

# Beitrag zur Messung der Fettperoxyde mit der Ferrithiozyanatmethode

---

Von der  
Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich  
zur Erlangung der  
Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften

genehmigte

Promotionsarbeit

vorgelegt von

Rudolf Walser  
dipl. Ing.-Agr.  
von Wolfhalden (App. A.Rh.)

Referent: Herr Prof. Dr. E. Zollikofer

Korreferent: Herr Prof. Dr. H. Deuel

Gedruckt mit Unterstützung aus dem Laur-Fonds

## Inhaltsverzeichnis

Einleitung . . . . .	5
I. <i>Allgemeines</i> . . . . .	6
A. Übersicht über die Entwicklung von der sinnesmässigen zur chemischen Erfassung der Fettverderbnis . . . . .	6
B. Die chemischen Methoden zum Nachweis der auf autoxydativem Wege entstandenen Fettveränderung . . . . .	7
1. Der Kreis-Test . . . . .	7
2. Der Nachweis der Autoxydation mit dem Thiobarbitursäure-Test . . . . .	8
3. Der Lea-Test . . . . .	9
4. Die indirekte Peroxydmessung durch Spektrophotometrie der in den Fettperoxyden vorkommenden konjugierten Doppelbindungen . . . . .	9
5. Der Nachweis der Fettperoxyde mittelst Dichlordihydroxyphenylendiamin . . . . .	10
6. Die Ferrithiozyanat-Methode . . . . .	10
a) Allgemeines . . . . .	10
b) Die Reaktionsverhältnisse . . . . .	11
C. Anwendungsweise der verschiedenen Methoden zur Messung der Autoxydation . . . . .	12
II. <i>Methodischer Teil</i> . . . . .	14
A. Apparate . . . . .	14
B. Vorversuche mit Ferrichlorid . . . . .	14
1. Die Auswahl des geeignetsten Filters . . . . .	14
2. Die Reagenzien . . . . .	16
a) Die Herstellung der Ammoniumthiozyanat-Lösung . . . . .	17
b) Die Ferrichloridlösung . . . . .	17
3. Die Glaswaren . . . . .	17
4. Der Einfluss des Lichtes . . . . .	17
5. Der Einfluss der Wärmebehandlung auf die Entwicklung der Ferrithiozyanatfarbe . . . . .	19
C. Die Aufnahme der Eisen-Eichgeraden . . . . .	20
1. Allgemeines und Herstellungsweise der für die Messung verwendeten Lösungen . . . . .	20
2. Die Messergebnisse und ihre statistische Überprüfung . . . . .	21
D. Vorversuche mit Ferrochlorid ohne Beteiligung von Milchlipp . . . . .	25
1. Die Reagenzien . . . . .	25
2. Die Herstellung des Ferrochlorids . . . . .	25
3. Die Art der Mischung von Ferrochlorid und Ammoniumthiozyanat in der Benzol-Methanol-Lösung . . . . .	26
4. Die Feststellung des Lichteinflusses auf messbereite Proben bei deren Stehenlassen . . . . .	27
E. Vorversuche mit Ferrochlorid unter Beteiligung von Milchlipp . . . . .	27
1. Die Art der Mischung von Ammoniumthiozyanat und Ferrochlorid in der Benzol-Methanol-Fettlösung . . . . .	27

2. Der Einfluss des Lichtes auf die zur Messung bereitgestellten Proben	27
3. Die Fettfarbe und ihre Einwirkung auf die Lage des Extinktionsmaximums der Ferrithiozyanatfarbe im Spektrum	28
4. Der Einfluss der Verweildauer im Wasserbad von 50 ° C	32
5. Die experimentelle Überprüfung der Linearität zwischen gemessener Extinktion einerseits und vorgelegter Fettmenge andererseits bei verdorbenem und frischem Butterfett	33
a) Die Festlegung der zur Prüfung notwendigen mittleren Fettmenge	33
b) Die Versuchsanordnung und die Herstellung der Benzol-Fettlösung	33
c) Die Auswertung der Messergebnisse	34
d) Erster Versuch mit fischiger Butter	35
e) Zweiter Versuch mit fischiger Butter	37
f) Dritter Versuch mit fischiger Butter	38
g) Viertes Versuch mit fischiger Butter	41
h) Versuche mit frischem Butterfett	43
F. Die experimentelle Überprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse	49
1. Die Kontrolle mittelst Benzoylperoxyd	49
2. Die Kontrolle mit Wasserstoffsperoxyd	51
G. Die provisorische Prüfung der Ersatzmöglichkeit der photometrischen Messung durch die Redoxpotentialmessung	53
1. Allgemeines und Definition des Redoxpotentials	53
2. Die Versuchsanordnung und die Messresultate	54
H. Die Überführung des in der Milch emulgierten Fettes in eine klare Benzol-Fettlösung	56
1. Allgemeines	56
2. Die Herstellung der Rahmpfropfen	56
3. Die Herstellung der Benzol-Fettlösung aus den Rahmpfropfen	57
4. Die Kontrolle des Wassergehaltes der Benzol-Fettlösung	58
J. Die modifizierte Ferrithiozyanat-Methode zur Bestimmung der Fettperoxyde in Milch und Milchprodukten	60
III. Prüfung des Oxydationswiderstandes verschiedener Milchproben	64
A. Allgemeines	64
B. Kontrollversuche	67
1. Versuch zur Unterbrechung der autoxydativen Kettenreaktion in Rahmpfropfen bei deren Aufbewahrung im Dunkeln und bei tiefer Temperatur	67
2. Die Feststellung der Versuchsfehlerbreite bei Anwendung der vorgängig beschriebenen Untersuchungstechnik und Versuchsapparatur	68
C. Versuche mit Einzelgemelken	69
1. Allgemeines	69
2. Probenmaterial, Probenfassung und Vorbehandlung	69
3. Prüfung des Widerstandes von alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation	70
D. Der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Fettoxydation in Einzelgemelken	75
E. Der Einfluss verschiedener Hitzebehandlungen auf die Fettoxydation in Milch und Rahm	83
IV. Diskussion der bei der Überprüfung und Modifikation der Ferrithiozyanat-Methode erzielten Ergebnisse	88
V. Zusammenfassung	89
VI. Literaturnachweis	92

## Einleitung

Die Erkenntnis, dass sowohl pflanzliche wie tierische Fette in ihrer Haltbarkeit begrenzt sind und sehr rasch zur Verderbnis neigen, ist alt. Bald sah man die Ursache dafür auf bakteriologischem, dann wieder auf chemischem Gebiet. Die rein chemische Veränderung, ohne Beteiligung von Enzymen, zeigt sich primär in der Bildung von Fettperoxyden. Diese zerfallen unter Abspaltung aktiven Sauerstoffs, der die Fettoxydation mit ihren sekundären Begleiterscheinungen beschleunigt.

Dem Oxydationsschaden in pflanzlichen und tierischen Fetten kommt grosse wirtschaftliche Bedeutung zu. Das Talgigwerden von Milchpulver und Butter, sowie die Entwicklung des sogenannten Oxydationsgeschmackes (ölig, metallischer oder kartonartiger Geschmack) sind heute noch oft schwer zu bekämpfende Erscheinungen.

In den letzten Jahren wurde intensiv nach Stoffen und Behandlungsverfahren gesucht, die der Oxydation entgegenwirken. Der Einfluss von Antioxydantien oder gewissen Behandlungsarten sollte durch empfindliche Oxydationsmessungen geprüft werden können.

Die bisherigen Methoden zur Messung der auf autoxydativem Wege entstehenden Fettperoxyde, wie auch der aus diesen später entstandenen Aldehyde, liessen viel zu wünschen übrig. Oft war die Reaktion unsicher und blieb hinter der sinnesmässigen Erfassung zurück. Von den in neuerer Zeit bekannt gewordenen Methoden dürften sich, gemäss den Ausführungen von *Pont* (35), der Thiobarbitursäure-Test wie auch der Ferrithiozyanat-Test für die Verfolgung der Autoxydation besonders eignen.

Die vorliegende Arbeit macht sich zur Aufgabe, die eine der beiden, nämlich die Ferrithiozyanat-Methode nach *Hills* und *Thiel* (17), bezüglich ihrer Zuverlässigkeit und Feinheit zur Messung von Fettperoxyden unter Verwendung modernster Hilfsmittel zu prüfen und allenfalls zu vereinfachen oder zu verbessern.

## I. Allgemeines

### A. Uebersicht über die Entwicklung von der sinnesmässigen zur chemischen Erfassung der Fettverderbnis

Die Fettverderbnis kann durch biologische, rein chemische wie auch durch beide Vorgänge gleichzeitig ausgelöst werden. Während des Verderbnisvorganges entstehen viele, recht verschiedene Abbauprodukte. Unter ihnen befinden sich die geschmacklich und geruchlich widrigen Verbindungen, welche das Fettverderben begleiten. Ursprünglich erfasste man sie bloss sinnesmässig und empfand sie als sauer, ranzig oder talgig. Die Sinnesprüfung bleibt unbefriedigend, da sie nicht nur stark subjektiv ist, sondern gleichzeitig nur die Feststellung einer bestehenden Tatsache erlaubt und keine Möglichkeit zu ihrer frühzeitigen Bekämpfung bietet. Immer wieder versucht man den ganzen Verderbensablauf chemisch zu erfassen. *Iselin* (22) gibt eine schematische Übersicht über die chemischen Vorgänge beim Fettverderben. Sie beschreibt die durch die biologische Fettzersetzung bedingte Ketonbildung wie auch das Auftreten von Fettperoxyden und Aldehyden bei der Autoxydation. Schon Ende des neunzehnten Jahrhunderts schuf *Kreis* (25) eine Aldehydreaktion. In den 30er Jahren entwickelten *Täufel* und *Thaler* (49) eine empfindliche Nachweismethode für Ketone, während *Lea* (26) in der gleichen Zeitepoche einen Fettperoxydnachweis fand. Auch in den vergangenen Jahren wurde unablässig an der Verfeinerung und Vervollkommnung der erwähnten Methoden gearbeitet.

Umfassende Verbesserungen in der Fabrikationstechnik und bessere hygienische Verhältnisse bei der Herstellung von fetthaltigen Erzeugnissen drängten die biologischen Prozesse als Ursache des Fettverderbs immer mehr in den Hintergrund, während die rein chemischen Vorgänge zunehmende Beachtung verlangten. Zu ihrer besseren Erfassung wurden neue Methoden entwickelt.

## B. Die chemischen Methoden zum Nachweis der auf autoxydativem Wege entstandenen Fettveränderung

### 1. Der Kreis-Test

Die von *Kreis* (25) bereits um die Jahrhundertwende entwickelte Reaktion konnte in späteren Jahren auf den entstehenden Epihydrinaldehyd zurückgeführt werden. Er liegt grösstenteils in gebundener Form vor und wird mit Salzsäure freigemacht, worauf er in Gegenwart von Salzsäure Resorcin oder das bedeutend empfindlichere Phloroglucin rot färbt.

*Pritzker* und *Jungkunz* (36) befassten sich im besondern mit den quantitativen Verhältnissen beim Kreis-Test. *Neu* (33) wies darauf hin, dass aus der Farbtiefe nur bedingt Schlüsse über den Umfang der zersetzten Fettmenge gezogen werden dürfen, weil nach *Täufel* (50) die Epihydrinaldehydmenge im Verlaufe der Autoxydation zufolge von Sekundärreaktionen schwankt. Verschiedene weitere Modifikationen der Kreismethode sind diejenigen von *Täufel*, *Sadler* und *Russow* (51), welche die Bildung des Kondensationsproduktes von Phloroglucin und Epihydrinaldehyd ausserhalb des Fettes verlegten (Wattebausch- und Tiegelverfahren). *Täufel* und Mitarbeiter (52) haben die Methode zu einer Mikrobestimmung entwickelt, welche noch die Erkennung von 0,1  $\gamma$  Epihydrinaldehyd erlauben soll.

*Neu* (33) erklärt, dass die übliche Ausführung der Kreisreaktion im Reagensglas oder Schüttelzylinder für eine exakte Bestimmung unbrauchbar sei. Nach der Zugabe der ätherischen Phloroglucinlösung zu dem mit Salzsäure geschüttelten Fett tritt eine starke Erwärmung ein. Der Äther verflüchtigt sich dabei zum Teil, und die Trennung der beiden Schichten erfolgt wegen Emulsionsbildung nur schwierig. Die Salzsäureschicht ist durch Fett meistens stark getrübt. *Neu* entwickelte ein Verfahren, wonach das Fett auf ein Trägermaterial (körniges Kieselsäuregel) mit grosser Oberfläche verteilt wird. Der Epihydrinaldehyd wird aus der zu prüfenden Substanz durch feuchte Salzsäure freigemacht und in wässriger bzw. alkoholischer Lösung mit Phloroglucin zur Reaktion gebracht. Es entstehen vollkommen klare Farblösungen, welche eine spektrographische Untersuchung erlauben. Letztere ist für genaue Untersuchungen nicht unwichtig, da die Kreisfarbe in einer von Auge nicht differenzierbaren Weise, zuweilen auch durch andere Stoffe wie Eugenol, Safrol etc., gebildet werden kann. Trotz der vielen Verbesserungen weist der Kreis-Test folgende Nachteile auf: bei Gegenwart anderer Aldehyde bildet das Phloroglucin mit diesen unter Umständen unlösliche, farblose Kondensationsprodukte und wird so der Reaktion mit Epihydrinaldehyd teilweise entzogen (53). Ferner besteht bei Fetten mit einem Schmelzpunkt über 45 ° C und der dadurch nötigen höheren Temperatur die Gefahr der Zerstörung des in Gegenwart von Salzsäure freigewordenen Epihydrinaldehyds.

## 2. Der Nachweis der Autoxydation mit dem Thiobarbitursäure-Test

*Kohn* und *Liversedge* (24) beobachteten, dass tierische Gewebe nach Bebrütung unter aeroben Verhältnissen Verbindungen produzierten, welche bei Erhitzung mit Thiobarbitursäure eine Rotfärbung ergaben. *Bernheim* und Mitarbeiter (3) erkannten, dass letztere hauptsächlich durch Lipide und Fettsäuren ausgelöst wurde. *Wilbur* und Mitarbeiter (61) prüften diese Farbreaktion mit gewissen Zuckern und Aldehyden wie auch mit Oxydationsprodukten von ungesättigten Fettsäuren. Keiner der geprüften Stoffe bildete die durch *Kohn* und *Liversedge* (24) beobachtete Farbe.

*Patton* und *Kurtz* (34) prüften eine Reihe weiterer Verbindungen in bezug auf ihre Farbbildung mit Thiobarbitursäure. Dabei erzeugten Glyoxal, Malondialdehyd, sein Diacetal und die oxydierten Produkte von Trimethylglycol mit Thiobarbitursäure die charakteristische Rotfärbung.

Die spektrale Charakteristik des mit dem Malondialdehyd erhaltenen Farbkomplexes war identisch mit derjenigen, wie sie durch Erhitzung von oxydiertem Butterfett mit dem Thiobarbitursäure-Reagens erhalten wurde. Der Farbkomplex entsprach im wesentlichen dem durch oxydiertes Methyl- linoleat, oxydierte Phosphatide und bebrütete Gewebe erhaltenen. *Patton* und *Kurtz* (34) berichteten weiter, dass der Malondialdehyd, der bis zur extremen Verdünnung von weniger als 1 ppm deutliche Rotfärbung ergibt, zweifellos ein im Verlaufe der Autoxydation entstehendes Abbauprodukt sei.

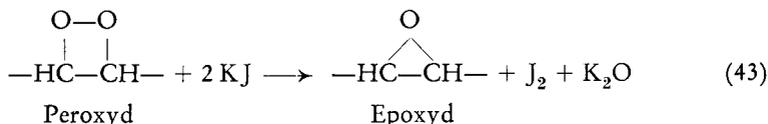
Die Extraktion von oxydiertem Milchfett mit Heisswasser entfernte die für die Farbbildung mit dem Thiobarbitursäure-Reagens verantwortlichen Substanzen nur teilweise. Darnach dürfte der wasserlösliche Malondialdehyd nicht allein an der Farbentwicklung beteiligt sein. *Dunkley* und *Jennings* (8) modifizierten den durch *Patton* und *Kurtz* (34) für Butterfett entwickelten Thiobarbitursäure-Test für die direkte Bestimmung in Milch. Die Farbextraktion erfolgt mit Isoamylalkohol und Pyridin. Der Extrakt zeigt zwei deutliche Absorptionsmaxima, von denen das eine bei 535  $m\mu$  (rote Komponente) und das andere bei 450  $m\mu$  (gelbe Komponente) liegt. Nur die rote Farbe ist für die Oxydation spezifisch. Aus diesem Grunde muss die Farbmessung mit einem gut trennenden Spektrophotometer vorgenommen werden. Das pH des Reaktionsgemisches, die für die Farbentwicklung gewählte Erhitzungsdauer und ein allfälliger Kupfergehalt sind mitbestimmend für die Farbtintensität.

Ein Fett, das mit der Methode von *Patton* und *Kurtz* (34) bereits 200 Kolorimeterwerte aufwies (frisches, unverändertes Butterfett ergibt solche von 12—16), zeigte noch keine Kreis-Farbe.

Der Thiobarbitursäure-Test darf als stark verfeinerter und verbesserter Kreis-Test angesprochen werden. Er ist nicht nur empfindlicher als dieser, sondern variiert auch proportional mit dem Grad der Fettoxydation.

### 3. Der Lea-Test

Lea (26) schuf eine Nachweismethode für Fettperoxyde auf jodometrischer Basis. Das Jod wird aus Kaliumjodid durch Peroxyd gemäss folgendem Schema freigemacht:



Mit Wasser geht das dabei gebildete Kaliumoxyd in Kaliumhydroxyd und mit zugesetzter Essigsäure in Kaliumacetat über. Das freigelegte Jod wird mittelst Natriumthiosulfat in folgender Weise erfasst:



Als Indikator dient Stärke. Die Leazahl wird als Anzahl ccm verbrauchte n/500 Natriumthiosulfatlösung pro g Fett definiert. Ein Leawert entspricht somit  $16 \gamma \text{ O}_2$ .

Der Nachteil der Methode besteht darin, dass je nach Art und Menge der in einem Fett vorhandenen ungesättigten Fettsäuren mehr oder weniger freigewordenes Jod durch diese gebunden wird. Nicht restlos entferntes Eiweiss bindet freies Jod ebenfalls. Ferner ist der Methode eine gewisse Subjektivität nicht abzusprechen, weil einerseits die Farbe nur in der Trennschicht zwischen wässriger Phase und Chloroform auftritt und andererseits die Schärfe des Umschlagpunktes wegen der Verwendung stark verdünnter Natriumthiosulfatlösungen (n/100 — n/500) oft zu wünschen übrig lässt.

#### 4. Die indirekte Peroxydmessung durch Spektrophotometrie der in den Fettperoxyden vorkommenden konjugierten Doppelbindungen

Holm und Wode (19) versuchten die durch die Oxydation in Fetten und Ölen hervorgerufenen Veränderungen spektrophotometrisch zu messen. In Übereinstimmung mit anderen Forschern (1,4) stellten sie fest, dass die während der Oxydation gebildeten Fettperoxyde konjugierte Doppelbindungen enthalten, welche bei  $2300 \text{ \AA}$  absorbieren. Sie zeigten (20), dass bei gewissen Fettsäuren und ihren Estern die Beziehung zwischen ihrer spezifischen Absorption bei  $2300 \text{ \AA}$  und ihrem Peroxydgehalt konstant ist, und zwar unabhängig von der Oxydationstemperatur im Bereich von  $40\text{—}100^\circ \text{ C}$ . Die Absorption bei  $2300 \text{ \AA}$  wird indessen erst durch eine extrem starke Oxydation beeinflusst. Sie versuchten deshalb, die Oxydationsprodukte durch Absorption an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  anzureichern, indem sie das in Petroläther gelöste Fett langsam durch eine  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule zogen. Hernach wusch man

die angereicherten Oxydationsprodukte aus derselben mit absolutem Alkohol aus. Auf diese Weise konnten bereits leichte Oxydationen über die konjugierten Doppelbindungen spektrographisch festgestellt und gemessen werden. Bei MilCHFett traten — im Gegensatz zu den vegetabilen Ölen — trotz der Anreicherung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Schwierigkeiten ein, und zwar speziell, wenn das Butterfett von Anfang an ein Absorptionsmaximum bei  $2300 \text{ \AA}$  zeigte. Eine bedeutende Verbesserung wurde erreicht, wenn die Oxydationsprodukte mit einem Äther-Petroläther-Gemisch gereinigt und erst dann mit absolutem Alkohol extrahiert wurden.

Sie fanden auf diese Weise bei Fett von Winterbutter eine lineare Beziehung zwischen spezifischer Absorption bei  $2300 \text{ \AA}$  einerseits und dem Peroxydgehalt andererseits. Bei Fett von Sommerbutter mit einem relativ hohen Gehalt an konjugierten Doppelbindungen zeigte sich die lineare Beziehung erst bei fortgeschrittener Oxydation. Bei Butterfett aus Milch von mit Leinsamen gefütterten Kühen zeigte sich keine Beziehung zwischen Peroxydgehalt und Gehalt an konjugierten Doppelbindungen.

#### 5. Der Nachweis der Fettperoxyde mittels Dichlordihydroxyphenylendiamin

*Hartmann* und *Glavind* (15) fanden, dass 3,5-Dichlor-4,4'-dihydroxyphenylendiamin, die Leucobase des bekannten Redoxindikator 2,6-Dichlorphenolindophenol, mit grosser Geschwindigkeit mit organischen Peroxyden reagiert. Die Reaktion zeigt zudem keinen autokatalytischen Charakter. Diese Methode zeichnet sich durch sehr hohe Empfindlichkeit aus. Für die Berechnung der Resultate erstellt man eine Extinktionskurve von 2,6-Dichlorphenolindophenol in Beziehung zu dessen Konzentration.

Die Reagenszubereitung ist indessen ziemlich kompliziert und die Erreichung eines geringen Blindwertes nicht einfach. Ferner ist das Reagens sehr beschränkt beständig.

#### 6. Die Ferrithiozyanatmethode

##### a) Allgemeines

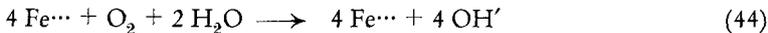
Die Ferrithiozyanatmethode weist in ihrer Entwicklung eine lange Vorgeschichte auf. Schon vor mehreren Jahren wurde das Ferrothiozyanat-reagens zur Abschätzung von Peroxydwerten in Mineralölen (12), in Fetten und vegetabilen Ölen (5) und in Kohlenwasserstoffen (60) angewandt. Später erfuhr die Methodik eine Neubearbeitung durch *Lips*, *Chapman* und *Farlane* (30). Schliesslich wurde die Methode zur Peroxydbestimmung in Milch und Milchprodukten von *Hills* und *Thiel* (17) gründlich modifiziert.

Die Autoren behaupten, dass die Methode in ihrer endgültigen Form empfindlich genug sei zur Messung oxydativer Veränderungen in der Milch von dem Zeitpunkt an, da diese das Euter verlässt.

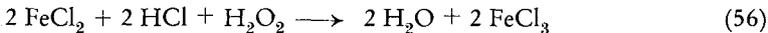
Das Prinzip des Testes besteht in der Oxydation von Ferrochlorid zu Ferrichlorid durch anwesende oxydierte Fette oder Öle in einer salzsauren Benzol-Methanollösung. Das gebildete Ferrichlorid wird seinerseits mit vorgelegtem Ammoniumthiozyanat zur Reaktion gebracht, wodurch blutrotes Ferrithiozyanat entsteht, dessen Konzentration photometrisch gemessen wird. Die Reaktion ist äusserst empfindlich, jedoch nur unter ganz bestimmten Bedingungen zuverlässig. Bei Anwesenheit von Alkaliazetat und Merkurichlorid bleibt die Färbung aus. Sie tritt bei Anwesenheit von organischen Oxyverbindungen nur in saurer Lösung auf. Ferner wird die rote Farbe durch salpetrige Säure zerstört (57).

#### b) Die Reaktionsverhältnisse

Ferroeisen wird nach der allgemeinen Gleichung:



zu Ferrieisen oxydiert. In Gegenwart von aktivem Sauerstoff und Salzsäure oxydiert Ferrochlorid zu Ferrichlorid gemäss der Gleichung:



Das gebildete Ferrichlorid reagiert mit Ammoniumthiozyanat wie folgt:



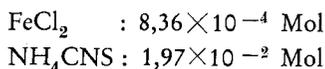
Die in Form des blutroten  $\text{Fe}(\text{CNS})_3$  photometrisch erfasste Eisenmenge verhält sich somit zum aktiv an der Reaktion beteiligten Sauerstoff wie 111,68 zu 16, d. h., dass die Sauerstoffmenge 6,98 mal kleiner ist als die effektiv gemessene Eisenmenge, wenn die Reaktion vollständig von links nach rechts verläuft. Aus der Gleichung ist indessen ersichtlich, dass der Vorgang umkehrbar ist. Die Grösse des Anteils der in die Reaktion eintretenden und der dabei entstehenden Stoffe im Gleichgewichtszustand dieser — ohne Änderung der Molzahl verlaufenden — Reaktion wird durch die Temperatur und die anfänglichen Mengenverhältnisse der reagierenden Stoffe bestimmt (Massenwirkungsgesetz von *Guldberg* und *Waage*) (45, 59).

Die Temperatur hielten wir bei allen Versuchen konstant. Das chemische Gleichgewicht der Ferrithiozyanatreaktion wurde somit ausschliesslich durch die Konzentrationsverhältnisse bestimmt. Der mathematische Ausdruck für die Ferrithiozyanatreaktion lautet im Gleichgewichtszustand:

$$\frac{[\text{Fe}(\text{CNS})_3] \cdot [\text{NH}_4\text{Cl}]^3}{[\text{FeCl}_3] \cdot [\text{NH}_4\text{CNS}]^3} = K$$

Dabei drückt K das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion und Gegenreaktion im Gleichgewichtszustand aus.

Durch die anfänglichen Konzentrationsverhältnisse kann das Gleichgewicht nach der einen oder andern Seite verschoben werden. Bis zur Beobachtung der im Abschnitt E. 5. f. beschriebenen Fehlermöglichkeit gaben wir in die stets gleich bleibende Menge (20 ccm) Benzol-Methanol-Fettlösung je 2 Tropfen wässrige Ferrochlorid- und Ammoniumthiozyanat-lösung. Von da an wurden je 0,1 ccm zugemessen. Dadurch entstanden folgende Reagenzienkonzentrationen:



Die Konzentration der Ammoniumthiozyanat-lösung war also ca. 20 mal so gross wie diejenige der Ferrochloridlösung. Durch diesen anfänglichen Konzentrationsüberschuss auf der linken Seite der Reaktionsgleichung wurde das Gleichgewicht derart verschoben, dass die Reaktion vollkommen von links nach rechts, also stöchiometrisch, verlief\*.

Wie die Versuche in Abschnitt E. 5. d. und e. zeigen, vermochten grosse Peroxydmengen und dementsprechend hohe Mengen an Reaktionsprodukten das Gleichgewicht zu verschieben. Durch Konzentrationserhöhung der in die Reaktion eintretenden Stoffe — ganz besonders des  $\text{FeCl}_2$  — konnte das Gleichgewicht wieder mehr, aber nicht mehr vollkommen, nach rechts verlegt werden. Einer weiteren wünschbaren Erhöhung der  $\text{FeCl}_2$  — oder  $\text{NH}_4\text{CNS}$ -Konzentration waren indessen Grenzen gesetzt, da bei einer Zugabe von mehr als je 0,23 ccm Ammoniumthiozyanat- und Ferrochlorid-reagens eine Trübung der Benzol-Methanol-Fettlösung eintrat.

### C. Anwendungsweise der verschiedenen Methoden zur Messung der Autoxydation

Im Abschnitt A. wurde auf die geringe Beständigkeit der Fettperoxyde hingewiesen. Dem Aufbau folgt immer wieder der Zerfall. Die Messung der momentanen Peroxyd-Konzentration gibt deshalb selten und nur unter gewissen Bedingungen (tiefe Lagertemperatur etc. und damit verbundene Hemmung des Peroxydzerfalls) Aufschluss über die bereits erfolgte Fettoxydation. In den meisten Fällen zeigt der gemessene Peroxydwert eine Art «Zwischenbilanz» im Peroxyd-Auf- und -Abbau und erfasst unter Umständen die wirklich erfolgte Gesamtoxydation nicht zuverlässig.

Aus diesem Grunde werden die Methoden zur Messung der Fettoxyda-

---

\* Allgemein kann eine umkehrbare Reaktion nahezu vollständig in der einen oder anderen Richtung geleitet werden, wenn eine der Reaktionskomponenten im Überschuss angewendet wird (45).

tion selten zur Ermittlung einzelner Peroxydwerte herangezogen, sondern vielmehr zur Messung des Oxydationswiderstandes von pflanzlichen und tierischen Fetten und Ölen, sowie von Rahm und Milch verwendet. Diese Oxydationsmessungen finden wachsende Bedeutung bei der Prüfung des Oxydationswiderstandes von Rohstoffen und bei der Ermittlung der oxydationshemmenden oder -fördernden Wirkung von Zusatzstoffen und Fabrikationsmethoden. Im Interesse einer schnelleren Messung wird die Oxydation der zu prüfenden Lebensmittel auf verschiedene Weise beschleunigt. *King, Roschen* und *Irwin* (23), sowie *Willstaedt* und *Reinart* (62), *Holm* (18), *Golden* (13), *Stebnitz* und *Sommer* (46) blasen Luft durch die zu prüfenden Fette, die vorher auf eine bestimmte, während der Versuchsdauer konstant zu haltende, Temperatur erhitzt werden. Entweder wird die Oxydation in gewissen Zeitintervallen gemessen, oder es wird der Oxydationswert zum voraus festgesetzt und die Zeit festgehalten, bis dieser erreicht wird. *Ritter* (37) sowie *Stebnitz* und *Sommer* (46) breiten Fett in dünner Schicht in einer Petrischale aus und belichten mit diffusem Tageslicht, Sonnenlicht oder verschiedenem Kunstlicht. In gewissen Intervallen werden Proben entnommen und der Oxydationsverlauf aufgezeichnet. *Ritter* (37) fördert die Oxydation, indem er das Fett acht Stunden bei  $104^{\circ}\text{C}$  hält und sodann den Peroxydanstieg misst. *Pont* (35) beschleunigt den Prozess, indem er die Milch mit Kupfer versetzt und bei tiefer Temperatur im Dunkeln eine bestimmte Zeit aufbewahrt, um nachher den Peroxydwert zu ermitteln.

So verschiedenartig die angewandten Methoden zur Beschleunigung der Fettoxydation waren, so einheitlich war die Art der Verarbeitung von Milch- und Rahmproben für die Messung der Fettoxydation. Die zu untersuchende Milch (Rahm) wurde zunächst verbuttert. Die erhaltene Butter wurde gewaschen, geschmolzen, filtriert und sodann zur Peroxydmessung benutzt. Bei diesen Arbeitsphasen hatten Luft und Licht mannigfache Gelegenheit, eine Fettoxydation einzuleiten oder eine bestehende zu fördern. Die absolute Fernhaltung von Luft und Licht gestaltete den beschriebenen Arbeitsvorgang kompliziert.

Am XII. internationalen Milchwirtschaftskongress in Stockholm wurde denn auch auf die Wünschbarkeit direkter Peroxydmessungen in Milch und Rahm hingewiesen.

Bei zahlreichen Tastversuchen zur direkten Peroxydbestimmung mit der Ferrithiozyanat-Methode beobachteten wir viele Unregelmäßigkeiten.

Es schien daher nötig, die Ferrithiozyanat-Methode nach *Hills* und *Thiel* (17) von Grund auf kritisch zu überprüfen und im Hinblick auf die direkte Peroxydmessung in Milch und Rahm genau zu studieren.

## II. Methodischer Teil

### A. Apparate

Zur Ausführung der Versuche war ein präzis regulierbares Wasserbad und ein geeignetes Kolorimeter oder Photometer zur Messung der Ferrithiozyanatkonzentration notwendig.

*Hills* und *Thiel* (17) verwendeten für ihre Untersuchungen das Klett-Beaver-Kolorimeter. Sie schufen zuerst einen künstlichen Standard, der mit der Rotfarbe des Ferrithiozyanates identisch war und dessen Stärke unter Zuhilfenahme einer standardisierten Ferrichloridlösung ermittelt und in  $\gamma$  Eisen ausgedrückt wurde. Im Strahlengang des künstlichen Standards wurde sodann ein weiteres Gefäss angebracht, das mit einer Kaliumchromatlösung gefüllt wurde, dessen Konzentration der Farbtiefe des Butterfettes entsprach.

Für die vorliegende Arbeit wurde eine Vereinfachung der Messverhältnisse durch den Einsatz des Sigrist-Ultra-Photometers\* angestrebt. Es ist dies ein direktzeigendes, elektrisches Photometer, das erstmals in der Lage ist, die sogenannte Flimmermethode auszunutzen. Der Lichtstrahl wird in raschem Wechsel durch das zu messende und das Vergleichsmedium auf eine einzige Photozelle gelenkt. Damit fallen Schwankungen der Lichtquelle sowie der Photozellencharakteristik für die Messgenauigkeit ausser Betracht. Der durch den modulierten Lichtstrahl in der Hochvakuumzelle erzeugte Photostrom wird durch einen Wechselstromverstärker verstärkt und dient als Steuerstrom für eine Messtrommel, die mit einer gekoppelten Blende vollautomatisch auf Lichtgleichheit einstellt. Auf der Messtrommel kann die Durchlässigkeit in Prozenten bzw. die Extinktion abgelesen werden. Die Verwendung der Hochvakuumphotozelle an Stelle der Selenzelle schliesst eine Übermüdung durch zu grosse Lichtintensität aus. Das in die frei stehende, bequem zugängliche Küvette einfallende Tageslicht beeinflusst das Ergebnis nicht.

### B. Vorversuche mit Ferrichlorid

#### 1. Die Auswahl des geeignetsten Filters

Bei der kolorimetrischen Messung genügt weisses oder schwach selektives Licht, da auf Farb-Gleichheit abgestellt wird. Die Photometrie beruht auf dem Prinzip der Messung gleicher Licht-Intensität.

---

\* Das Ultra-Photometer wurde dem Verfasser von Herrn Dr. W. Sigrist, Ennetbürgen, leihweise zur Verfügung gestellt. Ich möchte ihm an dieser Stelle aufrichtig dafür danken.

Den photometrischen Konzentrationsmessungen liegt das Lambert-Beersche Gesetz

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d \cdot E \quad (32)$$

zu Grunde.

- I<sub>0</sub> = eingestrahlte Lichtintensität
- I = durchgelassene Lichtintensität
- ε = Extinktionskoeffizient
- c = Konzentration
- d = Schichtdicke
- E = Extinktion

Die Extinktion ihrerseits steht mit der Durchlässigkeit (D<sup>0/0</sup>) in folgendem Zusammenhang:

$$E = -\log \frac{D^{0/0}}{100} = \log \frac{100}{D^{0/0}} = \log 100 - \log D^{0/0} = 2 - \log D\%$$

Der Extinktionskoeffizient stellt für weisses Licht einen Mittelwert dar und setzt sich aus denjenigen der einzelnen Strahlenarten zusammen. Beim Durchlauf einer absorbierenden Substanz werden die einzelnen Wellenlängen des Lichtes verschieden stark absorbiert und ε wird dann, wenn — wie bei photometrischen Messungen — auf gleiche Lichtintensität abgestellt wird, konzentrationsabhängig.

Aus diesem Grunde muss mit Hilfe eines Monochromators oder mit Schmalbandfiltern jener Spektralbereich gesucht werden, bei dessen Wellenlängen eine beliebige Farbkonzentration eine maximale Extinktion zur Folge hat. Auf diese Weise erhält das Lambert-Beersche Gesetz seine Gültigkeit.

#### Versuchs anordnung

Schichtdicke: Sie betrug für die Mess- und Vergleichsküvette immer 10,0 mm

Filter: Es standen zwölf Schmalbandfilter der Corning-Glass Works mit nicht mehr als 30 m $\mu$  Bandbreite zur Verfügung.

Die Vergleichsküvette wurde mit reiner Benzol-Methanollösung gefüllt.

Die Messküvette füllten wir mit einer Benzol-Methanollösung, die in 20 ccm 0,1 ccm verdünnte Ferrichloridlösung und 2 Tropfen Ammoniumthiozyanat reagens enthält. Die Herstellung des letzteren ist im Abschnitt II. B. a. beschrieben.

Das Volumenverhältnis vom Benzol zum Methanol beträgt in allen in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen 70 zu 30.

Die photometrischen Messergebnisse aller in dieser Arbeit beschriebenen Versuche werden durch die hundertfache Extinktion ausgedrückt, in der Folge mit E h - W e r t bezeichnet.

Aus Tabelle 1 ist die Lage des Extinktionsmaximums der Ferrithiozyanatfarbe im Spektrum ersichtlich.

Tabelle 1

*Die Lage des Extinktionsmaximums der  
Ferrithiozyanatfarbe im Spektrum*

Filter No.	Wellenlänge in $m\mu$	Eh-Wert
1	390	8,09
2	420	13,08
3	440	21,08
4	465	28,78
5	490	36,65
6	515	38,19
7	550	29,24
8	575	17,07
9	595	10,24
10	620	6,78
11	640	3,62
12	660	2,92

Die Ferrithiozyanatfarbe hat ihr Extinktionsmaximum bei 515  $m\mu$ . Eine noch engere Begrenzung des Spektralbereiches, wie sie anstelle des 30  $m\mu$  breiten Filters beispielsweise durch einen Monochromator ermöglicht würde, ist unnötig, da die Extinktionskurve in diesem Bereich relativ flach verläuft.

Es ist unumgänglich notwendig, den im Handel bezogenen Filter daraufhin prüfen zu lassen, ob die Wirkung mit der Beschriftung übereinstimmt. Anfänglich arbeitete ich mit einem 515  $m\mu$ -Filter, dessen Fehlerhaftigkeit erst nach einigen Monaten erkannt wurde. Er besass statt nur einem, zwei unweit nebeneinanderliegende Extinktionsmaxima. Die damit erzielten Messungen waren daher falsch.

## 2. Die Reagenzien

In Übereinstimmung mit den Anforderungen von *Hills* und *Tbiel* (17) und denjenigen von *Treadwell* (57) wurde auf hochgradige reine und, was das Bariumchlorid und Ammoniumthiozyanat anbetrifft, auf möglichst eisenfreie Chemikalien geachtet. Das Ammoniumthiozyanat war ein *Merck*-Reagenz.

#### a) Die Herstellung der Ammoniumthiocyanatlösung

Das Vorgehen war wie folgt: Einwaage von 50 g  $\text{NH}_4\text{CNS}$  in ein Becherglas und Zugabe von ca. 15 ccm dest. Wasser. Einstellen des Becherglases in heisses Wasser und Rühren des Inhaltes mit einem Glasstab bis zur völligen Lösung. Becherglas in kaltem Wasser auf Zimmertemperatur abkühlen und den Inhalt mittelst Trichter in einen 50 ccm-N.P.-Messkolben, der zuvor mit  $\text{CO}_2$  gefüllt wurde, giessen. Sodann mit dest. Wasser bis zur Marke auffüllen. Die Lösung wird nach guter Durchmischung in ein braunes, mit  $\text{CO}_2$  gefülltes Fläschchen gegossen und mit einem Gummistopfen, in dem eine graduierte 2 ccm-N. P.-Messpipette mit Schellbachstreifen und gekrümmtem Auslauf steckt, verschlossen.

#### b) Die Ferrichloridlösung

Die Fa. Siegfried, Zofingen, stellte nach Vorschrift eine wässrige Stammlösung von *Ferrum sesquichloratum purissimum* mit einem Gehalt von 10 g  $\text{Fe}^{+++}$  und 100 ccm 10 n HCl pro Liter her.

### 3. Die Glaswaren

Die zur Messung gelangenden Lösungen, inklusive der nötigen Reagenzien, wurden in 100 ccm-Erlenmeyerkolben mit *Glasstopfen* eingefüllt. In einzelnen Fällen gelang der Nachweis einer Beeinflussung von früheren Messungen her. Seither wurden sämtliche Glaswaren nach vorausgehender guter Waschung mit Sodawasser und reichlichem Spülen mit sauberem, heissem Wasser ca. 8–10 Stunden in mindestens  $\frac{1}{4}$  n-Salzsäure eingelegt und sodann reichlich mit dest. Wasser gespült und im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Auf diese Weise konnten die Störungen ausgeschaltet werden.

### 4. Der Einfluss des Lichtes

Es wurde beobachtet, dass eine zur Messung bereite Lösung bei längerer Wartezeit einen Farbintensitäts-Verlust aufwies. Zur genaueren Erfassung dieser Erscheinung musste eine Versuchsserie angelegt werden. Die eine Hälfte der Proben verblieb im Tageslicht, während die andere im Dunkel behalten wurde. Für die Herstellung der Versuchslösung wurden 10 ccm  $\text{FeCl}_3$ -Stammlösung und 9 ccm 10 n-HCl in einen 1000 ccm N. P.-Messkolben eingemessen und mit dest. Wasser auf die Marke aufgefüllt. Die gut durchmischte Lösung besass somit einen Gehalt von 10 mg  $\text{Fe}^{+++}$  und 1 ccm HCl/100 ccm. Die Salzsäurekonzentration war damit gleich wie bei der in der Originalarbeit von *Hills* und *Thiel* (17) erwähnten Ferrieisen-Standardlösung. (Günstiger pH-Wert für die optimale Farbbildung.) Von dieser

Lösung wurden sowohl zu 200 ccm gewöhnlichem wie zu 200 ccm redestilliertem Benzol und Methanol je 1 ccm zugegeben. Die Prüfung mit gewöhnlichem Benzol und Methanol einerseits und redestilliertem andererseits erfolgte aus der Erwägung heraus, dass ein allfälliger erhöhter Wassergehalt des Methanols oder Verunreinigungen im Benzol und Methanol in ihrer Wirkung gleich mitbeobachtet werden könnten.

In jeden Erlenmeyerkolben wurden 20 ccm Lösung eingemessen und sodann 2 Tropfen  $\text{NH}_4\text{CNS}$ -Lösung zugefügt. Zur Farbentwicklung stellten wir die Kölbchen während 2 Minuten in ein Wasserbad von  $50^\circ \text{C}$ . Anschliessend verbrachte man sie, wie bei allen in dieser Arbeit niedergeschriebenen Versuchen, in ein Kaltwasserbad von  $18\text{--}20^\circ \text{C}$ , worin sie jeweils bis zur Messung verblieben. Die Resultate sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2

*Der Einfluss von mittelstarkem, diffusem Tageslicht  
auf die Ferrithiozyanatfarbe*

Zeit in Minuten von der Warm- wasserbad- behandlung bis zur Messung	Redestilliertes Benzol und Methanol		Zeit in Minuten von der Warm- wasserbad- behandlung bis zur Messung	Gewöhnliches Benzol und Methanol	
	Licht	Dunkel		Licht	Dunkel
	Eh-Wert			Eh-Wert	
25	13,52	13,52	25	13,22	13,22
63	11,63	13,52	55	11,63	13,08
70	10,79	13,52	65	11,04	13,22
90	10,10	13,52	77	10,48	13,08
105	9,69	13,08	95	10,10	12,75
120	9,29	12,75	110	9,69	12,75
135	8,75	12,75	123	9,39	12,75
155	8,75	12,75	140	9,02	12,75

Die Messungen zeigen deutlich, dass die Ferrithiozyanatfarbe durch das Licht eine Schwächung erfährt, die zu erheblichen Fehlern führen muss. Dagegen sind keine Unterschiede bei der Verwendung von gewöhnlichem gegenüber redestilliertem Benzol und Methanol feststellbar.

Zur groben Abschätzung des Einflusses grösserer Lichtstärke auf den Ausbleichprozess der Ferrithiozyanatfarbe wurde derselbe Versuch in nahezu gleicher Weise bei stärkerer Lichtintensität wiederholt. Als Test kam eine einheitliche Benzol-Methanol-Ferrichloridlösung zur Anwendung. Die Herstellung erfolgte durch Zugabe von 2 ccm Ferrichloridlösung mit einem Gehalt von ca. 30 000  $\gamma$   $\text{Fe}^{\dots}$  und 1 ccm  $\text{HCl}/100$  ccm zu 450 ccm Benzol-Methanollösung. Nach guter Durchmischung erhielten davon alle Erlen-

meyerkolben je 20 ccm und anschliessend zusätzlich 2 Tropfen Ammoniumthiozyanatlösung. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 enthalten.

Tabelle 3

*Der Einfluss von starkem, diffusem Tageslicht auf die Ferrithiozyanatfarbe*

Wartezeit in Minuten vom Ende Kaltwasserbad bis zur Messung	Eh-Wert	
	Gruppe Dunkel	Gruppe Licht
0	35,16	35,16
15	34,92	12,18
30	35,16	8,09
45	35,16	6,30
60	35,16	5,31
75	34,92	5,31
90	34,92	5,31
105	35,16	5,06

Die grössere Lichtintensität wirkte sich stark aus. Zwischen ihr und der Ausbleichung der Ferrithiozyanatfarbe besteht eine positive Korrelation.

Zwei Erlenmeyerkolben wurden mit 20 ccm Benzol-Methanol-Ferrichloridlösung bis zum Versuchsende aufbewahrt und dann erst mit je 2 Tropfen Ammoniumthiozyanatlösung versetzt. Die Messung ergab für die im Dunkel gehaltenen Proben einen Eh-Wert von je 36,15 und für die im Licht gehaltenen Proben einen solchen von je 36,65. Daraus geht hervor, dass das Licht nicht auf das Ferrichlorid, sondern auf den gebildeten Farbkomplex selbst einwirkt.

Sämtliche Erlenmeyerkolben mit den zu messenden Lösungen wurden bei späteren Versuchen mit Lichtschutzhüllen aus lichtundurchlässigem, schwarzem Stoff versehen.

*5. Der Einfluss der Wärmebehandlung auf die Entwicklung der Ferrithiozyanatfarbe*

Bei dem Versuch zur Feststellung des Einflusses der Wasserbadtemperatur auf die Farbentwicklung blieben die Messergebnisse über den ausgewählten Temperaturbereich von 20—70 ° C nahezu konstant. Bei allen Versuchen wurde deshalb an der in der Originalarbeit von *Hills* und *Thiel* (17) vorgeschriebenen Wasserbadtemperatur von 50 ° C festgehalten.

Vergleichende Serienuntersuchungen zeigten, dass die von *Hills* und *Thiel* (17) vorgeschlagene Dauer von 2 Minuten für die Wasserbadbehandlung bei 50 ° C zur Farbentwicklung genügt.

## C. Die Aufnahme der Eisen-Eichgeraden

### 1. Allgemeines und Herstellungsweise der für die Messung verwendeten Lösungen

Die Auswertung der Erfahrungen aus den Vorversuchen reduzierte die Messwertstreuung auf ein Minimum und schuf die Grundlage für die Erstellung einer Eisen-Eichgeraden. Zur Erreichung grösstmöglicher Genauigkeit und Zuverlässigkeit wurde vorgesehen, die Eichgerade durch 20 experimentell zu bestimmende Punkte festzulegen.

Als Ausgangsmaterial diente die von Siegfried, Zofingen, hergestellte wässrige Lösung von Ferrum sesquichloratum mit einem Gehalt von 10 g Fe und 100 ccm 10 n-HCl/Liter. Von dieser Stammlösung wurde eine

Tabelle 4

### *Experimentell ermittelte Messwerte der Benzol-Methanol-Lösungen mit verschiedenem Ferrithiozyanatgehalt*

Fe <sup>+++</sup> -Gehalt von 20 ccm Benzol- Methanol-Lösung in γ	Gemessene Durchlässigkeit in Prozenten gegenüber reinem Benzol-Methanol + 2 Tropfen NH <sub>4</sub> CNS, ohne zugefügtes Fe <sup>+++</sup>			Arithmetischer Mittelwert aus den 3 Proben, auf 0,25 % auf- bzw. abgerundet	Eh-Wert
	Erlenmeyerkolben No.				
	1	2	3		
5,0	87,1	87,1	87,0	87,00	6,05
10,0	73,9	74,1	74,1	74,00	13,08
15,0	62,7	62,8	62,7	62,75	20,24
20,1	54,0	53,9	54,1	54,00	26,76
25,0	45,5	45,6	45,6	45,50	34,20
30,0	38,6	38,9	39,0	38,75	41,17
35,2	32,7	32,5	32,6	32,50	48,81
40,3	28,5	28,6	28,6	28,50	54,52
45,1	23,8	23,7	23,6	23,75	62,43
50,2	21,0	21,1	21,1	21,00	67,78
55,2	17,5	17,6	17,6	17,50	75,70
60,0	14,5	14,6	14,4	14,50	83,86
65,4	12,0	12,1	12,0	12,00	92,08
70,3	10,7	10,5	10,5	10,50	97,88
75,3	9,4	9,2	9,2	9,25	103,39
80,2	7,8	7,7	7,8	7,75	111,07
85,6	6,7	6,7	6,6	6,75	117,07
90,2	5,7	5,8	5,7	5,75	124,03
95,3	5,1	5,0	5,1	5,00	130,10
100,5	4,1	4,1	4,0	4,00	139,79

Verdünnung hergestellt durch Abmessung von 50 ccm in einen 500 ccm-N. P.-Messkolben unter nachheriger Ergänzung mit dest. Wasser auf 500 ccm. Die Lösung wurde mehrere Stunden im Dunkeln aufbewahrt und von Zeit zu Zeit gelinde durchgeschüttelt. Die ausgeglichene Lösung besass einen Gehalt von 100 mg Fe und 1 ccm 10n HCl/100 ccm und wurde zur Herstellung weiterer Verdünnungen benützt.

Die zugegebenen Salzsäuremengen wurden den einzelnen Verdünnungen derart angepasst, dass in der fertigen, verdünnten Lösung jeweils 1 ccm 10n HCl/100 ccm enthalten war.

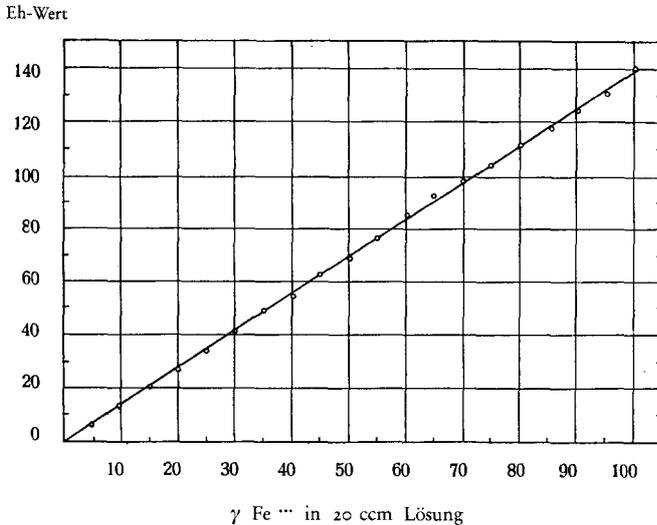
Von insgesamt 20 gewählten Verdünnungen wurden je drei 100 ccm Erlenmeyerkolben mit 20 ccm beschickt und je 2 Tropfen  $\text{NH}_4\text{CNS}$ -Lösung zugefügt.

## 2. Die Messergebnisse und ihre statistische Überprüfung

Die Messresultate sind in Tabelle 4 zusammengefasst und in der Abbildung 1 graphisch wiedergegeben.

Abbildung 1

*Eh-Werte von Benzol-Methanollösungen mit verschiedenem Ferrithiozyanatgehalt*



Aus der graphischen Aufzeichnung ist ersichtlich, dass die Messwerte eine gewisse Streuung aufweisen, weshalb sie mit dem Ausgleichs- und Berechnungsverfahren für linear verlaufende Umsetzungen nach *Dannacher* (7) geprüft wurden.

Zur Berechnung des eventuellen x-Achsenabschnittes der ausgeglichenen Eichlinie, des Richtungsstangens, sowie der mittleren Fehler mussten zunächst aus den Einzelzahlen die Summen von x (Fe---Mengen in  $\gamma$ ), y (Eh-Wert), xy,  $x^2$  und  $y^2$  ermittelt werden (Tabelle 5).

Tabelle 5

*Summenbildung von x, y, xy,  $x^2$  und  $y^2$*

Messung No.	x	y	xy	$x^2$	$y^2$
1	5,0	6,05	30,250	25,00	36,603
2	10,0	13,08	130,800	100,00	171,086
3	15,0	20,24	303,600	225,00	409,658
4	20,1	26,76	537,876	404,01	716,098
5	25,0	34,20	855,000	625,00	1 169,640
6	30,0	41,17	1 235,100	900,00	1 694,969
7	35,2	48,81	1 718,112	1 239,04	2 382,416
8	40,3	54,52	2 197,156	1 624,09	2 972,430
9	45,1	62,43	2 815,593	2 034,01	3 897,505
10	50,2	67,78	3 402,556	2 520,04	4 594,128
11	55,2	75,70	4 178,640	3 047,04	5 730,490
12	60,0	83,86	5 031,600	3 600,00	7 032,500
13	65,4	92,08	6 022,032	4 277,16	8 478,726
14	70,3	97,88	6 880,964	4 942,09	9 580,494
15	75,3	103,39	7 785,267	5 670,09	10 689,492
16	80,2	111,07	8 907,814	6 432,04	12 336,545
17	85,6	117,07	10 021,192	7 327,36	13 705,385
18	90,2	124,03	11 187,506	8 136,04	15 383,441
19	95,3	130,10	12 398,530	9 082,09	16 926,010
20	100,5	139,79	14 048,895	10 100,25	19 541,244
$\Sigma$	1 053,9	1 450,01	99 688,483	72 310,35	137 448,860

Die mathematischen Formeln zur Berechnung des x-Achsenabschnittes a und des Richtungsstangens m der ausgeglichenen Geraden sind:

$$a = \frac{\Sigma xy \cdot \Sigma x - \Sigma x^2 \cdot \Sigma y}{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y} \quad m = \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} \quad (7)$$

Werden die aus der vorgängigen Tabelle ersichtlichen Zahlen in die Formeln eingesetzt, so ergeben sich für a und m folgende Werte:

$$a = \frac{105\,061\,692,23 - 104\,850\,730,60}{1\,993\,769,66 - 1\,528\,165,54} = \frac{210\,961,63}{465\,604,12} = \underline{\underline{0,4531}}$$

$$m = \frac{1\,993\,769,66 - 1\,528\,165,54}{1\,446\,207,00 - 1\,110\,705,21} = \frac{465\,604,12}{335\,501,79} = \underline{\underline{1,3878}}$$

Wie in der Arbeit von *Dannacher* (7) erwähnt, dürfen alle Messpunkte, die ausserhalb des Bereiches des vierfachen Ordinatenfehlers liegen, bei sehr hohen Messgenauigkeitsanforderungen nicht zur Berechnung von  $a$  und  $m$  herangezogen werden. Zur Berechnung des Ordinatenfehlers bedarf man zunächst der Summe der quadratischen Abweichungen der Messresultate ( $= \Sigma v^2$ ) von der ausgeglichenen Geraden.

$$\Sigma v^2 = \Sigma y^2 + ma \cdot \Sigma y - m \cdot \Sigma xy$$

Die Einsetzung der effektiven Werte ergibt:

$$\begin{aligned} \Sigma v^2 &= 137\,448,86 + 0,629 \cdot 1\,450,01 - 1,3878 \cdot 99\,688,483 = \\ &= 138\,360,92 - 138\,347,68 = \underline{13,24} \end{aligned}$$

Die Formel zur Berechnung des mittleren Ordinatenfehlers lautet :

$$f = \pm \sqrt{\frac{\Sigma v^2}{n(n-1)}}$$

$n = \text{Anzahl der gemessenen Punkte}$

Beim vorliegenden Versuch beträgt demnach der mittlere Ordinatenfehler:

$$\begin{aligned} f &= \pm \sqrt{\frac{13,24}{380}} = \pm \underline{0,1867} \\ 4f &= \pm 0,7468 = \text{rd. } \underline{0,75} \end{aligned}$$

Addiert man die einzeln errechneten Fehlerquadrate, so ergibt sich eine Summe von 14,53 und ein mittlerer vierfacher Ordinatenfehler von 0,78.

Alle experimentell bestimmten Messpunkte, deren Abweichung von der ausgeglichenen Geraden mehr als  $\pm 4f$  beträgt, müssen ausgeschaltet werden und zwingen zur Wiederholung des Ausgleichs- und Berechnungsverfahrens (7). Zu deren Ermittlung wurde analog zu jedem praktisch ermittelten Messpunkt der dazugehörige berechnete Wert  $y = m \cdot (x - a)$  festgehalten und die Differenz gebildet. Die erhaltenen Werte wurden in der Tabelle 6 zusammengefasst. Zur besseren Beurteilungsmöglichkeit der Fehlergrösse enthält die Tabelle eine Zusatzkolonne, in der die tatsächlichen Fehler in Prozenten der berechneten Eh-Werte ausgedrückt sind.

Allgemein sind die Fehler, ausgedrückt in Prozenten des jeweiligen Eh-Wertes, normal und nicht zu gross. Von der ersten Messung abgesehen, bewegen sie sich zwischen 0—2 %. Die Messpunkte mit den Eh-Werten 67,78, 83,86, 92,08, 97,88, 117,07, 130,10 und 139,79 weichen am stärksten von der ausgeglichenen Geraden ab. Sie durchbrechen die Fehlerschranke  $\pm 4f$  und sind somit aus dem Berechnungsverfahren auszuschalten, obwohl ihre Abweichungen — in den Durchlässigkeitsmessbereich übertragen — im Maximum 0,5—0,6 % Durchlässigkeit ausmachen.

Tabelle 6

*Differenzen zwischen den experimentell ermittelten  
und berechneten Eh-Werten*

Experimentell ermittelter Eh-Wert	Berechneter Eh-Wert $m \cdot (x-a)$	Differenz (Fehler)	Fehler, ausgedrückt in Prozenten der be- rechneten Gesamt- extinktion
6,05	6,31	0,26	— 4,12
13,08	13,25	0,17	— 1,28
20,24	20,19	0,05	+ 0,25
26,76	27,27	0,51	— 1,87
34,20	34,07	0,13	+ 0,38
41,17	41,01	0,16	+ 0,39
48,81	48,22	0,59	+ 1,22
54,52	55,30	0,78	— 1,41
62,43	61,96	0,47	+ 0,76
67,78	69,04	1,26	— 1,83
75,70	75,98	0,28	— 0,37
83,86	82,64	1,22	+ 1,48
92,08	90,13	1,95	+ 2,16
97,88	96,93	0,95	+ 0,98
103,39	103,87	0,48	— 0,46
111,07	110,67	0,40	+ 0,36
117,07	118,17	1,10	— 0,93
124,03	124,55	0,52	— 0,42
130,10	131,63	1,53	— 1,16
139,79	138,85	0,94	+ 0,68

Die Wiederholung des Ausgleichs- und Berechnungsverfahrens ohne die genannten Punkte ergab für  $x$ ,  $y$ ,  $xy$  und  $x^2$  die aus Tabelle 7 ersichtlichen Summen.

Tabelle 7

*Summen von  $x$ ,  $y$ ,  $xy$  und  $x^2$  nach Ausschluss der  
gemäss der statistischen Überprüfung als fehlerhaft geltenden Messwerte*

Summen von:			
$x$	$y$	$xy$	$x^2$
526,6	721,45	41 882,714	30 461,36

Werden die in der Tabelle 7 wiedergegebenen Zahlen in die Formeln zur Berechnung von  $a$  ( $x$ -Achsenabschnitt) und  $m$  (Richtungstangens) eingesetzt, so ergeben sich die Werte :

$$\underline{a_E = 0,481} \quad \underline{m_E = 1,3865}$$

Die ausgeglichene Eichlinie geht somit — wie diejenige der meisten praktischen Messungen — nicht genau durch den Nullpunkt des Koordinatensystems. Die Formel zur Berechnung der einem gemessenen Eh-Wert entsprechenden Fe<sup>+++</sup>-Menge in  $\gamma$  lautet demnach:

$$x = \frac{y}{m} + a = \frac{y}{1,3865} + 0,481$$

## D. Vorversuche mit Ferrochlorid ohne Beteiligung von Milchfett

### 1. Die Reagenzien

Als neue Reagenzien, neben dem bereits bisher gebrauchten Ammoniumthiozyanat, kamen das Bariumchlorid und das Ferrosulfat hinzu. Beide wurden zur Herstellung des Ferrochlorids ( $\text{FeCl}_2$ ) benötigt.

Das Bariumchlorid ( $\text{BaCl}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$ ) war ein Produkt der Firma Riedel-De-Haen AG., Seelze bei Hannover. Das Ferrosulfat ( $\text{FeSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$ ) war ein reines Merck-Produkt.

### 2. Die Herstellung des Ferrochlorids

Es wurden jeweils genau 0,4 g Bariumchlorid sowie 0,5 g Ferrosulfat abgewogen. Die beiden abgewogenen Salze wurden, je für sich, mit dest. Wasser in je ein 50 ccm-N.P.-Messkölbchen übergespült. Sodann füllte man mit dest. Wasser zur Marke auf. Nachher wurden die Kölbchen zur völligen Lösung der Salze (ca.  $\frac{1}{4}$  Stunde) ins Dunkel gestellt, alsdann die Ferrosulfatlösung in ein 100 ccm-N.P.-Messkölbchen gegossen, schliesslich unter ständiger rotierender Bewegung die Bariumchloridlösung und anschliessend ebenso 2 ccm 10 n-HCl langsam zugegeben. Sodann stellte man die Lösung nach gründlicher Durchmischung zur Absetzung des Bariumsulfatniederschlags für minimal zwei bis drei Stunden an einen dunklen Ort. Nach dieser Zeit konnte die überstehende, klare  $\text{FeCl}_2$ -Lösung durch einen Green-Filter Nr. 797 in eine braune Flasche filtriert werden. Diese wurde mit einem durchbohrten Gummistopfen, in dem eine graduierte 2 ccm-N.P.-Messpipette mit Schellbachstreifen und gekrümmtem Auslauf steckte, verschlossen.

Trotz der hochgradig reinen Chemikalien und sorgfältigster Arbeit

- 
- x == Fe<sup>+++</sup>-Menge in  $\gamma$  pro 20 ccm Benzol-Methanol
  - y == Gemessener Eh-Wert
  - $a_E$  == x-Achsenabschnitt der Eichlinie
  - $m_E$  == Richtungstangens der Eichlinie

waren die Blindwerte anfänglich zu gross. Nach einem erfolglosen Reduktionsversuch mit Cadmium wurden folgende ergänzende Vorkehrungen mit Erfolg angewandt.

Das käufliche Merck-Ferrosulfat wurde einige Wochen vor dem erstmaligen Gebrauch in eine ungefähr doppelt so grosse, mit Kohlensäure gefüllte Flasche geschüttet. Im Verlaufe dieser Zeit wurde das Salz wiederholt geschüttelt und die Flasche jedesmal erneut mit  $\text{CO}_2$  ausgeblasen und verschlossen. So ist später auch nach jeder Salzentnahme verfahren worden. Ferner wurden die N.P.-Messkölbchen, in die das Bariumchlorid einerseits und das Ferrosulfat andererseits gespült wurden, sowie das 100 ccm-N.P.-Messkölbchen, in das beide Lösungen eingegossen, und schliesslich das Fläschchen, in welches die überstehende Ferrochloridlösung filtriert wurde, vor Gebrauch mit  $\text{CO}_2$  gefüllt.

Das Fernhalten des Luftsauerstoffs durch die Herstellung einer Kohlensäureatmosphäre ist mit der Carba-Kapsel\* leicht zu bewerkstelligen und erschwert die Arbeitsbedingungen nicht. Der Eh-Wert der Blindprobe (Benzol-Methanol + die Reagenzien  $\text{FeCl}_2$  und  $\text{NH}_4\text{CNS}$ ) blieb von da an innerhalb der Grenzen 1,77—4,58.

### *3. Die Art der Mischung von Ferrochlorid und Ammoniumthiozyanat in der Benzol-Methanol-Lösung*

Die beiden Reaktionspartner müssen zusammen mit der Benzol-Methanol-Lösung und allfällig anwesenden Peroxyden in den 100 ccm-Erlenmeyerkolben vor der Wasserbadbehandlung gemischt werden. Es blieb die Frage offen, ob evtl. bei starker Schüttelwirkung die im Kölbchen befindliche Luft oxydativ und damit farbverstärkend wirken könnte. Die Frage wurde durch zwei Versuchsgruppen mit je 10 Erlenmeyerkolben geprüft. Fünf Kolben jeder Gruppe erhielten je 3,5  $\gamma$  und fünf je 16  $\gamma$   $\text{O}_2$  in Form von je 0,05 ccm verschieden konzentrierter  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung. Damit sollte ein allfälliger Luftsauerstoffeinfluss gleichzeitig in seiner Wirkung auf verschiedene Farbkonzentrationen erfasst werden. Während die Erlenmeyerkolben der einen Gruppe 10 Sekunden kräftig geschüttelt wurden, hielt man diejenigen der anderen Gruppe auf der Tischplatte 10 Sekunden in ruhig kreisender Bewegung. Die Schüttelwirkung verursachte weder bei den niedrigen noch bei den hohen Farbkonzentrationen eine Verstärkung. Dagegen liess sich eher eine scheinbar grössere Ausgeglichenheit der gemessenen Werte feststellen.

Im Interesse absoluter Sicherheit wurde trotz der erzielten Resultate an der kreisenden Bewegung, welche von da an etwas intensiviert wurde, festgehalten.

---

\* Im Handel befindliche Aluminiumkapsel der Fa. Carba A.-G., Zürich, mit einem Nettoinhalt von 150 g  $\text{CO}_2$ .

Die Bewegungsdauer von 10 Sekunden wurde für alle in dieser Arbeit erwähnten Versuche eingehalten.

#### 4. Die Feststellung des Lichteinflusses auf messbereite Proben bei deren Stehenlassen

Ein Versuch zeigte, dass bei Vorhandensein von Ferrochlorid, aktivem Sauerstoff und  $\text{NH}_4\text{CNS}$  die gebildete Ferrithiozyanatfarbe durch das Licht ebenso geschwächt wird, wie dies früher, bei der direkten Vorlage von Ferrichlorid und  $\text{NH}_4\text{CNS}$ , der Fall war.

### E. Vorversuche mit Ferrochlorid unter Beteiligung von Milchfett

#### 1. Die Art der Mischung von Ammoniumthiozyanat und Ferrochlorid in der Benzol-Methanol-Fettlösung

Der diesbezügliche Versuch wurde, abgesehen von der einen Ausnahme, dass an Stelle von Wasserstoffsuperoxyd ein oxydiertes Butterfett zur Anwendung gelangte, genau gleich wie im vorangehenden Abschnitt durchgeführt. Die Ergebnisse waren die gleichen.

#### 2. Der Einfluss des Lichtes auf die zur Messung bereitgestellten Proben

Es war interessant, zu wissen, ob die bereits bekannte Lichtwirkung auch bei Gegenwart von Fett in Erscheinung trete. Die Resultate der dazu angestellten Versuche sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8

*Der Einfluss des Lichtes auf das in der Benzol-Methanol-Fettlösung vorhandene Ferrithiozyanat*

Wartezeit in Minuten vom Ende Kaltwasserbad bis zur Messung	Eh-Wert	
	Gruppe Dunkel	Gruppe Licht
0	24,79	24,41
15	24,79	22,51
30	24,79	21,47
45	24,99	19,72
60	24,99	18,88
75	24,99	18,88
90	25,38	18,05
105	25,57	16,91
120	26,32	16,91

Der Versuch erfuhr dadurch eine Ergänzung, dass vier Erlenmeyerkolben — zwei am Licht und zwei im Dunkeln — mit dem darin befindlichen Benzol-Methanol-Fettgemisch bis zum Versuchsende aufbewahrt wurden. Erst dann erfolgten die Reagenzienzugaben und die üblichen Wasserbadbehandlungen. Die sofort anschliessend ausgeführte Messung ergab für die im Dunkeln aufbewahrten Proben einen Eh-Wert von je 24,79 und für die im Licht aufbewahrten einen solchen von je 25,92. Damit ist bewiesen, dass das Licht keine oder höchstens eine geringfügige Oxydation im Benzol-Methanol-Fettgemisch hervorrief und bezüglich des Ausbleichens allein auf die Ferrithiozyanatfarbe einwirkte.

Allgemein ist aus den Versuchsergebnissen der in Gegenwart von Fett unverminderte Lichteinfluss erkennbar, der schon nach 15 bis 30 Minuten Fehlmessungen bewirkt.

### *3. Die Fettfarbe und ihre Einwirkung auf die Lage des Extinktionsmaximums der Ferrithiozyanatfarbe im Spektrum*

Mit früheren Versuchen wurde bewiesen, dass die Ferrithiozyanatfarbe ihr Extinktionsmaximum bei 515  $m\mu$  hat. Es blieb die Frage offen, ob die gelbe Butterfarbe mit dem roten Ferrithiozyanat nicht eine Mischfarbe bilden würde mit einem Extinktionsmaximum ausserhalb von 515  $m\mu$ . Die Bedingungen für das Lambert-Beer'sche Gesetz unter Verwendung des bisherigen 515  $m\mu$ -Filters wären in diesem Fall nicht mehr erfüllt und die früher experimentell bestimmte Eichgerade bei Messungen mit Butterfett unzulässig.

Zur Abklärung der Verhältnisse dienten zwei Versuche, wobei einmal frisches und sodann fischiges Butterfett zur Anwendung gelangte. Bei beiden Versuchen stellten wir in den Vergleichs- und Messstrahlengang des Photometers je zwei Küvetten, füllten alle mit reiner Benzol-Methanol-Lösung und glichen alsdann auf 100 % Durchlässigkeit ab (Anordnung 1). Hernach erfolgte die Messung der Anordnungen zwei bis vier und sodann fünf und sechs.

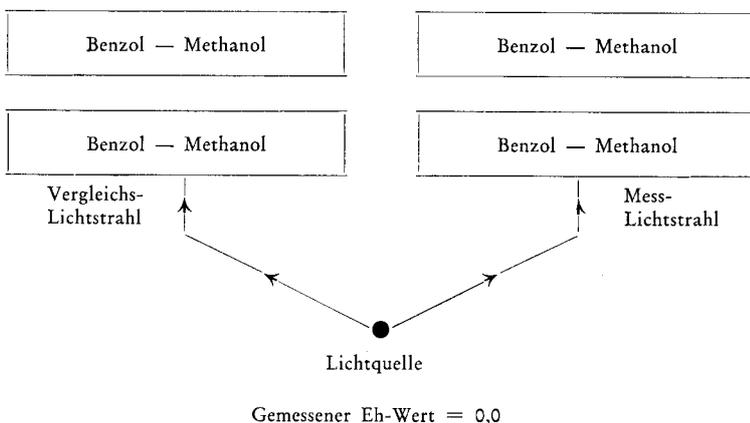
Die Herstellung der einheitlichen Benzol-Fettlösung geschah bei der frischen wie fischigen Butter wie folgt:

In zwei zylindrische Zentrifugengläser wurden je 0,8 g Butter eingewogen, und sodann wurde 45 ° C warmes Benzol bis zur Marke von 30 ccm eingefüllt. Anschliessend zentrifugierte man 15 Minuten bei 1400 Touren/Min. und goss nachher die klare, überstehende Benzol-Fettlösung der beiden Röhrchen (ca. 55 cm) in einen 100 ccm-Erlenmeyerkolben, schüttete 20 ccm Benzol dazu, vertrieb die darin befindliche Luft mit einem CO<sub>2</sub>-Strom, verschloss das Kölbchen mit einem Glasstopfen und mischte es gut durch.

Die zur Messung in den Küvetten benötigten Lösungen wurden immer in einem 100 ccm-Erlenmeyerkolben in der Menge von 20 ccm bereitgestellt. Die fetthaltige Lösung setzte sich beim frischen wie beim fischigen Butterfett aus 14 ccm Benzol-Fettlösung und 6 ccm Methanol sowie den jeweils benötigten Reagenzien zusammen.

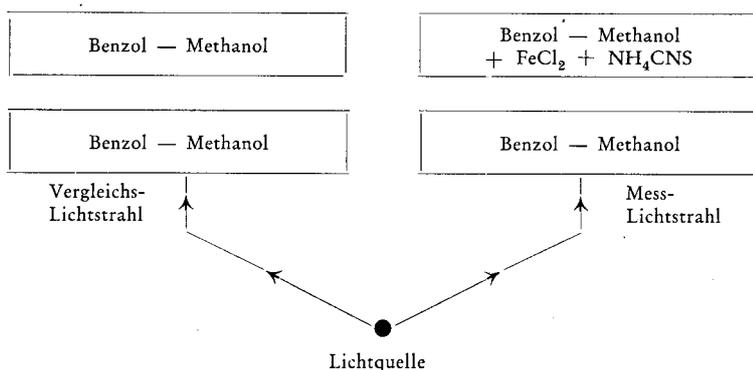
Anordnung 1

*Photometerabgleich*



Anordnung 2

*Messung der Blindwertextinktion*

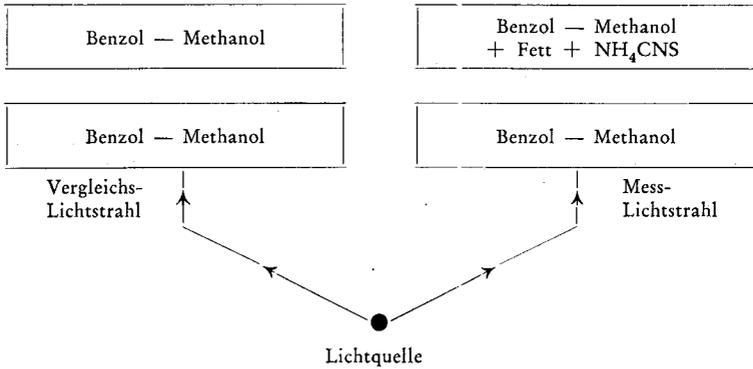


Gemessener Eh-Wert = 1,55

{ Gültig für die Versuchsanordnungen mit frischem  
wie für diejenigen mit fischigem Butterfett

Anordnung 3

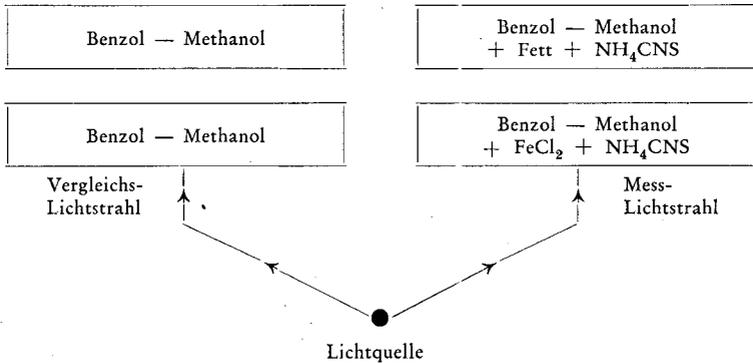
Messung der Extinktion der Fettfarbe



Gemessener Eh-Wert für frisches Butterfett = 1,88  
 Gemessener Eh-Wert für fischiges Butterfett = 1,21

Anordnung 4

Additive Messung der Extinktion des Blindwertes und der Fettfarbe



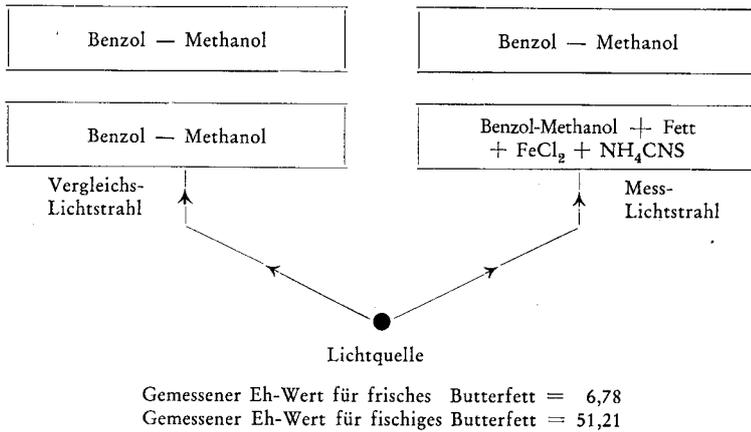
Gemessener Eh-Wert für frisches Butterfett = 3,50  
 Gemessener Eh-Wert für fischiges Butterfett = 2,80

Der Vergleich der Messresultate zeigt, dass die gelbe Butterfettfarbe (Anordnung 3) und die rote Ferrithiozyanatfarbe (Blindwert in Anordnung 2) linear addiert werden, indem in Anordnung 4 der additive Eh-Wert der Messungen 2 und 3 für frische wie für fischige Butter erhalten wurde (3,50 gegenüber 3,43 und 2,80 gegenüber 2,76). Die kleine Differenz liegt im Messfehlerbereich.

Demgemäss sollte es möglich sein, jede Messung um die einmal gemessenen Eh-Werte der Fettblindprobe (Benzol-Methanol + Fett +  $\text{NH}_4\text{CNS}$ )\* und der Reagenzienblindprobe (Benzol-Methanol +  $\text{NH}_4\text{CNS}$  +  $\text{FeCl}_2$ ) rechnerisch korrigieren zu können, indem vom Eh-Wert der gegenüber reinem Benzol-Methanol gemessenen Probe die addierten Eh-Werte der beiden Blindproben subtrahiert werden. Der Überprüfung dienen die Kontrollmessungen der Anordnungen 5 und 6.

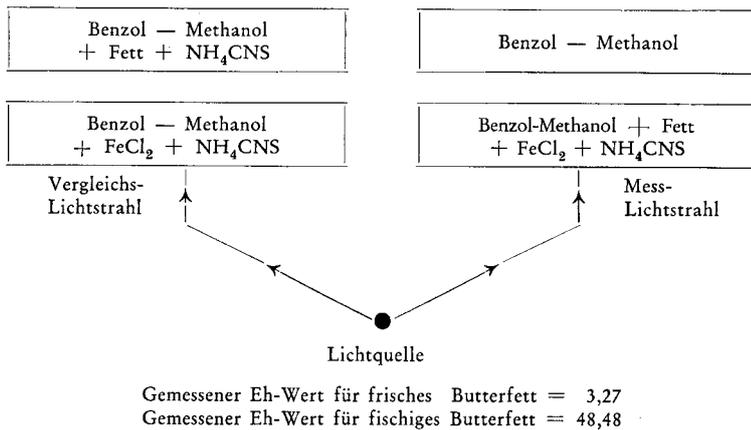
Anordnung 5

*Kontrollmessung A zur Blindwertkorrektur*



Anordnung 6

*Kontrollmessung B zur Blindwertkorrektur*



\* Bei nicht extrem verschiedenfarbigen Fetten variiert dieser Wert unbedeutend.

Subtrahiert man die Eh-Werte für frische und fischige Butter der Anordnung 6 von den entsprechenden der Anordnung 5, so ergeben sich praktisch dieselben Ziffern, wie sie durch Addition der einzelgemessenen Eh-Werte der Fett- und Reagenzienblindproben erhalten wurden (3,51 gegenüber 3,43 und 2,73 gegenüber 2,76). Aus den Versuchen geht somit hervor, dass die gelbe Butterfettfarbe mit dem Rot des Ferrithiozyanats nicht in dem Masse eine Mischfarbe bildete, dass das ohne Gegenwart von Fett bei 515  $m\mu$  liegende Extinktionsmaximum verschoben wurde. Die rechnerische Korrektur der gegenüber reinem Benzol-Methanol gemessenen Eh-Werte der Proben um die einmal gemessenen Eh-Werte der Blindproben ist infolgedessen zulässig. Dies wirkt sich sehr vorteilhaft aus, indem als Vergleichsprobe reines Benzol-Methanol verwendet werden darf, dessen Wert absolut konstant bleibt. Die Blindprobe wird in diesem Falle, wie die übrigen Proben, gegenüber Benzol-Methanol gemessen. Ein Farbstandard, wie er in der Originalarbeit von *Hills* und *Thiel* (17) erwähnt und gebraucht wurde, erübrigt sich. Die Ferrieisen-Standardlösung wird durch die früher erstellte Eichgerade ersetzt.

#### 4. Der Einfluss der Verweildauer im Wasserbad von 50 ° C

Die Tabelle 9 zeigt, dass die Wasserbadbehandlung während 2 Minuten bei 50 ° C auch für fetthaltige Lösungen vollauf genügt. Die beobachteten Differenzen liegen im Bereich des Analysenfehlers. Zur Messung gelangten Gruppen von je drei gleichwertigen Parallelproben.

Tabelle 9

*Der Einfluss der Wärmeeinwirkungsdauer auf die Ferrithiozyanatbildung*

Verweildauer 2 Minuten im Wasserbad von 50 ° C		
Parallelprobe	Eh-Wert	
	Frisches Butterfett 0,14 g in 20 ccm Benzol-Methanol	Gelagertes Butterfett 0,08 g in 20 ccm Benzol-Methanol
1	50,86	42,31
2	50,86	42,02
3	50,86	42,02
Verweildauer 10 Minuten im Wasserbad von 50 ° C		
1	51,21	42,31
2	51,57	42,02
3	51,21	42,31

5. Die experimentelle Überprüfung der Linearität zwischen gemessener Extinktion einerseits und vorgelegter Fettmenge andererseits bei verdorbenem und frischem Butterfett

a) Die Festlegung der zur Prüfung notwendigen mittleren Fettmenge

Aus der Originalarbeit von Hills und Thiel (17) ist ersichtlich, dass für die Messung der Fettoxydation bei Milchpulver 0,75 g Pulver in 15 ccm Benzol-Methanol gelöst wurden. Beträgt der Fettgehalt des Vollmilchpulvers 26 Prozent, so gelangen auf diese Weise 0,195 g Butterfett in 15 bzw. 0,26 g in 20 ccm Benzol-Methanol-Lösung. In unseren Versuchen verwendeten wir eine Fettlösung, die erlaubte, die in 20 ccm Benzol-Methanol enthaltene Fettmenge von 0,05 bis 0,30 g zu variieren.

Die Abstufung der für die einzelnen Proben notwendigen Fettvorlage erfolgte durch das Abmessen und Einfüllen verschieden grosser, annähernd wasserfreier Mengen Benzol-Fettlösung in die Erlenmeyerkölbchen.

Die für die einzelnen Proben notwendigen und in die Erlenmeyerkolben abgemessenen Benzol-Fettlösungen wurden bei allen Versuchen mit Benzol und Methanol in der Weise auf 20 ccm ergänzt, dass das Volumenverhältnis von Benzol zu Methanol gewahrt blieb.

b) Die Versuchsanordnung und die Herstellung der Benzol-Fettlösung

In die Messkammer des Photometers wurden eine Probenküvette sowie eine Vergleichsküvette eingesetzt und beide mit reiner Benzol-Methanol-Lösung gefüllt. Hernach erfolgte der Nullabgleich des Photometers (Eh-Wert = 0,0). Zu jeder Probe gesellte sich eine Vergleichsprobe. Sie war in bezug auf Zusammensetzung und Behandlung stets gleich wie die richtige Probe, erhielt aber kein Ferrochlorid. Anlässlich der Messung jeder Probe wurde in den Vergleichsstrahl des Photometers die korrespondierende Vergleichsprobe gebracht. Ferner wurde für jeden Versuch die Reagenzienblindprobe bereitgestellt und gegenüber reinem Benzol-Methanol gemessen. Die Fettfarbe und allfällig vorhandene Fe-Spuren eliminierten sich durch die eben beschriebene Versuchsanordnung von selbst. Der Eh-Wert der Reagenzienblindprobe konnte bei den einzelnen Probenresultaten rechnerisch in Abzug gebracht werden.

Zur Herstellung der Fettlösung wurden zwei Zentrifugenröhrchen von je 30 ccm Inhalt mit einer bestimmten Menge Butter beschickt. Anschliessend wurde die darin befindliche Butter durch kurzfristiges Einstellen der Proben in ein Wasserbad von 45—50 ° C geschmolzen. Dann erfolgte die Zugabe von 45 ° C warmem Benzol bis zur Marke von 30 ccm. Hierauf mischte man gut durch und verbrachte die Röhrchen zur Abscheidung des wasserhaltigen Butterrückstandes in die

Zentrifuge. Die Zentrifugationsdauer betrug 15 Minuten bei 1400 Umdrehungen/Min. Alsdann goss man die überstehende, klare und praktisch waserfreie Benzol-Fettlösung ab.

### c) Die Auswertung der Messergebnisse

Um die Ergebnisse eines Versuches statistisch-mathematisch zu überprüfen, wurden die Resultate graphisch aufgezeichnet, wodurch sofort ersichtlich war, welche der gemessenen Werte allenfalls nicht mehr dem linearen Bereich angehören. Diese Vororientierung war unerlässlich, weil die Anwendung der statistisch-mathematischen Ausgleichsrechnung auf streng lineare Umsetzungen beschränkt ist. Innerhalb des durch die Graphik ermittelten linearen Bereiches sind sodann auf einer Tabelle die verwendeten Fettmengen ( $x_p$ ), die gemessenen Eh-Werte ( $y$ ) sowie der x-Achsenabschnitt, der Richtungstangens und der vierfache mittlere Ordinatenfehler der Probegeraden aufgezeichnet.

Mit Hilfe der Formel:  $\bar{y} = m \cdot (x_p - a)^*$  wurde für jede Probe der theoretisch zu erwartende Eh-Wert berechnet. Die Berechnung des bereinigten Richtungstangens ( $mP$ ), wie er für die erweiterte Ausgleichsrechnung nötig war, erfolgte unter Ausschluss jener Proben, bei denen die Differenz zwischen dem statistisch errechneten und experimentell gemessenen Eh-Wert grösser war als der vierfache mittlere Ordinatenfehler. Die Erweiterung der allgemeinen Ausgleichsrechnung besteht in der Einführung des Ausdruckes  $\frac{mP}{mE}$ . Dadurch wird es möglich, die Berechnung der einem gemessenen Eh-Wert entsprechenden  $\gamma$  Fe... von den störenden x-Achsenabschnitten der Eichgeraden und allenfalls der Probegeraden unabhängig zu machen.

Der Quotient  $\frac{mP}{mE}$  gibt an, wieviel  $\gamma$  Fe... einem Gewichts- bzw. Volumenteil der Probelösung entsprechen oder, auf alle folgenden Versuche übertragen, wieviel  $\gamma$  Fe... dem durch 0,01 g Butterfett verursachten Eh-Wert entsprechen.

Auf den Tabellen 10, 12, 13, 14, 15, 16 und 18 sind sodann die den gemessenen Eh-Werten der einzelnen Proben entsprechenden  $\gamma$  Fe..., ein-

- 
- $\bar{y}$  = Statistisch errechneter Eh-Wert
  - $m$  = Richtungstangens der Probegeraden
  - $x_p$  = Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung
  - $a$  = x-Achsenabschnitt der Probegeraden
  - $mP$  = Bereinigter Richtungstangens der Probegeraden
  - $mE$  = Richtungstangens der Eichgeraden = 1,3865\*
  - \* = Siehe Kapitel II. Abschnitt C. 2.

mal mit der Formel für die Eichlinie und sodann mit der Formel der erweiterten Ausgleichsrechnung berechnet, eingetragen. In der letzten Tabellenspalte sind zusätzlich die mit der Formel für die Eichlinie berechneten  $\gamma$  Fe $\cdots$  in Prozenten derjenigen, wie sie mit der Formel der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden, angegeben.

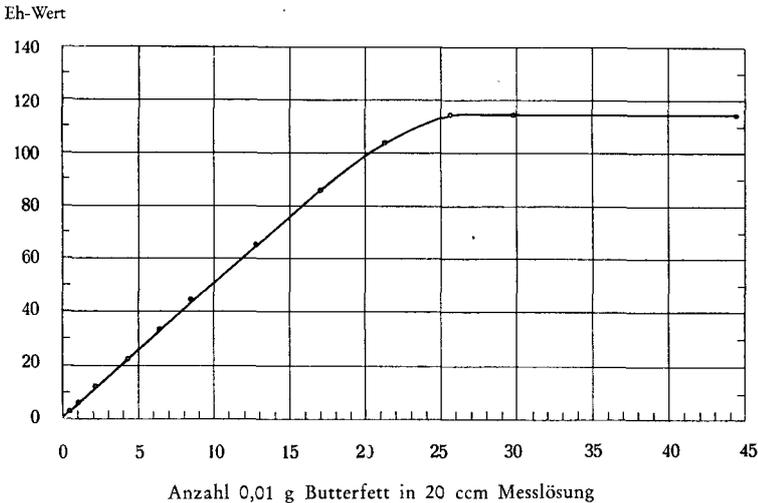
d) Erster Versuch mit fischiger Butter

Wir stellten eine klare Benzol-Fettlösung her. Die Konzentration wurde so gewählt, dass sowohl zur Bereitstellung der niederen als auch der höheren Fettvorlagen keine Abmessung unter 0,5 ccm nötig wurde. Reagenzienzugabe je 2 Tropfen.

Aus den graphischen Aufzeichnungen (Abbildung 2) ist ersichtlich, dass die Eh-Werte der vier fettreichsten Proben mit 0,213, 0,256, 0,298 und 0,445 g Butterfett in 20 ccm Benzol-Methanol ausserhalb des linearen Bereiches liegen. Die Fettvorlagen von mehr als 0,256 g führten nicht zu entsprechend grösseren Ferrithiozyanatbildungen. Die statistische Überprüfung zeigte, dass alle Messungen des linearen Bereiches innerhalb der Fehlergrenze  $\pm 4f$  lagen (Tabelle 10). Die blosse Anwendung der Formel für die Eichlinie führte bei der Berechnung der Fe $\cdots$ -Mengen aus den gemessenen Eh-Werten zufolge des relativ grossen x-Achsenabschnittes der Probegeraden zu grossen Fehlern.

Abbildung 2

Die Messresultate von Versuch 1 mit fischiger Butter



*Die Messresultate und deren Auswertung vom 1. Versuch mit fischiger Butter*

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	0,5	3,46	2,98	1,78	167,42
2	1,0	6,59	5,23	3,56	146,91
3	2,1	12,77	9,69	7,48	129,55
4	4,3	22,46	16,68	15,31	108,95
5	6,4	33,29	24,49	22,78	107,51
6	8,5	44,43	32,53	30,26	107,50
7	12,8	64,78	47,20	45,57	103,58
8	17,0	85,30	62,00	60,52	102,45

Achsenabschnitt a

= - 0,340

Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f

= ± 0,929

\*mP = Spez. Extinktion = Richtungstangens m = 4,936

mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

### e) Zweiter Versuch mit fischiger Butter

Dieser Versuch sollte abklären, ob die bisher beobachteten alinearen Messwerte, wie sie hohe Fett- bzw. Peroxydmengen verursachten, durch Zugabe grösserer Reagenzienmengen linear gestaltet werden könnten.

Die Versuchsanordnung blieb sich gleich wie bisher. Der Gehalt der Benzol-Fettlösung an reinem Butterfett wurde, dem Versuchszweck entsprechend, hoch gewählt und betrug 0,3666 g pro 6 ccm.

Die Versuchsdaten sind in Abbildung 3 graphisch aufgezeichnet und in Tabelle 11 festgehalten. Daraus ist ersichtlich, dass durch erhöhte Reagenzienmengen der lineare Bereich in der Richtung hoher Fett- bzw. Peroxydkonzentrationen etwas erweitert werden kann. Die Überlegungen zum Gleichgewicht der chemischen Reaktion in Abschnitt I. 6. b. wurden damit bestätigt.

Abbildung 3

#### *Die Messresultate von Versuch 2 mit fischiger Butter*

Kurve A = mit 2 Tropfen Reagenzien

Kurve B = mit 3 Tropfen Reagenzien

Eh-Wert

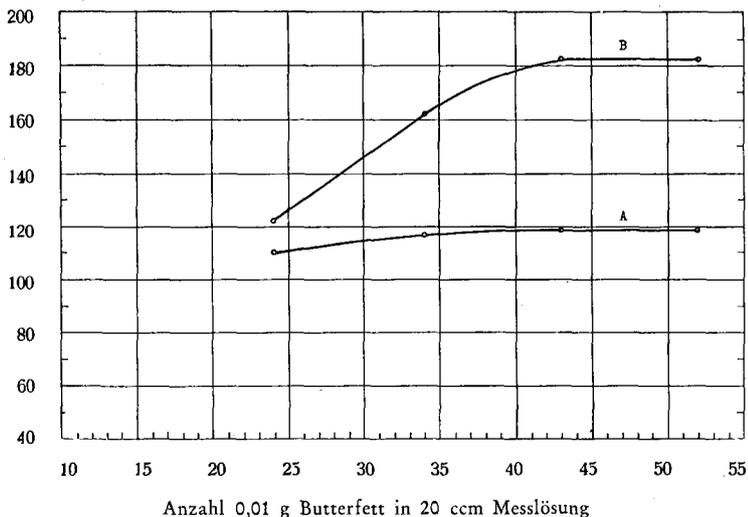


Tabelle 11

*Die Erweiterung des linearen Bereiches  
durch grössere Reagenzienzugaben*

Probe No.	Verwendete Anzahl ccm Benzol-Fett-Lösung	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung	Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes	
			NH <sub>4</sub> CNS und FeCl <sub>2</sub> -Zugabe je 2 Tropfen	NH <sub>4</sub> CNS und FeCl <sub>2</sub> -Zugabe je 3 Tropfen
1	4,0	24	110,31	122,33
2	5,5	34	117,00	162,13
3	7,0	43	118,85	182,54
4	8,5	52	118,85	182,54
Blindprobe	0,0	0,00	5,18	7,77

f) Dritter Versuch mit fischiger Butter

Wir vermuteten, dass der grosse x-Achsenabschnitt bei Versuch 1 auf eine unterschiedliche Reagenzienmenge in der Blindprobe gegenüber einer solchen in den übrigen Proben zurückzuführen sei.

Versuche zeigten, dass mit den Tropfen unterschiedliche Reagenzienmengen in die Lösung gebracht werden. Die dadurch bewirkten verschiedenen NH<sub>4</sub>CNS-Zugaben beeinflussten das Messergebnis nicht, während dies durch die unterschiedlichen FeCl<sub>2</sub>-Zugaben mit den darin mitgeführten Fe<sup>+++</sup>-Spuren der Fall war. Daher wurden bei diesem und allen späteren Versuchen zu 20 ccm Lösung 0,1 ccm FeCl<sub>2</sub>-Reagens und einfachheitshalber ebenso 0,1 ccm NH<sub>4</sub>CNS-Reagens zugegeben. Auf diese Weise ergaben sich stets folgende Reagenzienkonzentrationen:

$$\text{FeCl}_2 \quad : \quad 8,36 \times 10^{-4} \text{ Mol}$$

$$\text{NH}_4\text{CNS} : 1,97 \times 10^{-2} \text{ Mol}$$

Die Fettvorlagen wurden diesmal so gewählt, dass, nach den bisherigen Erfahrungen zu schliessen, alle Messresultate im linearen Bereich liegen sollten. Die zur Abstufung der gewünschten Fettmengen verwendete Benzol-Fettlösung enthielt 0,123 g Butterfett pro 6 ccm.

Die Resultate sind in Abbildung 4 und Tabelle 12 wiedergegeben.

Im Gegensatz zum ersten Versuch mit tropfenweiser Zugabe der Reagenzien und grossem resultierendem x-Achsenabschnitt, sind hier die Fehler durch Anwendung der Formel für die Eichlinie zur

Errechnung der  $\gamma$  Fe... aus den gemessenen Eh-Werten, verglichen zu den mit der erweiterten Ausgleichsrechnung berechneten, gering.

Abbildung 4

*Die Messresultate von Versuch 3 mit fischiger Butter*

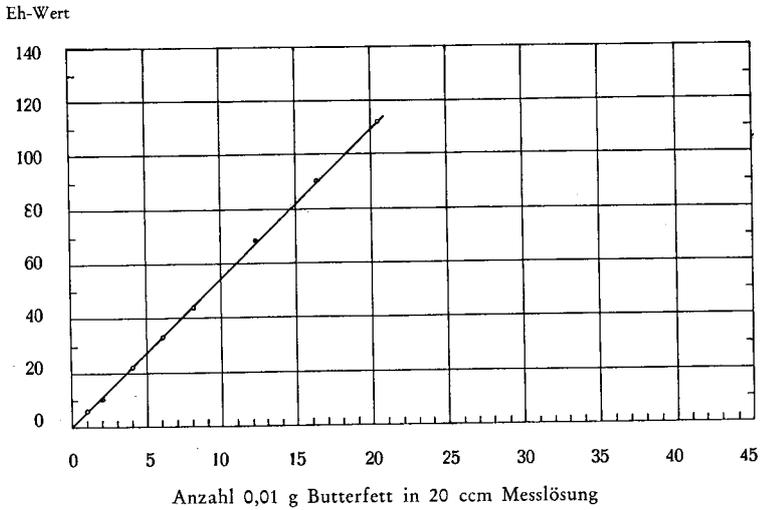


Tabelle 12

Die Messresultate und deren Auswertung vom 3. Versuch mit fischiger Butter

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung x <sub>p</sub>	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes y	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} \pm 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	1,0	5,81	4,67	3,95	118,23
2	2,0	10,68	8,18	7,89	103,68
3	4,1	22,01	16,36	16,18	101,11
4	6,1	33,16	24,40	24,07	101,37
5	8,2	44,08	32,27	32,36	99,72
6	12,3	68,38	49,80	48,54	102,60
7	16,4	90,19	65,53	64,72	101,25
8	20,5	111,75	81,08	80,91	100,21

Achsenabschnitt a = + 0,02674  
 Spez. Extinktion = Richtungstangens m = 5,485  
 Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f = ± 0,721

\*mP = Unter Ausschluss der Messdaten der Probe 6 ermittelter Richtungstangens = 5,472  
 mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

### g) Vierter Versuch mit fischiger Butter

Die bisherigen Versuche brachten keine Klarheit darüber, ob die beobachtete Alinearität den hohen Fettkonzentrationen (Reaktionsträgheit) oder den hohen Peroxydmenigen zuzuschreiben sei. Diese Frage sollte mit Versuch 4 abgeklärt werden. Als Ausgangsmaterial diente ein talgiges, eingesottenes Butterfett, bei dem Fettmengen, wie sie bisher ausschliesslich innerhalb des linearen Bereiches liegen, bereits sehr hohe Peroxydgehalte aufweisen.

Die Aufzeichnungen in Abbildung 5 und Tabelle 13 zeigen, dass die alinearen Messwerte nicht auf einer durch hohe Fettkonzentrationen bedingten Reaktionsverschleppung beruhen, sondern bei sehr hohem Peroxyd Gehalt der messfertigen Lösung auftreten. Hohe Peroxydmenigen bewirken bereits eine Verschiebung des im Abschnitt I. 6. b. beschriebenen chemischen Gleichgewichtes der Reaktion.

Abbildung 5

#### *Die Messresultate von Versuch 4 mit fischiger Butter*

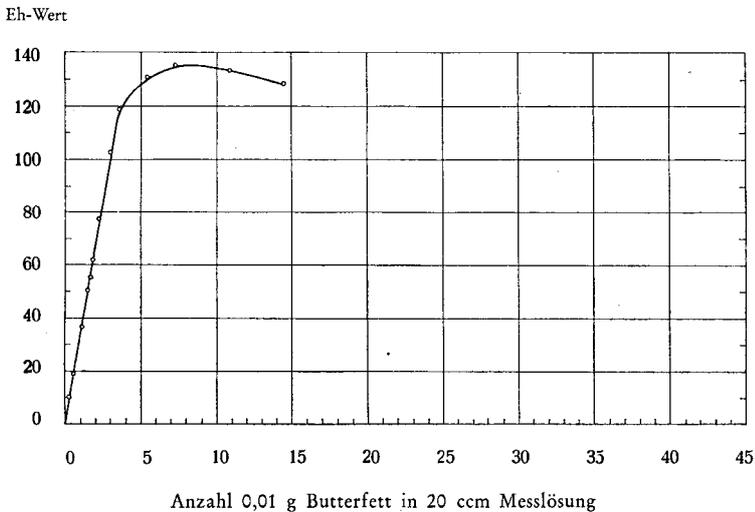


Tabelle 13

*Die Messresultate und deren Auswertung vom 4. Versuch mit fischiger Butter*

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 cm Messlösung $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	0,28	10,24	7,87	6,92	113,73
2	0,57	18,83	14,06	14,08	99,86
3	1,13	36,88	27,08	27,92	99,23
4	1,50	50,47	36,88	37,06	99,51
5	1,69	55,56	40,55	41,75	97,13
6	1,82	62,19	45,33	44,97	100,80
7	2,25	77,15	56,12	55,59	100,95
8	3,00	102,29	74,26	74,12	100,19

Achsenabschnitt a = + 0,0174

Spez. Extinktion = Richtungstangens m = 34,18

Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f = ± 1,264

\*mP = Unter Abschluss der Messdaten der Probe 5 ermittelter Richtungstangens = 34,256

mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

### h) Versuche mit frischem Butterfett

Die Ergebnisse des ersten Versuchs sind in Abbildung 6 aufgezeichnet und in Tabelle 14 wiedergegeben. Alle Resultate liegen im linearen Bereich und konnten statistisch überprüft werden. Die Messresultate der Proben 1, 8 und 9 liegen ausserhalb der Fehlerschranke  $\pm 4 f$ . Der x-Achsenabschnitt der Probegeraden ist extrem gross. Wir vermuteten, dass sich Ungenauigkeiten in der Abmessung der Ferrochloridlösung auf die geringen Messwerte auswirken konnten.

In einem zweiten Versuch wurden die Reagenzien halb so konzentriert wie normalerweise verwendet. Die Fehlerauswirkungen bei ungenauer Abmessung sollten dadurch kleiner werden. Die Messergebnisse sind aus Abbildung 7 und Tabelle 15 ersichtlich. Der x-Achsenabschnitt wurde geringer. Die Eh-Werte der Proben 5, 6 und 12 liegen etwas ausserhalb der Fehlerschranke  $\pm 4 f$ .

Bei einem dritten Versuch, dessen Ergebnisse in Abbildung 8 und Tabelle 16 festgehalten sind, wurde die Fehlergrenze  $\pm 4 f$  von keinem Probenresultat überschritten. Der x-Achsenabschnitt ist trotzdem gross. Diese Tendenz wird bei flachem Verlauf der Probegeraden begünstigt.

Sofern bei schwach oxydierten Fetten und Ölen durch entsprechend grosse Fettvorlage nicht ein beträchtlicher Messwert erreicht werden kann, so ist zur Berechnung der  $\gamma$  Fe... die erweiterte Ausgleichsrechnung anzuwenden. Mit Hilfe von drei verschiedenen konzentrierten Proben ist dann zunächst der Richtungstangens zu ermitteln.

Abbildung 6

Die Messresultate von Versuch 1 mit frischer Butter

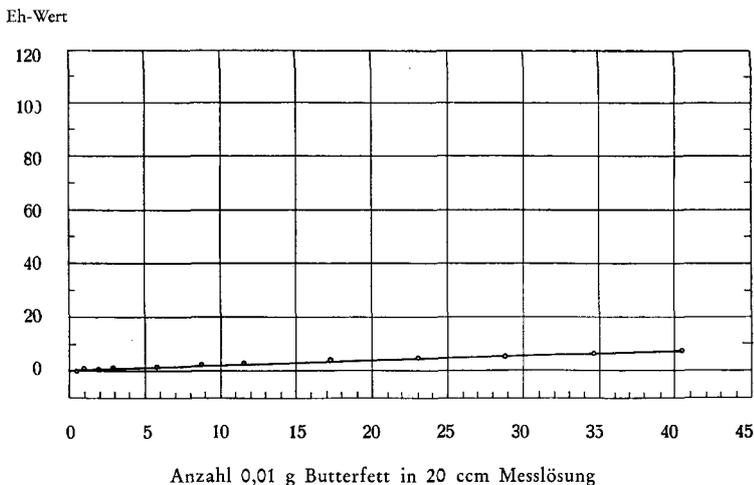


Tabelle 14

Die Messresultate und deren Auswertung vom 1. Versuch mit frischer Butter

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Au Messungen den errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	0,48	0,00	0,00	0,06	—
2	0,97	0,72	1,00	0,12	833,33
3	1,95	0,48	0,83	0,24	345,83
4	2,90	0,84	1,09	0,35	311,43
5	5,80	1,33	1,44	0,70	205,71
6	8,70	1,95	1,89	1,05	180,00
7	11,50	2,45	2,25	1,39	161,87
8	17,30	3,73	3,17	2,09	151,67
9	23,10	4,65	3,83	2,79	137,28
10	28,80	5,05	4,12	3,48	118,49
11	34,60	6,14	4,91	4,17	117,75
12	40,40	7,25	5,71	4,87	117,25

Achsenabschnitt a

= - 2,006

Spez. Extinktion = Richtungstangens m

= 0,1725

Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f

= ± 0,2740

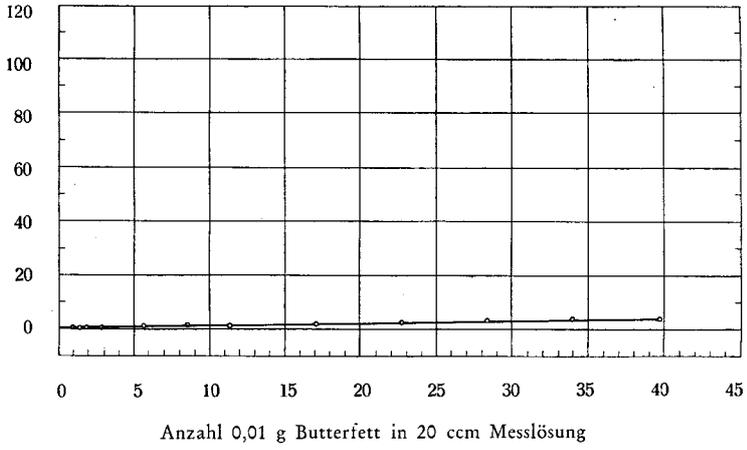
\*mP = Unter Ausschluss der Messdaten der Proben 1, 8, 9 ermittelter Richtungstangens = 0,1673

mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

Abbildung 7

*Die Messresultate von Versuch 2 mit frischer Butter*

Eh-Wert



## Die Messresultate und deren Auswertung vom 2. Versuch mit frischer Butter

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	0,93	0,34	0,73	0,07	1042,86
2	1,42	0,23	0,65	0,11	590,91
3	1,86	0,23	0,65	0,14	464,29
4	2,84	0,34	0,73	0,22	331,82
5	5,67	0,56	0,88	0,43	204,65
6	8,51	1,25	1,38	0,65	212,31
7	11,35	1,25	1,38	0,86	160,47
8	17,03	1,95	1,89	1,30	145,38
9	22,70	2,54	2,31	1,73	133,53
10	28,38	3,13	2,74	2,16	126,85
11	34,05	3,62	3,09	2,59	119,31
12	39,73	3,99	3,36	3,02	111,26

Achsenabschnitt a = -1,4164  
 Spez. Extinktion = Richtungstangens m = 0,1015  
 Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4f = ± 0,142

\*mP = Unter Ausschluss der Messdaten der Proben 5, 6, 12 ermittelter Richtungstangens = 0,1055  
 mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

Abbildung 8

*Die Messresultate von Versuch 3 mit frischer Butter*

Eh-Wert

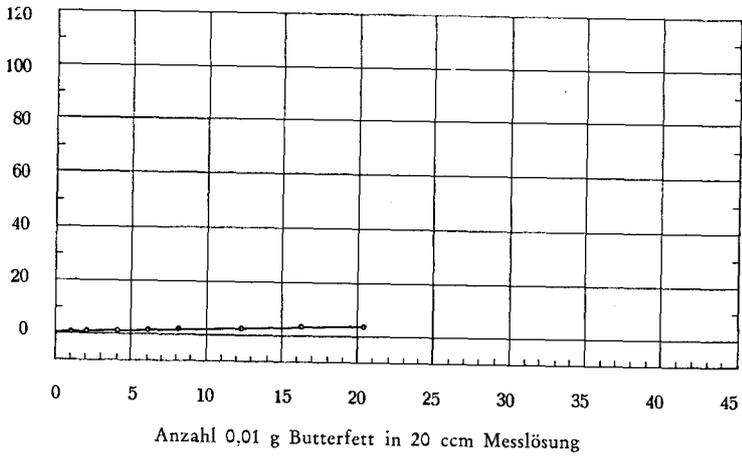


Tabelle 16

## Die Messresultate und deren Auswertung vom 3. Versuch mit frischer Butter

Probe No.	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma_{Fe^{+++}}$ gemäss der Eichlinie zugehörigen Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma_{Fe^{+++}}$ gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	1,0	0,45	0,81	0,13	623,08
2	2,0	0,91	1,14	0,25	456,00
3	4,1	1,03	1,22	0,52	234,62
4	6,1	1,49	1,56	0,77	202,60
5	8,2	1,95	1,89	1,03	183,50
6	12,3	2,43	2,23	1,55	143,87
7	16,3	3,39	2,93	2,05	142,93
8	20,4	3,88	3,28	2,56	128,13

Achsenabschnitt a = -2,34  
 Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f = ± 0,16

\*mP = Spez. Extinktion = Richtungstangens m = 0,1742  
 mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

## F. Die experimentelle Ueberprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse

Die der Ferrithiozyanat-Methode zugrunde liegenden stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse wurden früher erläutert. Die experimentelle Ueberprüfung sei durch die folgenden Versuche nachgeholt.

### 1. Die Kontrolle mittelst Benzoylperoxyd

Wegen der leichten Löslichkeit in Benzol und der damit verbundenen Arbeitserleichterung verwendeten wir für die ersten Versuche Benzoylperoxyd. Die Gehaltsbestimmung der Benzoylperoxyd-Lösungen erfolgte nach der Methode von *Mitchell* und *Smith* (31).

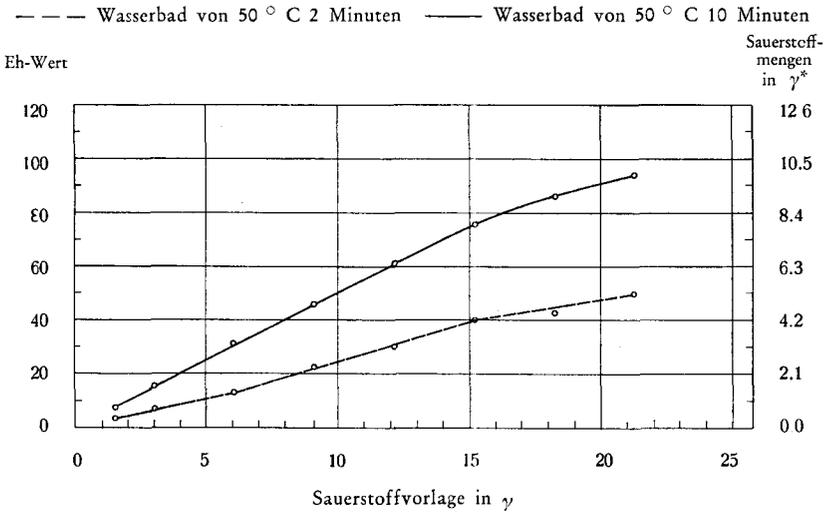
Beim ersten Versuch wurden die Erlenmeyerkolben zwecks Entwicklung der Ferrithiozyanatfarbe — wie bisher allgemein üblich — zwei Minuten in ein Wasserbad von  $50^{\circ}\text{C}$  gestellt. Die Blindprobe wurde genau gleich behandelt wie die übrigen Proben. Die Sauerstoffvorlagen wurden nur zu 19—27 % wiedergefunden. Bei einer Wiederholung des Versuchs, unter sonst gleichen Bedingungen, wurde die Verweildauer im Wasserbad von  $50^{\circ}\text{C}$  von zwei auf zehn Minuten verlängert. Die längere Wasserbadbehandlung verursachte einen Anstieg des Reagenzienblindwertes um 0,67 Eh-Werte. Die vorgelegten Sauerstoffmengen wurden zu 55—46 % wiedergefunden. Die Differenz zwischen vorgelegter und wiedergefundener Sauerstoffmenge wuchs in der Richtung höherer Sauerstoffkonzentrationen.

Die Resultate der beiden Versuche sind einander in Abbildung 9 graphisch gegenübergestellt.

Das merkwürdige Verhalten des Benzoylperoxyds veranlasste uns, die Wirkung noch längerer Verweilzeiten im Wasserbad zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurden sieben Proben mit einem Gehalt von je 12,16  $\gamma$  Sauerstoff bereitgestellt. Die Verweildauer im Wasserbad von  $50^{\circ}\text{C}$  wurde innerhalb der sieben Proben von zwei bis auf 30 Minuten gesteigert. Die Resultate sind in Tabelle 17 zusammengefasst. Die 20minütige Warmwasserbadeinwirkung liess die vorgelegte Sauerstoffmenge am besten wieder finden, obwohl sie immer noch bloss 59 % ausmachte. Wir vermuteten, dass dieses Verhalten des Benzoylperoxyds durch gewisse Nebenreaktionen oder eine besonders grosse Stabilität gegenüber  $\text{Fe}^{\dots}$  verursacht werde (54). In der Folge wurden die stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse mit Wasserstoffsperoxyd nachgeprüft.

Abbildung 9

*Die Überprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse  
mit Benzoylperoxyd*



\* Mit der Formel für die Eichlinie aus den gemessenen Eh-Werten errechnet.

Tabelle 17

*Der Einfluss steigender Verweilzeiten der Erlenmeyerkolben  
im Wasserbad von 50 ° C auf die durch Benzoylperoxyd verursachte  
Ferrithiozyanatbildung*

Probe No.	Verweildauer der Erlenmeyerkolben im Wasserbad von 50 ° C in Minuten	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes	Experimentell ermittelte Sauerstoffmenge, ausgedrückt in Prozenten der Sauerstoffvorlage
1	2,0	30,33	26,32
2	5,0	45,16	38,90
3	7,5	52,01	44,16
4	10,0	61,31	52,63
5	15,0	65,55	56,25
6	20,0	69,13	59,29
7	30,0	67,88	58,22

Die den Eh-Werten entsprechenden Fe<sup>+++</sup>- und Sauerstoffmengen wurden mit der Eichlinienformel errechnet.

## 2. Die Kontrolle mit Wasserstoffsperoxyd

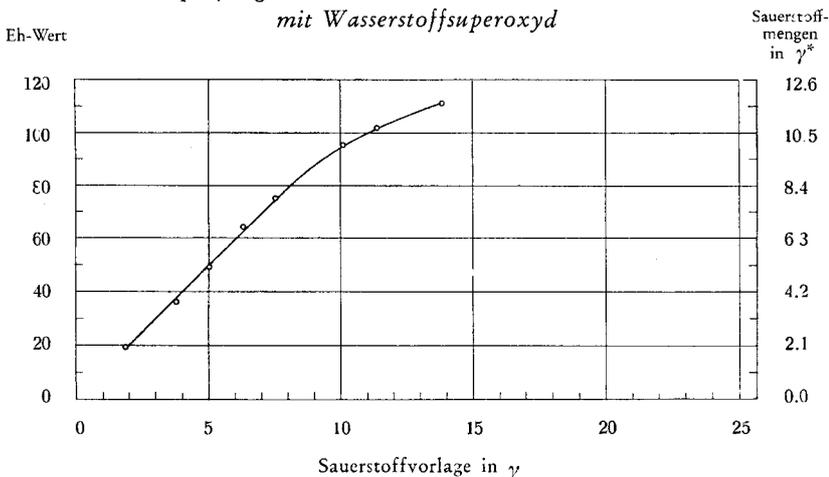
Zur Herstellung der Lösungen diente Perhydrol. Die Gehaltsbestimmung erfolgte mit dem modifizierten Jodtest nach *Mitchell* und *Smith* (31). Durch 100 ccm Benzol-Methanol-Wasserstoffsperoxyd-Lösung wurden 39,98 mg Jod freigelegt, ihrerseits 252  $\gamma$  Sauerstoff entsprechend.

Von dieser Lösung wurde die für die gewünschten Sauerstoffvorlagen nötige Anzahl ccm in die verschiedenen Erlenmeyerkolben abgemessen und hierauf mit Benzol-Methanol-Lösung auf je 20 ccm ergänzt. Die erhaltenen Messresultate sind in Abbildung 10 graphisch aufgezeichnet. Bis zu einem Eh-Wert von 72, entsprechend einer Sauerstoffmenge von rund 7,5  $\gamma$ , verlaufen die Messwerte linear. Bis zu dieser Sauerstoffkonzentration konnten die Messresultate daher mit der statistisch-mathematischen Ausgleichsrechnung geprüft werden. Die quadratischen Abweichungen der Eh-Werte betragen im Maximum 0,72 bis 0,76 und überschritten die Fehlergrenze  $\pm 4 f$  in keinem Falle. Die Messresultate und deren statistisch-mathematische Auswertung sind aus Tabelle 18 ersichtlich.

Die experimentell ermittelten Sauerstoffmengen finden sich in Tabelle 19. Daraus geht hervor, dass die vorgelegten Sauerstoffquantitäten bis zu ca. 7,5  $\gamma$  mit sehr geringen Fehlern wiedergefunden wurden und damit die früher erläuterten stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse bestätigten. Für die Messung höherer Sauerstoffkonzentrationen ist eine vorherige Verdünnung der Lösung unerlässlich.

Abbildung 10

### Die Überprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse mit Wasserstoffsperoxyd



\* Mit der Formel für die Eichlinie aus den gemessenen Eh-Werten errechnet.

*Die Überprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse mit Wasserstoffsuperoxyd*

Die Messwerte und deren statistische Auswertung

Probe No.	Sauerstoffvorlage in Form der Wasserstoffsuperoxyd-Benzol-Methanolösung in $\gamma$ $x_p$	Gemessener Eh-Wert nach Abzug des Blindprobenwertes $y$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Eichlinie zugehörig. Formel $\frac{y}{1,3865} + 0,481$	Aus den Messungen errechnete $\gamma$ Fe... gemäss der Formel $\frac{mP}{mE} \cdot x_p^*$	Gemäss der Eichlinienformel berechnete Eisenmengen, ausgedrückt in Prozenten derjenigen, wie sie mit der erweiterten Ausgleichsrechnung erhalten wurden
1	0,75	19,04	14,21	12,98	109,48
2	1,50	35,87	26,35	25,95	101,54
3	2,00	48,62	35,55	34,61	102,72
4	2,50	61,34	44,72	43,26	103,37
5	3,00	72,32	52,64	51,91	101,41

Achsenabschnitt a der Probeeraden = - 0,027  
Vierfacher mittlerer Ordinatenfehler 4 f =  $\pm$  1,33

\*mP = Richtungstangens der Probeeraden = 23,99  
mE = Richtungstangens der Eichlinie = 1,3865

Im Gegensatz zu Benzoylperoxyd führten längere Verweilzeiten der Erlenmeyerkolben im Wasserbad von 50 ° C nicht zu höheren Werten. Das Verhalten von Wasserstoffsperoxyd stimmt in dieser Hinsicht mit demjenigen von oxydiertem Butterfett überein.

Tabelle 19

*Die Überprüfung der stöchiometrischen Reaktionsverhältnisse mit Wasserstoffsperoxyd*

Die Übereinstimmung zwischen vorgelegter und experimentell wiedergefundener Sauerstoffmenge

Probe No.	Sauerstoffvorlage in Form der Wasserstoffsperoxyd-Benzol-Methanollösung in $\gamma$	Mit der Ferrithiozyanatmethode ermittelte Sauerstoffmenge in $\gamma^*$	Experimentell ermittelte Sauerstoffmenge, ausgedrückt in Prozenten der Vorlage
1	1,89	2,03	107,41
2	3,78	3,78	100,00
3	5,04	5,09	100,99
4	6,30	6,41	101,75
5	7,56	7,54	99,74

\* Gemessene Eh-Werte mit der Formel für die Eichlinie in  $\gamma$  Ferriessen umgerechnet.

$$\text{Sauerstoffmenge} = \frac{\gamma \text{ Ferriessen}^{**}}{6,98}$$

\*\* Siehe Kapitel 1. Abschnitt B. 6. b.

## G. Die provisorische Prüfung der Ersatzmöglichkeit der photometrischen Messung durch die Redoxpotentialmessung

### 1. Allgemeines und Definition des Redoxpotentials

Vielorts dürfte ein Photometer fehlen, wohl aber ein Präzisions-pH-Meter mit Edelmetallelektrode für Redoxpotentialmessungen vorhanden sein. Aus diesem Grunde interessierte die Frage, ob eine quantitative Erfassung der Fettperoxyde mit der Redoxpotentialmessung möglich sei.

Beim Ferrithiozyanat-Test nach *Hills* und *Thiel* (17) werden die Peroxyde durch die gebildete und photometrisch quantitativ erfasste Ferrithiozyanatmenge bestimmt. Die dazu nötigen Ferriionen resultieren ihrerseits aus einem Redoxvorgang. Die beiden Vorgänge, Reduktion der Fettperoxyde und Oxydation der Ferro- zu Ferriionen verlaufen gleichzeitig nebeneinander und bilden das eigentliche Redox-System (42).

Das Redoxpotential ist dasjenige Potential, welches zwischen der Lösung eines Redox-Systems und einer blanken Edelmetallelektrode auftritt.

## 2. Die Versuchsanordnung und die Messresultate

Die messfertigen Lösungen vom dritten Versuch mit fischiger Butter (siehe Tabelle 12) sowie diejenigen vom dritten Versuch mit frischer Butter (siehe Tabelle 16) wurden nach erfolgter photometrischer Messung sofort in die lichtgeschützten Kolben zurückgeschüttet, bei 18 ° C gehalten und anschliessend ihr Potential mit einem Metrohm pH-Präzisionskompensator\* gemessen.

Die Messkette war dabei wie folgt:

Blanke	Redox-	Gesättigte	Gesättigte
Platinelektrode	System	KCl-Lösung	Kalomелеlektrode

Das gemessene Potential entspricht der Differenz des Redox- und Kalomelpotentials. Letzteres ist bekannt und beträgt bei 18 ° C 248,9 mV.

Die Butterfettmengen in 20 ccm messfertiger Lösung, die gemessenen Potentiale bei 18 ° C sowie die errechneten Redoxpotentialwerte finden sich in Tabelle 20.

Aus der graphischen Aufzeichnung in Abbildung 11 ist ersichtlich, dass die Redoxpotentialwerte für fischige Butter, mit Ausnahme der ersten drei Messungen, praktisch linear verlaufen, während diejenigen für frische Butter teilweise alinear sind.

Es muss indessen erwähnt werden, dass die Messungen nicht unter Luftabschluss ausgeführt wurden, weshalb sie von dieser Seite beeinflusst werden konnten. Im grossen und ganzen aber zeigen diese ersten provisorischen Messungen recht gute Resultate und berechtigen zur Hoffnung, dass Fettperoxyde unter Anwendung der Ferrithiozyanatreaktion ebenfalls mit Hilfe der Redoxpotentialmessung exakt quantitativ erfasst werden können. Zur Ermittlung allfälliger Fehlermomente und zur Erstellung allgemeiner, ergänzender Arbeits-Richtlinien wären weitere Versuche nötig.

---

\* Der Präzisionskompensator wurde von der Fa. Metrohm A.G., Herisau, in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt, weshalb ich nicht versäumen möchte, dafür an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Abbildung 11

Die Messung von oxydierten Butterfettproben mit Hilfe der Ferrithio-  
cyanatreaktion und zwar einerseits durch photometrische Messung der  
Ferrithiocyanatfarbe und andererseits durch Messung des Redoxpotentials  
der Lösung

A = fischiges Butterfett

B = Frisches Butterfett

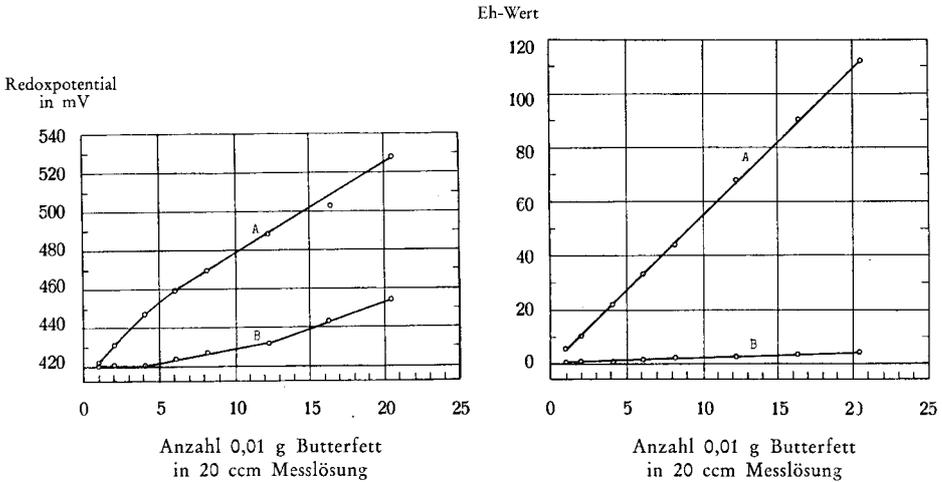


Tabelle 20

Das Redoxpotential verschiedener Benzol-Fettlösungen

Fischiges Butterfett		Frisches Butterfett	
Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung	Redoxpotential bei 18 ° C in mV	Anzahl 0,01 g Butterfett in 20 ccm Messlösung	Redoxpotential bei 18 ° C in mV
1,0	527,9	1,0	453,9
2,0	502,9	2,0	443,4
4,1	488,4	4,1	431,9
6,1	469,4	6,1	426,9
8,2	459,4	8,2	423,9
12,3	446,4	12,3	420,4
16,4	431,4	16,3	420,9
20,5	421,9	20,4	420,4

Die Platinelektrode war bei allen Messungen positiv in bezug auf die Kalomelektrode. Das Redoxpotential war demnach in allen Fällen = gemessenes Potential + Potential der Kalomelektrode.

Potential der Kalomelektrode bei 18 ° C = 248,9 mV.

## H. Die Ueberführung des in der Milch emulgierten Fettes in eine klare Benzol-Fettlösung

### 1. Allgemeines

Es wurde versucht, durch Zentrifugieren der Milch und durch direkte Herauslösung des Fettes aus dem Rahm mittelst eines geeigneten Lösungsmittels die Butterung zu umgehen. Benzol schien dafür geeignet. Die Wasseraufnahme desselben ist äusserst gering und die Mitnahme von fettfremden, wasserlöslichen Begleitstoffen dürfte unbedeutend sein. Die ersten Tastversuche zeigten, dass die direkte Herauslösung des Fettes aus frischem Rahm mittelst Benzol schwierig ist. Eine Reihe weiterer Versuche wies erst den folgenden Weg.

### 2. Die Herstellung der Rahmpfropfen

Die zu untersuchenden Milchproben wurden in zylindrische Gläser \* abgefüllt, vor Licht geschützt und anschliessend bei 1400 U./Min. während 10 Minuten zentrifugiert \*\*). Alsdann wurde die Rahmschicht mit einer speziellen Vollpipette von 25 ccm Inhalt und einem Ansaugrohr, das nicht mehr als 3,5—4 mm äusseren Durchmesser aufwies, durchstossen und die darunter befindliche Magermilch bis auf den Rest von 5 ccm abgesogen. Hernach füllte man die Gläser erneut mit Milch und zentrifugierte sodann während 15 Minuten bei 1400 U./Min., wobei sich ein kräftiger Rahmpfropfen mit 40—50 % Fett bildete. Der Lichtzutritt wurde durch Abdeckung mit schwarzen Tüchern während und zwischen den Manipulationen möglichst ausgeschaltet. Anschliessend an die Zentrifugation verbrachte man die Proben in eine verdünnte Glycerinlösung von  $-10$  bis  $-20^{\circ}$  C, die sich im lichtfreien Gefrierabteil des Kühlschranks befand. Die Proben wurden mindestens 12 Stunden oder länger, jedenfalls aber unmittelbar bis zur Weiterverarbeitung der Rahmpfropfen, darin belassen. Aus späteren Versuchen ging hervor, dass auch bei einer Lagerung von vier Tagen für die Proben nicht die geringste Gefahr einer Fettoxydation besteht.

---

\* Für die vorliegende Arbeit wurden mit Rücksicht auf eine gute Platzausnützung im Gefrierabteil des Kühlschranks verkürzte Reduktasegläser mit einer Ringmarke bei 30 ccm verwendet.

\*\* Die Zentrifugation wurde in allen Fällen mit einer Zentrifuge der Fa. J. E. Gerber & Co., Zürich, ausgeführt, wobei die Hülsen durch Ausschlagen mit Kork seitlich und am Boden an die Gläser angepasst wurden. Der Abstand vom Zentrum bis zum Proben-glas-Boden betrug 235 mm.

### 3. Die Herstellung der Benzol-Fettlösung aus den Rahmpfropfen

Von den erstarrten, im Kühlabteil aufbewahrten Rahmpfropfen wurden, unter Beobachtung möglichst grossen Lichtschutzes, je 0,50 bis 0,75 g in saubere Zentrifugengläser, die vorher mit Kohlensäure gefüllt und im verpfropften Zustand bereitgestellt wurden, abgewogen. Sofort anschliessend wurden sie mit Gummistopfen erneut verschlossen, vor Licht geschützt und während fünf Minuten in ein Wasserbad von 45—50 ° C gestellt. Als dann erfolgte die Zugabe von 45 ° C warmem Benzol bis zur Ringmarke. Nachher wurde jede einzelne Probe in ein schwarzes Tuch gehüllt, in der Hand ca. eine Minute kräftig geschüttelt, in die Zentrifuge verbracht und bei 1400 U./Minute mindestens während 20 Minuten zentrifugiert. Die hydrophile Phase setzte sich vorwiegend auf dem Boden und in Form vieler kleiner Tröpfchen und Partikelchen an der Wand ab.

Die Zentrifuge durfte wegen Wirbelbildung und damit verbundener erneuter Trübung der Fettlösung nur ungebremst auslaufen. Aus dem gleichen Grunde mussten die Proben der Zentrifuge ohne Erschütterung entnommen werden. Bei jeder Probe wurde alsdann der Gummistopfen durch einen gelochten Korkstopfen ersetzt. Durch diesen schoben wir eine Vollpipette, worauf mit grosser Sorgfalt die für die photometrischen Messungen nötigen 14 ccm Fettlösung abgesogen wurden. Ein Mitreissen von Bodensatz oder Wandbelag musste unterbleiben. In gleicher Weise wurden die für die Fettbestimmung nötigen 6 ccm Fettlösung entnommen.

Die mit dem beschriebenen Verfahren mögliche Fettextraktion ist einfach und schonend. Der Feststellung, wie weit das im Rahmpfropfen enthaltene Fett überhaupt durch das Benzol gelöst wurde, diente der in Tabelle 21 wiedergegebene Versuch.

Tabelle 21

#### *Die Ermittlung des Fettgehaltes von Rahmpfropfen mit der Röse-Gottlieb- und Benzol-Methode*

Probe No.	1	2	3	4	5	6	7	8
	Fett-Prozente							
Röse-Gottlieb-Methode	62,94	57,46	58,33	62,53	64,39	61,19	61,24	61,55
Benzol-Methode	62,25	57,02	60,78	62,52	63,36	60,32	59,71	60,16

Aus acht Zentrifugengläsern wurden die Rahmpfropfen je auf ein Uhr-glas gegeben und, sobald sie bei Zimmertemperatur erweicht waren, gut durchmischt. Hierauf wurde der Fettgehalt des Rahmes einerseits mit der Röse-Gottlieb-Methode und andererseits durch Abdampfen der gemäss dem beschriebenen Verfahren hergestellten Benzol-Fettlösung ermittelt.

#### 4. Die Kontrolle des Wassergehaltes der Benzol-Fettlösung

Aus Versuchen ging hervor, dass die Ferrithiozyanatbildung im wä-serigen System sehr viel träger verläuft als in Benzol-Methanol. Deshalb wurde untersucht, wieviel Wasser die Benzol-Fettlösung enthält, wenn einerseits Rahmpfropfen mit niederem und andererseits solche mit hohem Fettgehalt extrahiert werden. Das in den Benzol-Fettlösungen vorhandene Wasser wurde mit der verfeinerten *Karl-Fischer-Wasserbestimmungsmethode* (10), nämlich der Dead-Stop-Methode \* nach *Foulk* und *Bawden* (11) bestimmt. Die Durchführung erfolgte mit der Karl-Fischer-Apparatur und dem Dead-Stop-Gerät der Metrohm AG. in Herisau.

Ergänzend wurden gewöhnliches und wassergesättigtes Benzol sowie verschieden lang gelagerter Methanol untersucht. Schliesslich wurden in zwei Erlenmeyerkolben je 20 ccm Benzol-Methanol-Lösung bereitgestellt und zur ersten je ein und zur zweiten je zwei Tropfen Ferrochlorid- und Ammoniumthiozyanatlösung zugefügt und alsdann nach guter Durchmischung der Wassergehalt bestimmt. Die Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 22.

Daraus ist ersichtlich, dass durch das Ausschütteln der Rahmpfropfen mit Benzol ein bescheidener Wassergehalt der Benzol-Fettlösung resultiert. Gelagertes Benzol enthält allein schon annähernd zwei Drittel der Wassermenge, wie sie nach dem Ausschütteln der Rahmpfropfen in der Benzol-Fettlösung gefunden wurde. Die Wassereinschleppung mit der modifizierten Methode ist gering. Eine Störung der Ferrithiozyanatbildung ist ausgeschlossen.

\* Die Dead-Stop-Methode erfasst den Titrationsendpunkt auf elektrische Weise. Sie arbeitet mit zwei in die Lösung eintauchenden Platinelektroden, die durch Anlegen einer kleinen Gleichspannung polarisiert werden. Dadurch wird der Stromfluss zwischen den beiden Elektroden unterbunden. Der geringste Jodüberschuss vermag jedoch die Elektroden sofort zu depolarisieren, wodurch ein Strom fliesst, der auf einem empfindlichen Galvanometer angezeigt wird. Der Zeigerausschlag am Galvanometer ergibt eine äusserst genaue Indizierung des Titrationsendpunktes.

Tabelle 22

*Der Wassergehalt von Benzol, Methanol, verschiedenen Benzol-Fettlösungen, sowie von Benzol-Methanollösungen mit Reagenzien*

Art der Probe	Wassergehalt in Prozenten	Gramm Fett in 100 ccm Lösung
Benzol-Fettlösung von hochfettigem Rahmpfropfen; Probe 1	0,061	3,41
Benzol-Fettlösung von hochfettigem Rahmpfropfen; Probe 2	0,063	3,87
Benzol-Fettlösung von hochfettigem Rahmpfropfen; Probe 3	0,061	3,58
Benzol-Fettlösung von hochfettigem Rahmpfropfen; Probe 4	0,054	2,60
Benzol-Fettlösung von niedrigerfettigem Rahmpfropfen; Probe 1	0,052	2,25
Benzol-Fettlösung von niedrigerfettigem Rahmpfropfen; Probe 2	0,056	2,02
Benzol-Fettlösung von niedrigerfettigem Rahmpfropfen; Probe 3	0,054	0,11
Benzol-Fettlösung von niedrigerfettigem Rahmpfropfen; Probe 4	0,052	0,17
Benzol, gelagert, 1. Probe	0,047	—
Benzol, gelagert, 2. Probe	0,039	—
Benzol, wassergesättigt	0,055*	—
Methanol, gelagert, 1. Probe	0,381	—
Methanol, gelagert, 2. Probe	1,005	—
20 ccm Benzol-Methanollösung + 1 Tropfen Ferrochlorid + 1 Tropfen Ammoniumthiozyanat	0,721	—
20 ccm Benzol-Methanollösung + 2 Tropfen Ferrochlorid + 2 Tropfen Ammoniumthiozyanat	1,122	—

\* Literaturwert bei 20 ° C = 0,053 % Wasser (2).

## J. Die modifizierte Ferrithiozyanatmethode zur Bestimmung der Fettperoxyde in Milch und Milchprodukten

### *Apparate, Glaswaren und weitere Utensilien*

Für die Herstellung der notwendigen Reagenzien sind nötig:

- \* Messkölbchen N. P. mit Glasstopfen von 50 und 100 ccm Inhalt;
- \* Messpipetten N.P. mit Schellbachstreifen und gekrümmtem Auslauf, Inhalt 2 ccm, geteilt in 0,01 ccm;
- \* Bechergläser von ca. 50 ccm Inhalt, Glastrichter und Hornspatel, ferner Rundfilter für qualitative Arbeiten.

Für die übrigen Arbeiten sind nötig:

- 1 Photometer mit Filter von 515  $m\mu$  und 2 Küvetten\* mit je 10,0 mm Schichttiefe;
- 1 Wasserbad mit konstanter Temperatur von 50 ° C;
- 1 Zentrifuge mit 1400 Umdrehungen pro Minute;
- 1 Gefrierabteil eines Kühlschranks oder einer Kühltruhe zur Aufnahme der Zentrifugengläser, vorteilhaft mit einem fächerartig unterteilten und mit verdünntem Glycerin gefüllten Glasgefäß ausgerüstet. Temperatur —10 bis —20 ° C;
- \* Zentrifugengläser mit dazupassenden Gummistopfen, Inhalt 30—40 ccm;
- \* Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen, Inhalt 100 ccm;  
Erlenmeyerkolben ohne Stopfen, Inhalt 100 ccm;  
Vollpipetten mit speziell dünnem Ansaugrohr, Inhalt 25 ccm;
- \* Vollpipetten mit zwei Marken, Inhalt 14 ccm;  
Vollpipetten mit zwei Marken, Inhalt 6 ccm;  
Lichtschutzhüllen aus lichtundurchlässigem Stoff für die Erlenmeyerkölbchen mit Glasstopfen. Dazu passende, lichtundurchlässige Stoffhauben;  
Kohlensäureflasche oder -kapsel.

### *Chemikalien*

Für die Untersuchung der Proben und die Herstellung der dazu nötigen Reagenzien sind folgende Chemikalien nötig:

Benzolum purissimum

Methanolum purissimum mit max. 2 ‰ Wasser

Ferrum sulfuricum oxydulatum, pro analysi ( $\text{FeSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$ )

Barium chloratum crist., pro analysi ( $\text{BaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ )

Ammonium thiocyanatum, pro analysi ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ )

Acidum hydrochloricum purissimum 10 n

\* Diese Glaswaren müssen vor jedem Gebrauch durch mehrstündiges Einlegen in mindestens  $\frac{1}{4}$  n-Salzsäure und nachheriges reichliches Spülen mit dest. Wasser eisenfrei gemacht werden.

## Reagenzien

### Ammoniumthiozyanat:

15 g  $\text{NH}_4\text{CNS}$  werden in ein 50 ccm fassendes Becherglas eingewogen. Sodann gibt man ca. 15 ccm dest. Wasser hinzu, stellt das Becherglas in heisses Wasser und rührt den Inhalt mit einem Glasstab bis zur völligen Lösung um. Alsdann kühlt man die Lösung auf Zimmertemperatur ab, giesst sie in ein 50 ccm N.P.-Messkölbchen und füllt mit dest. Wasser zur Marke auf. Nach guter Durchmischung wird die Lösung in ein braunes Fläschchen gegossen und dieses mit einem Gummistopfen, in dem eine in 0,01 ccm geteilte N. P.-Messpipette von 2 ccm Inhalt mit gekrümmtem Auslauf steckt, verschlossen.

### Ferrochlorid:

Es werden genau 0,4 g Bariumchlorid sowie 0,5 g Ferrosulfat auf je eine kleine Uhrglasschale abgewogen. Nachher werden die beiden Salze, je für sich, mit dest. Wasser in je ein 50 ccm N. P.-Messkölbchen gespült und diese mit dest. Wasser zur Marke aufgefüllt. Bis zur völligen Lösung der Salze stellt man die Kölbchen ins Dunkel. Nachher giesst man die Ferrosulfatlösung in ein 100 ccm N. P.-Messkölbchen und gibt unter ständig rotierender Bewegung die Bariumchloridlösung und ebenso 2 ccm 10 n HCl hinzu. Nach guter Durchmischung wurde die Lösung zur Absetzung des Bariumsulfatniederschlages für ca. 2 bis drei Stunden an einen dunkeln Ort gestellt. Anschliessend filtrierte man die Lösung in ein braunes Fläschchen, das mit einem durchbohrten Gummistopfen, in dem eine in 0,01 ccm geteilte N. P.-Messpipette von 2 ccm Inhalt mit gekrümmtem Auslauf steckt, verschlossen wird.

Die Kölbchen und Fläschchen, in welche die Salze zur Lösung eingefüllt oder die Lösungen selbst eingegossen werden, sind vorher stets mit Kohlensäure zu füllen und bis zu deren Gebrauch verschlossen zu halten. Das käufliche Ferrosulfat soll vor dem erstmaligen Gebrauch einige Wochen in einer Kohlensäureatmosphäre aufbewahrt werden, wodurch erst ein niedriger Blindwert resultiert.

## Untersuchungstechnik für Milchproben

Von den zu untersuchenden Milchproben werden je 30—40 ccm in die entsprechenden Zentrifugengläser eingefüllt. Dann werden diese mit einem Gummistopfen verschlossen, in die Zentrifuge verbracht und mit 1400 U./Min. während 10 Minuten zentrifugiert. Alsdann durchstösst man bei jeder einzelnen Probe mit je einer sauberen, separaten Spezialpipette von 25 ccm Inhalt die Rahmschicht und saugt die darunter befindliche Magermilch ab, worauf die Gläser erneut mit Milch gefüllt und während weiteren 15 Minuten zentrifugiert werden. Nach beendigter Zentrifugation stellt man sie in das im Gefrierabteil des Kühlschranks befindliche Glycerinbad und

behält sie dort während mindestens 12 Stunden, in jedem Falle aber bis unmittelbar vor deren Weiterverarbeitung. Bei einer Aufbewahrungszeit von vier Tagen ist nicht die geringste Oxydation zu befürchten.

Von den erstarrten Rahmpfropfen werden je 0,5—0,75 g in saubere, mit Kohlensäure gefüllte Zentrifugengläser eingewogen. Alsdann stellt man diese während fünf Minuten in ein Wasserbad von 45—50 ° C, wobei das Fett grösstenteils aus dem Rahm austritt. Nachher füllt man die Gläser der Reihe nach mit 45 ° C warmem Benzol bis zur Marke auf, verschliesst sie mit einem Gummistopfen, wickelt sie in ein schwarzes Tuch ein und schüttelt sie während ca.  $\frac{1}{2}$ —1 Minute sehr kräftig. Wenn alle Gläser gefüllt und durchgeschüttelt sind, werden sie gemeinsam während 20 Minuten zentrifugiert. Die Zentrifuge muss ungebremst auslaufen, da sonst die Benzol-Fettlösung durch erneute Wirbelbildung getrübt wird, ebenso müssen, wie erwähnt, die Gläser der Zentrifuge mit grösster Sorgfalt entnommen werden. Der Reihe nach wird mit den einzelnen Proben wie folgt verfahren: Der Gummistopfen, der leicht angeschwollen ist, später aber seine normale Form wieder annimmt, wird abgenommen und durch einen gelochten Korkstopfen ersetzt, durch diesen wird eine Vollpipette von 14 ccm Inhalt geschoben und zwar nur so tief, als es deren Füllung erfordert. Die Pipette ist am Mundstück mit Watte gestopft, sodass die überschüssige Fettlösung unter allen Umständen nur sehr langsam zurückfliessen kann, womit eine Wirbelbildung verhindert werden soll. Die entnommene Benzol-Fettlösung wird in ein Erlenmeyerkölbchen abgemessen, indem sich bereits 6 ccm Methanol befinden. Hierauf entnimmt man dem Zentrifugenglas durch eine weitere Vollpipette 6 ccm Benzol-Fettlösung und gibt diese in ein genau gewogenes Erlenmeyerkölbchen ohne Stopfen. Das darin enthaltene Lösungsmittel wird später verdampft und die verbliebene Fettmenge gewogen.

In die Erlenmeyerkölbchen mit der Benzol-Methanol-Fettlösung werden zuerst je 0,1 ccm Ammoniumthiozyanat und sodann 0,1 ccm Ferrochlorid sorgfältig eingemessen (Abtupfen des gekrümmten Pipettenauslaufs an der Wand des Erlenmeyerkölbchens). Nach der Zugabe der beiden Reagenzien wird bei allen Kölbchen ein kleiner Papierstreifen zwischen Schliff und Glasstopfen eingeklemmt\*. Anschliessend werden sämtliche Kölbchen während 10 Sekunden auf der Tischplatte kreisend bewegt. Hierauf stellt man sie für zwei Minuten zur Farbentwicklung in ein Wasserbad von 50 ° C und behält sie sodann während mindestens 10 Minuten in einem Kaltwasserbad von ca. 18 ° C. Nunmehr sind die Proben bereit zur Messung. Gleichzeitig mit den Normalproben wird stets eine Probe mitgeführt, die Benzol-Methanol sowie die beiden Reagenzien, aber kein Fett und ferner

\* Sonst werden die Stopfen während der Warmwasserbad-Behandlung abgestossen.

eine solche, die Benzol-Fettlösung, Methanol und Ammoniumthiozyanat, aber kein Ferrochlorid enthält. Die erstgenannte Probe dient zur Erfassung des Reagenzienblindwertes, während die zweite zur Messung der Extinktion der Fettfarbe dient. Die Extinktionswerte dieser beiden Proben können jeweils addiert und vom Extinktionswert der Normalprobe in Abzug gebracht werden, worauf die bereinigte Extinktion einer gemessenen Probe resultiert. Beträgt der gemessene Eh-Wert über 100 bis 110, so muss die Probeneinwaage reduziert oder die daraus hergestellte Fettlösung vor der Messung verdünnt werden.

### *Die Untersuchung verschiedener Milchprodukte*

**R a h m :** Zur Gewinnung der fetten Rahmpfropfen muss nur einmal zentrifugiert werden. Im übrigen ist der Untersuchungsvorgang gleich wie bei Milch.

**B u t t e r :** An Stelle der Rahmpfropfen wird direkt Butter in die Zentrifugenröhrchen eingewogen. Im übrigen ist das Vorgehen gleich wie bei Milch.

**K ä s e :** Mit der Spitze eines Glasplättchens werden 2,0—2,5 g Käse ganz fein abgeschabt und in ein Zentrifugenglas eingewogen. Hernach giesst man ca. 25 ccm kaltes Benzol zu und stellt das Glas während drei Minuten in ein Wasserbad von ca. 60 ° C. Alsdann wird mit Benzol bis zur Marke von 30 ccm ergänzt, kräftig durchgeschüttelt und sofort zentrifugiert. Die gelöste Fettmenge beträgt ca. 0,4 g und genügt, um anschließend — wie bei Milch beschrieben — weiterzufahren.

**S p r ü h v o l l m i l c h p u l v e r a u s h o m o g e n i s i e r t e r u n d n i c h t h o m o g e n i s i e r t e r V o l l m i l c h :** In einem Mörser werden drei bis fünf Minuten ca. 4 g Milchpulver kräftig zerrieben\*. Davon werden 2 bis 3 g in ein Zentrifugenröhrchen eingewogen. Alsdann gibt man Benzol bis zur Marke von 30 ccm zu und behält das Röhrchen während 10 Minuten in einem Wasserbad von ca. 60 ° C, wobei dieses wiederholt kräftig geschüttelt wird. Sodann zentrifugiert man während 10 Minuten und fährt — wie bei Milch beschrieben — weiter.

**W a l z e n v o l l m i l c h p u l v e r :** Dieses kann direkt in das Zentrifugenglas eingewogen werden und wird im übrigen gleich behandelt wie Sprühvollmilchpulver.

Die Milch und Milchprodukte sowie die Rahmpfropfen und Benzol-Fettlösungen müssen während und zwischen den Manipulationen sorgfältig vor Licht geschützt werden.

---

\* Wenn das Pulver zu wenig zerrieben wird, so schwimmen nach der Zentrifugation kleine Partikelchen auf und in dem Benzol herum.

### III. Prüfung des Oxydationswiderstandes verschiedener Milchproben

#### A. Allgemeines

Die Versuchsrichtung ging dahin, verschiedene Gemelke sowie ein und dasselbe Gemelk nach verschiedener Vorbehandlung oder mit verschiedenen Zusätzen auf ihren Oxydationswiderstand hin zu prüfen.

Für die im Interesse einer rationellen Arbeitsweise liegende Beschleunigung der Milchfettoxydation wurde das Licht gewählt.

Die Versuchsdauer wurde auf 72 Stunden festgesetzt, bei einem Probenahmeintervall von 12 Stunden.

Die Beurteilung der Ergebnisse geschah auf folgende Weise: In 6 ccm gleicher Benzol-Fettlösung, wie sie zur Messung gelangte, ermittelten wir den Fettgehalt analytisch und rechneten diesen auf die für die Messung benützte Menge von 14 ccm um. Gemäss früherer Versuche durfte in 14 ccm messfertiger Lösung 0,15—0,20 g Fett erwartet werden. Der gemessene Eh-Wert wurde einheitlich auf einen solchen für 0,2 g Butterfett umgerechnet. Für die gegenseitige Beurteilung der Versuchsergebnisse genügte der Eh-Wert. Eine weitere Umrechnung auf  $\gamma$  Eisen oder Sauerstoff erübrigte sich. Die Erkenntnisse der Vorversuche wurden berücksichtigt. Bei hochoxydierten Proben wurde daher die Fettmenge soweit verringert, dass der Messwert in den mit den Vorversuchen festgelegten linearen Bereich zu liegen kam.

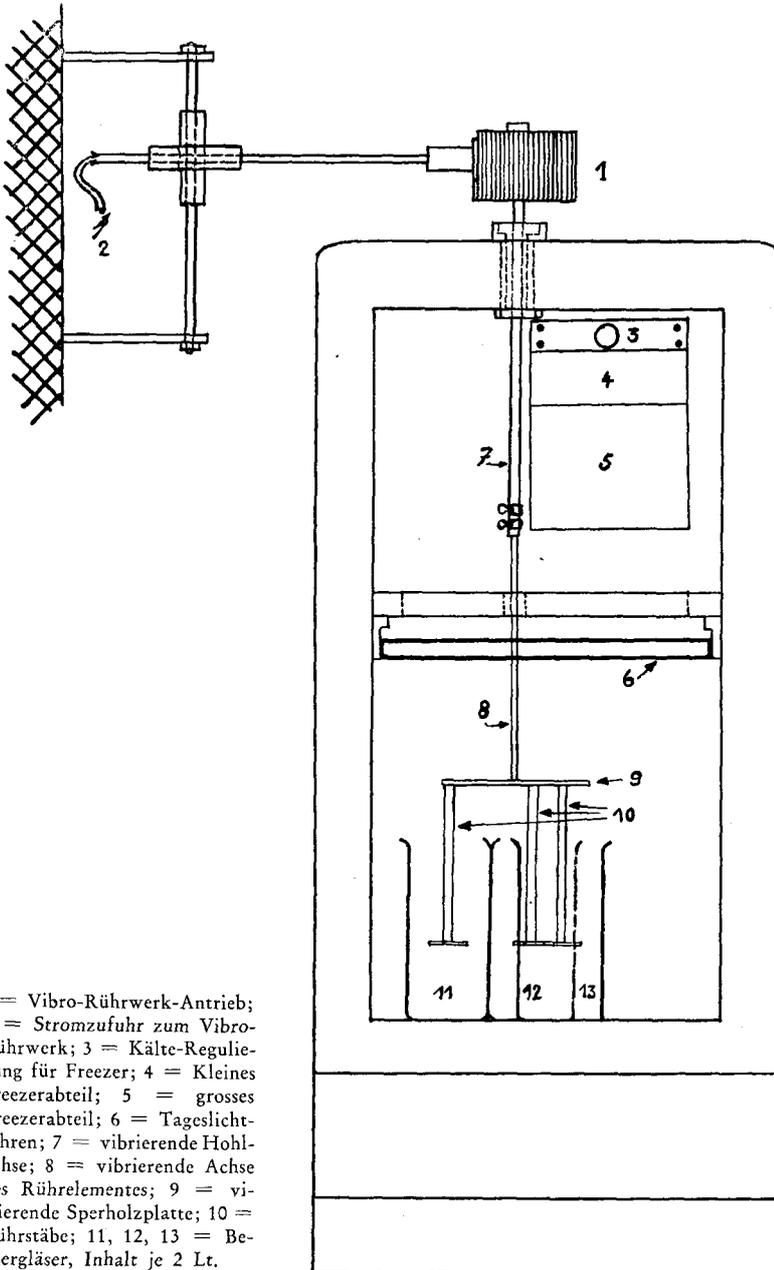
Die einwandfreie Durchführung der Versuche verlangte:

- Konstante Lichtstärke, automatische Regelung der Belichtungsdauer bzw. -intervalle.
- Gleiche Grösse der belichteten Milchoberfläche.
- Gleicher Abstand der Milchoberfläche von der Lichtquelle.
- Dauernd gleiche Beschaffenheit der Milchoberfläche, was zur Voraussetzung hat, dass während des Versuches keine Aufrahmung eintritt.
- Die zur Verhinderung der Aufrahmung nötige Rührwirkung muss so erfolgen, dass keine Luft in die Milch eingearbeitet wird.
- Die Rührintensität muss wählbar sein und soll auf der einmal gewünschten Stärke konstant bleiben.
- Die Milchtemperatur muss beliebig wählbar sein und soll auf der einmal gewünschten Höhe nur wenig schwanken.

Die Forderungen wurden in der Weise erfüllt, dass in einen General-Electric-Kühlschrank von 170 Liter Inhalt vier mit Kältestart-Vorschaltgeräten ausgerüstete General-Electric-Tageslichtröhren — deren Spektrum

Abbildung 12

Aufriss der Versuchsapparatur, M. 1 : 10



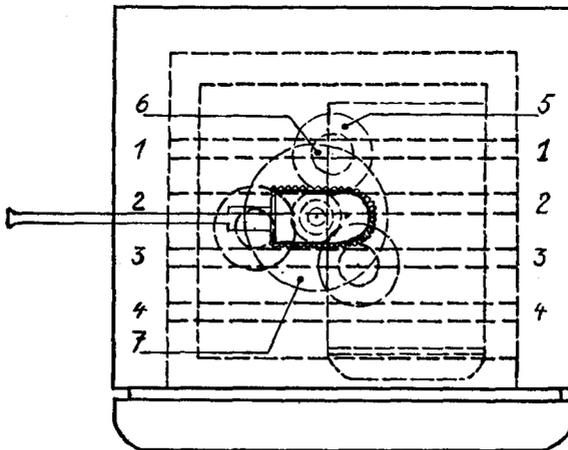
1 = Vibro-Rührwerk-Antrieb;  
2 = Stromzufuhr zum Vibro-Rührwerk; 3 = Kälte-Regulierung für Freezer; 4 = Kleines Freezerabteil; 5 = grosses Freezerabteil; 6 = Tageslichtröhren; 7 = vibrierende Hohlachse; 8 = vibrierende Achse des Rührelementes; 9 = vibrierende Sperholzplatte; 10 = Rührstäbe; 11, 12, 13 = Bechergläser, Inhalt je 2 Lt.

nicht allzusehr von demjenigen des natürlichen Tageslichtes abweicht —, sowie ein Vibro-Mischer, System Dr. Müller, Chemie-Apparatebau, Zürich, eingebaut wurden. Zur wahlweisen Ein- und Ausschaltung des Lichtes bauten wir eine Schaltuhr in die Leitung ein. Die ganze Apparatur ist im Aufriss und Grundriss im Masstab 1 : 10 in Abbildung 12 und 13 wiedergegeben. Ebenso wurde einer der drei Plexiglasrührer im Masstab 1 : 1 in Abbildung 13 aufgezeichnet.

Ergänzend ist folgendes zu bemerken: Die aus Plexiglas bestehenden Rührer waren mitsamt der vibrierenden Sperrholzplatte durch Vertikalverschiebung ihrer Befestigungsachse in der vibrierenden Hohlachse in der Höhe beliebig verstellbar. Die Rührintensität wurde durch Veränderung der Amplitude reguliert. Die Frequenz betrug 50 Hertz. Zur Aufnahme der Milch dienten immer dieselben drei Bechergläser von 2000 ccm Inhalt mit je einem Innendurchmesser von 11 cm, entsprechend einer resultierenden Milchoberfläche von je 95 cm<sup>2</sup>. Die installierten Tageslichtröhren erzeugten auf der Milchoberfläche der drei Gläser eine Helligkeit von 3000 Lux. Bei tieferen Temperaturen sinkt die Lichtausbeute der meisten Gasentladungslampen. Die zum Einbau in die Versuchsapparatur benützte Type wies erst zwischen 0 ° C bis minus 20 ° C grosse Lichtverluste auf. Die meisten Oxydationsversuche wurden indessen bei einer mittleren Temperatur von +9 ° C bis +18 ° C und einzelne bei einer Temperatur von +3 ° C bis +6 ° C durchgeführt. In diesem Bereiche sind die Lichtverluste unbedeutend.

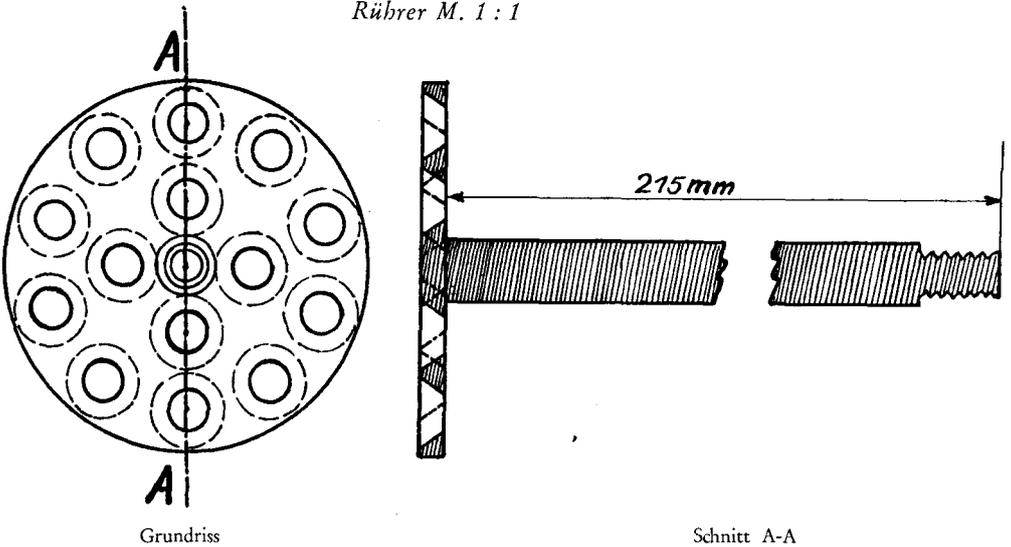
Abbildung 13

Grundriss M. 1 : 10



1—4 = Tageslichtlampen    5 = Bechergläser    6 = Rührer  
7 = vibrierende Sperrholzplatte

Rührer M. 1 : 1



Grundriss

Schnitt A-A

## B. Kontrollversuche

### 1. Versuch zur Unterbrechung der autoxydativen Kettenreaktion in Rahmpfropfen bei deren Aufbewahrung im Dunkeln und bei tiefer Temperatur

Drei Liter frische Mischmilch wurden auf zwei Bechergläser der Versuchsapparatur verteilt und im einen Glas dauerpasteurisiert, im anderen gekocht. Anschliessend wurden beide Gläser im Wasser auf  $11^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und in die Versuchsapparatur verbracht. Alsdann schaltete man die Tageslichtlampen und das Rührwerk ein. Mit Ausnahme eines  $1\frac{1}{2}$ stündigen Unterbruchs nach jeder Probefassung blieben Rührwerk und Licht dauernd eingeschaltet.

Von der gekochten wie dauerpasteurisierten Milch wurden alle 12 Stunden im Doppel Proben entnommen. Der Rahmpfropfen der einen Probe wurde jeweils sofort verarbeitet und dessen Oxydationswert gemessen, während die Parallelprobe bis zum Versuchsende im Gefrierraum aufbewahrt wurde. Dann wurden alle aufbewahrten Rahmpfropfen serienweise verarbeitet und ihre Oxydationswerte festgestellt. Die erhaltenen Resultate sind denjenigen der sofort verarbeiteten Proben in Tabelle 23 gegenübergestellt.

Die Aufbewahrung der Rahmpfropfen im Gefrierabteil und deren serienweise Verarbeitung und Messung am Ende einer Versuchsperiode führte nicht zu Fehlresultaten. Die vereinzelt Abweichungen liegen im üblichen Fehlerbereich. Auffallend ist der bedeutend geringere Oxydationswiderstand gekochter Milch gegenüber dauerpasteurisierter Milch.

Tabelle 23

*Der Einfluss der Aufbewahrung der Rahmpfropfen im Gefrierraum während 72 Stunden auf deren Fettoxydation*

Oxydationszeit in Stunden	Gekochte Milch		Dauerpasteurisierte Milch	
	sofort gemessene Probe	Im Gefrierraum aufbewahrte Probe	sofort gemessen: Probe	Im Gefrierraum aufbewahrte Probe
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett			
0	-0,21 *	-0,68 *	1,27	0,65
12	39,03	36,41	28,32	27,07
24	60,20	60,48	51,80	53,13
36	89,70	88,40	77,68	76,60
48	110,54	108,66	97,47	93,66
60	135,12	128,96	112,44	110,62
72	149,48	.	123,74	.

Durchschnittl. Versuchstemperatur: Milch = 11,5 ° C Gefrierraum -20 bis -22 ° C

*2. Die Feststellung der Versuchsfehlerbreite bei Anwendung der vorgängig beschriebenen Untersuchungstechnik und Versuchsapparatur*

Als Versuchsmaterial dienten drei Liter frische, dauerpasteurisierte Mischmilch. Wir verteilten sie gleichmässig auf die drei Bechergläser der Versuchsapparatur und kühlten sie im Wasser auf 16 ° C ab. Hierauf verbrachten wir sie in die Versuchsapparatur und schalteten sowohl das Rührwerk als auch das Licht ein. Letzteres wurde im Gegensatz zum dauernd betriebenen Rührwerk durch die Schaltuhr abwechselungsweise eine Stunde ein- und eine Stunde ausgeschaltet. Der Fettgehalt der Milch betrug in allen drei Gläsern 3,65 0/c. Die Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 24.

Der erste Wert in Glas No. 3 weicht am stärksten von den zugehörigen Parallelmessungen in Glas No. 1 und 2 ab. Gemäss den Erfahrungen aus den Vorversuchen hätten, unter Anwendung der erweiterten Ausgleichsrechnung, zur genauen Ermittlung dieser niedrigen Werte von jeder Probe drei verschiedene Konzentrationen gemessen werden müssen. Als Startpunkt für den ganzen Oxydationsverlauf stören die Differenzen indessen nicht. Bei den übrigen Resultaten ist die Übereinstimmung zufriedenstellend. Ausgedrückt in Prozenten des jeweiligen Messergebnisses, machen die fehlerhaften Abweichungen vier bis fünf Prozent vom arithmetischen Mittelwert aus.

Die Abweichungen sind als Versuchsfehler zu betrachten und bilden die Summe der Abmess- und

\* Keine Fettoxydation; Anwesenheit reduzierender Substanzen.

Tabelle 24

*Abweichungen in der Fettoxydation  
bei drei unter gleichen Bedingungen gehaltenen Parallelproben*

Oxydations- zeit in Stunden	Glas No. 1	Glas No. 2	Glas No. 3	Arithmetischer Mittelwert
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett			
0	1,34	1,48	0,84	1,22
12	15,89	15,37	16,73	16,00
24	24,76	22,10	24,61	23,82
36	33,17	29,64	31,93	31,58
48	42,42	41,57	41,86	41,95
60	51,30	52,89	50,22	51,47
72	48,81	51,34	47,76	49,30

Durchschnittl. Versuchstemperatur: Milch 9,5° bis 10,0° C    Gefrierraum —20° C

Wägefehler bei der Fettbestimmung sowie der Fehler bei der photometrischen Messung.

### C. Versuche mit Einzelgemelken

#### 1. Allgemeines

*Stebnitz* und *Sommer* (47) berichten, dass die Stabilität des Butterfettes gegen die Oxydation bei Milch von verschiedenen Kühen und bei ein und derselben Kuh zu verschiedenen Zeiten verschieden sei. *Henderson* und *Roadhouse* (16) sowie *Eckles* und *Palmer* (9) stellen bei Unterfütterung der Kühe einen Anstieg und bei Überfütterung ein Absinken der ungesättigten Fettsäuren, der Jodzahl und der Oxydationsempfindlichkeit fest. *Hunziker*, *Mills* und *Spitzer* (21) beobachteten, dass eine Fütterung mit grossen Mengen Leinsamen- und Baumwollöl die Jodzahl des Milchfettes beträchtlich anwachsen lässt.

In Ergänzung zu diesen Feststellungen wurde abzuklären versucht, ob das Laktationsstadium in bezug auf die Oxydationsempfindlichkeit der Milch einen Einfluss ausübe.

#### 2. Probenmaterial, Probenfassung und Vorbehandlung

Die untersuchten Milchproben waren in allen Fällen ein aliquoter Teil des gut durchmischten vollen Gemelkes von einzelnen Kühen. Ein glas-

emaillierter Milcheimer schloss jede Art Metallberührung aus. Die Durchmischung des Gemelkes erfolgte mit einem Glasrührer. Die für den Versuch benötigten Milchproben von je 1,5 Liter wurden aus dem Melkeimer direkt in die Bechergläser der Versuchsanordnung abgefüllt. In denselben Gefäßen wurde die Milch später dauerpasteurisiert oder gekocht. Der Transport der Milch vom Stall zum Laboratorium erfolgte unter Lichtabschluss. Nach der gewünschten Hitzebehandlung kühlten wir die Milchproben im fließenden Wasser unter Lichtausschluss auf die jeweils bei den einzelnen Versuchen vermerkte Temperatur ab. Vom Melkakt bis zur Erhitzung der Milchproben im Laboratorium verstrich durchschnittlich eine halbe Stunde.

### 3. Prüfung des Widerstandes von alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation

Für die ersten drei Versuche stammte die altmelke Milch von Kuh No. 1, welche seit sieben Monaten trächtig war. Der Milchfettgehalt betrug 4,95 0/0. Neumelke Milch lieferte die Kuh Nr. 2 zu Beginn ihres zweiten Laktationsmonats. Der Fettgehalt betrug 3,30 0/0.

Beim ersten Versuch blieben das Rührwerk und die Tageslichtlampen, mit Ausnahme eines jeweils 1 1/2stündigen Unterbruchs nach jeder Probenentnahme, dauernd eingeschaltet.

Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 25 ersichtlich.

Tabelle 25

#### Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation (Dauerbelichtung)

Oxydationszeit in Stunden	Altmelke Milch	Neumelke Milch
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett	
0	-0,47*	0,64
12	44,44	72,67
24	73,27	103,27
36	108,94	132,87
48	123,76	114,86

Durchschnittliche Versuchstemperaturen: Milch 16 ° C Gefrierraum -20,5 ° C

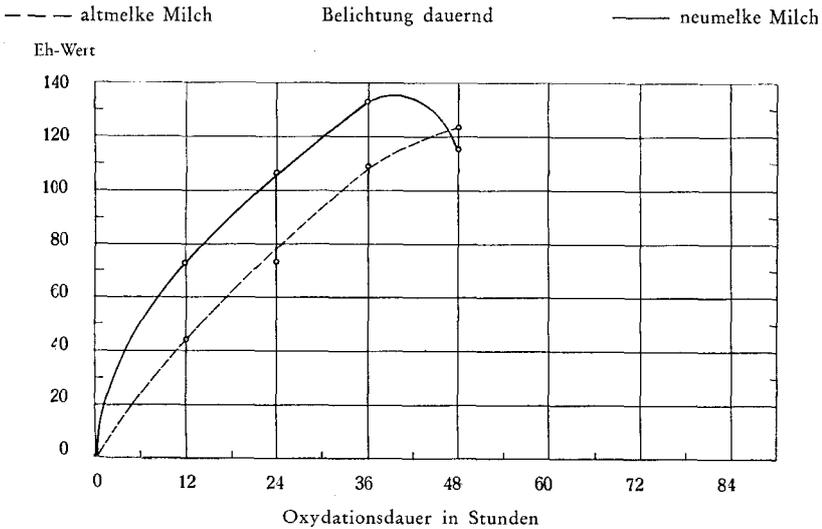
Obwohl dieser Versuch nach 48 Stunden abgebrochen wurde, ist die Differenz zwischen alt- und neumelker Milch bezüglich ihres Widerstandes gegen die Fettoxydation augenfällig. Gegen das Versuchsende machte sich bei der neumelken Milch offenbar ein Peroxydabbau geltend. Die

\* Keine Fettoxydation; Anwesenheit reduzierender Substanzen.

graphische Aufzeichnung der angeführten Werte in Abbildung 14 lässt einen vom ersten Moment weg in leichtem Bogen steil ansteigenden und dann etwas flacheren und bis zu nahezu 40 Stunden geradlinigen Oxydationsverlauf erkennen. Eine Induktionsperiode ist nicht ersichtlich. Die erste Probe altmelker Milch enthielt offenbar noch keine Peroxyde, wohl aber in geringem Masse reduzierende Substanzen.

Abbildung 14

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation*



Der Versuchsverlauf zwang zum Entschluss, künftig an Stelle der dauernden Belichtung nur noch die automatisch gesteuerte, intermittierende Belichtung (abwechslungsweise eine Stunde Dunkel und eine Stunde Licht) anzuwenden. Der Versuch wurde daher mit dem gleichen Rohmaterial und unter Verwendung der intermittierenden Belichtung wiederholt. In Erweiterung des früher angeführten zweiten Kontrollversuches sollte ferner festgestellt werden, ob mit demselben Rohmaterial zu verschiedenen Zeiten unter gleichen Versuchsbedingungen gleiche Resultate erzielt werden können. Deshalb wurde der Versuch mit Anwendung intermittierender Belichtung, nach einwöchiger Zwischenpause, wiederholt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 26 zusammengestellt. Die Ergebnisse des ersten Versuchs mit intermittierender Belichtung sind in Abbildung 15 graphisch wiedergegeben.

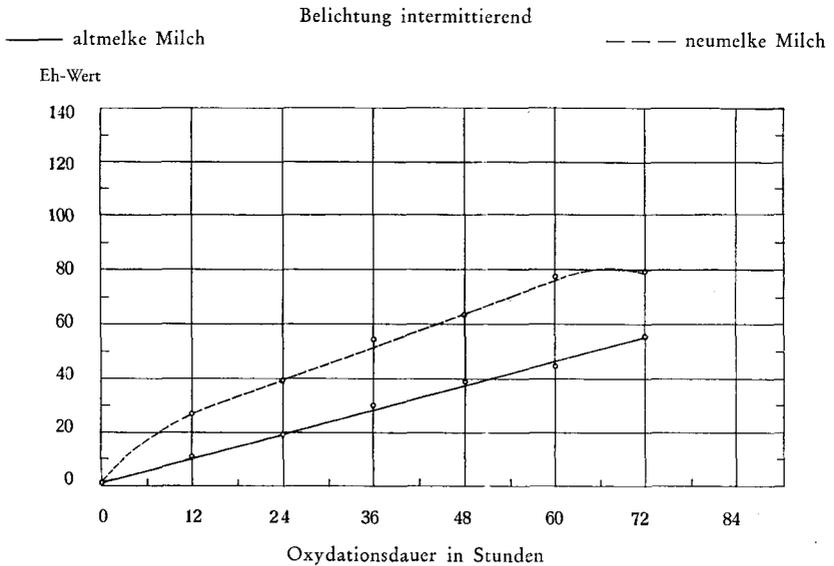
Tabelle 26

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation*

Oxydationszeit in Stunden	1. Versuch		2. Versuch	
	Altmelke Milch	Neumelke Milch	Altmelke Milch	Neumelke Milch
Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett				
0	1,27	1,37	2,50	3,00
12	12,67	27,03	13,36	28,80
24	19,15	39,33	21,86	41,97
36	30,24	52,81	30,39	57,85
48	39,16	63,56	40,41	66,83
60	44,68	77,34	48,70	82,31
72	55,50	79,81	59,80	89,35
Durchschnittliche Versuchstemperatur				
Milch	4,4 ° C		4,7 ° C	
Gefrierraum	-20,0 ° C		-20,5 ° C	

Abbildung 15

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation*



Die gemessenen Eh-Werte steigen, der geringeren Belichtung entsprechend, langsamer. Die Unterschiede zwischen dem ersten und dem zweiten Versuch sind gering, wenn man bedenkt, dass der Oxydationswiderstand des Rohmaterials unter Umständen nicht genau gleich war wie acht Tage vorher. Die bedeutend grössere Oxydationsbereitschaft neumelker Milch bestätigte sich.

In Tabelle 27 ist ein weiterer Versuch angeführt, bei dem die Milch von Kühen stammt, die einer ganz anderen Zuchtlinie angehören.

Tabelle 27

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker sowie gekochter altmelker Milch gegen die Fettoxydation*

Oxydationszeit in Stunden	Altmelke Milch dauerpast.	Neumelke Milch dauerpast.	Altmelke Milch gekocht
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	0,74	1,90	-1,24*
12	10,00	20,45	18,32
24	15,78	32,29	33,28
36	24,64	42,63	46,29
48	31,20	52,72	56,23
60	40,00	64,39	65,25
72	46,63	58,87	68,89

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 9,5 ° C Gefrierraum 14,5 ° C

Die neumelke Milch zeigte erneut eine grössere Bereitschaft für die Fettoxydation. Es scheint, dass individuelle Unterschiede der Versuchstiere als Ursache ausser Betracht fallen und das erwähnte Ergebnis höchstens sekundär beeinflussen. Der Kochprozess schwächte den Oxydationswiderstand bedeutend mehr als die Dauerpasteurisation.

Gemäss den bisherigen Erfahrungen durfte erwartet werden, dass die Oxydationsbereitschaft gekochter neumelker Milch besonders gross sei. Zur Abklärung dieser Annahme diente der in Tabelle 28 wiedergegebene Versuch, bei dem wir den Oxydationswiderstand altmelker Milch eines weiteren Versuchstieres untersuchten. Die Versuchsdauer wurde auf 144 Stunden ausgedehnt, das Probenahmeintervall von 12 auf 24 Stunden erweitert.

\* Keine Fettoxydation; Anwesenheit reduzierender Substanzen.

Abbildung 16

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker sowie neumelker gekochter Milch gegen die Fettoxydation*

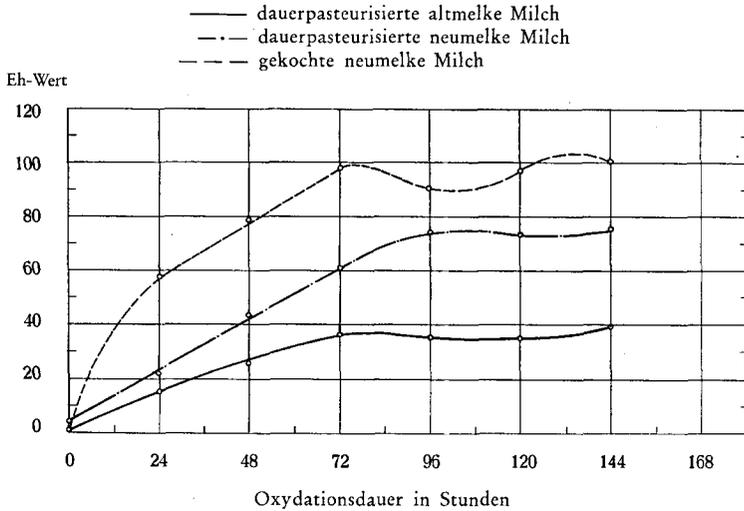


Tabelle 28

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter alt- und neumelker sowie neumelker gekochter Milch gegen die Fettoxydation*

Oxydationszeit in Stunden	Altmelke Milch dauerpasteurisiert	Neumelke Milch	
		dauerpasteurisiert	gekocht
Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett			
0	0,80	4,35	-0,44 *
24	15,48	22,00	57,91
48	26,00	43,70	78,75
72	36,48	61,07	95,51
96	35,91	74,35	90,88
120	35,20	73,74	96,86
144	39,78	75,67	100,87

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 9,0 ° C    Gefrierraum -19,5 ° C

Die bisher beobachteten Unterschiede in der Oxydationsbereitschaft von alt -und neumelker Milch wurde auch mit Milch neuer Versuchs-

\* Keine Fettoxydation; Anwesenheit reduzierender Substanzen.

tiere deutlich bestätigt. Ferner erwies sich die Vermutung, dass eine gekochte neumelke Milch einen besonders schlechten Oxydationswiderstand besitzt, als richtig. Nach einer Versuchsdauer von 72 Stunden nahm die Oxydationsgeschwindigkeit sehr stark ab.

*Stebnitz* und *Sommer* (46) stellten seinerzeit bei Sonnen- oder U. V.-Lichteinwirkung eine Wellenbewegung in der Peroxydentwicklung fest. Gemäss Abbildung 16 konnten wir eine ähnliche Beobachtung machen.

#### D. Der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Fettoxydation in Einzelgemelken

Über den Einfluss des Lichtes und der Temperatur finden sich in der Literatur viele Angaben verschiedener Autoren, die sich leider nicht immer decken. *Golden* (13) berichtet über einen neuen, besonders zeitsparenden, erfolgreichen Peroxydtest durch Belüftung der Probe bei 125 ° C. *Holm* (18) berichtete anlässlich des XII. internationalen Milchwirtschaftskongresses in Stockholm, bei seinen Oxydationsversuchen durch Luftdurchleiten bei Temperaturen zwischen 70 und 140 ° C habe bei 70 ° C der grösste Peroxydwert resultiert, während er bei 120 ° C klein blieb, da das Peroxyd fast im selben Moment, da es gebildet wurde, wieder zerstört worden sei. *Schmalzfuss* (43) erwähnt, dass die Peroxydentwicklung eine Kettenumsetzung sei und unabhängig vom Wärmegrad, grösserer Belichtungsdauer oder überschüssigem Sauerstoff verlaufe.

Sie entspreche der Quadratwurzel aus der Lichtstärke und dem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren. *Ritter* (38) weist schliesslich darauf hin, dass die Peroxydbildung bei 50 ° C ca. 3—4 mal so schnell und bei 37 ° C etwa 12 mal so rasch verlaufe wie bei Zimmertemperatur. Bezüglich des Lichtes erklärte *Lea* (27), eine 50 mal schwächere Lichtintensität habe bei Rindsfett eine nur 5 mal schwächere Oxydation bewirkt.

Unter diesen Umständen war es besonders wichtig, den Einfluss von Temperatur und Licht gesondert zu studieren. Der Abklärung dieser Frage dienten drei Versuche. Im Rahmen der durch die Versuchsapparatur gegebenen Möglichkeiten führten wir den ersten Versuch bei dauernder Belichtung und relativ hoher Temperatur, den zweiten bei gleicher Belichtung und relativ tiefer Temperatur und den dritten bei intermittierender Belichtung (eine Stunde Licht und eine Stunde Dunkel) und gleicher Temperatur wie beim zweiten Versuch durch. Da die Apparatur die Aufnahme von drei verschiedenen Proben ermöglichte, konnten wir in jedem Versuch Kupfer als Pro- und Aethylgallat als Antioxydans mitprüfen. Als Rohmaterial stand allen Versuchen je ein aliquoter Teil des jeweils gut durchmischten

Tabelle 29

*Der Einfluss verschiedener Zusätze und Versuchsbedingungen auf den Widerstand der Milch gegen die Fettoxydation*

Oxydationszeit in Stunden	Versuch 1			Versuch 2			Versuch 3		
	Milch + 6 ccm dest. HOH	Milch + CuSO <sub>4</sub> - Lösung	Milch + 105 mg Aethylgallat + 6 ccm dest. HOH	Milch + 6 ccm dest. HOH	Milch + CuSO <sub>4</sub> - Lösung	Milch + 105 mg Aethylgallat + 6 ccm dest. HOH	Milch + 6 ccm dest. HOH	Milch + CuSO <sub>4</sub> - Lösung	Milch + 105 mg Aethylgallat + 6 ccm dest. HOH
Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett									
0	3,55	7,02	3,46	1,32	1,72	0,45	0,02	7,56	0,69
12	43,55	52,77	35,99	43,90	51,28	44,44	15,79	23,42	15,00
24	75,36	71,48	53,09	74,90	66,29	58,02	26,59	34,29	23,39
36	72,92	78,23	54,26	96,44	84,68	69,22	38,40	41,85	30,22
48	78,22	86,07	57,70	119,75	97,38	72,69	50,13	46,89	35,80
60	77,93	104,28	59,65	138,80	111,41	80,00	64,06	59,87	42,43
72	80,04	101,79	59,62	162,83	127,15	85,53	73,52	67,24	39,97
Durchschnittliche Milchtemperatur	19 °C			10,0 °C			11,0 °C		
Belichtung	dauernd			dauernd			intermittierend		
Durchschnittl. Gefrierraumtemperatur	-6 °C			-24,4 °C			-6 °C		

Abendgemelkes der nun im siebenten Laktationsmonat stehenden Kuh No. 2 zur Verfügung.

**Kupfersulfatzugabe:** Für die Kupferinfektion diente eine Kupfersulfatlösung mit einem Gehalt von einem Milligramm  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pro ccm. Von dieser Lösung gaben wir in die 1,5 Liter vorgekühlte Milch des einen Glases 6 ccm, wodurch dieselbe einen Kupfergehalt von 1 mg/l erreichte.

**Aethylgallatzugabe:** 105 mg reines Aethylgallat wurden in ein 30 ccm fassendes Zentrifugenröhrchen eingewogen. Dann gaben wir ca. 25 ccm dauerpasteurisierte und noch nicht abgekühlte Milch aus dem einen Glas dazu. Hierauf kräftiges Schütteln bis zur vollkommenen Lösung des Aethylgallates. Die aethylgallathaltige Milch wurde nun in das entsprechende Glas zurückgeleert. Gleichzeitig fügten wir 6 ccm dest. Wasser dazu. Auf diese Weise ergab sich ein Aethylgallatgehalt der Milch von 0,007 ‰.

Abbildung 17

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter gewöhnlicher, kupfer- und aethylgallathaltiger Milch gegen die Fettoxydation*

Belichtung dauernd    Durchschnittliche Milchttemperatur 19 ° C

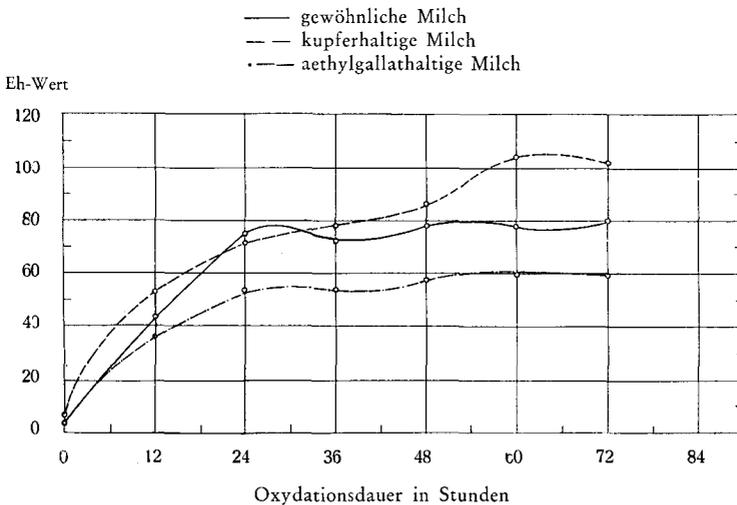


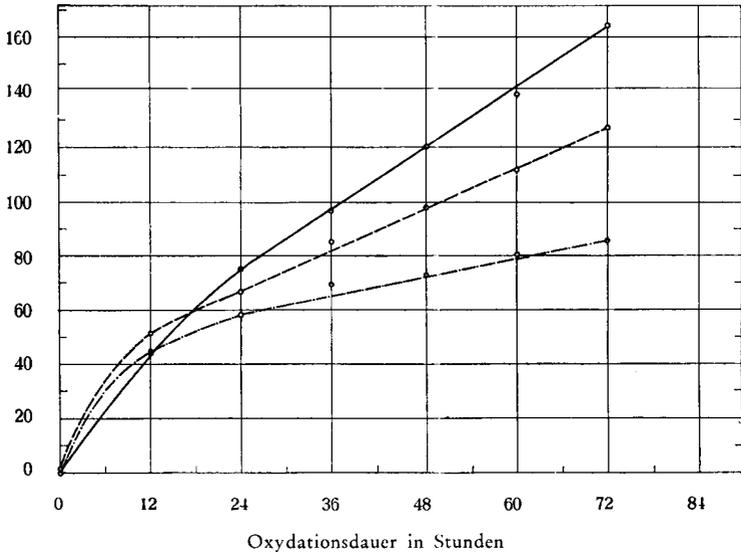
Abbildung 18

*Der Widerstand von dauerpasteurisierter gewöhnlicher, kupfer- und aethylgallathaltiger Milch gegen die Fettoxydation*

Belichtung dauernd Durchschnittliche Milchtemperatur 10 ° C

— gewöhnliche Milch — — kupferhaltige Milch — · — aethylgallathaltige Milch

Eh-Wert



Aus Tabelle 29 und den Abbildungen 17, 18 und 19 lassen sich folgende Beobachtungen zusammenfassen:

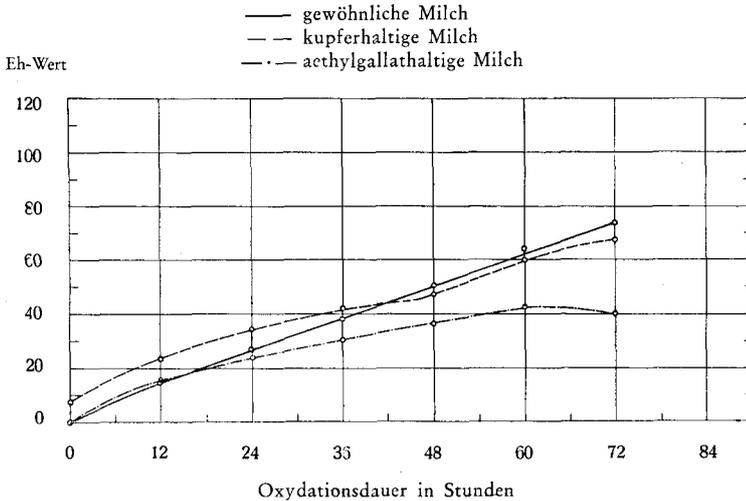
**Der Temperatureinfluss:** Aus Versuch eins und zwei ging hervor, dass bei 10 ° C bedeutend höhere Oxydationswerte resultierten als bei 19 ° C. Die tiefere Temperatur wirkte somit viel stärker hemmend auf die Peroxydzerstörung als andererseits die höhere Temperatur auf den Peroxydaufbau fördernd wirkte. Die Wirkungsweise des Kupfers wurde durch die Temperatur stark beeinflusst.

Weiter geht aus den Versuchen hervor, dass die Peroxydbildung in einem relativ tiefen Bereich empfindlich auf die herrschende Temperatur anspricht. Tiefe Temperaturen sichern zufolge starker Hemmung des Peroxydabbaus eine gleichmässige und vielfach geradlinige Peroxydentwicklung. Peroxydtesten bei 125 ° C oder bei 65—70 ° C, wie durch Golden (13), Holm (18), Willstaedt und Reinart (62) ausgeführt, ist nach diesen Ergebnissen Vorsicht entgegenzubringen, sofern die Messungen nicht in sehr kurzen Intervallen und vor dem sichtbaren Auftreten des ersten

Abbildung 19

Der Widerstand von dauerpasteurisierter gewöhnlicher, kupfer- und aethylgallathaltiger Milch gegen die Fettoxydation

Belichtung dauernd Durchschnittliche Milchtemperatur 11 ° C



Peroxydabbaues vorgenommen werden. Die hohen Temperaturen ermöglichen eine sehr starke Peroxydzerstörung und bringen die Gefahr mit sich, dass die einzelnen Messungen zufallsmässige, momentane Bilanzwerte zwischen Peroxydaufbau- und abbau bilden.

**Der Lichteinfluss:** Der gegenseitige Verlauf der Fettoxydation bei den drei Milchproben war bei Versuch zwei und drei, der praktisch gleichen Versuchstemperatur entsprechend, gleich. Bei Versuch drei sind bloss die Differenzen der gemessenen Eh-Werte zwischen den drei Milchproben geringer und der zeitliche Ablauf verzögert. Die am Ende des dritten Versuchs erreichten Eh-Werte waren ungefähr halb so gross wie bei Versuch zwei. Sie verhielten sich linear zu der um 50 Prozent reduzierten Belichtungsdauer. Die bereits erwähnten Angaben von *Schmaljuss* (43) und *Lea* (27) bezüglich des Lichteinflusses konnten somit nicht bestätigt werden.

**Aethylgallateinfluss:** Aus allen drei Versuchen war die antioxydative Wirkung des Aethylgallates ersichtlich. Die Fettoxydation wurde durch das Aethylgallat nicht völlig unterbunden, wohl aber nach einem anfänglich ungehemmten Verlauf stark reduziert. Die Behauptung von *Lea* (28), dass Aethylgallat nicht in der Lage sei, gegen das Licht schützend zu wirken, erfuhr durch unsere Versuche keine Bestätigung.

**Kupfer einfluss:** Aus den Versuchen war, übereinstimmend mit den Angaben von *Ritter* und *Nussbaumer* (40), ersichtlich, wie verschieden das Kupfer in die Peroxyentwicklung eingreifen kann. Bei 19 ° C führte es zu höheren und bei 10 ° C zu bedeutend tieferen Peroxydmengen gegenüber jenen in der Milch ohne Zusatz. Die höhere Temperatur förderte die Peroxydaufbaufunktion des Kupfers mehr als dessen Peroxydabbauwirkung. Bei 10 ° C überwog die Peroxydabbaufunktion des Kupfers, nachdem ein gewisser Aufbau stattgefunden hatte, dessen weitere peroxydaufbauende Wirkung. Nicht nur der absolute Kupfergehalt, wie *Ritter* und *Nussbaumer* (40) erwähnten, sondern auch die Temperatur während des ganzen Versuchsablaufs, sind bestimmend für die Wirkungsweise des Kupfers hinsichtlich der Peroxydbildung.

In Tabelle 30 ist ein weiterer Versuch dargestellt, bei dem die Wirkung von Kupfer einerseits und Aethylgallat andererseits auf die Fettoxydation in Milch bei sehr tiefer Temperatur geprüft wurde. Die Milch stammte von der nunmehr im achten Laktationsmonat stehenden Kuh No. 2. Die Kupfersulfatlösung und das Aethylgallat gaben wir, sowohl nach Menge wie auch bezüglich der Art und Weise, gleich zu wie bei den in Tabelle 29 verzeichneten Versuchen.

Tabelle 30

*Die getrennte Wirkung von Kupfer und Aethylgallat auf die Fettoxydation in Milch*

Oxydationszeit in Stunden	Milch + 6 ccm dest. HOH	Milch + 6 ccm CuSO <sub>4</sub> -Lösung	Milch + 105 mg Aethylgallat + 6 ccm dest. HOH
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	0,00	1,01	2,01
12	10,98	14,08	11,98
24	17,51	22,12	17,93
36	26,15	27,92	24,13
48	31,85	34,00	25,75
60	39,36	39,38	27,89
72	48,07	42,04	31,61

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 3 ° C    Gefrierraum -21,5 ° C

Die Reduktion der durchschnittlichen Milchttemperatur von 11 ° C (siehe 3. Versuch, Tabelle 29) auf 3 ° C führte in gewöhnlicher wie kupferhaltiger Milch zu ca. 30—35 Prozent geringeren und in aethylgallathaltiger Milch zu ca. 25 Prozent niedrigeren Peroxydwerthen. Der gegen

seitige Oxydationsverlauf der drei Milchproben blieb sich gleich. Die abbauende Funktion des Kupfers trat etwas später und schwächer in Erscheinung als dort. Die Senkung der Temperatur von 11 ° C auf 3 ° C führte zu einer Verminderung der gebildeten Peroxydmenge, im Gegensatz zu den seinerzeitigen Versuchsergebnissen bei Absinken der Temperatur von 19 ° C auf 10 ° C (Tabelle 29). Damals resultierten bei der tieferen Temperatur bedeutend höhere Peroxydwerte. Bei 19 ° C musste eine starke Peroxydzerstörung eingetreten sein, während diese bei 10 ° C ausblieb. Der Versuch zur Prüfung des Widerstandes von alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation einerseits mit dauernder Belichtung bei 16 ° C und andererseits mit intermittierender bei ca. 4,5 ° C zeigte damals bei tieferer Temperatur ebenfalls kleinere Peroxydwerte. Sie waren zudem geringer, als es durch die um 50 Prozent reduzierte Belichtungsdauer der Fall sein sollte. Die Peroxydzerstörung setzte bei unseren Versuchen somit erst zwischen 16 °—19 ° C ein.

Aus Tabelle 31 sind die Resultate eines Versuchs ersichtlich, bei dem einmal die antioxydative Wirkung von Aethylgallat in Anwesenheit von Kupfer und sodann jene von Vitamin C in Milch geprüft wurden. Für den Versuch verwendeten wir dauerpasteurisierte Milch von der Kuh No. 2. Die Art der Zugabe wie auch die Menge blieben sich beim Aethylgallat- und Kupferzusatz gleich wie früher. Von der Ascorbinsäure wurden 105 mg abgewogen und, nach vorheriger Lösung in dest. Wasser, zu 1,5 Liter Milch gegeben.

Tabelle 31

*Die Wirkung von Kupfer + Aethylgallat sowie von Ascorbinsäure auf die Fettoxydation in Milch*

Oxydationszeit in Stunden	Milch + 6 ccm dest. HOH	Milch + 6 ccm CuSO <sub>4</sub> -Lösung + 105 mg Aethyl- gallat	Milch + 105 mg Ascorbinsäure, vorgelöst in 6 ccm dest. HOH
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	0,75	0,75	0,05
12	16,93	13,91	18,31
24	28,00	23,52	33,36
36	38,92	30,71	41,06
48	49,31	33,67	47,43
60	61,70	35,99	55,21
72	71,33	38,03	72,03

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 11 ° C Gefrierraum —7,5 ° C

Der Oxydationsverlauf der zusatzfreien Milch zeigte sich, graphisch aufgezeichnet, als geradlinig. Die Ascorbinsäure vermochte die MilCHFett-oxydation nicht zu hemmen. Die Peroxydbildung in der ascorbinsäure-angereicherten Milch verlief anfangs stärker und später annähernd gleich wie in der Milch ohne Zusätze. Die antioxydative Wirkung des Aethylgallates tritt noch stärker in Erscheinung als bei den vorherigen Versuchen ohne gleichzeitige Anwesenheit von Kupfer. Offenbar wurde die peroxyd-aufbauende, nicht aber -abbauende Wirkung des Kupfers gehemmt, wo-durch besonders tiefe Peroxydwerte resultierten.

In einem weiteren Versuch prüften wir die antioxydative Wirkung von Vitamin C in Anwesenheit von Kupfer und jene von Aethylgallat in Milch. Die dauerpasteurisierte Milch stammte wiederum von der Kuh No. 2. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 32 ersichtlich.

Tabelle 32

*Die Wirkung von Kupfer + Ascorbinsäure sowie von Aethylgallat auf die Fettoxydation in Milch*

Oxydations-zeit in Stunden	Milch + 12 ccm dest. HOH	Milch + 6 ccm CuSO <sub>4</sub> -Lösung + 105 mg Ascorbinsäure, vorgelöst in 6 ccm dest. HOH	Milch + 105 mg Aethylgallat + 12 ccm dest. HOH
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	0,02	0,02	-0,21 *
12	16,61	23,23	18,34
24	28,71	34,95	26,61
36	39,00	41,96	34,42
48	48,46	50,88	37,85
60	59,72	59,67	41,96
72	69,36	69,40	44,10

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 11 ° C Gefrierraum -7,5 ° C

Die antioxydative Wirkung der Ascorbinsäure blieb erneut aus. Die ohne Ascorbinsäure unter den nämlichen Bedingungen erhaltenen Oxy-dationswerte wurden sogar leicht übertroffen (Tabelle 29, dritter Versuch). Eine deutliche peroxydabbauende Wirkung des Kupfers war nicht mehr zu erkennen.

Das Aethylgallat zeigte abermals eine deutliche antioxydative Wir-kung. Die Resultate bezüglich der antioxydativen Wirkung von Ascorbin-

\* Keine Fettoxydation; Anwesenheit reduzierender Substanzen.

säure einerseits und Aethylgallat andererseits auf die Fettoxydation in Milch bestätigen die neuesten Untersuchungsergebnisse von *Chilson*, *Martin* und *Whitnah* (6) in eindeutiger Weise, während sie zu früheren Untersuchungen von *Greenbank* und *Philip* (14) in Widerspruch stehen.

### E. Der Einfluss verschiedener Hitzebehandlungen auf die Fettoxydation in Milch und Rahm

Beim ersten Kontrollversuch wie auch später bei der Prüfung des Widerstandes von alt- und neumelker Milch gegen die Fettoxydation wurde eine grössere Oxydationsbereitschaft der gekochten gegenüber der dauerpasteurisierten Milch festgestellt. Da diese Ergebnisse im Widerspruch zur oft zitierten Antioxydantienbildung bei höherer Temperatur stehen, wurde ein gleichartiger Versuch mit frischer Mischmilch wiederholt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 33 festgehalten.

Tabelle 33

*Die Wirkung der Dauerpasteurisation und des Kochens auf die Fettoxydation in Milch*

Oxydationszeit in Stunden	Dauerpasteurisierte Milch	Gekochte Milch
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett	
0	1,75	2,86
12	15,44	21,62
24	21,62	34,35
36	28,53	46,86
48	35,82	56,82
60	43,08	64,76
72	49,30	69,17
Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 7 ° C Gefrierraum -16 ° C		

Die grössere Bereitschaft gekochter gegenüber dauerpasteurisierter Milch zur Fettoxydation bestätigte sich erneut.

Diese wiederholt beobachteten Ergebnisse scheinen im Widerspruch zu der von *Ritter* (39) angenommenen Antioxydantienbildung bei höherer Temperatur (im Bereich bis max. 100 ° C) zu stehen. Ferner bestätigen sie die Beobachtungen von *Lea und Smith* (29) sowie von *Tammisto* (48) nicht. Erstere beobachteten mit steigender Temperatur im Bereich von 70

bis 90 ° C zunehmend geringere Peroxybildungen und letzterer fand mit steigender Temperatur wachsende Mengen an reduzierenden Stoffen.

In dem in Tabelle 34 festgehaltenen Versuch prüften wir den Einfluss der Kurzzeiterhitzung bei verschiedener Temperatur sowie denjenigen der Homogenisation auf die Fettoxydation in Milch.

Als Versuchsmaterial diente eine einheitlich durchmischte Vollmilch. Von dieser wurde ein Teil auf 78 ° C und ein weiterer auf 86 ° C erhitzt. Die Pasteurisation erfolgte in einem rostfreien Alfa-Laval-Plattenapparat von 3000 Liter Stundenleistung. Die Milch blieb darin jeweils 9 Sekunden der Hitze ausgesetzt. Von der bei 86 ° C pasteurisierten Milch wurde die eine Hälfte bei 175 Atü homogenisiert.

Tabelle 34

*Die Wirkung der Kurzzeiterhitzung und der Homogenisation auf die Fettoxydation in Vollmilch*

Oxydationszeit in Stunden	Vollmilch bei 78 ° C pasteurisiert	Vollmilch bei 86 ° C pasteurisiert	Vollmilch bei 86 ° C pasteurisiert und bei 175 Atü homogenisiert
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	0,42	1,40	0,00
12	8,56	10,51	0,00
24	13,92	17,34	4,37
36	21,51	24,73	14,05
48	30,48	35,51	15,98
60	38,79	38,18	20,75
72	52,78	46,02	21,25

Durchschnittliche Versuchstemperatur: Milch 8,5 ° C Gefrierraum —16,75 ° C

Die Fettoxydation war in der bei 86 ° C pasteurisierten Milch bis zur Versuchsdauer von 60 Stunden etwas grösser als in der bei 78 ° C pasteurisierten Milch. Die Differenzen sind indessen sehr gering und die Oxydationsbereitschaft muss als ungefähr gleich bewertet werden. Die Homogenisation vermochte dagegen die Fettoxydation stark zu hemmen.

In einem weiteren Versuch wurden die Wirkung der Kurzzeiterhitzung bei verschiedener Temperatur und der Einfluss der Homogenisation auf die Fettoxydation in Rahm geprüft.

Der Rahm wurde mittelst hermetischem Alfa-Laval-Separator aus einheitlich durchmischter Milch gewonnen und im geschlossenen System im rostfreien Alfa-Laval-Plattenapparat pasteurisiert. Der Fettgehalt des

Rahmes betrug 27 Prozent. Wir erhitzen denselben einerseits auf 92 ° C und andererseits auf 78 ° C.

Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 35 ersichtlich.

Tabelle 35

*Die Wirkung der Kurzzeiterhitzung und der Homogenisation auf die Fettoxydation in Rahm*

Oxydationszeit in Stunden	Rahm bei 78 ° C pasteurisiert	Rahm bei 92 ° C pasteurisiert	Rahm bei 92 ° C pasteurisiert und bei 175 Atü homogenisiert
	Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett		
0	2,24	2,13	0,83
12	7,79	10,40	3,73
24	10,48	16,06	5,97
36	14,60	21,90	8,28
48	15,25	25,54	10,88
60	17,59	28,31	9,50
72	18,20	30,91	10,09
Durchschnittliche Versuchstemperatur: Rahm 8,5 ° C Gefrierraum -17 ° C			

Analog zu dem in Tabelle 34 aufgeführten Versuch, führte die wenig erhöhte Pasteurisationstemperatur bereits zu einer bescheidenen Verringerung des Oxydationswiderstandes bei Gegenwart von Luft und Licht. Die oxydationshemmende Wirkung der Homogenisation zeigte sich wiederum deutlich. Weder in Milch noch in Rahm zeitigte die Anwendung höherer Erhitzungstemperaturen eine antioxydative Wirkung. Wenn gleichwohl in der Praxis die höhere Temperatur zur Verhinderung der Fischigkeit führt oder beiträgt und gegebenenfalls die Peroxydentwicklung in Vollmilchpulver hemmt, so sind diese Erscheinungen offenbar mit der Abwesenheit von Licht verknüpft. Sollten aber durch Anwendung höherer Temperaturen wirklich Antioxydantien gebildet werden, so besäßen diese jedenfalls keine schützende Wirkung gegen Lichteinflüsse. Die Frage bleibt ferner offen, ob geschmackswidrige Abbauprodukte in Gegenwart der durch die Hoherhitzung gebildeten Sulphydrilgruppen in geschmacklose Verbindungen übergehen können. In klarer Weise zeigte sich sowohl beim Milch- wie beim Rahmversuch der bei Gegenwart von Luft und Licht hemmende Einfluss der Homogenisation auf die Oxydation des Milchfettes, wie er bereits durch *Thurston, Brown* und *Dustman* (54) sowie *Ross* (41) festgestellt wurde.

Die in Tabelle 37 zusammengefassten Versuchsergebnisse zeigen den Widerstand von roher, hochpasteurisierter\* und uperisierter\*\* Milch gegen die Fettoxydation.

Die Prüfung erfolgte in einem Doppelversuch mit einem zeitlichen Abstand von zwei Monaten. Das Ausgangsmaterial bildete jeweils eine einheitliche Mischmilch, wovon ein Teil hochpasteurisiert, ein Teil uperisiert und ein Teil gar nicht behandelt wurde. Bezüglich des Fettgehaltes, des spez. Gewichtes und der Trockenmasse der einzelnen Proben geben die Zahlen in Tabelle 36 Aufschluss.

Tabelle 36

*Spezifisches Gewicht, Fett- und Trockenmassegehalt von roher, hochpasteurisierter und uperisierter Milch*

Milchprobe	1. Versuch			2. Versuch		
	Spez. Gewicht	Fett ‰	Trockenmasse	Spez. Gewicht	Fett ‰	Trockenmasse
Rohe Milch	1,0336	4,1	13,59	1,033	3,6	12,83
Hochpasteurisierte Milch	1,0341	4,2	13,83	1,0328	3,7	12,90
Uperisierte Milch	1,0336	4,3	13,83	1,0332	3,8	13,12

\*) Hochpasteurisation: Kurzzeiterhitzung bei 80—95 ° C.

\*\*\*) Uperisation: Ultrakurzzeiterhitzung bei ca. 160—180 ° C.

Tabelle 37

*Der Oxydationswiderstand des Milchfettes  
in roher, hochpasteurisierter und uperisierter Vollmilch*

Oxydationszeit in Stunden	1. Versuch			2. Versuch		
	Rohe Milch	Hoch- pasteuri- sierte Milch	Uperi- sierte Milch	Rohe Milch	Hoch- pasteuri- sierte Milch	Uperi- sierte Milch
Um den Blindprobenwert bereinigter Eh-Wert für 0,2 g Fett						
0	1,00	0,43	0,92	1,42	0,52	—0,82
12	4,00	7,20	8,31	2,87	9,09	5,13
24	5,34	13,36	15,09	2,39	15,74	9,05
36	4,69	20,82	16,08	3,35	19,82	12,32
48	5,39	25,55	18,78	2,47	22,29	15,59
60	4,41	29,50	16,70	2,50	26,80	20,05
72	5,69	32,51	16,18	2,43	29,99	22,97
Durchschnittliche Versuchstemperatur						
Milch Gefrierraum	6,75 ° C —16,00 ° C			7,0 ° C —15,5 ° C		

Aus den Ergebnissen sticht zunächst der überraschend hohe Widerstand roher Milch gegenüber der Fettperoxydentwicklung hervor. Die Hochpasteurisation vermindert ihn ganz beträchtlich. Die Uperisation verhält sich hierin wesentlich günstiger als die Hochpasteurisation. Es ist nicht bekannt, ob der grössere Oxydationswiderstand der uperisierten Milch nur auf der durch die Uperisation erfolgten weitgehenden Homogenisation der Milch beruht oder ob zusätzlich antioxidativ wirkende Stoffe erzeugt werden.

#### IV. Diskussion der bei der Ueberprüfung und Modifikation der Ferrithiozyanat-Methode erzielten Ergebnisse

Mit der Ferrithiozyanat-Methode kann die Fettoxydation in Milch und Milchprodukten zuverlässig gemessen werden, wenn die in Abschnitt II. J. niedergeschriebene Arbeitsvorschrift eingehalten wird.

Zu ihrer Ausarbeitung trugen hauptsächlich die direkte Herauslösung des Fettes mit Benzol aus Milch und Milchprodukten, die gewünschte serienmässige Verarbeitung von Proben und die im Laufe der methodischen Untersuchungen von uns gemachten folgenden Feststellungen bei:

- Die mehrwöchige Aufbewahrung des kristallisierten Ferrosulfates unter  $\text{CO}_2$  vor dem erstmaligen Gebrauch, und später nach jeder Entnahme, ermöglicht die Herstellung eines Ferrochlorides mit sehr geringem Ferriionengehalt.
- Die Ferrithiozyanatfarbe wird durch das Licht geschwächt und muss vor diesem geschützt werden.
- Die Ferrithiozyanatbildung aus Ferrichlorid und Ammoniumthiozyanat verläuft nur innerhalb gewisser Grenzen vollkommen.

Die hohe Empfindlichkeit der Reaktion und die photometrische Bestimmung der Ferrithiozyanatkonzentration erlauben, mit der Methode kleinste Fettmengen auf ihre Oxydation hin zu prüfen. Dieser Vorteil begünstigte die Modifikation der Methode für die direkte, schonende und rationelle Peroxydmessung in Milch, homogenisierter Milch und homogenisiertem Rahm unter Umgehung der Butterung wesentlich, da bei diesem Verfahren die Fettvorlage nicht ohne weiteres beliebig hoch gewählt werden kann.

Das Licht eignete sich gut für die Oxydationsbeschleunigung. Der Oxydationswiderstand der geprüften Milchproben konnte mit der modifizierten Ferrithiozyanat-Methode genau und eindeutig erfasst werden. Wird von der Apparatur, welche für die Beschleunigung der Fettoxydation in Milch und Rahm benutzt wurde, abgesehen, so sind die Anforderungen der Methode an die technische Ausrüstung bescheiden. Die Versuche mit der Redoxpotentialmessung berechtigen zur Hoffnung, dass sich die entwickelte Ferrithiozyanatfarbe auch auf diese Weise gut erfassen lässt. Heute sind in den meisten Laboratorien pH-Geräte vorhanden, welche sich, unter Aufwendung bescheidener Mittel, mit den Elektroden für Redoxpotentialmessung ausrüsten lassen, wodurch sich die allgemeine Verwendbarkeit der Methode erhöht.

## V. Zusammenfassung

1. Ein grosser Teil der Arbeit diente der Überprüfung der Ferrithiozyanatmethode. Soweit die Ergebnisse die Arbeitstechnik bestimmen, sind diese in der ausführlichen, modifizierten Arbeitsvorschrift in Abschnitt II. J. berücksichtigt.
2. Der lineare Bereich, innerhalb welchem die Reaktion exakt stöchiometrisch verläuft, erstreckt sich bei der Prüfung mit Wasserstoffsperoxyd bis zu einem Eh-Wert von 70—80, entsprechend einer Sauerstoffmenge von 7—8  $\gamma$  in 20 ccm Benzol-Methanollösung. Die Versuche mit fischiger Butter zeigen, dass der lineare Bereich bei Anwesenheit von Fett merkwürdigerweise grösser ist, indem er in allen Fällen bis zu einem Eh-Wert von 100 bis 110, entsprechend einer Sauerstoffmenge von 10,4 bis 11,4  $\gamma$  in 20 ccm Benzol-Methanollösung, reicht.
3. Die durch 20 Messungen festgelegte Ferrieisen-Eichlinie ergab für die Berechnung der einem gemessenen Eh-Wert entsprechenden Fe<sup>+++</sup>-Menge in  $\gamma$  die Formel:

$$x_E = \frac{y}{1,3865} + 0,481 \quad \begin{array}{l} x_E = \text{Fe}^{\text{+++}}\text{-Menge in } \gamma \\ y = \text{gemessener Eh-Wert} \end{array}$$

Für die Anwendung der Formel bestehen indessen folgende Einschränkungen:

Die Reagenzienkonzentration in der messfertigen Lösung muss für  $\text{FeCl}_2$   $8,36 \times 10^{-4}$  Mol und für  $\text{NH}_4\text{CNS}$   $1,97 \times 10^{-2}$  Mol betragen.

Der Reagenzienblindwert muss sehr sorgfältig, allenfalls durch eine Doppelprobe, ermittelt werden.

Der gemessene Eh-Wert muss dem linearen Bereich angehören und soll mindestens 8—10 betragen.

Bei niederoxydierten Fetten oder Ölen, bei denen der gemessene Eh-Wert trotz möglichst grosser Fettvorlage nicht 8—10 ausmacht, müssen zwei bis drei verschieden konzentrierte Proben desselben Materials gemessen werden. Aus den drei Messwerten wird alsdann der Richtungstangens der Probegeraden bestimmt. Mit Hilfe des Quotienten

$$\frac{\text{Richtungstangens der Probegeraden}}{1,3865}$$

lässt sich die einem gemessenen Eh-Wert entsprechende Fe<sup>+++</sup>-Menge in  $\gamma$ , unabhängig vom allfälligen x-Achsenabschnitt der Probegeraden, nach der Formel

$$\gamma \text{ Fe}^{\text{+++}} = \frac{mP}{1,3865} \cdot x_P \text{ berechnen.}$$

mP = Richtungstangens der Probegeraden  
x<sub>p</sub> = Anzahl Gewichts- oder Volumeneinheiten  
der Probelösung.

4. Bei der Prüfung von reinen Fetten und Wasserstoffsperoxyd führte eine Warmwasserbad-Behandlung in allen Fällen zur vollen Ferrithiozyanätsbildung. Bei Benzoylperoxyd konnte dagegen die Farbbildung durch längere Wärmebehandlung gesteigert werden. Dennoch gelang es bei diesem nicht, die vorgelegten Sauerstoffmengen wiederzufinden.
5. Zur Prüfung des Oxydationswiderstandes von Milch und Rahm wurde eine spezielle Apparatur gebaut. Die Oxydationsbeschleunigung erfolgte durch Licht in Gegenwart von Luft.
6. Bei Temperaturen von  $-20$  bis  $-6^{\circ}$  C und im Dunkeln kann die autoxydative Kettenreaktion und die damit verbundene weitere Peroxydentwicklung für mindestens 4 bis 5 Tage verhindert werden.
7. Aus den Versuchen mit Einzelgemelken geht hervor, dass ausser den Einflüssen von der Fütterungsseite her das Laktationsstadium für den Oxydationswiderstand der Milch von nicht geringer Bedeutung ist. Die neumelke Milch widersteht der Oxydation bei Gegenwart von Luft und Licht bedeutend weniger als die altemelke Milch.
8. Das Aufkochen der Milch schwächt den Oxydationswiderstand mehr als die Dauerpasteurisation.
9. Nur relativ tiefe Temperaturen ( $0$  bis  $15^{\circ}$  C) sichern bei Gegenwart von Luft und Licht einen ungestörten Peroxydaufbau.
10. Nicht nur die Konzentration des Kupfers, sondern auch die Umgebungstemperatur ist entscheidend für seine Wirkungsweise im Peroxydauf- und -abbau-Geschehen.
11. Ein Zusatz von 105 mg l-Ascorbinsäure zu 1,5 Liter Milch hemmt — gleichgültig, ob Kupfer anwesend ist oder nicht — bei Gegenwart von Licht und Luft die Fettoxydation in Milch nicht. Eine gleich grosse Aethylgallatmenge hindert die Oxydation in beiden Fällen deutlich.
12. Die mit Hilfe eines Alfa-Laval-Plattenapparates durchgeführten Pasteurisationsversuche zeigten weder in Milch noch in Rahm eine durch die höhere Temperatur bedingte Antioxydantienbildung, die bei Gegenwart von Luft und Licht wirksam gewesen wäre. Der Oxydationswiderstand von Milch und Rahm wurde im Gegenteil geringer.
13. Die Homogenisation hemmte die Fettoxydation in Milch und Rahm bei Gegenwart von Licht und Luft sehr deutlich.
14. Versuche mit roher, pasteurisierter und uperisierter Milch zeigten den sehr hohen Oxydationswiderstand der rohen Milch. Er wird durch die Pasteurisation stark geschwächt. Die Uperisation vermindert ihn be-

deutend weniger. Es ist nicht abgeklärt, ob die günstigere Wirkung der letzteren nur auf der durch die Uperisation bedingten, weitgehenden Homogenisation der Milch, oder zudem auf einer zusätzlichen Antioxydantienbildung beruht.

15. Viele anlässlich der Prüfung des Oxydationswiderstandes von Milch- und Rahmproben vorgenommene Degustationen zeigten, dass die mit der Ferrithiozyanat-Methode gemessenen Werte gut mit den Sinneswahrnehmungen übereinstimmten.

## VI. Literaturnachweis

- 1 *Bergström, S.:* Arkiv för Mineralogi och Geologi 21 A, 14 (1945).
- 2 *Berkengeim, T. I.:* Zavodskaya Lab. 10, 592 (1941).
- 3 *Bernheim, F., Bernheim, M. L. C., und Wilbur, K. M.:* J. Biol. Chem. 174, 257 (1947).
- 4 *Bolland, J. L., und Koch, H. P.:* J. Chem. Soc. 445 (1945).
- 5 *Chapman, R. A., und MacKay, J.:* Am. Oil. Chemist's Soc. 26, 360 (1949).
- 6 *Chilson, W. H., Martin, W. H., und Whitnab, C. H.:* J. Dairy Science 33, 12, 925 (1950).
- 7 *Dannacher, S.:* Mitteilg. Lebensm.-Unters. u. Hygiene 43, 67 (1952).
- 8 *Dunkley, W. L., und Jennings, W. G.:* J. Dairy Science 34, 11, 1064 (1951).
- 9 *Eckles, C. H., und Palmer, L. S.:* Missouri Agri. Expt. Stat. Res. Bull. 24 (1916).
- 10 *Fischer, K.:* Ztschr. angew. Chemie 48, 394 (1935).
- 11 *Foulk, C. W., und Bawden, A. T.:* J. Am. Chem. Soc. 48, 2045 (1926).
- 12 *Golden, M. J.:* J. Pharm. Assoc. Sc. 35, 76 (1946).
- 13 *Golden, M. J.:* J. Pharm. Assoc. Sc. 11, 3 (1951).
- 14 *Greenbank, G. R., und Philip, A. W.:* J. Dairy Science 31, 698 (1948).
- 15 *Hartmann, S., und Glavind, J.:* Acta Chemica Scand. 3, 954 (1949).
- 16 *Henderson, J. L., u. Roadhouse, C. L.:* Am. Dairy Science Assoc. Abstracts of papers of Annual Meeting (1934).
- 17 *Hills, G. L., und Thiel, C. C.:* J. Dairy Research 14, 3, 340 (1946).
- 18 *Holm, G. E.:* XII. Int. Milchw. Kongress Stockholm 2, 336 (1949).
- 19 *Holm, U., und Wode, G.:* XII. Int. Milchw. Kongress Stockholm 2, 325 (1949).
- 20 *Holman, R. T., und Burr, G. O.:* J. Am. Chem. Soc. 68, 562 (1946).
- 21 *Hunziker, O. F., Mills, H. C., und Spitzer, G.:* Indiana Expt. Stat. Bull. 159 (1946).
- 22 *Iselin, E.:* Mitteilg. Lebensm.-Unters. u. Hygiene 35, 140 (1944).
- 23 *King, A. E., Roschen, H. L., und Irwin, W. H.:* Oil and Soap 10, 105 (1933).
- 24 *Kohn, H. L., und Liversedge, M.:* J. Pharmacol. 82, 292 (1944).
- 25 *Kreis, H.:* Chem. Ztg. 23, 802 (1899).  
26, 897 (1902).  
28, 956 (1904).
- 26 *Lea, C. H.:* J. Soc. Chem. Ind. 53, 388 (1934).
- 27 *Lea, C. H.:* Proc. Roy. Soc. 108, 175 (1931).
- 28 *Lea, C. H.:* J. Soc. Chem. Ind. 63, 107 (1944).
- 29 *Lea, C. H., und Smith, J. A. B.:* XII. Int. Milchw. Kongress Stockholm 2, 345 (1949).

- 30 Lips, A., Chapman, R. A., und MacFarlane, W. D.: Oil and Soap 20, 240 (1943).
- 31 Mitchell, John Jr. M. S., und Smith, D. M.: Chemical Analysis 5 Aquametry 145 (1948).
- 32 Mohler, H.: Optische Methoden des Chemikers. Verlag Sauerländer 58 (1945).
- 33 Neu, R.: Chem. Ztg. 61, 733 (1937).
- 34 Paton, St., und Kurtz, W. G.: J. Dairy Science 34, 669 (1951).
- 35 Pont, E. G.: J. Dairy Research 19, 3, 316 (1952).
- 36 Pritzker, J., und Jungkunz, R.: Ztschr. Unters. Lebensm. 57, 419 (1929).
- 37 Ritter, W.: Schweiz. Milchztg. No. 12, 37, 38, 82, 92 (1938) und No. 11 u. 12 (1939).
- 38 Ritter, W.: Schweiz. Milchztg. No. 64 (1938).
- 39 Ritter, W.: XII. Int. Milchw. Kongress Stockholm 2, 297 (1949).
- 40 Ritter, W., und Nussbaumer, Th.: Schweiz. Milchztg. No. 12, 38 (1938).
- 41 Ross, H. E.: Cornell Univ. Ithaca N. Y., Milk Plant 26, 4, 36 8, 40 (1937).
- 42 Sandoz A.G.: Schriftenreihe vom wissenschaftl. Bureau, 5. Heft.
- 43 Schmaljuss, H.: Die Milchwissenschaft 3, 8 (1948).
- 44 Smith-D'Ans, J.: Anorg. Chemie 8. Auflage, 755 (1940).
- 45 Smith-D'Ans, J.: Anorg. Chemie 8. Auflage, 162, 170 (1940).
- 46 Stebnitz, V. C., und Sommer, H. H.: J. Dairy Science 20, 181 (1937).
- 47 Stebnitz, V. C., und Sommer, H. H.: J. Dairy Science 20, 264 (1937).
- 48 Tammisto, S.: XII. Int. Milchw. Kongress Stockholm 2, 416 (1949).
- 49 Täufel, K., und Thaler, H.: Chem. Ztg. 56, 265 (1932).
- 50 Täufel, K.: Fette und Seifen 45, 179 (1938).
- 51 Täufel, K., Sadler, P., und Russow, F.: Ztschr. angew. Chemie 44, 873 (1931).
- 52 Täufel, K., und Mitarbeiter: Ztschr. analytische Chemie 90, 20 (1932).
- 53 Täufel, K., und Müller: Ztschr. Unters. Lebensm. 67, 258 (1934).
- 54 Thurston, L. M., Brown, W. C., und Dustman, R. B.: Ztschr. Unters. Lebensm. 60, 477 (1930).
- 55 Tobolsky, A., und Mesrobian, R. B.: J. Dairy Science 19, 671 (1936).
- 56 Treadwell, F. P.: Organic Peroxides, 54 (1954).
- 57 Treadwell, F. P.: Lehrbuch d. Analytischen Chemie 1, 4 (1946).
- 58 Treadwell, F. P.: Lehrbuch der Analytischen Chemie 1, 143 (1946).
- 59 Ulich, H., und Jost, W.: Lehrbuch der Analytischen Chemie 2, 550 (1946).
- 60 Wagner, C. D., Clever, H. L., und Peters, E. D.: Kurzes Lehrbuch der physikalischen Chemie 6. und 7. neubearbeitete Auflage (1954).
- 61 Wilbur, K. M., Bernheim, F., und Shapiro, O. W.: Ind. Eng. Chem. 19, 980 (1947).
- 62 Willstaedt, H., und Reinart, A.: Arch. Biochem. 24, 305 (1949).
- Kungl. Svenska Vetenskapsac. arkiv för Kem: (1949).

## Lebensabriss

- 1919 6. Februar geboren in Wolfhalden, App. A.-Rh. Bürger von Wolfhalden, App. A.-Rh. Eltern: Heinrich Walser und Berta Walser geb. Lutz.
- 1926—1933 Primarschule in Zelg, Wolfhalden.
- 1933—1936 Sekundarschule in Walzenhausen.
- 1936—1938 Kantonsschule in Trogen.
- November 1938 bis April 1939 Praktikant in der Käserei Jörg, Lippoldswilen/TG.
- Mai 1939 bis März 1940 Molkereischule Rütli, Zollikofen b. Bern, Jahreskurs mit Diplomabschluss.  
Anschliessend zwei Monate Tätigkeit in der Kontrollstelle der Eidg. landwirtschaftlichen Versuchsanstalt, Liebefeld, Bern.
- Winter 1940—1941 Fachhörer an der E.T.H., Zürich, Abteilung für Landwirtschaft, 1. Semester.
- Sommer 1941 Aufnahmeprüfung in das 2. Semester der Abteilung für Landwirtschaft der E.T.H., Zürich.
- März 1944 Diplom als Ing. agr. E.T.H. mit Ausbildung in molkereitechnischer Richtung.  
Unmittelbar nach dem Diplomabschluss Spezialaufgabe im Milchtechnischen Institut der E.T.H. bei Herrn Prof. Dr. E. Zollikofer.
- 1944—1946 Laborant in der Milchverarbeitungsstelle Uster, Uster/Zch. (Nordostschweiz. Milchverband).
- 1946 bis jetzt Laborchef der Milchpulverfabrik Sulgen, Sulgen/Thg.