

Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Kakao und Kakaoerzeugnissen mittels LC-LC-GC-MS

Schulz, E.¹, Koospal, V.¹, Nestola, M.², Becker, E.¹, Kirchhoff, E.¹, Berlin/D

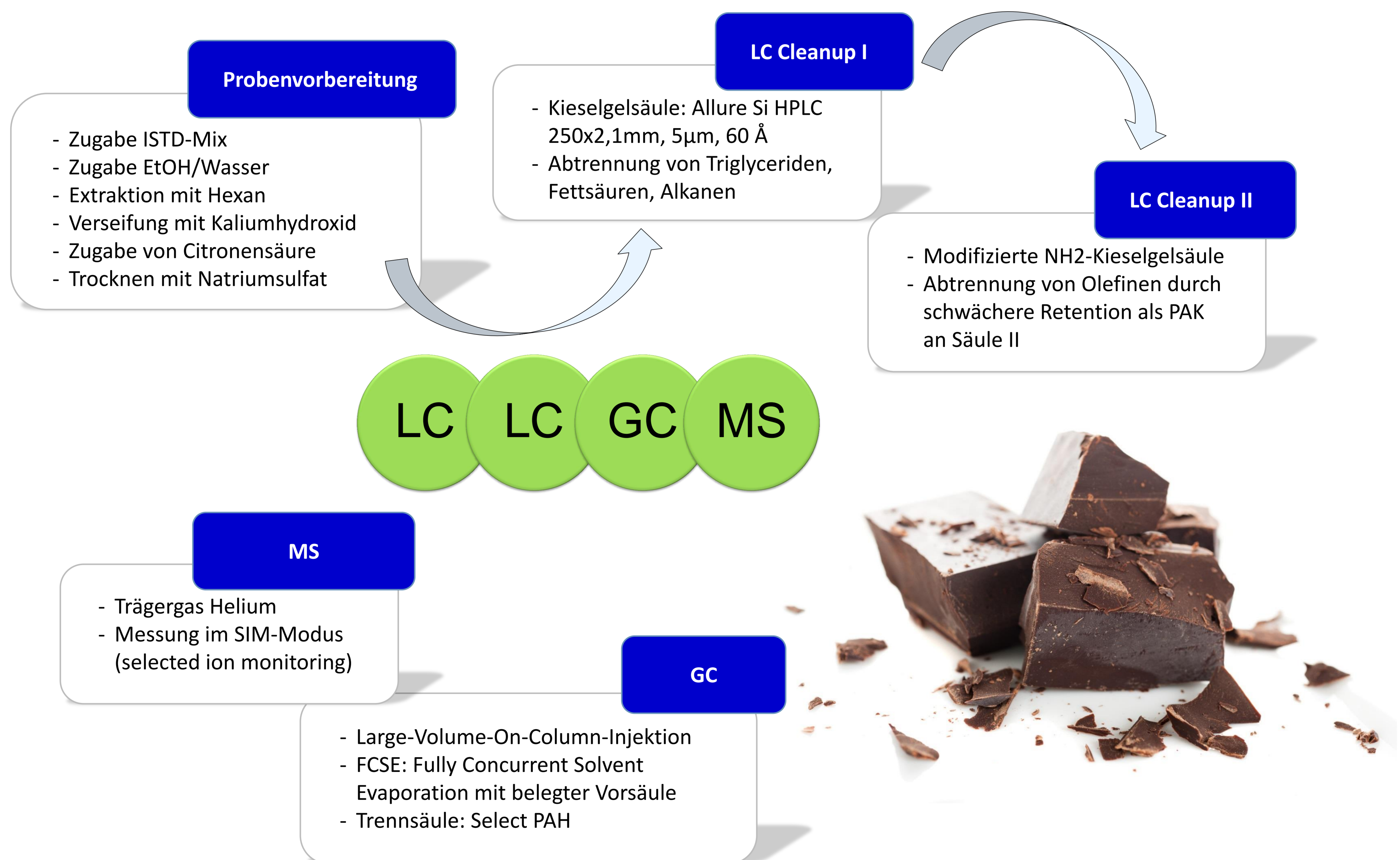
¹Institut Kirchhoff Berlin GmbH, Oudenarder Str. 16, 13347 Berlin/D

²Axel Semrau GmbH & Co.KG, Stefansbecke 42, 45549 Sprockhövel



Einleitung

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind aufgrund ihrer ubiquitären Verbreitung in vielen Lebensmitteln zu finden. Sämtliche Herstellungs- und Behandlungsprozesse, bei denen Lebensmittel stark erhitzt werden oder mit Verbrennungsgasen bzw. Rauch in Kontakt kommen, können zu erhöhten PAK-Gehalten der Erzeugnisse führen. Dazu gehören das Trocknen von Ölsaaten oder Getreide mit offener Feuerung, das Backen von Brot, das Rösten von Kaffee, das Braten und insbesondere das Räuchern sowie Grillen von Fleisch über offenem Feuer. Zur Substanzgruppe der polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe gehören bis zu 250 verschiedene Verbindungen. Die akute Toxizität der PAK ist gering. Das Gefährdungspotential liegt in erster Linie in den karzinogenen und genotoxischen Eigenschaften der meisten Vertreter dieser Stoffgruppe. 2008 kam die EFSA in ihrem Gutachten zu dem Schluss, dass sich die Summe aus vier spezifischen PAK-Verbindungen am besten als Indikator für den Gehalt an PAK in Lebensmitteln eignen würde. Zu den PAK 4 zählen Benzo(a)anthracen, Chrysen, Benzo(b)fluoranthren und Benzo(a)pyren. In der Verordnung Nr. 835/2011 sind Höchstmengen für Benzo(a)pyren sowie für die PAK 4 für die jeweiligen Lebensmittel festgelegt.



Analytik

Die Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Kakao und Kakaoerzeugnissen mittels LC-LC-GC-MS benötigt verglichen mit den bislang etablierten Verfahren (z.B. GPC-Aufreinigung) nur eine einfache und schnelle Probenvorbereitung. Durch die Kopplung zweier HPLC-Säulen wird das weitere Cleanup automatisiert. Die Probenextrakte werden mittels HPLC aufgereinigt, fraktioniert und die Zielfraktion mit den PAK in den Gaschromatographen transferiert. Die anschließende gaschromatographische Trennung erfolgt mit einer Spezialsäule (Select PAH), die Detektion mit einem massenselektiven Detektor (Thermo DSQ)¹. Die verwendete Software Chronos optimiert außerdem die Probenvorbereitung durch zeitliche Verschachtelung. Das LC Cleanup startet nicht erst nach Abschluss der Analytik einer vorangegangenen Probe, sondern bereits während die Analytik am GC noch läuft. Hierdurch werden Wartezeiten der analytischen Systeme deutlich reduziert.

| Parameter | Validierungsdaten der 16 PAK | Leistungskriterien gemäß VO (EG) Nr. 836/2011 | Anforderungen erfüllt? |
|--------------------|---|--|------------------------|
| Wiederholpräzision | 1,1 – 3,4% | Horrat RSD, < 2 (19%) | ✓ |
| Wiederfindungsrate | 85 – 114% | 50 -120% | ✓ |
| Nachweisgrenze | 0,05 - 0,3 µg/kg | ≤ 0,3 µg/kg für jeden einzelnen Stoff | ✓ |
| Bestimmungsgrenze | 0,2 – 0,9 µg/kg | ≤ 0,9 µg/kg für jeden einzelnen Stoff | ✓ |
| Spezifität | Bestätigung der PAK-Gehalte durch zweite, unabhängige Methode (HRX-GC-MS) | Frei von Matrix- oder spektralen Interferenzen; Überprüfung des positiven Nachweises | ✓ |

Tab. 1: Leistungskennndaten

Referenzen:

¹ Nestola, M., Friedrich R., Bluhme P., *Anal. Chem.*, 2015, 87 (12), pp 6195–6203, "Universal Route to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Analysis in Foodstuff: Two-Dimensional Heart-Cut Liquid Chromatography-Gas-Chromatography-Mass Spectrometry"

Validierung

Das hier vorgestellte Verfahren wurde auf Empfindlichkeit, Linearität, Robustheit, Richtigkeit und Präzision getestet.

Die Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze wurden anhand einer 10-Punkt-Kalibrierung mit äquidistanten Abständen im Bereich von 0,05-0,5 µg/kg ermittelt. Zur Bestimmung der Präzision, Richtigkeit und Linearität wurde eine 3fach-Dotierung auf 3 Konzentrationsniveaus auf Kakaopulver (0,5; 1 und 2 µg/kg) durchgeführt. Tabelle 1 zeigt die ermittelten Leistungskennndaten der Methode im Vergleich mit den Anforderungen gemäß VO (EG) Nr. 836/2011.

Alle Anforderungen der EU Regulation 836/2011 an die Analytik werden erfüllt.