

# Übersichtsbericht

## Ablauf und Analytik des oxydativen Fettverderbs\*

Werner Grosch

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München (BRD)

Eingegangen am 4. Juni 1974

### Course and Analysis of the Oxidative Fat Deterioration

*Summary.* A review was made of the results and hypotheses published by various authors concerning the autoxidation of unsaturated fatty acids at low temperatures. The following points were discussed:

1. Reactions during the induction period (metal catalysis, formation of singlet oxygen).
2. Radical chain reactions, in which oxygen in the ground state takes part (multiplication of peroxides).
3. Precursors of aroma active carbonyl compounds (peroxyl radicals, monohydroperoxides, polar peroxides).
4. Resulting consequences for the analysis of oxidative fat deterioration from the experimental findings and the hypotheses deduced from these.

*Zusammenfassung.* Die Ergebnisse und Hypothesen, die von verschiedenen Autoren über die Autoxydation ungesättigter Fettsäuren bei niedrigen Temperaturen veröffentlicht worden sind, werden zusammenfassend dargestellt. Im einzelnen werden diskutiert:

1. Reaktionen während der Induktionsperiode (Metallkatalyse, Bildung von Singulett-Sauerstoff).
2. Radikalkettenreaktionen, an denen Sauerstoff im Grundzustand beteiligt ist (Multiplikation der Peroxyde).
3. Vorläufer der aromaaktiven Carbonylverbindungen (Peroxyradikale, Monohydroperoxide, polare Peroxide).
4. Konsequenzen, die sich für die Analytik des oxydativen Fettverderbs aus den experimentellen Befunden und den daraus abgeleiteten Theorien ergeben.

### Einleitung

Es ist eine bekannte Erfahrung, daß die Haltbarkeit von Lebensmitteln, in denen ungesättigte Fettsäuren vorkommen, oft nur begrenzt ist, wenn die Fettphase mit Luft in Berührung kommen kann. Im Verlauf von Reaktionen mit dem Luftsauerstoff entstehen Geruchs- und Geschmacksstoffe, die einen ranzigen, tranigen, metallischen oder fischigen Aromafehler oder einen nicht näher definierbaren Altgeschmack verursachen können.

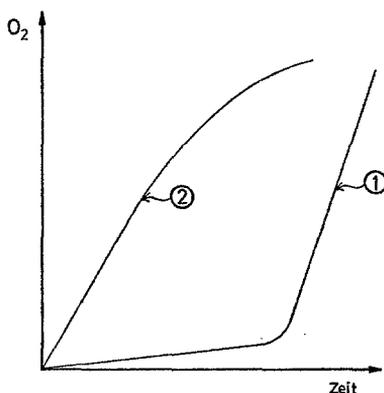


Abb. 1. Kinetik der Fettoxydation [1]. Die Konzentration an Prooxydantien sind in ① gering und in ② hoch

\* Vortrag auf der Tagung des Arbeitskreises Bayern der GDCh-Fachgruppe Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie, Augsburg 25./26. April 1974

Umfangreiche Untersuchungen haben gezeigt, daß die Geschwindigkeit des oxydativen Fettverderbs abhängig ist von der Fettsäurezusammensetzung, der Konzentration und Wirksamkeit von Pro- und Antioxydantien, dem  $O_2$ -Partialdruck, der mit  $O_2$  in Berührung kommenden Oberfläche und von den Bedingungen, unter denen das fetthaltige Lebensmittel gelagert wird. (Temperatur, Licht, Wassergehalt). Entsprechend unterschiedlich kann die Kinetik der Oxydation verlaufen. Abbildung 1 veranschaulicht zwei Extreme. Im folgenden diskutiere ich den in Abb. 1 wiedergegebenen Grenzfall 1, der dadurch gekennzeichnet ist, daß bedingt durch einen sehr niedrigen Gehalt der Fettphase an Prooxydantien eine Induktionsperiode auftritt (Zeitspanne bis erste Oxydationsprodukte nachgewiesen werden können) und erst danach die Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Zeit zunimmt.

### Theorie von Farmer u. Bolland

Zur Klärung der Vorgänge, die beim oxydativen Fettverderb ablaufen, wird in der Literatur über Modellversuche mit einzelnen Fettsäuren berichtet. Sie ergaben (Tab. 1): Je mehr isolierte Doppelbindungen im Molekül vorkommen, umso kürzer ist die Induktionsperiode und umso schneller verläuft die Oxydation.

Tabelle 1. Induktionsperiode und relative Oxydationsgeschwindigkeit bei 25° C [2, 3]

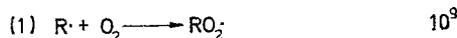
Fettsäure	Zahl der Doppelbindungen	Induktionsperiode Std	Relative Oxydationsgeschwindigkeit
Stearinsäure	0		1
Ölsäure	1	82	100
Linolsäure	2	19	1200
Linolensäure	3	1,34	2500

Die beiden Phänomene — Induktionsperiode und Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit in der Reihe Öl-, Linol- und Linolensäure — lassen sich mit den Annahmen erklären: Die Oxydation verläuft über radikalische Zwischenstufen; wobei intermediär relativ stabile Radikale gebildet werden, die nur besonders aktivierte H-Atome abstrahieren können.

Farmer u. Mitarb. [4] und Bolland [5] haben diese beiden Gesichtspunkte und die Beobachtung der exponentiellen Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit zur Grund-

Start: Bildung von  $R\cdot$  oder  $RO_2\cdot$

Kettenwachstum:  $k [l \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}]$



Kettenabbruch bei  $p_{O_2} \geq 10$  Torr



Kettenverzweigung:

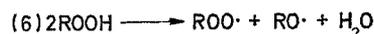


Abb. 2. Elementarschritte der Autoxydation von Olefinen [4, 5]

lage gemacht für die Formulierung der Elementarschritte, die bei der Autoxydation von Olefinen ablaufen (Abb. 2). Aus den bekannt gewordenen Geschwindigkeitskonstanten für die Teilschritte der Radikalkette ergibt sich, daß, bedingt durch die relative Stabilität von Peroxyradikalen, die Fortsetzung des Kettenwachstums durch Abstraktion eines H-Atomes aus einem Fettsäuremolekül (R.K. in Abb. 2) sehr langsam verläuft. Dieser Teilschritt bestimmt die Geschwindigkeit des gesamten Vorgangs „Fettoxydation“.

Die Unterschiede in den Oxydationsgeschwindigkeiten (Tab. 1) in der Reihe Stearin-, Öl- und Linolsäure beruhen auf einer zunehmenden Aktivierung von Methylengruppen für eine H-Abstraktion. So oxydiert die Linolen- im Vergleich zur Linolsäure etwa doppelt so schnell, weil in der Linolensäure zwei Methylengruppen vorkommen, die durch zwei benachbarte Doppelbindungen für eine H-Abstraktion aktiviert sind.

Die Fettoxydation beschleunigt sich autokatalytisch, da Radikale durch einen unimolekularen Zerfall oder durch eine bimolekulare Reaktion aus den Hydroperoxiden hervorgehen (R.K. 5 u. 6 in Abb. 2).

Von den verschiedenen Möglichkeiten eines Abbruchs der Radikalkette (bei Zimmertemp. soll er nach etwa 100 Umläufen erfolgen) dominiert beim Sauerstoffpartialdruck der Luft die Kollision von zwei Peroxyradikalen (R.K. 3 in Abb. 2).

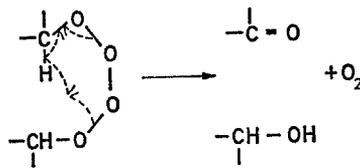


Abb. 3. Kettenabbruch sec. -Peroxyradikale [6]

Die relativ hohe Geschwindigkeit dieser Reaktion (etwa  $10^3$  mal höher als bei tert.-Peroxyradikalen) weist daraufhin, daß sec. Peroxyradikale — sie entstehen bei der Fettoxydation — über einen cyclischen Mechanismus (Abb. 3) unter Freisetzung von Sauerstoff reagieren [6]. Die intermediär entstehenden Peroxyradikale können sich, wie schon in R.K. 3 der Abb. 2 formuliert, zu Diacylperoxiden kombinieren. Es ist aber auch möglich, daß der cyclische Ablauf der Reaktion — wie in Abb. 3 angegeben — zu einer Disproportionierung in Keto- und Monohydroxisäuren führt.

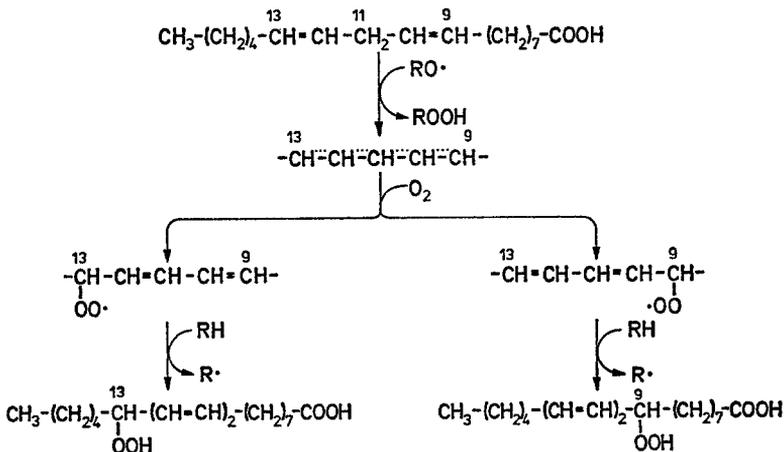


Abb. 4. Autoxydation der Linolsäure

Das von Farmer u. Bolland formulierte Schema läßt sich zwanglos auf jede Fettsäure übertragen. Die Linolsäure oxydiert danach unter Bildung von zwei Monohydroperoxiden (Abb. 4).

Die Hypothese von Farmer u. Bolland wurde experimentell überprüft. Ihre wesentlichen Stützen sind:

1. Nach Einführung von Randbedingungen, in denen die Grenzen des Experiments berücksichtigt wurden, ergeben sich aus der Theorie Geschwindigkeitsgesetze, die mit den kinetischen Messungen übereinstimmen. Beispiele in [7, 8].

2. Die Hydroperoxide, die als Hauptprodukte durch Anwendung der Theorie auf jede einzelne Fettsäure abgeleitet werden können, wurden auch als Autoxydationsprodukte identifiziert. Im Fall der Linolsäure sind es die 9-Hydroperoxioctadeca-10, 12- und die 13-Hydroperoxioctadeca-9, 11-diensäure (Abb. 4). Beide Verbindungen entstehen, wie es die Theorie fordert, im Verhältnis 1:1 [9].

### Aromastoffe

Die im Zuge der Autoxydation sich bildenden Hydroperoxide sind geruch- und geschmacklose Verbindungen. Die eigentlichen Aromastoffe entstehen in großer Vielfalt erst sekundär: Flüchtige Aldehyde, einige Dienone und Vinylketone spielen vielfach eine überragende Rolle. In gesondert gelagerten Fällen können aber zusätzlich bestimmte Alkine, Vinylalkohole und Alkylfurane wesentlichen Einfluß auf den *off-flavor* nehmen, da diese Autoxydationsprodukte auch relativ niedrige Aromaschwellen besitzen [43]. In Tab. 2 sind die Carbonylverbindungen zusammengestellt, die bei

Tabelle 2. Flüchtige Carbonylverbindungen aus autoxydierter Linolsäure (10)

Verbindung	$\mu\text{g/g}$ oxydierter Fettsäure	Aroma
Pentanal	55	stechend
Hexanal	5100	grün, grasig
Heptanal	50	ölig, nach Kitt
Octanal	45	fettig
2 tr-Heptenal	450	fettig, nach Kitt
2 c-Octenal	990	fettig nach Walnüssen
2 tr-Octenal	420	fettig
2 tr-Nonenal	30	talgig, nach Gurken
3 c-Nonenal	30	nach frischen Gurken
3 tr-Nonenal	30	nach Gurken
2 c-Decenal	20	fettig, nach Spülwasser
2 tr, 4 tr-Nonadienal	30	fettig, ölig
2 tr, 4 c-Decadienal	250	Fritieraroma
2 tr, 4 tr-Decadienal	150	Fritieraroma
1-Octen-3-on	2	nach Metall

der Autoxydation von Linolsäure entstehen (Carbonylverbindungen aus anderen, ungesättigten Fettsäuren in [10]). Den Geruchs- und Geschmacksschwellenkonz. der Carbonylverbindungen (Tab. 3) ist zu entnehmen, daß schon sehr niedrige Konzentrationen für die Ausbildung eines *off-flavors* ausreichen. Dementsprechend braucht nur ein sehr geringer Anteil der ungesättigten Fettsäuren zu oxydieren, bis ein Lebensmittel ranzig geworden ist.

Hervorzuheben sind auch die Unterschiede in den Schwellenkonz. einzelner Verbindungen oder einer homologen Reihe (z. B. *n*-Alkanale in Tab. 3).

Besonders intensive Aromastoffe entstehen bei der Oxydation von Linolsäure. Das rasche Verderben linolensäurehaltiger Lebensmittel beruht nicht nur auf der be-

vorzugten Reaktionsfähigkeit dieser Säure, sondern auch noch auf den niedrigen Schwellenkonzentrationen der entstehenden flüchtigen Aldehyde (z. B. 2 tr, 6 c-Nonadienal).

Tabelle 3. Aromaschwellen von Aldehyden gelöst in Paraffinöl [11—13]

Verbindung	Aromaschwelle	
	Geruch (mg/kg)	Geschmack (mg/kg)
Propanal	3,6	1,6
Butanal	0,15	0,024
Pentanal	0,24	0,15
Hexanal	0,32	0,15
Heptanal	3,2	0,042
Octanal	0,32	0,068
Nonanal	13,5	0,32
Decanal	6,7	1,0
Undecanal	6,8	0,1
2 tr-Pentenal	2,3	0,32
2 tr-Hexenal	10,0	2,5
2 tr-Heptenal	14,0	0,63
2 tr-Octenal	7,0	1,0
2 tr-Nonenal	3,2	0,1
3 c-Hexenal	0,11	0,11
4 c-Heptenal	0,01	0,0016
4 tr-Heptenal	2,3	0,32
6 tr-Nonenal	0,005	0,0004
2 tr, 4 tr-Heptadienal	3,6	0,055
2 tr, 4 c-Decadienal	2,15	0,28
2 tr, 6 c-Nonadienal	0,01	0,02

Die Vielfalt der Carbonylverbindungen, die für das Aroma relevant sind, erweitert sich noch, wenn bei der Oxydation einer Fettsäure, die in einem Lebensmittel nur in geringen Konzentrationen vorkommt, eine Carbonylverbindung mit einem sehr hohen Aromapotentiale entsteht. Als Beispiel sei die im Rinder- und Hammeltalg [14] und in der Butter [15] vorkommende 11 c, 15 c-Octadecadiensäure genannt: der Vorläufer für das 4 c-Heptenal (Schwellenwert in Tab. 3). Auch technologische Maßnahmen können zu einem veränderten Fettsäurespektrum und damit zu Vorläufern für neue Carbonylverbindungen führen. Ein Beispiel ist hier das 6 tr-Nonenal (Schwellenwert in Tab. 3), bei dessen Precursor, der 9,15-Octadecadiensäure, es sich um eine partiell hydrierte Linolensäure handelt [16]. Entsprechend kann dieser Aldehyd bei der Lagerung von partiell gehärtetem Soja- und Leinsamenöl entstehen. Er ist mitverantwortlich für einen Aromafehler, dem sogenannten „Härtungs-Geschmack“.

Als unmittelbare Vorläufer der flüchtigen Aldehyde wurden von Badings [1] und von Frankel *u. Mitarb.* [18] die Monohydroperoxide postuliert. Sie fragmentieren unter intermediärer Bildung eines Oxyradikals, wie in Abb. 5 angegeben. Ohloff [19] formuliert einen anderen Mechanismus, betont aber auch die Bedeutung der Monohydroperoxide als Vorläufer der flüchtigen Aldehyde.

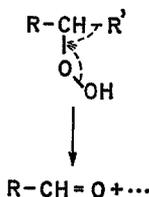


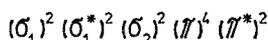
Abb. 5. Zerfall von Monohydroperoxiden zu Aldehyden

## Reaktionen während der Induktionsperiode

Die Theorie von Farmer u. Bolland über den Ablauf der Autoxydation von Olefinen hat noch eine entscheidende Lücke: Sie sagt nichts aus über das Geschehen während der Induktionsperiode.

Einen Start von Radikalketten in einem System, das nur ungesättigte Triglyceride und Sauerstoff, aber keine Peroxyde enthält, sollen bestimmte Schwermetallionen [20] und paramagnetische Fe-Porphyrin-Komplexe (z. B. Methämoglobin [21]) auslösen können. Bawn [22] hat dieser Ansicht im Hinblick auf die Schwermetalle widersprochen und auch Waters [23] entnimmt den experimentellen Befunden, daß die Schwermetalle nur durch eine Zersetzung von Hydroperoxiden die Fettoxydation beschleunigen können.

### Elektronenkonfiguration



$\pi^*$ -Molekülorbital: Besetzung der  $2p_y$  und  $2p_z$   
Bahnfunktionen

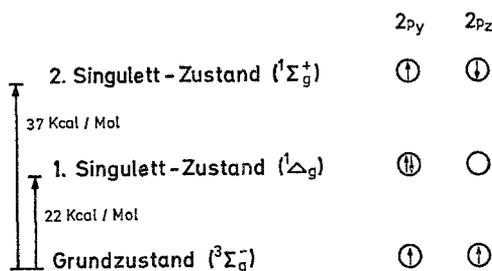


Abb. 6. Elektronenkonfiguration des Sauerstoffmoleküls [24]

Doch wie steht es mit dem anderen Reaktionspartner, dem Sauerstoff? In Abb. 6 ist seine Elektronenkonfiguration wiedergegeben. Sie erlaubt die Zustände:  ${}^3\Sigma_g^-$ ,  ${}^1\Delta_g$  und  ${}^1\Sigma_g^+$ . Im Grundzustand ( ${}^3\Sigma_g^-$ ) sind nur 1-Elektronen-Reaktionen mit Radikalen zu erwarten. Unter Aufnahme von 22 kcal/mol geht der Sauerstoff in den 1. Singulett-Zustand ( ${}^1\Delta_g$ ) über (Abb. 6). Die beiden einsamen Elektronen sind jetzt gepaart. Das Molekül ähnelt in seiner Bereitschaft zu 2-Elektronen-Reaktionen dem Äthylen; es ist nur elektrophiler [25]. Der 2. ( ${}^1\Sigma_g^+$ ) besitzt im Vergleich zum 1. Singulett-Zustand eine noch kürzere Lebensdauer.

Modellversuche zur Fettoxydation mit Sauerstoff im 1. Singulett-Zustand können leicht durchgeführt werden. Er ist u. a. auch auf chemischem Wege zugänglich (Abb.7). Nachgewiesen werden kann seine Bildung und Verweilzeit durch eine Bestimmung der aus dem Übergang  ${}^1\Delta_g \rightarrow {}^3\Sigma_g^-$  resultierenden Emission bei  $1,27\mu$ .

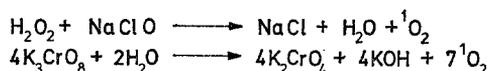


Abb. 7. Quellen für Singulett-Sauerstoff für Modellversuche [25, 26]

Die ungesättigten Fettsäuren werden vom Singulett- $\text{O}_2$  wesentlich schneller oxidiert als vom Sauerstoff im Grundzustand [28]. Abbildung 8 zeigt als Beispiel die Oxydationskinetik einer Linolensäure-Emulsion mit  $\text{K}_3\text{CrO}_8$  als Quelle für Singulett- $\text{O}_2$ .

Durch Cylco-Addition des Singulett- $\text{O}_2$  (Abb. 9) — der Perepoxyd-Mechanismus spielt wahrscheinlich keine Rolle [30] — an die Doppelbindung der Fettsäuren gehen

aus jeder Fettsäure doppelt so viele Hydroperoxide hervor, wie isolierte Doppelbindungen im Molekül vorkommen [31]. In Abb. 10 sind als Beispiel die Reaktionsprodukte der Linolsäure dargestellt: Zusätzlich zu den beiden Hydroperoxiden mit einem

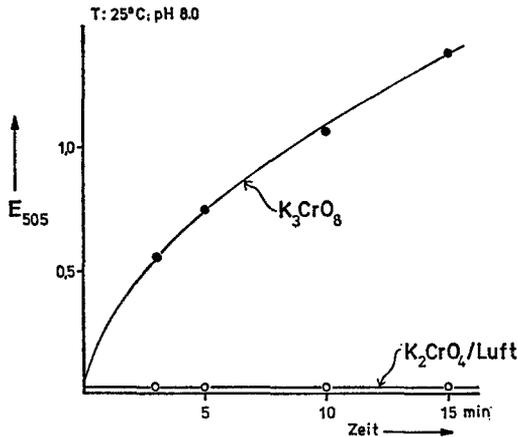


Abb. 8. Oxydation einer Linolensäure-Emulsion mit Singulett-Sauerstoff [27]. -●-●-: Singulett-O<sub>2</sub> durch Hydrolyse von K<sub>3</sub>CrO<sub>8</sub>. -○-○-: Kontrollversuch: K<sub>3</sub>CrO<sub>8</sub> ersetzt durch K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>; außerdem die Emulsion mit Luft begast

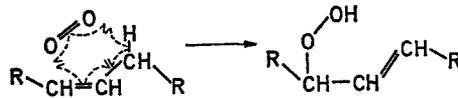


Abb. 9 Reaktion von Singulett-Sauerstoff mit allylständigen Doppelbindungen [29]

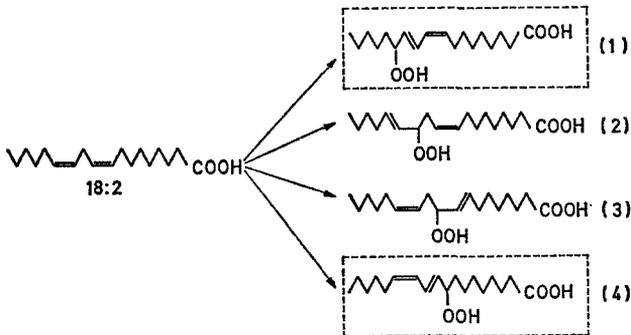


Abb. 10 Oxydation von Linolsäure: Vergleich der Oxydation durch Singulett-O<sub>2</sub> mit der Autooxydation. Die Hydroperoxide 1—4 entstehen bei der Oxydation mit Singulett-O<sub>2</sub>. Die Hydroperoxide 1 und 4 werden bei der Autooxydation gebildet

konjugierten Dien-System entstehen noch zwei weitere Hydroperoxide mit isolierten trans-Doppelbindungen [28, 29]. Aufgrund dieses Strukturmerkmals können die nicht konjugierten Hydroperoxide neben denen mit konjugierten Doppelbindungen nachgewiesen werden. Es ist somit möglich zu unterscheiden, ob bei der Oxydation von Linolsäure Singulett-O<sub>2</sub> beteiligt ist oder nicht. Khan u. Mitarb. [29] haben diese Methode zur Untersuchung einiger Reaktionen angewendet, die eine Fettoxydation auslösen können (Tab. 4). Gefunden wurden Hydroperoxide mit isolierten tr-Doppelbindungen zu Beginn der Oxydation nur in den Ansätzen 1 (Singulett-O<sub>2</sub> erzeugt durch Reaktion von Hypochlorit mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; vgl. S. 75) und 2 (sensibilisierte Photooxydation).

In Gegenwart eines Schwermetalls oder von Licht (sichtbar oder ultraviolett) oxydiert die Linolsäure bei niedrigen Temperaturen vergleichsweise langsam und es treten keine Hydroperoxide mit isolierten trans-Doppelbindungen auf. Die Schwermetall-Katalyse ist damit jedoch nicht abschließend untersucht. Zumindest müssen

Tabelle 4. Oxydation von Linolsäure — Nachweis von Hydroperoxiden mit isolierten trans-Doppelbindungen [29]

Reaktions-System Reaktionspartner der Linolsäure	isol. trans-DB	Reaktions- geschwindigkeit
1. Singulett-O <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /HClO)	ja	groß
2. Chlorophyll/Licht sichtbar	ja	groß
3. Licht sichtbar	nein	klein (2)
4. UV-Licht	nein	klein (1)
5. 1% Co-linoleat	nein	klein (3)

( ) Rangfolge der langsamen Reaktionen.

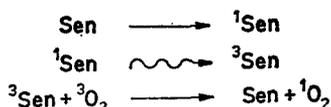
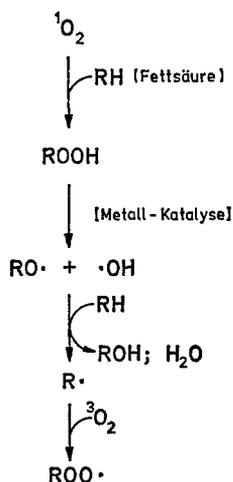


Abb. 11. Bildung von Singulett-O<sub>2</sub> bei der sensibilisierten Photooxydation [25]

noch die in Frage kommenden verschiedenen Metallionen getestet werden, ob sie den Sauerstoff für eine direkte Hydroperoxydierung von Fettsäuren aktivieren können oder nicht.

Gestartet wird die durch Licht induzierte Oxydation durch eine Aktivierung des Sensibilisators (Abb. 11). Unter Aufnahme von Photonen entsteht zunächst ein angeregter Singulett-Zustand (<sup>1</sup>Sen), der dann strahlungslos unter Spinumkehr in einen Triplett-Zustand (<sup>3</sup>Sen) übergeht. So angeregt, kann der Sensibilisator Energie auf den Sauerstoff unter Bildung des 1. Singulett-Zustandes transferieren [25].

Der so entstandene <sup>1</sup>O<sub>2</sub> kann direkt die ungesättigten Fettsäuren peroxydieren (vgl. S. 76). Es bilden sich Hydroperoxide, die unter Mitwirkung von Schwermetallspuren in Oxyl-, Peroxyl- und Hydroxylradikale fragmentieren (Abb. 12). Überstei-



[Fortsetzung der Reaktionskette  
in Abb. 2]

Abb. 12. Entstehung der Startradikale aus den ersten Peroxyden

gen diese Radikale eine bestimmte Grenzkonzentration, dann ist die Induktionsperiode beendet: Mehr und mehr Radikalkettenprozesse werden unter Mitwirkung von Sauerstoff in seinem Grundzustand gestartet, d. h. es schließen sich die Reaktionen an, die von Farmer u. Bolland postuliert worden sind (vgl. S. 71).

Doch welche Sensibilisatoren kommen in fetthaltigen Lebensmitteln vor? In Modellversuchen wurden bisher neben Chlorophyll identifiziert [25, 29]: Pheophytin, Protoporphyrin und polycyclische Kohlenwasserstoffe. Wahrscheinlich ist die Zahl der Sensibilisatoren wesentlich größer.

Da Carotinoide die Photooxydation inhibieren [32], können Hemmversuchen mit  $\beta$ -Carotin Hinweise auf eine mögliche Beteiligung von Singulett-Sauerstoff an einer Fett-Oxydation entnommen werden [28, 33]. Da bei einer Hydroperoxydierung durch Cyclo-Addition (vgl. Abb. 9) keine Radikale auftreten, sind die bekannten phenolischen Antioxydantien bei der Oxydation durch Singulett- $O_2$  wirkungslos. Im Hinblick auf die Fett-Raffination ist dieser Unterschied wesentlich [33], denn bei der Bleichung wird der größte Teil der Carotinoide im Unterschied zu den Tocopherolen abgetrennt.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die eingehenden Untersuchungen über die Reaktivität des Sauerstoffs einen Vorgang aufgezeigt haben, der entscheidend die Dauer der Induktionsperiode bestimmen kann. Offen bleibt die Frage: Ist dies der einzige Weg zu den ersten Peroxyden oder spielen noch andere Mechanismen bei der Überwindung der hohen Energie-Barriere zwischen dem Sauerstoff in seinem Grundzustand und der Fettsäure (40–60 kcal/mol) eine Rolle?

### Zerfall der Hydroperoxide zu Aldehyden

Ein weiterer kritischer Punkt der Theorie über den Ablauf des oxydativen Fettverderbs ist die Schlußreaktion, die schon in Abb. 5 gezeigte Fragmentierung der Monohydroperoxide in flüchtige Carbonylverbindungen.

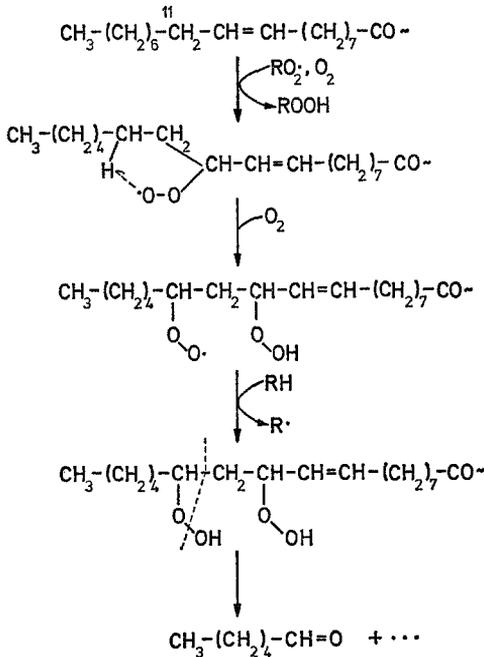


Abb. 13

Abb. 13. Bildung niedermolekularer Aldehyde durch intramolekulare Wasserstoffabstraktion [35].  
Beispiel: Ölsäure

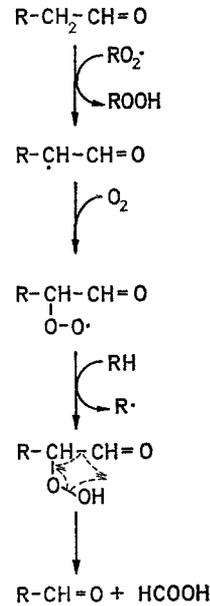


Abb. 14

Abb. 14. Autoxydation der Aldehyde [36]

Die Theorie geht davon aus, daß Monohydroperoxide sehr instabil sind. Dem widersprechen einmal Erfahrungen mit Linolsäurehydroperoxiden, denn für diese Verbindungen wird bei 60° C eine Halbwertszeit von immerhin 30 min angegeben [34].

Außerdem ist folgende Beobachtung bemerkenswert: Als Oxydationsprodukte einer ungesättigten Fettsäure wurden zahlreiche Aldehyde, aber nur wenige Monohydroperoxide nachgewiesen. Besonders auffällig ist die Linolsäure. Zwei Hydroperoxide (vgl. Abb. 4), aber mehr als zehn flüchtige Aldehyde wurden von verschiedenen Autoren in Autoxydationsversuchen identifiziert (vgl. Tab. 2). Mit den Erfahrungen über radikalische Reaktionen kann man natürlich die Bildung dieser Vielzahl von Aldehyden unter der Annahme entsprechender Monohydroperoxide als Intermediate formulieren (z. B. in [19]). Dafür, daß die postulierten Hydroperoxide nicht identifiziert werden konnten, bietet sich zunächst als Erklärung an: Die geringen Konzentrationen, in denen diese Vorläufer entstehen, und ihre Instabilität verhindern ihre analytische Erfassung.

Aber es gibt auch andere Vorstellungen: So sollen nach Horikx [35] die primär gebildeten Peroxylradikale nicht nur inter-, sondern wie in Abb. 13 dargestellt, auch intramolekular H-Atome aus Methylengruppen abstrahieren können. Aus der Folge-reaktion mit Sauerstoff sollen besonders labile Di-Hydroperoxide hervorgehen, die leicht unter Bildung von Aldehyden und anderen Produkten zerfallen.

Lourey [36] erklärt die Vielfalt der Aldehyde mit einer Überlagerung der Primär- und Sekundär- durch Tertiär-Prozesse. Danach entstehen in der ersten Phase der Oxydation nur bestimmte Aldehyde durch einen Zerfall von Hydroperoxiden. Doch oxydieren diese Aldehyde leicht weiter, da ihre  $\alpha$ -Methylengruppe für eine H-Abstraktion durch Radikale aktiviert ist (Abb. 14). Tatsächlich oxydieren zumindest bei 45° C die 2,4-Alkadienale und auch die 2-Alkenale schneller als der Linol- und Linolensäuremethylester [37]. Neben Polymeren entstehen dabei u. a. flüchtige niedermolekulare Aldehyde und Ameisensäure [36–39].

Tabelle 5. Peroxydfractionen aus autoxydierter Linolsäure [40]

Fraktion-Nr.	Anteil (%)	$\frac{ROOH}{ROOR}$	Aldehyd <sup>a</sup>
1	80	0	2-Heptenal (Spur)
2		0,33	2,4-Decadienal
3		0,73	Hexanal
4	5	0,20	
5			
6			

<sup>a</sup> Peroxyde in Benzol zersetzt (80° C, 10<sup>-4</sup> m-Cu-stearat).

Insgesamt werden aber auch in dieser Theorie die Monohydroperoxide als Vorläufer der Aldehyde postuliert. Morita u. Fujimaki [40] sind dieser Annahme nachgegangen. Sie haben aus autoxydiertem Linolsäuremethylester die Peroxyde isoliert und säulenchromatographisch getrennt (Tab. 5). Jede Peroxydfraktion wurde in Benzol gelöst und in Gegenwart von 10<sup>-4</sup> m-Cu-stearat 3 Std thermisch (80° C) belastet. Dabei müßten nach der in Abb. 5 zusammengefaßten Theorie das Hexanal und das 2,4-Decadienal aus Fraktion 1 hervorgehen, denn in ihr kommen die postulierten Precursors, das 9- und 13-Monohydroperoxid, vor. Dieser Erwartung entsprach nicht der experimentelle Befund: Es wurde nur das 2-Heptenal, und zwar in Spuren, entdeckt. Als Vorläufer des Hexanals und des 2,4-Decadienals wurden vielmehr Peroxyde aus den Fraktionen 2 und 3 identifiziert (Tab. 5), deren Polarität gegenüber den Monohydroperoxiden durch eine weitere wahrscheinlich sauerstoffhaltige funktionelle Gruppe zugenommen hatte. Dieses Ergebnis erlaubt den Schluß, daß mindestens bei

der Linolsäure-Oxydation der Zerfall von Monohydroperoxiden keine wesentliche Rolle bei der Bildung flüchtiger Aldehyde spielt. Möglicherweise handelt es sich bei den Vorläufern der ranzigen Aromastoffe um Verbindungen, deren Strukturen bestimmten Autoxydationsprodukten der Linolensäure ähneln (Abb. 15).

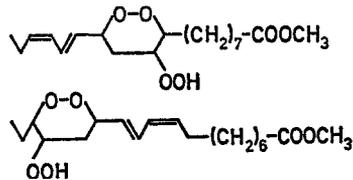


Abb. 15. Hydroperoxide: Autoxydationsprodukte der Linolensäure [41]

Das Ergebnis von Morita u. Fujimaki [40] wirft die Frage nach der Bedeutung des unimolekularen Zerfalls der Monohydroperoxide für die Autoxydation auf. Farmer u. Bolland begründen damit bei niedriger Peroxydkonzentration die Multiplikation der Radikalketten (RK. 5 in Abb. 2). Nach Morita u. Fujimaki [40] ist an dieser Reaktion nicht zu zweifeln, wenn Schwermetallionen, wie Cu, vorkommen und Wasser abwesend ist.

### Analytik des oxydativen Fettverderbs

Obwohl wesentliche Reaktionsschritte, die den Ablauf der Fettoxydation bestimmen, nicht geklärt und die Vorläufer der ranzigen Aromastoffe noch nicht identifiziert sind, lohnt es sich, die Analytik zu diskutieren.

Tabelle 6. Methoden zur Analytik der Fettoxydation

---

1. O<sub>2</sub>-Absorption. — 2. Peroxyd-Zahl. — 3. Dien-Absorption (geeignet für Fette, die Linol- der Linolensäure enthalten). — 4. Thioarbitursäure-Zahl. — 5. Benzidin-Zahl. — 6. Heptanal-Zahl.

---

In Tab. 6 sind einige Methoden aufgeführt, die zur Bestimmung des Oxydationszustandes und zur Ermittlung der voraussichtlichen Lagerstabilität fetthaltiger Lebensmittel angewendet werden. Zu diesen Methoden einige Bemerkungen.

Die einfache Messung der O<sub>2</sub>-Absorption zeigt, daß eine Fettphase mit Sauerstoff reagiert und wir erfahren etwas über die Geschwindigkeit des chemischen Vorgangs „Fettoxydation“. Die Geschwindigkeit des Verderbs würden wir messen, wenn die Relationen der Geschwindigkeiten bekannt wären, mit denen die unerwünschten Aromastoffe und die Oxydationsprodukte, die ohne Einfluß auf die Qualität sind, entstehen. Diese Beziehungen, das folgt aus den hier dargestellten Ergebnissen, sind aber unbekannt.

Von den Verfahren zur Messung der Peroxyd- und der Dien-Konzentration wird eine Erfassung von Vorläufern der ranzigen Aromastoffe erwartet. Bei der Peroxydbestimmung kann man das annehmen. Doch auch hier stellt sich im Hinblick auf die Bewertung der Lagerstabilität die Frage nach dem Konzentrationsverhältnis zwischen den Peroxyden, die mit der Aromabildung nichts zu tun haben und denen, die als Vorläufer eine Rolle spielen. Gesichert ist nur, daß der Anteil der Precursor-Peroxyde an der bei der Autoxydation eines Fettes entstehenden Peroxydmenge sehr gering ist [40]. Außerdem darf man bei der Diskussion dieses Punktes die Möglichkeit nicht außer Acht lassen, daß ein Teil der ranzigen Aromastoffe nicht aus den Peroxyden, sondern direkt aus Peroxyradikalen hervorgeht (Abb. 16).

Die Bedeutung der Dien-Absorption zur Verfolgung des Verderbs von Fetten ist gegenwärtig völlig unklar, da die Monohydroperoxide, die mit diesem Verfahren in erster Linie erfaßt werden, offensichtlich keine wesentliche Rolle als Aromavorläufer spielen und die Strukturen der tatsächlichen Vorläufer noch unbekannt sind [40].

Insgesamt sind diese Methoden nur zum Nachweis des chemischen Vorgangs „Fettoxydation“ und zur Messung seiner Geschwindigkeit geeignet. Über das Fortschreiten des Verderbs erlauben die ermittelten Daten keine zuverlässige Aussage. Pardun u. Kroll [40] bevorzugen deshalb mit Recht die sensorische Prüfung im Schaal-Test für die Bestimmung der Oxydationsstabilität von Ölen und Fetten.

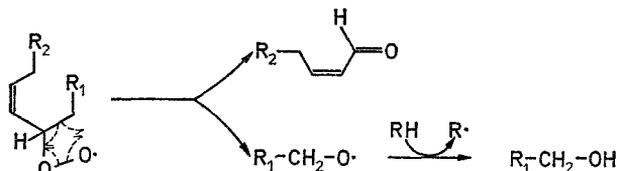


Abb. 16. Cycloeliminationsreaktion eines Peroxyradikals [19]

Zur chemischen Analyse des Fettverderbs scheint es aussichtsreicher zu sein, die Verbindungen zu bestimmen und ihre Bildung quantitativ zu verfolgen, die den Aromafehler eines Lebensmittels verursachen. Im Vordergrund steht deshalb eine Analyse der flüchtigen Carbonylverbindungen, obwohl in bestimmten Fällen die Bedeutung von Aromastoffen aus anderen Verbindungsklassen für einen *off-flavor* nicht übersehen werden darf (vgl. S. 73).

Zur schnellen quantitativen Erfassung der Carbonylverbindungen in Form einer Kennzahl sind eine Reihe von Methoden entwickelt worden (Nr. 4—6 in Tab. 6). Die Schwierigkeiten dieser Analytik beginnen mit der Aufgabe, die Carbonylverbindungen so schonend zu isolieren, daß ihre Vorläufer-Peroxyde nicht fragmentieren. Hoffmann [42] diskutiert dieses Problem zusammenfassend.

Außerdem sollten die Carbonylverbindungen nicht nur vollständig mit einem gruppenspezifischen Reagens, das zu ihrer photometrischen Bestimmung herangezogen wird, reagieren, es sollten dabei auch Derivate entstehen, bei denen zumindest die Vertreter aus einer Verbindungsklasse denselben molaren Extinktionskoeffizienten besitzen. Eingehenden Untersuchungen von Marcuse [44, 45] zur TBS-Zahl ist zu entnehmen, daß hier diese Forderung nicht erfüllt ist, denn bei 450 nm ist z. B. der molare Extinktionskoeffizient des Farbstoffs, der aus dem 2-Heptenal entsteht, doppelt so hoch, wie der des 2-Octenal-Produktes. Bestimmungen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin weisen diesen Mangel nicht auf. Sie können auch sehr schonend durchgeführt werden [46, 49].

Werden die in den Lipiden gelösten Carbonylverbindungen nicht destillativ abgetrennt, sondern nach Lösen des Lipids direkt mit dem Nachweisreagens umgesetzt, so reagieren sämtliche Autoxydationsprodukte mit einer Carbonylfunktion, d. h. außer den flüchtigen Aldehyden und Ketonen auch noch Ketoglyceride, Dicarbonylverbindungen und Oxosäuren. Franzke u. Baumgardt [47] erwähnen diese Möglichkeit im Hinblick auf die von ihnen vorgeschlagene „Heptanal-Zahl“, bei deren Durchführung die Carbonylverbindungen als 2,4-Dinitrophenylhydrazone erfaßt werden. Am Beispiel eines ranzigen Haselnußöls haben wir [50] festgestellt, daß bei dieser Probe nur 15% der ermittelten Heptanal-Zahl von Monocarbonylverbindungen und 85% von Ketoglyceriden und Dicarbonylverbindungen stammen. In erster Linie werden demnach von dieser Kennzahl Verbindungen erfaßt, die nur in einem geringen Umfang den *off-flavor* verursachen. Dies brauchte den Nutzen des Analyseverfahrens nicht herabzusetzen, wenn für die gemessene Kennzahl bekannt wäre, welche Menge an sensorisch relevanten Carbonylverbindungen sie repräsentiert. Im Gegenteil, die Miterfassung aromainaktiver Carbonylverbindungen führt zu einer Steigerung der Empfindlichkeit. Ist die Relation der beiden Carbonylverbindungsfraktionen

nicht bekannt oder sollte es sich herausstellen, daß sie sich während der Lagerung des Lebensmittels ständig in undurchschaubarer Weise verändert, dann würde nur eine selektive Bestimmung der Aromastoffe weiterhelfen.

Zunächst müßte eine detaillierte Analyse der Carbonylverbindungen durchgeführt werden, die in dem betrachteten Lebensmittel bei der Autoxydation entstehen. Basierend auf dem Ergebnis könnte man ein verkürztes Analysenverfahren entwickeln, mit dem selektiv die Carbonylverbindungen mit den höchsten „Aromawerten“ erfaßt werden (Definition „Aromawert“ bei Rothe u. Mitarb. [51]).

Bei der Beurteilung der Aromawirksamkeit von Carbonylverbindungen mit Hilfe ihrer Aromawerte vernachlässigt man, daß sich z. B. die Aldehyde in ihren Aromaktivitäten beeinflussen können [12]. Sollten sich diese Effekte bei dem einen oder anderen Lebensmittel nicht zu stark auswirken, so müßte in diesen Fällen eine Objektivierung des sensorischen Befundes durch eine gezielte Analytik von Carbonylverbindungen möglich sein.

### Literatur

1. Labuza, T. P.: *Critic. Rev. Food Technol.* **2**, 355 (1971)
2. Privett, O. S., Blank, M. L.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **39**, 465 (1962)
3. Lea, C. H.: *J. Sci. Food Agr.* **3**, 586 (1952)
4. Farmer, E. H., Bloomfield, G. F., Sundralingham, A., Stutton, D. A.: *Trans. Faraday Soc.* **38**, 348 (1942)
5. Bolland, J.: *Quart. Rev. (London)* **3**, 1 (1949)
6. Ingold, K. U.: *Accounts Chem. Res.* **2**, 1 (1969)
7. Malaney, J. F., Labuza, T. P., Wallace, D. H., Karel, M.: *J. Food Sci.* **31**, 878, 885 u. 893 (1966)
8. Yanisliewa, N., Popov, A.: *Nahrung* **15**, 395 u. 403 (1971)
9. Dolev, A. W., Rohwedder, W. K., Dutton, H. J.: *Lipids* **2**, 28 (1967)
10. Badings, H. T.: *Ned. Melk-Zuiveltijdschr.* **24**, 147 (1970)
11. Hoffmann, G., Meijboom, P. W.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **45**, 468 (1968)
12. Meijboom, P. W.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **41**, 326 (1964)
13. Meijboom, P. W., Jongenotter, G. A.: *J. Am. Chemists Soc.* **48**, 143 (1971)
14. Hoffmann, G., Meijboom, P. W.: *J. Am. Chemists Soc.* **46**, 620 (1969)
15. De Jong, K., Van der Wel, H.: *Nature* **202**, 553 (1964)
16. Keppler, J. G., Horikx, M. M., Meijboom, P. W., Feenstra, W. H.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **44**, 543 (1967)
17. Badings, H. T.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **36**, 648 (1959)
18. Frankel, E. N., Nowakowska, J., Evans, C. D.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **38**, 161 (1961)
19. Ohloff, G.: *Fette als Aromavorstufen*. In: Solms, J. (Hrsg.): *Fette als funktionelle Bestandteile von Lebensmitteln*. Zürich: Forster Verlag AG 1973
20. Heaton, F. W., Uri, N.: *J. Lipid Res.* **2**, 152 (1961)
21. Tarladgis, B. G.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **38**, 479 (1961)
22. Bawn, C. E.: *Trans. Faraday Soc.* **14**, 181 (1953)
23. Waters, W. A.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **48**, 427 (1971)
24. Ardon, M.: *Oxygen*. New York: W. A. Benjamin-Verlag 1965
25. Foote, C. S.: *Accounts Chem. Res.* **1**, 104 (1968)
26. Peters, J. W., Pitts, J. N., Rosenthal, J., Fuhr, H.: *J. Am. Chemists Soc.* **94**, 4348 (1972)
27. Grosch, W.: *In Vorbereitung*
28. Rawls, H. R., van Santen, P. J.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **47**, 121 (1970)
29. Khan, N. A.: *Oléagineux* **25**, 281 (1970)
30. Foote, C. S., Fujimoto, T. T., Chang, Y. C.: *Tetrahedron Lett.* **1972**, 45
31. Cobern, D., Hobbs, J. S., Lucas, R. A., Mackenzie, D. J.: *J. Chem. Soc.* **1966**(C), 1897
32. Foote, C. S., Denny, R. W.: *J. Am. Chemists Soc.* **90**, 6233 (1968)
33. Clements, A. H., Van den Engh, R. H., Frost, D. J., Hoogenhout, K.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **50**, 325 (1973)
34. O'Brien, P. J.: *Can. J. Biochem.* **47**, 485 (1969)
35. Horikx, M. M.: *J. Appl. Chem.* **15**, 237 (1965)
36. Louri, M.: *Lipids* **7**, 671 (1972)
37. Lillard, D. A., Day, E. A.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **41**, 549 (1964)
38. Matthews, R. F., Scanlan, R. A., Libbey, L. M.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **48**, 745 (1971)
39. Michalski, S. T., Hammond, E. G.: *J. Am. Oil Chemists Soc.* **49**, 563 (1972)
40. Morita, M., Fujimaki, M.: *J. Agr. Food Chem.* **21**, 860 (1973)

41. Haverkamp Begemann, P., Woestenburg, W. J., Leer, S.: J. Agr. Food Chem. **16**, 679 (1968)
42. Hoffmann, G.: Chem. Ind. (London) **1970**, 729
43. Evans, C. D., Moser, H. A., List, G. R.: J. Am. Oil Chemists Soc. **48**, 495 (1971)
44. Marcuse, R.: Fette Seifen Anstrichmittel **72**, 635 (1970)
45. Marcuse, R., Johansson, L.: J. Am. Oil Chemists Soc. **50**, 387 (1973)
46. Gaddis, A. M., Ellis, R., Currie, G. T.: J. Food Sci. **29**, 6 (1964)
47. Franzke, Cl., Baumgardt, F.: Nahrung **17**, 209 u. 335 (1973)
48. Pardun, H., Kroll, E.: Deut. Lebensm. Rdsch. **66**, 413 (1970)
49. Gaddis, A. M., Ellis, R., Shamey, J., Currie, G. T.: J. Am. Oil Chemists Soc **42**, 620 (1965)
50. Barthel, G., Grosch, W.: unveröffentlicht
51. Rothe, M., Wölm, G., Tunger, L., Siebert, H.-J.: Nahrung **16**, 483 (1972)

Prof. Dr. W. Grosch  
Deutsche Forschungsanstalt  
für Lebensmittelchemie  
D-8000 München 40, Leopoldstr. 175  
Bundesrepublik Deutschland