

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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 59 (1968)

**Heft:** 4

**Artikel:** Gaschromatographische Buttersäure-Bestimmung und Ermittlung des Butterfett-Gehaltes in Lebensmitteln

**Autor:** Hadorn, H. / Zürcher, K.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982174>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 26.12.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Gaschromatographische Buttersäure-Bestimmung und Ermittlung des Butterfett-Gehaltes in Lebensmitteln

H. Hadorn und K. Zürcher

Aus dem Laboratorium des Verbandes Schweiz. Konsumvereine (VSK), Basel

## 1. Problemstellung

Die Buttersäure ist eine für Butterfett charakteristische Fettsäure. Nach Literaturangaben enthält Butterfett 2—5 % Buttersäure, während alle andern für die menschliche Ernährung in Betracht kommenden Fette und Öle frei von Buttersäure sind. Andere niedrige Fettsäuren, wie Capron-, Capryl- und Caprinsäure finden sich außer in Butterfett auch in Kokos- und Palmkernfett. Zur Charakterisierung des Butterfettes und zur quantitativen Bestimmung des Butterfett-Gehaltes in Fettmischungen wurden seit Jahrzehnten Fettkennzahlen benützt, welche auf einer mehr oder weniger quantitativen Erfassung der Buttersäure und anderer niedriger Fettsäuren beruhen. Zu erwähnen sind die Reichert-Meissl-Zahl, die Kirschner-Zahl, die Kupfer-Zahl, die B-Zahl und vor allem die Buttersäure-Zahl. Erst mit Hilfe der Gaschromatographie ist es gelungen, die einzelnen Fettsäuren sauber voneinander zu trennen.

Nach neueren Untersuchungen soll der Buttersäure-Gehalt des Milchfettes ziemlich konstant sein. Er beträgt nach *Metin* (1) im Mittel ca. 3,8 %. (Standardabweichung  $\pm 0,2$ ). Falls dieser Befund bestätigt werden kann, d. h. wenn sich der Buttersäure-Gehalt des Milchfettes innerhalb ziemlich enger Grenzen bewegt, müßte es möglich sein, den Butterfett-Anteil in beliebigen Fettmischungen aus dem gaschromatographisch ermittelten Buttersäure-Gehalt recht genau zu berechnen. Man benötigt lediglich eine einfache und zuverlässige Methode zur genauen quantitativen Bestimmung der Buttersäure. Die übrigen Fettsäuren des Fettgemisches brauchen weder berücksichtigt, noch bestimmt zu werden.

Die meisten in der Literatur beschriebenen gaschromatographischen Verfahren zur Trennung der Fettsäuren beruhen auf einer Trennung der Methylester. Der Buttersäure-Methylester ist in Wasser merklich löslich und besitzt zudem bei Zimmertemperatur einen beträchtlichen Dampfdruck. Dies führt unweigerlich zu Verlusten an Buttersäure-Methylester, wenn das aus dem Fett hergestellte Estergemisch nach den üblichen Methoden aufgearbeitet wird, wobei meistens im Scheidetrichter mit Aether ausgeschüttelt und anschließend das Lösungsmittel abgedampft wird.

*Kaufmann* (2) hat gezeigt, daß sogar bei mehrmaligem Öffnen der Flasche mit dem Estergemisch, wie es bei wiederholten Einspritzungen erforderlich ist, erhebliche Verluste an Buttersäure-Methylester entstehen. Bei Modellversuchen, in welchen Tributyrin umgeestert wurde, betrug nach *Kaufmann* die Ausbeute an Buttersäure-Methylester nur 25—66 % der Theorie. Viel weniger flüchtig als die Methylester sind die freien Fettsäuren. In dieser Arbeit wird über eine einfache

Methode berichtet, nach welcher das Fett zunächst verseift, dann die freien Fettsäuren isoliert und diese gaschromatographisch getrennt werden. Die Methode wird an Modellmischungen überprüft und dann zur Bestimmung des Buttersäure-Gehaltes in Butter herangezogen. An einigen Beispielen wird gezeigt, wie sich die Methode zur Bestimmung des Butterfett-Gehaltes in butterhaltigen Lebensmitteln anwenden läßt.

## 2. Ausarbeitung einer eigenen Methode

In früheren Arbeiten (3, 4) haben wir die Methyl- und Propylester auf einer Polyäthylenglycolsuccinat-Säule getrennt. Zur quantitativen Bestimmung der niederen Fettsäuren, vor allem der Buttersäure, war diese Methode wenig geeignet, weil sich die Ester der Buttersäure zuwenig sauber vom Lösungsmittel abtrennen lassen. Wir haben daher die freien Fettsäuren isoliert und die niederen Fettsäuren gaschromatographisch getrennt.

### a) Verseifung der Fette

Zur Verseifung der Fette benutzten wir zunächst 0,5-n methanolische Kalilauge. Die Buttersäure-Gehalte fielen stets zu niedrig aus, wie die Versuche in Tabelle 1 zeigen. Die Verluste an Buttersäure betragen 20 % des Buttersäure-Gehaltes. Vermutlich bildet sich während der Umesterung etwas Buttersäure-Methylester, der sehr leicht flüchtig ist. Eine ähnliche Beobachtung hat vor Jahren bereits *Großfeld* (5) gemacht, als er Butterfett mit äthanolischer Kalilauge verseifte, um anschließend die Buttersäure-Zahl zu bestimmen. Durch Zusatz von wenig Wasser zur alkoholischen Lauge konnte *Großfeld* die Esterbildung unterdrücken. Äthanolische Kalilauge bewährte sich in unserem Fall zur Verseifung nicht, weil im käuflichen Äthanol meistens Verunreinigungen enthalten sind, die später im

Tabelle 1. Buttersäurebestimmung in Butterfett:  
Einfluß des Verseifungsreagenses

Verseifungs-Reagens	Buttersäure %		Capronsäure %	
0,5-n methanolische KOH	2,94	3,01	2,44	2,33
0,5-n iso-propanolische KOH				
Mittel aus 9 Bestimmungen $\bar{x}$	3,82		2,11	
Standardabweichung s	± 0,06		± 0,03	

Gaschromatogramm störende Peaks verursachen. *Frauendorf* (6) verwendete zum Verseifen 0,5-n propanolische Kalilauge. Wir benutzten iso-propanolische Kalilauge, weil iso-Propanol in besonders reiner Qualität erhältlich ist, und erzielten damit gute Resultate. Um eine Umesterung zu Beginn der Reaktion und Verluste an Buttersäure zu vermeiden, haben wir pro Versuch auf 5 ml 0,5-n Lauge je 0,1 ml Wasser (ca. 2 %) zugesetzt. Auch *Kaiser* (7) schreibt zur Bestimmung der Verseifungszahl 0,5-n iso-propanolische Kalilauge vor und gibt pro Ansatz auf 25 ml Lauge 0,2 ml Wasser (ca. 1 %) zu. Daß die bei der Verseifung mit iso-propanolischer Kalilauge erhaltenen, wesentlich höheren Werte in Tabelle 1 richtig sind, wird später durch Modellversuche mit Tributyrin bewiesen.

#### b) Isolierung der Fettsäuren durch Ausschütteln mit Aether

Vorerst isolierten wir die freien Fettsäuren in ähnlicher Weise wie *Frauendorf* (6) bei seiner Halbmikromethode. Nach dem Verseifen wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und der Alkohol weggekocht, die Seifenlösung hierauf mit Salzsäure angesäuert und die Fettsäuren im Scheidetrichter mit Aether ausgeschüttelt. Diese Methode ist umständlich und nicht ganz quantitativ, weil die Buttersäure sehr gut wasserlöslich ist. Erst nach 5maligem Ausschütteln mit Aether wurde die Buttersäure annähernd quantitativ erhalten.

#### c) Zersetzung der getrockneten Seifen mit Ameisensäure

Wir haben nun in gleicher Weise wie *Frauendorf* bei seiner Mikromethode das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und die Seifen getrocknet. Anschließend wurden die Seifen mit Kaliumbisulfat-Lösung zersetzt und die freien Fettsäuren in Aether oder Pentan aufgenommen. Die Methode befriedigte nicht ganz, weil geringe Mengen saurer anorganischer Salze in Lösung gingen, die sich im Injektor abschieden und zur Verkrackung der organischen Substanz führten. Es besteht die Gefahr, daß die Säule vorzeitig verunreinigt wird. Als ideales Reagens für die Zersetzung der getrockneten Seifen erwies sich Ameisensäure in Aethyläther oder besser in Methylenchlorid. Die Ameisensäure stört bei der Gaschromatographie nicht, sie gibt im Flammenionisations-Detektor kein Signal.

#### d) Einfluß der Kochzeit beim Verseifen

Bei den meisten Versuchen wurde das Fett zur Verseifung während 30 bis 60 Minuten am Rückflußkühler mit 0,5-n iso-propanolischer Kalilauge gekocht. Kurze Zeit nach dem Erwärmen der Fettprobe mit der iso-propanolischen Kalilauge entsteht eine homogene klare Lösung. Um abzuklären, wie lange das Gemisch gekocht werden muß bis das Fett vollständig verseift ist, haben wir die Kochzeit zwischen 5 und 60 Minuten variiert. Jede Probe wurde einzeln aufgearbeitet und das Gemisch der freien Fettsäuren in den Gaschromatographen eingespritzt. Wie aus den Resultaten der Tabelle 2 ersichtlich ist, erhält man bei Butterfett bereits nach 5 Minuten Kochzeit richtige Resultate für Buttersäure und

Tabelle 2. *Einfluß der Kochzeit beim Verseifen*  
 Bedingungen zur gaschromatographischen Trennung siehe Arbeitsvorschrift

Einwaage		Kochzeit Minuten	Buttersäure in %		Capronsäure in %	
Butterfett mg	Valeriansäure (innerer Standard) mg		Integrator- Auswertung $f = 1,097$	Hand- auswertung $t_{dr} \cdot h$ $f = 1,212$	Integrator- Auswertung $f = 0,956$	Hand- auswertung $t_{dr} \cdot h$ $f = 0,864$
167,40	8,40	5	3,87	3,95	2,02	2,08
			3,70	3,77	2,07	2,12
			3,77	3,90	2,05	2,03
			3,83	4,01	2,02	2,05
156,38	5,00	15	3,86	3,74	2,07	2,07
			3,76	3,77	2,10	2,02
			3,89	3,78	2,17	2,08
			3,82	3,72	2,11	2,08
159,79	10,63	30	3,77	3,95	2,07	2,13
			3,87	4,01	2,12	2,17
			3,72	3,96	2,10	2,20
			3,80	3,98	2,16	2,20
			3,86	3,80	2,13	2,23
163,5	7,56	60	3,79	3,79	1,98	2,01
			3,76	3,75	2,05	2,01
			3,71	3,74	1,98	2,03
			3,68	3,65	2,04	2,03

Capronsäure. Reines Butterfett ist nach 5 Minuten vollständig verseift. Bei unbekanntem Fettmischungen empfiehlt sich jedoch eine längere Kochzeit von 15—30 Minuten.

Auf die in der Tabelle 2 angegebenen zwei Auswertungsverfahren und die Bedeutung des inneren Standards wird später eingegangen.

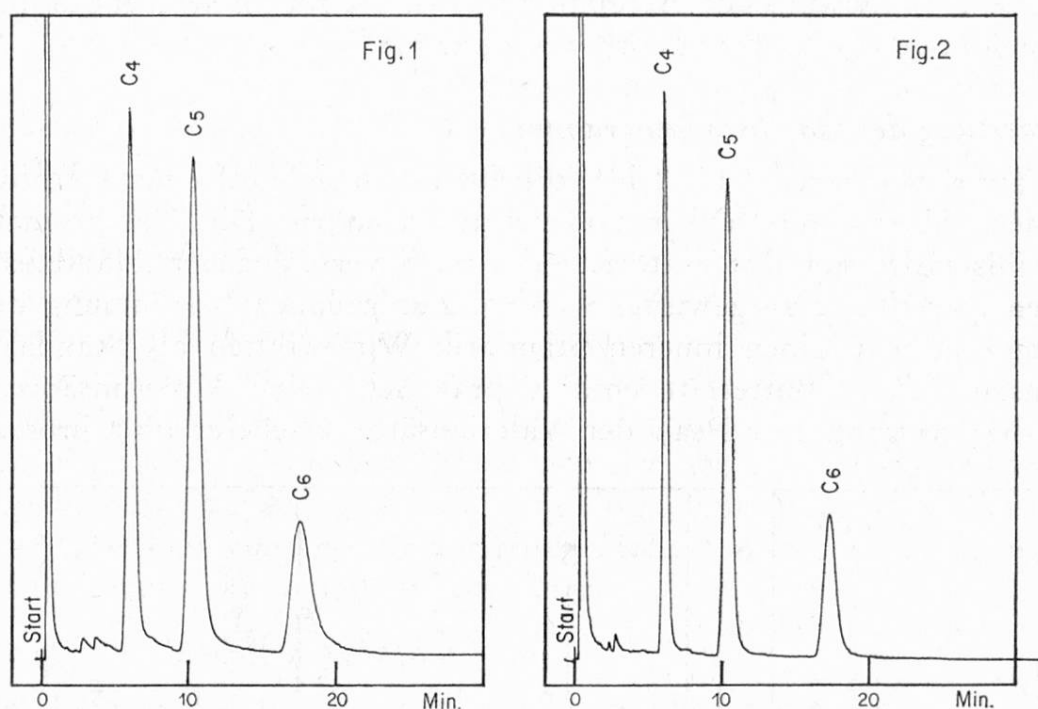
### 3. Ueberprüfung der Methode

Nach zahlreichen Vorversuchen und Modifikationen ergab sich schließlich die am Schluß dieser Arbeit beschriebene Methode. Von dem zu untersuchenden Fett wird eine Probe genau abgewogen und eine bekannte Menge Valeriansäure als innerer Standard dazu gewogen. Das Gemisch wird verseift, das Lösungsmittel

verdampft, anschließend werden die getrockneten Seifen mit Ameisensäure-Methylenchlorid-Lösung zersetzt und die freien Fettsäuren in den Gaschromatographen eingespritzt. Die Methode erwies sich als sehr einfach, rasch und zuverlässig. Die Brauchbarkeit soll durch einige Modellversuche und Zahlen belegt werden.

a) *Bewertung der Trennsäule*

Wir haben für unsere Versuche mit selbst hergestellten 1 m langen Carbowax 20M, TPA-Säulen gearbeitet. (Polyäthylenglycol mittleres Mol. Gew. 20 000 mit Therephthalsäure behandelt.) Als Trägermaterial verwendeten wir für die erste Säule Chromosorb W, säuregewaschen, mit Dimethyldichlorsilan behandelt 100/120 Mesh. Für die zweite Säule benutzten wir Aeropak-30. Dieses Trägermaterial soll für gaschromatographische Trennungen besonders günstig sein, weil es weniger Restabsorption besitzt als Chromosorb W.



**Butterfett:** GC der freien Fettsäuren mit Valeriansäure (C<sub>5</sub>) als innerem Standard; isotherm 120 ° C.

**Figur 1.** 10 % Carbowax 20 M TPA auf Chromosorb W, 100/120 mesh 1 m × 1/8''.

**Figur 2.** 10 % Carbowax 20 M TPA auf Aeropak-30, 100/120 mesh 1 m × 1/8''.

Auf den Chromatogrammen erkennt man sofort, daß auf der Chromosorb-W-Säule (Figur 1) wesentlich breitere Peaks erhalten werden als auf der Säule mit Aeropak 30. (Figur 2). Aus den beiden isothermen Gaschromatogrammen berechneten wir die Trennleistung  $n^1$  nach der Formel

$$n^1 = 5,54 \left( \frac{t_{dr}}{b_{1/2}} \right)^2 \cdot \frac{1}{L}$$

$t_{dr}$  = Gesamtretentionszeit in mm

$b_{1/2}$  = Bandenbreite in halber Höhe in mm

L = Säulenlänge in m

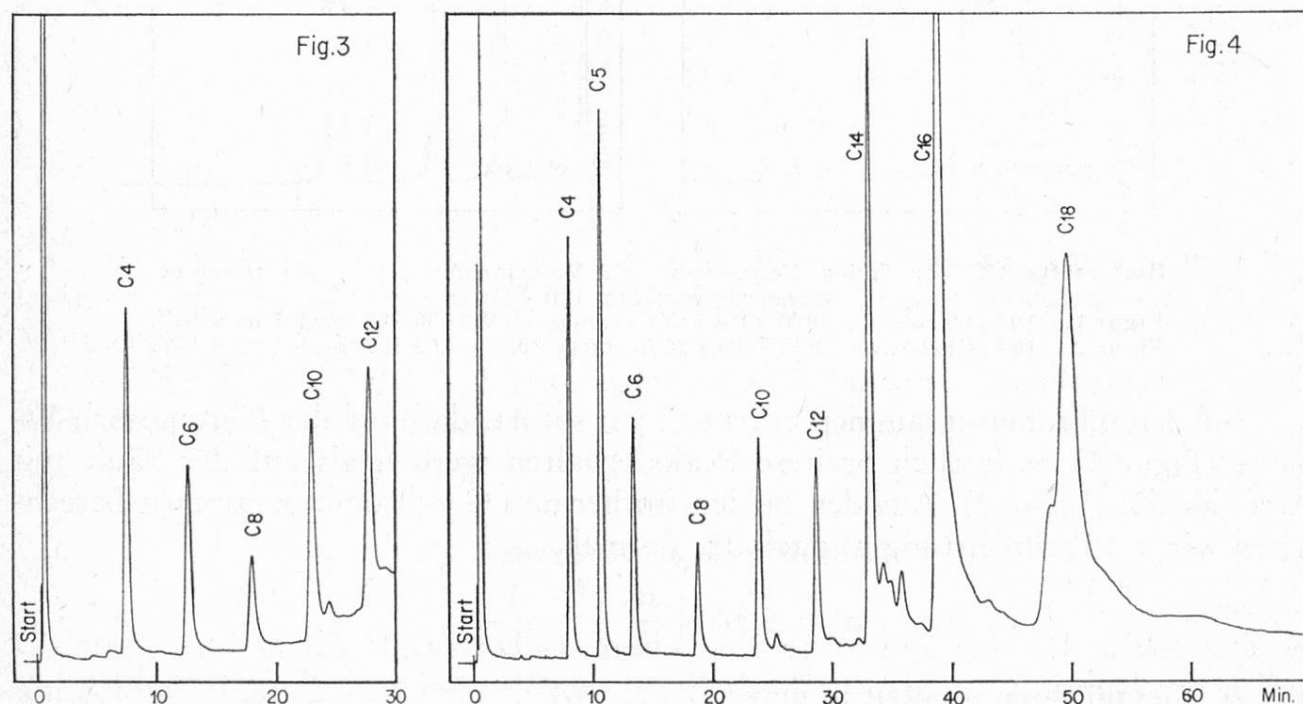
Tabelle 3 Berechnung der Trennleistung der Säulen

Säule	Säure	$b_{1/2}$ mm	$t_{dr}$ mm	$\beta = \frac{t_{dr}}{b_{1/2}}$	Trennleistung $n^1 = 5,54 \cdot \beta^2$
10 % Carbowax 20 M TPA auf Aeropak-30, 100/120 mesh, 1 m x 1/8''	C <sub>4</sub>	1,4	25,7	18,35	1830
	C <sub>5</sub>	2,4	43,8	18,25	1800
	C <sub>6</sub>	3,9	73,0	18,70	1900
10 % Carbowax 20 M TPA auf Chromosorb W a/w DMCS 100/120 mesh, 1 m x 1/8''	C <sub>4</sub>	2,4	25,4	10,58	620
	C <sub>5</sub>	3,7	43,6	11,80	770
	C <sub>6</sub>	6,2	74,0	11,92	770

Für die Peaks von C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> und C<sub>6</sub> erhielten wir die in Tabelle 3 angegebenen Werte. Die Trennleistung der Aeropak-Säule ist als gut bis sehr gut zu bezeichnen, diejenige der Säule mit Chromosorb W ist nur mäßig.

b) Auswertung der Gaschromatogramme

Wie aus den Figuren 1 bis 4 hervorgeht, lassen sich auf einer Carbowax-Säule die niederen Fettsäuren sauber voneinander trennen. Die Gaschromatogramme können mit Hilfe von Integratoren oder nach verschiedenen Handauswertungsverfahren quantitativ ausgewertet werden. Zur genauen Bestimmung der Butter-säure benötigt man einen inneren Standard. Wir wählten als Standardsubstanz Valeriansäure (C<sub>5</sub>). Butterfett enthält praktisch keine Valeriansäure, wie aus Figur 3 hervor geht. Der Peak der Valeriansäure erscheint im Chromatogramm



**Butterfett:** GC der freien Fettsäuren. 10 % Carbowax, 20M TPA auf Aeropak-30, 100/120 mesh 1 m x 1/8''. Temperaturprogrammiert 100 °C + 4 °/min. bis 250 °C. **Figur 3.** Butterfett ohne inneren Standard. **Figur 4.** Butterfett mit Valeriansäure (C<sub>5</sub>) als innerem Standard.

zwischen dem der Buttersäure und dem der Capronsäure. Als Beispiel für die Analyse eines Butterfettes mit Valeriansäure als innerem Standard ist in Figur 4 ein temperaturprogrammiertes Gaschromatogramm wiedergegeben. Auf unserer 1 m Säule lassen sich auf diese Weise die Fettsäuren von C<sub>4</sub> bis C<sub>12</sub> sauber trennen. Bei den höheren Fettsäuren entstehen unsymmetrische Peaks mit Aufsetzern, weil die verschiedenen ungesättigten Fettsäuren nicht scharf von den gesättigten Fettsäuren getrennt werden. Dies ist jedoch in unserem Fall ohne Bedeutung, weil wir nur die niederen Fettsäuren, vor allem die Buttersäure möglichst genau bestimmen wollen.

Die meisten Chromatogramme haben wir mit Hilfe eines elektronischen Integrators ausgewertet. Daneben haben wir auch Handauswertungsverfahren benützt. Das am häufigsten benutzte Handauswertungsverfahren beruht auf der Berechnung der Peakfläche aus dem Produkt Höhe mal Halbwertsbreite ( $h \cdot b_{1/2}$ ). Um die Breite mit genügender Genauigkeit messen zu können, muß ein entsprechend großer Papiervorschub gewählt werden, damit ziemlich breite Peaks aufgezeichnet werden. Diese Methode lieferte in unserem Fall gut reproduzierbare Werte. Einfacher und meistens genauer ist die Handauswertung nach der Methode Höhe mal Retentionszeit ( $h \cdot t_{dr}$ ). Dieses Verfahren ist jedoch nur bei isothermen Gaschromatogrammen anwendbar. Für Routine-Untersuchungen erwies es sich als zweckmäßig, isotherm bei etwas höherer Temperatur (160 ° C) zu arbeiten bis der Capronsäure-Peak auf dem Gaschromatogramm aufgezeichnet ist. Derartige Gaschromatogramme benötigen nur ca. 10 Minuten Zeit und können sowohl mit Integratoren als auch nach dem Handauswertungsverfahren Höhe mal Retentionszeit genau ausgewertet werden. (Siehe Figuren 5 bis 8.) Die höheren Fettsäuren entfernt man anschließend aus der Säule, indem man die Temperatur rasch auf 215 ° C steigert und wartet bis alle Fettsäuren die Säule verlassen haben, was etwa  $\frac{3}{4}$  Stunden beansprucht. Vor dem Einspritzen der nächsten Probe muß gewartet werden, bis die Säule wiederum die konstante Temperatur von 160 ° C angenommen hat, weil das Handauswertungsverfahren Höhe mal Retentionszeit nur unter isothermen Bedingungen genaue Resultate liefert.

### c) Bestimmung der Korrekturfaktoren

Die Peakflächen sind bei den niederen Fettsäuren nicht genau der Stoffmenge proportional. Man muß daher sogenannte Korrekturfaktoren bestimmen, mit welchen man die Peakflächen multipliziert, um die Stoffmenge zu erhalten. Diese Korrekturfaktoren sind von der Bauart des Detektors, den Versuchsbedingungen und vom Auswertungsverfahren abhängig. Sie müssen von Zeit zu Zeit kontrolliert werden. Die Faktoren werden mit Hilfe eines Testgemisches, welches genau bekannte Mengen von Reinsubstanzen enthält, bestimmt. Dieses Testgemisch soll möglichst ähnlich zusammengesetzt sein wie die zu analysierende Probe.

Zur Berechnung der Faktoren gilt folgende allgemeine Formel:

$$F_1 \cdot f_1 : F_2 \cdot f_2 = a_1 : a_2$$

$F_1, F_2$  = Peakfläche von Substanz 1 bzw. Substanz 2

$f_1, f_2$  = Korrekturfaktoren für Substanz 1 bzw. Substanz 2

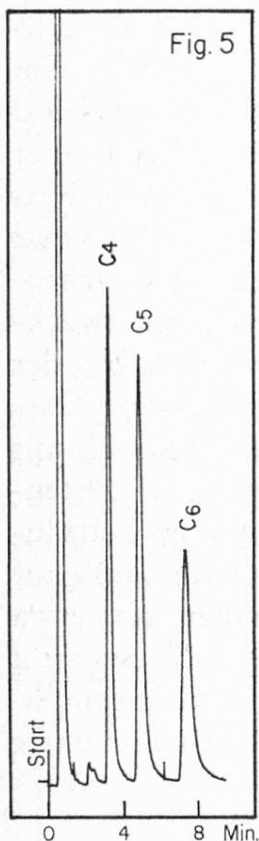
$a_1, a_2$  = Einwaage von Substanz 1 bzw. Substanz 2



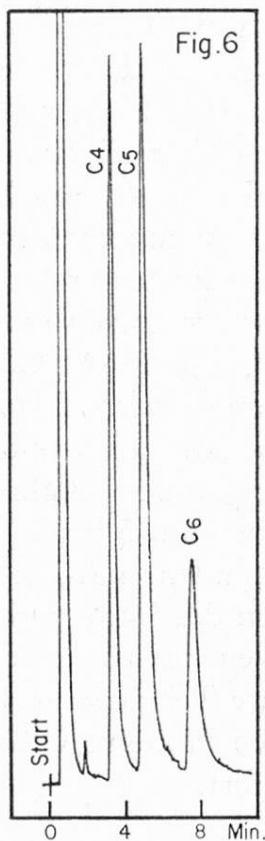
Das von uns benutzte Testgemisch hatte folgende Zusammensetzung:

Buttersäure, C <sub>4</sub>	=	38,73 mg
Valeriansäure, C <sub>5</sub>	=	43,00 mg
Capronsäure, C <sub>6</sub>	=	32,74 mg
Methylenchlorid	=	12 ml
Ameisensäure 100 %	=	0,6 ml

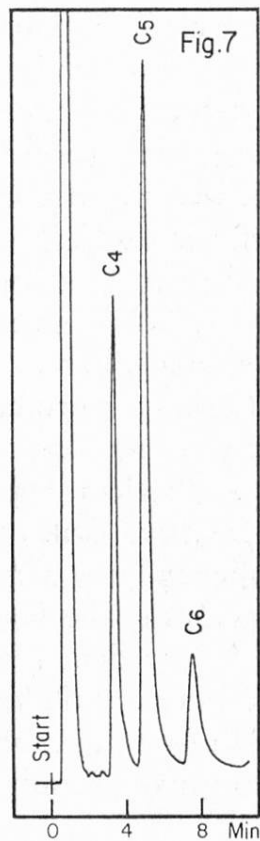
Die Ameisensäure wurde zugesetzt, weil in der Analysenlösung, wie sie nach dem Zersetzen der getrockneten Kaliseifen anfällt, ebenfalls etwas überschüssige Ameisensäure enthalten ist.



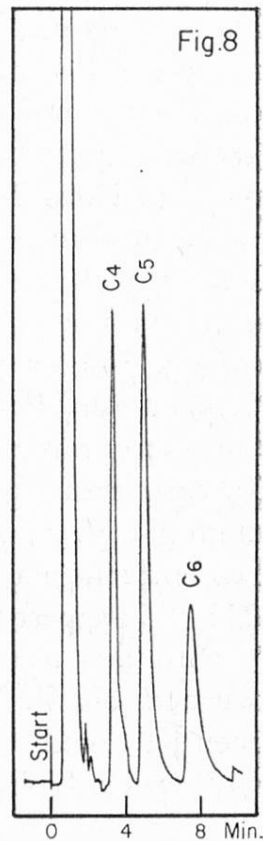
**Figur 5**  
Testgemisch zur Bestimmung der Faktoren.



**Figur 6**  
Butterfett, ausgeschmolzen.



**Figur 7**  
Milchschokolade, Gesamtfett.



**Figur 8**  
Margarine mit 10 % Butter. (Fett ausgeschmolzen.)

**Bedingungen.** Säule: 10 % Carbowax, 20M TPA auf Aeropak-30, 100/120 mesh. 0,25  $\mu$ l eingespitzt. 160 ° C isotherm.

**Figur 5.** Empfindlichkeit =  $256 \cdot 10^{-11}$  Amp.

**Figur 6.** Empfindlichkeit =  $128 \cdot 10^{-11}$  Amp.

**Figuren 7 und 8.** Empfindlichkeit =  $32 \cdot 10^{-11}$  Amp.

Mit diesem Testgemisch wurden eine Anzahl von Gaschromatogrammen aufgenommen. Ein solches GC ist in Figur 5 wiedergegeben; es ist recht ähnlich dem GC einer Butterprobe, das unter gleichen Bedingungen aufgenommen wurde (Figur 6) und den Chromatogrammen der Fette aus butterhaltigen Lebensmitteln. (Figuren 7 und 8.) Aus vier hintereinander aufgenommenen Chromatogrammen ergaben sich für das Handauswertungsverfahren Höhe mal Retentionszeit folgende Faktoren: (Valeriansäure = Standardsubstanz mit Faktor 1,000).

Buttersäure, C <sub>4</sub>	f = 1,150 ± 0,009
Valeriansäure, C <sub>5</sub>	f = 1,000
Capronsäure, C <sub>6</sub>	f = 0,918 ± 0,02

Für die anderen Auswertungsverfahren ergaben sich etwas abweichende Faktoren.

#### d) Modellversuche mit Tributyrin

Die bisherigen Versuche haben gezeigt, daß unsere Methode reproduzierbare Resultate liefert. Unsere Werte für den Buttersäure-Gehalt der Butter sind wesentlich höher als die meisten von anderen Autoren gefundenen Resultate. Es muß nun noch geprüft werden, ob unsere Methode auch absolut richtige Resultate liefert, oder ob sie mit einem systematischen Fehler behaftet ist. Zu diesem Zweck stellten wir uns eine Modellmischung her, bestehend aus Olivenöl, reinem Tributyrin und Valeriansäure als innerem Standard. Dieses Gemisch entspricht einem Fett mit ca. 4 % Buttersäure, es enthält somit eine ähnliche Menge Buttersäure, die mit Glycerin verestert ist, wie Butterfett. Das Tributyrin-Präparat haben wir vorher auf seine Reinheit geprüft. Es wurde verseift, die freien Fettsäuren isoliert und diese in den Gaschromatographen eingespritzt. Auf dem Gaschromatogramm erschien nur der Buttersäure-Peak. Andere Fettsäuren fehlten, das Präparat war somit rein. Um das Tributyrin genauer abmessen und wägen zu können, stellten wir uns zunächst eine Mischung her, die auf einen Teil Tributyrin, 4 Teile iso-Propanol enthielt. Davon wurde eine entsprechende Menge ins Verseifungskölbchen genau abgewogen.

Das Testgemisch hatte folgende Zusammensetzung:

Olivenöl	= 156,01 mg	
Tributyrin	= 7,452 mg	entspricht 6,52 mg Buttersäure
Valeriansäure (innerer Standard)	= 6,35 mg	

Die Einwaage an Olivenöl und Tributyrin betrug 163,462 mg. Da 100 Teile Tributyrin 87,4 Teilen Buttersäure entsprechen, enthält das Testgemisch 3,99 % Buttersäure, was ungefähr dem Buttersäuregehalt von Butterfett entspricht.

Dieses Testgemisch wurde genau nach unserer Vorschrift verseift, die freien Fettsäuren wurden isoliert und je 0,25 µl in den Gaschromatographen eingespritzt. Wie aus den Resultaten der Tabelle 4 hervorgeht, wurde die als Tributyrin eingewogene Buttersäure quantitativ wiedergefunden. Damit dürfte bewiesen sein, daß auch bei der Verseifung der Fettprobe und bei der Isolierung der freien Fettsäuren keine systematischen Fehler gemacht werden.

Bei Fettmischungen mit niedrigerem Buttersäure-Gehalt ist die Einwaage an innerem Standard dem jeweiligen Buttersäure-Gehalt anzupassen. Im Gaschromatogramm sollen der Buttersäure- und der Valeriansäure-Peak etwa von gleicher Größenordnung sein. Nur auf diese Weise ist eine zuverlässige quantitative Auswertung möglich. Bei reinem Butterfett soll der innere Standard zwischen 3 und

Tabelle 4. Modellversuche mit Tributyrin-Olivenöl-Gemisch

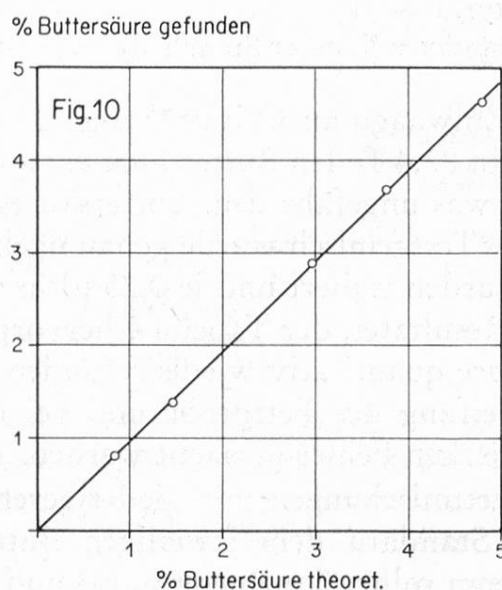
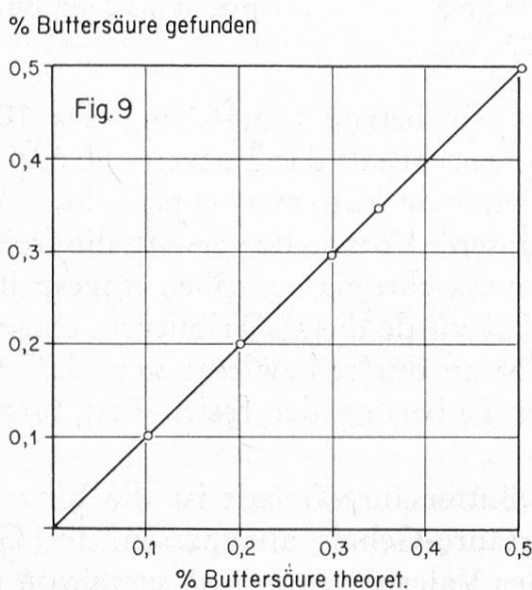
Korrekturfaktor für Buttersäure  $f = 1,077$   
 innerer Standard Valeriansäure  $f = 1,000$   
 (Integrator-Auswertung)

	C <sub>4</sub> Peakfläche (Impulse)	C <sub>5</sub> Peakfläche (Impulse)	C <sub>4</sub> gefunden mg	C <sub>4</sub> in % der Theorie
1. Spritzung	25 518	26 895	6,52	100,0
2. Spritzung	28 337	30 365	6,41	98,6
3. Spritzung	28 615	30 293	6,50	99,8
4. Spritzung	26 328	27 231	6,56	100,8
Mittel	—	—	6,50	99,8
Theoretischer Wert	—	—	6,52	100,0

5 % der Einwaage liegen. Bei butterhaltigen Fettmischungen mit ca. 5—30 % Butterfett wägt man entsprechend weniger Valeriansäure ein. (Siehe Arbeitsvorschrift). In den Figuren 9 und 10 sind weitere Analysen von Modellmischungen, bestehend aus Olivenöl und Tributyrin wiedergegeben. Die Kurven verlaufen im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 5 % Buttersäure linear. Die Methode ist also über einen recht großen Bereich zuverlässig. Höhere Buttersäure-Gehalte (über 5 %) kommen in natürlichem Butterfett nicht vor, die Methode wurde in diesem Bereich nicht überprüft.

e) Reproduzierbarkeit

Um zu untersuchen, wie gut die Resultate reproduzierbar sind, wurden vom gleichen Butterfett an verschiedenen Tagen Proben eingewogen, mit innerem Standard versetzt, dann verseift und die freien Fettsäuren isoliert. Von jeder der



Modellversuche mit Mischungen von Tributyrin und Olivenöl für die Konzentrationsbereiche 0,1 bis 0,5 % und 0,9 bis 5 % Buttersäure.

Tabelle 5. Reproduzierbarkeit der Resultate am gleichen Butterfett

Einwaage		N	Buttersäure in %		Capronsäure in %	
Butterfett mg	Vale- rian- säure mg		Integrator- Auswertung f = 1,097 $\bar{x} \pm s$	Hand- auswertung f = 1,212 $\bar{x} \pm s$	Integrator- Auswertung f = 0,956 $\bar{x} \pm s$	Hand- auswertung f = 0,864 $\bar{x} \pm s$
161,07	6,48	4	3,65 ± 0,04	3,71 ± 0,09	2,02 ± 0,04	1,97 ± 0,01
161,19	5,52	4	3,71 ± 0,11	3,74 ± 0,07	2,03 ± 0,08	2,01 ± 0,05
163,53	7,56	4	3,73 ± 0,05	3,73 ± 0,07	2,01 ± 0,03	2,02 ± 0,01
156,38	5,00	4	3,83 ± 0,06	3,75 ± 0,03	2,11 ± 0,05	2,06 ± 0,03
159,79	10,63	5	3,80 ± 0,06	3,94 ± 0,09	2,11 ± 0,04	2,18 ± 0,04
146,25	5,19	4	3,69 ± 0,03	—	2,12 ± 0,09	—

erhaltenen Lösungen wurden 4 bis 6 Chromatogramme aufgenommen und ausgewertet. In der Tabelle 5 sind die Resultate zusammengestellt. Bei jeder Serie (aus der gleichen Lösung) haben wir für die Integratorauswertung und die Handauswertung ( $h \cdot t_{dr}$ ) jeweils die Mittelwerte und die dazugehörige Standardabweichung berechnet.

Die Resultate sind auch an verschiedenen Tagen gut reproduzierbar. Die relative Standardabweichung bei mehreren Einspritzungen der gleichen Lösung variiert zwischen 0,8 und 3 %. Das Handauswertungsverfahren liefert in unserem Beispiel ebenso genaue Resultate wie der elektronische Integrator. Die Versuchsstreuung ist für beide Auswertungsverfahren ungefähr gleich groß.

#### 4. Buttersäure-Bestimmung in butterhaltigen Lebensmitteln

Wir haben die Methode ausgearbeitet, um in Lebensmitteln, wie Milkschokoladen oder Buttergebäck den Milchfett-Gehalt zu ermitteln. Eine einigermaßen zuverlässige Berechnung des Milchfett- oder Butterfett-Gehaltes aus dem gaschromatographisch ermittelten Wert für die Buttersäure ist nur dann möglich, wenn im Milchfett der Anteil an Buttersäure nicht allzu stark schwankt. Bei Lebensmitteln mit unbekannter Zusammensetzung ist man darauf angewiesen, einen Mittelwert in die Formel einzusetzen. Nach *Metin* (1) schwankt der Buttersäure-Gehalt der Butter innerhalb ziemlich enger Grenzen.

Wir haben eine Anzahl Butterproben, die aus verschiedenen Landesgegenden der Schweiz stammten und nahezu über ein Jahr verteilt waren, analysiert (8). Als Mittelwert aus 39 Butterproben ergab sich 3,73 % Buttersäure. Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich ist, stimmen unsere Werte sehr gut mit den Ergebnissen von *Metin* überein. Die natürlichen Schwankungen des Buttersäure-Gehaltes in verschiedenartigsten Butterproben sind gering. (Relative Standardabweichung ± 2,5

Tabelle 6. Buttersäure-Gehalte von Butterfett

Herkunft der Butter	Autor	Anzahl N	Buttersäure in % Mittelwert und Standardabweichungen $\bar{x} \pm s$	Capronsäure in % Mittelwert und Standardabweichungen $\bar{x} \pm s$
Deutschland	Metin (1)	20	3,76 $\pm$ 0,10	2,05 $\pm$ 0,098
Türkei	Metin (1)	20	3,81 $\pm$ 0,22	2,25 $\pm$ 0,17
Schweiz	eigene Werte	39	3,73 $\pm$ 0,10	1,95 $\pm$ 0,2

bis 5,8 %). Die natürlichen Schwankungen für die Halbmikro-Buttersäurezahl scheinen wesentlich größer zu sein. Nach Literaturangaben beträgt die Schwankungsbreite für die Buttersäurezahl 17—23. Als Mittelwert wird 20 angenommen. Da wir in der Literatur keine Angaben über die Standardabweichung der Buttersäurezahl der vielen untersuchten Butterproben fanden, ist ein statistischer Vergleich der Streuungen nicht möglich. Es scheint aber, daß sich aus dem Buttersäure-Gehalt die zuverlässigeren Werte für den Milchfett-Gehalt berechnen lassen als aus der Buttersäurezahl.

a) Versuche an einer Mischung von Butterfett und Kakaofett

Bei der Analyse von Milkschokolade besteht das isolierte Gesamtfett aus einer Mischung von Kakaobutter, Milchfett und evtl. anderen Fetten oder Oelen, wie Kokosfett, Haselnuß- oder Mandelöl.

Wir haben einen Modellversuch mit einer Mischung von Kakaofett und Butterfett durchgeführt, deren Zusammensetzung bekannt war und ungefähr einem aus Milkschokolade isolierten Gesamtfett entsprach. In das Verseifungskölbchen wurden eingewogen:

Butterfett (mit 3,75 % Buttersäure-Gehalt)	=	23,86 mg
Kakaopreßbutter	=	116,76 mg
Einwaage total		140,62 mg
Buttersäure-Gehalt theoretisch	=	0,636 %
Buttersäure-Gehalt gefunden 1. Bestg.	=	0,646 %
Buttersäure-Gehalt gefunden 2. Bestg.	=	0,640 %
Mittelwert	=	0,643 %
Abweichung vom theoretischen Wert	= +	0,007 %

Das Resultat stimmt sehr gut mit dem theoretischen Wert überein. Der relative Fehler beträgt + 1,1 %.

Berechnet man nach der im Abschnitt «Methodik» angegebenen Formel den Butterfett-Gehalt der Mischung, so findet man:

$$\text{Butterfett im Gesamtfett} = \frac{100 \cdot 0,643}{3,73} = 17,2 \%$$

Der wahre Butterfett-Gehalt der Mischung betrug 17,0 %.

b) *Analyse von Lebensmitteln*

Die Methode wurde nun an einigen butterhaltigen Lebensmitteln ausprobiert. Aus Milkschokoladen, aus Buttergebäck und Omelettenmischungen wurde zunächst das Gesamtfett nach der Aufschluß-Methode mit 4-n-Salzsäure isoliert (9). Das Fett aus Margarine wurde lediglich ausgeschmolzen und filtriert. In den erhaltenen Fetten bestimmten wir nach der im Abschnitt «Methodik» beschriebenen Vorschrift den Buttersäure-Gehalt gaschromatographisch und berechneten den Butterfett-Gehalt. In allen Chromatogrammen waren die Peaks der Buttersäure, der Valeriansäure (Standard) und der Capronsäure sauber getrennt, die Chromatogramme unterschieden sich kaum von denjenigen der Testmischung zur Bestimmung der Faktoren (Figur 5). Störende Verunreinigungen waren nicht vorhanden. (Siehe Figur 7 mit dem Chromatogramm des Fettes aus Milkschokolade). Im ausgeschmolzenen Fett der Margarine (Figur 8) beobachtete man unmittelbar nach dem Lösungsmittel-Peak einige kleine Peaks, die von Verunreinigungen, möglicherweise von Aromastoffen herrühren. Diese Peaks stören jedoch die Buttersäure-Bestimmung nicht.

Tabelle 7. *Analysen von butterhaltigen Lebensmitteln*

Lebensmittel	Gesamtfett %	Buttersäure-Gehalt gaschromatographisch %	Halbmikro- Buttersäurezahl HBsZ	Gesamtzahl HGZ	Butterfett im Gesamtfett	
					berechnet aus Buttersäure %	berechnet aus HBsZ %
Margarine mit 10 % Butter	84,2	0,365	1,86	9,5	9,8	9,3
		0,361	1,90	9,8	9,7	9,5
Butterli (Butterbiscuits)	22,0	3,34	18,3	—	89,5	91,5
	22,16	3,36	18,6	—	90,1	93,0
Milkschokolade	30,2	0,695	3,82	7,7	18,6	19,1
		0,655	3,84	7,6	17,6	19,2
Omeletten- Mischung (H)	8,50	1,235	7,50	—	33,1	37,5
		1,212	7,68	—	32,5	38,4
Omeletten- Mischung (A)	5,75	0,865	5,75	—	23,2	28,7
		0,876			23,5	

Zur Kontrolle unserer gaschromatographisch ermittelten Resultate wurden im Gesamtfett auch die Halbmikro-Buttersäurezahl und die Halbmikro-Gesamtzahl bestimmt und aus diesen konventionellen Kennzahlen der Butterfett-Gehalt berechnet. Die Resultate sind in der Tabelle 7 zusammengestellt. Die Uebereinstimmung ist bei der Margarine, der Milkschokolade und beim Buttergebäck sehr gut. Bei den Omelettenmischungen, die zur Hauptsache aus Mehl, Milchpulver und Volleipulver bestanden, ergaben sich etwas größere Abweichungen. Bei Fetten, die nicht mehr ganz frisch sind und zur Verderbnis neigen, liefert die Halbmikro-Buttersäurezahl erfahrungsgemäß zu hohe Resultate.

### **Arbeitsvorschrift**

#### *Prinzip*

Ca. 150 mg des zu prüfenden Fettes und eine je nach zu erwartendem Buttersäure-Gehalt wechselnde Menge Valeriansäure als innerer Standard werden genau eingewogen und mit isopropanolischer KOH am Rückflußkühler verseift. Anschließend wird das Lösungsmittel abdestilliert und die getrocknete Seife mit einer Mischung, bestehend aus Methylenchlorid und Ameisensäure, zersetzt. Die klare Lösung der freien Fettsäuren, gelöst in Methylenchlorid wird in den Gaschromatographen eingespritzt.

Aus den Peakflächen von C<sub>4</sub>, (C<sub>5</sub> als innerem Standard) und C<sub>6</sub> lassen sich die Buttersäure- und Capronsäure-Gehalte genau berechnen.

#### *Reagenzien*

##### *Isopropanolische Kalilauge ca. 0,5-n*

5,6 g reinstes Kaliumhydroxid werden mit 200 ml iso-Propanol übergossen und in einem verschlossenen Gefäß auf einem Magnetrührwerk gerührt bis alles Kaliumhydroxid gelöst ist.

##### *Valeriansäure puriss. als innerer Standard*

##### *Valeriansäure Verdünnung 1 : 20*

1,000 g Valeriansäure und

19,000 g Isopropanol werden auf der Analysenwaage in eine Flasche genau abgewogen und gut gemischt. 100 mg dieser Lösung enthalten 5,00 mg Valeriansäure. Falls die Substanzen nicht in runden Gewichten abgewogen werden, berechnet man die Menge Valeriansäure, die in 100 mg Mischung enthalten ist.

##### *Zersetzungsreagens*

100 ml Methylenchlorid (Dichlormethan puriss.) und  
10 ml Ameisensäure reinst 100 % werden gemischt.

##### *Eichgemisch zur Bestimmung der Korrekturfaktoren*

Von reinsten Substanzen werden nachstehende Mengen gemischt, wobei die Fettsäuren auf einer Analysenwaage genau abzuwägen sind. Methylenchlorid und Ameisensäure werden mittels Pipetten abgemessen.

Buttersäure	38—42 mg
Valeriansäure	40—45 mg
Capronsäure	30—34 mg
Methylenchlorid	12 ml
Ameisensäure	0,6 ml

Die Mischung wird in einer braunen Flasche gut verschlossen aufbewahrt.

### Ausführung der Bestimmung

#### a) Verseifung des Fettes und Isolieren der Fettsäuren

In ein 20-ml Spitzkölbchen mit Schliff wird je nach zu erwartendem Buttersäure-Gehalt die in der Tabelle 8 angegebene Menge reine Valeriansäure oder Valeriansäure-Verdünnung 1 : 20 eingewogen. Bei reinem Butterfett wägt man 6—8 mg reine Valeriansäure auf 0,01 mg genau ab. Bei Fetten, die nur 10—50 % Butterfett enthalten, wägt man Valeriansäure-Verdünnung ein. Anschließend wägt man 140—160 mg der zu untersuchenden Fettprobe (auf 0,1 mg genau) ins gleiche Kölbchen.

Tabelle 8

Für je 140—160 mg Fett sind nachstehende Mengen von innerem Standard (Valeriansäure) abzuwägen:

Fettart oder aus Lebensmittel isoliertes Gesamtfett	Voraussichtlicher Butterfett-Gehalt %	Einwaage an Valeriansäure-Verdünnung 1 : 20 mg	Einwaage an Valeriansäure 100%ig mg
Butterfett (wasserfrei)	100	—	6—8
Gesamtfett aus:			
Buttergebäck	80—90	—	6—8
Rahmcaramels, Rahmschokolade	40—50	60—80	(3—4)
Caramels, Kochfette mit 20 % Butter	20—30	35—45	—
Margarine, Kochfette mit 10 % Butter	10	14—18	—

Die eingewogene und mit innerem Standard versetzte Probe im Spitzkölbchen wird mit 5 ml 0,5-n-iso-propanolischer Kalilauge und 0,1 ml Wasser versetzt und anschließend am Rückflußkühler während ca. 30 Minuten gekocht. Der Zusatz von Wasser ist nach *Großfeld* (6) und nach *Kaiser* (7), erforderlich, um eine quantitative Verseifung zu erzielen und Umesterung zu vermeiden. Nach beendeter Ver-



seifung wird das Lösungsmittel am Mikrorotationsverdampfer auf dem siedenden Wasserbad und unter leichtem Durchleiten von Luft entfernt. Die letzten Reste von Lösungsmittel werden aus der trocken erscheinenden Seife durch Evakuieren unter gleichzeitigem Erwärmen im Wasserbad ausgetrieben. Nach dem Erkalten gibt man 2 ml Zersetzungsreagens (Dichlormethan-Ameisensäure) ins Kölbchen, verschließt mit Schliffstopfen, den man mit einer Klammer sichert und schüttelt das Kölbchen unter vorsichtigem leichtem Erwärmen in einem Wasserbad von ca. 40 ° C. Nach dem Abkühlen werden von der klaren überstehenden Lösung 0,25 µl in den Gaschromatographen eingespritzt.

### b) Apparative Bedingungen

Gaschromatograph:	Modell 1520 der Fa. Varian Aerograph
Schreiber:	Varian Aerograph Modell 20; Papiervorschub 20 inch/h
Trennsäule:	1 m lang 3,2 mm Durchmesser aus rostfreiem Stahl
Säulenfüllung	10 % Carbowax 20M TPA (Polyäthylenglycol mittleres Mol.-Gewicht 20 000 und Terephthalsäure. Max. Temperatur 250 ° C, Fa. Aerograph AG., Basel) auf Aeropak-30, 100/120 mesh.
Detektor:	Wasserstoff-Flammenionisationsdetektor
Gasströmungen:	Trägergas, N <sub>2</sub> am Säulenausgang gemessen = 25 ml/min. Wasserstoff für Detektor = 30 ml/min. Luft für Detektor = 430 ml/min.
Temperaturen:	Injektor mit Glaseinsatz 260 ° C Detektorofen 260 ° C Säulenofen 160 ° C isotherm. Nach dem Eluieren von C <sub>6</sub> wird der Säulenofen auf 215 ° C aufgeheizt und so die Säule ausgeheizt. Nach <sup>3</sup> / <sub>4</sub> —1 Stunde sind alle Fettsäuren eluiert.
Einspritzmenge:	0,25 µl
Empfindlichkeit:	256 · 10 <sup>-11</sup> Amp.
Auswertung der GC:	Integrator- oder Handauswertung

### c) Bestimmung der Korrekturfaktoren

Zur Bestimmung der Korrekturfaktoren spritzt man 0,25 µl des Eichgemisches ein und nimmt das GC unter genau gleichen Versuchs-Bedingungen auf wie die Analysen. Die Auswertung der Gaschromatogramme erfolgt ebenfalls nach demselben Auswertungsverfahren. In unserem Beispiel Höhe mal Retentionszeit (h · t<sub>dr</sub>). Die Faktoren berechnet man nach folgender Proportion:

$$F \cdot f : F_s \cdot 1.00 = a : a_s$$

$F$  = Peakfläche bzw. Rechteck ( $h \cdot t_{dr}$ ) der zu bestimmenden Substanz (Buttersäure)

$F_s$  = Peakfläche bzw. Rechteck des inneren Standards

$f$  = Korrekturfaktor

$a$  = Einwaage an Buttersäure in mg

$a_s$  = Einwaage an innerem Standard in mg.

In unserem Fall wurde Valeriansäure als innerer Standard benutzt. Ihr Faktor wird willkürlich 1,000 gesetzt.

#### d) Berechnung des Buttersäure-Gehaltes

Das erste Chromatogramm einer Serie soll in der Regel nicht quantitativ ausgewertet werden, da es meistens verfälschte Werte liefert. Erst nachdem die Säule einmal mit dem Substanzgemisch ins Gleichgewicht gekommen ist, ergeben sich zuverlässige Werte.

#### Zahlenbeispiel für Butterfett

siehe Chromatogramm Figur 6

Die Einwaagen betragen: 157,26 mg Butterfett  
7,66 mg Valeriansäure (innerer Standard)

Korrekturfaktor für Buttersäure  $f = 1,153$

Aus dem Gaschromatogramm in Figur 6 ergaben sich folgende Werte für die Auswertungsmethode Höhe mal Retentionszeit:

Peak	Retentionszeit $t_{dr}$ in mm	Peakhöhe $h$ in mm	Fläche $h \cdot t_{dr}$ in mm <sup>2</sup>
Buttersäure $C_4$	14,1	164,4	2318,0
Valeriansäure $C_5$	21,2	166,9	3538,3
Capronsäure $C_6$	32,4	49,6	1607,0

Zur Berechnung der Buttersäure in mg in der Fett-Einwaage dient folgende Proportion:

$$\begin{array}{lclclcl} \text{Fläche } C_4 \cdot f & : & \text{Fläche } C_5 & = & \text{mg } C_4 & : & \text{mg } C_5 \\ 2318 \cdot 1,153 & : & 3538,3 & = & x & : & 7,66 \end{array}$$

$x = \text{mg Buttersäure in der eingewogenen Menge Fett}$

$$x = \frac{2318 \cdot 1,153 \cdot 7,66}{3538,3}$$

$$= 5,80 \text{ mg}$$

In der Einwaage von 157,26 mg Butterfett findet man 5,80 mg Buttersäure, oder umgerechnet

$$\frac{5,80 \cdot 100}{157,26} = 3,68 \%$$

### *Zusammenfassung*

1. Es wird eine gaschromatographische Methode zur Buttersäure-Bestimmung in Butterfett und butterhaltigen Fettmischungen beschrieben. Um Verluste infolge von Verdunstung zu vermeiden, wird anstatt mit den leicht flüchtigen Methylestern mit den freien Fettsäuren gearbeitet, die nach einer einfachen Methode quantitativ aus dem Fett isoliert werden.
2. Auf Carbowax-Säulen lassen sich die niederen Fettsäuren sauber voneinander trennen. Zur genauen Berechnung des Fettsäure-Gehaltes wird zur Fetteinwaage eine genau bekannte Menge Valeriansäure als innerer Standard eingewogen.
3. Die von uns ausgearbeitete Methode zur quantitativen Isolierung der freien Fettsäuren und zur Bestimmung der Buttersäure wurde an Modellversuchen überprüft und auf einige butterhaltige Lebensmittel angewendet.
4. Die Berechnung des Butterfett-Gehaltes in butterhaltigen Lebensmitteln aus dem gaschromatographisch ermittelten Buttersäure-Gehalt liefert ebenso zuverlässige Werte wie die Berechnung aus der Halbmikro-Buttersäurezahl.

### *Résumé*

1. On décrit une méthode de dosage, par chromatographie en phase gazeuse, de l'acide butyrique dans le beurre et les mélanges de matières grasses contenant du beurre. Pour éviter les pertes, causées par l'évaporation des esters méthyliques volatils, on travaille avec les acides gras libres. Ces derniers sont isolés quantitativement de la matière grasse par une méthode simple.
2. Les acides gras de faibles poids moléculaire se laissent bien séparer les uns des autres sur des colonnes de Carbowax. Pour le calcul exact de la teneur en acide butyrique on ajoute à la quantité de matière grasse pesée une quantité connue d'acide valérianique, qui joue le rôle d'étalon interne.
3. Cette méthode a été essayée sur des échantillons-modèles et sur quelques denrées alimentaires contenant du beurre. Les résultats obtenus sont aussi bons que ceux donnés par la détermination semi-micro de l'indice d'acide butyrique.

### *Summary*

1. A gas chromatographic method for the determination of butyric acid in butter fat and butter-containing fat mixtures is described. To avoid losses of volatile methyl esters, the free fatty acids are used (they can be easily and quantitatively isolated from the fat).
2. Carbowax columns will neatly separate the lower fatty acids. A known quantity of valeric acid is weighed in the sample, serving as internal standard in calculating the exact content of butyric acid.
3. The method has been tested on model samples and applied to some foods containing butter.
4. The contents of butter fat, calculated from butyric acid by gas chromatography, are as reliable as those, obtained from the semi-micro butyric acid number.

## Literatur

1. *Metin M.*: Milchwissenschaft **23**, 276 (1968).
2. *Kaufmann H. P.*: Forschungsberichte des Landes Nordrhein-Westfalen Nr. 1568. Die Anwendung der Gas-Chromatographie auf dem Fettgebiet mit besonderer Berücksichtigung der pharmazeutischen Analyse. S. 53. Köln-Opladen, Westdeutscher Verlag (1965).
3. *Hadorn H.* und *Zürcher K.*: Beitrag zur gaschromatographischen Untersuchung von Fetten und Oelen. 1. Mitteilung Apparatives und quantitative Auswertung der Gaschromatogramme. Diese Mitt. **58**, 209 (1967).
4. *Hadorn H.* und *Zürcher K.*: 2. Mitteilung Methoden zur Herstellung der Fettsäureester. Diese Mitt. **58**, 236 (1967).
5. *Großfeld J.*: ZUL. **64**, 433 (1932).
6. *Frauendorf H.*: Z. analyt. Chem. **221**, 305 (1966).
7. *Kaiser R.*: Quantitative Bestimmung organischer funktioneller Gruppen, Akadem. Verlagsgesellschaft Frankfurt a. M. S. 368 (1966).
8. *Hadorn H.* und *Zürcher K.*: Diese Mitt. (im Druck).
9. Untersuchungsmethoden des OICC, Blatt 8a—D, Glättli, Zürich (1952). Schweiz. Lebensmittelbuch, 1. Band, 5. Aufl., S. 534, Bern. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale (1964).

## Ueber die Bildung von schwefliger Säure und Schwefelwasserstoff während der Weingärung

Von *K. Mayer* und *G. Pause*

Eidg. Forschungsanstalt Wädenswil

In einer Anzahl während der letzten Jahre erschienenen Arbeiten wird darauf hingewiesen, daß im Verlauf der Weingärung eine eigentliche Bildung von schwefliger Säure erfolgen kann. So berichtete beispielsweise *Zang* 1963 über das Auftreten von schwefliger Säure in nichtgeschwefelten Traubenmosten und Jungweinen. *Würdig* und *Schlotter* (2) stellten anhand verschiedener 1964 und 1965 durchgeführter Versuchsreihen fest, daß während der Gärung bis zu 129 mg SO<sub>2</sub>/l entstanden. Die Fähigkeit zur Bildung von schwefliger Säure war dabei Heferasen-abhängig: verschiedene Organismen, insbesondere Kulturweihen, zeigten praktisch keine, einzelne andere Hefen dagegen extrem starke SO<sub>2</sub>-Bildung (3). Ferner erschien der Hefe-verursachte SO<sub>2</sub>-Anfall durch die Art der Vorklärung beeinflußt zu werden: *Zang* und *Franzen* (1967) erhielten erhöhte SO<sub>2</sub>-Werte in entschleimten und filtrierten Mosten, ein Befund, der durch *Würdig* und *Schlotter* (3) bestätigt wurde. Bei Versuchen von *Rankine* (5) ergaben sich deutliche pH-Abhängigkeiten; bei pH 3,6 traten höhere SO<sub>2</sub>-Gehalte auf als bei pH 3,0. *Dittrich* und *Staudenmayer* fanden bei der Prüfung einer größeren An-