

Ziele

Heterocyclische Aromatische Amine (HAA) werden üblicherweise mittels RP-HPLC basierend auf der von Gross und Gräter entwickelten Methode quantifiziert [1, 2]. Unter realistischen Zubereitungsbedingungen entstehen von den über 20 verschiedenen Verbindungen hauptsächlich fünf Vertreter im unteren µg/kg-Bereich (PhIP, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, Norharman und Harman). Die in standardisiert zubereiteten Hamburgern entstandenen HAA sollten mittels einer neu entwickelten, validierten HPTLC/UV-FLD-Methode [3] quantifiziert und die Ergebnisse durch einen Methodenvergleich mit der HPLC/UV-FLD verifiziert werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die Hamburger wurden beidseitig mit einem Kontaktplattengrill bei 230 °C unterschiedlich lange gebraten (3 - 6 min). Nach dem Homogenisieren erfolgte die Probenaufarbeitung und Extraktion der HAA aus der Fleischmatrix (Abb. 1). Typische HPTLC/HPLC-Chromatogramme in Fleischmatrix sind daneben dargestellt.

Vor diesem Hintergrund zeigt der aktuelle Methodenvergleich am Beispiel von MeIQx und Norharman eine **gute Korrelation** der HAA-Funde zwischen HPTLC und HPLC (Abb. 2). Die Präzision der Ergebnisse beider Methoden ist als Standardabweichung dargestellt und für beide Methoden nahezu vergleichbar.

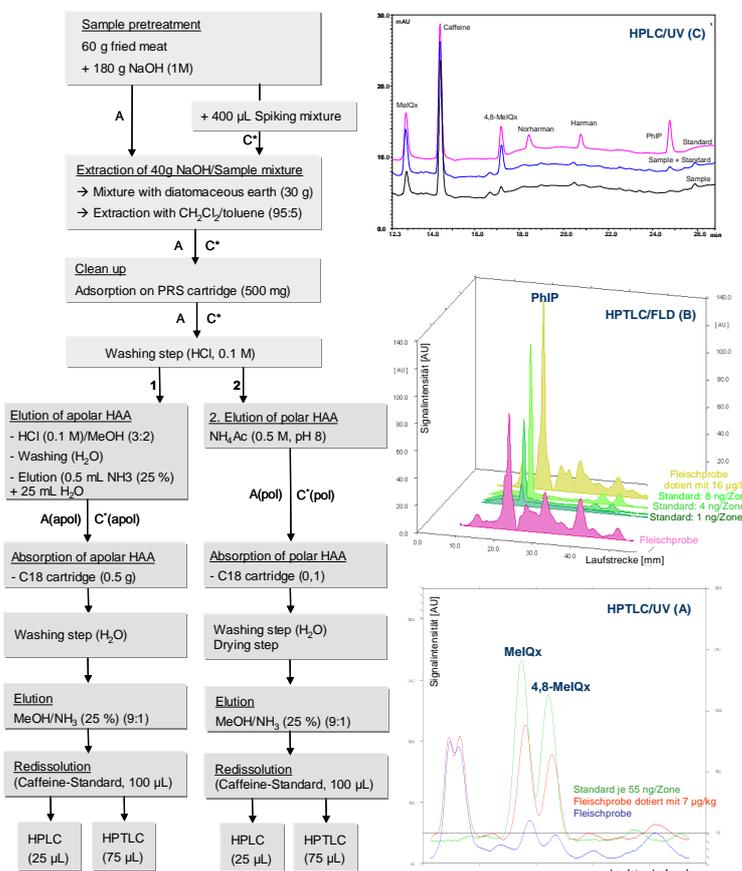


Abb. 1: Fließdiagramm der standardisierten Probenaufarbeitung und Extraktion der HAA (links); HPTLC/UV 262 nm (A), HPTLC/FLD 313/340 nm (B) und HPLC/UV 258 nm (C) (rechts)

Die Quantifizierung zeigte für die entstandenen 5 HAA eine vermehrte **Bildung mit steigender Bratzeit**. Die HAA-Funde lagen unter den gewählten realistischen Bratbedingungen im Bereich von <1 µg/kg bis 32 µg/kg und entsprechen der raren Literatur [4] unter realistischen Bratbedingungen mit geringen HAA-Funden.

Zwei 1998 und 2004 durchgeführte Ringversuche verdeutlichen die **Problematik** der HAA-Bestimmung im unteren Spurenbereich in der fordernden Fleischmatrix. Die Präzision (RSD) betrug bis zu 45 % nach erfolgter Ausreißereliminierung, die bis zu 50 % der erhaltenen Datenwerte als Ausreißer einstufte und eliminierte.

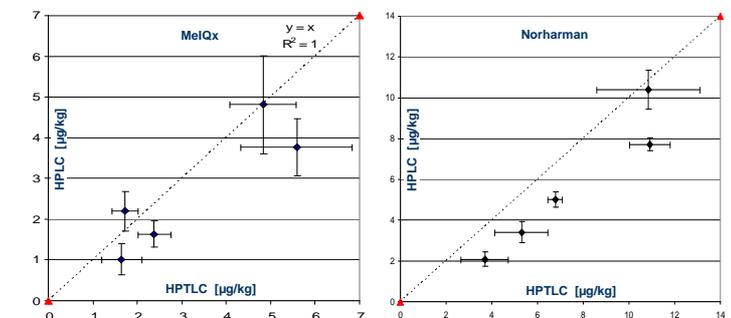


Abb. 2: Nicht Ausreißer-bereinigter Methodenvergleich (Mittelwert ± Standardabweichung, n =12) für MeIQx (links) und Norharman (rechts) zwischen HPTLC/UV-FLD (Abzisse) und HPLC/UV-FLD (Ordinate)

Der Kosten- und Zeitvergleich für beide Methoden in der Routine-Anwendung (2 Proben → 16 Läufe) zeigt, dass die Kosten für die HPTLC-Methode um den **Faktor 3 günstiger** sind als die der HPLC-Methode. Durch die offline HPTLC-Analyse kommt ein zusätzlicher Zeitaufwand für den Transfer zwischen den automatisierten Schritten dazu. Aufgrund der gleichzeitigen Entwicklung von 20 parallelen Läufen pro HPTLC-Platte unter identischen Bedingungen, ist die HPTLC-Methode dennoch um den **Faktor 4 schneller** als die HPLC.

Zusammenfassung

Die Ergebnisse belegen die gute Korrelation der HAA-Funde mittels HPTLC und HPLC [5]. Die verstärkte HAA-Bildung und somit ein Konzentrationsanstieg mit steigender Bratzeit konnte mit beiden Methoden nachgewiesen werden. Die Zeit- und Kostenersparnis sowie die **Orthogonalität** der HPTLC-Methode sind weitere Argumente für den alternativen Einsatz zur HPLC.

Abkürzungen

PhIP: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin; MeIQx: 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]chinoxalin; 4,8-DiMeIQx: 2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]chinoxalin; Norharman: 9H-pyrido[3,4-b]indol; Harman: 1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol

Danksagung

Dank an Silvia Lasta, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, die Landesstiftung Baden-Württemberg (Projekt Nr. P-LS-E2/25), an Merck, Darmstadt, und an CAMAG, Berlin, für die gewährte Unterstützung.

Literatur

- G. A. Gross, A. Grueter (1992) J.Chromatogr. 592, 271-278
- G. A. Gross (1990) Carcinogenesis 11, 1597-1603
- U. Jautz, G. Morlock (2007) Anal Bioanal Chem 387, 1083-1093
- K. Skog, G. Steineck, K. Augustsson, M. Jagerstad (1995) Carcinogenesis 16, 861-867
- U. Jautz, M. Gibis, G. Morlock, in preparation