Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Milchprodukten

Autor(en): **Hänni, H. / Rychener, M. / Blanc, B.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **71 (1980)**

Heft 4

PDF erstellt am: **25.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-983533

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **71**, 509—525 (1980)
Eingegangen 18. Oktober 1980. Angenommen 24. Oktober 1980

Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Milchprodukten

H. Hänni und *M. Rychener*
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld
Direktor: Prof. Dr. *B. Blanc*

Einleitung

Freie Fettsäuren kommen, meistens in nur kleinen Mengen, in den verschiedensten Milchprodukten vor. Bereits die frisch ermolkene, rohe Milch enthält solche Verbindungen in Mengen von 0,8—1,85 Meq/l (1). Diese Bestandteile spielen trotz ihrer geringen Konzentration oft eine wichtige Rolle für den Geruch und den Geschmack der Milcherzeugnisse. So ist z. B. das Butteraroma zwar im wesentlichen bedingt durch seine Hauptbestandteile Diacetyl und Acetaldehyd. Trotzdem gibt eine quantitative Bestimmung dieser beiden Komponenten keine Korrelation zur geschmacklichen Beurteilung der Butter, ein Zeichen dafür, daß das volle Aroma, wie in anderen Lebensmitteln, durch eine Vielzahl von Substanzen erzielt wird. Unter diesen Substanzen figurieren auch die freien Fettsäuren.

Im Käse bilden sich freie Fettsäuren beim Reifungsprozeß. Sie entstehen durch die Tätigkeit von Mikroorganismen aus Aminosäuren (2). Es konnte experimentell nachgewiesen werden, daß beispielsweise die Propionsäure aus Aminobuttersäure und Threonin, die Isobuttersäure aus Valin und die n-Buttersäure aus Norvalin gebildet werden. Wie ersichtlich, handelt es sich hierbei vor allem um kurzkettige, mit Wasserdampf flüchtige Fettsäuren. Sie können durch Destillation aus dem Käse abgetrennt und gaschromatographisch untersucht werden. Solche Untersuchungen werden regelmäßig vorgenommen. Sie sind ein nützliches Hilfsmittel für die Diagnostizierung gewisser, bei der Käsefabrikation auftretender Fehler.

Während im Käse ansehnliche Mengen von kurzkettigen freien Fettsäuren zum erwünschten guten Geruch und Geschmack beitragen, sind solche in anderen Milchprodukten, sofern sie eine gewisse Konzentration erreichen, höchst unerwünscht. Es ist bekannt, daß der ranzige Geschmack, der bisweilen in Rahm, Milch und besonders Butter wahrgenommen wird, hauptsächlich durch freie Fettsäuren mit 4 bis 10 C-Atomen verursacht wird. Hier stellt sich die Frage nach der Herkunft der störenden Fettsäuren. Es hat sich im Verlauf der letzten Jahre immer deutlicher gezeigt, daß die Milch als äußerst komplex zusammengesetzte biologische Flüssigkeit empfindlich auf mechanische oder thermische Belastung reagiert. Als erste Wirkung solcher Belastungen zeigt sich eine Schädigung der Fettkügelchen-

membranen, was zur Folge hat, daß Fett in die wässerige Phase austritt und sich mit der Zeit an der Oberfläche der Flüssigkeit als gelbe Schicht ansammelt. Solches «freies Fett» ist recht anfällig sowohl für den hydrolytischen Angriff von Lipasen als auch für oxidative Veränderungen. Die aus dem Triglycerid-Komplex abgespaltenen Fettsäuren ändern die Geschmackseigenschaften der Milch im negativen Sinne. Außerdem wird die Verarbeitung solcher Milch problematisch, da sich der Gehalt an freien Fettsäuren im allgemeinen nicht vermindert, sondern noch erhöht und schließlich ein Niveau erreichen kann, das dem typischen Fehler «ranzig» entspricht.

Aus diesen Gründen ist die qualitative und quantitative Erfassung der freien Fettsäuren zu einer wichtigen analytischen Aufgabe geworden. Es ist denkbar, daß diese Untersuchung als weiteres Kriterium in die allgemeine Milchkontrolle eingebaut wird, vielleicht in Verbindung mit einer Bestimmung des freien Fettes, für welches neuerdings eine brauchbare Methode geschaffen wurde (3).

Methoden zur Bestimmung der freien Fettsäuren sind schon lange bekannt. Es erscheint nützlich, aus der großen Mannigfaltigkeit solche auszuwählen, die unkompliziert, rasch durchführbar und somit auch für einfachere Betriebslaboratorien, aber auch in amtlichen Kontrollstellen anwendbar sind.

Säuregrad nach Soxhlet-Henkel (°SH) und Säuregrad im Fett (SG)

Bevor das Problem «freies Fett» — «freie Fettsäuren» in der Milchwirtschaft aktuell wurde, kam der Ausdruck «freie Fettsäuren» weniger zur Anwendung; dagegen wurde oft vom «Säuregrad im Fett» gesprochen.

Der Säuregrad der Milch (oder der Milchprodukte) erfaßt im wesentlichen die Milchsäure; er wird in °SH angegeben und bedeutet die Anzahl ml 0,25 n Natronlauge, die zur Titration von 100 ml Milch oder z. B. 100 g Rahm verbraucht werden (4).

Der Säuregrad im Fett dagegen erfaßt die vorhandenen freien Fettsäuren und wird ausgedrückt durch die Anzahl ml 1 n Kalilauge, die zur Neutralisation der in 100 g Fett enthaltenen sauren Bestandteile benötigt werden (5). Die freien Fettsäuren und der Säuregrad im Fett sind also im Grunde genommen dasselbe. Die freien Fettsäuren werden entweder als Säuregrad oder in Prozent des Gesamtfettes oder auch als Meq/l ausgedrückt.

Methoden zur Bestimmung der freien Fettsäuren

Es besteht ein reichhaltiges Angebot an Methoden, die zur Bestimmung der freien Fettsäuren angewendet werden können. Dabei dominieren Titrationsmethoden, die entweder Phenolphthalein oder Thymolblau als Indikator benützen oder den Titrationsendpunkt elektrometrisch registrieren. Daneben existieren chromatographische, gaschromatographische und colorimetrische Verfahren. Eine gute Uebersicht findet sich in einem vom Internationalen Milchwirtschaftsverband (FIL-IDF) veröffentlichen Bulletin (6).

Die eigentliche Bestimmung der freien Fettsäuren ist im allgemeinen recht einfach durchzuführen, dagegen kann die Isolierung aus gewissen Milchprodukten, wie z. B. Rahm oder Joghurt, gewisse Schwierigkeiten bereiten. Die Art und Weise, wie dieser Arbeitsschritt vollzogen wird, kann als Maß für die Güte der betreffenden Methode gelten.

Es hat sich gezeigt, daß gewisse kurzkettige Fettsäuren, wie Butter-, Capron- und Caprylsäure, sehr viel mehr zum ranzigen Geschmack eines Milchproduktes beitragen als z. B. Palmitin- oder Stearinsäure. Gerade diese wichtigen Fettsäuren sind aber wegen ihrer Wasserlöslichkeit nicht leicht quantitativ zu erfassen, besonders wenn unkomplizierte Methoden zur Bestimmung angewendet werden.

Auf der Suche nach einer einfachen, ohne apparativen Aufwand durchzuführenden Methode wurde diesem Kriterium besondere Bedeutung beigemessen.

Auswahl zweier typischer Methoden

Für die Prüfung nach den oben erwähnten Gesichtspunkten wurden zwei einfache Titrationsmethoden ausgewählt, die sich im wesentlichen durch die Art der Aufbereitung der Proben unterscheiden.

Es handelt sich um die BDI (Bureau of Dairy Industries)-Methode (7) und um die Methode nach *Deeth* (8).

Bei der BDI-Methode wird das Fett durch Detergentien aus dem zu untersuchenden Milchprodukt abgeschieden, getrocknet, in einem Gemisch von Ether, Petrolether und Ethanol gelöst und titriert.

Die BDI-Methode ist vor allem in Deutschland und in den Niederlanden zu großer Verbreitung gekommen.

Driessen und Mitarbeiter (9) haben das Verfahren gründlich studiert und nützliche Modifikationen vorgeschlagen.

BDI-Methode, modifiziert nach Driessen *et al.*

Spezialgeräte

Käsebutyrometer nach *Van Gulik* mit passenden Stopfen
Butyrometergestell
Wasserbad 100 °C mit Halterung für Butyrometer

Reagenzien

BDI-Reagens:	30 g Triton X-100 (Merck) und 70 g Natrium-Hexametaphosphat (pract. Fluka) in Wasser auflösen, mit 4/3 mol/l H_3PO_4 p. a. den pH-Wert auf 5,0—5,5 einstellen und auf 1000 ml auffüllen. Haltbarkeit beim Aufbewahren im Kühlschrank 1 Monat.
Fett-Lösungsmittel:	Ether peroxidfrei / Petrolether dest. / Ethanol 96% im Volumenverhältnis 4 : 6 : 8.

Kalilauge 0,01 mol/l: Ca. 600 mg KOH p. a. in 1000 ml Ethanol auflösen. Zur Bestimmung des Faktors 5 ml HCl 0,01 mol/l in 10 ml Ethanol titrieren. Ebenso 5 ml Wasser in 10 ml Ethanol titrieren und diesen Blindwert vom vorigen Verbrauch abziehen.
Faktorbestimmung mindestens alle 10 Tage wiederholen!

Indikatorlösung: 100 mg Thimolblau unter Rühren in 100 ml Ethanol p. a. lösen, filtrieren und in brauner Flasche aufbewahren.

Gewinnung des Fettes

In ein umgekehrt gehaltenes, mit dem kleinen Stopfen verschlossenes Käsebutyrometer gibt man 16,0 ± 0,5 ml Milch und 4,5 ± 0,1 ml BDI-Reagens. Bei Rahm betragen die entsprechenden Mengen 5,0 ± 0,2 bzw. 9,0 ± 0,1 ml und außerdem 6,5 ml Wasser. Unmittelbar nach der Zugabe des Reagens wird das Butyrometer mit dem großen Stopfen verschlossen. Der Inhalt wird durch ca. zehnmaliges Kippen gründlich vermischt. Daraufhin kommt das Butyrometer für 15 min ins kochende Wasserbad. Nachdem sich das Fett abgeschieden hat, wird das Butyrometer mit Wasser derart aufgefüllt, daß die Trennlinie Fett/wässerige Phase ungefähr in die Mitte der Skala zu liegen kommt. Danach wird 10 min bei 1000 U/min zentrifugiert und das Butyrometer bis zur Entnahme des Fettes bei 50 °C im Trokkenschrank aufbewahrt. Mit einer Pasteur-Pipette wird es aus dem Skalenteil abgezogen und ca. 1,5 g davon in einen 100-ml-Erlenmeyerkolben eingewogen. Man gibt sofort 20 ml Fettlösungsmittel zu und vermischt, worauf die Lösung zur Titration bereit ist.

Titration

Die Fettlösung, welche auch die freien Fettsäuren enthält, wird mit 0,5 ml Indikatorlösung versetzt und mit KOH 0,01 mol/l aus einer 5-ml-Bürette auf einer weißen Unterlage titriert. Man titriert von hellgelb bis zu einem deutlichen Hellgrünton. Die Zugabe der Lauge soll bei jeder Probe ungefähr im gleichen Tempo erfolgen. Das langsame Zurückgehen der Farbe nach gelb ist nicht zu beachten.

Zur Bestimmung des Blindwertes wird das Lösungsmittelgemisch ohne Fettsäuren in gleicher Weise titriert.

Bemerkung: Die Titration kann auch potentiometrisch vorgenommen werden, wobei etwa 20 Einwaagen in dasselbe Lösungsmittel möglich sind.

Berechnung: Säuregrad $SG = \frac{(a - Bw) \cdot f}{E}$

a = Anzahl ml KOH 0,01 mol/l
Bw = Blindwert
f = Faktor der KOH
E = Einwaage in g

Angabe der Resultate ohne Dimension mit 2 Dezimalen. Höchstzulässige Differenz bei Doppelbestimmungen 10%, höchstens aber 0,05.

Methode nach Deeth *(8)*

Bei der zweiten der erwähnten Methoden wird das Fett durch geeignete Lösungsmittel unmittelbar aus dem zu untersuchenden Milchprodukt extrahiert und anschließend titriert.

Puhan und *Halter* (3) haben das Verfahren modifiziert, so daß es als besonders rasch durchführbarer Test zur Bestimmung der Fettschädigung in Milch und Rahm sowie zur Messung des Säuregrades von Butterfett dienen kann. Um die Methode besser mit dem BDI-Verfahren vergleichen zu können, haben wir die Proben eingewogen statt nur abgemessen und das Fett nach der Extraktion getrocknet, so daß auch auf dieser Stufe eine genaue Einwaage möglich wurde.

Spezialgeräte

Mojonnier-Röhren
Erlenmeyerkolben 100 ml, mit Bodenschliff

Reagenzien

Extraktionslösung:	Isopropanol p. a. / Petrolether dest. / Schwefelsäure 2 mol/l im Volumenverhältnis 40 : 10 : 1
Petrolether dest.	
Ether/Petrolether 4 : 6	
Phenolphthalein:	1 g in 100 ml 96% Ethanol
Kalilauge 0,01 mol/l	(s. unter BDI-Methode)

Gewinnung des Fettes

In eine Mojonnier-Röhre werden nacheinander 10 g Rahm oder Milch, 20 ml Extraktionslösung, 12 ml Petrolether und 4 ml Wasser gegeben. Danach wird 15 s kräftig geschüttelt. Durch 15 min Zentrifugieren bei 500 U/min entsteht eine milchigtrübe untere und eine klare gelbliche obere Phase. Sie wird durch sorgfältiges Kippen der Röhre durch ein Trichterchen in einen 50-ml-Meßkolben überführt. Nach Zufügen von 10 ml Ether/Petrolether-Gemisch wird mit Ethanol zur Marke aufgefüllt. Man pipettiert 10 ml der entstandenen klaren Lösung in einen austarierten Bodenschliff-Erlenmeyer. Er wird zur Verdampfung der Lösungsmittel auf die Heizplatte gebracht, anschließend mindestens 2 h bei 102 °C im Trockenschrank belassen und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen. Die im Meßkolben verbleibenden 40 ml Lösung sind zur Titration bereit.

Titration

Die Lösung mit den freien Fettsäuren wird mit 5 Tropfen Phenolphthalein-Lösung versetzt und mit KOH 0,01 mol/l aus einer 5-ml-Bürette auf weißer Unterlage titriert, bis eine deutliche Rosafärbung entsteht. Man fügt noch solange Lauge zu, bis die Rosafärbung mindestens 30 s lang bestehen bleibt.

Zur Bestimmung des Blindwertes wird die gleiche Menge Lösungsmittelgemisch ohne Fett in gleicher Weise titriert.

Berechnung: Säuregrad SG $= \frac{0{,}25 \cdot (a - Bw) \cdot f}{E}$

a = Anzahl ml KOH 0,01 mol/l
Bw = Blindwert
f = Faktor der KOH
E = Einwaage in g

Die Methode eignet sich auch gut für die Bestimmung des Säuregrades in Butter. Dabei ist es im Gegensatz zu anderen Methoden nicht nötig, das reine Butterfett durch Entwässern zu gewinnen. Es kann ebenso wie das Fett aus dem Rahm durch Extraktion erhalten werden.

Untersuchungen über das Verhalten beider Methoden

Fehlergrenzen

An einem Durchschnittsrahm wurde in zehnfacher Ausführung der Säuregrad nach beiden Methoden bestimmt und die Mittelwerte ($\bar{x}$), die Standardabweichungen (s), die prozentualen Fehler (%) und die Differenzen der Extremwerte (Δ_{max}) berechnet (Tabelle 1).

Tabelle 1. Genauigkeit der Methoden

Methode	$\bar{x}$	s	%	Δ_{max}
BDI	0,65	0,01	1,54	0,02
Deeth	1,19	0,03	2,53	0,09

Bei beiden Methoden liegt die prozentuale Differenz der Extremwerte unter 8%. Die Erfahrung aus vielen anderen Doppelbestimmungen zeigte, daß die gesetze Toleranzgrenze von 10%, höchstens aber 0,05 ohne große Schwierigkeiten eingehalten werden kann.

Titration

Die beiden Titrationsmethoden sollen miteinander verglichen werden. Als Proben dienten 10 Butterfette von einer Buttertaxation.

SG 1) Lösungsmittel: Ether/Petrolether/Ethanol (4 : 6 : 8), 20 ml
Indikator: 0,1% Thymolblau, 0,5 ml
SG 2) Lösungsmittel: Ethanol/Ether (1 : 1), 20 ml
Indikator: 0,1% Phenolphthalein, 0,5 ml
Einwaage: 1,0—2,0 g
Titration: 0,01 mol/l KOH in Ethanol

Die Zugabe erfolgte bei beiden Verfahren unter Rühren und in gleichem Tempo. Die in Tabelle 2 aufgeführte prozentuale Differenz der beiden SG-Werte (% diff) bezieht sich auf SG 1).

Tabelle 2. Prozentuale Abweichung der beiden Methoden

Butter	SG 1)	SG 2)	% diff (+)
1	0,64	0,71	10,9
2	0,58	0,63	8,6
3	0,91	0,98	7,7
4	0,85	0,91	7,1
5	0,72	0,77	7,0
6	0,75	0,79	5,3
7	0,70	0,77	10,0
8	0,86	0,92	7,0
9	0,65	0,70	7,7
10	0,69	0,75	8,7

Die Titrationswerte liegen durchschnittlich 8,0% höher für Phenolphthalein als für Thymolblau. Mit Phenolphthalein ist der Umschlag schleppend und farblich weniger gut erkennbar als mit Thymolblau. Allgemein wurde dem Umstand, daß das CO_2 der Luft die Titrationswerte beeinflussen kann, dadurch Rechnung getragen, daß unter gleichen Bedingungen titrierte Blindwerte vom Titrationswert abgezogen wurden. Das Titrieren in CO_2-freier Atmosphäre, wie es *Driessen* et al (9) u. a. vorschlagen, bedingt einen zu großen apparativen Aufwand in einem Betriebslabor.

Abhängigkeit des Säuregrades vom pH des BDI-Reagens

Mit einem Durchschnittsrahm wurde die BDI-Methode mit BDI-Reagenzien verschiedener pH-Werte ausgeführt. Die Einstellung erfolgte für den sauren pH-Bereich mit 4/3 mol/l H_3PO_4 p. a., für den basischen mit NaOH 2 mol/l p. a. (Tabelle 3, Abb. 1).

Tabelle 3. Einfluß des pH-Wertes im BDI-Reagens

pH	9,0	7,0	5,5	4,5	3,5	2,5
SG	0,37	0,61	1,27	1,33	1,40	1,41

In fünf Butterungsrahmproben wurden ferner die Säuregrade für pH-Werte des BDI-Reagens von 6,5 und 4,5 gemessen (Tabelle 4).

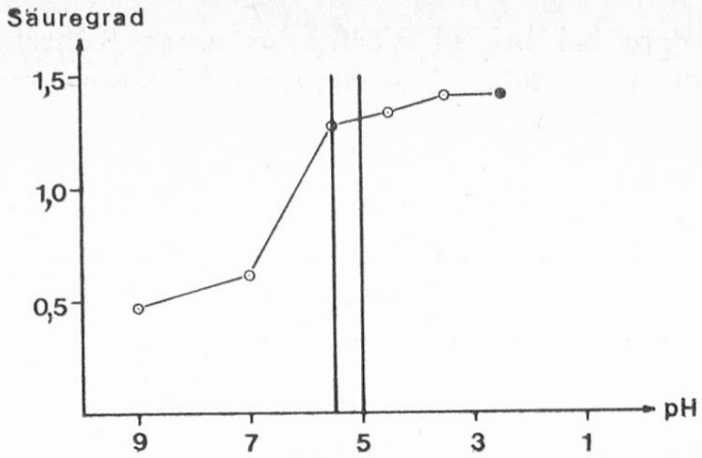

Abb. 1. Abhängigkeit des Säuregrades vom pH-Wert des Reagens (optimaler Bereich eingerahmt)

Tabelle 4. Bestimmung des Säuregrades in Rahmproben mit verschiedenen pH-Werten

Rahm Nr.	pH 6,5	pH 4,5	% diff (+)
204	0,71	0,76	6,6
234	2,23	2,29	2,6
298	0,86	0,88	2,3
329	1,48	1,57	5,7
364	2,04	2,23	8,5

Im basischen Bereich werden die freien Fettsäuren selbstverständlich neutralisiert. Bei pH-Werten, die größer sind als die pK_a-Werte der betreffenden Säuren, liegen diese als Salze (Seifen) vor, die in die wässerige Phase eingehen. Da die pK_a-Werte der Fettsäuren ungefähr um 4,8 liegen (Buttersäure: 4,82), wäre es ideal, das pH des BDI-Reagens kleiner als 4,8 zu wählen, damit sicher die Säureformen vorliegen, welche fettlöslich sind. Da aber im sauren Bereich die Proteine im Rahm denaturieren und ausflocken, wird die Ausölung im Butyrometer bei pH unter 4,5 erschwert. Daher wurde als optimaler pH-Wert der Bereich zwischen 5,0 und 5,5 angesehen, im Gegensatz zu *Driessen* et al. (9), welche 6,6 vorschlagen.

Einfluß der Milchsäure

Im Rahm wie in der Milch setzt unmittelbar nach der Gewinnung die Tätigkeit der Milchsäurebakterien ein, so daß nicht mehr ganz frischer Rahm beträchtliche Mengen an (±)-Milchsäure enthält. Diese kann nun den SG-Meßwert beeinflussen. Um das Ausmaß der Verfälschung abschätzen zu können, wurden zu 50-ml-Portionen von frischem UHT-Rahm verschiedene Mengen 50%-Milchsäure (PhHVI, Merck) zugesetzt, so daß Milchsäurekonzentrationen

von 0—1% entstanden. In diesen milchsauren Rahmproben wurde der Säuregrad nach *Deeth* und BDI bestimmt und gegen die Milchsäurekonzentration aufgetragen (Tabelle 5). Eine analoge Versuchsanordnung erfolgte für frischen Rohrahm (nur BDI-Methode).

Tabelle 5. Beeinflussung der Titrationswerte durch den Milchsäuregehalt der Proben

% Milchsäure	SG Deeth (UHT)	BDI (UHT)	BDI (Roh)
0	0,99	0,40	0,30
0,1	1,45	0,40	0,28
0,2	1,74	0,39	0,27
0,3	1,95	0,41	0,27
0,5	2,59	0,41	0,28
0,75	3,26	0,43	0,28
1,0	4,05	0,44	0,29

Bei einem Milchsäurezusatz von 0,5% ermittelt die Deeth-Methode einen um 162% höheren Wert als ohne Zusatz erhalten wird. Wohl ist der Anteil der Milchsäure, die bei der Extraktion in die organische Phase übergeht, nach *Deeth* et al. (8) nur ca. 2%, aber die Milchsäurekonzentration in leicht bis stark saurem Rahm liegt sehr viel höher als die Fettsäurekonzentration. Daher bewirkt der kleine Teil übertretender Milchsäure eine derart massive Verfälschung des Säuregrades, in den ja nur die freien Fettsäuren eingehen sollten.

Die Methode BDI liefert für alle Milchsäurekonzentrationen praktisch denselben Wert für den SG. Offenbar ist hier die organische Phase (reines Rahmfett ohne Lösungsmittel) zur Aufnahme von Milchsäure ungeeignet. Für Konzentrationen von über 1,5% wird allerdings die Ausölung des Rahmes im Butyrometer schlecht, eine Folge der beim Erhitzen im sauren Milieu ausgefallenen Proteine.

Verteilungszahlen verschiedener Fettsäuren in den Systemen Deeth und BDI

Um zu zeigen, wie vollständig die freien Fettsäuren bei den einzelnen Methoden erfaßt werden, wurde folgendes Experiment durchgeführt:

Zu einer auf 35% Fettgehalt eingestellten Rahmprobe von 200 ml wurden 2 ml einer etherischen Lösung bestimmten Gehaltes an untersuchter Fettsäure gegeben, der Ether durch leichtes Erwärmen verdampft und die Probe geschüttelt, so daß sich die in Tabelle 6 aufgeführten Konzentrationen (in mEq/100 g Fett) ergaben. In den Proben wurde darauf der Säuregrad nach beiden Methoden gemessen. Als Referenz diente der gleiche Rahm ohne Zusatz. Aus der Differenz der beiden Messungen (*d*) und der Fettsäurenkonzentration im Rahm (entstanden durch Zugabe) ergab sich der prozentuale Anteil dieser Fettsäuren in der organischen Phase (% *k*).

Tabelle 6. Verteilungszahlen verschiedener Fettsäuren in der organischen Phase

Säure	Symbol	Zusatz mEq/100 g	Methode	*d*	% *k*
Capronsäure	C_6	0,49	Deeth	0,36	73,0
			BDI	0,00	0,0
Caprinsäure	C_{10}	0,50	Deeth	0,40	80,2
			BDI	0,23	46,1
Laurinsäure	C_{12}	0,49	Deeth	0,45	91,0
			BDI	0,32	64,8
Stearinsäure	C_{18}	0,52	Deeth	0,46	88,8
			BDI	0,37	71,4
Oelsäure	$C_{18:1}$	0,49	Deeth	0,43	87,8
			BDI	0,39	79,6

Zur Veranschaulichung sind diese Resultate in Abbildung 2 graphisch dargestellt.

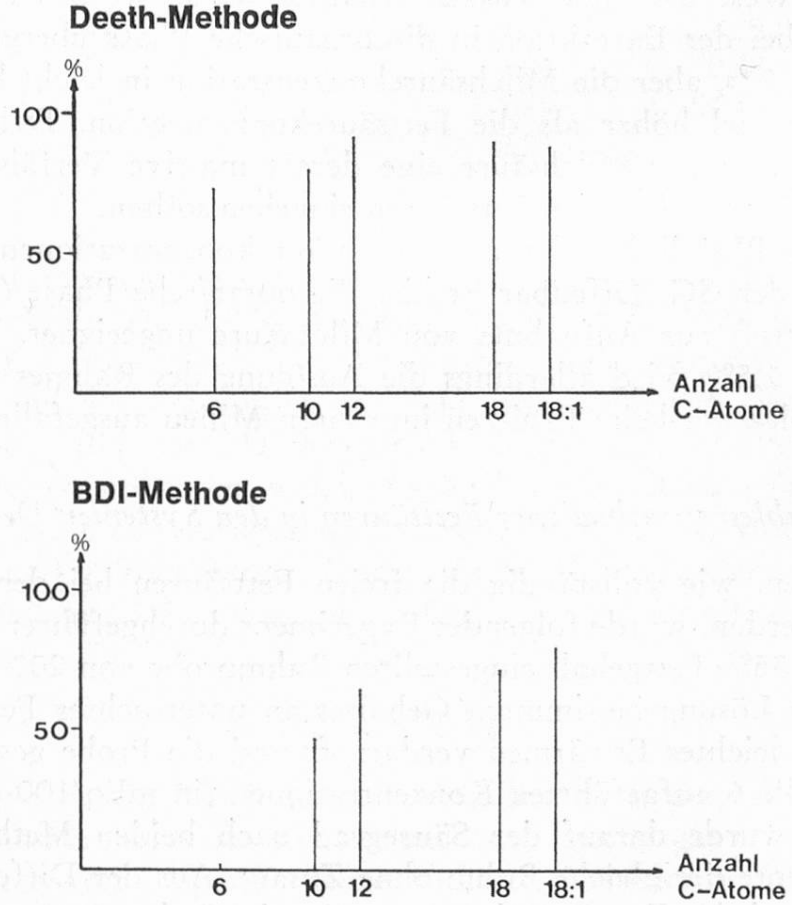

Abb. 2. Verteilungszahlen verschiedener Fettsäuren nach den Methoden Deeth und BDI. Ausgezogene Striche: % Fettsäure in der organischen Phase

Der Anteil extrahierter Fettsäuren ist bei der Deeth-Methode besser. Die BDI-Methode erfaßt die kurzkettigen — gezeigt am Beispiel der Capronsäure — schlecht und berücksichtigt nur ca. 50% der vorhandenen Säuren. Dies vermutlich deshalb, weil ein Teil der Säuren bei der Ausölung in der wässerigen Phase abgepuffert wird. Der Trend der gefundenen Resultate stimmt mit den Untersuchungen von *Deeth* überein.

Gaschromatographie der freien Fettsäuren

Unter Umständen kann es nützlich sein, die Verteilung der freien Fettsäuren im Rahmfett zu studieren. Dies geschieht am zweckmäßigsten gaschromatographisch. Das Problem dabei ist, die freien Fettsäuren vorher vom noch intakten Fett zu trennen. *Hulstkamp* (10) hat für solche Fälle eine Methode ausgearbeitet, die nachfolgend zur Anwendung kommt.

5 g Rahmfett, gewonnen nach den Methoden *Deeth* und BDI wurden mit 2 g Amberlite IRA-410 (OH-Form, hergestellt durch Rühren von 20 g Amberlite-Cl-Form während 1 h in NaOH 2 mol/l, abnutschen, mit Wasser spülen und mit Aceton trocknen) 15 min in 10 ml alkoholfreiem Ether gerührt. Der abfiltrierte Ionenaustauscher wurde mit Ether fettfrei gewaschen und dann mit 2 ml Ethyljodid (puriss) unter Rühren am Rückfluß bei 65—70 °C 2 h verestert. Die erhaltene Esterlösung wird direkt in den Gaschromatographen eingespritzt.

Die Chromatographie erfolgte im wesentlichen nach *Hadorn* (11). Die Peakflächen wurden mit einem Autolab Syst IV B Chromatography Data Analyzer ausgewertet.

Zur Identifizierung der Peaks wurde ein Testgemisch, enthaltend die Fettsäureethylester C_4—C_{18} in n-Heptan hergestellt, dessen Daten nachfolgend beschrieben werden (Tabelle 7).

Tabelle 7. Zusammensetzung des Testgemisches für die Gaschromatographie

Fettsäure-Ethylester	Symbol	Molekulargewicht	Einwaage (g)	mol%
Buttersäure-	4	116,16	1,1608	12,47
Capronsäure-	6	144,22	1,4450	12,51
Caprylsäure-	8	172,27	1,7222	12,48
Caprinsäure-	10	200,32	2,0167	12,57
Laurinsäure-	12	228,38	2,2902	12,52
Myristinsäure-	14	256,43	2,5655	12,48
Palmitinsäure-	16	284,49	2,8461	12,48
Stearinsäure-	18	312,54	3,1233	12,47

Für die Berechnung mußten Korrekturfaktoren eingesetzt werden, welche mit den Peakflächen vor der Umrechnung in mol% zu multiplizieren sind, damit die richtigen Molverhältnisse entstehen. Sie bestehen aus dem reziproken Molekular-

gewicht des jeweiligen Fettsäureesters und einer Detektionskorrektur. Ein Testchromatogramm mit zehnmal verdünntem Testgemisch (Abb. 3) ergab folgende Daten:

Tabelle 8. Korrekturfaktoren für die gaschromatographische Bestimmung der Fettsäuren

Säureester	Retentionszeit (s)	Korrekturfaktor	mol%
4	254	1,038	12,29
6	464	0,742	12,62
8	701	0,583	12,81
10	931	0,478	12,66
12	1146	0,416	12,43
14	1343	0,376	12,27
16	1540	0,340	12,42
18	1826	0,301	12,50

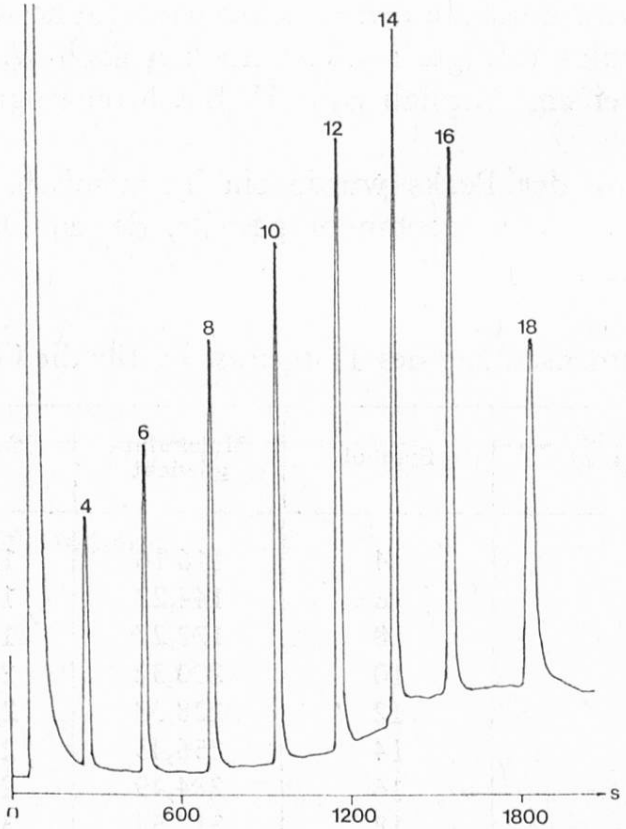

Abb. 3. Testchromatogramme

In gleicher Weise wurden die Chromatogramme der freien Fettsäuren im Rahmfett (Rohrahm Versuchskäserei Uettligen), erhalten nach *Deeth* und BDI, ausgewertet. Ungeradzahlige und ungesättigte Fettsäuren wurden gruppenweise

zusammengefaßt (1, 2, 3) und ebenfalls miteinbezogen. Die Resultate der nachstehend abgebildeten Chromatogramme (Abb. 4 und 5) finden sich in Tabelle 9.

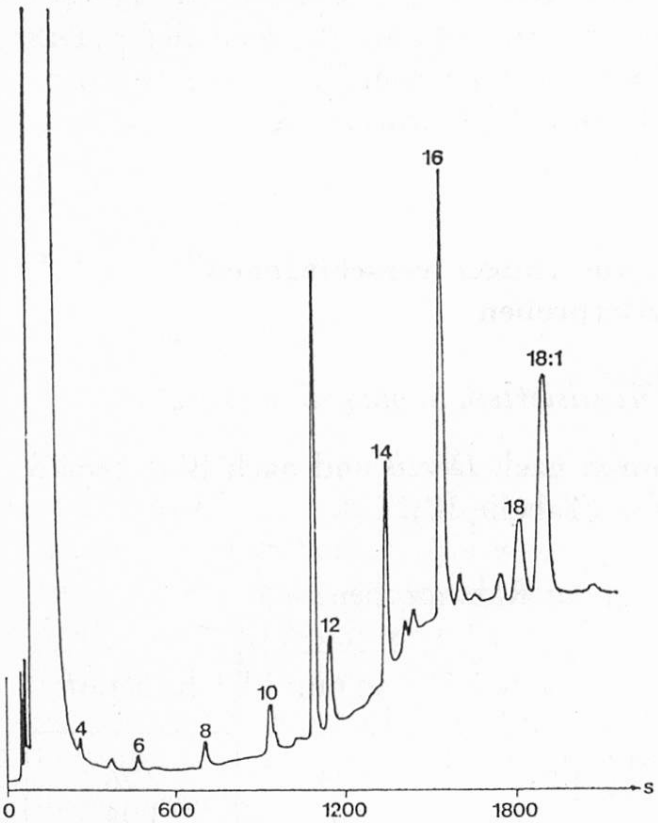

Abb. 4. Chromatogramm der Ethylester der freien Fettsäuren in Rahmfett nach Deeth

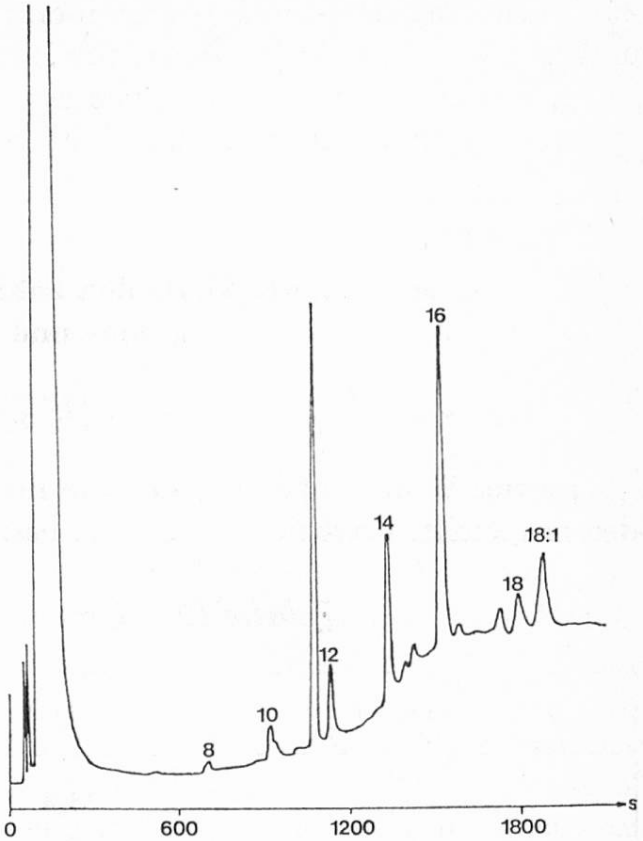

Abb. 5. Chromatogramm der Ethylester der freien Fettsäuren in Rahmfett nach BDI

Tabelle 9. Auswertung der nach der Deeth- und BDI-Methode erhaltenen Gaschromatogramme

Fettsäure	Deeth	BDI	Normales Milchfett zum Vergleich
Buttersäure	0,33	—	3,2
Capronsäure	1,17	—	0,6
Caprylsäure	2,29	1,87	1,0
Caprinsäure	3,09	4,39	2,9
1	1,39	1,12	
Laurinsäure	5,65	9,14	4,8
Myristinsäure	20,14	16,58	11,8
2	2,30	3,98	
Palmitinsäure	26,68	39,31	27,4
3	10,01	4,73	
Stearinsäure	6,08	4,76	10,4
Oelsäure	20,87	14,12	22,9

Beim Betrachten der Chromatogramme fällt auf, daß in den nach BDI erhaltenen Fetten Buttersäure und Capronsäure nicht vorhanden sind, was durchaus in der Richtung des Versuches über die Verteilungszahlen liegt. Im Vergleich zur Verteilung der Fettsäuren im intakten Milchfett liegen die Werte für Laurin- und Myristinsäure leicht höher, für Butter- und Stearinsäure dagegen tiefer. Das ist wahrscheinlich methodisch bedingt, könnte aber auch auf eine selektive Abspaltung der Fettsäuren aus den Triglyceriden des Milchfettes hindeuten.

Vergleich der Methoden anhand von einigen verschiedenen Rahm- und Butterproben

Untersuchung von handelsüblichem, uperisiertem Schlagrahm (frisch)

In vier Rahmproben wurden die Fettsäuren nach *Deeth* und nach BDI gemäß den mitgeteilten Arbeitsvorschriften bestimmt (Tabelle 10).

Tabelle 10. Untersuchung der Rahmproben

Rahm Nr.	% Fett	SG Deeth	SG BDI	Deeth/BDI
1	35,8	1,04	0,46	2,26
2	35,3	1,35	0,68	1,98
3	35,9	1,15	0,50	2,30
4	35,1	0,98	0,46	2,13

Untersuchung von angesäuertem Butterungsrahm

In 6 Proben von Rahm, die mit Säureweckerkulturen bis zum Bereich eines Säuregrades von etwa 24—28 °SH inkubiert worden waren, wurden wiederum nach *Deeth* und BDI die Säuregrade im Fett bestimmt (Tabelle 11).

Tabelle 11. Ergebnisse bei Rahm mit verhältnismäßig hohem Gehalt an Milchsäure

Rahm Nr.	SG Deeth	SG BDI	Deeth/BDI
5	3,13	0,70	4,47
6	4,18	2,01	2,08
7	3,69	0,82	4,50
8	3,10	1,31	2,37
9	3,10	0,66	4,70
10	3,90	2,01	1,94

Die Zahlen der beiden Tabellen lassen folgendes erkennen: Die Deeth-Methode gibt sowohl bei frischem als auch bei saurem Rahm deutlich höhere Werte als BDI. Die in den Proben Nr. 5 bis 10 vorhandene Milchsäure wird nach *Deeth* teilweise erfaßt und kommt in den recht hohen Säuregradwerten zum Ausdruck.

Die Proben Nr. 6 und 10 zeigen auch nach BDI stark erhöhte Säuregrade. Diese Proben waren als «Industrierahm» bezeichnet. Es handelt sich um Ueberschußrahm aus zwei verschiedenen milchverarbeitenden Betrieben, der starker mechanischer Belastung ausgesetzt worden war. Beide Methoden zeigen klar die Zunahme der freien Fettsäuren. Die Proben wiesen einen deutlich «ranzigen» Geschmack auf.

Diskussion

Es konnte gezeigt werden, daß die betriebsmäßige Bestimmung des Säuregrades in der Milch und in Milchprodukten heute grundsätzlich und ohne großen Aufwand durchführbar ist. Die beiden Methoden nach *Deeth* und BDI können nach einiger Uebung auch von angelerntem Personal gehandhabt werden. Beide Methoden lassen im Prinzip eine Unterscheidung zwischen beispielsweise «gutem» Rahm und «geschädigtem» Rahm zu.

Es stellt sich jedoch die Frage nach der Erfassungsgrenze der gebildeten freien Fettsäuren, und hierbei darf nicht außer acht gelassen werden, daß der menschliche Geruchs- und Geschmackssinn ganz allgemein sehr viel empfindlicher reagiert als die feinsten chemischen oder physikalischen Methoden.

In unserem Falle ist außerdem noch besonders darauf hinzuweisen, daß bei der organoleptischen Beurteilung eines Milchproduktes die kurzkettigen Fettsäuren mit C-Zahlen von 4—10 die allergrößte Rolle spielen. Gerade diese niederen Fettsäuren werden aber nach *Deeth* nur zum Teil, nach BDI praktisch gar nicht erfaßt. Das zeigt, daß die Bestimmung des Säuregrades nach einfachen Methoden grundsätzlich nur eine rohe Beurteilung des betreffenden Produktes ergeben kann. Eine strenge Korrelation zwischen ranzigem bzw. seifigem Geschmack und Säuregrad besteht nicht, wohl aber sind starke derartige Geschmacksfehler immer mit erhöhtem Säuregrad verbunden.

Für feinere Untersuchungen in diesem Gebiet müßte die qualitative und quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren mit Hilfe der Gaschromatographie vorgenommen werden.

Es ist wesentlich, die Grenzen der einfachen chemischen Methoden zur Säuregradbestimmung zu kennen und nicht Unmögliches zu verlangen. Unter dieser Voraussetzung lassen sich beide Methoden in Betriebs- und Kontrollaboratorien mit Erfolg einsetzen.

Zusammenfassung

Es besteht ein noch zunehmender Bedarf an Analysenmethoden zum Erfassen von mechanisch oder thermisch bedingter Schädigung (Spaltung) des Fettes in Milch, Rahm und

anderen Milchprodukten. Zwei diesem Zweck dienende, in schweizerischen Laboratorien noch wenig angewendete Titrationsmethoden werden verglichen und bezüglich ihrer Aussagekraft in bezug auf die Qualität der untersuchten Proben getestet. Es zeigt sich, daß beide Methoden unter gewissen Voraussetzungen in Betriebs- und Kontrollaboratorien eingesetzt und eine gute Ergänzung der bis jetzt angewendeten Kontrollmethoden abgeben können. Für feinere Qualitätsunterscheidungen sowie für wissenschaftliche Untersuchungen muß besser die aufwendigere Gaschromatographie eingesetzt werden.

Résumé

On a de plus en plus besoin de méthodes d'analyse qui permettent de contrôler les dégradations provoquées par des influences mécaniques ou thermiques sur la matière grasse du lait, de la crème et d'autres produits laitiers. Deux méthodes de titration visant ce but, encore peu appliquées dans les laboratoires suisses, sont comparées et examinées quant à leur valeur d'appréciation de la qualité des échantillons analysés. On constate que, sous certaines conditions, ces deux méthodes peuvent être adoptées par les laboratoires d'entreprises et de contrôle et qu'elles offrent un bon complément aux méthodes de contrôle appliquées jusqu'ici. Pour des différenciations de qualité plus exactes, ainsi que pour des analyses scientifiques, on doit préférer la chromatographie en phase gazeuse, plus précise.

Summary

There is a still growing need for analytical methods for measuring mechanically or thermically damaged fat in milk, cream and other dairy products. Two titration procedures, which are not routinely used in Swiss laboratories, are compared and tested for their suitability in evaluating the quality of the examined samples. Under certain conditions, both methods were found to complement well the existing methods in control and factory laboratories. For more sensitive quality control and for scientific research the more sophisticated gas chromatography is preferred.

Literatur

1. *Töpel, A.:* Chemie und Physik der Milch. VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1976.
2. *Ritter W.* und *Hänni, H.:* Der Nachweis und die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Milchprodukten und Kulturen. Milchwissenschaft **15**, 296—302 (1960).
3. *Halter, N., Puhan, Z.* und *Schmutz M.:* Einfache und rasche Methode zur Erfassung der Fettschädigung in Milch und Rahm. Schweiz. Milchztg. **104**, 245 (1978).
4. Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band, Kapitel Milch, Methode Nr. 13. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale 1969.
5. Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band, Kapitel Rahm, Methode Nr. 9, und Kapitel Butter, Methode Nr. 6. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale 1970 und 1973.
6. FIL-IDF Bulletin, Document 118 (1980).
7. American Standards for the examination of dairy products, 11th ed., p. 322. American Public Health Association Inc., New York, 1960.

8. *Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H.* und *Wood, A. F.:* A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. Australian J. Dairy Technol. **30**, 109—111 (1975).
9. *Driessen, F. M., Jellema, A., van Luin, F. J. P., Stadhouders, J.* and *Wolbers, G. J. M.:* The estimation of the fat rancidity in raw milk. An adaptation of the BDI method suitable for routine assay. Neth. Milk Dairy J. **31**, 40—55 (1977).
10. *Hulstkamp, J.:* Ueber die Bestimmung verschiedener organischer Säuren durch Veresterung an einem Ionenaustauscher. Mitt. **64**, 80—90 (1973).
11. *Hadorn, H.* und *Zürcher, K.:* Universal-Methode zur gaschromatographischen Untersuchung von Speisefetten und Oelen. Deut. Lebensm. Rundschau **66**, 77—87 (1970).

Dr. H. Hänni
M. Rychener
Eidg. Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld-Bern