

# Bioaktive Peptide in Käse nachgewiesen

Von Hans-Peter Bachmann, Ueli Bütikofer und Robert Sieber.\* In Käse kommen als bioaktive Peptide ACE-hemmende Peptide, Casomorphine und Phosphopeptide vor. Damit liefert Käse nicht nur Protein und Fett, sondern weist auch noch zusätzliche interessante Eigenschaften auf.

Während der Käsereifung entstehen eine Vielzahl verschiedenster Peptide. ACE-hemmende Peptide mit blutdrucksenkender Wirkung wurden bereits mehrfach in mit *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SS1, *L. lactis* ssp. *cremoris* FT4 oder mit *L. helveticus* und *Saccharomyces cerevisiae* fermentierter Milch nachgewiesen. Da *L. lactis* ssp. *cremoris* wie auch *L. helveticus* bei der Fabrikation von Käse zum Einsatz gelangen, kann also in Käse mit dem Vorkommen dieser Peptide gerechnet werden, was inzwischen mehrfach bestätigt wurde.

## Aktivität der ACE-Hemmer

In Milchprodukten mit einer schwachen Proteolyse (Quark, Frischkäse) war die ACE-hemmende Aktivität gering. In den meisten gereiften Käsen wurde eine ACE-hemmende Aktivität festgestellt (Tabelle). Diese stieg mit zunehmender Proteolyse bis zu einem Optimum an (Verhältnis der freien zu peptidgebundenen Aminosäuren ungefähr 0,5) und sank anschliessend wieder ab.

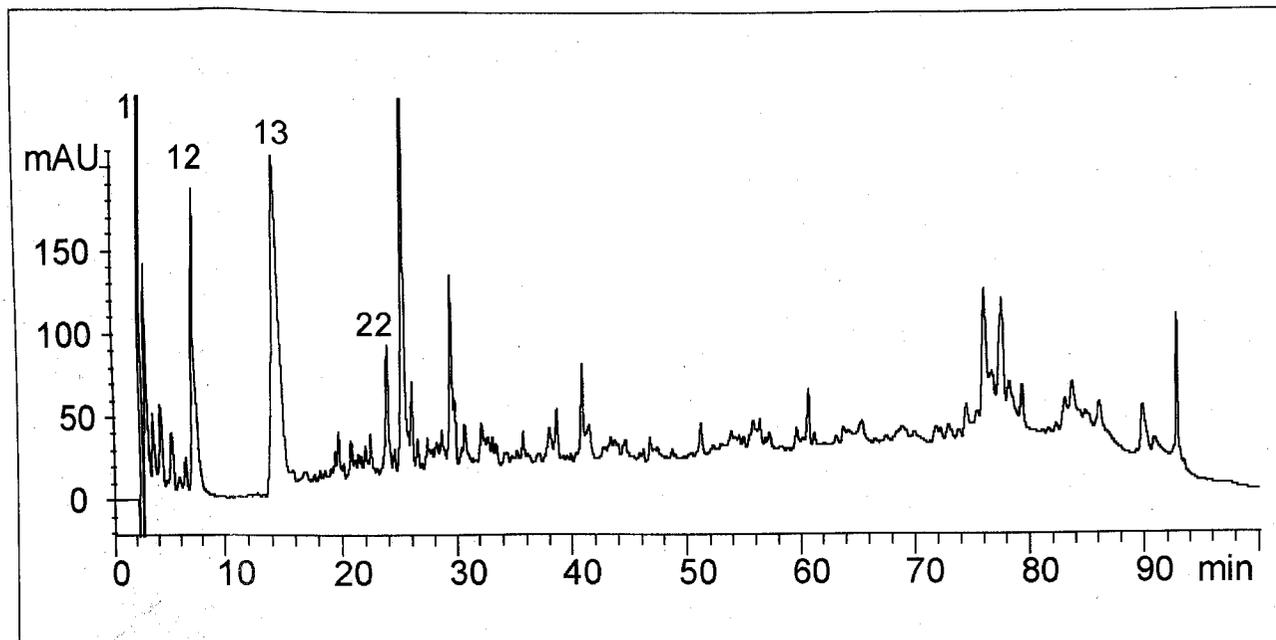
Aus der Analyse des wässrigen Extraktes von Gouda mittleren Alters wurde gefolgt, dass viele verschiedene, kleine Peptide (2-4 Aminosäuren) für die ACE-hemmende Aktivität verantwortlich zeichnen. In einer anderen Studie wurde das Peptid mit der stärksten ACE-Hemmung als Sequenz aus dem  $\beta$ -Kasein mit 15 Aminosäuren identifiziert. Diese Peptide können auch die Endo- und Exopeptidasen von Milchsäurebakterien hemmen und somit die Käsereifung beeinflussen.

Eine neue Käsesorte mit dem Namen Festivo zeichnete sich durch verschiedene ernährungsphysiologische Vorteile aus: probiotische Mikroorganismen, reduzierter Fettgehalt und ACE-hemmende Peptide. Die ACE-Hemmung stieg im Verlaufe der Reifung an, erreichte nach 13 Wochen ihren Höhepunkt und nahm anschliessend wieder ab. Die drei Peptide mit der stärksten Hemmung wurden als Stickstoff-endständige Peptide des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins identifiziert.

In 8 Monate altem Manchego sind verschiedene Peptide für die ACE-hemmende Wirkung verantwortlich. Zudem wurde in Käse aus roher Milch eine stärkere ACE-Hemmung als in Käse aus pasteurisierter Milch ermittelt.

## Casomorphine

Die biologisch aktive Sequenz der die Verdauung fördernden Casomorphine besteht aus sieben Aminosäuren des  $\beta$ -Kaseins. Dieses Peptid wird  $\beta$ -Casomorphin-7 genannt und es kann schrittweise zu weiteren Casomorphinen abgebaut werden. Biologische Aktivität wurde bis zum Tripeptid (Tyrosyl-Prolyl-Phenylalanin), als  $\beta$ -Casomorphin-3 bezeichnet, nachgewiesen. Das Dipeptid Tyrosyl-Prolin weist dagegen keine Bioaktivität mehr auf. Die Casomorphine fallen durch ihren hohen Anteil an Prolin auf. Letzteres verhindert den Abbau im Verdauungssystem durch Pepsin, Trypsin und Chymotrypsin. Leider verfügen Milchsäurebakterien über verschiedene Prolin-spezifische Peptidasen und können deshalb Casomorphine abbauen. Es



So werden bioaktive Peptide in Käse mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigchromatografie aufgetrennt. (Grafik: FAM)

gibt jedoch grosse Unterschiede zwischen den verschiedenen Käsesorten, so scheint eine solche Peptidase in Cheddar nur eine marginale Rolle zu spielen. Ein Mutant von *L. helveticus*, der keine X-Prolyl-Dipeptidylaminopeptidase bildet, führte zu einem höheren Gehalt an  $\beta$ -Casomorphin-4.

Einige gereifte Käse enthalten Casomorphine (Tabelle). Dagegen konnte im Peptidextrakt von Brie sowie von Kashkaval und Camping Käse, aber nicht in Tilsiter eine Opioid-Aktivität nachgewiesen werden, und aus Brie wurde 0,5 bis 1,5 mg/100 g  $\beta$ -Casomorphin-7 isoliert. Einzig in Cheddar wurde  $\beta$ -Casomorphin-3 gefunden, nicht aber in Edamer, Swiss, Feta, Camembert und Blauschimmelkäse. In Edamer (mit oder ohne Zusatz von Bifidobakterien) wurde Casomorphin in einer Konzentration von etwa 35 mg/100 g nachgewiesen, in kommerziell erhältlichem 64 mg/100 g Casomorphin. In einem Enzym-modifizierten Käse wurde Casomorphin gefunden, falls bei der Fabrikation einzig Neutrase® eingesetzt wurde. Wurden zusätzlich noch Enzyme von *L. casei* zugesetzt, konnte kein Casomorphin mehr nachgewiesen werden. Die Autoren erklären dies mit einem Abbau durch die Peptidasen von *L. casei*. In verschiedenen Käsen finden sich jedoch keine Casomorphine (Tabelle). Es wurde aufgezeigt, dass Casomorphine unter den Bedingungen (pH, NaCl), wie sie in Käse vorkommen, durch Peptidasen der Starterkultur (*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) abgebaut werden. Unter diesen Käsen existieren einige, die wie der Parmigiano

Reggiano (nach 2, 6 und 15 Monaten) und der Cheddar Vorstufen von Casomorphinen enthielten. In 14 Monate altem Grana Padano fanden sich sieben bioaktive Vorläufer-Peptide des  $\beta$ -Kaseins, welche die Sequenz mit der Casomorphin-Wirkung enthielten. Jedoch waren diese in einem 38 Monate alten Käse nicht mehr vorhanden, diese Peptide konnten also der Wirkung der Käse-Enzyme nicht widerstehen. Nur noch das Peptid 60-72 war vorhanden. Es ist dabei anzunehmen, dass es sich um das Endpeptid dieser  $\beta$ -Kasein-Vorläufer handelt.

## Phosphopeptide

In den bis anhin untersuchten Käsen wurden Phosphopeptide, die bei der Resorption von Mineralstoffen, z.B. Kalzium, helfen, je nach Alter in unterschiedlicher Masse nachgewiesen (Tabelle). In relativ jungem französischem Emmentaler wurden 17 verschiedene und in 14 Monate altem Grana 45 verschiedene Phosphopeptide identifiziert. In Letzterem stammten 24 vom  $\beta$ -Kasein, 16 vom  $\alpha_{s1}$ -Kasein und 5 vom  $\alpha_{s2}$ -Kasein. Diese Peptide werden durch Plasmin gebildet und durch Peptidasen der Starterkulturen weiter verkürzt. Dabei werden Phosphopeptide durch thermophile Milchsäurebakterien nur sehr langsam hydrolysiert. Auch können sie in Käse durch die saure Phosphatase, die in der Milch vorkommt und von verschiedenen Milchsäurebakterien gebildet wird, dephosphoryliert werden. So wurden in jungem Emmentaler verschiedene Peptide dephosphoryliert. Dass Käse Zahnkaries vorbeugt, wurde

bereits mehrfach aufgezeigt. Diese Wirkung kann auf das Vorkommen von Phosphopeptiden, die den Zahnschmelz remineralisieren, zurückgeführt werden.

## Gut für die Immunabwehr

Die Wirkung der bioaktiven Peptide auf das Immunsystem und dessen Stimulierung durch diese Peptide ist äusserst komplex. Auch immunstimulierende Peptide konnten in den untersuchten Käsesorten nachgewiesen werden (Tabelle). Ebenso können Phosphopeptide immunstimulierend wirken. Unter den antimikrobiell wirkenden Peptiden in Käse ist das Isracidin zu erwähnen, das *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* zu hemmen vermag. Peptide aus einem lyophilisierten Extrakt von Gouda hemmten die Vermehrung von Leukämie-Zellen. Bioaktive Peptide kommen natürlicherweise im Käse vor. Damit bieten sich Erfolg versprechende Möglichkeiten, um am Markt eine höhere Wertschöpfung zu erzielen. Auch in traditionellen Schweizer Käsesorten kann mit dem natürlichen Vorkommen von bioaktiven Peptiden gerechnet werden. Ein interessanter Aspekt ist der Einsatz von *L. helveticus* in der Käseherstellung, dem im Vergleich mit anderen Milchsäurebakterien ein grösseres Potenzial für die Bildung von bioaktiven Peptiden zugeschrieben wird. Der Einsatz von *L. helveticus* wäre wegen beschleunigter Proteolyse auch aus wirtschaftlicher Sicht interessant.

Tabelle: Vorkommen von bioaktiven Peptiden in verschiedenen Käsen.

Peptide	nachgewiesen	nicht nachgewiesen
ACE-hemmende Peptide (blutdrucksenkend)	Cheddar, Emmentaler, Manchego, Jarlsberg, Gouda, Edamer, Havarti, Italico, Mozzarella, Crescenza, Gorgonzola, Norvegia, Camembert, Blauschimmel, Feta, Festivo	Swiss, Camembert, Blauschimmel
Casomorphine (gut für Verdauung und Hormonsystem)	Cheddar, Edamer, Kashkaval, Brie, Camping	Cheddar, Limburger, Emmentaler, Swiss, Tilsiter, Blauschimmel, Camembert, Edamer, Feta, Brie
Phosphopeptide (Kalziumaufnahme)	Parmigiano-Reggiano, Comté, Cheddar, Grana, Emmentaler	
Immunstimulierende Peptide	Cheddar, Swiss, Emmentaler, Edamer, Camembert, Blauschimmel, Feta	

\*Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM), 3003 Bern-Liebelfeld.