

Afd. Koolhydraat en Vetchemie 1985-10-15
RAPPORT 85.91 Pr.nr. 505.3000
Onderwerp: Ontwikkeling van methoden voor
het aantonen van gefractioneerd
botervet.

Voorgaand verslag: 83.59.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofden, directie VKA, afd. KVC (4x),
bibliotheek (2x), projektbeheer, projektleider (Muuse),
circulatie.

Projekt: Ontwikkeling en verbetering van onderzoekmethoden voor oliën, vetten, vette produkten en oliezaden

Onderwerp: Ontwikkeling van methoden voor het aantonen van gefractioneerd botervet

Voorgaand verslag: 83.59

Doel:

Aantonen van hard gefractioneerd botervet middels een snelle screeningsmethode.

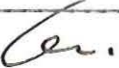

Samenvatting:

Op basis van een eerder door ons gepubliceerde methode is een semi-micro analyse ontwikkeld waarmee kwalitatief botervet kan worden ingedeeld in al dan niet gefractioneerd botervet.

De methode berust op het oplossen van 0,5 ml vet in 2 ml hexaan en koeling gedurende ca. 2 uur bij 12,5°C. Indien een kristallisatie wordt waargenomen dan is sprake van aanwezigheid van hard gefractioneerd botervet.

Conclusie:

Met behulp van de methode is het mogelijk om op eenvoudige en weinig arbeidsintensieve wijze vele monsters tegelijk te onderzoeken op aanwezigheid van hard gefractioneerd botervet.

Verantwoordelijk: drs B.G. Muuse 
Medewerker/Samensteller: H.J. van der Kamp 
Projektleider: drs B.G. Muuse

Inleiding

De Landbouw Kwaliteitsbeschikking Boterprodukten artikel 88 sub 2 staat het modificeren van melkvet middels gefractioneerd kristalliseren zonder chemische hulpstoffen toe. Reden waarom ter controle of gefractioneerd is of niet onderzoek gaande is ter ontwikkeling van methoden waarmee gefractioneerd botervet kan worden onderscheiden van niet gefractioneerd botervet. Het is met name de studiegroep "Aantonen van gefractioneerd botervet", onderdeel van de Wetenschappelijke Commissie inzake het vaststellen van methoden van onderzoek voor melk en zuivelprodukten, die belast is met dit onderzoek. Het RIKILT heeft in dat kader een kristallisatiemethode ontwikkeld zoals beschreven in vorige verslagen en onlangs gepubliceerd. In genoemde studiegroep is naar aanleiding van deze kristallisatiemethode behoefte ontstaan aan verdere uitwerking van de methode tot snelle screeningsmethode waarmee kleine hoeveelheden boter of melkvet getoetst kunnen worden op afwezigheid van gefractioneerd botervet.

Door de variatie van de melkvetsamenstelling is ter vermijding van vals positieve resultaten in dit stadium van het onderzoek volstaan met het selecteren van botervetten die buiten een normaal botervet verdeling vallen. Een statistische vaststelling van deze normaal verdeling is nog niet voorhanden doch om de gedachten te bepalen zou een mengsel van 20% sterk gefractioneerd hard botervet met zomerboter aangemerkt kunnen worden als een winterboter en als zodanig tot normaal botervet gerekend kunnen worden.

Deze ontwikkelde screeningstest signaleert botervetten met een meer dan normaal gehalte aan hoogsmeltende verzadigde triglyceriden.

Materiaal

Als proefmateriaal is een monster winterbotervet gebruikt waaraan 8 verschillende hoeveelheden hard gefractioneerd botervet zijn toegevoegd. De mengverhouding normaal/gefractioneerd was resp. 0/100; 4/96; 10/90; 20/80; 40/60; 60/40; 80/20 en 100/0.

Met de screeningstest zijn 128 monsters botervet onderzocht. Te weten 42 monsters winterboter, 12 pakjes roomboter, 33 hard gefractioneerde botervetten met 32 bijbehorende uitgangsmaterialen, 8 zachte frakties en 1 super kritisch CO₂ gefractioneerd botervet.

Apparatuur

Colora kryothermostaat 10-15°C.

5 ml reageerbuisjes met rubberstopje.

Methoden

De 8 monsters uit de mengreeks zijn opgewarmd tot ca. 50°C en van het gesmolten vet is 0,5 ml gepipetteerd in de reageerbuisjes. Aan het vet is 1 ml hexaan toegevoegd, gehomogeniseerd en de buisjes gekoeld bij resp. 10; 12,5 en 15°C gedurende een aantal uren. In een parallel serie is 2 ml hexaan toegevoegd in plaats van 1 ml.

Voor de diverse temperatuurexperimenten zijn dezelfde monsteroplossingen gebruikt doch met tussentijds volledig oplossen van de monsters tot helder.

Het kristallisatieproces is gedurende een aantal uren geobserveerd.

Resultaten

De 16 proefmonsters die bij 10; 12,5 en resp. 15°C zijn onderzocht gedurende 5 uur, gaven een systeemafhankelijkheid te zien geïllustreerd in figuur 1. De waarnemingen staan vermeld in tabel 1. De temperatuur en concentratieafhankelijkheid bij het uitkristalliseren volgt het normale verwachtingspatroon. Meer gefractioneerd botervet cq. hogere vetconcentraties leiden tot eerdere kristallisatie.

De keuze van de methode is gebaseerd op de voorwaarde dat het moment van beoordelen weinig invloed op het resultaat mag hebben, bovendien mogen normale niet gefractioneerde botervetten geen of vrijwel geen kristallisatie gedrag vertonen. Daarentegen moet gefractioneerd botervet snel leiden tot kristalvorming. Dit betekent dat voor de 6 lijnen in de grafieken, de methode behorende bij de lijn die asymptotisch tot de basislijn van niet gefractioneerd botervet loopt het best voldoet. Dit is het geval voor de kristallisatie bij 10 of 12,5°C van 0,5 ml vet in 2 ml hexaan.

De keuze is tenslotte gevallen op 12,5°C ter vermindering van de kans op vals positieve resultaten en is ook enigszins afhankelijk van de doelstelling van de onderzoeker.

Toepassing van de test op 128 monsters niet gefractioneerd botervet vnl. winterboter en hard en zacht gefractioneerd botervet geeft de resultaten zoals opgenomen in tabel 2. 32 niet gefractioneerde winterbotervetten zijn bovendien onderzocht bij 10°C en laat zien dat in alle gevallen enige kristalvorming optreedt hetgeen niet wenselijk wordt geacht.

De vorming van enkele kristallen na verloop van 4 uur is ook bij 12,5°C geen indicatie voor gefractioneerd botervet. 's Nachts laten staan van de monsters bij 12,5°C is mogelijk doch dan levert niet gefractioneerd botervet in alle gevallen enige kristallen op. Het gebruik van enkele referentiemonsters in serie onderzoek is daarom aan te bevelen.

Opmerkelijk is dat de uitgangsmaterialen voor het bereiden van gefractioneerd botervet in de meeste gevallen een geringe kristalvorming vertonen (+/-). Hard gefractioneerd botervet veroorzaakt in alle gevallen binnen korte tijd het vrijwel dichtslaan van de oplossing door vetkristallisatie. De mate van kristallisatie is in het onderzoek gewaardeerd met + en - waarbij +/- een enkel kristal en ++++ het vrijwel dichtslaan van de oplossing betekent.

Het monster gefractioneerd botervet dat is bereid met super kritische koolzuur wordt met de kristallisatiemethode niet geïdentificeerd als zijnde gefractioneerd botervet daar dit monster een andere triglyceride samenstelling heeft dan de gefractioneerde botervetten uit de praktijk.

Conclusie:

De methode biedt de mogelijkheid om snel een groot aantal monsters te onderzoeken op aanwezigheid van hard gefractioneerd botervet. Botervetten, die duidelijk waarneembare vetkristallen geven na ca. twee uur koelen, bevatten hard gefractioneerd botervet.

Hard gefractioneerd botervet geeft binnen enkele minuten een troebele oplossing door het vrijwel volledig uitkristalliseren van het vet. Niet gefractioneerd botervet en ook de zachte fractie die ontstaat bij fraktioneren geeft geen tot een nauwelijks waarneembare kristallisatie. Bij het onderzoek geldt steeds dat geen melkvreemde vetten aanwezig mogen zijn.

Tabel 1 Onderzoek naar het kristallisatiegedrag van mengsels hard gefractioneerd botervet met niet gefractioneerd botervet onder variabele concentratie, temperatuur en tijdomstandigheden.

Tijd (min)	0,5 ml vet + 2 ml hexaan 10°C							0,5 ml vet + 1 ml hexaan 10°C						
	5	10	20	40	80	180	300	2	5	10	20	40	80	
1	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	1	+++	++++	++++	++++	++++	++++
2	+	++	++	+++	+++	+++	+++	2	+++	++++	++++	++++	++++	++++
3	+/-	+	+(+)	++	++	++	+++	3	++	++++	++++	++++	++++	++++
4	-	-	+/-	+	+	+	++	4	+	+++	+++	+++	+++	+++
5	-	-	-	+/-	+	+	+	5	-	+	+(+)	++	++	++(+)
6	-	-	-	-	+/-	(+)	(+)	6	-	-	+	+	+	+(+)
7	-	-	-	-	-	-	+/-	7	-	-	+/-	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	+/-	+	+	+

Tijd (min)	12,5°C								Tijd (min)	12,5°C							
	3	6	10	14	45	120	180	300		3	6	10	14	23	45	120	300
1	+	++	++(+)	+++	+++	+++	+++	+++	1	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
2	+/-	+	++	++	++	+++	+++	+++	2	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3	-	+/-	+	+(+)	+(+)	++	++	++	3	+	++(+)	+++	+++(+)	++++	++++	++++	++++
4	-	-	-	-	+	+	+	+	4	+	++	+++	+++(+)	++++	++++	++++	++++
5	-	-	-	-	-	+/-	+/-	(+)	5	-	-	+(+)	++	+++	+++	+++	+++
6	-	-	-	-	-	-	+/-	(+)	6	-	-	-	+/-	++	++	++	++(+)
7	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	+	+(+)	++	++(+)
8	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	+	+	++

Tijd (min)	15°C			Tijd (min)	15°C				
	40	90	180		5	10	20	40	90
1	+	+	+	1	+	+(+)	++	+++	+++
2	-	+/-	+	2	+/-	+	+	++	++
3	-	-	-	3	-	+/-	+	+(+)	+(+)
4	-	-	-	4	-	+/-	+/-	+	+
5	-	-	-	5	-	-	-	-	+/-
6	-	-	-	6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	8	-	-	-	-	-

Monster 1 = hard gefractioneerd botervet (H)

2 = 80 H - 20 U

3 = 60 H - 40 U

4 = 40 H - 60 U

5 = 20 H - 80 U

6 = 10 H - 90 U

7 = 4 H - 96 U

8 = niet gefractioneerd botervet (U)

Tabel 2

Onderzoek resultaten van 128 monsters botervet

86 niet gefractioneerde botervetten W - Winterboter
 RB - Roomboter
 U - Uitgangsmateriaal voor bereiding van gefractioneerd botervet

33 hard gefractioneerde botervetten (H)

8 zacht gefractioneerde botervetten (Z)

1 super kritisch CO₂ gefractioneerd botervet (CO₂)

Methode:

0,5 ml vet + 2 ml hexaan 12,5°C in 32 gevallen tevens onderzocht bij 10°C.

		10°C			12,5°C			
		2 uur	4 uur	5 uur	2 uur	4 uur	5 uur	na 1 nacht
1	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
2	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
3	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
4	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
5	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
6	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
7	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
8	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
9	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
10	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
11	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
12	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
13	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
14	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
15	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
16	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
17	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
18	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
19	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
20	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
21	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
22	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
23	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
24	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
25	W	+/-	+/-	+	-	+/-	+/-	+
26	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
27	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
28	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
29	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
30	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
31	W	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-
32	W	-	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+

		2 uur	5 uur			2 uur	5 uur
33	W	+/-	+/-	81	8822 (U)	+/-	+/-
34	W	+/-	+/-	82	8633 (U)	+/-	+/-
35	W	+/-	+/-	83	1617 (U)	-	+/-
36	W	+/-	+/-	84	1618 (U)	-	+/-
37	W	+/-	+/-	85	1620 (U)	-	-
38	W	+/-	+/-	86	1621 (U)	-	-
39	W	+/-	+/-	87	1622 (H)	++++	++++
40	W	+/-	+/-	88	1624 (H)	++++	++++
41	W	-	-	89	1625 (H)	++++	++++
42	W	+/-	+/-	90	1626 (H)	++++	++++
43	21878 (RB)	+/-	+/-	91	2112 (H)	++++	++++
44	21880 (RB)	+/-	+/-	92	6048 (H)	+++	+++
45	21881 (RB)	+/-	+/-	93	8088 (H)	++++	++++
46	21887 (RB)	+/-	+/-	94	8218 (H)	+++	+++
47	21888 (RB)	+/-	+/-	95	962 (H)	+++	+++
48	21889 (RB)	+/-	+/-	96	8307 (H)	++	++
49	21891 (RB)	-	-	97	8639 (H)	++++	++++
50	21892 (RB)	-	-	98	8672 (H)	+	++
51	21893 (RB)	-	-	99	8036 (H)	+++	+++
52	21894 (RB)	-	-	100	8100 (H)	+++	+++
53	21895 (RB)	-	-	101	8326 (H)	++	++
54	21896 (RB)	+/-	+/-	102	8464 (H)	++++	++++
55	8328 (U)	+/-	+/-	103	8227 (H)	++	++
56	8641 (U)	-	-	104	8778 (H)	++++	++++
57	2111 (U)	-	-	105	8106 (H)	++	++
58	8283 (U)	+/-	+/-	106	8088 (H)	+	+
59	6855 (U)	+/-	+/-	107	6280 (H)	++++	++++
60	8105 (U)	-	-	108	8063 (H)	++++	++++
61	8090 (U)	+/-	+/-	109	8634 (H)	++++	++++
62	8226 (U)	+	+	110	8358 (H)	++++	++++
63	962 (U)	+/-	+/-	111	6117 (H)	++++	++++
64	8777 (U)	+/-	+/-	112	6857 (H)	+++	+++
65	8657 (U)	+/-	+/-	113	8284 (H)	++++	++++
66	8306 (U)	+/-	+/-	114	8820 (H)	++++	++++
67	8463 (U)	+/-	+/-	115	1063 (H)	+++	+++
68	8671 (U)	+/-	+/-	116	1164 (H)	+++	+++
69	6119 (U)	+/-	+/-	117	6437 (H)	++++	++++
70	1664 (U)	+/-	+/-	118	861 (H)	++	++
71	8200 (U)	+/-	+/-	119	8658 (H)	++++	++++
72	8062 (U)	+/-	+/-	120	2113 (Z)	-	-
73	8049 (U)	+/-	+/-	121	1164 (Z)	-	-
74	861 (U)	+/-	+/-	122	1627 (Z)	-	-
75	1063 (U)	+/-	+/-	123	1628 (Z)	-	-
76	6439 (U)	+/-	+/-	124	1629 (Z)	-	-
77	8035 (U)	+/-	+/-	124	1630 (Z)	-	-
78	8082 (U)	+/-	+/-	126	1631 (Z)	-	-
79	8357 (U)	+/-	+/-	127	1063 (Z)	-	-
80	8217 (U)	+/-	+/-	128	CO ₂	-	+/-