

NIRS und NIT als Schnellmethoden für die Fettsäuren-Bestimmung bei Schweinerückenspeck

NIRS and NIT as rapid methods for the determination of fatty acids in pig backfat

M. GALIAN¹, P. FREUDENREICH und K. FISCHER

¹Murcian Institute of Agricultural and Alimentary Research and Development (IMIDA),
Dev. Estacion Sericicola, C/Mayor s/n, Murcia, Spanien

Zusammenfassung

Ein Nahinfrarot-Spektrometer (NIRSystem 6500), ausgerüstet mit zwei verschiedenen Faseroptik-Messmodulen (Remote Reflectance Benchtop System bzw. Surface Interactance Square End Probe – NR-6760 System) sowie ein Nahinfrarot-Transmissionssystem (NIT-Infratec 1225 Food & Feed System) wurden hinsichtlich ihrer Messgenauigkeit bei der Schnellanalytik der Fettsäurezusammensetzung von Rückenspeck verglichen. Als Referenzmethode diente die gaschromatografische Auftrennung der Fettsäuremethylester. Das Probenmaterial stammte von 78 Schweinen aus den Routineschlachtungen einer Leistungsprüfanstalt. Bei der Stichprobenauswahl wurde auf eine breite Streuung in der Schlachtkörperverfettung geachtet, um trotz gleicher Fütterung Speckproben mit unterschiedlichem Fettsäurenprofil zu erhalten. Nach Kalibrierung anhand der Referenzwerte arbeiteten alle drei geprüften Nah-Infrarot-Systeme so genau, dass sie bei den aus technologischer Sicht wichtigsten Fettsäuren die erheblich aufwändigere Standardmethode ersetzen könnten. Dies gilt jedoch nur mit Einschränkung für die Ölsäure. Die Bestimmung mit dem Reflexionssystem benötigt weniger Zeit als mit dem Transmissionsverfahren, gewährleistet aber bei den meisten Fettsäuren keine so hohe Schätzgenauigkeit.

Summary

A near infrared spectrometer (NIRSystem 6500) equipped with two different fibre optic probes (a Remote Reflectance Benchtop System and a Surface Interactance Square End Probe – N-6760 System) and a Near Infrared Transmission System (Infratec 1225 Food & Feed System) were compared with regard to the accuracy of the rapid determination of various fatty acid proportions. Gas chromatographic determination was used as a reference method. Backfat samples used were obtained from 78 carcasses with a wide range of the lean meat content. Thus a high variation in the fatty acid profiles could be expected although all the animals had received the same diet. After calibration according to reference values all of the three near infrared systems worked so precisely that they could basically replace the time-consuming standard method concerning the most important fatty acids from a technological point of view. However regarding the oleic acid this is only valid with reservation. In general the reflectance system needs less time but provides less accuracy of prediction than the transmission technique.

Schlüsselwörter	Nahinfrarot-Spektrometrie – Nahinfrarot-Transmission – Fettsäuren – Rückenspeck
Key Words	near infrared spectrometer – near infrared transmission – fatty acids – backfat

Einleitung

Bedingt durch eine Reihe von Faktoren, die im Bereich der landwirtschaftlichen

Produktionsverfahren liegen (Futterzusammensetzung, genetische Herkunft, Fettansatzvermögen bzw. Fettgewebeanteil am Schlachtkörper, Geschlecht, Schlacht-

alter, Mastendgewicht), ist die Fettsäurezusammensetzung im Rückenspeck von Mastschweinen außerordentlich heterogen. Gleichzeitig findet die Qualität tierischer Fette sowohl aus ernährungsphysiologischer als auch technologischer Sicht zunehmend Beachtung. So machen sich immer mehr Verbraucher Sorgen über die gesundheitlichen Auswirkungen der verzehrten Lebensmittel. Hierbei steht neben deren Fettgehalt auch die Zusammensetzung der jeweiligen Fette, also ihr Anteil an gesättigten, ein- und mehrfach ungesättigten Fettsäuren bis hin zum Verhältnis von n3- zu n6-Fettsäuren im Blickfeld des Interesses. Was die Verarbeitungseignung tierischer Fettgewebe anbelangt, so ist seit langem bekannt, dass hohe Gehalte an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Polyensäuren-PUFA) wegen deren geringer Oxidationsstabilität und zu weicher Konsistenz bei der Herstellung von länger zu reifenden Dauerwaren Probleme verursachen und deshalb im Rohmaterial begrenzt werden müssen. GIRARD *et al.* (1988) zeigten, dass Fettgewebe für diesen Zweck weniger als 15 % Linolsäure und mehr als 12 % Stearinsäure enthalten sollte. Daneben gibt es auch noch den Sonderfall, dass für die Herstellung traditioneller spanischer Rohschinkenvarianten (z.B. Jamon ibérico) ein hoher Gehalt an der einfach ungesättigten Ölsäure trotz des dann weichen, öligen Fettgewebes nicht nur toleriert, sondern sogar verlangt wird. Die hohe Ölsäureanreicherung dient als Beleg für eine vorausgegangene Eichelmast.

Aus diesen Gründen ist bei der Rohmaterialauswahl eine Kontrolle der Fettqualität sinnvoll. Unter Praxisbedingungen ist jedoch die gaschromatografische Fettsäurebestimmung zu aufwändig. Manche Betriebe selektieren Schweinefettgewebe deshalb indirekt. Sie nutzen den vielfach belegten Sachverhalt, dass fettere Schweine bei gleicher Fütterung mehr gesättigte und weniger mehrfach ungesättigte Fettsäuren im Speck einlagern als magerere (VILLEGAS *et al.*, 1973; FISCHER *et al.*, 1992), und wählen die Schlachtkörper nach Magerfleischanteil (<57 %) oder Rückenspeckdicke

(> 15 mm) aus (DAVENEL *et al.*, 1999). Daneben gibt es aber auch immer wieder Ansätze, die aufwändigen chemischen Verfahren durch schnellanalytische Methoden zu ersetzen. Dazu gehört die an schweizerischen Schlachtbetrieben eingeführte Erfassung der sog. Qualitätszahl, die auf einer der Jodzählbestimmung ähnlichen Methode beruht (SCHEEDER *et al.*, 1999). De PEDRO *et al.* (1992) und FREUDENREICH (1994) konnten zeigen, dass sich auch mit Hilfe der Nahinfrarot-Spektroskopie bzw. der Nahinfrarot-Transmissionstechnik die Konzentrationen verschiedener Fettsäuren im Rückenspeck schätzen lassen. Diese Verfahren werden im Fleischbereich hauptsächlich zur Schnellanalytik von Makronährstoffgehalten bei Frischfleisch oder bei Bräten (Rezepturüberwachung), aber auch zur Abschätzung von sensorischen Eigenschaften des Fleisches, insbesondere der Zartheit, eingesetzt (BYRNE *et al.*, 1998; FREUDENREICH & AUGUSTINI 2001, TOGERSEN *et al.*, 1999). Darüber hinaus ist damit auch die Unterscheidung von Schweine-, Rind-, Schaf- und Geflügelfleisch möglich (THYHOLT *et al.*, 1997).

Aufgabenstellung des vorliegenden Beitrags war es nun, verschiedene Nahinfrarot-Techniken (NIRS und NIT) hinsichtlich ihrer Eignung zur Online-Bestimmung eines breitgefächerten Fettsäurenprofils (C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:1, C20:2, C20:3, C20:4) von Schweinerückenspeck zu überprüfen bzw. zu vergleichen.

Material und Methoden

Die untersuchten Rückenspeckstücke (14.-16. Rippe) wurden von 78 Schweinehälften aus den Routineschlachtungen des Lehr-, Versuchs- und Fachzentrums für Schweine, Schwarzenau, gewonnen. Es handelte sich um Tiere aus der Leistungsprüfung mit unterschiedlicher genetischer Herkunft, die aber alle das gleiche, für die Mastleistungsprüfung vorgeschriebene Futter erhalten hatten. Um dennoch eine gewisse Variation in der Fettsäurezusammensetzung des Rückenspecks zu gewährleisten, wurde bei der Auswahl der

Stichproben Wert auf eine möglichst hohe Variabilität der Rückenspeckdicke gelegt.

Vor der weiteren Bearbeitung der Proben im Labor wurde die Schwarte entfernt. Wegen der zum Teil außerordentlich geringen Speckdicke war jedoch keine getrennte Behandlung der oberhalb und unterhalb der *F. trunci superficialis* gelegenen Fettgewebeschiebt möglich. So wurden die NIR-Spektren nur durch Aufsetzen des mit dem Gerät über Glasfaseroptik verbundenen Messkopfs an der Innenseite des nativen Speckstückes registriert. Dabei kam das NIRSystem 6500 mit zwei unterschiedlichen Messköpfen zum Einsatz, dem Remote Reflectance Benchtop System sowie dem Surface Interactance Square End Probe (NR-6760) System. Der erfasste Wellenlängenbereich reichte bei Ersterem von 400 bis 2500 nm und bei Letzerem von 400 bis 1100 nm. Die Verrechnung der Daten erfolgte mit der Software WinISI 1.5.

Vor der Erfassung der NIT-Spektren (Transmissions-Messtechnik) mit dem Infratec 1255 Food & Feed System wurden die Proben mit dem Grindomix (Firma Retsch) homogenisiert.

Als Referenzmethode diente die gaschromatografische Bestimmung des Fettsäurenprofils. Die Probenvorbereitung erfolgte nach SCHULTE & WEBER (1989). Hierbei werden 5 bis 10 g des Rückenspeckhomogenats in Abdampfschalen gegeben, mit 0,5 ml Stabilisator (0,1377 g – 2,6 Di-tert.-butyl-p-kresol in 0,5 ml Methanol) versetzt und dann über dem Wasserbad bei 90 °C ausgeschmolzen. Von dem so gewonnenen Material werden 30 mg eingewogen und mit 1 ml Toluol p. A. gelöst. Nach Hinzufügen von 0,5 ml Trimethylsulfoniumhydroxid (0,2-molar) vollzieht sich die Umsetzung der Fettsäuren in Fettsäuremethylester. Dieses Gemisch wird leicht geschüttelt und anschließend verdünnt, wobei 500 µl Probenlösung und 900 µl Toluol p.A. in ein für den GC passendes Probenfläschchen abgefüllt und bis zur Analyse kühl gestellt werden.

Die Auftrennung der Methylester wurde mit dem GC 6890 (Hewlett Packard) unter folgenden technischen Bedingungen durchgeführt: Temperatur 80-190 °C, Rate 2 °C/min, Temperatur 190-220 °C, Rate 1 °C/min, 15 min auf 220 °C gehalten, Inject- und Detektor-Temperatur: 250 °C, Kapillar-Säule DB 23 (60 m lang, gefüllt mit 50 % Cyanopropylsiloxan), Trägergas für den GC: Wasserstoff mit 1,3 ml Durchfluss.

Ergebnisse

Beschreibung der Stichprobe

Wie die Auflistung der durch die gaschromatische Methode ermittelten Ergebnisse zeigt, sind die Gehalte der meisten einzelnen Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen in der erfassten Stichprobe durch eine hohe Variabilität gekennzeichnet (Tab. 1). Hierbei weist jedoch die Ölsäure (C18:1) einen relativ geringen Schwankungsbereich auf, während bei der Linolensäure (C18:2) der höchste Wert um mehr als 100 % über dem des niedrigsten liegt. Dies hat Auswirkungen auf die Kalkulation von Kalibrierungsfunktionen, die in der Regel um so präzisere Schätzergebnisse ermöglichen, je höher die Streuung eines Merkmals in der Ermittlungstichprobe ist. Da aus den eingangs erwähnten Gründen aber eher die Polyensäuren im Fokus stehen, kann das Probenmaterial für den vorgesehenen Versuchszweck als geeignet angesehen werden.

Die bei der Stichprobe bewusst herbeigeführte hohe Streuung der Rückenspeckdicke ermöglichte es, die Fettsäurenprofile nach diesem Merkmal in drei Gruppen einzuteilen: I < 7 mm, II 7-14 mm, III > 14 mm (Tab. 2). Dabei zeigte sich, dass die Stearin- und Palmitinsäure (C16:0, C18:0) mit zunehmender Speckdicke sehr deutlich ansteigen und die Polyensäuren Linol-, Linolen- und Arachidonsäure (C18:2, C18:3, C20:4) entsprechend zurückgehen.

Tab. 1: Statistischer Überblick über die Konzentrationen an Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen (in % aller erfassten Fettsäuren) in der verwendeten Stichprobe (gaschromatografische Bestimmung)

	\bar{x}	S	Min	Max
C14:0 Myristinsäure	1,2	0,1	0,3	1,4
C16:0 Palmitinsäure	22,8	1,5	19,5	25,6
C18:0 Stearinsäure	12,8	1,6	9,6	16,7
C18:1 Ölsäure	39,9	1,7	35,3	43,8
C18:2 Linolsäure	15,5	2,8	11,1	23,0
C18:3 Linolensäure	1,5	0,2	1,1	2,2
C20:1 Eicosansäure	0,8	0,1	0,6	1,3
C20:2 Eicosadiensäure	0,7	0,1	0,5	1,2
C20:3 Eicosatriensäure	0,1	0,0	0,1	0,2
C20:4 Arachidonsäure	0,2	0,1	0,0	0,4
SFA*	37,5	2,9	31,8	43,5
MUFA**	43,4	1,7	38,8	47,5
PUFA***	18,9	3,3	13,4	27,2

* SFA = Saturated fatty acids (Anteil an gesättigten Fettsäuren)

** MUFA = Monounsaturated fatty acids (Anteil der einfach ungesättigten Fettsäuren)

*** PUFA = Polyunsaturated fatty acids (Anteil der mehrfach ungesättigten Fettsäuren)

Tab. 2: Fettsäuregehalte in Abhängigkeit von der Rückenspeckdicke (3 Stufen)

Stufen der Rückenspeckdicke	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4
I < 7 mm, n = 19	21,4 ^a	11,5 ^a	39,3	18,2 ^a	1,7 ^a	0,3 ^a
II 7-14 mm, n = 42	22,7 ^b	12,6 ^b	40,1	15,5 ^b	1,6 ^b	0,2 ^b
III > 14 mm, n = 17	24,4 ^c	15,0 ^c	40,4	12,4 ^c	1,3 ^c	0,2 ^c

^{a,b,c}) Innerhalb Spalten ungleich indizierte Mittelwerte unterscheiden sich mit $p < 0,05$

Keine signifikanten Veränderungen gibt es jedoch bei der einfach ungesättigten Ölsäure (C18:1). Dieser Sachverhalt bestätigt sich auch, wenn die Summen aller erfassten gesättigten (SFA), einfach ungesättigten (MUFA) und mehrfach ungesättigten (PUFA) gegenübergestellt werden (Abb. 1). So bleiben die MUFA auf gleichem Niveau, während die SFA und PUFA von der niedrigsten zur höchsten Speckdickengruppe um ca. 6 Prozentpunkte ansteigen bzw. sinken.

Die geschilderten Zusammenhänge werden auch aus den Berechnungen der Korrelationskoeffizienten zwischen Rückenspeckdicke bzw. Magerfleischanteil und den diversen Fettsäurenkonzentrationen ersichtlich. Da Speckdicke und Fleischanteil mit $r = -0,91$ korreliert sind, liegen zwischen diesen beiden Merkmalen und den oben genannten Fettsäuregehalten nahezu gleichstraffe Beziehungen vor. Sie schwanken je nach Fettsäure zwischen 0,75 und 0,85 (nicht tab. dargestellt).

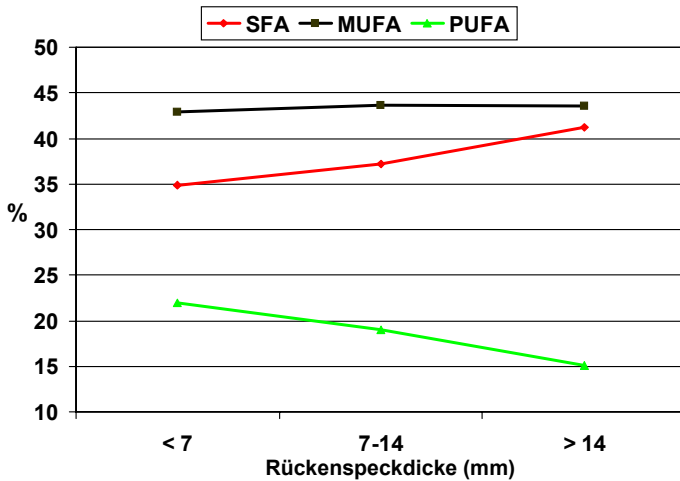


Abb. 1: Gesättigte Fettsäuren (SFA), einfach gesättigte Fettsäuren (MUFA) und mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) in Abhängigkeit von der Rückenspeckdicke (Anteil in % der Gesamtfettsäuren)

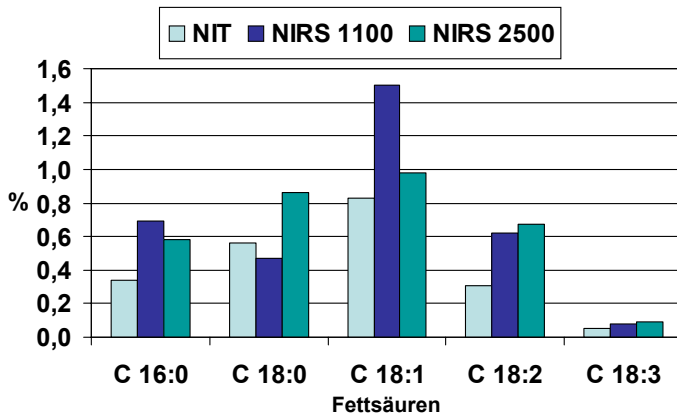


Abb. 2: Bestimmung ausgewählter Fettsäuren im Rückenspeck mit Hilfe von drei verschiedenen NIR-Geräten (Schätzfehler SECV)

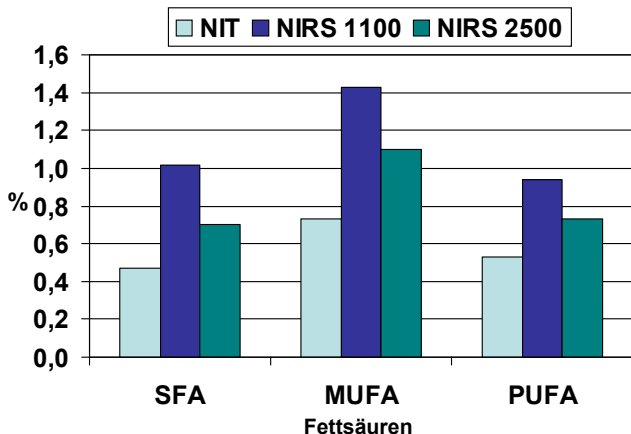


Abb.3: Bestimmung ausgewählter Fettsäuregruppen (SFA, MUFA, PUFA) im Rückenspeck mit Hilfe von drei verschiedenen NIR-Geräten (Schätzfehler SECV)

Vergleich der Geräte

Zur Schnellanalytik der Fettsäurenkonzentrationen von C18:0, C18:1, C18:2, C18:3 und C20:4 sowie für die Fettsäuregruppen SFA, MUFA und PUFA wurde die jeweils beste Schätzfunktion ermittelt. Welche Standardfehler der Kreuzvalidierung (SCEV) sich hierfür bei den drei eingesetzten Gerätevarianten (NIT, NIRS 1100 und NIRS 2500) ergaben, ist in den Abbildungen 2 und 3 ausgewiesen. Aus Abbildung 2 wird deutlich, dass die NIT-Technik allgemein die besten Ergebnisse erbringt. Besonders auffällig ist diese Überlegenheit bei der Öl- und der Linolsäure (C18:1, C18:2). Lediglich im Falle der Stearinsäure (C18:0) schneidet das NIRS 1100 geringfügig besser ab, dessen Schätzfehler aber bei der Ölsäure besonders hoch ausfällt. Noch klarer zeigen sich diese Befunde, wenn die Schätzfehler für die Schnellanalytik der Fettsäuregruppen berechnet werden (Abb. 3). In allen drei Gruppen (SFA, MUFA, PUFA) sind die Schätzfehler mit der NIT-Technik am niedrigsten und mit dem NIRS 1100 am höchsten.

Die Straffheit der Beziehungen zwischen gaschromatografisch und schnellanalytisch ermittelten Werten hängt sowohl von der Gerätekonfiguration als auch von der Fettsäure bzw. Fettsäuregruppe ab. Die ermittelten Bestimmtheitsmaße (R^2) für die Schätzung der in den Abbildungen 2 und 3 aufgeführten Gehalte an einzelnen Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen bewegen sich im Bereich von 0,83-0,99 (nicht tab. dargestellt). Eine Ausnahme machen lediglich die Ölsäure sowie die Monoensäuren (MUFA) insgesamt, bei denen die Beziehungen generell lockerer sind. Dies ist teilweise durch die geringere Streuung in der Stichprobe zu erklären. Außerdem zeigen sich hier auch markante gerätetechnische Unterschiede. So schneidet das NIRS 1100 mit R^2 -Werten unter 0,2 besonders schlecht ab, während das NIRS 2500 und das NIT-Gerät bei der Ölsäure 0,72 bzw. 0,80 und bei den MUFA insgesamt 0,85 bzw. 0,83 erreichen. Unabhängig vom Verfahren sind besonders enge Beziehungen bei der Linolsäure (C18:2) sowie bei den SFA und PUFA zu

finden ($R^2=0,94-0,99$). Damit sind auch schon gute Voraussetzungen für eine technologisch relevante Beurteilung der Fettqualität gegeben, denn erhöhte Polyensäuregehalte stören in der Herstellung von Dauerwaren am meisten.

Schlussfolgerungen

Die Nah-Infrarot-Spektroskopie lässt sich sowohl in der Reflexions- als auch in der Transmissionstechnik erfolgreich zur Schnellanalytik von Fettsäuregehalten im Rückenspeck einsetzen. Damit ist zumindest bei den technologisch wichtigsten Fettsäuren ein Ersatz der wesentlich aufwändigeren gaschromatografischen Bestimmung möglich. Die Arbeit mit den hier benutzten Reflexionsgeräten (NIRS) benötigt wegen der nicht erforderlichen Homogenisation der Proben weniger Zeit als das Transmissionsverfahren (NIT), allerdings wird mit Ersteren bei den meisten Fettsäuren keine so hohe Schätzgenauigkeit (größere Schätzfehler und weniger straffe Korrelationen) erreicht. Die Bestimmung der gerade für die spanische Rohschinkenproduktion besonders interessanten Ölsäure gelingt mit allen hier eingesetzten Geräten weniger gut als die Bestimmung der gesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Dies gilt namentlich für das NIRS 1100, während das NIT und das NIRS 2500 auch hier zumindest befriedigende Ergebnisse ermöglichen.

Literatur

BYRNE, C. E., DOWNEY, G., TROY, D. J., & BUCKLEY, D. J. (1998): Non destructive prediction of selected quality attributes of beef by near infrared reflectance Spectroscopy between 750 and 1098 nm. *Meat Science*, 49, 399-409

DAVENEL, A., RIAUBLANC, A., MARCHAL, P., & GANDEMER, G. (1999): Quality of adipose tissue: relationship between solid fat content and lipid composition. *Meat Science*, 51, 73-79

DE PEDRO, E. J., GARRIDO, A., BARES, I., CASILLAS, M., & MURRAY, I. In K. I. HILDRUM *et al.* (Eds.) (1992): Near infrared spectroscopy bridging the gap between data analysis and NIR applications. NY: Ellis Horwood, pp. 341-347

FISCHER, K., FREUDENREICH, P., HOPPENBROK, K.H. & SOMMER, W. (1992): Einfluss produktionstechnischer Bedingungen auf das Fettsäurenmuster im Rückenspeck von Mastschweinen. *Fleischwirtschaft*, 72, 200-205

FREUDENREICH, P. (1994): NIT-Schnellanalytik zur Fettkonsistenzbestimmung des Rückenspecks beim Schwein. Manuskript Vortragsstagung der DGFZ/GfT 14./15 Sept. 1994, Halle

FREUDENREICH, P. & AUGUSTINI, C. (2001): Untersuchungen zur Vorhersage der Zartheit von Rindfleisch. *Fleischwirtschaft*, 9, 107-109

SCHULTE, E. & WEBER, K. (1989): Rapid preparation of fatty acid methyl ester from fats with trimethylsulfonium hydroxide or sodium methylate. *Fett Wiss. Technol.*, 91, 181-183.

GIRARD, J. P., BOUT, J., & SALORT, D. (1988): Lipides et qualités des tissus adipeux et musculaires de porc-facteurs de variation. *Journées Rech. Porcine en France, Paris*, pp. 255-278

SCHEEDER, M. R. L., BOSSI, H. & WENK, C. (1999): Kritische Betrachtungen zur Fettzahl-Bestimmung. *Agrarforschung* 5 (Sonderbeilage): I-VIII

THYHOLT, K., INDAHL, U. G., HILDRUM, K. I., ELLEKJAER, M. R., & ISAKSSON, T. (1997): Meat speciation by near infrared reflectance spectroscopy on dry extract. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 5, 195-208

TOGERSEN, G., ISAKSSON, T., NILSEN, B. N., BAKKER, E. A., & HILDRUM, K. I. (1999): Online NIR analysis of fat, water and protein in industrial scale ground meat batches. *Meat Science*, 51, 97-102.

VILLEGAS, F. J., HEDRICK, H. B., VEUM, T. L., McFATE, K. L., & BAILEY, M. E. (1973): Effect of diet and breed on fatty acid composition of porcine adipose tissue. *Journal Animal Science*, 36, 663-668