

Christine Bürger, Dresden, und Thomas Nacke, Heilbad Heiligenstadt

# Zellzahlbestimmung in der Rohmilch

*Der Gehalt an somatischen Zellen in der Rohmilch ist ein wichtiges Qualitätskriterium. Er lässt Rückschlüsse auf die Tier- und Eutergesundheit zu, beeinflusst die Verwertbarkeit der Rohmilch und bestimmt damit die Effizienz der Milcherzeugung.*

*Aus diesem Grund wurde ein Verfahren aus der Biotechnologie zur Online-Bestimmung der Zellzahl in Nährlösungen auf seine Anwendbarkeit bei der Milcherzeugung untersucht.*

Dr.-Ing. Christine Bürger ist wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl Landmaschinen der Technischen Universität Dresden, Bergstr. 120, 01069 Dresden (Leiter: Prof. Dr.-Ing. habil. Gerd Bernhardt); e-mail: buerger@landmaschinen.tu-dresden.de

Dipl.-Ing. Thomas Nacke ist wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V., Rosenhof, 37308 Heilbad Heiligenstadt (Leiter: Prof. Dr. Dieter Beckmann); e-mail: thomas.nacke@iba-heiligenstadt.de  
Die Untersuchungen wurden von der DFG gefördert.

## Schlüsselwörter

Somatische Zellzahl, Milch Inhaltsstoffe, Elektroimpedanzspektroskopie

## Keywords

Somatic cell count, milk contents materials, electrical impedance spectroscopy

## Literatur

Literaturhinweise sind unter LT 05313 über Internet <http://www.landwirtschaftsverlag.com/landtech/localliteratur.htm> abrufbar.

Ausgehend von der Milchhygieneverordnung ist in konventionellen Melkständen vor dem Melken eine visuelle Prüfung der Milchbeschaffenheit für jedes Euterviertel durchzuführen. In automatischen Melkständen, in denen keine visuelle Vorgemelksprüfung mehr möglich ist, wird die Online-Messung der elektrischen Leitfähigkeit für jedes Euterviertel zur Prüfung der Milchbeschaffenheit benutzt; sie wird auch zur Prüfung des Gesamtgemelkes in konventionellen Melkständen eingesetzt. Veränderungen der Rohmilch in Verbindung mit Eutererkrankungen können mit dieser Messmethode nicht eindeutig erkannt werden.

Zur Prüfung des Vorgemelkes in konventionellen Melkständen gibt es noch keine praktikablen Lösungen in Echtzeit. Es besteht Bedarf an einer praxistauglichen Online-Messtechnik, mit der frühzeitig eine beginnende Mastitis verbunden mit einem Anstieg der somatischen Zellzahl ( $\geq 300 \cdot 10^3$  Zellen/ml) erkannt werden kann.

## Ausgangssituation

In der Biotechnologie wird das Wachstum von Zellen (Biomasse) während der Fermentation oder in Suspensionen erfolgreich mit den Methoden der Elektroimpedanzspektroskopie (Bestimmung des Wechselstromwiderstandes) [1, 2, 3, 4, 5, 8] angewendet. Bei Zellkonzentrationen ab 100000 Zellen/ml wird die Abhängigkeit zwischen den messbaren frequenzabhängigen elektrischen Eigenschaften wie Impedanz, Kapazität, Wirkleitwert, Phasenverschiebung und der Zell-

zahl im Frequenzbereich von 10 kHz bis 10 MHz gut abgebildet. Das Wachstum der Zellmasse, Zellzahl/Volumeneinheit, wird in Echtzeit messtechnisch gut erfasst, beispielsweise das Wachstum der Hefezellen bei der Bierherstellung.

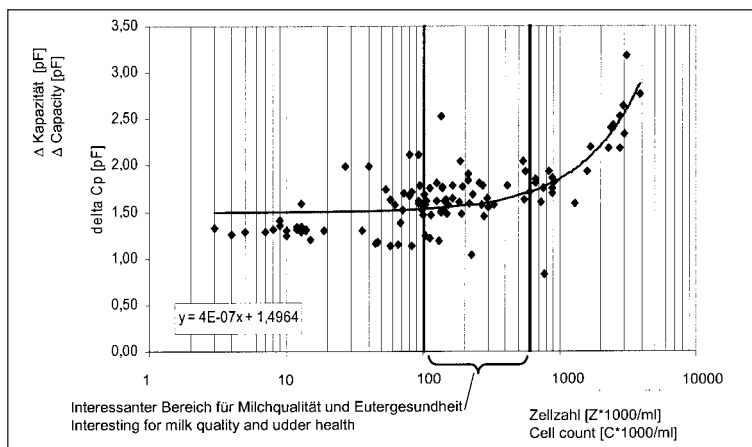
Es existieren umfangreiche Untersuchungen zu den elektrischen Eigenschaften von Zellen und zu den Frequenzbereichen, in denen aussagefähige Messergebnisse erzielt werden.

Diese elektrisch messbaren Eigenschaften basieren auf dem hohen Widerstand der Zellmembran. Jede lebende Zelle ist von einer Zellmembran umgeben, die den im Zellinneren vorhandenen Elektrolyt von dem Elektrolyt außerhalb der Zelle trennt. Legt man eine Wechselspannung über Elektroden an die Untersuchungssuspension an, so verhalten sich die Zellen wie kleine Kondensatoren; es wird eine von der Zellzahl abhängige Kapazität gemessen.

Die Messung der Zellkonzentration in Suspensionen ist heute bereits ab 10000 Zellen/ml möglich. Dies war der Ausgang für die Überlegung mit dieser Methodik Zellen in Rohmilch zu erfassen und mathematische/physikalische Zusammenhänge zu finden. Für Testuntersuchungen wurde ein vorhandener Messplatz für Zellsuspensionen genutzt. In Rohmilch mit unterschiedlicher Zellkonzentration wurden die Kapazität  $C$ , die Phasenverschiebung  $\phi$ , der elektrische Leitwert  $G$ , der Wirkwiderstand  $R$  (Realteil der Impedanz  $Z$ ) und der Blindwiderstand  $X$  (Imaginärteil der Impedanz  $Z$ ) in einem Frequenzbereich von 10 kHz bis 10 MHz ge-

Bild 1: Verhalten der Kapazität in Abhängigkeit von der Zellzahl ( $\Delta C$ : 400 kHz - 10 MHz)

Fig. 1: Change of capacity as a function of the somatic cell count ( $\Delta C$ : 400 kHz - 10 MHz)



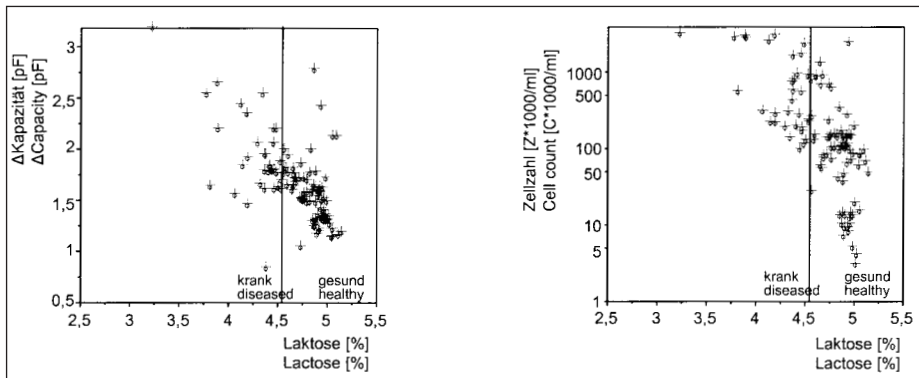


Bild 2: Verhalten von Kapazität und Zellzahl in Abhängigkeit vom Laktosegehalt

Fig. 2: Change of capacity and somatic cell count as a function of lactose content

messen. Für die Auswertung und Darstellung wird die Differenz der Kapazitäten bei 400 kHz und 10 MHz gebildet und in Abhängigkeit von der Zellzahl dargestellt (Bild 1).

Im für die Milchqualität interessanten Bereich bis 500000 Zellen liegt keine zufriedenstellende Korrelation zwischen Messwert  $\Delta C$  und Zellzahl vor. Ab 600000 Zellen/ml deutet sich ein Zusammenhang an, der mit steigender Zellzahl zunimmt. Später konnte für hohe Zellzahlzahlen diese Merkmalsausprägung immer festgestellt werden.

### Experimentelle Untersuchungen

Systematische Untersuchungen zur Zellzahlbestimmung in Rohmilch wurden mit zwei Zielen durchgeführt:

- Optimierung der Messtechnik und der Messbereiche
- Bestimmung des Einflusses der Milch Inhaltsstoffe

### Messtechnik und Messbereich

Durch die permanente Weiterentwicklung dieses Messprinzips (weltweit) in der Biotechnologie und in der Medizintechnik sind die theoretischen Grundlagen sehr weit entwickelt und es liegen messtechnische Lösungen für verschiedenste Einsatzgebiete vor [3]. Die Aufgabe besteht für das multidisperse biologische System Rohmilch darin, Grundlagen zu entwickeln und die vorliegenden Ergebnisse aufzubereiten. Erforderlich sind Untersuchungen zu:

- Hard- und Softwarekomponenten der Messtechnik
- Elektroden - Anzahl, Form, Material und Anordnung in der Messkammer
- Messkammer - Geometrie, Volumen, Material
- Messtemperatur und Frequenzbereich

Die Änderung eines Merkmales erfordert umfangreiche Untersuchungen, um den Einfluss auf das Messergebnis nachzuweisen. Die Messwerte der Kapazität liegen im Bereich von  $10^{-12}$  F. Jede Änderung, die zur

Verbesserung der Messgenauigkeit beiträgt, ist von Bedeutung.

### Ergebnisse

Für verschiedene Medien sinken mit zunehmender Temperatur bei Frequenzen über 50 kHz die Impedanz und die relative Permittivität; im Frequenzbereich ab 2 MHz steigt bei KCl-Lösung und Rohmilch die Impedanz wieder an. Hier sind noch systematische Untersuchungen erforderlich.

Bei konstanter Zellzahl steigt mit Zunahme des Messvolumens die Kapazitätsdifferenz  $\Delta C$ . Wird bei konstantem Messvolumen die Zellzahl erhöht, steigt der Messwert  $\Delta C$  ebenfalls.

In Untersuchungen zum Einfluss der Temperatur und des Probenvolumens wurde teilweise ein gegenläufiges Verhalten in verschiedenen Frequenzbereichen beobachtet. Hier sind noch umfangreiche Untersuchungen zu den funktionellen Zusammenhängen erforderlich.

### Milch Inhaltsstoffe

Die unterschiedliche Konzentration der Hauptinhaltsstoffe in der Rohmilch (Fett, Eiweiß, Laktose) der einzelnen Kühe spiegeln sich im gesamten gemessenen Frequenzbereich der Impedanz und den daraus berechneten Messgrößen wider. Die gemessenen Kapazitäten und Widerstände werden von den Milch Inhaltsstoffen beeinflusst und führen bei gleicher Zellzahl zu unterschiedlichen Werten. Bei Milch besteht die Problematik, dass:

- sich die Konzentration der Inhaltsstoffe und der somatischen Zellen während des Melkens verändert
- sich die Konzentration der Inhaltsstoffe und der somatischen Zellen von Melkzeit zu Melkzeit verändert
- Milchproben altern (Säuerung, Veränderung der Eiweißfraktionen)
- Milchproben tierindividuell sind

Systematische Untersuchungen zur Probenahme und zum Einfluss der Milch Inhaltsstoffe sind erforderlich.

### Ergebnisse

Impedanzspektroskopische Untersuchungen zum Einfluss von Eiweiß (Casein) und Fett (Mischung aus Butter mit 83 % Fettgehalt und 0,08 % Lecetin als Emulgator) jeweils gelöst in Pufferlösung führten zu keinem Ergebnis. Ein Grund kann sein, dass mit Fraktionen gearbeitet wurde (Eiweiß) und dass die Inhaltsstoffe verändert wurden (Fett).

Die Fettkügelchen in der Rohmilch haben einen großen Einfluss auf dielektrischen Eigenschaften, vor allem auf die Leitfähigkeit. Sie sind zwar nicht polarisierbar wie die Zellen, aber sie behindern durch die Viskositäts-erhöhung die Wanderung freier Ladungsträger innerhalb eines elektrischen Feldes.

Bei Erkrankung an Mastitis sinkt der Laktosegehalt in der Rohmilch (bei steigender Zellzahl); als Grenzwert gilt 4,55 % [6]. Bei Laktose ändern sich die frequenzabhängigen elektrischen Eigenschaften mit steigendem Laktosegehalt: die Impedanz  $Z$  steigt, der Leitwert  $G$  und die Kapazität sinken (Bild 2).

Dieses Ergebnis war bereits in den Testuntersuchungen erkennbar. In [7] wird nach Optimierung der Messeinrichtungen eine Korrelation zwischen Wirkleitwert und Laktosekonzentration von 0,966 bei einem Bestimmtheitsmaß von 92,2 % erreicht (Bild 3).

In den Auswertungen zum Verhalten der Impedanz und des Phasenwinkels können im Kurvenverlauf in niedrigen Frequenzbereichen die einzelnen Kühe erkannt werden.

Die Kapazität besitzt einen hohen Streubereich; die Kurvenverläufe für einzelne Kühe überlagern sich. Sie kann derzeit für Auswertungen nicht herangezogen werden.

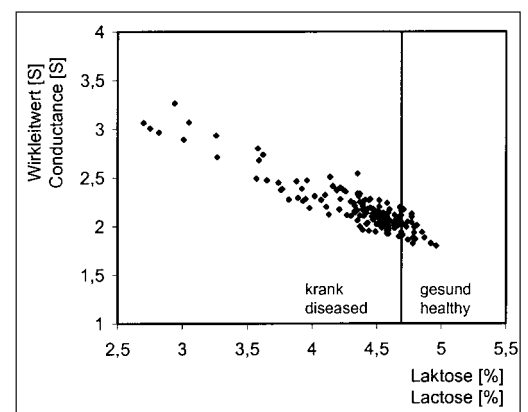


Bild 3: Abhängigkeit des Wirkleitwertes vom Laktosegehalt [7]

Fig. 3: Dependence of conductance from lactose content [7]