

Hinweise zu den DGF-Einheitmethoden C-VI 15 (08) und C-VI 16 (08) zur Bestimmung von Pyropheophytin a und isomeren Diacylglycerinen

Analytik

Die Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft e.V. hat zwei Methoden zur Bestimmung der Pyropheophytine und der isomeren Diacylglycerine in Pflanzenölen veröffentlicht:

DGF-Einheitmethode C-VI 15 (08) beschreibt eine Methode zur Bestimmung der Abbauprodukte des Chlorophyll a bzw. Pheophytin in nativen pflanzlichen Ölen und Fetten. Bei der Lagerung von Ölen wird Chlorophyll a kontinuierlich zu Pheophytin a und a' und schließlich zu Pyropheophytin abgebaut. Dieser Abbau wird durch Wärme beschleunigt. Aber auch durch andere Einflüsse (z. B. endogene Enzyme während der Verarbeitung, Sauerstoff und Licht während der Lagerung) werden diese Farbstoffe zu Hydroxy-Pheophytin a, Hydroxy-Lacton Pheophytin a und schließlich weiter zu farblosen Reaktionsprodukten abgebautⁱ. Frisches natives Olivenöl enthält kein Pyropheophytin a, Hydroxy-Pheophytin und Hydroxy-Lacton Pheophytin a.

Für die Bestimmung werden die neutralen Lipide säulenchromatographisch abgetrennt und im Eluat die Peakflächen von Pyropheophytin a und der Pheophytine mittel RP 18-HPLC bei 410 nm (VIS) bestimmt. Der Pyropheophytin a-Gehalt wird berechnet über den Peakflächenanteil des Pyropheophytin a an der Summe der Peakflächen aller Pheophytine und Pyropheophytine. Der Anteil des Öles an Pyropheophytin a an den Chlorophyll a-Abbauprodukten wird in (Flächen-) Prozent angegeben.

Die DGF-Einheitmethode C-VI 16 (06) beschreibt eine Methode zur Bestimmung der isomeren Diacylglycerine (1,2- und 1,3-Diacylglycerine) in pflanzlichen Speiseölen. Dabei werden auch hier zunächst die unpolaren, neutralen Triacylglycerine von den polareren Diacylglycerinen säulenchromatographisch abgetrennt. Nach Silylierung wird die Verteilung der einzelnen 1,3- und 1,2-Diacylglycerine gaschromatographisch bestimmt. Der Anteil der 1,2-Diacylglycerine wird über ihren prozentualen Peakflächenanteil an der Summe der Peakflächen aller Diacylglycerine im Öl definiert. Er wird als prozentualer Anteil der 1,2-Diacylglycerine angegeben.

Direkt nach der Ernte liegt der Anteil der 1,2-Isomeren in Olivenöl bei fast 100 %. Die Genese dieser 1,2-Diacylglycerine ist aber nicht auf eine Isomerisierung, sondern auf die unvollständige Triacylglycerin-Biosynthese zurückzuführenⁱⁱ. Nach dem Pressen werden aufgrund enzymatischer Aktivitäten der Lipase, die zusätzlich durch Wärme gesteigert wird, in Gegenwart von Wasserspuren aus Triacylglycerinen freie Fettsäuren unter Bildung von 1,3-Diglycerinen gebildet^{iiiiv}. Dieser Prozess läuft bis zur Filtration des Öles und zur vollkommenen Entfernung aller Wasserspuren.

Ohne Einfluss von Enzymen lagern sich 1,2-Isomeren während der Lagerung langsam, aber kontinuierlich in die thermodynamisch stabilere 1,3-Form um, bis

DEUTSCHE EINHEITSMETHODEN ZUR UNTERSUCHUNG VON FETTEN, FETTPRODUKTEN, TENSIDEN UND VERWANDTEN STOFFEN

schließlich am Ende für den 1,2-Diacylglycerin-Anteil ein Gleichgewicht von 30 % erreicht wird. Diese Reaktion wird deutlich von dem Gehalt an freien Fettsäuren beeinflusst^{3, v}. Der Gehalt an 1,2- bzw. 1,3-Diacylglycerinen kann einen deutlichen Hinweis auf die Dauer und Art der Lagerung der Früchte vor der Pressung und das Alter des Öles geben^{vi, vii, viii}.

Beurteilung

Die Gehalte an isomeren Diacylglycerinen und Pyropheophytinen können zur Beurteilung der Qualität und des Alter von Olivenölen hilfreich sein. Zusammen mit anderen Parametern, z. B. der Sensorik, können sie Herstellern, Vertreibern und der Lebensmittelüberwachung ein Bild über die Beschaffenheit des Produkts verschaffen. Verschiedene sensorische Defekte wie stichig müssen im Gegensatz zur Ranzigkeit oder zu modrig nicht in Einklang mit dem Gehalt an isomeren Diacylglycerinen stehen.

Die *Australian Olive Association* hat die beiden DGF-Methoden übernommen und inzwischen folgende Grenzwerte für verkehrsfähige Öle festgelegt:

- Pyropheophytine ≤ 15 % bezogen auf alle Chlorophyll a-
Abbauprodukte (Pheophytine
und Pyropheophytine)
- 1,2- Diglyceride ≥ 40 % bezogen auf die gesamten Diglyceride

Inzwischen wurden die beiden Methoden und die australischen Werte auch in den USA als Qualitätsparameter für native Olivenöle vorgeschlagen (Proposed Draft Standard for Olive Oil – Draft Proposal Marketing Order).

In der Verordnung der Europäischen Union und dem Standard des IOC für Olivenöl sind derzeit weder die Methoden noch Grenzwerte zu diesen beiden Methodenparametern aufgeführt.

Untersuchungen an europäischen bzw. in Europa vertriebenen Olivenölen haben gezeigt, dass eine Orientierung an den australischen Werten auch in Europa möglich ist.

Die beide DGF-Methoden wurden 2009 auch vom ISO/TC 34/SC 11 (Animal and vegetable fats and oils) übernommen und sind als ISO 29822:2009 und ISO 29841:2009 verfügbar.

- i Aparicio-Ruiz, R.; Mínguez-Mosquera, M. I.; Gandul-Rojas, B. Thermal degradation kinetics of chlorophyll pigments in virgin olive oils. 1. Compounds of series a. *J. Agric. Food Chem.* **58** (2010) 6200-6208.
- ii Amelotti, G.; Daghetta, A.; Ferrario, A. Content and structure of partial glycerides in virgin olive oils: their evolution by different working process and preservation form. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **66** (1989) 681-692.
- iii Apostolos Spyros, Angelos Phillippidis and Photis Dais. Kinetics of diglyceride formation and isomerization in virgin olive oils by employing ³¹P NMR Spectroscopy. Formulation of a quantitative measure to assess olive oil storage history. *J. Agric. Food Chem.* **52** (2004) 157-164.
- iv M. C. Pérez-Camino, W. Moreda, and A. Cert; Effects of Olive Fruit Quality and Oil Storage Practices on the Diacylglycerol Content of Virgin Olive Oils. . *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001) 699-704.
- v Masao Shimizu, Naoto Kudo, Yoshinobu Nakajima, Noboru Matsuo, Yoshihisa Katsuragi, Ichiro Tokimitsu, Isabel Barceló, Catalina Mateu, Francisca Barcelo; Acidity and DAG Content of Olive Oils Recently Produced on the Island of Mallorca. *JAOCs* **85** (2008) 1051-1056.
- vi A. Kiritsakisa, G.D. Nanosb, Z. Polymenopoulou, T. Thomaib, and E.M. Sfakiotakisb; Effect of Fruit Storage Conditions on Olive Oil Quality. *JAOCs* **75** (1998) 721-724.
- vii F. Caponio, M.T. Bilancia, A. Pasqualone, E. Sikorska, T. Gomes. Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. *Eur Food Res Technol.* **221** (2005) 92-98.
- viii L. Gallardo-Guerrero, B. Gandul-Rojas, M. Roca, M.I. Mínguez-Mosquera. Effect of Storage on the Original Profile of Spanish Virgin Olive Oil. *J Am Oil. Chem Soc.* **82** (2005) 33-39.