

Untersuchungen zu den hydrokolloidalen Eigenschaften von Milcheiweiß

von P.Chr. Lorenzen

Institut für Chemie und Technologie der Milch der Bundesanstalt für Milchwissenschaft, Postfach 60 69, 24121 Kiel

1. Einleitung

Die Konsistenz eines Lebensmittels, häufig bestimmt durch die Fähigkeit der Inhaltsstoffe zur Wasserbindung und/oder Fettkristallisation, ist von besonderer technologischer und sensorischer Bedeutung. Stoffe, die sich in Wasser kolloidal lösen oder aufquellen und dabei eine Erhöhung der Viskosität oder die Ausbildung eines Gels bewirken, werden als Hydrokolloide bezeichnet; sie sind überwiegend pflanzlicher oder mikrobieller Herkunft. Als Hydrokolloid tierischer Herkunft kann Gelatine angesehen werden. Sie ist das einzige Protein unter den Hydrokolloiden, wohingegen die anderen Stoffe überwiegend den Kohlenhydraten zuzurechnen sind (1-5). Neben Gelatine weisen auch andere Lebensmittelproteine – beispielsweise Milcheiweiß – hydrokolloidale Eigenschaften auf, allerdings sind diese weniger ausgeprägt als bei den oben genannten Stoffen.

Die Viskosität von Caseinatlösungen ist aufgrund ihrer offenkettigen Struktur, die ein großes Volumen einnimmt, deutlich höher als die gelöster nativer Molkenproteine mit kompakter globulärer beziehungsweise der Caseine mit micellarer Struktur. Mit zunehmender Proteinkonzentration steigt die Viskosität an. Eine Zugabe von Natriumchlorid erhöht die Viskosität von Milcheiweißlösungen kaum, wohingegen eine Calciumzugabe zu einem deutlich messbaren Anstieg der Viskosität führt. Calciumcaseinatdispersionen zeigen dagegen geringere Viskositätswerte als Natriumcaseinatlösungen. Caseinat- und Molkenproteinlösungen weisen bei hohen Substratkonzentrationen – wie Lösungen anderer Makromoleküle auch – ein pseudoplastisches Verhalten auf (6-8). Eine Erhitzung von Molkeneiweiß in Lösung oberhalb der Denaturierungstemperatur kann – in Abhängigkeit der Milieubedingungen – zur Aggregation oder Solbildung der Proteine mit erhöhten Viskositätswerten führen, wohingegen diese abnehmen, wenn Natriumcaseinatlösungen erwärmt werden. Im pH-Bereich von 6-10 zeigen Molkenproteinlösungen leicht ansteigende Viskositätswerte. Natriumcaseinatlösungen zeigen ein Viskositätsminimum im pH-Bereich 6-8 und ein Maximum beziehungsweise ein Plateau im pH-Bereich 8-10 (9,10).

Die Mechanismen der hitzeinduzierten Gelbildung von Molkenproteinen sind nicht vollständig geklärt. Frühere Untersuchungen haben die Gelbildung als Zweiphasenprozess bestehend aus der Entfaltung globulärer Strukturen und anschließender Aggregation der Proteinketten zu einem dreidimensionalen Netzwerk interpretiert. Heute geht man davon aus, dass die Gelbildung von Molkenproteinen mit der Entfaltung der nativen Proteinstruktur (I), der Aggregation entfalteter Moleküle (II), der Strangbildung aus Aggregaten (III) und der Verknüpfung der Stränge zu einem dreidimensionalen Netz (IV), prinzipiell als Vierphasenprozess anzusehen ist (11). Partielle stabile Zwischenstufen der dreidimensionalen Struktur von Molkenproteinen während der Entfaltung werden als „molten globule state“ bezeichnet; ihnen kommt bei der Gelbildung eine besondere Rolle zu. Die

Stabilisierung der Gele, die überwiegend über Disulfidbrücken und hydrophobe Interaktionen erfolgt, ist irreversibel. Die Struktur und Konsistenz von Molkenproteingelen ist abhängig von der Proteinkonzentration, der Ionenstärke und -art sowie dem pH-Wert, der Temperatur und dem Denaturierungsgrad (11-13). Darüber hinaus sind die Herkunft der Molke (Labkäse-, Casein- oder Speisequarkherstellung) sowie die zur Konzentrierung, Isolierung beziehungsweise Fraktionierung der Proteine angewandten Verfahren von besonderer Bedeutung für die resultierenden Eigenschaften der Produkte (14,15). Kaltquellende Gele können hergestellt werden, indem die Molkenproteine bei neutralem pH-Wert, sowie geringer Ionenstärke zunächst unterhalb der Substratkonzentration der Gelierung erhitzt und anschließend abgekühlt werden. Die Gelbildung wird durch Salz (transparente Gele) oder durch Säure (trübe Gele) ausgelöst (16,17). Eine enzyminduzierte Gelbildung von Molkenproteinen kann durch partielle Hydrolyse mit einer Endopeptidase aus *Bacillus licheniformis* erzielt werden (18). Caseine können säure- oder enzyminduzierte Gele bilden; die entsprechenden Verfahren sind als Säurebeziehungsweise Labgerinnung bekannt (19). Eine druckinduzierte Gelbildung von Milcheiweiß kann durch Anwendung hoher hydrostatischer Drücke erzielt werden (20,21).

Die Fähigkeit von Proteinen rostofforiginäres und zugesetztes Wasser zu binden ist von großer technologischer Relevanz in der Lebensmittelherstellung. Die Protein-Wasser-Wechselwirkungen lassen sich differenzieren, beispielsweise in Wasser, das über Wasserstoffbrücken an Proteinmoleküle gebunden ist (I), Wasser zur Hydratation apolarer Aminosäurenreste (II), Wasser in monomolekularen Schichten um polare Aminosäurenreste (III), „nicht gefrierbares“ Wasser (IV), physikalisch gebundenes Kapillarswasser (V) und „hydrodynamisches“ Hydratwasser (VI), das prinzipiell als freies Wasser anzusehen ist. Häufig sind parallel mehrere Protein-Wasser-Wechselwirkungen vorhanden. Klare Grenzen zwischen den Kategorien lassen sich nicht ziehen (22). Das Ergebnis der Untersuchung ist in hohem Maße von der angewandten Methodik abhängig; eine Vergleichbarkeit unterschiedlicher Studien wird dadurch erschwert. Unabhängig davon bestätigen alle Studien, dass das Wasserbindungsvermögen von Caseinen – insbesondere nativer Caseinmicellen – größer ist als das von Molkenproteinen (23-25).

Die Eigenschaften von Milcheiweiß sind – wie die aller Proteine – von der Molmasse, der Aminosäuren-Zusammensetzung und -Sequenz, der daraus resultierenden Struktur (Sekundär-, Tertiär-, Quartär- Struktur) und Oberflächenladung sowie der effektiven Hydrophobizität abhängig. Die Struktur entscheidet über die Funktionalität eines Proteins und damit auch über die in der Lebensmittelverarbeitung interessanten technofunktionellen Eigenschaften. Eine Modifizierung eines oder mehrerer der oben beschriebenen Parameter bedingt eine Änderung der Eigenschaften. Als nativ können nur die Proteine der Rohmilch angesehen werden. Jedes Verfahren zur Behandlung der Milch, zur Herstellung von Milchprodukten sowie zur Isolierung von Milchinhaltsstoffen kann auch ungewollt zu einer Veränderung der Proteineigenschaften führen (26).

Die viskositätsmodulierenden technofunktionellen Eigenschaften von Proteinen sind insbesondere in der Herstellung flüssiger Lebensmittel wie Getränke, Suppen, Saucen und Cremes von Bedeutung. Darüber hinaus ist die Kenntnis der hydrokolloidalen Eigenschaften proteinhaltiger Lösungen oder Dispersionen von praktischer Bedeutung für die Optimierung lebensmitteltechnischer Verfahren wie beispielsweise pumpen, mischen, erhitzen, kühlen, trocknen und andere (25).

Die vorliegende Arbeit beschreibt den Einfluss unterschiedlicher Herstellungsverfahren wie der Anreicherung, Isolierung oder Fraktionierung von Milcheiweiß sowie variierender Milieubedingungen und einer enzymatischen Modifizierung auf die resultierenden hydrokolloidalen Eigenschaften der Proteinprodukte.

2. Material und Methoden

2.1 Milchproteine

Als Rohstoffe zur Charakterisierung der hydrokolloidalen Eigenschaften wurden überwiegend industriell hergestellte Milchproteinprodukte eingesetzt: Natriumcaseinat (92% Protein), New Zealand Milk Products Europe, Rellingen; Kappa-Casein (84% Protein), Morinaga Milk Industry, Tokio, Japan; Beta-Casein (87% Protein) und Beta-Lactoglobulin (82% Protein), Lactalis Industrie, Rennes, Frankreich; Molkenprotein-konzentrat (70% Protein) und Molkenproteinisolat (90% Protein) sowie UF-Magermilch-proteinkonzentrat (81% Protein), Milei GmbH, Stuttgart; Molkenproteinkonzentrate (30 und 35% Protein), Biolac GmbH, Harbansen. Zur enzymatischen Quervernetzung wurde das Transglutaminasepräparat Activa MP (100 U/g) der Firma Ajinomoto Europe Sales GmbH, Hamburg, eingesetzt.

2.2 Herstellung von Magermilchpulver

Magermilch wurde mit Hilfe eines Laborvakuum-Eindampfers (Kock, Lübeck) bei 50°C auf 18% Trockenmasse eingedickt. Anschließend wurde das Magermilchkonzentrat im Wasserbad für 10-30 Sekunden auf 90°C erhitzt und sprühgetrocknet (Laborsprüh-trocknungsanlage, Typ Minor Produktion, Lufteingang 180°C, Luftausgang 80°C). Das Pulver (36% Protein) wurde bis zur weiteren Untersuchung bei 20°C gelagert.

2.3 Herstellung des Magermilchproteinkonzentrates mit Hilfe der Mikrofiltration (MF)

Die Herstellung des MF-Magermilchproteinkonzentrates erfolgte nach Hoffmann (27). Hierbei wurde Magermilch bei einer Temperatur von 50°C und einer gleichmäßig niedrigen transmembranen Druckdifferenz über das gesamte Modul mit einer kerami-schen Membran (mittlere Porengröße 0,1 µm) bis zu einer Volumenverringerung des Retentates um den Faktor 4 mikrofiltriert. Mit Hilfe der Diafiltration wurde weiteres Molkenprotein aus dem Retentat entfernt. Das diafiltrierte Retentat wurde anschließend sprühgetrocknet. Der Proteingehalt betrug 86%, der Caseinanteil am Gesamtprotein 96%.

2.4 Enzymatische Modifizierung von Molkenproteinisolat

Lösungen von Molkenproteinisolat (7,5% w/w) wurden bei 80°C für 1 min erhitzt, auf 6°C abgekühlt und bei einem Enzym/Substrat-Verhältnis von 1/200 16 Stunden bei 6°C mit Transglutaminase inkubiert. Zur Inaktivierung der Transglutaminase wurden die Molkenproteinlösungen wiederum bei 80°C für 1 Minute erhitzt und anschließend sprühgetrocknet (siehe 2.2).

Die Pulver wurden bis zur weiteren Untersuchung bei 20°C gelagert. Mit Ausnahme der Transglutaminasebehandlung folgte die Herstellung der nicht-enzymbehandelten Molken-proteinlösungen dem gleichen Verfahrensablauf.

2.5 Charakterisierung der hydrokolloidalen Eigenschaften

Zur Bestimmung der scheinbaren Viskosität (η) wurden Lösungen der Pulver in Wasser mit unterschiedlichen Proteingehalten bei 20°C mit Hilfe eines Kugelziehviskosimeters (Haake-Mess-Technik, Karlsruhe) vermessen. Die scheinbare Viskosität (η) berechnet

sich gemäß der Formel: $\eta = F \times G \times t$. Dabei ist F der dem jeweiligen Kugelstab eigene Stabfaktor, G das Auflagegewicht in Gramm und t die Messzeit in Sekunden. Es wurden Doppelbestimmungen ausgeführt. Die Angabe der Viskosität erfolgt in mPa x s.

Zur Beurteilung des Wasserbindungsvermögens wurden in einer aufsteigenden Reihe vier – jeweils um 1 g zunehmende – Pulvermengen zwischen 5-15g in 100 ml Zentrifugengläser eingewogen und solange mit Wasser versetzt und gerührt, bis ein geschmeidiger Teig entstand. Die angeteigten Produkte wurden unter wiederholtem Umrühren für 2 Stunden bei 20°C gelagert und anschließend für 10 min bei 4000 x g zentrifugiert. Als Wasserbindungsvermögen wurde das Verhältnis der Pulvermenge zur Wassermenge bestimmt, bei dem nach dem Zentrifugieren kein freies Wasser sichtbar war. Es wurden Doppelbestimmungen ausgeführt. Die Angabe erfolgt in Prozent.

Zur Charakterisierung der Gelbildungseigenschaften wurden Lösungen der Pulver mit einem Proteingehalt von 11,25% in Wasser hergestellt. Jeweils 150 g der Lösung wurden in ein 250 ml Becherglas (flache Form) eingewogen. Das Becherglas wurde mit Aluminiumfolie verschlossen und im Wasserbad bei 75°C für 45 min erhitzt. Die Erhitzungszeit begann, wenn die Proteinlösung eine Temperatur von 75°C erreicht hatte. Anschließend wurden die Proben 20 min im Wasserbad auf 4-6°C gekühlt und für 90 min im Kühlschrank (4-6°C) gelagert. Die Charakterisierung der Gelstärke erfolgte mit dem Stevens-Texture-Analyser unter folgenden Bedingungen: Stempelfläche: 1cm², Eindringtiefe: 20mm, Eindringgeschwindigkeit: 0,5mm/s. Es wurden Doppelbestimmungen ausgeführt. Die Angabe der Gelstärke erfolgt in N/cm².

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Fließverhalten

In Abbildung 1 ist das Fließverhalten von Erzeugnissen aus Magermilch, die mit unterschiedlichen Verfahren gewonnen wurden, in Abhängigkeit vom Proteingehalt dargestellt. Es zeigt sich, dass die scheinbare Viskosität des ultrafiltrierten Produktes bei Eiweißgehalten von 4-8% höher ist als die von Magermilch. Zum gleichen Ergebnis kommen die Untersuchungen von Carr et al. (10). In allen Produkten liegt das Casein überwiegend in micellarer Form vor. Magermilch und UF-Magermilch enthalten Casein und Molkenweiß im Verhältnis 80:20, wohingegen die Proteine im mikrofiltrierten Produkt zu 96% aus Casein bestehen. Da alle drei Produkte aus pasteurisierter Milch hergestellt wurden, sind die Molkenproteine nur zu einem geringen Teil denaturiert (28). In den hier ausgeführten Untersuchungen weisen ultrafiltrierte Produkte, die sowohl Caseine als auch Molkenproteine – im Vergleich zur Magermilch aber nur wenig Lactose – enthalten in Bezug auf Gesamtmilchproteinkonzentrate die besten hydrokolloidalen Eigenschaften auf.

Lösungen mit nicht-micellarem Casein weisen bei vergleichbaren Proteingehalten deutlich höhere Viskositätswerte auf als die Produkte aus Magermilch (Abb. 2). Dieses ist insbesondere auf die offenkettige, langgestreckte Struktur der Caseinmoleküle zurückzuführen, die im Vergleich zur kompakten micellaren beziehungsweise globulären Struktur der Proteine in Erzeugnissen aus Magermilch ein großes Volumen einnimmt. Steigende Substratkonzentrationen führen zu einer raschen Zunahme der Protein-Protein-Wechselwirkungen und hohen Viskositätswerten (6,10).

Interessanterweise zeigen Caseinfraktionen unter den gegebenen Bedingungen eine höhere Viskositätszunahme in Abhängigkeit von der Proteinkonzentration als Natriumcaseinatlösungen, die neben Kappa- und Beta-Casein auch Alfa-s-Caseine enthalten. Dieses gilt insbesondere für Kappa-Casein. Zum einen ist das auf den stark

hydrophilen kovalent gebundenen Kohlenhydratanteil des Kappa-Caseins zurückzuführen, zum anderen aber auch auf das Assoziationsverhalten. So wird beschrieben, dass Kappa-Casein-Monomere in Lösung nur in Anwesenheit dissoziierender Reagenzien vorkommen. Ohne diese Substanzen kommt es zu einer Bildung von Polymeren mit Molmassen von ca. 750.000 g/mol (10,29).

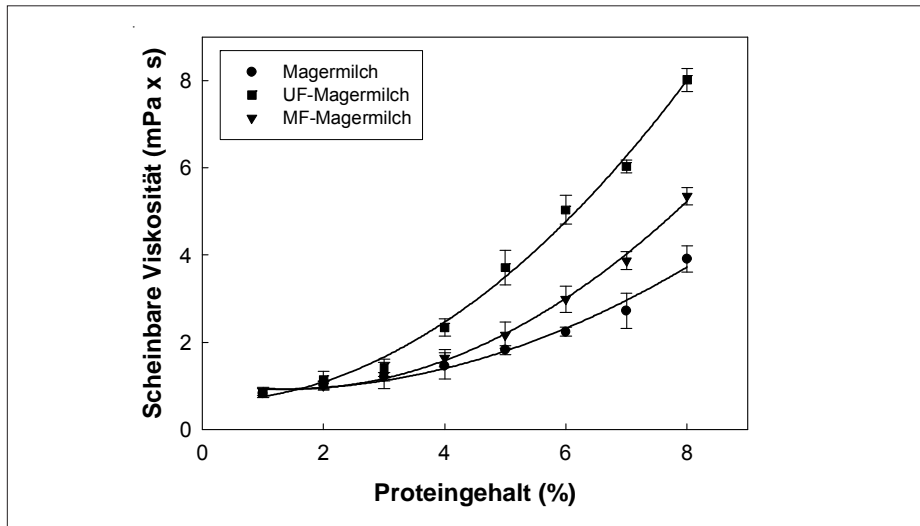


Abb. 1: Fließverhalten von Erzeugnissen aus Magermilch in Abhängigkeit vom Proteingehalt (UF=Ultrafiltrat, MF=Mikrofiltrat)

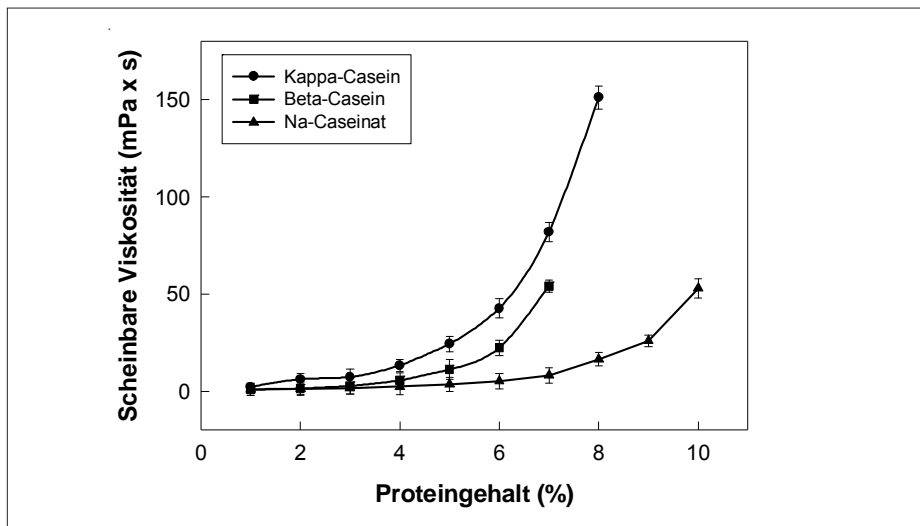


Abb. 2: Fließverhalten von Caseinlösungen in Abhängigkeit vom Proteingehalt

Mit zunehmenden Proteingehalten kommt es zur Sol- beziehungsweise Gelbildung der Caseinfractionen. Dabei weisen Beta-Casein-Lösungen eine Konsistenz auf, die mit der

von Gelatinesolen vergleichbar ist (Abb. 3). Proteingehalte > 9% führen zur Ausbildung glatter weicher Gele. Kappa-Casein bildet in Wasser dagegen Gele von puddingartiger Konsistenz.

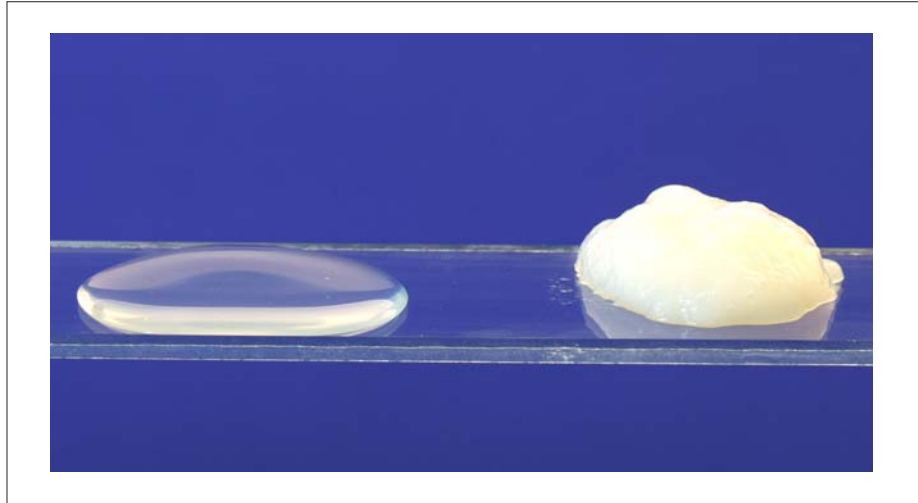


Abb. 3: Sol aus Beta-Casein (links) und Gel aus Kappa-Casein (rechts)

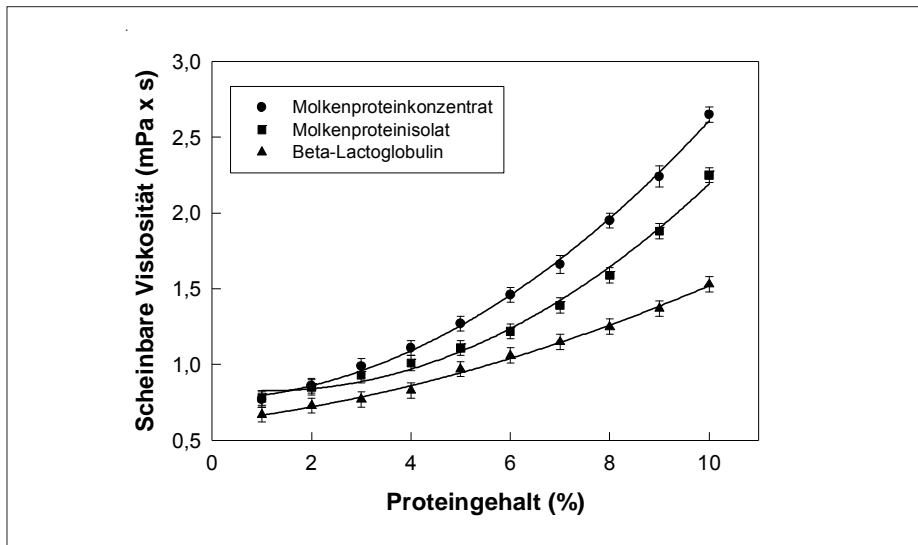


Abb. 4: Fließverhalten von Molkenproteinlösungen in Abhängigkeit vom Proteingehalt

Molkenproteinlösungen weisen aufgrund ihrer globulären Struktur selbst bei hohen Proteinkonzentrationen nur eine geringe Viskosität auf (Abb. 4). Dieses Ergebnis bestätigt frühere Untersuchungen (7, 30, 31). Interessanterweise erreichen die Lösungen mit Molkenproteinkonzentrat unter den gegebenen Bedingungen höhere Viskositäts- werte als sie mit Lösungen von Molkenproteinisolat und Beta-Lactoglobulin erzielt

wurden. Ein Vergleich der Fließigenschaften rekonstituierter Lösungen aus Molkenproteinkonzentrat (Abb. 4) und Magermilchpulver (Abb. 1) zeigt eine weitgehende Übereinstimmung. Dieses Ergebnis ist von besonderem technologischen Interesse, weil es deutlich macht, dass Magermilch in der Lebensmittelverarbeitung partiell durch Molkenproteinkonzentrate substituierbar ist.

3.2 Wasserbindungsvermögen

Zur Beurteilung des adsorptiv gebundenen Wassers wurden die Milcheiweißerzeugnisse mit Wasser versetzt und zu einem geschmeidigen Teig verrührt. Als Wasserbindungsvermögen wurde das Verhältnis der Pulvermenge zur Wassermenge bestimmt, bei dem nach einer Zentrifugation des Teiges kein freies Wasser auf der Oberfläche sichtbar war. Tabelle 1 stellt die Ergebnisse der Untersuchungen dar.

Tab. 1: Technologisches Wasserbindungsvermögen von Milchproteinprodukten

Milchproteinprodukt	Proteingehalt (%)	Wasserbindungsvermögen (g H ₂ O/g Produkt)
Molkenproteinkonzentrat	30	0,8
Molkenproteinkonzentrat	35	0,9
Milchpulver	36	2,0
UF-Magermilchproteinkonzentrat	81	2,5
MF-Magermilchproteinkonzentrat	86	4,6
Natriumcaseinat	92	5,0
Beta-Casein	87	8,0
Kappa-Casein	84	11,0
Molkenproteinkonzentrat	70	1,1
Molkenproteinisolat	90	6,0

Tabelle 1 macht deutlich, dass Molkenproteinkonzentrate – auch bei höheren Proteingehalten – nur ein geringes Wasserbindungsvermögen aufweisen, wohingegen Molkenproteinisolat eine Menge an Wasser adsorptiv zu binden vermag, die mit der von Natriumcaseinat vergleichbar ist. Das Wasserbindungsvermögen der Gesamtmilchproteinprodukte steigt mit zunehmendem Protein- und Caseingehalt von Magermilchpulver über UF- bis hin zum MF-Magermilchproteinkonzentrat an. Obwohl Molkenproteinisolat und Erzeugnisse aus Magermilch die Viskosität wässriger Lösungen kaum erhöhen (siehe Abschnitt 3.1) weisen sie ein deutlich höheres Wasserbindungsvermögen auf als Molkenproteinkonzentrate. In der Literatur beschriebene Studien zeigen, dass das Wasserbindungsvermögen von Produkten die micellare Caseine enthalten größer ist als das von Molkenproteinkonzentraten (23-25).

Ein überdurchschnittlich hohes Wasserbindungsvermögen weisen Caseinfraktionen – insbesondere das Kappa-Casein – auf. Die hohe Wasserbindung beruht wahrscheinlich auf stark hydrophile Eigenschaften der kovalent gebundenen Kohlenhydratanteile sowie auf die bereits oben beschriebene Neigung des Glykoproteins zur Polymerbildung in wässrigen Lösungen (10,29).

3.3 Gelbildungseigenschaften

Die technofunktionellen Eigenschaften von Milchproteinpräparaten sind unter anderem vom Herstellungsprozess abhängig. Dieses wird nachfolgend am Beispiel der Gelbildungseigenschaften von Molkenproteinkonzentrat und Molkenproteinisolat aufgezeigt. In Abbildung 5 ist die Abhängigkeit der Gelstärke von der Erhitzungstemperatur dargestellt.

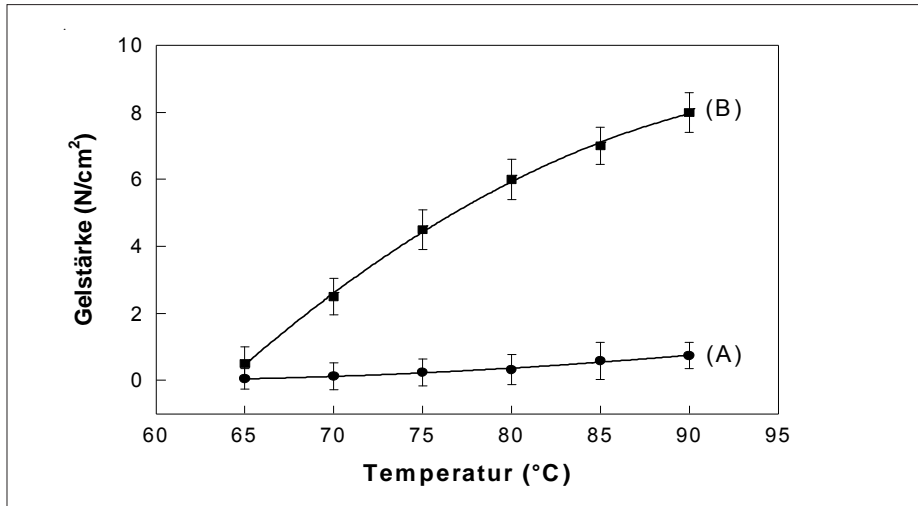


Abb. 5: Gelfestigkeit von Molkenproteinkonzentrat (A) und -isolat (B) in Abhängigkeit von der Temperatur (Proteingehalt = 11,25 %)

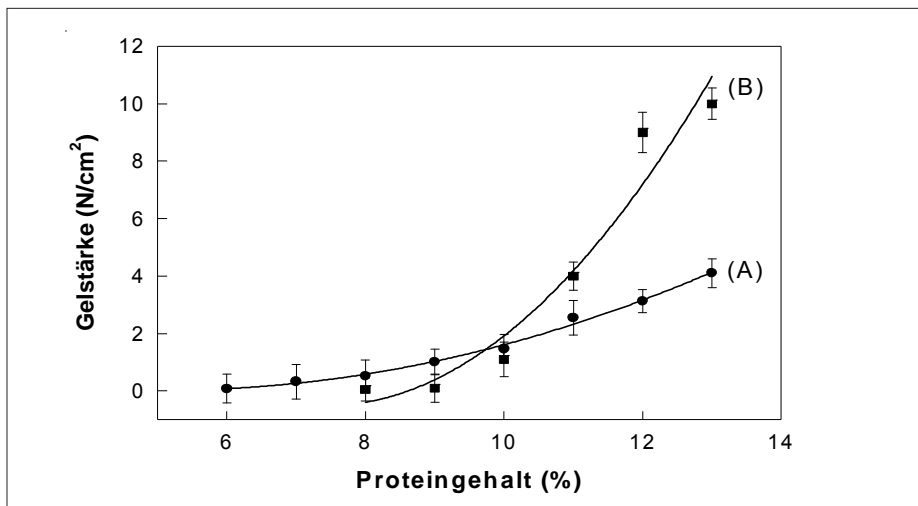


Abb. 6: Gelfestigkeit von Molkenproteinkonzentrat (A) und -isolat (B) in Abhängigkeit vom Proteingehalt (Erhitzung = 75°C, 45 min)

Bei Erhitzungstemperaturen von 65°C werden die Gele weitgehend über kovalente Disulfidbrücken stabilisiert. Eine Erhöhung der Gelfestigkeit – insbesondere der Gele aus

Molkenproteinisolat – mit steigenden Erhitzungstemperaturen beruht wahrscheinlich auf eine Zunahme der Protein-Protein-Wechselwirkungen – insbesondere nicht-kovalenter hydrophober Interaktionen – mit steigendem Wärmeeintrag. Das gleiche gilt für die Festigkeit von Molkenproteingelen in Abhängigkeit vom Proteingehalt (Abb. 6). Darüber hinaus wird beschrieben, dass die Entfaltung der nativen Proteinstruktur unabhängig von der Proteinkonzentration ist, wohingegen die Aggregation der entfalteten Moleküle dem Gehalt an β -Lactoglobulinmonomeren proportional sein soll (12,13).

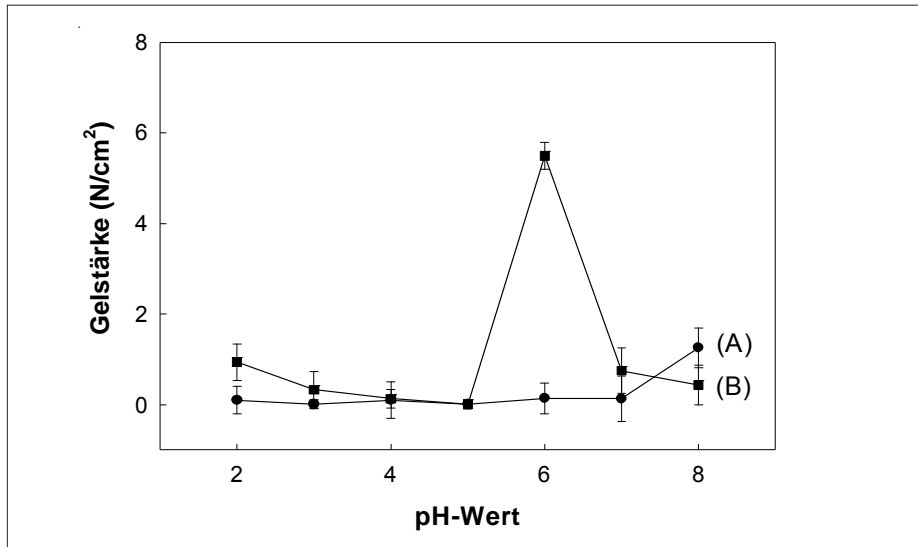


Abb. 7: Gelfestigkeit von Molkenproteinkonzentrat (A) und -isolat (B) in Abhängigkeit vom pH-Wert (Proteingehalt = 11,25 %; Erhitzung = 75°C, 45 min)

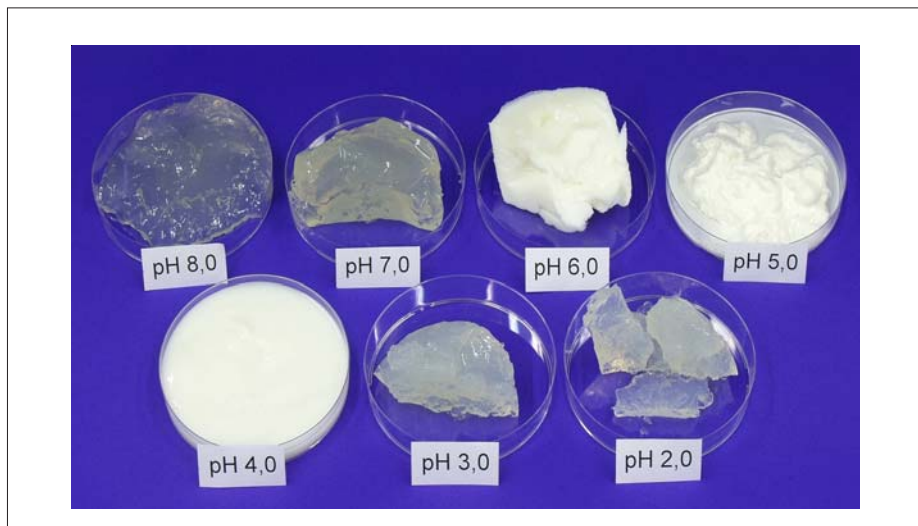


Abb. 8: Gele aus Molkenproteinisolat in Abhängigkeit vom pH-Wert (Proteingehalt = 11,25 %; Erhitzung = 75°C, 45 min)

Die Abbildungen 7 und 8 zeigen die Gelbildungseigenschaften von Molkenproteinen in Abhängigkeit vom pH-Wert auf. Bei pH-Werten von 7-8 werden Molkenproteingele überwiegend durch kovalente Disulfidbrücken stabilisiert. Eine hohe Nettoladung verhindert, dass große Aggregate gebildet werden. Es kommt zu einem transparenten Netzwerk aus geordneten, dünnen Strängen der Proteinaggregate. Bei einem pH-Wert von 6 werden – bei insgesamt geringerer Nettoladung – neben Disulfidbrücken in beträchtlichem Umfang nicht-kovalente Bindungen geknüpft, die zusammen eine hohe Gelfestigkeit bedingen. Die Ausbildung nicht-kovalenter Bindungen führt zur Bildung großer Aggregate, die das Gel weiß erscheinen lassen. Bei pH-Werten im isoionischen Bereich der Molkenproteine (pH 4-5) sind die technofunktionellen Eigenschaften wenig ausgeprägt. Bei einer insgesamt geringen Anzahl intermolekularer Bindungen und sehr geringer Nettoladung werden große Aggregate gebildet. Bei pH-Werten von 2-3, also unterhalb des isoionischen Bereichs, sind die Proteine ausschließlich positiv geladen und die Thiolgruppen sehr stabil. Das bedeutet, dass kovalente Disulfidbrücken nicht ausgebildet werden. Die Gelbildung erfolgt in diesem pH-Bereich weitgehend über hydrophobe Bindungen. Eine hohe Nettoladung führt wiederum zu transparenten Gelen aus geordneten, dünnen Strängen der Proteinaggregate (11,13,32).

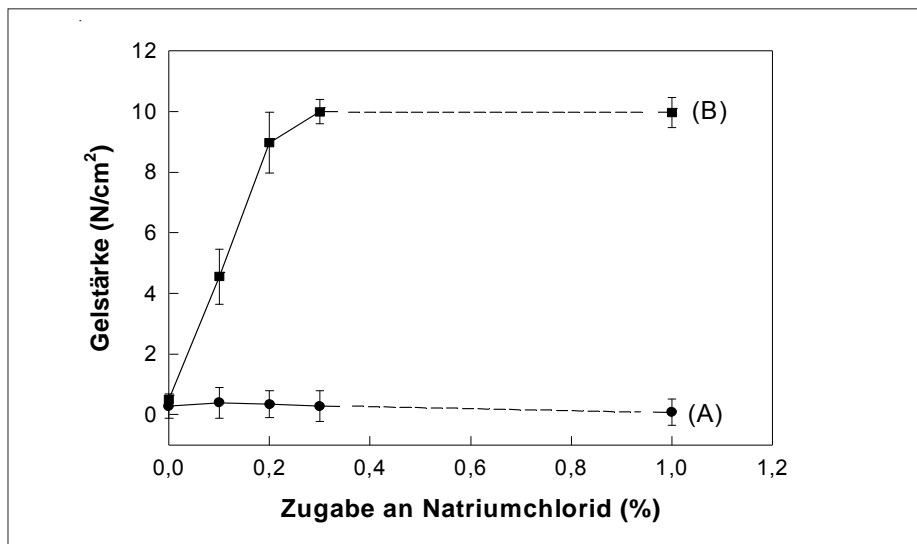


Abb. 9: Gelfestigkeit von Molkenproteinkonzentrat (A) und -isolat (B) in Abhängigkeit von der Natriumchloridzugabe (Proteingehalt = 11,25 %; Erhitzung = 75°C, 45 min)

Eine Erhöhung der Ionenstärke verringert sowohl die intermolekulare Abstoßung der entfalteten Proteinmoleküle und erhöht damit ihre Aggregationsfähigkeit als auch die intramolekulare Repulsion, was zu einer zusätzlichen Stabilisierung des dreidimensionalen Netzwerkes führt (13,25,32). In den vorliegenden Untersuchungen ist eine erhöhte Festigkeit mit zunehmendem Kochsalzgehalt aber nur bei Gelen aus Molkenproteinisolat erkennbar (Abb. 9).

Die differierenden technofunktionellen Eigenschaften von Molkenproteinkonzentrat und Molkenproteinisolat sind überwiegend mit der unterschiedlichen Zusammensetzung der Produkte zu begründen (11,33). So enthalten Molkenproteinisolate im Gegensatz zu

Molkenproteinkonzentraten nur sehr geringe Mengen an Fett, Phospholipiden und anderen Biomembranbestandteilen sowie Lactose. Weiterhin enthalten Isolate kaum hydrophobe Peptide, die in einem wässrig-hydrophilen Medium hydrophobe Bereiche der globulären, partiell entfalteten Molkenproteine maskieren und somit die Ausbildung eines engmaschigeren Gelnetzwerkes verhindern können (34). Darüber hinaus kann die Proteinzusammensetzung der Produkte je nach Molkerohstoff (Süß-/Sauermolke) und genutztem Ionenaustauschchromatographieverfahren unterschiedlich sein (35). Ebenso mag die im Rahmen des Chromatographieprozesses angewandte Säure-Base-Behandlung einen Einfluss auf die Tertiärstruktur der Proteine und somit auf die resultierenden technofunktionellen Eigenschaften der Molkenproteinprodukte haben.

3.4 Modifizierung der hydrokolloidalen Eigenschaften

Die wasserbindenden, viskositätserhöhenden beziehungsweise gelbildenden Eigenschaften von Milchproteinpräparaten können durch eine Vielzahl an Verfahren modifiziert werden. Insbesondere sind hier physikalische Verfahren wie die Erhitzung, der Ultradruck und die Extrusion sowie enzymatische Verfahren wie die Proteolyse und die Quervernetzung zu nennen (26).

In eigenen Untersuchungen (AiF-Vorhaben-Nr'n. 11247 N und 13434 N) werden die Auswirkungen der enzymatischen Quervernetzung von Milcheiweiß auf die resultierenden Eigenschaften von Milcherzeugnissen geprüft. In Bezug auf die hydrokolloidalen Eigenschaften ist in diesem Zusammenhang die enzyminduzierte Polymerbildung von Milchweiß durch Transglutaminase von besonderem lebensmitteltechnologischem Interesse. Die enzymatische Quervernetzung von Milcheiweiß führt – im Vergleich zu unbehandelten Systemen – zu einer deutlichen Steigerung der Viskosität der Proteinlösungen sowie des Wasserbindungsvermögens und einer enzyminduzierten reversiblen Gelbildung bei Raumtemperatur beziehungsweise einer deutlich verbesserten Kaltgelierung unter den Bedingungen einer Kühlung (4-6°C). In den Abbildungen 10 und 11 ist beispielhaft der Einfluss einer enzymatischen Modifizierung von Molkenproteinen mit Transglutaminase auf die Fließ- und Gelbildungseigenschaften der Produkte dargestellt. Die Molmassen der Polymere aus Molkenproteinen betragen ca. $10^6 \text{ g} \times \text{mol}^{-1}$ (36). Es zeigt sich, dass die Viskosität der Molkenproteinpolymere deutlich höher ist als die der Monomere (Abb. 10). In Abbildung 11 ist darüber hinaus erkennbar, dass eine 9%ige Lösung aus unbehandeltem Molkenproteinisolat flüssig ist, wohingegen das enzymbehandelte Produkt bei gleicher Substratkonzentration ein Gel ausbildet.

Von besonderem lebensmitteltechnologischem Interesse sind auch Transglutaminase-behandelte Natriumcaseinat-Polymere (Tab.2). Sie führen zu Lösungen hoher Viskosität, zeigen in O/W-Emulsionen mit einem Ölgehalt von 40% erhöhte emulsionsstabilisierende Eigenschaften an und weisen darüber hinaus ein überproportional hohes Wasserbindungsvermögen auf. Offensichtlich ist Natriumcaseinat aufgrund der offenkettigen Struktur als Substrat zur enzymatischen Quervernetzung mit Transglutaminase im besonderen geeignet.

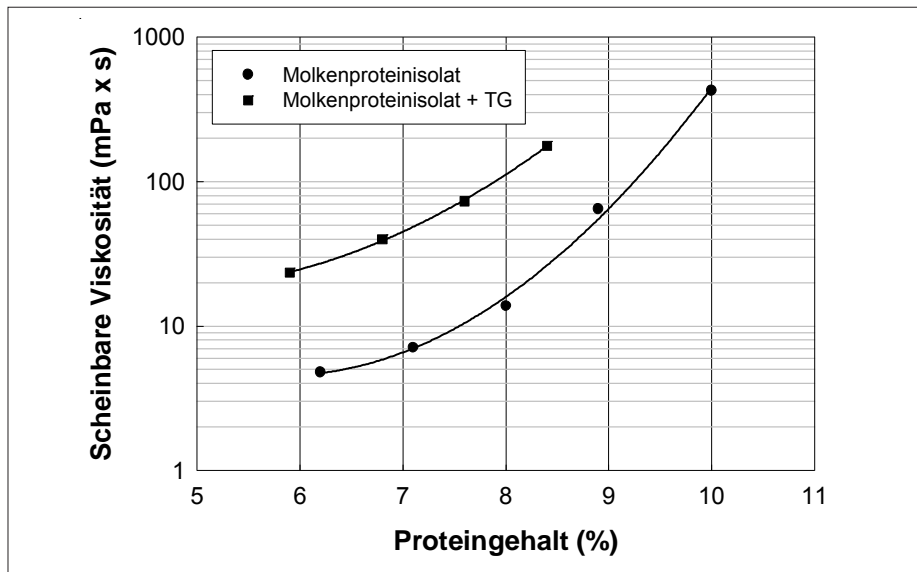


Abb. 10: Fließverhalten von Molkenproteinisolatlösungen mit und ohne Transglutaminasebehandlung (TG)

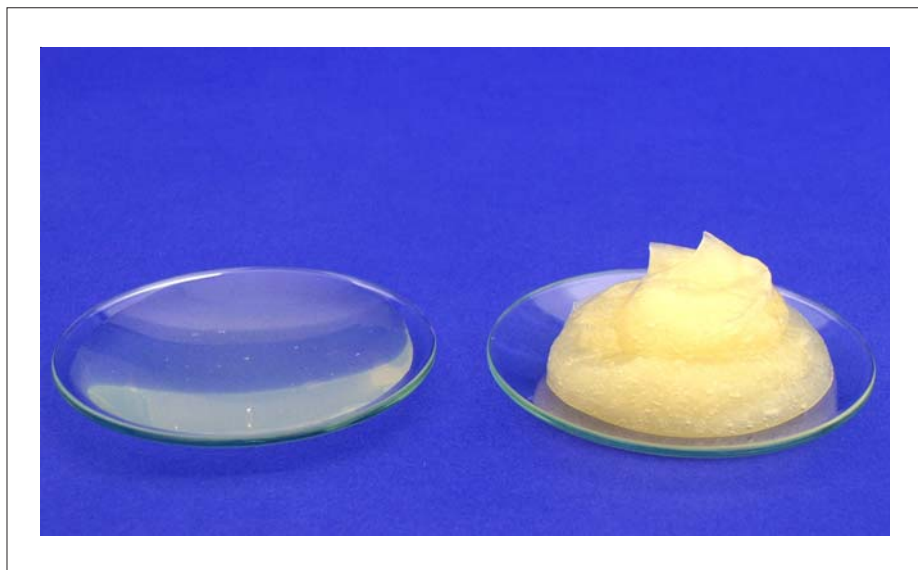


Abb. 11: Molkenproteinisolat ohne (links) oder mit (rechts) Transglutaminasebehandlung (9% Protein)

Tab. 2: Hydrokolloidale Eigenschaften von Proteinrohstoffen mit und ohne Transglutaminasebehandlung (TG) ¹⁾ bei $7 \pm 0,2\%$ Protein, ²⁾ 40% Öl, 1,5% Protein)

Proteinrohstoff	Scheinbare Viskosität der Proteinlösungen ¹⁾ (mPa x s)	Scheinbare Viskosität der O/W-Emulsionen ²⁾ (mPa x s)	Wasserbindungsvermögen (g H ₂ O/g Protein)
Molkenproteinisolat	7,1	8,3	6,0
Molkenproteinisolat + TG	73,2	13,2	6,5
Natriumcaseinat	10,3	7,4	5,0
Natriumcaseinat + TG	373,8	21,6	14,0
UF-Magermilchprotein-konzentrat	3,5	5,1	2,0
UF-Magermilchprotein-konzentrat + TG	2,7	6,8	2,0

Danksagung

Das Forschungsvorhaben zur enzymatischen Quervernetzung von Milcheiweiß wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/ AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) gefördert (Projekt-Nr.: AiF-FV 11247 N). Frau I. Spreckels, Frau U. Gelbke und Herrn E. Johannsen danke ich für die exzellente technische Assistenz.

4. Literatur

1. Dobers, H.-J.: *Milchwissenschaft* **25** (2) 88-95 (1970)
2. Scherz, H.: In: *Zusatzstoffe*, Band 11 der Schriftenreihe: *Lebensmittelchemie, Lebensmittelqualität* (Hrsg. Fachgruppe „Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie“ in der GDCh), Behr's Verlag, Hamburg (1986)
3. Niederauer, Th.: *Alimenta* **26** (6) 147-151 (1987)
4. Syrbe, A., Bauer, W.J., Klostermeyer, H.: *Int Dairy Journal* **8** 179-193 (1998)
5. Ennis, M.P., Mulvihill, D.M.: In: *Handbook of hydrocolloids* (eds. G.O. Philips and P.A. Williams), Woodhead Publishing Limited (2000)
6. Welsby, D., McCarthy, M., Doolan, D.: *Progress Food & Nutr Sci* **6** 221-231 (1982)
7. Mehrens, H.-A., Reimerdes, E.H.: In: *Milchproteine*, Band 4 der Schriftenreihe: *Lebensmittelchemie, Lebensmittelqualität* (Hrsg. Fachgruppe „Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie“ in der GDCh), Behr's Verlag, Hamburg (1991)
8. Schmidt, K., McNeill, V.: *Milchwissenschaft* **48** (1) 3-6 (1993)
9. Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M.A.J.S.: *Dairy Technology*. Marcel Dekker Inc., New York, Basel (1999)
10. Carr, A.J., Southward, C.R., Creamer, L.K.: In: *Advanced Dairy Chemistry* (eds. P.F. Fox and P.L.H. McSweeney), Vol. 1, 3. Edition, Part B, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York (2003)
11. Singh, H., Havea, P.: In: *Advanced Dairy Chemistry* (eds. P.F. Fox and P.L.H. McSweeney), Vol. 1, 3. Edition, Part B, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York (2003)
12. Foegeding, E.A., Davis, J.P., Doucet, D., McGuffey, K.: *Trends Food Sci Technol* **13** 151-159 (2002)

13. De La Fuente, M.A., Singh, H., Hemar, Y.: Trends Food Sci Technol **13** 262-274 (2002)
14. Haeusel, R., Lorenzen, P.Chr., Reimerdes, E.H., Brückner, H.: European Dairy Magazine **1** (1) 4-11 und (2) 4-15 (1990)
15. Rantamäki, P., Tossavainen, O., Outinen, M., Tupasela, T., Koskela, P., Kaunismäki, M.: Milchwissenschaft **55** (10) 569-571 (2000)
16. Alting, A.C., Hamer, R.J., de Kruif, C.G., Paques, M., Visschers, R.W.: Food Hydrocolloids **17** 469-479 (2003)
17. Vardhanabhuti, B., Foegeding, E.A., McGuffey, M.K., Daubert, C.R., Swaisgood, H.E.: Food Hydrocolloids **15** 165-175 (2001)
18. Otte, J., Ju, Z.Y., Skriver, A., Qvist, K.B.: J Dairy Sci **79** 782-790 (1996)
19. Oakenfull, D., Pearce, J., Burley, R.W.: In: Food proteins and their applications (eds. S. Damodaran and A. Paraf), Marcel Dekker, Inc., New York (1997)
20. Messens, W., Van Camp, J., Huyghebaert, A.: Trends Food Sci Technol **8** 107-112 (1997)
21. Rademacher, B., Borst, G., Fertsch, B., Hinrichs, J.: dms-Deutsche Molkerei Zeitung **122** (6) 246-250 (2001)
22. Kinsella, J.E., Whitehead, D.M., Brady, J., Bringe, N.A.: In: Developments in Dairy Chemistry-4 8 (ed. P.F. Fox), Elsevier Applied Science, London (1989)
23. Kneifel, W., Seiler, A.: Food Structure **12** 297-308 (1993)
24. Zayas, J.F.: Functionality of Proteins in Food. Springer-Verlag, Berlin (1997)
25. Chefftel, J.C., Cuq, J.L., Lorient, D.: Lebensmittelproteine, Behr's Verlag, Hamburg (1992)
26. Lorenzen, P.Chr.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **52** (1) 47-59 (2000)
27. Hoffmann, W.: In Vorbereitung
28. Schlimme, E., Clawin-Rädecker, I., Einhoff, K., Kiesner, C., Lorenzen, P.Chr., Martin, D., Meisel, H., Molkentin, J., Precht, D.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **48** (1) 5-36 (1996)
29. Morris, G.A.: Biotechnology and Genetic Engineering Reviews **19** 357-376 (2002)
30. De Witt, J.N.: In: Developments in Dairy Chemistry-4 8 (ed. P.F. Fox), Elsevier Applied Science, London (1989)
31. Cayot, P., Lorient, D.: In: Food proteins and their applications (ed. S. Damodaran und A. Paraf), Marcel Dekker, Inc., New York (1997)
32. Doi, E.: Trends Food Sci. Technol. **4** 1-5 (1993)
33. Morr, C.V., Foegeding, E.A.: Food Technol. **44** 100-111 (1990)
34. Haque, Z.U.: J Dairy Sci **76** 311-320 (1993)
35. Huffman, L.M.: In: Proceedings of the second International Whey Conference in Chicago, IDF, Brüssel (1998)
36. Matsumura, Y.; Lee, D.-S., Mori, T.: Food Hydrocolloids **14** 49-59 (2000)

5. Zusammenfassung

Lorenzen, P.Chr.: **Untersuchungen zu den hydrokolloidalen Eigenschaften von Milcheiweiß**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **55** (3) 197-211 (2003)

24 Chemie der Milch und Milchprodukte (Milcheiweiß, Hydrokolloide)

Die vorliegende Arbeit beschreibt den Einfluss unterschiedlicher Herstellungsverfahren wie der Anreicherung, Isolierung oder Fraktionierung von Milcheiweiß sowie variierender Milieubedingungen und einer enzymatischen Modifizierung auf die resultierenden hydrokolloidalen Eigenschaften der Proteinprodukte.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass Lösungen von Natriumcaseinat und Caseinfraktionen bei vergleichbaren Proteingehalten deutlich höhere Viskositätswerte aufweisen als solche mit Magermilch- oder Molkenproteinen. Dieses gilt insbesondere für

Kappa-Caseinlösungen. Mit zunehmenden Proteingehalten kommt es zur Sol- beziehungsweise Gelbildung der Caseinfraktionen. Dabei zeigen Beta-Casein-Sole eine Konsistenz, die mit der von Gelatinesolen vergleichbar ist, wohingegen Kappa-Casein in Wasser Gele von puddingartiger Konsistenz ausbildet. Das Wasserbindungsvermögen von Molkenproteinkonzentraten ist gering, wohingegen das von Molkenproteinisolat mit dem von Natriumcaseinat vergleichbar ist. Das Wasserbindungsvermögen der Produkte aus Magermilch steigt mit zunehmendem Protein- und Caseingehalt an. Ein überdurchschnittlich hohes Wasserbindungsvermögen weisen Caseinfraktionen – insbesondere das Kappa-Casein – auf. Am Beispiel der Gelbildungseigenschaften von Molkenproteinkonzentrat und Molkenproteinisolat wird aufgezeigt, dass die differierenden technofunktionellen Eigenschaften sowohl vom Herstellungsprozess als auch von der unterschiedlichen Zusammensetzung der Produkte abhängig ist. Die enzymatische Quervernetzung von Milcheiweiß führt – im Vergleich zu unbehandelten Systemen – zu einer Steigerung der Viskosität der Proteinlösungen sowie des Wasserbindungsvermögens und einer enzyminduzierten Gelbildung bei geringeren Substratkonzentrationen.

5. Summary

Lorenzen, P.Chr.: **Studies on the hydrocolloid-like properties of milk proteins.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **55** (3) 197-211 (2003)

24 Chemistry of milk and milk products (Milk protein, hydrocolloids)

The present study deals with the influence of different processing procedures like enrichment, isolation or fractionation of milk proteins as well as varying conditions of the medium, and an enzymatic modification on the resulting hydrocolloid-like properties of the protein products.

The studies revealed that sodium caseinate solutions and casein fractions display significantly higher viscosity values at comparable protein contents than solutions containing skimmilk proteins or whey proteins. This is particularly true for kappa casein solutions. Increasing protein contents lead to sol and/or gel formation of casein fractions. Beta-casein sols display a consistency comparable to that of gelatin sols whereas kappa casein forms gels of pudding-like consistency in water. The water binding capacity of whey protein concentrates is low. However, the water binding properties of whey protein isolate are comparable to that of sodium caseinate. The water binding capacity of protein products from skim milk increases with higher protein and casein content, respectively. Casein fractions, particularly kappa casein, display a water binding capacity above average. Regarding the gel forming properties of whey protein concentrate and whey protein isolate it is demonstrated that the differing techno-functional properties are dependent on the processing procedures and on the different composition of the products. When compared to untreated systems the enzymatic crosslinking of milk protein leads to an increased viscosity of protein solutions and of the water binding capacity, as well as to an enzymatically induced gel formation at lower substrate concentrations.

5. Résumé

Lorenzen, P.Chr.: **Etudes sur les propriétés hydrocolloïdales des lactoprotéines.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsbericht **55** (3) 197-211 (2003)

24 Chimie du lait et des produits laitiers (lactoprotéine, hydrocolloïdes)

L'étude présente décrit l'influence de différents procédés de traitement comme l'enrichissement, l'isolation ou le fractionnement des lactoprotéines ainsi que de la modification enzymatique sur les propriétés hydrocolloïdales de produits protéiniques.

Les études ont révélé que les solutions de caséinate de sodium et les fractions de caséine avec des teneurs en protéines comparables affichent des valeurs de viscosité nettement plus élevées que des solutions contenant des protéines de lait écrémé ou des protéines de lactosérum. Ceci vaut avant tout pour les solutions caséine kappa. Des teneurs croissantes en protéines mènent à la formation de saumure et/ou de gel des fractions caséines. Des saumures de beta-caséine ont une consistance comparable à celles des saumures de gélatine tandis que kappa caséine forme des gels dans l'eau ayant une consistance comparable à celle d'un pudding. La capacité d'absorption d'eau des concentrés de protéines de lactosérum est faible tandis que celle des isolats de protéines de lactosérum est comparable à celle du sodium caséinate. La capacité d'absorption d'eau de produits à base de lait écrémé augmente avec des teneurs plus élevées en protéines et caséine. Des fractions de caséine, en particulier kappa caséine, ont une capacité d'absorption d'eau au-dessus de la moyenne. Concernant les propriétés de formation de gel du concentré de protéines de lactosérum et de l'isolat de protéines de lactosérum, il est démontré que des propriétés techno-fonctionnelles différentes dépendent des procédures de traitement et de la composition différente des produits. Comparée aux systèmes non-traités, la réticulation enzymatique des protéines de lactosérum mène à une viscosité plus élevée des solutions de protéines et de la capacité d'absorption d'eau, de même qu'à une formation de gel enzymatiquement induite en présence de concentrations faibles de substrat.