

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 71 (1980)
Heft: 4

Artikel: Gaschromatographischer Nachweis von Fremdfett in Kakaobutter
Autor: Dick, R. / Miserez, A.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983532>

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: 15.10.2024

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

Gaschromatographischer Nachweis von Fremdfett in Kakaobutter

R. Dick und A. Miserez

Bundesamt für Gesundheitswesen, Abteilung Lebensmittelkontrolle, Bern

Einleitung

Im Unverseifbaren von Fetten und Oelen finden sich oftmals charakteristische Begleitstoffe, die zum Nachweis von Austauschfetten für Kakaobutter dienen können (1–4). Der unverseifbare Anteil des Fettes im Aetherauszug enthält die Hauptmenge der Sterine, ferner Kohlenwasserstoffe, natürliche Farbstoffe — wie Carotinoide — Tocopherole und eine Reihe teilweise noch heute nicht identifizierter Verbindungen. Die Sterin- bzw. Steroidanalyse wird schon seit längerer Zeit als zum Teil brauchbares Kriterium zum Nachweis von Verfälschungen der Kakaobutter herangezogen (5).

Die gesetzliche Regelung über die Zulassung von Fremdfetten in Schokolade ist in den verschiedenen Ländern der Welt sehr unterschiedlich. In der Schweiz sind Fremdfette gemäß Lebensmittelverordnung in der Schokolademasse verboten, bis zu 5% in Überzugsmassen («Couverturen») jedoch zugelassen. In Großbritannien und den USA können Fremdfette in Schokoladen unbeschränkt verwendet werden. Die Europäischen Gemeinschaften bemühen sich um eine Vereinheitlichung der Lebensmittelgesetzgebung im europäischen Raum und schlagen eine Zulassung von Fremdfett in Schokolademassen bis maximal 5% vor.

Ersatzfette für Kakaobutter

Die für Schokoladen in Frage kommenden Ersatzfette lassen sich grob einteilen (6) in

1. CBE (Cocoa Butter Equivalents)
2. CBS (Cocoa Butter Substitutes)

Während CBE-Fette definitionsgemäß kakaobutterähnlich sein müssen (vollständige Mischbarkeit mit Kakaobutter, gleiches Schmelzverhalten, Fähigkeit zur Mischkristallbildung), können CBS-Fette (für Mischungen mit Kakaobutter ungeeignet) durch Mischen von industriell hergestellten Fettstoffen kakaobutterähnlich gemacht werden. Als Ersatzfette für Kakaobutter kommen folgende drei Gruppen in Frage (6):

- a) Natürliche Fette, die ohne industrielle Veränderung Kakaobutter auch vollständig ersetzen können, wie die Fette der «Illipé»-Gruppe: Tenkawangfett aus *Shorea stenoptera* (Malaysia), Illipébutter aus *Madhuca longifolia* (Indien). Zu dieser Gruppe gehört auch Sheafett, in Mischung mit anderen Fetten.
- b) Fette und Öle, die nach industrieller Transformation von Naturprodukten erhalten werden. Die Umwandlungstechniken umfassen u. a. Hydrierung, Umesterung, Kristallisation und Fraktionierung.
- c) Synthetische Fette, die durch direkte Veresterung von Fettsäuren mit Glycerin oder Veresterung von Ölsäure mit Diglyceriden usw. erhalten werden.

In der Schweiz handelsübliche CBE-Fette sind Produkte auf der Basis von

- Palmöl-Mittelfraktion,
- Fetten der «Illipé»-Gruppe,
- Sheafett (in Mischung mit anderen Fetten);

sie werden mit Handelsnamen wie Calvetta[®], Choclin[®], Coberine[®], Illexao[®] u. a. bezeichnet.

Die hohe Nachfrage nach der wertvollen Kakaobutter hat im Laufe der Zeit zu deren starken Verteuerung geführt. Es erstaunt deshalb nicht, daß die Kakaobutter verarbeitende Industrie Mittel und Wege gesucht hat, andere Fette mit möglichst ähnlichen Eigenschaften zu finden und sie teilweise oder vollständig anstelle von Kakaobutter zu verwenden. Da es gelungen ist, sehr kakaobutterähnliche Ersatzfette industriell herzustellen, ist die Versuchung recht groß, die Kakaobutter zu verfälschen. Es liegt deshalb nahe, daß schon kurz nach dem Auftauchen der Ersatzfette Laboratorien der Lebensmittelanalytik und namentlich der amtlichen Lebensmittelkontrolle Untersuchungsmethoden entwickelt haben, um solche Verfälschungen nachweisen und möglichst quantitativ abschätzen zu können (1–10).

Analytik

Es hat sich gezeigt, daß mit der klassischen Fettsäure- und Glyceridanalytik der Kakaobutter dem Problem nicht beizukommen ist. Zu den klassischen Methoden gehören die Untersuchung des Schmelzverhaltens und die Bestimmung von Kennzahlen eines Fettes sowie die Untersuchung der Fettsäureverteilung.

Neueste Arbeiten, publiziert in den letzten Monaten, schlagen die möglichst direkte Untersuchung der Triglyceride mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (7) und eine einfache gaschromatographische Analyse bei sehr hohen Temperaturen (8) vor. Ob diese Methoden tatsächlich zur Lösung des Ersatzfettproblems beitragen, bleibt zu überprüfen.

Wie die Publikationen der letzten Jahre zeigen (2), sind in der klassischen Fettanalytik an sich kaum mehr viele, wirklich neue und praktisch auswertbare Erkenntnisse zu erwarten, ganz im Gegensatz zu den Fettbegleitstoffen, wo offenbar noch Neuland zu betreten sein dürfte.

Gegenüber der Gaschromatographie mit gepackten Säulen hat die heute breit zur Anwendung gelangende Dünnfilmkapillar-Gaschromatographie für die Auftrennung kompliziertester Gemische und den Nachweis von Spuren einen gewaltigen methodischen Fortschritt gebracht. So ist es möglich geworden, das sterinreiche Unverseifbare im Ätherauszug (9) ohne besondere Vorreinigung nach Silylierung direkt gaschromatographisch zu untersuchen, und die Sterine und Steroide (Methylsterine, Triterpenalkohole) in angemessener Zeit gut aufzutrennen und nachzuweisen.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem qualitativen Nachweis von sheafetthaltigen Ersatzfetten in Kakaobutter aufgrund von gewissen für Sheabutter charakteristischen Steroiden (2). Es wird versucht, Tenkawang — ein Fett aus der «Illipé»-Gruppe mit hohem Steringehalt — mit Hilfe eines an sich uncharakteristischen Merkmals (Verhältnis von Stigmasterin zu Campesterin) in Kakaobutter nachzuweisen (2, 5).

Im Hinblick auf eine mögliche generelle Zulassung von Speisefetten mit einer gesetzlich festgelegten Höchstmenge zum «Strecken» der Kakaobutter sei eindringlich auf die vermutlich unüberwindlichen Schwierigkeiten bei der Überwachung durch die amtliche Lebensmittelkontrolle hingewiesen (10).

Nachweis von Sheafett und Tenkawangfett

Sheafetthaltige Ersatzfette verschiedener Herkunft wurden untersucht und untereinander verglichen. Allen Mustern gemeinsam ist das fast vollständige Fehlen der sonst in pflanzlichen Fetten weit verbreiteten Sterine (Campesterin, Stigmasterin, Sitosterin) und das Vorhandensein charakteristischer Methylesterine bzw. Triterpenalkohole (Abb. 1C). Da einzelne der letztgenannten Verbindungen in Kakaobutter nur in kleinsten Mengen vorkommen oder überhaupt ganz fehlen (Abb. 1B), ist ein gaschromatographischer Nachweis in Kakaobutter mit Hilfe einer Dünnfilmkapillare auch in Mengen unter 2–3% sheafetthaltigem Ersatzfett möglich.

Ungünstiger liegen die Verhältnisse bei Tenkawangfett, das auch — botanisch nicht korrekt — «Illipébutter» genannt wird (Illipébutter und Tenkawangfett gehören zur «Illipé-Gruppe»). Charakteristische Verbindungen fehlen; dafür weicht das Stigmasterin-/Campesterinverhältnis erheblich von demjenigen reiner Kakaobutter ab: 2,3–3,4 (5) bei Kakaobutter (Abb. 1B) gegenüber ca. 0,5 bei Tenkawangfett (Abb. 1A). Eine starke Erniedrigung dieses Zahlenwertes läßt — im Vergleich zu reiner Kakaobutter — den Verdacht auf einen derartigen Ersatzfettzusatz zu. Immerhin ist zu beachten, daß Emulgatoren, die aus natürlichen Fettstoffen hergestellt worden sind, wie z. B. der Emulgator YN (aus Rapsöl) und Sojalecithin, ebenfalls eine Erniedrigung hervorrufen.

Arbeitsvorschrift für den gaschromatographischen Nachweis von Shea- und Tenkawangfett

Prinzip

Die Kakaobutter wird alkalisch hydrolysiert, das sterinreiche Unverseifbare isoliert und anschließend silyliert. Die Sterine und Steroide werden gaschromatographisch identifiziert und bestimmt.

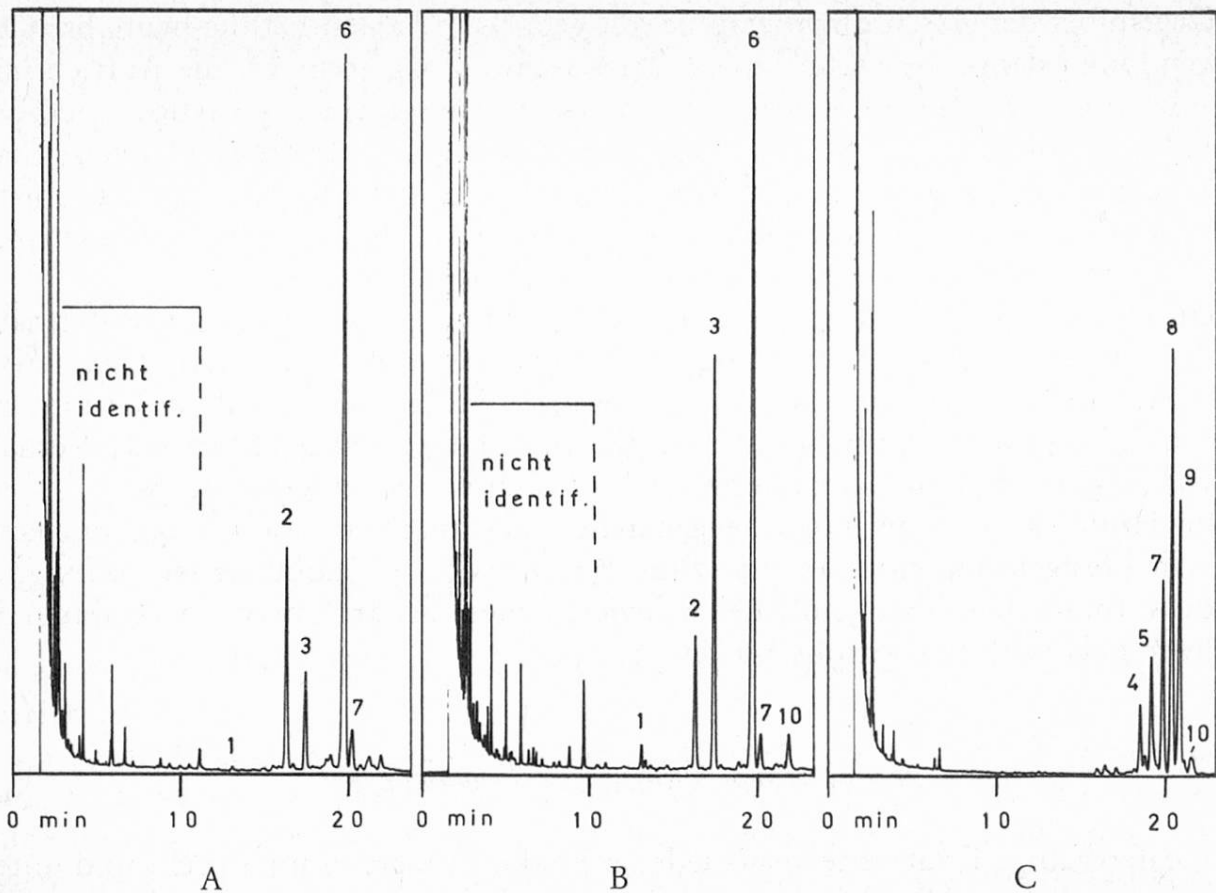


Abb. 1. Gaschromatogramme des silylierten Unverseifbaren
 Dünnfilmkapillarsäule SE-30, 25 m, 0,30 mm Innendurchmesser
 Ofentemperatur isotherm bei 260 °C
 Gaschromatograph: Carlo Erba Fractovap 2150

A TMS(Trimethylsilyl)-Derivate aus Ersatzfett Tenkawang
 B TMS-Derivate aus Kakaobutter
 C TMS-Derivate aus Ersatzfett Illexao®

1 = Cholesterin	7 = Δ^5 -Avenasterin	} charakteristisch für Sheafett
2 = Campesterin	8 = Butyrospermol	
3 = Stigmasterin	9 = Δ^7 -Avenasterin	
4+5 = nicht identifiziert	10 = Cycloartenol	
6 = Sitosterin		

Reagenzien und Lösungsmittel

- Aethanolische Kaliumhydroxidlösung, ca. 0,5 n
- Aether, peroxidfrei
- Petroläther, Sdp. 40–60 °C, rückstandsfrei
- Natriumsulfat, wasserfrei
- Aethanol. 96 Vol.-%
- Aceton
- Silylierungsreagenzien:
 Pyridin, wasserfrei, für die Gaschromatographie
 Tri-Sil Concentrate® (Pierce)

Geräte

— Reacti-Vials® (Pierce), 0,1 ml Konusinhalt, Fassungsvermögen total 0,3 oder 1,0 ml*

Ausführung der Analyse

Hydrolyse der Kakaobutter

5–10 g Fett werden in 100 ml ca. 0,5 n äthanolischer Kaliumhydroxidlösung während 3 Stunden in der Siedehitze am Rückfluß hydrolysiert.

Isolierung des Unverseifbaren

Die noch warme Lösung spült man mit 100 ml Wasser in einen Scheidetrichter von 500 ml Inhalt, läßt abkühlen und versetzt mit 100 ml peroxidfreiem Aether. Die Isolierung des sterinreichen Unverseifbaren erfolgt nach einer Arbeitsvorschrift des Schweizerischen Lebensmittelbuches (9). Die vereinigten und neutral gewaschenen Aetherauszüge werden mit 10 g Natriumsulfat getrocknet und abdekantiert, den Aether destilliert man am Rotationsverdampfer unter Vakuum bis auf ein Volumen von ca. 5 ml ab, führt die Lösung unter zweimaligem Nachspülen quantitativ in einen 10-ml-Meßkolben über und füllt mit Aether bis zur Marke auf.

Silylierung

Der Stammlösung des Unverseifbaren werden mit einer Injektionsspritze 200 μ l entnommen und in ein Reaktionsgefäß (Reacti-Vial®) eingefüllt. Der Aether wird im Exsikator unter Wasserstrahlvakuum vollständig abgedampft. Der Rückstand wird wie folgt silyliert:

Man löst in 65 μ l Pyridin und versetzt die klare Lösung mit 35 μ l 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 werden 0,5–1 μ l direkt eingespritzt (siehe Bemerkung).

Gaschromatographische Bedingungen

Dünnschichtkapillare aus Glas, 25 m Länge, 0,30 mm Innendurchmesser

Stationäre Phase: SE-30

Detektor: Wasserstoff-Flammenionisationsdetektor

Empfindlichkeit: 10^{-11} bis 10^{-12} A

Trägergas: Helium, 0,8 bar

Splitverhältnis: 1:10

Temperaturen: Einspritzblock 275 °C (Hochtemperaturseptä**)

Säulenofen isotherm 260 °C

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

** Erhältlich bei Technosa SA, 1009 Pully-Lausanne.

Bemerkungen

Die gaschromatographische Untersuchung silylierter Verbindungen führt zu einer Verschmutzung des Detektors mit SiO_2 , die zu merklichen Empfindlichkeitseinbußen beitragen kann. Es ist deshalb empfehlenswert, die Detektorempfindlichkeit durch Injektion eines Standards periodisch zu kontrollieren und den Detektor falls notwendig mit einem mit Methanol getränkten weichen Lappchen mechanisch zu reinigen.*

Auswertung der Gaschromatogramme

Identifizierung der Sterine und Steroide

Zur zuverlässigen Identifizierung der Peaks berechnet man die relativen Retentionszeiten in Sekunden mit der Basis 0 für Campesterin.

Die Methode wurde nach dem Additionsverfahren überprüft, was eine Abschätzung des Ersatzfettgehaltes in der Kakaobutter gestattet.

Tabelle 1. Untersuchung von Handelsprodukten auf Ersatzfett

Produkt	Ursprungsland	Nr.	Sheafett-haltiges Ersatzfett	$\frac{\text{St}}{\text{C}}$
Milchschokolade	CH	1	—	2,7
	CH	2	—	2,7
	CH	3	—	2,7
	CH	4	ca. 5%	2,6
	GB	5	—	2,5
	D	6	—	2,7
	USA	7	—	3,0
	USA	8	—	1,3
Magermilchschokolade				
Magermilchschokolade mit Reis («Krispie»)	USA	9	—	1,3
Magermilchschokolade mit Erdnüssen	USA	10	—	1,0
Vanilleschokolade	R	11	—	3,2
Halbsüße Schokolade	GB	12	—	2,7
Dunkle Schokolade	CH	13	—	2,7
	CH	14	—	2,6
	CH	15	ca. 5%	2,6
	CH	16	—	2,5
Kakaopreßbutter		17	—	2,9
Schokoladeersatz auf Basis von Johanniskernmehl	USA	18		1,2

— = nicht nachgewiesen

$\frac{\text{St}}{\text{C}}$ = Stigmasterin-/Campesterinverhältnis

* Die Verschmutzungsanfälligkeit hängt von den Strömungsverhältnissen im Detektor und von dessen Konstruktion ab. Auch ein anderes Silylierungsreagens (11) hat bei uns keine Verbesserung in dieser Hinsicht gebracht.

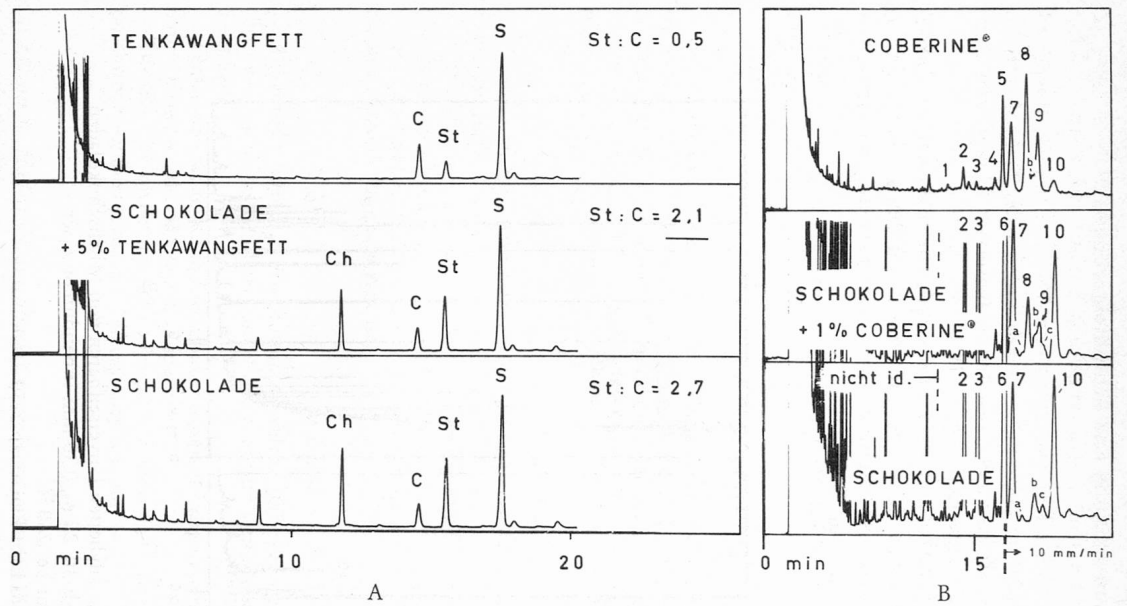


Abb. 2. Gaschromatogramme des silylierten Unverseifbaren von Ersatzfett (oben), Schokolade mit zugesetztem Ersatzfett (Mitte) und Schokolade ohne zugesetztes Ersatzfett (unten)
 Dünnfilmkapillarsäule SE-30, 25 m, 0,30 mm Innendurchmesser
 Ofentemperatur isotherm bei 260 °C
 Gaschromatograph: Carlo Erba Fractovap 2150

- | | | | | |
|---|-------------------|---|---------------------------|-----------------------------|
| A | Ch = Cholesterin | B | 1 = Cholesterin | 7 = Δ^5 -Avenasterin |
| | C = Campesterin | | 2 = Campesterin | 8 = Butyrospermol |
| | St = Stigmasterin | | 3 = Stigmasterin | 9 = Δ^7 -Avenasterin |
| | S = Sitosterin | | 4+5 = nicht identifiziert | 10 = Cycloartenol |
| | | | 6 = Sitosterin | a,b,c = nicht identifiziert |

Praktische Anwendung und Schlußfolgerungen

Die Additionsmethodik erlaubt, Tenkawangfett von 5% aufgrund der unspezifischen Erniedrigung des Stigmasterin-/Campesterinverhältnisses der Kakaobutter zu erkennen (Abb. 2A) bzw. Sheafett in zu Kakaobutter zugesetzter Menge von mindestens 2–3% Ersatzfett gut nachzuweisen (Abb. 2B).

Eine Anzahl ausgewählter Schokoladen in- und ausländischer Fabrikation, Kakaobutter sowie ein Schokoladenersatz ausländischer Provenienz wurden auf Fremdfettzusätze untersucht (Tabelle 1). In 2 von 18 Mustern konnte Sheafett zweifelsfrei nachgewiesen werden (Peaks Nr. 8 und 9 in Abb. 3B).

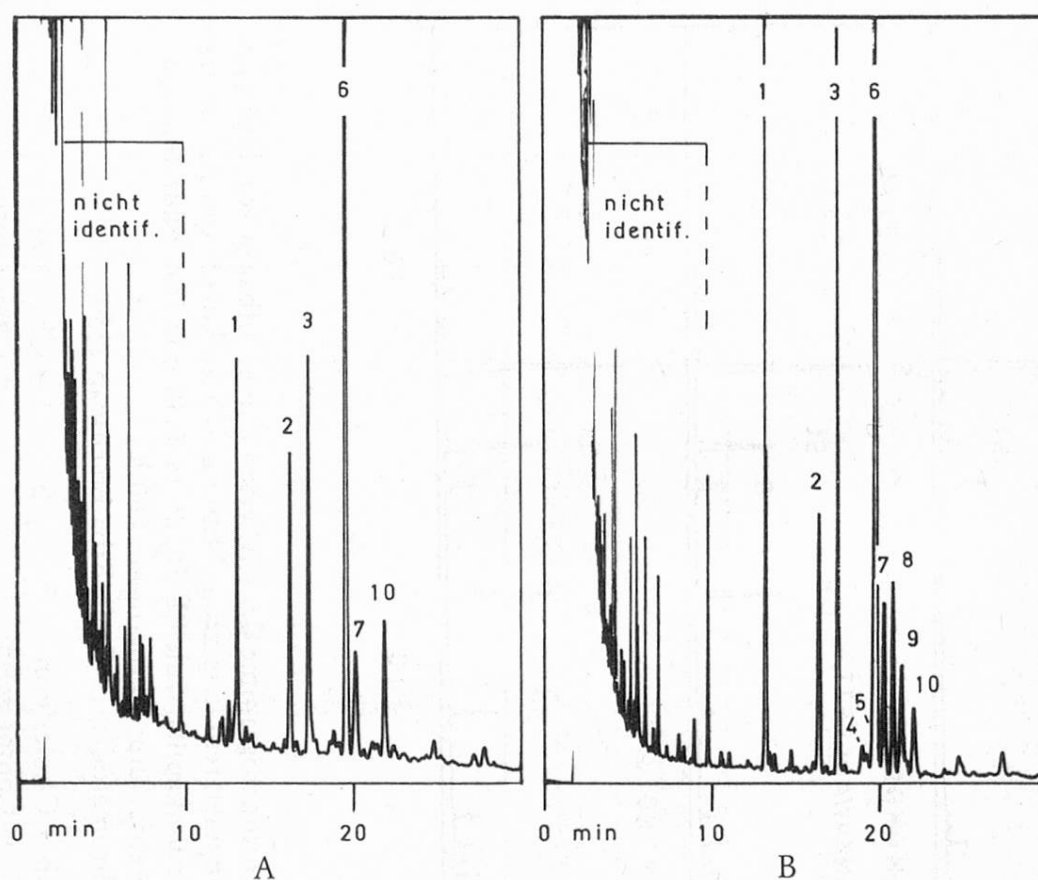


Abb. 3. Gaschromatogramme des silylierten Unverseifbaren von Milkschokoladen
Dünnschichtkapillarsäule SE-30, 25 m, 0,30 mm Innendurchmesser
Ofentemperatur isotherm bei 260 °C
Gaschromatograph: Carlo Erba Fractovap 2150

A Muster Nr. 8, Tabelle 1

B Muster Nr. 4, Tabelle 1

1 = Cholesterin
2 = Campesterin
3 = Stigmasterin
4+5 = nicht identifiziert
6 = Sitosterin

7 = Δ^5 -Avenasterin
8 = Butyrospermol
9 = Δ^7 -Avenasterin
10 = Cycloartenol

Andere nicht identifizierte Fremdfette waren in 4 ausländischen Produkten anzutreffen. Gegenüber reiner Kakaobutter wiesen sie ein kleines Stigmasterin-/Campesterinverhältnis auf (Peaks Nr. 2 und 3 in Abb. 3A).

Wenn jetzt einige qualitativ-analytische Probleme gelöst sind, darf nicht übersehen werden, daß ganz große, vermutlich nicht zu bewältigende Schwierigkeiten in quantitativ-analytischer Hinsicht bevorstehen, wenn Ersatzfette in Schokolade eines Tages in unserem Lande mit einer bestimmten Höchstmenge von z. B. 5% zugelassen werden.

Dank

Den Herren *M. Astner* und *R. Schwab* sei an dieser Stelle für ihre Mitarbeit unser bester Dank ausgesprochen.

Zusammenfassung

Sheafetthaltige Ersatzfette lassen sich anhand charakteristischer Steroide in Kakaobutter nachweisen. Die gegenüber Kakaobutter stark erniedrigte Stigmasterin-/Campesterin-Verhältniszahl tritt bei einem Tenkawangfettzusatz auf. Dieses Merkmal ist jedoch nicht spezifisch.

Die Trimethylsilyläther der Sterine und Steroide werden im Unverseifbaren gaschromatographisch untersucht.

Résumé

Les succédanés du beurre de cacao à base de graisse de shea peuvent être décelés grâce aux stéroïdes caractéristiques à cette graisse.

Une addition de graisse de tenkawang provoque un fort abaissement du rapport stigmastérol/campestérol par comparaison au beurre de cacao. Cet indice n'est cependant pas spécifique.

Les éthers triméthylsilylés des stérols et des stéroïdes sont déterminés dans l'insaponifiable par chromatographie en phase gazeuse.

Summary

A method to identify cocoa butter equivalents (CBE) containing shea fat in cocoa butter and chocolate based on the detection of characteristic steroids (butyrospermol, Δ^7 -avenasterol) is described.

Tenkawang fat added to cocoa butter lowers the stigmasterol/campesterol ratio in the cocoa butter. However, this effect is non-specific.

The trimethylsilyl ethers of sterols and steroids in the unsaponifiable matter are separated by gas chromatography (glass WCOT capillary column).

Literatur

1. *Zürcher, K., Hadorn, H. und Strack, Ch.*: Einfache leistungsfähige Methode zur gaschromatographischen Trennung und Bestimmung der Sterine in Ölen und Fetten. Deut. Lebensm. Rundschau 72, 345–352 (1976).
2. *Fincke, A.*: Kakaobutter und Ersatzfette — Chemie und Analytik. Deut. Lebensm. Rundschau 72, 6–12 (1976).
3. *Fincke A.*: Nachweis von Sheafett in Kakaobutter und Schokoladenfetten. 1. Mitteilung. Deut. Lebensm. Rundschau 71, 284–286 (1975).
4. *Fincke, A.*: Untersuchungen zum Nachweis von Kakaobutterersatzfetten. Fette, Seifen, Anstrichm. 73, 534–537 (1971).

5. *Bracco, U., Rostagno, W. und Egli, R. H.*: Untersuchung von Mischungen Kakaobutter — Illipébutter. *Rev. intern. chocolat.* **25**, 41—48 (1970).
6. *Bracco, U.*: Chimie et physico-chimie des beurres de cacao et des graisses utilisées en chocolaterie et en confiserie. *Chimia* **33**, 166—172 (1979).
7. *Karleskind, A. et Blanc, M.*: Application de la chromatographie liquide haute performance avec élution graduée à l'analyse des huiles végétales. *Ann. fals. exp. chim.* **73**, 197—208 (1980)
8. *Fincke, A.*: Möglichkeiten und Grenzen einfacher gaschromatographischer Triglyceridanalysen zum Nachweis fremder Fette in Kakaobutter und Schokoladenfetten. 1. Mitteilung. *Deut. Lebensm. Rundschau* **76**, 162—167 (1980).
9. Schweiz. Lebensmittelbuch, 2. Band, Methode 7 A/17. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1969.
10. *Fincke, A.*: Analytische Konsequenzen der neuen Kakao-Verordnung (D). *Lebensmittelchem. gerichtl. Chemie* **32**, 32—33 (1978).
11. *Zürcher, K., Hadorn, H. und Strack, Ch.*: Gaschromatographische Zuckerbestimmung. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **66**, 92—116 (1975).

Dr. R. Dick
Dr. A. Miserez
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Haslerstraße 16
CH-3008 Bern