

Nachweis der MilCHFett-oxidation: Kritische Beurteilung

Marius COLLOMB und Monika SPAHNI, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM), Liebefeld, CH-3003 Bern

Dieser Übersichtsartikel beschreibt die Mechanismen der Lipidautooxidation und stellt die wichtigsten Oxidationsprodukte Aldehyde, Ketone, Alkohole und Kohlenwasserstoffe vor, die man in Lipiden von Milchprodukten finden kann. Er befasst sich mit den wichtigsten Methoden zur Bestimmung der primären und sekundären Produkte der Lipidoxidation.

Aus allgemeiner Sicht ist die Oxidation des MilCHFettes essentiell als destruktiver Prozess zu betrachten, weil sie durch Oxidation der Phospholipide zu einer Zersetzung der schützenden Fettkügelchenmembrane, zu einem verminderten Nährwert der Lebensmittel (z. B. durch die Reduktion des Gehaltes von ungesättigten Fettsäuren, von verschiedenen Vitaminen usw.) und zur Entstehung von unerwünschten sensorischen Merkmalen führt.

Die Oxidation des ungesättigten Anteils des MilCHFettes mit Luftsauerstoff führt zuerst zu primären geschmacks- und geruchslosen Oxidationsprodukten, den Hydroperoxiden. Diese Hydroperoxide zersetzen sich nachher zu sekundären Oxidationsprodukten (Aldehyde, Ketone, Alkohole, Kohlenwasserstoffe usw.) mit unerwünschten sensorischen Eigenschaften: metallisch, talgig, fischig usw. (Shipe *et al.* 1978). Tabelle 1 stellt einige typische Oxidationsprodukte des MilCHFettes und des sensorischen Befundes dar (Badings und Neeter 1980).

In der Milch sind die Metalle Kupfer und Eisen die wichtigsten Katalysatoren der Fettoxidation (Richardson und Korycka 1983; International Dairy Federation

Tab. 1. Typische Oxidationsprodukte des MilCHFettes nach Badings und Neeter (1980)

Komponenten	Geruch/Geschmack
Alkanale C6-C11	Gras - talgig
2-Alkenale C6-C10	Gras - fettig
2,4-Alkadienale C7-C10	ölig - übererhitzt
3-cis-Hexenal	Gras
4-cis-Heptenal	rahmig/nach Kitt
2,6- und 3,6-Nonadienale	Gurke
2,4,7-Dekatrienal	fischig, nach grünen Bohnen
1-okten-3-one	metallisch
1,5-cis-Oktadien-3-one	metallisch
1-Okten-3-ol	Pilzen

1993). Nach den gleichen Autoren können auch andere Parameter die Oxidationsstabilität der Milch beeinflussen. Die Ascorbinsäure (Vitamin C) hat in der Konzentration, die man in der Milch findet (10 bis 20 mg/l), eine oxidationsfördernde Funktion. Bei erhöhter Konzentration ist sie als Antioxidant zu berücksichtigen. Die Fütterung der Tiere kann die Konzentration von lipophylen natürlichen Antioxidanten wie die der Tocopherole und der Karotene modifizieren. Die Homogenisierung erhöht die Dauer der Oxidationsstabilität; dies wahrscheinlich aufgrund des besseren Schutzes der aus Kasein neu gebildeten MilCHFettkügelchenmembranen. Das Gleiche gilt bei Erhitzung (Pasteurisierungen, Uperisierungen) für die antioxidanten Sulfhydryl-Gruppen, die während diesen Prozessen freigesetzt werden. Bei der Butter haben verschiedene Autoren die Herkunft des fischigen Geschmacks sowie die Effizienz der Verpackungen, um die Photooxidation zu bremsen gründlich studiert (Badings und Neeter 1980; International Dairy Federation 1993; Badings 1970). Bei der Butterfabrikation kann man die Qualität und die Lagerfähigkeit stark verbessern, wenn der Rahm wenig Schwermetalle enthält und bei hoher Temperatur pasteurisiert wird, um die antioxidanten Sulfhydryl-Gruppen zu befreien.

Mechanismen der Fettoxidation

Man unterscheidet die klassischen Reaktionsmechanismen, die sich auch ohne Licht entwickeln, von jenen der Photooxidation, die Licht sowie Photosensibilisatoren (z. B. das Riboflavin) brauchen (Allen und Hamilton 1994). Beide Reaktionstypen führen nach Anlagerung von Sauerstoff zu zahlreichen Hydroperoxiden. Diese primären

Oxidationsprodukte (Hydroperoxide) zersetzen sich in sekundäre aromareiche Oxidationsprodukte (Aldehyde, Alkohole, Ketone). Abbildung 1 stellt einige vereinfachte Mechanismen der Hydroperoxidzersetzung dar.

Induktionsperiode

In den Lebensmitteln durchlaufen die Oxidationsreaktionen im allgemeinen eine erste Phase, in welcher sich die Oxidationsreaktionen bei einer langsamen und steten Geschwindigkeit entwickeln (Induktionsperiode) (Allen und Hamilton 1994). Dieser ersten Phase folgt eine zweite, in welcher sich die Geschwindigkeit stark beschleunigt. Der Zeitpunkt des Überganges zur zweiten Phase stellt ein Qualitätsmerkmal für die Lebensmittel dar. Die Anwesenheit von natürlichen und hinzugefügten Antioxidanten, oder technologische Prozesse, wie die Erhitzung oder die Homogenisierung, verlängern die Induktionsperiode und vermeiden so unerwünschte Gerüche und Geschmacksveränderungen.

Herkunft von sekundären Oxidationsprodukten

Im allgemeinen werden in der Milch die Phospholipide der Fettkügelchenmembranen als Ausgangsmaterial (Prekursoren) der Fettoxidation betrachtet (Richardson und Korycka 1983; International Dairy Federati-

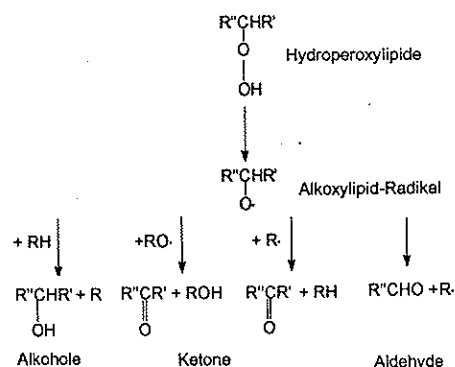


Abb. 1. Hydroperoxidabbau in Aldehyden, Alkoholen und Ketonen nach Allen und Hamilton (1994).

on 1993). Die ungesättigten Fettsäuren werden später oxidiert. Die gebildeten Oxidationsprodukte sind von der ungesättigten Fettsäurezusammensetzung des Milchfettes abhängig. Das Milchfett enthält zirka 28 bis 48 % ungesättigte Fettsäuren. Ölsäure (21,1 bis 30,5 %), Linolsäure (2,1 bis 7,7 %) und Linolensäure (zirka 1,3 bis 3,4 %) stellen mehr als 95 % der ungesättigten Fettsäuren des Milchfettes dar. Die Anzahl, Stellung und Konfiguration der Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren beeinflussen die Geschwindigkeit der Oxidation (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996). Die relativen Oxidationsgeschwindigkeiten stehen in einem Verhältnis von zirka 40:20:10:1 für Arachidonsäure, Linolensäure, Linolsäure und Ölsäure. Die konjugierten Doppelbindungen sind reaktiver als die nicht konjugierten und die cis-Fettsäuren reaktiver als die trans-Fettsäuren. Tabelle 2 stellt die wichtigsten Oxidationsprodukte vor, die durch die verschiedenen ungesättigten Fettsäuren des Milchfettes entstehen.

Badings (1970) hat die Oxidationsprodukte von reinen Öl-, Linol-, Linolen- und Arachidonsäuren analysiert. Nach zusätzlicher Analyse einer fischigen Butter, hat dieser Autor den guten Einklang zwischen den Oxidationskomponenten der Butter und reiner Säure konstatiert. Man bemerkt, dass die Carbonylkomponenten am meisten vertreten sind und dass sie in vier Gruppen eingeteilt sind: n-Alkanale, 2-Alkenale,

2,4- Alkadienale und 2-Alkanone. Die aliphatischen Aldehyde sind die wichtigsten sekundären Oxidationsprodukte des Milchfettes. Die verzweigten Aldehyde entstehen durch den Abbau der Aminosäuren. Die 2-Ketone können von der Decarboxylierung der β -Ketonsäuren herrühren. Das Okta-1-en-3-one ist für den metallischen Geschmack des Milchfettes verantwortlich. Dieser Geschmack ist typisch für die Vinylketone. Man hat im Butteröl ein anderes Vinylketon mit einer noch tieferen sensorischen Nachweisgrenze, das Okta-1-cis-5-dien-3-one gefunden. Was die Furane angeht, entstehen sie während der Bräunungsreaktion der Lebensmittel. Man hat bewiesen, dass die 2-n-Pentylfurane durch Oxidation von Linolsäure entstehen können. Bei den Alkanen weiss man, dass durch Oxidation von Linolensäure Ethan und von Linolsäure Pentan entsteht. Durch Oxidation können auch andere Produkte, wie zum Beispiel Laktone, während der Erhitzung des Milchfettes gebildet werden.

Nachweis von Oxidationsprodukten

Um die Oxidationsprodukte des Milchfettes zu bestimmen, kann man die Substrate (z. B. Sauerstoff) sowie die primären (Radikale, Hydroperoxide) und die sekundären (Aldehyde, Ketone usw.) Oxidationsprodukte analysieren. Diese Methoden werden für die Bestimmung des Oxidationszustan-

des des Milchfettes sowie für die Oxidationsstabilität verwendet (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996; Gray 1978; Joshi und Thakar 1994).

Bestimmung der Substrate: Milchfett und Sauerstoff sind die zwei nötigen Substrate der Milchfettoxidation. Die abnehmende Konzentration der ungesättigten Fettsäuren des Fettes oder die Erhöhung der freien mono- oder di-Fettsäuren, die während der Oxidation gebildet werden, könnten gute Nachweisparameter werden. Die Oxidation ist jedoch sensorisch bei sehr tiefen Konzentrationen nachweisbar ($< 2 \mu\text{g O}_2$ in 100 g). Die heutigen Prüfmethoden für die Bestimmung dieser Parameter können leider diese Nachweisgrenze nicht erreichen. Der Sauerstoff kann im Gegenteil problemlos mit verschiedenen Techniken (gaschromatographisch, potentiometrisch, polarographisch) erfasst werden.

Bestimmung der primären Oxidationsprodukte: Für die Bestimmung der primären Oxidationsprodukte (Radikale, Epoxide und Peroxide) hat man heute verschiedene Techniken zur Verfügung.

Eine dieser Techniken, die schon vor einigen Jahrzehnten in der Chemie gebraucht wurde, ist die **Elektronenspinresonanzspektrometrie (ESR)**. Diese Technik wird für die Erklärung von chemischen Strukturen von Radikalen in reinen Lösungen gebraucht. Neu wird sie jetzt auch zur Bestimmung der Konzentration von Radikalen und ihrer Strukturklärung in Lebensmit-

Tab. 2. Herkunft der wichtigsten Oxidationsprodukte des Milchfettes nach Badings (1970)

Prekursoren	Sekundäre Oxidationsprodukte
Ölsäure	Alkanale: Heptanal, Oktanal ¹⁾ , Nonanal ¹⁾ , Dekanal Alkenale: 2-t-Decenal ¹⁾ , 2-t-Undecenal ¹⁾
Linolsäure	Alkanale: Pentanal ¹⁾ , Hexanal ¹⁾ , Heptanal, Oktanal Alkenale: 2-t-Heptenal ¹⁾ , 2-t-Oktanal ¹⁾ , 2-c-Oktanal ¹⁾ , 2-t-Nonenal ¹⁾ , 2-c-Decenal ¹⁾ , 3-t-Nonenal ¹⁾ , 3-c-Nonenal ¹⁾ Alkadienale: 2-t, 4-t-Nonadienal, 2-t, 4-t-Dekadienal ¹⁾ , 2-t, 4-c-Dekadienal ¹⁾ Andere Komponenten: Vinyl Amyl Ketone ¹⁾ , Vinyl Amyl Carbinol ¹⁾
Linolensäure	Alkanale: Ethanal ¹⁾ , Propanal ¹⁾ , Hexanal Alkenale: 2-t-Butenal ¹⁾ , 2-t-Pentenal ¹⁾ , 2-c-Pentenal ¹⁾ , 2-t-Hexenal ¹⁾ , 2-t-Heptenal ¹⁾ , 3-t-Hexenal ¹⁾ , 3-c-Hexenal ¹⁾ Alkadienale: 2-t, 4-t-Heptadienal ¹⁾ , 2-t, 4-c-Heptadienal ¹⁾ , 2-t, 5-c-Oktadienal ¹⁾ , x-c, y-c-Nonadienal ¹⁾ , 2-t, 6-c-Nonadienal ¹⁾ Alkatrienale: 2,4,7-Dekatrienal (2 cis-trans Isomeren) Andere Komponenten: Vinyl Ethyl Ketone, 3,5-Oktadien-2-one
Arachidonsäure	Alkanale: Pentanal ¹⁾ , Hexanal ¹⁾ Alkenale: 2-t-Heptenal ¹⁾ , 2-t-Oktanal ¹⁾ , 2-c-Oktanal ¹⁾ , 3-c-Nonenal ¹⁾ , 4-c-Decenal Alkadienale: 2-t, 4-t-Dekadienal ¹⁾ , 2-t, 4-c-Dekadienal ¹⁾ Alkatrienale: zwei 2,4,x-Tridekatrienale ¹⁾ (x>6, möglich cis-trans Isomere) Andere Komponenten: 3-Okten-2-one ¹⁾ , Vinyl Ethyl Ketone ¹⁾ , 3,5-Undekadien-2-one ¹⁾ , Vinyl Amyl Carbinol
Fischige Butter	Alkanale: 3-Methylbutanal ²⁾ , Pentanal, Hexanal ²⁾ , Heptanal ²⁾ , Oktanal ²⁾ , Nonanal ²⁾ , Dekanal, Undekanal, Dodekanal Alkenale: 2-t-Pentenal, 2-t-Hexenal, 2-t-Heptenal, 2-t-Oktanal, 2-t-Nonenal ²⁾ , 2-t-Dekenal, 2-t-Undekenal, 4-t-Heptenal, 4-c-Heptenal Alkadienale: 2-t, 4-t-Heptadienal, 2-t, 4-c-Heptadienal, 2-t, 4-t-Nonadienal, 2-t, 6-t-Nonadienal, 2-t, 6-c-Nonadienal, 2-t, 4-t-Dekadienal, 2-t, 4-c-Dekadienal, 2-t, 4-t-Undekadienal, 2,x-Oktadienal (x>4) Alkatrienale: 2-t, 4-t, 6-t-Nonatrienal + 1 cis-trans Isomer, 2 cis-trans Isomeren des 2,4,7-Dekatrienals Alkanone: 2-Heptanon ²⁾ , 2-Nonanon ²⁾ , 2-Undekanon ²⁾ Ungesättigte Ketone: Vinyl Ethyl Keton ²⁾ , Vinyl Amyl Keton, 3,5-Oktadien-2-on (2 cis trans Isomere), 3,5-Undekadien-2-on Andere Komponenten: Benzaldehyd, Vinyl Amyl Carbinol

¹⁾ Komponente theoretisch möglich

²⁾ Komponente in schwachen Konzentrationen vorhanden



teln angewandt. Die Erklärung der chemischen Struktur der Radikale erlaubt, das Verständnis der Oxidationsmechanismen zu verbessern. Mit dieser Technik konnte der oxidative Abbau und der Einfluss von Reduktionsmitteln (Tocopherole, Vitamine) in Milchprodukten mit Erfolg studiert werden. Weil die Radikalbildung die erste Stufe der Fettoxidation ist, erlaubt die ESR-Spektrometrie früher als andere Techniken, eine beginnende Oxidation nachzuweisen. Eine andere weit verbreitete Methode ist die **Peroxidzahl**. Die Peroxide werden titrimetrisch oder spektrometrisch durch Oxidation einer Iodid- oder einer Eisen (II)-Lösung gemessen. In den Milchprodukten werden die Messungen vor allem im extrahierten Fett durchgeführt. Die *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)* und die *American Oil Chemists' Society (AOCS)* haben die iodometrische Prozedur, und der *Internationale Milchverband (IMV)* die Eisen (II)-Methode standardisiert. Aus allgemeiner Sicht ist die Peroxidzahl ein guter Indikator der Oxidation des Milchfettes, besonders während der Induktionsperiode. Die Korrelationen zwischen der Sensorik und den Peroxidwerten sind jedoch wegen der kontinuierlichen Entstehung und Zersetzung der Hydroperoxiden nicht immer signifikant.

Die Oxidation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren führt zur Bildung von Hydroperoxiden, die **konjugierte Diengruppen** enthalten ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}- \rightarrow -\text{CH}(\text{OOH})\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$). Diese Diene besitzen bei 234 nm eine starke Absorption. Die Bestimmung der konjugierten Diengruppen stellt daher eine andere Messung der Hydroperoxide dar. Diese Methode ist sehr verbreitet bei der Qualitätskontrolle von Pflanzenfetten (Allen und Hamilton 1994); für die Bestimmung der Oxidation des Milchfettes wird sie hingegen wenig gebraucht. Dies besonders, weil andere natürliche Komponenten der Lebensmittel, Diengruppen enthalten.

Die Hydroperoxide können chemisch hinzugefügte Substanzen oxidieren, die in diesem Zustand **Fluoreszenz** erzeugen. Neuerdings verwendet man das Diphenyl-1-pyrenylphosphin (DPP), das durch die Peroxide in stark fluoreszierendes DPP-oxyl oxidiert wird. Diese Methode ist zirka 10'000 mal empfindlicher als die Peroxidzahl. In der Milch hat man auch die Oxidation von Leucophloxin in fluoreszente Phloxine erfolgreich angewandt. Diese Methoden sind sehr empfindlich. Die Antioxidationsmittel können jedoch die Fluoreszenz reduzieren.

Die Oxidation des Milchfettes wird durch die Spontanaussendung von Photonen (**Chemilumineszenz**) begleitet, die von der Zersetzung der Peroxylradikale (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996) herkommen. Diese Aussendung ist eine Universaleigenschaft der oxidierten organischen Substanzen. Die Photonen können mit Photomultiplikatoren erfasst werden. Beim Milchpulver muss man die Proben auf 50 °C erhitzen, um ein nachweisbares Signal zu erhalten. In der rekonstituierten Milch ist die Erhitzung nicht obligatorisch. Die Bestimmung der Oxidation durch Chemilumineszenz ist eine schnelle und sensible Methode, die keine Probenvorbereitung verlangt. Ihre Schwachpunkte sind die geringe Lumineszenzaussendung der Proben sowie der unumgängliche Gebrauch von komplizierten Geräten.

Die Hydroperoxide können auch durch **flüssig/flüssig** oder **gas/flüssig Chromatographie** getrennt und bestimmt werden (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996). Es stehen dazu verschiedene Methoden zur Verfügung. Die einfachste ist eine flüssig/flüssig Mikromethode (Eingespritzte Menge: ca. 0,004 g dcs Fettes), die es erlaubt, die wichtigsten Hydroperoxide zu bestimmen. Man löst das Milchfett in Hexan und trennt die oxidierten von den unoxidierten Triglyceriden auf einer chromatographischen Säule. Die Trennung dauert zehn Minuten. Die polaren Hydroperoxide, wie die Phospholipide, bleiben auf der Säule adsorbiert. Die Messung wird von einem UV-Detektor bei 234 nm durchgeführt. Das bedeutet, dass man die konjugierten Diene der Hydroperoxide der Linol- und Linolensäuren misst. Die Methode ist einfach, schnell und wird immer mehr routinemässig eingesetzt. Um die individuellen Komponenten der Hydroperoxide noch weiter zu bestimmen, haben die gleichen Autoren eine andere flüssig/flüssig Methode entwickelt. Die oxidierten Fette, gelöst in einer Mischung von Ethanol/Isocctan, werden in Fettsäuren hydrolysiert und in Ethylester der Hydroxyfettsäuren reduziert. Diese letzte Methode erlaubt es auch, die geometrischen Isomere der Hydroxyfettsäuren zu bestimmen. Mit den gas/flüssig chromatographischen Methoden kann man auch die Hydroxiperoxide bestimmen. Diese Methoden sind aber zeitraubend, weil man eine Sililierung durchführen muss.

Bestimmung der sekundären Oxidationsprodukte: Für die Bestimmung der sekundären Oxidationsprodukte (Aldehyde,

Alkane, Alkohole, Ketone) braucht man besonders spektrophotometrische und chromatographische Methoden (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996; Gray 1978; Joshi und Thakar 1994).

Spektrophotometrische Methoden: Der **Kreistest** war einer der ersten entwickelten Tests zur Beurteilung der Fettoxidation. Verschiedene Oxidationsprodukte (Epihydrinaldehyd (2,3-Epoxypropanal), Malonsäure und verschiedene Acetale) reagieren mit dem zugefügten Phloroglucinol, um einen roten Farbstoff zu bilden. Die Reaktion ist nicht sehr spezifisch (Lebensmittelzusatzstoffe wie Vanillin können auf die Bestimmung interferieren; eine schwache Rosafärbung gibt keine Sicherheit einer Fettoxidation). Diese Methode ist zu einem britischen Standard geworden.

Mit dem **Anisidinwert** kann man die Aldehyde, besonders die 2-Alkenale, bestimmen. Die Aldehyde bilden mit dem zugefügten p-Anisidin einen gelben Farbstoff aus. Die Absorptionsmaxima und Farbsintensität variieren in Abhängigkeit zur chemischen Struktur der Aldehyde. Der Anisidinwert wurde durch die *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)* standardisiert. Dieser Test wird oft zum Nachweis des Oxidationsabbaus angewandt und ist besonders für stark beschädigte Pflanzenöle geeignet.

Die Bestimmung der **Thiobarbitursäurezahl (TBS)** ist einer der bekanntesten und erprobtesten Methoden zur Messung der sekundären Oxidationsprodukte. Einige Oxidationsprodukte und besonders die Malonaldehyde reagieren mit Thiobarbitursäure, um einen rosaroten Farbstoff zu ergeben. Die Bestimmungen können in der unbehandelten Probe, auf einem wässrigen Extrakt, einem Wasserdampfdestillat oder einem Fettextrakt durchgeführt werden. Die Bestimmungen in der unbehandelten Probe erlauben es, Oxidationsprodukte zu bestimmen, die in Extrakten nicht vorhanden sind. Was die Destillationsmethoden anbelangt, hat man den Vorteil, weniger Interferenzen zu haben. Solche Prozesse sind für alle Lebensmittel anwendbar. Die Analysen in einem Fettextrakt sind für das Studium von Fetten unterschiedlicher Zusammensetzung besonders zu empfehlen. Die TBS-Methode wurde wegen der zahlreichen Interferenzen kritisiert. Die Metalle Kupfer und Eisen erhöhen die Farbsintensität. Die Malonsäure kann mit den Proteinen reagieren und zu abnormal kleinen Werten führen. Das TBS-Reagenz ist temperatur- und säureempfindlich. Trotzdem wurden signifikante Korrelationen zwi-

schen den erhaltenen Werten und den Oxidationsprodukten in Butter gefunden. Diese Methode ist als Schnell- und Billigstest zur Vorerkennung einer Oxidation zu berücksichtigen.

Die Bestimmung der totalen Carbonylkomponenten (**Carbonylindex**) stellt eine andere Art dar, die sekundären Oxidationsprodukte zu bestimmen. Das Prinzip liegt in der Bildung von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen nach der Reaktion von 2,4-Dinitrophenylhydrazin mit Ketonkomponenten. Die kolorimetrische Bestimmung wird zwischen 430 und 460 nm gemessen. Ein Nachteil dieser Prozedur liegt in der während der Analyse teilweisen Zersetzung der Hydroperoxide in Carbonylkomponenten. Verschiedene Alternativen sind vorgeschlagen worden, um diesen Nachteil zu beseitigen (die Reaktion in der Kälte ausführen, die Hydroperoxide mit Zinnchlorid oder Triphenylphosphin reduzieren).

Fluoreszierende Verbindungen 1-Amino-3-iminopropen N,N-disubstituiert ($R-N=CH-CH=CH-NH-R$) können sich durch die Reaktion mit Carbonylkomponenten und gewissen Zellmembrankonstituenten (freie Aminogruppen, Phospholipide usw.) bilden. Die chemische Struktur der verschiedenen fluoreszierenden Produkte, die während der Oxidation gebildet werden, hängt von den Strukturen der Carbonylkomponenten und der Substituenten der Aminogruppen der konjugierten Schiff'schen Basen ab. Der Nachteil dieser Technik liegt in den unbekanntem Strukturen der fluoreszierenden Verbindungen. Trennungen mit Dünnschicht- oder Säulen-Chromatographie und Identifizierungen mit Massenspektrometrie würden von grossem Vorteil sein. Diese Methode findet wenig Anwendungen für Lebensmittel und insbesondere nicht für Milch und Milchprodukte. Diese Techniken sind sehr sensibel (Nachweisgrenze im unteren Bereich: $\mu\text{g pro kg}$) und eignen sich vorzüglich zur Bestimmung des Oxidationsabbaus. Die fluoreszierenden Verbindungen müssen jedoch zuerst getrennt und identifiziert werden.

Chromatographische Methoden

Man bestimmt besonders die totalen Carbonylkomponenten mit Dünnschicht-, Derivate mit flüssig/flüssig- und flüchtige sekundäre Oxidationsprodukte mit gas/flüssig- oder gas/fest-Chromatographie (Allen und Hamilton 1994; Collomb und Spahni 1996; Gray 1978; Joshi und Thakar 1994).

Dünnschichtchromatographische Methoden sind entwickelt worden, um alle **aliphatischen Monocarbonylkomponenten** als 2,4-Dinitrophenylhydrazone zu bestimmen. Die Monocarbonylkomponenten werden mit Lösungsmitteln extrahiert, in 2,4-Dinitrophenylhydrazone derivatisiert, auf chromatographischen Säulen gereinigt (Eliminierung der Fette und Ketoglycerinhydrazone) und in verschiedene Komponentenklassen (z.B. n-Alkanale, 2-Alkenale, 2-Alkanone und 2,4-Alkadienale) durch Dünnschichtchromatographie getrennt. Je nach Wahl des Trägermaterials kann man die Anzahl bestimmbarer Komponenten stark erhöhen. Diese Methoden erlauben es, die Carbonylkomponenten quantitativ im Nanogramm-Bereich zu bestimmen. Sie sind jedoch zeitraubend und werden deswegen in der Praxis wenig eingesetzt.

Die **Carbonylkomponenten** können auch durch **flüssig/flüssig** Chromatographie bestimmt werden. Die meisten Methoden basieren auch auf der Bildung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone. Man kann die Aldehyde unter Vakuum in einem Gefäss, das 2,4-Diphenylhydrazin enthält, simultan extrahieren und derivatisieren. Diese Technik wird besonders bei biologischen Systemen benutzt. Man kennt nur wenige Anwendungen für Lebensmittel.

Die **sekundären flüchtigen Oxidationsprodukte (SFOP)** der Fette können am besten durch **gas/flüssig-Chromatographie (GC)** und **-Massenspektrometrie (GC-MS)** bestimmt werden.

Man kann das Fett direkt im Injektor («glass liner») des Gaschromatographen deponieren (**direkte Einspritzung**). Der Säulen-anfang wird abgekühlt, um die SFOP zu konzentrieren. Sie werden nachher bei hohen Temperaturen des Injektors durch die Säule eluiert. Die Techniken der Direkteinspritzung ergeben im allgemeinen gute Angaben über den Oxidationszustand der Fette. Sie erlauben es, gute Korrelationen zwischen den SFOP und den sensorischen Daten zu erhalten. Sie sind jedoch aufgrund der Zersetzung der Hydroperoxide bei den hohen Eluierungstemperaturen im Injektor des Gaschromatographen zum Studium der Oxidationsentwicklung weniger anwendbar.

Die SFOP können auch im Kopfraum am statischen Gleichgewicht bestimmt werden (**Static Head Space Gas Chromatography (SHS-GC)**). Diese Bestimmungen werden normalerweise direkt im Kopfraum der Lebensmittelverpackungen oder im Kopfraum eines wässrigen Extrakts der

Proben durchgeführt. Die Probe oder das Destillat ist thermostatisiert (z. B. bei ca. 60 °C) und die Kopfraumkomponente wird mit einer gasdichten Spritze entnommen und in den GC eingespritzt. Diese Technik erlaubt es, die flüchtigen Substanzen im Bereich $\mu\text{g pro kg}$ nachzuweisen. Das wichtigste Problem dieser Technik betrifft die Empfindlichkeit. Diese Technik ist daher für die Analyse von Spurenkomponenten zu wenig empfindlich.

Die manchmal ungenügende Empfindlichkeit der SHS-Techniken können durch **Dynamic Head Space Gas Chromatography (DHS-GC)** überwunden werden. Der Konzentrador «purge and trap» von der Firma Tekmar stellt für solche Bestimmungen eine Standardausrüstung dar. Die SFOP werden im Kopfraum bei einer bestimmten Temperatur mit einem Gasfluss (z.B. Helium) eluiert und auf einem Adsorptionsmittel (z.B. Tenax, Porapak oder Chromosorb) konzentriert. Die Desorption im GC wird bei hohen Temperaturen (z.B. 200 °C während 5 bis 20 Min.) durchgeführt. Mit dieser Technik hat man eine signifikante Korrelation zwischen den SFOP und den sensorischen Oxidationsmerkmalen in der Milch gefunden.

LITERATUR

Das Literaturverzeichnis ist beim Erstautor erhältlich.

RÉSUMÉ

Détermination de l'oxydation de la matière grasse laitière

Ce travail décrit brièvement les mécanismes d'autooxydation des lipides et présente les principaux produits d'oxydation (aldéhydes, cétones, alcools, alcanes) qui peuvent être trouvés dans les lipides des produits laitiers. Il passe en revue les principales méthodes de dosages des produits primaires et secondaires de l'oxydation des lipides.

SUMMARY

Determination of oxidation of milkfat. A critical appraisal

This work describes briefly the mechanisms of lipid oxidation and lists the most important products (aldehydes, ketones, alcohols, hydrocarbons) of lipid oxidation in dairy products. The principal methods for measuring the primary and secondary products of lipid oxidation are reviewed.

KEY WORDS: oxydation, milkfat, lipid