

# Auswirkung der enzymatischen Quervernetzung von Milchproteinen auf die resultierenden Eigenschaften von Joghurtherzeugnissen

Von P.Chr. Lorenzen, A. Mautner und E. Schlimme

Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Milchforschung, Postfach 60 69, 24121 Kiel

## 1. Einleitung

Transglutaminase (EC 2.3.2.13) katalysiert einen Acylgruppen-Transfer zwischen  $\gamma$ -Amidgruppen peptidgebundener Glutamylreste (Acyl Donor) und primären Aminogruppen in einer Reihe von Aminokomponenten (Acyl Acceptor), einschließlich peptidgebundener  $\epsilon$ -Aminogruppen von Lysylresten unter Bildung von  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)-Lysin-Isopeptidbindungen. Die Verknüpfung peptidgebundener Glutamyl- und Lysylreste führt dabei zu Proteinpolymeren. Darüber hinaus kann Transglutaminase die enzymatische Desaminierung von Glutamylresten katalysieren, wobei Wasser als Nucleophil dient und Ammoniak freigesetzt wird (1,2).

Transglutaminase ist ein membrangebundenes Enzym, das mit hoher Aktivität in Leber, Pankreas, Milz, Niere und Dünndarm von Säugern vorkommt. Zu biochemisch-analytischen Zwecken wird dieses Enzym überwiegend aus Meerschweinchenleber gewonnen. Aufgrund der hohen Herstellungskosten für dieses Enzym wurde ein Screening an Mikroorganismen durchgeführt und aus *Streptoverticillium* subsp. eine nicht-membrangebundene Transglutaminase isoliert, die eine calciumunabhängige Synthese von Isopeptidbindungen katalysiert (2,3).

Zur Modifizierung technofunktionaler Eigenschaften von Lebensmittelproteinen, insbesondere zur Verbesserung der Gelbildung, Wasserbindung, Hitzestabilität und rheologischer Eigenschaften, wurde die enzymatische Quervernetzung mittels Transglutaminase im Modellsystem an Substraten wie Molkenprotein, Casein, Sojaprotein, Fischprotein, sowie Fraktionen dieser Eiweißstoffe ausgeführt (4-13). Die an Molken-eiweiß (4-6), Casein (6-10) und Magermilchprotein (9) durchgeführten Untersuchungen dienten dabei insbesondere zur Charakterisierung der resultierenden Eigenschaften der modifizierten Produkte. Orientierende Arbeiten zeigen Ergebnisse zu prinzipiellen Möglichkeiten der Anwendung der Transglutaminase in der Milchprodukttechnologie (14,15). Detaillierte Arbeiten über den Einsatz von Transglutaminase zur Vernetzung der Milchproteine in der Herstellung von Joghurtherzeugnissen finden sich dagegen in der Literatur nicht. Technologische Anwendung findet die enzymatische Quervernetzung aber schon heute in der Herstellung von Fleisch- und Wurstwaren (16,17) sowie in der Herstellung von Krabbenfleischsubstituten (Kamaboko, Surimi) aus Weißfisch (18, 19). Mehr als 80 Patente und Patentanmeldungen machen deutlich, daß dieses Thema von hohem wirtschaftlichen Interesse ist (20-23).

Eine enzymatische Quervernetzung von Proteinen ist auch mit Hilfe der Peroxidase (EC 1.13.11.12) möglich. Die Inkubation von Proteinen mit Peroxidase/ $H_2O_2$ , die zur Bildung von Dityrosinresten führt, wurde ebenfalls mit verschiedenen Lebensmittelproteinen ausgeführt (24). Die technofunktionalen Eigenschaften der mit Peroxidase quervernetzten Proteine sind allerdings als negativ zu bezeichnen. Die Dityrosinreste können vom intestinalen Enzymsystem nicht gespalten werden (1).

Neben den Möglichkeiten zur Verbesserung der Textur und Konsistenz von Lebensmitteln ist die enzymatische Quervernetzung zur Herstellung von Folien aus Molkenproteinen genutzt worden (25,26).

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist die Quervernetzung ebenfalls von Bedeutung, weil sie zur Bildung von Isopeptidbindungen führt, die von den Peptidasen des Magens und der Bauchspeicheldrüse nicht gespalten werden. Yasumoto und Suzuki (27) konnten Isopeptidbindungen in nativen Proteinen nachweisen und zeigen, daß Glutamyllysin ( $N^\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)-Lysin-Isopeptidbindung) im Blut durch ein bis dahin nicht beschriebenes Enzym ( $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl)lysin-Hydrolase) zu Glutaminsäure und Lysin gespalten wird. Nach Seguro et al. (28,29) können die  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)Lys-Bindungen (Isopeptidbindungen) durch eine im Bürstensaum des Dünndarms lokalisierte  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase gespalten werden. Um die wahre Verdaulichkeit von Transglutaminase-behandeltem,  $^{15}\text{N}$ -markiertem Casein zu ermitteln, wurden Untersuchungen an Göttinger Miniaturschweinen ausgeführt, die zur Zeit ausgewertet werden (30). Das Isopeptid  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)-Lysin wird mit Hilfe einer speziell optimierten Aminosäureanalytik quantitativ nachgewiesen (31).

Milch zur Herstellung von Sauer Milchprodukten, insbesondere Joghurtherzeugnissen, muß durch Erhöhung der Trockenmasse, des Eiweißgehaltes und/oder durch Zugabe von Hydrokolloiden stabilisiert werden, damit die Milcherzeugnisse die vorgegebene Haltbarkeitsdauer sowie Transporte ohne Synärese und ohne Beschädigung der Konsistenz überstehen können. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Auswirkung der enzymatischen Quervernetzung von Proteinen auf die Produktbeschaffenheit von Joghurtherzeugnissen geprüft.

## 2. Material und Methoden

Zur enzymatischen Quervernetzung ( $S=3,4-5,2\%$ ;  $E/S=1/2000$ ;  $T=40^\circ\text{C}$ ;  $t=120\text{min}$ ;  $\text{pH}=6,6-6,7$ ) wurden Magermilch, fettarme Milch, Vollmilch und Sahne eingesetzt. Die Reaktion mit Transglutaminase (Activa, Ajinomoto Europe Sales GmbH, Hamburg, 1000 U/g) wurde durch Erhitzung ( $80^\circ\text{C}$ , 1 min) gestoppt. Zur Fermentation auf  $\text{pH } 4,68$  wurde eine Mehrspecieskultur aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Joghurt 231, Visbyvac, Wisby, Niebüll) eingesetzt. In Abbildung 1 ist der Verfahrensablauf zur Herstellung von stichfestem Joghurt aus enzymbehandelter und unbehandelter Milch dargestellt.

Die Untersuchung der Joghurtproben erfolgte nach 1, 8, 15 und 22 Tagen Lagerung bei  $6^\circ\text{C}$ . Die Bestimmung des pH-Wertes und des Säuregrades nach Soxhlet-Henkel ( $^\circ\text{SH}$ ) erfolgte entsprechend dem VDLUFA-Methodenbuch, Band VI (1985). Die Bestimmung der Joghurtgelfestigkeit und der Synärese (Molkenlässigkeit) wurde mit instituts-internen Methoden ausgeführt (32):

Bestimmung der Joghurtgelfestigkeit: Die auf  $6^\circ\text{C}$  gekühlten Proben werden mittels einer Penetrationsmessung unter den folgenden Bedingungen vermessen: Gerät: Stevens Texture Analyser (Fa. Stevens, England), zylindrischer Stempel, Stempelfläche:  $5,07 \text{ cm}^2$ , Eindringtiefe: 20 mm, Eindringgeschwindigkeit: 1 mm/s. Von jeder Probe wird eine Doppelbestimmung ausgeführt. Die Festigkeit wird in  $\text{Newton/cm}^2$  Stempelfläche angegeben.

Bestimmung der Molkenlässigkeit: Auf einem Metallsieb, das auf ein Becherglas aufgelegt wird, werden mit Hilfe eines Speiseeisportionierers ca. 30 g Joghurt genau eingewogen. Die nach einer Lagerung von 2 Stunden bei  $6^\circ\text{C}$  abtropfende Molkenmenge wird prozentual auf das Ausgangsgewicht bezogen und dient als Maß für die Molkenlässigkeit. Von jeder Probe wird eine Doppelbestimmung ausgeführt.

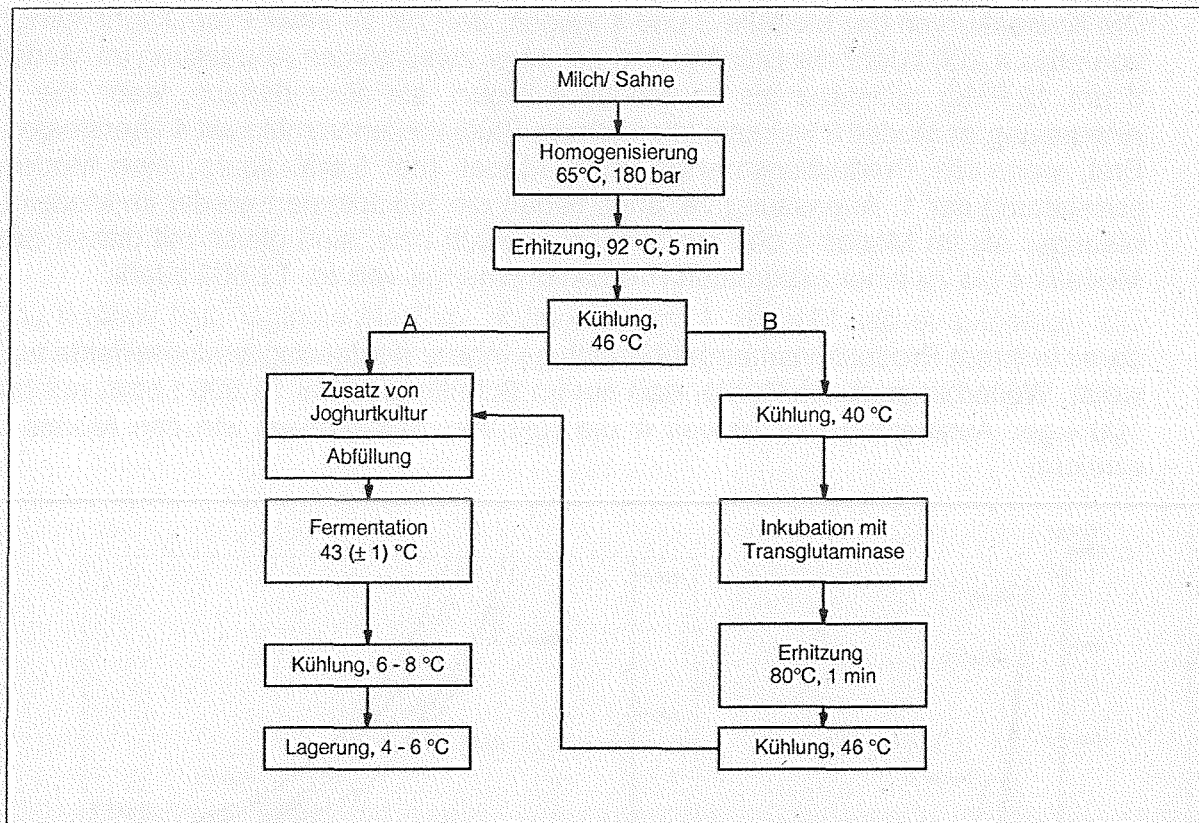


Abb. 1: Verfahrensablauf zur Herstellung von stichfestem Joghurt aus Transglutaminase-behandelter Milch (Weg B) und aus nicht-behandelter Milch (Weg A)

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Die experimentellen Studien zur Herstellung und Charakterisierung der enzym-behandelten Joghurtherzeugnisse haben – unabhängig von der Variation der untersuchten Parameter – in der Tendenz häufig zu vergleichbaren Ergebnissen geführt. So sind die Fermentationszeiten zur Joghurtherstellung mit Transglutaminase-behandelter Milch in der überwiegenden Mehrzahl der Untersuchungen um 20-40 Minuten länger als mit nicht-behandelter Milch. Die Fermentationsprofile in Abbildung 2 zeigen beispielhaft, daß der pH-Verlauf der Proben im ersten Drittel der Fermentation noch weitgehend ähnlich verläuft. Im weiteren Fermentationsverlauf fallen dann die pH-Werte in unbehandelter Milch deutlich schneller ab als in enzymbehandelter Milch. Der verlangsamte Säuerungsverlauf in enzymbehandelter Milch läßt darauf schließen, daß das Wachstum der Joghurtkulturen behindert wird. In den Joghurtherzeugnissen aus modifizierter Milch ist die Anzahl an koloniebildenden Einheiten *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* geringer als in den nicht-behandelten Joghurtproben.

Entsprechend der verlangsamten Fermentation von Transglutaminase-behandelter Milch ist auch die Nachsäuerung (titrierbare Acidität, Abb. 3) während einer dreiwöchigen Lagerung bei 6°C in Joghurtproben aus behandelter Milch um 4-6 % geringer als in Proben aus unbehandelter Milch.

Die Gelfestigkeit der Joghurtproben aus enzymbehandelter Milch ist erheblich höher als die aus unbehandelter Milch. Aus Abbildung 4 geht hervor, daß die Gelfestigkeit beispielsweise von Vollmilchjoghurt einen Tag nach der Herstellung mit 0,22 N/cm<sup>2</sup> fast

das Doppelte derjenigen des nicht-behandelten Produktes ( $0,13 \text{ N/cm}^2$ ) aus der gleichen Milch beträgt. Im Verlauf einer dreiwöchigen Lagerung bei  $6^\circ\text{C}$  nimmt die Festigkeit der Produkte aus behandelter Milch im Mittel um 29 % zu, wohingegen die Gelfestigkeit der unbehandelten Proben um 22 % ansteigt. Die Ursache für die höhere Gelfestigkeit enzymbehandelter Proben ist in einer deutlich geringeren Maschenweite des Proteinnetzwerkes aus behandelter Milch zu sehen (33). Ein stabileres Proteinnetzwerk bedingt eine höhere Festigkeit der Joghurtgele und gleichzeitig eine verringerte Molkenlässigkeit oder Synärese der Produkte (Abb. 5).

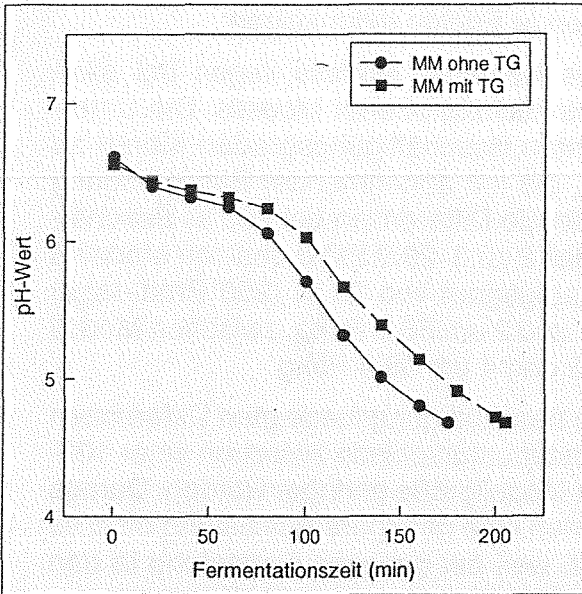


Abb. 2: Fermentationsprofile von Magermilch (MM) mit und ohne Transglutaminasebehandlung (TG).

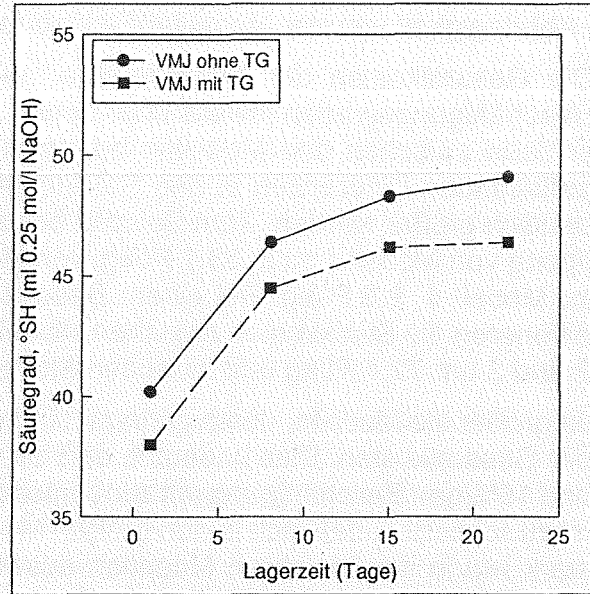


Abb. 3: Titrierbare Acidität ( $^\circ\text{SH}$ ) von Vollmilchjoghurt (VMJ) aus enzymbehandelter (TG) oder unbehandelter Milch während einer dreiwöchigen Lagerung bei  $6^\circ\text{C}$

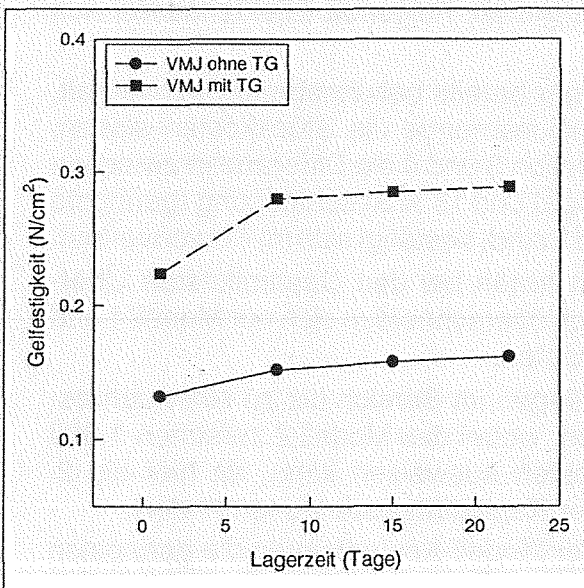


Abb. 4: Gelfestigkeit von Vollmilchjoghurt (VMJ) aus enzymbehandelter (TG) oder unbehandelter Milch während einer dreiwöchigen Lagerung bei  $6^\circ\text{C}$ .

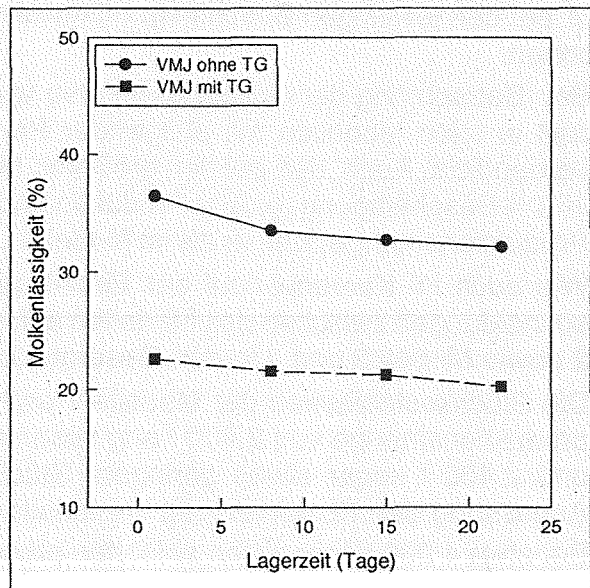


Abb. 5: Molkenlässigkeit von Vollmilchjoghurt (VMJ) aus enzymbehandelter (TG) oder unbehandelter Milch während einer dreiwöchigen Lagerung bei  $6^\circ\text{C}$ .

Die Oberfläche der Joghurtproben aus behandelter Milch ist in der Mehrzahl der Untersuchungen glatt und trocken. Sie erscheint weißer als die Oberfläche von Joghurtproben aus unbehandelter Milch, die darüber hinaus häufig eine raue und feuchte Oberfläche aufweisen. Joghurtproben aus enzymbehandelter Milch weisen einen milderem Geschmack auf als die Vergleichsproben. Der haptische Sinneseindruck (mouth feeling) quervernetzter Proben wird als vergleichsweise fest bewertet.

In Abbildung 6 ist die Abhängigkeit der Gelfestigkeit von Joghurtproben aus quervernetzter und nicht-vernetzter Magermilch vom Trockenmassegehalt dargestellt. Es wird deutlich, daß die Gelfestigkeit in beiden Versuchsreihen mit zunehmender Trockenmasse ansteigt. Allerdings ist die Festigkeit in den enzymbehandelten Proben - unabhängig vom Trockenmassegehalt - mit Werten von 0,28-0,46 N/cm<sup>2</sup> in etwa doppelt so hoch wie in den unbehandelten Milchproben (0,14-0,32 N/cm<sup>2</sup>). Weiterhin ist ablesbar, daß der enzymbehandelte Magermilchjoghurt die gleiche Gelfestigkeit aufweist wie Joghurt aus unbehandelter Milch mit einer um 2 % erhöhten Trockenmasse. In den vorliegenden Untersuchungen konnte durch die enzymatische Quervernetzung der Magermilchproteine ca. 2 % fettfreie Milchtrockenmasse ersetzt werden. Die Molkenlässigkeit der Joghurtproben hat mit zunehmender Trockenmasse abgenommen. Die Synäreseraten der Produkte nach Enzymbehandlung lagen im Mittel um 30-50 % unter denen der Vergleichsproben ohne Quervernetzung.

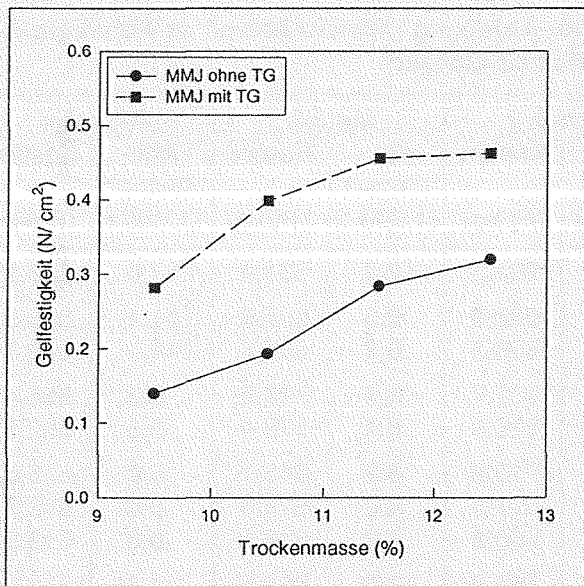


Abb. 6: Abhängigkeit der Gelfestigkeit von Joghurt aus enzymbehandelter (TG) und unbehandelter Magermilch mit unterschiedlichen Trockenmasse gehalten.

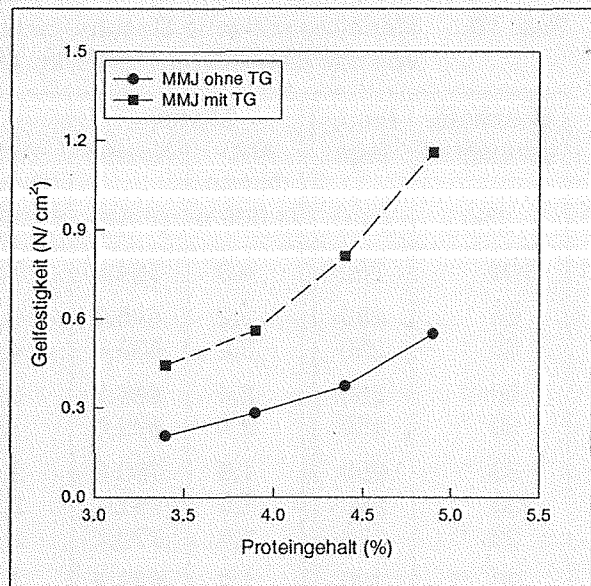


Abb. 7: Abhängigkeit der Gelfestigkeit von Joghurt aus enzymbehandelter (TG) und unbehandelter Magermilch mit unterschiedlichen Proteingehalten.

Abbildung 7 zeigt die Gelfestigkeit von Magermilchjoghurt aus Transglutaminase-behandelter und unbehandelter Milch in Abhängigkeit vom Proteingehalt auf. Die Abbildung macht deutlich, daß die Gelfestigkeit quervernetzter Joghurtproben mit zunehmendem Proteingehalt von 0,44 bis 1,16 N/cm<sup>2</sup> überdurchschnittlich ansteigt. Der enzymbehandelte Magermilchjoghurt ohne Proteinanreicherung weist mit 0,44 N/cm<sup>2</sup> eine höhere Gelfestigkeit auf als Joghurt aus unbehandelter Milch mit 1 % Proteinanreicherung (0,37 N/cm<sup>2</sup>). Durch die enzymatische Quervernetzung der Magermilchproteine konnte in den vorliegenden Untersuchungen 1 % Milchprotein ersetzt werden. Ein um 0,5 % proteinangereicherter, quervernetzter Magermilchjoghurt weist mit

0,56 N/cm<sup>2</sup> die gleiche Gelfestigkeit auf wie Joghurt aus unbehandelter Milch mit einem um 1,5 % erhöhten Proteingehalt (0,55 N/cm<sup>2</sup>). Die Milchproteinanreicherung führte zu einer drastischen Verringerung der Molkenlässigkeit. Die Synäreseraten der Proben aus vernetzter Milch konnten von 24 % für Magermilchjoghurt auf 9,2 % bei Zusatz von 1,5 % Protein gesenkt werden. Für Joghurtproben aus nicht-behandelter Milch betragen die entsprechenden Werte 38,6 % und 15,7 %.

In Abbildung 8 ist die Gelfestigkeit von Magermilchjoghurt, fettarmem Joghurt sowie Vollmilch- und Sahnejoghurt aus Transglutaminase-behandelter und unbehandelter Milch dargestellt. Bis zu Fettgehalten von 3,5 % (Vollmilch) weisen enzymbehandelte Joghurtproben dabei leicht höhere Gelfestigkeiten auf als nicht-behandelte Proben. Bei Sahnejoghurt zeigt sich ein umgekehrtes Bild. Insgesamt hat die Erhöhung des Fettgehalts mindestens den gleichen positiven Effekt auf die Stabilität der Joghurtgele wie eine enzymatische Quervernetzung der Milchproteine mit dem Enzym Transglutaminase.

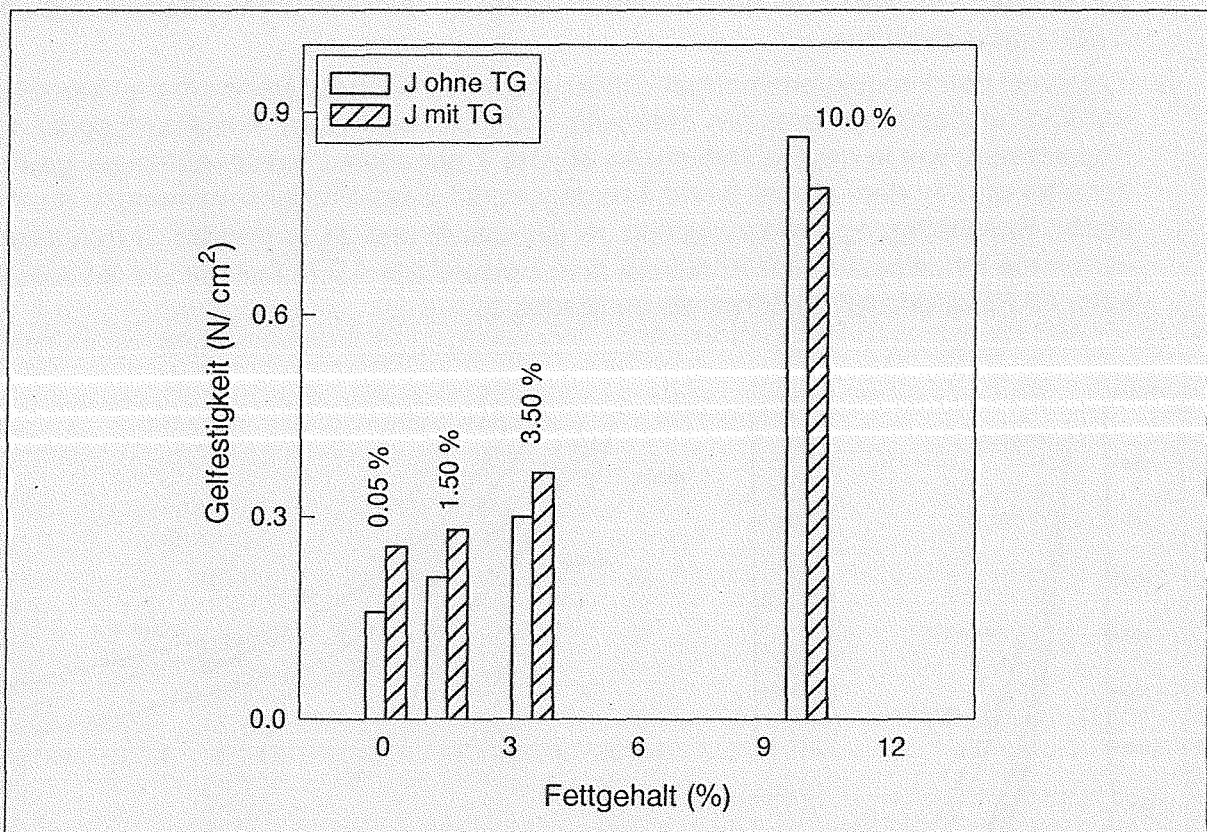


Abb. 8: Abhängigkeit der Gelfestigkeit von Joghurt aus enzymbehandelter (TG) und unbehandelter Milch mit unterschiedlichen Fettgehalten.

## Danksagung

Die Arbeiten wurden aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen "Otto von Guericke" e.V. gefördert. Die experimentellen Studien enthalten wesentliche Ergebnisse der Dissertation von Frau Annette Mautner, Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der Universität Kiel. Die Autoren danken der Firma Ajinomoto für das Enzympräparat und Herrn Ernst Johannsen für exzellente technische Assistenz.

#### 4. Literaturverzeichnis

- (1) Singh, H.: Trends in Food Science & Technology 2 196-200 (1991)
- (2) Ikura, K., Sasaki, R., Motoki, M.: Comments Agric. & Food Chemistry 2 (6) 389-407 (1992)
- (3) Loewy, A.G.: In: Methods in Enzymology (Eds. F. Wold, K. Moldave) Vol. 107 241-257 (1984)
- (4) Mahmoud, R., Savello, P.: J. Dairy Sci. 73 256-263 (1990)
- (5) Tanimoto, S.-Y., Kinsella, J.E.: J. Agric. Food Chem. 36 281-285 (1988)
- (6) Traore, F., Meunier, J.-C.: J. Agric. Food Chem. 40 399-402 (1992)
- (7) Traore, F., Meunier, J.-C.: J. Agric. Food Chem. 39 1892-1896 (1991)
- (8) Ikura, K., Kometani, T., Yoshikawa, M., Sasaki, R., Chiba, H.: Agric. Biol. Chem. 44 (7) 1567-1573 (1980)
- (9) Nonaka, M., Sakamoto, H., Toiguchi, S., Kawajiri, H., Soeda, T., Motoki, M.: J. Food Sci. 57 (5) 1214-1218, 1241 (1992)
- (10) Lorenzen, P.Chr., Schlimme, E., Roos, N.: Nahrung-Food 42 (3/4) 151-154 (1998)
- (11) Sethu-Rao, D.: Indian Dairyman 43 (11) 514-517 (1991)
- (12) Nonaka, M., Toiguchi, S., Sakamoto, H., Kawajiri, H., Soeda, T., Motoki, M.: Food Hydrocolloids 8 (1) 1-8 (1994)
- (13) Chanyongvorakul, Y., Matsumura, Y., Nonaka, M., Motoki, M., Mori, T.: J. Food Science 60 (3) 483-488, 493 (1995)
- (14) Lorenzen, P.Chr., Schlimme, E.: Bulletin of the International Dairy Federation No. 332, 47-53 (1998)
- (15) Lorenzen, P.Chr., Schlimme, E.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 49 (3) 221-227 (1997)
- (16) Wijngaards, G.: Industrial Proteins 2 (1) 6-7 (1995)
- (17) Anwendungsbroschüren der Firma Ajinomoto Co., Japan
- (18) Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Toiguchi, S., Motoki, M.: J. Food Science 60 (2) 305-311 (1995)
- (19) Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Toiguchi, S., Seguro, K., Soeda, T., Motoki, M.: J. Food Science 60 (2) 300-304 (1995)
- (20) Nielsen, P.M., Petersen, R. B., Budolfson, G.: PCT International Patent Application WO 93/19610
- (21) Budolfson, G., Nielsen, P.M.: PCT International Patent Application WO 94/21129
- (22) Budolfson, G., Nielsen, P.M.: PCT International Patent Application WO 94/21130
- (23) Nielsen, P.M.: Food Biotechnology 9 (3) 119-156 (1995)
- (24) Aeschbach, R., Amado, R., Neukom, H.: Biochim. Biophys. Acta 439 292-301 (1976)
- (25) Mahmoud, R., Savello, P.: J. Dairy Sci. 75 942-946 (1992)
- (26) Mahmoud, R., Savello, P.: J. Dairy Sci. 76 29-35 (1993)
- (27) Yasumoto, K., Suzuki, F.: J. Nutr. Sci. Vitaminol. 36 71-77 (1990)
- (28) Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Ide, H., Nio, N., Motoki, M., Kubota, K.: J. Agric. Food Chem. 43 1977-1981 (1995)
- (29) Seguro, K., Kumazawa, Y., Kuraishi, C., Sakamoto, H. & Motoki, M.: J. Nutr. 126 2557-2562 (1996)
- (30) Roos, N., Lorenzen, P.Chr., Sick, H., Mautner, A., Schrezenmeir, J., Schlimme, E.: In Vorbereitung
- (31) Mautner, A., Meisel, H., Lorenzen, P.Chr., Schlimme, E.: In Vorbereitung
- (32) Lorenzen, P.Chr.: Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 45 (2) 137-143 (1993)
- (33) Lorenzen, P.Chr., Seiler, M., Schlimme, E.: In Vorbereitung.

#### 5. Zusammenfassung

Lorenzen, P.Chr., Mautner, A., Schlimme, E.: **Auswirkung der enzymatischen Quervernetzung von Milchproteinen auf die resultierenden Eigenschaften von Joghurtherzeugnissen.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 51 (1) 89-97 (1999)

#### 24 Enzymatische Quervernetzung, Joghurtherstellung

Im Rahmen eines Forschungsvorhabens (AiF-Vorhaben-Nr. 11247 N) wurden Untersuchungen zur Quervernetzung der Milchproteine mit mikrobieller Transglutaminase (EC 2.3.2.13) in der Joghurtherstellung ausgeführt. Erhitzte Milch (92°C, 5min) wurde

enzymatisch quervernetzt (S=3,4 %; E/S=1/2000; T=40°C, t=120min; pH=6,6-6,7). Die Reaktion mit Transglutaminase wurde durch eine weitere Erhitzung (80°C, 1min) gestoppt. Zur Fermentation auf pH 4,68 wurde eine Mehrspecieskultur aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* eingesetzt. Die Auswirkung der enzymatischen Modifizierung wurde durch Beurteilung des Fermentationsverlaufes und Messung von Qualitätsparametern wie Acidität, Gelfestigkeit und Synärese der Produkte analysiert. In der überwiegenden Mehrzahl der Untersuchungen waren die Fermentationszeiten zur Joghurtherstellung (pH 4,68) aus enzymbehandelter Milch länger als aus unbehandelter Milch. In gleicher Weise war die Nachsäuerung in Joghurtproben aus enzymbehandelter Milch während einer dreiwöchigen Lagerung bei 6°C geringer als die Nachsäuerung in Proben aus unbehandelter Milch. Die Gelfestigkeit der Joghurtproben aus quervernetzter Milch lag in der Regel höher als die aus nicht-vernetzter Milch. Die Molkenlässigkeit wurde durch die enzymatische Modifizierung deutlich verringert. Darüber hinaus zeigten Joghurtproben aus enzymbehandelter Milch in der überwiegenden Mehrzahl der Untersuchungen eine trockene, glatte und weißglänzende Oberfläche sowie einen milderen Geschmack als Proben aus nichtbehandelter Milch. Mit zunehmender Trockenmasse nahm die Gelfestigkeit zu, wobei die Festigkeit in den enzymbehandelten Proben doppelt so hoch war wie in den unbehandelten Joghurtherzeugnissen. Die Anreicherung mit Milchproteinen führte zu einem exponentiellen Anstieg der Gelfestigkeit und zu einer entsprechend reziproken Verminderung der Molkenlässigkeit. Bis zu einem Fettgehalt von 3,5 % wiesen enzymbehandelte Proben eine höhere Stabilität auf als unbehandelte Proben. Bei Sahnejoghurt zeigte sich dagegen ein umgekehrtes Bild.

## Summary

Lorenzo, P.Chr., Mautner, A., Schlimme, E.: **Effect of enzymatic crosslinking of milk proteins on the resulting properties of yoghurt products.** Kieler Milch-wirtschaftliche Forschungsberichte **51** (1) 89-97 (1999)

## 24 Enzymatic crosslinking, yoghurt manufacture

In the frame of a research project (AiF-project-No. 11247 N) the crosslinking of milk proteins with microbial transglutaminase (EC 2.3.2.13) was investigated in the yoghurt manufacture. Heated milk (92°C, 5min) was enzymatically crosslinked (S=3.4%; E/S=1/2000; T=40°C; t=120min; pH=6.6-6.7). A further heating (80°C, 1min) stopped the reaction with transglutaminase. A culture from *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* was used for fermentation at pH 4.68. The effects of the enzymatic modification were analyzed by evaluating the fermentation curve and by measuring quality parameters as acidity, gel strength and products' syneresis. Most of the investigations showed longer fermentation times for the yoghurt manufacture (pH 4.68) from enzyme treated milk than from untreated milk. Similarly, the acidification in yoghurt samples from enzyme treated milk during a three-week storage at 6°C was lower than the one of samples from untreated milk. The gel strength of yoghurt samples from crosslinked milk was generally higher than the one from non-crosslinked milk. The whey syneresis was significantly reduced by the enzymatic modification. Furthermore, the yoghurt samples from enzyme treated milk showed a dry, smooth and white shining surface in most of the investigations and were of a milder taste than samples from untreated milk. The gel strength increased with increasing dry matter whereas the strength in the enzyme treated samples was twice as high as in untreated yoghurt



products. The enhancement with milk proteins led to an exponential increase of the gel strength and to a corresponding, reciprocal decrease of the whey syneresis. Up to a fat content of 3.5 % enzyme treated samples showed a higher stability than untreated samples. Inverted results were obtained for cream yoghurt.

## Résumé

Lorenzen, P.Chr., Mautner, A., Schlimme, E.: **Effet du crosslinking enzymatique de protéines sur les caractéristiques des divers yaourts.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **51** (1) 89-97 (1999)

## 24 Crosslinking enzymatique, production de yaourt

Dans le cadre d'un projet de recherches (AiF-projet-No. 11247 N), le crosslinking de protéines lactiques avec la transglutaminase microbienne (EC 2.3.2.13) a été étudié pour la production de yaourt. Dans ce contexte, on a procédé au crosslinking de lait échauffé (92°C, 5min) (S=3,4 %; E/S=1/2000; T=40°C, t=120min; pH=6,6-6,7). Un échauffement supplémentaire (80°C, 1min) a arrêté la réaction avec la transglutaminase. Une culture symbiote de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a été utilisée pour la fermentation à un pH de 4,68. Les effets de la modification enzymatique ont été analysés en évaluant la courbe de fermentation et en mesurant les paramètres de qualité comme l'acidité, la solidité de gel et la synérèse des produits. Dans la plupart des examens, on a pu relever des périodes de fermentation plus longues pour la production de yaourt (pH 4,68) à base de lait traité aux enzymes que pour celle à base de lait non-traité. De même, l'acidification dans des échantillons de yaourt à base de lait traité aux enzymes pendant un stockage de 3 semaines à 6°C a été inférieure à celle d'échantillons provenant de lait non-traité. La solidité de gel des échantillons de yaourt à base de lait "crosslinked" est en général plus élevée que pour des échantillons à base de lait non "crosslinked". La synérèse de lactosérum est considérablement réduite par la modification enzymatique. Pour la plupart des examens, contrairement aux échantillons provenant de lait non-traité, une surface sèche, lisse et à brillance blanche ainsi qu'un goût doux ont été relevés pour les échantillons de yaourt à base de lait traité aux enzymes. La solidité de gel augmente en fonction de la matière sèche croissante. Dans les échantillons traités aux enzymes, la solidité de gel est deux fois plus élevée que dans des produits de yaourt non-traités. L'accumulation avec des protéines lactiques a mené à une croissance exponentielle de la solidité de gel et à une diminution correspondante réciproque de la synérèse de lactosérum. Jusqu'à une teneur en graisse de 3,5 %, on a relevé une stabilité plus élevée pour les échantillons traités aux enzymes que pour ceux n'ayant pas été traités. Pour les yaourts crémeux, des résultats inverses ont été obtenus.