

Zusammenfassung

1. Mit Sulfit versetzte Blutproben wurden spektralphotometrisch untersucht. In verdünnten und gepufferten Blutlösungen trat eine Reduktion des Oxyhämoglobins bei 4 mg SO₂ ein, die bei 30 mg SO₂ vollständig war. Eindeutige spektrale Veränderungen, die auf eine Ligandenbindung des Sulfits an das Fe-Zentralatom hinweisen, konnten nicht festgestellt werden.
2. Es konnte mit großer Sicherheit gezeigt werden, daß die Alkohol-Dehydrogenasen aus Pferdeleber und Hefe durch Sulfit nicht hemmbar sind.

Die Alkoholdehydrierung war nicht hemmbar. Die Aldehyddehydrierung wurde erst durch Sulfitmengen gehemmt, die im Bereich der Aldehydkonzentration lagen. Es wird daher angenommen, daß das Sulfit mit dem Substrat die Aldehydbisulfitverbindung eingelagert und so das Substrat dem Reaktionsablauf entzieht und damit eine Hemmung verursacht.

Im Gegensatz dazu wurde der Hemmungsverlauf bei der Lactat-Dehydrogenase gezeigt, der vom Substrat unabhängig ist und sehr geringe SO₂-Mengen benötigt.

Literatur

1. HOLLING, H. E., I. MACDONALD, J. A. O'HALLORAN and A. VENNER, J. appl. Physiology 8, 249 (1955/56). — 2. HOPPE-SEYLER, F. und H. THIERFELDER, Physiol. u. Pathol. Chem. Analyse. 9. Aufl. (Berlin 1924). — 3. SCHELER, W., III. Humboldt-Symposium üb. Grundfragen d. Biologie (Berlin 1960), (Jena 1962). — 4. SCHELER, W. und I. FRISCHBACH, Biochem. Z. 332, 542 (1960). — 5. PFLÜGDERER, G. D. JECKEL, und TH. WIELAND, Biochem. Z. 328, 187 (1956). — 6. BERGMAYER, H. U., Methoden d. enzymat. Analyse. 1. Aufl., 285 (Weinheim 1962).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. W. DIEMAIR, 6 Frankfurt a. M., Georg-Voigtstr. 16

*Aus dem Medizinisch-Chemischen Institut der Universität Bern,
der Wissenschaftlichen Abteilung der Ursina-AG Konolfingen-Bern
und dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz*

Über den Einfluß der Wärmebehandlung auf die Eiweißstoffe der Milch, mit besonderer Berücksichtigung der bei der Uperisation® angewandten Thermik

Von H. HOSTETTLER, K. LANG, G. CZOK, A. FRICKER, W. GRIEM, K. IMHOF,
W. KIECKEBUSCH, E. KRUG, W. PABST und J. STEIN

Mit 5 Abbildungen und 5 Tabellen

(Eingegangen am 8. Februar 1965)

I. Einleitung

Infolge ihres Gehaltes an hochwertigen Eiweiß-Stoffen, leicht verdaulichem Fett und Milchzucker, an Mineralsalzen und lebensnotwendigen Ergänzungsstoffen (Vitamine, Spurenelemente) stellt Milch eines der wichtigsten Nahrungsmittel dar. Von jeher war man daher bestrebt, sie durch geeignete Behandlung

vor Verderbnis zu schützen. Die zur Verbesserung der Haltbarkeit von Trinkmilch meist angewandten Erhitzungsverfahren, wie Pasteurisation, Aufkochen und Sterilisation erwiesen sich als nicht in jeder Beziehung vollkommen.

Die der *Pasteurisierung* unterworffene Milch kommt wohl im Geschmack roher Milch sehr nahe und ist dieser im ernährungsphysiologischen Wert gleichzusetzen, doch ist sie nur begrenzt haltbar. Sie ist frei von Krankheitserregern, doch ist sie nicht völlig frei von anderen, besonders hitzeresistenten Keimen. Bei Aufbewahrung bei einer Temperatur von mehr als 4 °C nimmt der Keimgehalt wieder zu, was sich für die Haltbarkeit besonders dort nachteilig auswirkt, wo die Kaltlagerung nicht möglich oder die Kühlkette unterbochen ist. Ebenfalls nicht keimfrei ist die *aufgekochte Milch*, die zudem den unerwünschten Kochgeschmack aufweist.

Zur Erlangung völliger Keimfreiheit muß die Milch auf Temperaturen erhitzt werden, die weit über 100 °C liegen (Sterilisation). Soll völlige Keimfreiheit durch Behandlung im Autoklaven erreicht werden, so ist Milch relativ lange auf höhere Temperatur zu erhitzen, beispielsweise 35–40 Minuten bei 110 °C. Eine solche Milch ist weitgehend von Keimen befreit, doch stellen sich infolge der langandauernden Hitzeeinwirkung geschmackliche Veränderungen und merkliche Schädigungen der biologischen Eigenschaften der Milch ein.

Um die den obengenannten Milcherhitzungsverfahren anhaftenden Mängel zu beheben, wurde nach neuen Verfahren gesucht. Eingehende Studien führten zur Feststellung, daß bei extremer Steigerung der Erhitzungstemperatur auf 150° C und darüber die Erhitzungsdauer zur Vernichtung sämtlicher Keime sehr kurz sein kann.

Das in die milchwirtschaftliche Technik unter der Bezeichnung *Uperisation®* eingeführte Verfahren erfüllt diese Erhitzungsbedingungen. Sie bestehen darin, daß auf ca. 80 °C vorerwärmte Milch schlagartig durch Injektion von reinem Dampf auf 150 °C gebracht, während 2,4 Sekunden bei dieser Temperatur gehalten wird und hernach sofort wieder durch Expansion unter Vakuum auf ca. 80 °C zurückgekühlt wird. Bei dieser Expansion wird der Milch die gleiche Menge Dampf entzogen, wie ihr zur Hocherhitzung zugefügt wurde. Die Uperisationsanlage ist so gestaltet, geregelt und geeicht, daß die Milch nach erfolgter Uperisation die gleiche Zusammensetzung aufweist, wie die verwendete Rohmilch (1, 2, 3).

Da die Proteine der Milch in der menschlichen Ernährung einen wichtigen Platz einnehmen, wurde der Wirkung der Erhitzung auf ihre ernährungsphysiologische Wertigkeit stets große Aufmerksamkeit geschenkt, stellt doch die Thermolabilität, d. h. die Besonderheit, sich unter der Wärmeeinwirkung zu verändern, eine der spezifischen Eigenschaften der Proteine ganz allgemein dar. Diese in der Regel unter Strukturveränderungen einhergehende Erscheinung hat man unter der Bezeichnung „Denaturierung“ zusammengefaßt, worunter Änderungen der biologischen, chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften beobachtet werden können. Es war deshalb besonders angezeigt, zu untersuchen, wie sich die bei der Uperisation® angewandte Thermik von 150 °C/2,4 Sekunden auf die Milchproteine auswirkt. Mit Hilfe des Elektronenmikroskopes und der Ultrazentrifuge war abzuklären, welche Wirkung diese Erhitzung auf den Verteilungszustand der Milchproteine hat. Elektrophoretische Untersuchungen und Analysen über die Stickstoffverteilung sollten weitere Einblicke in die sich abspielenden Vorgänge verschaffen. Zum Vergleich

wurde die verwendete rohe Ausgangsmilch und die aus derselben ebenfalls hergestellte pasteurisierte (85 °C) und autoklavierte (116 °C/15 min) Milch untersucht. Da das Hauptinteresse den Milchproteinen galt, diente auf 0,06% Fett entrahmte Magermilch als Untersuchungsobjekt.

Bestimmt wurde ferner die biologische Wertigkeit des Milcheiweißes, zu welchem Zweck die Magermilch durch Gefriertrocknung in Pulverform übergeführt und in Dosen verpackt für die Tierversuche bereitgestellt wurden. Die ausführliche Mitteilung der Ergebnisse erfolgt an anderer Stelle (4, 5). Für die weiteren Literaturangaben sei auf diese Veröffentlichungen verwiesen.

Tabelle 1. Stickstoffverteilung in der flüssigen Magermilch

	M I roh		M II past.		M III ster.		M IV uper.	
	mg/100 g	% d. G-N	mg/100 g	% d. G-N	mg/100 g	% d. G-N	mg/100 g	% d. G-N
Gesamt-N	551		544		554		541	
Casein-N	432	78,4	442	81,2	498	89,9	470	86,9
Nicht-Casein-N	119	21,6	102	18,8	56	10,1	71	13,1
Nicht-Protein-N (löslich in 12-%iger TES)	32	5,8	34	6,2	37	6,7	34	6,3
(löslich in 4-%iger TES)	69	12,5	62	11,4	37	6,7	40	7,4
Molken-Protein-N	87	15,8	68	12,5	19	3,4	37	6,8
Proteose-Pepton-N	7	1,3	4	0,7	1	0,2	1	0,2
Globulin-N	7	1,3	8	1,5	11	2,0	10	1,8
Total								
Albumin-N	73	13,2	56	10,3	7	1,3	26	4,8
β -Lacto-globulin-N	48	8,7	34	6,2	1	0,2	13	2,4
Albumin-N	25	4,5	32	5,9	6	1,1	13	2,4

2. Ergebnisse der chemischen und physikalisch-chemischen Untersuchungen

2.1 Stickstoffverteilung nach ROWLAND

Die bei der Ermittlung der Stickstoffverteilung erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben.

Der durch Fällung bei p_H 4,6 ermittelte Caseingehalt erfährt eine mit steigender Temperatur fortschreitende scheinbare Erhöhung, während umgekehrt der Gehalt an Molkenprotein absinkt. Die Erhöhung des Caseingehaltes entspricht weitgehend dem Rückgang an Molkenprotein. Diese Erscheinung ist auf die mit steigender Temperatur zunehmende Komplexbildung der Molkenproteine mit dem Casein zurückzuführen; die an das Casein angelagerten Molkenproteine werden deshalb bei der Caseinfällung bei p_H 4,6 mitgefällt. Der Vorgang tritt schon bei der Pasteurisation (Probe M II) merklich in Er-

scheinung, verstärkt sich bei der uperisierten Milch (M IV) und ist am ausgeprägtesten bei der autoklavierten Milch (M III). Je nach Beschaffenheit der Rohmilch können sich hier Verschiebungen einstellen.

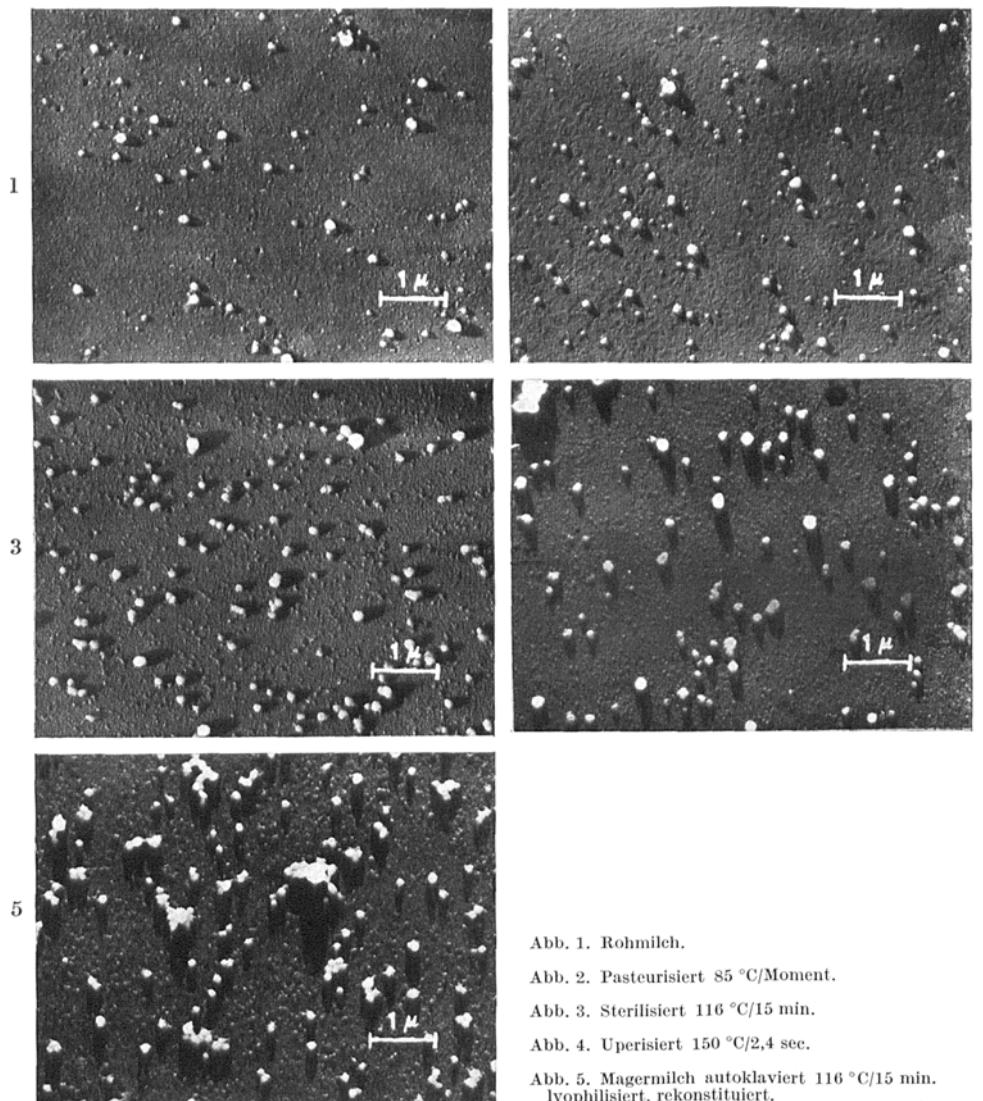


Abb. 1. Rohmilch.

Abb. 2. Pasteurisiert 85 °C/Moment.

Abb. 3. Sterilisiert 116 °C/15 min.

Abb. 4. Uperisiert 150 °C/2,4 sec.

Abb. 5. Magermilch autoklaviert 116 °C/15 min.
lyophilisiert, rekonstituiert.

In der lyophilisiert-rekonstituierten Milch wurde keine bemerkenswerte Verschiebung in der Stickstoffverteilung gegenüber der entsprechenden flüssigen Milch festgestellt. Es kann daraus geschlossen werden, daß die Gefrier-

trocknung – mit Vorbehalt des elektrophoretischen Verhaltens und der Struktur der Caseinpartikel im elektronenmikroskopischen Bild – keine merkliche Veränderung der Milchproteine bewirkt.

2.2 Der Verteilungszustand der Caseinpartikel

Mit Hilfe des Elektronenmikroskopes wurde gezeigt, daß der Haupteiweißkörper der Milch, das Casein, in Form kugeliger Teilchen verschiedener Größe vorliegt. Das Maximum der Häufigkeit liegt nach unseren Untersuchungen bei einem Teilchendurchmesser von 50–100 $m\mu$. Die Zahl noch größerer Teilchen nimmt rasch ab, doch können vereinzelt auch Teilchen mit einem Durchmesser von 800 $m\mu$ gefunden werden. Eine untere Grenze für die kleinsten Partikel kann nicht angegeben werden, da diese im Untergrund des Beschattungsmaterials verschwinden. In nachvergrößerten Photographien ist es möglich, Teilchen mit 15 $m\mu$ Durchmesser noch zu erkennen. Angaben über die Teilchengröße der Molekelproteine können mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen nicht gemacht werden, da diese Partikel ebenfalls im Untergrund des Beschattungsmaterials verschwinden. Ihr Durchmesser dürfte schätzungsweise 5–10 $m\mu$ betragen.

Über die Wirkung der Erhitzung auf den Verteilungszustand des nativen Caseins liegen wenig Angaben vor. In der milchwirtschaftlichen Literatur wird das Casein allgemein als thermostabiles Protein erachtet und Untersuchungen über die Hitzeeinwirkung befassen sich fast ausschließlich mit Vorgängen, die sich im Bereich der Primär- und Sekundärstruktur abspielen. Angaben über Veränderungen im Bereich der Tertiärstruktur (Aggregation mehrerer Proteinkomplexe zu fadenförmigen oder kugeligen Teilchen) des nativen Casein sind uns nicht bekannt.

Die elektronenmikroskopischen Abb. 1–4 der untersuchten Magermilchen geben die Partikel des Caseins wieder.

Der polydisperse Verteilungszustand der pasteurisierten, autoklavierten und uperisierten Milch scheint gegenüber der Rohmilch wenig verändert. Die eingehende Auswertung der elektronenmikroskopischen Bilder und die Erweiterung der Untersuchung durch Bezug der Ultrazentrifuge und der statistischen Auswertung der Größenverteilung der Caseinpartikel ließ jedoch erkennen, daß mit steigender thermischer Einwirkung eine zunehmende Umgestaltung der Caseinverteilung im Sinne einer Zunahme an größeren und kleineren Teilchen auf Kosten der Teilchen mittlerer Größe zu beobachten ist. Diese Veränderung ist besonders ausgeprägt bei der autoklavierten Milch, weit weniger bei der pasteurisierten und uperisierten Milch.

Die Lyophilisation führt bei allen Milchen zu einer vermehrten Zusammenballung von Caseinpartikeln, die sich mit zunehmender vorausgegangener Hitzeeinwirkung verstärkt, wie dies aus der Gegenüberstellung von Abb. 3 mit Abb. 5 ergibt.

2.3 Elektrophorese

Die Auswertung der in der freien Elektrophorese nach TISELIUS aufgenommenen Diagramme zur Ermittlung des prozentualen Anteils der Milchproteine führte zu folgenden Ergebnissen (Tab. 2):

Tabelle 2. Prozentualer Anteil der Milchproteine

Bezeichnung der Probe	Prozentualer Anteil				$\alpha:\beta$
	1 + 2 α	3 + 4 MP	5 β	6	
1. Roh	55,7	17,8	21,3	5,2	2,61:1
2. Roh lyophilisiert-rekonstituiert	58,4	17,3	21,0	3,3	2,78:1
3. Pasteurisiert 85° C	55,4	18,4	21,6	4,5	2,54:1
4. Pasteurisiert 85° C lyophilisiert-rekonstituiert	57,9	17,1	20,4	4,6	2,84:1
5. Sterilisiert	69,9	7,9	18,9	3,9	3,69:1
6. Sterilisiert lyophilisiert-rekonstituiert	73,9	6,6	17,6	2,0	4,20:1
7. Uperisiert	63,1	9,6	23,2	4,2	2,72:1
8. Uperisiert lyophilisiert-rekonstituiert	65,2	10,0	21,1	3,6	3,09:1

Es ergibt sich daraus:

- Der Anteil an freiwanderndem Molkenprotein (Gardienten 3+4) geht mit zunehmender Hitzeeinwirkung zurück. Kein Rückgang ist bei der Moment erhitzung auf 85° C (Pasteurisation) festzustellen; merklich ist er bei der Uperisation und besonders bei der Sterilsation im Autoklav.
- Der prozentuale Anteil an α -Casein (Gradienten 1+2) nimmt zu, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Stickstoffverteilung (Tab. 1).
- Der β -Casein-Anteil erfährt bei der Sterilisation im Autoklav eine Senkung, während er bei der Pasteurisation und der Uperisation unverändert bleibt.
- Das Verhältnis von α -Casein : β -Casein erfährt vor allem durch die scheinbare Erhöhung des α -Caseins eine entsprechende Verschiebung, die bei der autoklavierten Milch am ausgeprägtesten ist.
- Bei den lyophilisierten Proben, einschließlich Rohmilch, zeigt sich eine Verschärfung dieser Verschiebungen. Er ergibt sich daraus, daß auch bei der schonenden Gefriertrocknung Veränderungen am System der Milchproteine sich einstellen.

Da wir bei der Berechnung der Beweglichkeit aus den Diagrammen keine signifikanten Unterschiede feststellen konnten, wurde auf die Wiedergabe der Zahlenwerte an dieser Stelle verzichtet.

3. Ergebnisse der ernährungsphysiologischen Untersuchungen

3.1. Uperisierte Milch mit 0,75 sec Heißhaltezeit

Das heute angewendete Verfahren zur Uperisation mit einer Heißhaltezeit von 2,4 sec ist das Ergebnis einer langjährigen Entwicklung. In den Anfangsphasen dieser Entwicklung wurde zur Erreichung völliger Sterilität eine Heißhaltezeit von 0,75 sec als ausreichend erachtet; das Verfahren wurde daher über mehrere Jahre mit dieser Heißhaltezeit praktiziert.

Die ernährungsphysiologischen Eigenschaften solcherart uperisierter Milch wurden von mehreren Autoren überprüft. Das Ergebnis dieser Untersuchungen von BERNHARD und Mitarb. (6), RANDOIN (7), LASZT (8) war, daß der Nähr-

wert der Milch durch die Uperisation nicht beeinträchtigt wird, praktisch keine Verluste an Vitamin D und B₂ eintreten und Aneurin, Ascorbinsäure sowie Vitamin B₁ nur geringfügig geschädigt werden.

Zur Erweiterung dieser Befunde wurde ein langfristiger Fütterungsversuch mit Ratten unternommen, bei dem 5 Generationen von Tieren hinsichtlich Wachstum, Lebensdauer, Gesundheitszustand und Fortpflanzung beobachtet wurden. Die Diät der Tiere setzte sich aus 25% Weizenschrot und 75% uperisierter Milch, ergänzt durch Leberkochsaft, Lebertran und Hefe zusammen. Kontrolltiere erhielten dieselbe Diät, nur war anstelle von uperisierter eine pasteurisierte Milch derselben Zusammensetzung enthalten.

Diese Versuche ergaben, daß in allen 5 überprüften Rattengenerationen zwischen Versuchs- und Kontrolltieren keine Unterschiede hinsichtlich Wachstum, Gewichtszunahme und Futterefficiency während der ersten 16 Wochen nach dem Absetzen der Tiere (also in der Zeit der größten Wachstumsintensität) beobachtet werden konnten. Dasselbe gilt für die Prozentzahl der überlebenden Tiere und die Zahl der je Weibchen geworfenen Jungen. Lediglich die Zahl der je Weibchen aufgezogenen Jungen lag im Durchschnitt bei den mit uperisierter Milch gefütterten Tieren etwas niedriger; diese Beobachtung ist aber aus mehreren Gründen als Zufallsbefund zu werten.

Nach erreichter Geschlechtsreife und Beobachtung der Fortpflanzungsfähigkeit wurde die 5. Rattengeneration zwecks anatomischer Untersuchung getötet. Hierbei konnten keinerlei auffallende makroskopische Befunde erhoben werden. Das Blutbild und die Organgewichte waren in beiden Gruppen praktisch identisch. Eine eingehende histologische Untersuchung von Leber, Gehirn, Herz, Lunge, Milz, Nieren und Testes ergab keinen Hinweis auf eine durch die Verfütterung der uperisierten Milch bedingte Organschädigung. Die Uperisierung führte also zu keiner Verminderung des biologischen Wertes der Milch.

In einem Zusatzversuch mit Vitamin-A-Mangel-Ratten konnten durch Zulage von 10 ml/Tier/Tag an uperisierter Milch die Symptome des A-Mangels ziemlich rasch geheilt werden; dies bedeutet, daß der Vitamin-A-Gehalt der Milch durch die angewendete Art der Uperisation nicht in nennenswertem Umfange beeinträchtigt wurde.

3.2. Uperisierte Milch mit 2,4 sec Heißhaltezeit

Die aus Gründen der bakteriologischen Sicherheit vorgenommene Verlängerung der Heißhaltezeit bei der Uperisation – eingehende Versuche hatten ergeben, daß hiermit selbst so hitzeresistente Mikroorganismen wie *Bac. stearothermophilus* mit Sicherheit eliminiert werden – könnte gegebenenfalls Anlaß zu einer Schädigung der biologischen Wertigkeit des Milcheiweißes sein. Zwar geben sich solche Schädigungen, wenn sie in größerem Umfang eintreten, häufig schon organoleptisch und im Ausschen (Bräunung) zu erkennen, während uperisierte Milch keine diesbezüglichen Eigenschaften aufweist, es schien aber trotzdem notwendig, im Tierversuch die biologische Wertigkeit des Milcheiweißes in den unter 1. genannten lyophilisierten Magermilchpulvern aus Rohmilch, pasteurisierter, sterilisierter und uperisierter Milch miteinander zu vergleichen. Ergänzende Versuche, wie histologische Untersuchung der Tierorgane, Leberfunktionsprüfung, Elektrophorese der Blutserumproteine der Versuchstiere und Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung der Eiweißproben schlossen sich an.

3.2.1. Versuchsmethodik

Genaue Angaben über Tiermaterial, Haltung der Tiere, Versuchsanordnung, Zusammensetzung der Diät, Fütterungstechnik, Methodik bei der Histologie, der Leberfunktionsprüfung, der Elektrophorese des Blutserumeiweißes und der Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung des Milcheiweißes sind bei LANG, CZOK, FRICKER, GRIEM, KIECKEBUSCH, KRUG und PABST (5) angeführt.

Tabelle 3. Fütterungsversuch

	Tiergruppe			
	M I rohe Magermilch	M II pasteurisierte Magermilch	M III sterilisierte Magermilch	M IV uperisierte Magermilch
Absolutes Tiergewicht in g				
0. Woche	45	46	45	46
2. Woche	94	98	94	97
4. Woche	164	167	162	170
Gewichtszunahme in g				
in 2 Wochen	50	52	48	52
in 4 Wochen	119	121	117	124
Futteraufnahme in g				
in 2 Wochen	143	147	139	143
in 4 Wochen	361	365	356	366
Proteinaufnahme in g				
in 2 Wochen	14,3	14,7	13,9	14,3
in 4 Wochen	36,1	36,5	35,6	36,6
Protein-Efficiency	\bar{s}_x	\bar{s}_x	\bar{s}_x	\bar{s}_x
in 2 Wochen	$3,49 \pm 0,060$	$3,56 \pm 0,075$	$3,48 \pm 0,063$	$3,60 \pm 0,045$
in 4 Wochen	$3,30 \pm 0,045$	$3,32 \pm 0,032$	$3,28 \pm 0,052$	$3,38 \pm 0,037$

3.2.2. Versuchsergebnisse

a) Biologische Wertigkeit des Milcheiweißes

Tabelle 3 gibt die für die Tiergewichte, die Gewichtszunahmen, die Futteraufnahme, die Proteinaufnahme und die Protein-Efficiency gefundenen Werte wieder.

Diese Daten lassen erkennen, daß zwischen den Tiergruppen nur geringe diesbezügliche Unterschiede bestehen.

Die statistische Auswertung [nach STUDENT (9)] der Werte für die Protein-Efficiency, die ja das Maß für die biologische Wertigkeit des Eiweißes darstellt, ergab, daß zwischen den Gruppen „Rohmilch“, „pasteurisierte“ und „uperisierte“ Milch keine signifikanten Differenzen bestanden. Lediglich der Unterschied zwischen den Gruppen „sterilisierte“ und „uperisierte“ Milch nach 4 Wochen Fütterungszeit erwies sich zugunsten der uperisierten Milch mit $p < 0,05 > 0,02$ als schwach gesichert. Eine Schädigung der biologischen Wertigkeit des Milcheiweißes wird also auch durch eine Uperisation mit 2,4 sec Heißhaltezeit nicht bewirkt.

Tabelle 4. Leberfunktionsprüfung

Tiergruppe	BSP-Retention in % im Serum 20 min nach i.v.-Injektion von BSP	
	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$
M I (n = 11)	1,37	± 0,18
M II (n = 12)	1,29	± 0,16
M III (n = 11)	1,43	± 0,13
M IV (n = 12)	1,48	± 0,17

b) Leberfunktionsprüfung

Die in der 5. Versuchswoche an je 11–12 Tieren jeder Gruppe durchgeführte Leberfunktionsprüfung (mit Hilfe des Bromsuphthalein-Testes) ergab die in Tabelle 4 wiedergegebenen Zahlen.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse zeigte, daß hinsichtlich der Bromsuphthalein-Retention in der Leber der Versuchstiere keine signifikanten Unterschiede zwischen den 4 Tiergruppen bestanden. Die verschiedenen Milchpulver waren also auch in diese Beziehung gleichwertig.

Allerdings ist festzuhalten, daß die erhaltenen Retentionswerte höher liegen als bei solchen Ratten, die mit einer Standardkost (Altromin®) gefüttert wurden. Dies ist darauf zurückzuführen, daß das Altromin-Trockenfutter einen wesentlich höheren Eiweißgehalt (etwa 17%) aufweist als die hier verwendete Diät, in der (wie zur Ermittlung der biologischen Wertigkeit von Eiweiß üblich) nur 10% Eiweiß enthalten war.

c) Histologische Untersuchung der Tierorgane

Bei der histologischen Untersuchung der in der 6. Versuchswoche getöteten Tiere konnten in den 4 Versuchsgruppen an den Organen keine entzündlichen oder degenerativen Veränderungen nachgewiesen werden. Die Lebern der Tiere der Gruppen M I, M II und M IV wiesen durchschnittlich eine mittelgradige Verfettung auf. Die Leberläppchen waren entweder peripher oder intermediär verfettet. In den Leberzellen waren die Fettröpfchen diffus verteilt oder perivasculär angeordnet. Die Leber der Gruppe M III (Sterilmilch) waren ebenfalls mittelgradig verfettet, jedoch lag entweder eine intermediäre oder zentrolobuläre Verfettung der Lappen vor. In den Zellen waren die Fettröpfchen deutlich perivasculär angeordnet. Ferner waren die KUPFFERSchen Sternzellen häufiger und stärker verfettet als in den Organen der Tiere aus den Gruppen M I,

Tabelle 5. Ergebnisse der elektrophoretischen Untersuchung der Blutseren

Tiergruppe	Gesamtprotein im Serum g/100 ml	Anzahl der Tiere	Elektrophoretische Fraktion (Angabe in % des Gesamtproteins)				
			I	II	III	IV	V
M I	4,73	11	33,5	19,6	10,6	22,7	13,6
M II	4,55	12	31,8	19,7	12,0	21,8	14,7
M III	4,53	16	37,1	20,0	9,6	21,9	11,3
M IV	4,74	13	38,7	20,1	10,1	19,7	10,6

M II und M IV. Bei diesen Gruppen waren in den *Nieren* die Zellen der Hauptstücke mittelgradig verfettet. Diese Harn-Kanälchenabschnitte zeigten jedoch bei den Tieren der Gruppe M II nur ganz geringgradige Fetteinlagerungen. Die *Herzen*, die *Nebennieren* und die *Milzen* waren bei allen Tiergruppen frei von histopathologisch erkennbaren Veränderungen. In den Samenkanälchen der *Hoden* konnte bei sämtlichen Tieren eine große Anzahl reifer Spermien nachgewiesen werden.

d) Elektrophorese des Blutserumeiweißes

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Die hier angewendete Art der Elektrophorese gibt eine Differenzierung in 5 Fraktionen. Die Fraktionen I und II sind der konventionellen Albuminfaktion zuzuordnen. Fraktion III entspricht dem α -Globulin, Fraktion IV dem β -Globulin und Fraktion V dem γ -Globulin. Bei den Gruppen M I und M II scheint der Anteil der Fraktion V im Vergleich zu den Gruppen M III und M IV etwas höher; dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant. Analog dazu ist bei den Gruppen M III und M IV die Fraktion I (in ebenfalls signifikanter Weise) etwas vermehrt.

e) Aminosäuren-Zusammensetzung des Milcheiweißes

Die Analyse ergab, daß zwischen den 4 geprüften Milchproben keine mit der angewendeten Methodik erfaßbaren Differenzen in der Aminosäure-Zusammensetzung ermittelt werden konnten, so daß auf die Wiedergabe der gefundenen Werte verzichtet wird.

4. Diskussion der Ergebnisse

Milch ist zwar ein allgemein anerkanntes, wertvolles Nahrungsmittel, da sie die für die Ernährung notwendigen Stoffklassen Fette-Proteine-Kohlenhydrate neben wichtigen Ergänzungsstoffen (Vitamine, Mineralsalze) in günstiger Zusammensetzung enthält. Aber gerade wegen dieser günstigen Zusammensetzung stellt sie auch einen guten Nährboden für Mikroorganismen aller Art dar. Da eine sterile Milchgewinnung unmöglich erscheint, ist es notwendig, durch bestimmte Maßnahmen den Keimgehalt zu reduzieren bzw. zu eliminieren, um die Haltbarkeit zu verlängern. Es gibt verschiedene Wege hierzu; zur praktischen Anwendung sind allerdings nur die Erhitzungsverfahren gelangt.

Die hierbei eintretende thermische Belastung der Milch führt zu gewissen chemischen und physikalisch-chemischen Veränderungen der Milchbestandteile, die sich gegebenenfalls auch in ernährungsphysiologischer Hinsicht auswirken könnten. Ein entscheidendes Kriterium für die Beurteilung eines Milcherhitzungsverfahrens ist daher stets darin zu sehen, daß die biologische Wertigkeit der Milch möglichst weitgehend erhalten bleibt.

Die in dieser Arbeit mitgeteilten Befunde zeigen, daß durch das Uperisationsverfahren der biologische Wert der Milch nicht beeinträchtigt wird, obwohl die chemischen Untersuchungen bezüglich der N-Verteilung sowie die elektrophoretischen und elektronenmikroskopischen Befunde darauf hindeuten, daß uperisierte Milch in dieser Hinsicht eine gewisse Mittelstellung zwischen sterilisierter und pasteurisierter Milch einnimmt. Die Veränderungen, die die

Milch durch die Uperisation erleidet, sind also nicht so schwerwiegend, als daß die biologische Wertigkeit hierdurch vermindert würde. Es dürfte daher der Schluß gerechtfertigt sein, daß die Forderung nach völliger Sterilität der Milch bei gleichzeitiger Erhaltung der biologischen Wertigkeit bei Anwendung dieses Erhitzungsverfahrens praktisch vollständig erfüllt wird; auch die organoleptischen Eigenschaften entsprechen, wie zahlreiche Tests ergeben haben, denen der pasteurisierten Milch.

Zusammenfassung

Untersuchungen über die N-Verteilung in flüssiger Rohmagermilch, pasteurisierter, sterilisierter und uperisierter Magermilch, die jeweils aus derselben Ausgangsmilch stammten, ergaben, daß durch die Hitzeinwirkung eine Zunahme des bei pH 4,6 fällbaren Caseins eintritt, die bei der sterilisierten Milch am stärksten war. Dieser Anstieg war proportional der Abnahme an Molkenprotein, was auf eine Komplexbildung zwischen diesen Eiweißstoffen zurückzuführen ist. Nach Lyophilisierung und anschließender Rekonstitution der Milch ergaben sich analoge Werte. Bei der elektronen-optischen Untersuchung der Caseinpartikelchen zeigte sich mit steigender thermischer Belastung eine Umgestaltung in der Caseinverteilung. Die freie Elektrophorese ergab einen Rückgang des frei wandern den Molkenproteins mit zunehmender Wärmebelastung, der prozentuale Anteil des α -Caseins nahm zu. Der β -Casein-Anteil blieb bei Pasteurisierung und Uperisierung unverändert, bei der Sterilisierung wurde er gesenkt.

Im Tierversuch mit Ratten wurde gefunden, daß durch eine Uperisation die biologische Wertigkeit der Milch nicht beeinträchtigt wird, da bezüglich Wachstum, Futteraufnahme und Proteinefficiency keine Unterschiede zwischen mit lyophilisierter Rohmagermilch, pasteurisierter und uperisierter Magermilch gefütterten Tieren gefunden wurden. Die Proteinefficiency war bei mit uperisierter Milch gefütterten Tieren gegenüber im Autoklaven sterilisierter Milch signifikant besser. Die Zusammensetzung der Blutserumproteine erfuhr keine Veränderung. Eine histologische Untersuchung der Tierorgane (Leber, Niere, Nebenniere, Milz, Herz, Hoden) ergab ebenfalls keinen Hinweis auf eine ungünstige Wirkung der uperisierten Milch; die Leberfunktionsprüfung wurde durch keines der eingesetzten Milchpulver beeinflußt.

Literatur

1. HOSTETTLER, H., A. FUCHS, W. LÖLIGER und W. REGEZ, Molkereitechnik, Band II (17) 33 (München 1961). — 2. HOSTETTLER, H., Schweiz. Milchztg. 87 (42) 257 (1961); 87 (76) 461 (1961). — 3. REGEZ, W., Milk Industry Foundation, Convention Proceedings 1962, p. 11-38. — 4. HOSTETTLER, H., K. IMHOF, und J. STEIN, Milchwissenschaft 20, 189 (1965). — 5. LANG, K., G. CZOK, A. FRICKER, W. GRIEM, W. KIECKEBUSCH, E. KRUG und W. PABST, Milchwissenschaft (im Druck). — 6. BERNHARD, L., L. GSCHÄDLER und A. SARASIN, Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 9, 311 (1953). — 7. RANDOIN, L., Bericht aus dem Institut de Contrôle biologique et chimique des Médicaments et des aliments (Paris 1956). — 8. LASZT, L., Gutachten: Ein neues Wärmeverfahren zur Entkeimung von Milch. — 9. In: FISHER, R. A., Statistisches Methoden für die Wissenschaft (Edinburgh 1956).

Anschrift der Verfasser:

Physiologisch-Chemisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität 65 Mainz