

Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Inst. f. Biologie, Karlsruhe

## Muster freier Aminosäuren in frischen und gelagerten hartgekochten Eiern

W. Partmann und H. Schlaszus

Mit 2 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen 30. Juli 1979)

Zur Identifizierung und Qualitätsbestimmung tierischer Lebensmittel können in vielen Fällen die Muster ihrer freien Aminosäuren und verwandter Verbindungen herangezogen werden (5, 6, 7). Mit Hilfe der Messung dieser Komponenten wurde auch versucht, Auskunft über Lagerungsveränderungen bei Hühnereiern zu erhalten. Veränderungen in den Gehalten an einzelnen freien Aminosäuren von ungekochten Eiern wurden sowohl im Eiklar (2, 4, 11) als auch im Eidotter (2, 11) gefunden. Wichtig erscheint die Feststellung von Lück und Pavlick, daß die Konzentration der 16 gemessenen Aminosäuren im Eiklar bei kühlgelagerten und bei in „Garantol“ eingelegten Eiern erheblich anstieg, während die Veränderungen im Eigelb nur gering waren. Als Ursache für die Zunahme im Eiklar wird in erster Linie die Diffusion von Aminosäuren aus dem Eidotter durch die Vitellinmembran in das Eiklar angesehen (2). Es finden aber auch chemische Reaktionen an einzelnen Aminosäuren statt, die sich auf die sensorische Qualität auswirken können. MacLeod und Cave nehmen an, daß in der Konzentration besonders hohe flüchtige Aromakomponenten des Eidotters wie 2-Methylbutanal und Pyrazine durch den Strekker-Abbau von Aminosäuren entstehen (3).

Hartgekochte Eier, die insbesondere in der Außenhausverpflegung immer mehr an Bedeutung gewinnen, sind unseres Wissens bisher nicht auf Veränderungen ihres Musters an freien Aminosäuren untersucht worden. Es wird daher als Ergänzung zu einer größeren Arbeit zur Haltbarkeit von hartgekochten Eiern (1, 9) über die an dem gleichen Material gemessenen Veränderungen an freien Aminosäuren berichtet.

### Material, Verarbeitung und Lagerung

Angaben zur Herkunft der Eier finden sich an anderer Stelle (9). Die Eier gehörten der Gewichtsklasse 3 an und waren zum Zeitpunkt des Kochens nicht älter als einen Tag. Bei den einzelnen Auslagerungen der 3 hier berücksichtigten Versuche wurden jeweils 3 Messungen mit dem gemischten Eiklar und dem verrührten Eidotter von 3 Eiern gemacht. Bei jedem Versuch wurden außerdem 3 nicht gekochte Eier bei +1 °C gelagert und aus Zeitgründen erst 5 Tage nach Eiablage für die Extraktherstellung zur Aminosäuren-Analyse verwendet.

Einzelheiten der Kochbehandlung wurden bereits beschrieben (9). Die Kochzeit betrug bei allen Versuchen 17 min. Die Lagerungsbedingungen sind der Tabelle 1

Tab. 1. Eierbehandlung und Lagerungsbedingungen.

Versuchsnummern	Lagertemperatur °C	relative Feuchte %	Lagerungsatmosphäre	Oberflächenbehandlung
1	4	85 ± 3	Luft	-
2	20	73 ± 6	Luft	-
3	20	75 ± 4	Luft	Eierschalenlack

zu entnehmen. Bei dem Versuch 3 wurden die noch heißen Eier unmittelbar nach dem Trocknen der Oberfläche für 10 s in handelsüblichen Eierschalenlack (9) gelegt. Die hier berücksichtigten Lagerungszeiten waren 2, 8 und 29 Tage.

### Methoden

Zur Bestimmung der Trockensubstanz (TS) wurden 5 g Eidotter bzw. Eiklar in einem auf 80 °C aufgeheizten Trockenschrank 2 Std. vorgetrocknet und anschließend in einem Vakuumtrockenschrank bei 3 bis 10 mbar und 80 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zur Herstellung der Extrakte für die Bestimmung der freien Aminosäuren wurde das unter Eiskühlung aus Eiklar bzw. Eidotter und dest. Wasser hergestellte Homogenat mit Trichloressigsäure enteiweißt. Nach Filtration und nach Auswaschen des Rückstandes mit Trichloressigsäure wurden die vereinigten Filtrate beider Operationen im Rotationsverdampfer eingeeignet und mit Äther mehrfach ausgeschüttelt, bis ein pH-Wert von etwa 2,5 erreicht war. Der so u. a. von Trichloressigsäure weitgehend befreite Extrakt war nach geeigneter Verdünnung mit dest. Wasser für die säulenchromatographische Analyse der Aminosäuren zu verwenden.

Die freien Aminosäuren wurden nach einer Modifikation (5) der von Spackman, Stein und Moore eingeführten Methode (10) bestimmt. Die Konzentration der Komponenten wurde in µmol/g Trockensubstanz angegeben. Für Eiklar wurde ein Nominalwert von 12,0% und für Dotter ein solcher von 49,3% Trockensubstanz zugrunde gelegt.

Die in Tabellen und Abbildungen verwendeten Abkürzungen bedeuten: Asp = Asparaginsäure, Thr = Threonin, Ser = Serin, Asn = Asparagin, Glu = Glutaminsäure, Gln = Glutamin, Pro = Prolin, Gly = Glycin, Ala = α-Alanin, Val = Valin, Met = Methionin, Ile = Isoleucin, Leu = Leucin, Tyr = Tyrosin, Phe = Phenylalanin, Lys = Lysin, His = Histidin, Arg = Arginin.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Freie Aminosäuren in nichtgekochten Eiern

Die Mittelwerte der 5 Tage nach der Eiablage erhaltenen Konzentrationen der einzelnen Aminosäuren im Eiklar und Eidotter sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Es fällt auf, daß die Konzentrationen aller freien Aminosäuren im Eiklar um eine Größenordnung kleiner sind als im Eidotter. Die Werte im Eigelb zeigen eine verhältnismäßig gute Übereinstimmung mit den von Lück und Pavlik an einem kleinen Material bestimmten (2). Für das Eiklar sind jedoch die Konzentrationen – relativ betrachtet – bei Lück und Pavlik deutlich kleiner (2). Die Ursache für diesen Unterschied dürfte im wesentlichen auf dem abweichenden Alter der Eier bei Extrakterstellung beruhen. Es betrug bei Lück und Pavlik nur einen Tag. Bereits früher

Tab. 2. Freie Aminosäuren im Eiklar und Eidotter von 5 Tage alten rohen Eiern.  
Konzentrationen in  $\mu\text{mol/g TS}$ .

Aminosäuren	Eiklar	Eidotter
Asp	0,11	3,67
Thr	0,03	4,57
Ser	0,05	5,39
Asn	0,02	2,81
Glu	0,24	8,19
Gln	0,08	3,79
Pro	0,13	4,05
Gly	0,10	2,87
Ala	0,13	3,45
Val	0,14	4,05
Met	0,08	1,48
Ile	0,11	2,88
Leu	0,34	5,26
Tyr	0,15	3,59
Phe	0,26	2,71
Orn	0,01	0,15
Lys	0,02	5,33
His	0,05	1,08
Trp	0,03	0,44
Arg	0,13	4,20

war gezeigt worden, daß der Anstieg von freien Aminosäuren (2) und anderen wasserlöslichen Komponenten (9) im Eiklar während der Lagerung von rohen Eiern in der Hauptsache auf zeitabhängigen Diffusionsprozessen vom Eidotter zum Eiklar hin beruht.

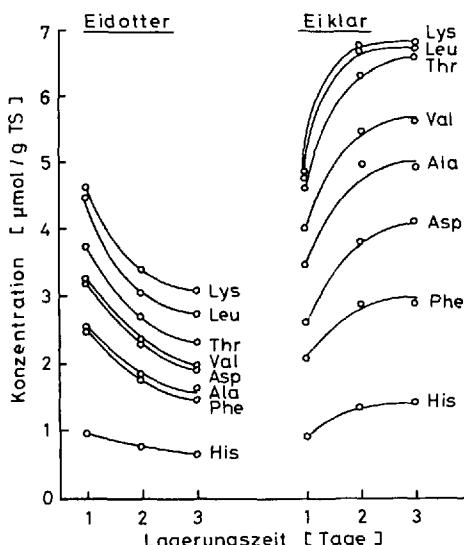


Abb. 1. Veränderungen der Konzentrationen an freien Aminosäuren im Eidotter und Eiklar gekochter Eier während der ersten Tage der Lagerung.

### *Freie Aminosäuren in gekochten Eiern*

Auch beim Kochen und in den ersten Tagen der Lagerung gekochter Eier wird dieser Austausch fortgesetzt. Wie Abbildung 1 zeigt, sind bereits einen Tag nach dem Kochen die Gehalte an freien Aminosäuren im Eiklar wesentlich höher als im Eiklar des nicht gekochten Eies nach 5 Tagen (Tab. 2). Dieser Anstieg geht in den folgenden Tagen mit abnehmender Geschwindigkeit weiter. Im Eidotter nehmen die Konzentrationen der freien Aminosäuren erwartungsgemäß ab (Abb. 1). Da bereits kleine Abweichungen in den Kochbedingungen, wie Überprüfungen ergaben, zu deutlich unterschiedlichen Werten führen, ist verständlich, daß bei einer Lagerungszeit von 2 Tagen die Standardabweichungen vom arithmetischen Mittel verhältnismäßig groß sind (Abb. 2).

Der Vergleich der bei den 3 Versuchen erhaltenen Mittelwerte der einzelnen freien Aminosäuren im Eidotter und Eiklar ließ erkennen, daß

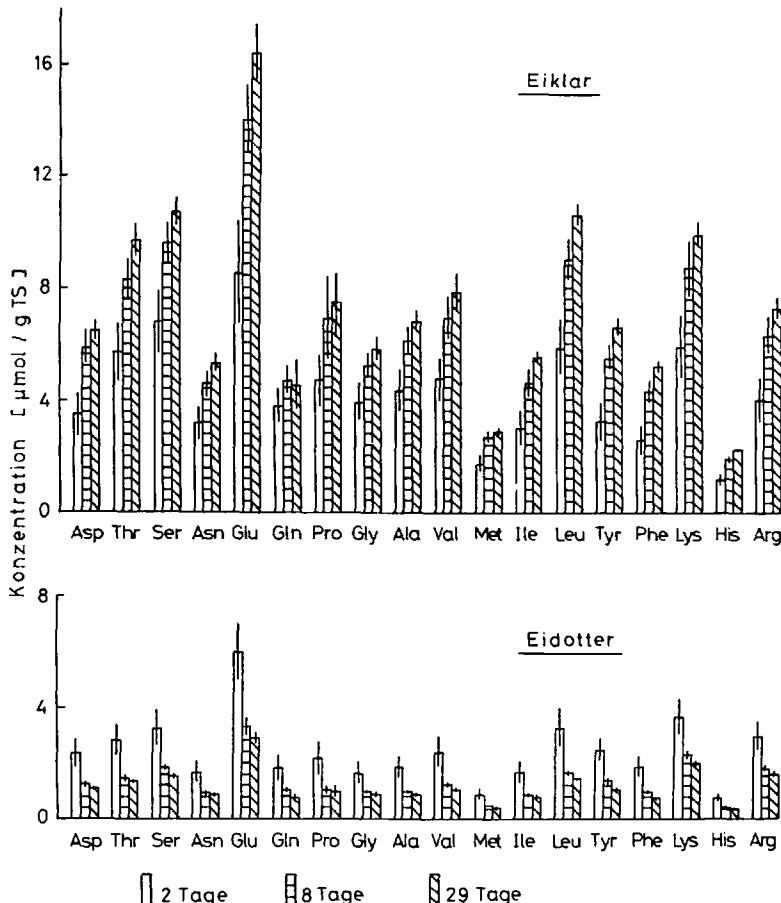


Abb. 2. Zu drei Auslagerungszeiten bestimmte Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen an freien Aminosäuren im Eidotter und Eiklar hartgekochter Eier. Berücksichtigt wurden die Meßwerte der drei Versuchsreihen.

sie bei gleichen Lagerungszeiten nahezu übereinstimmten und in keinem Fall ein von den übrigen Lagerungsbedingungen verursachter signifikanter Unterschied zwischen ihnen erhalten wurde. Das bedeutet, daß die Lagerungstemperatur (+4 ° oder +20 °C) und Lackierung oder Nichtlakkierung der Eier gegenüber der Lagerungszeit von untergeordneter Bedeutung für die quantitativen Veränderungen der freien Aminosäuren im Eidotter und Eiklar waren.

Um eine Übersicht über die auffallend gleichförmig verlaufenden Veränderungen der einzelnen Aminosäuren während der Lagerung zu geben, wurden zu jedem Lagerungszeitpunkt die arithmetischen Mittelwerte von allen Messungen der 3 Versuche und der zugehörigen Standardabweichungen getrennt für Eiklar und Eidotter in Abbildung 2 dargestellt. Im Eidotter nahmen alle Aminosäuren im Verlauf der Lagerung ab, im Eiklar stiegen sie dagegen an. Diese Veränderungen waren in den ersten 8 Tagen besonders groß.

Da offensichtlich auch bei der Lagerung von gekochten Eiern die Diffusion von freien Aminosäuren vom Eidotter zum Eiklar eine große Rolle spielt, gaben die aus den Meßergebnissen gebildeten Mittelwerte der beiden Eibestandteile für sich allein betrachtet keinen Aufschluß darüber, ob im Gesamtei quantitative Veränderungen der einzelnen Aminosäuren auftraten.

Zur Beantwortung dieser offenen Fragen wurde der Gehalt der freien Aminosäuren im Gesamtei aus allen 9 Werten der drei Versuche für die Lagerungszeiten 2, 8 und 29 Tage berechnet. Dabei wurde aus Durchschnittswerten von Eiern der Gewichtsklasse 3 für Eiklar ein Anteil von 36,1 g und für Eidotter ein Wert von 18,4 g zugrunde gelegt. Die Mittel-

Tab. 3. Freie Aminosäuren in gekochten Eiern. Mittelwerte der Messungen aller Versuche ( $n = 9$ ); Konzentration in  $\mu\text{mol}/\text{Gesamtei}$ .

Aminosäuren	Lagerung in Tagen		
	2	8	29
Asp	36,8	37,4	38,3
Thr	50,5	49,4	54,3
Ser	58,5	58,1	61,1
Asn	28,9	28,3	30,8
Glu	91,3	91,0	97,2
Gln	33,4	29,9	26,3
Pro	40,1	39,4	41,4
Gly	31,7	30,9	33,1
Ala	36,0	35,5	38,2
Val	42,7	41,2	44,0
Met	15,7	15,8	16,4
Ile	28,2	27,9	31,0
Leu	55,5	54,5	59,8
Tyr	36,7	36,4	38,8
Phe	28,2	27,8	30,0
Lys	58,3	58,1	61,1
His	12,2	12,2	12,8
Arg	44,9	43,4	46,1

werte für die Gehalte an freien Aminosäuren pro Gesamtei sind in Abhängigkeit von der Lagerungszeit in Tabelle 3 zusammengestellt. Nach einer Lagerung von 8 Tagen waren gegenüber den Ausgangswerten praktisch keine Veränderungen festzustellen. Nach 29 Tagen wurden für die meisten freien Aminosäuren etwas höhere (im Mittel etwa 5%) Gehalte berechnet. Abweichend von den übrigen Aminosäuren nahm das Glutamin ab. Das für den Stoffwechsel bedeutungsvolle freie Glutamin ist, wie bereits bei verschiedenen Fleischarten gefunden wurde (5, 8), besonders labil.

Eine richtige Beurteilung der etwas höheren Meßwerte für die meisten Aminosäuren im Gesamtei nach einer Lagerung von etwa 1 Monat sollte berücksichtigen, daß bei der Berechnung von denselben Trockensubstanzgehalten ausgegangen wurde wie bei der Einlagerung. Dabei blieben die bei der Lagerung auftretenden Austrocknungsverluste unbeachtet. Sie betrugen im Durchschnitt in 29 Tagen bei 4 °C etwa 2%, bei 20 °C etwa 5,1% und bei 20 °C (lackiert!) etwa 1,3% (9).

Insgesamt wird deutlich, daß während des Kochens und der Lagerung von hartgekochten Eiern beträchtliche Verschiebungen im Gehalt der freien Aminosäuren zwischen Eidotter und Eiklar stattfanden. Diese Veränderungen dürften in der Hauptsache durch Diffusion zu erklären sein und führten zu dem den kolloidchemischen Gegebenheiten entsprechenden Ausgleich des Konzentrationsgefälles dieser Stoffe zwischen Eidotter und Eiklar.

Die in der ersten Lagerungswoche besonders starken Verschiebungen erscheinen bei Kenntnis der standardisierten Kochbedingungen geeignet, frisch gekochte Eier von mehrere Tage gelagerten Eiern zu unterscheiden.

Die ermittelten Gesamtkonzentrationen der freien Aminosäuren pro Ei ergaben für eine Lagerungszeit von 29 Tagen jedoch nur geringfügige Veränderungen, die nicht für eine Qualitätsbeurteilung von hartgekochten Eiern für diesen Zeitraum geeignet erscheinen.

Anzunehmen ist, daß eine zufällige Infektion von hartgekochten Eiern mit stark proteolytisch wirkenden Mikroorganismen bei +20 °C in einem Monat vielleicht zu wesentlich stärkeren Veränderungen des Musters an freien Aminosäuren im Eiklar, aber auch im Gesamtei führen kann als die hier beschriebenen.

#### Zusammenfassung

Bei 17 min lang gekochten Eiern wurden nach Lagerungszeiten von 2, 8 und 29 Tagen die freien Aminosäuren säulenchromatographisch bestimmt. Die Lagertemperaturen waren 4 ° und 20 °C. Ein Teil der bei 20 °C gelagerten Eier wurde nach dem Kochen in Eierschalenlack getaut. In frischen nichtgekochten Eiern war die Konzentration der freien Aminosäuren im Eiklar im Vergleich zum Eidotter sehr klein. Wie bei nichtgekochten Eiern während der Lagerung, so fanden auch während des Kochens von Eiern und ihrer anschließenden Lagerung ein Anstieg der freien Aminosäuren im Eiklar und ein Abfall im Eidotter statt. Diese Veränderungen können vermutlich benutzt werden, um frisch gekochte Eier von mehrere Tage gelagerten zu unterscheiden. Bei übereinstimmenden Lagerungszeiten waren die Mittelwerte der freien Aminosäuren von den 3 Versuchen mit verschiedenen Lagerungsbedingungen nicht signifikant verschieden. Die Mittelwerte für die Gehalte an freien Aminosäuren pro Gesamtei zeigten bei 29-tägiger Lagerung im allgemeinen nur geringfügige Zunahmen. Lediglich Glutamin hatte einen niedrigeren Wert

als zu Beginn der Einlagerung. Für eine Qualitätsbeurteilung von hartgekochten Eiern, die bis zu einem Monat bei 4 ° oder 20 °C gelagert wurden, erscheinen die Konzentrationen an freien Aminosäuren im Gesamtei ungeeignet.

### *Summary*

In eggs boiled for 17 minutes the free amino acids were determined by column chromatography after storage times of 2, 8, and 29 days at storage temperatures of 4 ° and 20 °C. Part of the eggs which had been stored at 20 °C was, after boiling, coated with coloured resin for egg shells.

In fresh unboiled eggs the concentrations of the free amino acids were very low in egg white when compared to egg yolk. An increase of the free amino acids in the egg white and a decrease in the egg yolk were found in unboiled eggs during storage as well as during boiling and subsequent storage of eggs. These changes might be used to identify fresh hard boiled eggs and hard boiled eggs stored for several days. With the same storage times but different storage conditions there were no significant differences in the average values of the free amino acids of the three trials. These average values per total egg generally increased only slightly during a storage period of 29 days. Only the glutamine concentration was lower than at the beginning of storage. The contents in free amino acids per total egg appeared to be unsuitable as basis for a quality assessment of hard boiled eggs stored up to one month at 4 ° and 20 °C.

### *Literatur*

1. *Bomar, M. T.:* Mikrobiologische Aspekte gelagerter hartgekochter Eier. Z. Ernährungswiss. (im Druck). – 2. *Lück, H., A. Pavlick:* Veränderungen der freien Aminosäuren in Schaleneiern während der Lagerung. Z. Lebensm. Unters.-Forschg. **123**, 282–293 (1963). – 3. *MacLeod, A. J., S. J. Cave:* Variations in the volatile flavour components of eggs. J. Sci. Food Agric. **27**, 799–806 (1976). – 4. *Moreno Calvo, J., E. Garcia Matamoros, C. Fuster Monescillo:* Electrophoretic test on egg white proteins during the cold treatment. Frio, E. **3** (Nr. 32) 23–28, 30–32 (1974). – 5. *Partmann, W.:* Eiweißveränderungen im Fischmuskel während der Lagerung bei –3 °, –8 ° und –28 °C. Kältetechnik **21**, 39–43 (1969). – 6. *Partmann, W., H. Schlaszus:* Über die Muster ninhydrinpositiver Substanzen im Muskelgewebe von Knochenfischen. Z. Lebensm. Unters.-Forsch. **152**, 8–17 (1973). – 7. *Partmann, W., H. Schlaszus:* Vergleich der Muster freier ninhydrinpositiver Substanzen in Muskeln von Schlachttieren und vom Zwergwal (Balaenoptera acutorostrata, Lac.) Z. Lebensm. Unters.-Forsch. **153**, 265–270 (1973). – 8. *Partmann, W., H. Schlaszus:* Freie Aminosäuren in Kalb- und Schweinefleisch nach Lagerung in kohlendioxidreichen Atmosphären. Fleischwirtschaft **58**, 843–846 (1978). – 9. *Partmann, W., A. Wedler:* Untersuchungen zur Haltbarkeit von hartgekochten Eiern. Z. Ernährungswiss. (im Druck). – 10. *Spackman, D. H., W. H. Stein, St. Moore:* Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Analyt. Chem. **30**, 1190–1206 (1958). – 11. *Yano, N., S. Kato, I. Suzuki, T. Ishii:* Free amino acids in hen's egg and their change during storage. Chikusan Shikenjo Kenkyu Hokoku (Bulletin of National Institute of Animal Industry) Nr. **29**, 75–81 (1975).

### Für die Verfasser:

Dr. *Walter Partmann*, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Institut f. Biologie,  
7500 Karlsruhe