

Probenvorbereitung für die Fettanalytik

Von Mikrowellen-unterstützter Extraktion bis Derivatisierung



© MLS

Vor etwas mehr als 10 Jahren hat MLS seine Mikrowellen-technische Lösung für eine schnelle gravimetrische Fettbestimmung vorgestellt. Diese hat in der Zwischenzeit in vielen Laboren Einzug gehalten. Vorteilhaft ist, dass mit dem gewonnenen Fett ohne weitere Präparation auch die klassische Fettsäureanalytik durchgeführt werden kann. Ergänzend wird hier eine Mikrowellen-unterstützte direkte Umsetzung der Probe zu Fettsäuremethylestern beschrieben.

Alle drei Schiedsmethoden zur Fettbestimmung sind gravimetrische Methoden – eine gravimetrische Auswertung macht eine besonders hohe Präzision möglich. Allerdings bedeuten die drei Methoden Weibull-Stoldt, Röse-Gottlieb und Schmid-Bondzynski-Ratzlaff einen relativ hohen Arbeitsaufwand und Zeitbedarf. Außerdem ist keine der Schiedsmethoden für alle Lebensmittel- und Futtermittelproben gültig.

Eine durch die Mikrowelle unterstützte Fettbestimmung ist u. a. deshalb wesentlich schneller, da die Hydrolyse der Proben gleichzeitig zur Extraktion verläuft [1]. Die Auswertung erfolgt auch hier gravimetrisch mit einer hohen Genauigkeit.

Die Methode durchgeführt mit den Geräten von MLS kann dabei eine Probenmenge bis 15 g bearbeiten, so dass auch bei niedrigem Fettgehalt genaue Ergebnisse erhalten werden können. Die Standardeinwaage für alle Lebens- und Futtermittelproben mit normalem Fettgehalt liegt bei mindestens 3 bis 6 g. Auch die technische Entwicklung geht weiter: So konnte der Durchsatz mit dem Standardbehälter von 12 auf 15 Proben pro Durchlauf erhöht werden.

Um die Methode in der Routine einsetzen zu können, muss stets eine Validierung erfolgen. Positiv in diesem Zusammenhang: Die Mikrowellen-unterstützte gravimetrische Fettbestimmung wurde dieses Jahr im VDLUFA-Methodenbuch Bd. VI C 15.2.7 veröffentlicht [2]. Durch einen bereits gelaufenen Ringversuch liegt hiermit eine grundlegende Validierung vor.



Der SR-15-Rotor von MLS macht 15 Fettbestimmungen parallel möglich. © MLS

Fettsäurebestimmung nach Extraktion

Erfahrungen verschiedener Labore in Deutschland haben gezeigt, dass aus dem bei der Fettbestimmung gewonnenen Fett weitere Untersuchungen problemlos möglich sind. Ein wichtiger Vorteil ist, dass das Fett bereits wasserfrei vorliegt und somit die Derivatisierung zu Fettsäuremethylestern (FAME) z. B. mit Na-Methanolat ohne Konkurrenzreaktion abläuft. Eine separate Extraktion zur Fettsäurebestimmung entfällt. Mit 25 ml Cyclohexan pro Probe ist der Bedarf an Lösemittel recht gering. Tabelle 1 zeigt die gute

Übereinstimmung anhand einer Referenzprobe Kuchenbackmischung.

Direkte Derivatisierung für weitere Analysen

Klassisch werden die Fette alkalisch mit Na-Methanolat zu den FAME umgesetzt. Wie beschrieben bietet sich das an, wenn das Fett bereits isoliert vorliegt, wie z.B. nach der Fettgehaltsbestimmung. Es handelt sich dabei um eine Umesterung. Das heißt, freie Fettsäuren werden mit diesem Verfahren nicht erfasst. Ohne vorherige Extraktion sind hingegen mehrere Arbeitsschritte notwendig, die einen relativ großen Arbeitsaufwand darstellen.

Alternativ können FAME aber auch mittels saurer Umsetzung gewonnen werden. Ein bekanntes Beispiel ist hierbei die Umsetzung mit der hoch toxischen Lewis-Säure BF₃. Die Giftigkeit von BF₃ war Motivation genug, um nach einer anderen Möglichkeit zu suchen. Für die Umsetzung per Mikrowelle hat sich schließlich eine methanolische Schwefelsäure bewährt.

Ein weiterer Vorteil: Saure Methoden verestern auch freie Fettsäuren und führen bei ausreichend Überschuss des Alkohols zur vollständigen Umsetzung. Dass diese Methode mit Mikrowellenunterstützung prinzipiell geeignet ist, wurde bereits mit einem Sonnenblumenöl nachgewiesen (Tabelle 2). Eine signifikante Veränderung des Fettsäuremusters wurde dabei nicht festgestellt.

Bei einem solchen Einschnittverfahren ist eine trockene Probe notwendig, da es sonst zu Konkurrenzreaktionen kommt. Ziel ist es, geeignete pulverige Proben in nur einem Arbeitsschritt zu extrahieren und zu derivatisieren. Das neue Verfahren kann z. B. 24 Proben parallel mit Hilfe eines nur 30 Minuten dauernden Heizschrittes umsetzen. Anschließend wird ein Aliquot aus der oberen Lösemittelphase entnommen und kurz mit einem geeigneten Salz geschüttelt. Die Fettsäuremethylester stehen dann für die GC bereit.

Fazit

Die im VDLUFA-Methodenbuch beschriebene Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes mit Hilfe der Mikrowelle reduziert den Arbeitsaufwand im Labor und ist für alle Proben im Lebensmittel- und

Tabelle 1: Fettgehaltbestimmung und Fettsäureanalytik. Quelle: MLS

Parameter Referenzprobe Kuchenbackmischung (4fach-Bestimmung)	Kombination Fettgehalt Mikrowelle Derivatisierung klassisch	Klassisches Verfahren	Zertifizierter Wert
Fettgehalt der Probe,	5,38 ± 0,080 %	5,43 ± 0,082%	5,33 ± 0,27 %
davon gesättigte Fettsäuren	2,63 ± 0,083 %	2,66 ± 0,297 %	2,80 ± 0,318 %
Zusammensetzung des Fettes [g/100g Fett]			
gesättigte Fettsäuren (FS)	48,85 ± 0,083	48,90 ± 0,297	
einfach ungesättigte FS	32,12 ± 0,062	32,61 ± 0,507	
mehrfach ungesättigte FS	17, 54 ± 0,059	16,97 ± 0,297	
trans-Fettsäuren	1,13 ± 0,074	1,11 ± 0,096	

Tabelle 2: Bestimmung einzelner Fettsäuren. Quelle: MLS

Wichtige Fettsäuren Sonnenblumenöl	Mikrowelle Direktverfahren [g/100g]	Klassisches Verfahren [g/100g]
C16-0 Palmitinsäure	6,350	6,070
C16-1 Palmitoleinsäure	0,118	0,108
C18-0 Stearinsäure	3,744	3,555
C18-1 Ölsäure	29,52	29,27
C18-2 Linolsäure	56,99	56,46
C18-3 Linolensäure	0,065	0,055
C20-0 Arachinsäure	0,301	0,259
C20-1 Gondoensäure	0,152	0,163
C22-0 Behensäure	0,854	0,809

Futtermittelbereich einsetzbar. Für die anschließende Derivatisierung zu Fettsäuremethylestern (FAME) wurde bei MLS nun ein weiteres Mikrowellenunterstütztes Verfahren entwickelt, mit dem geeignete Proben direkt umgesetzt werden können. Damit wird die Flexibilität der Mikrowellentechnik weiter erhöht.

Literatur

- [1] Fettbestimmung in Milchprodukten, R Bakri, H Frister, C Wiedemann, W Strohmar, GIT (2015)
- [2] Bestimmung des Fettgehaltes von Milch und Milchprodukten, Mikrowellenunterstützte gravimetrische Analyse, VDLUFA Methodenbuch Bd. VI C 15.2.7, VDLUFA-Verlag (2020)

AUTOR

Dipl.-Ing. (FH) Gernot Kopp
 Applikationslabor
 MLS GmbH, Leutkirch
 www.mls-mws.com