

# DIE FETTSÄURE-ZUSAMMENSETZUNG DES »FREIEN« UND »GEBUNDENEN« FETTS VON MILCHPULVERN

Von

TRAN THE TRUYEN\* und F. ÖRSI

Lehrstuhl für Biochemie und Lebensmitteltechnologie, Technische Universität, Budapest

(Eingegangen am 16. Juli 1976)

Vorgelegt von Prof. R. LÁSZTITY

Unter den die Qualität des Milchpulvers bestimmenden Faktoren spielt außer der entsprechenden Zusammensetzung, den organoleptischen Eigenschaften und dem biologischen Zustand die gute Löslichkeit eine ausschlaggebende Rolle. Es ist daher verständlich, daß sowohl die theoretischen, wie auch die praktischen Fachmänner eine große Aufmerksamkeit den die Löslichkeit beeinflussenden Faktoren widmeten. Über die wichtigeren, die Löslichkeit beeinflussenden Faktoren geben zahlreiche zusammenfassende Werke [1, 2, 3, 4, 5] eine gute Auskunft. Unter diesen Faktoren ist der Zustand des Milchfetts innerhalb der Struktur des Milchpulvers von Bedeutung. Die Arbeit zahlreicher Autoren sowie unsere früheren Untersuchungen [6, 7, 8] zeigen, daß ein Aufhören des gebundenen Zustands von Milchfett sowohl die Befeuchtungsgeschwindigkeit des Milchpulvers wie auch das Maß seiner Auflösung erheblich herabsetzt.

Wie bekannt, sind in der Milch die Milchfettkügelchen von einer Eiweiß-Schutzhülle umgeben und die derart geschützten Milchfett-Teilchen in der Milchzucker und Eiweiß enthaltenden wäßrigen Lösung emulgiert. Beim Trocknen entstehen zufolge der Entfernung des Wassers gewisse Änderungen in dem kolloidalen System. Laktose verfestigt sich im allgemeinen in amorphem Zustand (eventuell in kristalliner Form) und schließt die Eiweißteilchen und die Fettkügelchen ein. Außerdem enthält das ganze System verteilte Luft. Die festen Teilchen, deren Größe von der Erzeugungstechnologie abhängig ist, sind in der Luft verteilt und bilden ein Porodinsystem.

Während der Erzeugung und Lagerung des Milchpulvers ist das System solchen Einwirkungen ausgesetzt, die auch die ursprüngliche Struktur der Milchfettkügelchen berühren. Die möglichen Änderungen werden im folgenden kurz zusammengefaßt.

Im Laufe der Milchpulvererzeugung wird die äußere Eiweiß-Schutzhülle der Fettkügelchen in einem von der Temperatur abhängigen Maß denaturiert, ferner durch mechanische Einwirkungen (Kratzmesser, Mahler,

\* Ständige Arbeitsstelle Hanoi, Technische Universität, Vietnam

usw.) beschädigt. Von nicht geringerer Bedeutung aus diesem Gesichtspunkt ist auch die Art der Lagerung des Milchpulvers. Wenn Milchpulver in einem Raum von hohem relativem Feuchtigkeitsgehalt gelagert wird (55—60%), absorbiert es Feuchtigkeit, und Laktose wird auskristallisiert. Die Kristalle beschädigen einerseits die Hülle der Fettkügelchen, andererseits üben sie einen Druck aus und pressen einen Teil des freien Fettes heraus.

Das Freiwerden eines Teils des Fettes und die Ausbildung einer Fettschicht an einem bedeutenden Teil der Oberfläche der Milchpulverteilchen setzen die Geschwindigkeit der Befeuchtung herab und vermindern die Löslichkeit.

Außer der oben beschriebenen Wirkung ist das freie Fett aufgrund seiner Anordnung stärker den oxidativen Änderungen und den Verranzungsvorgängen ausgesetzt. Die eintretende Hydrolyse und noch mehr der Autooxidationsprozeß verderben stark die organoleptischen Eigenschaften des Milchpulvers und verringern seinen Nutzwert. Wie bekannt, sind ungesättigte Fettsäuren empfindlicher gegenüber Autooxidation [9, 10], wobei der relative Anteil der anwesenden ungesättigten Fettsäuren zu den gesättigten auch gewisse Oberflächeneigenschaften verändern kann. Es erschien daher von Interesse, die Verteilung der Fettsäure-Glyzeride zwischen »freier« und »gebundener« Form für eine gegebenes Milchpulver zu studieren. Im weiteren berichten wir über einige Ergebnisse unserer diesbezüglichen Forschungen. Bei der Festlegung des Untersuchungsverfahrens wurden die Vorschriften der ungarischen Normblätter [11, 12] sowie die Untersuchungen von SMITH et al., ferner von HAMADA et al. [14] im Betracht gezogen.

### Materialien und Methoden

Über die untersuchten Milchpulver gibt Tabelle I eine Übersicht.

Tabelle I  
Untersuchte Milchpulver

Ser. No.	Charakter des Milchpulvers	Ort der Erzeugung	Bemerkung
1	Instant Milchpulver	Frankreich	Vollfett-Zerstäubungstrocknung
2	Milchpulver mittels Zerstäubungstrocknung	Ungarn Mosonmagyaróvár	Vollfett-Erzeugung Halbbetriebsmaß
3	Milchpulver mittels Zerstäubungstrocknung	Ungarn Berettyóújfalu	vollfett
4	Milchpulver mittels Zerstäubungstrocknung	Ungarn Nyíregyháza	vollfett
5	Milchpulver mittels Zerstäubungstrocknung	Tschechoslowakei	vollfett
6	Milchpulver mittels Zerstäubungstrocknung	Jugoslawien	vollfett

### Bestimmung des freien Fettgehalts

Zur Untersuchung der Zusammensetzung des freien Fettes muß als erster Schritt das freie Fett aus dem Milchpulver isoliert werden. Zu diesem Zweck wurde die folgende Methode mit kurzer Extraktionszeit verwendet: In einem 250-ml-Kolben mit geschliffenem Hals werden 2,5 g Milchpulver eingewogen und 100 ml Petroläther zugesetzt. Extraktionstemperatur: 22 °C (Zimmertemperatur). Extraktionszeit: 10 Minuten.

Das Gemisch wird durch Bewegung des Kolbens 2—3mal vorsichtig gerührt, sodann nach 10 Minuten an einem gesinterten Glasfilter G-3 unter Vakuum sofort filtriert. Das Filtrat wird in einem vorangehend abgewogenen, getrockneten Rundkolben aufgefangen.

Der Petroläther wird an einem heißen Wasserbad oder z. B. mit einem Soxhlet-Extraktor abdestilliert, sodann der Kolben mit seinem Inhalt 1 Stunde lang bei  $105 \pm 2$  °C getrocknet.

### Bestimmung des gebundenen Fettes mit der Röse-Gottliebschen Methode

Von dem vom Filter zurückgehaltenen extrahierten Milchpulver werden etwa 1,5 g in einem 100-ml-Schüttelzylinder mit geschliffenem Stöpsel gewogen. 10 ml Wasser werden zugesetzt und unter Schütteln — falls nötig, unter mildem Erwärmen des Milchpulvers an einem Wasserbad — wird die ausfiltrierte Substanz aufgelöst. Nach Auflösen werden 1,5 ml Ammoniumhydroxid zugesetzt. Das Gemisch wird unter zeitweiligem Schütteln an einem Wasserbad von 60—70 °C 15 Minuten lang erwärmt. Nach Abkühlen werden der Lösung der Reihe nach 10 ml Äthylalkohol, 25 ml Äthyläther, 25 ml Petroläther zugesetzt, wobei der zugestöpselte Zylinder nach jeder Zugabe separat geschüttelt wird (Schütteldauer bei Äthyläther 60 Sekunden, bei Petroläther 30 Sekunden). Der verstöpselte Zylinder wird dann 5 Stunden lang stehen gelassen, bis sich die ammoniakhaltige und die Äther—Petroläther-Schichten scharf getrennt haben, bzw. bis die letztere Schicht vollständig klar wird.

Nun wird die Äther-Petrolätherlösung ohne ein Aufrühren der unteren Ammoniaschicht so gut wie möglich in einen getrockneten Becher abgezogen. 25 ml eines 1:1 Äther—Petroläther-Gemisches werden der zurückbleibenden ammoniakhaltigen Lösung zugesetzt und der Inhalt des Bechers wird geschüttelt. Mit je 25 ml des Lösungsmittels wird gewaschen, sodann wird das Lösungsmittel aus dem Becher abdestilliert.

Das nach dem Destillieren noch Lösungsmittel enthaltende Fett wird in einem Trockenschrank bei 102—105 °C bis zu konstantem Gewicht getrocknet, sodann in einem Exsikkator abgekühlt, um das gebundene Fett zu erhalten.

### Vorbereitung der Fettproben zur gaschromatographischen Fettsäure-analyse

Aus den Fettsäuren der Triglyceride müssen zur nachfolgenden gaschromatographischen Analyse Fettsäuremethylester hergestellt werden. Für diesen Zweck wurde das folgende Verfahren verwendet:

50—300 mg rohes Fett werden mit 5 ml einer 0,5-n-KOH-Lösung in Methanol 10 Minuten lang gekocht. 5 ml methanolige  $\text{BF}_3$ -Lösung wird zugeetzt und das Gemisch weitere 5 Minuten gekocht. Schließlich wird 10 ml Hexan zugegeben und nach 1 Minute Kochen wird das Gemisch abgekühlt. 50 ml einer 10%igen NaCl-Lösung werden zugegeben und nach Schütteln die Hexanschicht in einem Scheidertrichter getrennt und mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die derart erhaltenen Methylester werden für die gaschromatographische Analyse verwendet.

### Gaschromatographische Analyse

Die gaschromatographische Analyse erfolgt an Proben, die aus der Lösung in Hexan der Fettsäuremethylester genommen werden. Charakteristische Daten und Parameter der Analyse waren wie folgt:

<i>Instrument:</i>	<i>CHROM 41</i>
Säule	
Länge:	120 cm
Innerer Durchmesser:	4 mm
Typ des Trägers:	CHROMOSORB W
Korngröße:	100/120 mesh
Typ des Netzmittels:	Polytätethylenglykolsukzinat (Produkt Serva)
Konzentration:	10%
Temperatur	
des Thermostats:	180 °C
des Verdampfers:	200 °C
Typ des Detektors:	Flammenionisation
Gase:	
Trärgas:	Stickstoff, 30 ml/min
Hilfsgas:	$\text{H}_2$ : 40 ml/min; Luft: 500 ml/min

Menge der im aufgetragenen Hexan gelösten Probe 1  $\mu\text{l}$ .

## Dünnschichtchromatographische Trennung der Triglyceride und anderer Lipide

Die dünn-schichtchromatographische Trennung bezweckte die Bestimmung der Lipidkomponenten des freien und gebundenen Fettes. Die Chromatographie unserer Testsubstanzen erfolgte an fertigen Silikagelschichten SILUFOL (tschechoslowakisches Produkt). Laufmittel: 80:20:1 Hexan:Äthyläther:Essigsäure-Gemisch. Die Entwicklung erfolgte mit 20%iger äthylalkoholhaltiger Phosphormolybdänsäurelösung bei 105 °C. Nach Beendigung des Laufens wurde die Dünnschicht getrocknet, mit dem Reagens besprüht und einige Minuten auf 100 °C gehalten. Nach Ausschneiden wurden die Flecken densitometrisch ausgewertet (Joyce-Loebl-Instrument Typ: »Chromoscan«).

### Untersuchungsergebnisse und ihre Auswertung

Die Resultate der gaschromatographischen Analyse sind in Tabelle II zusammengefaßt. Charakteristische Chromatogramme werden in Abb 1 und 2 vorgeführt.

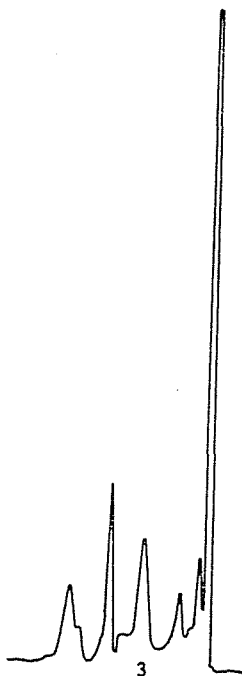


Abb. 1. Gaschromatogramm der aus den freien Lipiden der Milchpulverprobe N°3 aus Berettyó-újfalú erzeugten Fettsäuremethylester

Tabelle II

Fettsäurezusammensetzung des freien und gebundenen Fettes von Milchpulvern

Bezeichnung des Musters		1		2		3	
Fettsäure	Bezeichnung	frei	gebunden	frei	gebunden	frei	gebunden
Kaprinsäure	10:0+1	4,21	8,9	5,1	7,6	4,5	6,6
Laurinsäure	12:0+1	4,9	9,5	5,9	7,4	5,3	7,0
Myristinsäure	14:0	10,3	12,7	13,0	13,0	12,4	12,4
Myristinölsäure	14:1	3,9	5,9	4,6	3,9	3,7	4,2
Palmitinsäure	16:0	32,0	31,8	35,5	34,0	34,7	30,3
Stearinsäure	18:0	6,4	7,3	7,0	6,7	7,7	8,8
Ölsäure	18:1	21,0	17,3	24,2	20,8	29,2	24,9
Linolsäure	18:2	6,8	4,4	4,6	3,9	2,6	5,6
Linolensäure	18:3	10,5	2,2	—	2,6	—	—
Gesamte abgeschiedene ungesättigte Fettsäure	14:1 18:1	42,2	29,8	33,4	31,2	35,5	34,7

Bemerkung: 1. Vollfett-Instant-Milchpulver (französisch), 2. Vollfett-Milchpulver (Mosonmagyar-Milchpulver (Tschechoslowakei),

Aus den Resultaten ist klar ersichtlich, daß in den Fettsäuren des »freien« Fettes der Anteil der ungesättigten Komponenten wesentlich höher ist, was gleichzeitig auf eine gesteigerte autooxidative Empfindlichkeit hinweist.

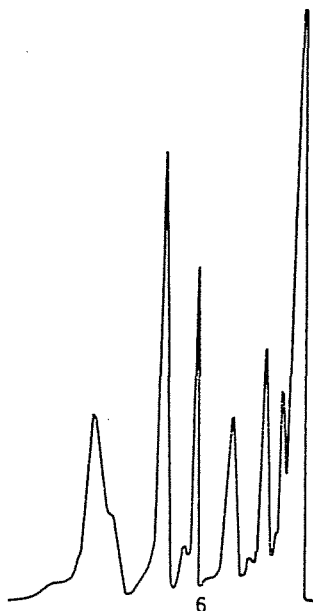


Abb. 2. Gaschromatogramm der aus den gebundenen Lipiden der Milchpulverprobe N°3 aus Berettyóújfalu erzeugten Fettsäuremethylester

## (Gaschromatographische Bestimmung)

Bezeichnung des Musters		4		5		6	
Fettsäure	Bezeichnung	frei	gebunden	frei	gebunden	frei	gebunden
Kaprinsäure	10:0 +1	5,4	4,8	4,9	11,6	5,0	6,7
Laurinsäure	12:0 +1	6,1	5,6	5,7	11,6	5,9	6,7
Myristinsäure	14:0	12,4	12,9	13,9	14,5	10,2	12,4
Myristinölsäure	14:1	4,1	3,8	2,7	4,6	3,2	4,2
Palmitinsäure	16:0	35,3	35,9	36,3	30,6	34,8	31,9
Stearinsäure	18:0	9,4	7,9	6,2	5,4	7,5	8,9
Ölsäure	18:1	25,5	26,9	25,7	16,2	27,5	27,8
Linolsäure	18:2	2,0	2,1	2,2	5,4	3,1	1,3
Linolensäure	18:3	—	—	2,5	—	2,9	—
Gesamte abgeschnittene ungesättigte Fettsäure	14:1	31,6	32,8	33,1	26,2	36,7	33,3
	18:1						

vár), 3. Vollfett-Milchpulver (Berettyóújfalu), 4. Vollfett-Milchpulver (Nyíregyháza), 5. Vollfett-Vollfett-Milchpulver (Jugoslawien).

Derart wird jene Annahme, daß das freiwerdende Fett einen niedrigeren Schmelzpunkt besitzt, durch die Ergebnisse bestätigt. Gleichzeitig zeigen die Resultate wieder einmal, daß zwischen den verschiedenen Milchpulvern vom Gesichtspunkt der Lagerfähigkeit ein bedeutender Unterschied bestehen kann. Dies wird verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß der freie Fettgehalt der auf verschiedene Art erzeugten Milchpulver gewöhnlich der folgende ist:

Zerstäubungstrocknung	3—14%
Zylindertrocknung	91—96%
Gefriertrocknung	43—75%

Die entsprechenden Lagerbedingungen bzw. Lagerzeiten müssen aufgrund der Menge und der Zusammensetzung der freien Fette festgesetzt werden.

Einige charakteristische Chromatogramme der dünn-schichtchromatographischen Analyse und deren densitometrische Auswertung sind aus Abb. 3—5 ersichtlich. Es geht klar hervor, daß der Anteil der zurückbleibenden polaren Lipide von kleinem  $R_f$ -Wert innerhalb der gebundenen Fette entscheidend höher ist, während das freie Fett einen charakteristischen apolaren Charakter besitzt. Vermutlich spielt bei dem höheren polaren Lipidgehalt des gebundenen Fettes auch die Wechselwirkung zwischen Fett und Eiweiß eine Rolle.



Abb. 3. Dünnschichtchromatogramm und densimetrische Kurve der freien (I/1) und gebundenen (I/2) Lipide des französischen Milchpulvers N°1

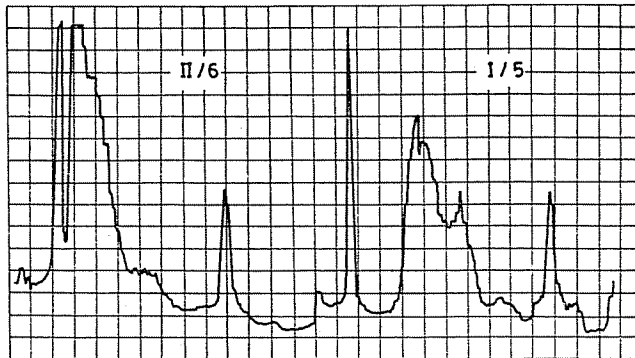


Abb. 4. Dünnschichtchromatogramm und densimetrische Kurve der freien (II/6) und gebundenen (I/5) Lipide der Milchpulverprobe N°2 aus Mosonmagyaróvár

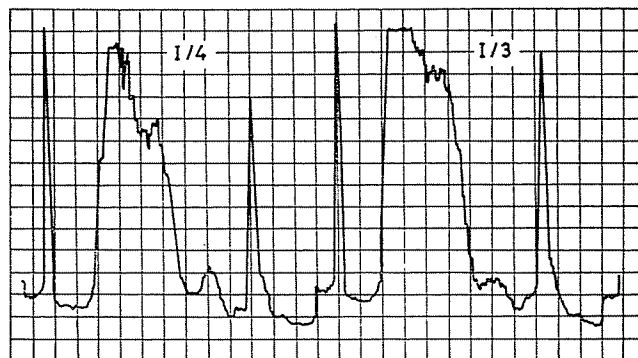


Abb. 5. Dünnschichtchromatogramm und densimetrische Kurve der freien (I/3), und gebundenen (I/4) Lipide der Milchpulverprobe N°3 aus Berettyóújfalú



### Zusammenfassung

Die Untersuchungsergebnisse von sechs Milchpulvern, hergestellt nach verschiedenen technologischen Verfahren, zeigen, daß in den Fettsäuren des »freien« Fettes der Anteil der ungesättigten Komponenten wesentlich höher ist. Es wurde festgestellt, daß der Anteil der polaren Lipide innerhalb der gebundenen Fette größer ist. Vermutlich spielt in dem höheren polaren Lipidgehalt des gebundenen Fettes auch die Wechselwirkung zwischen Fett und Eiweiß eine Rolle.

### Literatur

1. INYICHOV, G. Sz.: Himija moloka i molocsnüch produktov. Chemie d. Milch und Milchprodukten Piscsepromizdat. Moskau, 1951.
2. KETTING, F.: Tej és tejtermékek fizikája és kémiája. Chemie und Physik d. Milch und Milchprodukten. Budapest 1973.
3. ZAJKOVSKIJ, J. Sz.: Himija i fizika moloka i molocsnüch produktov. Chemie und Physik d. Milch und Milchprodukten Piscsepromizdat. Moskau, 1950.
4. RICHMOND: Dairy Chemistry. London, 1952.
5. WEBB, B. H., JOHNSON, A. H.: Fundamentals of Dairy Chemistry. London, 1965.
6. TRAN THE TRUYEN: Élelmiszervizsgálati Közlemények. (Im Druck).
7. TRAN THE TRUYEN: Tejipar 24, 31 (1975).
8. BUMA, T. J.: Dairy Journal 25, 186 (1971).
9. TYUTYUNYIKOV, B. N.: Himija zsirov. Chemie der Fette. Piscsepromizdat. Moskau, 1974.
10. EMANUEL, N. M.: Tormozsenyije processza okiszlenyija zsirov. Hinderung der Prozesse des Oxydation von Fette. Piscsepromizdat. Moskau, 1961.
11. Tej és tejtermékek vizsgálati szabályai. Standardsammlung. 34, 122.
12. Növényi és állati eredetű olajok, zsírok és technikai zsírsavak zsírsavösszetételének gázkromatográfiás meghatározása. Msz. 19928—73.
13. SMITH, L. M., FREEMAN, C. P., JACK, E. L.: J. Dairy Science 46, 531 (1965).
14. HAMADA, T., OMORI, S., KAMEOKA, K., HORII, S., MORIMOTO, H.: J. Dairy Science 51, 228 (1968).

TRAN THE TRUYEN      Technische Universität Hanoi — Vietnam  
Dr. Ferenc ÖRSI      H-1521 Budapest