

Aus dem Institut für Chemie und Physik der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach

Wasser in Lebensmitteln*)

Von Dr. Reiner Hamm

Manche Lebensmittel enthalten bekanntlich große Mengen an Wasser. Der Wassergehalt des Fleisches beträgt z. B. etwa 75 %; in Früchten macht der Wasseranteil bis zu 85 % ihres Gewichtes aus. Da dieses Wasser beim Zerschneiden der Lebensmittel nicht ausfließt, muß es in irgendeiner Weise immobilisiert sein. Zweck der vorliegenden Abhandlung ist es nun, das Problem der Wasserbindung in Lebensmitteln und seine praktische Bedeutung zu diskutieren. Dabei erhebt sich zunächst die Frage, ob das im Lebensmittel festgehaltene Wasser von der Festsubstanz hydratisch gebunden wird. Hydratisch gebundenes Wasser ist dadurch charakterisiert, daß es einen niedrigeren Dampfdruck, einen tieferen Schmelzpunkt und ein geringeres Lösungsvermögen aufweist als freies Wasser. Die Bindung des Hydratwassers in mono- und multimolekularer Schicht wird in erster Linie durch die polaren Gruppen der makromolekularen Substanz (Proteine, Kohlenhydrate) vermittelt. Im Falle der Proteine konnte jedoch überzeugend nachgewiesen werden, daß auch unpolare Seitenketten erheblich zur Hydratation beitragen können²⁰). Bei wasserreichen Lebensmitteln ist derjenige Anteil des gesamten Wassers, der von Proteinen bzw. Kohlenhydraten hydratisch gebunden wird, nur gering. Proteine vermögen nur etwa 20 g Wasser pro 100 g Trockensubstanz hydratisch zu binden; im Fleisch z. B. aber kommen auf 100 g Protein 350—360 g Wasser. Unter bestimmten Bedingungen vermag Fleisch sogar 700—800 g Wasser pro 100 g Protein in immobilisiertem, d. h. schwer auspreßbarem Zustand festzuhalten. Noch größere Wassermengen vermögen Gelatine oder Pektine in Form ihrer Gele einzuschließen. Die Hauptmenge dieses Wassers liegt nicht hydratisch gebunden, sondern in physikalisch-chemischem Sinne „frei“ vor. Es gefriert bei derselben Temperatur

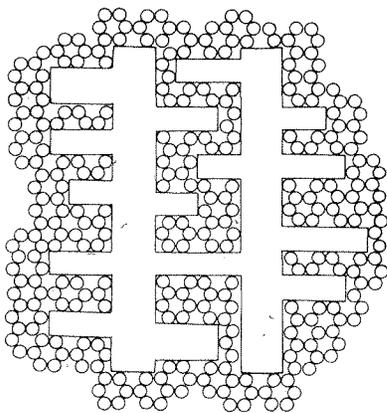


Abb. 1. Schematische Darstellung des eisartigen Charakters der Hydratationshülle eines Eiweißmoleküls (nach Klotz¹⁹)

und zeigt den gleichen Dampfdruck und das gleiche Lösungsvermögen wie normales Wasser. Es handelt sich also offenbar um „freies“ Wasser, welches durch ein Netzwerk von Makromolekülen, durch ein mehr oder weniger flexibles Gerüst aus Filmamenten und

Membranen immobilisiert ist¹⁸). Wir wissen nicht genau, welche Kräfte es sind, die in einem solchen Netzwerk die Beweglichkeit der Wassermoleküle einschränken. Es ist möglich, daß die Immobilisierung des freien Wassers zwischen den Makromolekülen auf der Bildung eisartiger Strukturen im Sinne der Vorstellungen von Klotz¹⁹) (Abb. 1) und von Szent-Györgyi²⁷) beruht. Es kann nach Szent-Györgyi als erwiesen gelten, daß sich kleine Kristallite um Oberflächen unter Bildung recht ausgedehnter Gitterstrukturen anordnen, deren geordneter Bereich mehrere hundert Moleküle tief in die Flüssigkeit hineinreicht.

Wenn wir auch die eigentlichen Kräfte nicht kennen, die das freie Wasser in kolloiden Systemen festhalten, so wissen wir doch einiges über die Voraussetzungen, die für eine Immobilisierung des Wassers notwendig sind. Biologische Strukturen mit hohem Wassergehalt, wie etwa begrenzt und unbegrenzt quellbare Gele, bestehen in der Regel aus einem Netzwerk anisodiametrischer Makromoleküle: Moleküle von großer Kettenlänge und geringer Dicke sind zu dreidimensionalen Gebilden vernetzt, in denen das Wasser bis zur Unbeweglichkeit festgehalten wird. Die Vernetzung kann bei den thermoreversiblen Nebervalenzgelen durch verhältnismäßig starke Wasserstoffbindungen, bei den heteropolaren, thermoirreversiblen Hauptvalenzgelen durch Salzbrückenbindungen oder auch durch mehrwertige Metallionen hergestellt werden. Wird die Kohäsion zwischen benachbarten Makromolekülen verringert, wie dies z. B. durch Erhöhung der elektrostatischen Abstoßung zwischen gleichsinnig geladenen Gruppen oder durch Schwächung der Wasserstoffbindungen eintreten kann, so kommt es unter Aufweitung des Netzwerkes zu einer Quellungszunahme (Abb. 2). Wenn schließlich die intermolekulare Kohäsion zu locker wird, so zerfällt das Netzwerk: Aus dem Gel entsteht eine kolloide Lösung. Wird hingegen die Anziehung zwischen den benachbarten Molekülen zu stark, wie dies etwa bei Erhöhung der elektrostatischen Anziehung entgegengesetzt geladener Gruppen oder bei starker Vernetzung durch mehrwertige Metallionen der Fall sein kann, so werden die für die Einlagerung von immobilisiertem Wasser zur Verfügung stehenden Räume zu klein: Es kommt zu einer Synärese des Gels, wobei ein Teil des gebundenen Wassers austritt und frei beweglich wird. Daraus folgt, daß für die maximale Quellung eines kolloiden Systems, d. h. für die maximale Einlagerung an immobilisiertem Wasser, die Kohäsionskräfte zwischen den Molekülen nicht wesentlich größer sein dürfen, als es zur Aufrechterhaltung der Netzwerk-Struktur eben notwendig ist (Abb. 2).

*) Erweiterte deutsche Fassung eines auf dem Symposium „Biochemistry and Biophysics in Food Research“ in Cambridge 1962 gehaltenen Vortrages mit dem Titel „The Water Imbibing Power of Foods“. Die Veröffentlichung geschieht mit Genehmigung des Verlages Butterworths, London, welcher die Vorträge des Symposiums unter dem Titel „Recent Advances in Food Science“ in Buchform herausgibt.

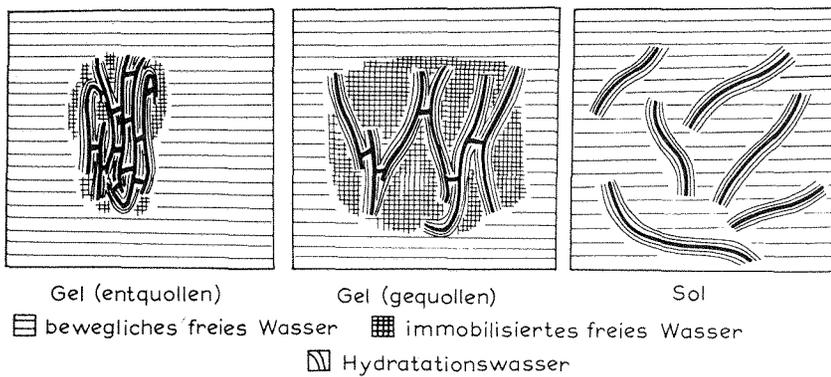


Abb. 2. Einfluß der Quervernetzung auf die Quellung eines makromolekularen Gels

Es seien nun diese Verhältnisse an einigen Beispielen erläutert.

Pektine sind Polygalacturonsäuremethylester, die feste, in der Lebensmittelindustrie häufig verwendeten Gele zu bilden vermögen. Auch hochveresterte Pektine enthalten in der Regel noch freie Carboxylgruppen. Die für die Gelbildung notwendige Vernetzung wird durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen diesen Carboxylgruppen, aber auch zwischen den Hydroxylgruppen benachbarter Moleküle ermöglicht (Abb. 3). Liegen die Carboxylgruppen in dissoziierter Form vor, so können sich die Pektinmoleküle durch elektrostatische Abstoßung zwischen diesen Gruppen so weit voneinander entfernen, daß die Ausbildung eines von Nebervalenzbindungen gebildeten Netzwerkes nicht mehr möglich ist¹⁸). Für die Herstellung von Gelen aus hochverestertem Pektin muß man daher die Dissoziation durch Zusatz von Säure (Einstellen auf pH 2,3—2,6) zurückdrängen.

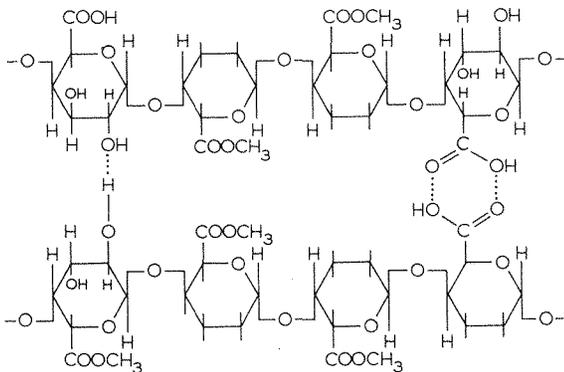


Abb. 3. Nebervalenzgel des Pektins 2)

Um hochveresterte Pektine zum Gelieren zu bringen, ist außerdem der Zusatz von Saccharose oder ähnlichen Substanzen (auch Alkohole oder Polyalkohole) notwendig (z. B. 60 g Zucker pro 100 g Gel). Die Wirkung von Zucker auf die Gelierung ist noch nicht völlig geklärt und beruht offenbar auf verschiedenen Ursachen. Schon *Goldthwaite*⁷⁾ nahm an, daß Zucker die schützende Hülle der Wassermoleküle von der Oberfläche der Pektinmoleküle entfernt und daß eine hierdurch ermöglichte Annäherung der Pektinmoleküle die Bildung vernetzend wirkender Nebervalenzbindungen ermöglicht. Nach *Speiser* u. a.²⁶⁾ besteht außerdem die Möglichkeit, daß bei der Gelierung eine Vernetzung durch Wasserstoffbindungen zwischen den Hydroxylgruppen des Zuckers und denen des Pektins zustande kommt.

Henglein u. a.¹⁵⁾ diskutieren eine Orientierung der Wasserdipole unter dem Einfluß der Saccharosemoleküle (Abb. 4); die Dipole ziehen sich gegenseitig an und tragen so zu einer Verfestigung des Geles bei, die um so stärker ist, je größer die Kettenlänge des Pektinmoleküles ist. Auch andere Polysaccharide, wie z. B. Stärke oder sogar Polykieselsäuren vermögen mit Zucker Gele zu bilden¹⁵⁾.

Mit zunehmender Entesterung nimmt die Gelfestigkeit zunächst zu, da mit steigender Zahl an freien Carboxylgruppen die Vernetzung durch Wasserstoffbindungen ansteigt. Dabei spielen sicher auch die sterischen Verhältnisse eine Rolle. Die —COO—CH₃—Gruppe mit ihrer Länge von 5,5 Å im Pektinmolekül verhindert ein engeres Zusammenrücken der Pektinmole-

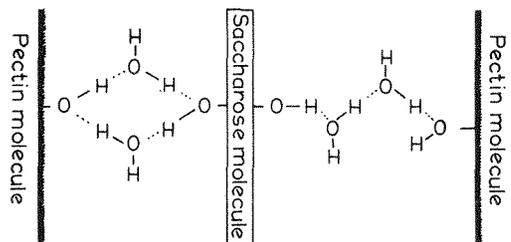


Abb. 4. Vermutliche Struktur eines Pektin-Zucker-Gels 15)

küle, so daß sich durch die sterische Hinderung nicht genügend Nebervalenzbindungen zwischen den OH-Gruppen ausbilden können. Bei noch stärker ansteigender Entesterung aber sinkt die Gelfestigkeit wieder ab, da durch zu starke Nebervalenz-Vernetzung die Löslichkeit des Pektins absinkt. Pektinsäure ist wasserunlöslich. Führt man sie durch Zusatz von Lauge in das Pektat über, so wird sie infolge der elektrostatischen Abstoßung der nunmehr dissoziierten Carboxylgruppen wasserlöslich¹⁴⁾.

Während hochveresterte Pektine nur in Gegenwart von Zucker gelieren, vermögen niederveresterte Pektine (Veresterungsgrad unter 40 %) auch ohne Zucker Gele zu bilden. Dies ist für die Verwendung der Pektine für Fisch- und Fleischwaren von Bedeutung. Die Herstellung von Gelen aus niederveresterten Pektinen bedarf der Gegenwart von Calcium-Ionen. Im Gegensatz zu den Systemen aus hochveresterten Pektinen und Zucker handelt es sich hier um die Bildung von Hauptvalenzgelen. Viele Autoren nehmen an, daß die zweiwertigen Kationen aufgrund der Salzbildung mit den Carboxylgruppen zweier benachbarter Pektinmoleküle vernetzend wirken und so die Ausbildung eines dreidimensionalen Gerüsts ermöglichen (Abb. 5). Der pH-Wert muß hier natürlich höher liegen als bei den hochveresterten Pektin Gelen, da die zur Salzbildung in Betracht kommenden Carboxylgruppen dissoziiert sein müssen. Erhöht man nun — bei mittleren pH-Werten (pH 3 bis 5) — die Calciumionen-Konzentration, so wird die Vernetzung so stark, daß Calciumpektinat ausflockt und daher das Gel zerstört wird¹⁾. Wir sehen also, daß für die Bildung von Nebervalenz- wie auch von Hauptvalenzgelen die Aufrechterhaltung eines bestimmten Gleichgewichtes zwischen intermolekularen Kohäsions- und Abstoßungs-Kräften notwendig ist.

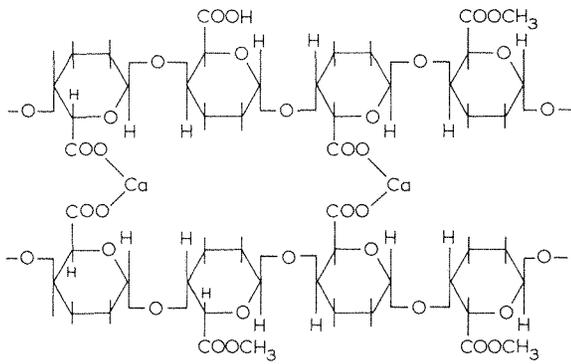


Abb. 5. Hauptvalenzgel des Pektins 2)

Im wasserunlöslichen, nativen Protopektin der Pflanzen sollen die nicht veresterten Carboxylgruppen ebenfalls durch zweiwertige Metallionen (Ca^{++} , Mg^{++}) vernetzt sein; auch durch Phosphorsäurereste gebildete Esterbindungen sollen vorkommen. Ist der Metallgehalt hoch, so liegt das Protopektin dank des hohen Vernetzungsgrades als Gerüstsubstanz vor; ist er geringer bzw. ist der Vernetzungsgrad niedriger, so vermag das Protopektin stärker zu quellen und damit bei der Wasserbindung innerhalb der Pflanze eine wichtige Rolle zu spielen.

Deuel u. a.⁵⁾ lehnen die Vorstellung einer irreversiblen Brückenbildung durch Calciumionen ab, da entsprechend dem Wesen der heteropolaren Bindung Calciumionen nicht bestimmten Carboxylgruppen im Pektinmolekül zugeordnet sein können, sondern ein elektrostatisches Gleichgewicht vorliege. In der Tat dürfte es sich hier nicht um eine normale salzartige Bindung handeln. Es wäre aber sehr wohl möglich, daß Calcium unter zusätzlicher Beteiligung von Hydroxylgruppen in Form eines Chelats gebunden wird und so eine von der sterischen Lage der Pektinmoleküle abhängige Querbindung hervorrufen kann.

Die Gelbildung der *Alginate*, der Polymannuron-säureester, wird von ähnlichen Faktoren beeinflusst wie dies bei den Hauptvalenzgelen der Pektine der Fall ist. Die fadenförmigen Makromoleküle sind im Alginatgel teils durch elektrostatische Kräfte, teils durch Wasserstoffbindungen miteinander verknüpft und bewegungsunfähig gemacht, wobei in den großen Zwischenräumen Wasser in immobilisiertem Zustand eingeschlossen ist. Der Einfluß von Calciumionen ist bei den Alginatgelen der gleiche wie bei den Pektin-gelen²¹⁾.

Ein anderes Kohlenhydratsystem, welches viel Wasser aufzunehmen vermag, ist die *Stärke*. Das Stärkekorn stellt ein begrenzt quellbares Gel mit kristallinen Eigenschaften dar. Das aus stark verzweigten Polysaccharidmolekülen aufgebaute Amylopektin bildet nach den Vorstellungen von *K.H.Meyer*²⁴⁾ ein Netzwerk, in dem ein Teil des Amylopektinmoleküls mit Teilen benachbarter Moleküle zu gitterartigen Bereichen zusammengelagert ist (Abb. 6), während der andere Teil des Amylopektinmoleküls von hydratisch gebundenen Wassermolekülen umgeben ist. Bei Behandeln des Stärkekorns mit heißem Wasser tritt „Verkleisterung“ ein, wobei das Amylopektin unter Abnahme der kristallinen Bereiche aufquillt. Durch irreversible Umlagerung der strukturbildenden Substanz bildet sich ein unbegrenzt quellbares Gel. Wahrscheinlich bedingt die Temperaturerhöhung eine Lösung von Wasserstoff-

bindungen zwischen den Hydroxylgruppen benachbarter Moleküle; sie ermöglicht ferner ein leichteres Eindringen von Wassermolekülen in die Struktur, da durch Erhitzen die Struktur des Wassers weitgehend zerstört wird²⁵⁾. Auch die an das Amylopektin gebundene Phosphorsäure dürfte für den Quellungsprozeß von Bedeutung sein. Beim Abkühlen erstarrt die verkleisterte Stärke zu einem mehr oder weniger festen Gel; hierbei wird das Wasser vermutlich durch ein Netzwerk von intermolekularen Wasserstoffbindungen immobilisiert. Der Gehalt des Stärkekorns an nicht quellbarer, aus unverzweigten Polysaccharidmolekülen zusammengesetzter Amylose vermag die Bildung und Eigenschaften von Stärkegelen stark zu beeinflussen.

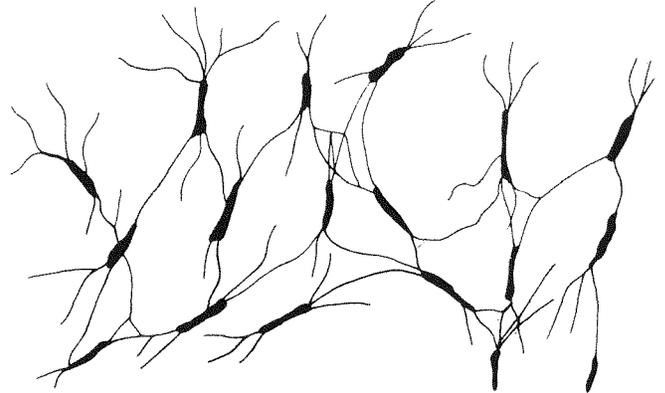


Abb. 6. Netzwerk von gequollenem Amylopektin. Die kristallinen Bereiche sind fett gezeichnet 24)

Wenden wir uns nun den Eiweißsystemen zu. Ein typisches, in der Lebensmittelindustrie viel verwendetes Eiweißgel ist die *Gelatine*. Die Gelierung von Gelatine, die schon bei 1%iger Konzentration eintreten kann, wird wie bei den Kohlenhydratgelen durch Ausbildung eines Netzwerkes ermöglicht, in dessen Maschen Wasser in immobilisierter Form festgehalten wird. (Abb. 7).

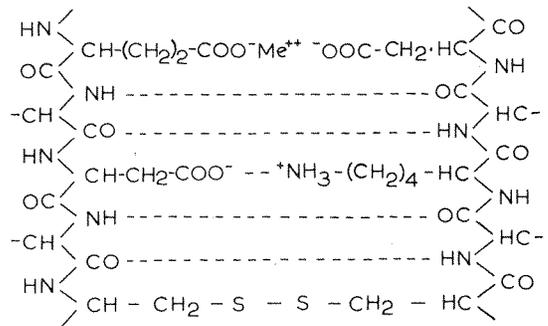


Abb. 7. Querverbindungen in Proteinen

Bei quellungsfähigen Eiweißstrukturen kommen folgende Querverbindungen zwischen den Polypeptidmolekülen in Betracht: 1. Nebenvalenz-Bindungen, nämlich Wasserstoffbindungen zwischen den Peptidgruppen, an denen wahrscheinlich auch Sulfhydryl- und Phenol-Gruppen beteiligt sein können; 2. Hauptvalenzbindungen: Disulfidbrückenbindungen, Salzbindungen zwischen dissoziierten Amino- und Carboxylgruppen der Seitenketten und Querverbindungen, die von salzartig gebundenen zweiwertigen Metallen gebildet werden; vernetzend wirkende Metalle können allerdings auch als Chelate oder Clathrate fest in die Eiweißstruktur eingebaut sein (Abb. 7). Während bei den Pektin-

tin praktisch an jeder Stelle der Molekülkette die Möglichkeit der Vernetzung besteht, sind die Peptidketten der Gelatine nur an einzelnen, weit voneinander entfernten Stellen miteinander verknüpft. Wie schon Herrmann und Gerngroß¹⁶⁾ feststellten, sind an solchen Stellen mehrere Peptidketten zusammengebündelt (Abb. 8) — nach Ferry⁶⁾ sind es allerdings wohl nur jeweils zwei Ketten — und bilden dann röntgenographisch nachweisbare kristalline Bereiche. Nach neueren Untersuchungen von Bello und Vinograd^{3, 4)} sind die Kräfte, welche die Peptidketten verknüpfen, bei den hochprozentigeren Gelatinen (z. B. 5 %) offenbar nicht elektrostatischer Art, denn eine Maskierung der polaren Gruppen durch chemische Modifikation beeinflusst die mechanischen Eigenschaften der Gelatinegele nur unwesentlich. Da es keinen Beweis dafür gibt, daß die unpolaren Seitenketten der Gelatine bei der Gelierung eine Rolle spielen, so kommen als Vernetzungsstellen nur Peptidgruppen in Betracht, die entweder mit oder ohne Beteiligung von Wasser miteinander durch Wasserstoffbindungen verknüpft sein können:



Tatsächlich vermag eine Blockierung der Peptidgruppen durch biuretartige Komplexbildung mit Cu(II)-Ionen das Gelieren völlig zu unterbinden. Nach Zersetzung dieses Komplexes durch Ansäuern oder Ionenaustausch tritt wieder Gelierung ein. Die Herabsetzung der Gelierfähigkeit von Gelatine durch bestimmte Salze beruht offenbar auf einer Störung dieser intermolekularen Wasserstoffbindungen durch Salzionen.

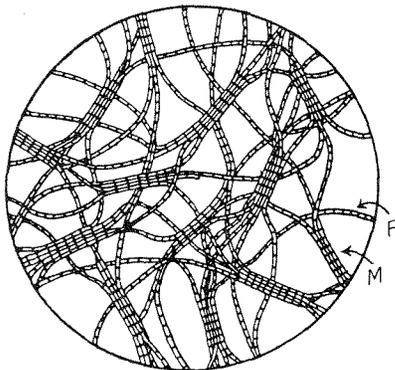


Abb. 8. Schematische Darstellung eines durch Kristallite gebildeten Netzwerks (nach Herrmann und Gerngroß 16)

Im isoelektrischen Bereich und bei niedrigen Ionenstärken allerdings — unter Bedingungen also, bei denen das Eiweiß die maximale Anzahl an entgegengesetzt geladenen Gruppen besitzt — tragen auch die polaren Gruppen der Gelatine wesentlich zur Vernetzung der Eiweißmoleküle bei. So ist nach Bello und Vinograd^{3, 4)} für die Bildung von Gelen mit niedriger Gelatinekonzentration (0,6—0,7 %) die Wechselwirkung zwischen den polaren Gruppen der Peptidketten von Bedeutung. Bei solchen Gelen dürfte eine Erniedrigung der Gelierfähigkeit im basischen Bereich des I. P. auf einer elektrostatischen Abstoßung der Carboxylatgruppen, im sauren Bereich des I.P. auf einer Abstoßung der Guanidiniumgruppen beruhen.

Ein wichtiges Beispiel für die Bedeutung der Immobilisierung freien, nicht hydratisch gebundenen Wassers bei der Verarbeitung von Lebensmitteln ist das

Wasserbindungsvermögen des Fleisches⁸⁾. Nicht mehr als 4—5 % der im Fleisch vorhandenen Wassermenge werden von den Muskelproteinen als wirkliches Hydratwasser gebunden. Die Menge des hydratisch gebundenen Wassers wird durch Struktur und Ladung des Muskeleiweißes kaum beeinflusst. Die starken Veränderungen, welche das Wasserbindungsvermögen des Fleisches beim Lagern und Verarbeiten erfährt, sind vielmehr durch das Ausmaß bestimmt, in welchem das nach physikalisch-chemischer Definition „freie“ Wasser in der Mikrostruktur des Gewebes immobilisiert ist. Was dieses „freie“ Wasser anbetrifft, so besteht offenbar ein kontinuierlicher Übergang von dem innerhalb der Protein-Netzstruktur immobilisierten, schwer auspreßbaren Wasser bis zu dem schon bei leichtestem Druck austretenden „lockeren“ Wasser. Aus diesem Grunde ist die Menge an immobilisiertem Wasser, die man bestimmt, von der Art der angewendeten Methode abhängig. Es ist daher nicht möglich, Absolutwerte für das Wasserbindungsvermögen des Fleisches anzugeben. Bei Anwendung derselben Methodik lassen sich jedoch die relativen Unterschiede im Wasserbindungsvermögen verschiedener Fleische und Veränderungen der Wasserbindung bei Lagern und Verarbeiten des Fleisches sehr exakt feststellen⁸⁾. Gewöhnlich wird das „lockere“ Wasser durch Pressen zwischen zwei Platten oder durch Zentrifugieren aus dem Gewebe entfernt.

Im Gegensatz zum „wirklichen“ Hydratationswasser ist die Menge des „freien“, aber im Muskel immobilisierten Wassers stark von der räumlichen Struktur des Gewebes abhängig. Wie wir in einer Reihe von Untersuchungen gefunden haben, führt eine Verdichtung des Proteinnetzwerkes zu einer Abnahme an immobilisiertem Wasser und zu einer Zunahme an lockerem Wasser, während eine Aufweitung der Gewebestruktur den entgegengesetzten Effekt hat⁸⁾. Solche strukturellen Veränderungen können durch Anziehung oder Abstoßung von geladenen Gruppen der Eiweißmoleküle oder durch Knüpfen oder Lösen von Querverbindungen zwischen den Proteinfilamenten hervorgerufen werden. Bei bestimmten pH-Werten oder in Gegenwart bestimmter Salzionen vermag zerkleinertes Fleisch — wie schon erwähnt — 700—800 g Wasser pro 100 g Protein

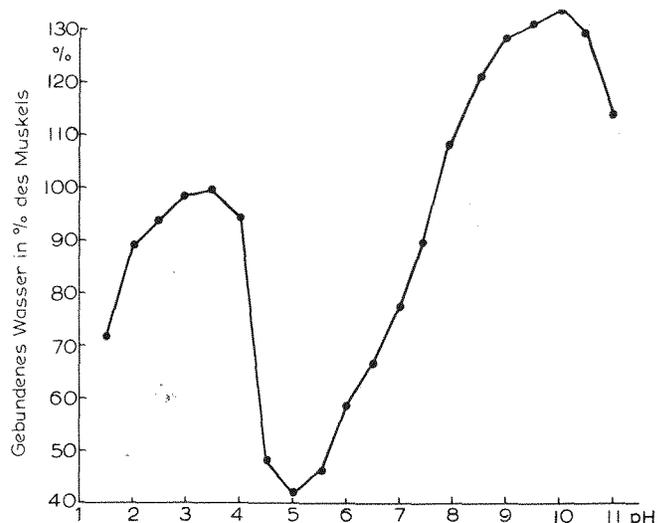


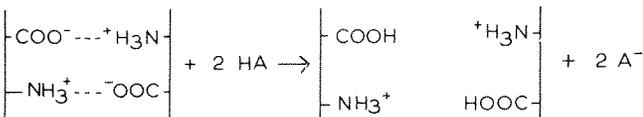
Abb. 9. Einfluß des pH-Wertes auf das Wasserbindungsvermögen eines Rindermuskelhomogenats 9)

in immobilisierter, schwer auspreßbarer Form aufzunehmen.

Die Bedeutung solcher intermolekularer Wechselwirkungen im Muskeleiweiß für das Wasserbindungsvermögen des Fleisches sei an einigen Beispielen erläutert. Eine Auflockerung des Gewebes und damit eine Zunahme an immobilisiertem Wasser erreicht man durch Steigerung der Protein-Nettoladung durch Zusatz von Säure oder Base⁹⁾. (Abb. 9).

Der pH-Wert des Wasserbindungsminimums (pH 5,0) liegt im Bereich des isoelektrischen Punktes (I.P.) des Actomyosins, welches die Hauptkomponente des strukturellen Muskeleiweißes ist. Am I.P. hat die Nettoladung des Eiweißes ihren niedrigsten Wert; bei diesem pH-Wert hat man, wie schon erwähnt, mit einem Maximum an intermolekularen Salzbindungen und mit einem Minimum der elektrostatischen Abstoßung zu rechnen. Durch Zusatz von Säure oder Base werden Salzbrückenbindungen gespalten; gleichzeitig wird die elektrostatische Abstoßung zwischen gleichsinnig geladenen Gruppen erhöht (Abb. 10). Die Quellung des Gewebes nimmt daher zu. Dies ist der Grund, warum Fleisch bei einem pH-Wert im Bereich des I.P. eine Brühwurst von wesentlich geringerer Bedeutung ergibt als bei höherem pH-Wert.

Protonen - Donator [Säure]:



Protonen - Acceptor [Base]:

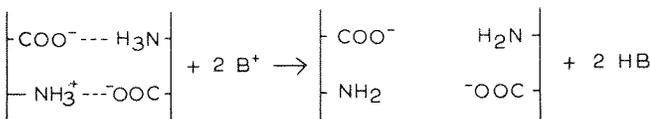
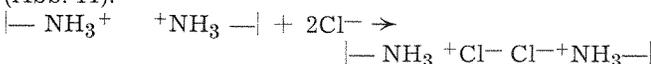


Abb. 10. Einfluß von Säure und Base auf isoelektrisches Muskeleiweiß

Ein Zusatz von Natriumchlorid bedingt eine starke Zunahme des Wasserbindungs- und Quellungsvermögens des Fleisches. Das Salzen von Fleisch ist daher bei der Herstellung von Fleischwaren nicht nur aus geschmacklichen Gründen notwendig; es beeinflusst auch sehr wesentlich die Konsistenz und „Bindigkeit“ der Ware. Der Quellungeffekt des Natriumchlorids ist in erster Linie dem Einfluß des Chlorions zuzuschreiben (Natriumacetat z. B. hat bei der gleichen Ionenstärke keine oder nur sehr geringe Wirkung⁸⁾). Durch Abschirmen der positiven Ladungen des Eiweißes führt das Anion auf der basischen Seite des I.P. eine Schwächung der Salzbrückenbindungen und damit eine Auflockerung der molekularen Struktur herbei, die eine erhöhte Aufnahme an immobilisiertem Wasser zur Folge hat.

$$\left| \text{--- COO}^- \text{---} \text{---} \text{NH}_3^+ \right| + \text{Na}^+ \text{Cl}^- \rightarrow \left| \text{--- COO}^- \text{---} \text{Na}^+ \quad \text{Cl}^- \text{---} \text{NH}_3^+ \right|$$

Auf der sauren Seite des I.P. bewirkt NaCl-Zusatz Entquellung, da die Anionenbindung eine Abnahme der elektrostatischen Abstoßung zwischen den positiv geladenen Gruppen des Eiweißes mit sich bringt (Abb. 11).



Eine starke Bindung von Kationen hat den entgegengesetzten Effekt. Dies tritt besonders deutlich in Erscheinung bei Salzen, deren Anion von den positiv geladenen Gruppen der Muskelproteine nur schwach gebunden wird, also z. B. bei Acetaten: Das Wasserbindungsvermögen von Myofibrillen wird auf der basi-

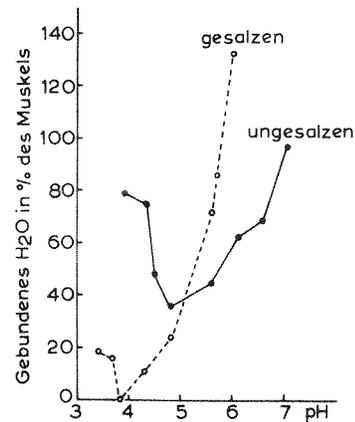


Abb. 11. Einfluß von Natriumchlorid auf die pH-Wasserbindungskurve von Rindermuskel-Homogenat. ●: ungesalzen; ○: 2% NaCl

schen Seite des I.P. um so stärker herabgesetzt, je fester das Kation gebunden wird (Abb. 12). Da die Bindung von Kationen die negative Überschlußladung herabsetzt und so die elektrostatische Abstoßung verringert, kommt es zu einer Verdichtung des Protein-Netzwerkes und zu einer Entquellung¹¹⁾. Bei höheren Konzentrationen von Acetat tritt die quellungssteigernde Wirkung des Anions zunehmend in Erscheinung (Abb. 12).

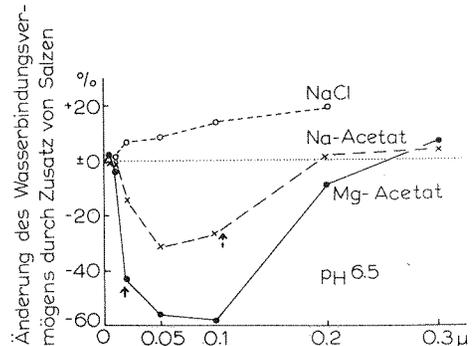


Abb. 12. Einfluß von Magnesium- und Calcium-Salzen auf das Wasserbindungsvermögen von Myofibrillen¹¹⁾

Fleisch enthält von Natur aus die zweiwertigen Kationen Magnesium (ca. 25 mg^{0/0}) und Calcium (4 bis 5 mg^{0/0}), von denen ein Teil fest an das strukturelle Muskeleiweiß gebunden ist. Viele Autoren nehmen an, daß Erdalkalimetalle gewisse Proteinstrukturen durch Bildung intermolekularer Brückenbindungen zwischen den Peptidketten vernetzen können und damit Quellung und Wasserbindung solcher Eiweißsysteme herabzusetzen vermögen. Es ist allerdings beim Muskel wie auch bei allen anderen Proteinen bisher noch nicht möglich gewesen, die Querbindungs-Funktion der Erdalkalimetalle eindeutig zu beweisen. Verschiedene Tatsachen aber sprechen dafür, daß die Erdalkalimetalle des Fleisches tatsächlich eine derartige Funktion ausüben.

Es wäre zu erwarten, daß eine Lösung solcher Querbindungen die Mikrostruktur des Muskels soweit auflockert, daß mehr Wasser in immobilisiertem Zustand

aufgenommen werden kann. In der Tat führt ein partieller Austausch des Muskelcalciums gegen Natrium mit Hilfe von Kationenaustauschern zu einer erheblichen Steigerung des Wasserbindungsvermögens des Fleisches⁸⁾. Es gibt bereits ein technisches Verfahren, die Wasserbindung des Fleisches durch Behandeln mit Folien aus Kunstharzaustauschern zu erhöhen.

Eine ähnliche Wirkung haben auch Anionen, welche Erdalkalimetalle komplex zu binden oder zu fällen vermögen. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen dem Calciumbindungsvermögen von Anionen und ihrem Vermögen, das Wasserbindungsvermögen des Fleisches auf der basischen Seite des I.P. zu erhöhen⁹⁾. Citrate und Polyphosphate werden daher in der Praxis verwendet, um die Bindigkeit von Brühwürsten zu steigern und den Wasseraustritt bei der Herstellung von Dosenschinken zu verringern (in Deutschland allerdings ist die Verwendung von Polyphosphaten bei der Herstellung von Fleischwaren verboten).

Die Steigerung des Wasserbindungs- und Quellungsvermögens von Fleisch durch Polyphosphate oder Ionenaustauscher wird durch Erhöhung des pH-Wertes oder durch Zusatz von NaCl sehr verstärkt. Dieser Effekt sei mit folgendem Schema erklärt (Abb. 13). Am I.P. ist das Wasserbindungsvermögen von ungesalzenem Fleisch infolge der Vernetzung durch Salz-Brückenbindungen gering. Eine Spaltung von Erdalkali-Querbindungen — z. B. durch Bindung von Polyphosphat-Anionen — vermag daher die Wasserbindung nur wenig zu steigern. Durch Erhöhen des pH-Wertes oder durch Zusatz von NaCl nimmt die Quellung infolge der gesteigerten Protein-Nettoladung zu, aber die Erdalkali-Brückenbindungen halten die Peptidketten trotz der elektrostatischen Abstoßung zwischen den Protein-Molekülen zusammen. Erst bei Aufspaltung dieser Querbindungen werden die Moleküle freier beweglich und können nun volle Quellung zulassen. (Abb. 13).

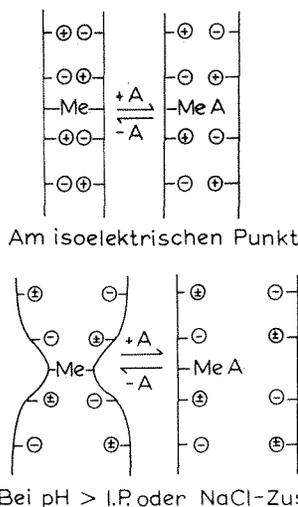


Abb. 13. Einfluß der Nettoladung des Muskelproteins auf die quellende Wirkung von Polyphosphat¹⁷⁾

Ähnlich wie die anorganischen Polyphosphate wirkt auch Adenosintriphosphat (ATP). ATP ist im lebenden Muskel enthalten. Das hohe Wasserbindungs- und Quellungsvermögen des Fleisches unmittelbar nach dem Schlachten des Tieres beruht zu einem wesentlichen Teil auf der Gegenwart von ATP⁸⁾. Die Praxis

der Fleischwarenherstellung macht von dieser Tatsache Gebrauch, indem sie für die Fabrikation von Brühwurst „schlachtwarmes“ Fleisch verwendet. Es gibt verschiedene Gründe für die Annahme, daß ATP unmittelbar nach dem Schlachten von den proteingebundenen Erdalkalimetallen des Actomyosins komplex gebunden wird und daß es auf diese Weise die quervernetzende Funktion der zweiwertigen Metalle verhindert. Während des Rigor mortis wird ATP enzymatisch zu Inosinmonophosphat (IMP) abgebaut. Da IMP ein wesentlich geringeres Komplexbindungsvermögen für Erdalkalimetalle besitzt als ATP, kann eine Verdichtung des Gewebes und eine Abnahme des Wasserbindungsvermögens eintreten⁸⁾, indem die nunmehr freierwerdenden Valenzen der zweiwertigen Muskelmetalle wahrscheinlich eine Vernetzung der Proteinstruktur herbeizuführen vermögen¹²⁾.

Bei der Schmelzkäseherstellung haben wir es mit einer analogen Wechselwirkung zwischen calciumbindenden Salzen und calciumhaltigem Protein zu tun. Für die Umwandlung von Käse zu Schmelzkäse ist die Quellung der Eiweißkolloide des Käses von großer Bedeutung. Um ein Produkt von guter Streichfähigkeit zu erhalten, muß das Paracasein ausreichend gequollen sein. Dieser Quellung wirkt — ähnlich wie bei den Muskelproteinen — das eiweißgebundene Calcium entgegen, das über Phosphorsäure- und Carboxylgruppen, z. T. auch über Nebervalenzen, benachbarte Caseinmoleküle verknüpft. Zugesezte Polyphosphate oder Citrate vermögen durch Bindung des Calciums dieses Netzwerk aufzulockern und hierdurch Quellung und Wasserbindung des Paracaseins zu erhöhen. Die Wirkung dieser Substanzen als „Richtsätze“ bei der Schmelzkäseherstellung beruht z. T. auf diesem Effekt^{22, 23)}.

Das Wasserbindungsvermögen durch hochmolekulare Substanzen spielt auch bei der Herstellung von Backwaren eine Rolle. Teig ist ein sehr kompliziertes kolloiddisperses System, dessen Eigenschaften und dessen Veränderungen beim Backen durchaus noch nicht völlig geklärt sind. Für die Teigbildung sind zweifellos Eiweißgele, für den Backprozeß hingegen vorwiegend die Verkleisterung der Stärke (s. o.) von Bedeutung. Bei der Herstellung von Teig aus Mehl und Wasser wird Wasser von den Kleberproteinen (Glutin) aufgenommen und innerhalb der dreidimensionalen Struktur dieser Proteine immobilisiert. An der Bildung der Wabenstruktur des Glutins sollen intermolekulare Disulfidbindungen entscheidend beteiligt sein. Nach K. Heß kommt bei der Wasserbindung des Teiges eine besondere Rolle dem Zwickelprotein und dem Haftprotein zu, welche in besonderer Weise mit den Stärketeilchen des Mehles verknüpft sein sollen. Röntgenographische Studien ergaben, daß die Polypeptidketten der Kleberproteine bei der Wasseraufnahme offenbar entfaltet werden und daß hierdurch eine Aufweitung der Protein-Netzstruktur begünstigt wird¹⁷⁾. Viele Faktoren können das Wasserbindungsvermögen und die physikalischen Eigenschaften des Teiges beeinflussen, so z. B. Veränderung des pH-Wertes und des Disulfid-Sulphydryl-Systems der Kleberproteine. Beim Backprozeß wird das Wasser von dem koagulierenden Glutin-Gel abgegeben und von der Stärke unter Verkleisterung aufgenommen.

Aus diesen Beispielen dürfte hervorgehen, daß das von Lebensmitteln aufgenommene und immobilisierte Wasser durchaus nicht immer einen wertlosen Bestandteil darstellt, sondern daß es in vielen Fällen für die Verarbeitung der Lebensmittel und ihre Qualität von erheblicher Bedeutung ist.

LITERATUR:

- 1) Baker, G. L., u. M. W. Goodwin, Delaware Expt. Sta. Bull. 246 (1944)
- 2) Beythien, A./W. Heimann, „Einführung in die Lebensmittelchemie“. Dresden, Leipzig. 1961
- 3) Bello, J., R. Bello, u. J.-R. Vinograd, Biochem. Biophys. Acta 57, 214 (1962)
- 4) Bello, J., R. Bello, u. J.-R. Vinograd, Biochem. Biophys. Acta 57, 222 (1962)
- 5) Deuel, H., G. Huber u. L. Anyas-Weiß, Helv. chim. Acta 33, 563 (1950)
- 6) Ferry, J. P. Advances in Protein Chem. 4, 1 (1948)
- 7) Goldthwaite, N. F., J. Ind. Engr. Chem. 1, 333 (1909)
- 8) Hamm, R. Advances in Food Chem. 10, 356 (1960)
- 9) Hamm, R. Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 116, 335 (1962)
- 10) Hamm, R. Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 116, 511 (1962)
- 11) Hamm, R. Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 117, 8 (1962)
- 12) Hamm, R. Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 117, 132 (1962)
- 13) Haurowitz, F., „Chemistry and Biology of Proteins“ p. 86, New York. 1950
- 14) Henglein, F. A. Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch. 90, 417 (1950)
- 15) Henglein, F. A., u. E. Anders, Makromolek. Chem. 7, 177 (1951)
- 16) Herrmann, K., u. O. Gerngross, Kautschuk 8, 181 (1932)
- 17) Hess, K., U. Kiessig, u. E. Hanssen, Naturwiss. 39, 135 (1952)
- 18) Hinton, C. L. Biochem. J. 34, 1211 (1940)
- 19) Klotz, I. M. Science 128, 815 (1958)
- 20) Klotz, I. M. in: „Horizons in Biochemistry“, p. 523. New York, London. 1962
- 21) Maass, H. „Alginsäure und Alginat“. Heidelberg. 1959
- 22) Mayr-Waldburg, H. in: Symposion „Kondensierte Phosphate in Lebensmitteln“ Berlin. Göttingen. Heidelberg. 1956
- 23) Meyer, A. Lebensmittel u. Ernährung 9, Nr. 10 u. 11 (1956)
- 24) Meyer, K. H. „Makromolekulare Chemie“. Leipzig 1950.
- 25) Samec, M. Stärke 5, 105 (1953)
- 26) Speiser, R., C. H. Hills, u. C. R. Eddy. J. physik. Chem. 49, 328 (1945)
- 27) Szent-Györgyi, A. „Bioenergetics“. New York. 1957

Aus dem Chemischen Untersuchungsamt für das Saarland, Saarbrücken, Direktor: Prof. Dr. J. Eisenbrand

Über die elektrometrische Titration von Kaffeeaufgüssen

Von M. Raisch und G. Becker*)

Bei der Beurteilung der geschmacklichen Qualifikationen und bei der Beurteilung der Verträglichkeit eines Kaffees spielt der Säuregehalt eine wesentliche Rolle. Die „Säure“ des Kaffees wurde früher einer Art Kaffeegerbsäure zugeschrieben; aber sie ist im wesentlichen, wie man heute weiß, auf die Chlorogensäure zurückzuführen. Marbrouk und Deatherage¹⁾ konnten zeigen, daß die im Röstkaffee vorkommenden organischen Säuren sich wie folgt verteilen:

Chlorogensäure zu rund $\frac{2}{3}$,
Citronensäure,
Kaffeensäure,
Apfelsäure und
Weinsäure mit jeweils dem zehnten Teil
des Chlorogensäureanteils.

Die Bestimmung des Säuregrades des Röstkaffees war auch Gegenstand einer Untersuchung von Burmeister²⁾. Burmeister setzt die elektrometrisch gefundenen Säurewerte in direkte Beziehung zum Farbwert und somit zum Röstgrad des Kaffees.

Auch wir beschäftigten uns seit einiger Zeit mit dem Problem der Bestimmung des Säuregrades des Röstkaffees unter dem Gesichtspunkt der Kontrolle handelsüblicher Kaffeesorten, vornehmlich in bezug auf die Deklaration „säurearm“.

Unsere Methodik war dabei folgende:

4,0 Gramm gemahlener Röstkaffee wurden mit 100 ml siedendem Wasser übergossen und eine halbe Stunde der Extraktion überlassen; hernach wurde abfiltriert. Vom Filtrat wurden 50,0 ml mittels eines Metrohm-pH-Meters mit 0,1 N-Lauge titriert. Als Säuregrad des Kaffees wurde der Verbrauch an ml N-Lauge, bezogen auf 100,0 Gramm Kaffee eingesetzt.

Abb. 1 zeigt die Titrationskurve einer Auswahl von 5 aus 32 von uns untersuchten Kaffeeproben. Es handelt sich dabei um wahllos aus dem Handel gezogene Pro-

ben, und man sieht, daß erhebliche Unterschiede im Laugenverbrauch der einzelnen Sorten auftreten.

Zur Ermittlung des Umschlagspunktes wurde in bekannter Weise die differenzielle pH-Änderung pro zugegebene Einheitsmenge Lauge als Funktion der verbrauchten Lauge dargestellt, also

$$\frac{\Delta \text{pH}}{\text{ml}} = f(v). \quad (1)$$

Stellt man z. B. Kurve 5 von Abb. 1 in dieser Weise dar, so ergibt sich das Bild Abb. 2.

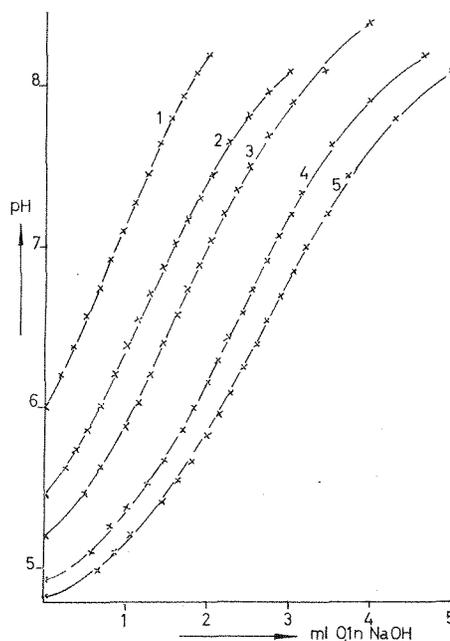


Abb. 1. Titrationskurven von Röstkaffee (Handelsproben)

*) Nach einem Vortrag, gehalten von M. Raisch, anlässlich der 22. Arbeitstagung des Arbeitskreises Südwestdeutschland, Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie der Gesellschaft Deutscher Chemiker am 4. und 5. April 1963 in Mainz.

Das Maximum der Funktion¹⁾ ist nach der Theorie der elektrometrischen Titration identisch mit dem Umschlagspunkt und liegt bei pH 6,2. Man erfaßt so die Säuren in ihrer Karboxylgruppe. Eine Titration über pH 7 hinaus wäre bei Säuren mit freien phenolischen