

					0 0 0	0 0 .. 2 ' 1 0 0 ' 0 0 0		0 0 .. 4' 5 0 0' 0 0 0	
AP past [mU/l]	22 0	900..7'3 55				2 5 .. 2 1 1 0		2 0 0 .. 4' 4 0 0	
AP in wäss- riger Pha- se [%]		91..96	90. .95		7 0				

Im Nischenbereich werden auch Milch und Milchprodukte von Stuten, Esel und Kamel auf den Markt gebracht, bzw. es laufen Anträge dazu. Die Eigenschaften und Verteilung der AP zwischen Fett- und wässriger Phase unterscheiden sich gegenüber Kuhmilch. Bei Kamelmilch ist die Erhitzung auch eine Massnahme zur Verhinderung der Übertragung von Maul- und Klauenseuche und Q-Fieber. Die AP-Aktivität in roher Kamelmilch ist zwar tief aber nach der Pasteurisation immer noch über mindestens 900 mU/l, deshalb ist der Grenzwert von 350 mU/l ungeeignet. Für die AP-Inaktivierung aus Stutenmilch wurden D- und Z-Werte berechnet. Es zeigte sich, dass AP-Aktivität in dieser Milch kein brauchbares Kriterium für die Pasteurisation ist, wegen einer tiefen Ausgangsaktivität und der zu empfindlichen Inaktivierungskinetik. Bei Eselmilch kann der Grenzwert verwendet werden. Durch die Hitzebehandlung sinkt die AP-Aktivität von 16500 auf ca. 250 mU/l.

IIDF/ISO Methoden zur Bestimmung von Lysozym in Käse“

Thomas Berger, Ueli Bütikofer, Reto Portmann (Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP)

Lysozym ist ein Enzym, das in verschiedenen Organismen vorkommt und sie gegen bakterielle Infektionen schützt. Allerdings wirkt Lysozym nur gegen grampositive Bakterien. Lysozym wurde im Speichel, im Nasenschleim, in der Tränenflüssigkeit und im Blutplasma des Menschen nachgewiesen, aber auch im Eiklar von Vogeleiern, in der Milch von Säugetieren, in einigen Pilzen und sogar in Pflanzensäften konnte es gefunden werden.

Empfindlich auf Lysozym sind unter anderem Buttersäurebakterien (*Clostridium tyrobutyricum*) und deren Sporen, die in der Milch von mit Silage gefütterten Kühen vorkommen können. Sie sind unerwünscht und lassen sich durch den Zusatz von Lysozym in der Käsemilch im Wachs-

tum hemmen. Dadurch kann eine Spätblähung des Käses verhindert werden. Der Zusatz von Lysozym für die Produktion von gereiftem Käse ist in der EU und der Schweiz grundsätzlich zugelassen (im Rahmen der Guten Herstellungspraxis, keine Höchstmenge festgelegt). Die Verwendung des Zusatzstoffes muss aber deklariert werden (E 1105). In den Spezifikationen von Käsesorten mit geschützter Ursprungsbezeichnung oder geschützter geografischer Angabe wird aber oft ausdrücklich auf den Einsatz dieses Enzyms verzichtet. Auch Biokäse darf z.B. in der Schweiz nicht mit Lysozym hergestellt werden.

In der Literatur sind bis jetzt nur wenige analytische Methoden für die Bestimmung von zuge-setztem Lysozym in Lebensmitteln publiziert worden, die sich für die amtliche oder betriebliche Überwachung eignen [1,2,3,4]. Auf Basis der von Pellegrino und Tirelli entwickelten und be-währten Methode wurde ein ISO/IDF Standard erarbeitet und 2009 als technical specification publiziert [5]. Dabei werden Kaseine und denaturierte Molkenproteine aus Milch und Milchpro-dukten am isoelektrischen Punkt bei pH 4.3 (für Käse und feste Milchprodukte) oder bei pH 2.2 (für Milch und flüssige Milchprodukte) gefällt. Säure-lösliches Hühnereiweiss-Lysozym wird dann mittels reversed-phase HPLC und Fluoreszenzdetektion bestimmt. Der Lysozym-Peak kann mittels LC/MS bestätigt werden. Damit die Methode rasch in der amtlichen Kontrolle verwendet werden kann, wurde sie als technical specification veröffentlicht. Unter Leitung der Projektverantwortlichen Luisa Pellegrino (Universität Mailand) und Thomas Berger (Agroscope Liebefeld-Posieux ALP) wurde im Winter 2009/2010 ein Ringversuch durchgeführt. Die Daten liegen vor, werden ausgewertet und im Rahmen der ISO/IDF Analytical Week im Mai 2010 diskutiert.

Bisherige Resultate zeigen, dass in Käse normalerweise keine Lysozymaktivität nachweisbar ist. Basierend auf eigenen Versuchen und auf den Resultaten einer Vielzahl von kommerziel-len Proben, liegt der natürliche Gehalt an Lysozym in Käse bei weniger als 15 mg/kg, also unterhalb der Nachweisgrenze der Methode. Erhöhte Werte (meist zwischen 160 bis 260 mg/kg) sind nur durch eine bewusste Zugabe von Lysozym erreichbar und keinesfalls über ein natürliches Vorkommen von Lysozym in Milch. Eine Dosierung von 2.5 mg Lysozym pro kg Milch führte in eigenen Versuchen bereits zu einem positiven Befund (ca. 22 bis 28 mg/kg Lysozym im Käse). Eine solche Dosierung entfaltet technologisch noch keine Wirkung, ist aber bereits klar nachweisbar. Für das Lysozym-Präparat Delvozym wird gemäss Spezifikation eine Richtdosierung von 20 bis 50 mg/kg in der Käsemilch empfohlen. In Käse aus solcher Milch liegen die Lysozymgehalte üblicherweise im Bereich von 175 bis 400 mg/kg. Milch kann Spu-ren von Lysozym enthalten, wobei in Mischmilchen verschiedener Lieferanten nicht relevante Lysozymaktivitäten zu erwarten sind.

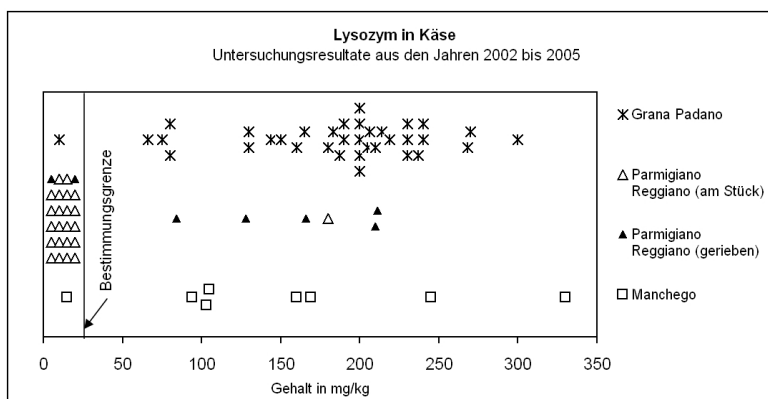


Abb. 1: Lysozym in Proben von Grana Padano, Parmigiano Reggiano und Manchego (*Quelle: Bärtschi et al.*)

Im Zeitraum 2002 bis 2005 wurden Käseproben aus dem Handel durch das Kantonale Labor Bern auf ihren Lysozymgehalt untersucht. Lysozym war vor allem in den Käsesorten Grana Padano (Italien), Manchego (Spanien) und in geriebenem Parmigiano Reggiano (Italien) nachweisbar (Abbildung 1). Sieben Proben mit Gehalten über 50 mg/kg wurden auch massenspektrometrisch untersucht. Sie zeigten alle das für Lysozym charakteristische Massenspektrum. Lysozymgehalte über 100 mg/kg wurden auch in Proben von Le Petite Chaumes, Brebiou (Frankreich); Castelões, Queija (Portugal) und Montasio (Italien) gemessen.

Literatur

- 1 Pellegrino L. and Tirelli A., A sensitive HPLC method to detect hen's egg white lysozyme in milk and dairy products, *International Dairy Journal* 10, 435-442 (2000)
- 2 Rauch P. et al., Sandwich enzyme immunoassay of hen egg lysozyme in foods, *Journal of Food Science* 55, 103-105 (1990)
- 3 Sariri R., The use of the detection of lysozyme in different Iranian cheese samples, *International Journal of Chemical Sciences* 2, 291-298 (2004)
- 4 Bärtschi F. et al., Bestimmung von Lysozym in Käse mittels LC-MS, *Mitteilungen Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 97, 478-488 (2007)
- 5 ISO/TS 27105 | IDF 216: Milk and milk products -- Determination of hen's egg white lysozyme by HPLC, Geneva, Brussels (2009)

Milch und Milchprodukte: Probenahme-Techniken, Normen und Qualitätssicherung

Thomas Berger, Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, CH-3003 Bern

Auskünfte: Thomas Berger, E-Mail: thomas.berger@alp.admin.ch, Fax +41 (0)31 323 82 27, Tel. +41 (0)31 323 81 26

Zusammenfassung

Grundlage für jede Probenahme ist eine eindeutige Problemdefinition und eine klare analytische Fragestellung. Daraus leitet sich die detaillierte Probenahmeplanung ab, unter Berücksichtigung statistischer Überlegungen und eingebunden in das Qualitätssicherungs-System. Die Probenahme von Milch und Milchprodukten ist in amtlichen Dokumenten und internationalen Standards gut beschrieben. Der Leitfaden DIN EN ISO 707 | IDF 50 ist dabei von zentraler Bedeutung. Leitfäden zur Abschätzung der Probenahmeunsicherheit sind vorhanden.

Key words: **sampling, milk, milk products, quality assurance, measurement uncertainty**

Einleitung

Die Fortschritte in der Instrumentalanalytik haben zur kontinuierlichen Senkung der Nachweisgrenze und zur Verbesserung der Präzision geführt. Zusammen mit einem immer grösser werdenden Angebot an Proficiency Testings (Vergleichstests) und Referenzmaterialien sollte dies zu einer vertrauenswürdigen, rückführbaren und sehr präzisen Analytik führen. Im Falle der Analytik von Milch und Milchprodukten ist zudem die internationale Standardisierung von Methoden und das Festlegen von Referenzverfahren weit fortgeschritten.

Trotzdem sind immer wieder grosse Unterschiede zwischen den Resultaten verschiedener Laboratorien oder Abweichungen zu den Sollwerten von Referenzmaterialien festzustellen. Mit