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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 87 (1996)

Heft: 6

Artikel: Qualitätsbeurteilung kaltgepresster Pflanzenöle am Beispiel Olivenöl = Quality control of cold pressed vegetable oils such as olive oil

Autor: Hein, Martina / Isengard, Heinz-Dieter

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982100

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

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

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **87**, 716–731 (1996)
Eingegangen 7. August 1996. Angenommen 27. August 1996

Qualitätsbeurteilung kaltgepresster Pflanzenöle am Beispiel Olivenöl

Quality Control of Cold Pressed Vegetable Oils such as Olive Oil

Key words: Olive oil, Falsification, Quality control, HPLC, GC, IR- and UV-spectroscopy

Martina Hein und *Heinz-Dieter Isengard*
Universität Hohenheim, Institut für Lebensmitteltechnologie, Stuttgart

Einleitung

Nicht raffinierte Pflanzenöle erfreuen sich im Zuge der Gesundheitswelle ständig wachsender Beliebtheit beim Verbraucher und werden daher vermehrt im Handel angeboten. Wichtigster Vertreter kaltgepresster Öle ist Olivenöl, das in sehr unterschiedlichen Qualitäten angeboten wird. Bezeichnungen und Begriffsbestimmungen für Oliven- und Oliventresteröle sind in Verordnungen der EWG (1–2) festgelegt. Die Bezeichnung Olivenöl ist den Ölen vorbehalten, die ausschliesslich aus Oliven hergestellt sind. Öle, die durch Lösungsmittelextraktion, Wiederveresterung oder in Mischung mit anderen Ölen erzeugt werden, fallen nicht unter diesen Begriff. Olivenöl gelangt gemäss den Bestimmungen der Verordnung unter den Bezeichnungen natives Olivenöl, raffiniertes Olivenöl, reines Olivenöl (Verschnitt aus nativem und raffiniertem Olivenöl) und Oliventresteröl auf den Markt. Natives Olivenöl wird aus der Frucht des Olivenbaumes allein durch mechanische oder sonstige physikalische Verfahren unter Bedingungen, insbesondere Temperaturbedingungen, gewonnen, die nicht zur Verschlechterung des Öles führen. Natives Olivenöl hat keine andere Behandlung erfahren als Reinigung, Dekantierung, Zentrifugierung und Filtration.

Das auch als Jungfernöl bezeichnete native Olivenöl lässt sich noch weiter in folgende Güteklassen und Bezeichnungen unterteilen:

- Natives Olivenöl extra (extra vierge): einwandfreier Geschmack, Gehalt an freien Fettsäuren berechnet als Ölsäure höchstens 1 g/100 g.
- Natives Olivenöl fein (fine vierge): einwandfreier Geschmack, Gehalt an freien Fettsäuren höchstens 2 g/100 g.

– Natives Olivenöl mittelfein (semi-fine vierge): guter Geschmack, Gehalt an freien Fettsäuren höchstens 3,3 g/100 g.

Aus der Definition von kaltgepresstem Olivenöl ergeben sich die wertbestimmenden Merkmale dieser Öle. Voraussetzung für natives Olivenöl ist, dass es ausschliesslich aus der Frucht des Ölbaumes gewonnen wird, das heisst es muss absolut rein sein. Eine Hauptaufgabe bei der Untersuchung dieser Öle ist daher der Nachweis eventueller Verfälschungen. Zu diesem Zweck lassen sich eine Reihe von Parametern heranziehen (3–5). Besonders geeignet zum Nachweis von Verfälschungen sind chromatographische Methoden. Zur Reinheitsprüfung eignen sich sowohl die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung mittels Umkehrphasenflüssigchromatographie (RPLC) als auch die Bestimmung der Triglyceridzusammensetzung mittels Hochtemperaturgaschromatographie oder Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Aus der Definition für native Olivenöle geht zudem hervor, dass diese keiner unerlaubten Behandlung unterzogen werden dürfen. Zum Nachweis einer stattgefundenen unerlaubten Raffination eignet sich die Infrarot(IR)-Spektroskopie. Mit Hilfe der Ultraviolett(UV)-Spektroskopie wiederum lassen sich bereits stattgefundene Alterungsprozesse erkennen. Da die Einteilung der nativen Olivenöle in die einzelnen Güteklassen auf ihrem Gehalt an freien Fettsäuren beruht, ist für ihre Klassifizierung zudem die Bestimmung ihrer Säurezahl erforderlich. Eine umfassende Untersuchung kaltgepresster Olivenöle muss daher eine Reinheitsprüfung, die Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren, eine Prüfung auf unerlaubte Behandlung und eine Kontrolle des Frischezustandes der Öle beinhalten.

Experimentelles

Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung mittels HPLC

Verwendete Chemikalien

Eluenten: Methanol Chromasolv® von Riedel-de Haën und bidestilliertes Wasser, vor Gebrauch mit Helium entgast und mit Chromafil®-Einmalfilter von Macherey und Nagel filtriert;

Lösungsmittel für Proben: Chloroform für Analyse und Aceton Chromasolv® von Riedel-de Haën;

Probenaufarbeitung: Kaliumhydroxidplätzchen chemisch rein, Ethanol reinst 96 Vol.-%, Schwefelsäure für Analyse mind. 32% und Diethylether für Analyse von Riedel-de Haën;

Standardsubstanzen: Caprinsäure Biosynth®, n-Capronsäure reinst, n-Caprylsäure, Linolensäure Biosynth®, Ölsäure Biosynth®, Palmitinsäure rein und Stearinsäure rein von Riedel-de Haën sowie Linolsäure für biochemische Zwecke von E. Merck.

Für alle Untersuchungen wurden handelsübliche kaltgepresste Olivenöle, Oliventresteröle, Sonnenblumenöle, Sojaöle und Erdnussöle verwendet.

Probenvorbereitung

Grundlage ist die leicht modifizierte Methode zur Verseifung und Isolierung von Gesamtfettsäuren, die in den DGF-Einheitsmethoden (6) beschrieben ist:

- Etwa 2 g Öl auf 0,005 g genau in einen 250-ml-Rundkolben einwiegen und mit 50 ml einer 0,5 molaren ethanolischen Kalilauge versetzen.
- Zwei Siedesteine hinzugeben und unter Rückfluss eine Stunde zum Sieden erhitzen.
- Die noch heisse Seifenlösung unter Nachspülen mit 50 ml Wasser in einen 500-ml-Scheidetrichter überführen und vorsichtig so lange mit Schwefelsäure versetzen, bis die untere Phase gegen Methylorange deutlich sauer ist. Zur besseren Abscheidung der Fettsäuren ist eine intensive Durchmischung notwendig, diese durch Umschwenken fördern.
- Die Fettsäuren nach dem Abkühlen mit 50 ml Chloroform ausschütteln.
- Das Sauerwasser in einen 500-ml-Scheidetrichter ablassen und das Ausschütteln noch zweimal mit je 20 ml Chloroform wiederholen. Alle Chloroformfraktionen in dem ersten 500-ml-Scheidetrichter sammeln.
- Die Chloroformlösung so oft mit 50-ml-Portionen Wasser waschen, bis das abgelassene Waschwasser gegen Spezialindikatorpapier neutral reagiert.
- Die Chloroformphase in einen 100-ml-Messkolben überführen und mit Chloroform bis zur Eichmarke auffüllen.
- Die so erhaltene Probenlösung mittels HPLC untersuchen.

HPLC-Untersuchungen

Für die Trennung von Fettsäuregemischen durch reversed-phase-HPLC wurde folgende Methode erarbeitet:

HPLC:	Hewlett-Packard-Anlage (HP) der Serie 1050 mit einer quaternären HP-1050-Pumpe
Detektor:	RI-Detektor RI-71 der Firma Gynkotek (temperiert auf 30 °C)
Mobile Phase:	10,5% Wasser und 89,5% Methanol
Flussgeschwindigkeit:	1,05 ml/min
Säulentemperatur:	40 °C
Säule:	LiChrospher 100 RP-18 von E. Merck; 250 x 4 mm
Partikelgrösse:	5 µm
Injektionsvolumen:	20 µl

Bestimmung der Triglyceridzusammensetzung mittels HPLC

Verwendete Chemikalien

Eluenten: Acetonitril Chromasolv®und Aceton Chromasolv®von Riedel-de Haën, vor Gebrauch mit Helium entgast und mit Chromafil®-Einmalfilter von Macherey und Nagel filtriert;
Lösungsmittel für die Proben: Aceton Chromasolv®von Riedel-de Haën;
Standardsubstanzen: Trilinolein, Trilinolenin, Triolein, Tripalmitin und Tristearin von Sigma Chemie.

Probenvorbereitung

Von den zu untersuchenden Ölen wird eine etwa 10%ige Lösung in Aceton hergestellt und diese dann mittels HPLC untersucht.

HPLC-Untersuchungen

Für die Trennung von Triglycerid (TG)-Gemischen wurde folgendes Verfahren erarbeitet:

HPLC:	Hewlett-Packard-Anlage (HP) der Serie 1050 mit einer quaternären HP-1050-Pumpe
Detektor:	Dioden-Array-Detektor der Serie 1050 bei einer Messwellenlänge von 206 nm
Mobile Phase:	65% Acetonitril und 35% Aceton
Flussgeschwindigkeit:	0,6 ml/min
Säulentemperatur:	28 °C
Säule:	Separon SGX (ELSICO HPLC & LC Company, Moskau); 150 x 4 mm
Partikelgrösse:	7 µm
Injektionsvolumen:	10 µl

Bestimmung der Triglyceridzusammensetzung mittels GC

Verwendete Chemikalien

Lösungsmittel für die Proben: Chloroform Chromasolv® von Riedel-de Haën;
Standardsubstanzen: Trilinolein, Trilinolenin, Triolein, Tripalmitin und Tristearin von Sigma Chemie.

Probenvorbereitung

Von den zu untersuchenden Ölen wird eine etwa 10%ige Lösung in Chloroform hergestellt und diese dann mittels Hochtemperaturgaschromatographie untersucht.

GC-Untersuchungen

Für die Trennung mittels Hochtemperatur-GC wurde folgende Methode erarbeitet:

GC:	Kapillarchromatograph der Serie 5890 von Hewlett-Packard
Detektor:	Flammenionisationsdetektor mit einer Temperatur von 350 °C
Trägergas:	Wasserstoff mit einer Geschwindigkeit von 21,74 cm/s
Flussgeschwindigkeit:	1,0 ml/min
Säulenofentemperatur:	350 °C
Säule:	OV-1 (unpolare Säule) von Alltech; 15 m x 0,25 mm; Dicke der stationären Phase 0,25 µm
Injektionsvolumen:	0,5 µl

Nachweis von Alterung und Raffination mittels UV-Spektroskopie

Die Bestimmung der spezifischen Absorption (Extinktion) entspricht der in den «Deutschen Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten und Fettbegleitstoffen» (7) beschriebenen Vorgehensweise. Etwa 25 mg des Öles werden auf 0,0001 g genau in einen 100-ml-Messkolben eingewogen, mit spektroskopisch reinem Hexan bis zur Marke aufgefüllt und die Absorption bei 232 nm gemessen.

Verwendet wurde Hexan Spectranal® von Riedel-de Haën und ein UV/Vis-Photometer von Perkin Elmer.

Nachweis einer Hydrierung mittels IR-Spektroskopie

Etwa 10 g des zu untersuchenden Öles wurden auf 0,001 g genau in einen 100-ml-Messkolben eingewogen und mit Hexan bis zur Marke aufgefüllt. Die hergestellte Lösung wurde mit Hilfe einer Spritze luftblasenfrei in eine Küvette eingefüllt und diese dann in ein IR-Spektralphotometer eingesetzt. Anschliessend wurde ein Infrarotspektrum im Bereich von 400 bis 4000 cm^{-1} aufgenommen. Das Vorliegen von *trans*-Fettsäuren kann anhand der IR-Absorptionsbande bei 960 bis 980 cm^{-1} qualitativ nachgewiesen werden. Eine quantitative Bestimmung ist durch Ermittlung der Absorption und Vergleich mit der entsprechenden Eichsubstanz möglich.

Verwendet wurde Hexan Spectranal® von Riedel-de Haën und ein IR-Spektralphotometer von Zeiss.

Ergebnisse und Diskussion

Reinheitsprüfung

Es wurden drei verschiedene chromatographische Verfahren zum Nachweis von Verfälschungen durchgeführt und miteinander verglichen.

Da jedes natürliche Pflanzenöl ein mehr oder weniger charakteristisches Spektrum an Fettsäuren (FS) aufweist (8), liefert die chromatographische Bestimmung der FS-Zusammensetzung wertvolle Hinweise auf eventuelle Verfälschungen.

Fettsäureuntersuchungen werden heute zum grössten Teil noch mit Hilfe der Gaschromatographie durchgeführt. Auch die Verordnung der Kommission der Europäischen Gemeinschaften über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung (1) sehen eine Ermittlung der Fettsäurezusammensetzung mittels Gaschromatographie vor. Mittlerweile bietet die HPLC eine gute Alternative zur GC. Bis vor kurzem wurden bei HPLC-Methoden zur Bestimmung von Fettsäuren ausschliesslich UV-absorbierende Derivate verwendet (9–13). Heute wird versucht, freie underivatisierte Fettsäuren mittels HPLC zu trennen und zu detektieren, da so der aufwendige Derivatisierungsschritt vermieden wird.

Zur Bestimmung der Gesamtfettsäurezusammensetzung ist es erforderlich, die in den Triglyceriden an Glycerin gebundenen Fettsäuren durch alkalische Hydrolyse abzuspalten. Um eine vollständige Hydrolyse der Öle zu erzielen, erwiesen sich eine Einwaage von 2 g Öl, eine Zugabe von 30 ml 0,5 molarer ethanolischer Kalilauge und eine Hydrolysedauer von einer Stunde unter Sieden am Rückfluss als optimal. Die nach dem Ansäuern vorliegenden freien Fettsäuren wurden mit Chloroform extrahiert. Die so hergestellte Lösung wurde filtriert und dann direkt in den HPLC injiziert.

Für die Trennung von Fettsäuren an Umkehrphasen erwiesen sich Gemische aus Wasser/Acetonitril und Wasser/Methanol als besonders geeignet. Aufgrund seiner günstigen chromatographischen Eigenschaften hat Acetonitril Methanol als Fliessmittel weitgehend verdrängt (14). Dennoch wurde für die Trennung der Fettsäuren Methanol als Eluent gewählt, da Acetonitril teurer ist und zudem stark toxische Eigenschaften besitzt. Neben der Eluentenmischung ist auch deren pH-Wert entscheidend für die erzielte Trennleistung. Um eine scharfe Trennung der Fettsäuren zu erreichen, sollten diese möglichst vollständig in undissoziierter Form vorliegen. Versuche mit unterschiedlichen pH-Werten des Eluenten haben gezeigt, dass sich im Bereich um pH 3,0 bis 3,5 eine ausreichende Auftrennung der einzelnen Fettsäuren erzielen lässt. Oberhalb eines pH-Wertes von 4,5 sind die FS-Peaks ausserordentlich breit und teils nicht völlig aufgetrennt. Die pH-Absenkung erfolgte durch Zugabe konzentrierter Schwefelsäure. Mit Hilfe der beschriebenen Methode konnten die Fettsäuren aller untersuchten Öle einwandfrei getrennt werden. Eine Identifikation der Proben anhand ihres Fettsäurespektrums (siehe Abb. 1 und 2) und die Bestimmung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung ist mit dieser Methode in kurzer Zeit möglich.

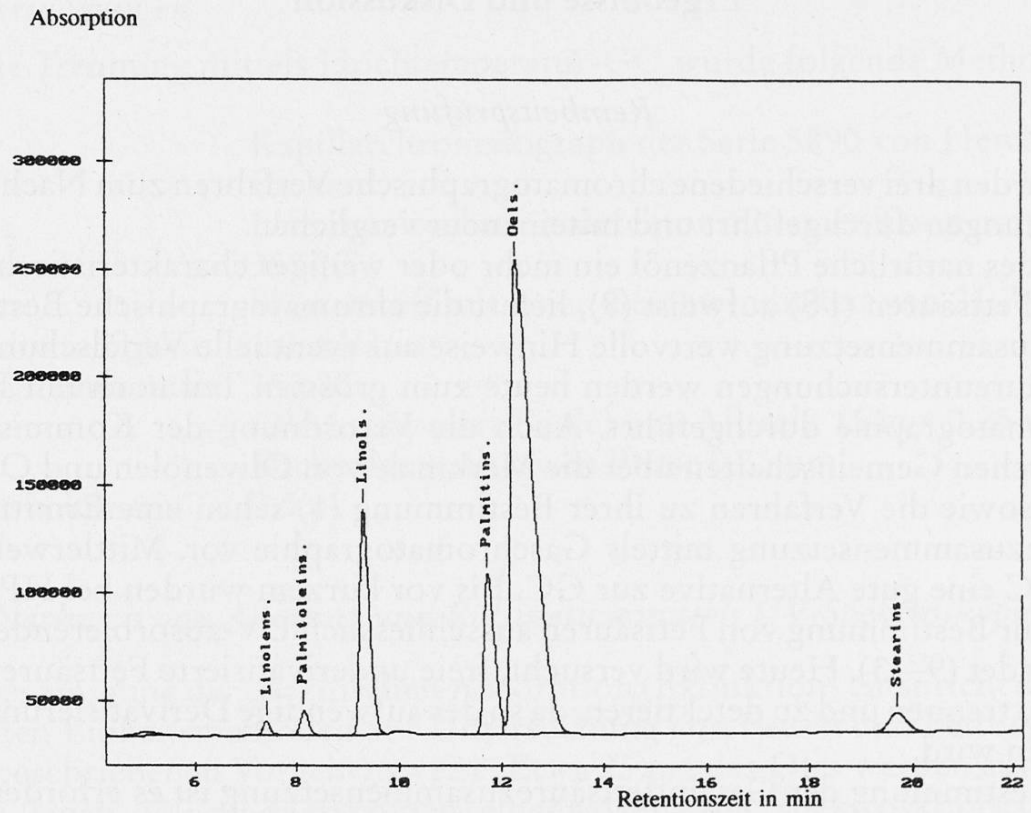

Abb. 1. HPLC-Fettsäureprofil von Olivenöl

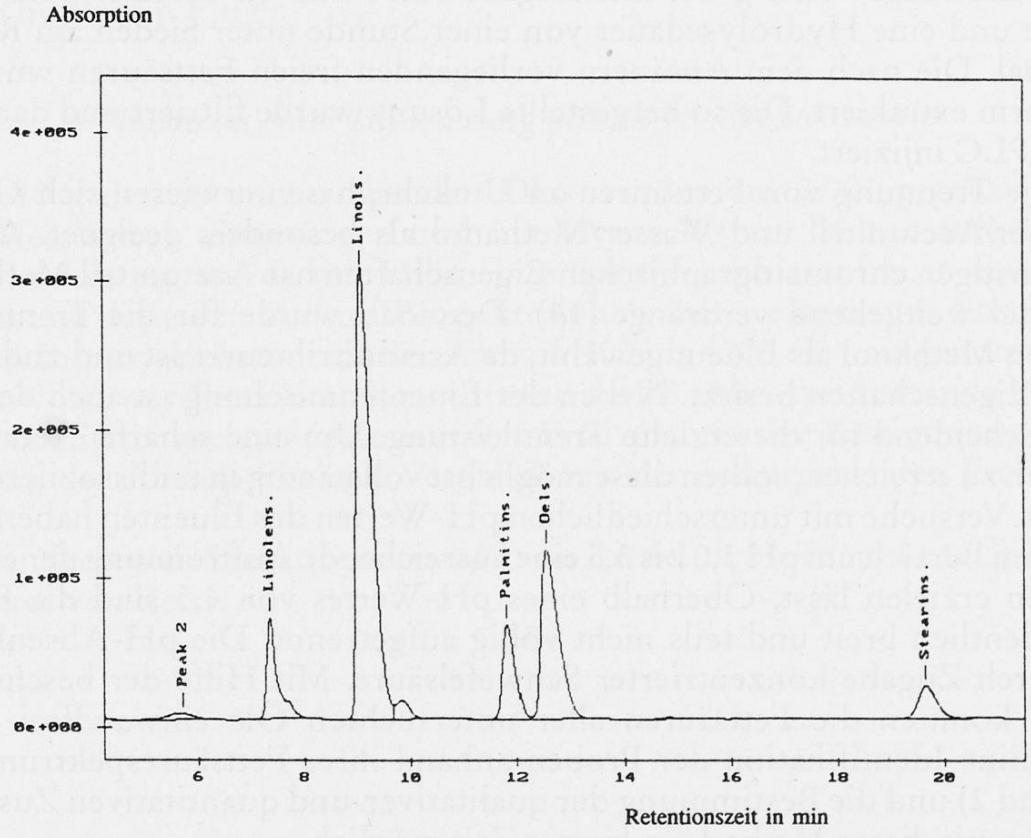

Abb. 2. HPLC-Fettsäureprofil von Sojaöl

Vermischungen von Ölen lassen sich aufgrund des Fettsäurespektrums in einer Vielzahl von Fällen jedoch nicht eindeutig nachweisen. So gelingt der Nachweis nicht bei Ölen mit sehr ähnlicher Fettsäurezusammensetzung. Verfälschungen von Olivenöl mit Sojaöl lassen sich erst ab einem erheblichen Zusatz an Sojaöl erkennen. Erschwert wird die Reinheitsprüfung durch die natürliche Schwankungsbreite der Fettsäurezusammensetzung eines Pflanzenöles in Abhängigkeit von Herkunftsland, Anbauregion, Jahrgang usw. Einfacher lassen sich Verfälschungen nachweisen, wenn das Verschnittöl eine Fettsäure enthält, die in Olivenöl natürlicherweise nicht vorkommt.

Falls sich die Fettsäurezusammensetzung des verfälschten und des zugesetzten Öles nicht signifikant voneinander unterscheidet, kann die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung kein ausreichender Nachweis von Verfälschungen sein. In diesen Fällen ist die Anwendung der Hochtemperatur-GC oder der HPLC zur Bestimmung der originären Triglyceride einer Fettsäurebestimmung vorzuziehen. Pflanzliche Öle sind komplexe Mischungen verschiedener Triglyceride. Durch die Bestimmung der TG-Zusammensetzung lässt sich sowohl die Identität als auch die Reinheit eines Öles nachweisen.

Dank der grossen Fortschritte auf dem Gebiet der Flüssigchromatographie hat sich die RPLC zu einer leistungsfähigen Methode für die Trennung von Triglyceriden entwickelt. Solche Untersuchungen liefern wesentlich genauere Aussagen über die Triglyceridzusammensetzung pflanzlicher Öle als die ebenfalls für TG-Untersuchungen eingesetzte Hochtemperaturgaschromatographie an Kapillarsäulen. Während die Trennung bei der GC-Methode ausschliesslich nach der Anzahl der Fettsäure-Kohlenstoffatome erfolgt, gestattet die HPLC an RP-18-Material eine Trennung sowohl nach der Kettenlänge der beteiligten Fettsäuren als auch nach der Anzahl der Doppelbindungen im Molekül.

Dadurch werden charakteristische Unterschiede sichtbar, auch bei solchen Ölen, die sich in ihrer Fettsäurezusammensetzung nur wenig unterscheiden. Während Olivenöl und Sojaöl in der Hochtemperaturgaschromatographie ganz ähnliche Chromatogramme liefern – beide bestehen überwiegend aus Triglyceriden mit 52 oder 54 Fettsäure-Kohlenstoffatomen –, sieht man in der RPLC sofort die grossen Unterschiede zwischen diesen Ölen.

Die vorgestellte RPLC-Methode ist sowohl für den Einsatz eines UV- als auch eines RI-Detektors geeignet und ermöglicht eine qualitative Bestimmung der TG-Zusammensetzung pflanzlicher Öle. Anhand der erstellten Triglyceridfingerprints können Aussagen über Identität und Reinheit der untersuchten Öle getroffen werden. Abbildung 3 und 4 zeigen die Triglyceridprofile von Oliven- und von Sojaöl. Da nur wenige definierte Standardsubstanzen verfügbar sind, ist eine Identifikation der Triglyceride relativ schwierig. Eine einwandfreie Zuordnung kann daher nur durch Kombination verschiedener Methoden erzielt werden. Im vorliegenden Fall erfolgte die Identifikation durch Injektion vorhandener Standardsubstanzen, Vergleich mit vorliegenden Veröffentlichungen und durch Ermittlung der ECN-Werte (Equivalent Carbon Number) (15). Aufgrund der stark unterschiedlichen Zusammensetzung von Oliven- und Sojaöl sind eventuelle Verfälschungen anhand der TG-Profile leicht zu erkennen. Das Chromatogramm eines

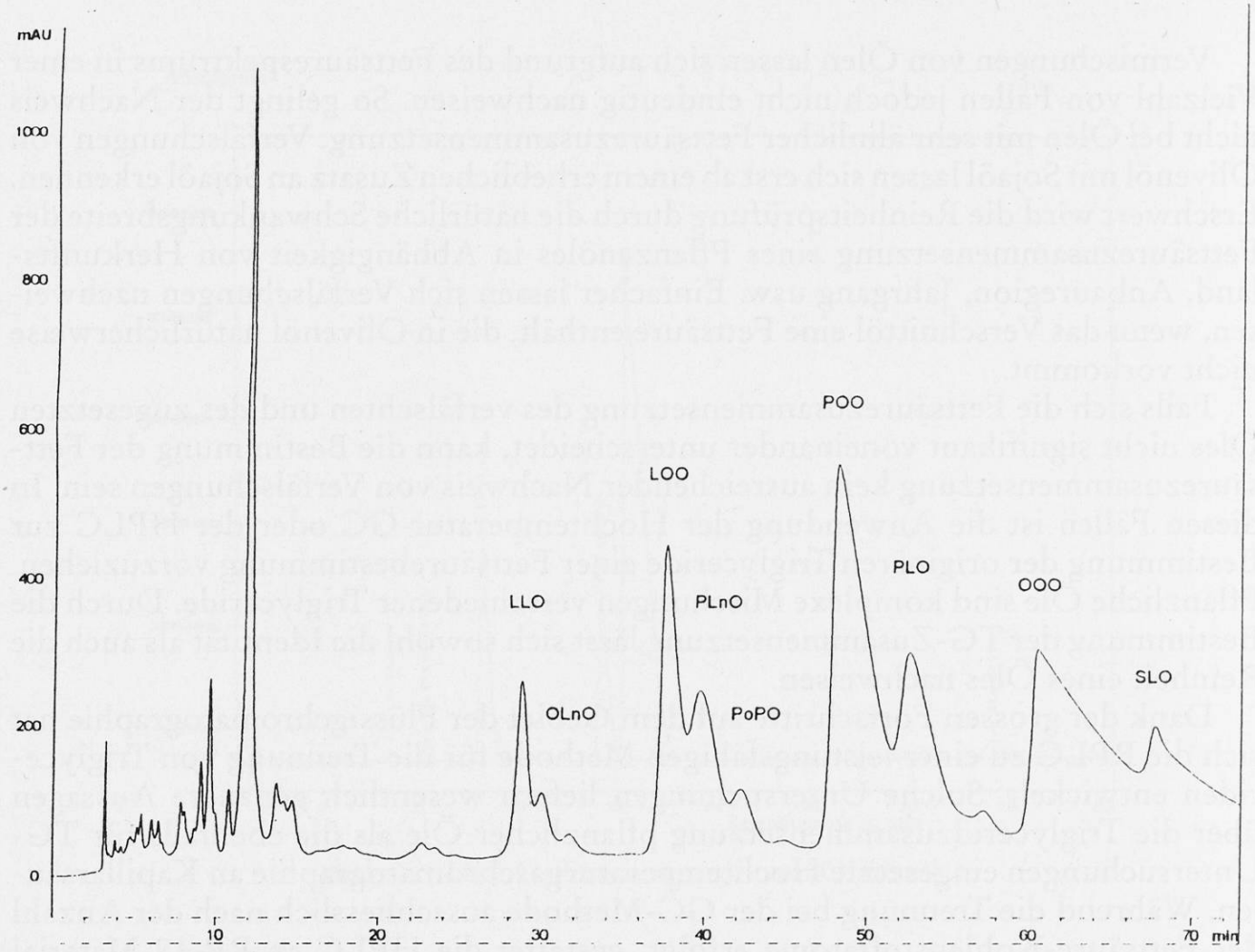

Abb. 3. HPLC-Triglyceridprofil von Olivenöl mit den Fettsäuren:
Ln Linolensäure L Linolsäure O Ölsäure
P Palmitinsäure S Stearinsäure Po Palmitoleinsäure

Verschnittes von Olivenöl mit Sojaöl enthält TG-Peaks mit einer Retentionszeit unter 28 Minuten, die in reinem Olivenöl nicht erscheinen. Verfälschungen mit beliebigen Ölen lassen sich leicht nachweisen, falls diese einen signifikanten Gehalt an früheluierten Triglyceriden aufweisen. Die Peakfläche (in Prozent der Gesamtfläche) an Trilinolein (LLL), bestimmt mit einem RI-Detektor, wird zum Verfälschungsnachweis bei Olivenölen herangezogen. Die Nachweisgrenze liegt zurzeit bei 0,5% LLL, was einem Zusatz von 5% Sojaöl zu Olivenöl entspricht.

Auch mit Hilfe der Hochtemperatur-GC an Kapillarsäulen kann das Triglyceridprofil eines Öles ermittelt werden. Triglyceride können bei hohen Temperaturen direkt gaschromatographisch an geeigneten thermisch stabilen Säulen getrennt werden. Die Trennung der Triglyceride erfolgt in Abhängigkeit von der Gesamtkohlenstoffzahl bzw. der molaren Masse. Im Gegensatz zur TG-HPLC ist eine Unterscheidung von Triglyceriden mit gleicher Kohlenstoffzahl nicht oder nur sehr schlecht möglich. Gesättigte und ungesättigte Triglyceride der gleichen Anzahl an C-Atomen wie beispielsweise Tristearin und Triolein zeigen im Gaschromatogramm koeluierende Peaks.

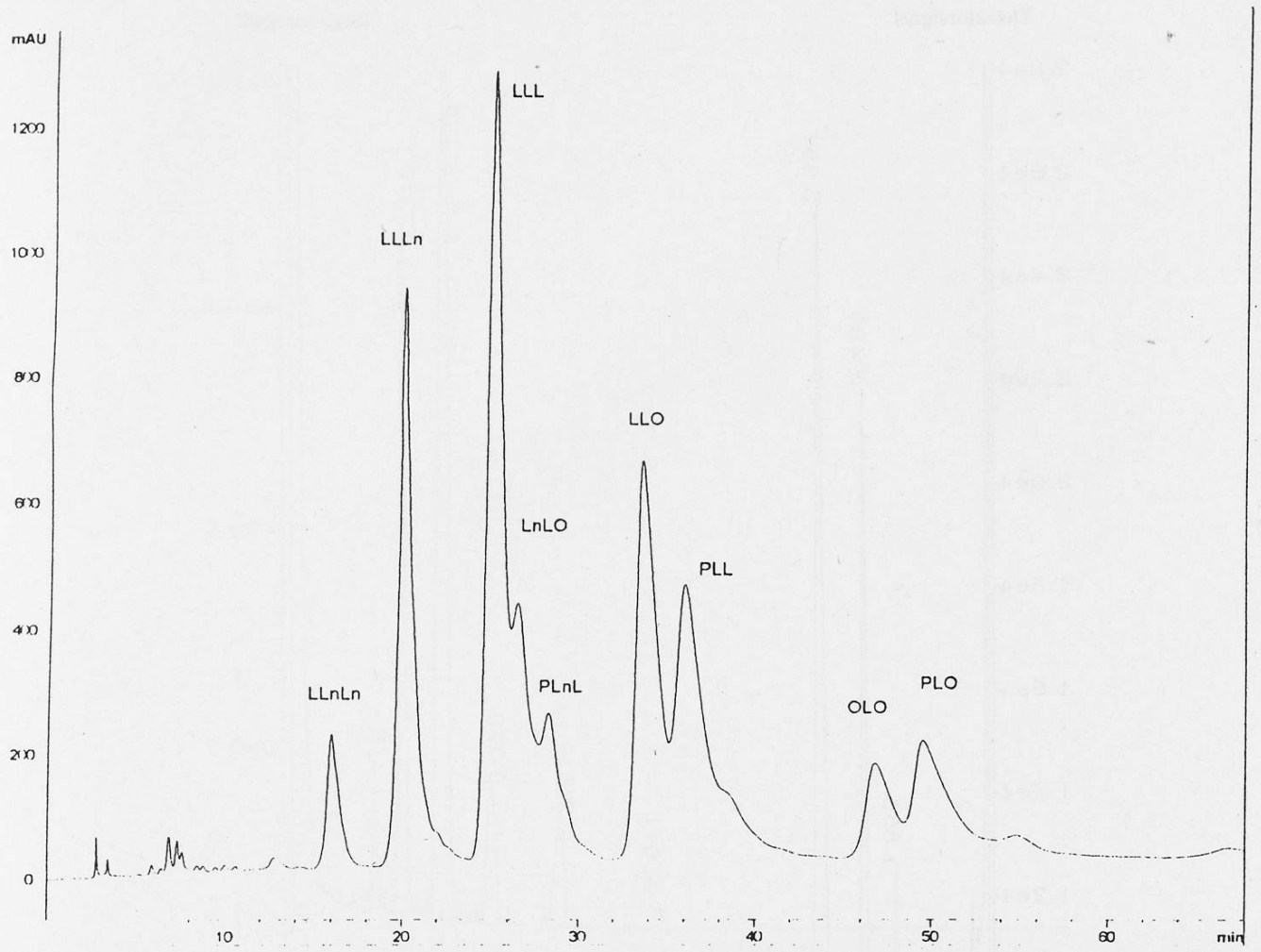

Abb. 4. HPLC-Triglyceridprofil von Sojaöl mit den Fettsäuren:
Ln Linolensäure L Linolsäure O Ölsäure
P Palmitinsäure

Kritischer Punkt bei der Hochtemperatur-GC ist die für die Trennung notwendige hohe Temperatur. Bei den herrschenden 350 °C ist eine Zersetzung der Triglyceride nicht völlig auszuschliessen. Bereits auf den ersten Blick unterscheiden sich die TG-Profile von Soja-, Sonnenblumen-, Erdnuss- und Olivenöl deutlich voneinander. Beispielhaft für alle untersuchten Öle sind in Abbildung 5 und 6 die TG-Spektren von Oliven- und Erdnussöl dargestellt. Die untersuchten Öle mit Ausnahme des Erdnussöles bestehen fast ausschliesslich aus Triglyceriden mit 50, 52 und 54 Säure-C-Atomen. Erdnussöl weist noch weitere Peaks auf, die vermutlich durch Triglyceride mit mehr Säure-Kohlenstoffatomen verursacht werden, da dieses Öl einen relativ hohen Gehalt an C-20-Fettsäuren enthält.

Die Unterschiede der prozentualen Anteile der einzelnen TG-Fraktionen sind zwischen den untersuchten Ölarten allerdings nicht so gross, dass Verfälschungen von Olivenöl mit einem der anderen untersuchten Öle allein anhand des Chromatogramms der Hochtemperatur-GC erkannt werden könnten. Sie ist daher für den Nachweis von Verfälschungen nicht optimal geeignet.

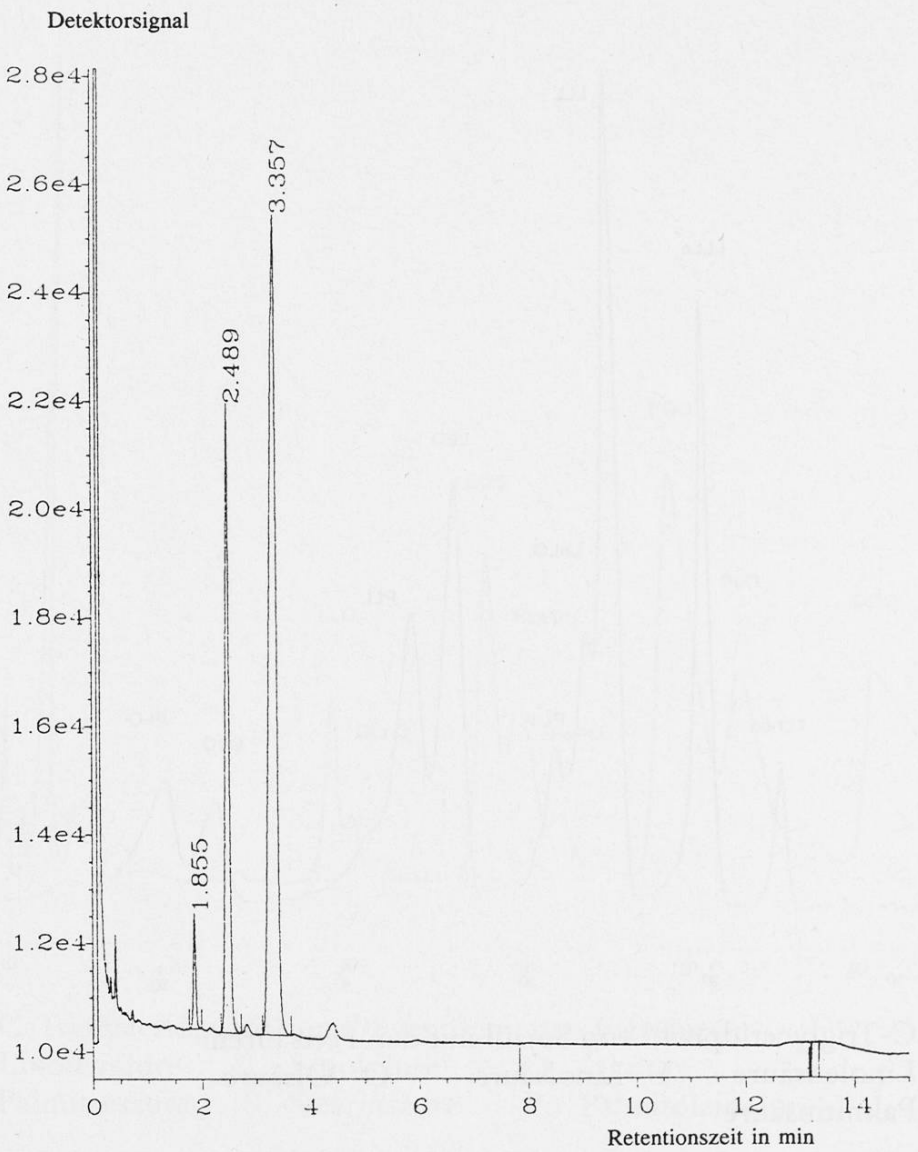

Abb. 5. GC-Triglycerid-Fingerprint von Olivenöl

Nachweis von Alterung und Raffination

Durch das Auftreten von Absorptionsbanden in Wellenlängenbereichen, die für bestimmte Strukturelemente charakteristisch sind (Tabelle 1), lassen sich Aussagen über Alterungsprozesse treffen sowie raffinierte Fette und Öle von nicht raffinierten unterscheiden.

- Bei der Alterung nimmt der Anteil an konjugierten Dien-Strukturen infolge von Spaltung und Umlagerung der Fettsäuren zu. Aus isolierten Doppelbindungen entstehen konjugierte Doppelbindungen.
- Bei der Raffination werden durch Abbau oxidativ entstandener Hydroperoxide Konju-Trien- und Konju-Tetraen-Fettsäuren gebildet, die in unbehandelten Fetten und Ölen nicht auftreten.

Bei unraffinierten, naturbelassenen Ölen sind ausser der Dien-Bande, deren Intensität vom Alterungsgrad des Öles abhängt, im kurzwelligen UV-Bereich keine

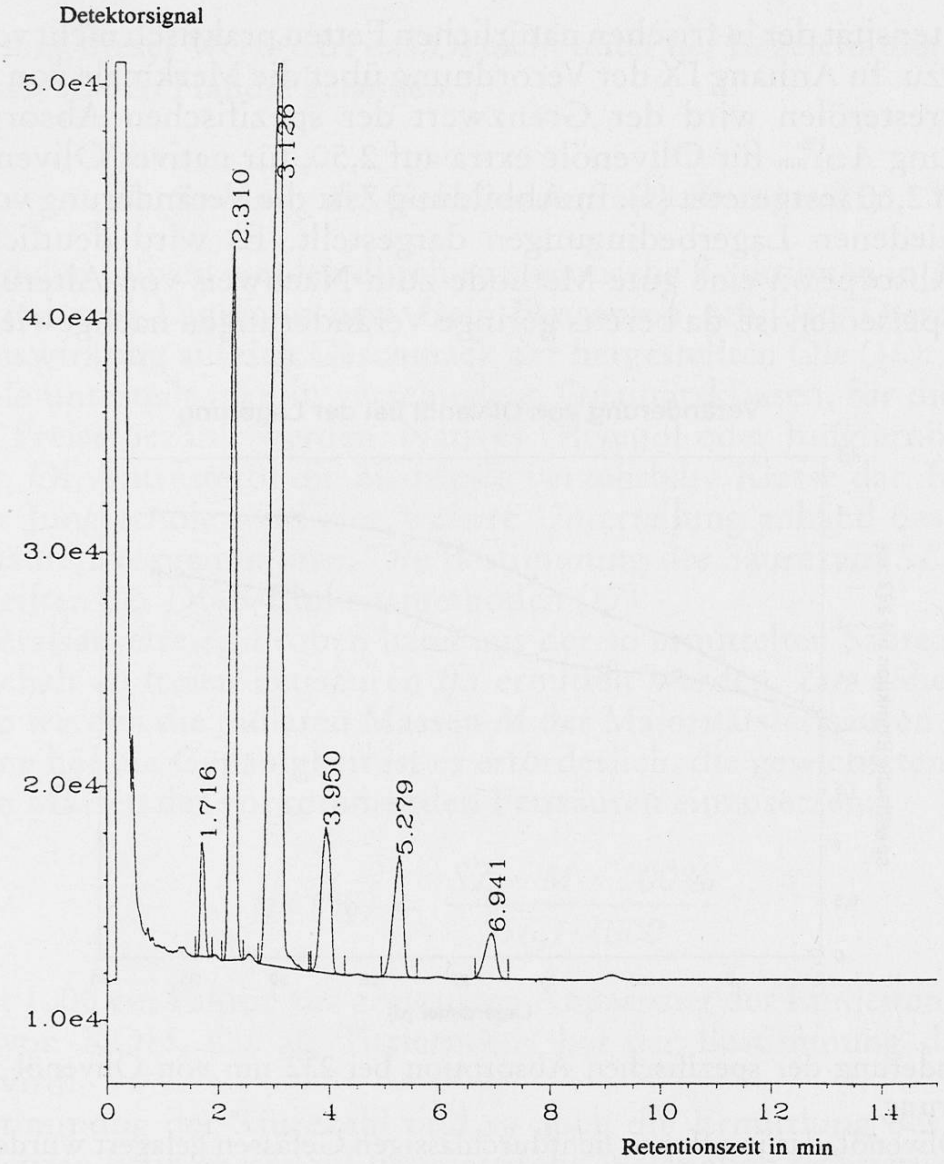

Abb. 6. GC-Triglycerid-Fingerprint von Erdnussöl

weiteren ausgeprägten Absorptionsbanden erkennbar. Dagegen erscheinen bei raffinierten Ölen zusätzlich Trien-Banden, die infolge der höheren Konjugation der Doppelbindungen bei längeren Wellenlängen auftreten. Bei Auftreten deutlicher Absorptionsbanden bei 258, 268 und 279 nm ist daher davon auszugehen, da es sich um ein raffiniertes Öl handelt. Bei der Alterung frischer raffinierter Öle

Tabelle 1. UV-Absorptionsbanden von Strukturelementen in Fettsäuren

Strukturelement	Strukturformel	Absorptionsbande in nm
Isolen-Doppelbindungen	$-H_2C-CH=CH-CH_2-$	< 210
Konju-dien-Doppelbindungen	$-H_2C-[CH=CH]_2-CH_2-$	230 bis 240
Konju-trien-Doppelbindungen	$-H_2C-[CH=CH]_3-CH_2-$	258, 268, 279
Konju-tetraen-Doppelbindungen	$-H_2C-[CH=CH]_4-CH_2-$	300 bis 316

nimmt die Intensität der in frischen natürlichen Fetten praktisch nicht vorhandenen Dien-Bande zu. In Anhang IX der Verordnung über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen wird der Grenzwert der spezifischen Absorption einer 1%igen Lösung $A_{232\,nm}^{1\%}$ für Olivenöle extra auf 2,50, für natives Olivenöl fein und mittelfein auf 2,60 festgesetzt (1). In Abbildung 7 ist die Veränderung von Olivenöl unter verschiedenen Lagerbedingungen dargestellt. Es wird deutlich, dass die spezifische Absorption eine gute Methode zum Nachweis von Alterungserscheinungen bei Speiseölen ist, da bereits geringe Veränderungen nachgewiesen werden können.

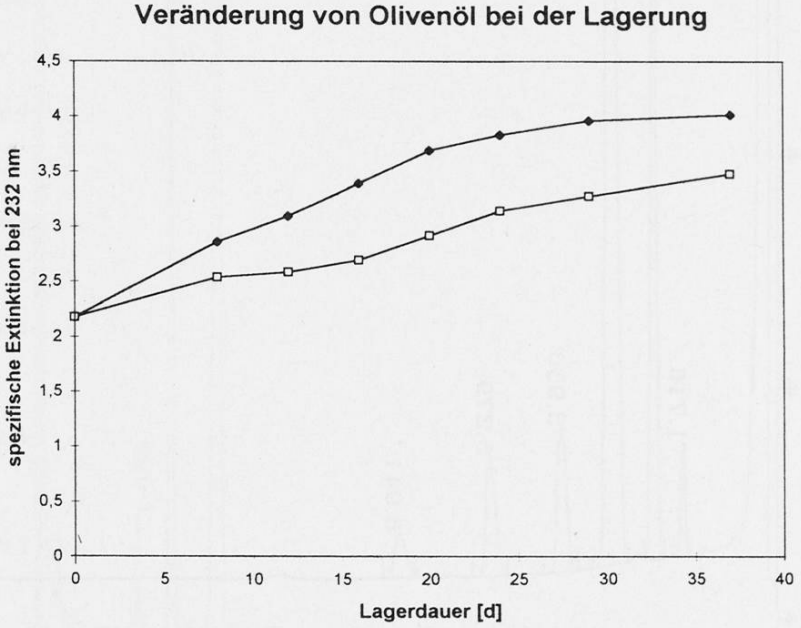

Abb. 7. Veränderung der spezifischen Absorption bei 232 nm von Olivenöl während der Lagerung
- ◆ Olivenöl, das in offenen lichtdurchlässigen Gefässen gelagert wurde
- □ Olivenöl, das in luftdicht verschlossenen lichtdurchlässigen Gefässen gelagert wurde

Nachweis einer Hydrierung

Bei der Härtung wird neben der eigentlichen Addition von Wasserstoff an Doppelbindungen auch ein Teil der natürlich vorkommenden *cis*-Fettsäuren in die entsprechenden *trans*-Konfigurationen überführt. So kann z. B. Ölsäure in ihr thermodynamisch stabileres Stereoisomer, die Elaidinsäure, übergehen.

Das Vorliegen von *trans*-Fettsäuren und damit gegebenenfalls der Nachweis einer unerlaubten Hydrierung kaltgepresster Öle kann anhand der IR-Absorptionsbande bei 960 bis 980 cm^{-1} qualitativ nachgewiesen werden. Weist eine Probe in diesem Bereich eine deutliche Bande auf, so ist mit grosser Wahrscheinlichkeit eine Hydrierung des Öles durchgeführt worden. Bei nativen Olivenölen gelten laut Verordnung der EU über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung (1) Grenzwerte von 0,05% *trans*-Ölsäure sowie von 0,05% der Summe von *trans*-Linol- und *trans*-Linolensäure. Bei einer

Überschreitung dieser Werte darf das Öl nicht unter der Bezeichnung «nativ» oder «kaltgepresst» in den Handel gelangen.

Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren

Bereits in den Oliven werden durch enzymatische Reaktionen in Abhängigkeit von Reifegrad und Lagerung usw. freie Fettsäuren gebildet. Diese haben eine negative Auswirkung auf den Geschmack der hergestellten Öle (16).

Olivenöle unterteilt man in verschiedene Qualitätsklassen, für die sehr unterschiedliche Preise bezahlt werden. Natives Olivenöl oder Jungfernöl stellt dabei die höchste, Oliventresteröl die niedrigste verzehrbare Klasse dar. Innerhalb der Gruppe der Jungfernöle wird eine weitere Unterteilung anhand des Gehaltes an freien Fettsäuren vorgenommen. Die Bestimmung der Säurezahl *SZ* erfolgt nach den Vorschriften der DGF-Einheitsmethoden (17).

Bei mineralsäurefreien Proben kann aus der so ermittelten Säurezahl der prozentuale Gehalt an freien Fettsäuren *ffa* ermittelt werden. Zur näherungsweisen Berechnung werden die molaren Massen *M* der Majoritätsfettsäuren zugrundegelegt. Für eine höhere Genauigkeit ist es erforderlich, die gewichteten Mittelwerte der molaren Massen der vorkommenden Fettsäuren einzusetzen:

$$ffa\,(\%) = \frac{SZ \cdot M \cdot 100\%}{56{,}1 \cdot 1000}$$

Darin ist 1000 ein Faktor zur geeigneten Anpassung der Einheiten und 56,1 die Molmasse von KOH, das als Titriermittel bei der Bestimmung der Säurezahl eingesetzt wird.

Die Bestimmung der Säurezahl und so auch die Ermittlung des Gehaltes an freien Fettsäuren kann ausser auf titrimetrische Weise auch rechnerisch aus Chromatogrammen erfolgen (18).

Zusammenfassung

Das immer stärker werdende Gesundheitsbewusstsein hat den kaltgepressten pflanzlichen Speiseölen, insbesondere Olivenöl, zu wachsender Beliebtheit verholfen. Seit einigen Jahren existiert eine Verordnung der Kommission der Europäischen Gemeinschaften über Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie Verfahren zu ihrer Bestimmung, die bereits einige Male geändert und erweitert wurde. In ihrer aktuellen Fassung umfasst diese Verordnung 10 Artikel und 17 Anhänge. Folglich sind die in der Europäischen Union geltenden Bestimmungen bereits jetzt sehr umfangreich. Die Durchführung aller in der Verordnung beschriebenen Untersuchungen ist enorm zeitaufwendig und kaum für Routineuntersuchungen geeignet. Daher sollen hier einige wesentliche Analysenverfahren zur Qualitätsbeurteilung vorgestellt werden. Hierbei wurde besonderer Wert auf den Nachweis von Verfälschungen mit Hilfe chromatographischer Methoden gelegt. Daneben werden spektroskopische Verfahren zum Nachweis unerlaubter Behandlungen und bereits stattgefundener Alterungsprozesse vorgestellt.

Um eine Qualitätsbeurteilung kaltgepresster Olivenöle vorzunehmen, müssen auf jeden Fall folgende Untersuchungen durchgeführt werden:
- Reinheitsprüfung, am besten mittels Triglycerid-HPLC
- UV-Spektroskopie zur Bestimmung von Alterungserscheinungen
- IR-Spektroskopie zum Erkennen von Raffinationsprozessen
- Bestimmung des Gehaltes an freien Fettsäuren für die Überprüfung der Güteklassen

Résumé

Les consommateurs attachant une importance particulière à leur santé apprécient de plus en plus les huiles végétales pressées à froid, en particulier les huiles d'olives. La Commission de l'Union Européenne a, il y a quelques années, fixé des normes portant sur les caractéristiques des huiles d'olives et les procédés pour leur analyse, normes qui ont été modifiées à plusieurs reprises. La réglementation comprend 10 articles et 17 appendices. Cette réglementation en vigueur dans l'Union Européenne est donc, dès à présent, fort touffue. L'exécution de toutes les analyses mentionnées nécessite beaucoup de temps et n'est pas adaptée aux analyses de routine. Dans ce travail, les principales méthodes de la détermination de qualité sont présentées. Nous nous concentrons, en particulier, sur des méthodes chromatographiques pour la preuve de falsification. En outre, des méthodes spectroscopiques prouvant des traitements illicites et le vieillissement sont proposées.

Pour le jugement de la qualité d'huiles d'olives pressées à froid, les analyses suivantes doivent être exécutées dans tous les cas:
- contrôle de pureté, au mieux par HPLC des triglycérides
- spectroscopie UV pour la détermination de changements par viellissement
- spectroscopie IR pour la détection de procédés de raffination
- détermination de la teneur en acides libres pour le contrôle de la catégorie de qualité

Summary

The steadily growing consciousness of a scientifically balanced diet has led to an increasing popularity of cold pressed vegetable oils, especially of olive oil. Since some years a decree of the Commission of the European Union about characteristics of olive oils and olive marc oils and procedures for their determination exists. It has already been modified and extended several times. In the latest version the decree comprises 10 articles and 17 appendixes. To carry out all the analyses that are mentioned in the decree would last very long time and is hardly practicable for routine analyses. Therefore, some essential analytical methods for the quality control are presented. The emphasis is put on the determination of falsifications by means of chromatographic methods. In addition, some spectroscopic methods to prove unallowed treatments and the beginning of deterioration processes in the oils are presented.

To judge the quality of cold pressed olive oils the following analyses must be carried out in all the cases:
- control of purity, preferably by HPLC of the triglycerides
- UV spectroscopy for the determination of alterations by storage
- IR spectroscopy for the detection of raffination processes
- determination of the content of free acids for the control of the quality category

Literatur

1. Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 der Kommission vom 11. Juli 1991 über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie Verfahren zu ihrer Bestimmung. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 248/1 vom 5. 9. 91.
2. Verordnung (EWG) Nr. 3566/92 der Kommission vom 10. Februar 1992 zur Änderung der Verordnung Nr. 136/66 EWG über die Errichtung einer gemeinsamen Marktordnung für Fette. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 39/1 vom 15. 2. 92.
3. *Mariani, M., Venturini, S., Bondioli, P., Fedeli, E.* and *Grob, K.*: Comparative study of the determination of triacylglycerols in vegetable oils using chromatographic techniques. Grasas y Aceteis **49**, 287–291 (1993).
4. *Cert, A., Lanzon, A., Carelli, A., Albi, A.* and *Amelotti, G.:* Formation of trans fatty acids during the refining of lampante olive oil. Riv. Ital. Sost. Grasse **69**, 393–400 (1992).
5. *Grob, K.* and *Bronz, M.:* The detection of adulteration with desterolized oils. Fat Sci. Technol. **96**, 252–259 (1994).
6. DGF-Einheitsmethoden – Abteilung C – Fett, C-III 3a (84).
7. DGF-Einheitsmethoden – Abteilung C – Fett, C-IV 6 (68).
8. *Solms, J.:* Fette als funktionelle Bestandteile von Lebensmitteln, S. 89. Forster-Verlag AG, Zürich 1973.
9. *Halgunset, J., Lund, E.W.* and *Sunde, A.:* Improved separation of biologically relevant C_{14}-C_{20} fatty acids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. **237**, 496–499 (1982).
10. *Miller, R.A., Bussel, N.E.* and *Ricketts, C.:* Quantitation of long chain fatty acids as the methoxyphenacyl esters. J. Liquid Chromatogr. **1**, 291–304 (1978).
11. *Hoffman, N.E.* and *Liao, J.C.:* High pressure liquid chromatography of *p*-methoxyanilides of fatty acids. Anal. Chem. **48**, 1104–1106 (1976).
12. *Jordi, C.:* Separation of long and short chain fatty acids as naphthacyl and substituted phenacyl esters by high performance liquid chromatography. J. Liquid Chromatogr. **1**, 215–230 (1978).
13. *D'Amboise, M.* and *Gendreau, M.:* Isocratic separation of human blood plasma long chain free fatty acid derivatives by reversed phase liquid chromatograhpy. Anal. Letters **12**, 381–395 (1979).
14. *Unger, K.K.:* Handbuch der HPLC. GIT-Verlag, Darmstadt 1989.
15. *Plattner, R.D.:* High performance liquid chromatography of triglycerides: Controlling selectivity with reverse phase columns. J. Am. Oil Chem. Soc. **58**, 638–642 (1981).
16. *Bruehl, L.* and *Fiebig, H.-J.:* Quality characteristics for cold pressed edible oils. Fat Sci. Technol. **91**, 203–208 (1995).
17. DGF-Einheitsmethoden – Abteilung C – Fett, C-V 2 (81).
18. *Hein, M.* and *Isengard, H.-D.:* Publication in preparation.

Dipl.-Lebensmitteling. Martina Hein
Prof. Dr. Heinz-Dieter Isengard
Universität Hohenheim
Institut für Lebensmitteltechnologie
Garbenstrasse 25
D-70593 Stuttgart