

# **Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. Teil VI, Vergleich der visuellen und potentiometrischen Titrationsmethode in verschiedenen Laboratorien = The determination of free fatty acids in milk and cream. Part VI, Evaluation of a further c...**

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

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **87 (1996)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982076>

## **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.

## Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm

### VI. Vergleich der visuellen und potentiometrischen Titrationsmethode in verschiedenen Laboratorien

The Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cream

#### VI. Evaluation of a Further Collaborative Study Using the Visual and the Potentiometric Titration Methods

*Key words:* Free fatty acids, Titration, Collaborative study, Milk, Cream

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

### Einleitung

Die visuelle Titration nach *Deeth* et al. (1) ist die in der Schweiz am meisten verwendete Methode für die Bestimmung der freien Fettsäuren (FFA) in Milch und Rahm. Diese Methode ist schnell, einfach und preiswert. Weil sie bei der Erfassung des Titrationsendpunktes menschlichen, d. h. subjektiven Faktoren unterworfen ist, wurde eine objektive potentiometrische Titrationsmethode entwickelt und optimiert (2). Beide Methoden wurden anhand eines ersten Ringversuches getestet (3). Mit einem neu erhältlichen, kompakten Titrationsgerät wurde die potentiometrische Titrationsmethode vereinfacht (4).

Nach einer Optimierung der Extraktionsbedingungen für die FFA und der Untersuchung der Stabilität stark beschädigter Milch- und Rahmproben (5) wurde eine thermische Behandlung zur Stabilisierung der FFA-Sofortproben vorgeschlagen (6). Um diese Verbesserungen und Vereinfachungen der potentiometrischen Titrationsmethode im Rahmen der Qualitätssicherung zu überprüfen sowie die neu zur Verfügung stehende Einstabmesskette (Ag-Titrode) zu testen, wurde ein zweiter Ringversuch durchgeführt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist:

- a) ein Vergleich der im akkreditierten Bereich der FAM eingesetzten potentiometrischen Titrationsmethode, nachdem technisch-analytische Verbesserungen

eingeführt wurden, mit der visuellen Titrationsmethode in anderen Laboratorien,

- b) die Überprüfung der neu vorgeschlagenen thermischen Stabilisierung der Proben für die FFA-Sofortbestimmung anhand der Wiederholbarkeit der Resultate,
- c) die Bestimmung der Wiederfindungsrate der freien Fettsäuren anhand einer Myristinsäurezugabe und
- d) der Vergleich zwischen der Ag-Titrode (ohne Differenzverstärker) und den drei bisher angewandten Einstabelektroden (mit Differenzverstärker) bei der potentiometrischen Titration.

## Experimenteller Teil

### Probewahl

Die für diesen Methodenvergleich ausgewählten Milch- und Rahmproben und ihre Vorbereitung sind in der Tabelle 1 beschrieben.

Tabelle 1. Wahl und Behandlung der Proben für den Methodenvergleich

Probenmaterial	Fettgehalt <sup>1</sup> (g/kg)	Beschreibung der Probe
Rohmilch «frisch» (2mal)	46,9	Morgenmilch, direkt vom Bauernhof, ungekühlt
Rohmilch «ungeschädigt» <sup>2</sup>	40,0	Rohmilch, 3tägig, mit Perhydrol konserviert <sup>4</sup> , bei ca. 4 °C gelagert
Rohmilch «geschädigt» <sup>3</sup>	39,8	Rohmilch, 3tägig, thermisch belastet, mit Perhydrol <sup>4</sup> konserviert, bei ca. 4 °C gelagert
«Milch Drink»	26,5	aus dem Handel, pasteurisiert, homogenisiert
Rohrahm «frisch»	439	Rohrahm, aus eigener Versuchskäserei
Rohrahm «ungeschädigt» <sup>2</sup>	411	Rohrahm, 3tägig, mit Perhydrol <sup>4</sup> konserviert, bei ca. 4 °C gelagert
Rohrahm «geschädigt» <sup>3</sup>	351	Rohrahm, 3tägig, thermisch belastet, mit Perhydrol <sup>4</sup> konserviert, bei ca. 4 °C gelagert

<sup>1</sup> Butyrometrisch bestimmt nach Gerber (8).

<sup>2</sup> «ungeschädigt»: bedeutet, dass die Proben im Laboratorium keiner Belastung ausgesetzt wurden.

<sup>3</sup> «geschädigt»: bezieht sich auf eine thermische Belastung der Milch- und Rahmproben im Laboratorium. Die Proben wurden zweimal abwechslungsweise erwärmt (auf ca. 36 °C) und abgekühlt (auf ca. 10 °C).

<sup>4</sup> 1,2 g Perhydrol/kg Milch.

Da die «ungeschädigten» und «geschädigten» Milch- und Rahmproben während einiger Tage bis zu ihrem Versand im Kühlschrank (ca. 4 °C) aufbewahrt werden mussten, wurde eine Konservierung mit Perhydrol notwendig. Die Endkonzentration des Perhydrols von 1,2 g/kg hat eine hemmende Wirkung auf das Wachstum der Milchsäurebakterien, aber keine hemmende Wirkung auf die Lipaseaktivität. Am Tag des Versandes wurden alle Milch- und Rahmproben in Reagenzgläsern durch eine thermische Behandlung (2 min im kochenden Wasserbad) stabilisiert.

Neben den oben erwähnten Milch- und Rahmproben wurden auch fertige Extrakte verschickt (Tabelle 2). Sie wurden drei Tage vor dem Versand vorbereitet und in 50-ml-Flaschen bei ca. 4 °C gelagert.

Tabelle 2. Vorbereitung der verschiedenen Extrakte für den Ringversuch

Myristinsäurezusatz (mmol/kg Fett)	Myristinsäurelösung* (ml)	Blindprobenextrakt** (ml)	Milchprobenextrakt*** (ml)
0	0,0	7,5	242,5
5	2,5	5,0	
10	5,0	2,5	
15	7,5	0,0	

\* Myristinsäurelösung: 0,571 g Myristinsäure wurde mit Blindprobeextrakt zur 250-ml-Marke aufgefüllt (c = 10 mmol/l).

\*\* Blindprobenextrakt: Gemisch aus extrahierten Blindproben nach *Bosset et al.* (2).

\*\*\* Milchprobenextrakt: Gemisch aus extrahierten Milchproben nach *Bosset et al.* (2).

### Analysemethoden

Die verwendeten Methoden für die FFA-Bestimmung sind in der Tabelle 3 beschrieben.

Tabelle 3. Angewandte Methoden für den Methodenvergleich

Labornummer	Beschreibung
1-4	visuelle Titrationsmethode nach <i>Deeth et al.</i> (1)
5	potentiometrische Titrationsmethode nach <i>Bosset et al.</i> (2) mit einem Differenzverstärker und 3 Einstabelektroden (2)
6	potentiometrische Titrationsmethode nach <i>Bosset et al.</i> (2) mit einer kombinierten Messkette (Ag-Titrode, Metrohm, Art. 6.0430.100)

## *Teilnehmende Laboratorien*

Für den Methodenvergleich haben sich vier Laboratorien angemeldet. In allen Laboratorien wurde die visuelle Titrationsmethode nach *Deeth* durchgeführt. In einem der Laboratorien wurden für die Bestimmung der freien Fettsäuren zusätzlich die beiden potentiometrischen Titrationsen angewandt (weitergeführt als Labornummern 5 und 6).

Die Extraktion von Milch- und Rahmproben wurde in allen Laboratorien 24 h nach dem Versand der Proben durchgeführt. Bei drei Laboratorien wurden die Proben sofort nach der Extraktion titriert. In den Laboratorien, in denen die Titration erst einige Tage später durchgeführt wurde, sind die Reagenzgläser mit den extrahierten Proben zusätzlich durch ein Teflonband gegen einen Probenverlust geschützt worden. Diese wurden bis zur Titration bei ca. 4 °C gelagert.

## *Statistische Auswertung*

Sämtliche Proben (Milch, Rahm, Extrakte) wurden in den sechs Laboratorien doppelt analysiert. Die Probe *Rohmilch* «*frisch*» wurde doppelt (verschieden kodiert) verschickt und separat ausgewertet. Die statistische Auswertung wurde nach der ISO-Norm 5725 (7) durchgeführt. Die Norm verlangt für die Auswertung eine Beteiligung von mindestens acht Laboratorien («Ringversuch»), daher ist die Aussagekraft dieses Methodenvergleiches etwas eingeschränkt. Die potentiometrischen Titrationsen wurden nur in einem einzigen Laboratorium angewandt. Die Ausreisser wurden mit dem Test von *Dixon* und *Cochran* nach DIN-ISO 5725 (7) bestimmt.

## **Resultate und Diskussion**

### *Vergleich der Laboratorien*

Die statistische Auswertung der Resultate ist aus Tabelle 4 ersichtlich. Die Wiederholbarkeit  $r$  und die Reproduzierbarkeit  $R$  sind trotz der kleinen Zahl an teilnehmenden Laboratorien aufgeführt, da sie für den Vergleich mit den Resultaten des Ringversuchs von 1990 (3) notwendig sind. Bei der Berechnung der Mittelwerte wurden folgende Ausreisserresultate nicht berücksichtigt:

– *Ausreisser nach Dixon:*

Milch Drink, Labornummer 3

Der Grund liegt in den sehr hohen FFA-Werten, die durch eine Kontamination des Reagenzglases oder durch einen Fehler bei der Extraktion (Zugabe der Extraktionslösung) verursacht wurden.

– *Ausreisser nach Cochran:*

Extrakt mit Myristinsäurezusatz von 10 mmol/kg Fett, Labornummer 6

Die erhöhte Standardabweichung der Werte bei der Doppelbestimmung kann durch eine kontaminierte Pipette oder durch ein ungenaues Probevolumen (größer oder kleiner als 5 ml) verursacht worden sein.

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Resultate der einzelnen Laboratorien und der Gesamtmittelwert jeder Probe (Tabelle 4) sind in den entsprechenden Abbildungen graphisch dargestellt.

Tabelle 4. Statistische Auswertung der in den Tabellen 5 bis 7 aufgeführten Resultate

Probearart	$\bar{x}$	$S_r$	$r$	$RSD_r$	$S_R$	$R$	$RSD_R$
Milchprobe							
roh, frisch	15,39	0,225	0,64	1,46	2,221	6,29	14,43
roh, frisch	15,08	0,580	1,64	3,85	2,739	7,75	18,16
roh, «ungeschädigt»	19,41	0,260	0,74	1,34	1,096	3,10	5,65
roh, «geschädigt»	24,94	0,446	1,26	1,79	1,265	3,58	5,07
«Milch Drink»	33,49	0,453	1,28	1,35	0,609	1,72	1,82
Rahmprobe							
roh, frisch	9,78	0,115	0,33	1,18	0,710	2,01	7,26
roh, «ungeschädigt»	10,92	0,557	1,58	5,10	0,557	1,58	5,10
roh, «geschädigt»	19,00	0,271	0,77	1,43	0,661	1,87	3,48
Extrakte							
ohne Zusatz	23,48	0,189	0,54	0,81	1,424	4,03	6,07
Zusatz von 5 mmol MS/kg Fett	28,01	0,444	1,26	1,59	1,138	3,22	4,06
Zusatz von 10 mmol MS/kg Fett	33,29	0,114	0,32	0,34	1,476	4,18	4,43
Zusatz von 15 mmol MS/kg Fett	37,73	0,214	0,61	0,57	1,230	3,48	3,26

- MS Myristinsäure  
 $\bar{x}$  Gesamtmittelwert ohne Ausreisser (mmol FFA/kg Fett)  
 $S_r$  Standardabweichung der Wiederholbarkeit (mmol FFA/kg Fett)  
 $r$  Wiederholbarkeit (mmol FFA/kg Fett)  
 $RSD_r$  Relative Standardabweichung der Wiederholbarkeit (%)  
 $S_R$  Standardabweichung der Reproduzierbarkeit (mmol FFA/kg Fett)  
 $R$  Reproduzierbarkeit (mmol FFA/kg Fett)  
 $RSD_R$  Relative Standardabweichung der Reproduzierbarkeit (%)

### Milchproben

Die Verbesserung der Wiederholbarkeit und der Reproduzierbarkeit der Messwerte durch die Stabilisierung der FFA-Sofortproben und durch die standardisierte Extraktionsstufe ist aus dem Vergleich dieser Arbeit mit dem Ringversuch von 1990 sichtbar (Tabelle 5 und 6). Wegen der guten Übereinstimmung der visuellen und der potentiometrischen Titrationswerte wurde in vorliegendem Methodenvergleich auf eine separate Auswertung der beiden Methoden verzichtet. Abbildung 1

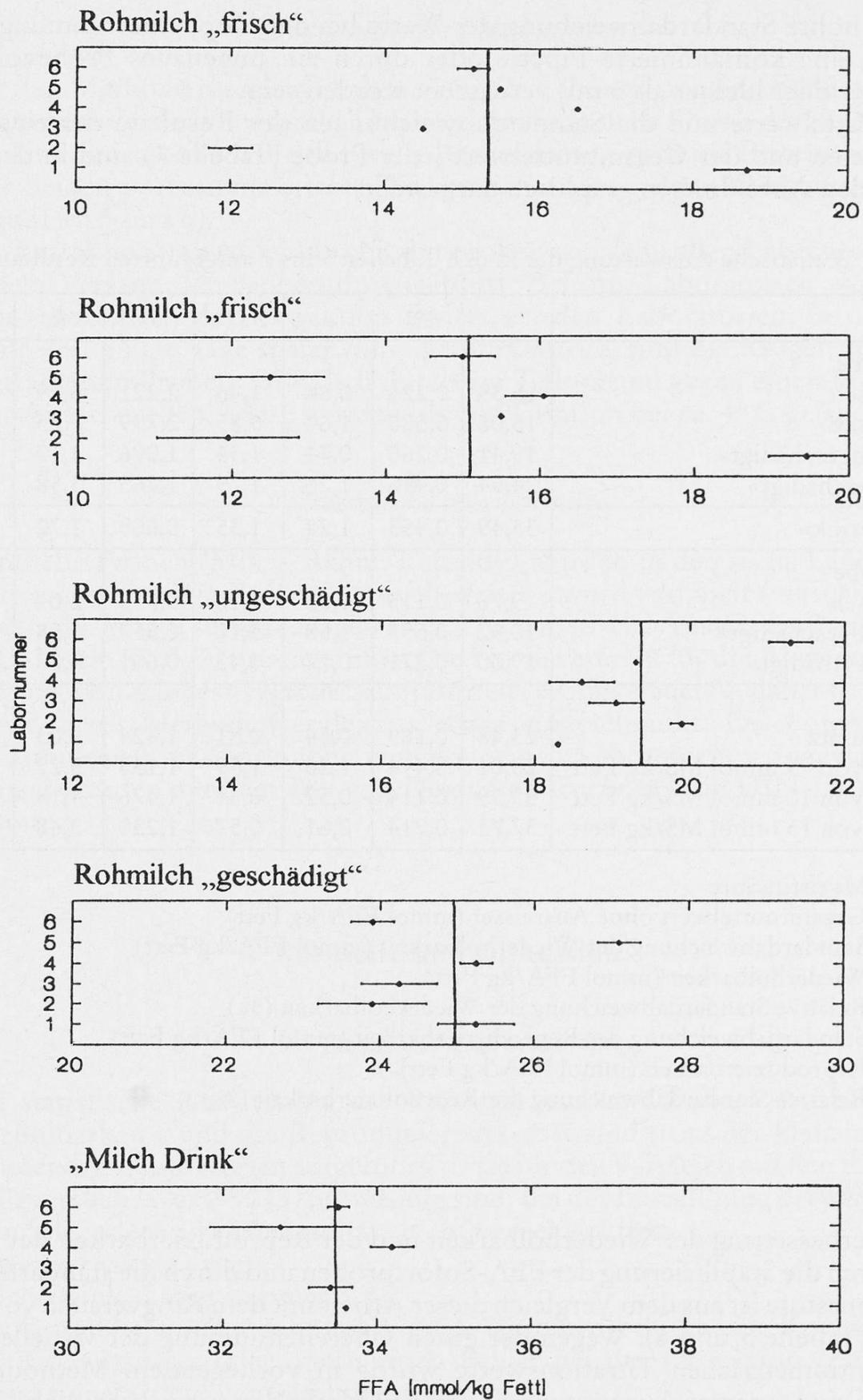


Abb. 1. Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der sechs teilnehmenden Laboratorien

zeigt die Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der teilnehmenden Laboratorien.

Die durch die thermische Stabilisierung der Proben verbesserte Reproduzierbarkeit kommt am besten beim «Milch Drink» zum Vorschein, da die Milch-Drink-Proben homogen sind. Die Wiederholbarkeit ( $r$ ) liegt bei 1,3 mmol FFA/kg Fett, die Reproduzierbarkeit ( $R$ ) bei 1,7 mmol FFA/kg Fett.

Tabelle 5. Wiederholbarkeit  $r$  (mmol FFA/kg Fett) bei der visuellen und potentiometrischen FFA-Sofortbestimmung in Rohmilch und «Milch Drink»

Probeart	ohne thermische Behandlung Ringversuch 1990 (3)		mit thermischer Behandlung Methodenvergleich 1995
	visuell	potentiometrisch	visuell und potentiometrisch
Rohmilch «frisch»	2,71	4,99	$\leq 1,64$
Rohmilch «geschädigt»	1,95	2,67	1,26
«Milch Drink»	5,06	5,41	1,28

Tabelle 6. Reproduzierbarkeit  $R$  (mmol FFA/kg Fett) bei der visuellen und potentiometrischen FFA-Sofortbestimmung in Rohmilch und «Milch Drink»

Probeart	ohne thermische Behandlung Ringversuch 1990 (3)		mit thermischer Behandlung Methodenvergleich 1995
	visuell	potentiometrisch	visuell und potentiometrisch
Rohmilch «frisch»	5,64	9,59	$\leq 7,75$
Rohmilch «geschädigt»	6,76	11,39	3,58
«Milch Drink»	8,98	6,91	1,72

Die Rohmilch «frisch» wurde, wie bereits erwähnt, doppelt analysiert (kodiert) und ausgewertet. Die Wiederholbarkeit liegt zwischen 0,6 und 1,6 mmol FFA/kg Fett, die Reproduzierbarkeit beträgt maximal 7,8 mmol FFA/kg Fett. Die erhöhten Werte bei der Reproduzierbarkeit (Tabellen 4 und 6) wurden nicht durch die Lipaseaktivität oder durch mikrobielle Aktivität verursacht, da die Proben durch die thermische Behandlung für mindestens 24 h stabilisiert wurden (6). Dies kann jedoch der Inhomogenität der Fettverteilung in der Probe zugeschrieben werden.

### Rahmproben

Die Wiederholbarkeit  $r$  und die Reproduzierbarkeit  $R$ ,  $RSD_r$  und  $RSD_R$  der Rahmproben sind in der Tabelle 4 zusammengestellt. Die Wiederholbarkeit liegt zwischen 0,33 mmol und 1,58 mmol FFA/kg Fett, die  $RSD_r$  ist  $\leq 5,1\%$ . Die Reproduzierbarkeit bei den durch die thermische Behandlung stabilisierten Rohrahmproben übersteigt nicht 2,0 mmol FFA/kg Fett ( $RSD_R \leq 7,3\%$ ). Abbildung 2

zeigt die Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der teilnehmenden Laboratorien.

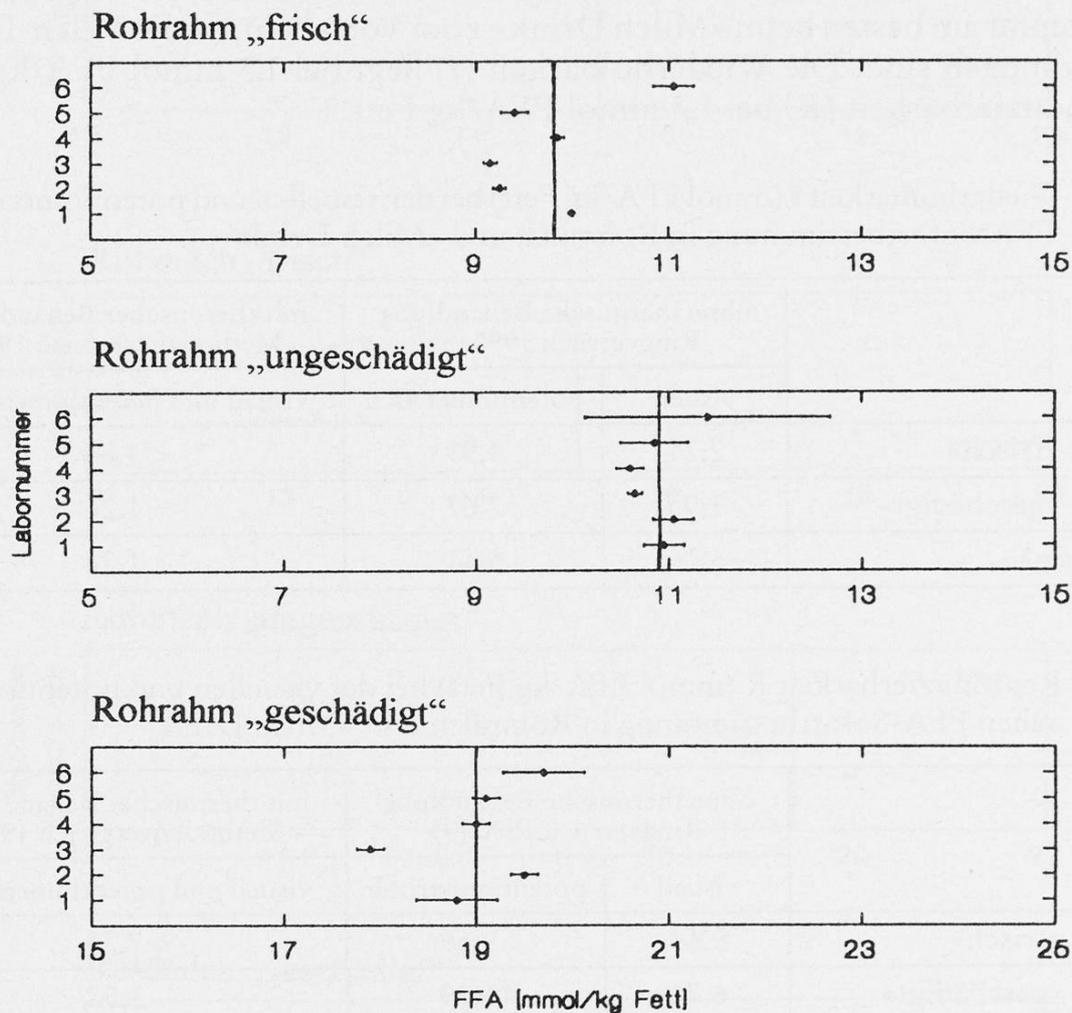


Abb. 2. Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der sechs teilnehmenden Laboratorien

### Extrakte

Bei den verschickten Extrakten entfällt die Probenvorbereitung und die Extraktionsstufe. Aus diesem Grund eignen sich die Extrakte zur Kontrolle der Titrationsstufe der FFA-Bestimmung. Vorausgesetzt wird dabei, dass kein Extraktverlust (Verflüchtigung des Extraktes) durch die undicht verschlossene oder zu lang geöffnete Flasche stattfindet. Die  $RSD_r$  (Tabelle 4) liegt unter 1,6%, die  $RSD_R$  unter 6,1%, was einer Reproduzierbarkeit von 4 mmol FFA/kg Fett entspricht. Abbildung 3 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der teilnehmenden Laboratorien.

*Bemerkung:* Gepoolte Milchprobenextrakte können als Referenzproben im Labor verwendet werden. Die Titrationswerte können im Sinne einer qualitätssichernden Massnahme auf einer Regelkarte eingetragen werden.

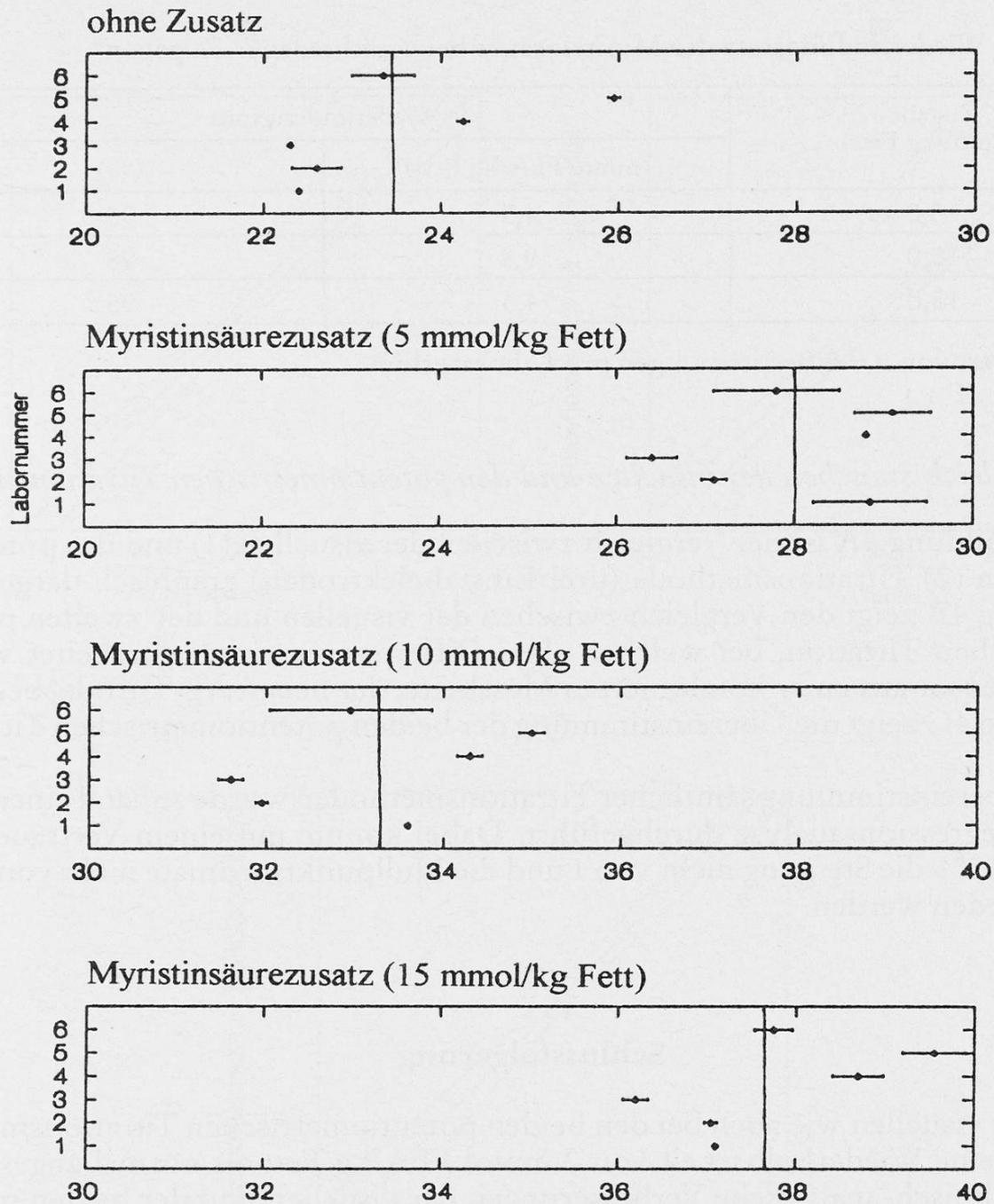


Abb. 3. Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate der sechs teilnehmenden Laboren

### Wiederfindungsrate

Anhand des Zusatzes von verschiedenen Konzentrationen der Myristinsäure in den Extrakten (Tabelle 4) wurde in der folgenden Tabelle die Wiederfindungsrate der FFA berechnet:

Tabelle 7. Wiederfindungsrate der Myristinsäure bei verschiedenen Zugaben\*

Zugabe (mmol/kg Fett)	Wiederfindungsrate	
	(mmol FFA/kg Fett)	(%)
5,0	4,5	90
10,0	9,8	98
15,0	14,3	95

\* Mittelwert von  $n = 2$  Bestimmungen pro Laboratorium

### *Vergleich zwischen der visuellen und den potentiometrischen Titrationsmethoden*

In Abbildung 4A ist der Vergleich zwischen der visuellen (1) und der potentiometrischen (2) Titrationsmethode (drei Einstabelektroden) graphisch dargestellt. Abbildung 4B zeigt den Vergleich zwischen der visuellen und der zweiten potentiometrischen Titration, bei welcher ohne Differenzverstärker gearbeitet wurde und der Sensor aus einer kombinierten Messkette, der neuen Ag-Titrode, bestand. Abbildung 4C zeigt die Übereinstimmung der beiden potentiometrischen Titrationsmethoden.

Die Übereinstimmung sämtlicher Titrationsmethoden wurde anhand einer klassischen Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei konnte mit einem Vertrauensniveau von 95% die Steigung nicht von 1 und die Nullpunktsordinate nicht von Null unterschieden werden.

### Schlussfolgerung

Bei der visuellen wie auch bei den beiden potentiometrischen Titrationsmethoden wird eine Wiederholbarkeit von 2 mmol FFA/kg Fett als normal angesehen. Durch technisch-analytische Verbesserungen der visuellen und der beiden potentiometrischen Titrationsmethoden liegen alle erhaltenen Messwerte des Ringversuches in diesem Bereich.

Durch die thermische Stabilisierung der FFA-Sofortproben liegt die Reproduzierbarkeit der erhaltenen Messwerte, mit Ausnahme der Rohmilch «frisch», unter 4 mmol FFA/kg Fett. Durch eine verbesserte Homogenität der Probe könnte die Reproduzierbarkeit auch bei Rohmilch «frisch» verbessert werden.

Nach Subtraktion der natürlich vorhandenen Fettsäuren (Blindwert) liegt die durchschnittliche Wiederfindungsrate für Myristinsäurezusätze im Extrakt (2), visuell und potentiometrisch bestimmt bei etwa 95%.

Die Resultate der beiden potentiometrischen Titrationsmethoden unterscheiden sich signifikant weder voneinander noch von denjenigen der visuellen Methode.

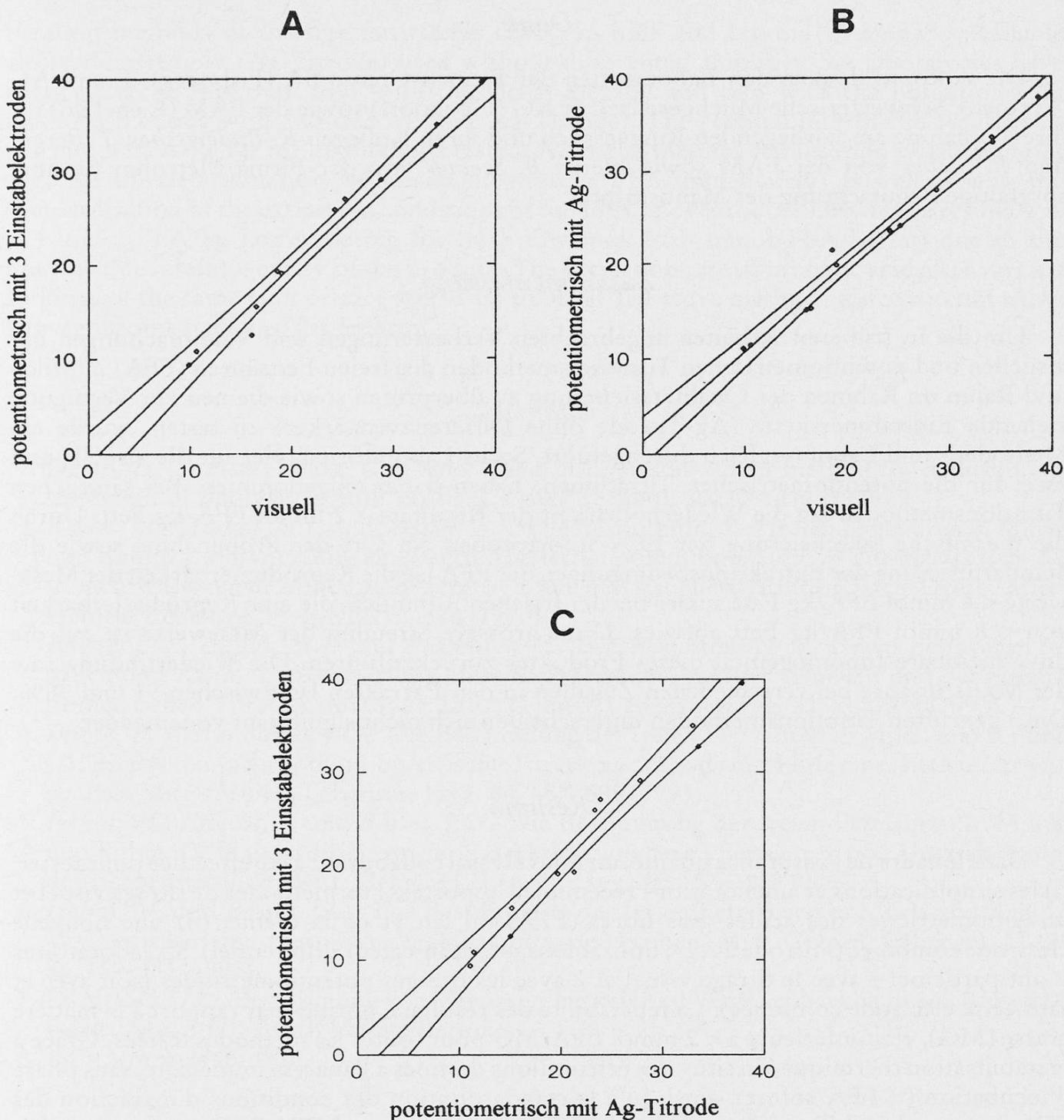


Abb. 4. Paarweise Vergleiche sämtlicher Titrationsmethoden  
 A = visuelle versus potentiometrische Methode mit 3 Einstabelektroden und Differenzverstärker ( $r = 0,99$ )  
 B = visuelle versus potentiometrische Methode mit der Ag-Titrode (ohne Differenzverstärker) ( $r = 0,99$ )  
 C = potentiometrische Methode mit 3 Einstabelektroden (mit Differenzverstärker) versus der Ag-Titrode (ohne Differenzverstärker) ( $r = 0,99$ )

## Dank

Die Autoren danken den Laboratorien der Firmen Cremo SA (Fribourg), Emmi AG (Emmen), Schweizerische Milchgesellschaft AG (Hochdorf) sowie der FAM (Liebefeld) für ihre Teilnahme am vorliegenden Ringversuch und ihren Kollegen *R. Badertscher*, *T. Berger* und *R. Sieber* von der FAM sowie Herrn *B. Steiner* von der Firma Metrohm für ihre sorgfältige Begutachtung des Manuskriptes.

## Zusammenfassung

Um die in früheren Arbeiten angebrachten Verbesserungen und Vereinfachungen der visuellen und potentiometrischen Titrationsmethoden der freien Fettsäuren (FFA) in Milch und Rahm im Rahmen der Qualitätssicherung zu überprüfen sowie die neu zur Verfügung stehende Einstabmesskette (Ag-Titrode ohne Differenzverstärker) zu testen, wurde ein Methoden- und Laborvergleich durchgeführt. Sechs Laboratorien (vier für die visuelle und zwei für die potentiometrischen Titrationsmethoden) haben daran teilgenommen. Bei sämtlichen Titrationsmethoden lag die Wiederholbarkeit der Resultate  $< 2$  mmol FFA/kg Fett. Durch die thermische Stabilisierung der FFA-Sofortproben am Ort der Probenahme sowie die Standardisierung der Extraktionsbedingungen der FFA lag die Reproduzierbarkeit der Messwerte  $< 4$  mmol FFA/kg Fett ausser bei der frischen Rohmilch, die eine Reproduzierbarkeit von  $< 8$  mmol FFA/kg Fett aufwies. Diese grössere Streuung der Messwerte ist auf die unvermeidbare Inhomogenität dieses Produktes zurückzuführen. Die Wiederfindungsrate der Myristinsäure bei verschiedenen Zugaben in den Extrakten lag zwischen 91 und 98%. Die 3 geprüften Titrationsmethoden unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

## Résumé

Dans le cadre de l'assurance qualité, un nouvel essai collaboratif a été effectuée pour tester: (i) les simplifications et améliorations récemment apportées aux méthodes de titrage visuel et potentiométriques des acides gras libres (FFA) du lait et de la crème; (ii) une nouvelle électrode combinée («titrode à Ag», utilisable sans amplificateur différentiel). Six laboratoires y ont participé: 4 avec le titrage visuel et 2 avec les titrages potentiométriques (soit avec et sans cette électrode combinée). La répétabilité des résultats, normés par rapport à la matière grasse (MG), était inférieure à  $< 2$  mmol FFA/MG pour toutes les méthodes testées. Grâce à la stabilisation thermique «in situ» des échantillons destinés à l'analyse immédiate, sans phase d'incubation (= FFA/sofort), ainsi qu'à la standardisation des conditions d'extraction des FFA, la reproductibilité des résultats n'a pas dépassé  $< 4$  mmol FFA/MG, sauf pour le lait entier cru frais ( $< 8$  mmol FFA/MG) en raison de l'inévitable inhomogénéité de ce produit. Le taux de récupération de l'acide myristique après divers ajouts à un même extrait se situe entre 91 et 98%. Les 3 méthodes de titrage testées ne se distinguent statistiquement pas de façon significative.

## Summary

In the context of quality assurance, a second collaborative assay was carried out to test: (i) the improvements and simplifications recently brought to the visual and potentiometric

titration methods of the free fatty acids (FFA) in milk and cream; (ii) a newly available electrode assembly (Ag-Titrode) used without differential amplifier. Six laboratories have participated in this trial: four with the visual method and two with the potentiometric methods (i.e. one with and one without Ag-Titrode). The repeatability of the results was  $< 2$  mmol FFA/kg fat for all methods tested. After the thermal stabilisation of the samples used for the determination without incubation (= FFA/immediately) as well as with the standardisation of the extraction conditions of the FFA, the reproducibility of the results was  $< 4$  mmol FFA/kg fat, excepting for fresh raw milk ( $< 8$  mmol FFA/kg fat) due to the unavoidable inhomogeneity of the product. The extraction rate of myristic acid after various spikings of the same milk extract was 91 up to 98%. The three methods tested did not show any significant statistical differences.

### Literatur

1. Deeth, H.C., Fitz-Gerald, C.H. and Wood, A.F.: A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. *Austr. J. Dairy Technol.* **30**, 109–111 (1975).
2. Bosset, J.O., Imhof, M.I. und Steiger, G.J.: Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. I. Entwicklung einer automatisierten potentiometrischen Titrationsmethode in nichtwässrigem Milieu und Vergleich mit der visuellen Titration nach Deeth. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **81**, 296–318 (1990).
3. Bosset, J.O., Imhof, M.I. und Bütikofer, U.: Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. II. Auswertung eines Ringversuches mit der visuellen und der potentiometrischen Titrationsmethode. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **81**, 510–521 (1990).
4. Imhof, M.I. und Bosset, J.O.: Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. III. Eine vereinfachte potentiometrische Titrationsmethode mit Hilfe eines neuen Titriergerätes. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **84**, 687–699 (1993).
5. Imhof, M., Knecht, P. und Bosset, J.O.: Die Bestimmung der 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).
6. Imhof, M. und Bosset, J.O.: Die Bestimmung der freien Fettsäuren in Milch und Rahm. V. Chemische und thermische Stabilisierung der Proben. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **86**, 169–181 (1995).
7. DIN-ISO 5725, Bestimmung von Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit durch Ringversuche. Nov. 1981, Beuth Verlag, Berlin.
8. ISO-Norm 2446: 1976.

Miroslava Imhof  
Ulrich Bütikofer  
Dr. Jacques Olivier Bosset  
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft  
Sektion Chemie  
CH-3097 Liebefeld-Bern