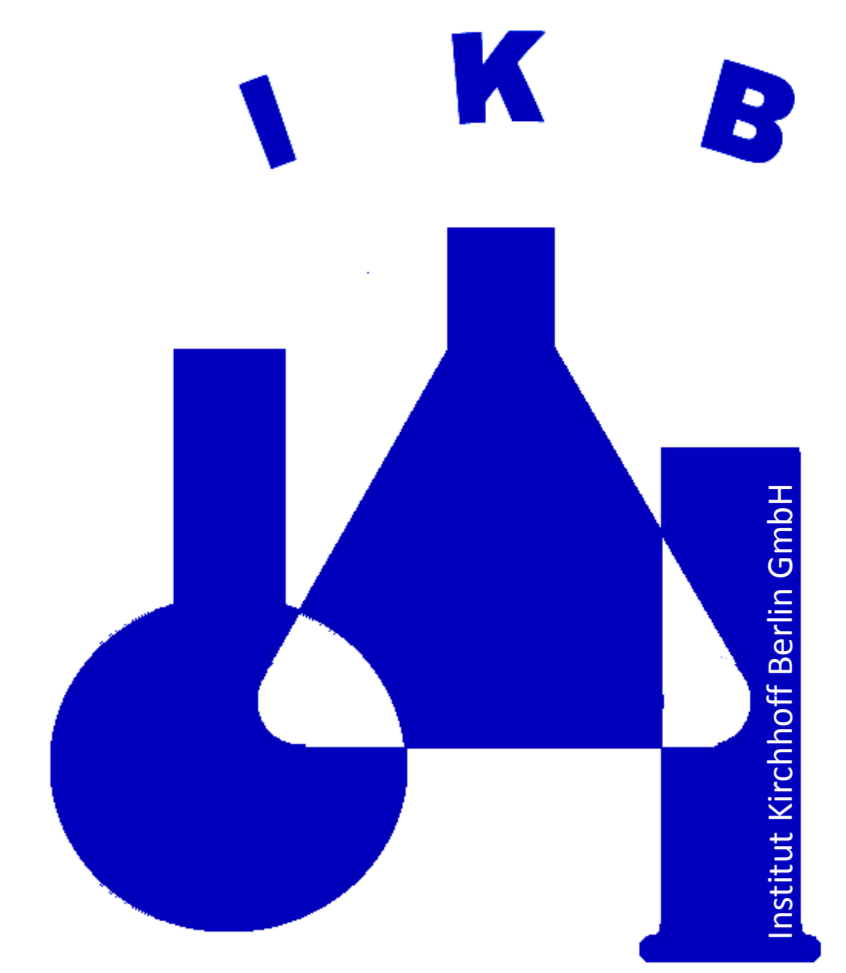


Lactose in lactosearmen und lactosefreien Lebensmitteln

Bestimmung mittels LC-MS/MS

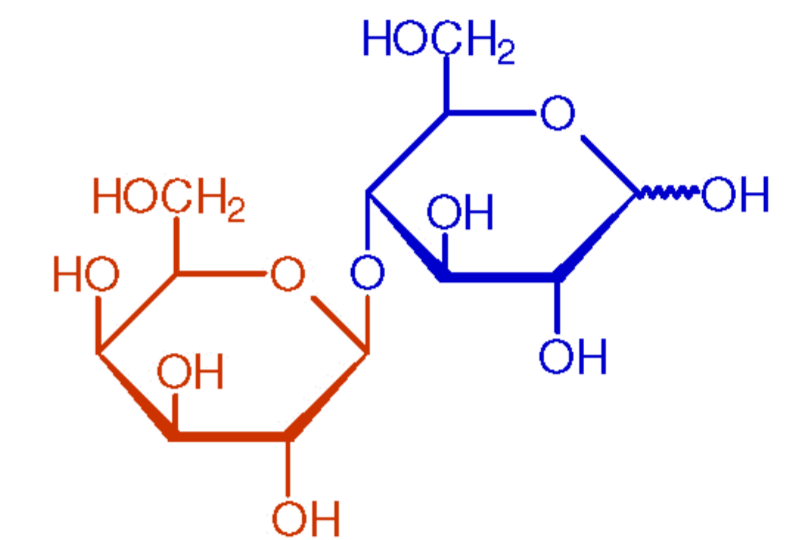


Diener, I., Konetzki, J., Becker, E., Kirchhoff, E.

Institut Kirchhoff Berlin GmbH, Albestraße 3-4, 12159 Berlin

Hintergrund

Lactose wird im Dünndarm durch das Enzym Lactase in **Galactose** und **Glucose** gespalten. Die Monosaccharide können dann resorbiert und verstoffwechselt werden. Personen mit einer Lactoseintoleranz leiden aufgrund von Lactasemangel bzw. verminderter Lactaseaktivität an Blähungen und Durchfall, da die Lactose ungespalten in den Dickdarm gelangt und dort von Darmbakterien fermentiert wird. Für diese Personen empfiehlt sich eine lactosefreie bzw. lactosereduzierte Ernährung.



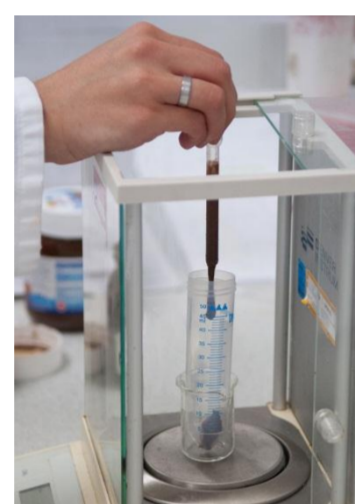
Definitionen gemäß dem Positionspapier der Lebensmittelchemischen Gesellschaft zu den Angaben „lactosefrei“ und „lactosearm“ [1]:

„Lactosearm“: Gehalt an Laktose: ≤ 1 g/100 g bzw. mL verzehrsfertiges Lebensmittel

„Streng lactosearm“: Gehalt an Laktose: ≤ 100 mg/100 g bzw. mL verzehrsfertiges Lebensmittel

„Lactosefrei“: Gehalt an Laktose und/oder Laktoseabbauprodukten (hier Galactose) aus enzymatischer Spaltung oder vergleichbaren Verfahren: ≤ 10 mg/100 g bzw. mL verzehrsfertiges Lebensmittel

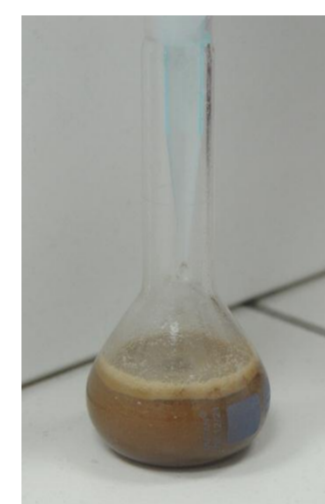
Methode



Einwaage



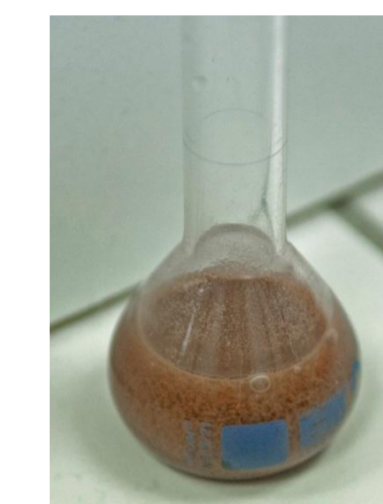
Entfetten



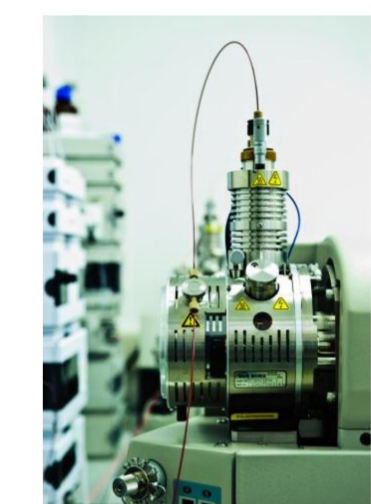
ggf. enzymatische Spaltung
anderer Disaccharide
(Invertase / Amyloglucosidase)



Extraktion



ggf. Proteinfällung



LC-MS/MS

LC-MS/MS (Triple-Quad-System im ESI(-)-Modus)

Massenübergänge

m/z 387 ([M+HCOO]⁻)

→ m/z 161

Quantifier

m/z 341 ([M-H]⁻)

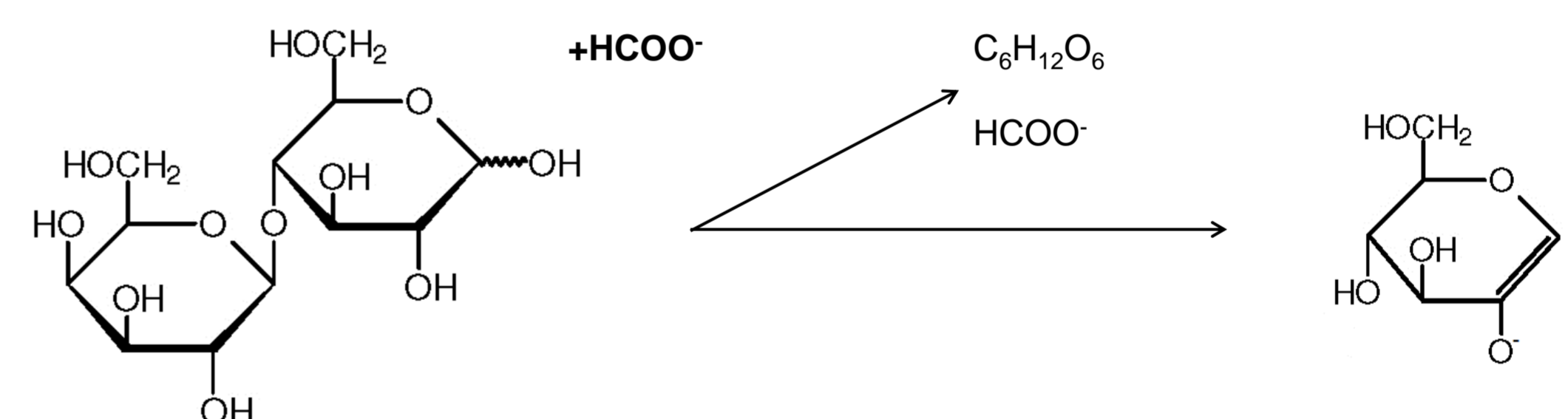
→ m/z 161

Qualifier

m/z 399 ([¹³C₁₂-Lactose+HCOO]⁻)

→ m/z 167

ISTD



Durch die Verwendung einer Spezialsäule werden die Anomere α - und β -Lactose voneinander getrennt. Eine separate Auswertung beider Peaks führt zu gleichen Ergebnissen, da die Anomere in einem Gleichgewicht vorliegen. Bei den angewandten Extraktionsbedingungen kommen 57-62% der Lactose in der β -Form vor [2].

Saccharose und Maltose werden aufgrund gleicher molarer Massen und somit gleicher Massenübergänge ebenfalls detektiert. Obwohl sich die Retentionszeiten der Disaccharide unterscheiden, kommt es bei saccharose- bzw. maltosereichen Proben zu einer Störung der Lactosepeaks. Durch Zugabe von Invertase bzw. Amyloglucosidase werden die störenden Disaccharide spezifisch gespalten, die Monosaccharide werden nicht detektiert.

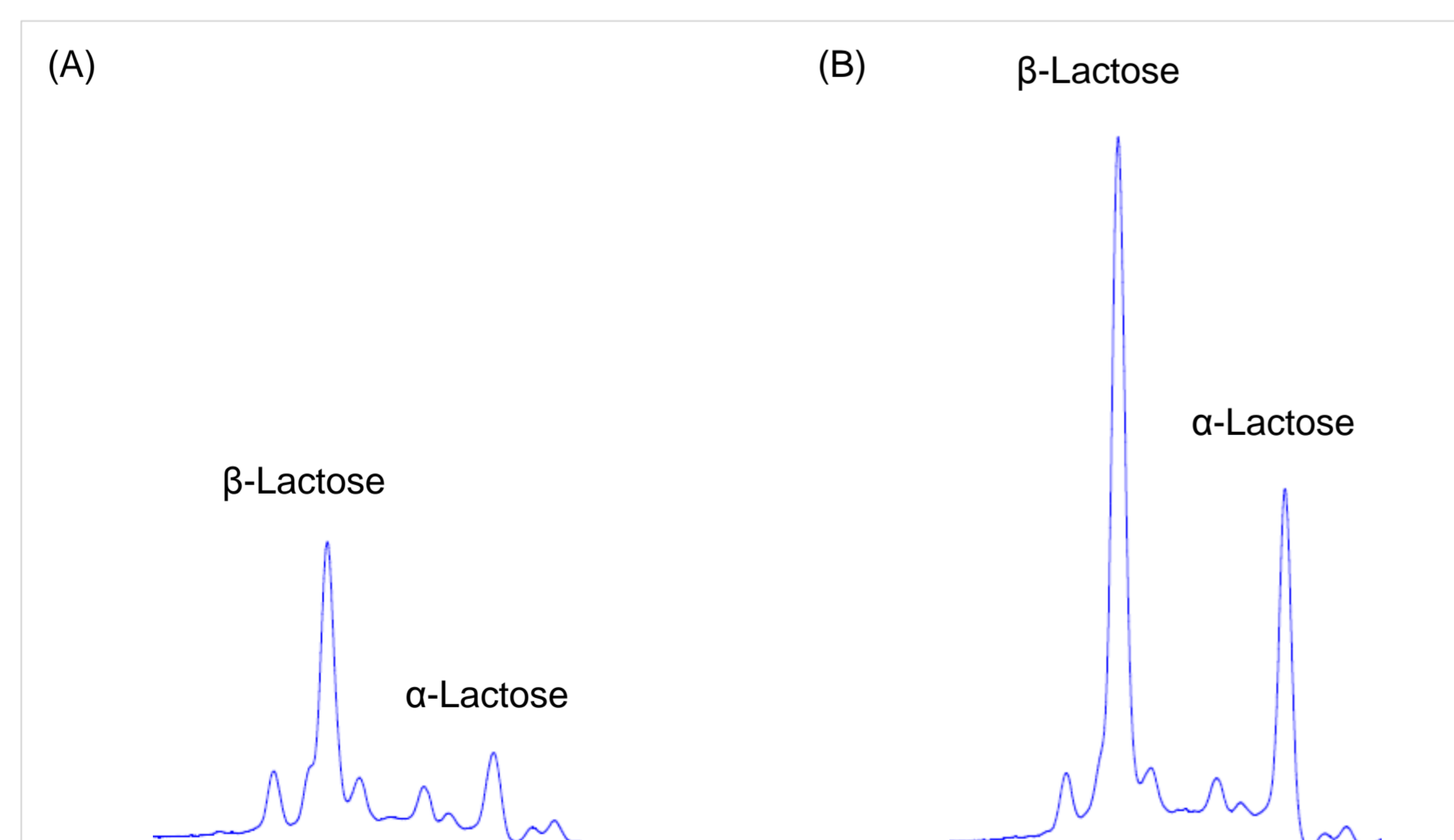


Abb. 1: Chromatogramme eines süßen, fetthaltigen Brotaufstrichs: Probe undotiert, Gehalt 5 mg/100 g (A), Probe dotiert auf 10 mg/100 g (B)

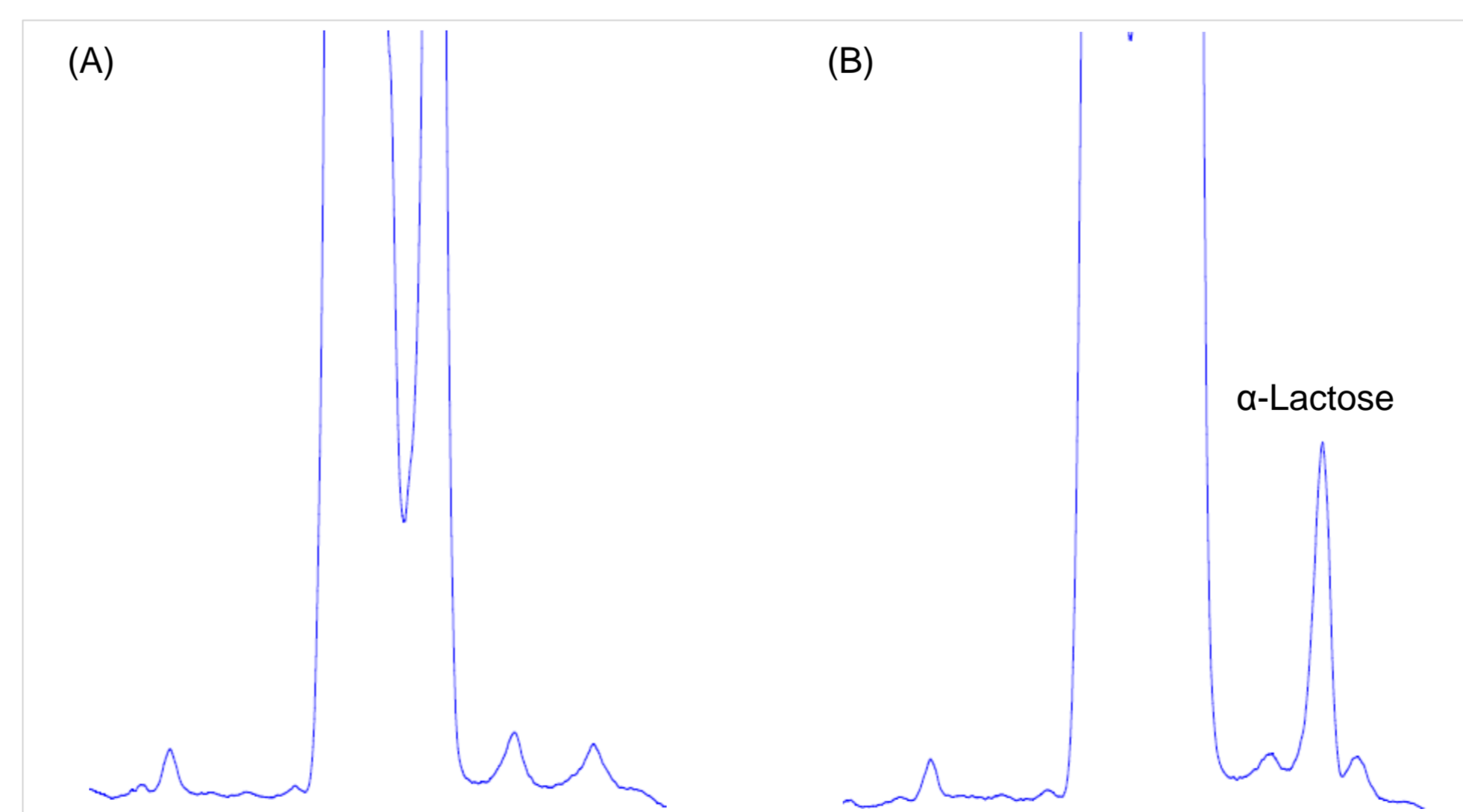


Abb. 2: Chromatogramme einer Tomatensoße: Probe undotiert (A), Probe dotiert auf 10 mg/100 g (B)

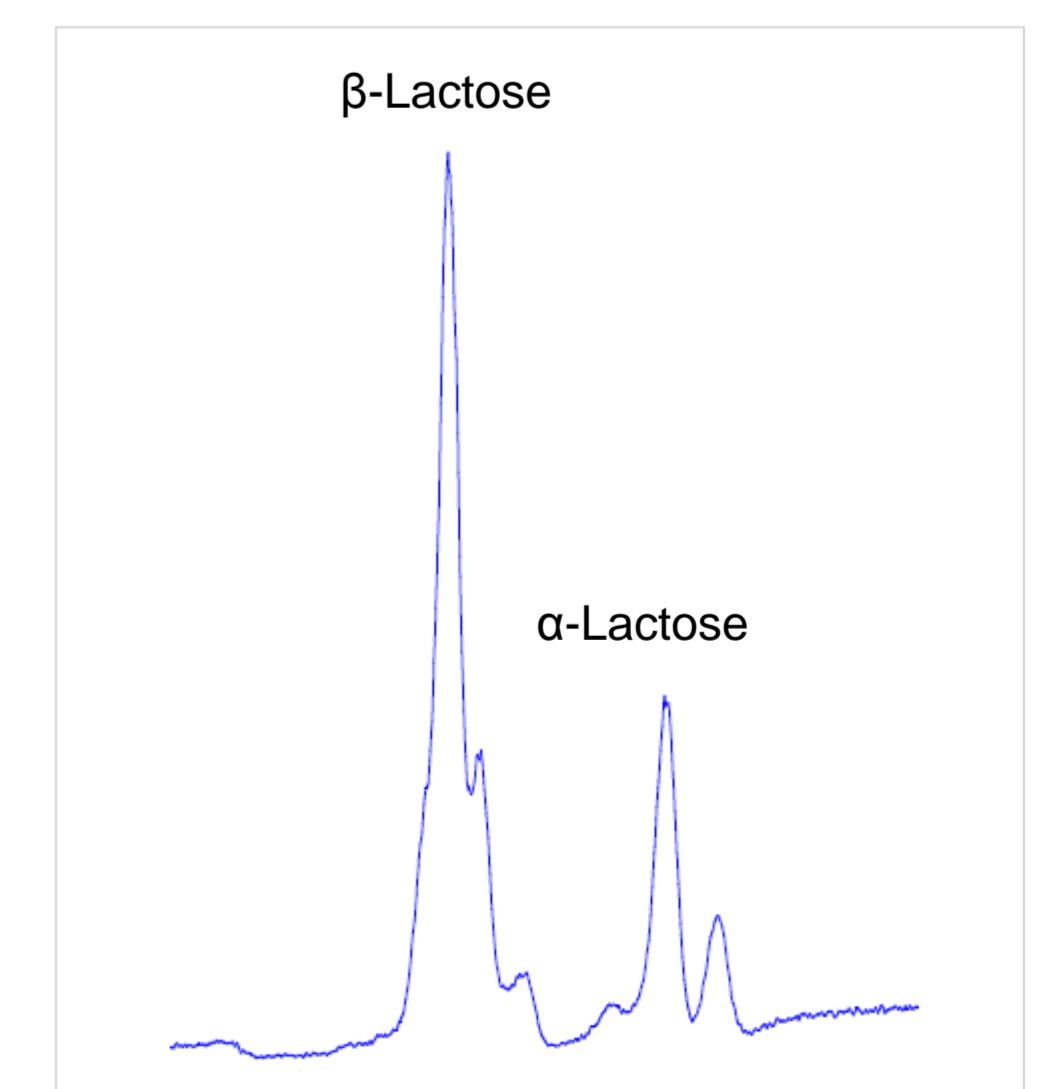


Abb. 3: Chromatogramm eines lactose-armen Milchpulvers, Gehalt 80 mg/100 g

Validierungsdaten

Es wurde eine 3fach-Dotierung auf drei Konzentrationsniveaus (10, 25 und 50 mg/100g) durchgeführt und so die Leistungskenndaten ermittelt.

- ✓ Linearität: 6%
- ✓ durchschnittliche Wiederfindung: 94%
- ✓ Wiederholpräzision: 5%
- ✓ erweiterte Messunsicherheit: 30%

Fazit

Der Einsatz der MS/MS-Detektion ermöglicht eine Nachweisgrenze von 3 mg/100 g. Somit kann mit dieser Methode, die sich durch gute Präzision, Richtigkeit und Robustheit auszeichnet, eine eindeutige Aussage über die Lactosefreiheit eines Produkts gemäß dem Positionspapier zu den Angaben *lactosefrei* und *lactosearm* [1] getroffen werden.