

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 85 (1994)

Heft: 1

Artikel: Gaschromatographische Bestimmung von Cholesterol in einzelnen Lebensmitteln und in Menüproben mit tierischen und pflanzlichen Komponenten = Determination of cholesterol in single foods and complete meals containing animal and plant components by gas chr...

Autor: Paterson, Eva / Zürcher, Ulrich / Amadò, Renato

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982752>

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: 13.01.2025

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

Eva Paterson, Ulrich Zürcher und Renato Amadò, Eidg. Technische Hochschule Zürich, Institut für Lebensmittelwissenschaft, Laboratorium für Humanernährung, Rüschlikon

Gaschromatographische Bestimmung von Cholesterol in einzelnen Lebensmitteln und in Menüproben mit tierischen und pflanzlichen Komponenten

Determination of Cholesterol in Single Foods and Complete Meals Containing Animal and Plant Components by Gas Chromatography

Key words: Gas chromatography, Cholesterol, Determination, Multicomponent food, Phytosterol

Einleitung

Cholesterol, ein 27-C-Steroid, ist ein wesentlicher Strukturbestandteil der Membranen tierischer Zellen und subzellulärer Partikel. Ausserdem ist es Ausgangspunkt für die Synthese von Gallensäuren, Provitamin D₃ und Steroidhormonen. Cholesterol kommt in freier Form oder verestert mit Fettsäuren vor (1).

In den letzten Jahren rückte der Cholesterolgehalt der Lebensmittel ins Blickfeld des allgemeinen Interesses. Zahlreiche Studien belegen eine positive Beziehung zwischen dem erhöhten Blutcholesterolspiegel und der Inzidenz an ischämischen Herzkrankheiten (2, 3). Obwohl in diesem Zusammenhang noch kontroverse Meinungen über die Rolle des exogenen Cholesterols vorherrschen (4, 5), wurden verschiedene Empfehlungen für die Zufuhr an Nahrungscholesterol herausgegeben (6–8). Das damit verbundene zunehmende Bedürfnis von seiten der Konsumenten und Produzenten nach genauen Angaben über den Cholesterolgehalt der Lebensmittel führte zur Verbesserung der Analysenmethoden. Die älteren kolorimetrischen, gravimetrischen und enzymatischen Verfahren gestatten keine getrennte Erfassung des Cholesterols in Gegenwart von Phytosterolen, welche ausser in pflanzlichen Fetten und Ölen beispielsweise auch in Meeresfrüchten vorkommen (9, 10). Erst die Chromatographie machte eine selektive Erfassung von Cholesterol

möglich, wobei besonders die gaschromatographischen Verfahren zu grosser Verbreitung gelangten (11).

Bei der AOAC-Methode (12) werden die Sterole der unverseifbaren Fraktion für die gaschromatographische Analyse derivatisiert. Dieser Aufbereitungsschritt wird auch bei der provisorischen gaschromatographischen Methode des Schweizerischen Lebensmittelbuches beibehalten (18). Inzwischen wurde in mehreren Arbeiten gezeigt, dass eine Derivatisierung insbesondere bei der Benutzung von Quarzkapillarsäulen mit gebundenen apolaren Phasen überflüssig ist (13–17).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand darin, eine möglichst einfache, selektive und genaue Analysenmethode zu erarbeiten, welche ohne Derivatisierung auskommt und sich auf ein breites Spektrum von tierischen und pflanzlichen Lebensmitteln anwenden lässt. Das entwickelte Verfahren ist im folgenden beschrieben.

Material und Methode

Prinzip

Das homogenisierte Probematerial wird mit alkoholischer KOH-Lösung versetzt, 60 min bei 60 °C verseift und das Unverseifbare durch Ausschütteln mit n-Hexan extrahiert. Die Hexanphase wird abgetrennt und direkt zur gaschromatographischen Analyse eingesetzt (15).

Proben

Teigwaren mit Fleischsauce Bolognese wurden nach haushaltsüblichem Vorgehen zubereitet. Sowohl das Gericht als auch die einzelnen cholesterolhaltigen Komponenten wurden bei Bedarf mit dem Polytron-Rührer homogenisiert und in kleinen Portionen bei –18 °C bis zur Analyse gelagert.

Reagenzien

- 5 α -Cholestane, Sigma Chemical Co., USA
- Cholesterol, 99+%, Matreya Inc., USA
- rac- α -Tocopherol, 90+%, Matreya Inc., USA
- Plant sterol mixture (β -Sitosterol, Brassicasterol, Campesterol, Stigmasterol), Matreya Inc., USA
- hitzebeständige α -Amylase, Termamyl 120L, Novo Industrie AS, DK
- Kaliumhydroxid-Plätzchen p.A., Merck, D
- Ethanol puriss, Fluka Chemie AG, CH
- n-Hexan p.A., Merck, D

- Natriumsulfat wasserfrei p.A., Fluka Chemie AG, CH
- Seesand purum p.A., säuregereinigt, 40–100 mesh, Fluka Chemie AG, CH

Lösungen

- 50% (w/w) KOH-Lösung: 50 g KOH in 50 g entionisiertem Wasser lösen.
 Alkoholische KOH-Lösung: 9 ml 99,8% (v/v) Ethanol mit 1 ml 50% (w/w) KOH versetzen.
 Interne Standardlösung: ca. 25 mg ($\pm 0,1$ mg) 5 α -Cholestan in 50 ml n-Hexan lösen.
 Kalibrationslösung: ca. 25 mg ($\pm 0,1$ mg) 5 α -Cholestan und 25 mg ($\pm 0,1$ mg) Cholesterol in 50 ml Hexan lösen, davon 1 ml in 20-ml-Messkolben pipettieren und mit Hexan bis zur Marke auffüllen.

Geräte

- Rührer Polytron PT 6000, Kinematica AG, CH
- Wasserbad Julabo U3, Julabo Labortechnik GmbH, D
- Magnetrührer Heidolph MR 2002, Heidolph GmbH, D
- Schüttler Vortex Genie 2TM, Scientific Industries Inc., USA
- Zentrifuge MSE Mistral 1000, MSE, GB
- 50-ml-Zentrifugengläser Corex[®] Brand, Corning Inc., USA
- 20-ml-Messkolben Duran[®], Hirschmann[®] Laborgeräte, D
- Filterpapier Nr. 595, Ø 5 cm, Schleicher & Schuell GmbH, D
- Gaschromatograph HP 5890 Series II, Hewlett Packard, USA
- Autosampler HP 7673, Hewlett Packard, USA
- Computer Vectra 386/25 mit dem EDV-Programm HP 3365 ChemStation, Hewlett Packard, USA
- Drucker Desk-Jet 500, Hewlett Packard, USA

Gaschromatographische Bedingungen

- Säule: Quarzkapillarsäule DB-5, J&W Scientific, Länge 15 m,
 i. Ø 0,32 mm, Filmdicke 0,25 μ m
 Ofen: Temperatur 280 °C bzw. 255 °C; isotherm
 Trägergas: Helium, Fluss 0,7 ml/min
 Spülgas: Stickstoff, Fluss 30 ml/min
 Detektor: FID, Temperatur 300 °C
 Probengeber: Temperatur 300 °C bzw. 290 °C, Split 1:30

Ausführung

Die homogenisierte Probe wird aufgetaut und davon 1–2,5 g ($\pm 0,1$ mg) in ein 50-ml-Zentrifugenglas eingewogen. Bei fettreichen Proben wie Butter oder Mayonnaise muss die Einwaage auf 0,1–0,3 g reduziert werden (limitierender Faktor ist die KOH-Konzentration). Anschliessend werden 1 ml der internen Standardlösung, 10 ml der alkoholischen KOH-Lösung, ein Magnetrührstab und ca. 1,5 g Quarzsand (ergibt bessere Fettverteilung) zugefügt. Das Zentrifugenglas wird verschlossen und die Probe im Wasserbad bei 60 °C unter ständigem Rühren 1 Stunde verseift. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur werden 5 ml entionisiertes Wasser und 10 ml Hexan in das Zentrifugenglas gegeben und 1 Minute auf dem Vortex-Schüttler durchmischt. Für eine schnellere Abtrennung der Hexanphase wird 3 min bei 2200 g zentrifugiert. Die obere Phase wird mit einer Pasteurpipette in einen verschliessbaren Erlenmeyerkolben überführt. Zur verbleibenden unteren Phase werden nochmals 10 ml Hexan zugegeben und die Extraktion mit anschliessender Zentrifugation wiederholt. Die Hexanphase wird mit derselben Pasteurpipette abgetrennt und mit dem ersten Extrakt vereint. Zur Trocknung des Extraktes werden ca. 2 g wasserfreies Natriumsulfat zugesetzt und anschliessend kurz geschüttelt. Ca. 2 ml des Extraktes werden durch ein Papierfilter in ein GC-Auto-samplerfläschchen mit Septumverschluss filtriert. Für die GC-Analyse werden jeweils 2 μ l der Probelösung eingespritzt.

Bei stärkereichen Proben wie Teigwaren muss vor der Verseifung ein enzymatischer Stärkeabbau durchgeführt werden: 100 μ l Termamyl (α -Amylase) werden mit 2 ml entionisiertem Wasser verdünnt und der Probe zugefügt, die anschliessend 15 min bei 95 °C erhitzt wird. Bei der späteren Abtrennung des Unverseifbaren werden anstatt 5 ml nur 3 ml Wasser zugegeben.

Auswertung

Die Auswertung erfolgte mit dem ChemStation-Programm unter Anwendung der Methode des internen Standards. Der Cholesterolgehalt wird in mg/100 g Frischsubstanz (FS) angegeben. Die Grenze für eine quantitative Auswertung liegt bei etwa 0,8 mg Cholesterol/100 g Probe. Sie lässt sich bei Bedarf erhöhen, indem der Hexanextrakt eingedampft wird.

Resultate und Diskussion

Vier verschiedene Aufbereitungsverfahren (15, 17, 19, 20) für die gaschromatographische Bestimmung des Cholesterols in Lebensmitteln (Tabelle 1) wurden nach analytischen (Ausbeute, Reproduzierbarkeit und Handhabung), ökonomischen (Zeitaufwand, Kosten) und nach ökologischen Kriterien (Giftigkeit der gebrauchten Chemikalien) eingehend geprüft und untereinander verglichen. Die bei den

Tabelle 1. In der vorliegenden Arbeit durchgeführte Aufbereitungsverfahren für die gaschromatographische Cholesterolbestimmung

Autor Publikation	Verseifung Bedingungen	Abtrennung des Unverseifbaren
<i>Tsui, I.C. (19)</i> J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72, 421 (1989)	KOH + Ethanol T = 100 °C, t = 1 h	C18-SPE* Kartuschen + 5% (v/v) Methanol in CHCl ₃
<i>Oles, P. et al. (20)</i> J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73, 724 (1990)	KOH + Isopropanol T = 22 °C, t = 18 h	Hexan/Diethylether 85:15 (v/v) + NH ₂ -SPE* Kartuschen
<i>Fenton, M. and Sim, J.S. (15)</i> J. Chromatogr. 540, 323 (1991)	KOH + Ethanol T = 60 °C, t = 1 h	Hexan
<i>Ulberth, F. and Reich, H. (17)</i> Food Chem. 43, 387 (1992)	KOH + Ethanol T = 80 °C, t = 18 min	Cyclohexan

* Solid-Phase Extraktion

Methoden von *Tsui* (19) und *Oles et al.* (20) vorgeschriebene Derivatisierung (Silylierung) wurde jedoch nicht durchgeführt. Die gaschromatographischen Bedingungen wurden der gewählten Quarzkapillarsäule angepasst und blieben für alle Aufbereitungsverfahren gleich. Als Probe für die Bewertung der einzelnen Verfahren wurden Eierteigwaren (Makkaroni) mit Fleischsauce Bolognese gewählt, da dieses Gericht sowohl Cholesterol als auch verschiedene Phytosterole enthält.

Die mit den vier Aufbereitungsverfahren ermittelten Cholesterolgehalte im Menü sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Methoden nach *Tsui* (19), *Fenton* und *Sim*

Tabelle 2. Cholesterolgehalt in der Mahlzeitprobe (Eierteigwaren mit Fleischsauce Bolognese): Vergleich der Analysenwerte der 4 ausgewählten Aufbereitungsmethoden

Methode	Cholesterolgehalt (n = 4)		Wiederfindung (n = 2)	
	\bar{x}	VK	\bar{x}	VK
	mg/100 g FS	%	%	%
<i>Tsui, I.C. (19)</i>	31,2	1,8	97,1	2,5
<i>Oles, P. et al. (20)</i>	31,9	1,7	102,5	2,3
<i>Fenton, M. and Sim, J.S. (15)</i>	31,9	3,6	98,1	1,9
<i>Ulberth, F. and Reich, H. (17)</i>	25,9	3,2	100,7	3,3

FS = Frischsubstanz

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert

VK = Variationskoeffizient

Tabelle 3. Cholesterolhaltige Menükomponenten: Vergleich des Cholesterolgehalts, ermittelt nach verschiedenen Aufbereitungsverfahren

Methode	n	Butter		Parmesan		Rindfleisch		Eierteigwaren	
		\bar{x}	VK	\bar{x}	VK	\bar{x}	VK	\bar{x}	VK
		mg/100 g FS	%	mg/100 g FS	%	mg/100 g FS	%	mg/100 g FS	%
<i>Tsui, I.C. (19)</i>	4	225,4	0,8	91,8	2,3	77,1	7,4	17,9	15,3
<i>Oles, P. et al. (20)</i>	4	209,4	1,2	88,5	8,2	79,5	4,8	↔	↔
<i>Fenton, M. and Sim, J.S. (15)</i>	8	223,6	3,4	83,8	2,6	81,1	6,9	22,4	2,7

↔ keine Werte (der Vorteil der kalten Verseifung würde wegfallen)

FS = Frischsubstanz

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert

VK = Variationskoeffizient

(15) und *Oles et al. (20)* lieferten gut übereinstimmende Resultate. Hingegen fiel die Cholesterolausbeute beim Verfahren nach *Ulberth* und *Reich (17)* möglicherweise wegen einer Emulsionsbildung während der Abtrennung des Unverseifbaren tiefer aus. Danach wurde diese Aufbereitungsmethode nicht mehr weiterverfolgt. Mit den restlichen drei Verfahren wurden alle cholesterolhaltigen Bestandteile des Menüs (Butter, Parmesankäse, gehacktes Rindfleisch und gekochte Eierteigwaren) einzeln analysiert (Tabelle 3). Es zeigte sich, dass das Aufbereitungsverfahren nach *Fenton* und *Sim (15)* die vorgegebenen Auswahlkriterien am besten erfüllte. Der Variationskoeffizient des Cholesterolgehalts in der Mahlzeitprobe betrug 3,6% und die durchschnittliche Wiederfindungsrate belief sich auf $98,1 \pm 1,9\%$.

Für stärke- und/oder fettreiche Nahrungsmittel musste das Aufbereitungsverfahren jedoch modifiziert werden. Bei der Cholesterolbestimmung in den stärke-reichen Teigwaren wurden niedrige Ausbeuten beobachtet. Durch das Vorkochen der Teigwaren werden offenbar die Lipide teilweise im entstandenen Stärkekleister eingeschlossen und so der Verseifung und Extraktion entzogen (21). In der Literatur wird dieser kritische Punkt zum Teil übergangen (13, 22). Andere Autoren setzen bei der Untersuchung von stärke-reichen Lebensmitteln eine saure Hydrolyse ein (23, 24) oder verwenden zur Verseifung NaOH anstelle von KOH (25). In der vorliegenden Arbeit wurde das Problem durch einen enzymatischen Abbau der Stärke vor der Verseifung gelöst. Bei fettreichen Nahrungsmitteln, wie z. B. Butter, reichte die von *Fenton* und *Sim (15)* angegebene KOH-Konzentration zur vollständigen Verseifung nicht aus, weshalb sie auf 5% (w/v) in der ethanolschen Lösung erhöht wurde.

Zur Überprüfung der modifizierten Methode wurden auch andere Lebensmittel untersucht, wobei der durchschnittliche Variationskoeffizient 3,5% betrug. Die Resultate wurden den Tabellenwerten des *Agriculture Handbook No. 8 (26)* und den Werten des auf dem Bundeslebensmittelschlüssel (BLS) basierenden Datenverarbeitungsprogramms *EBIS (27)* gegenübergestellt (Abb. 1). Angesichts der

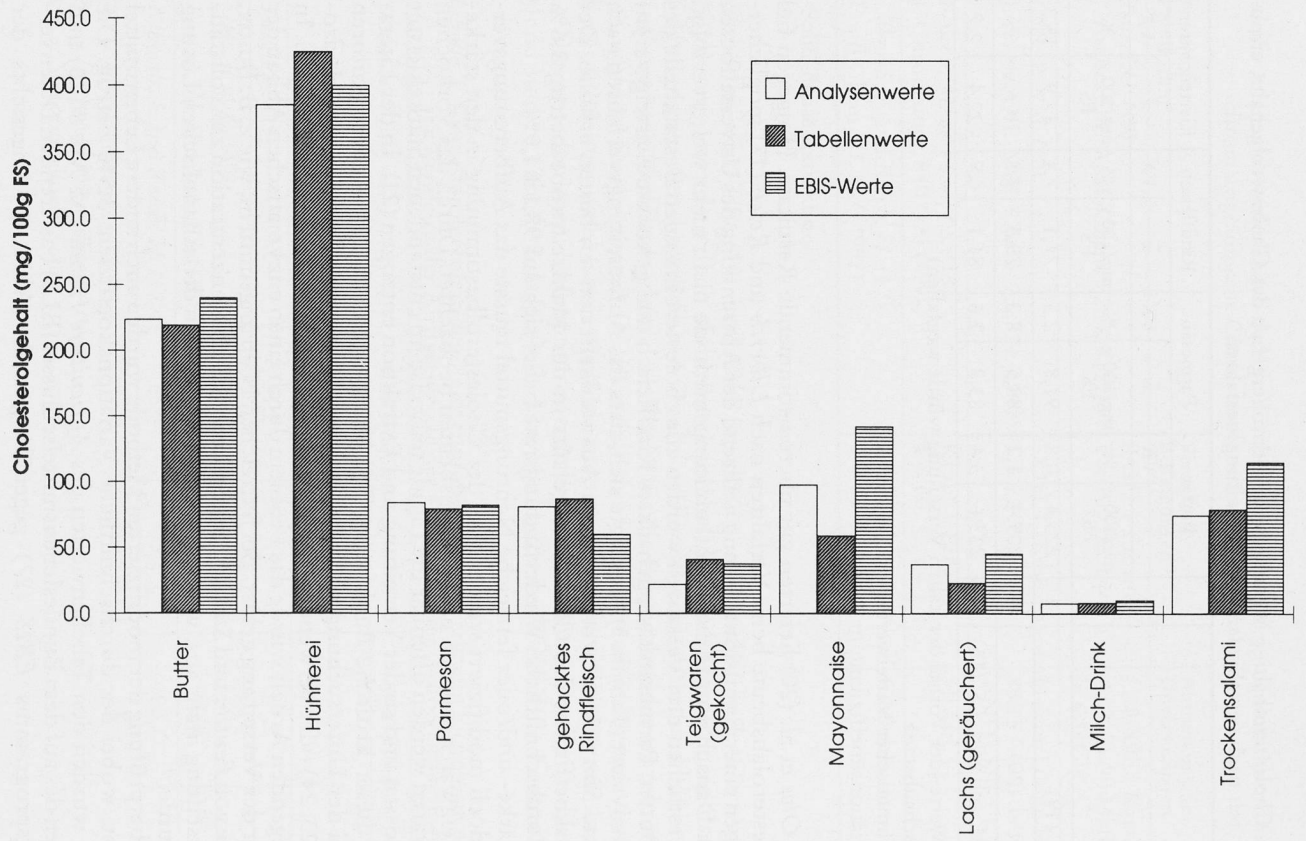


Abb. 1. Cholesterolgehalt in verschiedenen Lebensmitteln: Vergleich der eigenen Analysenwerte mit den Tabellenwerten des *Agriculture Handbook No. 8* (26) und den Angaben des auf dem Bundeslebensmittelschlüssel (BLS) basierenden Datenverarbeitungsprogramms *EBIS* (27)

Tabelle 4. Cholesterolgehalt in der Mahlzeitprobe: Vergleich zwischen dem Analysenwert und dem anhand der Analysenwerte der einzelnen Komponenten berechneten Wert (nach der von uns modifizierten Methode von *Fenton & Sim*)

Cholesterolhaltige Komponenten im Menü	Gewichtsanteil der Komponenten	Cholesterolgehalt in den Komponenten
	g	mg
Butter	10	22,4
Parmesan (gerieben)	10	8,4
Rindfleisch (gebraten)	152	123,3
Teigwaren (gekocht)	250	56,0
Gesamtcholesterol		210,1
Gesamtgewicht	615	

Cholesterolgehalt in der Mahlzeit	
Analysenwert	31,9 mg/100 g Frischsubstanz
berechneter Wert	34,2 mg/100 g Frischsubstanz

Tatsache, dass die untersuchten Nahrungsmittel mit den tabellierten nicht identisch und deshalb nur bedingt vergleichbar sind, stimmen die Werte gut überein. In älteren Nährwerttabellen wird der Cholesterolgehalt von Proben, welche sowohl Cholesterol als auch Phytosterole enthalten, oft überschätzt.

Zur weiteren Kontrolle der Resultate wurde der Cholesterolgehalt der einzelnen Komponenten des Menüs addiert und mit dem Analysenwert der Menüprobe verglichen (Tabelle 4). Die Ergebnisse stimmen sehr gut überein. Der Variationskoeffizient des Mittelwertes vom analysierten und berechneten Cholesterolgehalt betrug 4,9% und lag im Bereich der übrigen Variationskoeffizienten.

Das Chromatogramm in Abbildung 2 zeigt eine klare Abtrennung des Cholesterols von den vorhandenen Phytosterolen. Hingegen findet bei den gewählten Trennbedingungen eine Koelution von α -Tocopherol und Cholesterol statt. Ohne Zugabe von Antioxidantien wird α -Tocopherol bei der Verseifung grösstenteils oxidiert und damit als mögliche Fehlerquelle bei der quantitativen Analyse weitgehend eliminiert. Dies wird aus den Gaschromatogrammen in Abbildung 3 ersichtlich, die unter leicht veränderten Trennbedingungen (Ofentemperatur = 255 °C, Probengebertemperatur = 290 °C) aufgenommen wurden.

Verglichen mit der Methode von *Al-Hasani et al.* (13), die während der Vorbereitung dieser Publikation erschien und deshalb nicht in unsere Studie einbezogen werden konnte, bietet unser Verfahren folgende Vorteile:

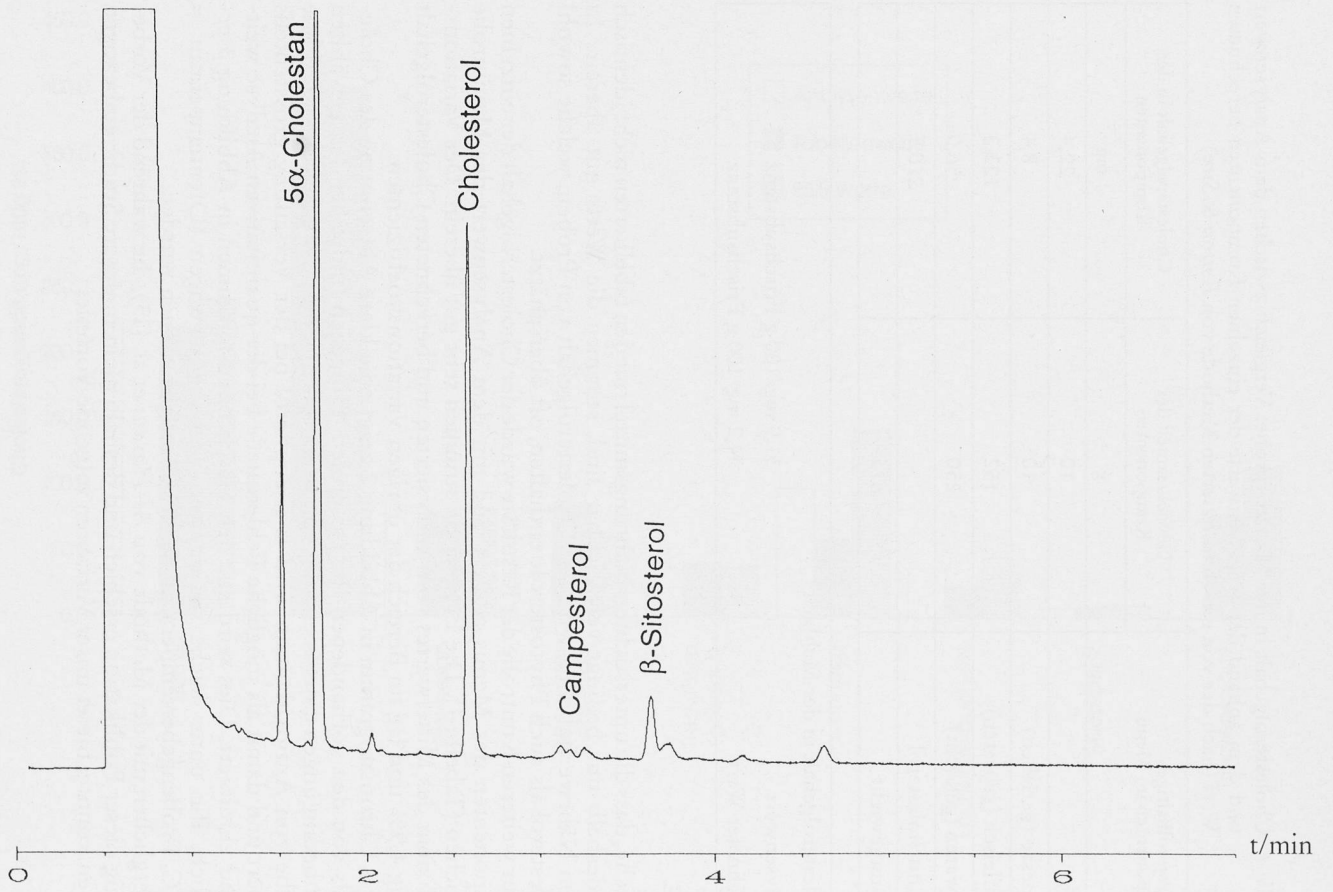


Abb. 2. Gaschromatogramm von Eierteigwaren (Makkaroni) mit Fleischsauce Bolognese bei einer Ofentemperatur von 280 °C und einer Probengeber-Temperatur von 300 °C

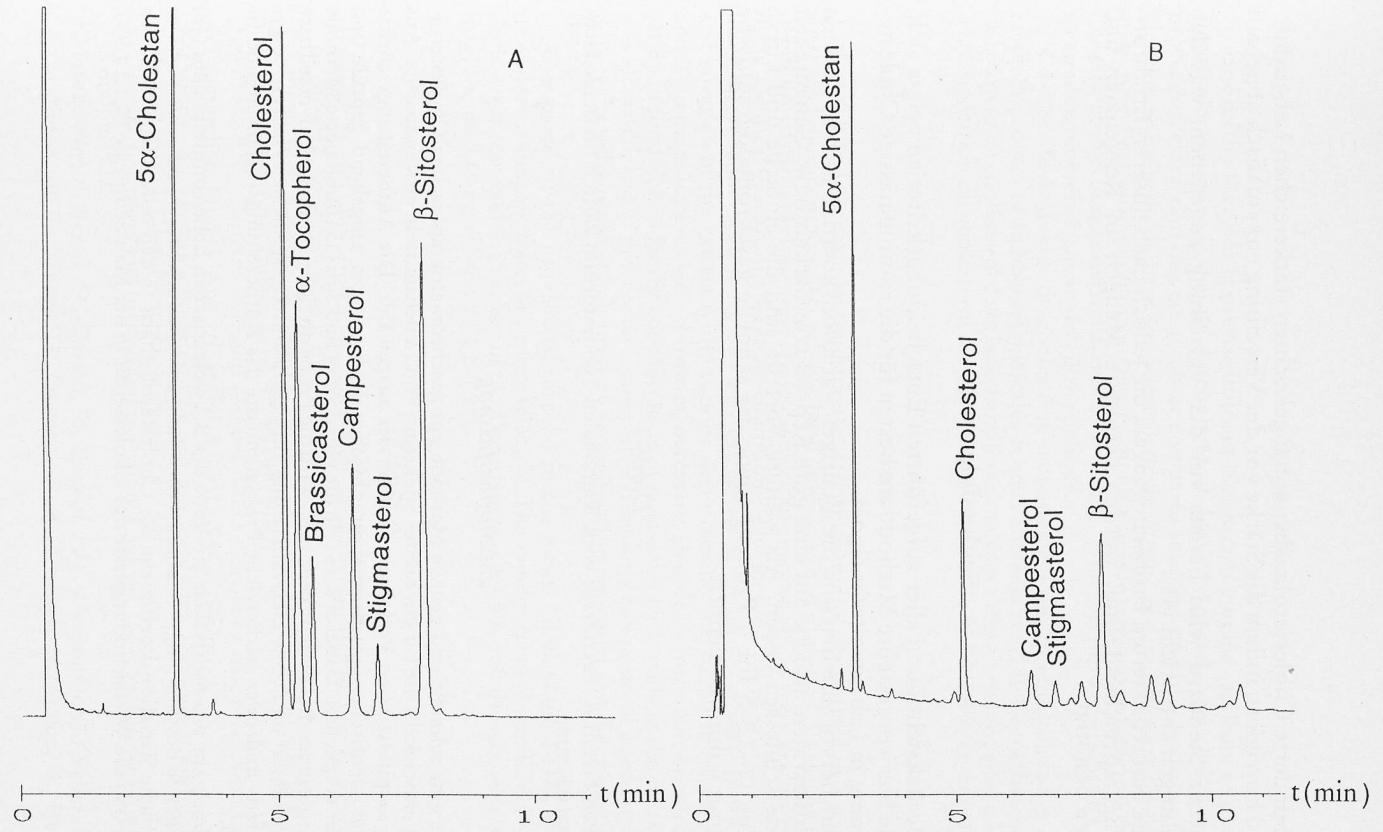


Abb. 3. Gaschromatogramme bei einer Ofentemperatur von 255 °C und einer Probengeber-Temperatur von 290 °C
A = Standardlösung
B = Mayonnaise

- a) Die verminderte Cholesterolausbeute bei gekochten stärkehaltigen Lebensmitteln wird korrigiert, indem die Stärke vor der Verseifung enzymatisch abgebaut wird.
- b) Der interne Standard wird bereits vor der Verseifung zugegeben, was den Empfehlungen entspricht (11).
- c) Als Folge von reduzierten Probeeinwaagen, die jedoch nach unseren Erfahrungen völlig ausreichend sind, werden geringere Mengen an Reagenzien und Lösungen benötigt.

Schlussfolgerung

Unter Berücksichtigung aller aufgeführten Entscheidungskriterien zeigte sich, dass sich die hier vorgestellte Methode am besten für die routinemässige Cholesterolbestimmung in Lebensmitteln eignet.

Besonders hervorzuheben sind die niedrigen Variationskoeffizienten und hohen Wiederfindungsraten, welche auf eine gute Reproduzierbarkeit bzw. Genauigkeit der Methode schliessen lassen. Als weitere Vorteile sind die einfache und kurze Aufarbeitung (2–2,5 h für 4 Proben) sowie die schnelle gaschromatographische Trennung (nur 6 min) zu nennen.

Dank

Wir danken Herrn *B. Pacciarelli* vom Kantonalen Laboratorium Zürich für seine fachkundige Unterstützung.

Zusammenfassung

Es wurde eine schnelle und genaue Methode zur gaschromatographischen Cholesterolbestimmung entwickelt, die für ein breites Spektrum von Lebensmitteln anwendbar ist. Aus der Vielzahl an publizierten Verfahren wurden vier ausgewählt. Die Aufbereitungsschritte wurden unter identischen gaschromatographischen Bedingungen eingehend geprüft und untereinander verglichen. Dabei erwies sich die von *Fenton* und *Sim* (15) publizierte Methode als am besten geeignet. Bei diesem Verfahren wird die Probe direkt verseift, das Unverseifbare mit Hexan extrahiert und ohne Derivatisierung zur gaschromatographischen Analyse eingespritzt. Für fett- und/oder stärkehaltige Proben musste das Aufbereitungsverfahren modifiziert werden.

Im Vergleich zur provisorischen Methode des Schweizerischen Lebensmittelbuches (18) ist das vorliegende Bestimmungsverfahren wesentlich einfacher, selektiver und schneller. Der durchschnittliche Variationskoeffizient des Cholesterolgehalts in den untersuchten Proben betrug 3,5% und die Wiederfindungsrate des Cholesterols in der Mahlzeitprobe $98,1 \pm 1,9\%$.

Résumé

Une méthode rapide et précise utilisant la chromatographie capillaire en phase gazeuse a été développée pour le dosage du cholestérol dans une grande variété d'aliments. Quatre procédés d'extraction ont été testés et comparés sous des conditions chromatographiques identiques. Le procédé basé sur la méthode de *Fenton* et *Sim* (15) s'est révélé être le plus approprié: l'échantillon est directement saponifié puis le non-saponifiable est extrait avec de l'hexane et injecté sans dérivatisation dans le GC. Pour des produits riches en lipides et/ou en amidon un prétraitement doit être appliqué.

Ce procédé de dosage du cholestérol est nettement plus simple, sélectif et rapide que la méthode provisoire du Manuel suisse des denrées alimentaires (18). Le coefficient de variation de la teneur en cholestérol dans les échantillons analysés s'élevait en moyenne à 3,5%. Le taux de récupération du cholestérol dans le menu testé a été de $98,1 \pm 1,9\%$ en moyenne.

Summary

A quick and accurate method for the determination of cholesterol in a wide variety of single and multicomponent foods has been developed and evaluated. From the large number of published methods four were chosen. The clean-up procedures were studied and compared using identical gaschromatographic conditions. The method based on *Fenton* and *Sim* (15) using direct saponification followed by extraction of the unsaponifiable fraction by hexane and injection of the extract without prior derivatisation was found to be the most suitable one. Two modifications were, however, necessary. In order to maintain a complete saponification in food rich in fat the concentration of potassium hydroxide in the ethanolic solution was increased, and to prevent an incomplete extraction of cholesterol an enzymatic degradation of the gelatinized starch prior to saponification was used for the cooked food rich in starch.

Compared to the provisional method in the Swiss Food Manual (18), the developed procedure is simpler, faster and more selective. The average relative standard deviation of the cholesterol content for a variety of food matrixes was $\pm 3.5\%$ and the recovery of cholesterol from a spiked test meal was $98.1 \pm 1.9\%$.

Literatur

1. *Belitz, H.-D. und Grosch, W.*: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 4., überarb. Auflage, S. 207–212. Springer-Verlag, Berlin 1992.
2. *Kannel, W.B., Castelli, W.P. and Gordon, T.*: Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. *Ann. Intern. Med.* **90**, 85–91 (1979).
3. *Wilson, P.W., Castelli, W.P. and Kannel, W.B.*: Coronary risk prediction in adults (The Framingham Study). *Am. J. Cardiol.* **59**, 91G–94G (1987).
4. *Pyörälä, K.*: Dietary cholesterol in relation to plasma cholesterol and coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **45**, 1176–1187 (1987).
5. *Gurr, M.I.*: Role of fats in food and nutrition, 2. ed, pp. 156–158. Elsevier Applied Science, London 1992.
6. *Gutzwiller, F., Bertel, O., Darioli, R., Epstein, F.H., Hartmann, G., Keller, U., Kummer, H., Mordasini, R., Nosedà, G., Pometta, D., Rickenbach, M., Riesen, W., Rutishauser, W.*

- und Stähelin, H.B.: Lipide und die Prävention der koronaren Herzkrankheit: Diagnostik und Massnahmen. Separatdruck Schweiz. Ärztezeitung 31/32 vom 2.8. 1989.
7. Keys, A.: Serum cholesterol response to dietary cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* **40**, 351–359 (1984).
 8. Thompson, W.G.: Cholesterol: Myth or reality? *Southern Med. J.* **83**, 435–440 (1990).
 9. King, I., Childs, M.T., Dorsett, C., Ostrander, J.G. and Monsen, E.R.: Shellfish: Proximate composition, minerals, fatty acids, and sterols. *J. Am. Diet. Assoc.*, **90**, 677–685 (1990).
 10. Krzynowek, J.: Sterols and fatty acids in seafood. *Food Technol.* **39**, 61–68 (1985).
 11. Fenton, M.: Chromatographic separation of cholesterol in foods. *Review. J. Chromatogr.* **624**, 369–388 (1992).
 12. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th Ed. AOAC, secs. 976.26 C and 976.26 H & 976.26 I, Arlington, VA 1990.
 13. Al-Hasani, S.M., Hlavac, J. and Carpenter, M.W.: Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Intern.* **76**, 902–906 (1993).
 14. Kovacs, M.I.P., Anderson, W.E. and Ackman, R.G.: A simple method for the determination of cholesterol and some plant sterols in fishery-based food products. *J. Food Sci.* **44**, 1299–1301, 1305 (1979).
 15. Fenton, M. and Sim, J.S.: Determination of egg yolk cholesterol content by on column capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.* **540**, 323–329 (1991).
 16. Kaneda, T., Nakajima, A., Fujimoto, K., Kobayashi, T., Kiriya, S., Ebihara, K., Innami, T., Tsuji, K., Tsuji, E., Kinumaki, T., Shimma, H. and Yoneyama, S.: Quantitative analysis of cholesterol in foods by gas-liquid chromatography. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **26**, 497–505 (1980).
 17. Ulberth, F. and Reich, H.: Gaschromatographische Bestimmung von Cholesterin in verarbeiteten Lebensmitteln. *Food Chem.* **43**, 387–391 (1992).
 18. Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, Bd. 2., Kapitel 22, Bestimmung des Cholesterins mittels GC (provisorische Methode: 18.10. 1990). Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern (wird laufend überarbeitet).
 19. Tsui, I.C.: Rapid determination of total cholesterol in homogenized milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **72**, 421–424 (1989).
 20. Oles, P., Gates, G., Kensinger, S., Patchell, J., Schumacher, D., Showers, T. and Silcox, A.: Optimization of the determination of cholesterol in various food matrixes. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **73**, 724–728 (1990).
 21. Dresselhaus, M. und Acker, L.: Zur Bestimmung des Eigehaltenes in Eierteigwaren – Überprüfung der Methodik. *Getreide, Mehl, Brot* **6**, 137–142 (1974).
 22. Punwar, J.K. and Derse, P.H.: Application of the official AOAC cholesterol method to a wide variety of food. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61**, 727–730 (1977).
 23. Schulte, E.: Gaschromatographische Bestimmung von Cholesterin in eihaltigen Lebensmitteln und Fetten. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **42**, 1–3 (1988).
 24. Dresselhaus-Schroebler, M. und Becker, G.: Zur Cholesterinbestimmung und Eiheitsberechnung in Lebensmitteln. I. Mitteilung: Gaschromatographische Cholesterinbestimmung: Ringversuch an Biskuit und Trockenei. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **43**, 97–100 (1989).
 25. Cauderay, P.: Egg pasta – Determination of cholesterol used to calculate the egg content. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **69**, 550–555 (1978).

26. Agriculture Handbook No. 8. United States Department of Agriculture, Human Nutrition Information Service. U.S. Government Printing Office, Washington D.C, 1974–1988.
27. EBIS – Ernährungsanamnese, Beratungs- und Informationssystem auf der Grundlage des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS), Version 1.1., geschrieben von J. Erhardt, Universität Hohenheim, und Robert Bosch, Krankenhaus Stuttgart 1992.

Eva Paterson
Dr. Ulrich Zürcher
Prof. Dr. Renato Amadò
Institut für Lebensmittelwissenschaft der
ETH Zürich
Laboratorium für Humanernährung
Seestrasse 72/Postfach 474
CH-8803 Rüschlikon