

Entwicklung der Methode Biokristallisation für Milchproben

Development of the biocrystallisation method for milk-samples

J. Wohlers¹, J. Kahl¹ und A. Ploeger¹

Keywords: food quality, biocrystallisation

Schlagwörter: Lebensmittelqualität, Biokristallisation

Abstract:

This study deals with the question under which circumstances (concerning milk and CuCl_2 -concentration per picture) and with which variation the method of biocrystallisation is able to distinguish different milk qualities. Milk qualities are UHT- and raw milk as well as milk from the beginning (A-milk) and ending (E-milk) of lactation. A matrix from different mixing ratios showed that milk qualities are best visually differentiated by 350 μL milk and 175mg CuCl_2 per plate. However there exists a certain variation in repeatedly produced pictures of one quality. Therefore 38% of the A- and E-milk-pictures were sorted out because of technical errors (unusual morphology). With 42% of the pictures the two samples were successfully differentiated by describing the morphological features. With the texture analysis program a significant difference between the samples ($p < 0,05$) was found when analysing selected regions of the picture.

Einleitung und Zielsetzung:

Die Biokristallisation wird z.Zt. am FG Lebensmittelqualität und Ernährungskultur der Universität Kassel für die Unterscheidung von Weizen- und Möhrenproben aus unterschiedlichem Anbau entwickelt und charakterisiert. Es sind jedoch für jedes Produkt spezifische Probenaufbereitungen und Verdünnungsverhältnisse notwendig, um dessen Qualität darzustellen.

Mit dieser Untersuchung sollen erste Hinweise gewonnen werden,

- 1) bei welchen Mischungsverhältnissen
- 2) mit welcher Sicherheit (gemessen an der Bildvariation) Milchqualitäten unterschieden werden können. Die Arbeiten wurden im Rahmen einer Diplomarbeit 2003 am Fachgebiet durchgeführt.

Methoden:

Mit der Methode der Biokristallisation werden 4 verschiedene Milchqualitäten untersucht:

1. UHT-Milch (ultrahocherhitzt, homogenisiert, 3,5% Fett, Marke „Schwälbchen“)
2. Rohmilch (Vorzugsmilch vom Lindenhof, Lindewerra (demeter), natürlicher Fettgehalt, mind. 3,7%),
3. Milch vom Anfang der Laktation (A-Milch) von 17 Kühen (10.-100. Laktationstag) der DFH (Domäne Frankenhausen),
4. Milch vom Ende der Laktation (E-Milch) von 8 Kühen (200.-400. Laktationstag) der DFH

Unter kontrollierten Bedingungen (30°C $\pm 0,1$; 52% r.F. $\pm 1\%$, erschütterungsfrei gelagerte Verdampfungseinheit in einer hölzernen Kammer (BUSSCHER et al. 2003)

¹Fachgebiet ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur, Fachbereich ökologische Agrarwissenschaften, Universität Kassel, Nordbahnhofstraße 1a, 37213 Witzenhausen, Deutschland, wohlers@uni-kassel.de

wird auf runden Glasplatten mit Plexiglasring eine Kupferchloridlösung (CuCl_2 -Lösung) mit Milchzusatz zum Verdunstende gebracht, wobei probenspezifische Kristallbilder entstehen. Die zu verdunstende Lösung wird vorher angerührt (zu einer gewissen Menge an Wasser wird die CuCl_2 -Lösung und die Milch hinzupipettiert) und 30 min. lang bei 120 U/min auf einem Schüttler gerührt (in mit Parafilm verschlossenen Glasgefäßen). Die so entstehenden Kristallbilder werden a) visuell auf ihre Kristallstrukturen (Morphologie) hin betrachtet und miteinander verglichen und b) eingeschannt und per Texturanalyse (Andersen 2001) innerhalb bestimmter Bildbereiche (ROI = region of interest) statistisch ausgewertet.

Ergebnisse und Diskussion:

1) Das optimale Mischungsverhältnis:

Ein „optimales Mischungsverhältnis“ von Milch und CuCl_2 zur Unterscheidung von verschiedenen Qualitäten ist dann gegeben, wenn sich zwei Proben in ausgewählten morphologischen Kriterien unterscheiden lassen und ein Gleichgewicht zwischen den morphologischen Kriterien von Probe und Reagens vorliegt (ANDERSEN et al. 2003). Zur Ermittlung dieses optimalen Mischungsverhältnisses werden Verdünnungsmatrizen angelegt, bei der sowohl die Milchkonzentration als auch die CuCl_2 -Konzentration variiert wird. Es zeigt sich, daß bei geringer Milchmenge (UHT- und Rohmilch gleichermaßen) und hoher CuCl_2 -Konzentration filzige Bilder entstehen ($<50\mu\text{l}$ Milch, $>150\text{mg}$ CuCl_2 je Bild), bei hohen Milchmengen und wenig CuCl_2 ($>350\mu\text{l}$ Milch, $<100\text{mg}$ CuCl_2) keine klaren Kristallstrukturen. Am klarsten sind die Bilder bei 100-100, 200-150, 350-150 und 350-200 (μl Milch-mg CuCl_2). Bei ähnlichen Qualitäten (z.B. A- und E-Milch) zeigen sich die größten Bildunterschiede bei $350\mu\text{l}$ Milch und 150 bzw. 200mg CuCl_2 je Bild. Für die Unterscheidung der untersuchten Proben ist deswegen ein Mischungsverhältnis von $350\mu\text{l}$ Milch und 175mg CuCl_2 je Bild als „optimal“ zu bezeichnen.

2) Methodenvariation:

Die Methodenvariation bei mehrmaligem parallelem Anrühren einer Probe bzw. wiederholten Untersuchungen sollte möglichst gering sein, damit eine klare Aussage zu Probenunterschieden gemacht werden kann. Die visuelle Begutachtung von 3x wiederholt angerührten A- und E-Milchproben mit jeweils 6 Bildern zeigt, daß je Serie mind. 1 Bild (insgesamt 16 von 42 Bildern) aufgrund von Mehrzentrigkeit, ungewöhnlicher Zentrumslage oder sonstiger Bildfehler wie z.B. Filzigkeit auffiel und nicht in die Beurteilung mit einbezogen werden konnte. Die Ursache ist z.T. in unterschiedlichen Kristallisationszeiten zu suchen (BUSSCHER et al. 2003). Der Vergleich der „vergleichbaren“ Bilder ergibt, daß die A-Milch gerundete Nadelzüge hat, die E-Milch gerader nach außen strebende, und daß die E-Milch mehr Bilder mit filzigen Bereichen hat und insgesamt feinere Bilder entstehen als bei den A-Milch-Bildern. Die Wiederholungsserien untereinander unterscheiden sich aber weniger voneinander als von der anderen Qualität. Der Einfluß der Probenqualität ist somit größer als der der Methode.

3) Unterscheidung von Milchqualitäten:

UHT-Milch und Rohmilch

Die Bilder der UHT-Milch sind eher kahl und mit sehr feinen, vielen Nadeln und einem breiten Rand. Die Rohmilch hat Bilder mit vielen Seitennadeln, die ein fülliges, kräftiges Bild entwickeln, das bis zum Randbereich durchgestaltet ist, wo die Durchstrahlung bis nach außen reicht. Die Äste der UHT-Milch sind eher gerade, wohingegen die der Rohmilch gebogen sind.

Die reichlicher auftretenden Seitennadeln werden auch von KNIJPENGA (2001) für nicht-homogenisierte Milch dargestellt (im Vergleich zu homogenisierter Milch mit fast keinen Seitennadeln). Die gerader verlaufenden Nadelzüge der H-Milch mit dünneren

Nadeln werden von BALZER-GRAF und GALLMANN (2000) bei druckbehandelter Milch beschrieben.

Weil die Ergebnisse dieser Untersuchung mit einigen anderen übereinstimmen, kann gesagt werden, daß mit dieser Methode die Milchqualitäten H-Milch und Rohmilch voneinander getrennt werden können und die Bildelemente einen Aspekt der Milchqualitäten beschreiben. Eine direkte Übertragung der Ergebnisse im Sinne der Reproduzierbarkeit ist aber erst möglich, wenn die Laborprozesse und Kammerbedingungen entsprechend dokumentiert werden. Dies wird mit den vorliegenden Untersuchungen begonnen.

Milch vom Anfang bzw. Ende der Laktation

Die A-Milch hat deutlich gebogenere Nadelzüge, wohingegen die Nadelzüge der E-Milch gerade und sehr direkt nach außen streben. Insgesamt ist das Bild der E-Milch viel feiner, differenzierter, gestalteter, die A-Milch ist gröber, kräftiger und weniger differenziert. Die Astabzweigungen der A-Milch sind häufiger und ungleichmäßiger, die Nadeln zweigen in breiteren Winkeln ab. Dadurch, daß bei der A-Milch weniger Quernadeln auftreten, entsteht ein „geschlosseneres“ Bild, bei der E-Milch entstehen dadurch „Löcher“ ohne Kristallbildungen.

Um die Qualitäten zu beurteilen kann ein Vergleich mit den Bildern von UHT-Milch und Rohmilch vorgenommen werden. Es zeigt sich dabei, daß die A-Milch offensichtlich deutlicher Rohmilch-typisch ist, die E-Milch geht (leicht) in die H-Milch-Richtung bzw. eher in die Richtung gealterter Milch. Das ist besonders deutlich an den gerader verlaufenden Nadelzügen der E-Milch, den feineren Nadelausbildungen und den Quernadeln wahrzunehmen.

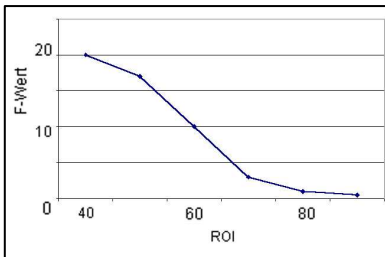


Abb. 1: F-Wert der Variablen „diagonal moment“ für die Unterschiede zwischen A- und E-Milchproben in Abhängigkeit vom Bildausschnitt (ROI).

Die computergestützte Bildauswertung

(Texturanalyse) an den A- und E-Milch-Proben zeigt, daß sich bei Auswertung mit Texturanalyse und anschließender Anwendung einer linear-mixed-effects-model Statistik, die die unterschiedliche Anzahl an Probenaufbereitungen und Bildwiederholungen berücksichtigt, die Proben signifikant voneinander unterschieden werden können ($p < 0,05$), jedoch nur für die Variable „diagonal moment“ bei einem Mischungsverhältnis von 350-175 und bei einem Bildausschnitt kleiner 70%, wobei das Unterscheidungsvermögen vom ROI abhängt (Abb.1).

Schlussfolgerungen:

Es hat sich gezeigt, daß die Methode geeignet ist, unterschiedliche Milchqualitäten unter bestimmten Bedingungen bei einem bestimmten Mischungs- und Verdünnungsverhältnis voneinander zu unterscheiden. Es tritt jedoch eine gewisse Variation der Bilder auf, so daß noch eine relativ große Anzahl von Bildern nötig ist, um eine sichere Unterscheidung zweier Proben zu erzielen. Es ist noch zu klären, wie eine größere Ergebnis-Sicherheit erzielt werden kann (z.B. unter Berücksichtigung der Kristallisationszeiten) und warum die computergestützte Auswertung eine so starke Abhängigkeit vom Bildausschnitt aufweist.

Danksagung:

Wir danken Frau Mergardt für die sorgfältige und gewissenhafte Hilfe beim Anfertigen der Bilder.

Literatur:

Andersen J.-O. (2001): Development and application of the biocrystallisation method. Biodynamic Research Association, Denmark, Report 1.

Andersen J.-O., Huber M., Kahl J., Busscher N., Meier-Ploeger A. (2003): A concentration matrix procedure for determining combinations of concentrations in biocrystallisation. In: Elemente der Naturwissenschaft 79, Heft 2, Dornach, Schweiz, S. 97-114.

Balzer-Graf U. R., Gallmann P. U. (2000): Hochdruckbehandlung von Milch. Beeinflussung der "Vitalqualität", dargestellt mit bildschaffender Analytik. Hrsg: Eidgenössische Forschungsanstalt für Milch, FAM-Information Februar 2000 / 393P, 9S.

Busscher N., Kahl J., Mergardt G., Anderssen J.-O., Huber M., Meier-Ploeger A. (2003): Vergleichbarkeit von Qualitätsuntersuchungen mit den Bildschaffenden Methoden (Kupferchlorid-Kristallisation). In: Freyer B. (Hrsg.): 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau. Ökologischer Landbau der Zukunft, Wien, S. 217-220.

Knijpena H. (2001): Einflüsse unterschiedlicher Behandlung auf die biologische Wertigkeit von Kuhmilch. In: Elemente der Naturwissenschaft 75, Heft 2, Dornach, Schweiz, S. 48ff.

Archived at <http://orgprints.org/2014/>