

IDENTIFIZIERUNG DER GEOGRAPHISCHEN HERKUNFT VON KÜRBISKERNÖLEN

Daniela Joebstl, Donata Bandoniense, Thomas Meisel

Allgemeine und Analytische Chemie, Montanuniversität Leoben,

Franz-Josef-Strasse 18, 8700 Leoben

Schlüsselwörter: Kürbiskernöle, geographische Herkunft, Seltene Erden

EINLEITUNG

Im Zeitalter des globalen Handels und der Klimaveränderung und –erwärmung gewinnt der geographische Ursprung von Lebensmitteln immer mehr an Bedeutung. Zudem wird das Verlangen der Konsumenten nach Lebensmitteln mit bekannter geographischer Herkunft immer größer, sodass bereits Lebensmittel mit Angabe der Herkunft in Supermärkten erhältlich sind und preislich oft höher liegen als andere ohne Herkunftsbezeichnung.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, eine analytische Methode für die Kontrolle des geographischen Ursprunges von Kürbiskernen und Kürbiskernölen zu entwickeln. Die Entwicklung einer solchen Methode ist nicht nur von wissenschaftlicher Seite her interessant, sondern auch für den Konsumenten sehr wichtig, um sicher über die Herkunft seiner Lebensmittel bescheid zu wissen und um sich vor Fälschungen und minderer Qualität zu schützen.

Es ist bekannt, dass in der Geochemie die Muster der Seltenen Erden (Lanthanoide) zur Identifizierung des geographischen Ursprungs herangezogen werden, und auch das die Pflanzen ein typisches Verteilungsmuster der Seltenen Erden aufweisen (MARKERT, 1993). Auch Kürbiskernöle weisen unterschiedliche Spurenelement- bzw. Seltene Erdmuster auf, aufgrund derer eine geographische Herkunftsbestimmung durchgeführt werden kann.

UNTERSUCHUNG DER URSACHEN FÜR REGIONALE UNTERSCHIEDE IN DER SPURENZUSAMMENSETZUNG VON KÜRBISKERNÖLEN

Um dieses Ziel zu erreichen und ein besseres Verständnis zu haben, wurde eine systematische Untersuchung von Böden, Kürbiskernen und Kürbiskernölen ausgesuchter Kürbiskernbauern durchgeführt. Die Bodenproben wurden aus zwei Versuchsanstalten in Österreich (Saatzucht Gleisdorf, weiter *SZ Gleisdorf (Feld 1)*, und Versuchsstation für Spezialkulturen Wies, weiter *LVA Wies (Feld 2)*), so wie von fünf Vertragslandwirten, in der *Steiermark (Feld 8)*, *Niederösterreich (Feld 5)*, *Burgenland (Feld 4)*, *Ungarn (Feld 3)*, und *Serbien (Feld 6 und Feld 7)* im Frühling vor dem Anbau der Kürbisse und im Herbst nach der Ernte 2006/2007 nach einem definierten Raster und/oder Mischproben durch Firma F. URL & Co. Gesellschaft m.b.H. bzw. Dritter (SZ Gleisdorf, LVA Wies) entnommen.

Überprüfung der Bodenhomogenität eines Feldes und Klimaeinflusses

Für die Bodenhomogenitätsuntersuchung innerhalb eines Feldes, wurden Bodenproben von diesen Versuchfeldern nach einem genau definierten Rasterplan entnommen und die Siebfraktion < 2 mm untersucht. Es wurde festgestellt, dass die Variation der Konzentrationen von Seltenen Erden (SEE) und des Musters innerhalb eines Feldes (Rasteranalyse) klein sind, weiters wurden nur noch die Mischproben von den gleichen Versuchsfeldern entnommen und analysiert. Abbildung 1 zeigt, dass jedes Versuchsfeld ein charakteristisches SEE Muster hat und dass die Unterschiede der SEE Zusammensetzung im Boden zwischen Feldern unterschiedlicher Herkunft signifikant groß sind (Konfidenzintervall mit Signifikanzniveau 95 % Wahrscheinlichkeit gerechnet) und auf jedenfall größer als jene innerhalb eines Feldes. Um den Klimaeinfluss zu überprüfen, wurde eine kontinuierliche Bodenprobennahme der gleichen Versuchsfelder über drei Jahre (im Frühling und Herbst) vorgesehen. Die Zwischenergebnisse haben gezeigt, dass die SEE Muster sich nicht geändert haben. Die Ergebnisse sind zwar noch nicht für alle Versuchsfelder vorhanden, aber der Trend ist sichtbar, dass das Klima von Jahr zu Jahr, wie zu erwarten, wahrscheinlich keinen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung von SEE im Boden hat.

Überprüfung der Kürbiskernhomogenität innerhalb eines Feldes

Um zu untersuchen, ob das SEE Muster in Kürbiskernen innerhalb eines Feldes stabil und wiederholbar ist, und eine Kürbiskernprobe für ein Versuchsfeld repräsentativ ist, wurde die Kürbiskernhomogenität innerhalb eines Feldes überprüft. Die Kürbisse wurden nach einem

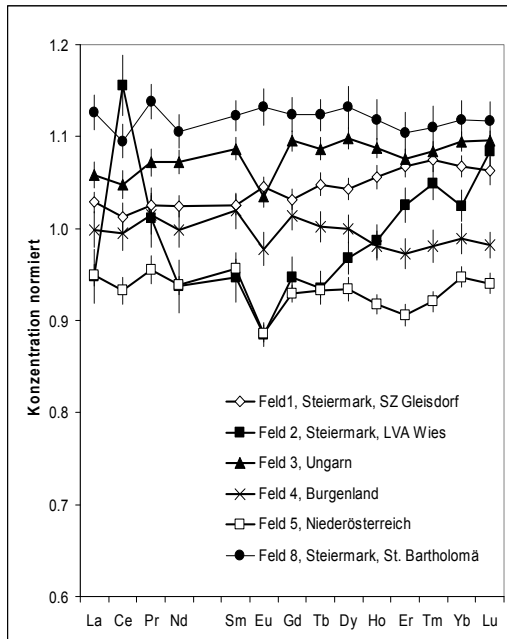


Abb: 1: Verteilung der SEE in den geographisch verschiedenen Versuchsfeldern. Y-Achse Konzentration normiert auf Referenzbodenprobe.

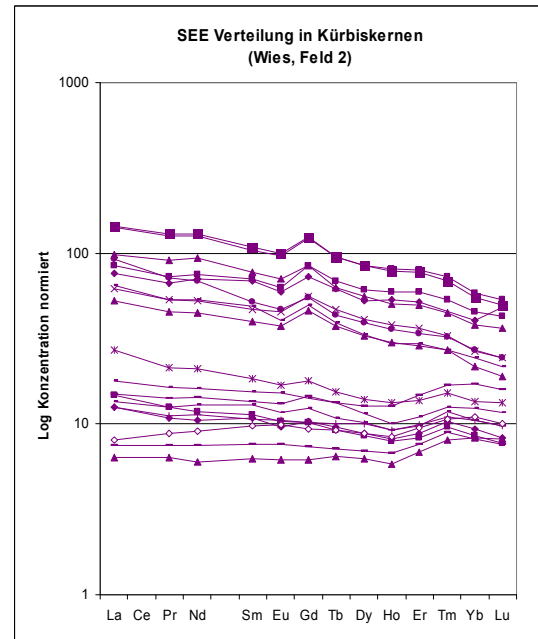


Abb: 2: Verteilung der SEE in Kürbiskernen von Versuchsfeld 2 (LVA Wies). Es wurden ca. 100 m² Acker in 18 Raster eingeteilt und Kürbiskerne von jedem Raster extra analysiert. Y-Achse Konzentration normiert auf QCM-Öl.

festgelegten Rasterplan von 5 Versuchsfedern entnommen. Die Wiederholbarkeit der Konzentrationen von SEE in gemahlene Kernen war nicht befriedigend, hingegen jene des Musters schon (Abbildung 2). Als eine Begründung für die Schwankung der SEE Konzentrationen der Kürbiskerne zwischen den Rastern kann der unterschiedlicher Reifegrad der Kürbiskerne verantwortlich sein, da festgestellt wurde, dass eine Anreicherung der SEE erst am Ende des Reifestadiums stattfindet.

Beziehung der Spurenelementzusammensetzung von Boden und Kürbiskernöl

Um den Bezug der Spurenelementzusammensetzung von Boden und Kürbiskernölen besser zu verstehen, wurden zu den Bodenproben auch die gepressten bzw. extrahierten Öle der Kürbiskerne, der 5 Versuchsfelder (SZ Gleisdorf, LVA Wies, Ungarn, Burgenland, Niederösterreich und Serbien) analysiert und miteinander verglichen. Es wurde kein direkter Zusammenhang zwischen den SEE im Boden und im Kürbiskernöl gefunden, aber die Unterschiede zwischen den Ölmustern unterschiedlicher Herkunft sind größer als jene zwischen den Bodenmustern (Abbildung 3). Diese Zwischenergebnisse haben gezeigt, dass es regionale Unterschiede der SEE Muster in Kürbiskernölen unterschiedlicher Herkunft gibt, nur in welchem Zusammenhang sie mit der SEE Zusammensetzung im Boden stehen, wurde im Laufe dieser Untersuchungen noch nicht geklärt.

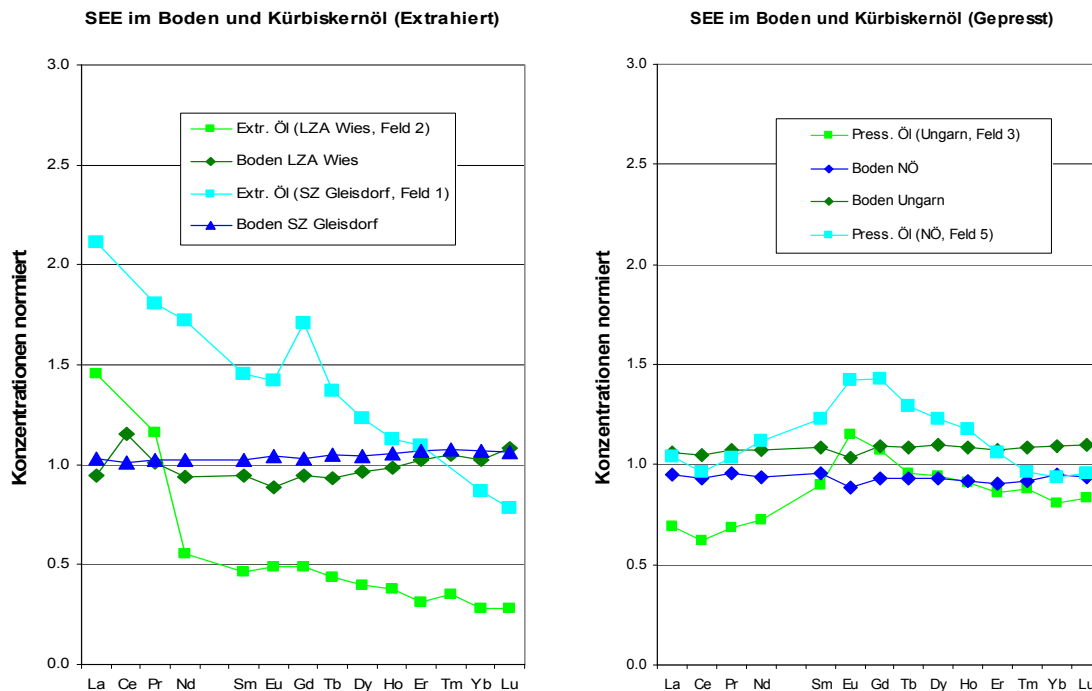


Abb: 3: Vergleich der SEE Muster des Bodens mit jenen des Öles gleicher Herkunft. Die Konzentrationen der SEE aller Proben sind auf Konzentrationen der Referenzbodenprobe normiert und normierte Konzentrationen in Ölen sind **100 Fach** multipliziert.

ENTWICKLUNG UND VALIDIERUNG DER METHODE ZUR BESTIMMUNG DER KONZENTRATION VON SPURENELEMENTEN IN KÜRBISKERNÖLEN MITTELS ICP-MS

Um eine Kontamination des Kürbiskernöls in der Mühle auszuschließen und kontrollierte Bedingungen für die Ölgewinnung gewährleisten zu können und um herauszufinden ob der Verarbeitungsprozess einen Einfluss auf das SEE Muster hat, sollte das Öl aus den Kürbiskernen direkt im Labor extrahiert werden.

Die Analyse der Spurenelemente in Kürbiskernölen wird in nachstehenden Absatz kurz erklärt. Aus den Kürbiskernproben wird mittels optimierter Soxhlet Extraktionsmethode das Öl gewonnen. Das Ziel der Extraktionsoptimierung war es eine quantitative und reproduzierbare Methode zur Extraktion der SEE der Kürbiskerne mit minimalen Lösungsmittel- und Zeitverbrauch und einer optimalen Ausbeute an SEE zu erhalten (JOEBSTL, et. al; 2007). Das Öl wird mit dem High Pressure Asher (HPA-S, Anton Paar, Graz) aufgeschlossen. Ca. 1g Öl wird in 90 ml Quarzglasgefäße eingewogen, mit 10 ml subboiled HNO₃ (65%) versetzt und anschließend mit Teflonband und Quarzglasdeckel verschlossen. Es können gleichzeitig 5 Proben aufgeschlossen werden. Die Proben werden im HPA-S in 30 min auf 280 °C bei einem Druck von 100 - 125 bar erhitzt, dann wird die

Temperatur von 280 °C 90 min bei mind. 100 bar gehalten. Die aufgeschlossene Ölprobe wird mittels Milli-Q-Wasser aus den Quarzglasgefäßen in PFA-Gefäße quantitativ überführt. Die Proben werden auf einer Heizplatte bei 70 – 100 °C bis zur Trockene eingedampft. Die trockene Probe wird in 2 ml 1 %iger (v/v) HNO₃ aufgenommen und mit In/Re als interner Standard versetzt und quantitativ in Proberöhrchen zur ICP-MS Messung überführt. Im Zuge der Validierung der Methode wurde die Wiederholstandardabweichung s_r des Verfahrens einmal von extrahiertem Öl und einmal von gepresstem Öl bestimmt. Zur Bestimmung von s_r extrahierten Öl wurden Kerne einer Probe (in house Referenzkürbiskerne, weiter RMKK) 20 Mal extrahiert und analysiert, aus den erhaltenen Daten wurde dann die s_r berechnet. Gleich wie bei RMKK wurde 20 Mal gepresstes Öl vom gleichen gepressten Öl (in house Referenzkürbiskernöl, RMÖL) analysiert und aus diesen Daten die s_r für gepresstes Öl ermittelt. Neben s_r wurden auch die Wiederholgrenzen r ($2,8 \times s_r$), die die erlaubte Schwankung zweier einzelner unter Wiederholbedingungen gewonnener Werte mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % beschreibt ermittelt. Auch die Nachweisgrenze und die Bestimmungsgrenze des Verfahrens mittels 20 Blindwertanalysen wurden bestimmt. Für eine kontinuierliche Qualitätskontrolle wurde auch eine Regelkarte für RMKK und RMÖL erstellt. Im Zuge der Validierung des Analysenverfahrens wurde die Messunsicherheit des gesamten Verfahrens und der einzelnen Analysenschritten, Extraktion des Öls aus den Kernen, HPA-Aufschluss des Öls und Messung des Aufschlusses mit ICP-MS, bestimmt.

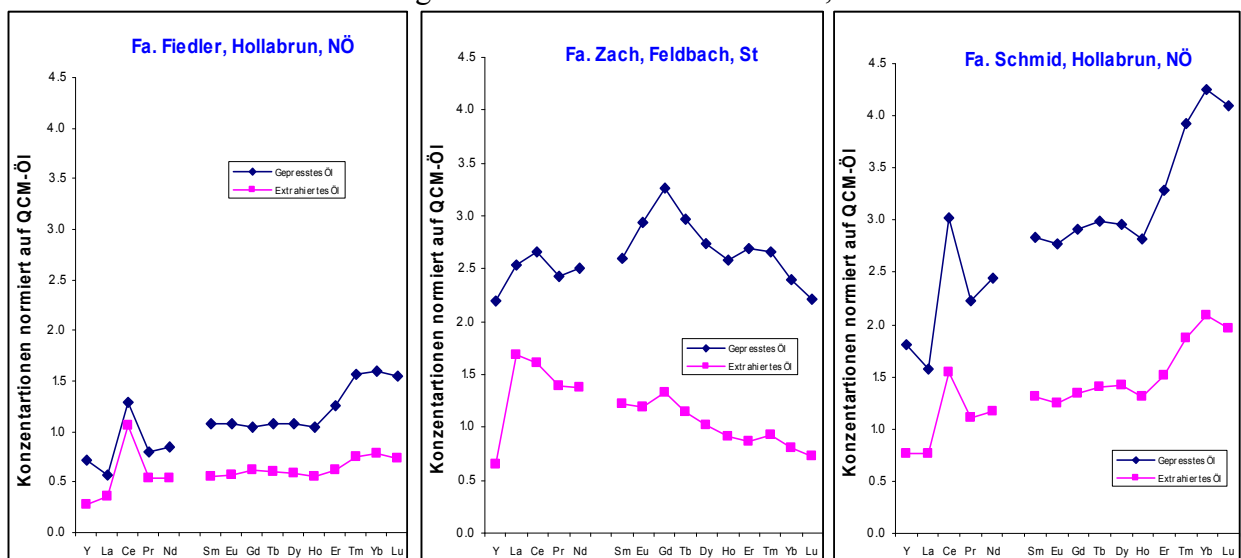


Abb. 4. Vergleich der SEE Muster in gepressten und extrahierten Ölen definierter Herkunft.

Um den Einfluss des Verarbeitungsprozesses in der Mühle (mögliche Kontamination oder Verlust der Analyten) zu bestimmen, wurden einige extrahierte Öle mit den Ölen, die aus den Kürbiskernen derselben Herkunft gepresst wurden, verglichen. Im Zuge dieses Versuchs

wurde festgestellt, dass die Konzentration der Spurenelemente in gepresstem Öl höher als in dem extrahierten Öl ist, aber das Muster der SEE fast gleich bleibt (Abbildung 4). Auf Grund dieser Beobachtungen lässt sich ableiten, dass die Herstellungsbedingungen vor allem den Gehalt der SEE in Öl beeinflussen können.

KLASSIFIZIERUNG DER KÜRBISKERNÖLE NACH IHRER GEOGRAPHISCHEN HERKUNFT AUF BASIS DER SEE MUSTER

Die Identifizierung der Herkunft von Ölen (BENINCASA, et. al; 2007; HEIER, 2006; THIEL, et. al; 2004) soll auf Basis der Mustererkennung von Spurenelementen erfolgen, nach Vergleich der Daten mit jenen in der zusammengefassten Datenbank (Multivariate Datenanalyse, MDA). Um die regionalen Unterschiede zu finden bzw. um die Datenbank von Spurenelementen in Kürbiskernölen unterschiedlicher Herkunft aufzubauen, wurden ca. 100 Kürbiskernproben von Anbauflächen von Vertragslandwirten aus ausländischen und heimischen Regionen aus der Ernte 2006 durch die Firma F. URL bereitgestellt. Bis jetzt wurden insgesamt 70 von 100 authentischen Kürbiskernproben aus den Probenahmen von 2006 untersucht und ein Klassifizierungsversuch gestartet. Zur Klassifizierung der Kürbiskernproben fließen nicht die einzelnen Konzentrationen der SEE ein, sondern es werden die Konzentrationen der SEE normiert auf QCM-Öl (ein Mix von Kürbiskernölen verschiedener geographischer Herkunft) verwendet. Aus den normierten Werten werden dann verschiedene Verhältnisse gebildet, da es zu Schwankungen der SEE Konzentration innerhalb eines Gebietes kommen kann. Die Muster der SEE Patterns bleiben aber stabil, deshalb wird die Form der Patterns zur Klassifikation herangezogen und nicht die absoluten Konzentrationen. Zur Beschreibung des Patterns werden die Eu- und Gd-Anomalie, die La/Tb, La/Dy, Tb/Lu, Ho/Yb und La/Er Verhältnisse verwendet. Bevor die Daten zur multivariaten Datenanalyse herangezogen wurden, wurde der Datensatz auf Ausreißer untersucht. Als erstes wurde eine Box-Plot Betrachtung durchgeführt. Zusätzlich zur Box-Plot Betrachtung wurde ein Grubbs - Ausreißertest durchgeführt. Es werden nur diejenigen Proben als Ausreißer gewertet die von beiden Verfahren, Box-Plot Betrachtung und vom Grubbs - Ausreißertest, als Ausreißer erkannt wurden. Bei den Niederösterreichischen Proben wurden von 45 Proben 7 als Ausreißer beim Box-Plot erkannt und 3 beim Grubbs - Ausreißertest und bei den 15 Steirischen Proben wurden 3 Proben beim Box-Plot und keine Probe beim Grubbs - Ausreißertest als Ausreißer erkannt. Aufgrund der zu geringen Probenzahl bei ausländischen

Proben wurde zur Zeit eine Box-Plot Betrachtung und der Grubbs - Ausreißertest nur bei den niederösterreichischen und den steirischen Proben durchgeführt. Da zu wenig Proben von den ausländischen Gebieten aus der Probennahme 2006 vorhanden sind, konnte derzeit nur eine Klassifizierung zwischen Niederösterreich und der Steiermark durchgeführt werden. Aus wissenschaftlichem Interesse wurde trotzdem versucht in die Diskriminanzanalyse auch die 3 chinesischen Proben mit einfließen zu lassen. In Abbildung 5 sieht man deutlich eine Trennung zwischen den steirischen, niederösterreichischen und den drei chinesischen Proben.

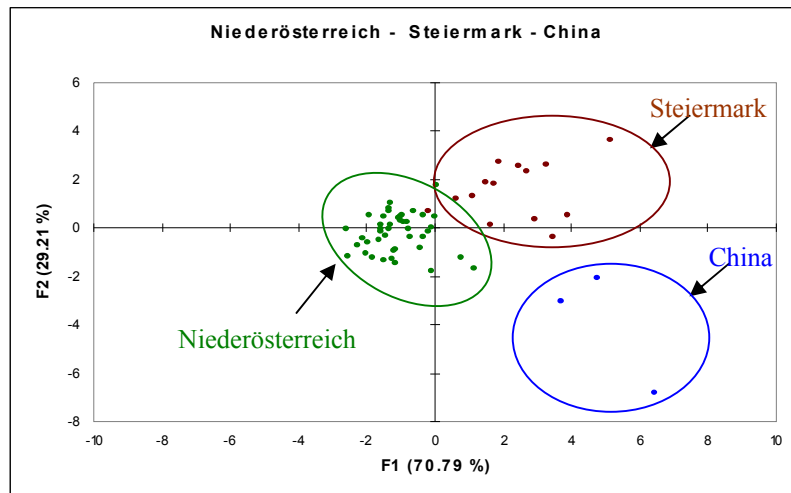


Abb. 5: Klassifizierung der extrahierten Kürbiskernöle unterschiedlicher Herkunft auf Basis der SEE Muster mittels Diskriminanzanalyse.

Aufgrund dieses ersten vielversprechenden Klassifizierungsversuchs sollte eine noch größere Anzahl an Kürbiskernölen mit verschiedener geographischer Herkunft analysiert und auf Basis der SEE Muster klassifiziert werden. In Zukunft sollte ein mathematisches Modell erstellt werden, um die geographischer Herkunft der Kürbiskernöle damit zu identifizieren.

LITERATUR

- BENINCASA, C.; LEWIS, J.; PERRI, E.; SINDONA, G.; TAGARELLI, A.; (2007): Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* 585, 366-370.
- HEIER A. (2006): Nachweis der geographischen Herkunft von Pistazien anhand der Stabilisotopenverhältnisse. Technische Universität Berlin.
- JOEBSTL, D., BANDONIENE, D.; MEISEL T. (2007): Comparison of Different Extraction Techniques for Oils for the Determination of REE in Pumpkin Seed Oil by ICP-MS. Trends in Sample Preparation '07. Seggau Castle (Styria), Austria.
- MARKERT, B. (1993): Instrumentelle Multielementanalyse von Pflanzenproben. VCH, Weinheim; New York; Basel; Cambridge.
- THIEL, G.; GEISLER, G.; BLECHSCHMIDT, I.; DANZER, K.; (2004): Determination of trace element in wines and classification according to their provenance. *Anal Bioanal Chem* 378, 1630-1636.

