

## 10. Kapitel

### Gehalt an freien Aminosäuren in unterschiedlich wärmebehandelter Milch

H. Meisel und E. Schlimme

#### 1. Einleitung

Freie Aminosäuren (FAA) gehören zu den Minorbestandteilen in Milch. Eine mögliche Freisetzung von Aminosäuren infolge der Hitzebehandlung ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Da freie Aminosäuren nur in subnanomolaren Konzentrationen in der Milch enthalten sind, müßten für die Probenvorbereitung zur Standard-Bestimmungsmethode für Aminosäuren (Ionenaustauschchromatographie mit Ninhydrin-Detektion) aufwendige Verfahren (Dialyse, Ultrafiltration) zur Anreicherung der FAA angewendet werden. Deshalb wurde für die folgenden Versuche eine photometrische Methode eingesetzt, mit der die Summe an FAA in Milch bestimmt werden kann.

#### 2. Material und Methode

Die Bestimmung der FAA erfolgte mittels einer colorimetrischen Ninhydrin-Methode, modifiziert (1), die durch vergleichende Untersuchungen mit der Standard-Bestimmungsmethode validiert wurde. Cd-Ninhydrin-Reagenz: 0,8 g Ninhydrin in einer Mischung von 80 ml 99,5 % Ethanol und 10 ml Essigsäure lösen, danach 1 g CdCl<sub>2</sub>, gelöst in 1 ml Seralwasser, zugeben. Proteinfällung: Die Probe wird mit 1 mol/l HCl auf pH 4,6 ansäuert, 15 min bei RT stehengelassen und dann durch einen Faltenfilter filtriert. Messung: 100 µl Filtrat werden in einem Eppendorfreaktionsgefäß mit 0,4 ml Wasser verdünnt, hierzu werden 1 ml Cd-Ninhydrin-Reagenz gegeben und gemischt. Dieser Ansatz wird in einem Temperierblock für 5 min bei 84 °C erhitzt (Reaktionsgefäß versiegelt). Die photometrische Messung der Extinktion erfolgt bei 507 nm gegen Luft; gleichzeitig wird ein Reagenzienblindwert zur Korrektur der Probenmeßwerte gemessen. Die Berechnung der Konzentration an FAA wird auf den Meßwert einer Leucin-Standardlösung (30 nmol/100 µl) bezogen.

#### 3. Ergebnisse und Diskussion

Im Vergleich zu dem Mittelwert der Ausgangsmilchen (646,9 µmol/l) zeigten die gemessenen Konzentrationen an freien Aminosäuren keine eindeutigen Veränderungen in Abhängigkeit von Temperatur oder Heißhaltezeit (Abb. 1). Die Schwankungen spiegeln die unterschiedlichen FAA-Konzentrationen in den entsprechenden Ausgangsmilchen wider. Lediglich bei einigen Proben von sterilisierter Milch, die mit einer äquivalenten Heißhaltezeit über 1000 sec und einer Prozeßtemperatur  $\geq 125$  °C hergestellt wurden, d.h. Sterilisationswerte  $F_0 > 70$  min angewendet

wurden, ergaben sich um etwa 150  $\mu\text{mol/l}$  erhöhte FAA-Konzentrationen (> 25% bezogen auf die jeweilige Ausgangsmilch; Tab. 1).

#### **4. Zusammenfassung und Schlußfolgerung**

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. Der natürliche Gehalt an freien Aminosäuren in Milch - bestimmt als Summenparameter - wird durch molkereiübliche Erhitzungsverfahren nicht signifikant beeinflusst; da aber die geltende bundesdeutsche MilchVO (24. April 1995) keine obere Begrenzung bei anerkannten Wärmebehandlungsverfahren (Hoherhitzung, Ultrahocherhitzung, 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-Summenparameter nicht aus, daß einzelne Aminosäuren bevorzugt freigespalten und andere bevorzugt thermisch abgebaut bzw. derivatisiert werden, ohne den Gehalt an FAA als Summenparameter zu verändern.

#### **5. Literatur**

- (1) Doi, E., Daisuke, S., Matoba, T., Anal. Biochem. 118, 173-184 (1981)

**Tabelle 1**

Gehalte an freien Aminosäuren (FAA) in Milch vor und nach Wärmebehandlung unter Temperatur-Zeit-Bedingungen der Thermisierung und Pasteurisierung (Kurz- und Langzeiterhitzung) (PT), der Hoherhitzung (HE), der UltraHoherhitzung (RUT/UT) und der Sterilisierung (ST)

Proben	Prozeß- temperatur $\vartheta$ (°C)	Heißhaltezeit (äquival.) $\tau$ (s)	Freie Aminosäuren (FAA) ( $\mu\text{mol}$ / 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

\* fetteingestellt und homogenisiert

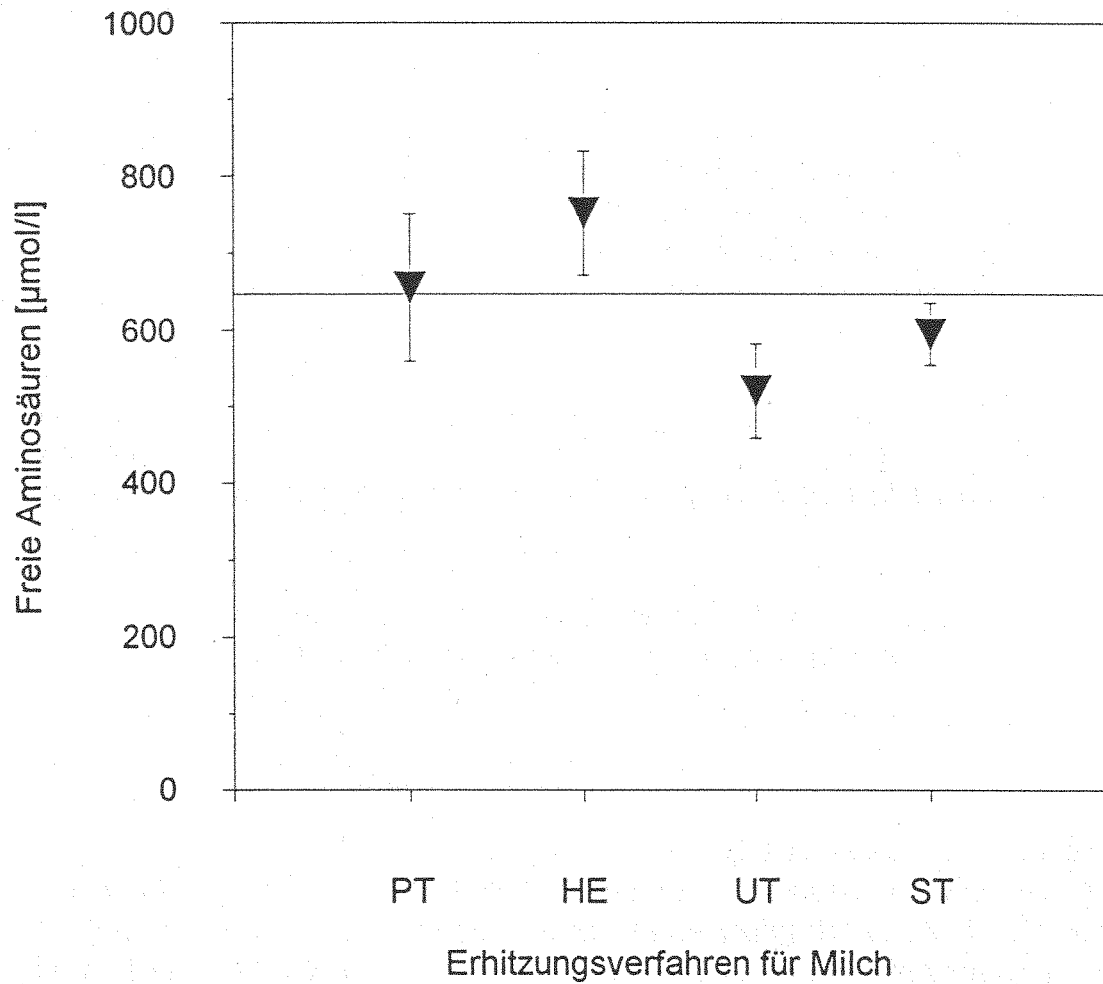


Abb. 1: Mittelwerte des Gehaltes an freien Aminosäuren in thermisierter bzw. pasteurisierter (Kurz- und Langzeit) (PT), hochoerhitzter (HE), ultra-hochoerhitzter (UT) und sterilisierter (ST) Milch