

Unterscheidungsmerkmale zur Bewertung der Wärmebehandlung von Milch

Von E. Schlimme¹, I. Clawin-Rädecker¹, K. Einhoff², C. Kiesner³, P.Chr. Lorenzen¹, D. Martin¹, H. Meisel¹, J. Molkentin¹ und D. Precht¹

¹ Institut für Chemie und Physik,

² Institut für Betriebswirtschaft und Marktforschung der Lebensmittelverarbeitung und

³ Institut für Verfahrenstechnik der Bundesanstalt für Milchforschung, Postfach 60 69, 24121 Kiel

Professor Andreas Lembke zum 85. Geburtstag

1. Einleitung

Es wird von einem EU-geförderten Projekt berichtet, das sich mit der Untersuchung von Unterscheidungsmerkmalen, die eine Bewertung der Wärmebehandlung von Milch ermöglichen, befaßt. Das Ziel des Projektes lag in der Erarbeitung chemischer, physikalischer, verfahrenstechnischer und sensorischer Parameter, die eine Differenzierung molkereiblicher Erhitzungsbereiche wie Thermisierung, Pasteurisierung (einschließlich der Hoherhitzung), UltraHoherhitzung und Sterilisierung ermöglichen, damit für jede Milchkatgorie die Etablierung bestimmter Grenzwerte wissenschaftlich begründen und Maßnahmen erlauben, die thermische Belastung der Milch auf das produktionstechnisch erforderliche Mindestmaß zu begrenzen und damit der Qualitätsverbesserung von Konsummilch im Interesse des Verbrauchers dienen.

2. Zusammenfassende Darstellung der Untersuchungsergebnisse

2.1 Anlagen- und verfahrenstechnische Aspekte

Für die thermische Behandlung von Milchproben wurden Temperatur-Zeit-Kombinationen im Bereich zwischen 62 und 140°C sowie Heißhaltezeiten bis in den Minuten-Bereich hinein angewendet (Tab. 1). Dies war durch den Einsatz eines diskontinuierlich arbeitenden Autoklaven und einer kontinuierlichen Piloterhitzungsanlage mit auswechselbaren Heißhaltern möglich (1). In dem untersuchten Bereich lassen sich alle gesetzlich zugelassenen Erhitzungsverfahren einordnen. Bei der Berücksichtigung der verfahrensbedingten Aufheiz- und Abkühlphasen wurde eine äquivalente Heißhaltezeit (Behandlungszeit) berechnet. Sie erfaßt neben dem thermisch induzierten Umsatz einer chemischen Reaktion bei konstanter Temperatur (Erhitzungstemperatur; Prozeßtemperatur) während der reinen Heißhaltephase auch die Umsätze während der Aufheiz- und Abkühlphasen. Als Basis für die Berechnung der äquivalenten Behandlungszeit wurde der Sterilisationswert F_0 verwendet. Für einige chemische Reaktionen, wie beispielsweise die Umlagerung von 1-Methyladenosin und die Furosinbildung, konnte gezeigt werden, daß die Auswahl der Größe des z-Wertes bei der Berechnung der äquivalenten Heißhaltezeit ohne nennenswerten Einfluß auf die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und damit auch der kinetischen Parameter bleibt. Die allgemeine Anwendbarkeit dieser Methode - auch bei anderen hitzeinduzierten chemischen Reaktionen - bedarf jedoch einer weiteren Klärung.

Tab. 1: Zusammenstellung der Temperatur-Zeit-Kombinationen wärmebehandelter Milchproben* mit Angabe der jeweiligen berechneten Sterilisationswerte F_0

Sterilisierung				UHT-Verfahren**				Hoherhitzung				Pasteurisierung*** und Thermisierung			
ST	ϑ_E (°C)	τ_{aq} (s)	F_0 (min)	UT	ϑ_E (°C)	τ_{aq} (s)	F_0 (min)	HE	ϑ_E (°C)	τ_{aq} (s)	F_0 (min)	PT	ϑ_E (°C)	τ_{aq} (s)	F_0 (min)
ST 1.1	112	13,8	0,28	UT 1.1	140	4	5	HE 1.1	86	5,75	0,00002	PT 1.1	62	20	≈0
ST 1.2	110	440,4	0,57	UT 1.2	140	8	10	HE 1.2	86	15	0,00006	PT 1.2	62	40	≈0
ST 1.3	109	1224	1,26	UT 1.3	140	12	15,5	HE 1.3	86	25,8	0,00016	PT 1.3	62	76	≈0
ST 1.4	109	2610	2,68	UT 1.4	140	23	30	HE 1.4	86	45,9	0,00026	PT 1.4	62	1800	≈0
								HE 1.5	86	48,6	0,0003				
ST 2.1	114	199,8	0,65					HE 2.1	95	5,4	0,00023	PT 2.1	72	20	≈0
ST 2.2	114	594	1,93					HE 2.2	95	14,8	0,00067	PT 2.2	72	40	≈0
ST 2.3	114	1209	4,0					HE 2.3	95	25,7	0,00129	PT 2.3	72	76	≈0
ST 2.4	114	2520	8,2					HE 2.4	95	45,6	0,0021				
								HE 2.5	95	62,4	0,0026				
ST 3.1	119	194,4	2					HE 3.1	105	5,3	0,002	PT 3.1	75	20	≈0
ST 3.2	119	609,6	6,27					HE 3.2	105	14,7	0,006	PT 3.2	75	40	≈0
ST 3.3	118	1416	11,81					HE 3.3	105	25,5	0,014	PT 3.3	75	76	≈0
ST 3.4	118	2430	20,3					HE 3.4	105	45,5	0,018				
								HE 3.5	105	84	0,034				
ST 4.1	125	150	6,14					HE 4.1	115	5,4	0,022				
ST 4.2	125	571,8	23,4					HE 4.2	115	14,8	0,06				
ST 4.3	124	1314	42,7					HE 4.3	115	25,6	0,14				
ST 4.4	125	2040	84					HE 4.4	115	45	0,18				
								HE 4.5	115	49,2	0,2				
ST 5.1	129	138	14,3					HE 5.1	125	6,5	0,27				
ST 5.2	129	678	71					HE 5.2	125	16,2	0,75				
ST 5.3	129	1392	143					HE 5.3	125	26,9	1,26				
ST 5.4	129	2622	269,5					HE 5.4	125	46,2	1,9				
								HE 5.5	125	51	2,0				
ST 6.1	134	156	51,2												
ST 6.2	134	780	255												
ST 6.3	134	1122	364												
ST 6.4	134	2970	966												

* Als Ausgangsmilch wurde - wenn nicht anders angegeben - eine auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch verwendet.

** Die Versuchsreihe mit gleichen Temperatur-Zeit-Kombinationen, in der Rohmilch als Ausgangsmilch verwendet wurde, wird mit RUT 1.1-1.4 bezeichnet

*** Kurz- und Langzeiterhitzung (Ausgangsmilch war Rohmilch).

2.2 Furosingehalte in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Die Bestimmung von Furosin in wärmebehandelter Milch hat in jüngerer Zeit aufgrund der verbesserten Analysenmethodik an Bedeutung gewonnen (2,3). Furosin (ϵ -N-(2-Furoylmethyl)-L-lysin) entsteht neben Pyridosin und Lysin bei der sauren Hydrolyse von proteingebundenem ϵ -Lactulosyllysin, dem Hauptzwischenprodukt der Maillard-Reaktion (4-6). In der vorliegenden Arbeit wurde der Furosingehalt in unter definierten Prozeßbedingungen hergestellten Milchproben untersucht, wobei erstmals der gesamte Temperatur-Zeit-Bereich der Thermisierung, Pasteurisierung, Ultrahocherhitzung und Sterilisierung erfaßt wurde. Der liquidchromatographisch in der hydrolysierten Milch bestimmte Furosingehalt erwies sich als ein geeigneter Hitzeindikator im Hoherhitzungs- und Ultrahocherhitzungsbereich (Tab. 2, 3) und bestätigt damit unlängst erhaltene Ergebnisse aus Erhitzungsuntersuchungen sowie von Milchproben des Handels (7). Im Temperatur-Bereich von 86 bis 140°C und Heißhaltezeiten entsprechend F_0 -Werten bis 30 min läßt sich die thermisch induzierte Bildung von Furosin im Bereich kleiner Umsatzraten durch eine Reaktionskinetik 0. Ordnung beschreiben. Für diesen Bereich konnte eine Aktivierungsenergie E_A von 86,2 kJ/mol, ein z-Wert von 30,9°C und ein Q_{10} -Wert von 2,11 bestimmt werden (8).

Tab. 2: Gehalte an Furosin in Milchproben aus dem Hoherhitzungsbereich (HE)

Proben	Prozeßtemperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	Furosin** (mg/100g Protein)	F_0 (min)
HE 1.1	86	5,8	0,2	<0,2
HE 1.2	"	15,0	0,9	<0,2
HE 1.3	"	25,8	1,7	<0,2
HE 1.4	"	45,9	3,1	<0,2
HE 1.5*	"	48,6	4,6	<0,2
HE 2.1	95	5,4	1,6	<0,2
HE 2.2	"	14,8	2,2	<0,2
HE 2.3	"	25,7	5,7	<0,2
HE 2.4	"	45,6	7,8	<0,2
HE 2.5*	"	62,4	10,0	<0,2
HE 3.1	105	5,3	4,3	<0,2
HE 3.2	"	14,7	6,9	<0,2
HE 3.3	"	25,5	12,1	<0,2
HE 3.4	"	45,5	15,6	<0,2
HE 3.5*	"	84,0	62,8	<0,2
HE 4.1	115	5,4	8,0	<0,2
HE 4.2	"	14,8	12,4	<0,2
HE 4.3	"	25,6	22,4	<0,2
HE 4.4	"	45,0	33,5	<0,2
HE 4.5*	"	49,2	156,7	0,2
HE 5.1	125	6,5	15,1	0,3
HE 5.2	"	16,2	17,6	0,8
HE 5.3	"	26,9	24,6	1,3
HE 5.4	"	46,2	34,8	1,9
HE 5.5*	"	51,0	164,7	2,0

* Die Temperatur-Zeit-Kombinationen HE 1.5-HE 5.5 wurden in die reaktionskinetische Auswertung nicht einbezogen, da eine korrekte Bestimmung der jeweiligen äquivalenten Heißhaltezeit (bei HE 3.5-5.5) nicht möglich war.

** Furosingehalt wurde um den Gehalt in der jeweiligen Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch) reduziert.

Tab. 3: Gehalte an Furosin in Milchproben aus dem Ultraheißbereich (RUT/UT)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltezeit τ_{aq} (s)	Furosin (mg/100 g Protein)	Furosin* (mg/100 g Protein)	F ₀ (min)
RM**	-	-	5,0	0	-
RUT 1.1	140	4	51,0	46,0	5,0
RUT 1.2	"	8	66,1	61,1	10,0
RUT 1.3	"	12	88,2	83,2	15,5
RUT 1.4	"	23	121,8	116,8	30,0
AM***	-	-	15,7	0	-
UT 1.1	140	4	60,4	45,0	5,0
UT 1.2	"	8	74,7	59,0	10,0
UT 1.3	"	12	94,3	78,6	15,5
UT 1.4	"	23	138,9	123,2	30,0

* Furosingehalt wurde um die jeweiligen Gehalte in der Rohmilch (RM) oder in der Ausgangsmilch (AM) korrigiert.

** Rohmilch

*** Ausgangsmilch (homogenisierte Rohmilch)

Unter den Temperatur-Zeit-Bedingungen der Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung) und Thermisierung läuft die Maillard-Reaktion in der Milch nur in so geringfügigem Umfang ab, daß ein eindeutiger Erhitzungsnachweis nur bei der Langzeiterhitzung (62°C, 1800 s) möglich war (Tab. 4).

Tab. 4: Gehalte an Furosin in Milchproben aus dem Pasteurierungs- und Thermisierungsbereich (PT)

Proben	Prozeßtemperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heißhaltezeit τ_{aq} (s)	Furosin (mg/100 g Protein)
RM*	-	-	5,7
PT 1.1	62	20	5,8
PT 1.2		40	5,5
PT 1.3		76	5,5
PT 1.4**		1800	9,5**
PT 2.1	72	20	6,2
PT 2.2		40	6,2
PT 2.3		76	5,7
PT 3.1	75	20	5,5
PT 3.2		40	5,8
PT 3.3		76	5,9

* Rohmilch

** Die Milchprobe PT 1.4 wurde nicht in der Versuchsanlage zur kontinuierlichen Erhitzung von Milch, sondern durch Erwärmen im Wasserbad hergestellt.

Im Sterilbereich dagegen ist Furosin nur bedingt als Hitzeindikator zu verwenden. Aufgrund der nicht mehr zu vernachlässigenden Folgereaktionen des Zwischenproduktes Lactulosyllisin wird bereits ab F₀-Werten von 10 min ein Maximum an Furosin erreicht (Tab. 5). Eine Abnahme des Furosinswertes durch die fortschreitende Maillard-Reaktion kann ab F₀-Werten von 150 min beobachtet werden. Der Furosinstieg im Sterilbereich von 110-119°C läßt sich unter den vorgenannten Voraussetzungen mit einer Reaktionskinetik 1. Ordnung beschreiben. Diese im Sterilbereich abgeschätzten Daten weichen stark von den im UHT- und HE-Bereich bestimmten prozeßchemischen Ergebnissen ab (8).

Tab. 5: Gehalte an Furosin in Milchproben aus dem Sterilbereich (ST)

Proben*	Prozeßtemperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heißhaltezeit τ_{aq} (s)	Furosin (mg/100g Protein)	F_0 (min)
ST 1.1	110	13,8	112,0	0,3
ST 1.2	"	440,4	176,3	0,6
ST 1.3	"	1224	273,5	1,3
ST 1.4	"	2610	334,1	2,7
ST 2.1	114	199,8	136,2	0,7
ST 2.2	"	594	241,8	1,9
ST 2.3	"	1209	335,2	4,0
ST 2.4	"	2520	367,9	8,2
ST 3.1	119	194,4	211,3	2,0
ST 3.2	"	609,6	323,9	6,3
ST 3.3	"	1416	380,5	11,8
ST 3.4	"	2430	395,4	20,3
ST 4.1	125	150	273,1	6,1
ST 4.2	"	571,8	394,9	23,4
ST 4.3	"	1314	386,2	42,7
ST 4.4	"	2040	381,5	84,0
ST 5.1	129	138	278,4	14,3
ST 5.2	"	678	447,7	71,0
ST 5.3	"	1392	392,8	143,0
ST 5.4	"	2622	349,5	269,5
ST 6.1	134	156	372,7	51,2
ST 6.2	"	780	421,1	255,0
ST 6.3	"	1122	349,7	364,0
ST 6.4	"	2970	303,9	966,0

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch)

Aufgrund der vorliegenden experimentellen Befunde kann zusammenfassend festgestellt werden, daß Furosin als chemischer Hitzeindikator für den HE- und UHT-Bereich (Sterilisationswerte bis 30 min) geeignet ist, die Wärmebelastung erhitzter Konsummilch zu charakterisieren.

2.3 N6-Methyladenosin-Gehalte in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

2.3.1 Temperatur-Zeit-Bedingungen der Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung, Hoherhitzung) und Thermisierung

Bei der Wärmebehandlung von Milch wird das originäre Milchrbonucleosid 1-Methyladenosin in einer Dimroth-Umlagerung zum N6-Methyladenosin umgesetzt (9,10). Eine auf 3,5 % Fettgehalt eingestellte und homogenisierte Milch wurde unter definierten Temperatur-Zeit-Bedingungen im Hoherhitzungsbereich erwärmt (Tab. 1). Die liquidchromatographischen Analysen der Milchproben ergaben, daß die Dimroth-Umlagerung zum N6-Methyladenosin im untersuchten Erhitzungsbereich einer Reaktionskinetik 1. Ordnung unterliegt. Allerdings muß im Gegensatz zu den Messungen im Sterilbereich (lange Heißhaltezeiten) bei der Messung der Hoherhitzungsmilchproben beachtet werden, daß die Aufheiz- und Abkühlphasen im Verhältnis zur Heißhaltezeit im Heißhalte-Modul relativ groß sind (1), d.h. bei jeder Temperatur werden bei der Dimroth-Umlagerung im Verlauf der Aufheiz-, Halte- und Abkühlphase Temperaturen durchlaufen, die mit unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die Umlagerung einhergehen, so

daß für die berechnete äquivalente Heißhaltezeit bei der gewählten Prozeßtemperatur im Hoherhitzungsbereich offenbar zu hohe Werte für die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante erhalten werden. Diese Aussage wurde durch entsprechende Berechnungen bestätigt. So konnte im Bereich einer Prozeßtemperatur von 86°C gezeigt werden, daß der rechnerisch ermittelte Gehalt deutlich unter dem experimentell bestimmten Wert an N6-Methyladenosin lag, d.h. es lag de facto eine stärkere Wärmebelastung vor, als sie aufgrund der äquivalenten Heißhaltezeit bei der vorgegebenen Prozeßtemperatur (scheinbar) vorgelegen hatte (Tab. 6).

Tab. 6: Gehalte an 1-Methyladenosin und N6-Methyladenosin in Milchproben aus dem Hoherhitzungsbereich (HE)

Proben	Prozeßtemperatur ϑ_E (°C)	Heißhaltezeit (äquival.) $\tau_{\text{äq}}$ (s)	m1Ado ($\mu\text{mol/l}$)**	m1Ado ($\mu\text{mol/l}$)***	m1Ado ($\mu\text{mol/l}$)****	m6Ado ($\mu\text{mol/l}$)*****
HE 1.1 - 1.5	86	5,75; 15,0; 25,8; 45,9; 48,6	0,399; 0,397; 0,403; 0,389; 0,399	0,392; 0,394; 0,397; 0,372; 0,363	0,007; 0,003; 0,006; 0,017; 0,036	0,003; 0,004; 0,007; 0,006; 0,027
HE 2.1 - 2.5	95	5,4; 14,8; 25,7; 45,6; 62,4	0,399; 0,397; 0,403; 0,389; 0,399	0,384; 0,385; 0,385; 0,365; 0,354	0,015; 0,012; 0,018; 0,024; 0,045	0,002; 0,006; 0,012; 0,015; 0,027
HE 3.1 - 3.4*	105	5,3; 14,7; 25,5; 45,5	0,399; 0,397; 0,403; 0,389	0,375; 0,372; 0,382; 0,363	0,022; 0,025; 0,021; 0,026	0,007; 0,010; 0,019; 0,020
HE 4.1 - 4.4*	115	5,36; 14,8; 25,6; 45,0	0,399; 0,397; 0,403; 0,389	0,375; 0,369; 0,369; 0,352	0,024; 0,028; 0,034; 0,037	0,014; 0,019; 0,028; 0,029
HE 5.1 - 5.4*	125	6,48; 16,2; 26,88; 46,2	0,399; 0,397; 0,403; 0,389	0,345; 0,369; 0,355; 0,330	0,054; 0,028; 0,048; 0,059	0,020; 0,020; 0,032; 0,033

* Die Temperatur-Zeit-Kombinationen HE 3.5, HE 4.5 und HE 5.5 wurden in die Auswertung nicht einbezogen, da eine korrekte Bestimmung der jeweiligen äquivalenten Heißhaltezeit nicht möglich war.

** Konzentration von m1Ado ($\mu\text{mol/l}$) in der fetteingestellten und homogenisierten Ausgangsmilch vor der Erhitzung.

*** Konzentration von m1Ado ($\mu\text{mol/l}$) in der Versuchsmilch nach der jeweiligen Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s).

**** Differenz der Konzentration von m1Ado in der jeweiligen Versuchsmilch vor und nach der Erhitzung.

***** Konzentration von m6Ado ($\mu\text{mol/l}$) in der Versuchsmilch nach der jeweiligen Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s); die angegebenen Gehalte an m6Ado wurden um den entsprechenden m6Ado-Wert der Ausgangsmilch korrigiert.

Darüberhinaus liegt das Ausmaß der Dimroth-Umlagerung bei niedrigen Prozeßtemperaturen und kurzen Heißhaltezeiten im Hoherhitzungsbereich teilweise in der Nähe der analytisch vorgegebenen Bestimmungsgrenze (Tab. 6). Bei höheren Temperaturen und längeren Heißhaltezeiten stimmen im Hoherhitzungsbereich dagegen die berechneten mit den gefundenen Werten an umgelagertem Produkt sehr gut überein (Tab. 6), so daß die reaktionskinetischen Parameter (Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k , Halbwertszeit $\tau_{1/2}$ und Dezimalreduktionswert D) berechnet werden können. Rechnerisch konnte abgeschätzt werden, daß die Dimroth-Umlagerung ab einer Heißhaltezeit von 300 s bei einer Prozeßtemperatur von 110°C (entsprechend einem F_0 -Wert von ca. 0,4 min) zweifelsfrei nachgewiesen und hinsichtlich der Wärmebelastung der Milch als Indikator verwendet werden kann.

Aufgrund der vorgenannten Meßergebnisse und der reaktionskinetischen Voraussetzungen der Dimroth-Reaktion bleibt festzuhalten, daß die thermisch induzierte Dimroth-Umlagerung bei Temperatur-Zeit-Bedingungen des Pasteurierungs- (Kurz- und Langzeiterhitzung; unterer Hoherhitzungsbereich) bzw. Thermisierungsbereiches vernachlässigbar und als Indikatorreaktion für diesen Wärmebelastungsbereich nicht geeignet ist (11).

2.3.2 Temperatur-Zeit-Bedingungen der Steril- und Ultrahoherhitzungsbereiche

Eine auf 3,5 % Fettgehalt eingestellte bzw. bei natürlichem Fettgehalt belassene und homogenisierte Milch sowie Rohmilch wurden jeweils unter definierten Temperatur-Zeit-Bedingungen im Steril- und Ultrahoherhitzungsbereich erhitzt. Die liquidchromatographischen Analysen der Milchproben (Tab. 7) ergaben, daß die Dimroth-Umlagerung zum N6-Methyladenosin im untersuchten Bereich einer Reaktionskinetik 1. Ordnung unterliegt (10,12). Die aus den jeweiligen temperaturabhängigen Geschwindigkeitskonstanten berechneten Dezimalreduktionswerte (D -Werte) zeigen, daß die Umlagerungsreaktion bis zu einer Temperatur von 119°C und einer äquivalenten Heißhaltezeit von 40,5 min bzw. Temperatur-Zeit-Kombinationen, die einen F_0 -Wert von 22 min nicht überschreiten, für kinetische Analysen geeignet ist. Bei höheren Temperaturen bzw. höheren äquivalenten Heißhaltezeiten wird die Dimroth-Umlagerung jedoch von Destruktionsreaktionen begleitet, was sich in einer scheinbaren Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit niederschlägt. Die im Sterilbereich bestimmten verfahrenstechnischen Parameter (z -Wert = 22,9°C; Q_{10} -Wert = 2,73) sind mit den im Bereich der Ultrahoherhitzung (bis $F_0 = 30$ min) und aus vorlaufenden UHT-Untersuchungen ermittelten Werten (z -Wert = 30,5°C; Q_{10} -Wert = 2,13) vergleichbar. Die erhaltenen Ergebnisse bestätigen somit die Eignung der an der Umlagerung beteiligten methylierten Nucleoside als chemische Prozeßparameter für die Wärmebehandlung von Milch für Temperatur-Zeit-Kombinationen, die Sterilisationswerten (F_0) zwischen ca. 0,4 und 22 min entsprechen (13).

Tab. 7: Gehalte an 1-Methyladenosin und N6-Methyladenosin in Milchproben aus dem Sterilbereich (ST) und dem Ultraheerhitzungsbereich (RUT/UT)

Proben	Prozeß-temperatur ϑ_E (°C)	Heißhaltezeit (äquival.) $\tau_{\text{äq}}$ (s)				m1Ado ($\mu\text{mol/l}$)**	m6Ado ($\mu\text{mol/l}$)***
ST 1.2* - 1.4	110	13,8;	440,4;	1224;	2610	0,40; 0,41; 0,41; 0,41	0,06; 0,12; 0,22; 0,26
ST 2.1 - 2.4	114	199,8;	598,0;	1209;	2520	0,36; 0,36; 0,36; 0,36	0,13; 0,18; 0,24; 0,29
ST 3.1 - 3.4	119	194,4;	609,3;	1416;	2430	0,39; 0,36; 0,36; 0,36;	0,14; 0,23; 0,30; 0,33
ST 4.1 - 4.4	125	150,0;	571,8;	1214;	2040	0,39; 0,39; 0,39; 0,39	0,21; 0,27; 0,29; 0,32
ST 5.1 - 5.4	129	138,0;	678,0;	1392;	2622	0,37; 0,37; 0,37; 0,37	0,18; 0,26; 0,28; 0,31
ST 6.1 - 6.4	134	156,0;	780,0;	1122;	2970	0,40; 0,40; 0,40; 0,40	0,25; 0,28; 0,27; 0,22
RUT1.1****-1.4	140	4;	8;	12;	23	0,37; 0,37; 0,37 0,37	0,03; 0,03; 0,04; 0,06
UT1.1*****-1.4	140	4;	8;	12;	23	0,37; 0,37; 0,37 0,37	0,02; 0,03; 0,03; 0,06

* Die Temperatur-Zeit-Kombination ST 1.1 wurde in die Auswertung nicht einbezogen, da diese nicht im Sterilbereich liegt.

** Konzentration von m1Ado ($\mu\text{mol/l}$) in der fetteingestellten und homogenisierten Ausgangsmilch vor der Erhitzung.

*** Konzentration von m6Ado ($\mu\text{mol/l}$) in der Versuchsmilch nach der jeweiligen Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s).

**** RUT-Proben wurden aus Rohmilch hergestellt.

***** UT-Proben wurden aus homogenisierter Rohmilch hergestellt.

2.4 Lactulosegehalte in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Lactulose entsteht während der Wärmebehandlung von Milch durch Umlagerung aus Lactose (14). Aufgrund umfangreicher Untersuchungen wird Lactulose als geeigneter Hitzeindikator zur Klassifizierung von UHT- und Sterilmilch angesehen (15-21).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Lactulosegehalt in unter definierten Prozeßbedingungen hergestellten Milchproben untersucht, wobei erstmals der gesamte Temperatur-Zeit-Bereich der Thermisierung, Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung und Hoherhitzung), Ultraheerhitzung und Sterilisierung erfaßt wurde. Der enzymatisch gemäß L-01.0031 (amtl. Methode gemäß § 35 LMBG) bestimmte Lactulosegehalt (16) erwies sich als geeigneter Hitzeindikator für den UHT- und Sterilbereich (Tab. 8). Selbst bei Temperatur-Zeit-Kombinationen (mit F_0 -Werten bis ca. 200 min; Tab. 1), die weit über den molkereibühlichen Sterilbereich hinausgehen, konnte die extreme Hitzebelastung der Milchproben durch den Lactulosegehalt problemlos charakterisiert werden. Im gesamten untersuchten Temperaturbereich von 110-140°C läßt sich die Bildung von Lactulose durch eine Reaktionskinetik 1. Ordnung beschreiben. Es konnte eine Aktivierungsenergie E_A von 118,3 kJ/mol, ein z-Wert von 25,3°C und ein Q_{10} -Wert von 2,48 ermittelt werden; diese für den Sterilbereich ermittelten Werte stimmen mit denen von Nangpal (17) für den Ultraheerhitzungsbereich erhaltenen sehr gut überein.

Die Eignung des Hitzeindikators Lactulose für den Thermisierungs- und Pasteurisierungsbereich (einschließlich Hoherhitzung) wird durch die Bestimmungsgrenze der Analysenmethode begrenzt. Die enzymatische Analyse ermöglicht erst ab F_0 -Werten von ca. 1 min (z.B. 125°C, 26,9 s) einen gesicherten Nachweis der durch die Wärmebehandlung gebildeten Lactulose (ab ca. 5 mg/100 g Milch). Im Bereich Thermisierung und Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung, Hoherhitzung) sind jedoch geringere Lactulosegehalte zu erwarten. Aufgrund der ermittelten reaktionskinetischen Daten treten im Hoherhitzungsbereich Lactulosegehalte zwischen 0,02 und 10 mg/100 g auf. Im Pasteurisierungs(Kurz- und Langzeiterhitzung)- und Thermisierungsbereich liegen die zu erwartenden Lactulosegehalte noch deutlich niedriger (zwischen 0,005 und 0,1 mg/100 g). Diese Lactulosegehalte liegen um mehrere Größenordnungen unter den Nachweisgrenzen der bislang verfügbaren Analysenmethoden. Die Entwicklung einer

empfindlicheren Analysenmethode für Lactulose, die eine Bestimmung der Lactulosegehalte auch unterhalb von 5 mg/100 g erlaubt, könnte den Anwendungsbereich des Hitzeindikators Lactulose auch auf schwach erhitze Milchen ausweiten.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kann zusammenfassend festgestellt werden, daß Lactulose als chemischer Hitzeindikator für den UHT- und Sterilbereich für Sterilisationswerte (F_0) zwischen 1 und 150 min geeignet ist, die Wärmebelastung der Milch zu charakterisieren (22).

Tab. 8: Gehalte an Lactulose in Milchproben aus dem Sterilbereich (ST)

Proben*	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heiß- haltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	Lactulose (mg/100 g)	F_0 (min)
ST 1.1	110	13,8	21,0	0,3
ST 1.2	"	440,4	40,5	0,6
ST 1.3	"	1224	72,8	1,3
ST 1.4	"	2610	138,5	2,7
ST 2.1	114	199,8	31,7	0,7
ST 2.2	"	594	88,7	1,9
ST 2.3	"	1209	147,9	4,0
ST 2.4	"	2520	222,6	8,2
ST 3.1	119	194,4	56,5	2,0
ST 3.2	"	609,6	133,4	6,3
ST 3.3	"	1416	224,5	11,8
ST 3.4	"	2430	302,7	20,3
ST 4.1	125	150	87,6	6,1
ST 4.2	"	571,8	199,8	23,4
ST 4.3	"	1314	301,7	42,7
ST 4.4	"	2040	413,7	84,0
ST 5.1	129	138	99,0	14,3
ST 5.2	"	678	292,5	71,0
ST 5.3	"	1393	417,9	143,0
ST 5.4	"	2622	527,0	269,5
ST 6.1	134	156	165,7	51,2
ST 6.2	"	780	429,1	255
ST 6.3	"	1122	566,4	364
ST 6.4	"	2970	678,6	966

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch)

Tab. 9: Gehalte an Lactulose in Milchproben aus dem Ultraheißbereich (RUT/UT)

Proben*	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heiß- haltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	Lactulose (mg/100 g)	F_0 (min)
RM*	-	-	0,7	-
RUT 1.1	140	4	14,1	5
RUT 1.2	"	8	18,1	10
RUT 1.3	"	12	23,4	15,5
RUT 1.4	"	23	34,2	30
AM**	-	-	2,7	-
UT 1.1	140	4	13,6	5
UT 1.2	"	8	19,0	10
UT 1.3	"	12	26,1	15,5
UT 1.4	"	23	41,6	30

* Rohmilch

** Ausgangsmilch (homogenisierte Rohmilch)

Tab. 10: Gehalte an Lactulose in Milchproben aus dem Hoherhitzungsbereich (HE)

Proben*	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquiv. Heiß- haltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	Lactulose (mg/100 g)	F_0 (min)
HE 1.1	86	5,75	n.b.	<0,2
HE 1.2	"	15	"	<0,2
HE 1.3	"	25,8	"	<0,2
HE 1.4	"	45,9	"	<0,2
HE 1.5*	"	48,6	"	<0,2
HE 2.1	95	5,4	"	<0,2
HE 2.2	"	14,8	"	<0,2
HE 2.3	"	25,7	"	<0,2
HE 2.4	"	45,6	"	<0,2
HE 2.5*	"	62,4	3,6	<0,2
HE 3.1	105	5,3	n.b.	<0,2
HE 3.2	"	14,7	n.b.	<0,2
HE 3.3	"	25,5	2,9	<0,2
HE 3.4	"	45,5	3,9	<0,2
HE 3.5*	"	84	14,5	<0,2
HE 4.1	115	5,36	3,5	<0,2
HE 4.2	"	14,8	3,7	<0,2
HE 4.3	"	25,6	6,2	<0,2
HE 4.4	"	45	9,7	<0,2
HE 4.5*	"	49,2	43,0	0,2
HE 5.1	125	6,48	4,3	0,3
HE 5.2	"	16,2	5,8	0,8
HE 5.3	"	26,88	6,3	1,3
HE 5.4	"	46,2	9,2	1,9
HE 5.5*	"	51	43,1	2,0

* Die Temperatur-Zeit-Kombinationen HE 1.5-HE 5.5 wurden in die reaktionskinetische Auswertung nicht einbezogen, da eine korrekte Bestimmung der jeweiligen äquivalenten Heißhaltezeit (bei HE 3.5 - 5.5) nicht möglich war.

n.b. = nicht bestimmbar.

2.5 Gehalte an säurelöslichen α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Die Hitzeempfindlichkeit der einzelnen Molkenproteine ermöglicht eine Charakterisierung der Wärmebehandlung von Milch auf der Basis der Molkenproteindenaturierung (21-24). Der säurelösliche Gehalt von α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin wurde in unter definierten Prozeßbedingungen hergestellten Milchproben analysiert, wobei der gesamte Temperatur/Zeit-Bereich der Thermisierung, Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung, Hoherhitzung), Ultrahoherhitzung und Sterilisierung erfaßt wurde. Die Bestimmung des säurelöslichen Gehaltes von α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin in den wärmebehandelten Milchen erfolgte mittels einer Reversed-Phase-HPLC-Methode (25).

In den in Flaschen sterilisierten Milchproben lag selbst bei geringer Wärmebelastung (Sterilisationswerte F_0 um 0,5 min) eine fast vollständige Denaturierung von α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin vor. Für den Bereich der Ultrahoherhitzung (Prozeßtemperatur 140°C) und Hoherhitzung (Prozeßtemperatur 86-125°C) erweisen sich die säurelöslichen Gehalte an α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin als geeignete Hitzeindikatoren für die Wärmebelastung (Tab. 11, 12). α -Lactalbumin und die genetischen Varianten A und B des β -Lactoglobulins weisen unterschiedliche Hitzestabilitäten auf (α -Lactalbumin > β -Lactoglobulin A > β -Lactoglobulin B). β -Lactoglobulin ist als Hitzeindikator gegenüber

α -Lactalbumin aufgrund seiner größeren Hitzeempfindlichkeit und seiner besseren analytischen Quantifizierbarkeit zu bevorzugen. Im Bereich der Ultrahoherhitzung (Prozeßtemperatur 140°C, äquivalente Heißhaltezeiten von 4-23 s) konnte selbst bei Sterilisationswerten F_0 von 30 min noch natives α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin bestimmt werden. Obwohl durch die Homogenisierung in der Ausgangsmilch deutlich höhere Vorschädigungen der Molkenproteine gegenüber der Rohmilch zu beobachten sind (Tab. 11), liegen nach der UHT-Erhitzung unter den gewählten Versuchsbedingungen vergleichbar große Gehalte an nativen Molkenproteinen in beiden Versuchsmilchen vor.

Die Denaturierung von α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin läßt sich im gesamten Temperaturbereich von 86-140°C mit einer Reaktionskinetik 1,5. Ordnung beschreiben. Für α -Lactalbumin wird im untersuchten Temperaturbereich ein linearer Zusammenhang im Arrheniusplot beobachtet und eine Aktivierungsenergie E_A von 70,4 kJ/mol ermittelt, die mit entsprechenden Angaben in der Literatur (26) sehr gut übereinstimmt. Im Arrheniusplot für das β -Lactoglobulin wird für beide genetischen Varianten ein atypischer Knickpunkt im Bereich von 95°C beobachtet. Dies läßt sich durch eine geänderte Reaktionskinetik erklären (21-24). Im komplexen Reaktionsverlauf der Molkenproteindenaturierung kommt es nach einer Auffaltung der globulären Proteine zu einer Reihe von Aggregationsreaktionen untereinander oder mit anderen Milchproteinen (hauptsächlich κ -Casein). Unterhalb 95°C sind offensichtlich die Auffaltungsreaktionen geschwindigkeitsbestimmend, wohingegen oberhalb von 95°C die Aggregationsreaktionen entscheidend sind. Im Temperaturbereich von 105-140°C wird für β -Lactoglobulin A eine Aktivierungsenergie E_A von 53,1 kJ/mol und für β -Lactoglobulin B eine Aktivierungsenergie von 23,5 kJ/mol bestimmt. Für die Denaturierung der Molkenproteine wurden z-Werte von 40,3°C (α -Lactalbumin), 56,2°C (β -Lactoglobulin A) und 127,1°C (β -Lactoglobulin B) bestimmt. Kessler und Beyer (25) haben für β -Lactoglobulin A im Temperaturbereich von 95°C bis 150°C eine vergleichbare Aktivierungsenergie von 54,1 kJ/mol gefunden. Für die Denaturierung von β -Lactoglobulin B wurde in der vorliegenden Arbeit eine deutlich geringere Aktivierungsenergie ($E_A = 23,5$ kJ/mol gegenüber 47,8 kJ/mol (26) bestimmt.

Im Thermisierungs- und Pasteurisierungsbereich ist der säurelösliche Gehalt von α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin nur bedingt zur Charakterisierung der Wärmebelastung geeignet. Erst ab Prozeßtemperaturen über 62°C kann eine geringe Abnahme des säurelöslichen Gehaltes - insbesondere des hitzeempfindlicheren β -Lactoglobulins - beobachtet werden (Tab. 13). Ohne Kenntnis der Ausgangskonzentration ist hier ein Erhitzungsnachweis jedoch schwierig.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin als Hitzeindikatoren für den Hoherhitzungs- und Ultrahoherhitzungsbereich (Sterilisationswerte F_0 bis 30 min) geeignet sind (27). Durch die asymptotische Annäherung der Denaturierung an 100 %- beziehungsweise an die 0 %-Linie ist eine Quantifizierung der Wärmebelastung im Kurzzeiterhitzungs- und Sterilisierungsbereich schwierig. Bei hoher Wärmebelastung im Bereich der Sterilisierung müssen chemische Hitzeindikatoren wie Lactulose oder N6-Methyladenosin mit in Betracht gezogen werden. Bei geringer Wärmebelastung ermöglichen besonders hitzeempfindliche Molkenproteine wie die Immunglobuline oder bovines Serumalbumin eine bessere Charakterisierung des Wärmeintrages.

Tab. 12: Gehalte an nicht denaturiertem α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin in Milchproben aus dem Hoherhitzungsbereich (HE)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltzeit τ_{aq} (s)	α -LA (mg/100 ml)	β -LG B (mg/100 ml)	β -LG A (mg/100 ml)	β -LG A+B (mg/100 ml)	F_0 -Wert (min)	Protein (%)	β -LG A+B (%)**
AM X.1*	-	-	99,2	161,8	223,0	376,4	-	3,14	11,6
AM X.2	-	-	97,7	161,8	176,9	334,0	-	3,13	10,4
AM X.3	-	-	111,3	197,8	172,8	367,0	-	3,25	11,0
AM X.4	-	-	109,7	172,6	187,6	355,2	-	3,14	11,0
AM X.5	-	-	95,6	155,1	182,9	332,5	-	3,16	10,2
HE 1.1	86	5,8	100,2	137,4	194,9	325,8	<0,2		10,1
HE 1.2	"	15,0	103,4	135,8	158,4	2,89,8	<0,2		9,0
HE 1.3	"	25,8	99,7	109,3	114,0	220,3	<0,2		6,6
HE 1.4	"	45,9	98,4	77,8	111,4	165,8	<0,2		5,7
HE 1.5	"	48,6	65,1	45,4	116,6	116,6	<0,2		3,6
HE 2.1	95	5,4	95,4	110,6	164,6	269,6	<0,2		8,3
HE 2.2	"	14,8	97,5	83,9	115,1	195,6	<0,2		6,1
HE 2.3	"	25,7	98,4	58,4	71,6	128,0	<0,2		3,8
HE 2.4	"	45,6	88,2	29,0	52,9	80,2	<0,2		2,5
HE 2.5	"	62,4	48,6	5,6	21,3	21,3	<0,2		0,7
HE 3.1	105	5,3	90,4	66,3	107,7	170,1	<0,2		5,3
HE 3.2	"	14,7	93,3	48,1	71,8	117,6	<0,2		3,7
HE 3.3	"	25,5	89,6	29,1	36,6	64,6	<0,2		1,9
HE 3.4	"	45,5	75,4	12,8	20,0	32,2	<0,2		1,0
HE 3.5	"	84,0	10,1	1,6	3,7	3,7	<0,2		0,1
HE 4.1	115	5,4	85,8	50,0	79,4	126,6	<0,2		3,9
HE 4.2	"	14,8	80,6	28,7	41,0	68,4	<0,2		2,1
HE 4.3	"	25,6	74,5	17,9	19,2	36,6	<0,2		1,1
HE 4.4	"	45,0	61,1	9,2	10,0	19,0	<0,2		0,6
HE 4.5	"	49,2	2,8	1,9	3,2	3,2	0,2		0,1
HE 5.1	125	6,5	83,6	45,2	72,3	114,9	0,3		3,6
HE 5.2	"	16,2	87,7	38,6	51,5	88,5	0,8		2,7
HE 5.3	"	26,9	86,0	30,7	32,3	62,2	1,3		1,9
HE 5.4	"	46,2	72,4	17,2	20,7	37,3	1,9		1,2
HE 5.5	"	51,0	2,4	1,5	2,9	2,9	2,0		0,1

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch).

** β -Lactoglobulin (A+B)-Gehalt bezogen auf den jeweiligen Gesamtproteingehalt der Ausgangsmilch.

Tab. 11: Gehalte an nicht denaturiertem α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin in Milchproben aus dem Ultrahocherhitzungsbereich (UT)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	α -LA (mg/100 ml)	β -LG B (mg/100 ml)	β -LG A (mg/100 ml)	β -LGA+B (mg/100 ml)	F ₀ -Wert (min)
RM*	-	-	138,5	205,0	271,4	491,4	-
RUT 1.1	140	4	47,1	13,6	19,3	32,2	5,0
RUT 1.2	"	8	43,9	10,5	14,0	24,0	10,0
RUT 1.3	"	12	36,1	7,3	8,7	15,7	15,5
RUT 1.4	"	23	23,0	5,5	4,6	10,0	30,0
AM**	-	-	99,2	162,2	195,7	371,0	-
UT 1.1	140	4	46,8	13,5	17,9	30,8	5,0
UT 1.2	"	8	38,3	10,9	12,7	23,2	10,0
UT 1.3	"	12	33,4	8,0	7,7	15,5	15,5
UT 1.4	"	23	22,2	5,4	3,9	9,3	30,0

* Rohmilch

** Ausgangsmilch (homogenisierte Rohmilch).

Tab. 13: Gehalte an nicht denaturiertem α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin in Milchproben aus dem Pasteurierungs- und Thermisierungs-
bereich (PT)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	α -LA (mg/100 ml)	β -LG B (mg/100 ml)	β -LG A (mg/100 ml)	β -LGA+B (mg/100 ml)	β -LGA+B (%)**
RM*	-		117,9	178,3	251,7	422,0	12,4
PT 1.1	62	20	114,4	171,7	144,6	408,2	12,0
PT 1.2	"	40	115,4	172,4	246,7	410,9	12,1
PT 1.3	"	76	113,1	168,6	239,7	400,2	11,8
PT 1.4	"	1800	112,4	172,3	236,1	399,6	11,8
PT 2.1	72	20	111,9	165,0	236,6	393,9	11,6
PT 2.2	"	40	109,9	161,2	230,8	384,4	11,3
PT 2.3	"	76	108,1	155,1	221,7	369,1	10,9
PT 3.1	75	20	116,3	165,1	238,0	395,3	11,6
PT 3.2	"	40	113,2	155,9	227,3	376,2	11,1
PT 3.3	"	76	111,7	151,1	220,5	364,3	10,7

* Rohmilch

** β -LG A+B-Gehalt bezogen auf den Gesamtproteingehalt der Rohmilch (Proteingehalt: 3,40 %)

2.6 Gehalte an säurelöslichen Immunglobulin G und anderen hitzeempfindlichen Molkenproteinen in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Mithilfe der Reversed-Phase-HPLC-Analysenmethode (25) lassen sich die säurelöslichen Gehalte einzelner Molkenproteine mit hoher Genauigkeit nachweisen. Neben den Gehalten an säurelöslichem α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin können die säurelöslichen Gehalte an Immunglobulin G (IgG), bovinem Serumalbumin (BSA) und einer - aufgrund des Retentionsverhaltes - als "Lactoferrin" quantifizierten Molkenproteinfraktion in wärmebehandelten Milchen bestimmt werden. Es wurde der säurelösliche Gehalt von IgG, BSA und Lactoferrin in unter definierten Prozeßbedingungen hergestellten Milchproben (Tab. 1) analysiert, wobei der gesamte Temperatur/Zeit-Bereich der Thermisierung, Pasteurisierung (einschließlich Hoherhitzung), Ultrahoherhitzung und Sterilisierung erfaßt wurde. Die untersuchten Molkenproteine IgG, BSA und Lactoferrin wiesen eine höhere Hitzeempfindlichkeit als α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin auf und sind daher für die Charakterisierung besonders gering wärmebelasteter Milchproben geeignet (vgl. 21).

Unter den untersuchten Temperatur/Zeit-Bedingungen des Sterilbereiches, des UHT-Bereiches und im oberen Bereich der Hoherhitzung lag eine vollständige Denaturierung von IgG, BSA und Lactoferrin vor. Im Pasteurisierungs- und Thermisierungsbereich und im unteren Hoherhitzungsbereich (Sterilisationswerte bis 0,002 min) läßt sich die Hitzebelastung der Milch durch den säurelöslichen Gehalt von IgG, BSA und Lactoferrin charakterisieren (Tab. 14,15). Aufgrund höherer Ausgangsgehalte und einer geringeren Standardabweichung der analytischen Bestimmung ist besonders der IgG-Gehalt als Hitzeindikator in diesem Bereich geeignet (28). Bei einer Prozeßtemperatur von 62°C ist jedoch nur eine geringe Denaturierung von IgG - selbst bei einer Langzeitpasteurisierung von 30 min - nachzuweisen. Die schon ab 40°C kalorimetrisch nachweisbare Denaturierung (Auffaltung der Quartär- und Tertiärstrukturen) der Molkenproteine (24,29-33) verläuft in diesem Temperaturbereich reversibel und führt zu keinen irreversiblen Aggregationsreaktionen. Bei der als "Lactoferrin" quantifizierten Molkenproteinfraktion konnte jedoch bei einer Langzeitpasteurisierung (Prozeßtemperatur 62°C, Heißhaltezeit 30 min) eine fast vollständige Denaturierung nachgewiesen werden. Der Nachweis einer Thermisierung der Milch über einen längeren Zeitraum bei Temperaturen um 60°C ist über die Analyse dieser besonders hitzeempfindlichen Molkenproteinfraktion denkbar, bedarf aber weiterer Untersuchungen.

Unter Zugrundelegung einer Reaktion 1,5. Ordnung lassen sich die reaktionskinetischen Daten der Denaturierung von IgG, BSA und Lactoferrin ermitteln. Die über einen Temperaturbereich von 62-105°C ermittelten Geschwindigkeitskonstanten der IgG- und BSA-Denaturierung lassen im Arrheniusplot einen atypischen Knickpunkt im Bereich von ca. 80°C erkennen, wie er schon für α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin beschrieben wurde. Dies läßt sich durch eine geänderte Reaktionskinetik in Abhängigkeit von der Temperatur erklären. Im komplexen Reaktionsverlauf der Molkenprotein-denaturierung kommt es nach einer Auffaltung der globulären Proteine zu einer Reihe von Aggregationsreaktionen untereinander oder mit anderen Milchproteinen (hauptsächlich κ -Casein). Unterhalb des Knickpunktes sind offensichtlich die Auffaltungsreaktionen geschwindigkeitsbestimmend, wohingegen bei höheren Temperaturen die Aggregationsreaktionen entscheidend sind. Für die Denaturierung von Lactoferrin kann kein solcher Knickpunkt ermittelt werden, da aufgrund der höheren Hitzeempfindlichkeit schon eine fast vollständige Denaturierung im Hoherhitzungsbereich vorliegt. Im Temperaturbereich von 62-75°C wurden für die Denaturierung von IgG, BSA und Lactoferrin Aktivierungsenergien im Bereich von etwa 300 kJ/mol ermittelt, wie sie für Denaturierungsreaktionen typisch sind (21-24), und im Temperaturbereich zwischen 65°C und

85°C beschrieben wurden (28). Die im Temperaturbereich von 86-105°C für IgG und BSA abgeschätzten Aktivierungsenergien in der Größenordnung von 70 kJ/mol liegen dagegen im Bereich chemischer Reaktionen (Aggregationsreaktionen). Analog hierzu werden im Temperaturbereich von 62-75°C z-Werte um 10°C für die Molkenproteindenaturierung ermittelt, wohingegen diese im Temperaturbereich von 86-105°C bei ca. 30°C liegen. Auch die für die einzelnen Temperaturbereiche errechneten Q_{10} -Werte unterscheiden sich um mehr als eine Größenordnung (Temperaturbereich: 62-75°C: Q_{10} -Werte ≈ 20 ; 86-105°C: Q_{10} -Werte ≈ 2) voneinander. Diese Änderung der Reaktionskinetik ab Temperaturen von ca. 80°C könnte eine Charakterisierung der Hitzebelastung besonders im Hoherhitzungsbereich erschweren.

Tab. 14: Gehalte an nicht denaturiertem Immunglobulin G (IgG), bovinem Serumalbumin (BSA) und Lactoferrin in Milchproben aus dem Hoherhitzungsbereich (HE)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	IgG (mg/100ml)	BSA (mg/100ml)	Lacto- ferrin (mg/100ml)	F_0 (min)
AM X.1*	-	-	63,3	22,3	7,2	-
AM X.2	-	-	46,3	23,9	9,9	-
AM X.3	-	-	49,7	29,2	7,4	-
AM X.4	-	-	46,9	21,8	7,0	-
AM X.5	-	-	24,6	14,1	0,9	-
HE 1.1	86	5,8	28,8	12,0	2,5	<0,2
HE 1.2	"	15,0	16,4	12,3	2,6	<0,2
HE 1.3	"	25,8	6,1	5,3	n.b.	<0,2
HE 1.4	"	45,9	3,7	3,1	n.b.	<0,2
HE 1.5**	"	48,6	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 2.1	95	5,4	9,0	7,5	1,5	<0,2
HE 2.2	"	14,8	4,4	7,6	0,9	<0,2
HE 2.3	"	25,7	2,9	2,6	n.b.	<0,2
HE 2.4	"	45,6	n.b.	1,1	n.b.	<0,2
HE 2.5**	"	62,4	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 3.1	105	5,3	3,1	3,2	0,3	<0,2
HE 3.2	"	14,7	2,3	3,9	n.b.	<0,2
HE 3.3	"	25,5	n.b.	0,8	n.b.	<0,2
HE 3.4	"	45,5	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 3.5**	"	84,0	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 4.1	115	5,4	2,3	2,3	0,2	<0,2
HE 4.2	"	14,8	n.b.	1,4	n.b.	<0,2
HE 4.3	"	25,6	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 4.4	"	45,0	n.b.	n.b.	n.b.	<0,2
HE 4.5**	"	49,2	n.b.	n.b.	n.b.	0,2
HE 5.1	125	6,5	2,4	2,2	0,1	0,3
HE 5.2	"	16,2	n.b.	2,5	n.b.	0,8
HE 5.3	"	26,9	n.b.	n.b.	n.b.	1,3
HE 5.4	"	46,2	n.b.	n.b.	n.b.	1,9
HE 5.5**	"	51	n.b.	n.b.	n.b.	2,0

* Ausgangsmilch (auf 3,5 fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch).

** Die Temperatur-Zeit-Kombinationen HE 1.5-HE 5.5 wurden in die reaktionskinetische Auswertung nicht einbezogen, da eine korrekte Bestimmung der jeweiligen äquivalenten Heißhaltezeit (für HE 3.5-5.5) nicht möglich war.

n.b. = nicht bestimmbar

Aufgrund der vorliegenden experimentellen Ergebnisse kann zusammenfassend festgestellt werden, daß insbesondere der säurelösliche Gehalt an IgG, neben BSA und Lactoferrin, als Hitzeindikator im Pasteurisierungsbereich (Kurzzeiterhitzung) geeignet ist (34). Aufgrund der starken Denaturierung und einer sich ändernden Reaktionskinetik ist die Charakterisierung der Wärmebelastung im Hoherhitzungsbereich über diese Hitzeindikatoren nur bedingt möglich. Die besondere Hitzeempfindlichkeit der als "Lactoferrin" quantifizierte Molkenproteinfraktion könnte wahrscheinlich zum Nachweis einer Thermisierung der Milch verwendet werden.

Tab. 15: Gehalte an nicht denaturiertem Immunglobulin B (IgG), bovinem Serumalbumin (BSA) und Lactoferrin in Milchproben aus dem Pasteurierungs- und Thermisierungsbereich (PT)

Proben	Prozeß- temperatur ϑ_E (°C)	äquivalente Heißhaltezeit τ_{aq} (s)	IgG (mg/100 ml)	BSA (mg/100 ml)	Lactoferrin (mg/100 ml)
RM*	-	-	48,6	27,3	20,7
PT 1.1	62	20	50,5	27,1	21,2
PT 1.2	"	40	48,3	26,6	19,6
PT 1.3	"	76	47,8	26,6	18,6
PT 1.4	"	1800	44,1	28,0	3,9
PT 2.1	72	20	39,7	20,3	15,2
PT 2.2	"	40	33,7	16,5	9,7
PT 2.3	"	76	28,8	12,6	8,2
PT 3.1	75	20	32,5	15,2	13,2
PT 3.2	"	40	23,2	12,5	7,0
PT 3.3	"	76	20,6	7,4	4,8

* Rohmilch

2.7 Gehalt an freien Aminosäuren und Casein-gebundenem Phosphor in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Im Hinblick auf die technologische und nutritive Bedeutung von hitzeinduzierten Veränderungen der Milchproteine wurde der Einfluß der Hitzebehandlung von Milch auf den Gehalt des Casein-gebundenen Phosphors sowie der freien Aminosäuren (FAA) untersucht.

2.7.1 Gehalt an freien Aminosäuren

Eine durch die Erhitzung von Milch bedingte Hydrolyse von Peptidbindungen, die zur Freisetzung von Aminosäuren aus den Milchproteinen führt, konnte unter molkereiüblichen Erhitzungsbedingungen nicht nachgewiesen werden (Tab. 16). Der natürliche Gehalt an freien Aminosäuren in Milch - bestimmt als Summenparameter - wird durch molkereiübliche Erhitzungsverfahren nicht signifikant beeinflusst, die Schwankungen spiegeln die unterschiedlichen FAA-Konzentrationen in den entsprechenden Ausgangsmilchen wider (35). Da aber die geltende bundesdeutsche MilchVO (24. April 1995) keine obere Begrenzung bei anerkannten Wärmebehandlungsverfahren (Hoherhitzung, Ultrahoherhitzung, Sterilisierung) festlegt, könnten die Ergebnisse gegebenenfalls Bedeutung erlangen, wenn die Wärmebehandlung mit hohen Sterilisationswerten (> 70 min) ausgeführt würde. Im übrigen schließt ein weitgehend konstanter FAA-Summen-

parameter nicht aus, daß einzelne Aminosäuren bevorzugt freigespalten und andere bevorzugt thermisch abgebaut bzw. derivatisiert werden, ohne den Gehalt an FAA als Summenparameter zu verändern.

Tab. 16: Gehalte an freien Aminosäuren (FAA) in Milchproben vor und nach Wärmebehandlung unter Temperatur-Zeit-Bedingungen der Thermisierung und Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung) (PT), der Hoherhitzung (HE), der Ultra-hoherhitzung (RUT/UT) und der Sterilisierung (ST)

Proben	Prozeß-temperatur ϑ_E (°C)	Heißhaltezeit (äquiv.) τ_{aq} (s)	Freie Aminosäuren (FAA) ($\mu\text{mol} / \text{l Milch}$)
RM (Rohmilch)			722,6
PT 1.1 - 1.4	62	15; 30; 60; 1800	552,6; 599,3; 565,3; 741,7
PT 2.1 - 2.3	72	15; 30; 60	582,3; 633,3; 618,5
PT 3.1 - 3.3	75	15; 30; 60	641,8; 794,8; 818,2
AM (Ausgangsmilch)*			781,4; 752,7; 746,8; 890,9; 658,8
HE 1.1 - 1.5	86	5,75; 15,0; 25,8; 45,9; 48,6	848,4; 667,7; 647,9; 869,2; 684,5
HE 2.1 - 2.5	95	5,4; 14,8; 25,7; 45,6; 62,4	873,3; 725,0; 642,1; 861,3; 727,3
HE 3.1 - 3.5	105	5,3; 14,7; 25,5; 45,5; 84,0	827,3; 711,2; 695,4; 849,5; 704,7;
HE 4.1 - 4.5	115	5,36; 14,8; 25,6; 45,0; 49,2	824,5; 754,7; 681,6; 891,0; 719,7
HE 5.1 - 5.5	125	6,48; 16,2; 26,9; 46,2; 51,0	796,3; 713,2; 703,3; 857,4; 710,3
RM (Rohmilch)			446,3
RUT 1.1 - 1.4	140	4; 8; 12; 23	495,4; 484,8; 474,3; 463,3
AM (Ausgangsmilch)**			546,0
UT 1.1 - 1.4	140	4; 8; 12; 23	463,3; 586,6; 610,3; 582,5
AM (Ausgangsmilch)*			524,3; 583,7; 618,6; 566,9; 571,2
ST 1.1 - 1.4	110	13,8; 440,4; 1224; 2610	577,6; 525,9; 493,6; 547,5
ST 2.1 - 2.4	114	199,8; 594; 1209; 2520	625,1; 573,3; 600,8; 597,6
ST 3.1 - 3.4	119	194,4; 609,6; 1416; 2430	603,5; 630,9; 598,4; 643,5
ST 4.1 - 4.4	125	150; 571,8; 1314; 2040	577,1; 580,8; 592,0; 591,8
ST 5.1 - 5.4	129	138; 678; 1392; 2622	570,6; 563,0; 597,6; 606,5
ST 6.1 - 6.4	134	156; 780; 1122; 2970	589,9; 575,9; 629,1; 700,9

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch)

** Ausgangsmilch (homogenisierte Rohmilch)

Tab. 17: Gehalte an Casein-Phosphor in Milchproben vor und nach Wärmebehandlung unter Temperatur-Zeit-Bedingungen der Hoherhitzung (HE) und der Sterilisierung (ST)

Proben	Prozeßtemperatur ϑ_E (°C)	Heißhaltezeit (äquiv.) τ_{aq} (s)	Casein-Phosphor-Gehalt ($\mu\text{g Phosphor/g Milchprobe}$)
AM*			213
HE 1.4	86	45,9	211
HE 2.4	95	45,6	218
HE 3.4	105	45,5	217
HE 4.4	115	45,0	233
HE 5.4	125	46,2	190
AM*			238; 233; 221; 210; 214; 217**
ST 1.4	110	2610	220
ST 2.4	114	2520	188
ST 3.4	119	2430	177
ST 4.4	125	2040	73 (Gelrückstand auf Filter)

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch)

** Mittelwert: 226 (s=13)

2.7.2 Casein-gebundener Phosphor

Die Dephosphorylierung des Caseins beginnt bereits bei Temperatur-Zeit-Kombinationen, die einem Sterilisationswert von 1,9 min entsprechen, d.h. im oberen Hoherhitzungsbereich. Bei Sterilmilchen, die mit Prozeßtemperaturen über 110°C und äquivalenten Heißhaltezeiten um 40 min hergestellt wurden, konnte eine Korrelation zwischen der Abnahme an Casein-gebundenem Phosphor mit der steigenden Prozeßtemperatur nachgewiesen werden. Die Dephosphorylierung des Milchcaseins könnte sowohl eine strukturelle Veränderung als auch eine verringerte Bildung der Phosphopeptide zur Folge haben und damit deren regulatorische Wirkung als Carrier für Mineralstoffe beeinträchtigen (Tab. 17).

2.8 In vitro-Proteolysierbarkeit zur Charakterisierung der Wärmebelastung der Milch

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, die Eignung der tryptischen in vitro-Proteolysierbarkeit als Methodik zur Charakterisierung von Proteinveränderungen infolge der Wärmebelastung in erhitzter Milch zu prüfen (36). Als Wärmebehandlungsverfahren wurden die Thermisierung und Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung sowie Hoherhitzung), die UltraHoherhitzung und die Sterilisierung von Milch untersucht. Dabei zeigen unter den Temperatur-Zeit-Bedingungen des Sterilbereichs erhitzte Milchproben systematische, lineare Abhängigkeiten einer abnehmenden Proteolysierbarkeit mit zunehmender Wärmebelastung. Insbesondere wurde deutlich, daß Prozeßtemperaturen >110°C im Sterilbereich in bezug auf die Proteolysierbarkeit und damit auf die enzymatische Freispaltbarkeit bioaktiver, phosphopeptidreicher Fraktionen aus Casein als kritisch anzusehen sind. Zum gleichen Ergebnis führten die Bestimmungen der Gehalte an löslichem Aminostickstoff in den Überständen nach Proteolyse und Abtrennung des isoelektrisch fällbaren Proteins (Tab. 18). Die Untersuchung der Proteolysate von ultrahoherhitzten Milchen (bis zu Sterilisationswerten von 30 min; Tab. 1) ergaben dagegen keine thermisch bedingte Einschränkung der Proteolysierbarkeit.

Tab. 18: Gehalte an löslichem Amino-Stickstoff im Überstand von unterschiedlich sterilisierten Milchproben nach Proteolyse mit Trypsin und isoelektrischer Abtrennung des fällbaren Proteins

Proben*	Prozeßtemperatur	Heißhaltezeiten (äquivalent)	Löslicher Amino-N
	ϑ_E (°C)	τ_{ag} (s)	($\mu\text{g N/ml}$)
ST 1.2 - 1.4	110	440,4; 1224; 2610	524; 498; 489
ST 2.1 - 2.4	114	199,8; 594,0; 1209; 2520	482; 461; 451; 438
ST 3.1 - 3.4	119	194,4; 609,6; 1416; 2430	493; 455; 452; 423
ST 4.1 - 4.4	125	150,0; 571,8; 1314; 2040	494; 453; 432; 398
ST 5.1 - 5.4	129	138,0; 678,0; 1392; 2622	479; 425; 405; 350
ST 6.1 - 6.4	134	156,0; 780,0; 1122; 2470	483; 415; 364; 276

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fetteingestellte und homogenisierte Rohmilch).

Möglicherweise können zusätzliche Untersuchungen unter Nutzung eines peptisch-pankreatischen Multienzymsystems weitergehende - und verdauungsphysiologischen Gegebenheiten noch besser entsprechende - Informationen über die Proteolysierbarkeit sterilisierter Milch und Milcherzeugnisse als Grad einer Wärmebelastung erbringen.

Die übrigen Wärmebehandlungsverfahren sind mit Hilfe der in den vorliegenden Untersuchungen angewandten Methodik zur Proteolysebarkeit kaum oder gar nicht charakterisierbar, da bei Sterilisationswerten bis $F_0 = 30$ min proteolysehemmende Proteinveränderungen nicht beobachtet wurden (36).

2.9 Bestimmung von Linolsäure und *trans*-Octadecensäuren in Milchfett unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Orientierende Untersuchungen (37) deuten darauf hin, daß im Bereich der Hoherhitzung von Milch mit zunehmender Wärmebelastung (F_0 -Werte bis 2,1 min) ein Abfall des Gehaltes an *trans*-Fettsäuren einhergeht (Tab. 19). Ein entsprechender Abfall deutet sich auch in den ultrahoherhitzten Milchen an. Hinsichtlich des Gehaltes an Linolsäure konnte nur in der Versuchsserie der hoherhitzten Milch ein - allerdings - deutlicher Abfall dieser unentbehrlichen mehrfach ungesättigten Fettsäure festgestellt werden. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß ein entsprechender Abfall in den Sterilmilchproben nicht beobachtet wurde, obwohl die Sterilisationswerte F_0 in dieser Versuchsreihe höhere Werte erreichten. Der Grund könnte in oxidativen Prozessen gesehen werden, die in den verschlossenen und mit wenig Kopfraum versehenen Sterilproben weniger zum Tragen gekommen sind, als in der indirekten Milcherhitzungsanlage. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß gerade auf diesem Gebiet erheblicher Forschungsbedarf besteht.

2.10 Acidität wärmebehandelter Milch in Abhängigkeit von der Temperatur und der Zeit

Das vorliegende Datenmaterial macht deutlich, daß eine Sterilisierung der Milch mit zunehmender Wärmebelastung - entsprechend sinkenden pH-Werten - zu einer Erhöhung der potentiellen Acidität führt (38).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Wärmebehandlungsverfahren der Thermisierung, Pasteurisierung (einschließlich der Hoherhitzung) und Ultrahoherhitzung lediglich geringe oder gar keine Auswirkungen auf die detektierbare Acidität der Milch ausüben. Eine Sterilisierung von Milch, insbesondere im extremen Sterilbereich, führt dagegen zu einem signifikanten Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration bis zu einer Zehnerpotenz.

2.11 Bestimmung des Gefrierpunktes in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

Der Gefrierpunkt von Milch wird durch eine Thermisierung, Pasteurisierung oder eine indirekte Ultrahoherhitzung nicht beeinflusst; diese Ergebnisse stimmen überwiegend mit Angaben in der Literatur (39,40) überein, widersprechen aber anderen Berichten (41). Lediglich bei sehr starker Erhitzung im Sterilbereich (ab F_0 -Werten von ca. 20 min) wird eine Erniedrigung des Gefrierpunktes beobachtet (42). In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß der direkten UHT-Erhitzung nicht untersucht. Die bei direkter UHT-Erhitzung beobachtete Erhöhung des Gefrierpunktes um bis zu $0,01^\circ\text{C}$ durch eine Entgasung der Milch (39,40) bleibt somit für die Grenzwertdiskussion bedeutsam.

Um einen Zusatz von Fremdwasser auszuschließen, ist die Festlegung eines Gefrierpunktgrenzwertes für wärmebehandelte Milch ohne Berücksichtigung des Gefrierpunktes der Ausgangsrohmilch wenig sinnvoll, da eine Überschreitung des Grenzwertes von $-0,520^\circ\text{C}$ auch ohne Verwässerung - je nach eingesetzter Rohmilch - möglich ist (43). Bei Einsatz einer Rohmilch mit einer ausgeprägten Gefrierpunkterniedrigung ist dagegen eine Verwässerung durch Fremdwasserzusatz auch unter Einhaltung des Grenzwertes von $-0,520^\circ\text{C}$ denkbar.

Tab. 19: Anteile der verschiedenen Positionsisomere von *trans*-C18:1-Fettsäuren sowie *trans*-Gesamt-C18:1-Anteile (in Gew.%)

Probe	Prozeß- temp. ϑ_E (°C)	Heiß- haltezeit $\tau_{\text{äq}}$ (s)	<i>trans</i> - Fettsäuren										
			ge- samt	$\Delta 4$	$\Delta 5$	$\Delta 6-8$	$\Delta 9$	$\Delta 10$	$\Delta 11$	$\Delta 12$	$\Delta 13/14$	$\Delta 15$	$\Delta 16$
AM*			3,67	0,03	0,04	0,20	0,19	0,20	1,55	0,26	0,50	0,39	0,31
ST 2.1	114	200	3,59	0,04	0,10	0,18	0,19	0,17	1,55	0,25	0,44	0,40	0,30
ST 2.2	114	600	3,57	0,03	0,09	0,20	0,18	0,13	1,58	0,25	0,49	0,33	0,29
ST 2.3	114	1200	3,64	0,04	0,07	0,19	0,20	0,18	1,57	0,26	0,42	0,36	0,35
ST 2.4	114	2520	3,65	0,06	0,06	0,19	0,18	0,18	1,57	0,25	0,54	0,30	0,33
AMX.3**			2,86	0,06	0,09	0,21	0,21	0,32	0,81	0,26	0,40	0,26	0,23
HE 1.3	86	26	2,67	0,04	0,06	0,21	0,16	0,30	0,81	0,24	0,34	0,24	0,27
HE 2.3	95	26	2,35	0,02	0,03	0,20	0,12	0,26	0,69	0,24	0,32	0,21	0,25
HE 3.3	105	26	2,84	0,01	0,07	0,24	0,17	0,30	0,86	0,26	0,43	0,25	0,25
HE 4.3	115	26	2,83	0,03	0,03	0,21	0,19	0,33	0,86	0,28	0,39	0,27	0,25
HE 5.3	125	27	2,85	0,03	0,05	0,23	0,21	0,31	0,86	0,27	0,42	0,25	0,23
AMX.4**			3,67	0,02	0,29	0,25	0,19	0,35	0,86	0,29	0,54	0,30	0,70
HE 1.4	86	46	3,75	0,07	0,16	0,30	0,24	0,39	1,03	0,38	0,61	0,38	0,31
HE 2.4	95	46	3,27	0,08	0,15	0,26	0,21	0,39	0,92	0,32	0,54	0,29	0,23
HE 3.4	105	46	3,20	0,05	0,14	0,28	0,18	0,41	0,91	0,31	0,54	0,31	0,19
HE 4.4	115	45	3,01	0,03	0,09	0,22	0,20	0,36	0,92	0,31	0,52	0,33	0,14
HE 5.4	125	46	3,09	0,06	0,10	0,26	0,19	0,38	0,96	0,33	0,51	0,31	0,11
AMX.5**			3,15	0,04	0,17	0,24	0,21	0,33	0,79	0,31	0,56	0,35	0,27
HE 1.5	86	49	3,33	0,08	0,31	0,24	0,17	0,31	0,73	0,29	0,50	0,30	0,52
HE 2.5	95	62	2,95	0,06	0,12	0,24	0,24	0,35	0,77	0,34	0,51	0,31	0,13
HE 3.5	105	84	3,46	0,06	0,12	0,26	0,21	0,38	0,75	0,34	0,56	0,34	0,55
HE 4.5	115	49	3,17	0,04	0,17	0,26	0,22	0,33	0,78	0,32	0,55	0,33	0,29
HE 5.5	125	51	3,24	0,05	0,25	0,22	0,20	0,36	0,72	0,30	0,54	0,32	0,40
RM***			6,40	0,03	0,04	0,41	0,26	1,41	2,07	0,48	0,87	0,43	0,46
PT 1.1	62	15	6,16	0,03	0,04	0,40	0,28	1,29	2,16	0,45	0,73	0,45	0,47
PT 1.2	62	30	6,45	0,03	0,05	0,40	0,31	1,32	2,14	0,46	0,85	0,44	0,48
PT 1.3	62	60	6,46	0,05	0,04	0,36	0,30	1,27	2,15	0,45	0,77	0,43	0,47
PT 1.4	62	1800	6,05	0,03	0,04	0,38	0,31	1,28	2,06	0,46	0,78	0,41	0,43
PT 2.1	72	15	6,45	0,03	0,04	0,39	0,28	1,39	2,13	0,46	0,80	0,44	0,48
PT 2.2	72	30	6,37	0,05	0,06	0,37	0,31	1,31	2,04	0,46	0,85	0,42	0,48
PT 2.3	72	60	6,41	0,07	0,09	0,40	0,30	1,34	2,08	0,47	0,76	0,43	0,46
PT 3.1	75	15	6,31	0,01	0,05	0,39	0,31	1,38	2,09	0,47	0,75	0,42	0,45
PT 3.2	75	30	6,42	0,04	0,10	0,40	0,31	1,37	2,07	0,46	0,75	0,45	0,47
PT 3.3	75	60	6,19	0,05	0,06	0,35	0,24	1,23	2,12	0,45	0,85	0,39	0,44
AM****			6,46	0,05	0,05	0,38	0,29	1,05	2,63	0,44	0,75	0,39	0,43
UT 1.1	140	4	6,73	0,04	0,10	0,44	0,27	1,15	2,62	0,43	0,80	0,42	0,46
UT 1.2	140	8	6,71	0,09	0,07	0,39	0,29	1,13	2,57	0,51	0,81	0,41	0,43
UT 1.3	140	12	6,29	0,04	0,02	0,38	0,26	1,05	2,63	0,44	0,66	0,40	0,40
UT 1.4	140	23	6,16	0,02	0,04	0,38	0,24	0,95	2,71	0,42	0,55	0,46	0,40
RM**			6,59	0,03	0,07	0,40	0,29	1,16	2,58	0,44	0,69	0,48	0,45
RUT 1.1	140	4	6,79	0,09	0,09	0,45	0,31	0,92	2,81	0,45	0,75	0,48	0,44
RUT 1.2	140	8	6,53	0,03	0,08	0,38	0,29	1,08	2,60	0,46	0,74	0,46	0,42
RUT 1.3	140	12	6,23	0,01	0,03	0,36	0,29	1,03	2,52	0,43	0,70	0,44	0,43
RUT 1.4	140	23	6,30	0,02	0,08	0,41	0,30	0,92	2,68	0,43	0,60	0,45	0,41

* Ausgangsmilch (auf 3,5 % fettigestellte und homogenisierte Rohmilch)

** AM: Ausgangsmilch (vgl. Tab. 12)

*** Rohmilch

**** Ausgangsmilch (homogenisierte Rohmilch)

2.12 Sensorische Profilanalyse

Die Ergebnisse der sensorischen Profilveruntersuchung sowie der visuellen Bewertung der unterschiedlich wärmebehandelten Milchen zeigen (44), daß ein in der Milchsensitiv trainiertes "Taste-Panel" Milch aus dem Thermisierungs- und Pasteurisierungsbereich (Kurz- und Langzeiterhitzung) und aus dem unteren Hoherhitzungsbereich (max. Prozeßtemperatur 95°C; max. äquivalente Heißhaltezeit 15 s) als völlig fehlerfrei, d.h.

hinsichtlich Geruch und Geschmack eine gute bis sehr gute Qualität zuerkennt. In gleicher Weise wurde von diesem "Taste-Panel" Milch, die unter Bedingungen der Ultrahoherhitzung hergestellt wurde, hinsichtlich ihres Geruches und Geschmacks ebenfalls als fehlerfrei qualifiziert und eine gute Qualität zuerkannt, obwohl unter den gewählten Temperatur-Zeit-Kombinationen Sterilisationswerte bis 30 min angewendet wurden. Im Gegensatz dazu wurden Milchen, die im oberen Hoherhitzungsbereich bei Prozeßtemperatur von 105 bis 125°C und Heißhaltezeiten, die Sterilisationswerten von weniger als 0,3 min entsprachen, sensorisch als fehlerhaft eingestuft. Selbst wenn die äquivalenten Heißhaltezeiten der Milchproben HE 3.1, HE 4.1 und HE 5.1 (Tab. 1) als zu niedrig angesehen werden, ist die effektive Wärmebelastung dieser Milch deutlich geringer, als sie bei der sensorisch akzeptierten UT/RUT-Milch gegeben ist. Der Grund könnte in einem Milch-Flavour liegen, welches insbesondere im oberen Hoherhitzungsbereich auftritt, nicht aber unter Bedingungen der Ultrahoherhitzung freigesetzt wird bzw. bei den höheren Prozeßtemperaturen des Ultrahoherhitzungsbereichs aus der Milchmatrix ausgetrieben und dadurch sensorisch nicht mehr wirksam ist. Zusätzlich wäre darüber hinaus zu unterstellen, daß das Kochflavour der UHT-Milch heute auch von sensorisch geschulten Prüfern als Geschmacks- und Geruchsrichtung nicht mehr abgelehnt wird.

3. Gesamtbewertung der Ergebnisse des Forschungsprojektes, insbesondere vor dem Hintergrund der gegenwärtigen Rechtslage

Für die Festlegung nationaler Qualitätsnormen für Konsummilch läßt das EG-Recht wenig Spielraum. In Anlage 6 der Verordnung über "Hygiene- und Qualitätsanforderungen an Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis" (MilchVO) vom 24. April 1995 (45) sind die Anforderungen an die Herstellung und Behandlung der Milch und der Erzeugnisse auf Milchbasis im Be- und Verarbeitungsbetrieb festgelegt. Zu den in Nr. 2 dieser Anlage aufgeführten anerkannten Wärmebehandlungsverfahren zählen die Pasteurisierung (Dauererhitzung, Kurzzeiterhitzung, Hoherhitzung), die Ultrahoherhitzung, die Sterilisierung und das Kochen. Hinsichtlich der anzuwendenden Temperatur-Zeit-Bedingungen werden bei den anerkannten Wärmebehandlungsverfahren Mindestanforderungen hinsichtlich der Prozeßtemperatur und der Heißhaltezeit festgelegt, die einzuhalten sind, wohingegen aus Wettbewerbsgründen nur bei den Pasteurisierungsverfahren Dauererhitzung und Kurzzeiterhitzung auch obere Begrenzungen des Wärmeeintrages festgeschrieben wurden. Bei der Hoherhitzung, der Ultrahoherhitzung und der Sterilisierung erfolgte dagegen keine obere Begrenzung des Wärmeeintrages - beispielsweise durch Aufnahme entsprechender Hitzeindikatoren, von denen - wie diese Untersuchung zeigt und damit vorliegende Ergebnisse bestätigt (7) - eine Vielzahl für die verschiedenen Erhitzungsbereiche analytisch geeignet wären. Mit dem Verzicht des Ordnungsgebers auf die Festlegung von oberen Grenzwerten entfällt zugleich die Möglichkeit, eine Unterscheidung der Konsummilchsorten auf der Grundlage von Hitzeindikatoren zu etablieren. Im Kommentar zur MilchVO wird dazu angemerkt: ... da "noch eine Reihe von Fragen ungeklärt erscheint (46)".

Die vorliegende Studie widmete sich der Untersuchung von "Unterscheidungsmerkmalen zur Bewertung der Wärmebehandlung von Milch", da der Verbraucher ein großes Interesse an einer hochwertigen Produktbeschaffenheit von Nahrungsmitteln hat. Aus diesem Interesse leitet sich die Aufforderung ab, die Wärmebelastung der Milch auf das aus Gründen der hygienischen Produktsicherheit gebotene Mindestmaß zu begrenzen und dieses technisch durch Festschreibung von Obergrenzen auf der Grundlage prozeß-technisch geeigneter und analytisch zugänglicher Hitzeindikatoren zu gewährleisten. Aus diesem Grunde wurden eine Reihe von chemischen, physikalischen, verfahrens-

technischen und sensorischen Parametern untersucht, um eine sichere Differenzierung anerkannter Wärmebehandlungsverfahren zu erarbeiten, damit für jede Milchkategorie die Etablierung bestimmter Grenzwerte wissenschaftlich zu begründen und Maßnahmen zu ermöglichen, die die thermische Belastung der Milch auf das hygienisch erforderliche Mindestmaß bei der Hoherhitzung, der Ultrahoherhitzung und der Sterilisation begrenzen.

Im Erhitzungsbereich der Pasteurisierung ist die Kurzzeiterhitzung ein produkt-schonendes Wärmebehandlungsverfahren für Konsummilch, die als Frischprodukt vom Verbraucher sehr geschätzt wird. Für die kurzzeiterhitzte Milch gelten strenge Grenzwerte (EU-Hygiene-Richtlinie 92/46; bundesdeutsche Milchverordnung vom 24. April 1995). Zur Sicherstellung der hygienischen Produktqualität muß der Mindestwärmeeintrag (untere Grenze) so hoch sein, daß die Milch "Phosphatase-negativ" ist, wobei die Wärmebelastung nach oben durch die Forderung einer "Peroxidase-positiven" Milch begrenzt wird (obere Grenze). Obwohl derzeit keine validierte Peroxidase-Bestimmungsmethode vorliegt, wurde sowohl seitens der Europäischen Gemeinschaft wie in der geltenden bundesdeutschen MilchVO (45) auf die Einführung eines bestimmten Denaturierungsgrades von β -Lactoglobulin als "zusätzlicher oberer Grenze" verzichtet. Durch einen solchen Grenzwert hätte eine besonders schonende Wärmebehandlung kurzzeiterhitzter Konsummilch sichergestellt werden können (47,48). Im ursprünglichen EU-Kommissions-Dokument war ein Mindestgehalt von 2600 mg β -Lactoglobulin/l Milch vorgeschlagen worden, der einem Denaturierungsgrad von etwa 25 % entsprochen hätte (durchschnittlicher β -Lactoglobulin-Gehalt: 3300-3500 mg/l Rohmilch). Die deutsche Seite hatte einen Mindest- β -Lactoglobulingehalt von 3000 mg/l unterstützt, um eine positive Peroxidase-reaktion kurzzeiterhitzter Milch zu gewährleisten (47,48).

Die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens erarbeiteten Ergebnisse über die Denaturierung von Molkenproteinen unter bestimmten Temperatur-Zeit-Bedingungen haben gezeigt, daß ein Mindest- β -Lactoglobulingehalt von 3000 mg/l einmal den gesamten Bereich der Kurzzeiterhitzung nach oben begrenzt, und zum anderen den unteren Bereich der Hoherhitzung miteinschließt (Abb. 1), der in der sensorischen Profilanalyse hinsichtlich des Geruches und des Geschmackes zu einer fehlerfreien Beurteilung der Milch geführt hatte (Abb. 1). Für den Hoherhitzungsbereich war im EU-Kommissions-Dokument als obere Grenze ein Mindest- β -Lactoglobulingehalt von 2000 mg/l vorgeschlagen worden. Die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Studie zeigen nun mit Blick auf die sensorische Profilanalyse, daß in Milch, die unter Temperatur-Zeit-Bedingungen wärmebehandelt wurde, die zwischen den beiden Grenzlinien von 3000 und 2000 mg/l angesiedelt sind (Abb. 1), sensorisch hinsichtlich ihres Geruches und Geschmackes bereits Fehler auftreten können (44). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie machen also deutlich, daß allein aus sensorischen Gründen - ohne Berücksichtigung eventuell auftretender hitzebedingter stofflicher Veränderungen - die Etablierung oberer Begrenzungen des Wärmeeintrages für hoherhitzte Milch dem Verordnungsgeber empfohlen werden sollte. Der im ursprünglichen EU-Kommissions-Dokument vorgeschlagene Mindestgehalt an säurelöslichem (nativem) β -Lactoglobulin von 2000 mg/l Milch sollte daher auf keinen Fall unterschritten werden. Als chemischer Prozeßparameter für den oberen Grenzwert im Hoherhitzungsbereich ist aufgrund reaktionskinetischer Eigenschaften ebenfalls Furosine geeignet; als oberer Grenzwert käme ein Furosingehalt (unkorrigiert um den Gehalt der Roh- bzw. Ausgangsmilch) von etwa 20 mg/100 g Milchprotein in Frage (Abb. 2).

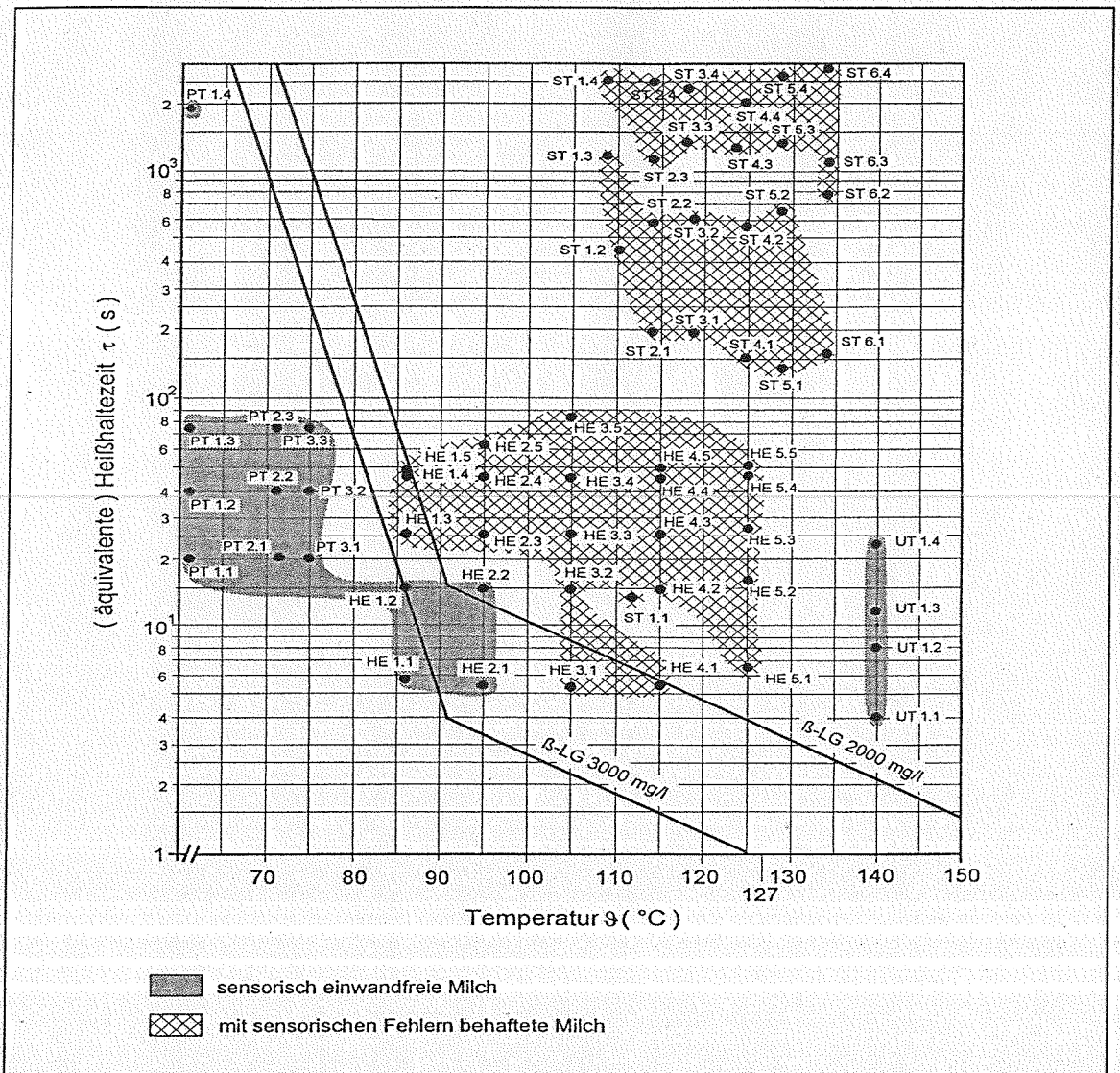


Abb. 1: Erhitzungsbereiche wärmebehandelter Milch: Sensorische Bewertung und Grenzlinien für verschiedene β -Lactoglobulin-Gehalte

Furosine ist als Hitzeindikator für die Charakterisierung wärmebehandelter Milch im Hoherhitzungs- und Ultrahoherhitzungsbereich geeignet. Im Thermisierungs- und Pasteurisierungsbereich (Kurz- und Langzeiterhitzung) kann die thermisch verursachte Zunahme des Furosingehaltes bereits im Bereich der Bestimmungsgrenze bei der in dieser Studie angewendeten (derzeit empfindlichsten) Furosine-Bestimmungsmethode liegen. Stoffliche Veränderungen, wie sie beispielsweise in Maillard-Reaktionen auftreten, in denen Kohlenhydrate, Proteine sowie freie Aminosäuren beteiligt sind, können durch den Furosinegehalt der Milch sehr gut charakterisiert werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, daß in Erhitzungsbereichen von der Thermisierung bis in untere Bereiche der Hoherhitzung Maillard-Reaktionen (u.a. Bildung von Lactulosyllysin) nur zu Verlusten an bioverfügbarem Lysin führen, die unter 0,5 % des Lysingehaltes der Milch liegen. Aber selbst bei Temperatur-Zeit-Kombinationen, die einem Sterilisationswert von etwa 2 min entsprechen, und sensorisch bereits zu einer fehlerhaften Bewertung der Milch führen können (Abb. 1), liegen die Verluste an bioverfügbarem Lysin durch die Maillard-Reaktionen nur bei etwa 3 %; allerdings beginnt im oberen Bereich der Hoherhitzung die Dephosphorylierung der Caseine, die sowohl eine strukturelle Verän-

derung der Milchproteine bewirken als auch eine verringerte Bildung von Phosphopeptiden zur Folge haben und damit letztlich die diesen Peptiden zugesprochene regulatorische Wirkung als Mineralstoff-Carrier beeinträchtigen.

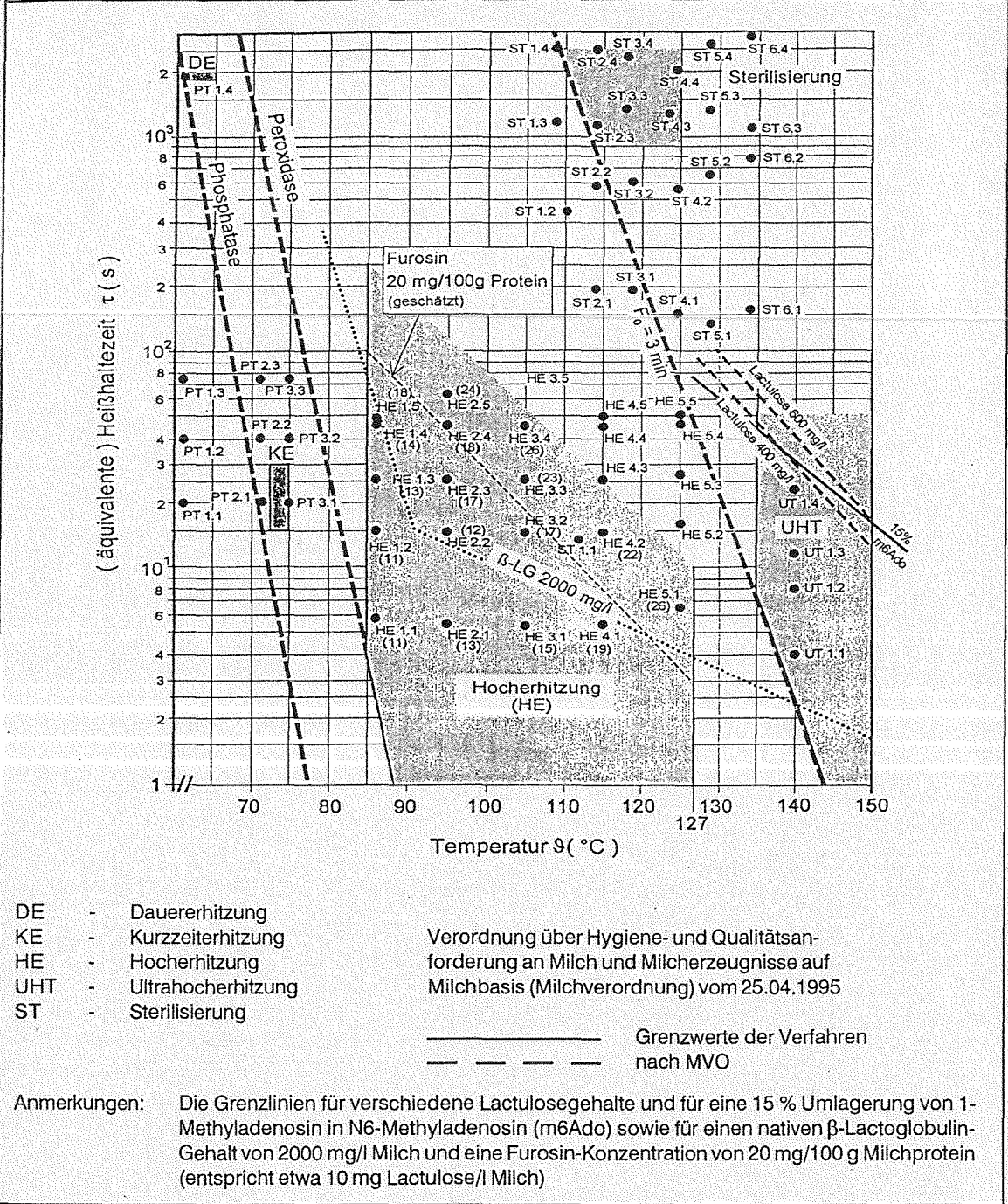


Abb. 2: Anerkannte Wärmebehandlungsbereiche für Konsummilch gemäß geltender Milchverordnung

Für den gesamten Bereich der Thermisierung und Pasteurisierung einschließlich der Hoherhitzung sind die Molkenproteine α -Lactalbumin, β -Lactoglobulin, bovines Serumalbumin (BSA), Lactoferrin und die Immunglobuline geeignete Hitzeindikatoren für die Kennzeichnung der Wärmebelastung. Der Auffaltungsprozeß der dreidimensionalen

Struktur ist im Temperaturbereich bis etwa max. 80°C für IgG, BSA und Lactoferrin reversibel. Für den Thermisierungs- und Kurzzeiterhitzungsbereich (62-75°C) stellen somit die säurelöslichen Gehalte an Immunglobulin G neben bovinem Serumalbumin und Lactoferrin geeignete Hitzeindikatoren dar. Für den Hoherhitzungsbereich zwischen 86 und 105°C sind diese Hitzeindikatoren nur bedingt geeignet. Für den Hoherhitzungs- und Ultrahoherhitzungsbereich mit Temperatur-Zeit-Kombinationen, die maximalen Sterilisationswerten von 30 min entsprechen, sind die Molkenproteine α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin sowie das Maillard-Produkt Furosin geeignete chemische Parameter zur Kennzeichnung des Wärmeeintrages. Im ursprünglichen EU-Kommissions-Dokument war deshalb für die Hoherhitzung ein Mindestgehalt an β -Lactoglobulin von 2000 mg/l Milch (obere Grenze) vorgesehen. Als Abgrenzungsparameter wäre aber auch Furosin zu diskutieren. Durch diese Vorgabe sollte eine Differenzierung zwischen hochohitzter und ultrahochohitzter Milch möglich sein und eine geringere thermische Belastung der hochohitzten gegenüber der ultrahochohitzten Konsummilch garantiert werden. Aus der vorliegenden Studie geht aber hervor, daß selbst bei diesem Mindestgehalt an säurelöslichem β -Lactoglobulin bei Prozeßtemperaturen über 100°C und Heißhaltezeiten ab 5 s bereits sensorische Fehler auftreten können (44). Die im ursprünglichen EU-Kommissions-Dokument vorgesehene obere Grenze von 2000 mg β -Lactoglobulin/l Milch (oder ein entsprechender Furosingehalt) ist für hochohitzte Milch mithin als *conditio sine qua non* anzusehen.

Die Charakterisierung von Proteinveränderungen in Folge der Wärmebelastung in erhitzter Milch sollte durch den Parameter der tryptischen *in vitro*-Proteolysebarkeit gekennzeichnet werden (36). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen nun, daß selbst bei Sterilisationswerten F_0 von 30 min, wie sie bis in den Ultrahochohitzungsbereich hinein erzielt werden, proteolysehemmende Eiweißveränderungen nicht beobachtet wurden. Es soll in diesem Zusammenhang aber kritisch angemerkt werden, daß möglicherweise durch Nutzung eines peptisch-pankreatischen Multienzymsystems als Testansatz weitergehende und den verdauungsphysiologischen Gegebenheiten des Menschen besser entsprechende Informationen über die physiologische Proteolysebarkeit erhalten werden können. Aus Sicht der Produktbeschaffenheit ist aber - nicht zuletzt auch durch die vorliegende Studie erhärtet - davon auszugehen, daß in Bezug auf die stoffliche Qualität der Milch im Bereich von der Thermisierung über die Kurzzeiterhitzung bis in den unteren Bereich der Hochohitzung, der sensorisch als fehlerfrei befundet wurde, Proteinveränderungen keine auffallende Rolle spielen. Dieser Befund wird durch das Ergebnis gestützt, daß der Gehalt an freien Aminosäuren in der Milch durch molkereiübliche Erhitzungsverfahren nicht signifikant beeinflusst wird (35). Da aber, wie eingangs erwähnt, in der geltenden bundesdeutschen Milchverordnung keine obere Begrenzung bei anerkannten Wärmebehandlungsverfahren wie der Hochohitzung, der Ultrahochohitzung und der Sterilisierung festgelegt sind, könnten die Gehalte an freien Aminosäuren gegebenenfalls eine Bedeutung erlangen, wenn die Wärmebehandlung bei Temperatur-Zeit-Kombinationen durchgeführt wird, die Sterilisationswerten F_0 von > 70 min entsprechen.

Bei Ultrahochohitzungsverfahren ist die für die Keimabtötung notwendige Mindesterhitzung durch mikrobiologische Indikatoren vom Ordnungsgeber geregelt. Der eingeführte untere Grenzwert $F_0 = 3$ min (45-48) bzw. vergleichbare mikrobiologische Grenzwerte sind in aller Regel ausreichend, um die hygienische Produktsicherheit für ultrahochohitzte und sterilisierte Milch zu gewährleisten; bei hochresistenten Sporenbildnern (HRS) (49) ist allerdings eine ausreichende Abtötung erst bei Sterilisationswerten bis zu $F_0 = 69$ min gewährleistet (47-49), d.h. unter Temperatur-Zeit-Bedingungen, die in die vorliegende Studie einbezogen wurden (Tab. 1). Über diese mikrobiologischen Indikatoren hinaus sind für die untere Grenze zusätzliche chemische Parameter als Grenzwerte

verzichtbar. Um eine Differenzierung zwischen ultrahochoerhitzter und sterilisierter Milch zu ermöglichen und den Wärmeeintrag auf das aus hygienischen Gründen notwendige Mindestmaß zu begrenzen, wäre die Einführung einer oberen Grenze für H-Milch vorteilhaft gewesen. Die Bundesrepublik Deutschland hatte in der der geltenden Milchverordnung vorlaufenden Verordnung (23. Juni 1989) einen solchen oberen Verfahrensgrenzwert für die ultrahochoerhitzte Milch mit einem maximalen Lactulosegehalt bis 400 mg/kg Milch eingeführt und damit eine Qualitätsnorm für ultrahochoerhitzte Konsummilch (H-Milch) rechtlich etabliert. Die derzeit geltende Milchverordnung (45) verzichtet aus Wettbewerbsgründen bewußt auf eine obere Begrenzung der Wärmebelastung. Der Internationale Milchwirtschaftsverband hatte sich auf seiner Jahresversammlung 1993 ebenfalls für die Einführung eines oberen Grenzwertes ausgesprochen, allerdings einen solchen von 600 mg Lactulose je kg ultrahochoerhitzter Milch empfohlen, um den internationalen Gegebenheiten anderer H-Milch-produzierender Länder, in denen eine Abgrenzung zwischen ultrahochoerhitzter und sterilisierter Milch - wie in der Bundesrepublik Deutschland - nicht gesehen wird, Rechnung zu tragen. An dieser Stelle soll nochmals darauf hingewiesen werden, daß in der Bundesrepublik Deutschland keine Ultrahochoerhitzungsanlage zugelassen worden ist, mit der ein Lactulosegrenzwert von 400 mg/kg ultrahochoerhitzter Milch nicht eingehalten werden könnte (47,48, 50). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie machen deutlich, daß dieser ehemals geltende obere Grenzwert bis zu Sterilisationswerten F_0 von 30 min einhaltbar ist.

Ein weiterer chemischer Hitzeindikator für die obere Begrenzung des Wärmeeintrages in ultrahochoerhitzter Milch ist Furosin. Ein Furosingehalt um 250 mg/100 g Protein wäre als oberer Grenzwert zu diskutieren. Ein weiterer geeigneter chemischer Hitzeindikator wäre neben Lactulose und Furosin der minore Milchinhaltstoff 1-Methyladenosin, wobei eine Umlagerungsquote von 15 % in das Umlagerungsprodukt N6-Methyladenosin eine Grenzlinie markiert, die eine sehr gute Unterscheidung und damit Abgrenzung der ultrahochoerhitzten von der sterilisierten Milch erlaubt (Abb. 2).

Mit Blick auf eine problemlose Abgrenzungsmöglichkeit von ultrahochoerhitzter und sterilisierter Milch durch chemische Hitzeindikatoren - allen voran Lactulose - soll an eine Überlegung (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn, 1994) erinnert werden, die eine verfahrenstechnische Unterscheidung von ultrahochoerhitzter und sterilisierter Milch für die Erzielung einer hygienischen Produktsicherheit nicht für erforderlich sondern für den technischen Fortschritt als hinderlich betrachtet, weil sie beispielsweise kombinierte Erhitzungsverfahren nicht abdeckt.

Ein Furosingehalt von 250 mg/100 g Milchprotein entspricht einem Verlust an bioverfügbarem Lysin von etwa 4 %. Aus Untersuchungen der tryptischen Proteolyzierbarkeit ist bekannt, daß Veränderungen des Milcheiweißes, die die tryptische Verdauung beeinflussen, mit Temperatur-Zeit-Kombinationen, die Sterilisationswerten von etwa 70 min entsprechen, beginnt. Solche Sterilisationswerte wurden in der vorliegenden Studie im Sterilisierungsbereich erzielt und zeigen sich durch Braunfärbungen des Produktes. Darüber hinaus treten bei Sterilisationswerten um 80 min bereits Gelierungseffekte auf. Aus Qualitätsgründen wäre es daher sinnvoll, einen oberen Grenzwert für Sterilmilch zu etablieren (z.B. 1200 mg Lactulose/kg Milch). Sensorisch wurde im gesamten Sterilisierungsbereich keine Milch als fehlerfrei bewertet. Aufgrund der sensorischen Erhebungen soll abschließend angemerkt werden, daß die unter UHT-Bedingungen hergestellte Milch hinsichtlich ihres Geruches und Geschmacks als fehlerfrei qualifiziert und eine gute Qualität zuerkannt wurde, obwohl unter den gewählten Temperatur-Zeit-Kombinationen Sterilisationswerte bis 30 min angewendet wurden. Offenbar ist zu unterstellen, daß das Kochflavour der H-Milch heute auch von sensorisch geschulten Prüfern als Geschmacks- und Geruchsrichtung nicht mehr abgelehnt wird,

wohingegen Geschmacksnoten, die im unteren Sterilisationsbereich auftreten, als "unsauber" bezeichnet bzw. überwiegend mit dem sensorischen Fehler "dumpf-muffig" benotet werden (44).

Die vorliegende Studie zeigt zweifelsfrei, daß es aus technologischer Sicht eine Reihe geeigneter chemischer Parameter gibt, die darüber hinaus analytisch kontrollierbar und damit als Hitzeindikatoren zur Festlegung von Obergrenzen für die Erhitzungsbereiche der Hoherhitzung, UltraHoherhitzung und Sterilisierung geeignet sind, die Wärmebelastung in diesen Milch kategorien auf das für die Produktsicherheit notwendige Maß zu begrenzen, um damit dem besonderen Image der Milch hinsichtlich ihrer Naturbelassenheit und Gesundheitsförderung gerecht zu werden.

Danksagung

Diese Arbeit wurde aus Mitteln der Europäischen Kommission VO(EWG) Nr. 1116/92 dankenswerterweise gefördert.

4. Literatur

- (1) Kiesner, C., Martin, D., Buchheim, W., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **48** (1) 49-62 (1996)
- (2) Resmini, P., Pellegrino, L., Battelli, G.: Ital. J. Food Sci. **3** 173-183 (1990)
- (3) Clawin-Rädecker, I., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **47** 169-175 (1995)
- (4) Erbersdobler, H.F., Zucker, H.: Milchwissenschaft **21** 564-568 (1966)
- (5) Heyns, K., Heukeshoven, J., Brose, K.: Angew. Chem. **80** 627 (1968)
- (6) Finot, P.A., Bricout, J., Viani, R., Mauron, J.: Experientia **24** 1097-1099 (1968)
- (7) Pellegrino, L., de Noni, I., Resmini, P.: Int. Dairy J. **5** 647-659 (1995)
- (8) Clawin-Rädecker, I., Kiesner, C., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 28-51 (1995)
- (9) Ott, F.-G., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **43** 213-217 (1991)
- (10) Schlimme, E., Ott, F.-G., Kiesner, C.: Int. Dairy Journal **4** 617-627 (1994)
- (11) Martin, D., Kiesner, C., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 52-63 (1995)
- (12) Martin, D., Kiesner, C., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **47** 75-86 (1995)
- (13) Martin, D., Kiesner, C., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 64-78 (1995)
- (14) Adachi, S.: Proc. 15th Int. Dairy Congr. (London) **3** 1686-1691 (1959)
- (15) Adachi, S., Patton, S.: J. Dairy Sci. **44** 1375-1393 (1961)
- (16) Geier, H., Klostermeyer, H.: Milchwissenschaft **38** 475-477 (1983)
- (17) Nangpal, A.: Dissertation, Universität Kiel (1988)
- (18) Andrews, G.R.: Int. Dairy Fed. Bull. **238** 45-52 (1989)
- (19) Andreini, R., Chiodi, J., De Noni, I., Resmini, P., Batelli, G., Cecchi, L., Todesco, R., Cattaneo, T.M.P., Rampilli, M., Foschino, R.: Italy Sci. Tecn. Latt.-Cas. **41** 472-394 (1990)
- (20) Clawin-Rädecker, I., Kuhlmann, B., Weiß, G., Klostermeyer, H., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **44** 129-141 (1992)
- (21) Pelligrino, L., Resmini, P., Luf, W.: "Assessment (Indices) of Heat Treatment of Milk", 409-453, In: Heat-Induced Changes in Milk, ed. P.F. Fox, IDF, Brüssel, Belgium (1995)
- (22) Clawin-Rädecker, I., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 79-105 (1995)
- (23) Hillier, R.M., Lyster, R.L.J., Cheeseman, G.C.: J. Dairy Res. **46** 103 (1979)
- (24) Dannenberg, F., Kessler, H.G.: Milchwissenschaft **43** 3 (1988)
- (25) Resmini, P., Pellegrino, L., Hogenboom, J.A., Andreini, R.: Ital. J. Food Sci. **1** 51-62 (1989)
- (26) Kessler, H.G., Beyer, H.J.: Int. J. Biol. Macromol. **13** 165-173 (1991)

- (27) Clawin-Rädecker, I., Kiesner, C., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 106-138 (1995)
- (28) Resmini, P., Pellegrino, L., Andreini, R., Prati, F.: Sci. Tecn. Latt.-Cas. **40** 7-23 (1989)
- (29) Lyster, R. L. J.: J. Dairy Res. **37** 233 (1970)
- (30) De Wit, J. N., Klarenberg, G.: J. Dairy Sci. **67** 2701 (1984)
- (31) Parnell-Clunies, E., Kakuda, Y., Irvine, D.: J. Dairy Sci. **71** 1472-1483 (1988)
- (32) Paulsson, M., Dejmeq, P.: J. Dairy Sci. **73** 590-600 (1990)
- (33) Houlihan, A.V., Goddard, P.A., Nottingham, S.M., Kitchen, B.J., Masters, C.J.: J. Dairy Res. **59** 187-195 (1992)
- (34) Clawin-Rädecker, I., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 139-160 (1995)
- (35) Meisel, H., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **47** (4) 295-301 (1995)
- (36) Lorenzen, P.Chr., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 169-213 (1995)
- (37) Precht, D., Molkentin, J., Schlimme, E.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 210-217 (1995)
- (38) Lorenzen, P.Chr., Clawin-Rädecker, I.: Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 218-220 (1995)
- (39) Kessler, H.G.: Milchwissenschaft **39** 339-341 (1984)
- (40) Bosset, J.O., Ruegg, M.: Alimenta **23** 163-170 (1984)
- (41) Buchberger, J.: dmz - Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft **107** (10) 244,246-252 (1986)
- (42) Clawin-Rädecker, I., Lorenzen, P.Chr., Ergebnisbericht zum Forschungsprojekt VO(EWG) 1116/92-2.3, S. 225-230 (1995)
- (43) Buchberger, J.: dmz - Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft **114** (3) 44-48 (1993)
- (44) Einhoff, K., Kiesner, C., Martin, D., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **48** (1) 37-48 (1996)
- (45) Bundesdeutsche Milchverordnung (MilchVO) vom 24. April 1995
- (46) Böhm, H.D., Heeschen, W.: Das neue Milch-Hygienericht 1995, Th. Mann Verlag, Gelsenkirchen, (1995)
- (47) Schlimme, E., Buchheim, W., Heeschen, W.: DMZ - Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft **115** 64-69 (1994)
- (48) Buchheim, W., Heeschen, W., Schlimme, E.: Eur. Dairy Magazine **6** 42-44 (1994)
- (49) Hammer, P., Lembke, F., Suhren, G., Heeschen, W.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **47** (4) 303-311 (1995)
- (50) Biewendt, H.-G.: Nahrung **38** 233-252 (1994)

5. Zusammenfassung

Schlimme, E., Clawin-Rädecker, I., Einhoff, K., Kiesner, C., Lorenzen, P.Chr., Martin, D., Meisel, H., Molkentin, J., Precht, D.: **Untersuchung über Unterscheidungsmerkmale zur Bewertung der Wärmebehandlung von Milch.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **48** (1) 5-36 (1996)

31 Wärmebehandlung (Unterscheidungsmerkmale)

Das Projekt befaßte sich mit der Untersuchung von Unterscheidungsmerkmalen, die eine Bewertung der Wärmebehandlung von Milch ermöglichen. Das Ziel des Projektes lag in der Erarbeitung chemischer, physikalischer, verfahrenstechnischer und sensorischer Parameter, die eine sichere Differenzierung molkereiüblicher Erhitzungsbereiche wie Thermisierung, Pasteurisierung (Kurzzeit- und Langzeiterhitzung sowie Hoherhitzung), UltraHoherhitzung und Sterilisierung ermöglichen und damit für jede Milchkategorie die Etablierung bestimmter Grenzwerte wissenschaftlich begründen und Maßnahmen ermöglichen, die thermische Belastung der Milch auf das produktionstechnisch mögliche und hygienisch erforderliche notwendige Mindestmaß zu begrenzen und damit der Qualitätsverbesserung von Konsummilch im Interesse des Verbrauchers dienen.

Rohmilch der Versuchsstation Schaedtbeek der Bundesanstalt für Milchwissenschaft wurde thermisch bei verschiedenen Temperatur-Zeit-Kombinationen im Bereich zwischen 62-140 °C sowie Heißhaltezeiten bis in den Minuten-Bereich hinein behandelt und die hitzebedingten Veränderungen der Milch und ihrer Inhaltsstoffe analytisch kontrolliert. Für die thermische Behandlung der Milchproben wurde somit ein sehr breites Temperatur-Zeit-Spektrum gewählt. Dies war durch den Einsatz eines diskontinuierlich arbeitenden Autoklaven und einer kontinuierlichen Piloterhitzungsanlage mit auswechselbaren Heißhaltern im Institut für Verfahrenstechnik der Bundesanstalt für Milchwissenschaft möglich. In dem untersuchten Bereich ließen sich alle gesetzlich zugelassenen Erhitzungsverfahren einordnen. Als Basis für die Berechnung der äquivalenten Heißhaltezeit wurde der Sterilisationswert F_0 verwendet.

Als chemische Parameter wurden Furosine, N⁶-Methyladenosin, Lactulose, natives (säurelösliches) α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin (genetische Varianten A+B) sowie Immunglobuline analytisch erfaßt. Darüber hinaus wurden der Gehalt an freien Aminosäuren, an Casein-Phosphor und freien Aminogruppen (OPA-Reaktion) bestimmt und thermisch induzierte Veränderungen im Triglycerid-/Fettsäuremuster der Milch exemplarisch untersucht. Thermisch verursachte Proteinveränderungen wurden durch die Messung des Grades der enzymatischen Proteolyse des Milcheiweißes analytisch nachgegangen. Als physikalische Parameter wurden in die Bewertung der Wärmebelastung der Milch die Gefrierpunktniedrigung der Milch, pH- und SH-Werte sowie das Gelerungs- und Bräunungsverhalten einbezogen. Als verfahrenstechnische Parameter zur Beurteilung des Wärmebehandlungsprozesses der Milch wurden sämtliche Sterilisationswerte (F_0 -Werte), die den eingestellten Temperatur-Zeit-Kombinationen zugrundelagen, zur Bewertung herangezogen. Als sensorische Parameter wurde - soweit möglich - eine sensorische Profilanalyse der wärmebehandelten Milch ausgeführt und in die Bewertung aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen zweifelsfrei, daß es aus technologischer Sicht eine Reihe geeigneter chemischer Parameter gibt, die auch analytisch kontrollierbar und damit als Hitzeindikatoren zur Festlegung von Obergrenzen für die Erhitzungsbereiche der Hoherhitzung, Ultra-hoherhitzung und Sterilisierung geeignet sind, die Wärmebelastung in diesen Milch-kategorien auf das für die Produktsicherheit notwendige Maß zu begrenzen, um damit dem besonderen Image der Milch hinsichtlich ihrer Naturbelassenheit und Gesundheitsförderung gerecht zu werden.

Summary

Schlimme, E., Clawin-Rädecker, I., Einhoff, K., Kiesner, C., Lorenzen, P. Chr., Martin, D., Meisel, J., Molkentin, J., Precht, D.: **Studies on distinguishing features for evaluating heat treatment of milk.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **48** (1) 5-36 (1996)

31 Heat treatment (distinguishing feature)

The project was concerned with studies on the distinguishing features which allow heat treatment of milk to be evaluated. The aim of the project was to establish chemical, physical, processing and sensory parameters, which enable the reliable differentiation between heating ranges as normally applied in dairies such as thermisation, pasteurization, (short-time- and long-time heating, high temperature pasteurization), UHT treatment and sterilization and which provide, thus, the scientific grounds for establishing defined limits

for each milk type. They allow, further, measures to be taken with which the thermal effect on milk can be reduced to a necessary minimum which is possible as regards the production process and is required from the hygienic viewpoint. They are, thus, a useful tool in improving the quality of fluid milk in the interest of the consumer.

Raw milk from the experimental farm Schaedtбек of the Federal Dairy Research Centre was thermally treated using different temperature-time combinations in the range between 62-140°C and holding times extended up to some minutes and the heat-induced changes of milk and their components analytically controlled. For thermal treatment of the milk samples a very broad temperature-time spectrum was, thus, selected. This was possible by use of a discontinuously operating autoclave and a continuous pilot heating plant with exchangeable holders at the Institute for Process Engineering of the Centre. In the range studied all legally admitted heating processes could be incorporated. As a basis for calculating the equivalent holding time the sterilization value F_0 was used.

As chemical parameters furosine, N6-methyladenosine, lactulose, native (acid-soluble) α -lactalbumin and β -lactoglobulin (genetic variants A+B) and immunoglobulins were analytically determined. Further, the contents of free amino acids, caseinophosphorus and free amino groups (OPA reaction) were determined and the thermally induced changes in the triglyceride/fatty acid pattern of milk exemplarily investigated. Thermally induced protein changes were followed up analytically by measuring the degree with which enzymic proteolysis of milk protein was possible. As physical parameters the freezing point depression of milk, pH-and SH-values, as well as gelling- and browning behaviour were considered in evaluating the thermal effect on milk. As processing parameters for assessing the heat treatment process of milk all sterilization values (F_0 values), on which the adjusted temperature-time combinations were based, were taken into consideration. As to sensory parameters a sensory profile analysis of the heat treated milk was performed, if possible, and included in the evaluation. The results from this study show that, without doubt, there exist, from the technological point of view, a number of suited chemical parameters which can also be analytically controlled. As heat indicators for establishing upper limits for the heating ranges of high temperature pasteurization, UHT treatment and sterilization they are, hence, suited to be used for limiting the heat load in these milk types to the minimum required for product safety in order to come, thus, up to the particular image of milk in terms of "Naturbelassenheit" and health promotion.

Résumé

Schlimme, E., Clawin-Rädecker, I., Einhoff, K., Kiesner, C. Lorenzen, P.Chr., Martin, D., Meisel, H., Molkentin, J., Precht, D.: **Etude de marqueurs pour évaluer le traitement thermique du lait.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 48 (1) 5-36 (1996)

31 Traitement thermique (marqueurs)

L'étude portait sur des marqueurs d'évaluation du traitement thermique du lait. L'objectif de l'étude était d'établir des paramètres chimiques, physiques, de transformation et organoleptiques qui permettent de différencier avec sûreté des zones de chauffage habituellement appliquées en laiteries, comme par exemple la thermisation, la pasteurisation (pasteurisation rapide ou longue ou pasteurisation à haute température) le traitement UHT et la stérilisation et ainsi constituent les bases scientifiques pour établir les limites relatives à chaque catégorie de lait. Ils permettent, en outre, de prendre des

mesures pour réduire les altérations liées au chauffage du lait au minimum nécessaire en fonction du procédé utilisé qui est indispensable du point de vue hygiénique et qui contribue donc à améliorer la qualité du lait de consommation dans l'intérêt du consommateur.

Du lait cru de la station expérimentale Schaedtбек du Centre Fédéral de Recherches Laitières a été traité thermiquement en appliquant différentes combinaisons temps/température entre 62 et 140°C et des durées de chambrage allant jusqu' à plusieurs minutes. Les changements du lait et de ses composants induits par la chaleur ont été analysés. Pour le traitement thermique des échantillons de lait, on a donc choisi un spectre température/temps très large. Ceci était possible en utilisant un autoclave travaillant en discontinu et une installation de chauffage pilote continue équipée de sections de chambrage échangeables, à l'Institut de la Technologie des Procédés Industriels du Centre. Dans la zone étudiée se classent tous les procédés légalement admis. La valeur stérilisatrice F_0 a été utilisée comme base pour calculer la durée de chambrage équivalente.

Comme paramètres chimique, la furosine, la N6-méthyladénosine, le lactulose, l' α -lactalbumine native (soluble dans l'acide) et la β -lactoglobuline (variants génétiques A+B) et des immunoglobulines ont été déterminés. En plus les teneurs en acides aminés libres, en caseine phosphorylée et en groupes aminés libres (réaction avec l' OPA) ont été déterminées et les changements du profil triglycérides/acides gras du lait induits par la chaleur étudiés. On a recherché les changements des protéines dus au traitement thermique en mesurant le degré de protéolyse enzymatique des protéines du lait. En ce qui concerne les paramètres physiques on a pris en considération l'abaissement du point de congélation du lait, les valeurs de pH et de SH, ainsi que le pouvoir de gélification et de brunissement pour évaluer l'altération thermique du lait. Comme paramètres de transformation on a considéré toutes les valeurs de stérilisation (valeurs F_0), résultant des combinaisons temps/température, pour évaluer le traitement thermique du lait. Concernant les paramètres organoleptiques, on a effectué, dans la mesure du possible, une analyse organoleptique du profil du lait traité thermiquement prise en compte dans l'évaluation. Les résultats obtenus montrent incontestablement qu'il existe, du point de vue technologique, plusieurs paramètres chimiques appropriés qui peuvent permettre le contrôle. Comme indicateurs du chauffage pour établir des limites maximales pour les zones de chauffage de la pasteurisation à haute température, du traitement UHT et de la stérilisation, ils sont donc appropriés à être utilisés pour limiter l'altération thermique de ces catégories du lait au minimum nécessaire pour garantir la sécurité du produit, le but étant de satisfaire à l'image particulière du lait par rapport à la «Naturbelassenheit» et ses bienfaits pour la santé.