

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 53 (1962)
Heft: 3

Artikel: Nachweis von Antioxydantien in Fetten und andern Lebensmitteln
Autor: Biefer, K.W.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982562>

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: 24.01.2025

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

Literatur

- 1 *E. Flückiger*, Schweiz. Milchztg. **88** (10), 57 (1962).
- 2 *E. Flückiger*, Schweiz. Milchztg. **87** (62), 381 (1961).
- 3 Bundesgesundheitsblatt 1961, Nr. 19, S. 310–312.
- 4 Persönliche Mitteilungen.
- 5 *F. Runge*, Einführung in die Chemie und Technologie der Kunststoffe, 2. Aufl. Akademie-Verlag, Berlin 1959, S. 110.
- 6 Kunststoffe und Lebensmittelgesetz, Bad. Anilin- u. Sodafabrik, Ludwigshafen 1961.
- 7 *L. Robinson-Görnhardt*, Kunststoffe, **48**, 463–469 (1958).
- 8 *G. Jellinek*, Fette, Seifen, Anstrichmittel; Die Ernährungsindustrie **60**, 113, 300 (1958).
- 9 *F. Kiermeier*, *G. Wildbrett* und *G. Schattenfroh*, Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung **109**, 43–53 (1959).

Wir sprechen Herrn *K. Moser* auch an dieser Stelle unseren Dank für die Mithilfe bei Durchführung der Versuche aus.

Nachweis von Antioxydantien in Fetten und andern Lebensmitteln

Von *K. W. Biefer*

(Oel- und Fettwerke SAIS, Horn TG)

Einleitung

Die meisten Fette und Oele, gleichgültig welcher Art und Herkunft, besitzen nur eine begrenzte Haltbarkeit. Neben biologischen Einflüssen (Enzyme und Mikroorganismen) ist die chemische Einwirkung des Sauerstoffs, unterstützt durch Licht, Wärme und Schwermetallspuren (Kupfer und Eisen), die Ursache von Verderbserscheinungen, die allgemein mit dem Begriff «ranzig» taxiert werden. Je nach Herkunft und Zusammensetzung der Fettstoffe kann entweder der biologisch oder der oxydativ bedingte Fettverderb vorherrschen, oder beide Vorgänge laufen nebeneinander ab.

Die Fette, vor allem diejenigen pflanzlicher Herkunft, enthalten natürliche Schutzstoffe, die den oxydativen Abbau hemmen. Daneben hat aber die chemische Industrie Stoffe entwickelt, die, den Fetten zugesetzt, diese Schutzwirkung in noch verstärktem Maße ausüben.

Die Verwendung von Antioxydantien in Lebensmitteln dient vor allem der Erhaltung volkswirtschaftlicher Werte, woran alle lebensmittelverarbeitenden Betriebe und vor allem der Staat interessiert sind.

Da nun viele dieser Substanzen in reiner Form toxische Stoffe sind, wirft der Zusatz dieser Verbindungen naturgemäß auch Fragen der Verträglichkeit und medizinischen Unbedenklichkeit¹ auf, die vor allem die Lebensmittelüberwachung interessieren müssen.

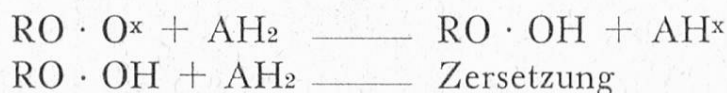
Wir geben nun in der Folge eine Methode zum Nachweis der gebräuchlichsten Antioxydantien in Fetten und den daraus hergestellten Lebensmitteln (Carry through Effekt) bekannt, die in ihrer Art einfach, schnell und sicher durchzuführen ist. Diese Methode hat sich in unseren eigenen Untersuchungen und denjenigen befreundeter Laboratorien des In- und Auslandes seit 1958 bestens bewährt.

Chemismus der Antioxydantien

*Seher*² hat in einer tabellarischen Zusammenstellung alle Verbindungen erwähnt, die in dieser oder jener Art als Antioxydantien Verwendung fanden. Ueber die gesetzliche Zulassung in den einzelnen Ländern verweisen wir auf die Arbeit von *Tollenaar* und *Uos*³.

Da die Antioxydantien mehr oder weniger starke Reduktionsmittel sind, lenken sie den Luftsauerstoff vorzugsweise auf sich und geben so dem Fett einen Schutz, der allerdings zeitlich begrenzt ist.

Eine andere Möglichkeit der Schutzwirkung besteht darin, daß bereits gebildetes Hydroperoxyd-Radikal durch ein wasserstoffabgebendes Antioxydans umgewandelt wird und unter Kettenabbruch zerfällt.



oder auch



So komplex und vielfältig die Reaktionen auch sein können, so haben sich doch nur wenige Substanzen in der Praxis halten können, und unsere Untersuchungen erstrecken sich ausschließlich auf den analytischen Nachweis dieser Agentien.

Extraktion und Identifikation der Antioxydantien

a) Aus Fettprodukten

Um in Fettprodukten reduzierende Substanzen einwandfrei nachweisen zu können, dient folgender, bereits 1956 im Labor des VSK entwickelter Test⁴ der Bildung von Turnbillsblau, der auf der Reduktion von Eisen-III-sulfat in Gegenwart von Kaliumhexacyanoferrat (III) beruht. Folgende Substanzen wurden getestet:

Tabelle 1

Substanz	Turnbullsbläu-Reaktion
Butyliertes Hydroxyanisol	+
Butyliertes Hydroxytoluol	±
Propylgallat	++
Octylgallat	++
Decylgallat	+
Dodecylgallat	+
Nordihydroguajaretsäure	+++
Syringasäure-propyl-ester	+
Tocopherole	+
Sesamol	++
Ascorbylpalmitat	+

± schwach positiv
 + positiv
 ++ stark positiv
 +++ intensiv positiv

Diese Reaktion erlaubt nun ein Erkennen der reduzierenden Zusätze, gibt jedoch keine Aussage, um was für eine Substanz es sich handelt. Wir haben nun die Antioxydantien nach dem Befund von *Mahon* und *Chapman*⁵ sowie *Högl* und *Wenger*⁶ mit 72 % Aethanol extrahiert, was den Vorteil bietet, daß natürlich vorkommende Tocopherole praktisch nicht extrahiert werden. Nach diesem Vorgehen ist allerdings butyliertes Hydroxytoluol nur unvollständig zu erfassen, da es wegen seiner guten Fettlöslichkeit nur sehr schwer in den 72-prozentigen Alkohol übergeht.



Figur 1

In diesem Falle wendet man mit Vorteil die Arbeitsweise von *ter Heide*⁷ an. Dabei wird das in Cyclohexan gelöste Fett auf eine Kieselgelsäule gegeben, die nach der Vorschrift von *Phillips* und *Hinkel*⁸ hergestellt ist. Nach der Elution mit Cyclohexan liegt das BHT angereichert in den ersten 50 ml vor, die mit absolutem Methanol erschöpfend extrahiert werden. Der eingengte Methanolextrakt wird nun zur Ausführung der Reaktion verwendet.

Wir haben in zahlreichen Modellversuchen und auch an Handelsprodukten die Methode getestet. Aus Suppenpräparaten wurde der Fettanteil extrahiert und darin zugesetzte Antioxydantien nachgewiesen. Dabei kann es allerdings zu gewissen Störungen des einwandfreien Nachweises kommen, da die in den

Trockensuppen enthaltenen Gewürzmischungen kraft ihres Gehaltes an ätherischen Oelen (Oxyphenole) ebenfalls positive Reaktionen ergeben können. In diesen Fällen ist immer eine papierchromatographische Auftrennung durchzuführen, wobei dann anhand der Rf-Werte eindeutig ausgesagt werden kann, ob Antioxydantien oder reduzierende Substanzen aus den Gewürzzumischungen anwesend sind.

Endlich haben wir noch durch zahlreiche Backversuche (im Backofen und durch Schwimmdbacken) den sogenannten Carry-through Effekt getestet; mit anderen Worten, die Nachweisbarkeit der Antioxydantien im extrahierten Fett war nach diesen back- und küchentechnischen Behandlungen in allen Fällen noch vorhanden.

Die Wirkung (Oxydationsschutz) der verschiedenen Antioxydantien auf das verwendete Fett (geh. Erdnußfett) geht aus Tabelle 2 und 3 hervor. Es wurde dabei ein sogenannter geriebener Teig aus 1 kg Mehl und 400 g Fett hergestellt und damit die in den Tabellen 2 und 3 zusammengestellten Resultate erzielt.

Tabelle 2
Versuche im Backofen bei 200° C

Angewandtes Antioxydans	Anti-oxydans im Fett	Fettgehalt des Backgutes	POZ des extr. Fettes	Reaktion des Fettes auf AO	Sinnenprüfung des Backgutes
20 % Octylgallat 80 % BHA	0,02 %	37,5 %	0,85	positiv	normal
20 % Dodecylgallat 80 % BHA	0,02 %	37,7 %	0,70	positiv	normal
100 % Dodecylgallat	0,02 %	37,4 %	0,65	positiv	normal
100 % Sesamol *	0,02 %	37,5 %	0,90	positiv	leichter Phenolgeschmack, unangenehm
Ohne Zusatz	—	37,7 %	4,2	—	normal

Durch zwei- und mehrmaliges Schwimmdbacken im gleichen Fettbad ergibt sich eine sukzessive Erhöhung der Peroxydzahl. Die gefundenen Werte sind zusammengestellt in Tabelle 4

Diese Versuchsreihe zeigt den augenfälligen Effekt des Zusatzes von Antioxydantien auf die Peroxydzahl der Fette nach längerem Gebrauch. Der Nachweis ist auch hier, nach mehrmaligem Verwenden, noch einwandfrei zu erbringen.

Tabelle 3
Schwimmendbackversuch bei 180° C

Angewandtes Antioxydans	Anti-oxydans im Fett	Fettgehalt des Backgutes	POZ des		Reaktion des Fettes auf AO	Sinnenprüfung des Backgutes
			extr. Fettes	Fett-bades		
20 % Octylgallat 80 % BHA	0,02 %	42,7 %	1,3	2,1	positiv	normal
20 % Dodecylgallat 80 % BHA	0,02 %	42,2 %	1,0	1,4	positiv	normal
100 % Dodecylgallat	0,02 %	42,3 %	0,95	1,3	positiv	normal
100 % Sesamol *	0,02 %	42,0 %	1,5	1,8	positiv	Phenolgeschmack, unangenehm
Ohne Zusatz	—	42,8 %	3,9	5,2	—	normal

* Sesamol wirkt bei einem Zusatz von 0,02 % prooxydativ. Bei einem Zusatz von 0,003 % bis 0,005 % ist der Oxydationsschutz bedeutend besser; der phenolische Nebengeschmack im Backgut tritt nicht mehr in Erscheinung. (Private Mitteilung von Herrn Dr. Ignatius von der Firma Naarden, Bussum [Holland].)

Tabelle 4

Angewandtes Antioxydans	Anti-oxydans im Fett	1. Backen POZ des		2. Backen POZ des		4. Backen POZ des		Reaktion des Fettes auf AO nach dem 4. Backen	Sinnenprüfung des Backgutes
		extr. Fettes	Fett-bades	extr. Fettes	Fett-bades	extr. Fettes	Fett-bades		
20 % Octylgallat 80 % BHA	0,02 %	1,3	2,1	1,8	3,0	2,7	4,5	positiv	normal, evtl. leichter Nebengeschmack
20 % Dodecylgallat 80 % BHA	0,02 %	1,0	1,4	1,7	2,7	1,9	3,7	positiv	normal
100 % Dodecylgallat	0,02 %	0,95	1,3	1,4	2,0	1,5	3,7	positiv	normal
100 % Sesamol*	0,02 %	1,5	1,8	2,2	3,0	2,7	4,6	positiv	Nebengeschmack
Ohne Zusatz	—	3,9	5,2	5,7	8,1	8,9	11,2	—	normal

Papierchromatischer Nachweis der Antioxydantien

Als einfaches, für die meisten bekannten Antioxydantien gebräuchliches Laufmittel beliebte eine Mischung von 20 Vol. % Essigsäure (98/99 %) und 80 % Wasser. Chromatographiert wurde auf Papier Schleicher & Schüll 2043b sowohl nach dem Zirkular-Radialverfahren als auch auf- und absteigend. Die besten Trennungen wurden aufsteigend und zirkular erreicht. Laufzeit etwa

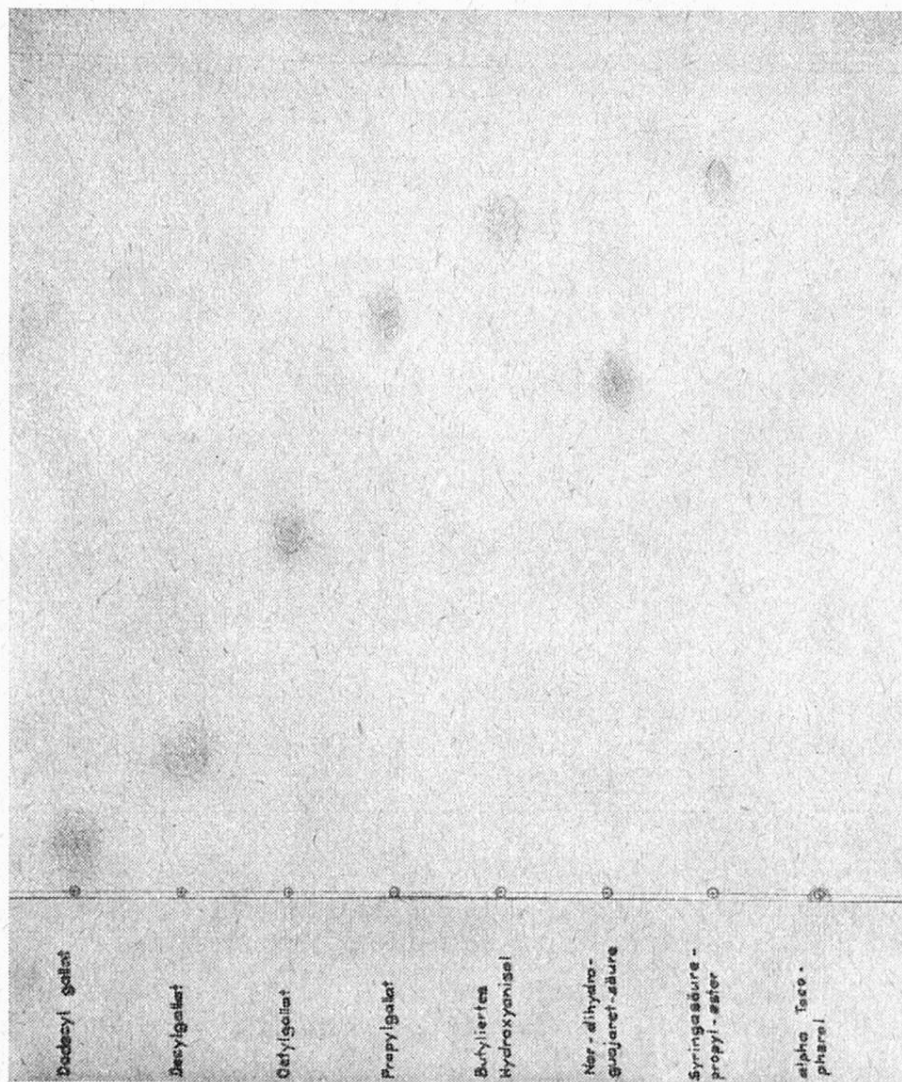
3 Stunden. Die Trennungen beim Laufen des Lösungsmittels 90° gegen die Maschinenrichtung des Papiers sind schärfer, die Laufzeit ist aber ca. 25 % länger. Wir haben von reinen Testsubstanzen jeweils Mengen von 0,5 bis 5 γ aufgetropft, wobei die minimalste, noch deutlich erkennbare Menge bei 0,3 bis 0,5 γ liegt. Bei BHT liegt allerdings die minimalste Erfassungsgrenze bei 40 γ .

Es ist also praktisch möglich, jede noch so geringe Menge künstlicher Antioxydantien eindeutig festzustellen. Das Verfahren ist daher ebenso leistungsfähig wie die *Sehersche* Dünnschichtchromatographiemethode ⁹ (Fig. 2a, 2b, 2c).

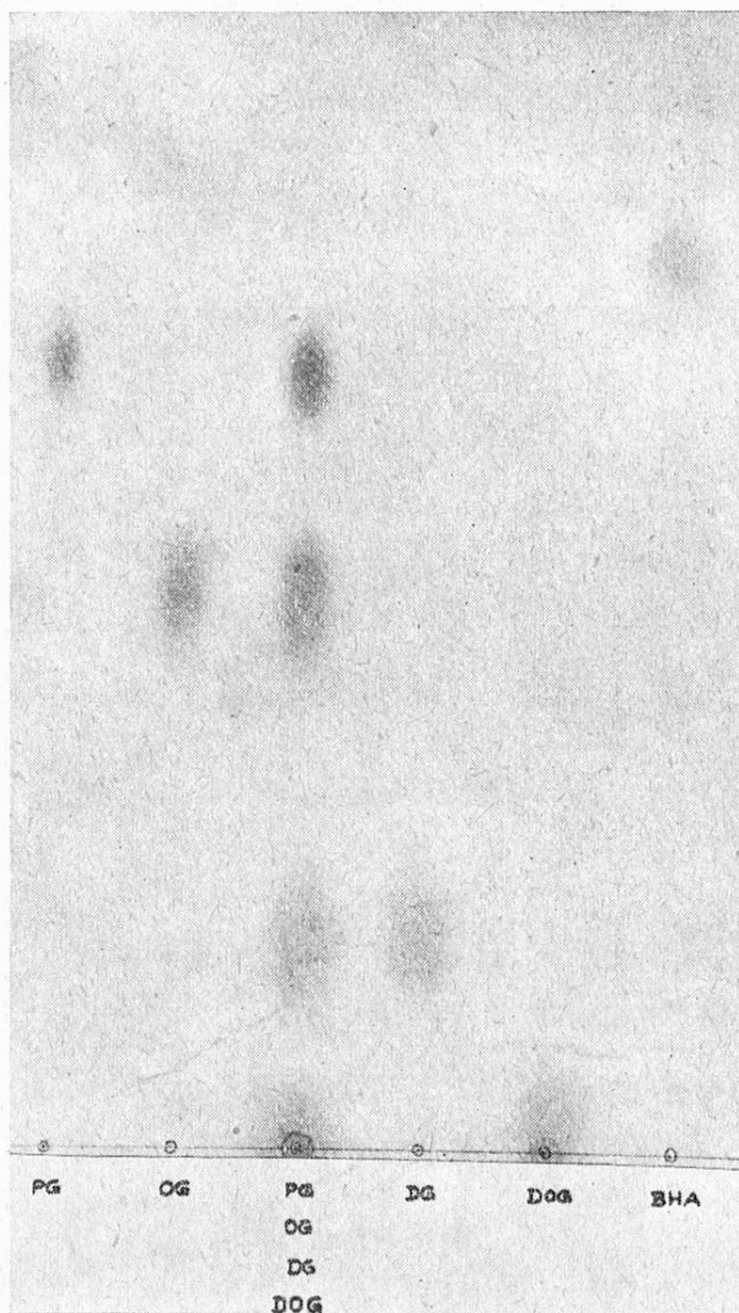
Folgende Rf-Werte (aufsteigend) konnten festgestellt werden:

Tabelle 5

Syringasäurepropylester	0,89	Octylgallat	0,50
Butyliertes Hydroxyanisol	0,77	Decylgallat	0,17
Sesamol	0,80	Dodecylgallat	0,07
Propylgallat	0,70	α , γ , δ -Tocopherole	0
Nor-dihydroguajaretensäure	0,60	Butyliertes Hydroxytoluol	0



Figur 2a



Figur 2b



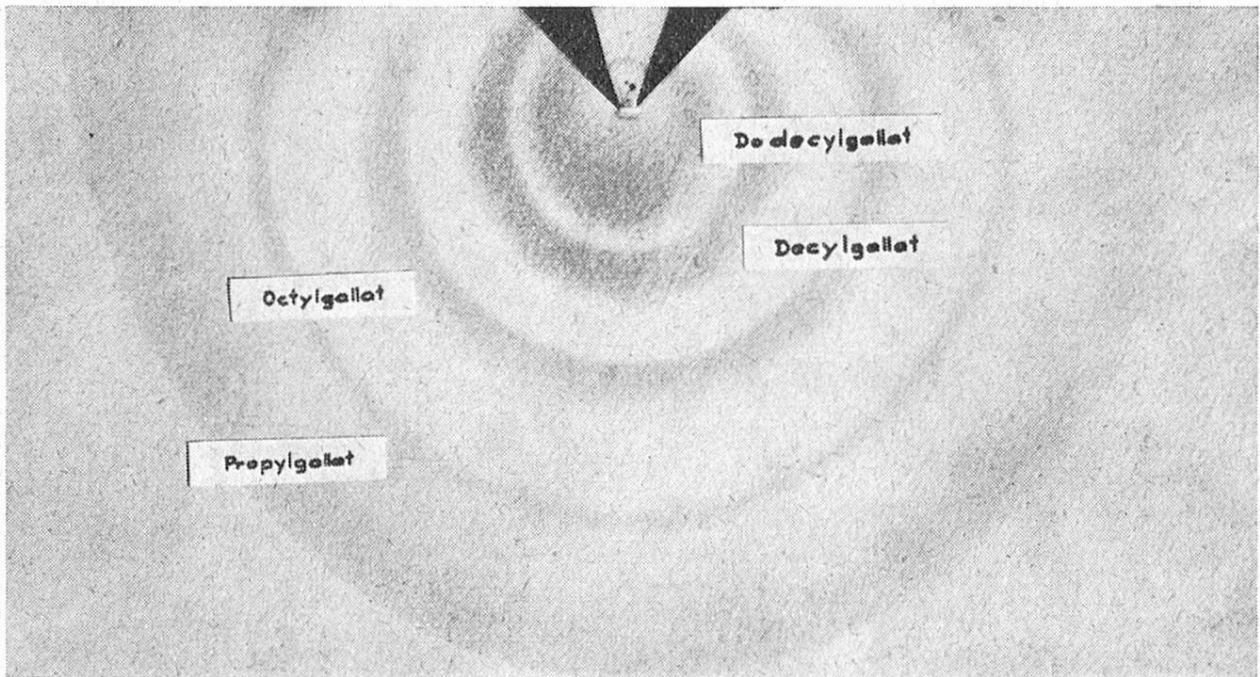
Figur 2c

Die Sichtbarmachung der Substanzen erfolgt wiederum mit der Turnbullaureaktion. Versuche wurden auch angestellt mit Ammoniumvanadat (meta) nach der Methode von *Klinkhammer*¹⁰, doch waren die erzielten schwarzen Flecken auf gelbem Hintergrund nur bei den Gallaten deutlich.

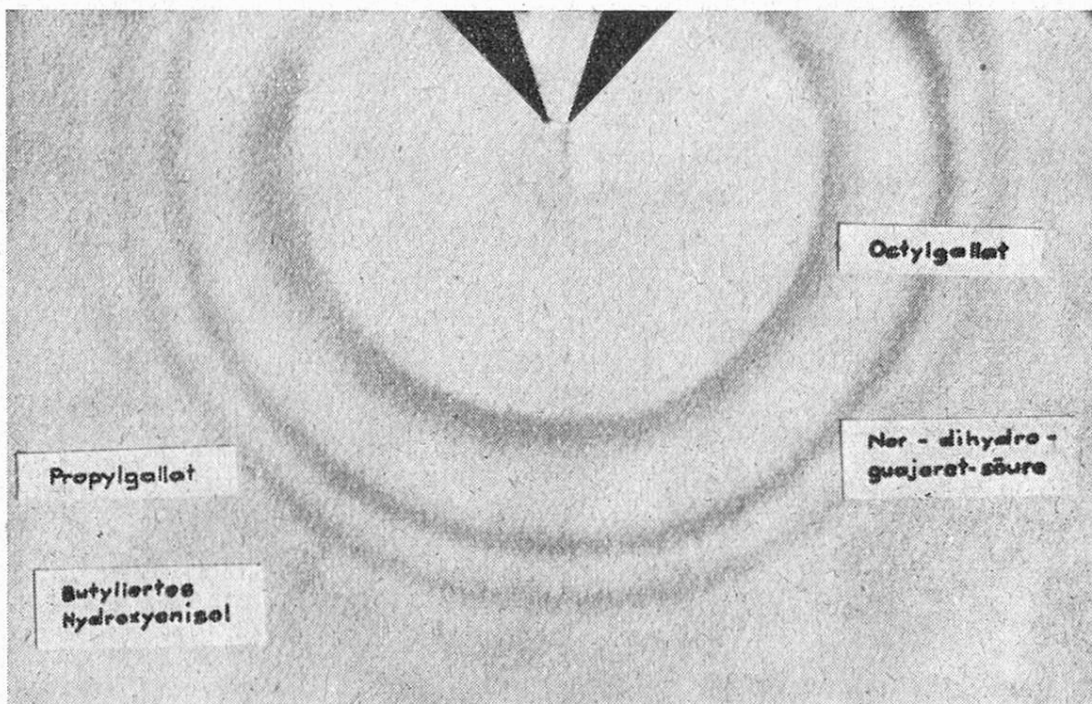
Da die Rf-Werte von Sesamol und BHA sehr nahe beieinander liegen, weisen wir Sesamol durch Besprühen mit einer salzsauren alkoholischen Lösung von Furfurol (20/oig) nach. Sesamol erzeugt den charakteristisch rot-violetten Flecken. Die Unterscheidung von Tocopherol und BHT ist etwas problematisch und war nur auf Grund der verschiedenen Farbe der Flecken möglich. Toco-

pherole geben rein blaue Flecken, währenddem der BHT-Fleck einen deutlichen Stich ins grüne aufweist.

Wie schon mitgeteilt, wurden auch Tests nach der Radialtechnik von *Sulser*¹¹ ausgeführt und damit durchwegs einwandfreie Trennungen erzielt, jedoch ist dabei die aufzutropfende Menge Substanz in der Regel etwas größer (ca. 15 bis 25 γ) zu wählen (Fig. 3a, 3b).

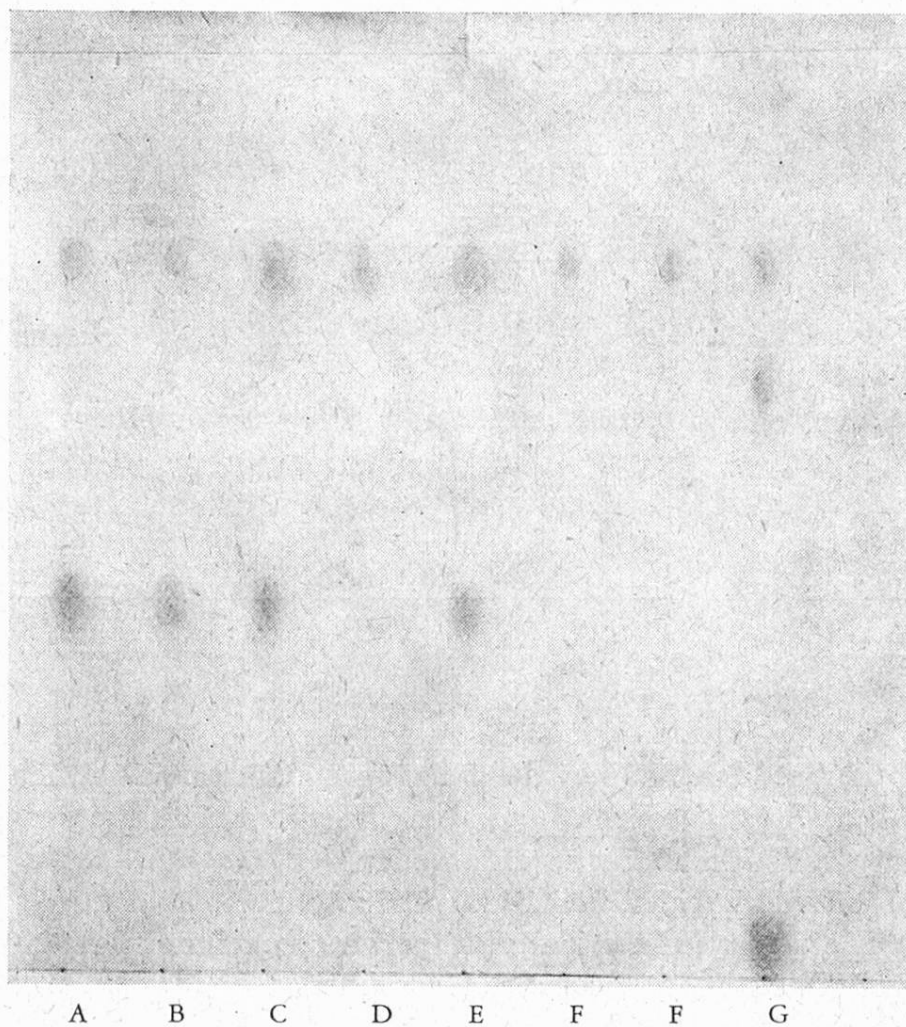


Figur 3a



Figur 3b

Wir haben in diverse Eigenprodukte labormäßig Antioxydantien eingearbeitet und ihre Nachweisbarkeit nach unserer Methode getestet. Es konnten durchwegs in allen Proben die zugesetzten AO nachgewiesen und bestimmt werden (Fig. 4a).



Figur 4a

Tabelle 6

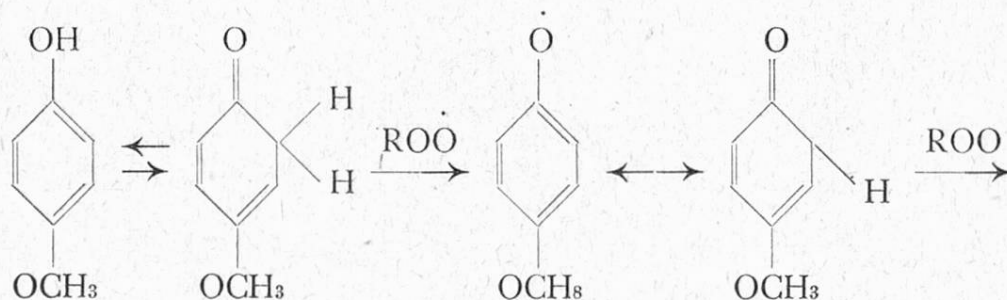
	Labormäßig zugesetzte AO	Nachgewiesene Substanzen
Produkt A	0,002 % Octylgallat 0,008 % BHA	BHA, Octylgallat
Produkt B	0,002 % Octylgallat 0,008 % BHA	BHA, Octylgallat
Produkt C	0,002 % Octylgallat 0,008 % BHA	BHA, Octylgallat
Produkt D	0,020 % BHA	BHA
Produkt E	0,002 % Octylgallat 0,008 % BHA	BHA, Octylgallat
Produkt F	0,020 % BHA	BHA
Produkt G	0,002 % Propylgallat 0,002 % Dodecylgallat 0,006 % BHA	PG, DOG, BHA

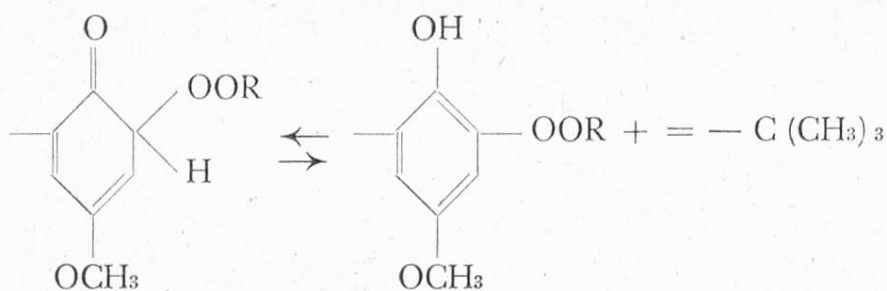
Schlußbetrachtungen

Es wurden außer den in der Schweiz gesetzlich zugelassenen Substanzen noch Decylgallat, Syringasäurepropylester, Nordihydroguajaretsäure, Sesamol und BHT mit in die Untersuchung einbezogen.

Wie schon erwähnt, muß bei BHT bedeutend mehr Extrakt aufgetropft werden (siehe Methodik); die erzielten Flecken erscheinen nicht rein blau, sondern weisen einen deutlichen Stich ins Grüne auf.

BHA kann im Fette mit einem Peroxyradikal in Reaktion treten, wobei Hydroperoxyd gebildet wird. Aus dem Butyl-Hydroxyanisol entsteht das mesomere Radikal Phenoxyl. Durch weitere Umsetzung mit einem Peroxyd wird eine stabile Verbindung gebildet, die die Turnbillsblaureaktion nur noch schwach oder überhaupt nicht mehr gibt.





Da diese Umsetzungen bei allen phenolischen Antioxydantien prinzipiell ähnlich erfolgen können, sind verschiedene Artefakte möglich, über deren physiologische Unbedenklichkeit wie auch deren Nachweisbarkeit wenig bekannt ist. Einzig bei den Tocopherolen und vielleicht auch beim Ascorbylpalmitat ist man über die physiologischen Eigenschaften der Folgeprodukte derart orientiert, daß man von einer Unbedenklichkeit sprechen kann.

In der Schweiz liegen nun die Dinge so, daß, wenn man von der Butter absieht, mehrheitlich vegetabile Fettstoffe konsumiert werden. Diese Pflanzenfette enthalten nun natürliche Schutzstoffe (Tocopherole) in solchen Mengen, daß ein künstlicher Zusatz a priori als unnütz oder doch wenig wirksam außer Betracht fällt.

Anders verhalten sich die animalischen Fettstoffe, deren Oxydationsschutz wegen des fast vollständigen Fehlens der Tocopherole naturgemäß gering ist. Diesem Umstand trägt nun die Lebensmittelverordnung Rechnung und gestattet den Zusatz von BHA und Gallaten.

Wir geben diese Methode im Hinblick auf die Neuauflage des Lebensmittelbuches bekannt, in der Hoffnung, damit einen kleinen Beitrag zur Lösung des Problems der Lebensmittelzusätze gegeben zu haben.

Methodik

Extraktion der Antioxydantien

5 g Fett (Margarine 5,9 g) werden geschmolzen und in 10 ml Petroläther gelöst. Darauf wird mit 15 ml 72 %o-Aethanol (bei Margarine 15 ml 77 %o-Aethanol) versetzt und 5 Minuten kräftig geschüttelt. Nach erfolgter Schichtentrennung wird der Alkoholextrakt abgelassen und kann direkt zur Weiteruntersuchung verwendet werden.

Erkennen reduzierender Substanzen

0,05 bis 0,1 ml obigen Extraktes werden auf einen Filtrierpapierstreifen aufgetropft und nach dem Verdampfen des Alkohols 5 Minuten in eine Mischung von 100 ml 0,2 %o-Eisen-III-sulfat und 100 ml Kaliumhexacyanoferrat (III) getaucht. Blaufärbung zeigt Antioxydantien an.

Diese Probe kann auch direkt mit Fett oder Oel durchgeführt werden, wobei die Einwirkungszeit des Färbekades jedoch länger sein muß (mindestens 10

Minuten). Arbeitsweise direkt mit Fett hat den Nachteil, daß auch Tocopherole mitbestimmt werden, was bei Verwendung des 72 %/o-Alkoholextraktes praktisch nicht auftritt.

Papierchromatographie

Auftragen der Substanzen

Die verwendeten Testsubstanzen sind in 95 %/o-Alkohol gelöst, während die Extrakte 72 %/o alkoholhaltig sind.

1 μ l der Testsubstanzen enthält 2 γ Antioxydantien; bei BHT mind. 40 γ .

Die Extrakte enthalten bei 0,02 %/o Zusatz und vollständiger Extraktion in 1 μ l 0,66 γ . Wir liegen also hier bereits an der unteren Grenze der Nachweisbarkeit.

Die Extrakte aus rein tierischen Fetten wurden jeweils zu 5 μ l oder ein Mehrfaches davon aufgetropft, bei Mischungen pflanzlicher mit tierischen Fetten ein Vielfaches von 5 μ l bis max. 0,2 ml.

Laufmittel: 20 Vol. %/o Essigsäure Ph. H. V.
80 Vol. %/o Wasser dest.

Papier: Schleicher & Schüll 2043b gl.
Ein Konditionieren des Papiers ist nicht nötig.

Laufzeit: Laufrichtung = Maschinenrichtung des Papiers: 2 $\frac{1}{2}$ bis 3 Std.
Laufrichtung rechtwinklig zur Maschinenrichtung: 4 $\frac{1}{2}$ bis 5 Std.

Chromatographiertemperatur: 20° C \pm 1°

Anfärben: Bad: 100 ml 0,2 %/o Eisen-III-sulfat
100 ml 0,1 %/o Kaliumhexacyanoferrat (III)

Anfärbezeit 5 bis 10 Minuten, hell- bis dunkelblaue Flecken. Auswaschen in fließendem kaltem Wasser. Trockenlassen der Streifen an der Luft. Flecken unbeschränkt haltbar.

Zusammenfassung

Es wird über eine Methode zum papierchromatographischen Nachweis der gebräuchlichsten Antioxydantien berichtet und die erzielten Resultate diskutiert.

Résumé

Description d'une méthode de détection des antioxydants les plus courants par chromatographie sur papier et discussion des résultats obtenus.

Summary

Description of a method for the detection of the most usual antioxidants by paper chromatography and discussion of the results.

Literatur

- 1 O. Högl, diese Mitt. **45**, 357 (1954).
- 2 A. Seher, Fette und Seifen **58**, 112 (1956).
- 3 F. D. Tollenaar und H. J. Vos, Fette und Seifen **58**, 112 (1956).
- 4 H. Hadorn und K. W. Biefer, diese Mitt. **47**, 445 (1956).
- 5 J. H. Mahon und R. A. Chapman, Analytic. Chem. **23**, 1116 und 1120 (1951).
- 6 O. Högl und F. Wenger, diese Mitt. **45**, 383 (1954).
- 7 R. ter Heide, Fette und Seifen **60**, 360 (1958).
- 8 M. A. Phillips und R. D. Hinkel, J. Agric. Food Chem. **5**, 379 (1957).
- 9 A. Seher, Fette und Seifen **61**, 345 (1959).
- 10 F. Klinkhammer, Naturwissenschaften **45**, 571 (1958).
- 11 H. Sulser, diese Mitt. **48**, 248 (1957).

Wir danken der Verwaltung und Direktion der Oel- und Fettwerke SAIS für die Erlaubnis zur Veröffentlichung dieser Arbeit.

Für die Durchführung verschiedener praktischer Versuche in der Versuchsbäckerei sind wir der AG Gattiker & Cie., Rapperswil, zu Dank verpflichtet.

Den ASTRA Fett- und Oelwerken, Steffisburg, danken wir für die Ueberlassung verschiedener Testsubstanzen.