Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. Teil V, Chemische und thermische Stabilisierung der Proben = The determination of free fatty acids in milk and cream. Part V, Chemical and thermal stabilisation of the samples

Autor(en): **Imhof, Miroslava / Bosset, Jacques Olivier**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **86 (1995)**

Heft 2

PDF erstellt am: **27.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-983631

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. **86,** 169–181 (1995)
Eingegangen 14. Februar 1995. Angenommen 16. Februar 1995

Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm

V. Chemische und thermische Stabilisierung der Proben

The Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cream

V. Chemical and Thermal Stabilisation of the Samples

Key words: Free fatty acids, Titration, Sample stability, Heat treatment, Milk, Cream

Miroslava Imhof und *Jacques Olivier Bosset*
Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft,
Liebefeld-Bern

Einleitung

Die vorausgegangene Arbeit (siehe Teil IV.) (1) hat anhand von Modellversuchen eindeutig gezeigt, dass die ausgeprägte Zunahme des Gehaltes an freien Fettsäuren (FFA) den mechanisch-thermisch geschädigten Milch- und Rahmproben zuzuschreiben ist. Die in der Praxis unvermeidbare Zeitspanne zwischen Probenahme und FFA-Extraktion im Laboratorium ist bei geschädigten Rohmilch- und Rohrahmproben verantwortlich für oft unbefriedigende oder nicht interpretierbare Resultate der FFA-Bestimmungen. Der Gehalt an FFA in Milch- und Rahmproben, welche im Laboratorium extrahiert werden, zeigt ausschliesslich den Zustand des Lipolysegrads zum Zeitpunkt der Extraktion. Dazu müssen die Proben noch vor bakteriellem Verderben geschützt werden. Die gebildete Milchsäure würde sonst mittitriert. Folglich müssen die Proben für die Bestimmung der FFA/sofort einer der drei folgenden Behandlungen unterworfen werden:

a) Extraktion der FFA an Ort und Stelle unmittelbar nach der Probenahme (2–4);
b) Zugabe eines Konservierungsmittels (2, 4–6);
c) Thermische Inaktivierung (2–4, 7–12).

Ziel dieser Arbeit ist, die Möglichkeiten und Grenzen sowie die Vor- und Nachteile dieser Behandlungen zu beschreiben, d. h.:

– die Auswirkung einiger chemischer Konservierungsmittel zu prüfen;

- die Auswirkung einer thermischen Behandlung (Bakterien- und Lipaseninaktivierung) zu prüfen sowie
- die Milchsäurebildung während der 24- bzw. 48stündigen Inkubation bei 37 °C zu unterdrücken, ohne die Lipasenaktivität zu hemmen.

Experimenteller Teil

Probenwahl

- Rohmilch (max. 45 g Fett/kg), Magermilch (5 g Fett/kg), Rohrahm (max. 445 g Fett/kg) aus eigener Versuchskäserei, teilweise mechanisch, thermisch und/oder bakteriell geschädigt (siehe Probenbehandlung);
- UHT-Milch, homogenisiert, aus dem Handel (36 g Fett/kg);
- Gemisch von UHT-Milch + Rohmilch (100 : 2 = Vol : Vol) (14);
- Gemisch von UHT-Milch + Magermilch (100 : 1 und 100 : 2 = Vol : Vol) (14).

Probenbehandlung (kontrollierte Schädigung)

Die Fettschädigung wurde mechanisch mit einem Homogenisator, thermisch mit Temperaturänderungen und mikrobiell mit psychrotrophen Bakterien (Impfung mit *Pseudomonas fluorescens*) in folgenden Modellversuchen untersucht:

- *Mechanische Schädigung:*

  die Rohmilchproben während 30 s bei 20 000 UpM mit einem Homogenisator behandeln (13).

- *Thermische Schädigung:*

  die Rohmilchproben zweimal nacheinander im Wasserbad auf 30 °C aufwärmen und dann im Eiswasserbad auf 10 °C kühlen (13).

- *Mikrobielle Schädigung:*

  die Rohmilch- und Rohrahmproben mit *Pseudomonas fluorescens* FAM-Stamm Nr. 1795 (Endkonzentration: 10^6 Keime/ml) impfen und 2 Stunden bei 20 °C inkubieren (14, 15).

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Schädigungsgrade simuliert:
- eine «leichte» Schädigung nur mit thermischer Einwirkung auf die Proben;
- eine «starke» Schädigung mit thermischer und mechanischer Einwirkung auf die Proben.

Analysenmethode

Die Analysenmethode wurde im Teil IV (16) ausführlich beschrieben.

Chemikalien

Verwendete Konservierungsmittel

– Perhydrol	300 g/kg, p.A., Merck 7210
– Bronopol (2-Bromo-2-Nitro-1,3-Propandiol)	> 990 g/kg, Boots Company PLC
– PSL-Microtabs (Bronopol)	Boots Company PLC
– Kathon DP (enthält 10 g/kg Isothiazolon)	Christ AG 77537
– Natriumazid	reinst, Merck 6688
– Chloramphenicol	purum, Fluka 23275
– Hyamin 1622: Quaternäre Ammoniumverbindung	Fluka 53752

Endkonzentration der wässerigen Lösungen der getesteten Konservierungsmittel

– Perhydrol	1,2 und 5 g/kg
– Bronopol	1,7 und 3,3 g/kg
– PSL-Microtabs (Bronopol)	0,2 und 0,3 g/kg
– Isothiazolon (aktiver Stoff von Kathon DP)	0,17 und 0,20 g/kg
– Natriumazid	1 g/kg
– Chloramphenicol	0,025 g/kg
– Hyamin 1622	0,025 g/kg

Geräte und Zubehör

– Polytron Homogenisator, PT 3000, Kinematika AG	20 000 UpM
– Zentrifuge für Fettbestimmung, Original Gerber	1 000 UpM
– Rotationsmischer, FAM-Entwicklung (1)	30 UpM
– Titrationsausrüstung, Metrohm AG (1)	
– CelsiStrip Art.-Nr. CS 088/110, Firma E. Spirig, CH-8640 Rapperswil (als dokumentierter Nachweis der Probenerhitzung)	

Resultate und Diskussion

Extraktion unmittelbar nach der Probenahme

Eine erste Möglichkeit, um gleichzeitig die Lipaseaktivität und die Milchsäurebildung bei der FFA/Sofortbestimmung zu hemmen, besteht darin, die freien

Fettsäuren an Ort und Stelle der Probenahme zu extrahieren. So werden sämtliche Schwankungs-, Lagerdauer- und Lagertemperatureffekte während des Transportes ausgeschlossen, was eine wichtige Voraussetzung für die Richtigkeit der Resultate ist.

Für die extern ausgeführte Extraktion sollen die bereits mit Extraktionsgemisch, Petrolether und Wasser gefüllten Reagenzgläser sowie eine Präzisionskolbenpipette an den Ort der Probenahme gesandt werden. Nach der Probenahme sollen die Reagenzgläser mindestens 1 min von Hand (mit wiederholten Umkippbewegungen) oder sogar mit Hilfe eines zur Verfügung stehenden Rotationsmischers (1) gut vermischt werden. Durch die Einwirkung der vorhandenen organischen Lösungsmittel werden die lipolytische sowie die mikrobielle Aktivität unterdrückt (siehe Teil IV.) (1).

Als Nachteile sind zu nennen:

- Dichtigkeitsprobleme und Bruchgefahr von gefüllten Reagenzgläsern beim Versand;
- Aufbewahrung der Extrakte bei ca. 6 °C bis zur Phasentrennung;
- eine unsachgemässe Behandlung der Kolbenpipette führt leicht zu grossen Pipettierfehlern;
- Verwechslungen der vorbereiteten Reagenzgläser (1 ml Probe + 4 ml Wasser für Rahm statt 5 ml Probe für Milch) sind nicht ausgeschlossen.

Die Erfahrung hat gezeigt, dass diese Behandlung nicht praxistauglich ist.

Zugabe eines Konservierungsmittels bei der Probenahme

Die wichtigsten Kriterien (Tabelle 1) zur Wahl eines geeigneten Konservierungsmittels sind:

- eine bakterizide oder mindestens bakteriostatische Wirkung;
- eine hemmende Wirkung auf Lipase;
- keine Beeinträchtigung der Resultate (keine Interferenz bei der Titration);
- eine einfache und sichere Anwendung (geringe Toxizität des Konservierungsmittels).

Experimentell wurden die möglichen Interferenzen der in Tabelle 1 angegebenen Konservierungsmittel wie folgt überprüft: jedes Konservierungsmittel wurde einer ungeschädigten Milchprobe zugemischt, extrahiert und titriert. Die FFA/Sofortwerte wurden dann mit Kontrollproben (ohne Konservierungsmittel) verglichen.

Natriumazid und Hyamin (QAV) wurden mittitriert, d.h. sind unbrauchbar. Bronopol- PSL-Microtabs wurden auch teilweise mittitriert (Farbindikator). Auch infolge ihrer langsamen Auflösung (ohne Schütteln) in den Milchproben kommen sie nicht in Frage. Das Antibiotikum Chloramphenicol wurde nicht mittitriert, ist gegen Pseudomonas wirksam, hemmt die Lipase, ist aber für den täglichen Gebrauch ungeeignet, da es sehr giftig ist (Giftklasse 2). Perhydrol wurde nicht mittitriert, hemmt bei hohen Konzentrationen die Lipasen, ist aber katalasepositiv (17), d.h. z. B. gegen Pseudomonas nur bei hohen Konzentrationen wirksam. Nur Bronopol und Kathon DP erfüllen sämtliche gestellten Anforderungen.

Tabelle 1. Wahlkriterien einiger Konservierungsmittel für die FFA/Sofortbestimmung

Konservierungsmittel	Endkonz. (g/kg)	Titrierbarkeit (mmol/kg Fett)	bakterien-hemmend	lipase-hemmend	Giftklasse
ohne (Kontrolle Nr. 1)	–	26	---	---	---
Perhydrol	1,2 – 5	26	+/–	+	3
Bronopol	1,7 – 3,3	27	+	+	3
Kathon DP	17 – 20	27	+	+	5
Natriumazid	1	40	+	–	2
Chloramphenicol	0,025	25	+	+	2
Hyamin	0,025	89	+	–	2
ohne (Kontrolle Nr. 2)	–	15	---	---	---
Bronopol	0,2	15	+	+	3
PSL-Microtabs*	0,2	17**	+	+	unbekannt
	0,3	19**	+	+	unbekannt

* Wirkstoff: Bronopol; Endkonzentration: 0,2 g/kg = 2 Stück/100 ml; 0,3 g/kg = 3 Stück/100 ml.
** Die «Mikrotabs» enthalten ein Farbindikator.

Nach *Ardö* (18) zeigt Bronopol gute Konservierungseigenschaften und hemmt die Lipolyse in den Milchproben bei einer Endkonzentration von 0,2 g/kg. Bei der vorliegenden Untersuchung wurde es im Überschuss bis zu einer Konzentration von 3,3 g/kg Probe verwendet.

Kathon DP enthält 10 g Aktivstoff «Isothiazolon» pro Liter. Die empfohlene Konzentration, damit die Milchprodukte konserviert und die Lipasen gehemmt werden, liegt bei 1–2 g Kathon DP/kg Probe, was 10–20 mg Isothiazolon/kg Probe entspricht. Um einen Überschuss zu gewährleisten, wurde die Kathon-DP-Konzentration auf 17–20 g/kg Probe erhöht, was 170–200 mg Isothiazolon/kg Probe entspricht.

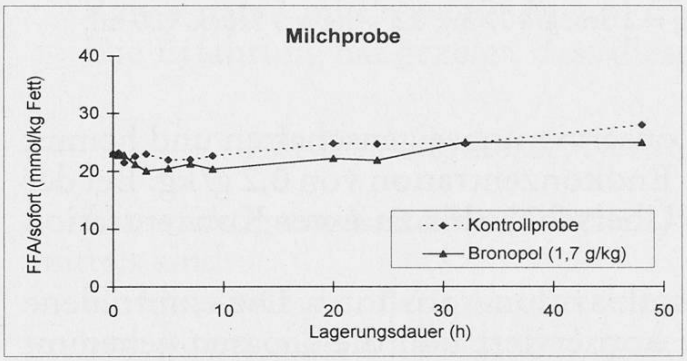
Um den Wirkungsgrad dieser beiden Konservierungsmittel zu prüfen, wurden Rohmilch- und Rohrahmproben leicht geschädigt. Die Wirkung der beiden Konservierungsmittel ist vergleichbar (Tabelle 2). Diese Konservierungsmittel hemmen die Lipaseaktivität während einiger Stunden bei den leicht geschädigten Rohmilch- bzw. bei Rohrahmproben (ungeschützte Probe galt als Kontrollprobe, thermisch behandelte Probe galt als Referenzprobe: siehe auch § *thermische Behandlung).*

Die nächsten Versuche wurden ausschliesslich mit Bronopol ausgeführt. Aus Abbildung 1 ist eine signifikante, jedoch ungenügende Hemmung der Lipaseaktivität bei der Lagerung leicht beschädigter Milch- und Rahmproben bei 6 °C erkennbar. Mit stärker beschädigten Milchproben bestätigt die Abbildung 2 diese Aussage bei den verschiedenen getesteten Lagerungsbedingungen und Bronopolkonzentrationen. Zur Überprüfung, ob dieses Konservierungsmittel auch noch

Tabelle 2. FFA/Sofortgehalt (mmol/kg Fett) leicht geschädigter Milch- und Rahmproben nach chemischer (Konservierungsmittel) und thermischer Behandlung

Probe	Lagerung (h)	Kontrollprobe	mit Bronopol[1]	mit Kathon DP[2]	therm. behandelt[3]
Milch	0	24	25	24	23
	4	24	24	24	23
	20	25	24	26	22
	26	27	27	25	23
Rahm	0	12	12	13	12
	4	15	13	15	12
	20	18	13	15	11
	26	17	12	15	11

[1] Endkonzentration: 3,3 g Bronopol/kg Probe
[2] Endkonzentration: 20 g Kathon DP/kg Probe
[3] 2 min in kochendem Wasserbad



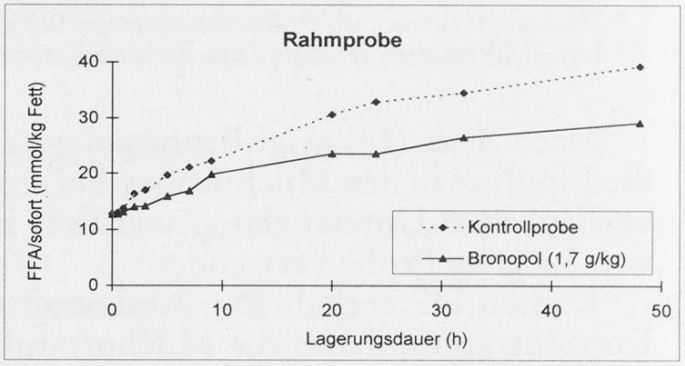


Abb. 1. FFA/Sofortgehalt leicht geschädigter Milch- und Rahmproben in Funktion der Lagerungszeit bei 6 °C

eine erhöhte Lipaseaktivität hemmt, wurden noch Mischungen von UHT-Milch mit Magermilch und von UHT-Milch mit Rohmilch als Substrat (13) getestet (Abb. 3). Zusammenfassend zeigen alle diese Abbildungen eine deutliche, jedoch für die Praxis ungenügende Wirkung von Bronopol als Konservierungsmittel bei mittel bis stark geschädigten Proben.

Der Hauptvorteil der Probenbehandlung mit Konservierungsmitteln ist die Einfachheit der Ausführung am Ort der Probenahme. Die ganze Arbeit, wie z. B. die Vorbereitung der Flaschen mit dem Konservierungsmittel für die Probenahme, die Pipettierung und die FFA-Extraktion, wird im Laboratorium stattfinden.

Als Nachteile sind zu nennen:

- die nötige Konzentration der Bronopol-Stammlösung (200 g/l; Zugabe: 2 ml) liegt knapp an der oberen Grenze der Löslichkeit, d.h. das Produkt kristallisiert bei tieferen Temperaturen aus;

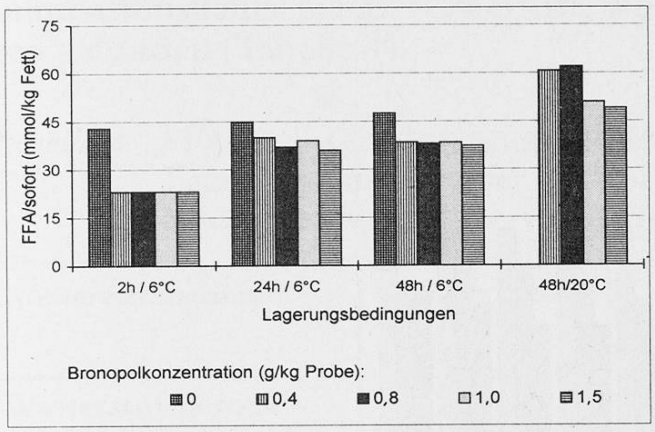


Abb. 2. FFA/Sofortgehalt stark geschädigter Milchproben in Funktionder Lagerungsbedingungen bei verschiedenen Bronopolkonzentrationen

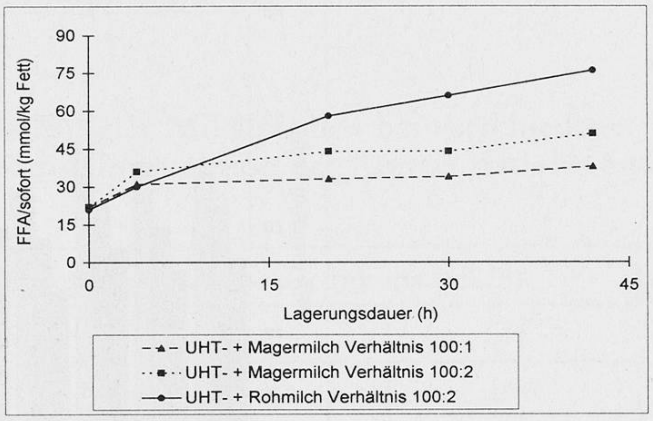


Abb. 3. FFA/Sofortgehalt extrem geschädigter Milchproben konserviert mit Bronopol (3,3 g/kg) in Funktion der Lagerung bei 6 °C

- die 100-ml-Flaschen für die Probenahme müssen immer senkrecht transportiert und aufbewahrt werden, damit die kleine Menge des Konservierungsmittels am Flaschenboden bleibt;
- bei Rahm muss der Fettgehalt für die FFA/Sofortbestimmung mit einem Verdünnungsfaktor umgerechnet werden oder es muss eine separate Fettbestimmung durchgeführt werden;
- die Proben müssen unbedingt innerhalb von 5–6 Stunden im Laboratorium eintreffen;
- bei starker Beschädigung kann die hemmende Wirkung der Konservierungsmittel sogar ungenügend sein.

Aus diesen Gründen kann kein chemisches Konservierungsmittel empfohlen werden.

Thermische Behandlung unmittelbar nach der Probenahme

Die sicherste Möglichkeit, um gleichzeitig die Lipaseaktivität und die mikrobielle Aktivität bei der FFA/Sofortbestimmung zu hemmen, ist eine sofortige Erwärmung nach der Probenahme (Abb. 4).

Die Probe für die FFA/Sofortbestimmung wird in ein Reagenzglas mit Schraubverschluss bis ca. 2 cm unter den oberen Rand eingeführt. Das verschlossene Reagenzglas wird unmittelbar nach der Probenahme während ca. 2 min in ein kochendes Wasserbad gestellt. Die Temperatur der Probe steigt auf mindestens 75 °C. Vor dem anschliessenden Abkühlen wird die Probe durch zweimaliges Kippen durchgemischt. Das Niveau des heissen Wassers und der Probe im Reagenzglas muss gleich sein. Ein mitgelieferter Teststreifen (CelsiStrip) ermöglicht eine schnelle Kontrolle der Pasteurisierung der behandelten Probe.

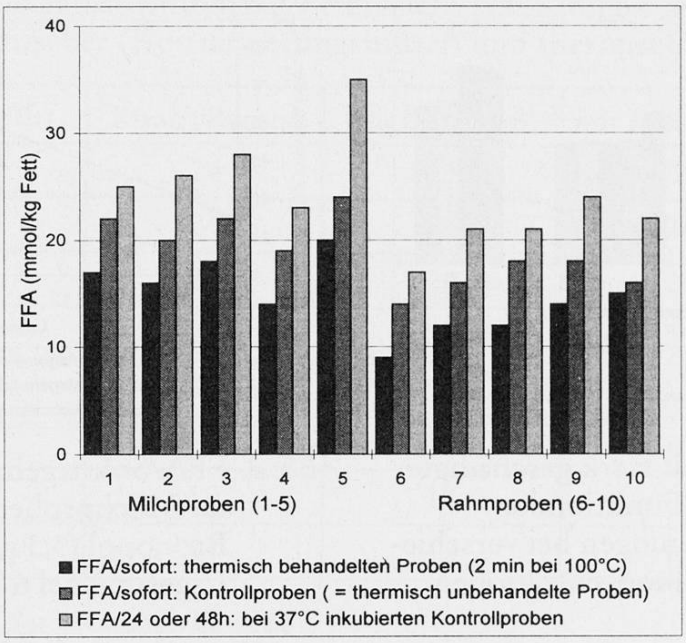


Abb. 4. FFA-Gehalt thermisch und nicht thermisch behandelter Milch- und Rahmproben

Tabelle 2 vergleicht die Resultate, die mit den zwei vorher getesteten Konservierungsmitteln und mit der thermischen Behandlung erhalten wurden. Tabelle 3 zeigt noch, dass auch stark geschädigte, thermisch behandelte Rahmproben mindestens 24 Stunden stabil bleiben.

Die thermische Behandlung bietet nur Vorteile an. Sie ist billig, einfach, risikofrei, umweltfreundlich und wirksam. Ausserdem verlangt sie weder spezielle Ausbildung noch giftige Konservierungsmittel am Ort der Probenahme. Erfahrungsgemäss sind noch keine Probleme aufgetaucht. Sie liefert sichere und vertrauenswürdige FFA/Sofortresultate.

Tabelle 3. FFA/Sofortgehalt (mmol/kg Fett) stark geschädigter Rahmproben nach thermischer Behandlung

Probenbehandlung	Lagerungsdauer (h)	Rahmprobe 1	Rahmprobe 2
thermisch unbehandelt	0	7	9
	24	25	34
thermisch behandelt*	0	7	9
	24	7	9

* 2 min in kochendem Wasserbad

Probebehandlung für die Bestimmung des FFA/24 h oder 48 h

Was die Stabilisierung der Rohmilch- bzw. der Rohrahmproben für die Bestimmung des «gesamt lipolysierbaren» Fettes nach einer 48- bzw. 24stündigen

Inkubationsdauer bei 37 °C betrifft, wurden leider keine geeigneten Verbesserungen gefunden (Tabelle 4).

Tabelle 4. FFA/48-h-Gehalt (mmol/kg Fett) geschädigter Milchproben bei verschiedener Lagerungsdauer vor der 37 °C-Inkubation in Funktion der Konzentration von 3 verschiedenen Konservierungsmitteln

Konservierungsmittel	Konzentration (mg/kg)	Lagerungsdauer vor der Inkubation (h)		
		0	3	24
Wasserstoffperoxid	100	147	140	166
	200	73	117	146
	300	55	104	142
	400	55	47	86
	500	55	44	74
	750	53	44	54
	1000	51	48	52
Bronopol	5	117	119	164
	10	53	71	71
	20	44	52	60
	30	47	51	58
	50	46	50	58
	100	44	50	57
	200	49	49	56
Kathon DP	10	161	163	181
	50	78	123	124
	75	68	81	106
	100	62	65	77
	250	57	51	61
	500	47	49	59
	1000	45	49	58

Die Konservierungsmittel, die die Lipasen schonen, sind nicht imstande, bakteriostatisch zu wirken, was schliesslich eine falsche Bestimmung der freien Fettsäuren zur Folge hätte (Übertitration infolge der gebildeten Milchsäure). Die direkte Extraktion bei der Probenahme, die Zugabe von Konservierungsmitteln im grossen Überschuss sowie die thermische Behandlung der Proben, die eine genügende bakteriostatische oder sogar eine bakterizide Einwirkung bei mittel- und

starkkontaminierten Proben gewährleisten würden, hemmen auch die Lipasen, die bei der Inkubation nicht mehr aktiv sind und deshalb zu tiefe Werte liefern. Der Ersatz der FFA-Titration (visuell oder potentiometrisch) durch eine quantitative gaschromatographische Analyse der einzelnen freien Fettsäuren, wobei die Milchsäure keine Interferenz verursacht, *könnte* eine weitere Möglichkeit darstellen, das «gesamt lipolysierbare Fett» zu bestimmen.

Allgemein sollten die FFA/24 h, bzw. FFA/48-h-Werte mit grösster Vorsicht interpretiert werden, da zahlreiche, meistens unkontrollierte (oder unkontrollierbare) Faktoren wie die pH-Erniedrigung bei der Milchsäurebildung, die mechanische, thermische und/oder chemische Aktivierung der originären und mikrobiellen Lipasen sowie die reversible grenzflächige Anreicherung der freien Fettsäuren an den Fettkügelchenmembranen die Messresultate stark beeinflussen können.

Schlussfolgerung

Die vorherige Arbeit (Teil IV.) hat die ausgeprägte temperatur- und zeitabhängige Instabilität geschädigter Rohmilch- und Rohrahmproben zwischen der eigentlichen Probenahme und der Extraktion der freien Fettsäuren im Laboratorium gezeigt. Um die Proben für die FFA/Sofortbestimmung zu stabilisieren, wurden in der vorliegenden Arbeit drei verschiedene Lösungen geprüft:

- die sofortige Extraktion an Ort und Stelle der Probenahme;
- die Zugabe verschiedener Konservierungsmittel (u. a. Bronopol und Kathon DP) bei der Probenahme;
- eine thermische Behandlung der Proben, um sowohl ihre Lipaseaktivität wie auch ihre mikrobielle Gärung zu hemmen.

Jede dieser Lösungen hat Vor- und Nachteile.

Die erste Lösung ist aufwendig und fehleranfällig. Sie verlangt, dass die Reagenzgläser mit dem Extraktionsgemisch und, wenn möglich, auch ein Rotationsmischer an Ort und Stelle der Probenahme zur Verfügung stehen, was nicht immer möglich ist. Dazu soll das Pipettieren der Proben (5,00 ml für Milch bzw. 1,00 ml für Rahm) sehr sorgfältig und genau durch Betriebs- statt Laborpersonal ausgeführt werden.

Die zweite Lösung ermöglicht eine vollständige Probenbehandlung (pipettieren, extrahieren usw.) im Laboratorium durch ausgebildetes Fachpersonal, benötigt aber den Einsatz von giftigen Konservierungsmitteln. Bei stark belasteten, d.h. geschädigten Proben genügen diese nicht immer, um eine sichere und genügend lange Hemmung der mikrobiellen Lipasen zu gewährleisten.

Die in Zukunft für die Praxis empfohlene dritte Lösung ist die thermische Behandlung der gefüllten Reagenzgläser: eine kurze Hochtemperaturpasteurisierung (z. B. ca. 2 min in einem kochenden Wasserbad). Diese Lösung ermöglicht eine vollständige Inaktivierung der Lipasen sowie der psychrotrophen Bakterien (keine Milchsäurebildung, die sonst mittitriert würde). Diese Behandlung gewährleistet eine Probenstabilität von mindestens 24 Stunden, so dass die Extraktion im

Laboratorium ausgeführt werden kann. Dazu sind keine toxischen und umweltbelastenden Konservierungsmittel notwendig. Diese einfache, billige und schnelle Vorbereitungsmethode benötigt nur ein heisses Wasserbad, z. B. eine Kochpfanne mit einem elektrischen Tauchsieder. Ein mitgelieferter Teststreifen (CelsiStrip) ermöglicht die schnelle Kontrolle der Pasteurisierung der behandelten Proben.

Was die Stabilisierung der Rohmilch- bzw. der Rohrahmproben für die Bestimmung des «gesamt lipolysierbaren» Fettes nach einer 48- bzw. 24stündigen Inkubationsdauer bei 37 °C betrifft, wurde leider keine neue, geeignete Verbesserung gefunden.

Allgemein wurde festgestellt, dass die Rahmproben deutlich mehr als die Milchproben durch die mikrobiell gebildeten Lipasen gefährdet wurden. Dementsprechend sind die Rahmproben besonders sorgfältig zu behandeln.

Dank

Die Autoren danken ihrer Kollegin *Annemarie Weber* für ihre Hilfe bei den mikrobiologischen Untersuchungen sowie den anderen Kollegen *Ueli Bütikofer, Marius Collomb, Marc Dalla Torre, Raoul Daniel, Hans Eyer, Raoul Mariaca* und *Robert Sieber* für ihre wertvolle Begutachtung des Manuskripts.

Zusammenfassung

Anhand zahlreicher Modellversuche, die verschiedene mechanische, thermische und bakterielle Schädigungen des Milchfettes simulierten, wurden anschliessend drei Stabilisierungsmöglichkeiten der Proben für die FFA/Sofortbestimmung geprüft: (i) die sofortige Extraktion der freien Fettsäuren an Ort und Stelle der Probenahme; (ii) der Zusatz verschiedener Konservierungsmittel, wie z. B. Bronopol, Kathon DP; (iii) eine thermische Behandlung der Proben ebenfalls an Ort und Stelle der Probenahme. Diese letzte Lösung bietet viele Vorteile und ist deshalb bei der FFA/Sofortbestimmung für die Praxis zu empfehlen. Keine brauchbare Verbesserung der Probenahme und -behandlung wurde hingegen für die Bestimmung des «gesamt-lipolysierbaren» Fettes gefunden.

Résumé

Sur la base de nombreux essais modèles qui simulent divers endommagements de la matière grasse dus à des effets mécaniques, thermiques et à des bactéries, trois possibilités de stabiliser les échantillons labiles du point de vue de leur teneur en acides gras libres (pour un dosage «immédiat») ont été testées: (i) une extraction «in situ» lors de la prise de l'échantillon; (ii) le recours à divers agents conservateurs tels que bronopol et kathon DP; (iii) une inactivation thermique (env. 2 min dans un bain-marie à ébullition). Cette dernière solution présentant plusieurs avantages est proposée en définitive pour la pratique. En revanche aucune amélioration n'a pu être apportée au prélèvement et au traitement des échantillons destinés au titrage de la matière grasse «lipolysable totale» après une incubation à 37 °C.

Summary

Three main preventive methods were tested to improve the conservation of the raw samples for the FFA/immediate titration: (i) an immediate extraction in situ of the free fatty acids; (ii) the addition of different preservatives such as bronopol, kathon DP; (iii) a heat treatment (approximately 2 min in a boiling bath) of the sample to inactivate the lipase activity. This third solution offers many advantages and should be recommended in the practice. No improvement was found concerning the stability of the samples used to determine the «total lipolysable» fat after a 24 h or 48 h incubation at 37 °C.

Literatur

1. *Imhof, Miroslava, Knecht, P.* und *Bosset, J.O.:* Die Bestimmung von freien Fettsäuren in Milch und Rahm. IV. Standardisierung der Extraktion von freien Fettsäuren- und Untersuchung der Probenstabilität. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **86,** 157–168 (1995).
2. *FIL-IDF:* Determination of free fatty acids in milk and milk products. Bull. 265 (1991).
3. *FIL-IDF:* Proceedings of the lipolysis symposium. Bull. 86 (1975).
4. *Collomb, M.* et *Spahni, M.:* Revue des méthodes de dosage des acides gras libres dans le lait et les produits laitiers. Lebensm. Wiss. Technol. (en préparation).
5. *Jamotte, P.:* Rapport d'activité du groupe de travail pour l'étude de la qualité du lait cru et de la crème, ministère de l'agriculture. Station laitière de Gembloux, 1971.
6. *Dole, V.P.:* A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. J. Clinical. Invest. **35,** 150–155 (1955).
7. *Kuzdzal-Savoie, S.:* Dosage des acides gras libres dans le lait et les produits laitiers. Bull. FIL-IDF 118 (1980).
8. *O'Halloran, J.C.:* A study of free fatty acid content of milk as affected by production and storage techniques. Thesis, Faculty of Dairy Science, University College, Cork, Irland 1975.
9. *Driessen, F.* and *Stadhouders, J.:* The lipolytic enzymes and co-factors responsible for spontaneous rancidity in cow's milk. IDF Doc **86,** 73–79 (1975).
10. *Driessen, F.:* Lipases and proteinases in milk. Occurrence, heat inactivation and their importance for the keeping quality of milkproducts. Verslag V 236, Nederlands Instituut voor Zuivelonderzoek, Ede 1983.
11. *Driessen, F.M., Jellema, A., van Luin, F.J.P., Stadhouders, J.* and *Wolbers, G.J.M.:* The estimation of the fat acidity in raw milk. An adaptation of the BDI method suitable for routine assays. Neth. Milk Dairy J. **31,** 40–55 (1977).
12. *Doody, K., O'Shea, J.* and *Rafftery, T.F.:* Influence of design of milking equipment on lipolysis. IDF Doc **86,** 146–155 (1975).
13. *Shipe, W.F., Senyk, G.F.* and *Book, K.J.:* Inhibition of milk lipolysis by lambda carrageenan. J. Dairy Sci. **65,** 24–27 (1982).
14. *Stern, K.K., Foegeding, E.A.* and *Hansen, A.P.:* Inhibition of lipolytic activity in milk by polysaccharides. J. Dairy Sci. **71,** 41–45 (1988).
15. *Harris, P.L.* and *Cuppett, S.L.:* Effect of selected antioxidants on the activity of a mixture of crude pseudomonas lipases. J. Food Protect. **54,** 133–135 (1991).
16. *Bosset, J.O., Imhof, M.* und *Steiger, G.:* Die Bestimmung von freien Fettsäuren in Milch und Rahm. I. Entwicklung einer automatisierten potentiometrischen Titrationsmethode

in nichtwässerigem Milieu und Vergleich mit der visuellen Titration nach Deeth. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **81**, 296–318 (1990).
17. *Buchanan, R.A.* and *Gibbons, N.E.*: Bergey's Manual of determinative Bacteriology, S. 217. The Williams & Wilings Co., Baltimore 1975.
18. *Ardö, Y.:* Bronopol as a preservative in milk samples. Milchwissenschaft **34**, 14–16 (1979).

Miroslava Imhof
Dr. Jacques Oliver Bosset
Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Sektion Chemie
CH-3097 Liebefeld-Bern