

# Bioaktive Peptide in Käse

*Dr. Hans-Peter Bachmann, Ueli Bütikofer, Dr. Robert Sieber,  
Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft,  
Liebefeld (FAM), Bern*

Teil I

*Während der Käsereifung entsteht aus den Kaseinen eine Vielzahl verschiedener Peptide. Einige davon weisen günstige biologische Eigenschaften auf. Es wird in dieser Übersicht über das Vorkommen von ACE-hemmenden Peptiden, Casomorphinen und Phosphopeptiden in Käse berichtet. Es zeigt sich, dass sich die Käse in bezug auf das Vorkommen von bioaktiven Peptiden unterscheiden können. Damit erweist sich der Käse als ein Lebensmittel, das neben der Lieferung von Nährstoffen noch zusätzliche interessante Eigenschaften aufweist.*

Die primäre Rolle der Ernährung besteht darin, den Körper mit den verschiedenen Nährstoffen zu versorgen. Neue Forschungsergebnisse zeigen auf, dass die Ernährung zusätzlich verschiedene körperliche Funktionen beeinflussen und dadurch das Wohlbefinden steigern, das Krankheitsrisiko verringern und die Lebensqualität verbessern kann. Dies hat zur Entwicklung von neuen, gesundheitsfördernden Lebensmitteln (Functional Food) geführt.

Milch und Milchprodukte sind dank ihrer vielseitigen Zusammensetzung geradezu prädestiniert, diese wichtige Rolle in der Ernährung zu erfüllen. Dies umso mehr, da nebst den Hauptnährstoffen der Lebensmittel auch andere Stoffe mit spezifischen Funktionen vorhanden sind<sup>[1]</sup>. Auch können diese Eigenschaften durch technologische Maßnahmen beeinflusst werden. Am Beispiel der Käseherstellung kann dieser Einfluss auf den ernährungsphysiologischen Wert von Proteinen, Peptiden und Aminosäuren dargestellt werden (Tab. 1). Unter den verschiedenen Substanzen, die technologisch beeinflusst werden können, steht im folgenden unter dem Einfluss der enzymatischen Hydrolyse das Vorkommen der Peptide und hier im speziellen dasjenige der bioaktiven Peptide im Zentrum des Interesses. Diese kommen natürlicherweise im Käse vor und entsprechen unter den fünf Megatrends:

- Gesundheit und Wohlbefinden
- Sicherheit
- Vergnügen
- Convenience
- Ethische Werte,

die in der Ernährung im Vordergrund stehen<sup>[3]</sup>, dem Megatrend „Gesundheit und Wohlbefinden“.

## Bioaktive Peptide aus Milchproteinen

Milchproteine sind unter den verschiedenen Lebensmittelproteinen die wichtigste Quelle für bioaktive Peptide<sup>[4]</sup>. Letztere bestehen aus 3 bis 20 Aminosäuren und entstehen sowohl aus der Hydrolyse von Kaseinen als auch von Molkenproteinen<sup>[3]</sup>:

- durch die Wirkung der Enzyme (Trypsin, Pepsin) im Verdauungstrakt
- bei der Fermentation mit proteolytischen Milchsäurebakterien
- durch die Wirkung der Enzyme von proteolytischen Mikroorganismen (Abb. 1).

Dabei ist die Spaltung durch Verdauungsenzyme der wichtigste Weg. Kaseine werden unter in-vivo-Bedingungen zu verschiedenen bioaktiven Verbindungen abgebaut<sup>[6]</sup>. Viele bio-

aktive Peptide haben verschiedene physiologische Wirkungen<sup>[7]</sup>.

Darragh<sup>[8]</sup> präsentiert eine aktuelle Übersicht über bioaktive Peptide, die aus Milchproteinen stammen. Darin sind 52 verschiedene Peptide aufgelistet, wobei die ACE-hemmenden Peptide (ACE = Angiotensin I-Converting Enzyme, EC 3.4.15.1, Angiotensin-Umwandlungs-Enzym) mit ca. 30 % die größte Gruppe darstellen. In Tab. 2 sind die aus den Milchproteinen entstandenen bioaktiven Peptide mit ihrer Aminosäuresequenz zusammengestellt.

Starterkulturen ohne hohe proteolytische Aktivität (Joghurt, Säurewecker) führten in den Untersuchungen von Pihlanto-Leppälä et al.<sup>[12]</sup> zu keinen bioaktiven Peptiden. Erst nach Zugabe von Trypsin oder Pepsin konnten bioaktive Peptide nachgewiesen werden. Dabei waren die Kasein-Peptide aktiver als die Molkenprotein-Peptide.

Milchsäurebakterien mit einer höheren Proteinase-Aktivität wie z.B. *Lactobacillus (L.) helveticus* führen zu mehr bioaktiven Peptiden. Ihre Peptidasen können aber diese Peptide auch wieder abbauen<sup>[13]</sup>. Nach Takano<sup>[14]</sup> ist einzig *L. helveticus* in der Lage, in Sauermilch blutdrucksenkende Peptide zu bilden.

So ist beispielsweise bereits ein blutdruckerniedrigender Milchdrink mit der Bezeichnung Evolus<sup>®</sup> auf dem finnischen Markt<sup>[15]</sup>. Auch ist dieser

Keim in der Lage, immunomodulierende Peptide in fermentierter Milch freizusetzen<sup>[16]</sup>.

### Entstehung von Peptiden in Käse

Käse enthält natürlicherweise eine Vielzahl verschiedener Peptide, welche aus der Proteolyse des Kaseins stammen und Flavour und Textur mitprägen. Bei der Primärproteolyse werden die Kaseine durch Proteinase zu größeren Peptiden gespalten.

Die wichtigen Proteinase sind dabei:

- Chymosin
- Plasmin
- Proteinase der Rohmilchflora (bei Rohmilchkäse)
- Proteinase der Starterkulturen

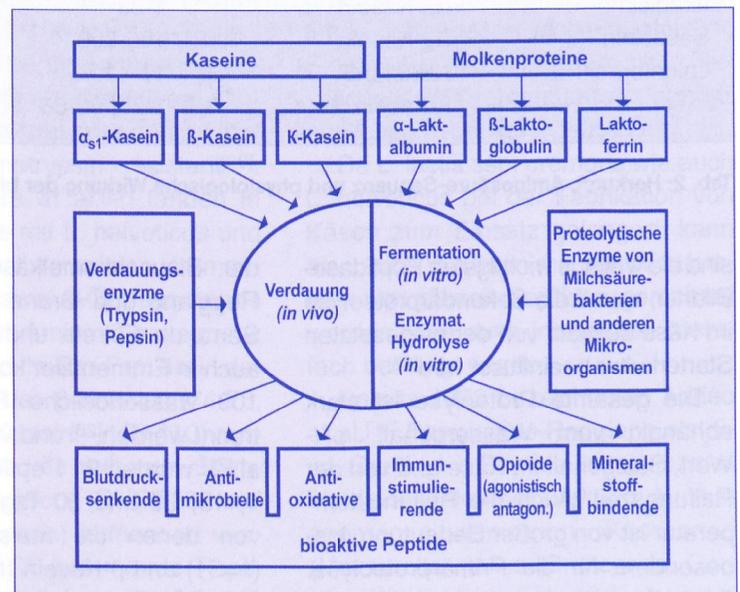
Chymosin wird bei der Herstellung von Hartkäse während des Brennens des Käsebruches inaktiviert, die Primärproteolyse wird deshalb stark vom Plasmin geprägt. Letzteres wird zwar einerseits durch die Erhitzung der Milch inaktiviert, andererseits ist aber die Plasmin-Aktivität nach der Milcherhitzung dennoch häufig höher, weil dabei Plasminogen zu Plasmin aktiviert wird. Durch das Plasmin wird das  $\beta$ -Kasein schneller hydrolysiert als das  $\alpha_{S1}$ -Kasein. Chymosin spaltet bevorzugt das  $\alpha_{S1}$ -Kasein<sup>[17]</sup>. Die Bildung von bioaktiven Peptiden ist deshalb sehr stark vom Brennen des Käsebruches abhängig: in gebrannten Hartkäsen ist eher mit bioaktiven Peptiden aus dem  $\beta$ -Kasein und in Halbhartkäsen mit solchen aus dem  $\alpha_{S1}$ -Kasein zu rechnen. Falls das Chymosin beim Brennen nicht inaktiviert wird, ist der Übergang in den Käse stark pH-abhängig: je tiefer der pH-Wert beim Abfüllen, desto höher der Chymosin-Gehalt im Käse.

Verschiedene Keime der Rohmilchflora wie Pseudomonas oder Bacillus spp. sind starke Proteinase-Bildner. Bei den Starterkulturen ist die Proteinase-Aktivität sehr unterschiedlich. Bei mesophilen Kulturen ist die Aktivität eher höher als bei thermophilen Kulturen. Unter den thermophilen Milchsäurebakterien ist die Akti-

Technologische Faktoren	Physikochemische Veränderungen	Einfluss auf ernährungsphysiologischen Wert
Hitzebehandlung	Protein-Denaturierung	Verbesserung der Verdaulichkeit (+) Reduktion Trypsin-Inhibitor-Aktivität (+) Zerstörung hitzeempfindlicher Aminosäuren (-) Kreuzverbindungen (-)
pH-Veränderung	Intramolekulare Reaktionen Reaktion mit Zucker Aktivierung Plasmin Saure Hydrolyse	Blockierung von Lysin (-) Bildung von Peptiden (+) Verbesserung der Verdaulichkeit (+) Unspezifische Spaltung von Peptidbrücken (-) Zerstörung Säureempfindlicher Aminosäuren (-) Kreuzverbindungen (-) Isomerisierung, Racemisierung (-) Bildung von Peptiden (+)
Enzymatische Hydrolyse	Reaktion mit Proteinase Reaktion mit Peptidasen	Abbau von Peptiden (-) Bildung von kleineren Peptiden (+)

Tab. 1: Positive (+) und negative (-) technologische Einflussfaktoren bei der Käseherstellung auf den ernährungsphysiologischen Wert von Proteinen, Peptiden und Aminosäuren [modifiziert nach 2]

Abb. 1: Produktion von bioaktiven Peptiden [modifiziert nach 5]



viät bei *L. helveticus* höher als bei den Subspezies von *L. delbrueckii* oder *Streptococcus thermophilus*<sup>[18]</sup>.

Im Rahmen der Sekundärproteolyse werden anschließend die größeren Peptide durch die Wirkung der Peptidasen schrittweise verkleinert. Dabei

werden die endständigen Aminosäuren sehr unterschiedlich schnell abgebaut. Dies bewirkt, dass einzelne Peptide im Käse sehr rasch weiter abgebaut werden, während andere Peptide länger vorliegen oder sogar akkumuliert werden können. Die Starterkulturen

Bioaktive Peptide	Proteinquelle	Aminosäure-Sequenz	Physiologische Wirkung
Casokinine	$\alpha_{s1}$ -Kasein	23-27, 23-34, 25-27, 28-34, 91-92, 142-147, 157-164, 194-199	ACE-hemmend
	$\beta$ -Kasein	48-61, 49-61, 50-61, 52-61, 53-61, 54-61, 55-61, 56-61, 57-61, 58-61, 59-61, 60-66, 74-76, 84-86, 108-113, 140-143, 169-174, 177-179, 177-181, 177-183, 179-181, 181-183, 193-198, 193-202	ACE-hemmend
	$\alpha$ -Laktalbumin	18-19, 50-53	ACE-hemmend
	$\beta$ -Laktoglobulin	102-103, 102-105, 104-105, 142-148, 146-149, 147-148, 148-149	ACE-hemmend
Opioide			
$\alpha$ -Casomorphine	$\alpha_{s1}$ -Kasein	90-95, 90-96, 91-96	Opioidagonisten
$\beta$ -Casomorphine	$\beta$ -Kasein	60-62, 60-63, 60-64, 60-65, 60-66, 60-67, 60-70	Opioidagonisten
Casoxine	$\kappa$ -Kasein	25-34, 33-38, 34-38, 35-38, 35-42, 58-61	Opioidantagonisten
$\alpha$ -Laktorphin	$\alpha$ -Laktalbumin	50-53	Opioidagonist
$\beta$ -Laktorphin	$\beta$ -Laktoglobulin	102-105	Opioidagonist
Laktoferroxin	Laktoferrin	313-323	Opioidantagonist
Phosphopeptide	$\alpha_{s1}$ -Kasein	43-58, 59-79, 66-74	mineralbindend
	$\beta$ -Kasein	1-25, 7-18, 29-41, 33-48	mineralbindend
Casoplateline	$\kappa$ -Kasein	103-111, 106-112, 106-116, 112-116, 113-116	antithrombotisch
	Laktoferrin	39-42	antithrombotisch
Immunopeptide	$\alpha_{s1}$ -Kasein	194-199	immunstimulierend
	$\beta$ -Kasein	1-25, 23-34, 28-34, 60-66, 63-68, 191-193, 191-199, 193-202	immunstimulierend
	$\alpha$ -Laktalbumin	18-20, 50-51	immunstimulierend
Isradicin	$\alpha_{s1}$ -Kasein	1-23	antimikrobiell
Casocidin	$\alpha_{s2}$ -Kasein	165-203	antimikrobiell
Laktoferricin	Laktoferrin	17-41	antimikrobiell
	$\beta$ -Kasein	1-25, 60-66	cytomodulierend

Tab. 2: Herkunft, Aminosäure-Sequenz und physiologische Wirkung der bioaktiven Peptide aus Milchproteinen [zusammengestellt nach 8 - 12]

sind die weitaus wichtigsten Peptidase-Bildner, womit die Sekundärproteolyse im Käse deshalb von der eingesetzten Starterkultur beeinflusst wird<sup>[18]</sup>.

Die gesamte Proteolyse ist stark abhängig vom Wassergehalt, pH-Wert, Salzgehalt im Käse und von der Reifungszeit. Auch die Reifungstemperatur ist von großer Bedeutung, insbesondere für die Primärproteolyse. Deshalb erstaunt es nicht, dass die nachgewiesenen Peptide zwischen den verschiedenen Arbeiten stark differieren können. Hinzu kommt noch, dass die Peptide sowohl aus dem wasserlöslichen wie auch wasserunlöslichen Extrakt isoliert und identifiziert werden. Dabei beschränkten sich diese Studien mehrheitlich auf Ched-

dar, Blauschimmelkäse, Parmigiano-Reggiano und Grana Padano sowie Serra da Estrela und Feta<sup>[19]</sup>. Doch auch in Emmentaler konnten mehr als 100 wasserlösliche Peptide aufgetrennt werden<sup>[20]</sup> und von Gagnaire et al.<sup>[21]</sup> wurden 91 Peptide im Alter von 4, 13, 36 und 50 Tagen identifiziert, von denen die meisten vom  $\alpha_{s1}$ - (n=51) und  $\beta$ -Kasein (n=28) und einige wenige vom  $\alpha_{s2}$ - (n=9) und  $\kappa$ -Kasein (n=1) herkommen (Tab. 3).

Die Situation mit den Peptiden in Käse wird dadurch noch komplexer, dass die Proteolyse einen dynamischen Prozess darstellt und während einer für jeden Käse unterschiedlichen Reifungsdauer ablaufen kann. Das zeigt sich deutlich in den vorer-

wähnten Untersuchungen von Gagnaire et al.<sup>[21]</sup> sowie von Ferranti et al.<sup>[22]</sup>. Haben die ersteren Autoren Emmentaler im Alter von 4, 13, 36 und 50 Tagen auf das Vorkommen von Peptiden untersucht, dehnten die letzteren ihre Untersuchungen bei Grana Padano auf das Alter von 14 und 38 Monate aus. Im jüngeren Grana Padano fanden sie 30 vom  $\beta$ -, 44 vom  $\alpha_{s1}$ -, 13 vom  $\alpha_{s2}$ - und 3 vom  $\kappa$ -Kasein abstammende Peptide und im älteren handelte es sich bei 5 der 8 ( $\beta$ ), 15 von 27 ( $\alpha_{s1}$ ), 0 von 1 ( $\alpha_{s2}$ ) und 1 von 2 ( $\kappa$ ) noch vorhandenen Peptide um neu entstandene Peptide.

Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass unter den in Käsen vorhandenen Peptide auch natürlicherweise ver-

schiedene bioaktive Peptide und deren Vorstufen vorkommen können. Auch Molke und Molkenproteinhydrolysate sind eine potenzielle Quelle für bioaktive Peptide<sup>[23-25]</sup>.

### Bioaktive Peptide in Käse

Der Vergleich der von Gagnaire et al.<sup>[21]</sup> nachgewiesenen Peptide im Emmentaler mit den bekannten aus dem Milchprotein abstammenden bioaktiven Peptiden (Tab. 2) zeigt, dass auch in Käse mit verschiedenen bioaktiven Peptiden zu rechnen ist (Tab. 3). Da es sich in dieser Studie um relativ junge Emmentaler handelt, können im weiteren Verlauf der Käsereifung aus einzelnen der aufgeführten Peptide wie auch aus dem noch nicht abgebauten Kaseinen zusätzlich bioaktive Peptide entstehen. Denn nach Korhonen und Pihlanto-Leppälä<sup>[7]</sup> verfügen Milchsäurebakterien über ein Transport-System für Aminosäuren, Di- und Tripeptide sowie Oligopeptide bis zu 18 Aminosäuren. Längere Oligopeptide, die nicht absorbiert werden können, sind demnach eine potenzielle Quelle für die Bildung von bioaktiven Peptiden durch intrazelluläre Peptidasen, die nach der Autolyse freigesetzt werden.

### ACE-hemmende Peptide

Der Mechanismus der ACE-Hemmung ist in Abb. 2 dargestellt. Das ACE katalysiert die Umwandlung des Angiotensins I (Dekapeptid) in Angiotensin II (Oktapeptid), das stark gefäßverengend (vasokonstriktorisch) und damit blutdrucksteigernd wirkt. Gleichzeitig hemmt es die Aktivierung des inaktiven Bradykinins, das gefäßweiternd (vasodilatierend) und damit blutdrucksenkend wirkt. Aus der Hemmung des ACE durch ACE-hemmende Peptide resultiert deshalb eine Blutdrucksenkung.

ACE-hemmende Peptide (Casokinine aus  $\alpha_{s1}$ - und  $\beta$ -Kasein) wurden bereits mehrfach in Milch nachgewiesen<sup>[11]</sup>. In Milch, die mit *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SS1 oder *L. lactis* ssp. *cremoris* FT4 fermentiert wurden, konnten 34 Peptide gefunden werden, davon waren 26 resp. 16 mit einer ACE-hemmenden Wirkung. In der ersten waren es Peptide des  $\beta$ -Kaseins mit der Sequenz 6-14, 7-14,

$\alpha_{s1}$ -Kasein	$\alpha_{s2}$ -Kasein	$\beta$ -Kasein	$\kappa$ -Kasein
1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-13, 1-14, 1-16, 1-21, 1-22, 1-23	<b>1-21, 1-24</b>	1-6, <b>1-28</b>	20-24
3-9, 3-14	<b>7-21</b>	<b>7-14, 7-28</b>	
4-7, 4-9, 4-13, 4-14	<b>16-19</b>	<b>8-28</b>	
5-21, 5-24	<b>35-66</b>	11-14, <b>11-28, 11-29,</b>	
6-9, 6-13, 6-14, 6-21, 6-24	116-122	<b>11-32?</b>	
7-13, 7-14, 7-16, 7-23	153-162	<b>12-28</b>	
8-13, 8-14, 8-23	184-188	<b>13-28</b>	
9-14	194-199	<b>15-25, 15-28</b>	
10-14, 10-16, 10-23		<b>16-25, 16-28</b>	
14-21, 14-23		<b>18-25</b>	
15-19, 15-21, 15-23		29-31	
16-21, 16-22, 16-23		<b>33-52</b>	
17-23		64-67, 64-68, 64-69	
19-23		<u>74-79, 74-82</u>	
24-30		<u>82-88</u>	
<u>25-30, 25-32</u>		95-102, 95-107	
31-34, 31-35		<u>193-209</u>	
32-35		199-202	
34-38			

Tab. 3: Aminosäuresequenz der im Saft von Emmentaler im Alter von 4, 13, 36 und 50 Tagen nachgewiesenen Peptide<sup>[21]</sup>

Bei den fett markierten Peptiden handelt es sich nach Gagnaire et al.<sup>[21]</sup> um Phosphopeptide, beim kursiv markierten Peptid um Isradicin und bei den unterstrichenen Peptiden um solche, aus denen möglicherweise noch bioaktive Peptide entstehen könnten.

73-82, 71-82, and 75-82 und in der zweiten 7-14, 47-52, and 169-175 ( $\beta$ -Kasein) und 155-160 and 152-160 ( $\kappa$ -Kasein). Diese Peptide waren gegenüber einer weiteren Proteolyse während der Herstellung oder durch Trypsin und Chymotrypsin resistent<sup>[26]</sup>. Auch Nakamura et al.<sup>[27]</sup> fanden in Sauermilch, die mit *L. helveticus* und *Saccharomyces cerevisiae* fermentiert wurden, zwei ACE-hemmende Peptide mit der Aminosäuresequenz Val-Pro-Pro und Ile-Pro-Pro, die in der Primärstruktur des  $\beta$ -Kaseins (74-76, 84-86) und  $\kappa$ -Kaseins (108-110) vorkommen. Milch, die mit zwei Stämmen von *L. helveticus* (CHCC637 und CHCC641, Hansen) fermentiert wurden, enthielt ACE-hemmende Peptide, nicht aber mit *L. lactis* CHCC1448 (Hansen) fermentierte Milch<sup>[28]</sup>. Der bereits erwähnte finnische Milchdrink wird mit *L. helveticus* LBK-16H hergestellt und enthält die Peptide Val-Pro-Pro (VPP) und Ile-Pro-Pro (IPP)<sup>[15]</sup>. In Milchprodukten mit einer schwachen Proteolyse (Joghurt, Quark, Frischkäse) war die ACE-hemmende Aktivität

gering<sup>[29]</sup>. Im weiteren wurden blutdrucksenkende Peptide auch in Protease-behandelten Molkenprotein<sup>[23]</sup>, Sauermilch<sup>[30]</sup> und in einem mit *L. helveticus* CPN4 fermentierten Joghurt-ähnlichen Produkt<sup>[31]</sup> gefunden.

Da *L. lactis* ssp. *cremoris* wie auch *L. helveticus* bei der Fabrikation von Käsen zum Einsatz gelangen, kann also auch in Käsen mit dem Vorkommen von diesen Peptiden gerechnet werden, was auch inzwischen mehrfach bestätigt wurde.

Bereits 1992 bezeichneten Addeo et al.<sup>[32]</sup> Parmigiano-Reggiano als eine Quelle für Peptide mit potenziell blutdrucksenkender Wirkung. Auch in anderen italienischen Käsesorten (Mozzarella, Italic, Crescenza, Gorgonzola)<sup>[4]</sup> wie auch in finnischen Käsen<sup>[33]</sup> wurden ACE-hemmende Peptide gefunden. Diese Peptide können auch die Endo- und Exopeptidasen von Milchsäurebakterien hemmen und somit die Käsereifung beeinflussen. Im wasserlöslichen Extrakt von Crescenza wurde das Peptid mit der stärksten ACE-Hemmung als Se-

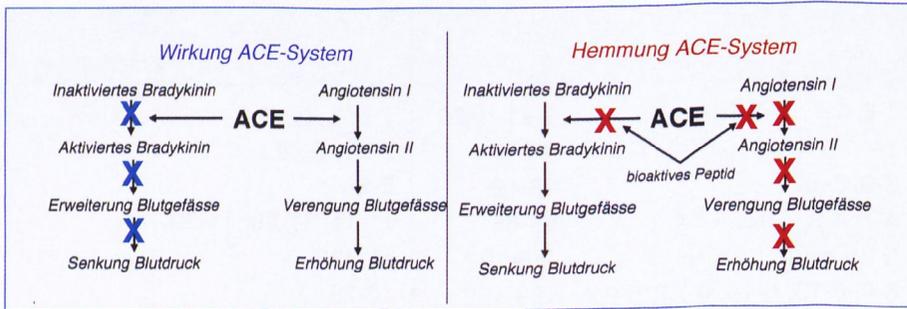


Abb. 2: Mechanismus der ACE-Hemmung

Das Angiotensin-Umwandlungs-Enzym (ACE) katalysiert die Umwandlung des inaktiven Angiotensins I zu II und hemmt diejenige des inaktivierten Bradykinins (links). Bioaktive Peptide unterbinden die Wirkung des ACE (rechts).

quenz aus dem  $\beta$ -Kasein ( $\beta$ -CN 58-72) identifiziert und enthält somit die Sequenz des  $\beta$ -Casomorphins-7 ( $\beta$ -CN 60-66)<sup>[4]</sup>. Dieses ACE-hemmende Peptid kann die Aktivität von Endopeptidasen und Aminopeptidasen, nicht aber der X-Prolyl-Dipeptidyl-Aminopeptidase von Laktokokken hemmen<sup>[34]</sup>. Im weiteren wurden im wasserlöslichen Extrakt von Norvegia, Jarlsberg, Cheddar und Blauschimmelkäsen Peptide mit einer ACE-Hemmung nachgewiesen. Es handelte sich dabei um Peptide mit der Sequenz 58-72, 193-209 und 194-209 des  $\beta$ -Kaseins<sup>[35]</sup>. Dabei soll es sich beim Fragment 193-209 um ein Bitterpeptid handeln<sup>[36,37]</sup>, das durch eine intrazelluläre Oligoendopeptidase von *Lactococcus lactis* abgebaut werden kann<sup>[38]</sup>.

Nach Meisel et al.<sup>[29]</sup> stieg in gereiften Käsen (Camembert, Edamer, Emmentaler, Gouda, Harzer, Leerdamer, Roquefort, Tilsiter, Cheddar, Parmesan) die ACE-hemmende Aktivität mit zunehmender Proteolyse bis zu einem Optimum an (Verhältnis der

freien zu peptidgebundenen Aminosäuren ungefähr 0,5) und sank anschließend wieder ab. Aus der Analyse des wässrigen Extraktes von Gouda mittleren Alters folgerten sie, dass viele verschiedene, kleine Peptide (2 bis 4 Aminosäuren) für die ACE-hemmende Aktivität verantwortlich zeichnen. Auch in den Untersuchungen von Saito et al.<sup>[39]</sup> war die ACE-hemmende Aktivität in Gouda nach 24 Monaten kleiner als nach 8 Monaten. Die Autoren stellten zudem bei Ratten, die mit den isolierten ACE-hemmenden Peptiden gefüttert wurden, eine Abnahme des Blutdrucks fest. In diese Untersuchungen wurde unter anderem auch ein Schweizer Emmentaler einbezogen. Letzterer wies aber im Vergleich mit den anderen Käsesorten (Gouda, Edamer, Havarti, Camembert) nur eine mittlere ACE-Hemmung auf. Die stärkste Hemmung bewirkte Gouda. Unter den vier isolierten Peptiden aus dem 8 Monate alten Gouda wiesen zwei ( $\alpha_{s1}$ -Kasein 1-9;  $\beta$ -Kasein 60-68) eine wirksame ACE-hemmende Aktivität auf. Auch aus

Emmentaler konnte ein Peptid mit der Sequenz 1-9 des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins isoliert werden<sup>[40]</sup>. Dionysius et al.<sup>[41]</sup> wiesen blutdrucksenkende Peptide in Cheddar und Feta (Laktoferrin 288-289 und 319-320), nicht aber in Swiss, Camembert und Blauschimmelkäse nach.

Ryhänen et al.<sup>[33]</sup> entwickelten mit einem Gemisch von handelsüblichen Starterkulturen (12 verschiedene Stämme von *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Propionibacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *L. acidophilus* und *Bifidobacterium* sp.) eine neue Käsesorte, die sie Festivo nannten und die sich durch verschiedene ernährungsphysiologische Vorteile auszeichnete: probiotische Mikroorganismen, reduzierter Fettgehalt und ACE-hemmende Peptide. Die ACE-Hemmung stieg mit fortschreitender Proteolyse an, erreichte nach 13 Wochen ihren Höhepunkt und nahm anschliessend wieder ab. Die drei Peptide mit der stärksten Hemmung wurde als N-terminale Peptide des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins identifiziert: ( $\alpha_{s1}$ -CN 1-9), ( $\alpha_{s1}$ -CN 1-7) und ( $\alpha_{s1}$ -CN 1-6). Die Autoren folgerten, dass Peptide aus der Primärproteolyse durch das Chymosin in der Folge durch Peptidasen der Starterkulturen weiter hydrolysiert wurden.

Nach Gómez-Ruiz et al.<sup>[42]</sup> sind verschiedene Peptide für die ACE-hemmende Wirkung von 8 Monate altem Manchego, aus Schafmilch hergestellt, verantwortlich. Aus dem wasserlöslichen Extrakt konnten 10 Peptide aus dem  $\alpha_{s1}$ -Kasein, 5 aus dem  $\alpha_{s2}$ -Kasein und 6 aus dem  $\beta$ -Kasein identifiziert werden und ein Dipeptid kann aus verschiedenen Kaseinen herkommen. Diese Autoren ermittelten zudem in Käse aus roher Milch eine stärkere ACE-Hemmung als in Käse aus pasteurisierter Milch.

In einem Proteinhydrolysat eines Seetangs wurden sieben Dipeptide mit einer ACE-Hemmung bei spontan hypertensiven Ratten nachgewiesen: Val-Tyr, Ile-Tyr, Ala-Trp, Phe-Tyr, Val-Trp, Ile-Trp und Leu-Trp<sup>[43]</sup>. Von diesen sind nur die drei Peptide Ala-Trp, Phe-Tyr und Leu-Trp in der Struktur eines Kaseins, des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins, vorhanden, sodass diese Dipeptide während der Proteolyse im Käse entstehen könnten.

