

Gaschromatographischer Nachweis und Bestimmung von Lebensmittelemulgatoren

Autor(en): **Dick, R. / Miserez, A.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **67 (1976)**

Heft 4

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982970>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Gaschromatographischer Nachweis und Bestimmung von Lebensmittelemulgatoren

R. Dick und *A. Miserez*
Eidg. Gesundheitsamt, Bern

Einleitung

Lebensmittel lassen sich vielfach nur unter Verwendung von Hilfsmitteln oder Zusatzstoffen herstellen. Zu den Zusatzstoffen gehören Emulgatoren, die schon in kleinen Mengen, das heißt weniger als 0,5%, emulgierend oder emulsionsstabilisierend wirken. Nach dem chemischen Charakter werden, trotz fließenden Grenzen, nichtionogene, ampholytische, kationogene und anionogene Emulgatoren unterschieden. Ihnen allen gemeinsam ist das Vorliegen eines hydrophilen und eines lipophilen Molekülteils.

Identitäts- und Reinheitsnormen vieler Emulgatorklassen wurden von der FAO/OMS aufgestellt (1, 2). Die Spezifikationen, das heißt physikalische, chemische und biologische Eigenschaften einer großen Anzahl von Emulgatoren sind bekannt. Verschiedene Autoren (3—11) haben Säulen-, Papier- und Dünnschichtchromatographie sowie IR-Spektroskopie auf diesbezügliche Probleme angewandt.

Unter den verschiedenen in der Tabelle 1 aufgeführten Emulgatortypen, die als Zusatzstoffe in der Lebensmittelindustrie angewendet werden können, erschien uns eine Bestimmungsmethode für die Emulgatoren YN und Polyglycerinpolyricinoleat (PGPR) (9. und 10.) naheliegend und für die Lebensmittelkontrolle angezeigt zu sein. Naheliegend in dem Sinne, daß die Moleküle der beiden Emulgatortypen je eine charakteristische Fettsäure enthalten. Angezeigt, da diese beiden Emulgatortypen zurzeit als Zusatzstoffe in Schokoladen u. ä., begrenzt auf Maximalmengen von 0,3% bzw. 0,5%, zugelassen sind.

Unter der vom wissenschaftlichen Standpunkt aus nicht haltbaren Umschreibung «synthetisches Lecithin» sind Ammoniumsalze von Phosphatidsäuren als Emulgator YN im Handel. Hierbei handelt es sich um Ammoniumglycerophosphate aus Glycerinfettsäureestern des Rapsöls (2, 12) mit der allgemeinen Formel $R_3P=O$, wobei R Mono- oder Diglycerid, Hydroxyl- oder $-O^-NH_4^+$ sein kann. Teilweise sind je zwei Phosphorsäureester-Moleküle miteinander zu Phosphatidylphosphatiden verbunden (2).

Bei der Herstellung des Emulgators YN dient teilweise gehärtetes Rapsöl als Ausgangsmaterial. Nach der hydrolytischen Spaltung der Glycerinfettsäureester unter Einwirkung von Glycerin werden die nicht näher definierten Reak-

Tabelle 1

In der Lebensmittelindustrie zur Anwendung gelangende Emulgatoren
(nach der schweizerischen Positivliste)

1. Lecithin
2. Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren
3. Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren, verestert entweder mit Zitronensäure oder Diacetylweinsäure oder Essigsäure oder Milchsäure oder Weinsäure oder Essigsäure und Weinsäure
4. Polyglycerinester von Speisefettsäuren
5. 1,2-Propylenglycolester von Speisefettsäuren
6. Zuckerester (Saccharose, verestert mit Speisefettsäuren)
7. Zuckerglyceride (Gemisch von Zuckerestern mit Mono- und Diglyceriden)
8. Natrium-, Kalium-, Calciumstearoyl-2-lactylat
9. Ammoniumsalze von Phosphatidsäuren (Emulgator YN)
10. Polyglycerinester von polykondensierter Ricinolsäure (PGPR)
11. Natriumlaurylsulfat

tionsprodukte mit Phosphorpentoxid phosphoryliert und anschließend mit gasförmigem Ammoniak neutralisiert. Der handelsübliche Emulgator enthält außer den erwähnten Phosphatiden Anteile nicht umgesetzten Rapsöls (12). Der Emulgator PGPR ist ein Kondensationsprodukt aus polymerisiertem Glycerin und untereinander kondensierten Fettsäuren des Rizinusöls (13). Eine Verseifung liefert in der Hauptsache wasserlösliches Mono-, Di- und Triglycerin (14) einerseits und verschiedene Fettsäuren, insbesondere Ricinolsäure mit einem Anteil von im Mittel 80%, andererseits. Das Verhältnis der wasserlöslichen Polyglycerine zu den petrolätherlöslichen Fettsäuren ist abhängig vom Polymerisationsgrad. Er schwankt für Glycerin zwischen 5 und 8 und beträgt für Ricinolsäure im Mittel 3 Monomereinheiten (2).

In der vorliegenden Arbeit wird ein Vorschlag gemacht, wie die Emulgatoren YN und PGPR nachgewiesen, identifiziert und bestimmt werden können. Zur Identifikation der beiden Emulgatortypen werden die charakteristischen Fettsäuren, im Falle des PGPR die Ricinolsäure, im Falle des Emulgators YN die Erucasäure herangezogen.

Lebensmittelemulgatoren und ihr gaschromatographischer Nachweis

Zu den nichtionogenen Emulgatoren gehören Fettsäureester mehrwertiger Alkohole, wie z. B. Glycol, Glycerin, Sorbit bzw. Sorbitan, gewisse Zucker, ferner polyoxiäthylerte und andere polymerisierte Alkohole. Solche Hydroxylgruppen

enthaltende Verbindungen lassen sich in leichtflüchtige Trimethylsilylderivate überführen, welche gaschromatographisch identifizierbar und bestimmbar sind. Zuvor werden die zu untersuchenden Emulgatoren einer alkalischen Hydrolyse unterworfen (1). Die Verseifungsprodukte werden durch Ausschütteln in Wasser/Petroläther abgetrennt; anschließend werden die aus der wässrigen Phase isolierten Alkohole und die aus der Petrolätherphase isolierten Fettsäuren zu den entsprechenden Trimethylsilyläthern bzw. -estern deriviert (15—17). Die Trimethylsilylderivate werden schließlich gaschromatographisch untersucht.

Analog kann die Aufarbeitung eines in einem Lebensmittel, wie Schokolade, Kakaopulver, Margarine u. ä., vorliegenden Emulgators erfolgen. Dieser wird zusammen mit den Fetten mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert und, wie oben erklärt, weiterverarbeitet. Von Kröller (5) ist als Extraktionsmittel Benzol vorgeschlagen und anfänglich von uns übernommen worden; die hohe Toxizität des Benzols hat uns jedoch dazu geführt, ein anderes Lösungsmittel mit ähnlichen Eigenschaften, Toluol, anzuwenden.

Wenn, wie z. B. bei der Untersuchung von silylierten Verseifungsprodukten der Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren in fetthaltigen Lebensmitteln, gaschromatographisch ein Emulgatorzusatz nicht feststellbar ist, bieten sich als brauchbare Analysemethoden die Dünnschichtchromatographie (18, 19) und die direkte Gaschromatographie ohne Verseifung an (19).

Für bestimmte Emulgatoren mit relativ hohem Gehalt an Hydroxylgruppen, bezogen auf das Molekulargewicht, ist die direkte Silylierung ohne vorausgehende Verseifung vorgeschlagen worden. So lassen sich Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren (20, 21) und teilweise veresterte Di-, Tri- und weitere Polyglycerinverbindungen (14) als Trimethylsilyl- oder andere Esterderivate gaschromatographisch nachweisen.

Andere direkte Analysemethoden, wie die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie, können sogar ohne vorausgehende Derivierung generelle Nachweismöglichkeiten für Emulgatoren bieten (22).

Nachweisbarkeit von PGPR und Emulgator YN

PGPR- bzw. YN-Muster verschiedener Herkunft wurden untersucht und untereinander verglichen (Tabelle 2). Im Unterschied zu den zwei YN-Mustern zeigen die Verseifungsprodukte der PGPR-Muster gewisse quantitative Variationen in bezug auf die Referenzsubstanz (Eruca- bzw. Ricinolsäure) einerseits und die Gesamtglycerine (14) sowie das Verhältnis der Glycerine zueinander andererseits.

Fetthaltige Lebensmittel enthalten normalerweise keine Ricinolsäure. Da die Ricinolsäure den Hauptbestandteil des Fettsäurespektrums von PGPR darstellt (Abb. 1a), kann der gaschromatographische Nachweis des Emulgators in einem Lebensmittel über diese Fettsäure erfolgen. Im Gaschromatogramm erscheint die Ricinolsäure (12-Hydroxiölsäure) bzw. ihr Trimethylsilylester bei den gewählten

Tabelle 2. Gehalt an charakteristischen Fettsäuren und Polyolen der Emulgatoren PGPR und YN

Emulgator Muster	Bezeichnung	Herkunft	Aussehen	Verseifungsprodukte		Verhältnis Mono/Di/Tri- Glycerin
				Charakteristische Fettsäure* (% der Gesamtfettsäuren)	Polyole** (% der Gesamtpolyole)	
PGPR 1	Polyglycerol- Polyricinoleat	LMB- Subkomm. 23	klar gelblich flüssig	83% Ricinolsäure	84% Glycerine	24/23/10
PGPR 2	Crester PR MP 3216	Croda Ltd.	klar gelb flüssig	80% Ricinolsäure	75% Glycerine	12/24/10
PGPR 3	ADMUL W.O.L.	FIL	klar hellgelb flüssig	69% Ricinolsäure	83% Glycerine	14/22/10
PGPR 4	ADMUL W.O.L.	Hefti AG/ FIL	klar braun flüssig	85% Ricinolsäure	89% Glycerine	19/26/10
YN 1	GDR- Phosphat E-1453	Hefti AG	klar gelb-braun flüssig	12% Erucasäure	98% Glycerin	—
YN 2	YN-100	LMB- Subkomm. 23	wachsig grau-braun fest	13% Erucasäure	96% Glycerin	—

* Gesamtfettsäuregehalt
 PGPR: 57—75% (Mittelwert 63%)
 Ricinolsäure = 79% der Gesamtfettsäuren
 YN: 46—68% (Mittelwert 57%)
 Erucasäure = 12,5% der Gesamtfettsäuren

** Kakao: 98% Glycerin
 Margarine: 99% Glycerin

Bedingungen unmittelbar nach der Stearinsäure bzw. ihrem Trimethylsilylester. Identifizierung und quantitativer Nachweis lassen sich mittels Vergleichschromatogrammen bzw. internem Standard ausführen. Der Nachweis sehr kleiner PGPR-Zusätze (bis etwa 0,1%) kann als sicher bezeichnet werden. Die Untersuchung der Polyolzusammensetzung aus der wässrigen Phase gibt bei Vorhandensein von Di- und Triglycerin (14) einen zusätzlichen Hinweis auf PGPR (Abb. 1b).

Einige Schwierigkeiten bereitet die Analyse von YN-haltigen Lebensmitteln. Die hierfür zugrunde gelegte Erucasäure macht unter den Fettsäuren der beiden untersuchten Muster lediglich etwas mehr als 10% aus (Tabelle 2 und Abb. 1c) gegenüber den 80% Ricinolsäure bei PGPR (Abb. 1a).

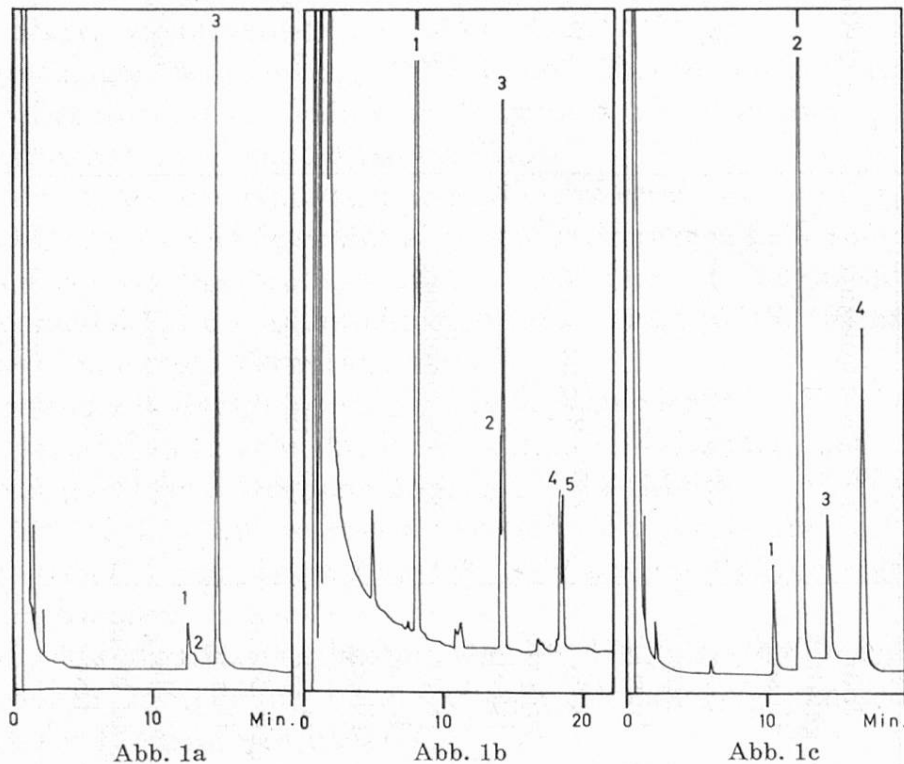


Abb. 1. Gaschromatogramme von Emulgatorverseifungsprodukten in Form ihrer Trimethylsilyl(TMS)-derivate, Säule: 4% SE-30 auf Chromosorb G, 60—80 mesh.

1a Fettsäure-TMS-Ester aus PGPR

Ofentemperatur programmiert von 150°C + 8°/min bis 270°C

Peak	1	Oelsäure
	2	Stearinsäure
	3	Ricinolsäure

1b Polyol-TMS-Aether aus PGPR

Ofentemperatur programmiert von 70°C + 10°/min bis 270°C

Peak	1	Glycerin (Monoglycerin)
	2+3	Diglycerin*
	4+5	Triglycerin*

1c Fettsäure-TMS-Ester aus YN

Ofentemperatur programmiert von 150°C + 8°/min bis 270°C

Peak	1	Palmitinsäure
	2	C ₁₈ -Säuren**
	3	nicht identifiziert
	4	Erucasäure

* Möglicherweise Gemische aus linearen und verzweigten Isomeren (14).

** Ungesättigte Säuren, wie Oel-, Linol- und Linolensäure bei den gewählten Bedingungen nicht auftrennbar.

Es ist denkbar, daß das als Ausgangsmaterial benutzte Rapsöl einen noch niedrigeren Gehalt an Erucasäure oder praktisch keine aufweist. In diesem Fall ließe sich der Emulgator YN kaum noch nachweisen. Zudem muß beachtet werden, daß gewisse Lebensmittel, wie z. B. Margarine, Erucasäure enthalten können; unter diesen Umständen ist der Emulgator YN gemäß der angegebenen Arbeitsvorschrift nicht mehr nachweisbar.

Arbeitsvorschrift für den gaschromatographischen Nachweis der Emulgatoren PGPR und YN

Prinzip

Das Lebensmittel wird mit Toluol extrahiert. Man verseift den emulgatorhaltigen Extrakt und silyliert die erhaltenen Fettsäuren und Polyole. Die Silyl-derivate werden gaschromatographisch identifiziert und bestimmt.

Reagenzien und Lösungsmittel

- Toluol, zur Analyse
- Aethanolische Kaliumhydroxyd-Lösung, ca. 0,5 n
- Schwefelsäure, 10⁰/₀: 16 Teile Wasser auf 1 Teil Schwefelsäure, konz.
- Petroläther, Sdp. 40—60°C
- Natriumsulfat, wasserfrei
- Wässrige Kaliumhydroxid-Lösung, 10⁰/₀: 50 g Kaliumhydroxid in 500 ml Wasser
- Aethanol, absolut, zur Analyse
- Aethanol, 96Vol-⁰/₀
- Kieselgur
- Silylierungsreagenzien:
Pyridin, wasserfrei, für die Gaschromatographie
Tri-Sil Concentrate® (Pierce)

Stammlösungen zur Herstellung der Eichlösungen

100 mg Ricinol- bzw. Erucasäure in 2,2,4-Trimethylpentan (Iso-Octan) lösen und auf 100 ml auffüllen. Kühl und dunkel aufbewahrt sind diese Lösungen sehr lange haltbar.

Eichlösungen

Die Konzentration der Eichlösungen wird auf den Gehalt an spezifischer Fettsäure im Lebensmittel abgestimmt. Die oben beschriebenen Stammlösungen werden mit Petroläther verdünnt und unverdünnt angewendet, so daß die Konzentrationen an spezifischer Fettsäure zwischen 0,01 und 1,0 µg/µl liegen.

Geräte

- Zentrifugengläser, 80 ml, mit Schraubverschluß
- Glasfilternutsche G4
- Reacti-Vials® (Pierce), 0,1 ml Konus-Inhalt, Fassungsvermögen total 0,3 oder 1,0 ml*

Ausführung der Analyse

a) Extraktion des Lebensmittels

5—10 g zerkleinerte Schokolade werden durch Ausschütteln mit 50—80 ml Toluol, evtl. unter Verwendung eines Mixers, während 15 Minuten extrahiert.

Dann zentrifugiert man bei ca. 4000 Umdrehungen/min in verschlossenen Zentrifugengläsern während 15 Minuten. Das Ueberstehende soll klar durchsichtig sein; es wird vorsichtig mit einem Gummisauger abpipettiert und in einen Rundkolben übergeführt. Für Serienuntersuchungen ist anstelle des Pipettierens ein Absaugen mittels WITT-Topf besser geeignet (siehe Abb. 2).

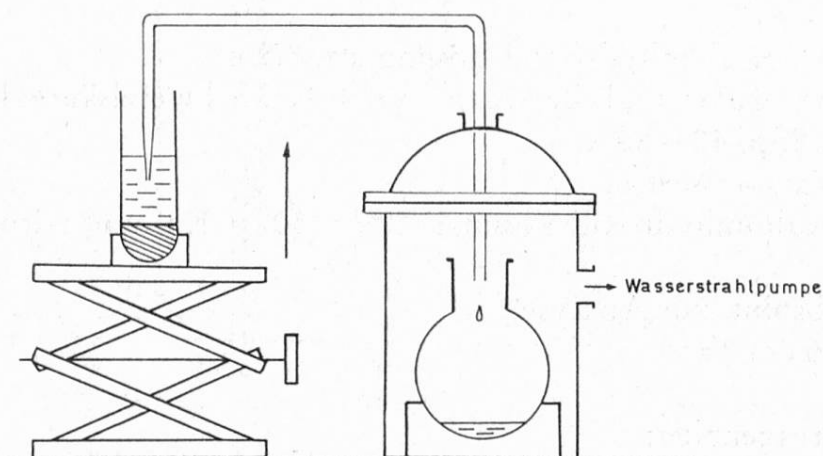


Abb. 2. Absaugvorrichtung

Nach einmaliger Extraktion werden 90% und mehr der Fettbestandteile und Emulgatoren extrahiert. Die Toluol-Lösung wird im Wasserbad (40—50°C) am Rotationsverdampfer unter Vakuum (Wasserstrahlpumpe) auf wenige ml eingengt. Der zurückbleibende Extrakt (A) wird verseift.

b) Verseifung des Extraktes (A)

Der Extrakt wird während 5 Stunden in 100 ml ca. 0,5 n äthanolischer Kaliumhydroxid-Lösung durch Kochen am Rückfluß verseift.

* Erhältlich bei Diskontron, Zürich, Basel, Bern, Lausanne

c) Aufarbeitung der Verseifungsprodukte

Das Aethanol wird bei 60°C am Rotationsverdampfer unter Vakuum vollständig abdestilliert (Geruch prüfen). Bei der Destillation ist zu beachten, daß Schaumbildung zu Verlusten führen kann. Der Rückstand wird auf dem siedenden Wasserbad unter Umschwenken mit einem kleinen Ueberschuß an 10%iger Schwefelsäure (40—50 ml) tropfenweise versetzt, so daß die Mischung deutlich sauer reagiert. Dabei scheiden sich Fettsäuren ölig oder flockig ab. Die noch heiße Mischung wird in einen Scheidetrichter übergeführt und über Nacht erkalten gelassen. Man wird so nach längerem Stehen eine saubere Trennung zwischen Fettsäureoberphase und wässriger Polyolunterphase erhalten.

Die schwefelsaure wässrige Phase, die möglichst klar durchsichtig sein soll, wird abgetrennt, mit 10%iger wässriger Kalilauge auf pH 7 neutralisiert und im Hinblick auf die Untersuchung der Polyole, gemäß e), aufbewahrt.

Die Fettsäuren werden in ungefähr 100 ml Petroläther gelöst; die Lösung wird zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Das Waschwasser wird mit der wässrigen polyolhaltigen Phase vereinigt.

Herstellung der Fettsäure-Stammlösung: Man trocknet die Petrolätherlösung mit 10 g Natriumsulfat, dekantiert und destilliert den Petroläther am Rotationsverdampfer unter Vakuum bis auf ein Volumen von ca. 50 ml ab, führt die Lösung unter zweimaligem Nachspülen quantitativ in einen 100-ml-Meßkolben über, füllt mit Petroläther bis zur Marke auf und fährt weiter nach d).

d) Silylierung

Der unter c) erhaltenen Fettsäure-Stammlösung werden mit einer Injektionspritze 200 µl entnommen und in ein Reaktionsgefäß (Reacti-Vial®) eingefüllt. Der Petroläther wird im Exsikkator unter Wasserstrahlvakuum vollständig abgedampft.

Der Rückstand wird wie folgt silyliert:

Man löst in 65 µl Pyridin und versetzt die klare Lösung mit 35 µl Tri-Sil Concentrate®, schließt luftdicht ab, schüttelt und läßt über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Bei der Silylierung setzt sich als Nebenprodukt ein weißer Niederschlag von Ammoniumchlorid ab. Von der klaren überstehenden (evtl. zentrifugierten) Lösung (S) werden 0,5—1 µl direkt eingespritzt (siehe Bemerkung 1).

e) Isolierung der Polyole

Die wässrige Lösung von c) wird am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft. Den an der Kolbenwand haftenden kristallinen Rückstand aus Kaliumsulfat und Polyolen versetzt man mit 30 ml absolutem Aethanol. Zum Auflösen der Polyole erhitzt man unter Umschwenken kurz zum Sieden und filtriert das Ueberstehende heiß durch eine Glasfilternutsche G4, die eine 1 cm hohe Kie-

selgurschicht enthält, in einen 250-ml-Destillationskolben. Die Extraktion des kristallinen Rückstandes wird mit je 3×30 ml absolutem Aethanol wiederholt. Die vereinigten äthanolischen Filtrate werden am Rotationsverdampfer auf wenige ml eingedunstet. Den Rückstand führt man quantitativ in ein 10—20 ml fassendes Fläschchen über, unter zweimaligem Nachspülen mit wenig absolutem Aethanol. Das Aethanol wird im Stickstoffstrom unter Erwärmen auf maximal 40°C abgedampft. 2,0—2,5 mg des Rückstandes werden in Reacti-Vials® eingewogen, die Polyole nach d) silyliert und nach f) gaschromatographisch untersucht.

f) Gaschromatographische Bedingungen

Trennsäule aus Glas: 2 m Länge, 6,0 mm Außendurchmesser, 2,0 mm Innendurchmesser.

Säulenfüllung: 1% OV-1 auf Chromosorb G, 80—100 mesh. Die Säule ist verwendbar bei Ofentemperaturen zwischen 70 und 300°C. Die fertige Säulenfüllung ist im Handel, z. B. bei Perkin-Elmer, erhältlich (siehe Bemerkung 2).

Detektor: Wasserstoff-Flammenionisationsdetektor

Empfindlichkeit: 10^{-11} bis 10^{-12} A (siehe Bemerkung 3)

Trägergas: Stickstoff, 35 ml/min

Temperaturen: Einspritzblock: 300°C (Hochtemperatursepta*), Detektor: 300°C

Säulenofen: Programmierte und isotherme Gaschromatogramme.

— Für Vorversuche zur Identifizierung und Bestimmung der Fettsäuren: Temperaturprogrammierung von 150° + 8°/min bis 270°C Endtemperatur. Für die Identifizierung der Polyole: 70° + 10°/min bis 270°C.

— Die isotherme Arbeitsweise eignet sich für die Identifizierung und Bestimmung der Fettsäuren bei einer Temperatur zwischen 250 und 270°C.

Einspritzmenge: 0,5 bis 1,0 μ l.

Bemerkungen

1. Die gaschromatographische Untersuchung silylierter Verbindungen führt zu einer Verschmutzung des Detektors mit SiO₂, die zu merklichen Empfindlichkeitseinbußen beitragen kann. Es ist deshalb empfehlenswert, den Detektor regelmäßig mit einem mit Methanol oder Dichlormethan getränkten weichen Lappchen mechanisch zu reinigen. Die Häufigkeit der Reinigung richtet sich nach der Konstruktion: Varian Aerograph 1400, täglich; Perkin-Elmer Modell F30, monatlich.**
2. Die Säulenfüllung 1% SE-30 auf Chromosorb G, 60—80 mesh (50—280°) ist ebenfalls geeignet. Eine höhere Belegung von 4—5% verbessert die Trenn-

* Erhältlich bei Technosa SA, 1009 Pully-Lausanne.

** Ueber ein neues Silylierungsreagenz siehe Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **66**, 95 und 113 (1975).

eigenschaften der Säule für silylierte Verbindungen. Es ist in jedem Fall empfehlenswert, die Säule mit Silyl-8® (Pierce) zu konditionieren.

3. Die Empfindlichkeit der beiden zum Vergleich verwendeten Gaschromatographen, Varian Aerograph 1400 und Perkin-Elmer Modell F30, hat sich als gleichwertig erwiesen.

Bei der Empfindlichkeit $4 \cdot 10^{-11}$ A lassen sich die Trimethylsilylester der langkettigen Fettsäuren (C_{18} — C_{22}) isotherm besser als programmiert quantitativ erfassen.

g) Auswertung der Gaschromatogramme

Identifizierung der Fettsäuren

Die Fettsäuren können nach der Methode von *Hadorn* (23) identifiziert werden. Zur zuverlässigen Identifizierung der Peaks berechnet man die relativen Retentionszeiten in Sekunden mit der Basis 0 für Palmitinsäure ($C_{16}:0$).

Die Methode wurde nach dem Additionsverfahren überprüft, was auch eine Abschätzung des Emulgatorgehaltes im Lebensmittel gestattet hat.

Berechnung des Emulgatorgehaltes

Zur Bestimmung des Emulgators PGPR dient der Peak der Ricinolsäure ($C_{18}:1\text{-OH}$), des Emulgators YN derjenige der Erucasäure ($C_{22}:1$).

Zur Auswertung wird ein Integrator mit Basislinienkorrektur verwendet.

Die *Umrechnungsfaktoren* F_r und F_e werden den für die Emulgatoren PGPR und YN gefundenen und in Tabelle 2 aufgeführten Werten entnommen.

Für den Emulgator YN verfügen wir lediglich über die Werte von zwei Mustern, die ziemlich stark voneinander abweichende Gesamtfettsäuregehalte aufweisen. Trotzdem haben wir davon den Mittelwert genommen; es ist empfehlenswert, diesen Faktor von Fall zu Fall mit Hilfe eines Emulgatormusters gleicher Fabrikation wie im untersuchten Lebensmittel vermutet, zu ermitteln.

Es gilt (nach Tabelle 2):

PGPR	gefundener mittlerer Gehalt an Gesamtfettsäure	63%
	mittlerer Prozentgehalt Ricinolsäure in der Gesamtfettsäure	79%

$$\text{Umrechnungsfaktor } F_r = \frac{1}{0,63 \times 0,79} = 2,0$$

YN	gefundener mittlerer Gehalt an Gesamtfettsäure	57 %
	mittlerer Prozentgehalt Erucasäure in der Gesamtfettsäure	12,5%

$$\text{Umrechnungsfaktor } F_e = \frac{1}{0,57 \times 0,125} = 14,0$$

Die Konzentration C_r bzw. C_e an spezifischer Fettsäure, Ricinol- bzw. Eruca-säure (ausgedrückt in μg pro μl) im Silylierungsansatz des untersuchten Musters wird nach folgender Formel erhalten:

$$C_r \text{ bzw. } C_e (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = \frac{C_t \cdot A_1 \cdot V_1}{A_2 \cdot V_2}$$

- wobei C_t = Konzentration einer Eichlösung an spezifischer Fettsäure ausgedrückt in $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (zwischen 0,01 und 1,0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ im Silylierungsansatz)
- A_1 = Peakfläche der spezifischen Fettsäure im Silylierungsansatz des untersuchten Musters
- A_2 = Peakfläche der spezifischen Fettsäure im Silylierungsansatz der Eichlösung mit der Konzentration C_t
- V_1 = Einspritzmenge aus dem Silylierungsansatz des untersuchten Musters (0,5—1 μl)
- V_2 = Einspritzmenge aus dem Silylierungsansatz der Eichlösung (0,5—1 μl) mit der Konzentration C_t .

Der Emulgatorgehalt berechnet sich wie folgt:

$$\% \text{ PGPR} = \frac{C_r \cdot V_t \cdot F_r \cdot 10}{E \cdot V_s} = \frac{C_r \cdot 10}{E}$$

$$\% \text{ YN} = \frac{C_e \cdot V_t \cdot F_e \cdot 10}{E \cdot V_s} = \frac{C_e \cdot 70}{E}$$

- wobei V_t = Volumen in ml der Fettsäure-Stammlösung S des untersuchten Musters (nach Arbeitsvorschrift 100 ml)
- V_s = der Lösung S entnommenes Volumen in μl für den Silylierungsansatz (nach Arbeitsvorschrift 200 μl)
- E = Einwaage an Muster, ausgedrückt in g
- C_r, C_e, F_r, F_e wie oben.

Praktische Anwendung und Schlußfolgerungen

Die Additionsmethodik hat in Parallelversuchen mit je fünf Mustern gut übereinstimmende Ergebnisse erbracht. So konnten in Schokolade und Kakao zugesetzte Mengen von 0,3% PGPR bzw. 0,5% YN wieder gut nachgewiesen und bestimmt werden.

Eine Anzahl ausgewählter Schokoladen in- und ausländischer Fabrikation sowie Kakaopulver wurden auf Zusätze von PGPR und Emulgator YN untersucht (Tabelle 3). In einem von sechzehn Mustern war Ricinolsäure nachzuweisen (Abb. 3a). Ein Zusatz von PGPR wurde in diesem Fall durch das gleichzeitige Vorhandensein von Di- und Triglycerin bestätigt (Abb. 3b); er lag im Vergleich mit Produkten ohne Zusatz und solchen mit bekannten Zusätzen bei ca. 0,1%.

Zusätze von Emulgator YN konnten in keinem der untersuchten Handelsprodukte nachgewiesen werden.

Tabelle 3
Untersuchung von Lebensmittelmustern auf PGPR und Emulgator YN

Lebensmittel	Nr.	Ricinolsäure	Polyglycerine		Eruca-säure
			Di-	Tri-	
Milkschokolade	1	ca. 0,1 ⁰ / ₀	+	+	—
	2	—	+	+	—
	3	—	—	+	—
	4	—	—	+	—
	5	—	—	—	—
	6	—	—	—	—
Feinschokolade mit Mandelcremefüllung	7	—	—	—	—
Halbbitterschokolade	8	—	+	+	—
	9	—	—	+	—
Dunkle Schokolade	10	—	—	—	—
	11	—	—	—	—
Orangenschokolade	12	—	—	—	—
Mais(«Krispie»)schokolade	13	—	—	—	—
Vanilleschokolade	14	—	—	—	—
Kakaopulver, nicht aufgeschlossen aufgeschlossen	15	—	—	+	—
	16	—	—	—	—

+: vorhanden

—: nicht nachgewiesen

In den Gaschromatogrammen der Polyole waren außer beim erwähnten Lebensmittelmuster (Abb. 3b) noch in zwei weiteren Fällen Di- und Triglycerinpeaks gleichzeitig aufgetreten. Triglycerin allein stammte aus vier andern Mustern. Ricinolsäure ließ sich jedoch bei der Fettsäureanalyse dieser sechs Muster nicht nachweisen. Es kann deshalb angenommen werden, daß die nachgewiesenen Polyglycerine auf Zusätze anderer Emulgatoren als PGPR (auf Polyglycerinbasis, Tabelle 1) zurückzuführen sind.

Diese noch nicht umfangreiche Anwendung der Methode zeigt immerhin, daß sich die Emulgatoren PGPR und YN in Lebensmitteln wie Schokolade nachweisen und bestimmen lassen. Eine bessere Trennung der Trimethylsilylester der Ricinol- bzw. Erucasäure von den anderen sonst noch vorhandenen Fettsäuretrimethylsilylestern dürfte mit Hilfe einer geeigneteren Säule möglich sein, was die

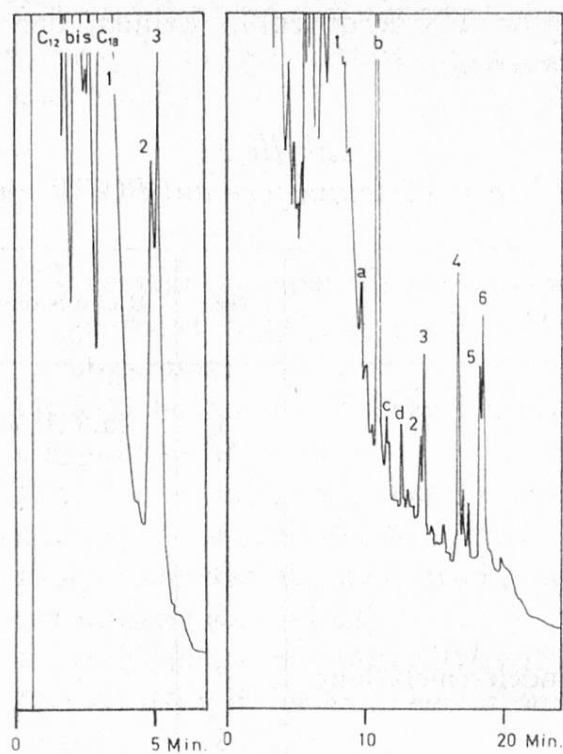


Abb. 3a

Abb. 3b

Abb. 3. Gaschromatogramme von Verseifungsprodukten aus Milkschokolade (Muster Nr. 1, Tabelle 3) in Form ihrer Trimethylsilyl(TMS)derivate. Säule: 4% SE-30 auf Chromosorb G, 60—80 mesh.

3a Fettsäure-TMS-Ester

Ofentemperatur isotherm bei 260°C

Peak	1	Stearinsäure
	2	Ricinolsäure
	3	nicht identifiziert

3b Polyol-TMS-Aether

Ofentemperatur programmiert von 70°C + 10°/min bis 270°C

Peak	1	Glycerin (Monoglycerin)
	a—d	unbekannte Verbindungen
	2+3	Diglycerin
	4	nicht identifiziert
	5+6	Triglycerin

Bestimmung unter Verwendung eines internen Standards erlauben würde. Die Untersuchung von weiteren handelsüblichen Emulgatoren vom PGPR- und YN-Typ ließe es zu, die Umrechnungsfaktoren genauer zu ermitteln.

Die Untersuchung der Emulgatortypen Sorbitanfettsäureester (SPANs) und Polyoxiäthylensorbitanfettsäureester (TWEENs) ist im Gange. Da in diesen Fällen charakteristische Polyole wie Sorbitane neben Sorbit und Isosorbit analysiert werden können, scheint vorliegende Arbeitsvorschrift hierzu geeignet zu sein.

Ebenfalls untersucht werden Polyoxiäthylenstearate (MYRJ) in bezug auf ihr Polyolspektrum, das verschiedene Polyoxiäthylenspolymere in bestimmter Verteilung enthält.

Weil diese Emulgatorklassen keine für den entsprechenden Emulgator charakteristische Fettsäurekomponente aufweisen, sind in allen diesen Fällen Identifizierung und Bestimmung der Polyole von besonderer Wichtigkeit. Der Nachweis

solcher Emulgatortypen erhält um so mehr Bedeutung als sie in unserem Lande für Lebensmittel nicht zugelassen sind.

Dank

Frau *Katrin Völgyi* und Fräulein *Rosmarie Schneider* sei an dieser Stelle für ihre Mitarbeit unser bester Dank ausgesprochen.

Zusammenfassung

Der Emulgator PGPR läßt sich anhand seiner silylierten Verseifungsprodukte, Ricinolsäuretrimethylsilylester und Trimethylsilyläther von Polyglycerinen nachweisen und identifizieren. Dementsprechend können Nachweis und Identifizierung der uns zur Verfügung gestellten YN-Emulgatormuster über den Trimethylsilylester der Erucasäure erfolgen, falls das Lebensmittel kein Rapsöl enthält.

Die Trimethylsilylderivate werden gaschromatographisch untersucht und der Emulgator PGPR bzw. YN aufgrund des gefundenen Gehaltes an Trimethylsilylester der Ricinolsäure bzw. Erucasäure im Lebensmittel bestimmt.

Résumé

Il est décrit une méthode d'identification et de dosage de deux émulseurs autorisés dans la fabrication du chocolat notamment: les esters polyglycériques de l'acide ricinoléique interestérifié (émulseur PGPR) et les sels d'ammonium d'acides phosphatidiques préparés à partir d'huile de colza (émulseur YN). Après extraction au toluène les émulseurs sont saponifiés en milieu alcalin. Les acides gras, ricinoléiques et éruciques, spécifiques de chacun d'eux, sont silylés puis identifiés et dosés par chromatographie gazeuse. Les alcools polyvalents obtenus parallèlement sont traités et examinés de manière semblable. La méthode a été appliquée à quelques échantillons de chocolat. Elle ne permet pas de déceler l'émulseur YN dans les denrées alimentaires pouvant contenir de l'huile de colza.

Summary

The identification and determination of the emulsifiers polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and ammonium salts of phosphatidic acids (emulsifier YN) in chocolate is described. The examination by gas chromatography is based on the trimethylsilyl derivatives of the fatty acids that are specific for these emulsifiers, namely ricinoleic and erucic acid, respectively. The percentage of emulsifier in the food sample is obtained from the specific fatty acid content found.

Literatur

1. *Réunions de la FAO sur la nutrition, Rapport No 35* (OMS Série de Rapp. techn., No 281): Normes d'identité et de pureté pour les additifs alimentaires et évaluation

- toxicologique: Emulsifiants, stabilisants, décolorants et maturants. Septième rapport du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. FAO, Rome 1964.
2. *FAO Nutrition Meetings Report Series No 46B* (WHO/Food Add./70.37): Specifications for the identity and purity of some food colours, emulsifiers, stabilizers, anti-caking agents and certain other food additives. FAO/WHO, Rome 1970.
 3. *Distler, E. and Baur, F.*: Emulsifiers, determination of mono-, di- and triglycerides in shortenings by column chromatography. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **49**, 812—816 (1966).
 4. *Sahasrabudhe, M., Legary, J. and Mc Kinley, W.*: Quantitative estimation of lactylated glycerides and polyglycerol esters in shortenings containing mono- and diglycerides. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **49**, 337—340 (1966).
 5. *Kröller, E.*: Untersuchungen zum Nachweis von Emulgatoren in Margarine. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **64**, 85—92 (1962).
Kröller, E.: Untersuchungen zum Nachweis von Emulgatoren in Lebensmitteln. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **64**, 602—605 (1962); **65**, 482—488 (1963); **66**, 456—460, 583—586 (1964); **68**, 1066—1068 (1966); **70**, 119—121 (1968).
 6. *Gernert, F.*: Beitrag zum Nachweis von Emulgatoren in Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Untersuch. -Forsch.* **138**, 216—220 (1968).
 7. *Srebrnik-Friszman, S. et Charon, C.*: Les émulsifs non ioniques dans les denrées alimentaires. *Trav. chim. aliment. hyg.* **61**, 220—254 (1970).
 8. *Roussos, M.*: Méthodes d'analyse des esters de saccharose et de sucroglycérides. *Parfum, Cosmet. Sav.* **4**, 355—366 (1961).
 9. *Hummel, D.*: Analyse der Tenside, Infrarotspektroskopische und chemische Methoden, Bd. 1 und 2. Hanser, München 1962.
 10. *Rosen, M. J. and Goldsmith, H. A.*: Systematic analysis of surface-active agents, 2nd edition. Wiley Interscience, New York, London, Sydney, Toronto 1972.
 11. *Pardun, H.*: Analyse der Nahrungsfette, S. 296—301. P. Parey, Berlin und Hamburg 1976.
 12. *Howat, G. R.*: A new emulsifier for chocolate. Sonderdruck aus *Rev. intern. chocolat.* **25**, 58—60 (1970).
 13. *Bamford, H. F., Gardner, K. J., Howat, G. R. und Thompson, A. F.*: Die Verwendung von Polyglycerin-Polyricinolein bei der Herstellung von Schokoladen. *Rev. intern. chocolat.* **25**, 329—332 (1970).
 14. *Sen, N., Keating, M. and Barrett, C. B.*: Gas-liquid chromatography of polyglycerol. *J. Gas. Chrom.* **5**, 269—270 (1967).
 15. *Sweeley, C. C., Bentley, R., Makita, M. and Wells, W. W.*: Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances. *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2497—2507 (1963).
 16. *Pierce, A. E.*: Silylation of organic compounds. Pierce Chemical Company, Rockford, Ill. 1968.
 17. *Handbook (GPA-3) of Silylation*. Pierce Chemical Company, Rockford, Ill. 1970.
 18. *Schweizerisches Lebensmittelbuch*. Methoden für die Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen, 5. Auflage, 2. Band, S. 58 (Kapitel 7A, Methode 60). Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1967.
 19. *Fischer, R.*: Chromatographische Untersuchung von technischem Glycerinmonostearat. *Chromatographia* **7**, 207—210 (1974).
 20. *Kuksis, A.*: Gas-liquid chromatographic fractionation of natural diglycerides on stabilized polyester liquid phases. *J. Chromatog. Sci.* **10**, 53—56 (1972).

21. Kresze, G., Bederke, K. und Schüffelhut, F.: Analyse von Mono- und Diglyceridgemischen mit Hilfe der Gaschromatographie und der Kernresonanz. Z. anal. Chem. **209**, 329—337 (1965).
22. Colby, D. A.: Analysis of nonionic surfactants. Spectra-Physics chromatography applications 134—75. Spectra-Physics, Santa Clara, Calif. 1975.
23. Schweizerisches Lebensmittelbuch. Methoden für die Untersuchung und Beurteilung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen, 5. Auflage, 2. Band, S. 19 (Kapitel 7A, Methode 13). Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1967.

Dr. R. Dick
Dr. A. Miserez
Eidg. Gesundheitsamt
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Haslerstraße 16
CH - 3008 Bern