor. In Margarine und Bratfetten liegen dagegen nur 13,4 % bzw. 14,7 % aller TPI als  $\Delta$ 11-Form vor. Dafür kommen im Vergleich zum Milchfett hier sehr viel höhere Anteile an *trans*  $\Delta$ 6-10 vor. Aus Abb. 8 geht hervor, daß die Gehalte der verschiedenen Positionsisomere von Margarine 1996 um etwa 50 % niedriger lagen als 1994.

Bisher wurde das Muster der einzelnen TPI vernachlässigt, da sie kaum vollständig aufgelöst werden konnten. Die Untersuchungen zeigen, daß die in klinischen Studien häufig eingesetzte Elaidinsäure (C18:1-*trans*  $\Delta$ 9) in Milchfetten mit durchschnittlich 0,23 % nur in relativ geringen Mengen, in Margarine mit im Mittel 2,04 % (1994) bzw. ca. 1 % (1996) und in Bratfetten mit 2,28 % wesentlich konzentrierter vorkommt. Dagegen liegt im Milchfett die Vaccensäure (*trans*  $\Delta$ 11) im Mittel mit 1,72 % am stärksten vor, bei Margarine mit 1,38 % (1994) bzw. 0,7 % (1996) und bei Bratfetten mit 1,45 % niedriger. Damit ergibt sich beim Milchfett ein Vaccensäure-/Elaidinsäure-Verhältnis von etwa 7:1 (16/1 bis 2/1), bei Margarine und Bratfetten dagegen von etwa 0,6:1.

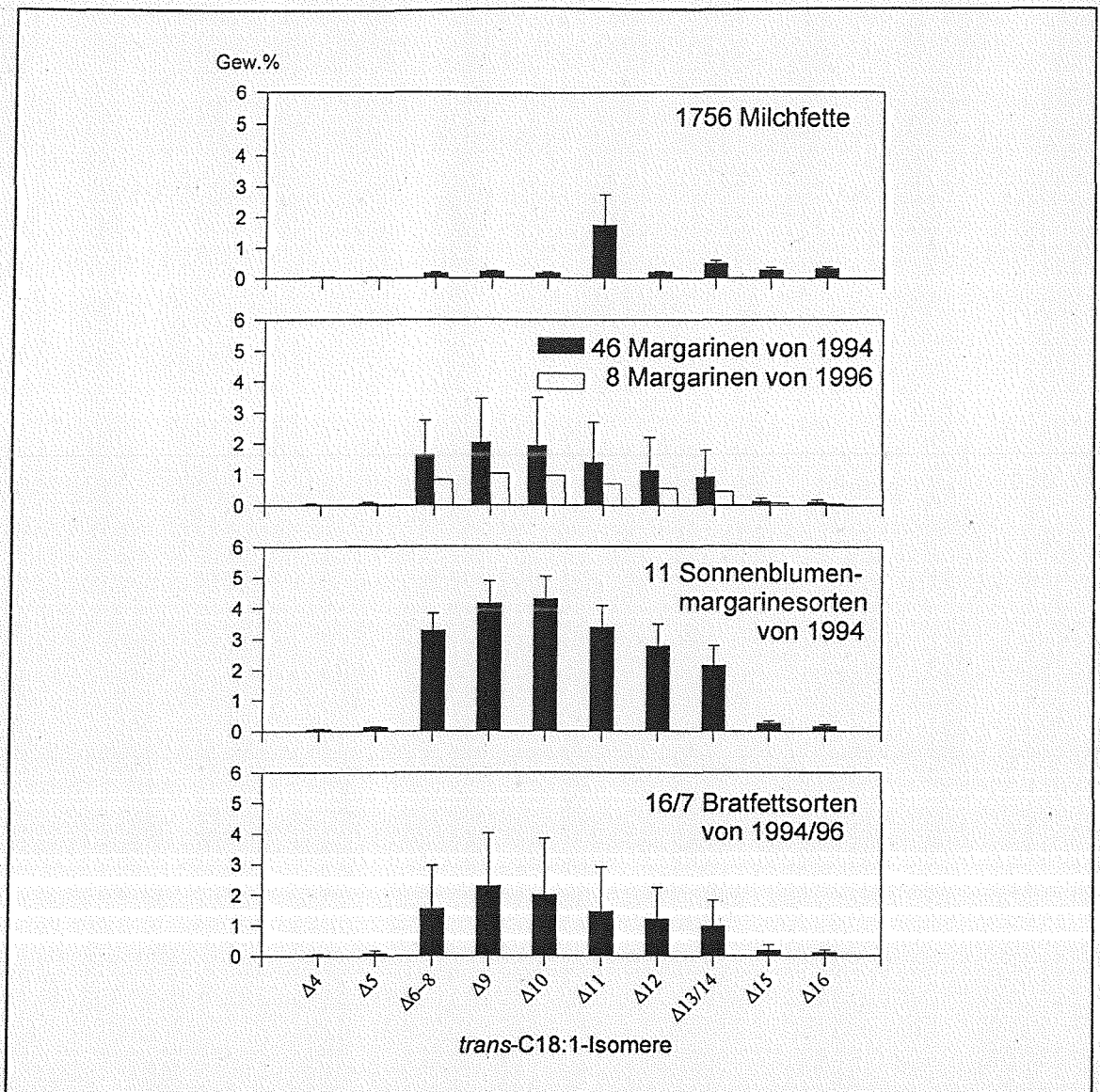


Abb. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Gehalte an *trans*-C18:1-Positionsisomeren in Milchfett, Margarine, Sonnenblumenmargarine und Bratfett

### 3.3 Aufnahme an *trans*-Fettsäuren

Mit den Ergebnissen über die TFS-Anteile in Milchfett sowie in den teilhydrierten Pflanzenfetten kann eine Abschätzung des TFS-Konsums durch Milchprodukte und durch Margarine vorgenommen werden, die insbesondere die TPI berücksichtigt. Steinhart und Pfalzgraf (30) leiten aus der "Deutschen Nationalen Verzehrsstudie" einen durchschnittlichen Milchfett-, Margarine- und Bratfett-Verbrauch von 28,6, 7,5 bzw. 2,6 g pro Tag für Frauen sowie 33,8, 9,8 bzw. 3,2 g für Männer ab. Im Gegensatz zu unseren früheren Angaben (6) basiert diese Statistik auf den Verzehrsprotokollen repräsentativ ausgewählter Teilnehmer (n=24600). Mit den verschiedenen analysierten TFS-Anteilen und dem Umrechnungsfaktor 0,95 für Fettsäurenanteile in Triglyceriden ergeben sich damit die in Tab. 2 aufgeführten durchschnittlichen täglichen Aufnahmen an TFS. Hier-nach nehmen Frauen (Männer) ca. 3,5 (3,2) mal mehr Vaccensäure aus Milchfett als aus teilhydrierten Pflanzenfetten auf, dagegen 3,5 (3,9), 3,2 (3,5) und 4 (4,4) mal mehr *trans* Δ6-8, *trans* Δ9 bzw. *trans* Δ10-Isomere aus Margarine und Bratfett als aus Milchfett.



Unter Berücksichtigung unserer in 1996 ermittelten TFS-Gehalte in Margarine und Bratfetten dürften sich diese Verhältnisse inzwischen etwas verändert haben. Die Angaben über die Aufnahme von TPI durch Margarine in Tab. 2 gelten somit bis einschließlich 1994. Unsere Untersuchungen zeigen, daß der prozentuale Rückgang des TFS-Gesamtanteils in der letzten Zeit sich in gleicher Weise auf die einzelnen TPI übertragen läßt, die relative Isomerenverteilung also unverändert ist. Damit kann bei Margarine für 1996 von einer verminderten Aufnahme aller TPI von ca. 50 % ausgegangen werden. Alle anderen Angaben in Tab. 2 gelten jedoch auch für 1996.

Tab. 2: Tägliche Aufnahme von *trans*-C18:1-Fettsäuren in mg/Person

<i>trans</i> -C18:1	Frauen			Männer		
	Milchfett	Margarine <sup>1)</sup>	Bratfett	Milchfett	Margarine <sup>1)</sup>	Bratfett
gesamt	983,6	664,1	241,8	1162,4	867,7	297,6
Δ4	13,6	2,1	0,7	16,1	2,8	0,9
Δ5	13,6	4,3	2,0	16,1	5,6	2,4
Δ6-8	43,5	116,1	38,0	51,4	151,8	46,8
Δ9	62,5	145,4	56,3	73,9	189,9	69,3
Δ10	46,2	137,5	48,9	54,6	179,7	60,2
Δ11	467,3	98,3	35,8	552,3	128,5	44,1
Δ12	57,1	79,8	29,4	67,4	104,3	36,2
Δ13/14	133,1	65,6	24,0	157,3	85,7	29,5
Δ15	76,1	9,3	4,4	89,9	12,1	5,5
Δ16	89,7	6,4	2,5	106,0	8,4	3,0

<sup>1)</sup> Angaben gelten für 1994; für 1996 beträgt die tägliche Aufnahme nur etwa 50 %

### 3.4 Schlußbemerkungen

Abschließend sei vermerkt, daß noch zahlreiche Forschungslücken insbesondere bezüglich der physiologischen Wirkung einzelner TPI bestehen. Unbestritten ist, daß *cis*- und *trans*-ungesättigte Fettsäuren keinesfalls als aus ernährungsphysiologischer Sicht gleichwertige Fettsäuren angesehen werden können. Wenn auch gesättigte langkettige Fettsäuren und TFS gleichermaßen den LDL-Cholesterinspiegel steigern sollen, so ist bei TFS hervorzuheben, daß diese darüber hinaus noch in ungünstiger Weise den HDL-Cholesterinspiegel erniedrigen sowie den Lipoprotein(a)-Spiegel erhöhen sollen.

In neuen Ernährungsstudien sollte insbesondere die individuelle Wirkung einzelner Positionsisomere wie Elaidinsäure oder Vaccensäure untersucht werden, was teilweise gleichbedeutend ist mit einem Vergleich des Einflusses von *trans*-Fettsäuren in Wiederkäuerfetten mit denen in teilhydrierten Pflanzenfetten z.B. auf die Atherogenese.

### Danksagung

Die Autoren danken Frau. B. Fischer und Frau B. Krumbeck für die technische Assistenz.

### 4. Literatur

- (1) Mensink, R.P., Katan, M.B.: N. Engl. J. Med. **323** 439-445 (1990)
- (2) Mensink, R.P., Zock, P.L., Katan, M.B., Hornstra, G.: J. Lipid Res. **33** 1493-1501 (1992)
- (3) Zock, P.L., Katan, M.B.: J. Lipid Res. **33** 399-410 (1992)
- (4) Judd, J.T., Clevidence, B.A., Muesing, R.A., Wittes, J., Sunkin, M.E., Podczasy, J.J.: Am. J. Clin. Nutr. **59** 861-868 (1994)

- (5) Willett, W.C., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Rosner, B.A., Sampson, L.A., Hennekens, C.H.: *Lancet* **341** 581-585 (1993)
- (6) Precht, D., Molkentin, J.: *Nahrung - Food* **39** 343-374 (1995)
- (7) Aro, A., Kardinaal, A.F.M., Salminen, I., Kark, J.D., Riemersma, R.A., Delgado-Rodriguez, M., Gomez-Aracena, J., Huttunen, J.K., Kohlmeier, L., Martin, B.C., Martin-Moreno, J.M., Mazaev, V.P., Ringstad, J., Thamm, M., van't Veer, P., Kok, F.J.: *Lancet* **343** 273-278 (1995)
- (8) Expert Panel on *Trans* Fatty Acids and Coronary Heart Disease. Kris-Etherton, P.M. (ed.): *Am. J. Clin. Nutr.* **62** 655S-708S (1995)
- (9) Pfalzgraf, A., Timm, M., Steinhart, H.: *Z. Ernährungswiss.* **33** 24-43 (1993)
- (10) Pfalzgraf, A., Steinhart, H.: *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **91** 113-114 (1995)
- (11) Demmelmair, H., Festl, B., Wofram, G., Koletzko, B.: *Z. Ernährungswiss.* **35** 235-240 (1996)
- (12) Henninger, M., Ulberth, F.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **203** 210-215 (1996)
- (13) Boatella, J., Rafecas, M., Codony, R.: *Eur. J. Clin. Nutr.* **47** (Suppl. 1) 62-65 (1993)
- (14) De Greyt, W., Radanyi, O., Kellens, M., Huyghebaert, A.: *Fett/Lipid* **98** 30-33 (1996)
- (15) Henninger, M., Ulberth, F.: *Milchwissenschaft* **49** 555-558 (1994)
- (16) Bayard, C.C., Wolff, R.L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **72** 1485-1489 (1995)
- (17) Wolff, R.L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71** 277-283 (1994)
- (18) Ratnayake, W.M.N., Hollywood, R., O'Grady, E.: *Can. Inst. Sci. Technol. J.* **34** 81-86 (1991)
- (19) Ascherio, A., Hennekens, C.H., Buring, J.E., Master, C., Stampfer, M.J., Willett, W.C.: *Circulation* **89** 94-101 (1994)
- (20) Watts, G.F., Jackson, P., Burke, V., Lewis, B.: *Am. J. Clin. Nutr.* **64** 202-209 (1996)
- (21) Precht, D., Molkentin, J.: *Int. Dairy J.* **6** 791-809 (1996)
- (22) Ulberth, F., Haider, H.J.: *J. Food Science* **57** 1444-1447 (1992)
- (23) Ulberth, F., Henninger, M.: *J. Dairy Research* **61** 517-527 (1994)
- (24) Wolff, R.L., Bayard, C.C.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **72** 1197-1201 (1995)
- (25) Pfalzgraf, A., Steinhart, H.: *Fett/Lipid* **98** 81-82 (1996)
- (26) Parodi, P.W.: *J. Dairy Sci.* **59** 1870-1873 (1976)
- (27) Precht, D., Molkentin, J., unveröffentlichtes Ergebnis, 1996
- (28) Ratnayake, W.M.N., Pelletier, G.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **69** 95-105 (1992)
- (29) Molkentin, J., Precht, D.: *Z. Ernährungswiss.* **34** 314-317 (1995)
- (30) Steinhart, H., Pfalzgraf, A.: *Fett/Lipid* **98** 34-36 (1996)

## 5. Zusammenfassung

Precht, D., Molkentin, J.: **Vergleich der Fettsäuren und der Isomerenverteilung der *trans*-C18:1-Fettsäuren von Milchfett, Margarine, Back-, Brat- und Diätfetten.** *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **49** (1) 17 -34 (1997)

### 44 Fettsäurezusammensetzung (Speisefette, *trans*-Fettsäuren, Gaschromatographie)

*Trans*-Fettsäuren wurden insbesondere in den letzten Jahren mit gesundheitlichen Risiken wie Atherosklerose und kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht. Daher wurden von 1756 Milchfetten und 123 deutschen Speisefetten auf pflanzlicher Basis neben allen Hauptfettsäuren die Gehalte von 10 positionsisomeren *trans*-C18:1-Fettsäuren gaschromatographisch ermittelt und gegenübergestellt. Unter optimierten gaschromatographischen Bedingungen gelang sogar erstmalig die Auftrennung von *trans*  $\Delta$ 13 und  $\Delta$ 14 sowie eine fast basislinientiefe Trennung der einzelnen *trans*-Positionsisomere.

Anhand der Analyse verschiedener Chargen gleicher Marken konnten bei den teilhydrierten Margarinesorten gegenüber August 1994 im Dezember 1994 sowie im Januar 1996 Verminderungen im *trans*-C18:1-Gehalt von durchschnittlich relativ ca. 22 % bzw. 52 % festgestellt werden, während die *trans*-Anteile in teilhydrierten Brat- und Backfetten praktisch unverändert hoch blieben. Aufgrund aktueller Untersuchungen weisen Milchfette, Margarinen und Brat-/Backfette durchschnittliche *trans*-C18:1-Gehal-

te von 3,6 %, 4,6 % bzw. 11,9 % auf. Die Untersuchungen zeigten weiterhin, daß die in klinischen Studien häufig eingesetzte Elaidinsäure (C18:1-*trans*  $\Delta$ 9) mit im Mittel 0,23 % nur in relativ geringen Mengen in bovinen Milchfetten vorkommt. Dagegen liegen in teilhydrierter Margarine mit 2,04 % (1994) bzw. ca. 1 % (1996) und in teilhydrierten Brat-/Backfetten mit 2,28 % durchschnittlich wesentlich höhere Konzentrationen vor. Andererseits liegt im Milchfett die Vaccensäure (*trans*  $\Delta$ 11) mit 1,72 % am stärksten vor, während bei Margarine mit 1,38 % (1994) bzw. 0,7 % (1996) und bei Brat-/Backfetten mit 1,45 % geringere Mengen vorkommen. Diese Unterschiede könnten für die Diskussion um die unterschiedliche Atherogenität tierischer und pflanzlicher Fette von Bedeutung sein.

Mit Hilfe der ermittelten Daten werden schließlich Angaben über die tägliche Aufnahme der verschiedenen *trans*-C18:1-Positionsisomere aus bovinem Milchfett, Margarine, Brat- und Backfetten diskutiert.

## Summary

Precht, D. Molquentin, J: **Comparison of the fatty acids and the isomeric distribution of *trans*-C18:1 fatty acids of milk fat, margarine, shortenings, cooking and dietetic fats.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 49 (1) 17 -34 (1997)

### 44 Fatty acid composition (edible fats, *trans* fatty acids, gas chromatography)

Especially in recent years, *trans* fatty acids have been correlated with health risks such as atherosclerosis and cardiovascular diseases. For that reason, 1756 milk fats and 123 German edible fats of vegetable origin were analyzed gas chromatographically for the contents of all major fatty acids as well as 10 positional isomers of *trans*-C18:1 and compared. Using optimized GC conditions, even a separation of *trans*  $\Delta$ 13 and  $\Delta$ 14 as well as of nearly baseline resolved peaks of the individual isomers was achieved for the first time.

On the basis of analyses of different batches of the same brands, the average content of *trans*-C18:1 in partially hydrogenated margarines was found to have decreased from August 1994 till December 1994 and January 1996 by 22 % and 52 %, respectively, while *trans* contents in partially hydrogenated cooking fats and shortenings remained on a high level. According to current analyses milk fats, margarines and cooking fats/shortenings show, on average, *trans*-C18:1 contents of 3.6 %, 4.6 % and 11.9 %, respectively. Moreover, the examinations exhibited that elaidic acid (C18:1-*trans*  $\Delta$ 9), that is frequently used in clinical studies, only occurs in relatively small amounts of 0.23 %, on average, in bovine milk fat. Compared with that, partially hydrogenated margarines with 2.04 % (1994) and ca. 1 % (1996) and partially hydrogenated cooking fats/shortenings with 2.28 %, on average, contain considerably higher concentrations. On the other hand, with 1.72 % vaccenic acid (*trans*  $\Delta$ 11) is the main isomer in milk fat, whereas with 1.38 % (1994) and 0.7 % (1996) margarines and with 1.45 % cooking fats contain smaller amounts. These differences could be important for the discussion on the different atherogenic potential of animal and vegetable fats.

Finally, the obtained data were used to discuss the daily intake of the different positional isomers of *trans*-C18:1 from bovine milk fat, margarine and cooking fats/shortenings.



## Résumé

Precht, D., Molкетин, J.: **Comparaison des acides gras et de la distribution des isomères des acides gras *trans*-C18:1 de la matière grasse du lait, de la margarine, des shortenings/fritures et des graisses diététiques.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 49 (1) 17 -34 (1997)

### **44 Composition des acides gras** (graisses alimentaires, acides gras *trans*, chromatographie gazeuse)

Particulièrement ces temps derniers des acides gras *trans* ont été cités en relation avec des risques de santé comme par exemple l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires. On a donc analysé, à l'aide de la chromatographie gazeuse, 1756 graisses laitières et 123 graisses alimentaires allemande d'origine végétale et déterminé et comparé, outre tous les acides gras principaux, les teneurs en 10 isomères de position de *trans*-C18:1. Dans des conditions GC optimisées il était possible, pour la première fois, de séparer *trans* $\Delta$ 13 et  $\Delta$ 14 ainsi que des pics des isomères *trans* individuels résolus presque à la ligne de base.

Basé sur l'analyse de différents lots de marques identiques on a établi des diminutions de la teneur en *trans*-C18:1 de 22 % respectivement 52 %, en moyenne, dans les margarines partiellement hydrogénées pour la période du mois d'août 1994 jusqu'au décembre 1994 et en janvier 1996 tandis que les teneurs en *trans* dans les shortenings/fritures partiellement hydrogénés étaient pratiquement toujours élevées. Conformément aux études actuelles des matières grasses du lait, des margarines et des shortenings/fritures contiennent des teneurs moyennes en *trans*-C18:1 de 3.6 %, 4.6 % et de 11.9 %. En plus, les expériences ont révélé que les teneurs en acide éla:dique (C18:1-*trans*  $\Delta$ 9) qu'on utilise fréquemment dans des études cliniques sont relativement basses dans la matière grasse du lait bovin, c'est-à-dire 0.23 %, en moyenne. La margarine partiellement hydrogénée et des shortenings/fritures partiellement hydrogénés, par contre, contiennent des concentrations moyennes beaucoup plus élevées, c'est-à-dire 2.04 % (1994) et approximativement 1 % (1996) respectivement 2.28 %. D'autre part, les teneurs en acide vaccénique (*trans*  $\Delta$ 11) sont les plus élevées dans la matière grasse du lait (1.72 %) tandis que dans la margarine et les shortenings/fritures les concentrations sont plus basses (1.38 % (1994) et 0.7 % (1996) respectivement 1.45 %). Ces différences pourraient jouer un rôle dans la discussion sur le potentiel athérogénique différent des graisses d'origine animale et végétale.

Basé sur les résultats obtenus, on discute finalement l'ingestion quotidienne des différents isomères de position *trans*-C18:1 à partir de la matière grasse du lait bovin, de la margarine et des shortenings/fritures.