

# Ringuntersuchung zur Validierung der Methode DIN 10474 "Bestimmung der Buttersorte durch neuronale Netzanalyse kompositioneller Parameter – Chemometrisches Verfahren"

von D. Martin und H. Meisel

Institut für Chemie und Technologie der Milch der Bundesanstalt für Milchforschung,  
Postfach 60 69, D-24121 Kiel

## 1. Einleitung

In der bundesdeutschen Butterverordnung (1) werden die drei Buttersorten „Sauerrahmbutter“, „mild gesäuerte Butter“ und „Süßrahmbutter“ definiert. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt (2, 3), daß Citronensäure- und Milchsäuregehalte (D- und L-Isomere) des Butterserums zur Unterscheidung von Buttersorten geeignet sind. Weiterhin bietet sich der pH-Wert des Butterplasmas als ein Unterscheidungskriterium an. Ein weiterer Differenzierungsparameter sind die Gehalte der Ribonucleoside Adenosin und Uridin im Butterserum (4-6). Durch die Berechnung von Buttersortenindices, die über die Gehalte von Milchsäure (D- und L-Isomere), Citronensäure und der Summe von Adenosin plus Uridin erhalten werden, ist eine Buttersortenzuordnung möglich (7). Eine Verbesserung in Form einer Minimalisierung des analytischen Aufwands stellt die chemometrische Auswertung durch Anwendung eines trainierten neuronalen Netzwerks dar, wodurch nach Eingabe der kompositionellen Parameter Citronensäuregehalt und pH-Wert eine zweifelsfreie Klassifizierung der drei Buttersorten möglich ist (8).

Im DIN-Arbeitsausschuß „Chemische und physikalische Milchuntersuchung“ wurde im Zeitraum Mai - Juni 2001 eine Ringuntersuchung zur Validierung der Methode DIN 10474 „Bestimmung der Buttersorte durch neuronale Netzanalyse kompositioneller Parameter – Chemometrisches Verfahren“ ausgeführt. Insgesamt 11 Laboratorien\* bestimmten in 6 Butterproben die Parameter Citronensäuregehalt und pH-Wert. Zur Ergänzung wurden die Adenosin- und Uridingehalte in den 6 Butterproben durch ein Labor quantifiziert. In der vorliegenden Arbeit werden die im Rahmen der Ringuntersuchung erhaltenen Daten und die durch das trainierte neuronale Netzwerk ermittelten Ergebnisse zur Buttersortenbestimmung vorgestellt und diskutiert.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Probenmanagement

Für die Ringuntersuchung wurden jeweils zwei Süßrahmbutterproben, zwei mild gesäuerte Butterproben und zwei Sauerrahmbutterproben an die 11 teilnehmenden Laboratorien versendet (Butterproben I-VI, Tab. 1). Die Butterproben wurden aus jeweils unterschiedlichen Produktionschargen in 5 kg-Blöcken geliefert\*\* und in Portionen zu ca. 250 g aufgeteilt. Die Versendung der Ringuntersuchungsproben erfolgte über Nacht in Kühlpaketen, die Lagerung bis zur Analyse sollte bei -20°C erfolgen.

\* Die Autoren danken den Ringuntersuchungsteilnehmern für ihre aktive Mitarbeit: Frau Dr. Coors, Hamburg; Herrn Prof. Dr. Frister, Hannover; Frau Knechtel-Lietz, Braunschweig; Herrn Dr. Kroll/Herrn Dr. Jürgens, Oldenburg; Herrn Dr. Lamprecht, Hannover; Herrn Priv.-Doz. Dr. Lorenzen, Kiel; Frau Miebs, Oranienburg; Frau Spode, Kiel; Herrn Dr. Strohmair, Wangen/Allgäu; Herrn Dr. Waiblinger, Oberschleißheim; Herrn Winkler, Potsdam.

\*\* Die Autoren danken Herrn Dr. Hahne, Nordmilch e. G. Bremen, für die Bereitstellung der Butterproben.

## 2.2 Herstellung der Probenlösungen aus den Butterproben

80 g bis 90 g der vor Bearbeitung bei 4°C gelagerten Butterprobe wurden abgewogen und bei 65°C aufgeschmolzen. Das Butterplasma wurde durch Zentrifugation (10 min bei ca. 350 g) vom Butteröl abgetrennt. Zur verbesserten Separation wurde die Butterprobe nach der Zentrifugation bis zur Erstarrung der Fettphase gekühlt und das Butterplasma abgegossen. Das Butterplasma wurde bis zur Analyse bei -20°C eingefroren gelagert.

Zur Bestimmung des Adenosin- und Uridingehaltes wurde das Butterplasma mit konz. Ameisensäure auf pH 3,5 angesäuert und anschließend 20 min bei ca. 13000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde mikrofiltriert (Porenweite: 0,2 µm) und anschließend bis zur HPLC-Analyse bei -20°C eingefroren gelagert.

**Tab. 1: Bezeichnung der in der Ringuntersuchung versendeten Butterproben und Angabe der Buttersorte durch den Hersteller.**

Bezeichnung der Butterproben	Angabe der Buttersorte durch Hersteller <sup>a)</sup>
I	<b>Süßrahmbutter 1</b> (S 16.04.01 Block 1)
II	<b>Sauerrahmbutter 1</b> (SA 11.04.01 Block 1)
III	<b>Mild gesäuerte Butter 1</b> (MGS 16.04.01 Block 1)
IV	<b>Sauerrahmbutter 2</b> (SA 11.04.01 Block 2)
V	<b>Mild gesäuerte Butter 2</b> (MGS 16.04.01 Block 2)
VI	<b>Süßrahmbutter 2</b> (S 16.04.01 Block 2)

a) Bezeichnung des Herstellers: S: Süßrahmbutter; SA: Sauerrahmbutter; MGS: mild gesäuerte Butter; Datum der Butterherstellung.

## 2.3 Bestimmung des Citronensäure-Gehaltes in Butterplasma

100 µl des jeweiligen Butterplasmas wurden mit 900 µl Wasser verdünnt, vermischt und anschließend zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde mikrofiltriert (Porenweite: 1,2 µm). Das Filtrat wurde dann für die enzymatische Bestimmung des Citronensäuregehaltes nach DIN 10325 verwendet.

## 2.4 Bestimmung des pH-Wertes

Die Bestimmung des pH-Wertes im Butterplasma wurde nach DIN 10349 ausgeführt.

## 2.5 Bestimmung des Adenosin- und Uridingehaltes

Die Bestimmung der Ribonucleoside Adenosin und Uridin in Butterproben erfolgte mit Hilfe eines Zwei-Säulen-Ribonucleosid-HPLC-Analysensystems. Der Aufbau des Analysensystems sowie das Prinzip der selektiven Bindung der Ribonucleoside an einer Vorsäule, der Transfer und die Auftrennung der Ribonucleoside mit einer Reversed-Phase-Trennsäule wurde in vorlaufenden Arbeiten beschrieben (9-11).

## 2.6 Bestimmung des Wassergehaltes

Die Bestimmung des Wassergehaltes der jeweiligen Butterprobe sollte nach DIN EN ISO 3727-1 ausgeführt werden; abweichend hiervon wurde von 4 Laboratorien der Wassergehalt nach DIN 10317 bestimmt.

## 2.7 Neuronales Netzwerk

Für die Deklarationskontrolle der drei Buttersorten kann ein dreilagiges, vorwärts-verknüpftes neuronales Netzwerk mit zwei (Berechnungsweg I) oder mit drei (Berechnungsweg II, III) Eingabeneuronen (Eingabe-Schicht) und einer Zwischenschicht (verdeckte Schicht) sowie drei simultanen Ausgabeneuronen (Ausgabe-Schicht) verwendet werden. Für die chemometrische Analyse der Ringuntersuchungsproben wurden zwei (Berechnungsweg I, Netzwerk I) Parameter (pH-Wert, Citronensäuregehalt) in die Eingabeschicht des neuronalen Netzwerks eingegeben. Für die Zuordnung der Buttersorten wurden Ausgabewerte, die größer 0,5 sind, aufgerundet, um die binäre Entscheidung 1, d. h. zugeordnete Buttersorte zu erhalten, bzw. Ausgabewerte kleiner 0,5 abgerundet, um die binäre Entscheidung 0 (keine Zuordnung) zu erhalten.

Für das Training des neuronalen Netzwerks wurde der in der Norm (12) angegebene Trainingsdatensatz (Umfang: 30 Proben, Angabe von pH-Werten, Citronensäure-, Adenosin- und Uridingehalten) verwendet, zur Überprüfung des laufenden Trainingsprozesses („cross verification“) wurde der angegebene Testdatensatz (Umfang: 15 Proben, Angabe von pH-Werten, Citronensäure-, Adenosin- und Uridingehalten) angewendet. Die softwareseitig günstigsten Einstellungen für das Training des neuronalen Netzwerks sind in der Norm aufgeführt (12), ebenso der Validierungsdatensatz (Umfang: 15 Proben, Angabe von pH-Werten, Citronensäure-, Adenosin- und Uridingehalten), mit dem die Generalisierungsfähigkeit des trainierten Netzes, d. h. ob die im Auswertungsdurchlauf eingesetzten Butterproben vom trainierten neuronalen Netzwerk richtig erkannt werden, überprüft wurde.

Tab. 2: Netzwerktopologie und Eingabe-Parameter

Netzwerk	Topologie Neuronen in der Eingabe-/Zwischen-/ Ausgabe-Schicht	Anzahl	Eingabe-Parameter Art
I	2 - 2 - 3	2	pH, Citronensäure
II	3 - 2 - 3	3	pH, Citronensäure, Adenosin
III	3 - 2 - 3	3	pH, Citronensäure, Uridin

## 3. Ergebnisse und Diskussion

Die im folgenden angegebenen pH-Werte und Citronensäuregehalte wurden direkt aus den Resultatblättern der Ringuntersuchungsteilnehmer übernommen (Tab. 3-8); die angegebenen Wassergehalte wurden nur für die Berechnung der Citronensäuregehalte bzw. Ribonucleosidgehalte der jeweiligen Butterprobe benötigt, d. h. die Angabe der Daten dient nur zur allgemeinen Information. Die Bestimmung der pH-Werte und der

Citronensäuregehalte wurde mit validierten Methoden ausgeführt. Da die chemometrische Auswertung in einer Klassifizierung bzw. Zuordnung resultiert, können auswertbare Ergebnisse zur Berechnung der Wiederholpräzision (r) und der Vergleichspräzision (R) nicht erhalten werden.

#### *Butterprobe I:*

In Butterprobe I wurden von den 11 Laboratorien pH-Werte im Bereich 6,74 - 6,89, Citronensäuregehalte im Bereich 19 - 21,09 mg/100 g Butter sowie Wassergehalte von 15,71% bis 15,9% bestimmt (Tab. 3). Nach Eingabe der pH-Werte und der Citronensäuregehalte in das trainierte neuronale Netzwerk wurden für die Buttersorte „Süßrahm“ Ausgabewerte im Bereich 0,9310 - 0,9526 erhalten (Abb. 1), d. h. Butterprobe I wurde vom trainierten Netzwerk zweifelsfrei der Buttersorte Süßrahmbutter zugeordnet; diese Zuordnung entspricht der Bezeichnung durch den Hersteller (Tab. 1).

#### *Butterprobe II:*

In Butterprobe II wurden im Butterplasma pH-Werte zwischen 4,59 und 4,70, Citronensäuregehalte von 13,7 bis 15,18 mg/100 g Butter und Wassergehalte im Bereich 15,5-15,7 % erhalten (Tab. 4). Vom neuronalen Netzwerk wurden für die Buttersorte „Sauerrahm“ Ausgabewerte im Bereich 0,7821-0,9755 berechnet (Abb. 2), d. h. Butterprobe II wurde vom trainierten Netzwerk zweifelsfrei als Sauerrahmbutter identifiziert, diese Zuordnung entspricht der Bezeichnung durch den Hersteller (Tab. 1). Von den Laboratorien Nr. 8, 10 und 11 wurden Citronensäuregehalte im Bereich 15 bis 15,18 mg/100 g Butter bestimmt, diese Werte liegen etwas höher als die von den übrigen Laboratorien generierten Daten (Tab. 4), was sich in einer geringfügigen Verringerung der Ausgabewerte für Sauerrahmbutter (0,7821; 0,8477; 0,8162) bzw. einer leichten Erhöhung der Ausgabewerte für Buttersorte „mild gesäuert“ (0,1535; 0,1122; 0,1321) niederschlägt (Abb. 2)

#### *Butterprobe III:*

Für Butterprobe III wurden pH-Werte im Bereich 4,68-4,84, Citronensäuregehalte im Bereich 19-21,0 mg/100 g Butter sowie Wassergehalte von 15,7 % bis 16,0 % bestimmt (Tab. 5). Für Buttersorte „mild gesäuert“ wurden vom neuronalen Netzwerk Ausgabewerte im Bereich 0,9795-0,9924 erhalten (Abb. 3), diese eindeutige Buttersortenzuordnung entspricht der Angabe durch den Hersteller (Tab. 1).

#### *Butterprobe IV:*

Für Butterprobe IV wurden von den Laboratorien pH-Werte von 4,51 bis 4,65, Citronensäuregehalte im Bereich 13,3-15,1 mg/100 g Butter und Wassergehalte im Bereich 15,53-15,8 % bestimmt (Tab. 6). Die anhand der pH-Werte und Citronensäuregehalte vom neuronalen Netzwerk berechneten Ausgabewerte für Buttersorte „Sauerrahm“ liegen im Bereich 0,8103-0,9842 (Abb. 4), diese Zuordnung entspricht der Angabe durch den Hersteller. Von den Laboratorien Nr. 2, 7 und 10 wurden im Vergleich zu den Daten der anderen Laboratorien etwas höhere Citronensäuregehalte bestimmt (Tab. 6), was sich, wie auch schon bei Butterprobe II beobachtet, in geringfügig kleineren, jedoch eindeutigen Ausgabewerten für Sauerrahmbutter (0,8103; 0,8301; 0,8659) bzw. leicht erhöhten Ausgabewerten für Buttersorte „mild gesäuert“ (0,1358; 0,1233; 0,1005) niederschlägt (Abb. 4).

### *Butterprobe V:*

In Butterprobe V wurde von den Ringuntersuchungsteilnehmern pH-Werte im Bereich 4,67-4,83, Citronensäuregehalte im Bereich 18,8 -20,5 mg/100 g Butter sowie Wassergehalte von 15,4 bis 15,7 % bestimmt (Tab. 7). Vom neuronalen Netzwerk wurden für die Buttersorte „mild gesäuert“ Ausgabewerte im Bereich 0,9783-0,9913 erhalten (Abb. 5), diese zweifelsfreie Zuordnung entspricht der Angabe durch den Hersteller (Tab. 1).

### *Butterprobe VI:*

In Butterprobe VI wurden pH-Werte von 6,49 bis 6,86, Citronensäuregehalte im Bereich 19,6-23,5 mg/100 g Butter sowie Wassergehalte von 15,67 bis 16,15 % erhalten (Tab. 8). Die nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte vom neuronalen Netzwerk berechneten Ausgabewerte für Buttersorte „Süßrahm“ liegen im Bereich 0,9413-0,9594 (Abb. 6), diese eindeutige Zuordnung entspricht der Angabe durch den Hersteller (Tab. 1).

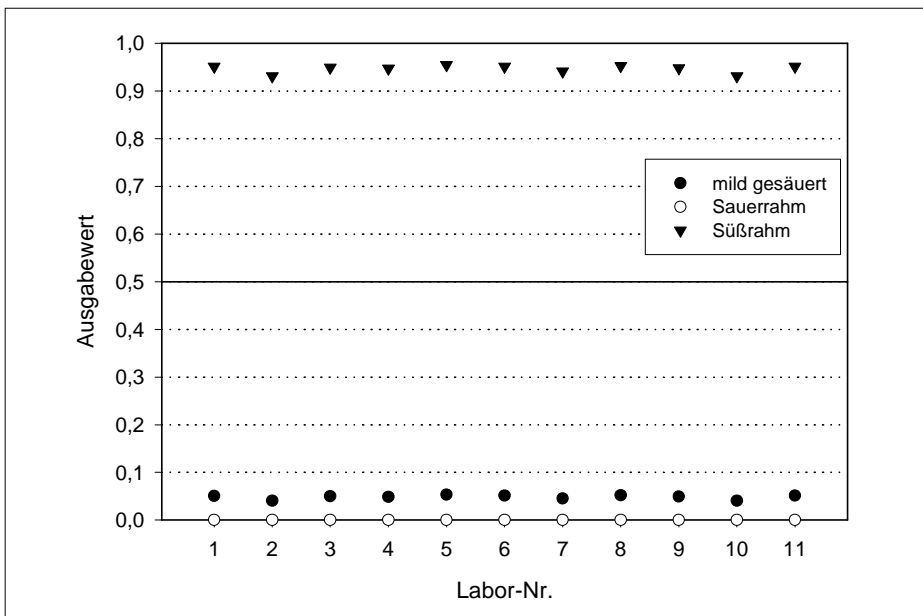
Zur weiteren Charakterisierung der Ringuntersuchungsproben werden die bestimmten Citronensäure-, Adenosin- und Uridin-Gehalte mit den Daten aus vorlaufenden Butterproben-Untersuchungen (7) verglichen. Bei den vom Hersteller und auch vom neuronalen Netzwerk als Süßrahmbutter deklarierten Proben I und VI wurden Citronensäuregehalte im Bereich 19-21,09 mg/100 g Butter bzw. 19,6-23,5 mg/100 g Butter bestimmt. Anhand der aus früheren Untersuchungen (Tab. 9) für Süßrahmbutter ermittelten Daten ist erkennbar, dass die in der Ringuntersuchung erhaltenen Daten im zu erwartenden Konzentrationsbereich liegen. Ein ähnliches Verhalten liegt auch bei den als mild gesäuerten deklarierten und zugeordneten Butterproben III (19-21,0 mg/100 g Butter) und V (18,8-20,5 mg/100 g Butter) vor. Bei den vom Hersteller als auch vom neuronalen Netzwerk als Sauerrahmbutter deklarierten Proben II und IV wurden Citronensäuregehalte im Bereich 13,7-15,18 mg/100 g Butter bzw. 13,3-15,1 mg/100 g Butter von den Ringuntersuchungsteilnehmern bestimmt, diese Werte liegen oberhalb der bislang für Sauerrahm-Butterproben bestimmten Citronensäuregehalte (Tab. 9).

In den Süßrahmbutter-Proben I und VI wurden Adenosin-Gehalte von 7,1 µg/100 g Butter bzw. 7,4 µg/100 g Butter sowie Uridin-Gehalte von 60,8 µg/100 g Butter und 68,3 µg/100 g Butter bestimmt (Tab. 10), im direkten Vergleich mit den Daten aus früheren Untersuchungen (Tab. 11) (7) ist erkennbar, dass die in den Ringuntersuchungsproben bestimmten Ribonucleosid-Gehalte etwas geringer ausfallen. In den mild gesäuerten Proben III und V liegen die bestimmten Adenosin-Gehalte im erwarteten Bereich, wohingegen die Uridin-Gehalte im Vergleich etwas geringer ausfielen. In den Sauerrahm-Proben II und IV liegen die bestimmten Adenosin- und Uridin-Gehalte im zu erwartenden Bereich (Tab. 10, 11).

Abschließend bleibt festzustellen, dass die neuronale Netzanalyse (Netzwerk I, Tab. 2) mit den zwei Eingabeparametern pH-Wert und Citronensäuregehalt mit allen von den Ringuntersuchungsteilnehmern generierten Daten zweifelsfreie richtige Zuordnungen der jeweiligen Buttersorte ergab, d. h. die zusätzliche Eingabe des Adenosin-Gehaltes (Netzwerk II) oder des Uridin-Gehaltes (Netzwerk III) war bei den im Rahmen der Ringuntersuchung untersuchten Butterproben I-VI nicht notwendig, obgleich die Citronensäuregehalte der Sauerrahmbutterproben II und IV relativ höher lagen als die in früheren Untersuchungen für Sauerrahmbutter bestimmten Citronensäuregehalte. Bei Anwendung des trainierten neuronalen Netzwerks ist damit bei minimalem analytischen Aufwand eine eindeutige Buttersortenzuordnung ausführbar.

**Tab. 3:** Übersicht der für Butterprobe I erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 6,74-6,89; Citronensäuregehalt: 19-21,09 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,71-15,9 %.

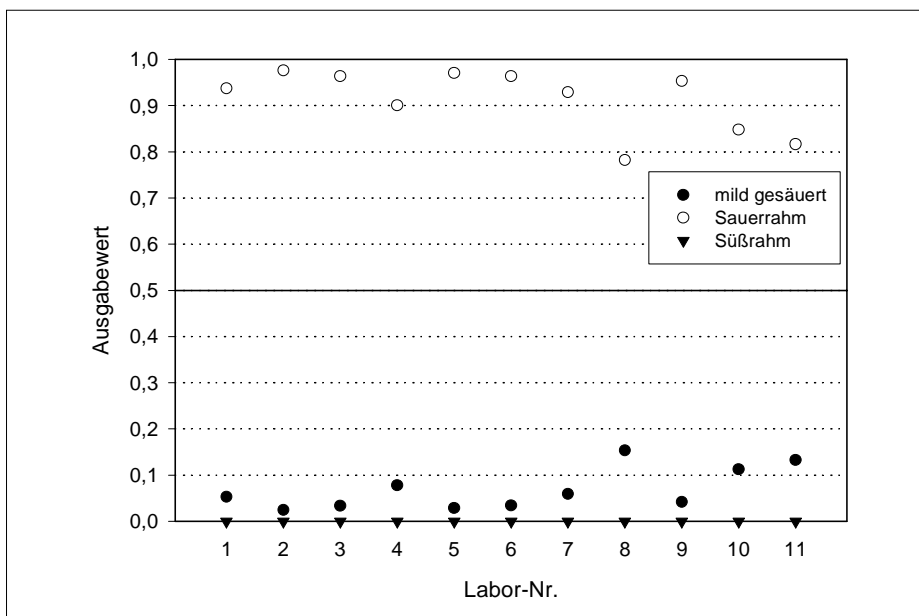
Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	6,83	20,5	15,9
2	6,86	19,0	15,8
3	6,83	20,3	15,8
4	6,81	20,1	15,84
5	6,89	21,09	15,88
6	6,86	20,5	15,8
7	6,79	19,6	15,79
8	6,74	20,88	15,71
9	6,86	20,1	15,8
10	6,85	19	15,8
11	6,74	20,6	15,9



**Abb. 1:** Darstellung der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 3) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe I berechneten Ausgabewerte: Für Butterprobe „Süßrahm“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,9310-0,9526 erhalten.

**Tab. 4:** Übersicht der für Butterprobe II erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 4,59-4,70; Citronensäuregehalt: 13,7-15,18 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,5-15,7 %.

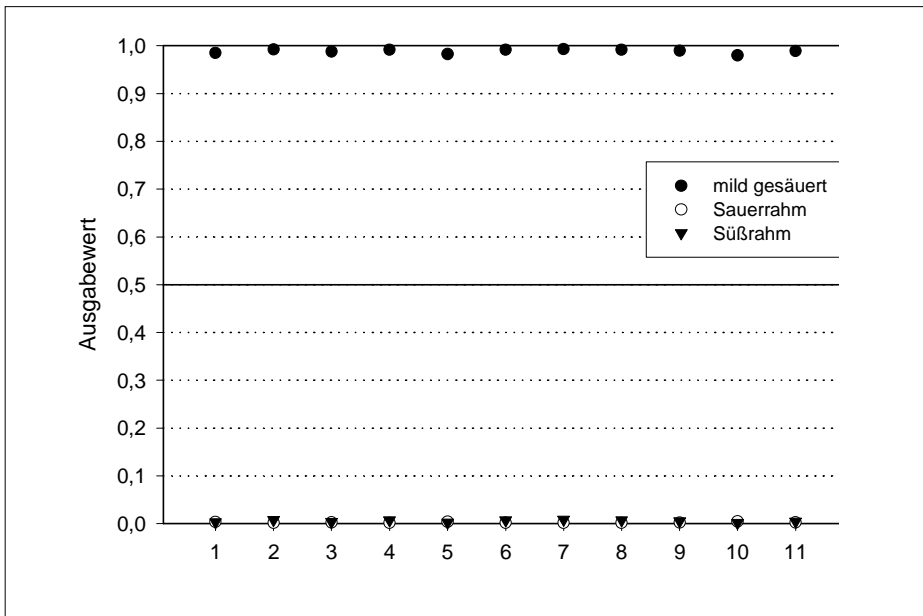
Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	4,62	14,4	15,7
2	4,62	13,7	15,5
3	4,63	14,0	15,6
4	4,62	14,7	15,67
5	4,70	13,78	15,59
6	4,64	14,0	15,6
7	4,60	14,5	15,59
8	4,64	15,18	15,67
9	4,62	14,2	15,6
10	4,59	15	15,7
11	4,61	15,1	15,7



**Abb. 2:** Darstellung der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 4) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe II berechneten Ausgabewerte: Für Buttersorte „Sauerrahm“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,7821-0,9755 erhalten.

**Tab. 5:** Übersicht der für Butterprobe III erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 4,68-4,84; Citronensäuregehalt: 19-21,0 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,7-16,0 %.

Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	4,76	19,3	16,0
2	4,84	20,8	15,7
3	4,77	19,7	15,7
4	4,81	20,5	15,77
5	4,81	19,06	15,94
6	4,79	20,5	15,8
7	4,75	21,0	15,80
8	4,81	20,52	15,72
9	4,78	20,0	15,8
10	4,68	19	15,8
11	4,80	19,8	15,8

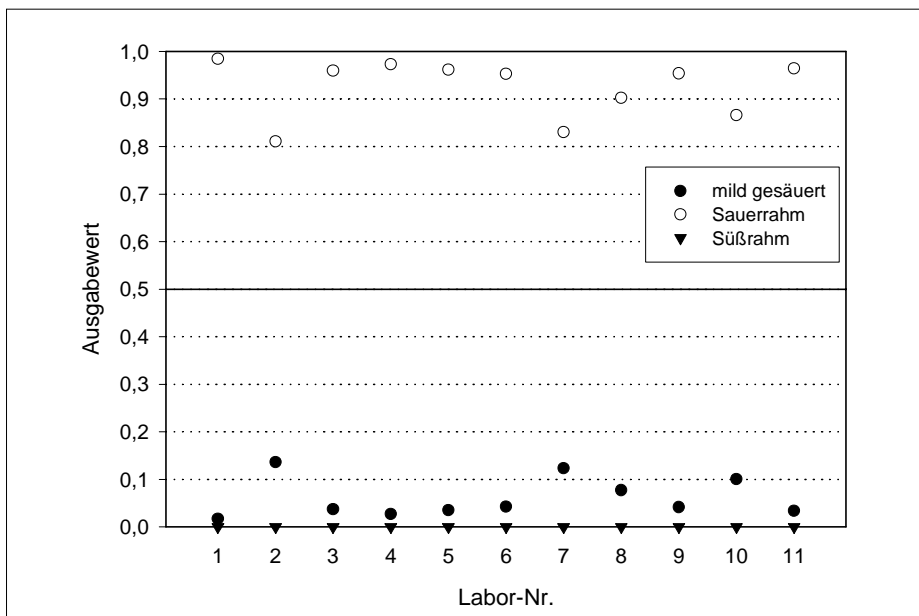


**Abb. 3:** Darstellung der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 5) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe III berechneten Ausgabewerte: Für Buttersorte „mild gesäuert“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,9795-0,9924 erhalten.



**Tab. 6:** Übersicht der für Butterprobe IV erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 4,51-4,65; Citronensäuregehalt: 13,3-15,1 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,53-15,8 %.

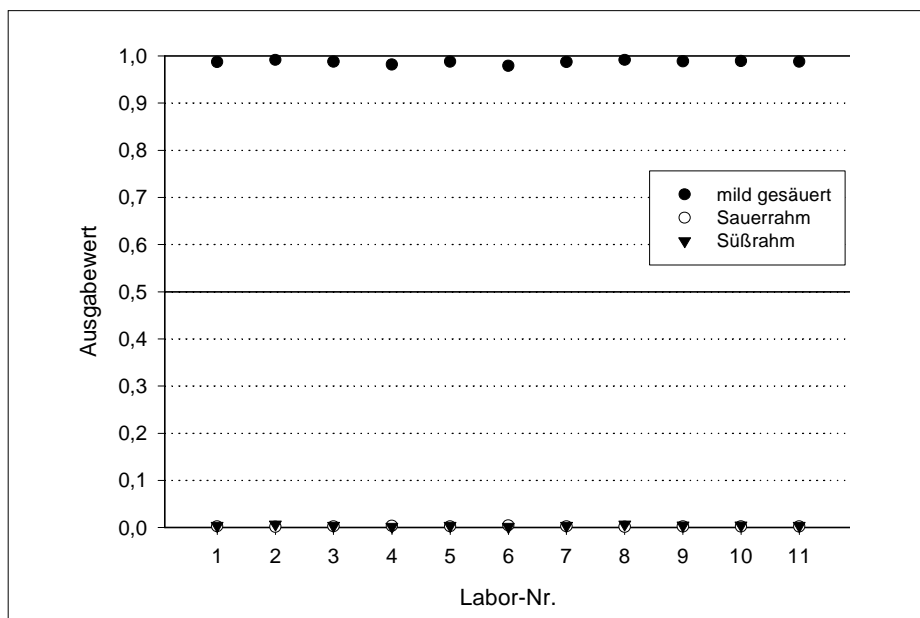
Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	4,62	13,3	15,8
2	4,63	15,1	15,6
3	4,62	14,1	15,6
4	4,61	13,8	15,67
5	4,65	14,02	15,79
6	4,63	14,2	15,8
7	4,56	15,1	15,76
8	4,62	14,69	15,53
9	4,61	14,2	15,6
10	4,51	15	15,7
11	4,62	14,0	15,7



**Abb. 4:** Darstellung der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 6) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe IV berechneten Ausgabewerte: Für Buttersorte „Sauerrahm“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,8103-0,9842 erhalten.

**Tab. 7:** Übersicht der für Butterprobe V erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 4,67-4,83; Citronensäuregehalt: 18,8-20,5 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,4-15,7 %.

Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	4,76	19,6	15,7
2	4,79	20,5	15,4
3	4,80	19,6	15,7
4	4,80	19,0	15,64
5	4,83	19,56	15,66
6	4,81	18,8	15,7
7	4,74	19,6	15,69
8	4,77	20,46	15,58
9	4,78	19,8	15,7
10	4,67	20	15,6
11	4,77	19,7	15,7



**Abb. 5:** Darstellung der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 7) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe V berechneten Ausgabewerte: Für Buttersorte „mild gesäuert“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,9783-0,9913 erhalten.

Tab. 8: Übersicht der für Butterprobe VI erhaltenen pH-Werte, Citronensäure- und Wassergehalte (Angabe der minimalen – maximalen Werte): pH-Wert: 6,49-6,86; Citronensäuregehalt: 19,6-23,5 mg/100 g Butter; Wassergehalt: 15,67-16,15 %.

Labor-Nr.	pH	Citronensäure [mg/100 g Butter]	Wassergehalt [%]
1	6,49	20,5	16,0
2	6,85	23,5	15,7
3	6,84	20,3	15,8
4	6,82	20,2	15,76
5	6,83	21,96	16,15
6	6,86	20,5	15,8
7	6,80	19,6	15,85
8	6,69	21,06	15,67
9	6,84	20,2	15,8
10	6,72	21	15,8
11	6,79	20,6	15,8

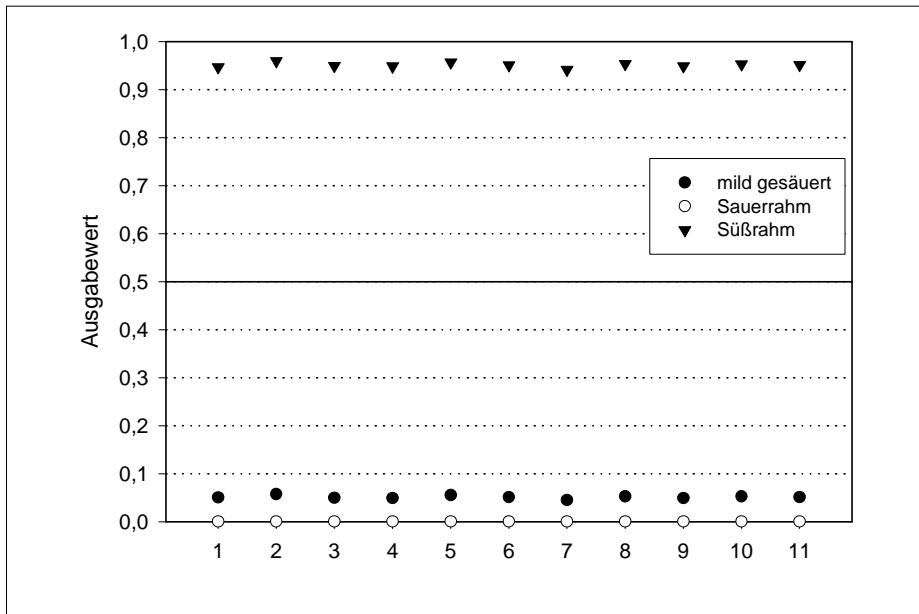


Abb. 6: Übersicht der nach Eingabe der pH-Werte und Citronensäuregehalte (s. Tab. 8) vom neuronalen Netz (Netzwerk I) für Butterprobe VI berechneten Ausgabewerte: Für Buttersorte „Süßrahm“ wurden Ausgabewerte im Bereich 0,9413-0,9594 erhalten.

**Tab. 9: Citronensäure-Gehalte der Butter [mg/100 g Butter]**

Buttersorte		Citronensäure [mg/100 g Butter]	
Süßrahm	(n=14)	24	(22 - 25) <sup>a</sup>
Mild gesäuert	(n=24)	24	(22 - 27)
Sauerrahm	(n=22)	5	(3 - 6)

<sup>a</sup>: Schwankungsbreite (95 % Vertrauensbereich); Daten aus (7).

**Tab. 10: Übersicht der in den Ringuntersuchungsproben bestimmten Adenosin- und Uridin-Gehalte [µg/ 100 g Butter]**

Probe	Adenosin [µg/ 100 g Butter]	Uridin [µg/ 100 g Butter]
I (Süßrahm)	7,1	60,8
II (Sauerrahm)	1,9	15,6
III (mild gesäuert)	6,5	49,1
IV (Sauerrahm)	1,6	16,4
V (mild gesäuert)	5,6	54,3
VI (Süßrahm)	7,4	68,3

**Tab. 11: Adenosin- und Uridingehalte der Butter [µg/ 100 g Butter]**

Buttersorte	Adenosin [µg/100 g Butter]	Uridin [µg/100 g Butter]
Süßrahm (n=14)	12 (10 - 15) <sup>a</sup>	110 (88 - 132)
Mild gesäuert (n=24)	8 (5 - 10)	82 (68 - 96)
Sauerrahm (n=22)	2 (1 - 2)	22 (17 - 27)

<sup>a</sup>: Schwankungsbreite (95 % Vertrauensbereich); Daten aus (7).

#### 4. Literatur

- (1) Butter-Verordnung vom 03.02.1997, BGBl. Teil I, 144-153 (1997)
- (2) Kelnhofer, F., Klostermeyer, H.: Deutsche Milchwirtschaft **27** 1049-1051 (1984)
- (3) Kelnhofer, F., Ziesel, D., Klostermeyer, H.: Deutsche Molkereizeitung **48** 1704-1709 (1984)
- (4) Schlimme, E., Raezke, K.-P., Peters, K.-H.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **41** 243-251 (1989)
- (5) Schlimme, E., Schneehagen, K., Ott, F. G.: Milchwissenschaft **45** 654-657 (1990).
- (6) Schlimme, E., Lorenzen, P. Chr., Martin, D., Thormählen, K.: Milchwissenschaft **51** (3) 139-143 (1996)

- (7) Schlimme, E., Lorenzen, P. Chr., Martin, D., Meisel, H., Thormählen, K.: Kieler Milch-wirtschaftliche Forschungsberichte **49** (2) 135-146 (1997)
- (8) Meisel, H., Lorenzen, P. Chr., Martin, D., Schlimme, E.: Nahrung-Food **41** 75-80 (1997)
- (9) Schlimme, E., Boos, K.-S., Frister, H., Pabst, K., Raezke, K.-P., Wilmers, B.: Milchwissenschaft **41** (12) 757-762 (1986)
- (10) Raezke, K.-P., Boos, K.-S., Wilmers, B., Schlimme, E.: Milchwissenschaft **43** (4) 224-229 (1988)
- (11) Schlimme, E., Boos, K.-S.: Journal of Chromatography Library, Vol. **45c** C115-C145 (1990)
- (12) DIN 10474 „Bestimmung der Buttersorte durch neuronale Netzanalyse kompositioneller Parameter – Chemometrisches Verfahren“, Deutsches Institut für Normung, Berlin (2003)

## 5. Zusammenfassung

Martin, D., Meisel, H.: **Ringuntersuchung zur Validierung der Methode DIN 10474 „Bestimmung der Buttersorte durch neuronale Netzanalyse kompositioneller Parameter – Chemometrisches Verfahren“**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **55** (3) 181-195 (2003)

### **40 Buttersorten** (Buttersortenbestimmung, neuronale Netzanalyse, Methodenva-lidierung)

Die in der bundesdeutschen Butterverordnung festgelegten Buttersorten „Sauerrahmbutter“, „mild gesäuerte Butter“ und „Süßrahmbutter“ enthalten in den entsprechenden Butterseren unterschiedliche Gehalte an Citronensäure und Milchsäure. Außerdem haben die aus den Butterproben hergestellten Butterplasmen unterschiedliche pH-Werte. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass die genannten Parameter zur Unterscheidung von Buttersorten geeignet sind. Weiterhin bieten sich die Gehalte der Ribonucleoside Adenosin und Uridin zur Buttersortenunterscheidung an. Mit Hilfe eines trainierten neuronalen Netzwerks ist nach Eingabe des Citronensäuregehalts und des pH-Werts eine Zuordnung der drei genannten Buttersorten möglich. Im Rahmen einer Ringuntersuchung zur Validierung der Methode DIN 10474 wurden von 11 Laboratorien in 6 Butterproben (2 Sauerrahmbutterproben, 2 mild gesäuerte Butterproben, 2 Süßrahmbutterproben) die Parameter Citronensäuregehalt und pH-Wert bestimmt. Von einem Laboratorium wurden zur weiteren Charakterisierung der versendeten Butterproben die Adenosin- und Uridingehalte ermittelt. Für das Training des neuronalen Netzwerks wurden die in der Norm aufgeführten Datensätze und softwareseitigen Einstellungen angewendet. Die chemometrische Auswertung erfolgte durch Eingabe der Parameter Citronensäuregehalt und pH-Wert in das trainierte neuronale Netzwerk, die hierbei berechneten Ausgabewerte ergaben für sämtliche teilnehmenden Laboratorien eindeutige richtige Zuordnungen der Buttersorte, obgleich bei den im Rahmen der Ringuntersuchung versendeten Sauerrahmbutterproben im Vergleich zu früheren Untersuchungen relativ hohe Citronensäuregehalte vorlagen. Bei Anwendung des trainierten neuronalen Netzwerks ist damit durch die Bestimmung von zwei kompositionellen Parametern, was eine Minimalisierung des analytischen Aufwands darstellt, eine eindeutige Buttersortenbestimmung ausführbar.

## Summary

Martin, D., Meisel, H.: **Interlaboratory study for validation of method DIN 10474 “Determination of the butter type with neural network analysis of compositional parameters – Chemometric method”**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **55** (3) 181-195 (2003).

**40 Butter types** (determination of butter type, neuronal network analysis, validation of method)

The butter types “cultured cream butter”, “mildly soured butter” and “sweet cream butter” defined in the German Butter Regulation contain different contents of citric acid and lactic acid in the corresponding butter sera. In addition, the butter plasma produced from butter samples have different pH values. It is known from former investigations that the mentioned parameters are suitable for differentiation among butter types. Further, the contents of the ribonucleosides adenosine and uridine are useful criteria for butter type differentiation. After the input of the citric acid content and the pH an assignment of the three mentioned butter types is possible with a trained neural network. Within the framework of an interlaboratory study for validation of method DIN 10474, 11 laboratories determined the parameters citric acid content and pH value in 6 butter samples (2 cultured cream butter samples, 2 mildly soured butter samples, 2 sweet cream butter samples). For further characterization of the sent butter samples, one laboratory determined the contents of adenosine and uridine. To train the neural network, the data sets and the software adjustments mentioned in DIN 10474 were applied. Chemometric evaluation occurred by entry of the parameters citric acid content and pH value into the trained neural network. The thus computed output values showed for all participating laboratories unambiguous correct assignments of the butter types, although citric acid contents were relatively high in the cultured cream butter samples sent within the framework of interlaboratory study compared to former investigations. The application of the trained neural network allows an unambiguous differentiation of the butter types by determining two compositional parameters. This results into a minimum analytical expenditure.

## Résumé

Martin, D., Meisel, H.: **Etude interlaboratoire pour valider la méthode DIN 10474 „Détermination du type de beurre par l’analyse de réseaux neuronaux des paramètres composants – Méthode chimiométrique”**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **55** (3) 181-195 (2003).

**40 Type de beurre** (détermination du type de beurre, analyse de réseaux neuronaux, validation de méthode)

Les types de beurre déterminés dans le règlement sur la production de beurre, à savoir „beurre de crème acidulée“, „beurre légèrement acidifié“ et „beurre de crème douce“ ont des teneurs différentes en acide citrique et lactique dans les sérums de beurre correspondants. De plus, les plasmas de beurre produits à partir des échantillons de beurre ont des pH différents. Des études antérieures ont démontré que les paramètres mentionnés sont appropriés pour différencier entre les types de beurre. De même, les teneurs en adénosine et uridine des ribonucléosides peuvent être utilisées pour la différenciation entre les types de beurre. Après l’entrée de la teneur en acide citrique et

du pH, une attribution aux trois types de beurre est possible grâce à un réseau neuronal entraîné. Dans le cadre d'une étude interlaboratoire pour la validation de la méthode DIN 10474, la teneur en acide citrique et le pH ont été déterminés dans 6 échantillons de beurre (2 échantillons de beurre de crème acidulée, 2 échantillons de beurre légèrement acidifié, 2 échantillons de beurre de crème douce). Pour une caractérisation plus poussée des échantillons de beurre envoyés, un laboratoire a déterminé les teneurs en adénosine et uridine. Pour entraîner le réseau neuronal, les enregistrements logiques (ensemble de champs spécifiquement définis) mentionnés dans les normes et standards, ainsi que les ajustements de logiciels ont été utilisés. L'évaluation chémométrique se faisait par l'entrée de la teneur en acide citrique et du pH dans le réseau neuronal entraîné. Les valeurs ainsi calculées ont abouti pour tous les laboratoires participants à une attribution univoque des types de beurre même si les échantillons de beurre légèrement acidifiés envoyés dans le cadre de l'étude interlaboratoire avaient des teneurs relativement élevées en acide citrique par rapport à des études antérieures. En utilisant le réseau neuronal entraîné, il est possible de procéder à une identification des types de beurre en déterminant deux paramètres componentiels, ce qui permet une identification univoque du type de beurre.