

Lebensmi

Orotsäuregehalt in Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch

Karin Wehrmüller, Ernst Jakob und Stephan Ryffel, Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, CH-3003 Bern
Auskünfte: Karin Wehrmüller, E-Mail: karin.wehrmueller@alp.admin.ch, Tel. +41 31 323 30 31

Zusammenfassung

Schafmilch wird wegen ihres hohen Gehaltes an Orotsäure gerühmt. Orotsäure wird immer wieder als Allerheilmittel angepriesen. Obwohl sich in der wissenschaftlichen Literatur keine gesicherten Daten dazu finden, hält sich der Mythos der besonders orotsäurereichen Schafmilch hartnäckig. Deshalb hat die Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP Schaf-, Ziegen- und Kuhmilch auf ihren Orotsäuregehalt untersucht und verglichen. Die Bestimmung der Orotsäure erfolgt nach Trennung der organischen Säuren mittels HPLC und anschließender UV-Detektion.

Kuhmilch enthält am meisten Orotsäure, gefolgt von Schafmilch, die kaum mehr enthält als Ziegenmilch. Es konnten jahreszeitliche Schwankungen festgestellt werden, wobei im Herbst (September) ein höherer Orotsäuregehalt gemessen wurde als im Frühling (März) und Sommer (Juni). Im Winter selbst wurden keine Proben analysiert. Die Werte von März und Juni liegen bei Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch mit 6,63, 1,53, 1,08 mg/100 g und 6,33, 1,77, 1,27 mg/100 g in derselben Grössenordnung. Im September wurde bei allen drei Milcharten eine Zunahme der Konzentrationen gemessen (7,55, 3,22 und 2,48 mg/100 g).

Abb. 1. Schafmilch enthält weniger Orotsäure als Kuhmilch.

Orotsäure wird immer wieder als Wunder- und Allerheilmittel angepriesen. So soll diese

organische Säure vor Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs schützen, den Cholesterinspie-

gel senken, die sportliche Leistung fördern, als Mineralstoff-Carrier (vor allem Magnesium) für eine verbesserte Mineralstoffabsorption sorgen und vieles mehr. Die Salze der Orotsäure werden als Medikamente zur Behandlung degenerativer Erkrankungen, aber auch gegen Migräne und Depressionen eingesetzt. Zahlreiche Supplemente und Nahrungsergänzungsmittel mit Orotsäure sind im Internethandel erhältlich.

Orotsäure im menschlichen Organismus

Orotsäure wird auch Vitamin B₁₃ genannt, obwohl der Vitamincharakter (kann vom Körper nicht selbst synthetisiert werden und ist essenziell) nicht vorhanden ist. Es gibt weder typische Mangelsymptome, noch eine empfohlene Mindestaufnahme.



Orotsäure (2,6-Dioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carbonsäure) ist ein Pyrimidinderivat, das als Vorstufe der Pyrimidinnucleotide von grosser biochemischer Bedeutung ist (Lieberman *et al.* 1955). Pyrimidinnucleotide sind Bestandteile von Nucleinsäuren, die entweder als DNS das genetische Material darstellen oder als RNS an der Biosynthese der Proteine beteiligt sind. Sie stellen somit Bausteine der Erbsubstanz dar und sind auch bei der Synthese von Glykoproteinen und als Signalstoff von grosser Bedeutung (Sharma *et al.* 1993). Orotsäure selbst dient als Transportmolekül für Magnesium und schützt vor oxidativem Stress (Morifuji und Aoya-

ttel

ma 2002; Zeana 1999). Selbst als Herz schützend wird dieses Molekül bezeichnet (Richards *et al.* 1997). Mit all diesen verschiedenen Funktionen ist Orotsäure im Organismus unentbehrlich.

Es ist nicht klar, ob und in welchen Mengen Orotsäure aus der Nahrung für den gesunden Menschen essenziell ist. Die biologische Quelle von Orotsäure ist der Pyrimidin-Biosyntheseweg (Robinson und Dombrowski 1983). Ob mit der Nahrung aufgenommene Orotsäure (in grösseren Mengen) dieselben Wirkungen erzielt und einen gesundheitlichen Nutzen erbringt ist fraglich. Dass supplementierte Orotsäure zur Verjüngung beitrage, da sie ein Zellbestandteil ist, ist eine wissenschaftlich nicht fundierte Hypothese. Wissenschaftliche Studien fehlen zu den meisten Wirkungsfeldern. Die Annahme, dass Orotsäure den Cholesterin- und Triglyzeridspiegel im Blutserum senke, wurde schon 1985 von Robinson *et al.* mit Humanstudien widerlegt (Robinson *et al.* 1985). Nur Ratten reagieren mit einem tieferen Cholesterin- und Triglyzeridspiegel auf die Supplementierung mit Orotsäure.

Früher war man eher besorgt, ob Orotsäure nicht schädlich sei, da es bei Ratten zur Bildung von Fettlebern kam. Diese Befürchtung wurde widerlegt; bei diversen anderen Tieren, wie auch dem Menschen konnte kein solcher Effekt nachgewiesen werden (Robinson und Dombrowski 1983).

Orotsäuregehalt in Milch

Früher wurde Orotsäure ausschliesslich mit bestimmten Bakterien, für die Orotsäure essenziell ist, bestimmt. Daneben gibt es enzymatische und photometrische Methoden. Die neueren Methoden nutzen die Chromatographie (HPLC oder GC).

Für die vorliegende Arbeit wurde eine HPLC-Methode benutzt (Bouzas *et al.* 1991; Dellano *et al.* 1996). Um die organischen Säuren aus der Milch zu lösen, wurde die Milch mit Schwefelsäure versetzt und anschliessend zentrifugiert und filtriert.

Zirka 5 g Milch wurden auf 0,01 g genau in einen 25 ml Messkolben eingewogen und mit Schwefelsäure 4,5 mmol/l bis zur Marke aufgefüllt. Die Probe wurde gut geschüttelt und dann durch einen Rundfilter filtriert. Zirka 1 ml wurde durch einen Einwegfilter filtriert. Die Lösung war nun bereit für die Chromatographie.

Mittels HPLC erfolgte die Trennung auf einer Kationenaustausch-Trennsäule, die UV-Detektion erfolgte bei 210 nm.

■ Trennsäule: Aminex HPX-87H, 300 x 7,8 mm

■ Vorsäule: Cation-H Cartridges, 30 x 4,6 mm

■ mobile Phase: Schwefelsäure 4,5 mmol/l

■ Fluss: 0,5 ml

■ Säulentemperatur: 75°C

■ Laufzeit: 65 Min.

Es wurden 25 µl der Lösung eingespritzt. Zu Beginn, nach jeder 5. Probe und am Ende der Messung wird eine Referenzlösung (Fluka 75500, Orotsäure wasserfrei, purum ≥ 98%) eingespritzt.

Beschaffung der Milchproben

Um Milchproben zu erhalten, welche die Zusammensetzung der Konsummilch in der Schweiz möglichst gut repräsentieren, wurde die Kuhmilch (pasteurisiert) bei den zwei Grossverteilern Migros und Coop gekauft. Im März 2007 wurden Kuhmilchproben von den drei grössten Produzenten erhoben, im Juni und September zusätzlich noch eine Biomilchprobe.

Da die Produktion und Verarbeitung von Schaf- und Ziegenmilch nicht zentralisiert ist, wurden die entsprechenden Proben direkt von den Produzenten bezogen. Die Schaf- beziehungsweise Ziegenrasse wurde dabei nicht berücksichtigt. Nach dem Melken wurde die Milch in einer Kühlbox an das Labor von ALP geschickt. Bei den Schaf- und Ziegenmilchproben handelte es sich um Mischmilch von 15 bis 100 Schafen, respektive sechs bis 282 Ziegen und ein bis zwei Gemelken. Zwei Ziegenmilch- und drei Schafmilchproben wurden ausserdem im Detailhandel gekauft. Im März wurden zehn, im Juni elf und im September neun

Tab. 1. Vergleich des Orotsäuregehaltes in Schaf- und Kuhmilch aus der Literatur

Quelle	Jahr	Schaf mg / 100 ml Milch ¹⁾	Kuh
Hallanger <i>et al.</i>	1953	32,4	7,9-10,5
Schwoerbel ²⁾	1966	35-45	10
Münchberg <i>et al.</i>	1971	1,35	2,35
Larson und Hegarty	1979	2,6	2,1-8,8
Gil und Sanchez-Medina	1981	0,5-0,5 ¹⁾	4,2-6,5
Souci <i>et al.</i>	2000	2,5	5,9
ALP März 2007	2007	1,53	6,63
ALP Juni 2007	2007	1,87	6,33
ALP September 2007	2007	3,22	7,55

¹⁾ 1 ml Milch entspricht gerundet 1 g Milch

Mischmilchproben von Schafen erhoben. Bei der Ziegenmilch waren es im März zwölf, im Juni elf und im September neun Proben. Die Produzenten kamen aus den Kantonen Appenzell, Bern, Freiburg, Graubünden, Luzern, Neuenburg, St. Gallen, Thurgau, Waadt und Zürich. Bei den direkt von den Produzenten gelieferten Proben handelte es sich um Rohmilch. Die Schaf- und Ziegenmilch aus dem Detailhandel war pasteurisiert, in einem Fall (Ziegenmilch aus Deutschland) UHT behandelt. Sämtliche Milchproben wurden bis zur Analyse eingefroren.

Einflussfaktoren auf den Orotsäuregehalt

Orotsäure kommt nur in der Milch von Wiederkäuern vor. Als einzige Nicht-Wiederkäuermilch enthält Stutenmilch Spuren

davon. Orotsäure liegt im wässrigen Teil der Milch vor und wurde 1904 erstmals aus Molke isoliert, was ihr vorerst den Namen Molkensäure einbrachte. Obwohl Orotsäure in der wässrigen Phase der Milch enthalten ist, lässt sie sich nur schwer in Wasser lösen.

Früher wurde die Bestimmung von Orotsäure dazu verwendet, den Milchanteil in Nahrungsmitteln zu ermitteln. Das regelmässige, verhältnismässig reichliche Vorkommen, die gute Bestimmbarkeit und die Stabilität gegenüber Erhitzung sind wichtige Eigenschaften für diesen Nachweis (Brieskorn und Wallrauch 1968). Einschränkend wirkten sich die Schwankungen im Gehalt und der Abbau durch Milchsäurebakterien aus (Ritter 1977, Brieskorn und Wallrauch 1968).

Orotsäure in der Milch verschiedener Spezies

Schafmilch wird wegen ihres hohen Orotsäure Gehaltes gerühmt. In der wissenschaftlichen Literatur finden sich dazu allerdings nur widersprüchliche Angaben (Tab. 1). Von Schafmilchproduzenten und -anbietern wird meist der Wert von Hallanger *et al.* 1953 oder Schwoerbel 1966 zitiert. Mit 32,4 mg Orotsäure pro 100 g Schafmilch wäre der Gehalt 3- bis 4-mal höher als in Kuhmilch, was nie bestätigt wurde. Trotzdem hält sich der Mythos hartnäckig. Deshalb hat die Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP Schaf-, Ziegen- und Kuhmilch auf ihren Orotsäuregehalt untersucht und verglichen (Tab. 2).

Der Unterschied zwischen der Orotsäurekonzentration der drei Milcharten ist signifikant (Tab. 2, Abb. 1). So ist der Orotsäuregehalt von Kuhmilch im September 2,5-mal und im März ca. 4,5-mal höher als der von Schafmilch; im Vergleich zu Ziegenmilch ist er im September 3-mal, im März 6-mal höher ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen Schaf- und Ziegenmilch ist viel kleiner, aber immer noch signifikant ($p < 0,001$).

In Kuhmilch ist Orotsäure praktisch die einzige Komponente der säurelöslichen Nukleotide. Im Gegensatz dazu enthalten Schaf- und Ziegenmilch zahlreiche Purin- und Pyrimidinderivate, wovon nur gerade 6 % (92 %

Tab. 2. Orotsäuregehalt (mg / 100 g Milch ± Standardabweichung) von Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch in den Monaten März, Juni und September 2007, analysiert an der Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP mittels HPLC-Trennung und photometrischer Detektion; n = Anzahl Milchgemisch-Proben

Milchart	Orotsäure (März)		Orotsäure (Juni)		Orotsäure (Sep)	
Kuhmilch	n = 3	6,63 ± 0,46	n = 4	6,33 ± 0,75	n = 4	7,55 ± 0,48
Schafmilch	n = 12	1,53 ± 0,23	n = 11	1,87 ± 0,33	n = 9	3,22 ± 0,35
Ziegenmilch	n = 10	1,08 ± 0,24	n = 11	1,57 ± 0,57	n = 10	2,48 ± 0,64

in Kuhmilch) auf Orotsäure entfallen (Robinson und Dombrowski 1983). Eine mögliche Erklärung für die hohen Werte von (Hallanger *et al.* 1953) mit der mikrobiologischen Methode könnte eine evtl. ungenügende Selektivität der verwendeten Mikroorganismen für Orotsäure gegenüber anderen Pyrimidinderivaten sein.

Einfluss der Verarbeitung

Die Orotsäure verhält sich innerhalb derselben Tierart und Rasse umgekehrt proportional zum Fettgehalt. Je mehr Fett die Milch enthält, desto kleiner ist der Wasseranteil und somit auch der Gehalt an Orotsäure, was die folgende Reihe aufzeigt: Rahm wies 4,8, Milch 6,1 und Magermilch 7,1 mg Orotsäure pro 100 g Milch auf (Ritter 1977).

Da Orotsäure sehr hitzestabil ist, kommt sie in pasteurisierter oder UHT Milch nicht vermindert vor (Ritter 1977).

Joghurt und andere Sauermilchprodukte weisen geringere Orotsäurekonzentrationen auf, da sie von Milchsäurebakterien abgebaut, respektive weiterverarbeitet wird. Mit Joghurt beimpfte Milch (2,5 mg/100 g) hatte nach 0, 2, 4, 5 und 6 Stunden bei 42 °C noch Orotsäurekonzentrationen von 5,7, 3,3, 1,3, 0,9 und 0,5 mg/100 g Milch, respektive Joghurt (Ritter 1977). Die optimale Säuerungstemperatur der Joghurtkultur liegt zwischen 42 und 44 °C und die Bebrütung bis zum Erreichen der gewünschten Azidität dauert rund drei Stunden. Käse wurde nicht auf Orotsäure untersucht, hat aber wahrscheinlich aufgrund der Mikroorganismenaktivität auch einen verminderten Gehalt.

Äussere Einflussfaktoren

Der Orotsäuregehalt der Kuhmilch ist abhängig vom Laktationsstadium. Im Verlauf der Laktation steigt der Gehalt an und

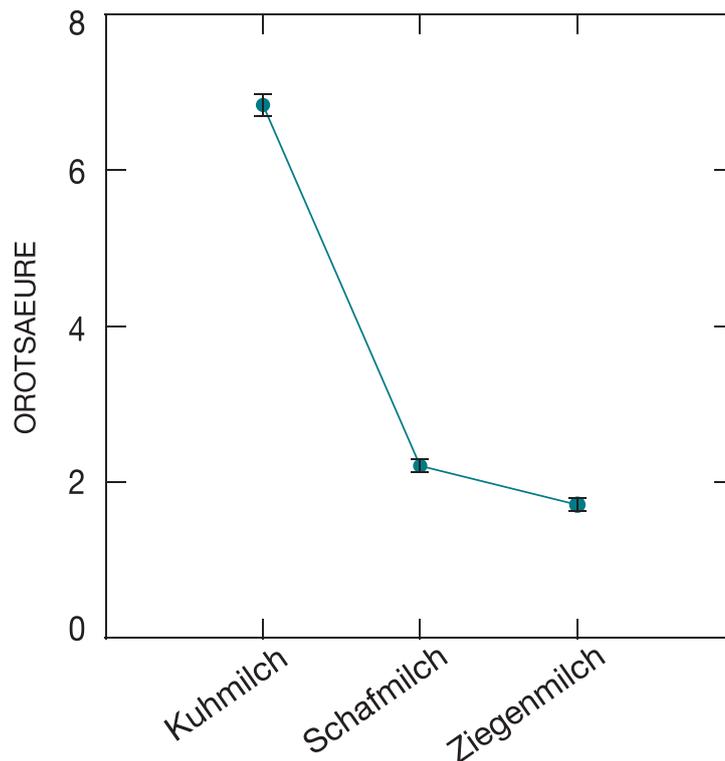


Abb. 1. Unterschied des Orotsäuregehaltes zwischen Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch. Mittelwerte (Least square means) in mg/100 g Milch (je Durchschnitt März, Juni, September 2007).

bleibt ab dem 2. oder 3. Laktationsmonat weitgehend konstant (Jesse *et al.* 1980).

In der Literatur wird ein höherer Gehalt in Sommermilch (August 6,9 mg/100 g) als in Herbst-, respektive Wintermilch (Oktober 5,0 mg/100 g, November 5,1 mg/100 g) beschrieben (Ritter 1977). Die bei den Analysen von ALP gemessenen Unterschiede weisen ebenfalls auf jahreszeitliche Schwankungen hin (Tab. 2), jedoch mit einem höheren Gehalt im Herbst (September) und einem tieferen im Frühling (März) und Sommer (Juni). Im Winter selbst wurden keine Proben erhoben und analysiert, da Schafe und Ziegen im Winter typischerweise keine Milch geben und entsprechend kaum Frischmilch erhältlich ist (in den Verkaufsläden wird oft gefrierelagerte Milch angeboten). Die Werte von März und Juni liegen bei Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch mit 6,63, 1,53, 1,08 mg/100 g und 6,33, 1,87, 1,57 mg/100 g in derselben Grössenordnung. Im September wurden

bei allen drei Milcharten höhere Konzentrationen gemessen (7,55, 3,22 und 2,48 g/100 g), wobei die Zunahme bei Schaf- und Ziegenmilch ausgeprägter war als bei Kuhmilch. Das könnte damit zusammenhängen, dass die Laktationen der einzelnen Tiere bei Schafen und Ziegen stärker synchronisiert sind (gemeinsame Trockenzeit) als bei der Kuh.

Literatur

- Bouzas J., Kantt C.A., Bodyfelt F. & Torres J.A., 1991. Simultaneous determination of sugars and organic acids in Cheddar cheese by high-performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* **56**, 276-278.
- Brieskorn C.H. & Wallrauch S., 1968. Orotsäuregehalt als Mass des Milchanteils in Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Unter. Forsch.* **138**, 254-158.
- Dellano D.G., Rodriguez A. & Cuesta P., 1996. Effect of lactic starter cultures on the organic acid composition of milk and cheese during ripening - analysis by HPLC. *J. Appl. Bacteriol.* **80**, 570-576.

- Gil A. & Sanchez-Medina F., 1981. Acid-soluble nucleotides of cow's, goat's and sheep's milks, at different stages of lactation. *J. Dairy Res.* **48**, 35-44.
- Hallanger L.E., Laakso J.W. & Schultze M.O., 1953. Orotic acid in milk. *J. Biol. Chem.* **202**, 83-89.
- Jesse B.W., Anderson C.R. & Robinson J.L., 1980. Bovine milk orotate: differences between cows and changes during lactation. *J. Dairy Sci.* **63**, 235-242.
- Larson B.L. & Hegarty H.M., 1979. Orotic acid in milks of various species and commercial dairy products. *J. Dairy Sci.* **62**, 1641-1644.
- Lieberman I., Kornberg A. & Simms E.S., 1955. Enzymatic synthesis of pyrimidine nucleotides: orotidine-5'-phosphate and uridine-5'-phosphate. *J. Biol. Chem.* **215** (1), 403-415.
- Morifuji M. & Aoyama Y., 2002. Dietary orotic acid affects antioxidant enzyme mRNA levels and oxidative damage to lipids and proteins in rat liver. *J. Nutr. Biochem.* **13** (7), 403-410.
- Münchberg F., Tsompanidou G. & Leskova B., 1971. Untersuchungen über das Vorkommen der Orotsäure in der Milch. *Milchwissenschaft* **26**, 210-213.
- Richards S.M., Conyers R.A.J., Fisher J.L. & Rosenfeldt F.L., 1997. Cardioprotection by orotic acid: metabolism and mechanism of action. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **29** (12), 3239-3250.
- Ritter W., 1977. Die quantitative Bestimmung der Orotsäure als Möglichkeit zur Ermittlung des Milchanteils in Lebensmitteln. *Mitt. Gebiete Lebensmitt.* **68**, 240-250.
- Robinson J.L. & Dombrowski D.B., 1983. Effects of orotic acid ingestion on urinary and blood parameters in humans. *Nutr. Res.* **3**, 407-415.
- Robinson J.L., Dombrowski D.B., Tauss L.R. & Jones L.R., 1985. Assessment in humans of hypolipidemia induced by orotic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* **41**, 605-608.
- Schwoerbel W., 1966. Grüne Medizin gegen das Altern. *Dtsch. Apoth.* **18** (9), 458-462.
- Sharma R.K., Pascale R.M., Narasimhan S. & Rajalakshmi S., 1993. Effect of orotic acid on beta-1,4-galactosyltransferase during liver-regeneration. *Carcinogenesis* **14** (6), 1095-1099.
- Souci S.W., Fachmann W. & Kraut H., 2000. Food composition and nutrition tables. Medpharm Scientific Publishers, CRC Press, Stuttgart; Boca Raton, New York, Washington D.C. 1182 S.
- Zeana C., 1999. Magnesium orotate in myocardial and neuronal protection. *Rom. J. Intern. Med.* **37** (1), 91-97.

RÉSUMÉ

Teneur en acide orotique dans le lait de vaches, de brebis et de chèvres

Le lait de brebis est loué pour sa haute teneur en acide orotique. Celui-ci est prisé comme remède médicament universel. Bien que l'on ne trouve aucune donnée sûre à ce sujet dans la littérature scientifique, le mythe du lait de brebis particulièrement riche en acide orotique persiste. C'est pourquoi, la station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP) a analysé et comparé les teneurs en acide orotique du lait de brebis, de chèvres et de vaches. La détermination de l'acide orotique est effectuée après séparation des acides organiques au moyen d'une HPLC puis d'une détection UV. C'est le lait de vaches qui contient le plus d'acide orotique suivi du lait de brebis qui en contient à peine plus que le lait de chèvres. Des fluctuations saisonnières ont été constatées: en automne (septembre), la teneur en acide orotique est plus élevée qu'au printemps (mars) et qu'en été (juin). Aucun échantillon n'a été analysé en hiver. Les valeurs de mars et de juin se situent pour le lait de vaches, de brebis et de chèvres à respectivement 6,63, 1,53, 1,08 mg/100 g en mars et à 6,33, 1,77, 1,27 mg/100 g en juin dans le même ordre de grandeur. Des concentrations plus élevées ont été relevées dans les trois types de lait en septembre (7,55, 3,22 et 2,48 mg/100 g).

SUMMARY

Orotic acid content in cow's, ewe's and goat's milk

The ewe's milk is much lauded for its high orotic acid content. This is sought after as a miracle cure and a universal drug. Although reliable data on this subject can not be found in the scientific literature, the myth of ewe's milk particularly rich in orotic acid still persists. For this reason, the Agroscope Liebefeld-Posieux research station ALP has analyzed and compared the orotic acid contents of cow's, goat's and ewe's milk. The determination of orotic acid is carried out by UV detection after separation of the organic acids by means of HPLC. Cow's milk contains the highest levels of orotic acid followed by ewe's milk which contains slightly more than goat's milk. Seasonal fluctuations were noted: in autumn (September), the orotic acid content is higher than in spring (March) or summer (June). No winter samples were analyzed. The values for cow's, ewe's and goat's milk were 6,63, 1,53, 1,08 mg/100 g respectively in March and in the same order of magnitude at 6,33, 1,77, 1,27 mg/100 g in June. Higher concentrations were found in the three types of milk in September (7,55, 3,22 and 2,48 mg/100 g).

Key words: orotic acid, cow's milk, ewe's milk, goat milk, human health