

Fettkügelchen-Größenverteilung in homogenisierter Milch und anderen Öl-in-Wasser-Emulsionen *

Hans-Albert Kurzhals und Helmut Reuter**

Unter Benutzung der Mieschen Theorien über die Lichtstreuung an Dispersionen optisch isotroper Kugeln kann bei homogenisierten Emulsionen mit mittleren Tröpfchendurchmessern $> 0,2 \mu\text{m}$ eine Meßmethode verwendet werden, die es gestattet, aus dem spezifischen Trübungsspektrum einer stark verdünnten Emulsion Art und Parameter der Teilchen-Größenverteilungsfunktion zu ermitteln. Messungen mit dieser einfachen und schnellen Methode wurden an Rohmilch und unterschiedlich homogenisierter Milch durchgeführt. Als mögliche Verteilungsfunktionen wurden Exponentialverteilungen, Normalverteilungen, Verteilungen mit oberer Grenze und Verteilungen nach Bezemer und Schwarz sowie nach Djakovic untersucht. Die Methode ist auch bei anderen Öl-in-Wasser-Emulsionen anwendbar.

Emulgieren von Öl in Wasser oder in einer Emulgatorlösung ergibt polydisperse Emulsionen mit einer bestimmten Größenverteilung der Öltröpfchen. Die Polydispersität der Öltröpfchen ist die Folge einer Vielzahl unabhängiger und zufälliger Zerteilungs- und Koaleszenzvorgänge während des Emulgierens. Die Größenverteilung der Öltröpfchen wird von den physikalischen und physikalisch-chemischen Stoffgrößen der beteiligten Medien und von den Strömungsverhältnissen während des Emulgiervorgangs beeinflusst (*Becher* [1]). Neben der Konzentration, der Stabilität und dem Fließverhalten ist die Größenverteilung der Öltröpfchen eine der wichtigsten physikalisch-chemischen Eigenschaften von Emulsionen (*Gopal* [2]). Die Bestimmung dieser Größenverteilung ist daher sowohl für die verfahrenstechnische Beurteilung von Emulgiervorgängen und -maschinen als auch für die technologische Bewertung von Emulsionen von Bedeutung.

Kuhmilch ist eine natürliche polydisperse Emulsion von Milchfett in Milchserum mit zusätzlichen Strukturelementen: Milchzucker und Mineralsalze sind molekulardispers, Molkenproteine kolloid im Milchserum gelöst. Casein kommt zum größten Teil in Form von Mizellen vor. Das Milchfett bildet mikroskopisch sichtbare Emulsions-

kügelchen, die von einer aus Phospholipiden und Eiweißstoffen bestehenden Hülle umgeben sind.

Ein genaues Messen der Fettkügelchen-Größenverteilung in der Milch ist für die Beurteilung unterschiedlicher Verfahren zum Homogenisieren von Trinkmilch notwendig. In den beiden vorangehenden Jahren wurden von uns mehrere Meßmethoden auf ihre Eignung für Messungen an homogenisierter Milch untersucht. Als besonders geeignet erwies sich eine Trübungsmeßmethode, die von *Walstra* [3] vorgeschlagen wurde.

Verteilungsfunktionen

Zum besseren Verständnis der Ergebnisse der nachfolgenden Untersuchungen sollen hier die wichtigsten Eigenschaften von Verteilungsfunktionen ohne Beweis mit-

* Vortrag auf dem Jahrestreffen der Verfahrens-Ingenieure, 3. bis 5. Oktober 1972 in Köln.

** Dipl.-Ing. H. A. Kurzhals u. Prof. Dr.-Ing. H. Reuter, Institut für Verfahrenstechnik der Bundesanstalt für Milchwissenschaft, Kiel.

geteilt werden (*Leschonski* [4], *Rumpf* und *Ebert* [5]). Das Ausmessen einer Teilchengrößen-Verteilung hat das Ziel festzustellen, mit welcher Häufigkeit bestimmte Werte einer Dispersitätsgröße im Gesamtkollektiv vorkommen. In ruhenden Emulsionen und in ruhender Milch sind die Fetttropfchen aufgrund von Grenzflächenkräften ideal kugelförmig. Als Dispersitätsgröße kann in diesem Fall eine geometrische Abmessung, der Kugeldurchmesser d , gewählt werden. Je nach Art der Meßmethode wird die Häufigkeit als Anzahl-, Flächen-, Volumen- oder Massenanteil bestimmt. Als übergeordneter Begriff für diese Größen ist der Ausdruck Mengenanteil üblich. Als Ergebnis einer Teilchengrößen-Analyse erhält man den Mengenanteil als Funktion der Dispersitätsgröße.

Die Meßwerte können entweder als Summenverteilung $N_r(d)$ oder als Dichteverteilung $n_r(d)$ dargestellt werden. Der Index r gibt bei beiden Funktionstypen die Mengenart an. Für $r = 0$ handelt es sich um eine Anzahlverteilung, für $r = 2$ um eine Flächenverteilung, für $r = 3$ um eine Volumen- oder Massenverteilung. Die Summenverteilung $N_r(d)$ gibt an, welcher Mengenanteil zwischen der kleinsten Dispersitätsgröße d_{\min} und der jeweiligen Dispersitätsgröße d liegt. Die Dichteverteilung $n_r(d)$ zeigt die Häufigkeit der Dispersitätsgröße d im Teilchenkollektiv. Den Zusammenhang zwischen Summen- und Dichteverteilung gibt die Gleichung

$$N_r(d) = \int_{d_{\min}}^d n_r(d) dd \quad (1)$$

Als Normierungsbedingung folgt für den Wert der Summenverteilung an der oberen Grenze d_{\max} :

$$N_r(d_{\max}) = \int_{d_{\min}}^{d_{\max}} n_r(d) dd = 1 \quad (2)$$

Das vollständige k -te Moment der n_r -Verteilung ist definiert als

$$M_{k,r} = \int_{d_{\min}}^{d_{\max}} d^k n_r(d) dd \quad (3)$$

Zur Charakterisierung von Verteilungen kann man verschiedene Mittelwerte für die Dispersitätsgröße definieren. Für das gewogene Mittel der Flächendichteverteilung $n_2(d)$ gilt:

$$\bar{d}_2 = M_{3,0}/M_{2,0} = d_{vs} \quad (4)$$

Dieser Wert wird auch der mittlere volumengewichtete Durchmesser der n_2 -Verteilung genannt. Er ist der volumenbezogenen spezifischen Oberfläche umgekehrt proportional. In der angelsächsischen Literatur wird er als „volume/surface-average diameter“ bezeichnet und mit d_{vs} abgekürzt (*Walstra* [6]). Für die Charakterisierung von Fettkügelchen-Größenverteilungen bei Milch ist der Mittelwert d_{vs} besonders geeignet, da zu seiner Berechnung die Gesamtzahl der Fettkügelchen je Volumeneinheit nicht bekannt sein muß. Eine ungenügende Erfassung sehr kleiner Kügelchen ($< 0,1 \mu\text{m}$) hat nur geringen Einfluß auf den Wert von d_{vs} .

Als relative Standardabweichung der n_2 -Verteilung kann das Verhältnis von Standardabweichung σ_2 zum gewogenen Mittel der n_2 -Verteilung \bar{d}_2 definiert werden:

$$\frac{\sigma_2}{\bar{d}_2} = \left(\frac{M_{4,0} M_{2,0}}{M_{3,0}^2} - 1 \right)^{0,5} = c_s \quad (5)$$

In der angelsächsischen Literatur wird dieser Wert mit c_s abgekürzt (*Walstra* [6]). Die Größe c_s ist zur Charakterisierung der Breite einer Verteilung besser geeignet als andere Breitenparameter, da zu ihrer Berechnung die Gesamtzahl der Fettkügelchen nicht bekannt sein muß. Außerdem ist c_s für unterschiedliche analytische Verteilungsfunktionen äquivalent, so daß die Polydispersität verschiedener Funktionen mit Hilfe der Größe c_s ohne Umrechnung verglichen werden kann.

Verteilungstypen

Messungen von Teilchengrößen-Verteilungen lassen sich auf mehrere Arten darstellen. Da bei der Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen oder bei der Umrechnung von Verteilungen häufig Integrale gebildet werden müssen, ist die Darstellung in Form einer analytischen Funktion erwünscht, weil dann die Berechnung der Integrale erheblich vereinfacht wird. In vielen Fällen lassen sich gemessene Teilchengrößen-Verteilungen durch Verteilungsfunktionen mit einem, zwei oder drei Parametern sehr gut annähern. Es besteht jedoch keine Notwendigkeit dafür, daß eine solche Annäherung immer gelingt.

Für Emulsionen wurden mehrere empirische Verteilungsfunktionen aufgrund experimenteller Beobachtungen vorgeschlagen. Die bekanntesten dieser Funktionen stammen von *Rossi* [7], *Dobrowsky* [8], *Troesch* [9] sowie *Mugele* und *Evans* [10]. Einige dieser Autoren bemühen sich auch um eine statistische Begründung ihrer Funktionen. Die in diesen Arbeiten vorgeschlagenen Modelle haben jedoch nur wenig Ähnlichkeit mit den Vorgängen, die beim Emulgieren und Homogenisieren stattfinden. Eine bessere Begründung ihrer Funktionen durch statistische Modelle von *Kolmogoroff* [11], *Epstein* [12] und *Kottler* [13] gaben *Hilbig* [14], *Gopal* [15], *Irani* [16], *Schwarz* und *Bezemer* [17] sowie *Djaković* und Mitarb. [18].

Die von *Hilbig* [14] vorgeschlagene dreiparametrische Verteilungsfunktion stellt die allgemeinste Form einer Exponentialverteilung dar. Ihre Normalform als Anzahldichteverteilung lautet:

$$n_0(d) = \frac{A}{d_0} \left(\frac{d}{d_0} \right)^p \exp \left[- \left(\frac{d}{d_0} \right)^q \right] \quad (6)$$

Die Größe A ist darin ein Normierungsfaktor. Der charakteristische Durchmesser d_0 und die Größen p und q sind die Parameter der Funktion. Substituiert man in dieser Gleichung die Dispersitätsgröße d durch die Größe $y = d/d_0$, dann erhält man die Exponentialverteilung in folgender Form:

$$n_0^*(y) = A y^p \exp(-y^q) \quad (7)$$

Die Exponentialverteilung enthält als Sonderfälle die Gammaverteilung (für $q = 1$), die Maxwell-Verteilung (für $q = 2$), die Verteilung nach *Rosin*, *Rammner* und *Sperling* [19] (für $p = q - 1$) und die Verteilung nach *Heller* [20] (für $p = 1$ und $q = 3$ bei $d_{\min} = 0$).

Gopal [15] betrachtet den Emulgiervorgang als Markoffsche Kette und leitet daraus die Gültigkeit der logarithmischen Normalverteilung als Verteilungsfunktion für

Emulsionströpfchen ab. Ihre Normalform als Anzahldichteverteilung lautet:

$$n_0(d) = \frac{A}{d_0} \frac{d_0}{d} \exp \left[-\frac{\ln^2(d/d_0)}{2 \ln^2 B} \right]. \quad (8)$$

Diese Gleichung hat zwei Parameter, den charakteristischen Durchmesser d_0 und die Größe B , die ein Maß für die Breite der Verteilung ist. Die Substitution der Dispersitätsgröße d durch die Größe $y = d/d_0$ ergibt den Ausdruck

$$n_0^*(y) = A \frac{1}{y} \exp \left[-\frac{\ln^2 y}{2 \ln^2 B} \right]. \quad (9)$$

Die Erweiterung der logarithmischen Normalverteilung durch einen zusätzlichen Parameter d_{\max} , der die obere Grenze für die Dispersitätsgröße d angibt, wurde zuerst von *Irani* [16] eingeführt. *Walstra* [3] schlägt als Verteilung mit oberer Grenze eine Funktion mit folgender Normalform vor:

$$n_0(d) = \frac{A}{d_0} \frac{d_{\max}}{d_{\max} - d} \left(\frac{d_0}{d} \right)^4 \exp \left[-\frac{\ln^2 \left(\frac{d}{d_0} \frac{d_{\max}}{d_{\max} - d} \right)}{2 \ln^2 B} \right]. \quad (10)$$

Diese dreiparametrische Verteilungsfunktion wurde von einer logarithmischen Normalverteilung abgeleitet. Für $d_{\max} = \infty$ vereinfacht sich diese Gleichung auf eine logarithmische Normalverteilung höherer Ordnung. Die Substitution der Dispersitätsgröße d durch die Größe $y = d/d_0$ ergibt für die Verteilung mit oberer Grenze:

$$n_0^*(y) = A \frac{y_{\max}}{y_{\max} - y} \frac{1}{y^4} \exp \left[-\frac{\ln^2 \left(\frac{y y_{\max}}{y_{\max} - y} \right)}{2 \ln^2 B} \right]. \quad (11)$$

$y_{\max} = d_{\max}/d_0$ ist dabei der Maximalwert für die substituierte Dispersitätsgröße. – *Bezemer* und *Schwarz* [17] leiteten aufgrund statistischer Überlegungen eine zweiparametrische Verteilungsfunktion ab, die außer einem charakteristischen Durchmesser d_0 als zweiten Parameter die maximale Dispersitätsgröße d_{\max} verwendet. Ihre Normalform lautet:

$$n_0(d) = \frac{A}{d_0} \frac{(d_0/d)^5}{1 + \frac{d_0}{d_{\max}} + \frac{1}{2} \left(\frac{d_0}{d_{\max}} \right)^2 + \frac{1}{6} \left(\frac{d_0}{d_{\max}} \right)^3} \cdot \exp \left(\frac{d_0}{d_{\max}} - \frac{d_0}{d} \right). \quad (12)$$

Diese Funktion wird auch als ADE (Amsterdam Distribution Equation) bezeichnet. Für $d_{\max} = \infty$ vereinfacht sich die Gleichung auf eine Exponentialverteilung (für $p = -5$ und $q = -1$). Die Substitution der Dispersitätsgröße d durch $y = d/d_0$ führt hierbei zu

$$n_0^*(y) = A \frac{y^{-5}}{1 + \frac{1}{y_{\max}} + \frac{1}{2y_{\max}^2} + \frac{1}{6y_{\max}^3}} \exp \left(\frac{1}{y_{\max}} - \frac{1}{y} \right). \quad (13)$$

$y_{\max} = d_{\max}/d_0$ bedeutet dabei wieder die maximale substituierte Dispersitätsgröße. – *Djakovic* und Mitarb. [18] schlugen für Emulsionen eine zweiparametrische Verteilungsfunktion vor, die ebenfalls von der Exponentialverteilung abgeleitet werden kann. In der Normalform lautet diese Beziehung:

$$n_0(d) = \frac{A}{d_0} \frac{1}{\Gamma(p+1)} \left(\frac{d}{d_0} \right)^p \exp \left(-\frac{d}{d_0} \right). \quad (14)$$

Diese Funktion kann als Sonderfall einer Exponentialverteilung mit dem Parameter $q = 1$, also als eine Gammaverteilung aufgefaßt werden. Die Substitution der Dispersitätsgröße d durch $y = d/d_0$ ergibt:

$$n_0^*(y) = A \frac{1}{\Gamma(p+1)} y^p \exp(-y). \quad (15)$$

Bei eigenen Arbeiten über die Fettkügelchen-Größenverteilung von homogenisierter Milch wurden Exponentialverteilungen, logarithmische Normalverteilungen, Verteilungen mit oberer Grenze, Verteilungen nach *Bezemer* und *Schwarz* sowie nach *Djakovic* mit unterschiedlichen Parametern als Modelle für die untersuchten Proben benutzt. Jede dieser Funktionen kann natürlich nur als eine Näherung an die tatsächliche Größenverteilung betrachtet werden. Feine Details der tatsächlichen Verteilung können durch solche Annäherungen im allgemeinen nicht erfaßt werden.

Methoden zum Messen der Fettkügelchen-Größenverteilung in homogenisierter Milch

Das Messen der Fettkügelchen-Größenverteilung von Milch erscheint zunächst verhältnismäßig unproblematisch, da die Teilchen als Kugeln vorliegen, die mit Hilfe des Durchmessers d als Dispersitätsgröße einfach charakterisiert werden können. Eine Berechnung von Formfaktoren oder die Angabe von Äquivalentdurchmessern ist nicht notwendig. Wegen der sehr großen Zahl von Fettkügelchen je Volumeneinheit (ca. $15 \cdot 10^9/\text{cm}^3$ Rohmilch und ca. $15 \cdot 10^{12}/\text{cm}^3$ homogenisierte Milch) bereitet eine repräsentative Probenahme wenig Schwierigkeiten. Bei einer genauen Messung der Fettkügelchen-Größenverteilung treten jedoch einige Schwierigkeiten auf. Bei homogenisierter Milch besteht das Hauptproblem in der Erfassung sehr kleiner Fettkügelchen mit Durchmessern unter $0,5 \mu\text{m}$. Einen guten Überblick über die bei Milch anwendbaren Meßmethoden und ihre Genauigkeit gibt *Walstra* [6].

Mikroskopische Zählmethoden bilden heute immer noch die Grundlage der Teilchengrößen-Analyse von Milchfettkügelchen, denn sie erlauben die Betrachtung und Messung jedes einzelnen Teilchens. Lichtmikroskopische Methoden für Milch wurden von *Dolby* [21], *van Krefeld* [22], *Balaton* und *Szabo* [23] sowie *Paech* [24] verwendet. Wegen der theoretischen unteren Auflösungsgrenze von $0,3 \mu\text{m}$ sind diese Methoden bei homogenisierter Milch zu ungenau. Die Fluoreszenzmikroskopie bietet bessere Möglichkeiten der Sichtbarmachung von kleinsten Fettkügelchen. Bei optimalen Bedingungen liegt die untere Auflösungsgrenze hier bei $0,1 \mu\text{m}$. Fluoreszenzmikroskopische Methoden für Milch haben *King* [25] und *Walstra* [6] beschrieben.

In Verbindung mit der Fluoreszenzmikroskopie wurde eine mikrographische Methode entwickelt mit dem Ziel, die Mikrographien auf einem Teilchengrößenanalysator nach *Endter* und *Gebauer* [26] auszuzählen. Dabei erwiesen sich für Rohmilch und für homogenisierte Milch zwei verschiedene Präparationsmethoden als optimal. Als Farbstoff zur Anfärbung von Milchlaktose dient Phosphin 3R. Die gefärbten Fettkügelchen werden mit

UV- und Blaulicht bei Wellenlängen von 300 bis 400 nm zur Sekundär-Fluoreszenz angeregt. Da die dabei ausgestrahlte Lichtmenge nicht sehr groß ist, sind bei der Mikrophotographie lange Belichtungszeiten (15 bis 60 s) und daher eine Fixierung der Fettkügelchen mit einem Einschlußmittel (Gelatine) notwendig. Abb. 1 zeigt eine fluoreszenzmikroskopische Photographie von Milchfettkügelchen einer Rohmilchprobe. Mit Hilfe des Teilchengrößenanalysators kann die Durchmesser-Verteilung der Fettkügelchen ausgemessen werden. Für die Berechnung der Dichte- und Summenverteilungen, von Mittelwerten und Standardabweichungen wurde ein elektronischer Digitalrechner benutzt. Der Nachteil dieser fluoreszenzmikroskopischen Methode besteht in einem verhältnismäßig hohen Zeitaufwand für Präparation, Mikrophotographie und Auszählung. Bei sehr stark homogenisierten Proben ist auch hier die Erfassung der kleinsten Fettkügelchen unter $0,1 \mu\text{m}$ problematisch.

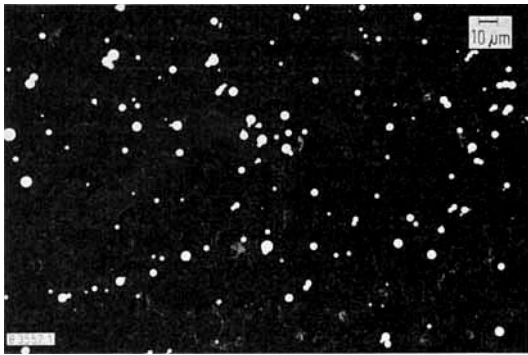


Abb. 1. Fluoreszenzmikroskopische Photographie von Milchfettkügelchen in Rohmilch.

Elektronenmikroskopische Methoden zur Darstellung oder Ausmessung von Milchfettkügelchen wurden von Buchheim [27] und Schönauer [28] entwickelt. Damit ist es möglich, auch Fettkügelchen mit einem Durchmesser unter $0,1 \mu\text{m}$ auszumessen. Die schwierige Präparationstechnik und das Problem, repräsentative Proben zu erhalten, haben bisher die Anwendung dieser Methoden für die Fettkügelchen-Größenanalyse von homogenisierter Milch verhindert.

Der Coulter-Counter wird häufig für die Größenanalyse von Milchfettkügelchen verwendet (Cornell und Pallansch [29], Walstra [30], Kernohan und Lephed [31], Rüegg [32]). Die untere Auflösungsgrenze liegt zwischen $0,3$ und $0,7 \mu\text{m}$ je nach Größe der Zählöffnung. Daher ist die Anwendung dieses Gerätes auf Rohmilch und schwach homogenisierte Milch beschränkt.

Trübungsmessungen wurden bei Milch schon mehrfach als Meßmethode für die Fettkügelchen-Größenverteilung benutzt (Goulden [33, 34], Haugaard [35]). Besonders hervorzuheben sind dabei die Arbeiten von Walstra [3, 36, 37]. Bei Emulsionen sind Trübungsmessungen besonders einfach, da jedes Emulsionströpfchen als isotrope Kugel betrachtet werden kann, deren Lichtstreuverhalten theoretisch vorausberechenbar ist (Mie [38]). Die Messung der Schwächung eines Lichtstrahls beim Durchstrahlen der Emulsion oder einer Verdünnung ist dabei die bevorzugte Methode, da das seitlich gestreute Licht nicht so einfach gemessen und vorausberechnet werden kann.

Durchlichttrübungsmessungen

Bei eigenen Messungen wurde eine von Walstra [3] vorgeschlagene Methode benutzt. Dabei wird aus der gemessenen Extinktion einer stark verdünnten Milchprobe bei mehreren Lichtwellenlängen ein spezifisches Trübungsspektrum berechnet und gezeichnet. Diese experimentelle Kurve wird mit Spektren verglichen, die für vorgegebene Größenverteilungsfunktionen theoretisch berechnet wurden. Aus der passenden theoretischen Kurve können dann Art und Parameter der Verteilungsfunktion für die Fettkügelchen-Größenverteilung ermittelt werden. Die genauen theoretischen Grundlagen der Lichtstreuung polydisperser Emulsionen findet man in den Gesamtdarstellungen von van de Hulst [39] und Kerker [40]. Es sollen hier nur die theoretischen Ansätze erklärt werden, die zum Verständnis der nachstehend beschriebenen experimentellen Ergebnisse notwendig sind.

Man betrachtet ein kugelförmiges Teilchen mit dem Durchmesser d und dem Brechungsindex n_1 in einem Medium mit dem Brechungsindex n_2 . Dieses Teilchen werde durch einen parallelen, monochromatischen Lichtstrahl mit der Wellenlänge λ (im Vakuum) beleuchtet. Unter der Voraussetzung, daß neben der Lichtstreuung die Lichtabsorption durch das Teilchen keine wesentliche Rolle spielt, wird die Schwächung des einfallenden Lichtes proportional zum geometrischen Querschnitt des Teilchens $1/4 \pi d^2$ und zum Lichtstreuoeffizienten Q sein. Der Lichtstreuoeffizient Q charakterisiert dabei das Verhältnis von Lichtstreuquerschnitt zum geometrischen Querschnitt. Q ist eine Funktion des relativen Brechungsindex $m = n_1/n_2$ und des Verhältnisses von Teilchendurchmesser d zur Wellenlänge im umgebenden Medium λ/n_2 . Definiert man als Größenparameter ρ den Ausdruck

$$\rho = 2\pi d(n_1 - n_2)/\lambda = 2x(m - 1) \quad (16)$$

(mit $x = \pi d n_2/\lambda$ und $m = n_1/n_2$), dann genügt dieser Größenparameter als unabhängige Variable für Q . Theoretische Werte für den Lichtstreuoeffizienten Q können mit Hilfe der Theorie von Mie [38] in Abhängigkeit vom Größenparameter ρ berechnet werden. Diese Berechnungen sind sehr umständlich. Daher wurden bei eigenen Untersuchungen die von Walstra [37] angegebenen Näherungsgleichungen benutzt. Als relativer Brechungsindex kann bei Milch $m = 1,10$ zugrundegelegt werden.

Die Abhängigkeiten des Brechungsindex des Milchfettes von der Lichtwellenlänge, Fettzusammensetzung und Temperatur verursachen Abweichungen des Größenparameters ρ . Sie dürfen daher nicht vernachlässigt werden. Aus diesem Grunde wurde bei jeder Milchprobe der Brechungsindex des Milchfettes mit einem Abbe-Refraktometer als n_D^{40} -Wert bestimmt. Der Einfluß der Lichtwellenlänge, der Meßtemperatur und der Milchkonzentration auf die Differenz der Brechungsindices ($n_1 - n_2$) wird in einer besonderen Korrekturrechnung berücksichtigt. Die Auswirkungen der Fettkügelchenmembran auf das Brechungsverhalten der Teilchen kann vernachlässigt werden.

Zur Präparation der Proben für die Extinktionsmessungen diente folgende Methode: Die zur Fettverflüssigung vorher auf 40°C erwärmten Milchproben müssen mit Wasser

so stark verdünnt werden, daß die gemessenen Extinktionswerte bei Verwendung einer Küvette mit 5 mm Schichtdicke zwischen 0,15 und 0,7 liegen. Das Volumen-Verdünnungsverhältnis beträgt etwa 1:200. Um Mehrfachstreuungen auszuschließen darf der Fettvolumenanteil in der Verdünnung nicht über $2 \cdot 10^{-3}$ betragen. Zur Vermeidung von unerwünschten Lichtstreuungen wird das Casein durch Zugabe von NaOH aufgelöst. Eventuell in der Milchprobe vorhandene Fettkügelchen-Trauben werden durch Zugabe eines Calcium-Komplexbildners (EDTA) und eines Emulgators (Tween 20 oder Polyvinylalkohol) zerteilt. Als Vergleichsmedium wird für die Ermittlung der Extinktionswerte nicht verdünntes Milchplasma mit entsprechenden Reagentienzusätzen, sondern Wasser verwendet. Die dadurch verursachten Fehler werden durch Berücksichtigung von Korrekturwerten für die gemessenen Extinktionen berichtigt.

Zur Messung der Extinktionswerte wird ein Einstrahl-Spektralphotometer (Zeiss PMQII) mit einer Zusatzeinrichtung für Trübungsmessungen benutzt. Der wirksame Empfangswinkel bei dem benutzten Gerät beträgt $1,5^\circ$. Daher kann ein merklicher Teil des gestreuten Lichtes noch den Empfänger erreichen. Die durch diesen Effekt hervorgerufenen Abweichungen lassen sich durch eine Korrektur des theoretisch ermittelten Lichtstreuoeffizienten Q kompensieren. Der korrigierte Lichtstreuoeffizient wird mit Q^* bezeichnet. Um die Bedingungen der Theorie von *Mie* [38] zu erfüllen, daß keine Absorption des Lichtes im MilCHFett auftritt, darf der verwendete Wellenlängenbereich nicht zu weit in den UV- und IR-Bereich ausgedehnt werden. Daher werden Lichtwellenlängen zwischen 380 und 1700 nm verwendet. Der Wellenlängenbereich um 1450 nm wird nicht benutzt, da hier ein Absorptionsmaximum des Wassers liegt. Eine Messung bei dieser Wellenlänge würde sehr große spektrale Bandbreiten erfordern und damit Fehler im Vergleich zur Theorie hervorrufen.

Die reduzierte Trübheit Z für Milch errechnet sich nach *Walstra* [3] aus

$$Z = 0,2443 \frac{E\lambda}{LpG(n_1 - n_2)} \quad (17)$$

E ist dabei die bei den verschiedenen Wellenlängen gemessene Extinktion, λ die Wellenlänge, L die Schichtdicke, p das Verdünnungsverhältnis, G der gravimetrische Fettgehalt der Milch und n_1 und n_2 die Brechungsindices von MilCHFett und Wasser. Es läßt sich leicht beweisen, daß die Größe Z dem theoretischen Wert $(\overline{Q^*}/\varrho)$ entspricht. Zur Charakterisierung des Trübungsverhaltens der Probe wurde die reduzierte Trübheit benutzt, da sämtliche zur Berechnung notwendigen Werte entweder frei gewählt oder gemessen werden können. Die Auftragung der bei den verschiedenen Wellenlängen gefundenen Werte für Z über $\lg [2\pi(n_1 - n_2)/\lambda]$ ergibt ein experimentelles Trübungsspektrum.

Die Abhängigkeit der reduzierten Trübheit $(\overline{Q^*}/\varrho)$ vom Größenparameter ϱ läßt sich unter der Annahme einer bestimmten Funktion für die Teilchen-Größenverteilung $n_0^*(y)$ für polydisperse Teilchen theoretisch berechnen. Man definiert dazu als mittleren Größenparameter der Verteilung $n_0^*(y)$ den Wert

$$\varrho_{vs} = 2\pi d_{vs}(n_1 - n_2)/\lambda \quad (18)$$

Dabei ist d_{vs} das gewogene Mittel der Flächendichteverteilung. Für den charakteristischen Durchmesser d_0 errechnet sich der Größenparameter aus

$$\varrho_0 = 2\pi d_0(n_1 - n_2)/\lambda \quad (19)$$

Den Zusammenhang zwischen diesen beiden Größenparametern gibt die Gleichung

$$\varrho_{vs} = \varrho_0 \frac{\int_0^\infty y^3 n_0^*(y) dy}{\int_0^\infty y^2 n_0^*(y) dy} = \varrho_0 M_{3,0}/M_{2,0} \quad (20)$$

Aus einer flächengewichteten Mittelung des theoretischen Lichtstreuoeffizienten Q^* für die gesamte Verteilung berechnet sich die theoretische mittlere reduzierte Trübheit nach *van de Hulst* [39]:

$$\overline{(Q^*/\varrho_{vs})} = \frac{\int_0^\infty Q^*(\varrho_0 y) y^2 n_0^*(y) dy}{\int_0^\infty y^3 n_0^*(y) dy} \frac{1}{\varrho_0} \quad (21)$$

Diese Gleichung zeigt die Abhängigkeit der mittleren reduzierten Trübheit $(\overline{Q^*}/\varrho_{vs})$ von ϱ_0 . Die für die Auswertung bequemere Abhängigkeit der mittleren reduzierten Trübheit von ϱ_{vs} ergibt sich aus dem Zusammenhang zwischen den beiden Größenparametern ϱ_0 und ϱ_{vs} , Gl. (20). Auf diese Weise kann für jede vorgegebene Verteilungsfunktion $n_0^*(y)$ ein theoretisches Trübungsspektrum $(\overline{Q^*}/\varrho_{vs}) = f(\lg \varrho_{vs})$ berechnet und gezeichnet werden, das unabhängig vom aktuellen Wert für d_0 ist. Da die in der Berechnung der theoretischen Trübungsspektren vorkommenden Integrale oft nicht analytisch lösbar sind, wurden alle Integrale numerisch mit Hilfe eines elektronischen Digitalrechners berechnet.

Zur Auswertung werden der theoretisch und der experimentell gewonnene Kurvenzug soweit gegeneinander verschoben, bis sie möglichst genau übereinanderliegen. Wenn für eine bestimmte theoretische Kurve eine gute Übereinstimmung gefunden ist, können deren Verteilungsfunktionen und Parameter zur Beschreibung der gemessenen Fettkügelchen-Größenverteilung benutzt werden. Die Verschiebung in Abszissenrichtung ergibt den Wert $\lg d_{vs}$ und damit einen weiteren Parameter der Verteilungsfunktion.

Ergebnisse

Für Exponentialverteilungen, logarithmische Normalverteilungen, Verteilungen mit oberer Grenze, Verteilungen nach *Bezemer* und *Schwarz* sowie Verteilungen nach *Djakovic* wurden für verschiedene Parameter die theoretischen Trübungsspektren berechnet. Untersucht wurden unhomogenisierte und homogenisierte Kuhmilchproben. Bei unhomogenisierter Milch liegt der Fettkügelchendurchmesser zwischen 0,1 und 15 μm . Der Wert d_{vs} beträgt 3 bis 4 μm . Die homogenisierten Milchproben kamen aus Versuchen mit einer Hochdruck-Homogenisiermaschine bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen und mit mehreren Homogenisierventilen unterschiedlicher Form.

Der kleinste gemessene Wert für d_{vs} betrug $0,15 \mu\text{m}$, der größte Wert für c_s $1,33$. Der Fettgehalt der untersuchten Proben lag zwischen $2,0$ und $25 \text{ Gew.}\%$. Er wurde nach der Methode von *Gerber* bestimmt.

Abb. 2 zeigt als Beispiel zwei theoretisch berechnete Trübungsspektren und die damit abgeglichenen, um $\lg d_{vs}$ verschobenen, gemessenen Trübungsspektren für unhomogenisierte und für homogenisierte Milch. Für die unhomogenisierte Milch wurde nach einer Verschiebung um

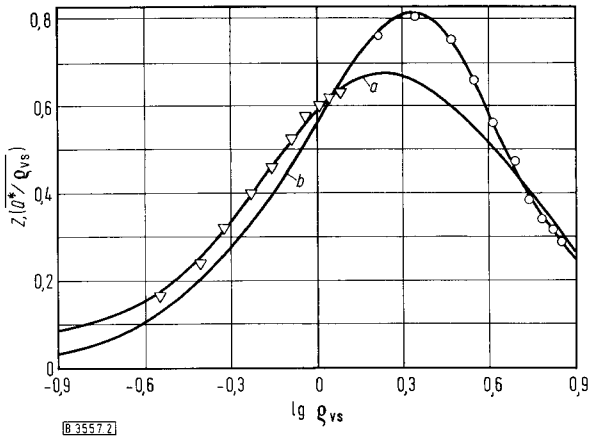


Abb. 2. Abgleich von theoretisch berechneten und gemessenen Trübungsspektren.

a Verteilung nach *Bezemer* und *Schwarz*, $y_{\max} = 3$; b obere Grenzverteilung, $y_{\max} = 1$, $B = 2,4$; \circ unhomogenisiert, ∇ homogenisiert.

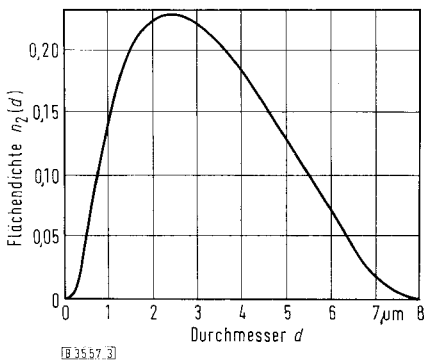


Abb. 3. Flächendichteverteilung für eine unhomogenisierte Milchprobe (Verteilung mit oberer Grenze). $d_{vs} = 3,24 \mu\text{m}$, $c_s = 0,483$, $d_{\max} = 8,00 \mu\text{m}$.

$\lg d_{vs} = +0,510$ das Trübungsspektrum einer Verteilung mit oberer Grenze mit den Parametern $y_{\max} = 1$ und $B = 2,4$ ($c_s = 0,483$) als beste Annäherung für das gemessene Trübungsspektrum ermittelt. Das Trübungsspektrum der homogenisierten Milch ließ sich durch die theoretische Kurve einer Verteilung nach *Bezemer* und *Schwarz* mit dem Parameter $y_{\max} = 3$ ($c_s = 0,734$) am besten abgleichen. Dazu war eine Verschiebung um $\lg d_{vs} = -0,270$ nötig. Wie man in Abb. 2 sieht, stimmen bei diesen Beispielen die experimentell ermittelten Kurvenpunkte sehr gut mit den theoretischen Kurven überein. In einigen Fällen ergaben sich weniger gute Annäherungen. Häufig kann man dann jedoch zwischen zwei nebeneinander liegenden theoretischen Spektren interpolieren.

In Abb. 3 ist die Flächendichteverteilung für die unhomogenisierte Milchprobe aufgetragen, deren experimentelles Trübungsspektrum in Abb. 2 gezeigt wurde. Diese Kurve errechnet sich für eine Verteilung mit oberer Grenze mit den aus dem Kurvenabgleich ermittelten Parametern. Als charakteristische Größen erhält man $d_{vs} = 3,24 \mu\text{m}$, $c_s = 0,483$ und $d_{\max} = 8,0 \mu\text{m}$.

In Abb. 4 ist für die homogenisierte Milchprobe ebenfalls die Flächendichteverteilung aufgetragen. Sie wurde für eine Verteilung nach *Bezemer* und *Schwarz* mit den durch Kurvenabgleich gefundenen Parametern berechnet. Hierbei erhält man $d_{vs} = 0,427 \mu\text{m}$, $c_s = 0,734$ und $d_{\max} = 1,71 \mu\text{m}$. Wie man sieht, wird durch Homogenisieren die Verteilung in Richtung kleinerer Durchmesser verschoben. Die Breite der Verteilung wird zwar ebenfalls reduziert, aber die relative Standardabweichung c_s nimmt zu. Form und Verlauf der theoretischen Trübungsspektren werden im wesentlichen von der Größe c_s , der relativen Standardabweichung der Flächendichteverteilung, beeinflusst. Mit zunehmenden c_s -Werten nimmt die Höhe des

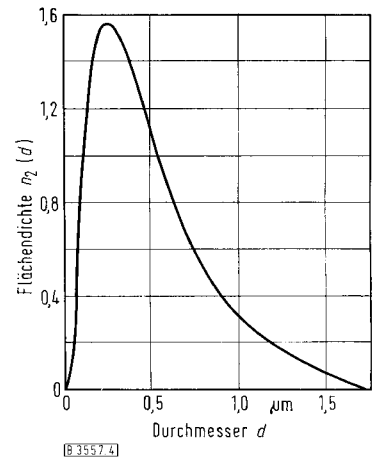


Abb. 4. Flächendichteverteilung für eine homogenisierte Milchprobe (Verteilung nach *Bezemer* und *Schwarz*). $d_{vs} = 0,427 \mu\text{m}$, $c_s = 0,734$, $d_{\max} = 1,71 \mu\text{m}$.

ersten Maximums der theoretischen Trübungsspektren ab. Für gleiche c_s -Werte ergeben Exponentialverteilungen, logarithmische Normalverteilungen, Verteilungen mit oberer Grenze für $y_{\max} = 5$ sowie Verteilungen nach *Bezemer* und *Schwarz* sehr ähnliche theoretische Kurven. Mit diesen Verteilungstypen lassen sich häufig Fettkügelchen-Größenverteilungen von mittel bis stark homogenisierten Milchproben annähern. Die Verteilungen nach *Djakovic* führen dagegen zu Trübungsspektren, die den Kurven der Verteilungen mit oberer Grenze für $y_{\max} = 1$ und $y_{\max} = 2$ gleichen. Diese Verteilungstypen ergeben besonders gute Näherungen bei Rohmilchproben und Proben, die nur schwach homogenisiert sind. Ein Vergleich von Ergebnissen der Trübungsmessung mit fluoreszenzmikroskopischen Zählungen zeigt besonders bei unhomogenisierten Proben eine gute Übereinstimmung. Bei mittel bis stark homogenisierten Proben ergibt die Trübungsmessung signifikant kleinere d_{vs} -Werte als die Fluoreszenzmikroskopie. Diese Abweichungen erklären sich aus einer ungenügenden Erfassung der Fettkügelchen unter $0,1 \mu\text{m}$ bei der fluoreszenzmikroskopischen Methode.

Zusammenfassung

Trotz komplizierter theoretischer Grundlagen ist die Durchlichttrübungsmessung eine schnelle, einfache und gut reproduzierbare Methode zur Bestimmung der Fettkügelchen-Größenverteilung von homogenisierter und un-homogenisierter Milch. Sie kann für d_{vs} -Werte zwischen $0,2 \mu\text{m}$ und $15 \mu\text{m}$ benutzt werden. Bei sehr feinen Emulsionen mit d_{vs} -Werten unter $0,2 \mu\text{m}$ (bei $m \approx 1,10$) versagt die Methode, da in diesem Bereich mehrere theoretische Trübungsspektren mit den experimentellen Kurven abgeglichen werden können, so daß eine genaue Bestimmung des d_{vs} -Wertes über die Verschiebung in Abszissen-Richtung nicht möglich ist. Bei sehr groben Emulsionen mit d_{vs} -Werten über $15 \mu\text{m}$ bereitet eine genaue Bestimmung der relativen Standardabweichung c_s Schwierigkeiten, da hier die theoretischen Trübungsspektren sehr nahe beieinander liegen. Außer für Milch ist die Methode auch bei fast allen anderen Öl-in-Wasser-Emulsionen anwendbar, die die Bedingungen der Theorien von *Mie* [38] erfüllen.

Eingegangen am 16. November 1972 [B 3557]

Literatur

- [1] *P. Becher*, Emulsions: Theory and Practice, Reinhold Publ. Co., New York 1965, S. 267/325.
- [2] *E. S. R. Gopal*, Sherman's Emulsion Science, Academic Press, London 1968, S. 2/72.
- [3] *P. Walstra*, J. Colloid Interface Sci. 27, 493/500 [1968].
- [4] *K. Leschonski*, Informationsdienst A.P.V. 12, 1/10 [1966].
- [5] *H. Rumpf, K. F. Ebert*, diese Zeitschr. 36, 523/37 [1964].
- [6] *P. Walstra*, Nederl. Melk- en Zuiveltijdschr. 23, 12/35 [1969].
- [7] *C. Rossi*, Gazz. chim. ital. 63, 190 [1933].
- [8] *A. Dobrowsky*, Kolloid-Z. 95, 286/96 [1941].
- [9] *H. A. Troesch*, diese Zeitschr. 26, 311 [1954].
- [10] *R. A. Mugele, H. D. Evans*, Ind. Engng. Chem. 43, 1317 [1951].

- [11] *A. N. Kolmogoroff*, Doklady Acad. Sci. URSS 31, 99 [1941].
- [12] *B. Epstein*, J. Franklin Inst. 244, 471 [1947].
- [13] *F. Kottler*, J. Franklin Inst. 250, 339 u. 419 [1950].
- [14] *G. Hilbig*, Wiss. Z. Hochschule f. Architektur u. Bauwesen 13, 589/92 [1966].
- [15] *E. S. R. Gopal*, Kolloid-Z. 162, Nr. 2, S. 85/92 [1959].
- [16] *R. R. Irani*, J. physic. Chem. 63, 1603/07 [1959].
- [17] *N. Schwarz, C. Bezemer*, Kolloid-Z. 146, Nr. 1/3, S. 139/151 [1956].
- [18] *L. Djakovic, P. Dokic, P. Radivojevic*, Kolloid-Z., Z. Polymere 244, 324/32 [1971].
- [19] *E. Rammler*, Z. Ver. dtsh. Ing., Beiheft Verfahrenstechn. Nr. 5, 151 [1940].
- [20] *M. L. Wallach, H. Heller, A. F. Stevenson*, J. chem. Physics 34, 1796 [1961].
- [21] *R. M. Dolby*, J. Dairy Res. 20, 201 [1953].
- [22] *A. van Krefeld*, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 61, 29 u. 41 [1942].
- [23] *M. Balatoni, G. Szabo*, Tejpári Kutatási Közl. 7, Nr. 1, S. 24 [1965].
- [24] *W. Paech*, Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 142, 47/55 [1970].
- [25] *N. King*, J. Dairy Res. 22, 205 [1955].
- [26] *F. Endter, H. Gebauer*, Optik 13, 97/101 [1956].
- [27] *W. Buchheim*, Milchwissenschaft 24, 6/11 [1969].
- [28] *G. Schönauer*, Kolloid-Z., Z. Polymere 233, 908/12 [1969].
- [29] *D. G. Cornell, M. J. Pallsch*, J. Dairy Sci. 49, 1371 [1969].
- [30] *P. Walstra, H. Oortwijn*, J. Colloid Interface Sci. 29, 424 [1969].
- [31] *E. A. Kernohan, E. E. Lephherd*, J. Dairy Res. 36, 177 [1969].
- [32] *M. Ruegg*, Milchwissenschaft 27, 220 [1972].
- [33] *J. D. S. Goulden*, Trans. Faraday Soc. 54, 941 [1958].
- [34] *J. D. S. Goulden, L. W. Phipps*, Int. Kongr. f. grenzflächenaktive Stoffe III, Sect. C, 190/194 [1960].
- [35] *G. Haugaard, J. D. Pettinati*, J. Dairy Sci. 42, 1255 [1959].
- [36] *P. Walstra*, Nederl. Melk- en Zuiveltijdschr. 19, 93/109 [1965].
- [37] *P. Walstra*, Brit. J. appl. Physics 15, 1545 [1964].
- [38] *G. Mie*, Ann. Phys. 25, 377 [1908].
- [39] *H. C. van de Hulst*, Light Scattering by Small Particles, John Wiley & Sons, London 1957.
- [40] *M. Kerker*, The Scattering of Light, Academic Press, New York 1969.