

# Analytik von Schafmilchprodukten als Beitrag zur Qualitätssicherung unter Berücksichtigung ausgewählter Aspekte des Lebensmittelrechts

Dirk Krowas, Dipl.Biol., MLUA Oranienburg e.V.



# *Milchwirtschaftliche Lehr- und Untersuchungsanstalt Oranienburg*

## **Standort Oranienburg**

- **ca. 346 Jahre Zentrum der Milchwirtschaft**

**1662 Aufbau einer Musterwirtschaft mit Milchviehhaltung und Milchverarbeitung unter Leitung der Kurfürstin Louise Henriette**

Milche

# Untersuchung von Milch- und Milcherzeugnissen im Rahmen des Verbraucherschutzes und der Qualitätssicherung



Molkerei

Handel/ Verbraucher

**nach DIN EN ISO 17025 akkreditiertes Labor** durch DAP Berlin  
und AKS Hannover

**mit > 500 akkreditierten Prüfverfahren**

**monatliche Güteprüfung nach Bundes-/ Landesrecht**

i. A. der Länder Brandenburg, Berlin, Sachsen-Anhalt, Sachsen

**Auftragsarbeiten aus Wirtschaft, DLG, CMA .... hinsichtlich:**

***Referenzanalytik***

***Verkehrsfähigkeitsbescheinigungen***

Produktzertifikate

Vergleichsuntersuchungen

**Eigenkontrolle (Krankheitserreger, Rückstände/ Kontaminanten)**

Identifizierungen

Ursachenaufklärung

# Seit 1988 DLG-Qualitätswettbewerbe für Schaf- und Ziegenkäse



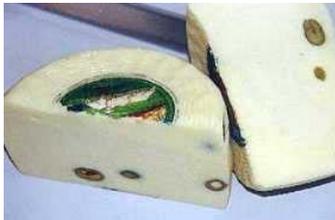
# Untersuchungstätigkeit



**Brandenburg**



**Sachsen**



## Mikrobiologische Untersuchungen











## Weiterbildung von Laborfachpersonal





# Aktuelles Milchrecht

## LMHygRecht sukzessiv neu geordnet:

- vertikal/produktspezifisch → horizontal/produktübergreifend
- EG-Richtlinien → EG-Verordnungen
- Herstellungsprozess → Ziel (sicheres LM)

# Übersicht über das Lebensmittelhygienerecht

VO(EG)	Ergänzende Rechtsgrundlagen	
	VO(EG)	national
<b>852/2004</b> Lebensmittelhygiene	<b>2074/2005</b> DVO zu den VO(EG) 852, 853 und 854/2004 <b>2076/2005</b> DVO zu den VO(EG) 853 und 854/2005	<b>VO zur Durchführung von Vorschriften des gemeinschaftlichen Lebensmittelhygienerechts vom 8.8.2007</b> „MantelVO“
<b>853/2004</b> Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs		
<b>854/2004</b> Amtliche Überwachung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs		<b>AVV Lebensmittelhygiene vom 12.9.2007</b>
<b>882/2004</b> Amtliche Kontrollen	<b>Leitlinien der EG-Kommission zu mikrobiologischen Kriterien</b> → Bewertung von mikrobiologischen Ergebnissen	
<b>2073/2005</b> Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel		

# Wärmebehandlungsverfahren nach EG- Milchhygienerecht: VO(EG) 853/2004

## Tierische Lebensmittel-Hygieneverordnung 2007 (Art.2 MantelVO)

<b>Kurzzeiterhitzung</b>	<b>mind. 72°C für 15 sec</b>	<b>Phosphatase negativ</b>
<b>Dauererhitzung</b>	<b>mind. 63°C für 30 min</b>	
<b>jede andere Zeit-Temperatur-Kombination mit gleicher Wirkung</b>		
<b>Ultrahoherhitzung</b>	<b>≥135°C bei geeigneter Heißhaltezeit</b>	<b>Mikrobiologischer Haltbarkeitstest</b>

## **Änderungen in den ProduktVO/ Art. 18, 20, 21, 22 MantelVO**

- **Aufhebung des Wärmebehandlungsgebotes in:**
  - MilcherzeugnisVO (Ausnahme: ungezuckerte Kondensmilch)**
  - KäseVO**
  - ButterVO (Ausnahme: Süßrahmbutter, mildgesäuerte Butter)**
  
- **Aufnahme der Wärmebehandlungsverfahren nach VO(EG)853/2004 in:**
  - MilcherzeugnisVO**
  - KäseVO**
  - ButterVO**
  - KonsummilchkennzeichnungsVO**

## **Wärmebehandlungsverfahren: Änderungen gegenüber MilchVO**

- **Peroxydase als Kontrollparameter für die „Art“ der Pasteurisierung ist weggefallen**
- **Hoherhitzung als anerkanntes Pasteurisierungsverfahren ist weggefallen**

## **Abgabe von Rohmilch an Verbraucher/ Art.2 MantelVO, §17**

- **anzeigepflichtig**
- **Abgabe im MEB unmittelbar an Verbraucher**
- **Rohmilchgewinnung und –behandlung im eigenen Betrieb**
- **Abgabe am Tag der Gewinnung bzw. vom Vortag**
- **„Rohmilch, vor dem Verzehr abkochen“**

## **Abgabe von Vorzugsmilch an Verbraucher/ Art. 2 MantelVO, §17**

- **genehmigungspflichtig**
- **Abgabe als FP an Verbraucher, ausgenommen Einrichtungen zur Gemeinschaftsverpflegung**
- **Verbrauchsdatum max. 96 Std. nach Gewinnung**
- **„Rohmilch/ aufbewahren bei höchstens +8°C“**
- **Anforderungen an den Tierbestand**
- **mikrobiologische Kriterien:**
- **Sensorik, Phosphatase positiv**

## Tierische Lebensmittel-Hygieneverordnung – Tier LMHV

### Anlage 9 Anforderungen an Vorzugsmilch

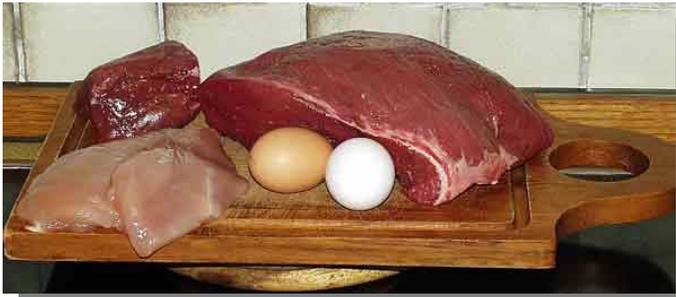
	m <sup>1)</sup>	M <sup>2)</sup>	n <sup>3)</sup>	c <sup>4)</sup>
1. Keimzahl/ml bei + 30 °C (Milch von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden)	20 000	50 000	5	2
2. Enterobacteriaceae/ml bei + 30 °C (Milch von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden)	10	100	5	2
3. Koagulase-positive Staphylokokken/ml (Milch von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden)	10	100	5	2
4. Anzahl somatischer Zellen/ml (Milch von Rindern und Schafen)	200 000	300 000	5	2
5. Salmonellen in 25 ml (Milch von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden)	0	0	5	0
6. Pathogene Mikroorganismen oder deren Toxine dürfen in der Milch von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit des Verbrauchers beeinträchtigen können.				
7. Hämolisierende Streptokokken dürfen in der Milch von Pferden bei einer monatlich durchzuführenden Kontrolle in 1 ml Milch nicht nachweisbar sein.				

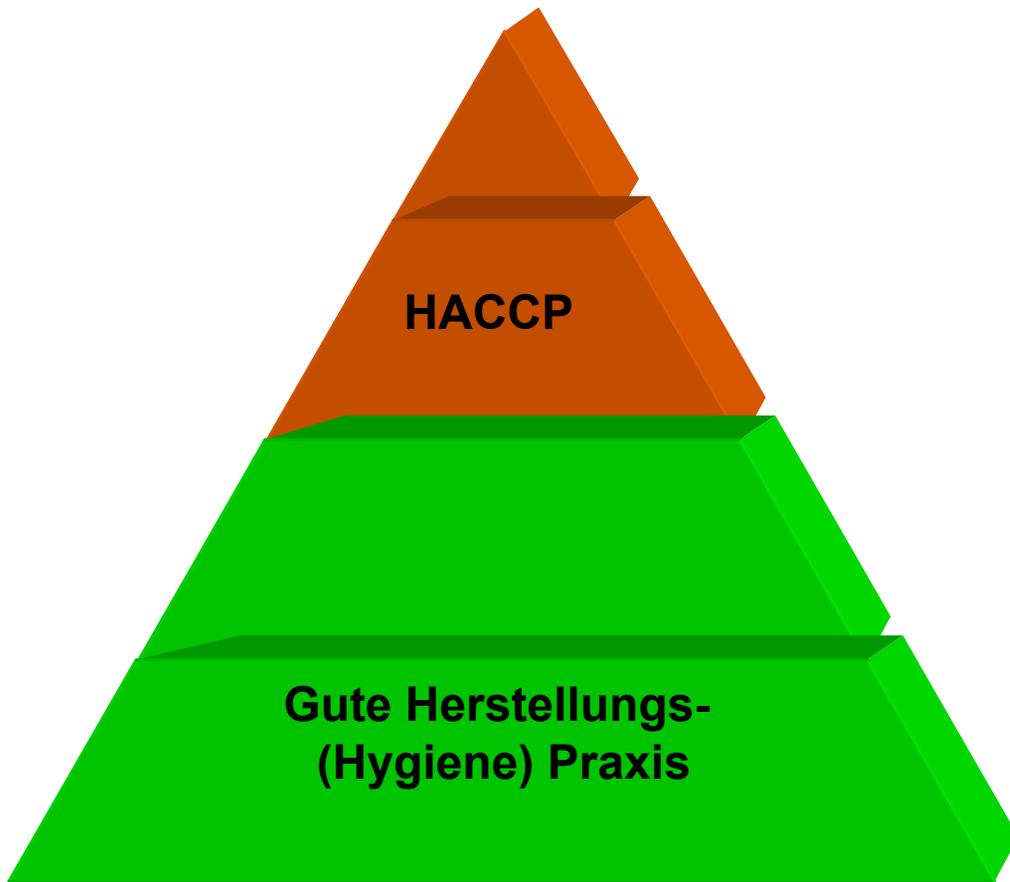
# Übersicht über das Lebensmittelhygienerecht

VO(EG)	Ergänzende Rechtsgrundlagen	
	VO(EG)	national
<b>852/2004</b> Lebensmittelhygiene	<b>2074/2005</b> DVO zu den VO(EG) 852, 853 und 854/2004 <b>2076/2005</b> DVO zu den VO(EG) 853 und 854/2005	<b>VO zur Durchführung von Vorschriften des gemeinschaftlichen Lebensmittelhygienerechts vom 8.8.2007</b> „MantelVO“
<b>853/2004</b> Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs		
<b>854/2004</b> Amtliche Überwachung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs		<b>AVV Lebensmittelhygiene vom 12.9.2007</b>
<b>882/2004</b> Amtliche Kontrollen	<b>Leitlinien der EG-Kommission zu mikrobiologischen Kriterien</b> → Bewertung von mikrobiologischen Ergebnissen	
<b>2073/2005</b> Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel		

**H**azard  
**A**nalyse  
**C**ritical  
**C**ontrol  
**P**oint

System, das dazu dient,  
bedeutende gesundheitliche Gefahren  
durch Lebensmittel zu identifizieren, zu  
bewerten und zu beherrschen  
(*Codex Alimentarius*)





- Personalhygiene
- Produktionshygiene
- Umfeldhygiene

# Verkehrsfähigkeitsprüfung von Milch und Milcherzeugnissen

## SCHNITTKÄSE

	obligatorisch		fakultativ nach Vereinbarung	
<b>Sensorik</b>	01	beschreibende Prüfung	F1	Verpackungsprüfung Nennfüllmenge
	02	bewertende Prüfung	F2	
<b>Mikrobiologie</b>	03	L. monocytogenes 25 g	F3	E. coli S.aureus/Toxingehalt
	04	Salmonella 25 g	F4	
<b>Chemie/physik</b>	05	Fett	F5	Tierartendifferenzierung Rückstände/Kontaminanten Fremdfett
	06	Trockenmasse	F6	
	07	Fett i. Tr.; berechnet	F7	
	08	Natamycin		
	09	Nitrat		
			F6	u. a.

# **Kernaussage der VO (EG) Nr. 2073/2005**

**(2) Lebensmittel sollten keine Mikroorganismen  
oder  
deren Toxine oder Metaboliten in Mengen  
enthalten,  
die ein für die menschliche Gesundheit  
annehmbares  
Risiko darstellen.**

# Lebensmittelsicherheitskriterium

## Artikel 2

ein Kriterium, mit dem die Akzeptabilität eines Erzeugnisses oder einer Partie Lebensmittel festgelegt wird und das für im Handel befindliche Erzeugnisse gilt.

Lebensmittelkategorie	Mikroorganismen	Probenahmeplan (*)		Grenzwerte (*)		Analytische Referenzmethode (*)	Stufe, für die das Kriterium gilt	Maßnahmen im Fall unbefriedigender Ergebnisse
		n	c	m	M			
2.2.1. Pasteurisierte Milch und sonstige pasteurisierte flüssige Milchserumergüsse (*)	Enterobacteriaceae	5	2	<1 KBE/ml	5 KBE/ml	ISO 21528-1	Ende des Herstellungsprozesses	Kontrolle der Wirksamkeit der Wärmebehandlung und Verhinderung der erneuten Kontamination sowie Kontrolle der Rohstoffqualität
2.2.2. Käse aus Milch oder Molke, die einer Wärmebehandlung unterzogen wurden	E. coli (*)	5	2	100 KBE/g	1 000 KBE/g	ISO 16649-1 oder 2	Zu einem Zeitpunkt während der Herstellung, zu dem der höchste E. coli-Gehalt erwartet wird (*)	Verbesserungen in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe
2.2.3. Käse aus Rohmilch	Koagulasepositive Staphylokokken	5	2	10 <sup>4</sup> KBE/g	10 <sup>7</sup> KBE/g	EN/ISO 6888-2	Zu einem Zeitpunkt während der Herstellung, zu dem der höchste Staphylokokkengehalt erwartet wird	Verbesserungen in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe Sofort Werte > 10 <sup>7</sup> KBE/g nachgewiesen werden, ist die Partie Käse auf Staphylokokken-Enterotoxine zu untersuchen.
2.2.4. Käse aus Milch, die einer Wärmebehandlung unterhalb der Pasteurisierungstemperatur unterzogen wurde (*), und gereifter Käse aus Milch oder Molke, die pasteurisiert oder einer Wärmebehandlung über der Pasteurisierungstemperatur unterzogen wurde (*)	Koagulasepositive Staphylokokken	5	2	100 KBE/g	1 000 KBE/g	EN/ISO 6888-1 oder 2		
2.2.5. Nicht gereifter Weichkäse (Friskäse) aus Milch oder Molke, die pasteurisiert oder einer Wärmebehandlung über der Pasteurisierungstemperatur unterzogen wurden (*)	Koagulasepositive Staphylokokken	5	2	10 KBE/g	100 KBE/g	EN/ISO 6888-1 oder 2	Ende des Herstellungsprozesses	Verbesserungen in der Herstellungshygiene. Sofern Werte > 10 <sup>4</sup> KBE/g nachgewiesen werden, ist die Partie auf Staphylokokken-Enterotoxine zu untersuchen.
2.2.6. Butter und Sahne aus Rohmilch oder Milch, die einer Wärmebehandlung unterhalb der Pasteurisierungstemperatur unterzogen wurde	E. coli (*)	5	2	10 KBE/g	100 KBE/g	ISO 16649-1 oder 2	Ende des Herstellungsprozesses	Verbesserungen in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe

# Prozesshygienekriterium

## Artikel 2

ein Kriterium, das die akzeptable Funktionsweise des Herstellungsprozesses angibt. Ein solches Kriterium gilt nicht für im Handel befindliche Erzeugnisse...

## Untersuchungen Nach VO 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

### ◆ Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen

- **unsichere LM (LM-Sicherheitskriterien nicht erfüllt) dürfen nicht vermarktet werden**
- **inakzeptable Prozesshygienekriterien erfordern Maßnahmen (Kontrolle der Rohstoffe, Umfeldhygiene, Temperatur und Haltbarkeitsdauer)**

## ***Nachweis von Listeria monocytogenes***



*(z.B. in Käse „anwesend in 25g“)*

## Mögliche Ursachen

- **weit verbreiteter Keim → Krankheitserreger**
- **anspruchloser Keim mit hoher Toleranz gegenüber Temperatur, Salz, Desinfektionsmittelwirkstoffen**
- **Kontamination im Herstellungsprozess durch unzureichende Basishygiene**
- **Kreuzkontaminationen, Verschleppung insbesondere in der Käseproduktion**

# Handlungsbedarf

- **LM-Sicherheitskriterium nach VO (EG) 2073/ 2005**  
**unsicheres Lebensmittel → keine Vermarktung**
- **Nachkontrollen weiterer Chargen zur Abschätzung des Ausmaßes**
- **angeraten sind Stufenkontrollen sensibler Bereiche der Produktion und Basishygiene:**  
**Salzbad, Schmierwasser, Gully, Utensilien zur Käsepflege usw.**
- **Reinigung und Desinfektion**

## ***Koagulasepositive Staphylokokken***



*(z. B. Speisequark aus past. Milch mit >100kbE/g)*

## Mögliche Ursachen

- ausgerichtet auf Hauptvertreter *Staphylococcus aureus* → Toxinbildner
- salztolerantes Bakterium, gehört zur Hautflora von Menschen und Tieren → **unzureichende Personalhygiene** (z.B. infizierte Wunden)



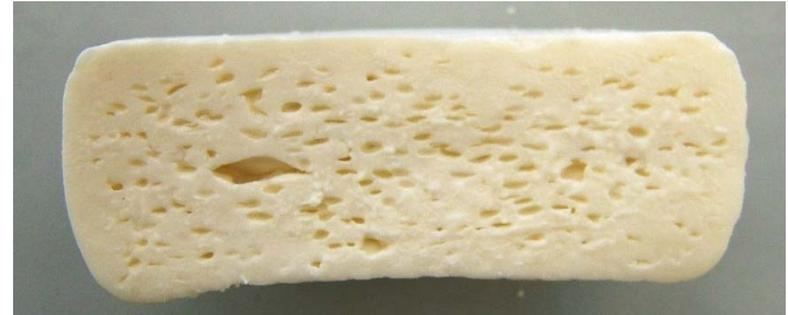


# Handlungsbedarf

- **Prozesshygienekriterium nach VO (EG) 2073/ 2005**  
**bei Überschreitung der Keimzahl von  $10^5$  kbE/g bzw. ml Prüfung auf Enterotoxine (LM-Sicherheitskriterium)**
- **Überprüfung der Personalhygiene und Beseitigung entsprechender Mängel**
- **Salzlake als mikrobiologische Kontaminationsquelle berücksichtigen**  
**(Neuansatz, Erhitzung , Überwachung von Salzgehalt und pH)**
- **Überprüfung der Tiergesundheit (Mastitis)**



## *Enterobacteriaceae*



## Mögliche Ursachen

- **Anzeiger für mangelnde Hygiene (Schmutzkeime), werden stets bei ordnungsgemäßer Pasteurisierung abgetötet → **Rekontaminanten****
- **Anzahl und Artenreichtum nehmen mit steigenden hygienischen Mängeln zu**
- **mangelhafte Gerätereinigung**
- **Kondenswasser von Leitungen, von Wänden und aus Hohlräumen**

# Handlungsbedarf

- **Prozesshygienekriterium nach VO (EG) 2073/ 2005**
- **Überprüfung der Kühlkette, evt. zu hohe Lagerungstemp./ Lagerdauer**
- **bei gesäuerten Produkten → Störung der Säuerung (Phagenbefall, verunreinigte Kultur)**
- **Reinigung und Desinfektion von Geräten, Räumlichkeiten**
- **Überprüfung der Wasserqualität (insbesondere im Bereich der Hausinstallation)**

## Mikrobiologische Anforderungen für Trinkwasser nach der TrinkwV 2001



### Routineuntersuchung:

**Escherichia coli:** negativ in 100 ml (Grenzwert)

**Coliforme Keime:** negativ in 100 ml (Grenzwert)

**Koloniezahl (22°C/72h):** Ohne anormale Änderung (Grenzwert)

#### Bei Verwendung der bisherigen Methodik:

maximal 20 in 1 ml bei desinfiziertem Wasser (Grenzwert)

maximal 100 in 1 ml bei üblichem Trinkwasser (Grenzwert)

maximal 1000 in 1 ml bei privaten Einzelwasserversorgungen  
unter 1000 m<sup>3</sup> Entnahme pro Jahr (Grenzwert)

**Koloniezahl (36°C/44h):** Ohne anormale Änderung (Grenzwert)

#### Bei Verwendung der bisherigen Methodik:

maximal 100 in 1 ml (Grenzwert)

### Periodische Untersuchung:

**Enterokokken:** negativ in 100 ml (Grenzwert)

## Schlussfolgerungen aufgrund der mikrobiologischen Untersuchung auf Indikatorkeime nach der TrinkwV 2001

<i>Escherichia coli</i> (Grenzwert)	frische Wasserverunreinigung mit Warmblüterfäkalien; Krankheitserreger sind möglicherweise vorhanden
Coliforme Keime (Grenzwert)	länger zurückliegende Verunreinigung mit Warmblüterfäkalien; allgemeiner Hinweis auf Verunreinigbarkeit
Enterokokken (Grenzwert)	Bestätigung und Hinweis für eine fäkale Verunreinigung (vermehrt bei Tieren) (aber auch Wachstum in organischem Material!)
<i>Clostridium perfringens</i> (Grenzwert)	möglicherweise länger zurückliegende fäkale Verunreinigung; Nachweis auch im desinfizierten Wasser möglich; Hinweis auf Einzeller-Dauerformen (?)
Koloniezahlwerte bei 22°C und 36°C (Keine anormale Änderung!) (Grenzwerte bei Untersuchung nach TrinkwV a. F.)	Beeinflussung durch Oberflächenwasser oder durch die obere Bodenschicht; Stagnationswasser; Rohrnetzverkeimung; Korrosion



# MLUA Projekte



## *Projektbeispiele:*

Hitzeindikatoren Wärmebehandlung Milch  
Rückstandsmonitoring  
QS Direktvermarktung  
Analytik Probiotika  
Methodenentwicklung/-etablierung



# MLUA Projekte



**Untersuchung von Schaf-, Ziegen- und Büffelmilch und daraus hergestellter Erzeugnisse unter dem Aspekt des neuen EU-Hygienerichts**

## Anforderungen an Rohmilch hinsichtlich der Keimzahl bei 30°C nach VO (EG) 853/ 2004 (Anhang III Abschnitt IX)

	<b>Kuhmilch</b>	<b>Milch anderer Tierarten</b>
Keimzahl bei 30°C (pro ml) <sup>[1]</sup>	$\leq 1,0 \times 10^5$	$\leq 1,5 \times 10^6$
<b><i>zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen</i></b>	$\leq 1,0 \times 10^5$	$\leq 5,0 \times 10^5$

---

[1] als geometrisches Mittel über 2 Monate bei mindestens 2 Probenahmen im Monat

## Hemmstoffsuchtests bzw. Gruppen-/Substanz-spezifischer Tests zum Auffinden von Hemmstoffen und Antibiotikarückständen

**BRT-MRL**

**BR-Test „AS-special“**

**Delvotest SP**

**SNAP-Test**

**Beta-Star**





## Hemmstoffe?

Substanzen, die in der Milch vorkommen  
und das Wachstum von Mikroorganismen  
hemmen oder diese abtöten können

# Hemmstoffe?

- ▶ Tierarzneimittel
- ▶ Originäre Hemmstoffe (Immunglobuline, Lactoferrin, Lactoperoxidasesystem, u.a.)
- ▶ Futterinhaltsstoffe (Senfölglycoside, Zwiebelgewächse, verschimmeltes Grünfutter, u.a.)
- ▶ Reinigungs- und Desinfektionsmittel

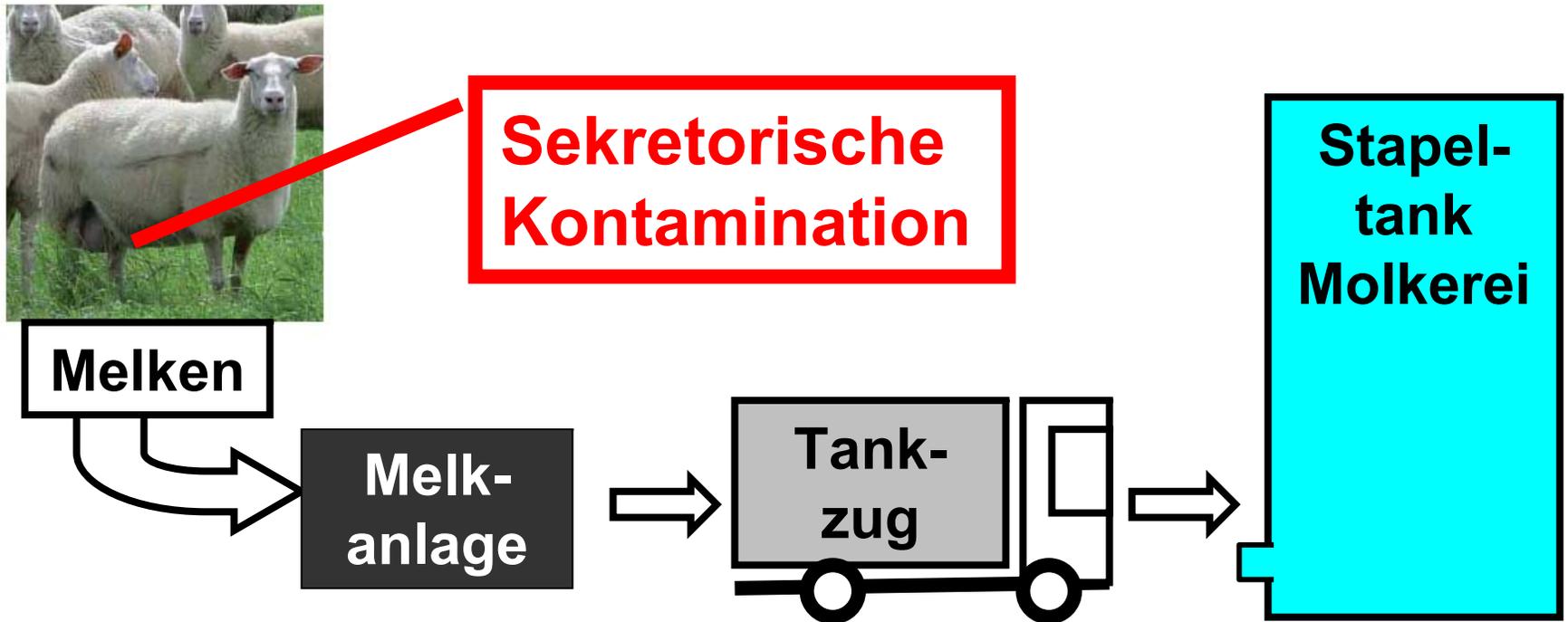
# Antiinfektiva?

- ▶ Substanzen zur Therapie von Infektionen

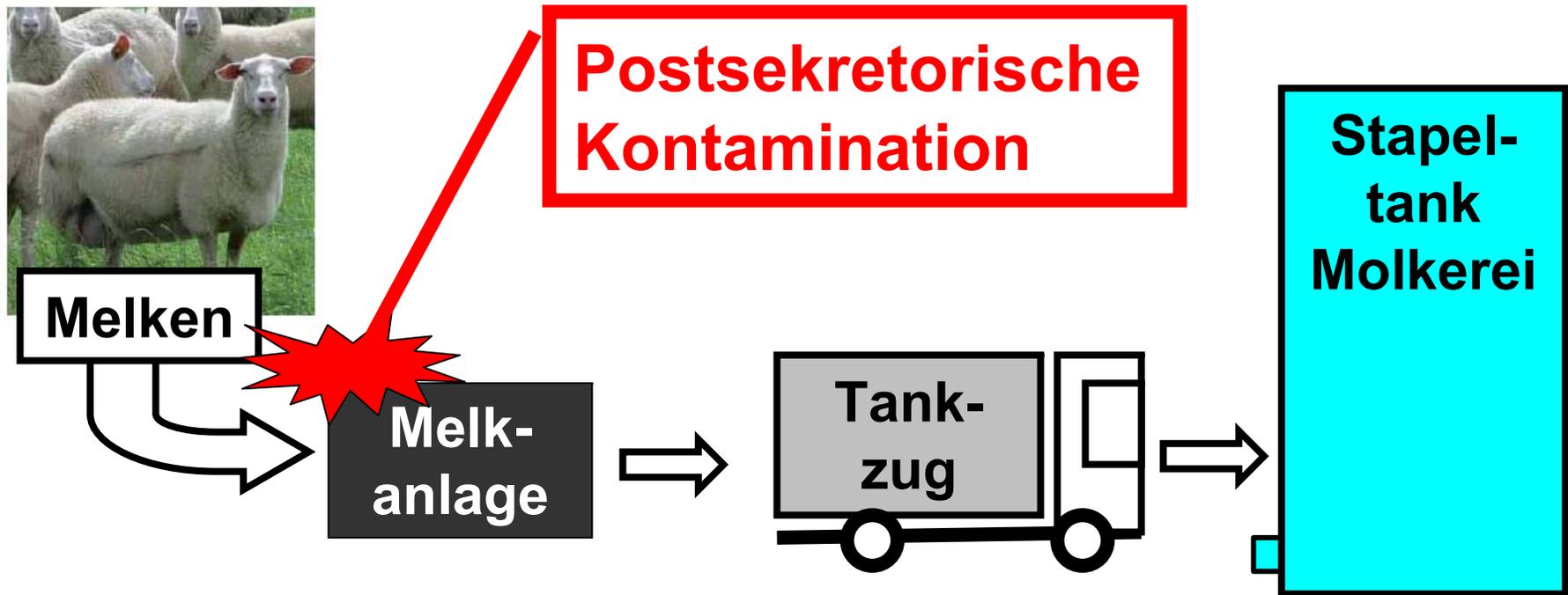
## Dazu gehören:

- ▶ Antibiotika
- ▶ Sulfonamide
- ▶ Chemotherapeutika

## Wie kommen die Hemmstoffe in die Milch?



# Wie kommen die Hemmstoffe in die Milch?



## Postsekretorische Kontaminationen?

- Verschleppung durch Melkpersonal (Vertretung, Unachtsamkeit usw.)  
z.B. Spülfehler, Melkreihenfolge, Filter kontaminiert
- Verschleppung durch Melkmaschine
- sonstige



## Nachweisempfindlichkeiten gegenüber ausgewählten Antiinfektiva in µg/kg

Substanz	BRT- Hemmstofftest	BRT-MRL- Suchtest	MRL (2377/90ff EWG)
<b>Penicilline</b>			
Amoxicillin	2-3	2-3	4
Ampicillin	2-3	2-3	4
Benzylpenicillin	2-3	1-2	4
Cloxacillin	20-30	10-20	30
Dicloxacillin	10-20	10-20	30
Nafcillin	10-15	10-15	30
Oxacillin	10-20	5-10	30

## Nachweisempfindlichkeiten gegenüber ausgewählten Antiinfektiva in µg/kg

Substanz	BRT- Hemmstofftest	BRT-MRL- Suchtest	MRL (2377/90ff EWG)
<b>Makrolide</b>			
Erytromycin	30-60	25-40	40
Spiramycin	200-500	150-200	200
Tylosin	20-50	20-50	50
<b>Sulfonamide</b>			
Sulfadimidin	500-750	250-500	100
Sulfathiazol	200-300	50-100	100

## Hemmstoffsuchtests bzw. Gruppen-/Substanz-spezifischer Tests zum Auffinden von Hemmstoffen und Antibiotikarückständen

**BRT-MRL**

**BR-Test „AS-special“**

**Delvotest SP**

**SNAP-Test**

**Beta-Star**



# Schutz des Verbrauchers vor Täuschung und Irreführung

(§11 LFGB/ Artikel 8 VO (EG) 178/2002)

## § 11 (LFGB) Vorschriften zum Schutz vor Täuschung

(1) Es ist verboten, Lebensmittel unter irreführender Bezeichnung, Angabe oder Aufmachung gewerbsmäßig in den Verkehr zu bringen oder für Lebensmittel allgemein oder im Einzelfall mit irreführenden Darstellungen oder sonstigen Aussagen zu werben.

Eine **Irreführung** liegt insbesondere dann vor, wenn

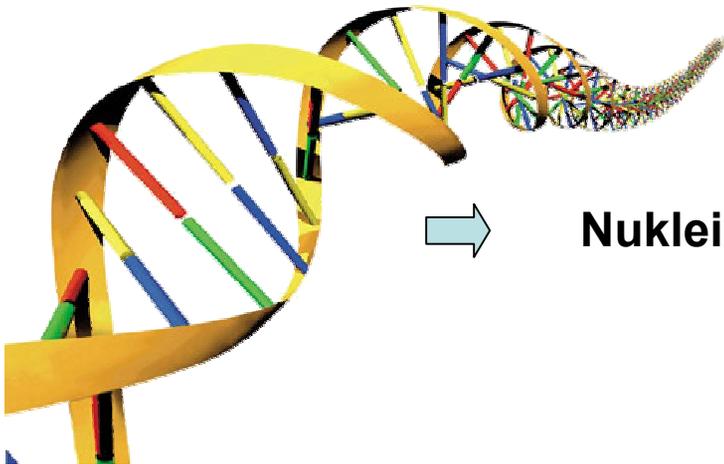
1. bei einem Lebensmittel zur Täuschung **geeignete Bezeichnungen, Angaben, Aufmachungen**, Darstellungen oder sonstige Aussagen über Eigenschaften, insbesondere über **Art, Beschaffenheit, Zusammensetzung, Menge, Haltbarkeit, Ursprung, Herkunft oder Art der Herstellung oder Gewinnung** verwendet werden, .....



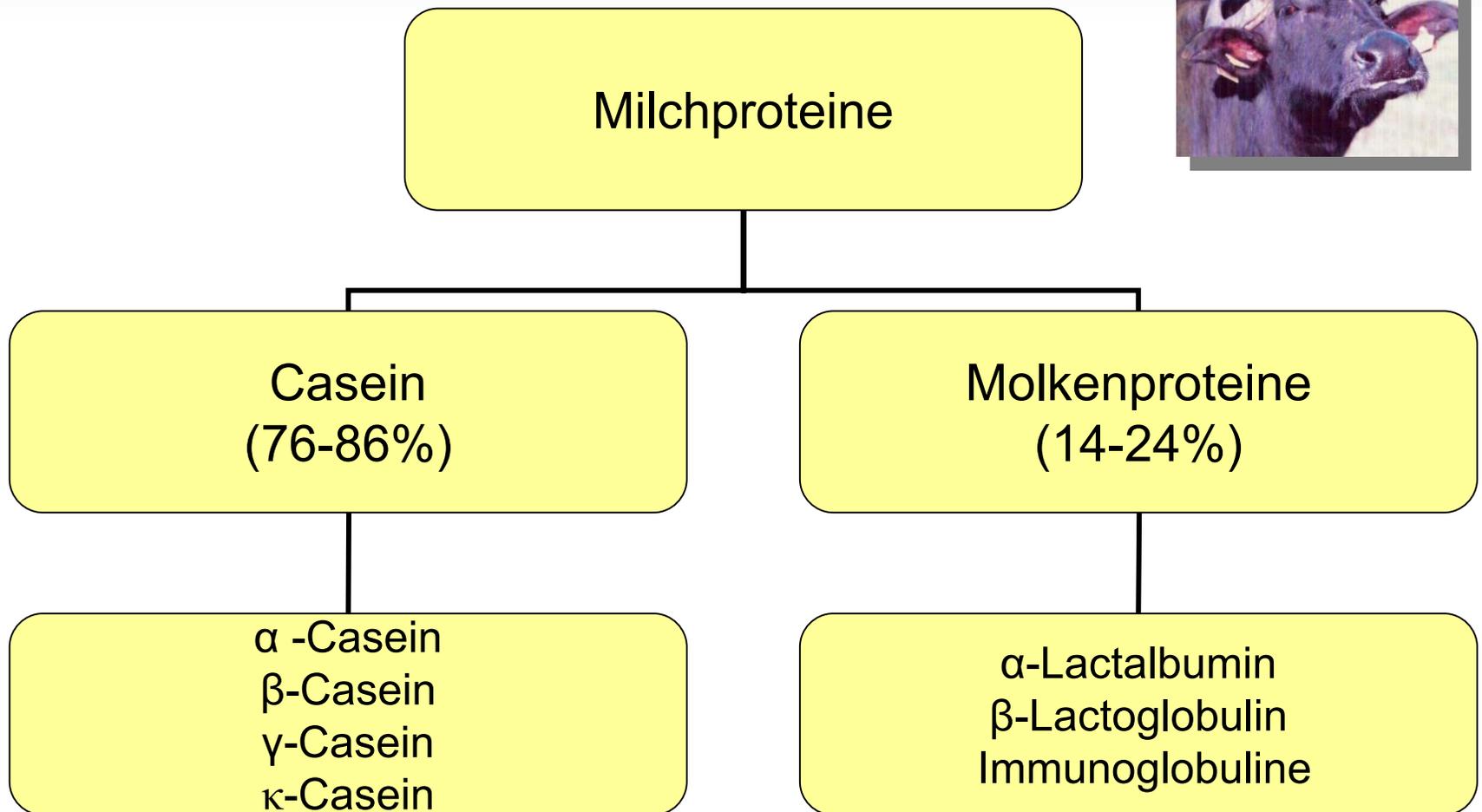
# Überblick über Verfahren zur Tierartendifferenzierung In Milch und Milchprodukten



**Proteinanalytische Verfahren**



**Nukleinsäureanalytische Verfahren**

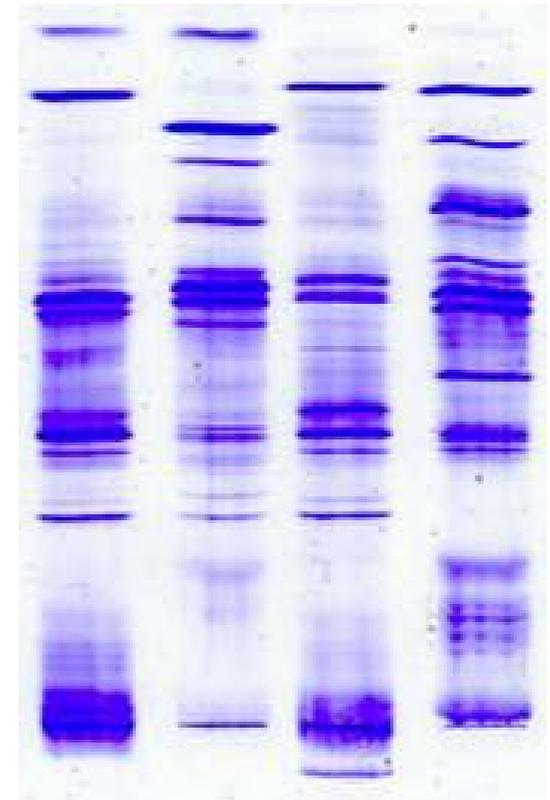
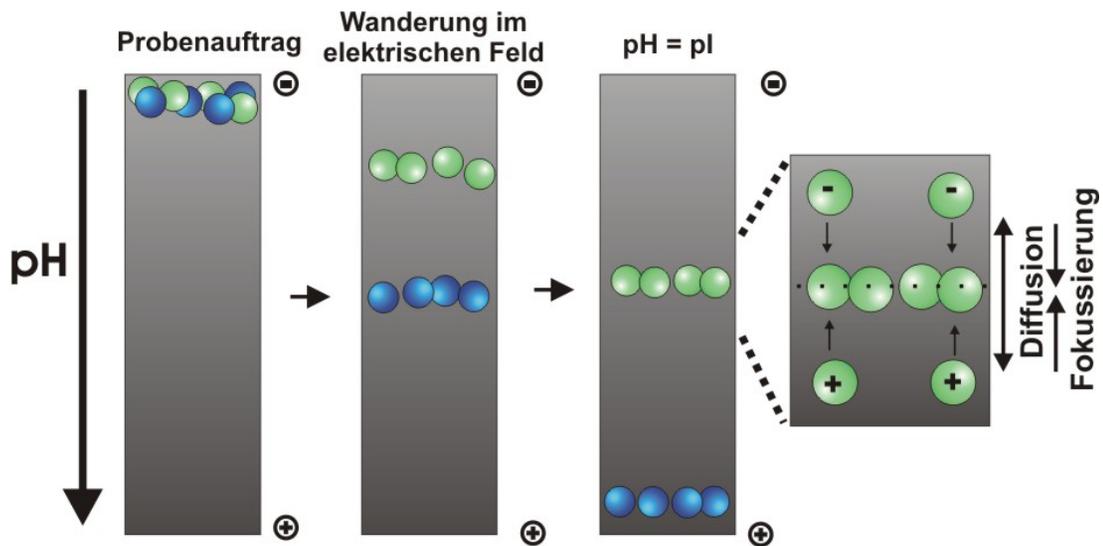


## Elektrophoretische Verfahren

### Isoelektrische Fokussierung (IEF)

→ EU-Referenzverfahren nach VO (EG) 213/2001

→ Analoges Verfahren §64 LFGB L01.00-39





## ***Elektrophoretische Verfahren***

- **para-κ- Casein**  
**α1, α2-Casein**  
**β-Casein** (Auftrennung der γ-Caseine nach Plasminbehandlung)  
**Molkenproteine (β-Lactoglobulin, α-Lactalbumin)**
  
- **aufwendige Probenvorbereitung und Analyse,**  
**setzt große Erfahrungen des Analytikers voraus**
  
- **Abbau des β-Caseins während der Reifung→**  
**Verschiebung der Nachweisgrenze durch**  
**interferierende Peptide;**  
**weniger sensitiv in komplexen Matrices oder in**  
**erhitzten Milcherzeugnissen**

### **Nachweisgrenze**

**qualitativ: 0.5% bis 1% (Milch), 1% (Käse)**

**quantitativ: >2%**



## **Immunologische Verfahren**

### **ELISA**

enzymgekoppelter Immunadsorptionstest

- **Verwendung von Antikörpern gegen  
β-Casein,  
Molkenproteine (β-Lactoglobulin),  
Immunglobuline (IgG, IgE)**
  
- **schnelles Verfahren, einfaches Handling,  
Automatisierung möglich**
  
- **häufig Kreuzreaktionen zwischen verwandtschaftlich eng  
benachbarten Tierarten (Rind/ Büffel);  
keine Detektion in UHT-Milch/ Milcherzeugnissen,  
rekonstituierter Milch oder Trockenmilch**

#### **Nachweisgrenze**

**qualitativ: 0.5% bis 1% (Milch), 1% (Käse)**

**quantitativ: >1- 2%**



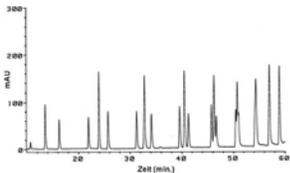
# Chromatographische Verfahren

## Flüssigkeitschromatographie (RP- HPLC)

## Gaschromatographie (GC)

- para-κ- Casein, α<sub>1</sub>-Casein  
 Molkenproteine (β-Lactoglobulin, α-Lactalbumin)

- Fettsäurezusammensetzung



- hoher apparativer Aufwand  
 teilweise Automatisierung möglich

- gute Möglichkeiten der Quantifizierung;  
 weniger sensitiv in komplexen Matrices oder in erhitzten Milcherzeugnissen

- kaum praktische Relevanz,  
 Literaturdaten bisher nur für Rohmilchuntersuchungen

**Nachweisgrenze qualitativ:**

1% (Milch), 2% (Hartkäse)  
 1-3% (Molke)

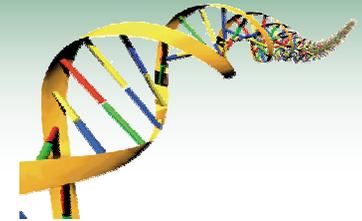
1% (Rohmilch)

**quantitativ:**

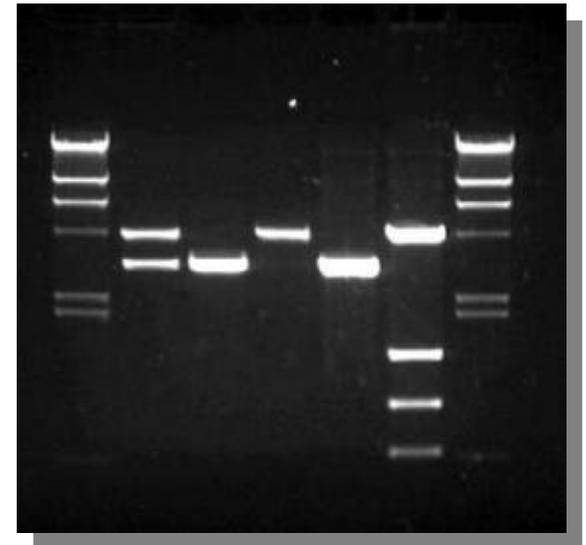
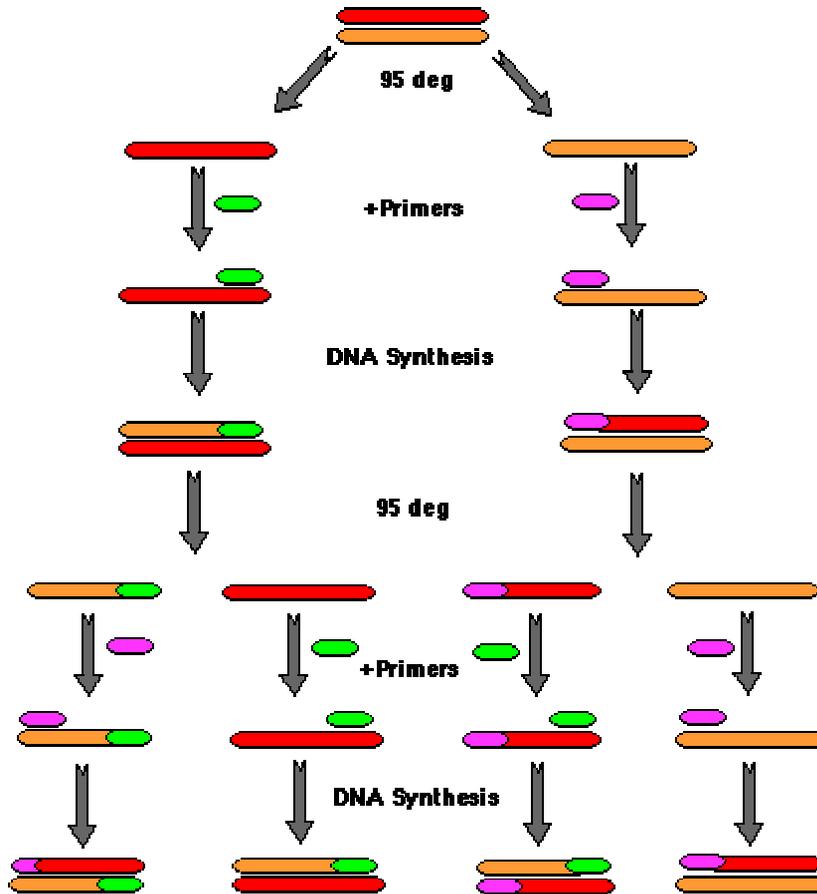
keine Angabe

5% (Rohmilch)

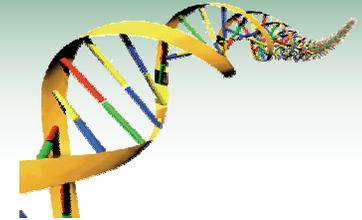
# Molekularbiologische Verfahren



## Polymerasekettenreaktion (PCR)



# Molekularbiologische Verfahren

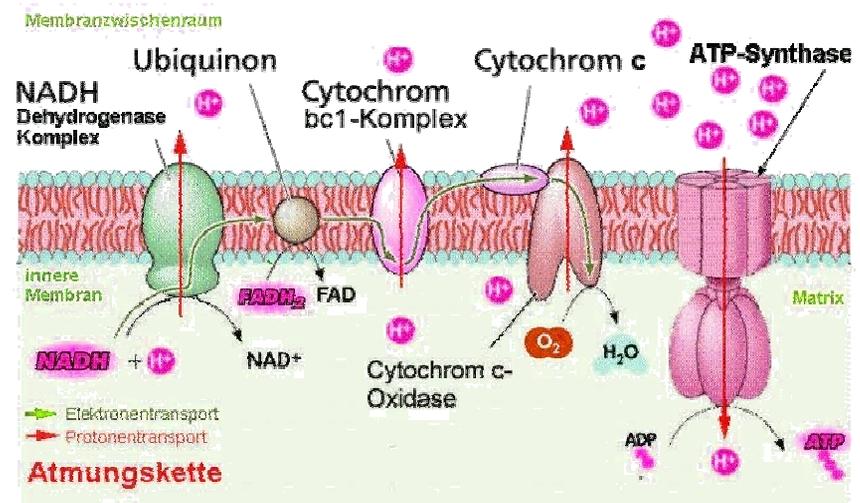
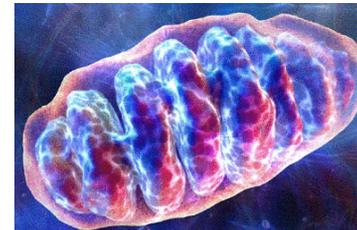


## Molekulare Marker:

➤ **Cytochrom (cyt) b  
Cytochromoxidase  
(subunit I)**



➤ **ribosomale RNA (12S rRNA)**



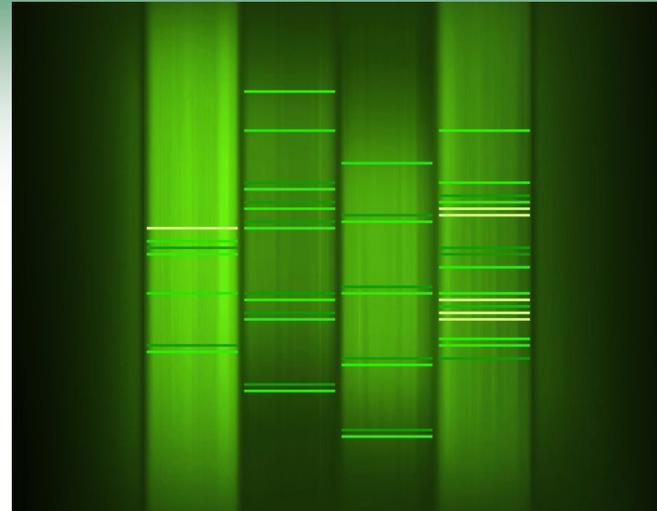
# PCR- Verfahren



sehr schnelle Analyse,  
einfaches Handling,  
Automatisierung möglich



hohe Sequenzhomologien zwischen verwandtschaftlich eng  
benachbarten Tierarten (Rind/ Büffel) → Auswahl geeigneter  
Primersysteme;  
vorrangig für qualitative Analysen;  
Ergebnisverfälschungen durch DNA-Kontaminationen



**Nachweisgrenze**  
qualitativ:

0,1% bis 0,5% (Milch), 1% (Käse)

quantitativ:

>5 - 10%

## **Mögliche Ursachen von Rindanteilen**

### **Technologisch bedingte Verschleppung von Kuhmilch**

u. a. Einsatz von Zusatz- und Hilfsstoffen

#### **Fazit:**

**Ohne Kenntnis der jeweiligen betrieblichen Produktionssituation sind Ursachen im Einzelfall für den Eintrag rindspezifischer DNA-Sequenzen in die Produkte kaum eindeutig zu benennen!**

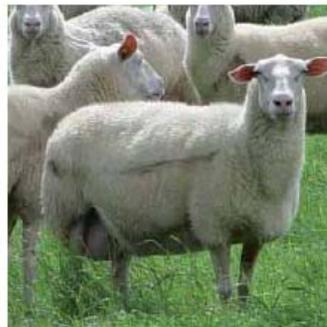
## Experimentelle Arbeiten der MLUA Oranienburg

### Ermittlung von ernährungsphysiologischen Daten

- zum Protein und den einzelnen Proteingroßfraktionen
- zum Fett und der Fettsäurezusammensetzung
- Gehalt an Laktose, Cholesterol und Calcium
- Ermittlung des pH-Wertes und des Gefrierpunktes zur Beurteilung der Frische bzw. der Verwässerung

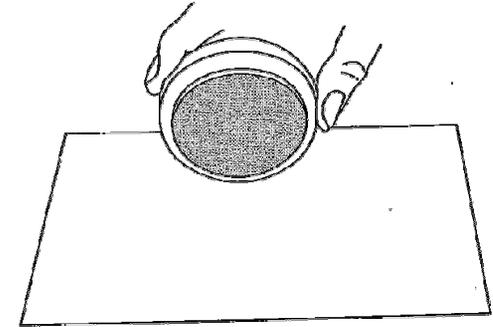
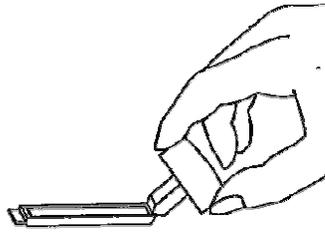
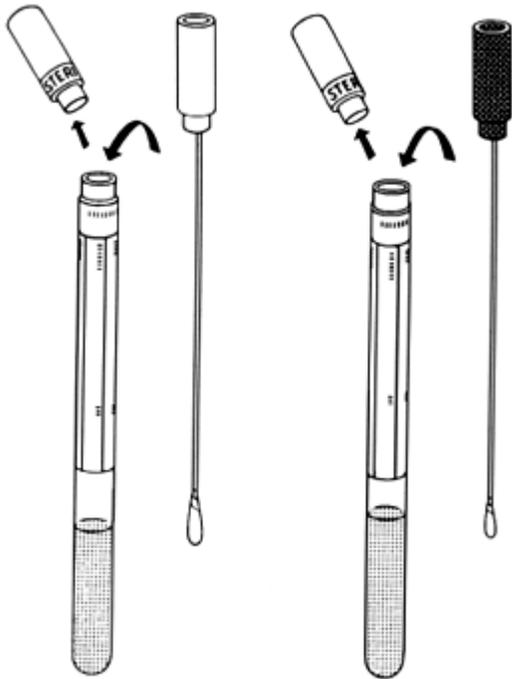
## Präzisionsparameter Wiederholbarkeit (r)

Methode	Wiederholbarkeit (r) an Kuhmilch bestimmt	Einhaltung von r für Ziegenmilch in %	Einhaltung von r für Schafmilch in %	Einhaltung von r für Büffelmilch in %
pH-Wert	0,02	100	100	100
Stickstoffgehalt	0,006 %	95	94	83
NPN-Gehalt	0,005 %	100	100	100
NCN-Gehalt	0,006 %	100	100	100
Fettgehalt	0,02 %	95	88	83
Laktosegehalt	5 % des Mittelwerts	95	100	100
Gefrierpunkt	0,004°C	100	94	100



Parameter	Ziegenmilch	Schafmilch	Büffelmilch	Kuhmilch
Rohprotein in %	2,92 ± 0,20	5,04 ± 0,47	4,80 ± 0,03	3,3
Nichtproteinstickstoff in %	0,042 ± 0,001	0,047 ± 0,010	0,029 ± 0,001	0,030
Caseinanteil in %	82,8 ± 1,4	81,9 ± 2,6	84,2 ± 0,2	80
Molkenproteinanteil in %	17,2 ± 1,4	18,1 ± 2,6	15,8 ± 0,2	20
Fettgehalt in %	2,91 ± 0,52	5,04 ± 0,84	7,65 ± 0,45	4
Kurz- und mittelkettige gesättigte Fettsäuren in %	21,2 ± 2,7	19,1 ± 3,8	18,0 ± 0,6	15,1 ± 0,4
Caprylsäure (C8) in %	2,7 ± 0,4	2,2 ± 0,5	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Caprinsäure(C10) in %	8,6 ± 1,3	6,4 ± 1,8	3,3 ± 0,1	3,1 ± 0,1
Langkettige gesättigte Fettsäuren in %	49,1 ± 2,9	49,1 ± 3,9	58,7 ± 0,6	54,2 ± 0,9
Einfach gesättigte Fettsäuren in %	24,2 ± 2,7	24,5 ± 3,2	20,1 ± 0,5	24,6 ± 0,9
Mehrfach ungesättigte Fettsäuren in %	3,2 ± 0,9	3,8 ± 0,7	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3
trans-Fettsäuren in %	2,3 ± 0,9	3,5 ± 0,7	1,4 ± 0,3	2,5 ± 0,3
Cholesterol in mg/100g	10,9 ± 1,1	16,6 ± 4,2	21,6 ± 0,9	11
Laktose Monohydrat in %	4,35 ± 0,23	4,78 ± 0,24	4,75 ± 0,13	4,7
Calcium in mg/100g	107 ± 12	156 ± 21	188 ± 38	120

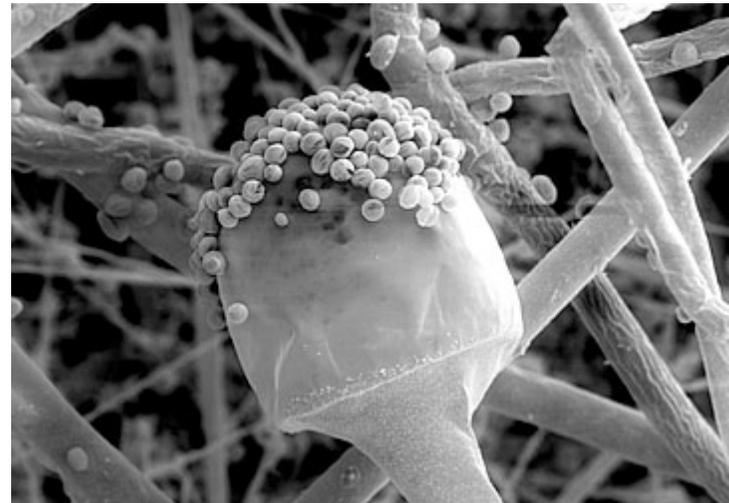
# www.mlua.de

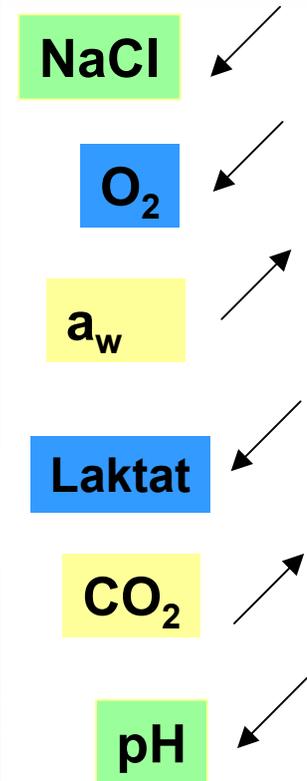
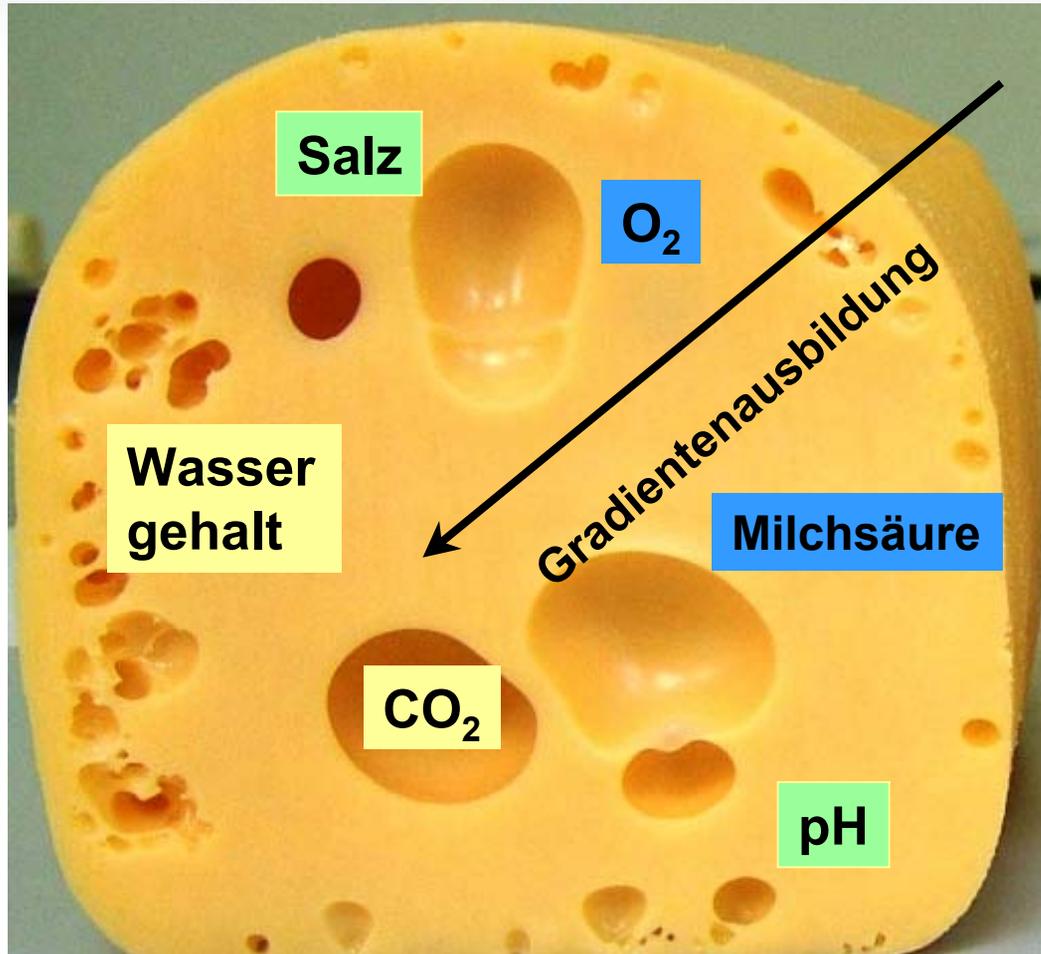




***Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!***

- **Jede Probe ist mikrobiologisch ein „Unikat“**





# Verteilung von Mikroorganismen „nesterweise“

Je geringer eine mikrobiologische Gesamtbelastung einer Matrix ist, um so höher ist der Aufwand für eine realistische Schätzung der Keimbelastung

