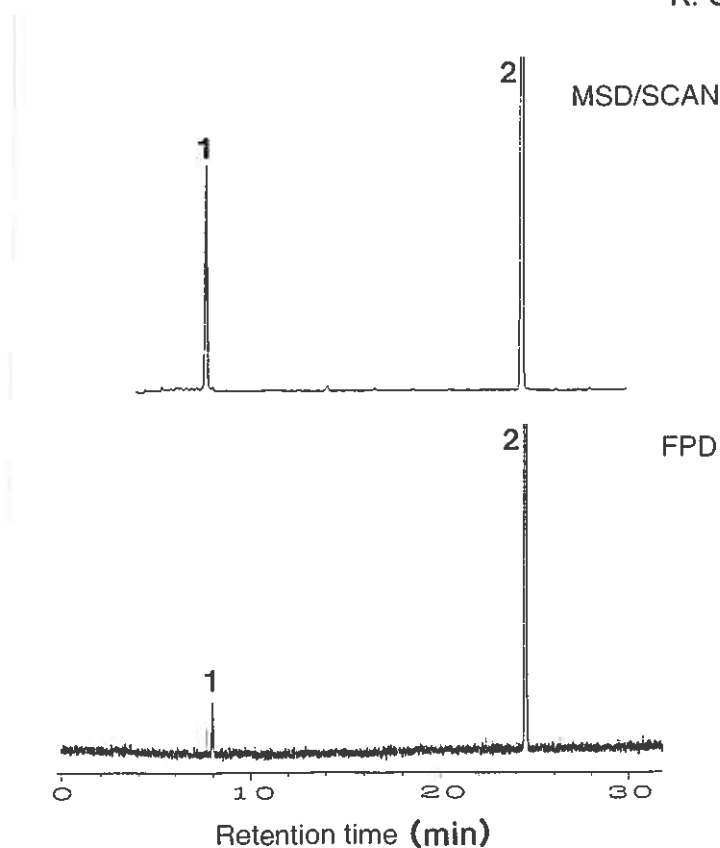


Juli 1997 / 340 P/W

Eidg. Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft, Liebefeld
CH-3003 Bern

Vorkommen und Verhalten von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in erhitzter Milch und Vergleich verschiedener GC-Detektoren

J.O. Bosset, P. Eberhard, P.U. Gallmann,
R. Gauch und R. Sieber



Einleitung

Zahlreiche schwefelhaltige Verbindungen sind in Lebensmitteln zu finden, und manche dieser Verbindungen tragen zur ernährungsphysiologischen, mikrobiologischen und organoleptischen Qualität von Lebensmitteln bei (1). Schwefelhaltige Verbindungen können in Lebensmitteln durch eine Vielzahl von Mechanismen gebildet werden: durch Enzyme katalysierte Biosynthese in Lebensmitteln vor der Ernte, vor dem Schlachten oder der Verarbeitung, durch die Wirkung von Enzymen, wenn die Integrität einer Zelle zerstört ist (beispielsweise in Kohlgewächsen (2)), durch die Wirkung von Mikroorganismen oder durch die Bildung in einem Lebensmittel, das erhitzt, dem Licht ausgesetzt oder bestrahlt wurde (3). So sind beispielsweise die Aminosäuren Cystin, Cystein, Methionin und das Vitamin Thiamin aus ernährungsphysiologischer Sicht bedeutsam, während das Thiocyanat in Verbindung mit der Lactoperoxidase und dem Wasserstoffperoxid antimikrobielle Eigenschaften ausübt.

Milch ist ein Lebensmittel, das bereits in rohem Zustand, aber noch vielmehr nach Erhitzung verschiedene flüchtige schwefelhaltige Verbindungen enthält. Un-

* Vortrag gehalten anlässlich des IDF-Symposiums über «Heat treatment and alternative methods», Wien, 6.–8. September 1995

ter den in roher und erhitzter Milch gefundenen flüchtigen schwefelhaltigen Verbindungen sind zu erwähnen: Schwefelwasserstoff, Kohlenmonoxidsulfid, Methylthiol (Methylmercaptan), Dimethylsulfid, Schwefelkohlenstoff, Dimethyldisulfid, Dimethylsulfoxid, Dimethylsulfon (4–21). Einige unter diesen beeinflussen das Aroma von erhitzter Milch in unerwünschter Weise und somit auch die Beliebtheit von ultrahoherhitzter Milch durch die Konsumenten. Obwohl über die Rolle der wichtigsten schwefelhaltigen Verbindungen, die zum Aroma der UHT-Milch beitragen, noch diskutiert wird (22), zählen Schwefelwasserstoff, Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid zu den am meisten in der Literatur zitierten Verbindungen. Zu diesen gehört auch noch das Methanthiol, bei der es sich um eine lichtinduzierte Verbindung handelt (23). Auch kann Dimethyldisulfid in lichtexponierter Milch auftreten (24).

Die Gaschromatographie (GC) ist wahrscheinlich diejenige Technik, die für die Bestimmung der flüchtigen schwefelhaltigen Verbindungen in Lebensmitteln am meisten angewendet wird. Verschiedene Detektoren werden in der GC verwendet, damit die flüchtigen, eluierten Verbindungen identifiziert und quantitativ bestimmt werden können: der Flammenphotometer- (FPD), der Schwefel-Chemilumineszenz- (SCD), der Flammenionisations- (FID) und der massenselektive Detektor (MSD), der im Scan- (MSD/SCAN) oder im «selected ion monitoring»-Modus (MSD/SIM) angewendet wird. Die Prinzipien des Einsatzes und Eignung der verschiedenen Detektorsysteme wurden eingehend von *Steely* (19) beschrieben.

Um Daten zwischen verschiedenen Studien vergleichen zu können, ist die Kenntnis der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wichtig. Doch sind solche Daten in der Literatur meist nicht vorhanden, was die oft widersprüchlichen Resultate der verschiedenen Studien erklären lässt. Die Nachweisgrenze wird als die geringste Konzentration einer Verbindung bezeichnet, die von einem bestimmten Detektortyp noch nachgewiesen werden kann. Die Bestimmungsgrenze stellt die geringste Konzentration einer detektierten Verbindung dar, wobei das gesamte analytische Verfahren in Betracht gezogen wird, inklusive Vorbereitung der Probe, Extraktion und Isolierung der Verbindung wie auch die Empfindlichkeit des Detektors.

Die Ziele dieser Studie waren, den Einfluss der Hitzebehandlung der Milch auf die Bildung der schwefelhaltigen Verbindungen Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid, deren Stabilität während der Lagerung von Milch bei 6 °C und deren Beitrag zum Aroma von hitzebehandelter Milch zu ermitteln sowie den für die gaschromatographische Auftrennung geeignetesten Detektor zu bestimmen.

Material und Methoden

Chemikalien

Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid wurden von Merck (Artikel Nr. 820833) und Fluka (Artikel Nr. 40221) bezogen.

Herkunft und Hitzebehandlung der Milchproben

Die in dieser Studie verwendete erhitzte Milch stammt aus zwei Quellen. Im ersten Falle wurde die Milch in der FAM-eigenen Pilotplantanlage unter folgenden Bedingungen erhitzt:

- «Extra-Hoch-Pasteurisierung» (EHP): Vorwärmung der Milch bei 93 °C, dann mit einem direkten Verfahren auf 125 °C, 2,4 s Heisshaltezeit, ohne Wärmerückgewinnung (sofortige Kühlung).
- EHP indirekt: 125 °C, 7 s Heisshaltezeit, ohne Wärmerückgewinnung (sofortige Kühlung).
- EHP indirekt: 125 °C, ohne Heisshaltung, ohne Wärmerückgewinnung (sofortige Kühlung).
- EHP indirekt: 125 °C, ohne Heisshaltung, mit Wärmerückgewinnung (langsame Kühlung).
- Sterilisierung unter extremen Bedingungen: Milch wurde auf 150 °C während 0,5 h oder 1 h in einem Hochdruckgefäß (Stahl/Teflon) erhitzt.

Im zweiten Falle handelte es sich um verschiedene, aus dem Handel bezogene UHT-behandelte (3 direkt, 9 indirekt) Milchproben, die von 12 verschiedenen schweizerischen Molkereien stammten.

Lagerung der hitzebehandelten Milch

Erhitzte Milch wurde bei 6 °C während 4 Tagen gelagert. Von jeder Milchprobe wurden ungefähr 500 ml in einer offenen 1-l-Glasflasche aufbewahrt. Dabei war die Oberfläche der Milch in direktem Kontakt mit der Luft.

Bestimmung der schwefelhaltigen Verbindungen

Die quantitative Bestimmung von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in rohen und hitzebehandelten Milchproben wurde mit Hilfe einer dynamischen GC-MS-Dampfmanalyse durchgeführt. Die Extraktion, Konzentrierung und Isolierung der schwefelhaltigen Verbindungen wurden mit einem «Purge & Trap»[®]-Gerät (LSC 2000[®] der Firma Tekmar Company, Cincinnati, Ohio, USA) durchgeführt, das mit einem Gaschromatographen gekoppelt war (5890 Serie II der Firma Hewlett-Packard Company). Die quantitative Bestimmung erfolgte mit Hilfe verschiedener Detektionssysteme. In den meisten Experimenten wurde die Detektion der schwefelhaltigen Verbindungen mit Hilfe eines massenselektiven Detektors (MSD) im Scan-Modus durchgeführt (MSD, Modell HP 5970 mit «open-split interface»). In weiteren Experimenten wurde der Einsatz verschiedener Detektoren für die Quantifizierung von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid überprüft: ein schwefelflammenphotometrischer Detektor (FPD), ein Flammenionisationsdetektor (FID) und ein MSD (Modell HP 5972 mit «direct interface»), der im SIM- oder SCAN-Modus arbeitet. Vergleiche zwischen den MSD/SCAN- und FPD-Detektoren und zwischen den MSD/SIM- und FID-Detektoren wurden gleichzeitig

ausgeführt, indem der Fluss des Eluenten am Ausgang der Kapillarkolonne aufgeteilt und in zwei parallel geschaltete Detektoren geleitet wurde. Sämtliche Detektoren wurden von der Firma Hewlett-Packard als integrale Bestandteile des Gaschromatographen angeboten. Um aussagekräftige Vergleiche der Nachweisgrenzen zwischen den verschiedenen Detektoren herstellen zu können, wurde in sämtlichen Experimenten das Verhältnis Signal/Rauschpegel auf 2 zu 1 festgelegt.

Sensorische Analyse

Die sensorische Analyse der UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben wurde in unserem Institut mit einem akkreditierten Degustationspanel von 15 ausgebildeten Personen durchgeführt. Eine 10-Punkt-Skala wurde verwendet, in welcher der Geruch mit einem maximalen Gewicht von 2 Punkten und der Geschmack mit 8 Punkten gewichtet wurden. Ein separates Blatt wurde für beschreibende Kommentare verwendet.

Resultate und Diskussion

Konsummilch kann mit verschiedenen Verfahren wie Pasteurisierung, «Extra-Hochpasteurisierung» (EHP: Erhitzungstemperatur 125 °C), Ultrahocherhitzung oder Sterilisierung erhitzt werden. Jedes dieser Erhitzungsverfahren verursacht in der Milch charakteristische Veränderungen, so dass es durchaus möglich sein sollte, anhand von 2 oder mehreren Merkmalen solche Milchsorten zu charakterisieren. Neben bakteriologischen Parametern wurden bis heute herangezogen: Phosphatase, Peroxidase, β -Lactoglobulin, Lactulose, Furosin (25, 26). Als Indikatoren für eine thermische Behandlung wurden auch das Hydroxymethylfurfural (27) und das N⁶-Methyladenosin (28) vorgeschlagen. Bei der Erhitzung von Milch können auch verschiedene schwefelhaltige Verbindungen entstehen. Aus diesen wurde für die vorliegende Studie das Dimethylsulfid und das Dimethyldisulfid ausgewählt, die in erhitzter Milch bereits in verschiedenen Studien (5, 7, 9–13, 18, 29) nachgewiesen wurden.

Hitzeinduzierte Bildung von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in Milch

In Rohmilch oder in Milch, die relativ milden Erhitzungsverfahren wie Pasteurisierung, EHP-direkt oder UHT-direkt unterworfen wurden, war Dimethylsulfid in Mengen vorhanden, die unter der Bestimmungsgrenze für die verwendete analytische Ausrüstung lag (Tabelle 1), was für rohe Milch nicht mit den Befunden von Dumont und Adda (10), Jaddou et al. (11), Patton et al. (16), Scanlan et al. (18) übereinstimmt. In allen anderen Milchproben traten relativ hohe Konzentrationen davon auf. Dies gilt vor allem dann, wenn die Stärke des Erhitzungsverfahrens anstieg und die nachfolgende Kühlungsrate vermindert wurde, was dann eintrat,

wenn anstelle der Entspannung im Vakuumgefäß durch Wärmeaustausch im Regenerativabteil gekühlt wurde. Die Konzentration von Dimethylsulfid war speziell in jenen Milchproben hoch, die unter extremen Bedingungen bei 150 °C sterilisiert wurden. Ein verlängertes Erhitzen bei dieser Temperatur scheint zwar zu einer Abnahme der Konzentration zu führen, wie sich dies in einem niedrigeren Gehalt der während 1 Stunde erhitzten Milchprobe zeigt, verglichen mit denjenigen, die während einer halben Stunde erhitzt wurden. Die Dimethyldisulfidkonzentrationen waren in sämtlichen Milchproben mit Ausnahme der am stärksten belasteten Milchproben (sterilisiert während einer Stunde bei 150 °C) nahe an oder unter der Bestimmungsgrenze.

Tabelle 1. Dimethylsulfid- und Dimethyldisulfid-Gehalt von roher und hitzebehandelter Milch (UHT, ultrahoherhitzt; EHP, Extra-Hochpasteurisierung; VFC, Kühlung im Vakuumgefäß; WRG Wärmerückgewinnung)*

Milch	Anzahl Proben	Dimethylsulfid (µg/kg)		Dimethyldisulfid (µg/kg)	
		\bar{x}	V.K.	\bar{x}	V.K.
roh	3	< 16		< 2	
pasteurisiert, aus dem Handel	6	< 16		< 2	
UHT direkt, aus dem Handel	7	< 16		3	34
UHT indirekt, aus dem Handel	4	120	9	6	9
EHP direkt 125 °C, 2,4 s, VFC	3	< 16		< 2	
EHP indirekt 125 °C, 7 s, VFC	3	36	19	2	23
EHP indirekt 125 °C, 0 s, VFC	3	29	27	2	32
EHP indirekt, WRG	3	34	27	2	29
sterilisiert in Flaschen (0,5 h 150 °C)	3	178	28	5	36
sterilisiert in Flaschen (1 h, 150 °C)	2	98	17	18	18

*Adaptiert nach (30)

Die Konzentrationen an Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in den verschiedenen, aus dem Handel erhältlichen UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben ist in Tabelle 2 zusammengestellt. Sämtliche UHT-direkt erhitzten Milchproben wiesen eine deutlich tiefere Konzentration an Dimethylsulfid (< 16 µg/kg) auf als die Proben der UHT-indirekt erhitzten Milch (71–137 µg/kg). Dies zeigt, dass die Konzentration dieser Verbindung mit der Stärke der Hitzebehandlung korreliert, wie oben bereits gezeigt wurde. Dagegen war die Konzentration an Dimethyldisulfid in den UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben sehr gering. Nur sehr extreme Hitzebehandlungen waren also in der Lage, diese Verbindung in hohen Mengen zu bilden.

Stabilität von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in hitzebehandelter Milch

Erhitzte Milch wurde bei 6 °C während 4 Tagen gelagert, wobei die Oberfläche der Milch in direkten Kontakt mit der Luft kam. Es traten keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid auf. Diese Verbindungen sind also beim in der Luft vorhandenen Sauerstoffgehalt (ca. 20%) gegenüber einer Oxidation unempfindlich. Diese Beobachtung stimmt mit anderen Studien überein. So haben *Dumont* und *Adda* (10) für UHT-indirekt erhitzte Milch nur über geringe Änderungen im Dimethylsulfidgehalt nach einer Lagerungszeit von 13 Wochen berichtet. *Mehta* und *Bassette* (13) stellten in UHT-Milch zwischen dem zweiten und zwölften Lagerungstag eine geringe Abnahme in der Dimethylsulfidkonzentration von 36 auf 29 µg/kg fest.

Aromawahrnehmung

Die Hitzebehandlung von Milch und Milchprodukten verändert in signifikanter Weise deren Geruch und Geschmack. Solche hitzebedingten Veränderungen von Milch werden in der sensorischen Analyse als Koch-, Schwefel-, Karamel- und brandiger Geschmack beschrieben (31, 32). Die Entwicklung von Kochgeschmack ist auf die Bildung von schwefelhaltigen Verbindungen, im speziellen von Schwefelwasserstoff, zurückzuführen. Der Beitrag des Dimethylsulfids und Dimethyldisulfids auf den Kochgeschmack von UHT-Milch, wenn überhaupt ein solcher vorhanden, ist nicht bekannt.

Das Degustationspanel entdeckte in allen aus dem Handel bezogenen UHT-Milchproben einen «Kochgeruch» und «-geschmack». Doch waren die meisten Panelteilnehmer nicht in der Lage, zwischen den UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben zu unterscheiden (Tabelle 2). Obwohl einige Teilnehmer des Degustationspanels den Geruch der UHT-direkt erhitzten Milch als «schwefelähnlich» und denjenigen der UHT-indirekt erhitzten Milch als «karamelähnlich» beschrieben, konnte kein klarer Trend oder ein Unterschied zwischen den beiden Milchsorten gefunden werden. Nach *Reddy* et al. (33) weist das Dimethylsulfid in pasteurisierter Milch einen Aromaschwellenwert von 19 µg/kg auf. Aufgrund dieser Tatsache und der unterschiedlichen Dimethylsulfidkonzentrationen, die in UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben gefunden wurden, sollten diese beiden Milchsorten von den Panelteilnehmern unterschieden werden können (Tabelle 2). Aus dem in dieser Studie gefundenen Befund, dass die Panelteilnehmer diese beiden Milchsorten sensorisch nicht zu unterscheiden vermochten, kann geschlossen werden, dass das Dimethylsulfid nicht zum Aroma der UHT-Milch beiträgt. Die ausgewählten Panelteilnehmer waren gegenüber dessen Vorkommen unempfindlich, oder andere thermisch erzeugte Aromaverbindungen überdeckten dessen Aroma, indem diese Verbindungen den Aromaschwellenwert erhöhten. Zudem kann der regelmässige Verzehr von UHT-Milch die Empfindlichkeit gegenüber schwefelhaltigen Verbindungen reduzieren, was auch für ein ausgebildetes Degustationspanel zutreffen dürfte. In einer Studie mit 2000 schweizerischen Konsumenten konnte kein statistisch signifikanter sensorischer Unterschied zwi-

schen pasteurisierter, EHP- und UHT-direkt erhitzter Milch nachgewiesen werden (34).

Für Dimethyldisulfid wird ein Aromaschwellenwert von 21 µg/kg Milch angegeben (11). Aufgrund dieser Tatsache und der geringen gefundenen Konzentration dieser Verbindung in UHT-Milch (2–5 µg/l) (Tabelle 1 und 2) ist es zweifelhaft, ob diese Verbindung einen signifikanten Beitrag an das Aroma von UHT-Milch leistet.

Tabelle 2. Konzentration an Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in UHT-Milch aus dem Handel und sensorische Qualität dieser Milch^{**} ^{***}

UHT-Verfahren	Mittlere Konzentration Dimethylsulfid Dimethyldisulfid (µg/kg Milch)		Sensorische Note ^{***} Mittelwert Median (Skala, 10 Einheiten)	
	indirekt	97	4	5,6
indirekt	77	4	7,4	8,0
indirekt	88	3	6,6	6,4
indirekt	83	3	7,3	8,0
indirekt	82	2	5,7	6,4
indirekt	137	2	6,0	6,4
indirekt	83	5	6,3	6,4
indirekt	103	2	4,8	4,4
indirekt	71	4	6,4	6,4
<i>Mittelwert</i>	91	3	6,2	6,5
<i>Median</i>	83	3	6,3	6,4
<i>Minimum</i>	71	2	4,8	4,4
<i>Maximum</i>	137	5	7,3	8,0
direkt	< 16	3	5,7	6,0
direkt	< 16	3	6,6	7,6
direkt	< 16	2	5,9	6,0
<i>Mittelwert</i>	< 16	3	6,1	6,5
<i>Median</i>	< 16	3	5,9	6,0

* Adaptiert nach (30)

** Die exakten Erhitzungsbedingungen wurden durch die Hersteller nicht angegeben.

*** 15 Degustatoren

Wahl des Detektorsystems

Die Interpretation von analytischen Resultaten und der Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Resultaten wird durch die Verschiedenheit der Detektoren, durch die verwendeten Methoden der Probenaufbereitung und also durch die variierenden Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, die oft nicht angegeben werden, erschwert. Im folgenden werden die Prinzipien des Betriebes und die Verwendung der verschiedenen Systeme für die Detektion der schwefelhaltigen Verbindungen aufgrund der praktischen Erfahrung diskutiert.

Mit Hilfe des Purge & Trap®-Gerätes für die Extraktion, Konzentrierung und Injektion der flüchtigen Verbindungen der Milch in die GC-Kolonne und bei Verwendung des GC-MS-Detektors (im Scan-Modus), des MSD-Detektors (im SIM-Modus) oder des FID-Detektors konnten Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid nur in UHT-indirekt erhitzter Milch gefunden werden (Abb. 1 und 2). Diese beiden Verbindungen wurden in den anderen untersuchten Milchproben (Rohmilch, niedrig oder hocheerhitzte pasteurisierte Milch und UHT-direkt erhitze Milch) nicht nachgewiesen. Dies ist entweder darauf zurückzuführen, dass sie nicht vorhanden waren oder dass die Bestimmungsgrenze für die angewandte Analysenmethode und Ausrüstung zu hoch war, ungefähr 16 µg/kg für das Dimethylsulfid und 2 µg/kg für das Dimethyldisulfid (HP 5970-Modell, im SCAN-Modus).

In einer vorangehenden Untersuchung (12) wurde mit einer ähnlichen Ausrüstung wie in dieser Studie gearbeitet und dabei die Wiederholbarkeit von Werten anhand der Konzentration verschiedener alkohol- und carbonylenthaltender Verbindungen in Milch überprüft. Es zeigte sich dabei ein Variationskoeffizient, der

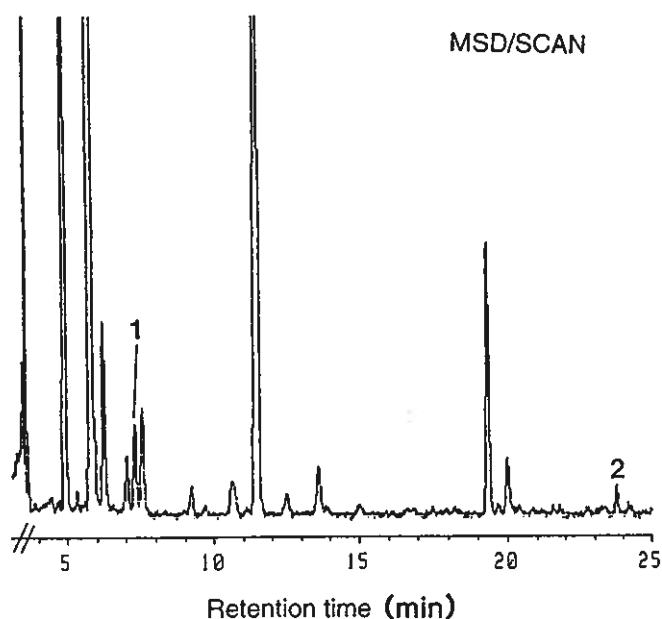


Abb. 1. GC-MS-Chromatogramm der flüchtigen Komponenten (Purge & Trap®-Analyse-methode, im Scan-Modus; Modell HP 5970) in einer aus dem Handel erhältlichen UHT-indirekt-erhitzten Milchprobe.
Legende: Dimethylsulfid = Peak Nr. 1; Dimethyldisulfid = Peak Nr. 2.

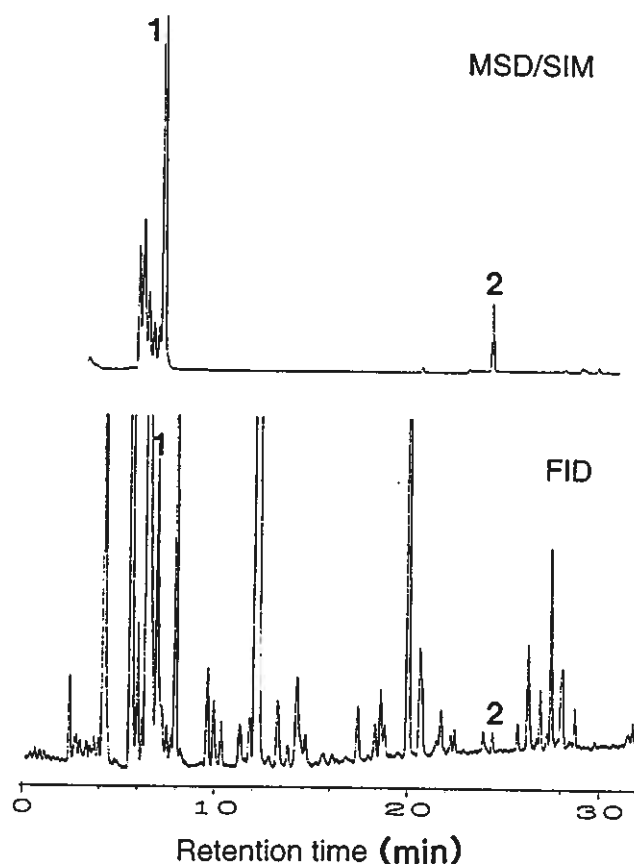


Abb. 2. GC-Chromatogramme von flüchtigen Schwefelverbindungen in einer UHT-indirekt-erhitzten Milchprobe (Purge & Trap[®]-Analysemmethode, parallele Detektion mit einem massenselektiven Detektor: oben im SIM-Modus (Modell HP 5972), unten Flammenionisationsdetektor (FID)).
Legende: Dimethylsulfid = Peak Nr. 1; Dimethyldisulfid = Peak Nr. 2.

für die meisten Verbindungen unter 16% lag. Wenn das gleiche Verfahren an derselben UHT-Milchprobe an zwei separaten Tagen ausgeführt wurde, konnte eine Abnahme von ungefähr 40% der Werte innerhalb von 24 Stunden festgestellt werden. Diese unerwünschte Wirkung wurde wahrscheinlich durch das «Auto-Tuning des Standard-Spektrums» verursacht, wobei der massenempfindliche Detektor die Skala der Massen zur Ladung, nicht aber die Abundanz rekaliibriert.

Die Reihenfolge der anderen getesteten Detektoren, aufgelistet nach der steigenden Empfindlichkeit für Dimethylsulfid oder Dimethyldisulfid, war folgende: FPD < MSD (SCAN-Modus, Modell HP 5970) < MSD (SCAN-Modus, Modell HP 5972) < FID < MSD (SIM-Modus, Modell HP 5972). In Tabelle 3 sind die verschiedenen Bestimmungsgrenzen zusammengestellt, die mit dem gleichen analytischen Verfahren, aber verschiedenen Detektorsystemen erhalten wurden. Sie sind als absolute Werte wie auch als Verhältnis zum empfindlichsten Detektorsystem (MSD-Modell HP 5970 im SIM-Modus) angegeben. Die Empfindlichkeit des FPD gegenüber Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid war so gering, dass kein Signal erhalten wurde, wenn UHT-Milchproben verwendet wurden. Um die Bestimmungsgrenze jedoch feststellen zu können, wurden stärker konzentrierte Test-

mischungen mit 0,25 oder 0,50 mg von jeder Verbindung, gelöst in 1 l Wasser, verwendet (Abb. 3). Interessanterweise war das Hewlett-Packard-Modell HP 5972 um eine Größenordnung empfindlicher als das Modell HP 5970. Der Unterschied im Alter dieser beiden Geräte beträgt ungefähr 10 Jahre. Abgesehen vom Problem des «AutoTunings» scheint sich der MSD, im SIM-Modus arbeitend, wegen seiner tiefen Bestimmungsgrenze als beste Methode für den Nachweis von schwefelhaltigen Verbindungen in der Milch anzubieten.

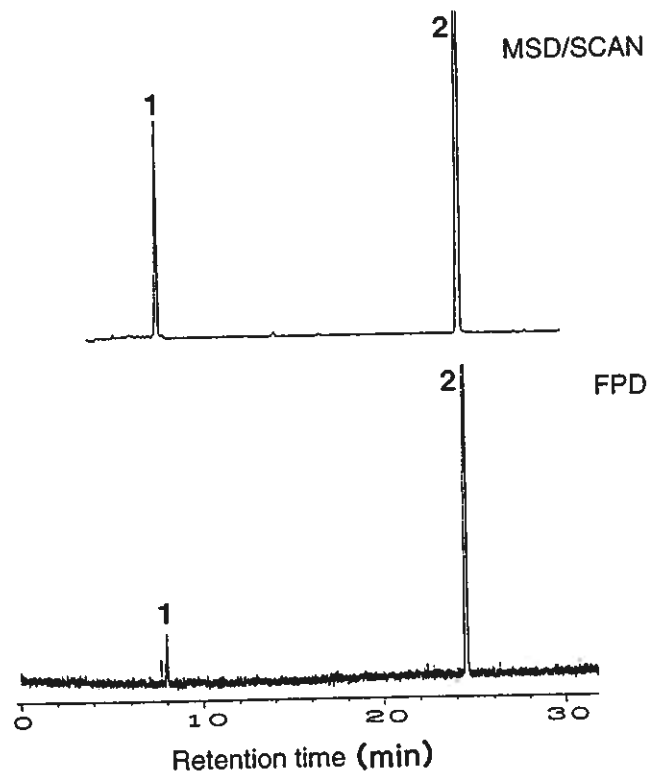


Abb. 3. GC-Chromatogramme von flüchtigen Schwefelverbindungen in einer wässrigen Standardlösung (Purge & Trap[®]-Analyseverfahren, parallele Detektion mit einem massenempfindlichen Detektor: oben im SCAN-Modus, unten schwefelblammenphotometrischer Detektor (FPD)).

Legende: Dimethylsulfid = Peak Nr. 1; Dimethyldisulfid = Peak Nr. 2. Konzentration: je 50 mg/kg Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid.

Für die MS-Analyse im SIM-Modus verwendete Fragmente (m/z)

Flüchtige Schwefelverbindung	Zeitspanne der in Frage kommenden Fragmente (min)	Fragmente (m/z)
Dimethylsulfid	7-9	62; 63; 64
Butanthiol (1- oder 2-)	9-23	90; 91; 92
Dimethyldisulfid	23-26	94; 95; 96
Dimethyltrisulfid	35-38	126; 127; 128

Tabelle 3. Bestimmungsgrenzen für Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in Wasser oder Milch, mit dem gleichen analytischen Verfahren, aber verschiedenen Detektoren gemessen und als absolute Werte oder als ein Vielfaches des am empfindlichsten verwendeten Detektors angegeben (Modell HP 5972 im SIM-Modus)

Detektor	Produkt	Dimethylsulfid		Dimethyldisulfid	
		Bestimmungsgrenze (µg/kg)	Verhältnis MSD/SIM-Modus*	Bestimmungsgrenze (µg/kg)	Verhältnis MSD/SIM-Modus*
FPD (S-selektiv)	wässrige Standardlösung	75	≈ 1100	5,7	≈ 140
MSD/SCAN-Modus (HP 5970)	UHT-indirekt-erhitzte Milch	16	≈ 240	2	≈ 50
MSD/SCAN-Modus (HP 5972)	wässrige Standardlösung	1,6	≈ 24	0,56	≈ 13
FID (unselektiv)	UHT-indirekt-erhitzte Milch	0,33	≈ 5	0,16	≈ 4
MSD/SIM-Modus (HP 5972)	UHT-indirekt-erhitzte Milch	0,067	1*	0,042	1*

* Der empfindlichste Detektor wurde als Referenz verwendet.

Schlussfolgerung

Dimethylsulfid ist ein Indikator für die Hitzebehandlung von Milch. Diese Verbindung konnte in roher, pasteurisierter und UHT-direkt erhitzter Milch nicht nachgewiesen werden, aber ist in Milch, die relativ starken Hitzebehandlungen unterworfen wurde, wie EHP-indirekt, UHT-indirekt und Sterilisierung unter extremen Bedingungen, in beträchtlichen und leicht nachweisbaren Mengen vorhanden.

Nur eine sehr extreme Hitzebehandlung vermag hingegen signifikante Mengen an Dimethyldisulfid in Milch zu bilden, wie sich dies nach einer Erhitzung der Milch bei 150 °C während 1 h ereignete.

Kein signifikanter Verlust an Dimethylsulfid oder Dimethyldisulfid zeigte sich nach einer Lagerung bei 6 °C über eine Zeit von 4 Tagen. Die Konzentration an Dimethylsulfid und/oder Dimethyldisulfid in Milch könnte als Indikator für eine Hitzebehandlung dienen, möglicherweise speziell für die Unterscheidung von direkten und indirekten Erhitzungsverfahren, wie sie bei der Fabrikation von EP- oder UHT-Milch angewendet werden.

Angesichts des in der Literatur angeführten Aromaswellenwertes für Dimethylsulfid in pasteurisierter Milch (19 µg/kg) und, wie in unserer Studie gefunden, des sehr geringen Dimethylsulfidgehaltes in UHT-direkt erhitzten Milchproben

im Vergleich zu den beträchtlichen, in UHT-indirekt erhitzten Milchproben gefundenen Gehalten sollte es möglich sein, sensorisch zwischen UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzten Milchproben zu unterscheiden. Dies war jedoch nicht der Fall. Dieser Befund weist darauf hin, dass diese beiden Sulfide nicht zum Aroma von UHT-Milch beitragen oder dass der Schwellenwert in UHT-Milch aufgrund von anderen thermisch erzeugten Aromakomponenten höher ist als derjenige in pasteurisierter Milch. Es ist durchaus möglich, dass der regelmässige Konsum von UHT-Milch, wie es typisch für schweizerische Verhältnisse ist, die Empfindlichkeit gegenüber schwefelhaltigen Verbindungen und damit die Fähigkeit, zwischen UHT-direkt und UHT-indirekt erhitzter Milch zu unterscheiden, reduziert, was auch für ein ausgebildetes Degustationspanel zutreffen kann.

Der MSD im «selected ion monitoring» oder «selected ion storage»-Modus scheint ein vielversprechendes Gerät für den Nachweis und die Quantifizierung von schwefelhaltigen Verbindungen in Milch zu sein. Das einzige signifikante Problem mit dem MSD-Detektor liegt in der unvermeidbaren Änderung der Kalibrierung der m/z -Skala durch das «AutoTuning der Standardspektren». Die Lösung dieses Problems muss in weiteren Untersuchungen angegangen werden.

Dank

Unserem Kollegen Dr. P. Lavanchy und unserer Kollegin Frau Ursula Bühler-Moor sowie ihrem Degustationspanel danken wir für die durchgeführten sensorischen Analysen.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die hitzeinduzierte Bildung, die Stabilität und die sensorische Auswirkung von Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid untersucht. Aus dem Handel bezogene Milch wurde verschiedenen industriellen Erhitzungsverfahren wie Pasteurisation oder Ultrahocherhitzung unterworfen und Rohmilch unter gut definierten Bedingungen (125–150 °C) mit Hilfe der FAM-Pilotanlage erhitzt. Dazu wurde noch die Verwendbarkeit verschiedener Detektorsysteme (massenselektiver Detektor im SCAN und SIM-Modus, schwefelempfindlicher Flammenphotometer-Detektor, Flammenionisations-Detektor) für die quantitative Analyse dieser Verbindungen in Milch überprüft. Wenn die in dieser Studie ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (dynamische Dampfmanalyse mit Hilfe eines Purge- and Trap-Analysengerätes) berücksichtigt werden, scheint der MSD im SIM-Modus die beste Empfindlichkeit und Spezifität für Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid in Milch aufzuweisen und könnte sich als eine geeignete Alternative für den kürzlich verfügbaren Schwefel-Chemiluminiszenz-Detektor herausstellen. Für die sensorische Analyse wurde das Degustationspanel der FAM ($n = 15$) herbeigezogen.

Résumé

Ce travail étudie la formation sous l'effet d'un traitement thermique, la stabilité au stockage et l'impact sensoriel du sulfure de diméthyle et du disulfure de diméthyle du lait. On a examiné des laits du commerce soumis à des traitements thermiques industriels tels que

pasteurisation ou traitement UHT ainsi que des laits crus portés à des températures bien définies (125–150 °C) dans l'installation pilote des auteurs. Un second objectif de ce travail était de comparer les performances de divers détecteurs de chromatographie en phase gazeuse tels que MSD utilisés en mode SCAN et SIM, FPD pour les soufrés et FID pour la quantification de ces composés. Si l'on tient compte des limites de détection et de détermination correspondant aux conditions expérimentales de cette étude (une analyse dynamique des volatils par Purge & Trap), la détection de ces composés du lait par MSD en mode SIM paraît être une alternative valable, comparable à celle par SCD récemment proposée par certains auteurs. L'analyse sensorielle a été effectuée par le jury de dégustateurs ($n = 15$) de la FAM.

Summary

In this study, the heat-induced formation, stability and sensory impact of dimethyl sulfide and dimethyl disulfide in milk were investigated. Commercial milks, subjected to typical industrial heat treatments, such as pasteurization or ultra-high temperature (UHT) and raw milk heated under well-defined conditions (125–150 °C) using the author's pilot plant were investigated. The suitability of various detection systems (a MSD working in the SCAN- and SIM-modus, a sulfur-FPD, a FID) for the quantitative analysis of dimethyl sulfide and dimethyl disulfide in milk was also tested. Taking into consideration both the limits of detection and determination (a dynamic headspace analysis using a Purge & Trap equipment), corresponding to the experimental set-up in this study, the MSD used in SIM-Modus appeared to present the best sensitivity and specificity to dimethyl sulfide and dimethyl disulfide in milk and might prove to be a valuable alternative to the recently available SCD. The sensoric analysis was carried out by the panel ($n = 15$) at the FAM.

Literatur

1. *Mussiman, C.J. and Keelan, M.E.*: Sulfur compounds in foods. An overview. ACS Symposium Series 564, 1–6 (1994).
2. *Chin, H.W. and Lindsay, R.C.*: Mechanisms of formation of volatile sulfur compounds following the action of cysteine sulfoxide lyases. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1529–1536 (1994).
3. *Schwimmer, S. and Friedman, M.*: Enzymatic and nonenzymatic genesis of volatile sulfur-containing food flavors. *Flavour Ind.* 137–145 (1972).
4. *Badings, H.T.*: Milk. In: *Maarse, H.* (ed.), *Volatile compounds in foods and beverages*. M. Dekker, New York, 91–106 (1991).
5. *Badings, H.T. and Neeter, R.*: Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. *Neth. Milk Dairy J.* **34**, 9–30 (1980).
6. *Bassette, R.*: Effect of light on concentration of some volatile materials in milk. *J. Milk Food Technol.* **39**, 10–12 (1976).
7. *Bassette, R. and Jeon, I.J.*: Effect of process and storage times and temperatures on concentration of volatile materials in ultra-high temperature steam infusion processed milk. *J. Food Protect.* **46**, 950–953 (1983).
8. *Bassette, R. and Ward, G.*: Measuring parts per billion of volatile materials in milk. *J. Dairy Sci.* **58**, 428–429 (1975).

9. *Christensen, K.R. and Reineccius, G.A.*: Gas chromatographic analysis of volatile sulfur compounds from heated milk using static headspace sampling. *J. Dairy Sci.* **75**, 2098–2104 (1992).
10. *Dumont, J.P. and Adda, J.*: Evolution des composés soufrés au cours de la conservation de laits stérilisés U.H.T. *Ann. Technol. Agric.* **27**, 501–508 (1978).
11. *Jaddou, H.A., Pavey, J.A. and Manning, D.J.*: Chemical analysis of flavour volatiles in heat-treated milks. *J. Dairy Res.* **45**, 391–403 (1978).
12. *Imhof, R. and Bosset, J.-O.*: Quantitative GC-MS analysis of volatile flavour compounds in pasteurized milk and fermented milk products applying a standard addition method. *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **27**, 265–269 (1994).
13. *Mehta, R.S. and Bassette, R.*: Organoleptic, chemical and microbiological changes in ultra-high-temperature sterilized milk stored at room temperature. *J. Food Protect.* **41**, 806–810 (1978).
14. *Moio, L., Dekimpe, J., Etievant, P. and Addeo, F.*: Neutral volatile compounds in the raw milks from different species. *J. Dairy Res.* **60**, 199–213 (1993).
15. *Moio, L., Etievant, P., Langlois, D., Dekimpe, J. and Addeo, F.*: Detection of powerful odorants in heated milk by use of extract dilution sniffing analysis. *J. Dairy Res.* **61**, 385–394 (1994).
16. *Patton, S., Forss, D.A. and Day, E.A.*: Methyl sulphide and the flavor of milk. *J. Dairy Sci.* **39**, 1469–1470 (1956).
17. *Pearson, T.W., Dawson, H.J. and Lackey, H.B.*: Natural occurring levels of dimethylsulfoxide in selected fruits, vegetables, grains and beverages. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 1089–1091 (1981).
18. *Scanlan, R.A., Lindsay, R.C., Libbey, L.M. and Day, E.A.*: Heat-induced volatile compounds in milk. *J. Dairy Sci.* **51**, 1001–1007 (1968).
19. *Pereira, R.R., Harper, W.J. and Gould, I.A.*: Heat-released volatile sulfur compounds in milk. *J. Dairy Sci.* **51**, 1850–1851 (1968).
20. *Maruri, J.L., Christen, G.L., Penfield, M.P. and Melton, S.L.*: Effect of processing method, storage temperature and length of storage on chemical and sensory attributes of lowfat milk. *IDF Bull.* 149–157 (9602) (1996).
21. *Shibamoto, T., Mihara, S., Nishimura, O., Kamiya, Y., Aitoku, A. and Hayashi, J.*: Flavor volatiles formed by heated milk. In: Charalambous, G. (ed.), *The analysis and control of less desirable flavors in foods and beverages*. Academic Press, New York, 241–265 (1980).
22. *Steely, J.S.*: Chemiluminescence detection of sulfur compounds in cooked milk. *ACS Symposium Series* 564, 22–35 (1994).
23. *Bosset, J.O., Gallmann, P.U. and Sieber, R.*: Influence of light transmittance of packaging materials on the shelf-life of milk and dairy products – a review. In: Mathlouthi, M. (ed.), *Food packaging and preservation*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 222–268 (1994).
24. *Kim, Y.D. and Morr, C.V.*: Dynamic headspace analysis of light activated flavor in milk. *Int. Dairy J.* **6**, 185–193 (1996).
25. *Gallmann, P.*: Erhitzungsarten definieren. *Schweiz. Milchztg.* **120**, 4 (26) (1994).
26. *Schlimme, E., Buchheim, W. und Heeschen, W.*: Beurteilung verschiedener Erhitzungsverfahren und Hitzeindikatoren für Konsummilch. *DMZ Lebensm. Milchw.* **115**, 64–69 (1994).
27. *Fink, R. and Kessler, H.G.*: HMF values in heat treated and stored milk. *Milchwissenschaft* **41**, 638–641 (1986).

28. *Schlimme, E., Ott, F.G. and Kiesner, C.*: Reaction kinetics of the heat-induced formation of N⁶-methyladenosine in milk. *Int. Dairy J.* **4**, 617–627 (1994).
29. *Keenan, T.W. and Lindsay, R.C.*: Evidence for a dimethyl sulfide precursor in milk. *J. Dairy Sci.* **51**, 112–114 (1968).
30. *Bosset, J.-O., Bühler-Moor, U., Eberhard, P., Gauch, P., Lavanchy, P. und Sieber, R.*: Dimethylsulfid- und Dimethyldisulfidgehalt sowie Aroma als Indikatoren für die thermische Behandlung von Milch. *Schweiz. Milchw. Forsch.* **23**, 67–71 (1994).
31. *Calvo, M.M. and Holz, L. de la*: Flavour of heated milks. A review. *Int. Dairy J.* **2**, 69–81 (1992).
32. *Shipe, W.F., Bassette, R., Deane, D.D., Dunkley, W.L., Hammond, E.G., Harper, W.J., Kleyn, D.H., Morgan, M.E., Nelson, J.H. and Scanlan, R.A.*: Off flavors of milk: nomenclature, standards, and bibliography. *J. Dairy Sci.* **61**, 855–869 (1978).
33. *Reddy, M.C., Bassette, R., Ward, G. and Dunham, J.R.*: Relationship of methyl sulfide and flavor score of milk. *J. Dairy Sci.* **50**, 147–150 (1967).
34. *Eberhard, P. und Lavanchy, P.*: Welche Trinkmilch wird bevorzugt? *Schweiz. Milchztg.* **121**, 1 (27) (1995).

Dr. Jacques Olivier Bosset
Dr. Pius Eberhard
Dr. Peter Gallmann
Roland Gauch
Dr. Robert Sieber
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Liebefeld
CH-3003 Bern