

Aminosäurezusammensetzung verschiedener Konsummilchen

Von Ch. Schirmer, H. Meisel

Institut für Chemie und Technologie der Milch, Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Standort Kiel, Postfach 6069, 24121 Kiel

1. Einleitung

Die wichtigsten Proteinfractionen in der Kuhmilch sind reich an essentiellen Aminosäuren, so dass die Milch eine hohe ernährungsphysiologische Qualität in der Ernährung des Menschen hat. Zudem hat das Milchprotein und insbesondere die Molkenproteine eine hohe Ergänzungswertigkeit. Das bedeutet, dass durch Kombination von Milchprodukten mit anderen Lebensmitteln, deren Proteine durch eine oder mehrere Aminosäuren begrenzt sind, die Proteinqualität dieser Lebensmittel verbessert werden kann (19).

Die Wärmebehandlung von Milch hat die Abtötung von pathogenen und anderen Mikroorganismen in einem derartigen Ausmaß zum Ziel, dass beim Verzehr der wärmebehandelten Milch kein gesundheitliches Risiko durch pathogene Mikroorganismen besteht (24). Neben dem positiven Effekt der Abtötung pathogener Keime bei der Wärmebehandlung von Milch ist die nachteilige Beeinflussung der Milchinhaltsstoffe, in Abhängigkeit von der Höhe und der Dauer der Temperatureinwirkung, unvermeidbar (7). So bewirkt beispielsweise die Erhitzung von Milch eine Denaturierung der Molkenproteine. Die denaturierten Molkenproteine assoziieren dann mit den Caseinmicellen, wie zum Beispiel das β -Lactoglobulin, das sich über Schwefelbrücken an das κ -Casein bindet (20). Bei der Sterilisation von Milch kommt es vermehrt zu Spaltung von Peptidbindungen, was den höheren Gehalt an Proteose-Peptide zur Folge hat. Zudem kann auch eine hitzeinduzierte Dephosphorylierung von an Serin gebundenen Phosphat des Caseins auftreten (10, 12). Bei der Erhitzung von Milch werden aber auch mehrere Aminosäuren beeinflusst. Kiszka und Borawski (1983) stellten zum Beispiel nach Pasteurisierung einer Magermilch bei 90 °C bis 92 °C für 12 bis 15 Sekunden im Vergleich zur ursprünglichen Rohmilch einen 5%igen Lysinverlust, einen 4,8%igen Methioninverlust und einen 3,4%igen Cysteinverlust fest (8). In weiteren Modellexperimenten sowie bei Untersuchungen kommerzieller Milchproben konnte gezeigt werden, dass bei der indirekten UHT-Erhitzung mit Plattenwärmeaustauschern die Lysinschädigung höher ist als bei der direkten UHT-Erhitzung durch Dampfinjektion (13). Dabei können die Lysinverluste aber auch Verluste an anderen Aminosäuren während der Milcherhitzung größtenteils auf die Maillard-Reaktion zurückgeführt werden (1).

Lactosereduzierte bzw. -freie Milch und Milchprodukte sind in der Ernährung von Menschen, die an einer Lactoseintoleranz leiden, von Bedeutung. Auf Grund der Spaltung von Lactose in Glucose und Galactose durch das Enzym Lactase (β -D-Galactosidase) (1) stehen in den lactosehydrolysierten Milchen mehr reduzierende Gruppen zur Verfügung. Dies führt vermutlich zu einer gesteigerten Maillard-Reaktion (25). Daher wurden in

lactosehydrolysierten Milchen 10% niedrigere Gehalte an verfügbarem Lysin als in nicht lactosehydrolysierten Milchen gefunden. Folglich war auch der Gehalt an freiem HMF in lactosehydrolysierten Milchen mit 4,5 $\mu\text{mol/l}$ höher als in nicht lactosehydrolysierten Milchen, wo der HMF-Gehalt nur 2,7 $\mu\text{mol/l}$ betrug (15).

In der Literatur sind nach Kenntnis der Autoren keine Untersuchungen dargestellt, die die Aminosäurezusammensetzung von Konsummilch unter Berücksichtigung der analytisch bedingten Zerstörungsrate beschrieben. Die vorliegende Arbeit erfolgte mit dem Ziel verlässliche Daten zur Aktualisierung von Angaben zu Aminosäuregehalten in Nährwerttabellen zu gewinnen.

2. Material und Methoden

2.1 Probenmaterial

Es wurden pasteurisierte, hocherhitzte und ultrahocherhitzte Vollmilchen, fettarme Milchen und Magermilchen sowie zusätzlich lactosefreie bzw. lactosereduzierte Milchen eingesetzt. Insgesamt wurden 33 verschiedene handelsübliche Konsummilchen analysiert.

2.2 Probenvorbereitung

Die vor der Aminosäureanalyse notwendige Proteinhydrolyse, der 100 mg getrockneten Milchproben, erfolgt mit jeweils 1 ml 6 mol/l HCl, die mit 1% Phenol versetzt ist, bei 110°C. Die Hydrolysezeit beträgt 4 bis maximal 140 Stunden. Als Hydrolysegefäße, die unter Vakuum verschweißt werden, dienen 1 ml Glasampullen (Wheaton, Millville NJ). Nach Beendigung der Hydrolyse werden die Proben im Speed Vac Concentrator vollständig wieder von der Salzsäure befreit.

Die Aminosäure Cystein unterliegt bei der salzsauren Hydrolyse einer starken Zerstörung, so dass sie als Oxidationsprodukt Cysteinsäure analysiert wird. Dazu werden die 100 mg Milchprobe jeweils mit 800 μl 6 mol/l HCl, die 1% Phenol enthält, 100 μl 12 mol/l HCl und 100 μl 2%igem Natriumazid versetzt und unter Vakuum für 24 Stunden bei 110°C hydrolysiert. Die übrigen Verfahrensschritte stimmen mit der oben beschriebenen salzsauren Hydrolyse überein.

2.3 Aminosäureanalyse

Für die quantitative Aminosäureanalyse wurde eine Ionenaustauschchromatographie mit Ninhydrin-Nachsäulenderivatisierung (Alpha Plus Amino Acid Analysator LKB 4151, LKB Biochrom Ltd. Cambridge Science, Park England) nach Spackmann, Moore und Stein (1958) (22) verwendet. Die hydrolysierten Milchproben werden zur Analyse jeweils in 1000 μl Probenverdünnungspuffer aufgenommen, von dem 100 μl ad 1000 μl Probenverdünnungspuffer überführt werden. Die Probenkapseln werden nach der Sandwich-Methode mit 40 μl der verdünnten Probe beschickt.

2.4 Tryptophanbestimmung im Spektralphotometer

Da Tryptophan bei der salzsauren Hydrolyse vollständig zerstört wird, muss die Aminosäure mit einer Salzsäure unabhängigen Methode bestimmt werden. Dies erfolgte im Spektralphotometer (UV/VIS Spectrometer Lambda 20 & 40 Nr. 0993-5047, Bodensee-

werk Perkin-Elmer GmbH, Überlingen) mittels Derivativspektroskopie. Das Prinzip dieser Tryptophanbestimmung im Gesamtprotein beruht darauf, dass das Tryptophan im Derivativspektrum (4. Ableitung) bei 294 nm ein Minimum aufweist. Dazu wird die Probe in 6 mol/l Guanidiniumchlorid gelöst, um eine Exponierung der proteingebundenen aromatischen Aminosäuren zu ermöglichen und um eine homogen Umgebung für die chromophore Gruppe zu erreichen. (2, 11)

2.5 Berechnungen und statistische Auswertungen

Um die Aminosäurenverluste während der salzsauren Hydrolyse zur Hydrolysezeit Null zu korrigieren, wurden die Analyseergebnisse unter Hilfenahme der nachstehenden Formel von Hirs et al. (1954) (6) extrapoliert. Dabei beträgt $t_1 = 24$ h und $t_2 = 48$ h.

$$\log c_0 = \left(\frac{t_2}{t_2 - t_1} \right) \log c_1 - \left(\frac{t_1}{t_2 - t_1} \right) \log c_2$$

Für die statistische Datenauswertung wurde SPSS für Windows Version 11.5.1 verwendet. Es wurde der $MW \pm s$ ermittelt sowie eine univariate Varianzanalyse (Tests der Zwischensubjekteffekte Erhitzungsgrad und Fettgehalt der Konsummilchen) durchgeführt. Des Weiteren wurde ein Post-Hoc-Test vorgenommen, der den zweiseitigen Dunnett-T-Test (Mehrfachvergleich, bei denen eine Gruppe als Kontrollgruppe behandelt wird und mit allen anderen Gruppen verglichen wird, basierend auf den beobachteten Mittelwerten) und den Tukey-B-Test (die Mittelwerte der Gruppen werden in homogenen Untergruppen angezeigt) beinhaltet.

3. Ergebnisse

3.1 Validierung der Methoden

3.1.1 Zerstörungsrate bei der salzsauren Hydrolyse

Zur Erstellung der Zerstörungsreihe wurde eine pasteurisierte Vollmilch 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 72 h, 100 h und 140 h hydrolysiert. Die Zerstörungsreihen der einzelnen Aminosäuren sind in der Abbildung 1 A-D dargestellt.

Bei der salzsauren Hydrolyse wird die Aminosäure Tryptophan vollständig zerstört. Einer starken Zerstörung unterliegt auch die schwefelhaltige Aminosäure Cystein (Abb. 1B), so dass diese bei einer Hydrolysezeit von mehr als 12 Stunden, nicht mehr nachweisbar ist. Daher erfolgen die Bestimmungen dieser beiden Aminosäuren mittels Nachweismethoden, die keine Zerstörung bedingen.

Die Messwerte der Zerstörungsreihen von Arginin und Histidin verlaufen, wie in der Abbildung 1D zu sehen ist, nahezu parallel zur Abszisse. Daraus kann geschlossen werden, dass die beiden Aminosäuren nur einer geringen bis gar keiner Zerstörung bei der salzsauren Hydrolyse unterliegen. Folglich wird hier auf eine Extrapolation verzichtet, da diese zu einem größeren Fehler führen könnte, als wenn nur der Wert der 24-Stunden Hydrolyse analysiert wird.

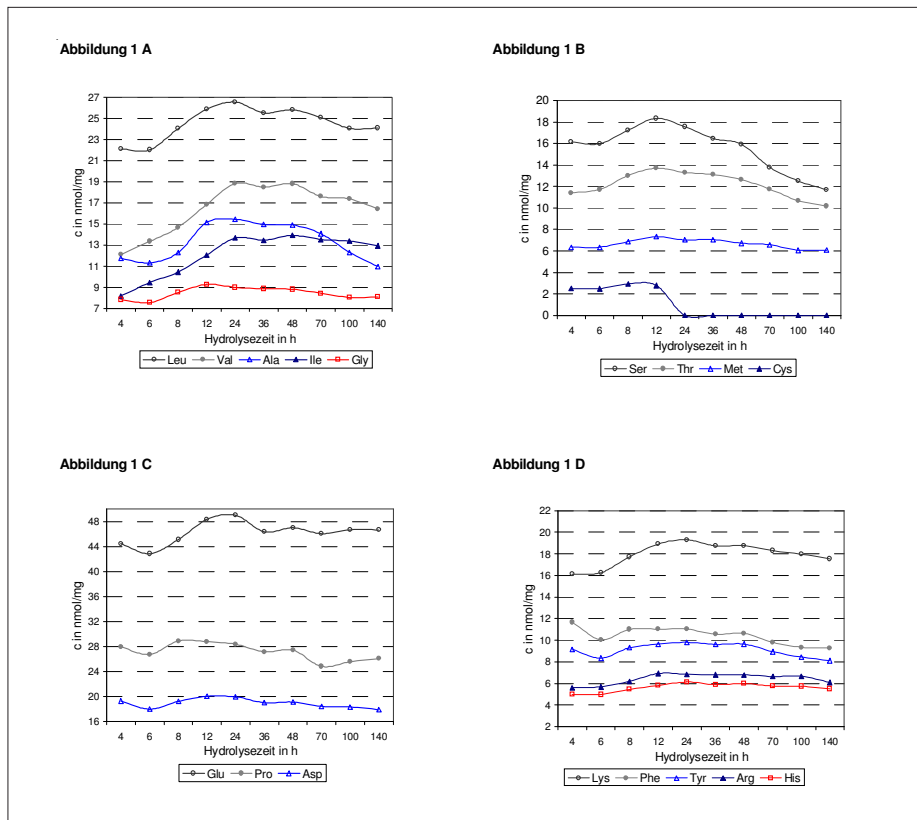


Abb. 1: Zerstörungsreihen der einzelnen Aminosäuren bei der salzsaurigen Hydrolyse einer pasteurisierten Vollmilch

Eine ähnliche Problematik besteht auch bei den Aminosäuren Isoleucin und Valin, was in der Abbildung 1A dargestellt ist. Deren Messwerte steigen in den ersten 24 Hydrolysestunden stark an und verbleiben, insbesondere beim Isoleucin, dann über einen längeren Hydrolysezeitraum stabil. Daher wird Isoleucin nur mittels der 24-stündigen Hydrolyse ausgewertet. Allerdings hat sich bei den eigentlichen Analysen der Konsummilchen, hinsichtlich der Aminosäuren Isoleucin und Valin, ein Unterschied zwischen den pasteurisierten und ultrahocherhitzten Milchen gezeigt. Die ultrahocherhitzten Milchen wiesen, im Gegensatz zu den pasteurisierten bzw. hocherhitzten Milchen, bei der 48-stündigen Hydrolyse höhere Messwerte für Isoleucin und Valin als bei der 24-stündigen auf. Deshalb werden die Aminosäuren Isoleucin und Valin in ultrahocherhitzten Milchen nur mittels des 48-Stunden Hydrolysewertes berechnet.

Für die übrigen Aminosäuren Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tyrosin und Valin (ausgenommen UHT-Milchen), ist eine Extrapolation von Vorteil, da diese Aminosäuren während der salzsaurigen Hydrolyse einer ständigen Zerstörung unterworfen sind (Abb. 1A- D). Als die am besten geeignete Hydrolysezeit-Kombination für die Extrapolation anhand der Formel von Hirs et al. (1954) (6) konnte die 24/48-Stundenkombination festgelegt werden.

3.1.2 Einfluss der salzsauren Hydrolyse mit Natriumazid zur Bestimmung von Cystein als Cysteinsäure

Die salzsaure Hydrolyse mit Zusatz von Natriumazid zur Bestimmung von Cystein weist bei allen Milchsorten niedrigere Messwerte als die salzsaure Hydrolyse ohne Natriumazid auf. Dabei fallen die UHT-Milchen mit bis zu 20% niedrigeren Messwerten besonders auf. Einen sehr geringen Unterschied zwischen den beiden Hydrolysemethoden zeigen dagegen die lactosefreien UHT-Milchen. Die pasteurisierten und die hocheerhitzten Milchen weisen um 3% bis 10% niedrigere Messwerte auf.

Es bestehen aber auch erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Aminosäuren bezüglich der niedrigeren Messwerte bei der salzsauren Hydrolyse mit Natriumazid im Vergleich zur salzsauren Hydrolyse ohne Natriumazid-Zugabe. Die Aminosäuren Threonin und Histidin zeigen bei der Hydrolyse mit Natriumazid sogar geringfügig höhere Werte als bei der salzsauren Hydrolyse. Den höchsten prozentualen Unterschied mit annähernd 30% weist Methionin, gefolgt von der Glutaminsäure mit fast 15%, auf. Die übrigen Aminosäuren bewegen sich mit ihren geringeren Messwerten bei der Hydrolyse mit Natriumazid zwischen 2% und 11%.

3.2 Aminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchen

3.2.1 Vergleich der verschiedenen Konsummilchsorten

Die in Abbildung 2 dargestellten Säulendiagramme zeigen stellvertretend für die einzelnen Aminosäuren die Gesamtaminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchsorten.

Anhand der Abbildung 2A, in der die Milchen nach ihrem Fettgehalt sortiert sind, ist ein Zusammenhang zwischen Aminosäuregehalt und Erhitzungs- bzw. Behandlungsverfahren erkennbar. Dabei weisen die pasteurisierten Milchen, gefolgt von den hocheerhitzten Milchen, den höchsten und die ultrahocheerhitzten Milchen den niedrigsten Aminosäuregehalt auf. Weiterhin wurden bei den ultrahocheerhitzten lactosefreien Milchen niedrigere Aminosäuregehalte gefunden als bei den vergleichbaren ultrahocheerhitzten Milchen mit naturbelassenem Lactosegehalt.

Analog zur Abbildung 2A sind in der Abbildung 2B die Milchen entsprechend ihres Erhitzungsgrades angeordnet. Dadurch kann die Beeinflussung des Aminosäuregehaltes durch eine Fettreduzierung gezeigt werden, wobei mit abnehmendem Fettgehalt ein steigender Aminosäuregehalt erkennbar ist. Dieser Zusammenhang scheint allerdings geringer ausgeprägt zu sein als der Zusammenhang zwischen Erhitzungsgrad und Aminosäuregehalt (Abb. 2A). Zudem besteht zwischen der pasteurisierten Vollmilch und der pasteurisierten fettarmen Milch kein nennenswerter Unterschied.

Im Folgenden gilt es zu zeigen, inwieweit die dargestellten Unterschiede zwischen den verschiedenen Konsummilchen hinsichtlich des Erhitzungsgrades und des Fettgehaltes statistisch signifikant sind.

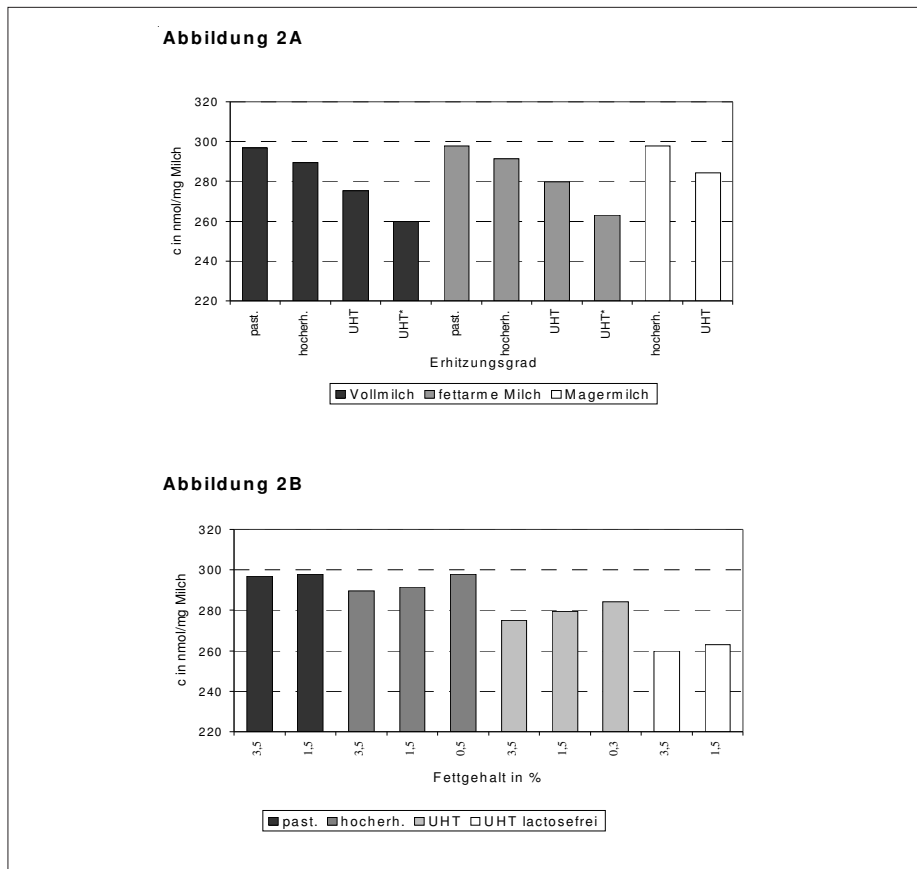


Abb. 2: Gesamtaminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchsorten sortiert nach Fettgehalt (A) bzw. Erhitzungsgrad (B)

3.2.2 Statistische Betrachtung der Aminosäuregehalte hinsichtlich Erhitzungsgrad und Fettgehalt

Für die statistische Betrachtung (Tab. 1) der Unterschiede zwischen den verschiedenen Erhitzungsgraden der Konsummilchen wurden Milchen mit einem Fettgehalt von maximal 0,5% ausgeschlossen, da die Gruppe der pasteurisierten Milchen keine Magermilchen enthält.

Die Summen, gebildet aus allen gemessenen Aminosäuren, der drei Erhitzungsgruppen unterscheiden sich bei der univariaten Varianzanalyse mit einem p-Wert von 0,011 signifikant. Die einzelnen Aminosäuren verhalten sich allerdings nicht gleich, wobei der Unterschied zwischen den Erhitzungsgraden bei:

- Arg, Cys, His, Ile, Glu, Gly, Met, Pro nicht signifikant ($p\text{-Wert} > 0,05$)
- Ala, Asp, Phe, Ser signifikant ($0,01 < p\text{-Wert} \leq 0,05$) und
- Leu, Lys, Thr, Trp, Tyr, Val hochsignifikant ($0,001 < p\text{-Wert} \leq 0,01$)

ist. Der Post-Hoc-Test verdeutlicht darüber hinaus, dass die ultrahocherhitzten Milchen signifikant niedrigere Werte als die pasteurisierten Milchen aufweisen. Dabei entsprechen die Signifikanzniveaus des Dunnett-T-Tests der einzelnen Aminosäuren weitestgehend denen der univariaten Varianzanalyse. Die hocheerhitzten Milchen unterscheiden sich hinsichtlich der Signifikanz weder von den pasteurisierten noch von den ultrahocherhitzten Milchen, was die p-Werte des Dunnett-T-Test zeigen. Bei den Aminosäuren Asparaginsäure, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Threonin, Tyrosin und Valin sowie bei Gesamtaminosäuregehalt bestehen die mittels Tukey-T-Test gebildeten homogenen Untergruppen zum einen aus pasteurisierten Milchen und hocheerhitzten Milchen und zum anderen aus hocheerhitzten und ultrahocherhitzten Milchen.

Tab. 1: Statistische Betrachtung der Unterschiede der Aminosäuregehalte zwischen den Konsummilchen hinsichtlich der verschiedenen Erhitzungsgrade, Angaben in nmol/mg Milch

	MW ± s past.	MW ± s hocherh.	MW ± s UHT	p-Wert* alle Erhitz.	p-Wert (Dunnett-T-Test)		
					UHT -past.	hocherh. -past.	hocherh. -UHT
Ala	13,88 ± 0,94 ^A	13,30 ± 0,28 ^A	12,75 ± 0,86 ^A	0,027 [†]	0,015 [†]	0,433	0,479
Arg	7,02 ± 0,33 ^A	6,94 ± 0,09 ^A	6,77 ± 0,20 ^A	0,110	0,076	0,824	0,456
Asp	22,38 ± 1,64 ^B	21,34 ± 0,86 ^{A/B}	20,23 ± 1,53 ^A	0,018 [†]	0,010 [†]	0,430	0,395
Cys	2,43 ± 0,12 ^A	2,50 ± 0,05 ^A	2,40 ± 0,13 ^A	0,393	0,798	0,560	0,310 [†]
Glu	55,66 ± 5,68 ^A	54,83 ± 3,38 ^A	53,28 ± 3,10 ^A	0,488	0,399	0,932	0,787
Gly	9,82 ± 1,12 ^A	9,46 ± 0,49 ^A	9,02 ± 0,47 ^A	0,105	0,070	0,676	0,584
His	5,92 ± 0,50 ^A	5,74 ± 0,23 ^A	5,67 ± 0,27 ^A	0,333	0,251	0,651	0,924
Ile	13,02 ± 0,51 ^A	12,83 ± 0,22 ^A	12,94 ± 0,44 ^A	0,771	0,889	0,717	0,900
Leu	29,15 ± 1,62 ^B	28,28 ± 0,45 ^{A/B}	26,93 ± 1,32 ^A	0,007 [†]	0,004 [†]	0,494	0,212
Lys	21,12 ± 1,73 ^B	20,38 ± 0,64 ^{A/B}	18,70 ± 1,10 ^A	0,003 [†]	0,002 [†]	0,593	0,097
Met	7,41 ± 0,69 ^A	7,28 ± 0,50 ^A	7,46 ± 0,97 ^A	0,928	0,988	0,946	0,904
Phe	10,56 ± 0,79 ^B	10,20 ± 0,24 ^{A/B}	9,64 ± 0,50 ^A	0,011 [†]	0,007 [†]	0,544	0,246
Pro	32,59 ± 3,45 ^A	36,41 ± 3,02 ^A	32,95 ± 2,79 ^A	0,191	0,953	0,087	0,128
Ser	20,57 ± 1,56 ^A	18,90 ± 0,89 ^A	18,67 ± 1,43 ^A	0,023 [†]	0,016 [†]	0,123	0,951
Thr	14,12 ± 0,93 ^B	13,22 ± 0,45 ^{A/B}	12,49 ± 0,67 ^A	0,001 [†]	0,000 [†]	0,121	0,236
Trp	2,07 ± 0,06 ^B	2,13 ± 0,07 ^B	2,01 ± 0,09 ^A	0,003 [†]	0,008 [†]	0,116	0,001 [†]
Tyr	10,18 ± 0,58 ^B	9,71 ± 0,27 ^{A/B}	9,30 ± 0,54 ^A	0,005 [†]	0,003 [†]	0,253	0,361
Val	19,29 ± 2,25 ^B	17,61 ± 1,38 ^{A/B}	16,41 ± 1,06 ^A	0,005 [†]	0,003 [†]	0,207	0,425
Σ	297,20 ± 14,08 ^B	291,03 ± 4,92 ^{A/B}	277,61 ± 13,26 ^A	0,011 [†]	0,006 [†]	0,657	0,174

A; B; C zeigen entsprechend des Tukey-B-Tests die Zugehörigkeit zu einer Untergruppe an, wobei sich die Untergruppen signifikant unterscheiden

* univariate Varianzanalyse

† signifikant da p = 0,05

Tab. 2: Statistische Betrachtung der Unterschiede der Aminosäuregehalte zwischen den Konsummilchen hinsichtlich der verschiedenen Fettgehalte, Angaben in nmol/mg Milch

	MW ± s 3,5% Fett	MW ± s 1,5% Fett	MW ± s max. 0,5% Fett	p-Wert* alle Fettstuf.	p-Wert (Dunnett-T-Test)		
					1,5- 3,5%	0,5- 3,5%	0,5- 1,5%
Ala	13,34 ± 1,13 ^A	13,29 ± 0,84 ^A	12,46 ± 0,70 ^A	0,652	0,985	0,084	0,096
Arg	6,93 ± 0,30 ^A	6,89 ± 0,25 ^A	6,84 ± 0,36 ^A	0,902	0,926	0,776	0,920
Asp	21,14 ± 2,07 ^A	21,46 ± 1,50 ^A	20,66 ± 1,51 ^A	0,831	0,822	0,754	0,461
Cys	2,42 ± 0,11 ^A	2,43 ± 0,13 ^A	2,41 ± 0,14 ^A	0,959 [‡]	0,997 [‡]	0,936 [‡]	0,911
Glu	53,32 ± 5,22 ^A	55,56 ± 3,38 ^A	60,48 ± 3,90 ^B	0,007 [‡]	0,359	0,006 [‡]	0,054
Gly	9,64 ± 1,20 ^A	9,25 ± 0,42 ^A	8,84 ± 0,35 ^A	0,352	0,358	0,080	0,446
His	5,87 ± 0,48 ^A	5,71 ± 0,27 ^A	5,64 ± 0,34 ^A	0,563	0,478	0,378	0,903
Ile	12,96 ± 0,44 ^A	12,95 ± 0,45 ^A	13,13 ± 0,42 ^A	0,640	0,996	0,684	0,637
Leu	28,24 ± 1,83 ^A	27,94 ± 1,60 ^A	27,20 ± 1,31 ^A	0,810	0,812	0,241	0,454
Lys	20,15 ± 1,92 ^A	19,85 ± 1,62 ^A	19,34 ± 1,58 ^A	0,712	0,827	0,425	0,688
Met	7,42 ± 0,76 ^A	7,41 ± 0,81 ^A	7,01 ± 0,88 ^A	0,646	0,999	0,545	0,551
Phe	10,24 ± 0,89 ^A	10,01 ± 0,58 ^A	9,74 ± 0,67 ^A	0,605	0,566	0,207	0,593
Pro	32,18 ± 2,29 ^A	34,39 ± 3,74 ^A	32,78 ± 2,82 ^A	0,338	0,134	0,889	0,449
Ser	19,65 ± 2,05 ^A	19,37 ± 1,30 ^A	18,39 ± 1,34 ^A	0,862	0,851	0,168	0,307
Thr	13,37 ± 1,32 ^A	13,22 ± 0,82 ^A	12,64 ± 0,91 ^A	0,914	0,875	0,149	0,260
Trp	1,99 ± 0,070 ^A	2,11 ± 0,05 ^B	2,13 ± 0,08 ^B	0,000 [‡]	0,000 [‡]	0,000 [‡]	0,751
Tyr	9,85 ± 0,76 ^A	9,64 ± 0,56 ^A	9,39 ± 0,58 ^A	0,674	0,567	0,195	0,570
Val	17,58 ± 1,97 ^A	18,00 ± 2,29 ^A	17,50 ± 0,59 ^A	0,414	0,747	0,993	0,757
Σ	286,28 ± 17,72 ^A	289,47 ± 13,55 ^A	286,58 ± 14,05 ^A	0,513	0,782	0,999	0,872

A; B zeigen entsprechend des Tukey-B-Tests die Zugehörigkeit zu einer Untergruppe an, wobei sich die Untergruppen signifikant unterscheiden

* univariate Varianzanalyse

‡ signifikant da $p < 0,05$

Die Summen, gebildet aus allen gemessenen Aminosäuren, der drei Fettgehaltgruppen unterscheiden sich bei der univariaten Varianzanalyse sowie beim Post-Hoc-Test nicht signifikant (Tab. 2). Ebenso verhält es sich, mit Ausnahme der Glutaminsäure und des Tryptophans, bei den einzelnen Aminosäuren. Somit ist der beobachtete Unterschied hinsichtlich des Fettgehaltes der verschiedenen Konsummilchen nicht signifikant.

3.2.1 Prozentuale Unterschiede zwischen den verschiedenen Konsummilchen

In der Tabelle 3 werden die einzelnen Aminosäuren hinsichtlich der prozentualen Unterschiede zwischen zwei Erhitzungsgraden bzw. Fettgehalten betrachtet.

Tab. 3: Prozentuale Unterschiede im Gehalt einzelner Aminosäuren (nmol/mg Milch) zwischen den verschiedenen Erhitzungsverfahren sowie Fettstufen

	past. ist ...% höher als hocherh.	hocherh. ist ...% höher als UHT	past. ist ...% höher als UHT	1,5%ig ist ...% höher als 3,5%ig	max. 0,5%ig ist ...% höher als 3,5%ig	max. 0,5%ig ist ...% höher als 1,5%ig
Ala	3,71	5,22	8,91	-0,86	-3,30	-2,36
Arg	1,53	1,82	3,70	-0,21	0,89	-0,06
Asp	6,92	6,84	10,66	2,95	7,02	2,25
Cys	-1,58	3,71	1,47	0,69	3,31	2,17
Glu	1,85	0,20	4,45	3,58	11,75	9,12
Gly	1,69	5,75	8,92	-5,01	-6,28	-2,25
His	3,14	2,61	4,49	-1,93	0,43	0,69
Ile	1,89	-1,41	0,66	0,35	1,88	1,12
Leu	3,52	5,37	8,26	-0,54	1,13	0,86
Lys	4,48	8,36	12,92	-0,68	2,25	2,21
Met	-0,70	5,75	-0,66	-2,30	-3,54	1,34
Phe	4,18	5,92	9,60	-1,38	0,53	1,03
Pro	-11,09	12,80	-0,91	3,72	0,73	-2,98
Ser	8,96	2,14	10,20	-0,64	-0,81	-0,68
Thr	6,73	6,22	12,97	-0,79	0,58	0,41
Trp	-1,16	2,71	3,57	5,69	6,65	-0,19
Tyr	6,51	2,73	9,46	-0,29	0,97	-0,23
Val	10,03	5,35	17,50	2,41	4,81	3,27
Σ	2,29	4,71	7,07	0,91	3,09	1,89

Entsprechend der vorherigen Feststellungen besteht der größte prozentuale Unterschied, bezogen auf den Gesamtaminosäuregehalt, zwischen den pasteurisierten und den ultrahoherhitzten Milchen. Die hochehitzten Milchen unterscheiden sich prozentual mehr von den ultrahoherhitzten als von den pasteurisierten Milchen. Unter Betrachtung der einzelnen Aminosäuren weisen insbesondere die Aminosäuren einen hohen prozentualen Unterschied auf, bei denen auch ein signifikanter Unterschied zwischen den Erhitzungsgraden besteht. Die Aminosäuren Isoleucin Methionin und Prolin, die sich bezogen auf den Erhitzungsgrad nicht signifikant unterscheiden, zeigen nicht den erwarteten Verlauf, wonach mit steigendem Erhitzungsgrad der Aminosäuregehalt abnimmt. Ebenso verhält es sich bei der Aminosäure Tryptophan, dessen Gehalt bei den hochehitzten Milchen höher als bei den pasteurisierten Milchen ist, obwohl ein signifikanter Unterschied zwischen den Erhitzungsstufen nachgewiesen werden konnte.

Weiterhin kann anhand des Gesamtaminosäuregehaltes ein um so größerer prozentualer Unterschied festgestellt werden, desto höher der Unterschied im Fettgehalt ist. Dabei sind aber die prozentualen Unterschiede zwischen zwei Fettgehalten überwiegend geringer als die zwischen zwei Erhitzungsgraden. Außerdem weisen beim Vergleich der verschiedenen Fettgehalte nur die sich signifikant unterscheidenden Aminosäuren Glut-

aminsäure und Tryptophan nennenswerte prozentuale Unterschiede auf. Allerdings ist der Tryptophangehalt in den fettarmen Milchen geringfügig höher als in den Magermilchen. Des Weiteren kann auch beim Vergleich der fettarmen Milchen mit den Vollmilchen sowie den Magermilchen mit den fettarmen Milchen, die aus dem Verlauf des Gesamtaminosäuregehaltes abgeleiteten Feststellung, dass mit abnehmenden Fettgehalt der Aminosäuregehalt zunimmt insbesondere für die folgenden Aminosäuren nicht bestätigt werden: Alanin, Arginin, Glycin, Methionin, Serin und Tyrosin.

3.2.2 Prozentualer Unterschied zwischen lactosereduzierter und nicht lactosereduzierter UHT-Milch

Die lactosefreien bzw. -reduzierten, ultrahoherhitzten Milchen zeigen einen um 6,75% niedrigeren Gesamtaminosäuregehalt als die ultrahoherhitzten Milchen mit einem naturbelassenen Lactosegehalt (Tab. 4). Die Aminosäure Methionin zeigt mit 23,17% den größten Unterschied. **Cystein**, Glutaminsäure und Valin haben, entgegengesetzt zum Gesamtaminosäuregehalt, bei den lactosefreien ultrahoherhitzten Milchen höhere Gehalte als bei den ultrahoherhitzten Milchen mit einem naturbelassenen Lactosegehalt.

Tab. 4: Prozentualer Unterschied im Gehalt einzelnen Aminosäuren (nmol/mg Milch) zwischen lactosefreien bzw. -reduzierten UHT-Milchen und UHT-Milchen mit naturbelassenem Lactosegehalt

UHT ist ...% höher als UHT lactosefrei		UHT ist ...% höher als UHT lactosefrei	
Ala	9,57	Lys	14,88
Arg	9,48	Met	23,17
Asp	10,21	Phe	3,82
Cys	-8,26	Pro	12,85
Glu	-0,82	Ser	6,99
Gly	9,67	Thr	8,20
His	9,08	Trp	1,23
Ile	1,96	Tyr	7,57
Leu	5,55	Val	-3,64
		Σ	6,11

3.3 Aminosäuren- und Proteingehalte sowie Proteinqualität der verschiedenen Konsummilchen

Die vorher schon beschriebenen Unterschiede zwischen den verschiedenen Erhitzungsgraden bzw. Fettgehalten bezüglich der Aminosäuregehalte werden auch anhand der Tabelle 5 ersichtlich. Dabei kann ein abnehmender Aminosäuregehalt mit zunehmender Erhitzungstemperatur bzw. ein tendenziell zunehmender Aminosäuregehalt mit abnehmenden Fettgehalt beobachtet werden.

Tab. 5: Aminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchen*, Angaben in mg/100g Milch

Milchsorte	past. 3,5%	past. 1,5%	hocherh. 3,5%	hocherh. 1,5%	hocherh. max. 0,5%	UHT 3,5%	UHT 1,5%	UHT max. 0,5%	UHT 3,5% lact.frei	UHT 1,5% lact.frei
Ala	124	123	121	118	116	113	114	110	105	102
Arg	124	121	120	121	120	118	118	119	106	110
Asp	298	297	269	289	305	267	272	269	247	242
Cys	29	29	29	31	32	29	29	29	30	29
Glu	795	843	798	810	856	771	797	897	766	816
Gly	76	71	76	69	68	68	68	66	62	61
His	89	84	84	84	86	83	82	82	75	77
Ile	171	170	166	169	170	170	170	173	163	170
Leu	387	378	367	372	377	355	351	353	336	334
Lys	331	324	309	319	322	295	286	296	251	254
Met	110	111	118	105	119	110	113	102	92	89
Phe	177	172	166	170	170	162	156	159	154	152
Pro	370	380	428	416	424	360	399	368	333	339
Ser	218	214	198	199	200	197	196	192	188	179
Thr	170	166	158	157	159	148	149	149	139	136
Trp	42	43	42	44	43	39	43	44	39	41
Tyr	188	181	169	178	173	171	166	170	157	156
Val	221	231	203	207	209	191	193	204	196	204
Reinproteins**	3387	3404	3298	3333	3412	3150	3197	3267	2972	3016

* Angaben entsprechen den Mittelwerten, die jeweils aus den zu der Milchsorte gehörenden Proben berechnet wurden

** Berechnet durch Summierung der einzelnen Aminosäuren nach Abzug des Wassers

Wie in der Abbildung 3 verdeutlicht wird, bewegen sich die Reinproteingehalte der verschiedenen Konsummilchen erwartungsgemäß zwischen 3,0% und 3,4%. Es stellte sich allerdings heraus, dass die Proteingehalte innerhalb einer Milchsorte erheblich schwanken können. So liegen beispielsweise die Reinproteingehalte der untersuchten pasteurisierten Vollmilchproben in einem Bereich zwischen 3,19% und 3,62%.

Zur Bestimmung der Proteinwertigkeit des Milchproteins der verschiedenen Konsummilchen wurde der Amino Acid Score (AAS) und der um die wahre Verdaulichkeit korrigierte Amino Acid Score (PDCAAS) berechnet. Als Referenzprotein dienten die Angaben des FAO/WHO-Report von 1990. Zur Berechnung des PDCAAS wird der AAS mit der wahren Verdaulichkeit multipliziert. Dabei beträgt laut des FAO/WHO-Reports von 1990 die wahre Verdaulichkeit (WV) von Kuhmilch 0,95 (16). Die Aminosäuren-Verhältnisse der in dieser Arbeit untersuchten Konsummilchen sind bei allen essentiellen Aminosäuren größer als Eins. Somit ist erwartungsgemäß der Aminosäuren-Score ebenfalls größer als Eins, wobei sich die Aminosäuren-Scores der verschiedenen Konsummilchen zwischen einem Wert von 1,30 und 1,44 bewegen. Die PDCAAS-Werte liegen daraus folglich zwischen 1,24 und 1,37.

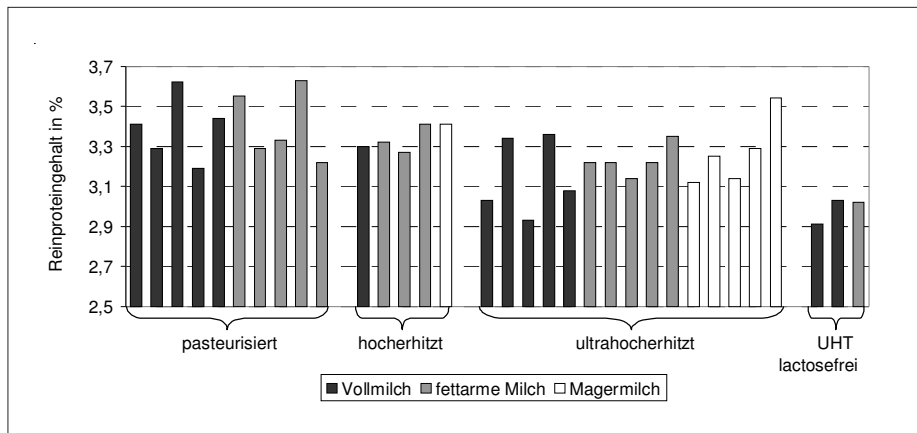


Abb. 3: Reinproteingehalte der in dieser Arbeit untersuchten Konsummilchen

4. Diskussion

4.1 Probenvorbereitung zur Aminosäurenanalyse

Bei der salzsauren Hydrolyse erfolgt die Aufspaltung der Peptidbindungen, abhängig von der Aminosäuresequenz des zu analysierenden Proteins und der Lebensmittel-Matrix, unterschiedlich schnell. Daher ist es notwendig, unterschiedliche Hydrolysezeiten im Rahmen einer Zerstörungsreihe aufzubereiten, um die am besten geeignete Hydrolysezeit zu finden. Die Hydrolysezeiten betragen dabei zwischen 4 und 140 Stunden.

Ein Nachteil der salzsauren Hydrolyse ist, dass Tryptophan vollständig oder fast vollständig zerstört wird (5, 14). So konnte auch in dieser Arbeit Tryptophan nach einer salzsauren Hydrolyse nicht bestimmt werden. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin werden in Abhängigkeit von der Matrix unterschiedlich stark bei der salzsauren Hydrolyse zerstört (5). Der Maximalwert des Methionins wurde nach 12 Stunden Hydrolyse beobachtet, wobei sich die Aminosäure auch bei den länger andauernden Hydrolysen als recht stabil erwies. Cystein entgegen ist nach einer Hydrolysezeit von mehr als 12 Stunden vollständig zerstört und somit nicht mehr nachweisbar.

In der Literatur werden Peptidbindungen, an denen Alanin, Isoleucin und Valin beteiligt sind und insbesondere die mehrfach in der Milch vorkommenden Sequenzen Ala-Ala, Ile-Ile, Val-Val, Val-Ile, Ala-Val und Ile-Val, als relativ hydrolysestabil beschrieben (17). Auf Grund dieser möglichen Hydrolysestabilität wurden in dieser Arbeit Hydrolysate, die 70, 100 und 140 Stunden hydrolysiert wurden, angefertigt. Die maximale Hydrolysedauer von 140 Stunden erwies sich als ausreichend, da alle Aminosäuren außer Isoleucin nach 12 bzw. 24 Stunden Hydrolyse ihren Maximalwert erreichten. Somit zeigten sich im Milchprotein die oben genannten Peptidbindungen bei der salzsauren Hydrolyse nicht als wesentlich hydrolysestabiler, als die Peptidbindungen, an denen andere Aminosäuren beteiligt sind. Nur Isoleucin bzw. Peptidbindungen, an denen Isoleucin beteiligt ist, erwiesen sich in der Milchmatrix als hydrolyseresistenter, da der Maximalwert des Isoleucin erst nach 48-stündiger Hydrolyse erzielt wurde. Außerdem ist Isoleucin bis zu einer Hydrolysedauer von 100 Stunden stabil.

Die Aminosäuren Serin und Threonin sind laut Literatur nach einer Hydrolysezeit von 20 Stunden vollständig freigesetzt und unterliegen bei weiter andauernder Hydrolyse einer zunehmenden Zerstörung (17). Dies konnte durch die Ergebnisse der vorliegenden

Arbeit bestätigt werden, da die höchsten Werte nach 12-stündiger Hydrolyse gefunden wurden und bei längeren Hydrolysezeiten, insbesondere beim Serin, die zunehmende Zerstörung deutlich zu erkennen ist.

Es muss allerdings erwähnt werden, dass die aus der Literatur zum Vergleich dienenden Untersuchungen zur salzsauren Hydrolyse nicht mit Milch oder Milchprotein erfolgten. So beinhalten die Untersuchungen von Gehrke et al. (1985) Proteine pflanzlicher, tierischer und mikrobiologischer Herkunft und Rudemo et al. (1980) führten ihre Untersuchungen an oxidierten Gersten-, Fischmehl-, Mais-, Fleisch-, Knochenmehl- und Sojabohnenmehlproben durch. Dabei wendeten Gehrke et al. (1985) als auch Rudemo et al. (1980) verschiedenen Methodenmodifikationen der salzsauren Hydrolyse an. (5, 17)

Da die Vorversuche zur Zerstörungsreihe bei salzsaurer Hydrolyse mit einer pasteurisierten Vollmilch angefertigt wurden, trat bei den eigentlichen Aminosäureanalysen der verschiedenen Konsummilchen die Problematik auf, dass die ultrahocherhitzten Milchen im Gegensatz zu den pasteurisierten und hocherhitzten Milchen bei der 48-stündigen Hydrolyse höhere Messwerte für Isoleucin und Valin als bei der 24-stündigen Hydrolyse aufwiesen. Dies hätte eventuell durch die Anfertigung einer weiteren Zerstörungsreihe unter Verwendung einer ultrahocherhitzten Milch vermieden werden können. Deshalb kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Maximalwerte einiger Aminosäuren in ultrahocherhitzter Milch bei kürzeren bzw. längeren Hydrolysezeiten als bei der untersuchten pasteurisierten Milch erzielt worden wären.

Die Aminosäure Cystein unterliegt bei der salzsauren Hydrolyse einer starken Zerstörung, so dass sie als ihr Oxidationsprodukt Cysteinsäure nach einer 24-stündigen salzsauren Hydrolyse mit Natriumazid bei 110°C analysiert wurde. Eine gleichzeitige Bestimmung der übrigen Aminosäuren nach der Hydrolyse mit Natriumazid war im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen mit Modell-Proteinen (BSA, Lysozym, menschliches IFN- α 2, Thioredoxin) (9) nicht möglich, da fast alle Aminosäuren nach der Hydrolyse mit Natriumazid niedrigere Messwerte als nach einer salzsauren Hydrolyse ohne Natriumazid aufwiesen. Insbesondere ist dabei das Methionin zu nennen, das bei der natriumazidabhängigen Oxidation teilweise zum Methioninsulfoxid oxidiert und dieses nach einer salzsauren Hydrolyse nicht quantitativ bestimmt werden kann (9).

Des Weiteren konnten Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Konsummilchen bei der salzsauren Hydrolyse mit Natriumazid im Vergleich zur salzsauren Hydrolyse ohne Natriumazid beobachtet werden. Dabei weisen die UHT-Milchen wesentlich höhere Aminosäurenverluste bei der Hydrolyse mit Natriumazid auf als beispielsweise die pasteurisierten und hocherhitzten Milchen. Dies deutet darauf hin, dass die Milchproteine sich in der Matrix ultrahocherhitzter Milchen abweichend von den Proteinen weniger stark erhitzter Milchen bei der Hydrolyse verhalten.

4.2 Bewertung und Betrachtung der Aminosäuren- und Proteingehalte der verschiedenen Konsummilchen

Die UHT-Milchen in dieser Arbeit weisen signifikant niedrigere Aminosäuregehalte als die pasteurisierten Milchen auf. Die hocherhitzten Milchen liegen mit ihren Erhitzungsbedingungen und daraus folglich auch mit ihren Aminosäuregehalten zwischen den pasteurisierten Milchen und UHT-Milchen, wobei die Unterschiede nicht signifikant sind. Anhand der prozentualen Unterschiede wird allerdings deutlich, dass der Unterschied zwischen den hocherhitzten und pasteurisierten Milchen geringer ist als zwischen den hocherhitzten und UHT-Milchen.

Während der Milcherhitzung kommt es in Folge der Maillardreaktion zur Lysin-schädigung (1). Daher wurden in den UHT-Milchen durchschnittlich 12,92% signifikant niedrigere Lysingehalte als in den pasteurisierten Milchen gefunden. Dies ist bezogen auf die Gehalte der übrigen Aminosäuren einer der höchsten Unterschiede zwischen den pasteurisierten und ultrahoherhitzten Milchen. Signifikant geringere Gehalte in den ultrahoherhitzten Milchen im Vergleich zu den pasteurisierten Milchen sind aber auch bei den Aminosäuren Alanin, Asparaginsäure, Leucin, Phenylalanin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin und Valin zu beobachten. Die Aminosäuren Isoleucin, Methionin und Prolin scheinen auf Grund der geringfügigen Unterschiede in pasteurisierten und ultrahoherhitzten Milchen dagegen weniger hitzeempfindlich als die übrigen Aminosäuren zu sein.

In den ultrahoherhitzten Milchen ist der Valingehalt um 17,50% niedriger als in den pasteurisierten Milchen. Dies ist der größte Unterschied zwischen diesen beiden Milchsorten im Vergleich zu den übrigen Aminosäuren. Dieser hohe Unterschied kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, dass das Valin in den UHT-Milchen nur anhand der 48-stündigen Hydrolyse, also ohne Berücksichtigung der Zerstörungsrate, bestimmt wurde. Dagegen wurde der Valingehalt in den pasteurisierten Milchen und in den hoherhitzten Milchen, unter Berücksichtigung der Zerstörungsrate während der salzsaurer Hydrolyse, zum Hydrolysezeitpunkt Null bestimmt.

Mit abnehmendem Fettgehalt der Milch wurde ein steigender Gesamtaminosäuregehalt festgestellt. Diese Zunahme ist allerdings nicht signifikant. Außerdem ist beim Vergleich der fettarmen Milchen mit den Vollmilchen sowie den Magermilchen mit den Vollmilchen, die aus dem Verlauf des Gesamtaminosäuregehaltes abgeleiteten Feststellung, dass mit abnehmendem Fettgehalt der Aminosäuregehalt zunimmt, für einige Aminosäuren nicht zutreffend. Dies sind insbesondere die Aminosäuren Alanin, Arginin, Glycin, Methionin, Serin und Tyrosin, deren Gehalt sogar abnimmt. Geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Fettstufen weisen die Aminosäuren Isoleucin, Leucin, Lysin und Threonin auf. Die Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure und Valin dagegen zeigen deutlich höhere Werte in den Magermilchen bzw. fettreduzierten Milchen als in den Vollmilchen.

Die Feststellung, dass die Fettglobulinmembranproteine einen beträchtlichen Gehalt an SH- und SS-Gruppen aufweisen (23), spiegelt sich in dem um 3,31 % niedrigeren Cysteingehalt in den Magermilchen im Vergleich zu den Vollmilchen wieder. Zudem zeigt die schwefelhaltige Aminosäure Methionin einen um 3,54% niedrigeren Gehalt in den Magermilchen als in den Vollmilchen.

Die bei einer Fettreduzierung auftretende Zunahme des Gesamtaminosäuregehaltes der Milch (vgl. Tab. 3) ist auf die Erhöhung des Proteinanteils pro Gewichtseinheit zurückzuführen. Wird beispielsweise von einer 3,5% Fett enthaltenden Vollmilch ausgegangen, deren Proteingehalt 3,3% beträgt, steigt der mittlere Proteingehalt der Milch bei einer vollständigen Fettextraktion theoretisch um 0,12% von 3,30% auf 3,42% an. Allerdings dürfen die Proteine der Milchfettkugelchenmembran, die einen mittleren Gehalt von 0,04% in der Milch aufweisen (7, 18), nicht außer Acht gelassen werden, da diese bei der Fettextraktion verloren gehen. Folglich ist die Zunahme des Proteingehaltes um 0,12% auf Grund der Erhöhung des Proteinanteils pro Gewichtseinheit ausreichend, um die 0,04% betragende Erniedrigung des Proteingehaltes durch den Verlust an Milchfettglobulinmembranproteinen zu kompensieren, so dass der Gesamtaminosäuregehalt bei der Fettreduzierung steigt. Außerdem ist von den Aminosäuren, die einen Verlust durch die Fettreduzierung zeigen, nur Methionin essentiell und daher ernährungsphysiologisch von besonderer Bedeutung.

Da durch die Lactosehydrolyse in lactosefreien bzw. -reduzierten Milchen mehr reduzierende Gruppen zur Verfügung stehen, kommt es in Folge dessen zu einer Steigerung der Maillard-Reaktion (25). Somit ist der in dieser Arbeit um fast 15% niedrigere Lysingehalt in den lactosehydrolysierten ultrahocherhitzten Milchen im Vergleich zu den nicht lactosehydrolysierten ultrahocherhitzten Milchen erklärbar. Der Gesamtaminosäuregehalt der lactosehydrolysierten ultrahocherhitzten Milchen ist etwa 6,1% niedriger als der Gesamtaminosäuregehalt der nicht lactosehydrolysierten ultrahocherhitzten Milchen.

Hinsichtlich der Bewertung der Proteinqualität von Kuhmilch gibt Eggum et al. (1989) einen Amino Acid Score (AAS) von 1,30 und die Dutch Dairy Foundation (1997) von 1,27 für an (3, 4). Die in dieser Arbeit berechneten AAS der untersuchten Konsummilchen sind mit Werten zwischen 1,30 und 1,44 ebenfalls größer als Eins. Unter der Annahme einer wahren Verdaulichkeit der Kuhmilch (WV) von 0,95 (16) publizierte die Dutch Dairy Foundation (1997) einen um die wahre Verdaulichkeit korrigierten Amino Acid Score (PDCAAS) von 1,21 für Kuhmilch (3). Die PDCAAS-Werte der in dieser Arbeit untersuchten Konsummilchen liegen zwischen 1,24 und 1,37. Somit kann mit der vorliegenden Arbeit bestätigt werden, dass durch die für Konsummilch üblichen Erhitzungsverfahren die hohe Wertigkeit des Milchproteins nicht beeinträchtigt wird. Allerdings sind die AAS- und die PDCAAS-Werte dieser Arbeit für Kuhmilch etwas höher als die entsprechenden Angaben der Literatur. Dies kommt zustande, da sich die Literaturangaben sowie das Referenzprotein auf den Rohproteingehalt und berechneten Werte dieser Arbeit auf den Reinproteingehalt beziehen.

4.3 Mögliche Angaben für Aminosäuregehalte verschiedener Konsummilchen in Nährwerttabellen

Die Tabelle 6 zeigt abschließend eine Gegenüberstellung der bisherigen Angaben in der SFK-Nährwerttabelle (21) und die auf dieser Arbeit basierenden Empfehlungen für die zukünftigen Angaben in Nährwerttabellen, bezüglich der Aminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchen. Die Höhe der einzelnen Aminosäuregehalte, die in dieser Arbeit untersuchten Konsummilchen, stimmen weitestgehend mit denen der SFK-Nährwerttabelle überein. Eine Ausnahme bildet das Cystein, da der in dieser Arbeit ermittelte Cysteinwert dem Cystinwert der SFK-Nährwerttabelle in der Höhe entspricht. Offensichtlich wird Cystein in der SFK-Nährwerttabelle fälschlicherweise als Cystin angegeben, ein Fehler der auch in der Literatur häufig festzustellen ist. Weiterhin sind die in dieser Arbeit ermittelten Gehalte von Isoleucin und Tryptophan etwas niedriger und die Gehalte von Leucin, Lysin und Methionin etwas höher als die entsprechenden Gehalte der SFK-Nährwerttabelle (21).

Die pasteurisierten und die ultrahocherhitzten Milchen sollten bei Angaben in Nährwerttabellen auf jeden Fall unterschieden werden, da zwischen ihnen ein statistisch signifikanter Unterschied besteht. Entsprechend der Feststellung, dass die Aminosäuregehalte in Milchen mit verschiedenen Fettgehalten sich nicht statistisch signifikant unterscheiden, bestehen zwischen pasteurisierter Vollmilch und fettarmer Milch sowie zwischen ultrahocherhitzter Vollmilch, fettarmer Milch und Magermilch hinsichtlich der Aminosäuregehalte nur geringe Unterschiede. Daher ist eine Unterscheidung von Vollmilch, fettarmer Milch und Magermilch bei der Angabe der Aminosäuregehalte verschiedener Konsummilchen nicht erforderlich. Folglich wurden die Aminosäuregehalte der pasteurisierten Milchsorte aus den Aminosäuregehalten der pasteurisierten Vollmilch und der pasteurisierten fettarmen Milch gebildet. Die Aminosäuregehalte der ultrahocherhitzten Milchsorte stellen den Mittelwert aus den Aminosäuregehalten der ultrahocherhitzten Vollmilch, fettarmen Milch und Magermilch dar. (Tab. 6)

Angaben zu den Aminosäuregehalten anderer Konsummilchen, wie z.B. hocherhitzter oder lactosereduzierter Milch, können auf Grund der geringen untersuchten Milchprobenzahl durch diese Arbeit nicht geliefert werden. Da sich aber die hocherhitzten bzw. die lactosereduzierten Milchen nicht signifikant von den anderen Milchsorten unterscheiden bzw. die prozentualen Unterschiede im Vergleich mit den anderen untersuchten Milchsorten nur gering sind, sind keine größeren Unterschiede hinsichtlich der Aminosäuregehalte zu erwarten.

Tab. 6: Gegenüberstellung der Aminosäuregehaltangaben in der SFK-Nährwerttabelle und der Empfehlung für künftige Angaben der Aminosäuregehalte verschiedener Konsummilchen in Nährwerttabellen, Angaben in mg/100g Milch

Milchsorte	Angaben SFK-Nährwerttabelle *				Empfehlung dieser Arbeit	
	Vorzugsmilch	Konsummilch mind. 3,5% Fett	mind. 1,5% höchst. 1,8% Fett	Magermilch	past.	UHT
Ala	130	127	130	140	124	112
Arg	130	120	130	130	122	118
Asp	290	280	290	290	298	269
Cys	28 **	26 **	28 **	31 **	29 ***	29 ***
Glu	790	750	790	820	819	822
Gly	76	80	76	80	74	67
His	95	89	95	92	87	82
Ile	220	210	220	220	171	171
Leu	360	350	360	340	382	353
Lys	280	260	280	270	328	292
Met	90	84	90	86	111	108
Phe	180	170	180	170	174	159
Pro	340	354	340	380	375	376
Ser	210	194	210	210	216	195
Thr	160	150	160	160	168	149
Trp	49	46	49	49	42	42
Tyr	180	170	180	180	184	169
Val	240	230	240	240	226	196

* Souci, S.W. et al., 2000

** angegeben als Cystin

*** berechnet als Cystein

5. Literatur

- (1) Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 5. Auflage. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, (2001)
- (2) DIN 10470: Bestimmung des Molkenprotein- und Caseinanteils am Gesamtprotein von Milch und Milchprodukten – Derivativspektroskopisches Verfahren. (1998)
- (3) Dutch Dairy foundation on Nutrition and Health: Nutritional quality of proteins. published by the European Dairy Association (EDA) (1997)
- (4) Eggum, B.O., Hansen, I., Larsen, T.: Protein quality and digestible energy of selected foods determined in balance trials with rats. *Plant Foods for Human Nutrition* **39** 13-22 (1989)
- (5) Gehrke, C.W., Wall, L.L., Absheer, J.S., Kaiser, F.E.: Sample preparation for chromatography of amino acids: acid hydrolysis of proteins. *Journal/Association of official Analytical Chemists* **68** 811-821 (1985)
- (6) Hirs, C.H.W., Stein, W.H., Moore, S.: The amino acid composition of ribonuclease. *The Journal of Biological Chemistry* **211** 941-950 (1954)
- (7) Kielwein, G.: Pareys Studentexte 11: Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene, 3. Auflage. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin (1994)
- (8) Kisza, J., Borawski, K.: Influence of heat treatment of milk on the essential amino acid decrease. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **35** (3) 323-324 (1983)
- (9) Manneberg, M., Lahm, H.W., Fountoulakis, M.: Quantification of cysteine residues following oxidation to cysteic acid in the presence of sodium acetate. *Analytical Biochemistry* **231** 349-353 (1995)
- (10) Meisel, H., Andersson, H.B., Buhl, K., Erbersdobler, H.F., Schlimme, E.: Heat-induced changes in casein-derived phosphopeptides. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* **30** 227-232 (1991)
- (11) Meisel, H.: Application of fourth derivative spectroscopy to quantitation of whey protein and casein in total milk protein. *Milchwissenschaft* **50** 247-251 (1995)
- (12) Meisel, H., Schlimme, E.: Casein-gebundener Phosphor und der Gehalt an freien Aminosäuren in unterschiedlich wärmebehandelter Milch. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **47** (4) 289-295 (1995)
- (13) Nangpal, A., Reuter, H., Dehn-Müller, B., Erbersdobler, H.F.: Formation of furosine during UHT treatment of milk – comparison between direct and indirect heating. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **42** (1) 43-51 (1990)
- (14) Pickering, M.V., Newton, P.: Amino acid hydrolysis: old problems, new solutions. *LC, GC International* **3** 23-26 (1990)
- (15) Renz-Schauen, A.: Nutritional value of protein in lactose-hydrolysed UHT milk. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **35** (4) 325-327 (1983)
- (16) Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation: Protein Quality evaluation. FAO food and Nutrition Paper 51, FAO, Rom (1990)
- (17) Rudemo, M., Bech-Andersen, S., Mason, V.C.: Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents: The influence of hydrolysis time on amino acid recovery. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* **43** 27-34 (1980)
- (18) Schlimme, E., Buchheim, W.: Milch und ihre Inhaltsstoffe: Chemische und physikalische Eigenschaften, 2. Auflage. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen (1998)
- (19) Sick, H.: Protein Wertbestimmender Inhaltsstoff der Milch; *DMZ* **14** 678-685 (1994)
- (20) Singh, H., Roberts, M.S., Munro, P.A., Teo, C.T.: Acid-induced dissociation of casein micelles in milk: effects of heat treatment. *Journal of Dairy Science* **79** 1340-1346 (1996)
- (21) Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H.: Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. medpharm GmbH Scientific Publishers, Stuttgart (2000)
- (22) Spackman, D.H., Stein, W.H., Moore, S.: Automatic Recording for Use in the Chromatography of Amino Acids. *Analytical Chemistry* **30** 1190-1206 (1958)
- (23) van Boekel, M.A.J.S., Walstra, P.: Effect of heat treatment on chemical and physical changes to milk fat globules. In: (Fox, P.F., ed.), Heat-induced changes in milk, pp. 51-61, Brussels: IDF (International Dairy Federation Special Issue no. 9501) (1995)
- (24) Weber, H.: Mikrobiologie der Lebensmittel: Milch und Milchprodukte, 1. Auflage. Behr's Verlag GmbH & Co. (1996)
- (25) Zadov, J.G.: The effect of new technology on the nutritional value of dairy products. *The Australian Journal of Dairy Technology* 104-108 (1984)

6. Zusammenfassung

Schirmer, Ch., Meisel, H.: **Aminosäurezusammensetzung verschiedener Konsummilchen**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **56** (1) 5-23 (2004)

24 Aminosäuren (Konsummilchen, Erhitzung, Fettgehalt)

In dieser Arbeit werden erstmals umfangreiche Analysen zur Bestimmung der Aminosäuregehalte in Konsummilch mit einer validierten Methode unter Berücksichtigung der analytisch bedingten Zerstörung der Aminosäuren während der salzsauren Proteinhydrolyse beschrieben. Für die quantitative Aminosäureanalyse wurde eine Ionenaustauschchromatographie mit Ninhydrin-Nachsäulenderivatisierung verwendet. Die ermittelten Aminosäuregehalte der verschiedenen Konsummilchen wurden hinsichtlich einer Beeinflussung durch Erhitzung bzw. Fettreduzierung statistisch bewertet. Darüber hinaus wurden auch die prozentualen Unterschiede zwischen den verschiedenen Konsummilchen auf Grund unterschiedlich starker Erhitzung bzw. Fettreduzierung berechnet. Des Weiteren wurde der prozentuale Unterschied, der sich durch eine Behandlung zur Lactosereduzierung ergibt, bestimmt.

Die Auswertung der Analyseergebnisse ergab, dass die Aminosäuregehalte der ultrahoherhitzten Milchen signifikant niedriger als die Aminosäuregehalte der pasteurisierten Milchen sind. Die hochoherhitzten Milchen liegen mit ihren Aminosäuregehalten zwischen den pasteurisierten und den ultrahoherhitzten Milchen, wobei sie sich hinsichtlich der Signifikanz weder von den pasteurisierten noch von den ultrahoherhitzten Milchen unterscheiden. Es ist aber festzustellen, dass sich die hochoherhitzten Milchen prozentual mehr von den ultrahoherhitzten Milchen als von pasteurisierten Milchen unterscheiden. Des Weiteren wurde ein steigender Gesamtaminosäuregehalt mit abnehmendem Fettgehalt der Milch beobachtet. Diese Zunahme ist allerdings nicht signifikant und zudem für einige Aminosäuren nicht zutreffend. Die untersuchten lactosefreien, ultrahoherhitzten Milchen weisen einen niedrigeren Gesamtaminosäuregehalt als die ultrahoherhitzten Milchen mit einem naturbelassenen Lactosegehalt auf.

Summary

Schirmer, Ch., Meisel, H.: **Composition of amino acids from different consumer milks** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **56** (1) 5-23 (2004)

24 Amino acids (Consumer milks, heating, fat content)

This study first describes comprehensive analyses for determining the contents of amino acids in consumer milk. A validated method was applied to perform the analyses taking into account the analytically caused destruction of the amino acids during hydrochlorid-acid-containing protein hydrolysis. For the quantitative analysis of amino acids an ion-exchange chromatography with ninhydrin-after-column derivation was used. The detected amino acid contents of different consumer milks were statistically evaluated as to the impact of heating and/or fat reduction. Additionally, the percental differences between different consumer milks were calculated on the basis of the detected amino acid contents of different consumer milks. The percental difference resulting from a lactose-reducing treatment was determined, too.

The evaluation of the results from the analysis revealed that the amino acid contents of UHT milks were significantly lower than the amino acid contents of pasteurized milks. The amino acid contents of the high-heated milks were between those of pasteurized and ultra-high heated milks whereby they did neither differ in significance from the pasteurized nor the UHT milks. However, it is, stated that the high-heated milks differ percentally more from the ultra-high-heated milks than from the pasteurized milks. Furthermore, an increasing total amino acid content was observed with a decreasing fat content of milk. However, this increase is not significant and, furthermore, not true for some amino acids. The analyzed lactose-free, ultra-high-heated milks display a lower content in total amino acids than the ultra high heated milks with a natural lactose content.

Résumé

Schirmer, Ch., Meisel, H.: **Composition des acides aminés de différents laits de consommation**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **56** (1) 5-23 (2004)

24 Acides aminés (laits de consommation, pasteurisation, teneur en graisse)

Dans cette étude de vastes analyses pour déterminer les teneurs en acides aminés dans le lait de consommation ont été réalisées pour la première fois avec une méthode validée tout en tenant compte de la destruction à cause analytique des acides aminés pendant l'hydrolyse protéique hydrochloride-acidique. Pour l'analyse quantitative des acides aminés une chromatographie à échanges d'ions avec dérivation post-colonne à la ninhydrine a été appliquée. Les teneurs en acides aminés obtenus des différents laits de consommation ont été évaluées statistiquement sous l'aspect de l'effet causé soit par pasteurisation, soit par réduction de la graisse. En plus, les différences exprimées en pour cent entre les différents laits de consommation ont été calculées sur la base d'une pasteurisation soit réduction de graisse variable. En plus, la différence exprimée en pour cent résultant d'un traitement pour la réduction de lactose a été déterminée.

L'évaluation des résultats d'analyse a révélé que les teneurs en acides aminés des laits UHT étaient significativement plus basses que les teneurs en acides aminés des laits pasteurisés. Avec leur teneur en acides aminés, les laits pasteurisés à haute température se situent entre les laits pasteurisés et les laits UHT. Vue leur signification ils ne diffèrent ni des laits pasteurisés ni des laits UHT. Il est certes constaté que les laits pasteurisés à haute température diffèrent (exprimé en pour cent) davantage des laits UHT que des laits pasteurisés. Il a été observé que si la teneur en graisse du lait diminue, la teneur totale en acides aminés augmente. Cependant la hausse n'est pas significative et ne concerne pas tous les acides aminés. Les laits UHT sans lactose qui furent analysés démontrent une teneur totale en acides aminés plus basse que les laits UHT ayant conservé une teneur naturelle en lactose.