

MIKROSKOPISCHE FETTUNTERSUCHUNGEN

Mit 12 Abbildungen

Von DIPL.-ING. THEODOR HINKO, Wien

Tierische Fette, wie Schweineschmalz, Rinder- und Schaftalge, werden aus dem Fettgewebe der Tiere erschmolzen. Dieses Gewebe enthält das Depotfett in halbweicher Form und hält es erst zusammen, so daß Speck und Talg als zusammenhängende Stücke anfallen (1). Es ist jedoch noch weiters durchzogen von kollagenen Zwischenwänden, welche ihrerseits fettundurchlässig sind. Deshalb muß eine entsprechende Zerkleinerung des Rohfettes vorgenommen werden, um die Ausschmelzung zu erleichtern. Das Ausmaß der notwendigen und hinreichenden Korngröße richtet sich dabei nach dem Wachstum des Fettgewebes, insbesondere nach dem Abstand der fettundurchlässigen Trenn- und Gefäßwände. Zwar bleiben die Dimensionen in großen Zügen die gleichen, doch ergeben sich merkliche individuelle Unterschiede bei einzelnen Tieren und Rassen, besonders beeinflußt durch die Fütterung (2). Hier ergibt sich die Notwendigkeit, mikroskopische Untersuchungen anzustellen, von denen wesentliche Verarbeitungsmaßnahmen abhängen. Dem Bedarfe entsprechend müssen Gewebeschnitte von etwa 1 cm² bei einer Dicke von 30—50 μ vorliegen. Es scheint naheliegend, zu diesem Behufe Gefrierschnitte anzufertigen. Praktisch erweisen sich Depotfette jedoch sehr ungeeignet hierzu, weil ihr Fettgehalt über 85—90% beträgt und demzufolge die Stücke zwar fest werden, jedoch nicht auf der Unterlage haften und zugleich schmierig und schwer schneidbar bleiben. Auch die Zugabe von Wasser, welches immerhin in die Gewebezellen eindringt, ändert daran nichts. Die bessere Benetzungsfähigkeit des Alkohols läßt sich ebenfalls nicht ausnützen, denn damit befeuchtete Stücke würden wieder Gefrieremperaturen von rund — 100° C erfordern, die mit Kohlensäureschnee allein nicht erreichbar sind. Eine Härtung des Fettgewebes mit Formaldehyd ist unzureichend, wie denn alle wässrigen Flüssigkeiten zu Mißerfolgen führen müssen. Als praktisch gangbarer Weg hat sich die Behandlung mit absolutem Alkohol erwiesen, welche eine Art „Härtung“ des Depotfettgewebes erreichen läßt und ermöglicht, mittels eines Handmikrotoms akzeptable Schnitte durchzuführen. Allerdings sind die Schnittdicken mindestens zwei Zellen stark, was indessen nicht stört, weil die Begrenzungen der unteren Zellschicht immer in die freien Flächen des darüberliegenden Gewebevielecks kommen. Bei dünneren Schnitten, unter 30 μ , fallen zudem die Fettfüllungen aus den Gewebezellen heraus und machen Beobachtungen im polarisierten Licht nutzlos. Falls jedoch das Gewebe ohne Fettinhalt betrachtet werden soll, dann ist es vorteilhafter, das Fett durch Zuführen und Absaugen von Xylol oder Benzol aus dem fertigen Schnittpräparat herauszulösen. Allein schon die große Feinheit des Gewebes und seine optische Inaktivität erfordern Anfärbung, welche recht schwierig ist. Hier kann durch Dunkelfeldbeobachtung oder mittels Optikolorverfahrens (Optische Werke C. REICHERT, Wien) Abhilfe geschaffen und Arbeit erspart werden. Am vorteilhaftesten

Abb. 1. Fettgewebe mit Gefäßwand.
Mikroskop: REICHERT „Z“; Film: Isochrom 18/10 DIN; Belichtung: 1/10“; Beleuchtung: Durchlicht, gelb; Objektiv 10:1, Okular 8X, V=80:1.



Abb. 2. Fettgewebe.
Mikroskop: REICHERT „Z“; Film: Isochrom 18/10 DIN; Belichtung: 1/10“; Beleuchtung: Durchlicht, gelb; Objektiv 4:1, Okular 8X, V=32:1.





Abb. 3. Rinderfettgewebe.

Mikroskop: REICHERT „Z“; Film: Isochrom 18/10 DIN; Belichtung 1/5“; Beleuchtung: Durchlicht, gelb; Objektiv 10:1, Okular 8x, V=80:1.



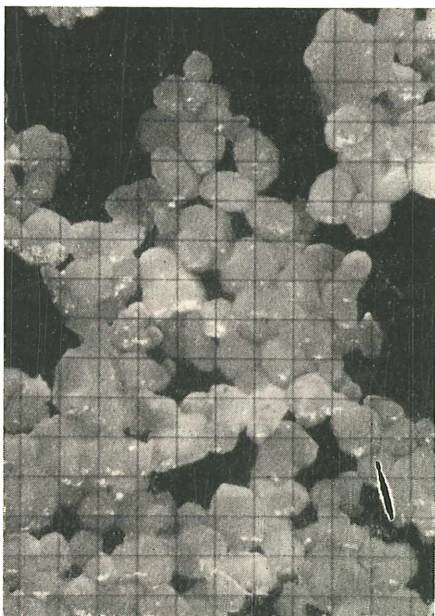
Abb. 4. Fettgewebe.

Mikroskop: REICHERT „Z“; Film: Isochrom 18/10 DIN; Belichtung 1/10“; Beleuchtung: Durchlicht, gelb; Objektiv 30:1, Okular 8x, V=240:1.

Abb. 5. Schweinefett aus Xylol krist.
Auflicht, gelb; Belichtung: 30''; Objektiv
4:1, Okular 8X, V=32:1.



Abb. 6. Premierjus natürlich krist.
Auflicht, gelb; Belichtung: 30''; Objektiv
2,5:1, Okular 6X, V=15:1.

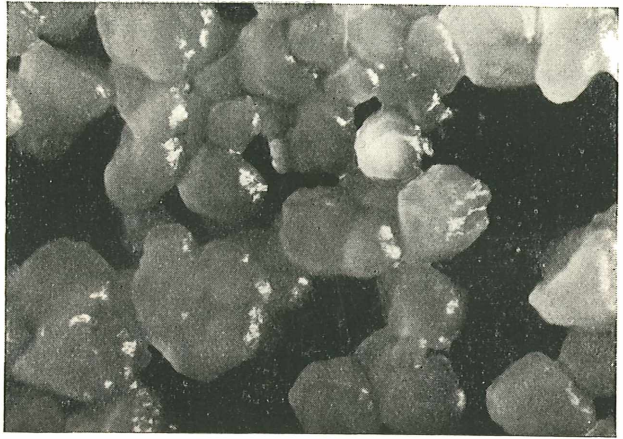


sind Schnitte von etwa 50μ , denn sie sind leicht herstellbar, stark und durchscheinend genug, um im Durchlicht und Dunkelfeld gute Beurteilung zu gewährleisten. Reihenschnitte, die man mit Alkohol auf Glasplatten geklebt hat, lassen sich mit der Nadel unter Alkoholzugabe auf Objektträger schieben. Solange sie noch feucht sind, können mit Zaponlack oder Kanada-balsam auch haltbare Präparate fertiggestellt werden. Der Alkohol vermittelt dabei die „Bindung“ mit dem Balsam und verhindert zugleich dessen Eindringen in das Gewebe. Luftblasen müssen bereits beim schrägen Auflegen des Deckglases verschwinden, da nachträgliches Drücken die Gewebeform verändert oder zerstört. Wie aus Abb. 1 ersichtlich ist, wird die Form der Gewebezellen sehr von äußeren Einflüssen bestimmt und kann durch eine Gefäßwand beispielsweise zu langgezogenen Ovalen statt Vielecken führen. Die weiteren Abb. 2, 3 und 4 mögen ein Bild von der Beschaffenheit normalen Rinderfettgewebes geben und aus den beigefügten Daten erhellen, unter welchen Variationen in bezug auf Vergrößerung, Belichtung, Beleuchtung und ähnliches die an und für sich robusten Schnitte sich betrachten lassen.

Jedoch auch das erschmolzene Fett ist bezüglich seiner Kristallit a t i o n von hohem Interesse. Da es sich bei tierischen Fetten nur um die Ausbildung von Erstarrungsgebilden ungenauer Definition handelt, ist die Bezeichnung Kristall i s a t i o n zu vermeiden (3). Immerhin erstarren die Fette unter gewissen Bedingungen in typischen Formen, die verwertbare Rückschlüsse auf die Behandlung bei der Herstellung oder Lagerung ziehen lassen. Beispielsweise bildet reines Schweinefett aus Azeton kristallisiert bäumchenartige Gebilde, die als Kennzeichnung sogar in die Analyse Eingang gefunden haben. Man kann auch aus Xylol kristallisieren und erhält fast makroskopische Kristallite in Form umstehender Abb. 5. Selbst recht geringe Zusätze von etwa 5% Rindertalg genügen, um die Ausbildung der typischen Bäumchen zu verhindern. Die Ursache dieser Erscheinung dürfte rein physikalisch erklärbar sein und hauptsächlich in der selektiven Wirkung des Azetons als Lösungsmittel liegen. Die erhaltenen Kristallite stellen naturgemäß nicht das reine Fett dar, sondern in erster Linie den höherschmelzenden Anteil desselben, also Stearin-Palmitin-Fett. Reines Tristearin hat deutliche Neigung zur Kristallisation, mehr noch die Stearinsäure, und es scheint davon abzuhängen, welches Fettgemisch vorliegt, um Azeton zu veranlassen, soviel als möglich von den kristallisationshemmenden Glyceriden des leichtflüssigen Fettanteils in Lösung zu halten. Diese Folgerung wird beispielsweise auch gestützt durch die bekannte Probe von NIEMCZYCKI (4) auf Talgzusatz zu Schweinefett, bei welcher durch Extraktion mit Azeton erhaltene Rückstände von reinem Schweinefett einen Schmelzpunkt um 62° , jedenfalls aber über 60° haben müssen, während für Talg der Wert um 52° liegt. Dies ist um so auffälliger, als Talg einen prozentual wesentlich höheren Gehalt an festen Fettanteilen hat als Schweineschmalz. Weiteren Einblick in diese Zusammenhänge gewährt die Feststellung, daß es für Rindertalg bis jetzt nicht gelungen ist, eine andere Kristallitform als Körnchen ohne ebene Flächenbegrenzung zu erreichen. Daß dies jedoch bei Auf-

*Abb. 7. Premierjus
natürlich.*

*Auflicht, gelb; Belich-
tung: 60"; Objektiv
4:1, Planokular 8×,
V=32:1.*



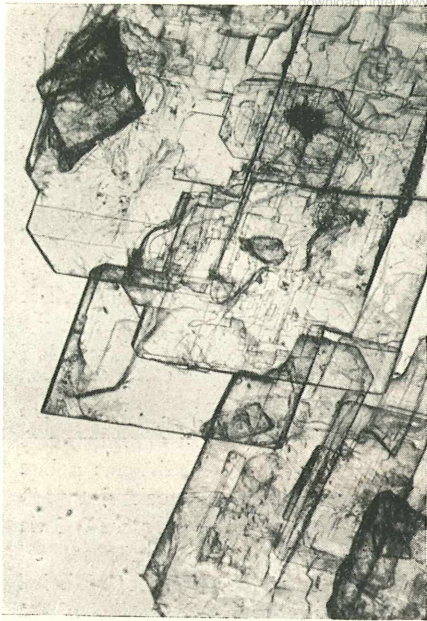
*Abb. 8. Premierjus
aus Xylol krist.*

*Mikroskop: REI-
CHERT „Z“; Film:
Isochrom 18/10 DIN;
Belichtung: 1/10"; Be-
leuchtung: Durchlicht,
gelb; Objektiv 10:1,
Okular 8×, V=80:1.*

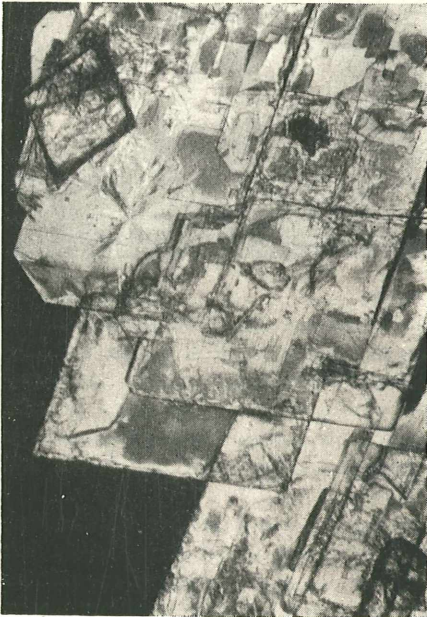


findung eines geeigneten Lösungsmittels denkbar wäre, steht außer Zweifel und würde dann ein weiterer Beweis vorgenannter Folgerung sein. Die Abbildungen 6, 7 und 8 zeigen, daß zwischen Kristallitation aus Xylol und natürlicher Erstarrung aus dem flüssigen Fett fast kein Unterschied besteht. Für den Betriebspraktiker sind indessen die sich ausbildenden Formen von sehr verwertbarer Art, kann er doch danach die Kristallitation leiten und die Lagerfähigkeit der Fette beeinflussen u. a. m.

Wesentlich einfacher ist die Untersuchung kristallisierender Fettbestandteile. Bereits die Fettsäuren als solche kristallisieren meist, doch bereitet ihre Reindarstellung und vor allem Trennung aus den Glyceridgemischen Schwierigkeiten und ergibt nur die Kenntnis der vorhandenen Fettsäuren.



*Abb. 9. Cholesterin aus Alkohol.
Durchlicht, weiß; Belichtung: 1/50''; Ob-
jektiv 10:1, Okular 8×, V=80:1.*



*Abb. 10. Cholesterin in polarisiertem
Licht.
Polarisiertes Durchlicht, weiß; Belichtung:
1/2''; Objektiv 4:1, Okular 8×, V=32:1.*

Abb. 11. Cholesterin aus Äther.
Auflicht, gelb; Belichtung: 30''; Objektiv
2,5:1, Okular 8X, V=20:1.



Abb. 12. Phytosterin aus Äther.
Auflicht, gelb; Belichtung: 30''; Objektiv
2,5:1, Okular 8X, V=20:1.



Zwar sind diese maßgebend für ein Fett, doch können nur wenige Rückschlüsse gezogen werden, weil sie in den seltensten Fällen als einsäurige Triglyzeride, sondern hauptsächlich als Mischglyzeride und zudem in Zwischenstufen als Mono- und Diglyzeride vorliegen. Dagegen sind die typischen Fettbegleiter Cholesterin und Phytosterin als Kennzeichner tierischer und pflanzlicher Fette gut mikroskopierbar. Cholesterin bildet aus Alkohol oder Azeton kristallisiert rhombische Tafeln aus, die sich im polarisierten Licht einwandfrei identifizieren lassen (Abb. 9 und 10). Phytosterin bildet büschelförmige Nadeln aus. Im polarisierten Licht erfolgt die Auslöschung bei Cholesterin in der Diagonale, bei Phytosterin in der Längsrichtung der Kristalle. Diese Feststellung ist jedoch nicht leicht zu treffen, um so mehr als man meist dickere Plättchen erhält, bei denen chromatische Polarisation auftritt. Cholesterin zeigt sich linksdrehend und sehr abhängig vom Lösungsmittel, aus dem es kristallisiert wird. Falls die Abscheidung der Sterine durch Extraktion des Unverseifbaren aus einer Kaliverseifung der Fettprobe mittels Äther erfolgt, dann muß eine mehrmalige Umkristallisation aus Alkohol stattfinden. Aus Äther erhält man sonst, je nach den Bedingungen, sowohl Tafeln als auch büschelige Nadeln des Cholesterins. Zwar sind diese von einer Form (Abb. 11), die Verwechslungen mit den feinen Phytosterinnadeln (Abb. 12) kaum befürchten lassen, doch empfiehlt es sich, bei Alkohol als Lösungsmittel zu bleiben. Gemische von Phyto- und Cholesterin kristallisieren vorzugsweise in Nadeln, so daß als Kontrolle die Überführung des Gemisches mittels Essigsäureanhydrid in die Azetate unentbehrlich ist. Die ebenfalls aus Alkohol umkristallisierten Azetate unterscheiden sich durch die Schmelzpunkte, die bei 114,6° und über 119° C liegen, also um wenigstens 5° C differieren. Ein anderer Weg zu den Sterinen ist die Fällung aus dem Fettsäuregemisch mit Digitonin (5). Durch Kochen in Xylol, Ausäthern und Umkristallisieren aus absolutem Alkohol, werden die Digitonide in die Sterine übergeführt und ergeben dann die gleichen Reaktionen wie vorbeschrieben.

Diese kurzen Angaben zeigen einen kleinen Ausschnitt besonderer Anwendung des Mikroskopes bei Fettuntersuchungen.

Literatur

1. *Hinko Th.*, Rindarrohtalg. Seifensiederz. **68** (1941): 47, 58.
2. — Die natürl. Rohtalgfärbung, ein relat. optischer Qualitätsindikator. *Fette u. Seifen* **51** (1944): 149.
3. — Einiges über die fraktionierte Kristallisation v. Fettgemischen. *Öle, Fette, Wachse* (1938), **8**: 1.
— Betrachtungen über Erstarrungsvorgänge bei der Fettkühlung. *Öle, Fette, Wachse* (1937), **7**: 1.
4. *Hinko Th.*, Einiges über Fettmischungen zu Kunstspeisefetten. *Öle, Fette, Wachse* (1937), **6**: 6.
5. *Archiv Chemie und Mikroskopie in ihrer Anwendung auf den öffentlichen Verwaltungsdienst* **4** (1911): 161, 177.
5. *Z. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände* **29** (1915): 321.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1947

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Hinko Theodor

Artikel/Article: [Mikroskopische Fettuntersuchungen. 156-164](#)