

Mai 1978/75

Herausgegeben von der
Eidgenössischen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld
Direktor: Prof. Dr. B. Blanc

Einfache und rasche Methode zur Erfassung der Fettschädigung in Milch und Rahm

N. Halter, Z. Puhan und M. Schmutz
Laboratorium für Milchwissenschaft
Institut für Lebensmittelwissenschaft Eidg. Technische Hochschule Zürich

Die mechanische Belastung von Milch und Rahm ist von technologischer Bedeutung und sollte deshalb vor der Verarbeitung des Rohstoffes erfasst werden. Nach den bisherigen Erkenntnissen (3) kann die mechanische Schädigung der Fettkügelchen negative Auswirkungen auf die Qualität einer Reihe von Milchprodukten haben.

Die hier vorgeschlagene Methode zur Erfassung der Fettschädigung basiert auf der Kombination von 3 Methoden:

- Gesamtfettgehalt
- Freies Fett (als primäre Folge der mechanischen Belastung)
- Freie Fettsäuren (als Folge der lipolytischen Spaltung, vor allem des freien Fettes)

Die Summe der in freies Fett umgerechneten Fettsäuren und des direkt gemessenen freien Fettes ergibt die Gesamtmenge an freiem Fett in der Probe und wird als **% freies Fett** vom Gesamtfett ausgedrückt.

Die vorgeschlagene Methode kann mit einfachen Mitteln und geringen zusätzlichen Investitionen in jedem Milchkontroll- und Milchuntersuchungslaboratorium durchgeführt werden.

1. Bestimmung des Gesamt-Fettgehaltes:

Acidobutyrometrisch nach Dr. Gerber

2. Bestimmung des freien Fettes

2.1 Definition des freien Fettes

Als freies Fett wird der Anteil von Glyceriden (vorwiegend Tri-) ange-

sehen, welcher als Folge der mechanischen Schädigung der Membran aus den Kügelchen austritt.

2.2 Anwendungsbereich Für Milch und Rahm

2.3 Prinzip

Zwischen dem freien Fett und den Fettkügelchen besteht ein kleiner Dichteunterschied. Dieser kann zur Trennung der beiden Fettphasen durch Zentrifugalkraft ausgenützt werden. Durch Zugabe von Sudan-III wird das freie Fett rot gefärbt.

Eine bekannte Menge von Milch oder Rahm wird mit Sudan-III versetzt und in einem speziellen Zentrifugier-Gefäss bei 65 °C zentrifugiert. Als leichteste Phase erscheint im Skalenteil zuoberst das rotgefärbte freie Fett, das direkt abgelesen wird.

Die Idee für diese Zentrifugier-Methode stammt von JENKINS und MACK (4) und wurde von SCHULZ und Mit. (6) durch Zugabe von Sudan-III weiterentwickelt. DILLIER-ZULAUF und WIRASEKARA (2) schlugen sodann vor, für die Zentrifugaltrennung Milchbutyrometer zu verwenden.

Unsere Untersuchungen ergaben, dass sich das herkömmliche Milchbutyrometer zur Bestimmung des freien Fettes nicht eignet, da die Empfindlichkeit nicht ausreicht und die Trennung sehr oft unbefriedigend ausfällt. Deshalb wurde ein Spezialbutyrometer, das Frei-Fett-Butyrometer, entwickelt, mit welchem bereits 0,002 g freies Fett erfasst werden kann (Hersteller: K. Schneider & Co. AG, vorm. J. E. Gerber & Co., Zürich).

2.4 Apparate und Hilfsmittel

- Laborwaage, Genauigkeit 0,01 g
- Wasserbad, 65 °C
- Zentrifuge, freischwingend mit Warmluft beheizbar auf 65 ± 1 °C, mit einer g-Zahl im Skalenteil des Frei-Fett-Butyrometers von 140—150 (gut eignet sich z. B. eine beheizbare GERBER P 63/66 Zentrifuge)
- Frei-Fett-Butyrometer (FF-Butyrometer) mit geeichtem Skalenteil
- Pipette, 50 ml
- Tropfpipette
- Injektionsspritze mit langer Nadel

2.5 Reagenzien

- Sudan-III-Lösung, 0,015% in Diäthyläther, chem. rein
- Destilliertes Wasser

2.6 Arbeitsvorschrift

2.6.1 Vorbereitung der Probe

Die Milch- oder Rahmprobe im Wasserbad (30—40 °C) auf 20 °C aufwärmen und gut durchmischen, wobei darauf zu achten ist, dass es dadurch zu keiner weiteren mechanischen Schädigung der Probe kommt.

2.6.2 Bestimmung

Skalenteil des FF-Butyrometers mit feuchtem Gummistopfen verschliessen und mit dem Stopfen nach unten in ein Gestell stellen.

50 ml Probe einbringen und auf 10 mg genau wägen.

Den FF-Butyrometer offen mit dem Skalenteil nach unten in das Wasserbad von 65 °C stellen.

Nach etwa 3—5 Minuten 1 Tropfen Sudan-III-Lösung zugeben und 2 Minuten warten bis der Aether verdampft ist.

FF-Butyrometer mit dem Drehverschluss verschliessen und den Inhalt durch 5-maliges Kippen gut durchmischen. Kein Schütteln!

FF-Butyrometer mit dem Skalenteil nach oben schräg halten, Gummistopfen leicht abheben und warten,

bis sich der Inhalt aus dem Skalenteil entleert hat. Läuft dieser nicht von selbst ab, so kann die Skala durch Entfernen und Wiederaufsetzen des Stopfens entleert werden.

FF-Butyrometer mit dem Skalenteil nach oben für 10 Minuten ins Wasserbad stellen. Mit der Spritze die Skala mit 65 °C warmem dest. Wasser bis zum Skalenbeginn auffüllen. Falls über dem Flüssigkeitsspiegel vor dem Auffüllen mit Wasser eine Schaumschicht liegt, soll das Wasser tropfenweise zugegeben werden, bis die Trennschicht Schaum/Flüssigkeit am unteren Ende der Skala erscheint.

Nochmals für 2—3 Minuten ins Wasserbad stellen und anschliessend während 10 Minuten zentrifugieren. Achtung, die Temperatur des Wasserbades und der Zentrifuge müssen übereinstimmen!

Sofort ablesen. Geschieht dies nicht, so muss der FF-Butyrometer wieder in das Wasserbad gestellt werden.

2.6.3 Auswertung der Bestimmung

1 Teilstrich entspricht 0,00226 ml x 0,885 g/ml (Dichte von Milchfett bei 65 °C) (5) = **0,002 g Fett**. Das freie Fett wird in % des Gesamt-Fettes angegeben.

% freies Fett =

$$\frac{\text{Anzahl Teilstriche} \times 0,002 \times 100}{\text{Einwaage} \times \% \text{ Fett}} \times 100$$

$$= \frac{\text{Anzahl Teilstriche} \times 20}{\text{Einwaage} \times \% \text{ Fett}}$$

3. Bestimmung der freien Fettsäuren

Nach Deeth, H. C. et al (1)

3.1 Definition der freien Fettsäuren

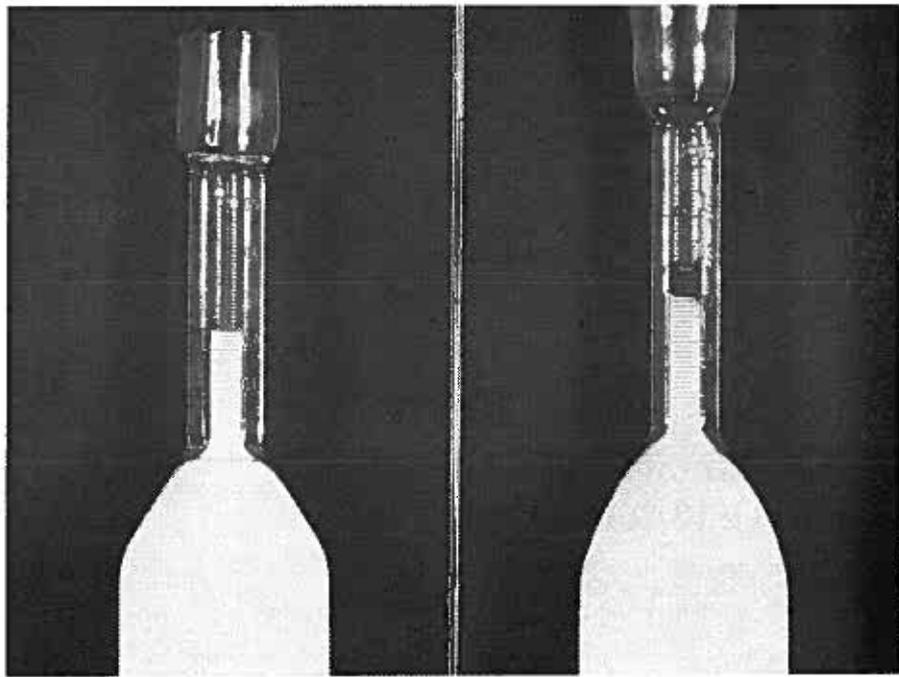
Der überwiegende Teil der freien Fettsäuren in Milch und Rahm ist das Produkt der lipolytischen Spaltung von Mono-, Di- und Tri-Glyceriden.

3.2 Anwendungsbereich

Für Milch und Rahm

3.3 Prinzip

Die in der Probe enthaltenen freien Fettsäuren werden im Lösungsmittel gelöst und nach Zugabe von Phenolphthalein mit 0,01 N KOH, gelöst in Methanol, bis zum Rosa-Umschlagspunkt titriert.



Frei-Fett-Butyrometer zur Bestimmung der mechanischen Schädigung des Milchfettes, minimale Nachweismenge 0,002 g freies Fett.

Links:

Rohmilch nach dem Melken, nur mit Spuren von freiem Fett

Rechts:

Pasteurisierter Schlagrahm, 35% Fett, mit 0,066% freiem Fett (Gesamtfett = 100)

3.4 Apparate und Hilfsmittel

- Laborwaage, Genauigkeit 0,01 g
- Reagensglas, Inhalt min. 30 ml
- Erlenmeyerkolben, 50 ml
- Bürette, Einteilung 0,01 ml
- Pipette, 5 ml
- Magnetprüfer

3.5 Reagenzien

- Lösungsmittel A: Isopropanol, p. a., Petroläther, Sdp. 40—60 °C und 4 N H₂SO₄ werden im Verhältnis von 40 : 10 : 1 gemischt
- Petroläther, Sdp. 40—60 °C
- KOH, 0,01 N, gelöst in Methanol p. a.
- Phenolphthalein, 1% in 96% Aethanol
- Destilliertes Wasser

3.6 Arbeitsvorschrift

3.6.1 Vorbereitung der Probe

Falls die Probe infolge Aufrahmung nicht mehr homogen ist, sollte sie vor der Analyse rasch auf 20 °C aufgewärmt und durchmischt werden, hierauf sofort ansetzen. Verweilzeiten bei über 10 °C sind wegen der Lipolyse zu vermeiden.

3.6.2 Bestimmung

5 ml Probe auf 0,01 g genau in ein Reagensglas einwiegen. 10 ml Lösung A zugeben. Nicht schütteln!

Anschliessend 6 ml Petroläther und 4 ml dest. Wasser zugeben. Während 15 Sekunden schütteln und dann ruhen lassen, bis sich der Inhalt in eine klare und eine milchig trübe Phase getrennt hat.

Vom klaren Ueberstand 5 ml in den Erlenmeyerkolben pipettieren, 5 Tropfen Phenolphthalein zugeben und mit KOH titrieren.

Um die Reagenzien zu überprüfen, wird ein Blindversuch entsprechend der Arbeitsvorschrift, jedoch unter Verwendung von 5 ml Wasser anstelle der Probe, durchgeführt. Dieser Wert ist vom Titrationswert der jeweiligen Probe abzuziehen.

3.6.3 Auswertung der Bestimmung

1 ml 0,01 N KOH entspricht 0,0000033 M freiem Fett (über Fettsäuren).

Mittleres Mol. Gew. von Milchfett = 728 (5)

Dichte des Milchfettes bei 20 °C = 0,915 g/ml (5)

Der Titrationswert wird (nach Abzug des Blindwertes) in freies Fett umgerechnet und als % freies Fett im Gesamtfett angegeben.

$$\% \text{ freies Fett} = \frac{\text{ml } 0,01 \text{ N KOH} \times 0,0000033 \times 728 \times 0,915 \times \left(10 + \frac{E \times \% \text{ Fett}}{91,5} \right)}{5} \times \frac{100}{\frac{E \times \% \text{ Fett}}{91,5}}$$

$$= \frac{\text{ml } 0,01 \text{ N KOH} \times 0,0525 \times (10 + A)}{A}$$

E = Einwaage in g

$$A = \frac{E \times \% \text{ Fett}}{91,5}$$

4. Berechnung des gesamten freien Fettes

Total freies Fett = direkt bestimmtes freies Fett + freies Fett als Fettsäuren

LITERATUR

1. DEETH, H. C., FITZ-GERALD, C. H. and WOOD, A. F.: A convenient method for determining the extent of

lipolyses in milk. *Austr. J. Dairy Techn.*, **30**, 109—111 (1975)

2. DILLIER-ZULAUF, A. und WIRASEKARA, P. E.: Zur butyrometrischen Bestimmung des «freien» Fettes in Milch und Rahm. *Dtsch. Molk. Ztg.*, **92** (46), 1943—1944 (1971)
3. HALTER, N.: Unveröffentlichte Diplomarbeit, ETH Zürich, 1977
4. JENKINS, H. and MACK, M. J.: A study of oiling off of cream in coffee. *J. Dairy Sci.*, **20**, 723—735 (1937)
5. MULDER, H. and WALSTRA, G. P.: «The milk fat globule». Centre for Agricultural Publ. and Doc., The Netherlands, 1974
6. SCHULZ, M. E., BEYERLEIN, U., THIELE, D. und SELL, H.: Rahm-Zentrifugat-Färbemethode zur Bestimmung des freien Fettes und des Aufrahmungsvermögens von Rahm. *Milchwissenschaft*, **23** (8), 473—476 (1968)

