

1.9 Trans-Fettsäuren - Schnelle und exakte Quantifizierung in Speisefetten

Joachim Molkentin und Dietz Precht
 Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Milchwirtschaft,
 D-24103 Kiel

Trans fatty acids - rapid and exact quantitation in edible fats

The quantitation of trans fatty acids in edible fats, in particular of the mainly occurring trans-C18:1 acids, by gas chromatography of FAME is impaired by the poor resolution of trans from cis isomers. Thus, data obtained by the exact combination of Ag-TLC with GC and additionally by direct GC were used to statistically derive different formulae for bovine milk fats and for partially hydrogenated vegetable fats by means of linear and multiple regression analysis that enable trans-determinations by direct GC with good precision. Fatty acid formulae only requiring data from 30 - 50 m or 100 m columns, respectively, were developed for both kinds of fat. Furthermore, triglyceride formulae allowing the determination of individual trans-C18:1 isomers from a rapid gas chromatographic TG analysis could be derived for bovine milk fat.

1 Einleitung

Insbesondere in den letzten Jahren wurden *trans*-Fettsäuren mit diversen physiologischen Effekten in Verbindung gebracht, die u. a. Arteriosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen fördern können. Die Quantifizierung vor allem der in Speisefetten hauptsächlich vorkommenden *trans*-Octadecensäuren (*trans*-C18:1) ist daher von aktuellem Interesse. Die gaschromatographische Analyse der *trans*-C18:1-Fettsäuren in Form der Methyl ester auf üblichen 30 bis 50 m-Säulen (CP Sil 88) führt allerdings zur partiellen Überlappung von *trans*- mit *cis*-Isomeren. In bovinem Milchfett bzw. Margarine können so nur ca. 60 % bzw. 75 % des *trans*-C18:1-Gesamtgehalts direkt erfasst werden. Auch durch Verwendung einer 100 m-Säule (CP Sil 88) können diese *cis/trans*-Überlappungen trotz deutlich verbesserter Auflösung der einzelnen C18:1-Isomere nicht vollständig vermieden werden [1]. Eine genaue gaschromatographische Bestimmung des Gesamtgehalts an *trans*-C18:1-Fettsäuren ist daher nur nach vorheriger Isolierung der *trans*-Fettsäuren-Fraktion mittels Silberionen-Dünnschichtchromatographie (Ag-TLC) möglich. Zur gleichzeitigen Bestimmung der Isomerenverteilung muß bei der anschließenden GC eine 100 m-Säule eingesetzt werden, die eine Differenzierung von 10 - 11 *trans*-C18:1 Peaks ermöglicht [2].

Dieses kombinierte chromatographische Verfahren ist relativ zeitaufwendig. Schnelle Analysen sind zwar mit der IR-Spektroskopie möglich, allerdings sind diese insbesondere bei *trans*-gehalten unter 10 % häufig ungenau und erlauben weder eine Unterscheidung verschiedener Gruppen von *trans*-Fettsäuren (C18:1, C18:2, C16:1), noch eine Differenzierung der jeweiligen Positionsisomere. Ziel der vorgestellten Untersuchungen war deshalb die Entwicklung von

Schnellmethoden, die eine direkte Bestimmung des *trans*-C18:1-Gesamtgehalts bzw. sogar der Isomerenverteilung in bovinen Milchfetten und partiell hydrierten Pflanzenfetten aus gaschromatographischen Routineanalysen ermöglichen.

2 Material und Methodik

Als Basis der Untersuchungen dienten 100 bovine Milchfette aus verschiedensten Fütterungsbedingungen sowie 59 teilhydrierte Margarine-, Back- und Bratfettproben, in denen mittels der Ag-TLC/GC-Kopplung der *trans*-C18:1-Gesamtgehalt sowie die Isomerenverteilung analysiert wurden [2]. Die Summe der mit für die Fettsäureanalytik (FAME) gebräuchlichen Säulen direkt erfassbaren *trans*-C18:1-Isomere wurde anschließend mit den exakten Gesamtgehalten (Ag-TLC/GC) in Milchfetten bzw. partiell hydrierten Pflanzenfetten korreliert, um mittels linearer Regressionsanalysen Fettsäureformeln zur schnellen *trans*-C18:1-Bestimmung aufzustellen. Von den Milchfetten wurden zusätzlich Triglyceridanalysen (Trennung nach Acylkohlenstoffzahl) angefertigt [3]. Zur Entwicklung von Triglyceridformeln sowohl zur Schnellbestimmung des Gesamtgehalts an *trans*-C18:1 als auch der einzelnen Isomere in Milchfett aus diesen Triglyceriddaten und den exakten *trans*-C18:1-Daten wurden multiple Regressionsanalysen durchgeführt.

3 Ergebnisse

Lineare Regressionsanalysen der Daten der 59 teilhydrierten Margarine-, Back- und Bratfettproben lieferten Formeln, mit denen mittels einer direkten Fettsäureanalyse auf einer 50 m oder 100 m-Säule Bestimmungen des *trans*-C18:1-Gesamtgehalts mit einer mittleren absoluten Abweichung von 0,62 % bzw. 0,28 % möglich sind. Bei einem mittleren *trans*-C18:1-Gehalt von 9,44 % in dieser Produktgruppe (zugrundeliegende Proben aus 1994) beträgt der mittlere relative Fehler hier 6,6 % bzw. 3,0 %. Die Gleichungen sind in Tab. 1 angegeben. Abb. 1 stellt die in 16 neuen Proben aus 1996 ermittelten exakten bzw. aus einer Fettsäureanalyse (100 m-Säule) errechneten *trans*-C18:1-Gehalte gegenüber.

Tabelle 1: Schnellmethoden zur gaschromatographischen Bestimmung des Gesamtgehaltes an trans-C18:1-Fettsäuren (FS = Fettsäuren, TG = Triglyceride, r = Korrelationskoeffizient, mae = mittlerer absoluter Fehler)

Matrix	Säule	Formel	r	mae
partiell hydrierte	FS, 50 m	$trans\text{-C18:1} = 1,33593 \cdot \Sigma trans \Delta 6 \text{ bis } \Delta 11$	0,9977	0,62
Pflanzenfette	FS, 100 m	$trans\text{-C18:1} = 1,13585 \cdot \Sigma trans \Delta 4 \text{ bis } \Delta 12$	0,9995	0,28
bovine Milchfette	FS, 50 m	$trans\text{-C18:1} = 1,20911 \cdot \Sigma trans \Delta 6 \text{ bis } \Delta 11 + 0,92779$	0,9929	0,13
	FS, 50 m	$trans\text{-C18:1} = 1,29134 \cdot \Sigma trans \Delta 6 \text{ bis } \Delta 11 + 0,02532 \cdot C16:0$	0,9991	0,11
	FS, 100 m	$trans\text{-C18:1} = 1,11604 \cdot \Sigma trans \Delta 4 \text{ bis } \Delta 14, cis \Delta 6 + 0,14884$	0,9984	0,06
	FS, 100 m	$trans\text{-C18:1} = 1,05676 \cdot \Sigma trans \Delta 4 \text{ bis } \Delta 14, trans \Delta 16, cis \Delta 6 - 0,001876 \cdot C16:0$	0,9999	0,05
	TG, gep.	$trans\text{-C18:1} = 3,7190 \cdot C26 + 2,4439 \cdot C28 - 8,1505 \cdot C30 + 3,5187 \cdot C32 - 0,4819 \cdot C34 - 0,3737 \cdot C36 + 0,3514 \cdot C40 + 1,3285 \cdot C42 - 1,3429 \cdot C44 - 0,2689 \cdot C46 + 0,9557 \cdot C48 - 0,7356 \cdot C52 + 1,0775 \cdot C54$	0,9977	0,21

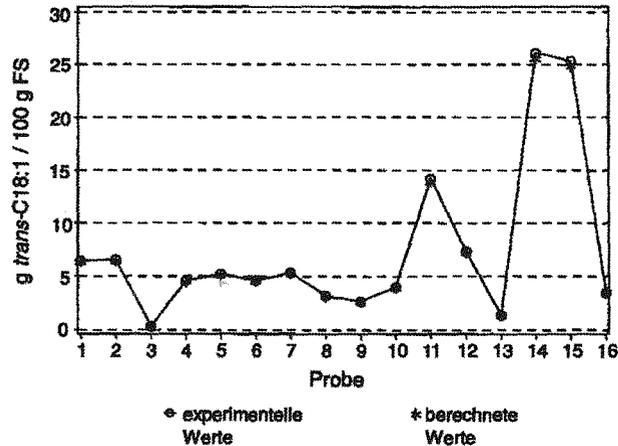


Abbildung 1: Exakte und aus einer Fettsäurenanalyse (100 m-Säule) direkt berechnete trans-C18:1-Gehalte in 16 neuen teilhydrierten Pflanzenfetten

Entsprechende Regressionsanalysen der Fettsäuredaten der 100 bovinen Milchfette ergaben Gleichungen, die bei der Bestimmung aus einer Fettsäurenanalyse mit 50 m- oder 100 m-Säule mittlere absolute Fehler von 0,13 % bzw. 0,06 % lieferten. Bezogen auf einen mittleren trans-C18:1-Gehalt in Milchfett von 3,62 % beträgt der mittlere relative Fehler somit 3,6 % bzw. 1,6 %. Die Einbeziehung von C16:0 führte sowohl bei der 50 m- als auch bei der 100 m-Säule zu einer nochmals verbesserten Korrelation. Der relative Fehler sank dadurch auf 3,0 % bzw. 1,4 %.

Allen Fettsäureformeln liegen Korrelationskoeffizienten von deutlich über 0,990 zugrunde (Tab. 1). Ursächlich für diese Zusammenhänge sind die relativ engen Schwankungsbereiche der Gehalte einzelner Isomere bezogen auf den Gesamt-trans-C18:1-Gehalt in den jeweiligen Produktgruppen. Mit Hilfe der mittleren relativen Isomerenverteilung von bovinem Milchfett bzw. Margarine/Bratfett können aus den Gesamt-trans-C18:1-Gehalten daher auch Gehalte einzelner Isomere abgeschätzt werden.

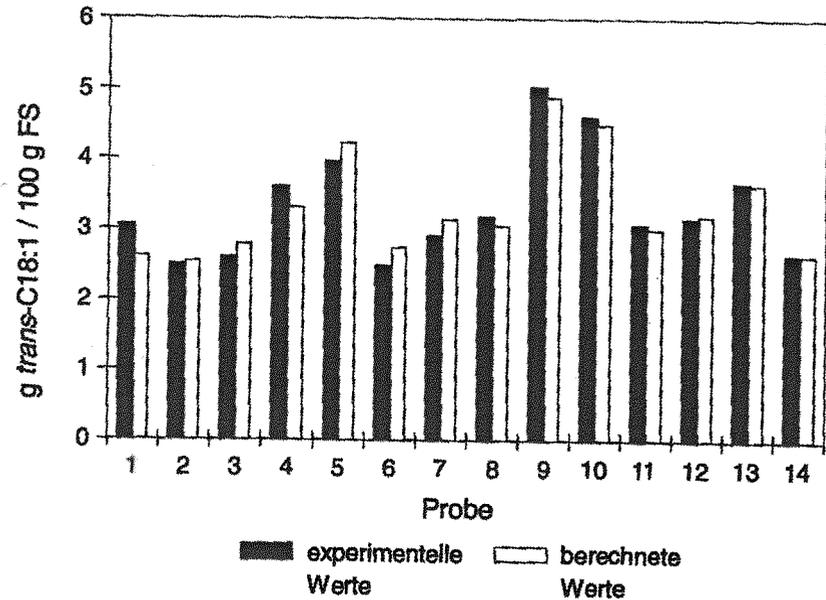


Abbildung 2: Exakte und aus einer Triglyceridanalyse direkt berechnete trans-C18:1-Gehalte in 14 bovinen Milchfetten

Die multiple Regressionsanalyse der Triglyceriddaten und der Ag-TLC/GC-Daten von 100 Milchfetten führte zu einer etwas ungenaueren Bestimmung des trans-C18:1-Gesamtgehalts. Allerdings ist eine Triglyceridanalyse deutlich schneller als eine Fettsäurenanalyse durchzuführen. Abb. 2 zeigt die Anwendung der in Tabelle 1 aufgeführten Triglyceridformel auf 14 weitere Milchfettproben. In gleicher Weise konnten auch Triglyceridformeln zur schnellen Quantifizierung einzelner Positionsisomere in Milchfett abgeleitet werden (Tab. 2). Dabei ergaben sich mittlere absolute Fehler von 0,007 % (trans-Δ15) bis 0,141 % (trans-Δ11) bei der Berechnung aus einer Triglyceridanalyse.

Tabelle 2: Triglyceridformeln zur Schnellbestimmung des Gehaltes einzelner trans-C18:1-Positionisomere in bovinem Milchfett (r = Korrelationskoeffizient, mae = mittlerer absoluter Fehler)

Formel	r	mae
$trans \Delta 4 = -0,1197 \cdot C28 + 0,0298 \cdot C42 - 0,0112 \cdot C48 + 0,0034 \cdot C54$	0,928	0,016
$trans \Delta 5 = -0,2364 \cdot C28 + 0,0755 \cdot C32 - 0,0055 \cdot C50 + 0,0106 \cdot C54$	0,901	0,018
$trans \Delta 6-8 = 0,3965 \cdot C26 - 0,0882 \cdot C32 + 0,0273 \cdot C42 - 0,0328 \cdot C46 + 0,0472 \cdot C48 - 0,0301 \cdot C52 + 0,0456 \cdot C54$	0,984	0,026
$trans \Delta 9 = -0,2530 \cdot C28 + 0,1882 \cdot C32 - 0,0607 \cdot C34 + 0,0242 \cdot C40 - 0,0434 \cdot C44 + 0,0331 \cdot C48$	0,996	0,019
$trans \Delta 10 = 0,6895 \cdot C28 - 0,1286 \cdot C32 - 0,0689 \cdot C34 - 0,0886 \cdot C42 + 0,1956 \cdot C44 - 0,1141 \cdot C46 + 0,0412 \cdot C48 + 0,0558 \cdot C50 - 0,0324 \cdot C52$	0,985	0,024
$trans \Delta 11 = 5,0994 \cdot C28 - 5,4430 \cdot C30 + 1,2730 \cdot C32 - 0,5137 \cdot C38 + 0,6394 \cdot C40 + 0,7179 \cdot C42 - 1,4086 \cdot C44 + 0,3522 \cdot C46 + 0,5527 \cdot C48 - 0,5443 \cdot C52 + 0,7896 \cdot C54$	0,997	0,141
$trans \Delta 12 = 0,2218 \cdot C26 - 0,0510 \cdot C34 + 0,0352 \cdot C40 + 0,0509 \cdot C48 - 0,0447 \cdot C50 + 0,0153 \cdot C52$	0,994	0,020
$trans \Delta 13/14 = 0,5110 \cdot C26 - 0,4406 \cdot C28 - 0,06 \cdot C34 + 0,1276 \cdot C40 - 0,1339 \cdot C44 + 0,0927 \cdot C46 + 0,17 \cdot C48 - 0,2291 \cdot C50 + 0,1028 \cdot C52 - 0,0189 \cdot C54$	0,995	0,037
$trans \Delta 15 = -0,9191 \cdot C28 + 0,1422 \cdot C32 - 0,0730 \cdot C38 + 0,1656 \cdot C40 - 0,0368 \cdot C46$	0,999	0,007
$trans \Delta 16 = -0,2942 \cdot C30 + 0,1198 \cdot C32 - 0,1112 \cdot C36 + 0,0731 \cdot C38 + 0,0674 \cdot C40 + 0,0365 \cdot C48 - 0,0466 \cdot C52 + 0,0216 \cdot C54$	0,995	0,026

4 Schlussfolgerungen

Mit Hilfe von Fettsäureformeln lassen sich Gehalte an trans-C18:1-Fettsäuren aus einer einfachen GC-Analyse sowohl in teilhydrierten Pflanzenfetten als auch in bovinen Milchfetten mit guter Präzision direkt und schnell bestimmen. Für eine noch schnellere Bestimmung des trans-C18:1-Gesamtgehalt sowie auch einzelner Positionisomere in Milchfett eignen sich Triglyceridformeln mit einer etwas geringeren Genauigkeit.

5 Literatur

- [1] Precht, D., Molkentin, J. (1995) Die Nahrung 39:343-374.
 [2] Molkentin, J., Precht, D. (1995) Chromatographia 41:267-272.
 [3] Precht, D. (1990) Kieler Milchwirtsch. Forschungsber. 42:139-154.

Fett in Nahrung und Ernährung

Herausgegeben von

Caspar Wenk
Renato Amadò
Monique Dupuis
Zürich

Mit Beiträgen zahlreicher Fachwissenschaftler
und Fachwissenschaftlerinnen

Mit 58 Abbildungen und 105 Tabellen

Bundesanstalt
für Fleischforschung
- Dillenburg -
E-G-Debrunn-Strasse 20
D-65328 Krambach
Tel. (03221) 30 32 46

Elektronisch erstellt

26.547

July 15, 1997
01. Feb. 1997

WVG

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1007