

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 82 (1991)

Heft: 1

Artikel: Neue Entwicklungen in der Fettanalytik = New perspectives in oil and fat analysis

Autor: Dieffenbacher, A.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982407>

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>

A. Dieffenbacher, Nestec SA, Vevey

Neue Entwicklungen in der Fettanalytik

New Perspectives in Oil and Fat Analysis

Einleitung

Vorträge und Publikationen, die einen Überblick über die Fortschritte, sei es auf allgemein wissenschaftlichem oder analytischem Gebiet, geben, werden gerne gehört oder gelesen, weil sie eine Übersicht über die Fortschritte in einem Sachgebiet geben.

Die Entwicklung zum Beispiel auf dem Gebiet der Fettanalytik führt aber nicht nur zu neuen Arbeitsweisen, sondern neue Methoden führen auch zu neuen Erkenntnissen und so auch zu neuen Anschauungen, wie Prof. A. Seher in seinem Vortrag deutlich erwähnt (1). Auch die Publikation von *Andrew T. H. Leong* ist in diesem Sinne als Übersicht über neue Analysentechniken in der Lebensmittel- und Ölindustrie aufzufassen (2). Dass diese beiden Vorträge fast gleichzeitig an zwei entgegengesetzten Orten in der Welt gehalten worden sind, deutet auf ein Bedürfnis an Information über die Fortschritte in der Fettanalytik hin, dem der hier vorliegende Artikel zu genügen versucht.

Es liegt in der Natur des gewählten facettenreichen Themas, dass eine Auswahl der zu behandelnden Gesichtspunkte getroffen werden muss.

Als Ausgangspunkt diene der Vortrag von H. Hadorn «Neue Methoden in der Fettanalyse», anlässlich des Fortbildungskurses «Fette als funktionelle Bestandteile in Lebensmitteln», der 1973 publiziert worden ist (3). Ein weiterer Bezugspunkt sei das LMB-Kapitel 7 Speiseöle und -fette, Ausgabe 1969, zurzeit in Revision. Somit sollen alle nach 1973 publizierten Analysemethoden als «neue Methoden» angesehen werden.

Unter der Fettanalytik wird im allgemeinen die Untersuchung von Speiseölen und -fetten verstanden. Hinzugezählt wird aber auch die Untersuchung von Margarine, Butter, Mayonnaise und Salatsaucen, d. h. Lebensmittel, die sich direkt von Fetten und Ölen herleiten. Ausserdem befasst sich die Fettanalytik mit der qualitativen und quantitativen Bestimmung der Fettbegleitstoffe, deren wichtigste Gruppen sind:

- Emulgatoren
z. B. partielle Glyceride
- Antioxidantien
(phenolische Antioxidantien)
- Sterole und Terpene
z. B. Cholesterol
- Phosphatide
(Lecithine)
- Kontaminantien
(Mykotoxine, Pestizide und Schwermetalle).

Beim Nachweis und bei der Bestimmung der Fettbegleitstoffe muss jedoch besonders beachtet werden, ob es sich um:

- die Bestimmung in Ölen und Fetten oder
- die Bestimmung dieser Begleitstoffe in Lebensmitteln oder
- die Bestimmung bzw. Charakterisierung z. B. als Handelsprodukte handelt.

In allen diesen Fällen müssen entsprechende Probenvorbereitungen und Analyseverfahren gewählt werden. Ausserdem tritt erschwerend hinzu, dass viele der erwähnten Begleitstoffe natürlichen Ursprungs sind, aber auch zugesetzt werden. Als Beispiel diene die Bestimmung der Phosphatide:

- als natürliche Begleitstoffe in Speiseölen (Lezithin)
- als Zusatzstoff in Lebensmitteln (Lezithin in Schokolade)
- oder in der Untersuchung von Lezithinen als Handelsprodukte.

Das Gebiet der Fettanalytik wäre aber nur unvollständig abgegrenzt, wenn nicht auch beachtet wird, wo Fettanalysen bei der Herstellung von Lebensmitteln bis zu deren Verzehr benötigt werden. Abbildung 1 stellt die verschiedenen Etappen dar, welche Speisefette und Speiseöle von ihrer Gewinnung her über ihre Verwendung in Lebensmitteln bis zum Konsum in Fertigprodukten durchlaufen.

Fettstoffe stellen Endprodukte der Ölmühlen und Speiseölraffinerien dar, während sie für den Verbraucher Ausgangsmaterialien sind. In Ölmühlen und in der Fettraffination braucht man Untersuchungsmethoden zur Prozesskontrolle und

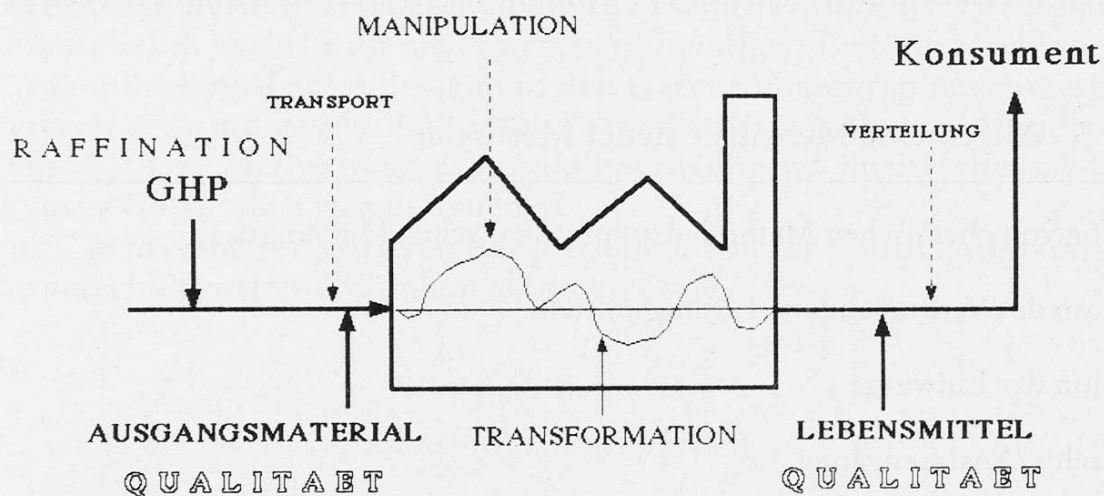


Abb. 1. Bereiche der Qualitätssicherung bei der Herstellung von Lebensmitteln, in denen Fettanalysen benötigt werden

zur Charakterisierung der Qualität von rohen oder raffinierten Ölen und Fetten. Der Verwender von Fettstoffen ist vor allem an Methoden zur Beschreibung der Qualität von Speiseölen und -fetten interessiert, welche den vorgesehenen industriellen Einsatz gewährleisten und die Qualität der hergestellten Lebensmittel sichern sollen. Ausserdem ist der Verwender von Fettstoffen interessiert an Methoden zur Überwachung möglicher Qualitätsänderungen im Verlaufe spezifischer Verwendungszwecke, z. B. im Fritierprozess. Am Ende der Produktionskette steht der Konsument und mit ihm die Lebensmittelkontrolle. Diese setzen Methoden zur Untersuchung der Fettphase in Lebensmitteln ein, wobei ein wesentlicher Analysenschritt die Fettextraktion darstellt. Unerlässlich zur Beurteilung von Lebensmitteln sind die Methoden zur Charakterisierung des Frischegrades und der Haltbarkeit von Lebensmitteln über die Untersuchung der Fettphase.

Es liegt auf der Hand, dass je nach dem Aufgabenbereich eines Laboratoriums, das sich mit Fettanalysen befassen muss, sei es z. B. ein Fabriklabor in einer Ölraffinerie, ein Fabriklabor einer Schokoladefabrik oder ein Labor der Lebensmittelkontrolle, dessen Aktivität unterschiedliche Schwerpunkte aufweist. In allen erwähnten Aufgabenbereichen der Fettanalyse werden aber neue Methoden eingesetzt, deren Gemeinsamkeiten im folgenden erwähnt werden sollen.

Neue Methoden

Ein hervorstechendes Merkmal neuer Analysenmethoden ist, dass sie sich vermehrt auf physikalische Eigenschaften der zu untersuchenden Materie stützen (Tabelle 1). Der beim Übergang auf physikalische Methoden oftmals auftretende Verlust an Präzision der Resultate wird durch den Gewinn an Schnelligkeit in der Durchführung der Analyse kompensiert. Ausserdem erlauben physikalische Messverfahren vielfach Absolutmessungen, während die Resultate chemischer Verfahren stark methodenabhängig sind. Chemische Methoden verlangen ein Verständnis der Arbeit im Labor. Selbst bei der routinemässigen Ausführung wird ein gewisses

Tabelle 1. Allgemeine Merkmale neuer Methoden

Übergang von chemischen Methoden zu physikalischen Messungen

Reduktion des Verbrauches an Lösungsmitteln

Reduktion der Einwaage

Vereinfachte Analysengänge

Verbreiteter Einsatz chromatographischer Methoden

Fingerspitzengefühl und eine gewisse Konzentration benötigt, da geringste Abweichungen in der Ausführung oftmals die Resultate unerkannt beeinflussen. Beispiele neuer Messverfahren basierend auf physikalischen Eigenschaften sind die Bestimmung des Fettgehaltes mittels NIR (Near Infrared Reflectance) oder Kernresonanz.

Neue Verfahren benötigen geringere Mengen an Lösungsmitteln oder überhaupt keine ein – in der heutigen Zeit des Umweltbewusstseins – nicht zu vernachlässigender Gesichtspunkt. Ein besonders augenfälliges Beispiel ist die kolorimetrische Bestimmung des Ascorbylpalmitates in Speiseölen und -fetten nach der Lebensmittelbuchmethode 44 C /08. Zum Erstellen einer Eichkurve mit der Blindprobe müssen 10 x 50 g Fett eingesetzt werden. Die Einwaage zur eigentlichen Messung benötigt ebenfalls 50 g. Ausserdem, was heute nachdenklich stimmt, ist der Gebrauch des Lösungsmittelgemisches Chloroform-Eisessig. Die neue Methode zur Bestimmung des Ascorbylpalmitates in Lebensmitteln basiert auf der Extraktion einer Probenmenge von 2 g und 10 ml Methanol (4).

Neue Methoden benötigen weniger Probenmaterial. Waren früher Fett- oder Ölmuster von mindestens 1 kg üblich, so verlangen heutige Untersuchungen Fettmuster von nur 50 oder 100 g, wobei zur Analyse Probenmengen von 2–5 g eingesetzt werden. Einige Untersuchungsverfahren verlangen gar Mengen von nur einigen mg dergestalt, dass man sich überlegen muss, ob, ohne eine entsprechende Mustervorbehandlung, die zu untersuchende Probe für das Muster überhaupt repräsentativ sei.

Moderne Verfahren sind einfacher in der Ausführung. Zum Beispiel zeigt ein Schema aus dem Jahre 1969 die verschiedenen Arbeitsschritte zur Ermittlung der Fettsäurezusammensetzung von Fetten in symbolischen Zeichnungen. Es diente zur Veranschaulichung der oft abstrakten Laborvorschriften. Jede Zeichnung bedeutet eine Manipulation mit einem manchmal erklecklichen Zeitaufwand. Zur Ermittlung der Fettsäurezusammensetzung waren 11 Arbeitsschritte nötig. Heute besteht der Arbeitsvorgang aus vier Schritten. Zur Ermittlung der Fettsäurezusammensetzung werden Fettstoffe in einem geschlossenen Gefäss transmethyliert und die gebildeten Methylester gleichzeitig in die anwesende Hexanphase übergeführt. Es treten somit keine Verluste an niederkettigen flüchtigen Fettsäuremethylestern auf. Die Hexanphase wird anschliessend in den Gaschromatographen eingespritzt und die Fettsäurezusammensetzung mittels Gaschromatographie auf Kapillarsäulen ermittelt (5). Die Methode erlaubt, alle Speiseöle und Speisefette mit einer Säurezahl von weniger als 2 zu untersuchen.

Neue Analysenverfahren basieren hauptsächlich auf der Chromatographie. Es werden die verschiedensten Techniken eingesetzt wie

Säulenchromatographie

Auf Minikolonnen (6), Trockenkolonnenextraktion (7), z. B. Bond Elut, Sepak, Chromabond usw.

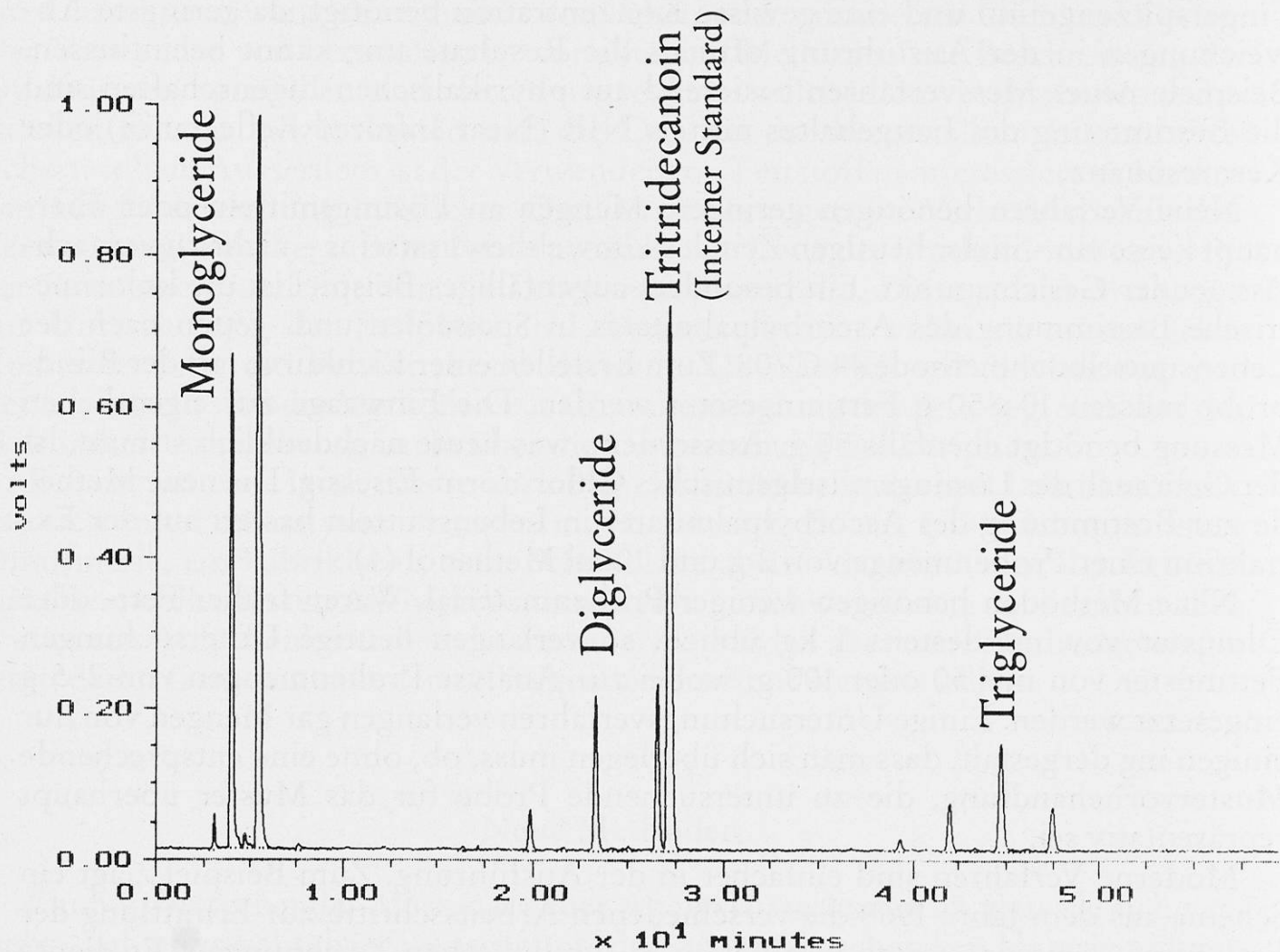


Abb. 2. Bestimmung partieller Glyzeride in einem Monodi-Handelsprodukt mittels HPLC und Lichtstreuungsdetektor

HPLC-Bedingungen:

Säule : LiChrosphor RP-18

Gradientelution : Acetonitril - Acetonitril/Ethanol/Hexan - Chloroform

Detektor : Lichtstreuungsdetektor

Weitere Angaben in: A. Dieffenbacher und P. A. Golay, Bestimmung partieller Glyzeride durch HPLC und Lichtstreuungsdetektor (in Vorbereitung)

Dünnschichtchromatographie

Als Beispiel sei erwähnt die Identifizierung und Charakterisierung von Emulgatoren auf der DC mittels selektiven Sprühreagenzien (8) und anschließende densitometrische Bestimmung (4).

Gaschromatographie

Dabei ist zu bemerken, dass die gepackten Säulen allmählich durch Kapillarsäulen ersetzt werden. Der Vorteil einer höheren Auflösung auf der Kapillarsäule ist

offensichtlich und wird vielfach angewendet (9). Der Übergang zur Kapillarsäulengaschromatographie wird erleichtert durch die ansehnliche Anzahl von Anbietern guter Säulen. Sie bieten aber nicht nur ihre Produkte an, sondern in ihren Verkaufskatalogen zeigen sie auch die verschiedensten Anwendungen, um dem Käufer die Wahl zu erleichtern. Auch internationale Organisationen beginnen, Analysemethoden basierend auf Kapillarsäulenchromatographie zu standardisieren (5).

Flüssig-flüssig Chromatographie

Diese Technik wird mehr und mehr eingesetzt in der Fettanalytik. Als Beispiele dienen die Bestimmung der Tocopherole in Fettstoffen (10) und der Antioxidantien in Lebensmitteln (11).

Andere Arbeitstechniken ebenso auf der Chromatographie basierend haben K. Grob und Mitarbeiter in ihren an dieser Tagung bereits gehaltenen Vorträgen vorgestellt.

Die weite Verbreitung der chromatographischen Techniken wäre aber nicht möglich ohne die Fortschritte in der instrumentellen Analytik. Diese basieren aber hauptsächlich auf den Fortschritten in der Elektronik. Besonders zu beachten ist die Entwicklung von Integratoren für die Gaschromatographie. Anno 1973 kostete ein Schreiber für den Gaschromatographen ungefähr gleichviel wie heute ein einfacher elektronischer Integrator mit Ausdruck. Unter Einbezug der seitherigen Teuerung sind heutzutage Systeme zur Auswertung von Rohdaten ungefähr gleich teuer wie damals ein Schreiber. Heute gehört zur Standardausrüstung eines analytischen Gerätes das Gerät (z. B. GC oder HPLC) mit individueller Datenstation bestehend aus Personal Computer mit Datenauswertung auf dem Bildschirm. Als eine weitere Konsequenz moderner Elektronik sind heute verbesserte und billigere Detektorsysteme auf dem Markt wie UV(diode array)- und Fluoreszenz-Detektoren.

Als wesentliche Neuerungen sind jedoch zu betrachten:

- Refraktionsindexdetektoren und
- Lichtstreuungsdetektoren.

Diese beiden Detektorsysteme erweitern den Einsatzbereich der HPLC in der Lipidanalytik ausserordentlich, in dem auch Triglyceride und partielle Glyceride einer einfachen HPLC-Analytik zugänglich werden. Bisher haben sich diese Substanzklassen infolge Abwesenheit UV-aktiver chromophorer Gruppen einer HPLC-Detektion ohne Derivatisierung entzogen. Als Beispiele dienen die Triglyceridprofile zweier Tierfette. Da die erwähnte HPLC-Methode allerdings erst seit kurzem im Einsatz ist, fehlen entsprechende Untersuchungen über die Variation der Triglyceride von Speiseölen und -fetten. Trotzdem hat die IUPAC-Kommission für Öle und Fette entsprechende HPLC-Methoden bereits mit Ringtests standardisiert (12). Als weiteres Beispiel diene die HPLC-Detektion mit Lichtstreuungsdetektor eines Monodi-Handelsproduktes, wobei die eingesetzte HPLC-Methode erlaubt die einzelnen Klassen partieller Glyceride sicher aufzutrennen (Abb. 2).

Ein sehr wesentlicher Fortschritt in der instrumentellen Analytik ist die Automatisierung. Neue Methoden der Fettanalytik lassen sich aufgrund der verbesserten analytischen Instrumente automatisieren. Eine heutige Arbeitsstation besteht deshalb aus:

- Automatischer Probeeingabe
- Analytischem Gerät
- Personal Computer, welcher auch das Gerät programmiert
- Auswertung der Daten mittels PC und Bildschirm
- Schreiber

Eine solche Arbeitsstation erlaubt einen fast durchgehenden Tag- und Nachtbetrieb ohne ständige Überwachung.

Sie eignet sich auch für kleine Analysenserien, da sie nicht nur den Arbeitsaufwand infolge geringerer Überwachung reduziert, sondern die heutigen automatischen Probeneingabe erhöhen die Wiederholbarkeit der Analysen, weil sie viel reproduzierbarer arbeiten.

Anwendungen in der Praxis

Neue Methoden werden in allen Bereichen der Fettanalytik eingesetzt (siehe Abb. 1). Sie werden zur Prozesskontrolle in der Öl- und Fettraffination ebenso angewendet wie in der Fett- und Ölverarbeitung. Auch in der Untersuchung der Fettphasen von Lebensmitteln gelangen heute Methoden zum Einsatz, die erst in den letzten Jahren entwickelt worden sind.

Da das Labor für Lipide des Autors auf dem Gebiete der Qualitätssicherung bei der Fabrikation von Lebensmitteln tätig ist, werden besonders die Aspekte der Öle und Fette, als Ausgangsmaterialien zur Herstellung von Lebensmitteln, näher behandelt, wobei ein weiterer Arbeitsbereich die Untersuchung von Lebensmitteln ist. Es ist deshalb naheliegend, dass auch dieser Bereich eingehender besprochen wird.

Um veranschaulichen zu können, wo neue Methoden in der Qualitätskontrolle für Öle und Fette eingesetzt werden, sei auf die verschiedenen Gruppen von Qualitätskriterien zur Beurteilung von Speiseölen und -fetten hingewiesen.

Jede Gruppe (siehe Tabelle 2) von Qualitätskriterien gibt Antwort auf eine Frage.

So beantworten die Kriterien der Gruppe Identität die Frage, ob der Fettstoff der Warenbezeichnung entspricht, d. h. handelt es sich z. B. bei Maiskeimöl um Maiskeimöl und nicht um ein anderes Pflanzenöl. Eine zusätzliche Frage ist dann, ob das Maiskeimöl denn auch rein und unvermischt sei. Bezüglich des Frischegrades oder auch der Qualität im engeren Sinne sucht man eine Antwort durch die chemische Untersuchung auf die Frage, ob das bemusterte Fett oder Öl frisch sei und die verlangte Stabilität gegenüber Oxidation aufweise. In bezug auf technologische Kriterien möchte man wissen, ob sich das fragliche Fett oder Öl für den vorgesehenen Anwendungszweck eigne. Besonders will man auch wissen, ob es in der vorgesehenen Produktionslinie eingesetzt werden könne. Bei Additiven will

Tabelle 2. Klassen von Qualitätskriterien

Identität
Frischegrad
technologische Kriterien
Additive
Verunreinigungen

man die Antwort auf die Frage, ob die verlangten Additive in der gewünschten Menge zugesetzt worden sind und ob nichterlaubte Additive abwesend sind. Ähnliches gilt für Verunreinigungen, wo man sich vergewissern will, dass sie abwesend oder nur innerhalb der gesetzlichen Grenzwerte vorhanden sind. Übrige Begleitstoffe, sofern keine gesetzlichen Normen existieren, sollten nur in Mengen vorhanden sein, die «Guter Hersteller-Praxis» entsprechen.

Zur Überprüfung der *Identität* von Fettstoffen stützt man sich allgemein auf Jodzahl, Verseifungszahl, Refraktionsindex und auf die Fettsäurezusammensetzung. Die Methode der Wahl heutzutage ist jedoch die Ermittlung der Fettsäurezusammensetzung mittels Gaschromatographie auf Kapillarsäulen. Die empfohlene Methode der Herstellung der Fettsäuremethylester lässt sich auf alle raffinierten Speisefette und -öle anwenden (5). Noch nebenbei erwähnt, lassen sich IZ (Iodzahl) und VZ (Verseifungszahl) dank der hohen Auflösung der Kapillarsäule leicht aus dem GC errechnen. Bei vegetabilen Ölen und Fetten kann ausserdem das Tocopherolmuster mittels HPLC zur Identifizierung herbeigezogen werden (10) oder in speziellen Fällen auch die Sterolzusammensetzung (4). Auch das Profil der Triglyceride eignet sich zur Identifizierung und Charakterisierung. Allerdings stehen eigentlich Datenbanken für diese Kriterien noch nicht zur Verfügung.

Zur Bestimmung des *Frischgrades* gibt es nach wie vor keine besseren allgemein anwendbaren Kriterien als die klassische Titrationsmethode zur Ermittlung der Peroxidzahl und die Säurezahl bzw. der Gehalt an freien Fettsäuren. Titrierautomaten erleichtern die Durchführung der Analysen. Aber zur Beurteilung des Frischegrades benötigt man immer noch die klassischen Methoden. Zur Bestimmung der Stabilität steht jetzt allerdings mit dem Ranzimat eine automatisierte Version des Swift-Tests zur Verfügung (13).

Bei *technologischen Kriterien*, die sich besonders auf thermische Eigenschaften wie Schmelz- und Kristallisationsverhalten beziehen, sind zwar kaum neue Methoden bekanntgeworden. Jedoch erleichtern moderne analytische Instrumente die Ermittlung der benötigten Daten.

Zu erwähnen sind:

- Die verbesserte Version des puls-NMR-Gerätes von Bruker zur Ermittlung des Festfettgehaltes von Fetten bei verschiedenen Temperaturen. Die neue Version erlaubt unter anderem auch die Ermittlung des Fettgehaltes von Lebensmitteln, ohne den Probenkopf ändern zu müssen (14).
- Schmelzpunktgeräte, z. B. nach Mettler, zur Bestimmung der empirischen Schmelzpunkte von Fettstoffen (4).
- Die neuen Instrumente für kalorimetrische Verfahren, welche erlauben, auf bequeme Art das Kristallisations- und Schmelzverhalten von Fetten zu ermitteln (15, 16).

Bei *Additiven* wie Antioxidantien, Emulgatoren und Lecithinen sind in den letzten Jahren neue Methoden entwickelt worden, die das Gebiet der Bestimmung von Additiven in Lebensmitteln erst eigentlich zur Qualitätskontrolle zugänglich machen (17). Sie basieren auf DC und Densitometrie, GC nach Silylierung, HPLC mit UV- oder Lichtstreuungsdetektoren.

Bei der Bestimmung von *Kontaminantien* gelangen ausschliesslich neue Methoden zum Einsatz, welche überhaupt erst erlauben, den gesetzlichen Vorschriften zu genügen. Die Bestimmung von Pestiziden erfolgt mittels Kapillarsäulengaschromatographie und Elektroneneinfang-Dektoren, wobei die Ermittlung von Gehalten von mg/Tonne zur täglichen Routine gehört (18). Die Bestimmung von Schwermetallspuren geschieht heute fast ausschliesslich mittels Atomabsorption (19). Auch hier ist die routinemässige Bestimmung von Gehalten von mg/Tonne durchaus üblich. In ähnliche Bereiche in der Empfindlichkeit ist man vorgestossen in der Bestimmung von Aflatoxinen. Dort setzt man wie in den übrigen erwähnten Bestimmungen von Kontaminantien in grossem Masse neue Methoden der Probenvorbereitung basierend auf Trockenkolonnen-Extraktion ein (20). Da das Labor des Vortragenden in diesen Bereichen kaum tätig ist, werden diese Aspekte nur gestreift.

Bei der Untersuchung von Lebensmitteln ist besonders auf die Extraktion der zu bestimmenden Komponente zu achten. Einerseits sind die zur Beurteilung eines Lebensmittels hinzugezogenen Fettbegleitstoffe und Abbauprodukte, z. B. Peroxide, instabil, andererseits liegen Lipide im Lebensmittel in gebundener und freier Form vor (siehe Abb. 3). Um eine totale Ausbeute an Lipiden zu erhalten, müssen die Lipid-Komplexe (Fett-Stärke und Fett-Eiweiss) durch eine chemische Vorbehandlung zerstört werden. Dies kann geschehen durch einen alkalischen Aufschluss (Methoden nach Röse-Gottlieb) oder durch einen sauren Aufschluss (Methoden basierend auf Weibull-Stoldt). Dabei werden polare Lipide, wie veresterte partielle Glyceride, z. B. Lebensmittelemulgatoren oder Phosphatide, teilweise zerstört. Da diese aber nur in geringen Mengen vorkommen, werden die Verluste an polaren Lipiden durch die freigesetzten Lipide überkompensiert. International standardisierte Extraktionsverfahren sind deshalb immer auf maximale Lipidausbeuten optimiert.

Zur Untersuchung der Fettphase eignen sich aber internationale Standardverfahren nicht. Aus diesem Grunde haben wir die Extraktion auf Trockenkolonnen nach Maxwell studiert, wobei die gesamten Lipide mit Dichlormethan-Me-

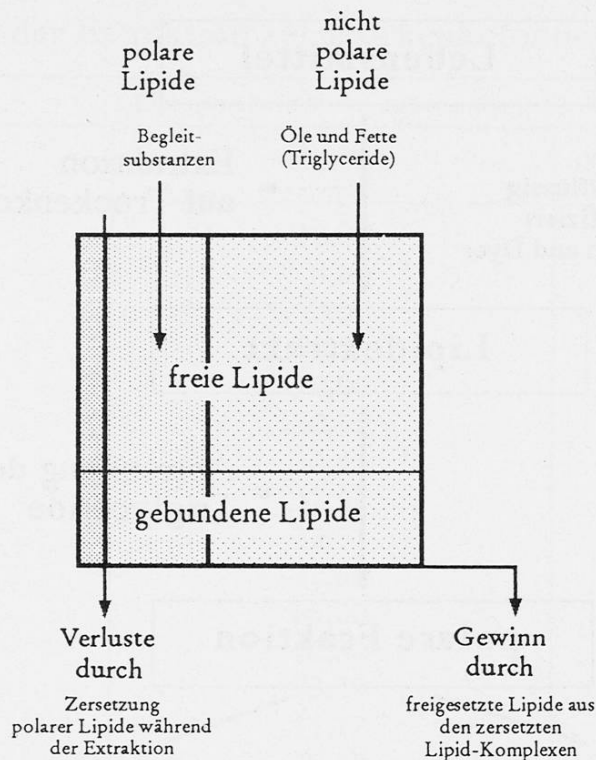


Abb. 3. Faktoren, welche die Extrahierbarkeit von Fettstoffen aus Lebensmitteln beeinflussen

thanol extrahiert werden (21). Es wird dabei in Kauf genommen, dass die Extraktion unter Umständen unvollständig ist. Wichtig als Arbeitshypothese war nur, dass das Verhältnis polarer zu unpolaren Lipide nicht verändert wird und im Extrakt repräsentativ für das Lebensmittel bleibt. Der Einsatz einer Trockenkolonne, wie sie beschrieben worden ist (21), erlaubt auch die Analyse von Lebensmitteln, die stabile heterogene Systeme darstellen oder äusserst wirkungsvolle Emulgatoren enthalten, wie z. B. Polyoxyethylenderivate. Diese bilden oftmals bei der Flüssigflüssig-Extraktion unerwünscht stabile, kaum zu trennende Emulsionen.

Die Resultate sind ermutigend. Im Mittel erhalten wir höhere Ausbeuten an Lipiden als nach Mojonier (basischer Aufschluss) und vergleichbare Ausbeuten nach Weibull-Stoldt (saurer Aufschluss) (siehe Tabelle 3).

Allerdings muss beachtet werden, dass neben Lipiden noch andere Lebensmittelkomponenten mitextrahiert werden können. Es genügt die einfache Fettextraktion auf Trockenkolonnen nicht, wie die Extraktion der Fette aus Fertigmehlmassen (Trockenteige) zeigt (Tabelle 4). Es werden unter Umständen erheblich höhere Extraktmengen erhalten, deren Lipidgehalt jedoch deutlich tiefer liegt. Erst die Summe der polaren und nicht polaren Lipide lässt sich mit dem Extrakt nach Weibull-Stoldt (W.-S.) vergleichen.

Für die Untersuchung von Lebensmitteln auf Emulgatoren ergibt sich deshalb folgendes Analysenschema (siehe Abb. 4). Die Extraktion auf Trockenkolonne muss gefolgt werden von einer Abtrennung der polaren Lipide vom meist vorhandenen Überschuss an unpolaren Lipiden. Erst dann kann der fragliche in der

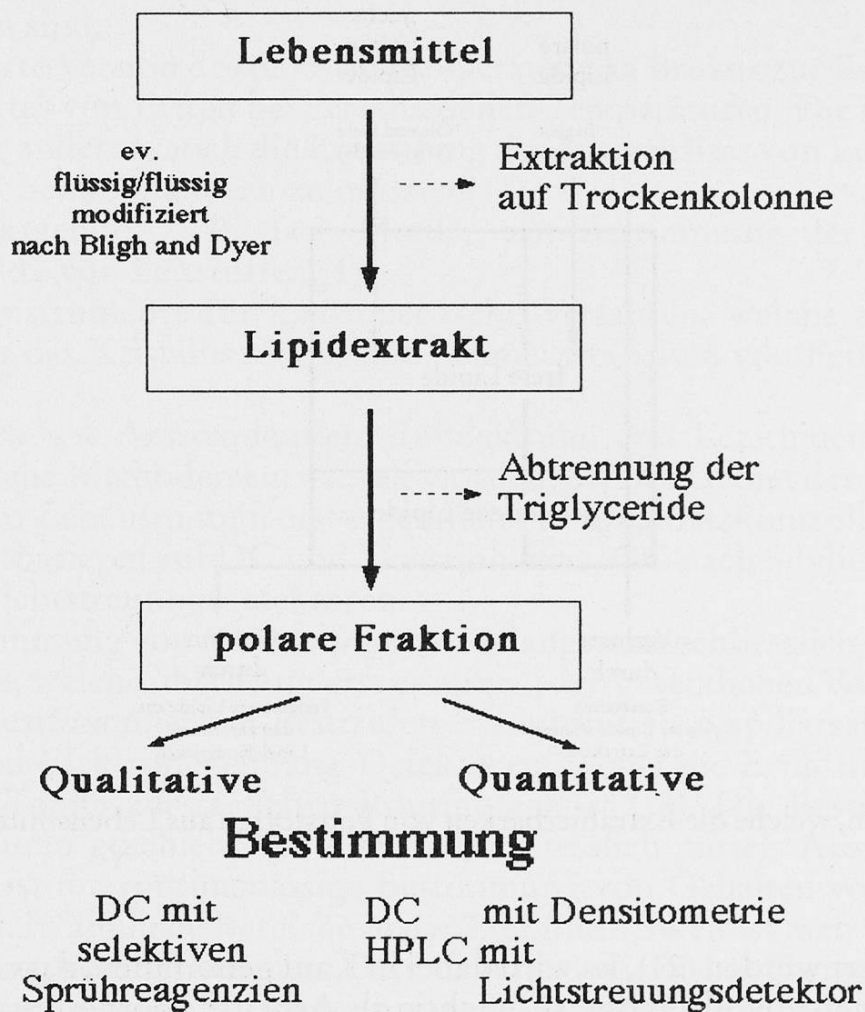


Abb. 4. Schema zur Emulgatoranalyse

polaren Fraktion angereicherte Emulgator durch die einschlägigen qualitativen und quantitativen Methoden analysiert werden. Es ist das Verdienst der Subkommission 23: Emulgatoren, in dieser Hinsicht wegweisend gewirkt zu haben (17).

Neue Methoden und neue Anschauungen

Interpretation der Resultate

Früher wurde vielfach eine hohe Präzision im Resultat mit Richtigkeit gleichgesetzt. Heutzutage ist uns allen bewusst, dass das Resultat unserer Untersuchungen methodenabhängig ist. Man legt jetzt viel mehr Wert auf die Wiederholbarkeit (r) und die Vergleichbarkeit (R) der Resultate. Diese Werte können aber nur durch Ringtests unter einer grösseren Anzahl von Laboratorien ermittelt werden (22). Eine moderne internationale Standardmethode sollte deshalb immer einen Abschnitt über die Wiederholbarkeit und die Vergleichbarkeit enthalten, welche aus

Tabelle 3. Vergleich der Extraktion auf Trockenkolonne mit Weibull-Stoldt

Lipidextrakt in % des Lebensmittels		
Lebensmittel	Maxwell	Standardmethode (Weibull-Stoldt)
Fettkreme	48,87	48,81
Tip-top standard	8,64	6,48
Tip-top thick	9,09	6,56
schwarze Schokolade	30,80	30,50
weisse Schokolade 1	30,90	35,15 ^{a)}
weisse Schokolade 2	32,52	32,92
weisse Schokolade 3	32,48	32,46
weisse Schokolade 4	32,67	32,67
weisse Schokolade 5	32,51	29,81
Milchschokolade	32,60	39,50 ^{a)}
Kakaomasse	65,00	63,40
löslicher Kakao	22,30	25,00
Mayonnaise	73,29	73,36
Kuchenmischung	11,17	9,17
Milchpulver 1	25,60	25,15
Milchpulver 2	27,32	26,56
Kuvertüre 1	39,90	40,00
Kuvertüre 2	43,10	42,80
Kreme masse 1	15,48	15,51
Kreme masse 2	17,85	15,75

^{a)} Ausreisser

Der Unterschied zwischen der Extraktion mit Trockenkolonne und der Standardmethode (Weibull-Stoldt) ist nicht signifikant (paarweiser Vergleich).

Tabelle 4. Extraktion der Lipide aus Trockenteige als Beispiel eines stärkehaltigen Lebensmittels

Muster	W.-S. in % des Produktes	Extraktion auf Trocken- kolonne in % des Produktes	Summe der polaren und nicht polaren Anteile	
			in % des Extraktes	in % von W.-S.
1	3,92	4,62	85	100
2	4,10	7,37	57	102
3	4,14	5,00	80	97
4	4,13	5,17	82	103
5	3,82	5,89	68	105

Ringversuchen errechnet worden sind. Es wird auch immer üblicher in der Bewertung neuer Methoden, deren Ergebnisse mit Standardmethoden zu vergleichen und Korrelationsrechnungen und Signifikanztests einzusetzen, was durch moderne Tischrechner wesentlich erleichtert wird. Trotzdem sollten Statistik-Programme nicht mechanisch, ohne entsprechende Kenntnisse der Grundlagen der Statistik, eingesetzt werden, um falsche Schlussfolgerungen zu vermeiden (23).

Emulgatoranalytik

Mit Hilfe der neuen Methoden der Emulgatoranalytik findet man in vielen Fettstoffen oftmals erhebliche Anteile an partiellen Glyceriden, die sich bei der Hydrolyse, sei es in der Ölsaart bei der Lagerung und Transport, sei es durch unsachgemäße Behandlung des Rohöles, gebildet haben.

Monoglyceride werden bei der Raffination entfernt, während Diglyceride zurückbleiben. Es gilt die Faustregel, dass der Gehalt an Diglyceriden im raffinierten Fettstoff ungefähr dem Gehalt an freien Fettsäuren vor der Raffination entspricht. Die Gehalte an Diglyceriden können z. B. in Spezialölen (Maiskeimöl) oder in tropischen Pflanzenfetten oftmals mehr als 10% betragen und bestimmen so wesentlich die Verarbeitungseigenschaften dieser Öle und Fette.

Der Nachweis eines Zusatzes von Mono- und Monodiglyceriden in einem Lebensmittel lässt sich nur über die Untersuchung der Monoglyceride erbringen. Es ist dann sogar möglich, auf Grund der Fettsäurezusammensetzung der Monoglyceridfraktion, den Typ des eingesetzten Präparates anzugeben (24).

Definition der Fette

Die neuen Methoden der Fettanalytik erlauben nun eindeutig, den Gehalt an Triglyceriden von Lebensmitteln zu bestimmen. Es ist deshalb vorgeschlagen worden, Fettstoffe als bestehend aus Triglyceriden oder korrekterweise aus Triacylglycerolen zu definieren. Der Vorschlag wurde gemacht, um in gewissen kalorienarmen Lebensmitteln mit einem erheblichen Anteil an Emulgatoren den Fettgehalt besser festzulegen.

Man muss sich aber überlegen, ob dieser Vorschlag gerechtfertigt ist.

Denn natürliche Fettstoffe mit oftmals erheblichen Mengen an partiellen Glyceriden wären demnach nicht mehr als Fette oder Öle anzusehen. Andererseits wird im Butteröl der Fettgehalt als diejenige Menge definiert, welche nach Abzug des Gesamtflüchtigen (inkl. Wasser) und fettunlöslichen Anteiles noch übrigbleibt. Diese Definition lässt sich heute nicht mehr aufrechterhalten. Wir wissen nämlich aufgrund der Anwendung neuer Methoden, dass das so definierte Butterfett weit höhere Anteile an Cholesterol, freien Fettsäuren und/oder partiellen Glyceriden enthält als Gesamtflüchtiges oder fettunlösliche Bestandteile (25).

Fettextraktion

Die Fettextraktion ist ein Thema, das in der Fettanalytik immer und immer wieder zur Sprache kommt. Obwohl international standardisierte Fettbestimmungsmethoden auf maximale Extraktausbeute optimiert sind, wird ihre Eignung immer wieder in Frage gestellt.

Neue Methoden der Fettextraktion wie die:

- Extraktion mit Trockenkolonne modifiziert nach Maxwell
- Extraktion flüssig-flüssig modifiziert nach Bligh and Dyer
- Enzymatischer Aufschluss von Stärke-Lipidkomplexen

ersetzen nicht die klassischen Standardmethoden zur Fettgehaltsbestimmung. Diese Methoden eignen sich nur zur weiteren Untersuchung der Fettphase, da sie einige der wenigen Extraktionsmethoden darstellen, welche Lipide ohne Strukturänderung zufriedenstellend zu extrahieren vermögen.

Eine unkritische Anwendung kann zu Fehlschlüssen führen, wie die Tabelle 5 zeigt. Augenfällig der in der Tabelle 5 aufgeführten Werte ist die durchwegs oftmals erstaunliche Ausbeute an Fettextrakt (vgl. z. B. pain blanc et noir). Berechnet man jedoch als Ausbeute die Summe der polaren und nicht polaren Anteile, so gelangt man zu wesentlich tieferen aber doch noch höheren Extraktausbeuten im Vergleich zu Weibull-Stoldt.

Eine orientierende Untersuchung der polaren Fraktion ergibt Hinweise auf das Vorliegen von Zuckerestern. Sie könnten natürlichen Ursprungs, aber auch Artefakte sein. Letztere könnten sich beim enzymatischen Abbau gebildet haben. Berücksichtigt man bei der Berechnung der Ausbeuten nur die unpolare Fraktion, so liegen sie im Bereich von 88–95%. Es ist für uns offen, ob Zuckerester beim sauren Aufschluss nach Weibull-Stoldt gespalten werden, so dass der Extrakt nur Fette, Fettsäuren sowie partielle Glyceride aufweisen würde. Diese Vermutungen müssten aber durch weitere Untersuchungen noch weiter erhärtet werden. Die hohe Ausbeute an Triglyceriden des enzymatischen Aufschlusses verstehen wir als weiterer Hinweis auf eine erschöpfende Extraktion von Triglyceriden.

Schlussfolgerungen

Leider ist zu bemerken, dass, obwohl die neuen vorgestellten Methoden es erlauben, viele Fragen der Fettanalytik zu lösen, noch manche Probleme ungelöst sind.

Ein solches Problem ist die genaue Ermittlung von Zusatzstoffen, von denen gewisse Komponenten natürlich vorkommen. Zur Lösung dieses Problems müssen die hier aufgezählten Methoden noch verfeinert und mehr Erfahrung mit diesen neuen Techniken gesammelt werden.

Ein anderes Problem, an dem vor allem Ernährungsphysiologen interessiert sind, ist die Ermittlung des totalen trans-Fettsäuregehaltes. Die heute bekannten Kapillarsäulen verschiedenster Polarität erlauben eine totale Bestimmung der trans-

Tabelle 5. Extraktion der Lipide aus stärkehaltigen Lebensmitteln
Vergleich der enzymatischen Extraktionsmethode mit Weibull-Stoldt
(W.-S.) als Standardmethode

Lebensmittel	W.-S. in % des Lebensmittels	Enzymatische Bestimmung			
		in % W.-S.	Lipidanteil ^{*)} in % W.-S.	unpolare Lipide	
				in % Extrakt	in % W.-S.
Eimalzin	6,54	125	125	77	96
Biscuits	10,80	112	110	86	97
Zwiebacks	12,51	110	105	83	91
Pain noir	1,57	216	180	63	137
Pain blanc	1,35	217			
Crepitas	3,59	131	125	81	106
Estrellitas	2,92	148	135	72	106
Chocapic	3,30	136	135	67	92
Coco pops	2,18	136	135	65	88
Bouillie	10,42	115	115	86	99
Cornettes	2,54	154	130	60	93
Tagliatelles	3,05	162	160	62	101

^{*)} Summe der polaren und nicht polaren Anteile

Fettsäuren nicht. Trans-monounsättigte Fettsäuren sind einerseits überlagert von cis-monounsättigten Isomeren und andererseits, je nach Polarität der Säule, sind trans-trans, cis-trans oder trans-cis ungesättigte Fettsäuren mehr oder weniger gut aufgelöst. Die IUPAC-Studien 1986–1989 der Anwendung der GC auf Kapillarsäulen bestätigen die schon früher gesammelten Erkenntnisse (26, 27). Trotzdem wird gewiss eine Lösung des Problems gefunden werden.

Mit mehr Erfahrung mit den neuen Methoden werden sicher viele offene Fragen beantwortet werden können. Es werden sich aber auch wieder neue stellen.

Die Fettanalytik ist wie ein Baum, auf dem viele Zweige wachsen, die dann absterben, wenn kein Licht mehr auf sie fällt und dann aber wieder durch neue ersetzt werden. Auf das Thema des Vortrages angewendet heisst dies, dass sich neue Techniken schnell verbreiten, dann aber in Vergessenheit geraten, weil sie durch bessere Techniken ersetzt werden.

Es ist natürlich, dass die hier gegebene Übersicht unvollständig ist. Das Verfahren von Dr. K. Grob ist bereits vorgestellt worden. Zu erwähnen wäre auch die GC im überkritischen Bereich, ausserdem auch neue Entwicklungen in der DC, die sich für Lipide eignen könnten, sowie die vielen enzymatischen Bestimmungsmethoden u. a. m.

Die Entwicklung der Fettanalytik, insbesondere im Bereich der Untersuchung der Fettphasen in Lebensmitteln, geht weiter, und wir sind überzeugt, dass dann-zumal, wiederum in ca. 15 Jahren, erneut ein Vortrag gehalten werden kann mit dem gleichen Titel «Neue Entwicklungen in der Fettanalytik».

Zusammenfassung

Neue Verfahren in der Fettanalytik im Sinne dieses Vortrages werden in allen Bereichen eingesetzt, wo Fette analysiert werden müssen. Sie basieren hauptsächlich auf chromatographischen Techniken, wie Säulen-, Dünnschicht-, Flüssig-flüssig- und Gas-flüssig-Chromatographie. Sie weisen durchwegs weniger Analysenschritte auf und verlangen auch geringere Probenmengen. Neue Verfahren in der instrumentellen Analytik basieren auf moderner Elektronik, z. B. die Bestimmung von Emulgatoren mittels HPLC und Lichtstreuungsdetektor. Moderne Analysemethoden erlauben auch eine eingehende Beurteilung der Fette als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Lebensmitteln und führen zu neuen Erkenntnissen, wie die Anwendung der Statistik zu Beurteilung von Analysenergebnissen zeigt. Sie erlauben auch eine weitergehende Untersuchung der Fettphase auf Begleitstoffe, was nach einer neuen Definition der Fette als Triglyceride ruft.

Résumé

Des méthodes nouvelles dans le sens de cet exposé sont appliquées dans tous les domaines de l'analyse des lipides. Elles se basent sur diverses techniques chromatographiques, soit sur colonne, sur couche mince, par chromatographie liquide/liquide à haute pression ou en phase gazeuse. Elles nécessitent en général moins d'étapes et demandent beaucoup moins de prise d'essai que les méthodes conventionnelles. Les techniques analytiques nouvelles font recours au progrès de l'instrumentation analytique qui se basent sur l'application de l'électronique moderne démontré, par exemple, pour le dosage partiel des glycerides par HPLC et détecteur de diffraction de lumières. Des méthodes nouvelles permettent d'analyser en détail la qualité des corps gras comme matière première pour la fabrication industrielle des produits alimentaires. Elles influencent aussi l'interprétation des résultats ainsi que le montre l'application de la statistique dans la chimie analytique des corps gras. En plus, elles permettent d'analyser la composition de la phase grasse en détail, ce qui nécessite une nouvelle définition de la phase grasse dans les denrées alimentaires.

Summary

New methods in the analysis of lipids in terms of this presentation are applied in all fields of fat analysis. They are mainly based on chromatographic techniques as column, thin layer, high pressure liquid/liquid and gas/liquid chromatography. They require less working steps than conventional methods and a lesser sample size. However, new analytical methods use analytical instruments developed by application of modern electronics as e. g. HPLC detection of partial glycerides in foods with light scattering detector. Modern analytical techniques allow to characterise quality of oil and fats as starting material for food production. But new methods give also new views on fat chemistry and technology as the application of statistics for the interpretation of analytical results shows. Finally, modern analytical techniques permit a detailed analysis of lipids extracted from foods in a way that fats and oils should be redefined in terms of triglycerides.

Literatur

1. *Seher, A.*: Lipidanalyse im Wandel von Technik und Anschauung. *Fat. Sci. Technol.* **22**, 6–14 (1990).
2. *Leong Andrew, T. H.*: The analytical chemistry of edible oils and fats. An industrial perspective. Chemistry International Food Forum Proceedings, 10th Australian Symposium on Analytical Chemistry 29–31 August 1989.
3. *Hadorn, H.*: Neuere Methoden der Fettanalyse. LWT-Edition 2, Hrsg. J. Solms, S. 81–115. Forster Verlag, Zürich 1973.
4. *Dieffenbacher, A.*: Private Mitteilung.
5. Standard methods of the IUPAC commission on oils, fats and derivatives, 7th ed., method 2.301 and first supplement method 2.308 (1991).
6. *Dieffenbacher, A. et Martin, E.*: Le dosage des émulsifiants dans les denrées alimentaires. II. Séparation des lipides polaires et des lipides apolaires par chromatographie sur minicolonnes de gel de silice. *Rev. Franç. des corps gras* **34**, 323–326 (1987).
7. *Kaluzny, M. A., Duncan, L. A., Merritt, M. V. and Epps, D. E.*: Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns. *J. Lipid Res.* **26**, 135–140 (1985).
8. *Martin, E.*: Chromatographie sur couche mince des émulsifiants. *Trav. chim. aliment. hyg.* **72**, 402–410 (1981).
9. *Beare-Rogers, J. und Dieffenbacher, A.*: Determination of n-3 and n-6 unsaturated fatty acids in vegetable oils and fats by capillary gas liquid chromatography: Results of a collaborative study and the standardised methods. *Pure Appl. Chem.* **62**, 785–802 (1990).
10. *Pocklington, W. D. and Dieffenbacher, A.*: Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography. *Pure Appl. Chem.* **60**, 877–892 (1988).
11. *Dieffenbacher, A., Trisconi, M. J. et Durieux, B.*: Dosage rapide des antioxydants phénoliques par HPLC. *Trav. chim. aliment. hyg.* **80**, 204–214 (1989).
12. *Wolff, J. P., Mordret, F. and Dieffenbacher, A.*: Determination of triglycerides in liquid oils in terms of partition number. Publikation in Vorbereitung in *Pure and Applied Chemistry*.
13. *Dieffenbacher, A.*: Optimale Stabilität der Öle und Fette. *ZWS* **42**, 120–126 (1989).
14. *Dieffenbacher, A.*: Magnetische Kernresonanzspektroskopie in der Lebensmittelanalytik. *ZWS* **42**, 178–185 (1989).
15. *Baenitz, W.*: Beitrag zur Physik der Fette – Über ein neues verbessertes Messverfahren zur Erfassung und Bewertung der Erstarrungseigenschaften von Fetten. *Fett-Seifen-Anstrichmittel* **86**, 158–159 (1984).
16. Laboratoires Wolff. Application de l'analyse thermique différentielle à l'étude du beurre et de la crème fraîche. Mise au point du protocole opératoire. ARILAT – décembre 1985.
17. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Subkommission 23: Emulgatoren (Zusammensetzung 1. 1. 89) Prof. Dr. H. Streuli, Drs. H. Brüscheiler, H. W. Buser, U. P. Buxtorf, R. Dick, A. Dieffenbacher, J. Lucas, E. Martin, H. Sulzer.
18. Standard methods of the IUPAC commission on oils, fats and derivatives, 7th ed. (1987), Method 2.641.
19. *Hendrikse, P., Slikkerveer, F. J., Zaalberg, J. and Hautfenne, A.*: Determination of copper, iron and nickel in oils and fats by direct graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Pure Appl. Chem.* **60**, 893–900 (1988).
20. *Pittet, A.*: Private Mitteilung.

21. *Dieffenbacher, A., Durieux, B. et Jordan, C.*: Le dosage des émulsifiants dans les denrées alimentaires. L'extraction rapide des lipides. *Rev. Franç. des Corps Gras* **35**, 495–500 (1988).
22. Iso-Norm 5725–86.
23. *Thompson, M.*: Abuse of statistics software packages, analytical proceedings **27**, 142–144 (1990).
24. *Dieffenbacher, A. and Trisconi, M. J.*: The analysis of emulsifiers in foods. Proceedings of the Session Lectures and Scientific Presentations on the ISF-JOCS World Congress 1988, Vol II, 898–904 (1989).
25. Schweiz. Lebensmittelbuch: Kapitel 6 und IDF-Standard 24-1964.
26. *Grob, K. Jr., Neukomm, H. P., Fröhlich, D. und Battaglia R.*: Separation of mono-unsaturated fatty acid esters by capillary GLC. *J. High Resol. Chromatogr.*, 94–95, Aug. 1978.
27. *Battaglia, R. and Fröhlich, D.*: HPLC Separation of cis and trans monounsaturated fatty acids. *Chromatographia* **13**, 428–431 (1980).

Dr. A. Dieffenbacher
Nestec SA
CH-1800 Vevey