

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 49 (1958)

Heft: 1

Artikel: Ueber die durch katalytische Veresterung von Olivenöl-Fettsäuren gewonnenen Oele (Esteröle) und deren Nachweis in Olivenölen

Autor: Massarotti, A. / Regazzoni, P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982522>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 02.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Ueber die durch katalytische Veresterung von Olivenöl-Fettsäuren gewonnenen Oele (Esteröle) und deren Nachweis in Olivenölen

Von *A. Massarotti*

(Aus dem kantonalen Laboratorium Lugano, Vorstand: Ing. *P. Regazzoni*)

Einleitung

Die Rückbildung von Oelen durch Veresterung der entsprechenden Fettsäuren gehört im Ausland seit mehreren Jahren zum Kreise der Operationen, die zur Produktion von Speiseölen führen.

Die Oelindustrie setzte bis vor einem Jahrzehnt die bei der Raffination der pflanzlichen Rohöle als Natronseifen (*Soapstock*) anfallenden Fettsäuren bei der Seifenindustrie ab. Durch die gewaltige Entwicklung der Produktion von künstlichen Netzmitteln und die dadurch bedingte Stockung der eben genannten Absatzmöglichkeit war sie gezwungen, die Rückführung jener Fettsäuren in die Speiseölproduktion durch Veresterung zu entwickeln.

Das Verfahren, welches auf dem Wiederaufbau des Glyceridgebildes durch möglichst weitgehende Veresterung der Fettsäuren mit Glycerin beruht, gestattet ferner eine beträchtliche Herabsetzung der Verluste, die sonst bei der üblichen Entsäuerung der Oele auftreten, indem auch saure Oele direkt verestert werden können.

Soweit es bekannt ist, erfolgt in der Olivenölindustrie die Veresterung hauptsächlich nach zwei Verfahren:

1. *Indirekte Veresterung*. Die Natronseifen werden mit Säure gespalten, die Spaltfettsäuren abgetrennt und mit Glycerin verestert.
2. *Direkte Veresterung* (entsäuernde Veresterung). Die aus Oliventretern durch Extraktion gewonnenen Oele, sowie Pressöle, die einen zu hohen Säuregehalt (mehr als 12 bis 15 % als Oelsäure berechnet) aufweisen, um noch auf rentable Art mit Lauge entsäuert zu werden, werden unmittelbar der Veresterung mit Glycerin unterworfen.

Beide Verfahren wurden vor allem in Italien entwickelt, wo man veresterte Oele in Verschnitten mit den teureren Olivenölsorten in den Verkehr bringt. Nach einer Mitteilung von gut informierter Quelle sollen in Italien ungefähr 35 % des gesamten Glycerinverbrauches zur Herstellung von Esterölen dienen.

In diesem Zusammenhang seien hier die von der italienischen Gesetzgebung festgelegten Qualitätsbezeichnungen für Olivenöle zu Speisezwecken aufgeführt:

1. *Olio d'oliva vergine sopraffino* (feinstes Oliven-Jungfernöl), dh. ein Oel erster Pressung, nicht raffiniert (durch Absetzen geklärt und gewaschen), welches einen Säuregehalt von höchstens 1,2 0/0, als Oelsäure berechnet, aufweisen darf.
2. *Olio d'oliva puro o fino* (reines oder feines Olivenöl), d.h. entweder
 - a) ein Pressöl, nicht raffiniert, mit einem Säuregehalt von höchstens 2,5 0/0 oder
 - b) ein Verschnitt von Jungfernöl mit einem raffinierten Pressöl, der höchstens 2,5 0/0 Oelsäure aufweist.
3. *Olio d'oliva* (Olivenöl ohne nähere Bezeichnung), d.h. entweder
 - a) ein Pressöl, nicht raffiniert, mit höchstens 7 0/0 Oelsäure oder
 - b) ein Verschnitt von reinem Olivenöl mit einem raffinierten Extraktionsöl, der höchstens 7 0/0 Oelsäure aufweisen soll.
4. *Olio d'oliva rettificato A* («Rettificato A»), d.h. ein raffiniertes Pressöl, das aus den sog. Lampantölen gewonnen wird.
5. *Olio d'oliva rettificato B* («Rettificato B»), häufiger als «Olio di sanse» (Oliventresteröl) bezeichnet, d.h. ein raffiniertes Extraktionsöl.

Dementsprechend dürfen Jungfernöle und reine Olivenöle weder Extraktionsöle (eigentliche «Rettificati B») noch Esteröle (die meistens als «Rettificati B esterificati» bezeichnet werden) enthalten.

Arbeitsweise einer Veresterungsanlage

Die Durchführung der Veresterung im grossindustriellen Masstab war erst in jenem Zeitpunkt möglich, als die vielen chemischen und apparativen Probleme gelöst waren, womit sich die Forschungslaboratorien der entsprechenden Industrien gründlich beschäftigt haben.

Am Beispiel einer Veresterungsanlage (Typ Esterol-Gianazza), die wir im Betrieb gesehen haben, sei hier das Herstellungsverfahren in seinen wesentlichen Operationen geschildert.

Die Fettsäuren (Oleine) oder das saure Press- oder Extraktionsöl, das Glycerin und der Katalysator werden in den Veresterungsautoklav gefüllt, der anschliessend bis auf 1—2 mm Hg evakuiert wird. Die Mischung wird nun auf die notwendige Reaktionstemperatur gebracht, die zwischen 220 und 250° C liegt, indem der Autoklav mit überhitztem Wasserdampf (Dampfspannung 20—25 atü) erhitzt wird. Das bei der Reaktion abgespaltene Wasser, sowie das noch nicht verbundene Glycerin werden kondensiert. Letzteres gelangt wieder in die Reaktionsmischung. Nach einer Reaktionsdauer, die je nach der Charge zwischen 6 und 10 Stunden variiert, wird das Oel in einen Vakuumkühlbehälter geleitet, wo es sehr rasch abgekühlt wird. Die Reaktion gilt als beendet, wenn der Säuregrad unter 2—3 0/0 (als Oelsäure berechnet) gesunken ist. Anschlies-

send wird das Rohprodukt destearinisiert, d.h. durch Abkühlen unter 15° C vom Ueberschuss an festen Glyceriden teilweise befreit, dann entfärbt und desodorisiert.

Andere Verfahren arbeiten unter Kohlensäuredruck in Anwesenheit von einem alkalischen Katalysator und bei Temperaturen von 180 bis 200° C. Für die oben geschilderte Arbeitsweise werden meistens Katalysatoren auf Zinnchlorürbasis, ferner Aluminium- oder Zinkchlorid, Zinkoxyd, Magnesiumoxyd, Natriummethylat u.a. verwendet.

Was die Glycerinmenge anbelangt, wird meistens mit einem Verhältnis Glycerin : Fettsäuren = 1 : 6 gearbeitet, oder aber auch mit einem Glycerinüberschuss, der bis 150 % der stöchiometrisch berechneten Menge beträgt. Nur dadurch, dass man während der ganzen Reaktionsdauer einen allzu grossen Glycerinüberschuss vermeidet, kann man aber die Bildung von Mono- und Diglyceriden verhüten, was immerhin eine der grossen Schwierigkeiten der Fettsäureveresterung darstellt. Um das zu erreichen, verestern andere Verfahren die Fettsäuren oder das saure Oel direkt mit Mono- und Diglyceriden anstatt mit Glycerin ¹⁾.

Was die analytischen Merkmale von solchen Esterölen anbelangt, seien hier die Analyseergebnisse einiger Muster von raffinierten veresterten Oelen angegeben, die wir für unsere Modellversuche verwendet haben.

	Esteröle				
	aus rohen Spaltfettsäuren		aus sauren Olivenölen		
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5
Sinnenprüfung	alle Proben weisen die gleiche goldgelbe Farbe auf, sind geruchlos und besitzen einen leicht talgigen Geschmack				
Fluoreszenz (<i>Wood</i>)	hellbläulich bei allen Proben				
Spezifisches Gewicht	0,917	0,917	0,920	0,921	0,916
Refraktionszahl (40° C)	53	54	56	55	55
Säuregrad nach LMB	12,5	10,2	8,3	12,0	8,7
Peroxydzahl (<i>Lea-Sully</i>)	3,5	4,7	5,9	2,5	3,5
Verseifungszahl	197	196	193	192	193
Jodzahl	84	82	86	82	84
Hydroxylzahl	55	68,5	42	37	35,5
1-Monoglyceride	6,4 %	8,0 %	5,3 %	5,0 %	5,1 %
Squalen mg%	68	80	428	530	350
<i>Bellier</i> -Zahl	37°	36°	32°	29°	33°
Reaktion nach <i>Kreis</i>	Spuren	positiv	Spuren	positiv	positiv

Es sind vor allem hervorzuheben: der zu erwartende niedrige Squalengehalt bei den Esterölproben aus den rohen Fettsäuren, der hohe Gehalt an Monoglyceriden und die die Anwesenheit von Erdnussöl vortäuschenden *Bellier*-Zahlen (Bestimmung nach dem Schweiz. Lebensmittelbuch).

Analytik

Aus der Literatur sind Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Esterölen schon bekannt. Hauptsächlich die italienische Fachliteratur der letzten zehn Jahre, die wir besonders studiert haben, enthält meistens Vorschläge zum Nachweis von Extraktionsölen und von veresterten Oelen in Olivenölen. Als erwähnenswert erachten wir vor allem folgende Befunde.

1. Nachweis von Extraktionsölen (und von Erdnussöl) in Olivenöl nach Bellier, Carroci und Buzi²⁾

Um den Zusatz von veresterten Oelen zu den teureren Olivenölsorten aufzudecken, haben sich in Italien die amtlichen Untersuchungsinstanzen vor allem bemüht, ein Verfahren auszuarbeiten, das den Nachweis der Extraktionsöle gestattet, die bei der entsäuernden Veresterung zur Herstellung der Esteröle verwendet werden. Auf Grund von Untersuchungen von Carroci und Buzi in Anlehnung an die Technik von Bellier hat die technische Regierungskommission für Fette und Oele (Commissione Tecnica Governativa Olii e Grassi^{*)}) folgende Arbeitsweise empfohlen.

Prinzip. Abscheidung von typischen Bestandteilen, die in den Extraktionsölen enthalten sind, aus alkoholischer Lösung (sowie Arachinsäure, wenn Erdnussöl vorhanden ist).

Ausführung. 1 g Oel (bei 40° C filtriert) wird in einem 10 ml-Erlenmeyerkolben mit genau 5 ml alkoholischer Kalilauge (8,5 g Kaliumhydroxyd, 14,4 ml Wasser mit 95%igem Aethylalkohol auf 100 ml verdünnt) während 20 Minuten am Rückfluss auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten auf Zimmertemperatur werden 1,5 ml verd. Essigsäure (1 : 2), 4—5 Tropfen Eisessig und 50 ml auf 45° erwärmten 70%igen Alkohols zugesetzt. Man verschliesst mit einem Stopfen, der mit einem Thermometer versehen ist, und kühlt dann im fließenden Wasser ab, wobei man andauernd umschwenkt und das Verhalten der Lösung von 45° abwärts beobachtet. Es können folgende Fälle vorkommen:

- a) die Lösung bleibt klar bis 15,5° = Abwesenheit von Extraktionsöl und von Erdnussöl;
- b) zwischen 40 und 15,5° tritt eine Trübung auf.

Man notiert die entsprechende Temperatur und setzt das Abkühlen bis auf 15,5° fort, dann lässt man 2—3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen (über 18° C). Man beobachtet dann entweder Wolkenbildung bei Anwesenheit von Extraktionsöl oder eine krystalline Auscheidung, die sich allmählich absetzt, bei Anwesenheit von Erdnussöl.

^{*)} Herrn Prof. Dr. Jacini, Mailand, Präsident dieser Kommission, verdanken wir diese Mitteilung.

Nach weiteren 24 Stunden beobachtet man nochmals: entweder sind die Wolken in Suspension geblieben, was die Anwesenheit von Extraktionsöl bestätigt, oder aber es hat sich der krystalline Niederschlag ganz abgesetzt, was als Bestätigung der Anwesenheit von Erdnussöl gilt.

*Isidoro*³⁾ hat beobachtet, dass bei Verwendung von 90%igem Aethylalkohol die Trübung bzw. der Niederschlag ausschliesslich in Anwesenheit von Erdnussöl auftreten, währenddem Extraktionsöle unter solchen Bedingungen keine Trübung ergeben.

Eigene Modellversuche haben die Brauchbarkeit der Methode mit der Ergänzung nach *Isidoro* bestätigt. Am besten geht man so vor, dass man eine mit 70%igem Alkohol positive Reaktion, was unter Umständen die Anwesenheit von Erdnussöl vortäuschen könnte, mit 90%igem Alkohol wiederholt.

Mit der Unterscheidung von Extraktionsölen von Jungfernen- und Pressölen haben sich auch französische Autoren beschäftigt. So hat *Marcille*⁴⁾ die Methodik nach *Bellier* zum Nachweise von Extraktionsölen in Pressölen herangezogen (Methode *Bellier-Marcille*). Andererseits hat *Vizern*⁵⁾ eine Probe vorgeschlagen, die auf dem Prinzip beruht, dass das Unverseifbare von Extraktionsölen im Gegensatz zu demjenigen von Pressölen in 85%igem Alkohol sehr wenig löslich ist.

Die Ausführung der *Vizern-Probe* ist folgende: Das Unverseifbare aus 5 g Oel (Petroläther-Extraktion) wird in 20 ml 85%igen Alkohols durch Erwärmen am Rückflusskühler gelöst, dann auf 25° abgekühlt und bei 20—25° stehen gelassen. Nach einer Stunde wird die Mischung beobachtet: wenn sie klar oder nur schwach opaleszierend, aber ohne Flockenbildung bleibt, ist kein Extraktionsöl vorhanden. Wenn hingegen eine Trübung auftritt, die sich allmählich in Flocken zusammenballt, so ist Extraktionsöl vorhanden. Erdnussöl gibt unter diesen Umständen keine Trübung.

Gracian und *Martel*⁶⁾ haben mitgeteilt, dass gewisse Pressöle mit einem hohen Gehalt an Unverseifbarem eine positive *Vizern*-Reaktion geben. Sie schlagen daher folgende Unterscheidungsmerkmale vor:

- a) Extraktionsöle geben einen Niederschlag, der hauptsächlich aus gesättigten Fettalkoholen (mittleres Mol.Gewicht 366) mit Schmelzpunkt von 70 bis 75° besteht.
- b) Pressöle (wenn sie überhaupt eine Fällung ergeben) liefern einen Niederschlag, der hauptsächlich aus Paraffin-Kohlenwasserstoffen mit einem mittleren Mol.Gewicht von 383 und Schmelzpunkt von 34 bis 48° besteht.

Es sei hier erwähnt, dass *Vizern* (l.c.) die von *Guillot*⁷⁾ festgestellten Beziehungen zwischen Absorption im Ultraviolett (bei 270 m μ) und Gewinnungsart bzw. Olivenölsorte auf die Natur des Unverseifbaren zurückführt.

Auf Grund des oben Gesagten (obwohl wir noch keine gründliche Ueberprüfung der von *Gracian* und *Martel* vorgeschlagenen Auslegung der *Vizern*-Probe vorgenommen haben, was wir aber auf papierchromatographischem Wege

zu tun gedenken), erachten wir es als angezeigt, ein nach der *Bellier*-Probe verdächtiges Oelmuster noch der *Vizern*-Probe zu unterwerfen. Bei Verschnitten der verschiedenen Olivenölsorten mit Esterölen sind natürlich die Verhältnisse entsprechend schwieriger.

2. Farbreaktionen

Besondere Aufmerksamkeit haben die meisten Autoren folgenden Reaktionen geschenkt ⁸⁾:

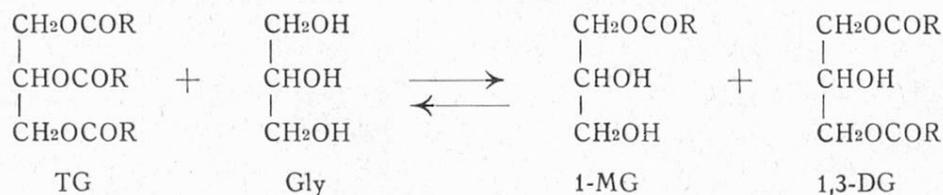
a) *Reaktion nach Kreis*. Bei Esterölen wurde sehr oft eine positive Epihydrinaldehydreaktion festgestellt, meistens aber ohne entsprechenden organoleptischen Befund.

b) *Reaktion nach Storch-Morawski*. Die Prüfung auf Verharzungsprodukte fiel ebenso oft wie die vorherige positiv aus. Je nachdem das ursprüngliche saure Extraktionsöl («Olio di sanse») aus den Oliven-Pressrückständen mit Schwefelkohlenstoff, Trichloräthylen oder Benzin extrahiert wurde, enthalten auch die veresterten Oele entsprechend mehr oder weniger Harze, Wachse und oxydierte Säuren, weil das Lösungsvermögen für diese Stoffe vom Schwefelkohlenstoff bis zum Benzin abnimmt.

c) *Reaktion nach Tortelli und Jaffe*. Viele veresterte «Rettificati B» ergaben eine kräftige Grünfärbung. *Truddiau* ⁹⁾ hat sie bei mehr als 100 Proben von Esterölen festgestellt, und *Bigoni* ¹⁰⁾ glaubt, sie auf das Vorhandensein von Ergosterin oder eines Homologen desselben zurückführen zu können. Andererseits aber ist zu erwähnen, dass viele Esteröle noch einen Zusatz von «Grassetto» erhalten, das ist der flüssige Fettanteil aus Tierschmalz, welches hauptsächlich aus Oelsäureglyceriden besteht und dessen Beschaffenheit derjenigen eines raffinierten Olivenöles ähnlich ist. Nähere Angaben darüber hat *Doro* ¹¹⁾ veröffentlicht.

3. Nachweis von Monoglyceriden

Bei der katalytischen Veresterung der Fettsäuren mit Glycerin, die nur schwer vollständig bis zur Triglyceridstufe verläuft, bilden sich mehr oder weniger bedeutende Mengen von Mono- und Diglyceriden. Andererseits findet auch bei der direkten Veresterung von sauren Olivenölen mit Glycerin die Bildung von 1-Monoglyceriden und von 1,3-Diglyceriden statt:



Laut Literaturangaben, die wir bestätigen konnten, enthalten Jungfernöle, Press- und Extraktionsöle nur kleinere Mengen von Monoglyceriden. Reine

Olivenöle weisen 1-Monoglyceridgehalte von 0,3 bis 0,7 % (als Monoolein berechnet) auf. Bei unseren Bestimmungen wiesen Esteröle 1-MG-Gehalte von 5,0 bis 8,0 % auf.

Mit dem Nachweis der Monoglyceride hat sich besonders *Matarese*¹²⁾ befasst. Er oxydiert das Öl mit Wasserstoffsuperoxyd in Gegenwart von Ferrosulfat, verseift es und weist dann den sich ausschliesslich aus den Monoglyceriden bildenden Glycerinaldehyd und das ebenso entstehende Dioxyaceton nach. Die etwas umständliche Arbeitsweise ist für Serienuntersuchungen wenig brauchbar, sonst ist sie als Vergleichsmethode interessant.

4. Bestimmung der Acetylzahl

Dadurch, dass Esteröle unveresterte Hydroxylgruppen aufweisen, besteht die Möglichkeit, dieselben durch Acetylierung zu erfassen. *Matarese* (l.c.) gibt für Jungfernöle und für raffinierte Olivenöle Acetylzahlen von 4,4 bis 8,0 an. Veresterte Öle wiesen hingegen ganz beträchtlich erhöhte Acetylzahlen auf (von 12 bis mehr als 100). *Truddaiu* (l.c.) fand Acetylzahlen von 13 bis 26.

5. Bestimmung der Oxysäuren

Nach den Angaben von *Truddaiu* (l.c.) enthalten Jungfernöle nur Spuren von Oxysäuren. In raffinierten Pressölen (sogenannten *Rettificati A*) bestimmte er Gehalte von 15 bis 22 mg^{0/0}. Veresterte Öle hingegen wiesen meistens stark erhöhte Werte auf, die zwischen 395 und 864 mg^{0/0} variierten, was auf die Verwendung von sauren Extraktionsölen zurückzuführen war. Von den uns zur Verfügung stehenden Esterölen wiesen nur diejenigen aus sauren Extraktionsölen tatsächlich hohe Gehalte an Oxysäuren auf (740—1020 mg^{0/0}). Die Bestimmung erfolgte nach einer noch in Ausarbeitung befindlichen Methode.

Eigene Untersuchungen

Da diese Arbeit hauptsächlich die Nachweismöglichkeiten von Esterölen in Olivenölen berücksichtigt, haben wir uns darauf beschränkt, solche Untersuchungen vorzunehmen, welche auf der Bestimmung von Verbindungen beruhen, die in Olivenölen in geringer Menge, aber in Esterölen in grösseren Quantitäten vorhanden sind, was vor allem für die Monoglyceride der Fall ist.

Die im Folgenden angegebenen Methoden haben wir anhand von Modellmischungen besonders ausführlich überprüft.

1. Bestimmung der Hydroxylzahl

Die Ausführung geschieht am besten nach der Vorschrift der Veröffentlichung «*Seifen und Waschmittel*»¹³⁾.

Reagens: 25 g Essigsäureanhydrid werden unter Umschwenken in einem 100 ml-Messkolben mit reinem Pyridin auf 100 ml aufgefüllt.

2,0 g Oel werden mit 5 ml Reagens in einem 150 ml-Rundkolben mit eingeschliffenem Steigrohr auf dem siedenden Wasserbad 1 Stunde erhitzt. Nach dem Erkalten setzt man durch das Steigrohr 1 ml destilliertes Wasser zu und schüttelt um. Trübt sich die Lösung bei Zusatz des Wassers, so klärt man sie wieder durch Zugabe von etwas Pyridin. Man erhitzt nochmals 10 Minuten. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur werden Trichter, Kolbenhals und Steigrohr mit 5 ml neutralem Alkohol gespült. Dann wird mit 0,5-n alkoholischer Kalilauge und Phenolphthalein titriert. Gleichzeitig führt man unter denselben Bedingungen einen Blindversuch durch und bestimmt ferner die Säurezahl (SZ) des Oeles.

Berechnung:

$$\text{OHZ} = \frac{28,055 (a-b)}{G} + \text{SZ}$$

a = verbrauchte ml 0,5-n Kalilauge beim Blindversuch

b = verbrauchte ml 0,5-n Kalilauge beim Hauptversuch

G = angewendete Oelmenge

Die OH-Zahl-Bestimmung erfasst nicht nur die Mono- und Diglyceride, sondern auch die Oxysäuren, die in Esterölen oft (in Mengen bis 1 %) enthalten sind.

Eine sorgfältige Durchführung der Vorschrift ist strenge Bedingung, um gut reproduzierbare Resultate zu erhalten. Ferner muss das Oel durch Trocknen über Calciumchlorid bei 40—50° von Wasserspuren befreit werden.

Die Bestimmungen der OH-Zahlen bestätigten die Literaturangaben. Jungfern-, Press- und Extraktionsöle ergaben OH-Zahlen zwischen 3,7 und 9,0. Esteröle hingegen wiesen teilweise beträchtlich erhöhte OH-Zahlen auf: die Werte variierten zwischen 35,5 und 68,5.

Modellversuche mit Verschnitten von reinen Olivenölen mit Esterölen ergaben entsprechend erhöhte OH-Zahlen, was unter Umständen den Nachweis von einem 10- bis 20 %igen Esterölzusatz gestattete.

2. Nachweis und Bestimmung der Monoglyceride

a) Nachweis der Monoglyceride

Wir haben die von *Mangold, Lamp* und *Schlank*¹⁴⁾ für die Trennung der Glyceride entwickelte papierchromatographische Arbeitsmethode angewandt.

Papier. Chromatographiepapier Schleicher & Schuell 2043b G1 wurde in Streifen 12,5×40 cm quer zur Laufrichtung geschnitten. Die Papierstreifen wurden mit Silicon imprägniert, indem man sie zuerst 1 Stunde bei 150° trocknete, dann durch eine 5 %ige Lösung von Silicon 200 Fluid 10 cSt *) in Aether zog und an der Luft trocknen liess.

*) Lieferant: Firma A. Schmid's Erben, Bern.

Die Oelproben wurden in Chloroformlösung aufgetragen (0,1 ml 1%ig), und zwar lag beim aufsteigenden Verfahren die Startlinie in 3 cm Entfernung vom unteren Bogenrand, bei der absteigenden Arbeitsweise hingegen 8 cm tiefer als der obere Streifenrand.

Fliessmittel. Tetrahydrofuran-Wasser-Mischung (60+40 v/v). Damit wurde ferner das Chromatographiegefäß 12 Stunden mit Hilfe eines Sättigungsbogens gesättigt.

Es wurde nun entweder aufsteigend bis zu einer Laufstrecke von 20 cm oder besser absteigend bis zu einer solchen von 25 cm entwickelt, wobei bei letzterer Arbeitsweise eine kürzere Entwicklungszeit und ein besserer Trennungseffekt erzielt wurden.

Sichtbarmachen. Nach dem Trocknen an der Luft wurde das Chromatogramm mit einer 1%igen Lösung von Bleitetraacetat in absolutem Benzol besprüht. Die Monoglyceride erschienen gegen die Mitte des Chromatogramms als weisse Flecken auf braunem Untergrund.

R_f-Werte. Die erwähnten Autoren geben für das aufsteigende Verfahren (Whatman-Papier Nr. 1) bei 20° folgende R_f-Werte an:

<i>Monostearin</i>	0,32	<i>Monomyristin</i>	0,70
<i>Monoolein</i>	0,45	<i>Monolinolenin</i>	0,72
<i>Monopalmitin</i>	0,49	<i>Monolaurin</i>	0,85
<i>Monolinolein</i>	0,65		

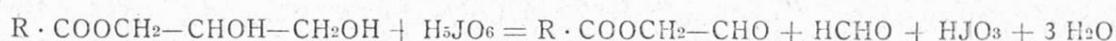
Mit der absteigenden Arbeitsweise (Papier Schleicher & Schuell 2043b G1) erhielten wir für die ersten drei Monoglyceride R_f-Werte, die um 10 % höher waren.

Die geschilderte Methode gestattete uns den Nachweis von Monoglyceriden, wenn ihr Gehalt im zu prüfenden Oel 1 % oder mehr betrug.

b) Bestimmung der 1-Monoglyceride

Für diese Bestimmung kommen hauptsächlich solche Methoden in Betracht, die auf der oxydativen Spaltung der Bindung der C-Atome mit benachbarten OH-Gruppen durch Perjodsäure beruhen. Die Perjodsäuremethode wurde zur Bestimmung der Monoglyceride in die Sammlung der *Deutschen Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten* ¹⁵⁾ aufgenommen. Andere Arbeitsmethoden haben u.a. *Martin* ¹⁶⁾, *Krutty, Segur* und *Miner* ¹⁷⁾ vorgeschlagen; ferner haben *Dowse* und *Saunders* ¹⁸⁾ eine Mikroausführung mit kolorimetrischer Formaldehydbestimmung entwickelt.

Prinzip der Perjodsäuremethode. 1-Monoglyceride setzen sich mit Perjodsäure gemäss folgendem Schema quantitativ um:



2-Monoglyceride hingegen werden erst nach Isomerisierung zu 1-Monoglyceriden erfasst. Darüber hat *Martin* (l.c.) eine Bestimmungsmethode der Gesamt-

monoglyceride mitgeteilt, die aber für unsere Zwecke keine Vorteile bietet, weil die 2-Monoglyceride in Esterölen meistens weniger als 10 % der Gesamtmonoglyceride betragen.

Nachdem wir mit allen erwähnten Methoden Erfahrungen gesammelt hatten, gaben wir folgender Ausführung den Vorzug:

10 g Oel (mit weniger als 3 % 1-Monoglyceride oder entsprechend weniger bei vermutlich höherem Gehalt) werden in einem 100 ml-Schüttelzylinder in 50 ml Chloroform (mit 0,5 % Aethylalkohol stabilisiert, wie es zur Peroxydzahlbestimmung verwendet wird) gelöst. Man setzt 25 ml Wasser hinzu und schüttelt während 1 Minute kräftig um. Nach der Trennung der Schichten (bei Emulsionsbildung werden 2—3 Tropfen Eisessig zugegeben) wird die wässrige Schicht sorgfältig abgehoben. Man wiederholt die Extraktion noch zweimal mit 25 ml und einmal mit 20 ml Wasser. Die Chloroformlösung füllt man dann mit dem gleichen Lösungsmittel zur 100 ml-Marke auf. Man entfernt den obenauf befindlichen Wasserrest, mischt gut durch und filtriert. Von dieser Lösung gibt man 50 ml (Hauptversuch), ferner das gleiche Volumen Chloroform (Blindversuch) zu 50 ml Perjodsäure-Reagens (5,4 g $\text{HJO}_4 \cdot 2 \text{ aq}$ werden in 100 ml Wasser gelöst und mit Eisessig zu einem Liter verdünnt), welche sich in 500 ml-Erlenmeyerkolben befinden. Man schüttet jede Probe kräftig um und lässt unter gelegentlichem Schütteln 30 Minuten stehen.

Die Proben werden sodann mit 20 ml 10 %iger Kaliumjodidlösung versetzt und nach dem Umrühren 1 Minute stehen gelassen. Nach dem Zusatz von 100 ml Wasser titriert man mit 0,1-n Natriumthiosulfatlösung, wobei man gegen den Schluss Stärkeindikator zugibt. Der Ueberschuss an Perjodsäure muss mindestens 20 % betragen, sonst wiederholt man die Oxydation mit weniger Ausgangslösung.

$$\text{Berechnung: } 1\text{-Monoglyceride } \% = \frac{(B-S) \cdot N \cdot 17,72}{P} \\ \text{(als Monoolein berechnet)}$$

- B = Verbrauch in ml Thiosulfatlösung beim Blindversuch
S = Verbrauch in ml Thiosulfatlösung beim Hauptversuch
N = Normalität der Thiosulfatlösung
17,72 = Mol.Gew. des Monooleins/20
P = Oelmenge im aliquoten Teil

Wie bereits erwähnt, haben wir mit der eben geschilderten Methode in reinen Olivenölen (d.h. Jungfern-, Press- und Extraktionsölen) 1-Monoglyceridgehalte von 0,3 bis 0,7 %, in Esterölen hingegen Werte von 5,0 bis 8,0 % bestimmt. Der Zusatz von Esterölen zu Olivenölen ergab entsprechend erhöhte Werte.

3. Bestimmung des Anilinpunktes

Diese Bestimmung, die sonst hauptsächlich bei der Analyse von Mineralölen Bedeutung erlangt hat, ergab bei der Anwendung auf veresterte Oele interes-

sante, wenn auch nicht endgültige Resultate. Diese Bestimmung erfolgte nach der Vorschrift der entsprechenden Norm der Schweiz. Normenvereinigung der Technik SVNT 81.000 (Januar 1942).

Ausführung. 5 ml Oel (wenn es geringe Anteile Wasser gelöst oder als Emulsion enthält, muss es über Calciumchlorid bei 50° getrocknet werden) werden in ein Reagensglas von 18 mm Weite und 150 mm Länge gegeben, das sich in einem gleich langen Reagensglas von 20 mm Durchmesser befindet und mit einem Thermometer (Messbereich 0—30°, 1/5°-Teilung) versehen ist. Der Verschlusskork, der das Thermometer trägt, weist eine Rille auf, durch die ein Metallrührer ins Gefäss hineinragt.

Dem Oel gibt man 5 ml Anilin (mit Aetzkali getrocknet und destilliert) hinzu und mischt gut durch. Ist die Mischung trübe, so klärt man sie durch gelindes Erwärmen, jedenfalls kühlt man darauf in fliessendem Wasser unter ständigem Rühren, wobei man genau beobachtet, um den Augenblick und die entsprechende Temperatur genau feststellen zu können, wo die Mischung wieder trübe wird. Die Trübungstemperatur stellt den Anilinpunkt des Oeles dar. Zur Kontrolle wird die Mischung wiederholt aufgewärmt und abgekühlt, wobei zum Aufwärmen meistens die Handwärme ausreicht.

Reine Olivenöle (d.h. Jungfern- und raffinierte Press- und Extraktionsöle) ergaben bei dieser Bestimmung Anilinpunkte, die meistens oberhalb 17 lagen, Esteröle hingegen wiesen Werte von 11 bis 14,2 auf. Verschnitte von reinen Olivenölen mit Esterölen ergaben entsprechend erniedrigte Anilinpunkte, wobei eine lineare Proportionalität zwischen AP-Werten und Prozentsatz festgestellt wurde.

5. Nachweis von Katalysatoren

Die bei der katalytischen Veresterung der Fettsäuren mit Glycerin am meisten verwendeten Katalysatoren sind Zinnchlorür und Zinkoxyd, weniger häufig Zink- und Aluminiumchlorid (meistens in Mischung mit Zinnchlorür). Spuren von diesen Elementen gelangen in die Esteröle und dadurch in die Verschnitte mit reinen Olivenölen. Der Nachweis von solchen Metallspuren ist auch mit Hilfe der Papierchromatographie möglich.

Papierchromatographischer Nachweis von Zinn, Aluminium und Zink. 10 g Oel werden mit 5 ml 25%iger Salzsäure (auf Sn- Al- und Zn-Freiheit zu prüfen) 30 Minuten am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Abkühlen wird die Säureschicht getrennt und durch einen feuchten Filter in eine Quarzschale filtriert und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Man raucht nacheinander mit einigen ml Salpetersäure, dann mit 70%iger Perchlorsäure ab, nimmt mit 5 ml 10%iger Salzsäure auf, zentrifugiert, dampft wieder ein und löst schliesslich in 0,1 ml 10%iger Salzsäure auf. Diese Lösung wird nach und nach auf das Papier aufgetragen.

Papier. Schleicher & Schuell 2043b, in Streifen 5×25 cm geschnitten, die unten nach der Technik von *Matthias* zungenartig verlaufen, oder auch nach der Rundfiltertechnik von *Potterat*¹⁹⁾. Aufsteigendes Verfahren.

Fliessmittel. Butanol mit 3-n Salzsäure gesättigt (Volumenverhältnis 3 : 2). Mit der wässrigen Phase wird der Chromatographieraum gesättigt. Gleichzeitig lässt man Mengen von 10 bis 20 mcg Sn(II), Al und Zn mitlaufen.

Sichtbarmachen. Nachdem eine Laufstrecke von 20 bis 22 cm beim Streifen oder von 12 cm bei der Rundfiltermethode zurückgelegt ist, lässt man das Papier zuerst an der Luft vortrocknen und trocknet endgültig mit warmer Luft (Föhn). Der Streifen wird nun der Länge nach in zwei gleiche Hälften geschnitten, bzw. aus dem Rundfilter werden Sektoren herausgeschnitten und halbiert. Die eine Hälftenserie dient zum Nachweis von Zinn und Aluminium, die andere zum Nachweis von Zinn und Zink.

Nachweis von Zinn und Aluminium: Man besprüht mit 2-n Salpetersäure, trocknet bei 60°, besprüht mit einer 0,2%igen alkoholischen Lösung von Quercetin, trocknet wieder bei 60° und behandelt bei Ammoniakdämpfen. Zinn und Aluminium erscheinen dabei als gelbgrüne Flecken mit R_f -Werten von 0,75 bis 0,77 für Zinn und 0,15 bis 0,17 für Aluminium. Zink erscheint erst im UV-Licht als graugrüner Fleck bei R_f 0,85 bis 0,87 (weniger empfindlich).

Nachweis von Zink und Zinn: Man besprüht mit einer 0,05%igen Lösung von Dithizon in Tetrachlorkohlenstoff. Zinn und Zink ergeben rosafarbige Flecke.

Nach der geschilderten Technik wurden in den untersuchten Proben von Jungfern- und Pressölen keine Spuren von Zinn oder Aluminium vorgefunden, während einige Proben deutlich nachweisbare Zinkspuren aufwiesen. Alle Proben von Esterölen hingegen enthielten Zinnspuren, allein oder mit Zink zusammen. Aluminium wurde nur in einer Probe Esteröl neben grösseren Zinnspuren nachgewiesen. 20%ige Verschnitte von reinen Olivenölen mit Spuren von Katalysatoren aufweisenden Esterölen liessen noch Zinnspuren deutlich erkennen.

Schlussbetrachtungen

Auf Grund des deutlich höheren Gehaltes an unveresterten freien Hydroxylgruppen, welchen Esteröle reinen Olivenölen gegenüber aufweisen, ist dem Analytiker die Möglichkeit gegeben, durch Bestimmung der Hydroxylzahl und der 1-Monoglyceride den Nachweis von Esterölen in Olivenölen zu erbringen. Da reine Olivenöle nach allen bisherigen Untersuchungen ausschliesslich Hydroxylzahlen unter 10 aufweisen und andererseits ihr Gehalt an 1-Monoglyceriden weniger als 1% beträgt, sind Olivenöle mit OH-Zahlen höher als 10 und mit 1-MG-Gehalten höher als 1% als des Verschnittes mit Esterölen verdächtig zu betrachten.

Einen weiteren wichtigen Anhaltspunkt für die Beurteilung liefert die *Bellier*-Probe auf Erdnussöl nach dem Lebensmittelbuch, wobei die Anwesenheit von Esterölen (aber auch von raffinierten Extraktionsölen) durch das Auftreten einer Trübung erkannt wird, die hingegen bei der Ausführung der Probe mit 90%igem Alkohol (in Abwesenheit von Erdnussöl) ausbleibt.

Da in den Produktionsländern der Zusatz von veresterten Olivenölen zu den reinen Olivenölsorten nicht gestattet ist, dürfen eingeführte Olivenöle, die als «Huile d'olive vierge, Olio d'oliva vergine, Olio d'oliva purissimo» (Jungfernöl, reinstes Olivenöl) oder als «Huile d'olive pur, Olio d'oliva puro» (reines Olivenöl) bezeichnet sind, weder erhöhte OH-Zahlen noch erhöhte 1-Monoglyceridgehalte aufweisen und ferner keine positive *Bellier*-Probe mit 70%igem oder 90%igem Alkohol ergeben.

Als Ergänzung zur Beurteilung von verdächtigen Oelen können ferner folgende Bestimmungen herangezogen werden:

- a) Bestimmung der oxydierten Fettsäuren (am besten nach der Vorschrift der Veröffentlichung «Seifen und Waschmittel»²⁰⁾, wobei in Anwesenheit von Esterölen aus Extraktionsölen Werte von mehr als 0,1 % auftreten können;
- b) Bestimmung des Anilinpunktes, wobei AP-Werte unter 17 als nicht normal anzusehen wären;
- c) Nachweis von Katalysatorensuren, die von der Verwendung von Sn- Al- oder Zn-Katalysatoren bei der Veresterung herrühren könnten.

Es ist ferner der *Kreis*-Reaktion und ihrer Bedeutung erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen, weil Esteröle und ihre Mischungen mit Olivenölen eine noch näher zu untersuchende Neigung zum Talgigwerden aufzuweisen scheinen. Das gleiche gilt für die Peroxybildung und die Oxydationsbereitschaft.

Zusammenfassung

Zur Prüfung von Olivenölen auf veresterte Oele (Esteröle) werden, nach Ueberprüfung der diesbezüglichen Literaturangaben und auf Grund eigener Untersuchungen, folgende Bestimmungen empfohlen:

1. Bestimmung der Hydroxylzahl, die nicht höher als 10 sein soll.
2. Bestimmung des Gehaltes an 1-Monoglyceriden, der nicht mehr als 1 % betragen soll.
Es werden ferner empfohlen:
3. Verhalten bei der Prüfung auf Erdnussöl nach *Bellier*, die bei Anwesenheit von Esterölen aus sauren Extraktionsölen mit 70%igem Alkohol positiv, aber mit 90%igem Alkohol negativ ausfällt.
4. Bestimmung des Anilinpunktes, wobei AP-Werte unter 17 als nicht normal zu bewerten sind.
5. Bestimmung der oxydierten Fettsäuren, die bei Anwesenheit von Esterölen aus Extraktionsölen meistens mehr als 0,1 % betragen.
6. Nachweis von Spuren von Katalysatoren (Zinn, Zink, Aluminium).

Riassunto

Sulla scorta delle ricerche effettuate, si raccomandano per la ricerca di un'aggiunta di olii rettificati B esterificati agli olii d'oliva puri i seguenti accertamenti analitici:

1. Determinazione dell'indice d'idrossile, che non deve superare 10 negli olii d'oliva puri.
2. Dosaggio degli 1-Monogliceridi, che non devono superare l' 1 %.
Si consigliano inoltre:
3. Comportamento alla prova di *Bellier* (in Italia *Bellier-Carroci-Buzi*), la quale in presenza di esterificati (assente olio di arachidi) risulta positiva operando con alcool a 70 %, negativa invece con alcool a 90 %.
4. Determinazione del punto d'anilina, il quale per gli olii d'oliva puri non risulterebbe inferiore a 17.
5. Dosaggio degli ossiacidi, che aumentano oltre lo 0,1 % in presenza di rettificati B esterificati.
6. Ricerca di tracce di catalizzatori usati per l'esterificazione (stagno in particolare).

Résumé

On propose de déceler une adjonction d'huile estérifiée à l'huile d'olive pure par les méthodes suivantes:

1. Détermination de l'indice d'hydroxyle, qui atteint des valeurs supérieures à 10 en présence d'huile estérifiée.
2. Dosage des 1-monoglycérides, qui dépassent 1 % (calculés comme monooléine) en présence d'huile estérifiée.
On conseille en outre de faire les essais suivants:
3. Recherche de l'huile d'arachide selon *Bellier* (en France *Bellier, Marcille-Dorta*) car en présence d'huiles estérifiées provenant d'huiles extraites par solvants, l'essai donne une réaction positive avec l'alcool à 70 %, tandis que la réaction est négative avec l'alcool à 90 %.
4. Détermination du point d'aniline, qui pour les huiles d'olive est dans la règle supérieur à 17.
5. Dosage des acides gras oxydés, qui dépassent le 0,1 % en présence d'huiles extraites par solvants et ayant servi à l'estérification.
6. Recherche de traces de catalyseurs, d'étain en particulier.

Literatur

- 1) *R. Lüde*, Die Raffination von Fetten und fetten Oelen, Verlag Steinkopf, Dresden und Leipzig, S. 106 (1957).
- 2) Olii, Grassi, Colori (Mailand), Juniheft 1957, S. 297.
- 3) *R. Isidoro*, Boll. Lab. Chim. Prov. **1**, 18 (1950).
- 4) *Marcille*, Ann. Fals. Fraud. **1929**, 163.
- 5) *Uizern*, Ann. Fals. Fraud. **1953**, 31.
- 6) *Gracian und Martel*, Grasas y Aceites **8**, 3 (1957). Ref. Olii, Grassi, Colori **1957**, 306.
- 7) *Guillot*, Ann. Fals. Fraud. **1935**, 69.
- 8) *Ciusa*, Boll. Lab. Chim. Prov. **1951**, 105.
- 9) *Truddainu*, Boll. Lab. Chim. Prov. **1954**, 58.

- 10) *Bigoni*, *Olearia* **11**, 16 (1957).
- 11) *Doro*, *Boll. Lab. Chim. Prov.* **1953**, 67.
- 12) *Matarese*, *Ann. Chim. Appl.* **41**, 264 (1951).
- 13) *Seifen und Waschmittel*, Verlag H. Huber, Bern, S. 37 (1955).
- 14) *Mangold, Lamp* und *Schlenk*, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 6070 (1955).
- 15) *Deutsche Einheitsmethoden zur Fettuntersuchung*, Abteilung Fette VI 5 (53), Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, Stuttgart 1950.
- 16) *J. B. Martin*, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 5483 (1953).
- 17) *Krutty, Segur* und *Miner*, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* **31**, 466 (1954).
- 18) *Dowse* und *Saunders*, *Biochem. J.* **62**, 457 (1956).
- 19) *M. Potterat*, *diese Mitt.* **47**, 66 (1956).
- 20) *Seifen und Waschmittel*, S. 28 (1955).

Technische Verbesserung der zweidimensionalen Papierchromatographie

Von *U. Uetsch* und *H. Lüthi*

(Eig. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil)

Im Verlaufe der letzten Jahre sind zahlreiche technische Verbesserungen der Papierchromatographie bekannt geworden. Die meisten von ihnen betreffen das eindimensionale Verfahren.

Wir möchten hier auf eine Verbesserung des zweidimensionalen Verfahrens hinweisen, wie sie im Laufe unserer Arbeiten über die Bestimmung der Aminosäuren in verschiedenen Fruchtsäften und Weinen ergeben hat.

In vielen Fällen ziehen wir das zweidimensionale Verfahren der eindimensionalen Trennung deshalb vor, weil wir damit einen *Gesamtüberblick* erhalten können. Auf diese Weise ist auch ein quantitatives Abschätzen und Vergleichen der einzelnen Aminosäuren im Rahmen des Ganzen wesentlich besser möglich.

Normalerweise benützen wir das eindimensionale Trennungsverfahren auf gepufferten Papieren nach *Mc.Farren*¹⁾, doch erlaubt dieses keinen Ueberblick. Ferner führt die Entwicklung in verschiedenen Laufmitteln erfahrungsgemäss bei gleichen Ausgangskonzentrationen des Substanzgemisches zu sehr unterschiedlichen Farbintensitäten der Flecke in den einzelnen Läufen. Sie können daher nicht zu Vergleichen herbeigezogen werden.

Das zweidimensionale Verfahren weist jedoch auch gewisse Nachteile auf. So können sich Unreinheiten des Lösungsmittels aus dem ersten Lauf im zweiten störend bemerkbar machen. Vor allem wäre es wünschenswert, Testsubstanzen in genügender Menge mitlaufen zu lassen, um bereits nach dem ersten Lauf über das zu erwartende Resultat möglichst weiten Aufschluss zu erhalten. Damit