

# **Routinebestimmung des Eiweiss- und Caseingehaltes der Milch mit der Infrarot-(IR-)Methode = Routine determination of protein and casein content of milk by infrared (IR) method**

Autor(en): **Taha, F. / Puhan, Z.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **84 (1993)**

Heft 1

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982128>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Routinebestimmung des Eiweiss- und Caseingehaltes der Milch mit der Infrarot-(IR-)Methode

Routine Determination of Protein and Casein Content of Milk by Infrared (IR)  
Method

*F. Taha* und *Z. Puhon*

Institut für Lebensmittelwissenschaft, Labor für Milchwissenschaft,  
ETH-Zentrum, Zürich

### Einleitung

In den meisten Milchwirtschaftsländern wird der Eiweissgehalt der Milch bei der Qualitätsbezahlung berücksichtigt. Das erfordert Massenanalysen, die mit den aufwendigen und zeitraubenden chemischen Methoden kaum zu realisieren sind. Kurz nach der Veröffentlichung der Pionierarbeit von *Goulden* (1) über die Grundlage der Bestimmung der Milchinhaltstoffe mittels Infrarot-(IR-)Spektroskopie kamen die ersten IR-Geräte auf den Markt. Leistungsfähige und einfach bedienbare IR-Analysengeräte wurden in den letzten Jahren entwickelt und zur routinemässigen Bestimmung der Milchinhaltstoffe eingesetzt. Heute bieten die IR-Geräte als einzige die Möglichkeit, die Bestimmungen der Milchinhaltstoffe sowohl für die Qualitätsbezahlung wie auch für züchterische Zwecke wirtschaftlich tragbar durchzuführen.

Die Ermittlung des Caseingehaltes mittels IR-Methode erfolgt indirekt über die Differenz zwischen dem Gesamteiweiss und dem im Filtrat verbliebenen Eiweiss nach der isoelektrischen Fällung des Caseins. Da sowohl der pH-Wert wie auch die Art der Säure, mit der die Fällung erfolgt, einen Einfluss auf das Resultat der IR-Methode haben, ist die Entfernung des Caseins mit Essigsäure nach *Rowland* (2) für die IR-Messung problematisch. Dies zeigten die Arbeiten von *Sjaunja* und *Schaar* (3) mit Essigsäure, *Barbano* und *Dellavalle* (4) mit Phosphorsäure sowie *Casado et al.* (5) mit Salzsäure. Aus den Versuchen kann abgeleitet werden, dass die IR-Bestimmung von Casein, im Gegensatz zur Gesamteiweissbestimmung, noch optimierungsbedürftig ist.

Die beiden Methoden, Kjeldahl- und IR-Methode, basieren auf unterschiedlichen Prinzipien; bei der Methode nach Kjeldahl ist der N-Gehalt und bei der IR-Methode sind die Peptidbindungen für den Eiweissgehalt massgebend. Da die Methode nach Kjeldahl bis heute als Referenzmethode dient, erfolgt die Eichung

der IR-Geräte mit den Referenzwerten mit Hilfe der Kjeldahl-Werte. Die Messwerte der IR-Geräte werden nicht nur von der Richtigkeit der Eichwerte beeinflusst, sondern auch von den IR-Geräten selbst (instrumentelle Einflüsse) und durch die physikalisch-chemische Veränderung der Milchproben bis zur Analyse.

## Material und Methode

Für die quantitative Bestimmung der Milch Inhaltsstoffe wurde der mittlere Infrarotbereich (MIR) gewählt, der sich zwischen den Wellenlängen von 2,5 und 25  $\mu\text{m}$  erstreckt. *Goulden* (1) beschrieb in seiner Pionierarbeit eine Methode für die quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe der Milch mittels IR-Energieabsorption. Die am besten geeigneten Wellenlängen fand er für Fett (C = O) bei 5,73  $\mu\text{m}$ , für Eiweiss (NH<sub>2</sub>) bei 6,46  $\mu\text{m}$  und für Lactose (OH) bei 9,6  $\mu\text{m}$ . Abbildung 1 zeigt die Infrarotspektren von Wasser, Fett, Eiweiss und Lactose (6).

Bei den IR-Geräten erfolgt die Messung der Milch Inhaltsstoffe nach folgenden Prinzipien (7):

- Vergleich der Absorption der IR-Energie gleicher Wellenlänge (Zweistrahlsystem) bei Milch und Wasser als Referenz (z. B. Infra Red Milk Analyser, IRMA).
- Vergleich der Absorption der IR-Energie (Einstrahl-System) bei Milch bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen. Ein IR-Strahl, welcher Wellen eines bestimmten Frequenzbereiches (Band) enthält, wird durch die Milch geleitet (Messungswellenlänge). Die Intensität der Absorption (Schwächung) stellt ein Mass für die Anzahl der Moleküle dar, die der IR-Strahl passieren musste. Bei der zweiten Wellenlänge (Referenzwellenlänge) wird die IR-Energie hingegen nur minimal absorbiert (z. B. Milko-Scan und Multispec-Geräte).

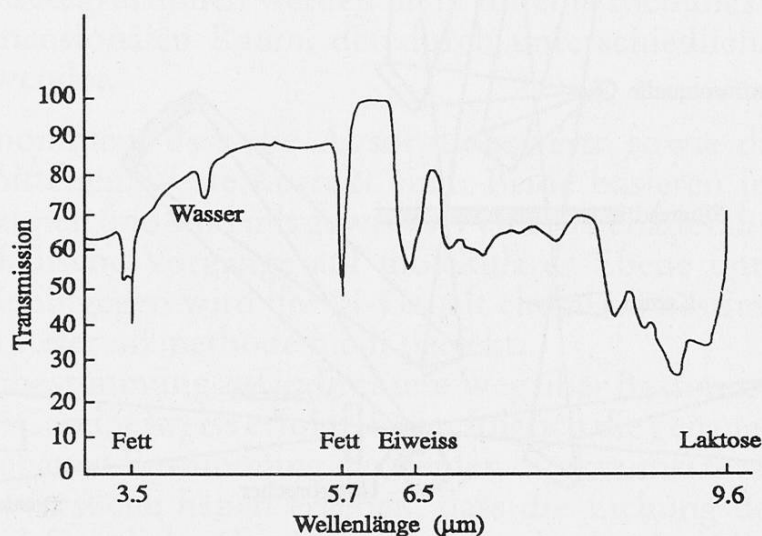


Abb. 1. IR-Spektren von Wasser, Fett, Eiweiss und Lactose (6)

Die Signale der zu messenden Komponenten der Milch und die IR-Referenzsignale werden von einem IR-Detektor aufgenommen und verarbeitet. Die Grösse der Absorption der IR-Energie stellt ein Mass für die Anzahl der Moleküle des entsprechenden Inhaltsstoffes dar. Nach rechnerischen Korrekturen wird die Konzentration der einzelnen Komponenten angezeigt.

### IR-Gerät

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung des Eiweiss- und Caseingehaltes mittels IR-Methode mit zwei Milko-Scan 605 Geräten (Firma A/S N. Foss Electric, Dänemark) durchgeführt. Das Gerät ist eine Einzel-Messzelle (Milchprobenzelle), zwei Wellenlängen (Singel-Cell, dual-wavelength) Spektrometer. Das optische System dieses neuen Milko-Scan 605 ist identisch mit den Milko-Scan-Geräten anderer Serien (Abb. 2), aber der IR-Detektor, das optische Filterrad, die Pumpeinheit und der Homogenisator wurden modifiziert und verbessert. In die Zentraleinheit des Gerätes ist eine IR-Box, welche den IR-Energiestrahл erzeugt, eingebaut. Ein Filterrad, das in einem bestimmten Winkel zum IR-Energiestrahл steht und 5 Filterpaare enthält, steht vor der Proben-Küvette. Damit werden die für die Messungen nötigen Wellenlängen eingestellt. Dies geschieht durch die Anordnung der entsprechenden Filter mit Hilfe eines Motors und ermöglicht gleichzeitige Analysen mit fünf unterschiedlichen Wellenlängen (für Eiweiss, Lactose, Fett (A), Fett (B) und einem Filterpaar als Reserve). Das Gerät ist mit einem Mikroprozessor ausgestattet. Dieser überwacht mehrere kritische Vorgänge und ermöglicht, 8 verschiedene Messprogramme zu steuern (8).

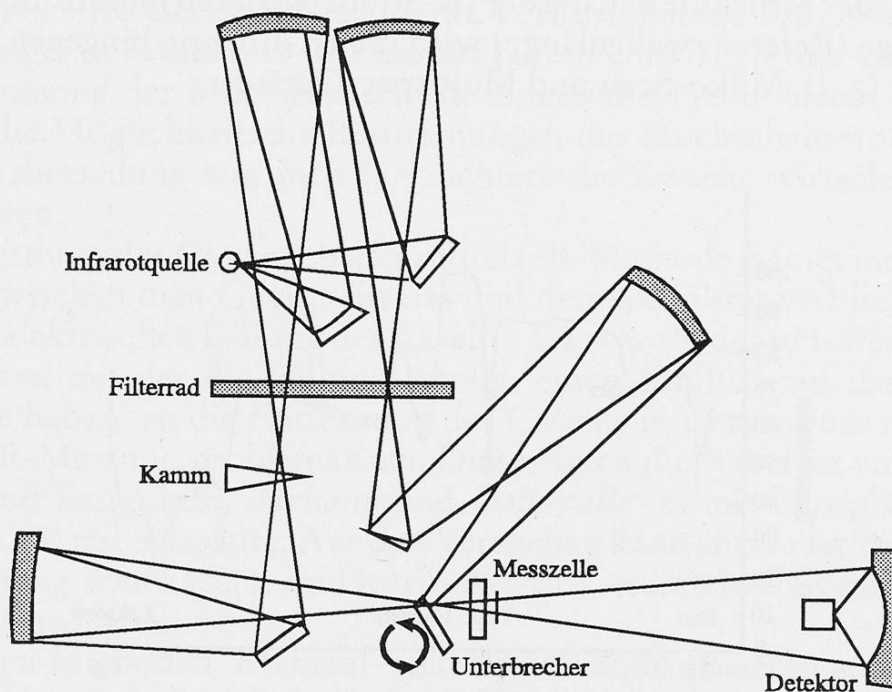


Abb. 2. Optisches System des Milko-Scan-Gerätes (6)

### *Filter A und Filter B*

Die charakteristische Absorption der IR-Energie durch die Esterbindung (C = O) zwischen Glycerin und Fettsäure liegt bei 5,73  $\mu\text{m}$ . Für die Fettbestimmung ist nur die Zahl der veresterten Fettsäuren und nicht deren Kettenlänge entscheidend. Die Kettenlängen und Molekulargewichte der Fettsäuren sind nicht konstant. *Gecks* (9) und *Kold-Christensen* (10) berichteten über die Verbesserung der Fettbestimmung mittels IR-Methode. Sie verwendeten die Wellenlänge 3,40  $\mu\text{m}$  und massen die absorbierte IR-Energie für die C-H-Bindung. Die Fettbestimmung ist demnach sowohl bei der Wellenlänge von 5,73  $\mu\text{m}$  (Filter A) als auch bei 3,40  $\mu\text{m}$  (Filter B) möglich. *Sjaunja* und *Andersson* (11) sind der Meinung, dass zwischen den beiden Filtern bezüglich Wiederholbarkeit kein Unterschied bestehe, bezüglich Richtigkeit jedoch mit Filter B bessere Werte erreicht werden als mit Filter A.

### *Eichung der IR-Geräte*

Die Eichung der IR-Geräte zur Erlangung exakter Messresultate ist unentbehrlich. Dies ist jedoch mit verschiedenen Schwierigkeiten verbunden. Als Gründe werden angeführt:

- Milch ist ein polydisperses Gemisch, in dem das Fett emulgiert und die Eiweisse kolloiddispers in der wässrigen Lösung der übrigen Milchinhaltstoffe vorliegen. Eine Schwierigkeit bei der quantitativen Analyse von Milchinhaltstoffen liegt darin begründet, dass es keine selektiven Absorptionsbänder für die einzelnen Milchinhaltstoffe gibt.
- Bei der Eichung wird nicht nur mit einer, sondern mit mehreren Wellenlängen gearbeitet. Für die Anpassung an die Eichungslinie wird deshalb die Berechnung der multiplen linearen Regression notwendig, welche bei der Eiweissmessung neben den Werten für Eiweiss auch diejenigen für Fett und Lactose enthält. Diese multiplen Regressionen werden nicht für eine Eichungslinie, sondern für einen multidimensionalen Raum, der durch unterschiedliche Eichungswerte entsteht, angewendet.

Es wird angenommen, dass die Absorptionswerte sowie die mit der Standardmethode ermittelten Werte korrekt sind. Beide basieren jedoch auf unterschiedlichen Prinzipien und sind mit gewissen Fehlern behaftet. Bei der IR-Methode werden physikalische Vorgänge auf molekularer Ebene untersucht; mit der Kjeldahl-Methode hingegen wird der N-Gehalt chemisch bestimmt. Somit ist die Beziehung IR- zu Referenzmethode nicht perfekt.

Weil die Caseinbestimmung auf indirektem Weg über Bestimmung von Gesamteiweiss und Nicht-Caseineiweiss erfolgt, hängt folglich die genaue Bestimmung des Caseins von der genauen Bestimmung der beiden direktzubestimmenden Eiweissfraktionen ab. Vorversuche haben ergeben, dass die Eichung der IR-Geräte für Gesamteiweiss und für Nicht-Caseineiweiss einzeln durchgeführt werden muss, um genaue und reproduzierbare Resultate zu erhalten.

### *Eich-Standardde*

Für die Eichung des IR-Gerätes wurden aus 60 Liter Mischmilch einer Käserei mittels Ultrafiltration (Cut-off 20 000 Dalton) Permeat und Retentat gewonnen. Durch entsprechendes Mischen von Retentat und Permeat wurden schliesslich 8 Eichstandarde mit unterschiedlichem Gesamteiweiss- und Caseingehalt hergestellt (Tabelle 1). Der Bereich lag zwischen dem zu erwartenden minimalen und maximalen Wert der Milch in der Schweiz.

Von der einen Hälfte der Standardde, in Kunststoffflaschen abgefüllt, wurde für die Eichung eingesetzt. Die andere Hälfte wurde für die Herstellung der Standardde für die Eichung des Gerätes bei der Caseinbestimmung verwendet.

Während der 16monatigen Versuchsdauer wurden die IR-Geräte (2 Milko-Scan 605) 3mal geeicht: mit der hergestellten Eich-Standardde (im Februar 1989) und mit ausgewählten Milchproben (Betriebsmilch) während der Versuche (Oktober 1989, Februar 1990). Die Eiweissgehalte der Standardde, berechnet aus dem N-Gehalt ( $TN \times 6,38$ ), wurden für die Eichung der Geräte auf Gesamteiweiss eingesetzt. Ebenfalls wurden die Molkeneiweissgehalte ( $NCN \times 6,38$ ) der Standardde berechnet und für die Eichung der Geräte für Molkeneiweiss eingesetzt (Tabelle 1). Dies ist insofern korrekt, als bei der IR-Bestimmung der in NCN enthaltene NPN keinen Einfluss auf die Bestimmung der Molkeneiweisse hat (4).

Die Durchführung der beiden Eich-Prozeduren, für Gesamteiweiss und für Molkeneiweiss, geschah mit zwei separaten Messprogrammen nach Anweisung der Herstellerfirma (8).

### *Kontrolle der Linearität*

Für die Prüfung der Linearität sind ca. 8 Milchproben mit bekannten Gehaltswerten (12) oder 3 Milchproben, je eine mit hohem, mittlerem und tiefem Gehalts-

*Tabelle 1.* Gehalte der Eich-Standardde an Gesamteiweiss ( $TN \times 6,38$ ) und Nicht-Caseineiweiss ( $NCN \times 6,38$ )

	Gesamteiweiss		Nicht-Caseineiweiss	
	g/100 g			
Standard-Nr.	1	3,60		0,88
	2	3,49		0,86
	3	3,38		0,84
	4	3,29		0,82
	5	3,18		0,81
	6	3,18		0,80
	7	2,98		0,78
	8	2,87		0,75

wert (13), zu messen. Mittels Regressionsgleichungen für die gemessenen und für die effektiven Gehaltswerte wird die Linearität kontrolliert.

Bei der Kontrolle der Linearität nach der Eichung wurden die zwei Proben der Eich-Standardde mit dem höchsten und niedrigsten Wert eingesetzt. Während der Versuchsdauer (16 Monate) wurden vor den Messungen zwei Milchproben, mit der Referenzmethode analysiert, je mit den höchsten und niedrigsten ermittelten Werten verwendet.

### *NullEinstellung und Kontrolle der Übertragungsfehler*

Die Einstellung des Nullpunktes kann vorgenommen werden mit in entmineralisiertem Wasser gelöstem Triton X-100 (13), mit einer Lösung von  $\gamma$ -Butyrolakton, Calciumpropionat und Lactose (14) oder mit destilliertem Wasser (4).

Verschleppungsfehler können bei Serienuntersuchungen von Proben grosse Gehaltsdifferenzen verursachen. Die Kontrolle des Reinigungs- (Purging efficiency) und Verschleppungs-Faktors erfolgt durch Ermittlung der proportionalen Differenzen von Messungen an Milch- (M) und Wasserproben (W) in der Reihenfolge W1, W2, M1, M2, W1, W2 usw. Dies muss 10mal (15) bzw. 20mal (12) wiederholt werden. Die Reinigungseffizienz wird wie folgt kalkuliert:

$$(\Sigma M1 - W2) \times 100 / (\Sigma M2 - W2) \geq 99\%$$

M1 = erster Milchwert

M2 = zweiter Milchwert

W2 = zweiter Wasserwert

In der vorliegenden Arbeit wurden die Nullwerte, wie von der Herstellerfirma empfohlen, mit einer «MilchmineralLösung» eingestellt. Diese Lösung enthält in 1 Liter destillierten Wasser:

- 1,40 g Trinatrium-Zitrat-Dihydrat ( $\text{Na}_3$  Zitrat. 2  $\text{H}_2\text{O}$ )
- 1,30 g Kalium-Dihydrogen-Phosphat ( $\text{KH}_3\text{PO}_4$ )
- 0,50 g Trikalium-Phosphat-Septahydrat ( $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ )

Es wurde die manuelle Eich-Prozedur gewählt und folgende Einstellung vorgenommen:

- Automatischer Spülintervall: nach 100 Messungen
- Automatischer Null-Einstellintervall: nach 200 Messungen
- Proben-Einfüllvolumen: 6,0 ml

Grenzwerte ( $\pm$ ):

- Für die automatische Berichtigung des Nullpunktes: 0,02
- Für die manuelle Nullpunktstellung: 0,05

## Kontrollproben

Während der Versuchsdauer von 17 Monaten wurden 340 Milchproben (Tabelle 2) für die Kontrolle der Wiederholbarkeit und Richtigkeit eingesetzt. Diese Kontrolle geschah wöchentlich mit 3 bis 10 Proben (Betriebsmilch). Die Bestimmung der N-Fractionen wurde nach der FIL-/IDF-Standard-Nr. 20:1962 und Nr. 29:1964, Fett nach Gerber-Methode und Lactose nach FIL-/IDF-Standard-Nr. 28A:1974 durchgeführt.

Tabelle 2. Mittlere Zusammensetzung der Milchproben für die Kontrolle der IR-Geräte

Komponente	n	$\bar{x}$ (g/100 g)	CV (%)	min.	max.
				g/100 g	
Gesamteiweiss	340	3,34	5,53	2,71	3,78
Nicht-Caseineiweiss	340	0,74	8,93	0,57	0,91
Casein	340	2,60	6,00	2,05	3,02

$\bar{x}$  = arithmetischer Mittelwert

CV = relative Standardabweichung

## Ergebnisse

### Optimierung der Methode zur routinemässigen Caseinbestimmung

Sowohl die IR- wie auch die chemische Methode nach Kjeldahl sind indirekte Methoden zur Erfassung des Caseingehaltes der Milch. Mit beiden Methoden wird der Eiweissgehalt vor und nach der Entfernung des Caseins aus der Milch bestimmt, und die Differenz stellt den Caseingehalt dar. Da die Fällung des Caseins zeitaufwendig ist, wurde in Vorversuchen nach einer einfachen, schnellen und genauen Methode für die Caseinentfernung gesucht. Zuerst wurde zur Caseintrennung durch Gerinnung mit Lab (Chymosin) die Methode von *Karman et al.* (16) eingesetzt. Die Gallerte war nicht bei allen Milchproben befriedigend, das Filtrat war trübe und das Filtrieren erschwert. Auf das Abtrennen des geronnenen Caseins durch Zentrifugieren wurde wegen des zusätzlichen Arbeitsschrittes verzichtet. Die isoelektrische Fällung des Caseins nach *Rowland* (2) mit Essigsäure und Natriumazetat kam wegen des Einflusses der Carboxylgruppen auf die IR-Messung nicht in Frage (3). Obwohl *Barbano* und *Dellavalle* (4) bei der Caseinfällung mit Phosphorsäure gute Ergebnisse erhielten, verzichteten wir auf diese Methode wegen des Einsatzes von Säure. In den weiteren Versuchen konzentrierten wir uns auf die selektive Entfernung von Casein durch Labgerinnung.

Bekanntlich hat der pH-Wert einen signifikanten Einfluss auf die Labgerinnung von Casein. Bei pH von ca. 6,3 gerinnt die Milch rasch zu einer festen Gallerte und die Molke (Filtrat) wird klar. Um eine feste Gallerte zu erhalten, die auch nach dem



Schneiden einen gleichmässigen Bruch ergibt, wurden zu 100 ml Probe neben 0,5 ml Lablösung auch 0,5 ml einer 1,0%igen Phosphorsäure und 1,0 ml einer 10%igen Tween 80 (Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monooleat) Lösung zugesetzt. Das so gewonnene Filtrat ist klar. Etwas später hat auch die Firma A/S N. Foss Electric, Kopenhagen, für die Caseinbestimmung mit ihrem IR-Gerät ein «Casein determination kit» angeboten, das «Lösung 1», «Lösung 2» (Triton-x-100) und «Lösung 3» (Lab-Lösung) enthält. Da «Lösung 1» und «Lösung 2» die gleiche Wirkung auf die Gerinnung der Milch hatten wie die Zugabe von Phosphorsäure und Tween 80 Lösung, wurden für die weiteren Bestimmungen «Lösung 1» und «Lösung 2» von Foss Electric benützt. Die Caseintrennung erfolgte nach folgender Methode:

- Wasserbad auf 40 °C einstellen.
- Milchproben vorsichtig temperieren, mischen und für die Gesamteiweissbestimmung in das Messfläschchen des IR-Gerätes, 30–40 ml, mit einer Pipette einfüllen. Mit einer Vollpipette (100 ml + 0,08) 100 ml Milch in einen 150-ml-Kolben (weithalsiger Erlenmeyer-Kolben) geben, Kolben mit Uhrglas decken und im Wasserbad auf 40 °C erwärmen.
- 0,5 ml «Lösung 1» zugeben und mischen.
- 1,0 ml 10%iges Triton-x-100 zugeben.
- 1,0 ml Lablösung (mindestens 75% Chymosin) zugeben und den Kolben wieder zudecken.
- Nach 5 Minuten die festgewordene Gallerte vorsichtig schneiden mit rostfreiem Draht oder Spachtel, den Kolben mit Uhrglasdeckel für weitere 5 Minuten stehenlassen.
- Den Kolben aus dem Wasserbad nehmen und den Inhalt durch Papierfilter (Schleicher & Scholl, 602 1/2) filtrieren (10 min.).
- Das Filtrat in das Messfläschchen füllen, auf 40 °C erwärmen und danach die Eiweissbestimmung durchführen.

Folgende Punkte müssen beachtet werden:

- Die im Kühlschrank gekühlte Milchprobe soll langsam auf 40 °C erwärmt werden.
- Haut- oder Schaumbildung vermeiden.
- Labträge Milch ergibt weiche Gallerte und trübes Filtrat. In solchem Fall muss die Bestimmung des Caseins nach *Rowland* (2) erfolgen.
- Die Filtrierzeit muss für alle Proben genau gleich sein. Dies gilt auch für die Proben zur Kalibrierung. Reproduzierbare Resultate werden nur erreicht, wenn das Filtrat sofort nach dem Filtrieren gemessen wird.

Die Filtratvorbereitung für die Messungen beansprucht ca. 20 Minuten. Dies ist jedoch nicht als Nachteil zu betrachten, da für die Caseinbestimmung sowieso zuerst eine Gesamteiweissbestimmung erforderlich ist. Beim Einsatz von Pipettier-Hilfsmitteln wie automatische Pipetten, Laborflaschen-Dispenser, Micro-Dispenser und zwei Wasserbädern kann eine Person bis zu 40 Proben pro Stunde analysieren.

## Vergleich von IR- und Kjeldahl-Methode zur Gesamteiweiss- und Caseinbestimmung

Für die Prüfung der Wiederholbarkeit der IR- und Kjeldahl-Methode und der Richtigkeit der IR-Methode wurden die in der Tabelle 2 aufgeführten Kontrollproben eingesetzt.

Die Wiederholbarkeit (Repeatability) und Richtigkeit (Accuracy) für analytische Methoden wurde im FIL-/IDF-Dokument (17) und FIL/IDF Provisional Standard (18) definiert. Das Mass für die Wiederholbarkeit ist die absolute Differenz zwischen zwei Bestimmungen einer Probe in kurzem Zeitintervall. Diese absolute Differenz sollte für jede Komponente, in diesem Fall auch für das Eiweiss, kleiner als 0,04 g/100 g Milch sein bei einer Wiederholbarkeits-Standardabweichung von 0,014 g/100 g Milch.

Die Richtigkeit wird definiert als der Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und die Standardabweichung ( $s$ ) der algebraischen Differenzen zwischen IR-Resultaten und Referenzresultaten, erzielt durch Analyse von  $n$ -Milchproben. Für Herdenmilchproben liegen die Grenzwerte für  $\bar{x}$  bei  $\leq 0,14/n^{1/2}$  und bei  $s \leq 0,07$  g/100 g Milch bzw.  $\bar{x} \leq 0,2/n^{1/2}$  und  $s \leq 0,1$  g/100 g Milch für Einzelmilchproben.

### Wiederholbarkeit

Tabelle 3 enthält Angaben über die Wiederholbarkeit (Differenz zwischen Doppelbestimmungen) der Kjeldahl-(Referenz) und der IR-Methode. Die aufgeführte relative Wiederholbarkeit (CV) der IR-Methode unterscheidet sich nicht wesentlich von derjenigen von *Barbano* und *Dellavalle* (4). Sie ermittelten CV von 0,223 für Gesamteiweiss, 0,994 für Nicht-Caseineiweiss und 0,493 für Casein. *Sjaunja* und *Andersson* (11) ermittelten bei der Gesamteiweissbestimmung  $s$  von 0,006 und CV von 0,170 für die Kjeldahl-Methode und für die IR-Methode  $s$  von 0,008 und CV von 0,227 (Tabelle 4). Die berechneten absoluten Differenzen ( $\bar{\emptyset}$ ) und die Standardabweichungen ( $s$ ) für beide Methoden liegen unter den von

Tabelle 3. Wiederholbarkeit der Kjeldahl- und IR-Methode

Methode	Komponente	$n$	$\bar{x}$	$s$	CV (%)
			(g/100 g)		
Kjeldahl	Gesamteiweiss	340	- 0,0011	0,0069	0,206
	NCP	340	- 0,0008	0,0039	0,481
	Casein	340	- 0,0003	0,0078	0,298
IR	Gesamteiweiss	340	0,0010	0,0078	0,298
	NCP	340	- 0,0014	0,0068	0,914
	Casein	340	0,0024	0,0108	0,414

NCP = Nichtcaseineiweiss

Tabelle 4. Wiederholbarkeit der Kjeldahl- und IR-Methode (*Barbano and Dellavalle* (4) und *Sjaunja and Andersson* (11))

Methode	Komponente	s (g/100 g)	CV (%)	Autor
Kjeldahl	Eiweiss	0,014	0,446	(4)
	NCP	0,005	0,712	
	Casein	0,015	0,615	
IR	Eiweiss	0,007	0,223	
	NCP	0,007	0,994	
	Casein	0,012	0,493	
Kjeldahl	Eiweiss	0,006	0,170	(11)
IR	Eiweiss	0,008	0,227	

NCP = Nichtcaseineiweiss

FIL/IDF (17) angegebenen Werten von 0,04 g/100 g Milch für die absolute Differenz zwischen der Doppelbestimmung und 0,014 g/100 g Milch für *s*.

#### Richtigkeit (Accuracy)

Die während 17 Monaten ermittelte Richtigkeit (*s*) für die IR-Methode (Tabelle 5) lag im Rahmen der in der Literatur angegebenen Werte. *Sjaunja* und *Schaar* (3) erhielten *s* von 0,053 für Eiweiss (Gesamteiweiss), 0,043 für Molkeneiweiss und 0,039 für Casein. *Barbano* und *Dellavalle* (4) ermittelten für Casein tiefere *s* von 0,02 (Tabelle 6). Doch alle diese Werte liegen unter dem von FIL/IDF (17) angegebenen *s*-Grenzwert von  $\leq 0,07$  g/100 g. In der vorliegenden Arbeit war bei der Bestimmung von Nicht-Caseineiweiss die *s* kleiner als die in der Literatur angegebenen Werte. Möglicherweise sind die geringeren Abweichungen auf die getrennte Kalibrierung des IR-Gerätes für Gesamt- und Nicht-Caseineiweiss zurückzuführen.

Tabelle 5. Mittelwerte ( $\bar{x}$ ), Standardabweichung (*s*) und relative Standardabweichung (CV) der Differenz zwischen Kjeldahl-(Referenz-) und IR-Methode

Komponente	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	CV (%)
		(g/100 g)		
Gesamteiweiss	340	0,00144	0,0306	0,915
NCP	340	-0,00369	0,0089	1,203
Casein	340	0,00384	0,0325	1,250

Tabelle 6. Standardabweichung ( $s$ ) und relative Standardabweichung ( $CV$ ) der Differenzen zwischen den Werten der Kjeldahl-(Referenz) und IR-Methode

Komponente	$s$ (g/100 g)	$CV$ (%)	Autor
Eiweiss	0,053	1,36	(3)
Casein	0,049	1,95	
Molkeneiweiss	0,043	8,11	
Eiweiss	0,048	1,40	(11)
Casein	0,039	1,50	(16)
Casein	0,020	0,82	(4)

### *Einflussfaktoren auf Gesamteiweiss- und Caseinbestimmung mittels IR-Gerät*

Rasse, Sekretionsstörungen, Fütterung und Jahreszeit beeinflussen die Zusammensetzung der Milch sowie die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Inhaltsstoffe. Diese Einflüsse wirken sich auf die Richtigkeit der Bestimmung des Eiweisses mittels IR-Methode aus.

In der Literatur werden u. a. folgende Faktoren genannt:

*Fett:* Nicht nur das Vorhandensein von Fettkügelchen, sondern auch ihre unterschiedliche Grösse, beeinflusst die Resultate der Eiweissbestimmung. Die Fettkügelchen absorbieren und zerstreuen das Licht verschiedener Wellenlängen. Um den Einfluss der Fettkügelchengrösse zu minimieren, wird vor der Eiweissbestimmung die Grösse der Fettkügelchen durch Homogenisieren vereinheitlicht (19, 15, 14).

Der Gehalt und die Zusammensetzung des Milchfettes unterliegen umweltbedingten wie auch genetisch bedingten Einflüssen. Da die Fettbestimmung mit Filter A (Wellenlänge 5,73) proportional zur Zahl der Esterbindungen ist, vermindert die Lipolyse des Milchfettes die Absorption der IR-Energie proportional zur Intensität der Lipolyse. Freie Fettsäuren zeigen IR-Energieabsorption in der Nähe der Eiweisswellenlänge und führen somit zur Erhöhung der Eiweissmesswerte (13). Auch *Van de Voort et al.* (20) berichteten, dass bei Messungen nach 3 Tagen die lipolytische Wirkung zu erhöhten Eiweiss- und verminderten Fettwerten gegenüber den Referenzanalysen führten. Bei Untersuchungen von Milch verschiedener Rassen fanden *Ng-Kwai-Hang et al.* (21), dass der Eiweissgehalt sich nach 3 Tagen bei Milchproben von Ayrshire, Holstein und Jersey-Kühen um 0,039%, 0,021% beziehungsweise 0,011% erhöhte und der Fettgehalt sich um 0,047%, 0,049% beziehungsweise 0,061% verminderte. Die erhöhten Messwerte für das Eiweiss könnten z.T. mit der Lipolyse während des Transportes und/oder der Aufbewahrung der Milchproben erklärt werden.

*Lactose und Zitrat:* Das Verhältnis von Eiweiss zu Lactose während der Laktation ist nicht konstant. Es variiert zwischen den Rassen und Einzeltieren, wobei

der Eiweissgehalt die grösseren Schwankungen aufweist. *Sjaunja* (14) untersuchte Milch von Swedish Red und White, Swedish Holstein, Swedish Jersey und Kreuzungen zwischen Holstein und Swedish Red und White. Die Resultate zeigten, dass das Laktationsstadium keinen signifikanten Einfluss auf die Bestimmung des Eiweissgehaltes hat.

Ein grosser Teil von dissoziierten Carboxylgruppen in der Milch stammt vom Citrat. Der Citratgehalt der einzelnen Milchproben variiert sehr stark. Ein um 0,01% erhöhter Citratgehalt verursacht eine Erhöhung des Eiweissresultates um 0,075% (22). Eine weitere Quelle für Carboxylgruppen ist die Fermentation von Lactose.

*NPN-Gehalt:* Bei IR-Messungen wird die NPN-Fraktion, die von Fütterung, Saison und Rasse beeinflusst wird, nicht erfasst. Die Eichung der IR-Geräte mit Gesamteiweiss, berechnet aufgrund des Gesamtstickstoffes, beeinträchtigt deshalb die Messrichtigkeit (22). Beim Eichung der IR-Geräte wird oft von einem konstanten NPN-Gehalt ausgegangen. Nach *Lynch* und *Barbano* (23) könnte die NPN-Fraktion der Milch deshalb bei der Gehaltsbestimmung des Eiweisses mittels IR-Methode zu falschen Ergebnissen führen. Milchproben mit tieferem NPN-Gehalt als angenommen führen zu überhöhtem Eiweissgehalt und umgekehrt (14). Bei Untersuchungen von Milch verschiedener Rassen sollte der NPN-Gehalt bei der Eichung der IR-Geräte berücksichtigt werden. Das gilt vor allem für Einzelmilchproben. Bei den Untersuchungen von Mischmilchproben hingegen kann das IR-Gerät mit Mischmilch ohne Berücksichtigung des NPN-Wertes geeicht werden (4).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Temperatur, Aufbewahrung der Proben und pH sowie von Region und Rasse untersucht.

### *Temperatur*

Das IR-Gerät «Milko-Scan» ist für Messungen bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  als Grenzwert eingestellt. Bei länger andauernden Messungen mit höheren oder tieferen Temperaturen verändert sich die Temperatur der Messküvette, das Gerät gibt ein Warnsignal und stellt automatisch ab. Somit spielt von der praktischen Seite her die Proben temperatur eine untergeordnete Rolle.

Wichtiger als die Proben temperatur, die vom Gerät in einem engen Bereich kontrolliert wird, scheint das Proben-Einfüllvolumen zu sein, das eine enge Beziehung zur Proben temperatur hat. Von der Herstellerfirma sind 3,6 ml als minimales Probenvolumen angegeben und dürfen nur angewendet werden, wenn nicht genügend Probenmaterial vorhanden ist. Optimal soll ein Probenvolumen von 5,0 ml sein.

Die Vorversuche zeigten, dass ein Temperaturunterschied von  $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  die Richtigkeit und/oder die Wiederholbarkeit beim Probenvolumen von 6,0 ml kaum beeinflusste. Messungen von Milch und Filtrat, je 5 Proben mit dreimaliger Wiederholung bei Temperaturen von 38, 40 und 42  $^{\circ}\text{C}$  ergaben, dass sich bei 38 und 42  $^{\circ}\text{C}$  die Wiederholbarkeit und die Richtigkeit beim Gesamteiweiss verschlechterten, jedoch nicht signifikant. Dies stimmt nicht mit *Kerkhof Mogot et al.* (13)

überein, die bei 38 und 42 °C einen hochsignifikanten Einfluss auf die Eiweissresultate feststellten. Nur ab einem Temperaturunterschied von 7 °C (Messungen bei 35 und 42 °C) war der absolute Gesamteiweissgehalt bei den höheren Temperaturen um 0,01 g/100 g (relativ 0,31%) vermindert.

Die Probenvolumina spielen möglicherweise in dieser Beziehung eine Rolle. Für die Messungen, besonders bei Filtrat, soll ein grösseres Probenvolumen verwendet werden, um z.T. die durch Temperaturschwankungen entstehenden Einflüsse zu begrenzen. Bei einem Versuch wurden Messvolumina von 3,6, 5,0, 6,0 und 9,9 ml verglichen. Die Differenzen (relativ) zwischen Messungen mit 3,6 und 9,9 ml betrugen 0,3% bei Gesamteiweiss und 1,24% bei Filtrateiweiss. Am besten eignet sich das Probenvolumen von 6,0 ml für Gesamt- und Filtrateiweiss.

### *Aufbewahrung der Proben und pH*

Um den Einfluss von Konservierungsmittel und Aufbewahrungsdauer auf Gesamteiweiss- und Caseingehalt zu untersuchen, wurden Milchproben von 8 Lieferanten verwendet. Direkt nach dem Eintreffen der Milchproben (Tag 0) wurde ein Teil mit dem Milko-Scan auf Gesamteiweiss sowie Caseingehalt analysiert (Tag 0 Werte). Danach wurde jede Milchprobe mit Bronopol, 0,02%, konserviert und in mehrere Teile aufgeteilt. Die Proben wurden im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Nach 3, 5, 7 und 10 Tagen erfolgte die Analyse der Milchproben mit den beiden IR-Geräten. Um den Einfluss des Transportes zu ermitteln, wurden die jeweiligen Proben nach der Messung mit dem einen IR-Gerät per Post in das andere Laboratorium versandt und dort mit dem zweiten IR-Gerät untersucht.

Bei der Auswertung mussten von den 32 Proben zwei verworfen werden; eine Probe wurde während des Transportes beschädigt, die andere war aus unerklärlichen Gründen unbrauchbar. Die in beiden Labors ermittelten Resultate waren identisch, was beweist, dass der Probentransport keinen Einfluss hat. In Tabelle 7 sind die Resultate der Varianzanalyse und in Tabelle 8 die Mittelwerte, die Mittelwerte der Differenzen zwischen Tag 0 und Analysentag und der Standardabweichung, aufgeführt. Die pH-Werte wurden vor den Untersuchungen gemessen.

Wie Tabellen 7 und 8 zeigen, hat eine Aufbewahrung der mit Bronopol konservierten Milchproben bis zu 10 Tagen bei 4 °C keinen signifikanten Einfluss auf den Gesamteiweissgehalt. Nach FIL-/IDF-Standard (12) dürfen konservierte Proben bis zwei Wochen aufbewahrt werden, ohne dabei signifikante Veränderungen aufzuweisen.

Die Varianzanalyse in Tabelle 7 zeigt, dass der pH der Milchproben keinen signifikanten Einfluss auf den Caseingehalt hat. Der Einfluss der Aufbewahrungsdauer lag an der Signifikanzgrenze.

Es wurde auch kein signifikanter Einfluss von pH auf das Gesamteiweiss während der Lagerung der Milchproben im Kühlschrank bis zu 10 Tagen festgestellt. Messungen ergaben, dass nach 10 Tagen die pH-Veränderungen vernachlässigbar klein waren ( $\pm 0,04$ ). Die Kühllagerung von einwandfreien Milchproben

Table 7. Results of the variance analysis for the protein contents of milk

Varianzursache	FG	SQ	DQ	F-Wert	$p^1$
<b>Gesamteiweiss</b>					
Tag	1	0,00283	0,00283	0,18	0,6733
pH-Milch	1	0,00270	0,00270	0,17	0,6807
Rest	27	0,42047	0,01557		
korrigiertes Total	29	0,42490			
<b>Casein</b>					
Tag	1	0,02631	0,02631	3,92	0,0583
pH-Milch	1	0,00445	0,00445	0,66	0,4228
pH-Filtrat	1	0,06722	0,06722	10,02	0,0039**
Rest	26	0,17440	0,00671		
korrigiertes Total	29	0,28195			

<sup>1</sup> \* =  $p \leq 0,05$  schwach signifikant  
 \*\* =  $p \leq 0,01$  signifikant  
 \*\*\* =  $p \leq 0,001$  hoch signifikant

Table 8. Mean values ( $\bar{x}$ ) and standard deviation ( $s$ ) of the absolute differences (Diff.) between Tag 0 and Analysentag (IR-Method)

Analysentag		Gesamteiweiss	NCP	Casein
		g/100 g		
Tag 0	$\bar{x}$	3,303	0,725	2,578
Tag 3	$\bar{x}$	3,300	0,722	2,578
	Diff.	+ 0,003	- 0,003	0,000
	$s$	0,012	0,003	0,014
Tag 5	$\bar{x}$	3,307	0,698	2,608
	Diff.	- 0,003	- 0,027	+ 0,030
	$s$	0,009	0,002	0,010
Tag 7	$\bar{x}$	3,317	0,670	2,647
	Diff.	+ 0,013	- 0,055	+ 0,068
	$s$	0,013	0,004	0,012
Tag 10	$\bar{x}$	3,322	0,658	2,663
	Diff.	+ 0,018	- 0,067	+ 0,085
	$s$	0,013	0,008	0,016

changes the pH-value insignificantly and the influence on the measurement results of the total protein content by IR-method is insignificant. On average the pH-values on Tag 0 were at pH 6,58 ( $s = 0,015$ ).

Die in der Literatur angegebenen extremen pH-Einflüsse basieren auf extremen pH-Werten, welche durch Zugabe von Fettsäuren (14) oder HCl und NaOH (3), nicht aber durch Kühllagerung der Milchproben, verursacht wurden.

### *Region und Rasse*

Die Frage des Einflusses von Region und Rasse ist für die vorliegende Arbeit von Bedeutung, da die Versuche mit Milchproben verschiedener Rassen (Fleck- und Braunvieh) und Regionen (Mittelland und Nordostschweiz) unter folgenden Bedingungen durchgeführt wurden:

- Zwei IR-Geräte (Milko-Scan 605) wurden vom Ausführenden in zwei Laboratorien (regionale Laboratorien) bedient.
- Die Eich- bzw. Kontrollproben wurden mit der Kjeldahl-Methode in einem dritten Laboratorium (Zentrallabor) ebenfalls vom Ausführenden untersucht.

Die durchgeführten Bestimmungen der N-Fractionen ermöglichten es, der Frage des Einflusses von Region und Rasse nachzugehen. Der Vergleich der Resultate ergab keine signifikanten Regionen- bzw. Rasseneinflüsse, weder bei der Wiederholbarkeit noch bei der Richtigkeit der Messungen von Gesamteiweiß- oder Caseingehalt mittels IR-Geräten. Diese Feststellung gilt nur für den Fall, dass die IR-Geräte wöchentlich mit den Kontrollproben geprüft werden. Die von *Sjaunja* (24) festgestellten Rasseneinflüsse auf die Messergebnisse sind auf die sehr unterschiedlichen Eiweißgehalte der Milch, wie sie bei Swedish Jersey (SJB) gegenüber Swedish Red und White (SRB), Swedish Friesian (SLB) und Kreuzungen zwischen SRB und SLB auftreten, zurückzuführen.

### **Schlussfolgerung**

Angaben über den Eiweißgehalt der Milch sind wichtig, sowohl für die Verarbeitung wie auch für Züchtungszwecke. Dies erfordert Massenanalysen, die mit den aufwendigen und zeitraubenden chemischen Methoden kaum zu realisieren sind.

Für die Konservierung von Milchproben wurde das Konservierungsmittel Bronopol (0,02%) verwendet. Bei der Bestimmung von Gesamteiweiß wurden bei einer Aufbewahrung der Milch bis 10 Tage bei 4 °C keine signifikanten Unterschiede zwischen der IR- und Kjeldahl-Methode festgestellt. Bei der Bestimmung des Caseins hingegen traten nach über 5tägiger Aufbewahrung bei 4 °C signifikante Unterschiede auf, vermutlich wegen der Hydrolyse des Caseins. Nach 5 Tagen wurden rund 99% und nach 10 Tagen noch 96,5% des ursprünglichen Caseingehaltes gefunden. Daraus ist zu folgern, dass eine mit Bronopol konservierte Milchprobe zur Messung des Caseingehaltes mittels IR-Methode nur bis zum Alter von 5 Tagen gelagert werden sollte. Bronopol ist somit als Konservierungsmittel in der Eiweißuntersuchung geeignet.



Bei der Bestimmung des Eiweiss- und Caseingehaltes der Milch mittels IR-Methode dienten 8 Eichstandardmilchen, mit Eiweissgehalten zwischen 2,87% und 3,60%, zur Eichung der IR-Geräte. Die Werte für Gesamteiweiss und Casein wurden nach der Kjeldahl-Methode (Referenz) bestimmt. Während der 16monatigen Versuchsdauer wurden die IR-Geräte (2 Milko-Scan 605) 3mal geeicht: im Februar und Oktober 1989 und Februar 1990. Zusätzlich zu dieser Eichung wurden die IR-Geräte wöchentlich mit 5–7 Milchproben, deren Gesamteiweiss- und Caseingehalt nach der Kjeldahl-Methode bestimmt wurde, auf die Richtigkeit der Resultate überprüft. Dies hat sich als nützlich erwiesen und sollte auch in Kontrolllaboratorien angewandt werden.

Die Richtigkeit der IR-Methode, verglichen mit der Kjeldahl-Methode als Referenzmethode, ist sehr stark von der Eichung abhängig. Untersuchungen zeigen, dass mit der IR-Methode vergleichbare Resultate wie mit der Referenzmethode erzielt werden können.

Minime Veränderungen der pH-Werte, welche für die Messung des Gesamteiweisses von keiner Bedeutung sind, spielen doch noch eine Rolle bei der Caseinbestimmung. Bei der Kalibrierung der IR-Geräte ist es darum wichtig, die pH-Werte des Filtrates zu berücksichtigen, indem entweder das Messresultat entsprechend korrigiert (3) oder der pH-Wert des Kalibrierungsstandards mit demjenigen des zu messenden NCN-Filtrates ausgeglichen wird. Für die Untersuchungen wurde das Ausgleichen von pH-Werten gewählt.

Für die Caseinbestimmung mit der angewandten Casein-Trennmethode wurde eine relative Richtigkeit (CV) von 1,25 erzielt (Tabelle 5). Diese liegt zwischen der von *Sjaunja* und *Schaar* (3) ermittelten CV von 1,95 ( $n = 29$ ) und 0,82 ( $n = 36$ ) bei *Barbano* und *Dellavalle* (4). *Karman* et al. (16) erzielten CV von 1,5 ( $n = 37$ ).

In der Literatur sind keine vergleichbaren Angaben über den Einfluss der Aufbewahrungsdauer auf den Caseingehalt der Milch zu finden. Für die Bestimmung des Caseingehaltes dürfen nach unserem Befund die Milchproben nicht länger als 5 Tage im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Im Gegensatz zur Bestimmung des Gesamteiweissgehaltes in der Milch ist die Bestimmung von Nicht-Caseineiweiss (Nicht-Cn-Eiweiss) stark temperaturabhängig. Temperaturunterschiede von  $\pm 3$  °C beeinflussen die Resultate bereits signifikant. Bei einer Erhöhung der Filtrattemperatur von 38 auf 41 °C vermindert sich das Eiweiss um 0,004 g/100 g (relativ 0,6%).

Die Wiederholbarkeit beim Einsatz von IR-Geräten für die Bestimmung des Eiweisses wird in der Literatur, im Durchschnitt, besser als diejenige für die Kjeldahl-Methode (Referenzmethode) und auch besser als die von FIL/IDF für das Eiweiss angegebenen Grenzwerte beurteilt. *Rudzik* (25) zieht sogar die Schlussfolgerung, dass die IR-Analyse genauer ist als sämtliche übrigen Methoden zur Eiweissbestimmung in der Milch.

Die Vorteile der IR-Methode für die Bestimmung des Eiweiss- und Caseingehaltes bezüglich Rationalisierung, Automatisierung, Einsatz von Chemikalien und Umweltbelastung, Einfachheit der Bedienung und Sicherheit konnten bestätigt werden. Mit dem Milko-Scan 605 z.B. können bis zu 360 Milchproben pro Stunde auf Eiweiss-, Fett- und Lactosegehalt analysiert werden.

## Zusammenfassung

Die Infrarot-(IR-)Bestimmung des Caseins erfolgte nach dem Prinzip von Gesamteiweiss minus Filtrateiweiss (nach der Gerinnung des Caseins mit Chymosin). Nach der Optimierung der Bedingungen für die Entfernung von Casein aus Milch waren die Ergebnisse der IR-Caseinbestimmung vergleichbar mit der Kjeldahl-Methode; die relative Richtigkeit betrug  $CV = 1,25\%$ .

Einflussfaktoren auf die IR-Resultate wie Fett, Lactose, Citrat und Nicht-Eiweiss-Stickstoff-(NPN-)Gehalt werden besprochen, und untersucht wurden die Messtemperatur, Aufbewahrungsdauer sowie Rasse und Region. Bei der Bestimmung von Gesamteiweiss wurden bei einer Aufbewahrung der Milch bis 10 Tage bei  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  keine signifikanten Unterschiede zwischen der IR- und Kjeldahl-Methode festgestellt. Bei der Bestimmung des Caseins hingegen traten nach über 5tägiger Aufbewahrung bei  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  signifikante Unterschiede auf. Ein Temperaturunterschied von  $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  beeinflusste die Richtigkeit und/oder die Wiederholbarkeit nicht signifikant. Für die Messungen, besonders bei Filtrat, eignet sich ein Probenvolumen von 6 ml.

## Résumé

La détermination par infrarouge (IR) de la caséine a été effectuée selon le principe teneur en protéine brute moins teneur en protéine du filtrat (après coagulation de la caséine avec de la chymosine). Après optimisation des conditions permettant l'élimination de la caséine du lait, les résultats de la détermination de la caséine par IR étaient comparables à ceux obtenus selon la méthode Kjeldahl; le coefficient de variation de la précision relative était de  $1,25\%$ .

Les facteurs influençant les résultats de la détermination avec la méthode à l'IR, tels la teneur en lipides, en lactose, en citrate et en azote non protidique (NPN) sont discutés; l'influence de la température des échantillons, de la durée de conservation ainsi que de la race et de la région est analysée. Lors de la détermination de la teneur en protéine brute, aucune différence n'a été notée entre la méthode à l'IR et la méthode de Kjeldahl après conservation du lait jusqu'à 10 jours à  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Par contre, lors de la détermination de la caséine, des différences significatives sont apparues après une conservation de 5 jours à  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Une différence de  $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  n'a pas influencé significativement l'exactitude et/ou la répétition des résultats. Pour les dosages, un volume d'analyse de 6 ml est parfaitement approprié, en particulier pour le volume d'analyse de 6 ml est filtrat.

## Summary

The determination of casein by the infrared (IR) method is based on the difference between the total protein in milk and noncasein protein of the filtrate (after precipitation of casein with chymosin). The results of the IR method were comparable to those of the Kjeldahl method; the relative accuracy (coefficient of variation, CV) was estimated to be at  $CV = 1.25\%$ .

Factors affecting the results of IR measurements, such as fat, lactose, citric acid and non-protein nitrogen (NPN) content are discussed and the effect of the temperature of measurement, storage time and of breed and region were studied. The differences between the results of IR analyses of total protein contents of milk samples stored 10 days at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  and

of the Kjeldahl method were not significant but the differences of casein content were significantly affected after 5 days. Temperature difference of  $\pm 2$  °C of the milk sample affected the accuracy and/or the repeatability of IR analyses not significantly. A sample volume of 6.0 ml was found to be emphasized for the IR analyses of noncasein protein filtrate.

### Literatur

1. *Goulden, J.D.S.*: Analysis of milk by infra-red absorption. *J. Dairy Res.* **31**, 273–284 (1964).
2. *Rowland, S.J.*: The determination of the nitrogen distribution in milk. *J. Dairy Res.* **9**, 42–46 (1938).
3. *Sjaunja, L.-O.* and *Schaar, J.*: Determination of casein in milk by infrared spectrophotometry. *Milchwissenschaft* **39**, 288–290 (1984).
4. *Barbano, D.M.* and *Dellavalle, M.E.*: Rapid method for determination of milk casein content by infrared analysis. *J. Dairy Sci.* **70**, 1524–1528 (1987).
5. *Casado, C.P., Pena, H.J.* and *Cardon, V.*: [Rapid determination of casein in milk.] *Dairy Sci. Abstr.* **53**, 595, Nr. 4766 (1991).
6. *Biggs, D.A., Johnsson, G.* and *Sjaunja, L.-O.*: Analysis of fat, protein, lactose and total solids by infra-red absorption. *FIL/IDF Bull.* Nr. 208: 21–30 (1987).
7. *Sherbon, J.W.*: Physical properties of milk. In: Wong, N.P. et al., *Fundamentals of dairy chemistry*, 3. Edition, p. 409–460. Van Nostrand Reinhold Company, New York. 1988.
8. MSc 605 Technical manual, A/S N. Foss Electric.
9. *Gecks, E.*: Verbesserung der Fettbestimmung im Infrarot-Messverfahren. *Dte. Molk.-Ztg.* **102**, 1230–1234 (1981).
10. *Kold-Christensen, S.*: Improved infra-red analysis for fat measurement in milk. XXI International dairy congress. Brief communications, Vol. 1, Book 1, 175. Mir Publishers, Moscow 1982.
11. *Sjaunja, L.-O.* and *Andersson, I.*: Laboratory experiments with a new infrared (IR) milk analyzer, the Milko-Scan 605. *Acta Agric. Scand.* **35**, 345–352 (1985).
12. FIL/IDF: Provisional Standard Nr. 141: 1988, First Revision (1989).
13. *Kerkhof Mogot, M.F., Koops, J., Neeter, R., Slangen, K.J., Van Hemert, H., Kooyman, O.* and *Wooldrik, H.*: Routine testing of farm tank milk with the Milko-Scan 203. I. Calibration procedure and small-scale experiments. *Neth. Milk Dairy J.* **36**, 115–133 (1982).
14. *Sjaunja, L.-O.*: Studies on milk analyses of individual cow milk samples. II. Factors affecting milk analyses by infrared technique under laboratory conditions. *Acta Agric. Scand.* **34**, 260–272 (1984).
15. *Johnston, K.A.*: Evaluation of the multispec instrument for infra-red estimation of milkfat, protein and lactose in raw milk. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.* **17**, 141–146 (1982).
16. *Karman, A.H., Van Boekel, M.A.J.S.* and *Arentsen-Stasse, A.P.*: A simple and rapid method to determine the casein content of milk by infrared spectrophotometry. *Neth. Milk Dairy J.* **41**, 175–187 (1987).
17. FIL/IDF: Guide for the determination of milkfat, protein and lactose content by mid-infra-red instruments. E-Doc 299 (1987).
18. FIL/IDF Provisional Standard Nr. 128: 1985.
19. *Heinrich, U.*: Erfahrungsbericht über den Einsatz der MILKO-SCAN 104 im Betriebslabor eines grosstädtischen Versorgungsbetriebes. *Dte. Molk.-Ztg.* **100**, 1670–1673 (1979).

20. *Van De Voort, F.R., Kermasha, S., Smith, J.P., Mills, B.L. and Ng-Kwai-Hang, K.F.*: A study of the stability of record of performance milk samples for infrared milk analysis. *J. Dairy Sci.* **70**, 1515–1523 (1987).
21. *Ng-Kwai-Hang, K.F., Moxley, J.E. and Van De Voort, F.R.*: Factors affecting differences in milk fat test obtained by Babcock, Rose-Gottlieb, and infrared methods in protein test from infrared milk analysis. *J. Dairy Sci.* **71**, 290–298 (1988).
22. *Ribadeau-Dumas, B. and Grappin, R.*: Milk protein analysis. *Le Lait* **69**, 357–416, INRA Elsevier (1989).
23. *Lynch, J.M. and Barbano, D.M.*: [Variation in the ash and nonprotein nitrogen content of milk, and use of milk protein content to predict milk ash content.] *Dairy Sci. Abstr.* **53**, 150, Nr. 1239 (1991).
24. *Sjaunja, L.-O.*: Studies on milk analyses of individual cow milk samples. III. The effect of different treatments on infrared analyses. *Acta Agric. Scand.* **34**, 273–285 (1984).
25. *Rudzik, L.*: Möglichkeiten und Grenzen infrarotspektrophotometrischer Untersuchung (NIR/MIR) in der Milch- und Lebensmittelindustrie. *Dte. Molk.-Ztg.* **108**, 1090–1096 (1987).

Dr. F. Taha  
Prof. Dr. Z. Puhan  
Institut für Lebensmittelwissenschaft  
Labor für Milchwissenschaft  
ETH-Zentrum  
CH-8047 Zürich