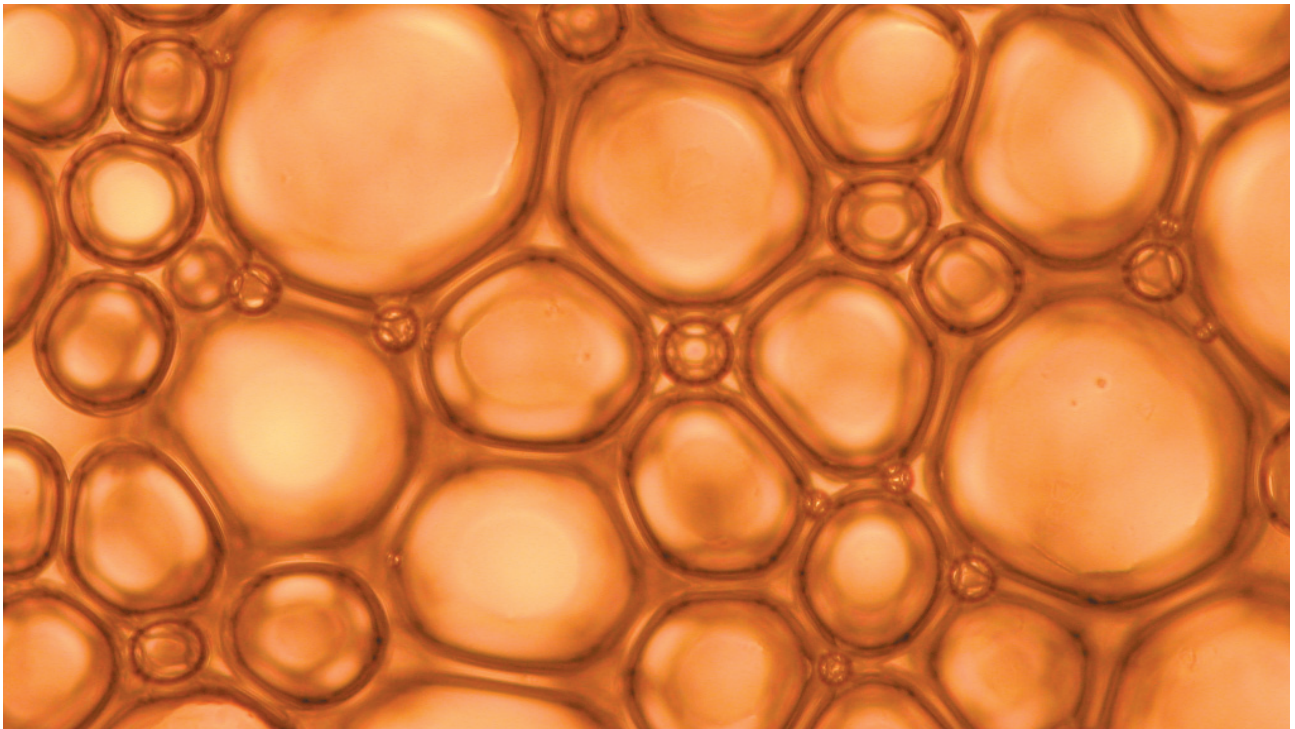


ALP science 2005, Nr. 488

MILCHPROTEINPULVER UND IHRE TECHNOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN: METHODIK UND UNTERSUCHUNG

Technisch-wissenschaftliche Informationen



ALP science
(vormals FAM Info)

Titelbild
Schaumbildung, Foto: ALP

Erstveröffentlichung

Autoren
Bisig W., Guggisberg D., Badertscher R., Bütikofer U.,
Meyer J., Rehberger B.

Herausgeber
Agroscope Liebefeld-Posieux
Eidg. Forschungsanstalt
für Nutztiere und Milchwirtschaft (ALP)
Schwarzenburgstrasse 161
CH-3003 Bern
Telefon +41 (0)31 323 84 18
Fax +41 (0)31 323 82 27
http: www.alp.admin.ch
e-mail: science@alp.admin.ch

Kontakt Rückfragen
Walter Bisig
e-mail walter.bisig@alp.admin.ch
Telefon +41 (0)31 324 05 80
Fax +41 (0)31 323 82 27

Gestaltung
Helena Hemmi (Konzept), Müge Yildirim (Layout)

Erscheinung
Mehrals jährlich in unregelmässiger Folge

ISBN 3-905667-29-0
ISSN 1660-7856 (online)

Inhalt

1.	Zusammenfassung	5
2.	Einleitung und Bedeutung der technologischen Eigenschaften	6
3.	Milchproteinprodukte	7
4.	Chemische Untersuchungsmethoden	7
4.1.	Stickstoff-Fractionen	7
4.2.	Mineralstoffe	7
4.3.	Trocknungsverlust und Wassergehalt	8
4.4.	Furosingehalt	8
4.5.	Laktosegehalt	8
4.6.	Bestimmung der nativen Molkenproteine α -Laktalbumin und β -Laktoglobulin	8
4.7.	Methoden zur Bestimmung der gesamten Molkenproteine	8
5.	Chemische Charakterisierung der verwendeten Produkte	9
5.1.	Nasschemische Untersuchungen	9
5.2.	Bestimmung der gesamten und der nativen Molkenproteine	10
5.3.	Furosin	12
5.4.	Weitere Molkenproteinfraktionen und Verhältnis β -Laktoglobulin zu α -Laktalbumin	13
5.5.	SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE)	14
5.6.	Mineralstoff-, Wasser- und Laktosegehalt	15
6.	Grundlagen zu den Methoden der physikalisch-technologischen Charakterisierung	16
6.1.	Auflöseverhalten	16
6.2.	Wasserbindung	17
6.3.	Fettbindung	19
6.4.	Grenzflächeneigenschaften	19
6.5.	Schaumbildung und Schaumstabilität	24
6.6.	Viskosität und Gelbildung	28
7.	Material und Methoden	30
7.1.	Auflöseverhalten	30
7.2.	Wasserbindung	30
7.3.	Fettbindung	30
7.4.	Grenzflächeneigenschaften	30
7.5.	Schaumbildung und Schaumstabilität	30
7.6.	Viskosität und Gelbildung	31
8.	Resultate der physikalisch-technologischen Charakterisierung	32
8.1.	Auflöseverhalten	32
8.2.	Wasserbindevermögen	33
8.3.	Fettbindevermögen	34
8.4.	Grenzflächeneigenschaften	35
8.5.	Schaumbildung und Schaumstabilität	37
8.6.	Viskosität und Gelbildung	39
9.	Gesamtdiskussion der physikalischen Untersuchungen	42
9.1.	Pulverauflösung für die physikalische Analytik	42
9.2.	Wasserbindevermögen	42
9.3.	Fettbindevermögen	42
9.4.	Grenzflächeneigenschaften	42
9.5.	Schaumbildung und Schaumstabilität	42
9.6.	Viskosität	42
9.7.	Gelbildungseigenschaften	43
10.	Schlussfolgerungen und Ausblick	44
11.	Literaturverzeichnis	45

Abkürzungsverzeichnis

WPI:	whey protein isolate ($\geq 90\%$ protein)
WPC:	whey protein concentrate
MPC:	milk protein concentrate (casein and whey protein)
MPI:	milk protein isolate (casein and whey protein)
CE:	Kapillarelektrophorese
SDS-PAGE:	Sodium Dodecyl Sulfat-Poly-Acrylamid-Gel-Elektrophorese
α -La:	α -Laktalbumin
β -Lg :	β -Laktoglobulin
SLMB:	Schweizerisches Lebensmittelbuch

MILCHPROTEINPULVER UND IHRE TECHNOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN: METHODIK UND UNTERSUCHUNG

1. Zusammenfassung

Es wurden 13 kommerziell erhältliche Milchproteinprodukte schweizerischer und internationaler Herkunft auf chemische und physikalisch-technologische Merkmale untersucht. Die chemischen Untersuchungen umfassten Gesamtprotein, Molkenproteine, native Molkenproteine, Mineralstoffe, Furososin, Laktose sowie den Wassergehalt nach Karl Fischer und gemäss der Trockenschrankmethode. Die physikalisch-technologischen Untersuchungen beinhalteten das Auflöseverhalten, die Wasserbindung, die Fettbindung, die Gelbildung, die Viskosität, die Schaumbildung und die Schaumstabilität sowie die Grenzflächeneigenschaften. Es wurden die Korrelationen zwischen den chemischen und den physikalischen Untersuchungsergebnissen berechnet.

Bezüglich des Anteils an nativen Molkenproteinen fielen die Produkte 2 (Serumproteinisolat) und 6 (Serumproteinkonzentrat) auf mit hohen Anteilen von 69% bzw. 52% nativer Molkenproteine in der Trockensubstanz und 82% bzw. 62% vom True Protein und ebenfalls 82% bzw. 62% der vorhandenen Molkenproteine, da alle Proteine Molkenproteine waren. Beim Gesamtmilchprotein 4 waren 97.7% der vorhandenen Molkenproteine nativ, d.h. das Produkt wurde sehr schonend hergestellt, wies jedoch einen relativ hohen Furososinwert auf. Da das Produkt zum Untersuchungszeitpunkt ca. 2 Jahre alt war, zeigte sich hier der Einfluss der Lagerung auf den Furososinwert deutlich. Für die Bestimmung des Chloridgehaltes wurde an ALP eine für Milchpulver geeignete Methode entwickelt, da sich mit der argentometrischen Analyse Schwierigkeiten ergaben. Die Differenzen der beiden Wassergehaltsbestimmungen nach Karl Fischer und gemäss der Trockenschrankmethode waren mit 1 bis 16 g/kg klein. In 9 der 13 Untersuchungen ergab die Methode nach Karl Fischer den höheren Wassergehalt.

Interessante Aspekte zeigten sich bezüglich des Furososinwertes. Trotz einem sehr hohen Anteil an nativen Molkenproteinen (Produkt 4 und Produkt 6) fanden sich hier hohe Furososinwerte. Dies bestätigt den ausschlaggebenden Einfluss der Lagerung der Milchpulver auf die Furososinwerte und zeigt, dass bedeutende Veränderungen während der Lagerung ablaufen (Maillard-Reaktion). Die Verwendung unterschiedlicher Rohstoffe und Verfahren kann zudem einen Einfluss auf den Furososinwert haben.

Beim Auflöseverhalten zeigten sich grosse Unterschiede. Besonders schlecht löslich waren zwei Gesamtmilchpro-

teine (Produkte 4 und 5) und ein Serumproteinkonzentrat (Produkt 10). Über alle Produkte ergaben sich schwach vorteilhafte Korrelationen mit monovalenten Ionen ($r=0.37$) und mit den nativen Molkenproteinen ($r=0.31$). Bei ausgewählten Produkten waren diese Korrelationen höher ($r=0.95$ bzw. $r=0.67$) und zusätzlich zeigte sich der positive Einfluss des Molkenproteingehalts auf das Auflöseverhalten ($r=1.0$).

Bezüglich Fettbindevermögen weist das Serumproteinkonzentrat 13 mit einem Wert von 3.0 ml/g das beste Resultat auf. Die Korrelation von 0.26 bis 0.57 zum Molkenproteingehalt zeigt einen leicht bis mittel positiven Einfluss auf die Fettbindung. Kaseine weisen mit $r=-0.35$ bis -0.53 einen leichten bis mittleren negativen Einfluss auf.

Die Viskosität von unerhitzten Lösungen (6%w/v) der Proteinprodukte bei einer Scherrate von 100 s^{-1} und 20°C war beim Gesamtmilchprotein 8 mit 6.2 mPaes am höchsten. Den Effekt der Viskositätszunahme durch kaseinreiche Produkte zeigt die mittlere Korrelation von $r \approx 0.7$ zum Kaseingehalt. Die Gelbildung war ausgeprägt beim Serumproteinisolat 2. Beim Serumproteinkonzentrat 6 ergab sich eine Gelierung sofern anstelle von Wasser Magermilch als Lösungsmittel eingesetzt wurde. Mittlere Korrelationen von $r=0.53$ bis 0.60 zeigten sich zwischen der Gelbildung und dem Gehalt an nativen Molkenproteinen in der Trockensubstanz. Auch zum Produkt von nativen Molkenproteinen mal der Summe der bivalenten Ionen ergaben sich mittlere Korrelationen von $r=0.55$ bis 0.58.

Die Schaumbildung war beim Serumproteinisolat 2 und den Serumproteinkonzentraten 6 und 3 am besten. Natrium-Kaseinat war in der Schaumbildung jedoch nicht wesentlich schlechter. Bei ausgewählten Milchproteinprodukten ergab sich eine mittlere positive Korrelation von $r \approx 0.7$ zwischen nativem Molkenproteingehalt und der Schaumbildung. Bivalente Ionen erwiesen sich mit $r \approx 0.3$ als eher positiv. In der Schaumstabilität ergab das Gesamtmilchprotein 5 den höchsten Wert, ein Produkt mit hohem Kaseingehalt. Über alle Produkte gerechnet zeigte sich mit $r=-0.48$ ein schwach negativer Einfluss des Molkenproteingehalts, d.h. ein leicht positiver Einfluss eines erhöhten Kaseinanteils. Native Molkenproteine erwiesen sich mit $r=0.3$ bis 0.5 als leicht bis mittel positiv für die Schaumstabilität. Die bivalenten Ionen zeigten mit $r=0.3$ bis 0.6 leichte bis mittlere schaumstabilisierende Wirkung.

2. Einleitung und Bedeutung der technologischen Eigenschaften

Die 13 untersuchten Milchproteinprodukte wiesen nur geringe Unterschiede bei den Grenzflächeneigenschaften auf. Drei Gesamtmilchproteine (Produkte 4, 5 und 7) sowie Natrium-Kaseinat ergaben die stärkste Reduktion mit Werten um 17 mN/m beim Grenzflächenalter 5 s. Beim Grenzflächenalter 1000 s ergab das Gesamtmilchprotein 7 mit 7.6 mN/m den tiefsten und damit in Hinblick auf die Emulsionsbildung und -stabilität besten Wert. Er lag tiefer als jener von Tween 80 mit 8.3 mN/m. Insgesamt erwiesen sich Kaseine mit $r = -0.68$ bis -0.80 als wirksamer in der Grenzflächenspannungsreduktion als Molkenproteine ($r = 0.38$ bis $r = 0.74$). Bei jungen Grenzflächenalter war dies deutlicher. Auch native Molkenproteine waren tendenziell günstig ($r = 0.08$ bis -0.36). Grenzflächenspannungsreduzierend wirkten die bivalenten Ionen ($r = -0.17$ bis $r = -0.73$).

Die gefundenen Resultate stimmen nicht immer mit den Angaben der Hersteller überein. Weitere Untersuchungen von Produkten des gleichen Herstellers mit bekannten Rohstoffen und mit vergleichbarer Technologie könnten zudem Aufschluss auf bisher nicht analysierte Einflüsse auf die technologischen Eigenschaften geben. Dabei sollten Proteinprodukte untersucht werden, die eine kurze Lagerzeit und tiefe Lagertemperaturen aufwiesen. Der pH-Wert, die Ionenstärke, Einflüsse von weiteren Inhaltsstoffen (Fett, Laktose, gelöste Stoffe) und Interaktionen zwischen Kaseinen und Molkenproteinen sind weitere Einflussfaktoren auf die technologischen Eigenschaften. Für die Bestimmung des Wasserbindevermögens ist eine andere Methode zu evaluieren, da die Resultate der eingesetzten Methode stark von der Löslichkeit der Pulver abhängig sind.

Die meisten bekannten Milchprodukte basieren auf technologischen Veränderungen der Proteinkomponenten der Milch. Die technologischen Eigenschaften der Milchproteine sind aber auch für Anwendungen in der übrigen Lebensmittelindustrie von grossem Interesse. Lebensmittelrechtlich gelten Milchproteine als Zutaten und nicht als Zusatzstoffe. Dies ermöglicht eine «saubere», konsumentenfreundliche Deklaration ohne E-Nummer. Für die Gewinnung der auch ernährungsphysiologisch hochwertigen Serumproteine besteht mit der in grossen Mengen verfügbaren Molke ein günstiges Ausgangsprodukt. Aus diesen Gründen ist ein grosses Interesse in der Milch- und Lebensmittelindustrie vorhanden, Milchproteine zu gewinnen und Zusatzstoffe durch Milchproteine zu ersetzen. In der Produktentwicklung haben Milchproteine eine viel höhere Chance, eingesetzt zu werden, wenn sie gut charakterisiert sind. Dies umfasst insbesondere auch die Charakterisierung der technologischen Eigenschaften. Daher sind Methoden erforderlich, die eine objektive Bestimmung und einen Vergleich der technologischen Eigenschaften ermöglichen (Abbildung 1).

Diese Arbeit befasst sich mit den Methoden zur chemischen und physikalisch-technologischen Charakterisierung von Milchproteinprodukten und zeigt Ergebnisse von untersuchten Beispielen kommerziell erhältlicher Milchproteinprodukte.

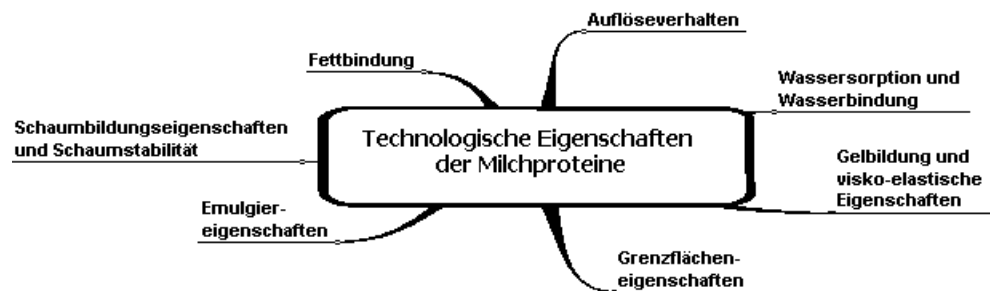


Abbildung 1: Technologisch wichtige Eigenschaften der Milchproteine

3. Milchproteinprodukte

Tabelle 1: Untersuchte Milchproteinprodukte und Vergleichsproben

Produkt-Nr.	Kurzbezeichnung	Kurzbeschreibung
1	1 Na-Cas.	1 Na-Kaseinat
2	2 WPI	2 Serumproteinisolat
3	3 WPC	3 Serumproteinkonzentrat
4	4 MPC	4 Gesamtmilchprotein
5	5 MPC	5 Gesamtmilchprotein
6	6 WPC	6 Serumproteinkonzentrat
7	7 MPI	7 Gesamtmilchprotein
8	8 MPC+WPC	8 Gesamtmilchprotein + Serumproteinkonzentrat
9	9 Cas.+WPC	9 Kaseinat +Serumprotein
10	10 WPC	10 Serumproteinkonzentrat
11	11 WPC denat.	11 Serumproteinkonzentrat denaturiert
12	12 WPC	12 Serumproteinkonzentrat
13	13 WPC	13 Serumproteinkonzentrat
14	14 S.lecith.	14 Sojalecithin 1%
15	15 Tween 80	15 Tween 80 (Polysorbat 80, Merck)
16	16 Wasser	16 Milli-Q-Wasser: Entmineralisiertes, aktivkohlefiltriertes, mikrofiltriertes, Wasser, Widerstand von 18 MOhm*cm
17	17 Milch	Referenzmilch A (frische, mit Bronopol konservierte Milch)

4. Chemische Untersuchungsmethoden

4.1 Stickstoff-Fractionen

Nasschemisch wurden die Stickstoff-Fractionen Totaler Stickstoff (TN), Nicht-Kasein-Stickstoff (NCN) und Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) bestimmt. Dazu wurden die Methoden nach Kjeldahl mit potentiometrischer Titration eingesetzt. Für TN wurde die Methode nach dem Standard IDF 20–2:2002 /ISO 8968-2 part 2 verwendet, für NCN die Methode nach dem Standard FIL 29:1964 und für NPN die Methode nach dem Standard IDF 20–4:2001 /ISO 8968-4 part 4. Stickstoff N wurde mit dem Faktor 6.38 in Protein umgerechnet (Matissek et al. 1992).

4.2 Mineralstoffe

4.2.1 Natrium

Die Probe wurde unter Druck bei 150°C mit konzentrierter Salpetersäure aufgeschlossen. Der Natriumgehalt des wässrigen Aufschlusses wurde in einer Luft/Acetylen-Flamme eines Atomabsorptions-Spektrometers durch die Bestimmung der Absorption ermittelt.

4.2.2 Kalium

Die Probe wurde unter Druck bei 150°C mit konzentrierter Salpetersäure aufgeschlossen. Der Kaliumgehalt des wässrigen Aufschlusses wurde in einer Luft/Acetylen-Flamme eines Atomabsorptions-Spektrometers durch die Bestimmung der Absorption ermittelt.

4.2.3 Magnesium

Die Probe wurde unter Druck bei 150°C mit konzentrierter Salpetersäure aufgeschlossen. Der Magnesiumgehalt des wässrigen Aufschlusses wurde in der Luft/Acetylen-Flamme eines Atomabsorptions-Spektrometers durch die Bestimmung der Absorption ermittelt.

4.2.4 Kalzium

Die Probe wurde unter Druck bei 150°C mit konzentrierter Salpetersäure aufgeschlossen. Der Kalziumgehalt des wässrigen Aufschlusses wurde in der Distickstoff-monoxid-/Acetylen-Flamme eines Atomabsorptions-Spektrometers durch die Bestimmung der Absorption ermittelt.

4.2.5 Chlorid

Für die Chlorid-Bestimmung wurde für Milch- und Milchproteinpulver eine spezielle Methode entwickelt, da sich mit der argentometrischen Methode gemäss Norm ISO/DIS 15648 / IDF 179:1997 Schwierigkeiten ergaben.

Wie bei der Methode IDF 179:1997 wird die Milchpulverprobe mit Salpetersäure versetzt und die Chloridionen mit Silbernitrat titriert. Der Endpunkt der Titration wird potentiometrisch ermittelt. Im Gegensatz zur IDF-Methode wird jedoch die Probe nicht mit Wasser verdünnt sondern direkt mit Salpetersäure versetzt und während 3 Stunden bei 90°C unter gelegentlichem Schwenken ins Wasserbad gestellt. Erst danach wird mit Wasser verdünnt und mit Silbernitrat titriert.

4.3 Trocknungsverlust und Wassergehalt

4.3.1 Trocknungsverlust

Die Probe wurde gemäss Methode SLMB 2003, 2.1.3 /IDF 26A:1993 im Trockenschrank bei einer Temperatur von 102 ± 2 °C bis zur Massenkonstanz getrocknet und die Massendifferenz vor und nach der Trocknung bestimmt.

4.3.2 Bestimmung des Wassers nach Karl Fischer

Die Methode SLMB 2003, 2.2 nach Karl Fischer (KF) beruht auf der stöchiometrisch verlaufenden Umsetzung des Wassers mit KF-Titriermittel. Die abgewogene Probe wurde in wasserfreiem KF-Lösungsmittel suspendiert und das darin enthaltene Wasser mit dem KF-Titriermittel bestimmt. Die Endpunktbestimmung erfolgte nach der Deadstop-Methode.

4.4 Furosingehalt

Gemäss Methode ISO/DIS 18329 wird durch saure Hydrolyse Furosin freigesetzt. Die Bestimmung erfolgt mittels reversed phase (RP) HPLC.

4.5 Laktosegehalt

Laktose wird in Gegenwart des Enzyms β -Galactosidase und Wasser zu Galactose und Glucose hydrolysiert. Danach folgt die Glucose-Bestimmung im hydrolysierten Ansatz und im nicht-hydrolysierten Ansatz. Glucose wird durch Glucose-Oxidase zu Gluconsäure oxidiert. Das dabei entstehende Peroxid oxidiert das Chromogen ABTS (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) in Anwesenheit der Peroxidase zum blaugrünen Farbstoff. Der Laktosegehalt berechnet sich aus der Differenz zwischen «Gesamtglucose» (hydrolysiertes Ansatz) und «freier Glucose» (nicht-hydrolysiertes Ansatz) (ALP-Methode ME740_005_000).

4.6 Bestimmung der nativen Molkenproteine α -Laktalbumin und β -Laktoglobulin

Die Bestimmung der nativen Molkenproteine erfolgte mittels HPLC nach der Methode IDF 178:1996.

4.7 Methoden zur Bestimmung der gesamten Molkenproteine

Zur Bestimmung der gesamten Molkenproteine kam die Kapillarelektrophorese (CE) nach der Methode von Recio und Olieman (1996) zum Einsatz. Weiter wurden auch die Methoden Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE) und Agilent Labchip eingesetzt.

SDS-PAGE ist eine bekannte elektrophoretische Methode. Proteine werden nach Vorbehandlung mit Natrium-Dodecyl-Sulfat (SDS) aufgefoldet und durch Anlagerung von Anionen mit einer negativen Ladung versehen. Auf einem Polyacrylamidgel (PAG) erfolgt unter der Wirkung eines elektrischen Feldes die Auftrennung nach Molekulargewicht. Die aufgetrennten Proteine wurden durch Zusatz eines Farbstoffes eingefärbt und densitometrisch quantifiziert.

Labchip ist ein Mikrosystem zur Trennung von Proteinen aufgrund ihres unterschiedlichen Molekulargewichtes. Das Trennungs-, Färbungs- sowie Messsystem stammt von der Firma Agilent und ist patentiert. Es kam der Protein 50 Assay zum Einsatz. Der Agilent 2100 Bioanalyzer misst mit Hilfe der Lasertechnologie. Durch die «lab-on-a-chip» Technologie werden Probenbehandlung, Trennung, Detektion und Datenauswertung in einem Schritt im 2100 Bioanalyzer durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte gemäss der Anleitung im Reagent Kit Guide Protein 50 Assay von Agilent Technologies (Palo Alto, USA / Basel, Schweiz).

5. Chemische Charakterisierung der verwendeten Produkte

5.1. Nasschemische Untersuchungen

In Tabelle 2 sind die Resultate der nasschemischen Untersuchungen dargestellt. Der Gehalt an Gesamtprotein (TN * 6.38) in der Trockensubstanz wurde mit den Angaben der Hersteller bezüglich des Proteingehalts in der Trockensubstanz verglichen. Bei einem der 13 untersuchten Milchproteinprodukten sind die Angaben des Herstellers tiefer, bei sechs Produkten gleich (Abweichungen geringer als 1%) und bei den übrigen sechs Produkten zwischen 1.7 und 4.3% höher. Wird der Gehalt an True Protein [(TN – NPN) * 6.38] der Analyse mit den Proteingehaltsangaben der Hersteller verglichen, dann ergibt sich insbesondere bei den Produkten mit hohem NPN-Gehalt (Produkte 2, 3, 11 und 12) eine bedeutende Differenz bis zu 32%. Gemäss Schweizerischer Lebensmittelverordnung, Art. 79, müssen Milchproteinprodukte mindestens 500 g Protein pro Kilogramm Trockensubstanz enthalten. Dieser Wert wird bei Produkt 11 unterschritten.

Bei der Bestimmung des Nicht-Kasein-Stickstoffes (NCN) werden bei hitzebehandelten Milchprodukten aufgrund der Aggregatbildung von Molkenproteinen mit Kasein nicht alle Molkenproteine erfasst. Der Nicht-Protein-Stickstoff (NPN)-Gehalt von drei Proteinprodukten ist mit Werten zwischen 40 und 51 g/kg hoch und bei einem Produkt mit 277 g/kg sehr hoch. Es handelt sich dabei um Serumproteinisolate/-konzentrate (Produkte 2, 3 und 12) und um ein Serumproteinkonzentrat denaturiert (Produkt 11).

Im Elektropherogramm (Abbildung 4) sind insbesondere bei Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat) Banden im niedermolekularen Bereich erkennbar. Die Hersteller geben als Proteingehalt den Wert TN*6.38 an. Daher ergeben sich bei den Produkten mit hohen NPN-Gehalten beträchtliche Unterschiede zwischen dem gefundenen Wert an True Protein und den Herstellerangaben für Protein. Beim Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat) erreicht diese Differenz über 30% Protein.

Tabelle 2: Resultate der nasschemischen Proteinbestimmungen

Bezeichnung	Gesamtprotein (TN * 6.38)	NCN *6.38	NPN *6.38	True Protein	True Protein in TS
	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	%
1 Na-Cas.	878.3	39.6	12.38	865.9	93.9%
2 WPI	808.9	764.3	50.21	758.7	83.4%
3 WPC	779.1	524.2	277.59	501.5	53.3%
4 MPC	782.9	132.3	14.29	768.6	81.7%
5 MPC	799.6	91.4	13.40	786.2	84.0%
6 WPC	816.2	703.7	16.21	800.0	84.5%
7 MPI	865.5	46.5	13.33	852.2	90.8%
8 MPC+WPC	849.0	49.2	15.31	833.7	88.7%
9 Cas.+WPC	841.1	65.7	15.12	826.0	89.2%
10 WPC	807.8	174.4	19.01	788.8	84.6%
11 WPC denat.	449.7	177.2	40.64	409.1	43.0%
12 WPC	712.7	433.6	51.30	661.4	69.7%
13 WPC	777.8	148.5	17.8	760.0	79.5%

TN: Totaler Stickstoff; NCN: Nicht-Kasein-Stickstoff; NPN: Nicht-Protein-Stickstoff; True Protein: (TN – NPN) * 6.38.

5.2 Bestimmung der gesamten und der nativen Molkenproteine

Mittels HPLC und den Methoden Kapillarelektrophorese (CE), Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und Agilent-Labchip, wurde der Gehalt an nativen und gesamten Molkenproteinen erfasst. In Tabelle 3 und Abbildung 2 sind die Ergebnisse dargestellt. Es ist in Tabelle 3 ersichtlich, dass v.a. zwischen SDS-PAGE und Kapillarelektrophorese/Labchip 50 zur Bestimmung der gesamten Molkenproteine Unterschiede in den Resultaten bestehen. Mit Standardabweichungen von über 5% Molkenprotein in der Trockensubstanz sind diese Unterschiede bei den Produkten 2, 3, 9, 10, 12 und 13 recht hoch. Labchip 50 und Kapillarelektrophorese ergeben ähnliche Werte. Zunächst wurde vermutet, dass enthaltene Ionen

wie Natrium, Kalium, Chlorid oder Kalzium insbesondere die Gel-Elektrophorese stören. Es war jedoch kein systematischer Zusammenhang der untersuchten Mineralstoffgehalte mit den Unterschieden in der Analytik festzustellen. Auch nach einer durchgeführten Dialyse und einer anschließenden Gel-Elektrophorese ergaben sich noch Unterschiede. Die Ionen Phosphat und Citrat wurden nicht bestimmt.

In Abbildung 2 sind für die Molkenproteine die Mittelwerte der beiden Methoden Kapillarelektrophorese und Labchip 50 mit den Schwankungsbreiten dieser beiden Methoden aufgetragen. Die folgenden Auswertungen basieren auf den Mittelwerten dieser beiden Methoden.

Tabelle 3: Resultate der Bestimmungen der nativen Molkenproteine mittels HPLC und der gesamten Molkenproteine mit den Methoden Kapillarelektrophorese (CE), Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und Labchip 50 sowie Mittelwert der drei Methoden CE, SDS-PAGE und Labchip 50 und Abweichungen; Anteile bezogen auf die Trockensubstanz der Milchproteinprodukte (TS); n.b.: nicht bestimmbar

Bezeichnung	Anteil Molkenprotein [%] bezogen auf die TS					
	Native Molkenproteine (HPLC)	CE	SDS-PAGE	Labchip 50	Molkenproteine Mittelwert	Standardabweichung
1 Na-Cas.	1.7%	1.7%	6.5%	n.b.	4.1%	3.4%
2 WPI	68.5%	83.4%	73.9%	82.8%	80.0%	5.3%
3 WPC	1.8%	21.0%	11.0%	n.b.	16.0%	7.1%
4 MPC	10.6%	10.5%	10.6%	11.3%	10.8%	0.4%
5 MPC	6.6%	8.9%	9.3%	14.6%	10.9%	3.2%
6 WPC	52.1%	84.5%	77.8%	83.5%	81.9%	3.6%
7 MPI	0.4%	8.0%	9.0%	8.1%	8.3%	0.6%
8 MPC+WPC	0.0%	19.4%	12.2%	20.4%	17.4%	4.5%
9 Cas.+WPC	0.8%	30.1%	10.9%	30.4%	23.8%	11.2%
10 WPC	10.0%	72.8%	56.2%	79.2%	69.4%	11.9%
11 WPC denat.	3.1%	43.0%	37.4%	42.9%	41.1%	3.2%
12 WPC	33.9%	69.7%	56.9%	63.7%	63.4%	6.4%
13 WPC	6.7%	79.5%	67.7%	79.5%	75.6%	6.8%

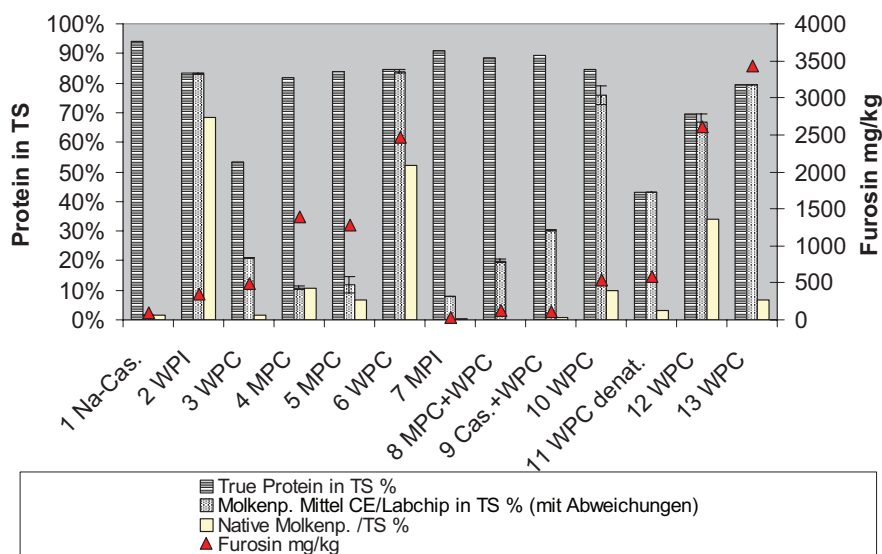


Abbildung 2: Gehalt an True Protein, Molkenproteinen (MP), nativen MP sowie Furosine in der Trockenmasse der kommerziellen Milchproteinprodukte. Die dargestellten Werte für das Gesamt-Molkenprotein sind die Mittelwerte der beiden Methoden CE und Labchip 50. Der Balken beim Mittelwert zeigt die Schwankungsbreite der Werte.

5.2.1 Molkenproteine

Die Unterschiede im Molkenproteingehalt sind aufgrund der verschiedenen Herstellungstechnologien der Pulver erwartungsgemäss hoch. In Produkt 1 (Na-Kaseinat) wurden mit CE noch 1.7% Molkenproteine in der Trockensubstanz gefunden. Ebenfalls einen tiefen Molkenproteingehalt von 8% in der TS weist das Produkt 7 (Gesamtmilchprotein) auf. Mit nächsthöherem Molkenproteingehalt von 11–12% in der TS bzw. ca. 14% im True Protein folgen die Produkte 4 und 5 (beides Gesamtmilchproteine). In einem mittleren Bereich folgen diverse Produkte wie Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat), Produkt 8 (Gesamtmilchprotein mit Serumproteinen) und Produkt 9 (Kaseinat und Serumproteine). Die übrigen Produkte 2, 6, 10, 11, 12 und 13 weisen einen hohen Gehalt an Molkenproteinen in der TS (bzw. einen hohen Anteil vom True Protein) auf.

Es handelt sich um Serumproteinisolat (Produkt 2), Serumproteinkonzentrat (Produkte 6, 10, 12, 13) und um Serumproteinkonzentrat denaturiert (Produkt 11).

5.2.2 Native Molkenproteine

Beim Gehalt an nativen Molkenproteinen zeigen die Analysen grosse Unterschiede zwischen den Produkten. Dies ist in Abbildung 2 und Tabelle 4 ersichtlich. Mit 68.5% an nativen Molkenproteinen in der TS bzw. 82.1% der True Proteine weist das Produkt 2 (Serumproteinisolat) den höchsten Gehalt an nativen Molkenproteinen auf. 82.4% der vorhandenen Molkenproteine sind nativ. Produkt 6 (Serumproteinkonzentrat) weist mit 52.1% in der TS bzw. 61.7% der True Proteine auch einen deutlich höheren Gehalt an nativen Molkenproteinen auf als die übrigen Produkte. 62.1% der vorhandenen Molkenproteine sind in Produkt 6 nativ. Produkt 12 (Serumproteinkonzentrat) hat einen mittleren Gehalt von 33.9% an nativen Molkenproteinen in der TS bzw. 48.6% der True Proteine. 50.8% der vorhandenen Molkenproteine in Produkt 12 sind nativ. Bezüglich des Anteils an nativem Molkenprotein vom gesamten Molkenprotein fällt das Produkt 4 (Gesamtmilchprotein) auf. Praktisch alle vorhandenen Molkenproteine (97.7%) sind nativ. Dieses Produkt wurde somit sehr schonend hergestellt.

In Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat) ist ein hoher Anteil der Molkenproteine (91.6%) denaturiert. Dadurch wird gezielt Thermostabilität erreicht, da denaturierte Molkenproteine sich in der Hitze nicht mehr wesentlich verändern. Dasselbe trifft für die Produkte 11 (Serumproteinkonzentrat denaturiert) und 13 (Serumproteinkonzentrat) zu.

Tabelle 4: Übersicht der Anteile an nativen Molkenproteinen in den 13 untersuchten Milchprotein-Produkten. La = α -Laktalbumin, Lg = β -Laktoglobulin MP-Molkenproteine

% native Molkenproteine			
	La nativ/ La gesamt	Lg nativ/ Lg gesamt	La +Lg nativ/ MP gesamt
1 Na-Cas.	–	–	–
2 WPI	–	58.4%	82.4%
3 WPC	2.0%	24.4%	8.4%
4 MPC	87.0%	74.1%	97.7%
5 MPC	33.0%	44.3%	56.4%
6 WPC	32.0%	57.8%	62.1%
7 MPI	2.9%	4.4%	4.5%
8 MPC+WPC	0.0%	0.2%	0%
9 Cas.+WPC	0.4%	2.8%	2.7%
10 WPC	0.5%	13.5%	13.1%
11 WPC denat.	8.9%	0.7%	7.1%
12 WPC	54.0%	31.1%	50.8%
13 WPC	2.0%	8.0%	8.4%

5.3 Furosin

Beim Produkt 4 (Gesamtmilchprotein) zeigt sich die beschränkte Aussagekraft des Furosinwertes. Vom mittleren Furosinwert von 1397 mg/kg (Tabelle 5) könnte man auf eine recht hohe Hitzebelastung schliessen. Da praktisch alle

Molkenproteine in nativer Form vorliegen, wurde das Produkt jedoch sehr schonend hergestellt. Ebenfalls hat das Produkt 6 einen hohen Gehalt an nativen Molkenproteinen aber mit 2'465 mg/kg auch einen vergleichsweise hohen Gehalt an Furosin.

Tabelle 5: Furosinwerte der untersuchten Milchproteinprodukte

1 Na-Cas.	98
2 WPI	346
3 WPC	491
4 MPC	1'397
5 MPC	1'278
6 WPC	2'465
7 MPI	34
8 MPC+WPC	123
9 Cas.+WPC	119
10 WPC	540
11 WPC denat.	581
12 WPC	2'605
13 WPC	3'438

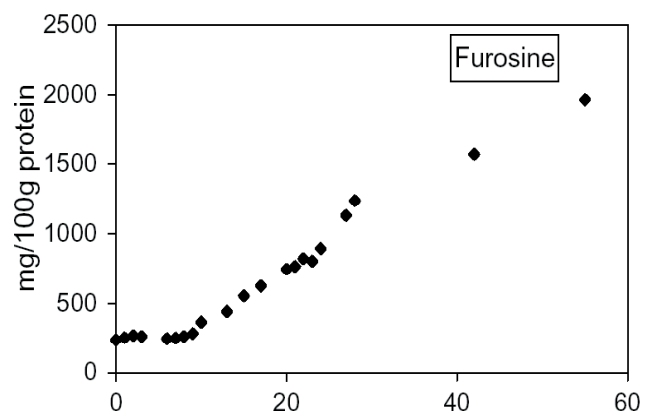


Abbildung 3: Furosinwert von extra low heat Magermilchpulver während der Lagerung bei 25°C, 65% rel. Feuchte (De Block et al. 2003)

Gemäss De Block et al. (2003) ist während der Lagerung von Milchpulvern in der untersuchten Zeit von 10 bis 60 Tagen eine kontinuierliche annähernd lineare Zunahme des Furosingehaltes festzustellen (vgl. Abbildung 3). Die Pulverlagerung spielt somit eine entscheidende Rolle für den Furosingehalt. Van Renterghem und De Block (1996) fanden in ihren Untersuchungen, dass die Bildung von Furosin in Milchpulvern nicht durch die Hitzebelastung im flüssigen Zustand beeinflusst wird, sondern hauptsächlich durch die Trocknungsbedingungen und die Lagerung. Bei der Lagerung ist die Temperatur der wichtigste Faktor, gefolgt von der relativen Feuchtigkeit. Die Schlussfolgerung aus der Tatsache, dass keine Korrelation zwischen Denaturierung der Molkenproteine und dem Furosingehalt gefunden wurde ist folgende: Der Prozess während des flüssigen Zustands scheint v.a. für die Denaturierung verantwortlich zu sein und die Trocknung und Lagerung für die Furosinbildung. Das Produkt 4 hatte zum Untersuchungszeitpunkt ein Alter von ca. 2 Jahren, bei Produkt 6 ist das Alter nicht genau bekannt. Von Milchprotein-Herstellern wird bestätigt, dass sich die Eigenschaften der Milchproteinprodukte im Laufe der Lagerzeit ändern können (Wechsler, 2003).

5.4 Weitere Molkenproteinfraktionen und Verhältnis β -Laktoglobulin zu α -Laktalbumin

In Tabelle 6 sind weitere Details zur Proteinanalytik mit den drei neuen Methoden ersichtlich. Die verschiedenen Molkenproteinfraktionen α -Laktalbumin, β -Lactoglobulin und Bovines Serum Albumin (BSA) bzw. andere Molkenproteine sind separat aufgeführt. Die Unterschiede in den Resultaten mit den verschiedenen Methoden wurden bereits diskutiert. Bei tiefen Gehalten ist die PAGE-Methode sensibel, bei höheren Gehalten ergeben sich damit Schwierigkeiten in der Auswertung.

Das Verhältnis von β -Laktoglobulin zu α -Laktalbumin (β -Lg/ α -La) ist gemäss Walstra und Jenness (1984) 3.2 g zu 1.2 g und somit 2.67. Bei vielen der untersuchten Milchproteinprodukte liegt das Verhältnis der totalen Anteile dieser zwei Molkenproteinfraktionen im Bereich von 2.7 bis 4. Für die totalen Anteile dieser zwei Molkenproteine weisen jedoch die Produkte 2 (Serumproteinisolat) und 12 (Serumprotein-

konzentrat) mit Werten um 12–14 bzw. 6 bis 10 ein erhöhtes Verhältnis auf. Bei diesen beiden Produkten wurde absichtlich oder ungewollt der Anteil an α -Laktalbumin reduziert oder jener von β -Laktoglobulin erhöht. Aufgrund des geringeren Molekulargewichtes von α -Laktalbumin von 14'176 Dalton gegenüber 18'363 Dalton für β -Laktoglobulin könnte beim Trennprozess durch Membranen allenfalls ein Teil des α -Laktalbumins ins Permeat übergegangen sein. Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat) zeigt ein tieferes Verhältnis von 1.0 (Methode CE). Das α -Laktalbumin ist demgemäss selektiv angereichert, da auch bei den übrigen Molkenproteinen erhöhte Werte vorliegen. Das kann durch Ionenaustauscherchromatographie erfolgen.

Beim Verhältnis der nativen Anteile von β -Laktoglobulin zu α -Laktalbumin weisen 4 Produkte einen erhöhten bis stark erhöhten Wert auf. Produkte 3 und 13 (Serumproteinkonzentrate) weisen Werte von 11 bis 12 auf, Produkt 9 (Kaseinat mit Serumproteinen) 23 und Produkt 10 (Serumproteinkonzentrat) 108. Bei Produkt 3 ist, wie zuvor erwähnt, das Verhältnis der totalen Fraktionen β -Lg/ α -La erniedrigt. Für das Produkt 3 bedeutet dies, dass vom anteilmässig wenig vorhandenen β -Lg ein höherer Anteil nativ ist als beim α -La. Dies ist aus β -Lg Tabelle 4 ersichtlich: 24.4% des β -Lg sind nativ und nur 2% des α -La. Die Produkte 9, 10 und 13 weisen beim Verhältnis der totalen Fraktionen β -Lg/ α -La normale Werte auf. Produkt 9 weist einen insgesamt tiefen Wert an nativen Molkenproteinen auf, nur 0.8% der TS, und daher ist dieser Verhältniswert mit Vorsicht zu interpretieren. In den Produkten 10 und 13 ist der Anteil an nativem β -Lg erhöht bis stark erhöht. Worauf dies zurückzuführen ist, ist unklar. Aufgrund einer selektiven Hitze-Denaturierung müsste der Anteil an β -Lg sinken, da β -Lg vor dem α -La hitzedenaturiert wird. Gemäss Dannenberg (1986) erfolgt z.B. bei einer Erhitzung bei 80°C eine 30%-ige Denaturierung für β -Lg nach ca. 150 s, für α -La nach ca. 250 s. Produkt 11 (Serumproteinkonzentrat denaturiert) weist ein Verhältnis von nativem β -Lg/ α -La von nur 0.2 auf. Da bei den totalen Anteilen ein normaler Wert vorliegt, kann auf einen höheren Denaturierungsgrad des β -Laktoglobulins geschlossen werden. Dies ist gemäss der Hitze-Denaturierungscharakteristik der beiden Molkenproteine plausibel.

Tabelle 6: Details der Proteinanalytik mit den Methoden Kapillarelektrophorese CE, Gelelektrophorese SDS-PAGE und Labchip 50 (die angegebenen Werte sind die %-Anteile am True Protein), native Molkenproteine mit der HPLC-Bestimmung (%-Anteile am True Protein) sowie Verhältnis der Molkenproteine β -Laktoglobulin zu α -Laktalbumin, inkl. jenem der nativen Anteile. n.b.: nicht bestimmbar

	α -Laktalbumin				β -Laktoglobulin				BSA Andere Molkenp. Andere Proteine			Summe Molkenproteine			Kasein			Verhältnis β -LG / α -LA			
	HPLC (nativ)	CE	PAGE	Labchip	HPLC (nativ)	CE	PAGE	Labchip	CE	PAGE	Labchip	CE	PAGE	Labchip	CE	PAGE	Labchip	nativ	total		
																			CE	PAGE	Labch.
1 Na-Cas.	0.31	0.0	0.2	0	1.45	1.8	0.8	0	0.0	5.9	0.6	1.8	6.9	n.b.	98.2	93.1	99.4	4.7	CE	PAGE	Labch.
2 WPI	11.39	6.4	4.8	7.7	70.74	92.2	78	91.6	1.4	5.8	0	100.0	88.6	99.3	0.0	11.4	0.7	6.2	14.4	16.3	11.9
3 WPC	0.27	13.0	5.9	0	3.03	12.5	14.8	0	14.0	n.b.	81.6	39.5	20.7	n.b.	60.5	0	18.4	11.4	1.0	2.5	-
4 MPC	2.52	2.6	1.9	1.8	10.51	9.8	7.1	12	0.4	4	0	12.8	13	13.8	87.2	87	86.2	4.2	3.7	3.7	6.7
5 MPC	1.40	2.1	1.3	4.5	6.53	10.3	7.2	12.9	0.0	2.6	0	12.4	11.1	17.4	87.6	88.9	82.6	4.7	4.9	5.5	2.9
6 WPC	12.53	27.2	26.6	35.6	49.15	72.8	60	63.2	0.0	5.5	0	100.0	92.1	98.8	0.0	8	1.2	3.9	2.7	2.3	1.8
7 MPI	0.06	2.0	0.9	1.8	0.36	6.8	4.4	7.1	0.0	4.6	0	8.8	9.9	8.9	91.2	90	91.1	5.6	3.3	4.9	3.9
8 MPC+WPC	0.00	3.9	0.5	5.7	0.05	17.3	4.5	17.3	0.7	8.8	0	21.9	13.8	23	78.1	86.2	77		4.4	9.0	3.0
9 Cas.+WPC	0.04	6.6	0.6	8.3	0.88	26.4	6.5	25.8	0.9	5.1	0	33.8	12.2	34.1	66.2	87.8	65.9	23.3	4.0	10.8	3.1
10 WPC	0.11	15.4	1.9	22.2	11.72	65.8	54.7	71.4	4.9	9.8	0	86.1	66.4	93.6	13.9	33.6	6.4	107.6	4.3	28.8	3.2
11 WPC denat.	5.85	26.0	29.8	27.9	1.20	74.0	54	72	0.0	3.3	0	100.0	87.1	99.9	0.0	12.9	0.1	0.2	2.8	1.8	2.6
12 WPC	8.62	13.2	10.3	8.1	39.98	86.8	58.8	83.4	0.0	12.6	0	100.0	81.7	91.5	0.0	18.3	8.5	4.6	6.6	5.7	10.3
13 WPC	0.64	23.6	14.6	27.7	7.80	76.4	61.8	72.3	0.0	8.7	0	100.0	85.1	100	0.0	14.9	0	12.2	3.2	4.2	2.6

5.5 SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE)

In Abbildung 4 ist die Auftrennung der Proteinfractionen von 12 der 13 Proteinprodukten ersichtlich. Wie bereits erwähnt sind bei der Auswertung von SDS-Page Schwierigkeiten aufgetreten. Davon betroffene Produkte sind in Abbildung 4 markiert und deren Daten wurden nicht weiter in der Auswertung mit berücksichtigt.

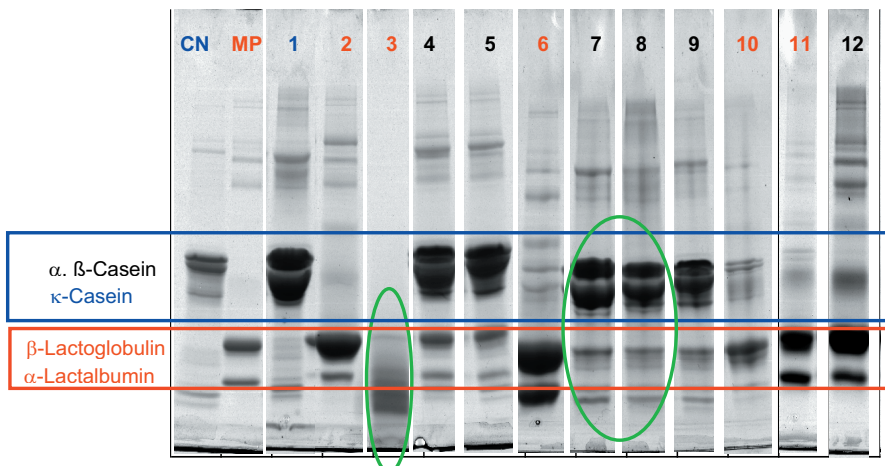


Abbildung 4: SDS-PAGE von 12 der 13 untersuchten Milchproteinprodukten. Oval eingekreiste Zonen zeigen Produkte mit Schwierigkeiten bei der Auswertung. Nummerierung der Produkte analog Tabelle 6 und Tabelle 7 Legende: CN: Casein; MP: Molkenproteine.

5.6 Mineralstoff-, Wasser- und Laktosegehalt

In Tabelle 7 sind die Mineralstoff-, Wasser- und Laktosegehalte der Milchprotein-Produkte aufgeführt. Produkte 1 (Na-Kaseinat), 3 (Serumproteinkonzentrat), 7 (Gesamtmilchprotein), 8 (Gesamtmilchprotein mit Serumproteinen), 9 (Kaseinat mit Serumproteinen) und 13 (Serumproteinkonzentrat) weisen hohe Natrium-Gehalte auf. Beim Na-Kaseinat wie auch beim Produkt 9 mit Kaseinat erklärt sich dies durch die Herstelltechnologie. Produkt 3 wird gemäss Herstellerangaben mittels Ionenaustauscherchromatographie aufgetrennt. Bei dieser Chromatographie-Methode gelangen auch Ionen ins Produkt und dies erklärt den erhöhten Gehalt an Natrium und Kalium-Ionen. Für Produkt 13 bestehen keine Angaben über die Herstelltechnologie. Die Quelle des hohen Natriumgehaltes ist daher nicht bekannt. Dieses Produkt enthält nur Molkenproteine. Produkt 11 (Serumproteinkonzentrat denaturiert) weist neben Produkt 3 einen sehr hohen Kaliumgehalt auf. Die Quelle ist nicht bekannt. Produkt 2 (Serumproteinisolat) weist als einziges Produkt einen hohen Magnesiumgehalt von 9'445 mg/kg auf. Der Gehalt an Magnesium in Milch liegt im Mittel bei 130 mg/kg (Walstra und Jenness 1984). Durch reine Konzentration des natürlich vorhandenen Magnesiums könnte der Gehalt im Proteinprodukt höchstens im Bereich von 1'500 mg/kg sein. Es ist daher davon auszugehen, dass Magnesium zugesetzt wurde. Der hohe Magnesiumgehalt ist ein wichtiges Verkaufsargument für Anwendungen in der Er-

nährung, speziell der Sport-Ernährung. Besonders hohe Kalzium-Gehalte weisen die Produkte 3 (Serumproteinkonzentrat) und 5 (Gesamtmilchprotein) auf.

Die Wassergehalte mit den beiden Methoden Trockenschrank und Karl-Fischer weisen geringe Unterschiede auf. Die Trockenschrankmethode erfasst das freie Wasser und teilweise adsorbiertes und evtl. gebundenes Wasser. Die Karl-Fischer-Methode misst das gesamte vorhandene Wasser, unabhängig von der Form (frei, adsorbiert, gebunden) (Reh et al., 2004). Der Wassergehalt nach Karl-Fischer müsste somit höher, zumindest nicht tiefer, liegen, als jener mit der Trockenschrankmethode. Dies ist bei 9 der 13 untersuchten Proben auch der Fall. Bei den Produkten 3, 6, 7 und 13 ist der Wassergehalt nach Karl-Fischer tiefer als jener mit der Trockenschrankmethode. Bei der Trockenschrankmethode kann neben dem Wasser auch das Entweichen von flüchtigen Stoffen im Produkt oder von flüchtigen Stoffen, die bei Zersetzungsreaktionen bei der hohen Trocknungstemperatur entstehen, einen Gewichtsverlust ausmachen und damit die Wassergehaltsbestimmung verfälschen (Reh et al., 2004).

Das Produkt 11 weist mit 342 g/kg den höchsten Gehalt an Laktose auf. Es ist das Produkt mit dem tiefsten Gehalt an Gesamtprotein, damit ist der hohe Laktosegehalt erklärbar. Die Proteine wurden ausgehend von Molke oder Magermilch bei der Ultra- und Diafiltration am wenigsten stark aufkonzentriert und von der Laktose abgetrennt.

Tabelle 7: Mineralstoff-, Wasser- und Laktosegehalt der kommerziellen Milchproteinprodukte.
Wasser TS: Trockenschrankmethode, Wasser KF = Wassergehalt nach Karl Fischer

Bezeichnung	Natrium	Chlorid	Kalium	Magnesium	Kalzium	Wasser	Wasser KF	Diff. KF- Wasser	Laktose wasserfrei
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
1 Na-Cas.	9'239	820	112	98	5'807	73	78	5	0.0
2 WPI	932	6'000	315	9'445	6'357	75	90	16	0.0
3 WPC	17'627	3'770	13'348	688	22'094	63	59	-5	
4 MPC	806	490	3'359	746	6'542	58	59	2	51.3
5 MPC	775	410	3'047	759	22'498	56	64	8	39.8
6 WPC	1'813	640	6'720	398	3'445	56	53	-3	61.6
7 MPI	9'650	730	4'850	88	4'238	68	61	-7	0.0
8 MPC+WPC	14'223	680	359	140	5'662	60	60	1	0.0
9 Cas.+WPC	6'513	1'270	308	163	5'979	67	74	7	0.0
10 WPC	4'118	920	912	240	7'919	64	68	3	0.0
11 WPC denat.	3'126	4'500	11'806	735	5'234	47	48	1	342.0
12 WPC	1'121	710	5'483	564	3'674	49	51	1	61.8
13 WPC	7'443	480	763	170	2'272	45	45	-1	74.9

6. Grundlagen zu den Methoden der physikalisch-technologischen Charakterisierung

6.1 Auflöseverhalten

Das Auflöseverhalten eines Milchpulvers oder Milchproteinpulvers ist ein wichtiger Qualitätsparameter. Ein Milchproteinpulver oder Milchpulver kann seine technologischen Eigenschaften erst nach dem Auflösen entfalten. Die Löslichkeit eines Milchtrockenproduktes ist einerseits vom Proteingehalt, der Art des Proteins und dessen Denaturierungsgrad und vom Gehalt an Laktose, Fett und Mineralstoffen abhängig und andererseits von den Milieubedingungen wie dem pH-Wert, der Ionenstärke und von der Temperatur. Des weiteren spielt die Partikelgrösse, die Herstelltechnologie und die Lagerung eine Rolle.

Bei der Auflösung von Milchpulver in Wasser zur Rekonstituierung laufen an den Pulverpartikeln verschiedene Vorgänge ab:

- 1) Wasser an der Oberfläche absorbieren (Benetzbarkeit – wettability)
- 2) Durchdringen des Wasserfilms an der Teilchenoberfläche (penetrability)
- 3) Einsinken in Wasser (sinkability)
- 4) Verteilung der Teilchen ohne Klumpen zu bilden (dispersibility)
- 5) Auflösen der Teilchen (rate of dissolving)

Durch Instantisierung von Milchpulver kann die Geschwindigkeit und Vollständigkeit der Pulverrekonstituierung verbessert werden. Es gelingt z.B. durch Agglomeration, einige der aufgelisteten Teilvorgänge bei gegebener Löslichkeit (rate of dissolving) eines Pulvers zu verbessern.

IDF-Standard 173:1995/2002: (Stickstofflöslichkeitsindex):

Der IDF-Standard basiert auf folgendem Prinzip: Eine Probe des Milchproteinpulvers wird in Wasser bei 22°C dispergiert. Danach wird der vorgegebene pH-Wert von 7.0 eingestellt und während 2 h bei 22°C mit dem Magnetrührer gerührt. Von dieser Dispersion wird der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt. Anschliessend wird ein Teil dieser Dispersion bei 3000 g zentrifugiert. Vom filtrierten Überstand wird ebenfalls der Stickstoffgehalt analysiert. Der Stickstofflöslichkeitsindex berechnet sich nun aus dem Verhältnis dieser beiden Stickstoffbestimmungen und wird in Prozent angegeben. Ein hoher Wert bedeutet eine gute, ein tiefer Wert eine schlechte Löslichkeit.

IDF-Standard 129A:1988: (Unlöslichkeitsindex):

Der IDF-Standard basiert auf folgendem Prinzip: Die Proteinprobe wird bei 24°C (für sprühgetrocknete Pulver) in Wasser gelöst. Dazu wird mit einem Spezialmischer während 90 s bei 3'600 min⁻¹ gerührt. Die Probe wird bei 20–25°C für 5 bis 15 min stehen gelassen. Ein Aliquot der Probe wird bei 160 g zentrifugiert, nochmals dispergiert und erneut zentrifugiert. Danach wird das Volumen des Sedimentes bestimmt und als Unlöslichkeitsindex angegeben.

Im zweiten Standard wurde die ADMI-Methode (ADMI = American Dry Milk Institute) modifiziert. Die Auflösungstemperatur ist je nach Pulverart (sprühgetrocknet oder walzengetrocknet) unterschiedlich, entweder 24°C wie bei der ADMI-Methode oder 50°C für walzengetrocknetes Pulver. Die Sedimentmenge nach der Zentrifugation wird als Mass für die Unlöslichkeit (insolubility) herangezogen.

Kilara (1984) gibt ausführliche Informationen zur Löslichkeitsbestimmung an. Die Basisschritte sind das Dispergieren des Proteins in Wasser, die pH-Einstellung zum gewünschten Wert, die Zentrifugation und die Bestimmung des Stickstoff-Gehaltes im Überstand. Verschiedene Begriffe werden für die Beschreibung der Löslichkeit gebraucht:

- wasserlösliches Protein – water soluble protein (WSP)
- Wasser-dispergierbares Protein – water dispersible protein (WDP)
- Protein-Dispergier-Index – protein dispersibility index (PDI) und
- Stickstoff-Löslichkeits-Index – Nitrogen solubility index (NSI).

Je nach Autor werden verschiedene Methoden angewandt. Sie unterscheiden sich z.B. in den Proteinkonzentrationen (zwischen 0.5% bis 6.1%), in der Art des Lösungsmediums (Wasser, Puffer oder Salzlösung) und in den benutzten Geräten zur Auflösung (Stomacher, Mehrzweckmischer oder Spezialmischer).

Schuck et al. (1994) stellten bei Proteinpulvern mit hohem Gehalt an Mizellärem Phospho-Kasein eine verminderte Löslichkeit fest. Sie fanden einen Löslichkeitsindex von nur 74% bei 24°C. Verschiedene Massnahmen im Konzentrat vor der Trocknung (pH-Absenkung, Erhöhung der Ionenkonzentration, Zugabe von Laktose) und die Reduktion der Partikelgrösse des hergestellten Pulvers führten zu einer Verbesserung der Löslichkeit auf einen Löslichkeitsindex von 93% bei 24°C. Die verminderte Löslichkeit von kaseinreichen Proteinpulvern konnte auf eine verminderte Eindringgeschwindigkeit des Wassers zurückgeführt werden. Schuck et al. (2002) untersuchten weitere Einflüsse auf Mizelläre phosphokaseinreiche Proteinpulver. Der Zusatz von Zitrat- oder Phosphatlösungen zu den Konzentraten mit Mizellärem Kasein vor der Trocknung erhöhte die Rehydrationsrate erheblich und dies konnte auf die Zerstörung der Mizellären Struktur zurückgeführt werden. Ein Zusatz von CaCl_2 vor der Pulvertrocknung führte zu unlöslichen Strukturen im Pulver durch eine erhebliche Beeinflussung der Mizellstruktur.

Verursacht durch die Maillard-Reaktion kann bei der Lagerung von Milchpulvern eine Proteinpolymerisierung eintreten und dadurch die Löslichkeit vermindern (Stapelfeldt et al. 1997, Celestino et al. 1997). Andere Autoren stellten dagegen eine Verbesserung der Löslichkeit von proteinreichen Milchpulvern während der Lagerung fest (Mistry und Pulgar, 1996).

6.2 Wasserbindung

Die auf den Interaktionen von Milchproteinen mit Wasser basierenden Eigenschaften sind für Lebensmittel sehr wichtig. Neben der Löslichkeit gehören Benetzbarkeit, das Wasserbindevermögen, die Synärese, die Quellung, die Wasseraktivität und die Gelbildung dazu.

Das Wasserbindevermögen ist wichtig für die Ausbildung der produkttypischen sensorischen Eigenschaften von Brot, Backwaren, Teigwaren, Milchprodukten, Desserts, Fleischwaren, vegetarischen Produkten, fettarmen und energiereduzierten Produkten aber auch für die kostengünstige Lebensmittelherstellung durch Reduzierung des Rohstoffeinsatzes.

Das Wasserbindevermögen ist u.a. abhängig vom pH-Wert, der Ionenstärke und von der Temperatur. Zur Bestimmung des Wasserbindevermögens wird häufig ein Zentrifugiertest einer Proteindispersion oder ein Filtertest nach Kneifel et al. (1990) durchgeführt.

Kinsella (1976) beschreibt zwei ähnliche Zentrifugiertestmethoden: Die Probe wird in Wasser aufgelöst (10%). Anschließend wird zentrifugiert und das Volumen des dekantierten Wassers gemessen. Daraus lässt sich das Wasserbindevermögen berechnen.

Die beiden Methoden basieren auf den Arbeiten von Fleming et al. (1974), Janicki et al. (1954), Lin et al. (1974) und Sosulski et al. (1962).

Die Einflussfaktoren sind die Mischzeit, der Natriumchloridgehalt und die Proteinkonzentration. Eine kurze Mischzeit ergibt gegenüber längerem Mischen eine höhere Wasserabsorption. Die Gegenwart von NaCl reduziert die Wasserabsorption. Mit steigender Proteinkonzentration nimmt tendenziell das Wasserbindevermögen zu.

In neueren Arbeiten von Plock und Kessler (1992) und Lupano (1996) wird für Proteingele dasselbe Prinzip der Zentrifugation verwendet. Sanchez et al. (1995) verwenden die Baumann-Methode mit Filterpapier. Lopez und Bone (2000) betrachten die Gleichgewichtsfeuchte als aussagekräftig und wendeten in ihren Arbeiten diese Methode an. Seguchi et al. (1997) charakterisieren eine wasserunlösliche Weizenproteinfraktion mit der Wasserbindungskapazität gemäss Tabelle 8. Davenel et al. (1997) verwenden die NMR-Technik und beschreiben damit den gesamten Rekonstituierungsprozess und das Wasserbindevermögen. Hardy et al. (2002) beurteilen die Messung des Wasserbindevermögens wegen der Auflösung-Dispergierung der Pulver in wässriger Lösung als wenig interessant, dagegen solle bevorzugt die Dispergierbarkeit und Löslichkeit gemessen werden.

Kneifel et al. (1991) geben eine umfassende Übersicht von Methoden für die Bestimmung des Wasserbindevermögens von Proteinen. Neben der am häufigsten verwendeten Zentrifugationsmethode kommen weitere Methoden gemäss Tabelle 8 zum Einsatz. Die Tabelle ist mit Angaben aus weiteren Quellen ergänzt.

Tabelle 8: Methoden zur Charakterisierung des Wasserbindevermögens

Methode	Anwendungsbereich	Besonderheit / Vorgang	Vor- (+) und Nachteile (-)
Baumann-Apparat	Pulver, Hydrokolloide	Messung der Wasseraufnahme eines Pulvers auf Filterpapier [ml/g Pulver]	(+) einfach, schnell (-) Relativwert (-) Wiederholpräzision
Viskosität	Kaseinlösungen, Molkenprotein-konzentrate	Messung der Viskosität einer Proteinlösung nach kontrolliertem Temperaturprogramm	(+) einfach, schnell (-) Vorschermung
Farinograf	Teig(massen)	Kontinuierliche Messung des Drehmomentes	(+) einfach, schnell (-) nur für Teig
Kryoskopische Osmometrie	Carrageenan, Hydrokolloide	Messung des Gefrierpunktes, Umrechnung auf osmotische Konzentration [mosmol/kg Wasser] ¹	(+) einfach, schnell (-) Ergebnisse nicht vergleichbar mit denjenigen aus Baumann-Apparat
Gleichgewichtsfeuchte / Sorption	Kasein, Käse	Messung der adsorbierten Menge Wasser bei gegebener Feuchtigkeit	(+) einfach (-) lange Messzeit
Net-Test	Proteingele, Fleisch(produkte)	Messung der ausgetretenen Flüssigkeitsmenge nach Zentrifugation auf Netz oder Filterpapier	(-) Aufwand für Vorbereitung
Druckmethode	Milchpulver/-proteine in Fleisch	Messung der ausgetretenen Wassermenge nach Kompression bei 400 N während 5 min [g] oder [%]	(+) einfach (-) teures Gerät
Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)	Proteine /Kaseine, Gelbildung, Stärke /Wasser	Messung der Energie und der Temperatur thermischer Effekte, z.B. Messung der nicht frierbaren Wassermenge	(+) einfach (-) teures Gerät
Filtrationsmethode	Kaseinate	Messung der zurückgehaltenen Wassermenge nach einer bestimmten Zeit	(+) einfach, schnell
Kochtest	Fleisch(produkte)	Wägung vor und nach dem Kochen	(+) einfach (-) nur für Fleisch(produkte)
Kernmagnet-Resonanz (NMR)	Kaseinmizellen, Teig	Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Wasser	(-) teures Gerät
Wasserbindungs-kapazität (WBC)	Weizenprotein-fractionen	Wassergehaltsdifferenz zwischen Feuchtwicht (nach Proteinauflösung und Zentrifugation) und Trockengewicht (nach Trocknen)	(+) Viskosität von selber Lösung messbar (+) einfach

$$WBC[\%] = \frac{wet\ wt[g] - dry\ wt[g]}{dry\ wt[g]} \cdot 100$$

¹ Osmol: Die Menge an Substanz, welche in Lösung dissoziiert, um ein Mol von osmotisch aktiven Teilchen zu bilden, z.B. 1 mol Glukose, welche nicht ionisierbar ist, formt 1 Osmol an gelöster Substanz. Dagegen bildet 1 Mol Natriumchlorid 2 Osmole an gelöster Substanz. mosmol ist der tausendste Teil eines Osmols.

6.3 Fettbindung

Die Fettbindungseigenschaften der Milchproteine sind v.a. in Fleischwaren wichtig, jedoch auch in Milchprodukten für die Produkteigenschaften von Bedeutung. Die Fettbindungseigenschaften der Proteine beeinflussen die Textur sowie die Vollmundigkeit und die Flavour-Freigabe beim Konsum eines Lebensmittels. Die Fettbindung der Proteine beruht einerseits auf dem räumlichen Einschluss des Fettes durch die Proteine (Zayas, 1997). Gemäss Kinsella (1976) wird dies auch durch eine hohe Korrelation von 0.95 zwischen Dichte und Fett-Bindung für Alfalfa-Protein bestätigt. Andererseits beeinflussen die apolaren Seitenketten der Proteinmoleküle die Fettbindung. Stärker hydrophobe Proteine haben eine höhere Fettbindungskapazität. Hydrophobe Kräfte, elektrostatische und Wasserstoffbrückenbindungen sowie nicht kovalente Bindungen sind an der Fettbindung der Proteine beteiligt. Die Fettbindungseigenschaften werden über eine Zugabe von flüssigem Fett im Überfluss und anschliessender Zentrifugation gemessen (Kinsella, 1976, Zayas, 1997). Das Vorgehen ist nach Kinsella (1976) wie folgt: Einwaage von 0.5 bis 1.0 g Protein, rühren, anschliessende Zentrifugation bei 1'500 g während 30 min, dann Bestimmung der Menge des durch das Milchprotein zurückgehaltenen Öls.

6.4 Grenzflächeneigenschaften

Die Emulgierereigenschaften von Milchproteinen werden bestimmt von der Adsorptionsrate an der Öl-Wasser-Grenzfläche, der Grenzflächenbelegungsichte, vom Ausmass der Konformationsänderung an der Grenzfläche, der Reduktion der Grenzflächenspannung σ und der Fähigkeit einen kohäsiven Film via Disulfid-Brücken zu bilden (Damodoran, 1996). Die Messung der Grenzflächenspannung über die Zeit (dynamische Grenzflächenspannung) gibt wichtige Hinweise zum Emulgierverhalten (Eugster-Meier, 2001).

Die Ursache der Oberflächenspannung liegt in den Wechselwirkungen zwischen benachbarten Molekülen. Im Inneren sind die resultierenden Kräfte ausgeglichen, die Moleküle stehen im Gleichgewicht. Einem Molekül an der Flüssigkeitsoberfläche fehlt ein Teil der Gegenkräfte. Es findet lediglich eine viel schwächere Wechselwirkung mit den Atomen und den Molekülen der Umgebung statt. Als resultierende Kraft wirkt auf das Molekül an der Oberfläche eine nach innen, senkrecht zur Oberfläche gerichtete Kraft. Daher bilden Flüssigkeiten Formen, die durch die kleinstmögliche Oberfläche gekennzeichnet sind, also kugelförmige Tropfen (Abbildung 5).

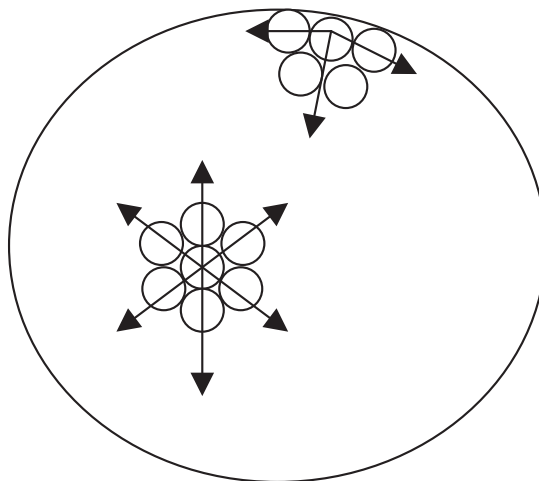


Abbildung 5: Entstehung der Oberflächenspannung

Um die Moleküle aus dem Inneren der Flüssigkeit an die Oberfläche zu bringen, muss gegen die Resultierende der Molekülkräfte Arbeit geleistet werden. Die Grösse der Arbeit (DW), bezogen auf die dabei gebildete Fläche (DA), oder aber die Kraft bezogen auf eine Länge ist die Oberflächenspannung (σ) mit der Einheit [mN/m] (vgl. Formel 1).

$$\sigma = \Delta W / \Delta A \text{ oder } \Delta \text{Kraft} / \Delta \text{Länge [mN/m]} \quad \text{Formel 1}$$

Die höchste Oberflächenspannung einer Flüssigkeit zeigt Quecksilber mit 476 mNm^{-1} bei 20°C . Dest. Wasser hat mit 72.75 mNm^{-1} (20°C) von allen Flüssigkeiten die zweithöchste Oberflächenspannung. Die Oberflächenspannung ändert sich, wenn eine oberflächenaktive Substanz (ein Tensid) in der Flüssigkeit gelöst wird. Der Einfluss der gelösten Substanz kann experimentell untersucht werden. Oberflächeneffekte spielen für die Eigenschaften von Kolloiden² eine grosse Rolle, insbesondere für ihre Stabilität.

Der Begriff Oberflächenspannung wird meist für eine Flüssigkeit gegenüber Luft verwendet, beispielsweise von Wasser gegenüber Luft. Die Oberflächenspannung σ von Wasser gegenüber Luft beträgt (bei 20°C) 72.75 mNm^{-1} , bzw. 72.75 mJm^{-2} . Hingegen wird der Begriff Grenzflächenspannung häufig im Zusammenhang mit zwei nicht mischbaren Flüssigkeiten verwendet.

Die Oberfläche von Flüssigkeiten ist im allgemeinen nicht flach. Die Oberflächenspannung führt dazu, dass Flüssigkeiten dazu tendieren, ihre Oberfläche zu minimieren, und dass auf diese Weise gekrümmte Oberflächen entstehen können, beispielsweise ein (mehr oder weniger) kugelförmiger Tropfen. Dies ist die Geometrie mit der kleinsten Oberfläche für jedes vorgegebene Volumen.

Proteine sind grenzflächenaktiv und beeinflussen somit die wirkenden Kräfte an Grenzflächen flüssig-flüssig und flüssig-gasförmig. Dies ist für disperse Systeme wie Emulsionen und Schäume wichtig. Ein disperses System besteht aus mindestens zwei ineinander nicht oder nur teilweise mischbaren Phasen, z.B. Öl und Wasser oder Luft und Wasser, die ineinander fein verteilt sind. Dabei werden W/O-Emulsionen (kleine Wassertröpfchen im Öl verteilt) und O/W-Emulsionen (kleine Öltröpfchen im Wasser verteilt) unterschieden. Dazu sind grenzflächenaktive Stoffe (Tenside, Emulgatoren) nötig.

Diese adsorbieren an der Grenzfläche und setzen die Grenzflächenspannung herab.

Tiefe Grenzflächenspannungen, enge Partikelgrössenverteilungen und möglichst kleine Tröpfchen ($d \approx \mu\text{m}$) tragen grundsätzlich dazu bei, Emulsionen zu stabilisieren. Für die Charakterisierung der Stabilität einer Emulsion wird heute auch die Grenzflächenviskosität diskutiert, die noch relativ schwierig zu messen ist. Stabile Emulsionen sind die sogenannten «Mikroemulsionen» mit Partikelgrössen von 10–100 nm.

Zur Messung der Grenzflächeneigenschaften existieren statische und dynamische Methoden. Dazu werden von Firmen entsprechende Messgeräte hergestellt.

Statische Methoden messen die Grenzflächenspannung in einem System, das sich im Gleichgewicht befindet. Messmethoden dazu sind in der Tabelle 9 zusammengefasst.

Dynamische Methoden messen den Verlauf der Grenzflächenspannung über eine Zeitspanne während oder nach einer Änderung der Bedingungen (Tropfenalter). Messmethoden sind in der Tabelle 10 zusammengefasst.

²Ein Kolloid ist eine Dispersion sehr kleiner Teilchen (<500 nm) einer Substanz in einer andern.

Tabelle 9: Statische Methoden zur Untersuchung der Grenzflächeneigenschaften

Methoden	Anwendungsbereich	Besonderheit / Vorgang	Vor- (+) und Nachteile (-)
Du Noüy Ringmethode	Klassische Methode zur Messung der Oberflächenspannung. Wird heute weniger verwendet.	Eine Flüssigkeitslamelle wird hochgezogen	(-) Geometrie extrem empfindlich (-) Korrektur der Flüssigkeitssäule (-) Dichte muss bekannt sein
Wilhelmy Plattenmethode	Universal- oder Standardmethode. Tensidlösungen, Lacke, Farben, Öle	Eine Platte von definierter Geometrie wird mit der Oberfläche einer Flüssigkeit in Kontakt gebracht.	(+) Dichte muss nicht bekannt sein (-) Preis der Wilhelmy Platte ist hoch
Kapillaranstiegsmethode	Klassische Methode	Anstieg der Flüssigkeitssäule	(-) Genauigkeit der Ablesung (-) Dichte muss bekannt sein
Liegender Tropfen	Optische Methode	Kontaktwinkelmessung	(-) Optische Bildverarbeitung ist nötig
«Spinning Drop»	Für extrem geringe Grenzflächenspannungen Emulsionen, Mikroemulsionen, Kosmetik, Lebensmitteltechnologie	Rotierende Kapillare	(-) Dichte muss bekannt sein (-) Aufwändige Apparatur
Hängender Tropfen	Optische Methode	Digitale Bildanalyse	(-) Dichte muss bekannt sein (-) Aufwändige Apparatur

Tabelle 10: Dynamische Methoden zur Untersuchung der Grenzflächeneigenschaften

Methoden	Vorgehen/ Anwendung	Grenzflächenalter	Vor- (+) und Nachteile (-)
Blasendruckmethode	Messung zwischen Gas- und Flüssigphase. Es wird der Maximaldruck innerhalb jeder Blase an der Kapillarspitze ausgemessen. (Tenside)	0.005 - 60 s	(+) Kommerzielle Geräte verfügbar (-) Nur für kleine Oberflächenalter (-) Nur zwischen Gas- und Flüssigphase messbar
Tropfen-volumenmethode	Eine Flüssigkeit mit bekannter Dichte wird in eine umgebende Phase mit unterschiedlicher Dichte gepumpt und die Zeit des Tropfenwachstums bis zum Ablösen von der Kapillare gemessen. (Tenside)	einige s - h	(+) Kommerzielle Geräte verfügbar (-) Das Oberflächenalter ist stark vom Dichteunterschied und von den Viskositäten abhängig.
Berstmembranzmethode	Die Änderung der Grenzflächenspannung wird nach dem Durchstechen der Berstmembran aufgezeichnet. (Siehe Abbildung 2)	0.1 s - h	(+) Gerät Eigenbau vorhanden (+) Grenzfläche bleibt während Messung konstant (-) keine kommerziellen Geräte verfügbar. (-) viel Handfertigkeit nötig (-) ergibt gemäss Weiss (1996) zu hohe Werte (-) Vorgang des Berstens der Membrane ist physikalisch äusserst komplex und theoretisch nicht fassbar. (-) ergibt relative Werte

6.4.1 Erläuterungen zur Berstmembranmethode

Die Berstmembranmethode (Anbarci und Armbruster (1987), Eugster-Meier (2001)) ermöglicht Messungen in einem breiten Grenzflächenalterbereich von 0.1 s bis zu einigen Stunden. Gemäss Abbildung 6 befindet sich im unteren Behälterteil wässrige Tensidlösung. Nach oben ist dieser Behälterteil mit einer straff gespannten elastischen Folie (Berstmembran) verschlossen. Über der Folie im oberen Behälterteil ist demineralisiertes Wasser eingefüllt. Diesem Wasser überlagert ist die zweite, ölige Phase. An die Grenzschicht der wässrigen zur öligen Phase ist eine sogenannte Wilhelmy-Platte eingetaucht. Sie besteht aus einer dünnen Rechteckplatte aus Glas oder Platinlegierung. Sie ist mit einer Kraftmesssonde verbunden. Zu Beginn der Messung wird die Folie durchstochen. Tenside aus dem unteren Behälterteil gelangen dadurch in den oberen Behälterteil und damit zur vorher tensidfreien Grenzfläche zwischen öliger und wässriger Phase. Die Grenzflächenspannung ändert sich. Der Verlauf der Änderung wird gemessen und aufgezeichnet. Dies charakterisiert den grenzflächenaktiven Stoff. Anstelle der öligen Phase kann auch gegen Luft gemessen werden.

Wegen den in Tabelle 10 aufgeführten Nachteilen ist kein kommerzielles Gerät erhältlich.

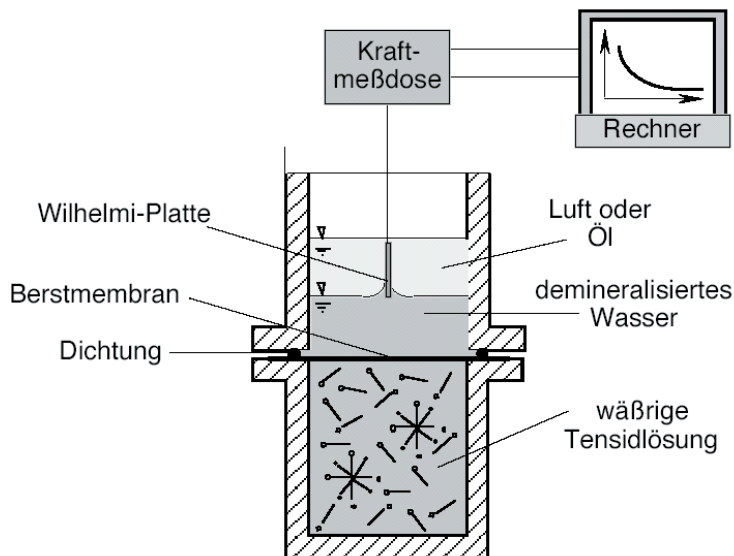
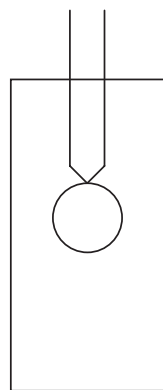


Abbildung 6: Messanordnung der Berstmembranmethode für wasserlösliche grenzflächenaktive Stoffe (Pohl, 2002)

6.4.2 Erläuterungen zum Messprinzip des Tropfenvolumentensiometers

Wenn sich ein Flüssigkeitstropfen (Milchproteinlösung) in einer umgebenden flüssigen Phase (Sonnenblumenöl) mit tieferer Dichte befindet, dann fällt der Tropfen von der Erdanziehungskraft angezogen bei genügend grossem Volumen durch das Sonnenblumenöl nach unten. Beim Tropfenvolumentensiometer wird ein solcher Tropfen mit Hilfe einer Kapillare mit definiertem Durchmesser von 0.254 mm in eine mit Sonnenblumenöl gefüllte Messzelle eindosiert. Zum Zeitpunkt des Abreissens befindet sich der Tropfen in einem Kräftegleichgewicht zwischen der Erdanziehungskraft (negativer Auftrieb) und der Adhäsionskraft entlang der Linie (Umfang der Kapillaröffnung, $2r\pi$) an der die Grenzflächenspannung der beiden Flüssigkeiten wirksam wird.



Kraft gegen oben (\uparrow): Grenzflächenspannung $\cdot 2r\pi$

Kraft gegen unten (\downarrow): $V_{\text{Tropfen}} \cdot (\text{Dichte}_{\text{schwerere Phase}} - \text{Dichte}_{\text{leichtere Phase}}) \cdot g$

Abbildung 7: Schema des Tropfenvolumentensiometers

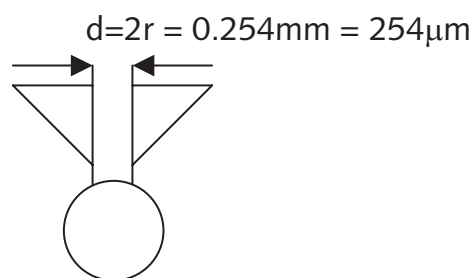


Abbildung 8: Vergrößerung der Kapillare und des abreisenden Tropfens

Die Dicke der Kapillarspitze ist nur 17µm und kann in der Formel 2 vernachlässigt werden. Die aus der Kapillare austretende Flüssigkeit fällt nicht sofort nach unten, sondern bleibt aufgrund der Grenzflächenspannung am Kapillarausgang haften. Die Ablösung des Tropfens erfolgt erst, wenn bei genügend grossem Volumen die Grenzflächenspannung von der Erdanziehungskraft kompensiert wird. So kann man bei Kenntnis des Tropfenvolumens im Moment der Ablösung und bei Kenntnis der Dichte der beiden Flüssigkeiten die Grenzflächenspannung nach folgender Formel berechnen:

$$\sigma = \frac{V_{Tr} \cdot (\rho_H - \rho_L) \cdot g}{\pi \cdot d} \quad \text{Formel 2}$$

mit σ = Grenzflächenspannung [mN/m]
 V_{Tr} = Volumen des Tropfens zum Zeitpunkt des Verlassens der Kapillare:
 $V_{Tr} = \frac{dV}{dt} \cdot dt$
 ρ_H = Dichte der schwereren Phase [kgm⁻³]
 ρ_L = Dichte der leichteren Phase [kgm⁻³]
 g = Erdbeschleunigung³ 9.8064 – (2α) [ms⁻²]
 d = Durchmesser der Kapillare (0.254 mm)

Das Tropfenvolumensensometer erfasst mit Hilfe einer Lichtschranke den Moment der Tropfenablösung von der Kapillare. Gleichzeitig wird der Kolbenhub der Spritze für die Tropfendosierung ermittelt, so dass das Volumen zwischen zwei Tropfensignalen genau bekannt ist. Dieser Volumenwert wird vom Gerät zum Computer übertragen, wo die Berechnung der Grenzflächenspannung und die Auftragung in einem Diagramm erfolgt. Mit dem Tensiometer wird das Volumen des einzelnen Tropfens durch Einstellen der Flussrate der dosierten Flüssigkeit durch die Kapillare (dV/dt) und Messung der Zeitdifferenz (Alter der Oberfläche) zwischen V = 0 ml bis zum Moment des Abrisses der Kapillare (dt) bestimmt.

Die Spanne der zugänglichen Oberflächenalter ist stark von den Viskositäten und der Dichtedifferenz der Flüssigkeiten abhängig und kann üblicherweise im Bereich von einigen Sekunden bis zu Stunden gemessen werden. Mit dieser Technik sind Grenzflächenspannungen bis zu 0.1 mN/m messbar .

6.5 Schaumbildung und Schaumstabilität

Ein Schaum ist eine Dispersion von Gas in einer Flüssigkeit, wobei die Flüssigkeit die kontinuierliche Phase darstellt (Bikerman 1973). Die dispergierte Gasphase verteilt sich dabei auf viele Blasen, die durch dünne Filme, den Schaumlamellen, voneinander getrennt sind. In einem wässrigen Schaum können die Gasblasen eine Grösse aufweisen, die von wenigen Mikrometern bis hin zu mehreren Zentimetern reicht. Typische Filmdicken erstrecken sich von wenigen Nanometern bis in den µm-Bereich.

Die Struktur eines Schaumes richtet sich nach dem Volumenanteil des Gases im Schaum, der auch als Volumenbruch Φ_G ⁴ bezeichnet wird. Manegold (1953) teilt die Schäume grob in zwei Arten ein:

1. «Nasse» Schäume mit einem Volumenbruch $\Phi_G < 0.74$ besitzen dicke Lamellen und Gasblasen mit kugelförmiger Gestalt.
2. «Trockene» Schäume mit einem Volumenbruch $\Phi_G > 0.74$ bilden Gasblasen, die sich zu Polyedern verformen.

«Reine» Flüssigkeiten können keine stabilen Schäume bilden. Damit aus einer gegebenen Lösung ein Schaum mit einer höheren Beständigkeit gebildet werden kann, ist die Anwesenheit einer oberflächenaktiven Komponente, also eines Tensids, unbedingte Voraussetzung. Das Tensid lagert sich in die Grenzfläche Luft/Lösung ein und stabilisiert auf diese Weise die während der Schaumerzeugung entstehenden Gasblasen und die dünnen Filme zwischen den Blasen.

Wichtige Schaumeigenschaften sind die Schaumkapazität oder die Schaumfähigkeit (das aus einer Flüssigkeit gebildete Schaumvolumen) und die zeitliche Abnahme des Schaumvolumens infolge der Schaumdrainage (Schaumstabilität). Seit vielen Jahren werden Untersuchungen über die Stabilität von Schäumen durchgeführt. Es ist bekannt, dass bestimmte Additive zu einer Stabilisierung von Schäumen führen können, weil die Drainage-Rate der Flüssigkeit aus den Schäumen verringert wird. Diese Verringerung der Drainage geht mit einer Erhöhung der Oberflächenviskosität einher. Durch Erhöhung der Viskosität der Ausgangslösung wird die Schaumdrainage eingeschränkt, wie Bals und Kulozik (2003) beschreiben. Im Gegensatz dazu bewirken grössere Mengen an Salz eine raschere Drainage. Neben der Drainage beeinflusst auch das Zusammenfliessen der Blasen (Koaleszenz) die Stabilität (vgl. Abbildung 9, Abbildung 10 und Abbildung 11).

³ Die Erdbeschleunigung (g) wurde in den folgenden Experimenten nicht auf die geographische Breite α korrigiert.

⁴ $\Phi_G = \frac{V_{Gas}}{V_{Gas} + V_{Flüssigkeit}}$

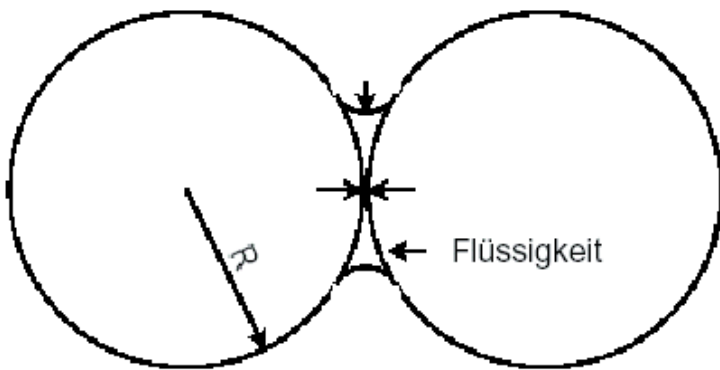


Abbildung 9: Schematische Aufzeichnung des Zusammenfließens von 2 Blasen (kugelförmige Blasen).

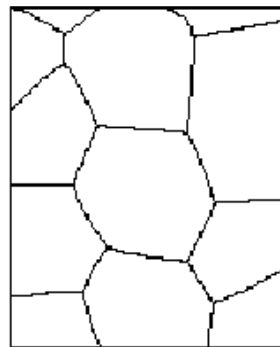
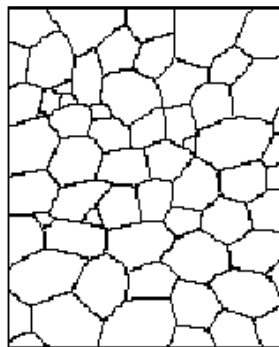
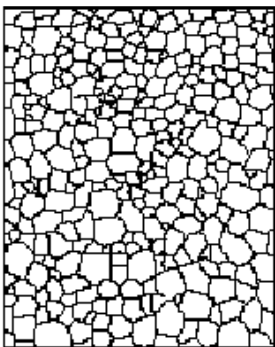


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Zusammenfließens von Schaumblasen und Veränderung der Blasenradien beim Betrachten bei verschiedenen Zeitintervallen (kontinuierliches oder normales Wachstum der Schaumblasen).

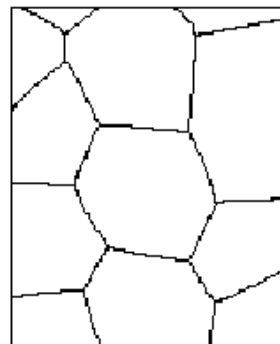
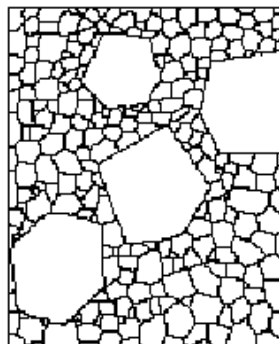
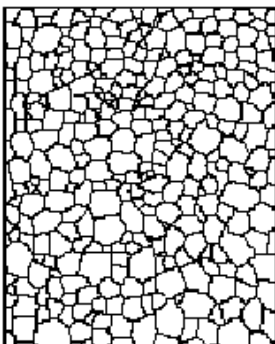


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Zusammenfließens von Schaumblasen und Veränderung der Blasenradien beim Betrachten bei verschiedenen Zeitintervallen (anomalies Wachstum der Schaumblasen).

Zwei weitere wichtige Punkte für die Schaumstabilität stellen die Diffusion des Gases aus den Schaumblasen und das An- bzw. Austrocknen des Schaumes dar. In der Literatur finden sich viele Vorschläge, wie die Schaumkapazität und die Schaumstabilität quantifiziert werden könnten. Eine ISO-Methode existiert bisher noch nicht. Üblicherweise wird der so genannte Overrun als Schaumfähigkeit bezeichnet (Formel 3): Die Differenz zwischen Schaumvolumen und Flüssigkeitsvolumen im Verhältnis zum Flüssigkeitsvolumen (vor der Schaumbildung). 100% Overrun bedeutet beispielsweise eine Verdoppelung des Schaumvolumens im Vergleich zum Volumen der Ausgangsflüssigkeit, 1000% ein 11-faches Schaumvolumen im Vergleich zum Volumen der Ausgangsflüssigkeit.

$$\text{Overrun}[\%] = \frac{\text{Schaumvolumen} - \text{Flüssigkeitsvolumen}}{\text{Flüssigkeitsvolumen}} \cdot 100 \quad \text{Formel 3}$$

Huang et al. (1997) und Philips et al. (1990) verwenden die Dichte zur Berechnung des Overruns (Formel 4).

$$\text{Overrun}[\%] = \frac{\text{Dichte Flüssigkeit} - \text{Dichte Schaum}}{\text{Dichte Schaum}} \cdot 100 \quad \text{Formel 4}$$

Für die Schaumstabilität werden verschiedene Verfahren angewendet: Sathe et al. (1982) und Messinger et al. (1987) schlagen vor, das Schaumvolumen über eine gewisse Zeit zu verfolgen. Kim und Kinsella (1985) messen die Flüssigkeitsdrainage und berechnen eine sogenannte Halbwertszeit der Flüssigkeit im Schaum. Kato et al. (1983) berechnen die Schaumstabilität über Leitfähigkeitsmessungen an verschiedenen Schäumen.

Schäume kommen in Lebensmitteln z.B. in folgenden Produktgruppen vor: geschlagener Rahm, Eiscreme, Milchdessertprodukte, weitere Dessertprodukte, Teige, Backwaren, geschäumte Schokolade. Geschäumte Lebensmittel sind in Bezug auf Herstellung und Lagerstabilität anspruchsvolle Produkte. Es ist daher wichtig, die Schaumbildungs- und -stabilisierungseigenschaften der Milchproteine möglichst genau zu kennen und zu charakterisieren. (Nienhaus und Reimerdes, 1987).

Die Autoren Nienhaus und Reimerdes (1987) nennen folgende Anforderungen der Milchproteinprodukte für die Schäumung:

- native Struktur
- Ausbildung von stabilen Membranen an der Grenzfläche

- Denaturierung der Proteine an der Grenzfläche
- Geringer Fettgehalt
- Produkte: Molkenproteinkonzentrate/-isolate hergestellt durch Ultrafiltration oder Ionenaustausch

Kaseine würden Schäume mit hohem Aufschlag bilden, aber mit geringer Stabilität, während Molkenproteine sehr stabile Schaumstrukturen aufweisen könnten.

6.5.1 Vorschlag einer Standardmethode zur Bestimmung der Schäumungseigenschaften

Die Standardmethode beruht auf den Arbeiten von Phillips et al. (1990). Das Pulver wird gemäss dem Vorgehen von Morr et al. (1985) in Kochsalzlösung aufgelöst, auf einen pH-Wert standardisiert, gerührt, zentrifugiert und filtriert. Trockenprotein (3.75 g) wird eingewogen, mit wenig dest. Wasser vermischt und mit einem Glasstab gerührt, so dass sich eine weiche Paste ergibt. Es wird mit dest. Wasser auf 60 ml aufgefüllt. Für schwer dispergierbare Proteine wie Natriumkaseinat wurde das Wasser ohne die Bildung einer Paste zugegeben. Die Dispersion wurde während 30 min gerührt und der pH mittels 0.1M HCl oder NaOH auf 7.00 eingestellt. Nach weiteren 30 min Rührzeit wurde der pH erneut eingestellt und das Gesamtvolumen auf 75 ml gebracht. Dies ergab eine 5%-ige (Gewicht/Volumen =w/v) Lösung. Vollständige Dispergierung erweist sich als wichtige Voraussetzung für die Bestimmung der Schäumungseigenschaften.

Schaumbildung und Overrun

Die Proteinlösung wird mittels Haushaltnmixer bei Umgebungstemperatur in einem Gefäss aus rostfreiem Stahl aufgeschlagen und die Dichte des entstehenden Schaums mittels Wägeschiffchen bestimmt. Daraus wird der Overrun gemäss Formel 5 berechnet.

$$\text{Overrun}(\%) = \frac{(\text{Dichte Proteinlösung} - \text{Dichte Schaum})}{(\text{Dichte Schaum})} \cdot 100 \quad \text{Formel 5}$$

Schaumstabilität

Im Schlaggefäss aus rostfreiem Stahl wurde am unteren Ende eine verschliessbare Öffnung eingebaut. Die Schaumstabilität ist durch die Abflussdauer von 50% der Masse als Flüssigkeit gegeben, wie dies bei Halling (1981) definiert wurde. Die Messung von Overrun und Schaumstabilität erfolgte in 5 min Intervallen während total 15 min Schlagzeit.

Wichtige Fehlerquellen bei der Methode sind die Pulverdispergierung, der verwendete Mixer sowie die Sorgfalt bei Probenahme und Einwaage.

6.5.2 Vorschlag einer Mikromethode zur Bestimmung der Schäumungseigenschaften

Huang et al. (1997) entwickelten eine Mikro-Massstab Methode für die Bestimmung der Schäumungseigenschaften von Proteinen auf Basis der Standardmethode von Phillips et al. (1990). Sie benötigt lediglich 1/20 der üblichen Probemenge bei einer 10 mal kürzeren Analysezeit. Der «Overrun» wird als Mass für die Schaumbildungseigenschaften angegeben. Als Schaumbildungsmethode für die Bestimmung des Overruns hat sich gemäss Huang et al. (1997) und Kinsella (1984) das Schlagen (whipping) als nützlichste Methode erwiesen, um die Eigenschaften in der praktischen Anwendung vorauszusagen. Als Indikator für die Schaumstabilität gilt die Abflusszeit von 50% der geschlagenen Masse. Im Folgenden ist das Vorgehen beschrieben.

Schaumbildung

Das Protein (5% w/v) wird unter Rühren in Wasser suspendiert und zur Auflösung während 3 h bei 26°C gerührt. Anschliessend wird der pH-Wert kontrolliert und nötigenfalls eingestellt. Ein Aliquot (4 ml) wird in einem modifizierten Zentrifugenglas mit dem Schaumgenerator bis zu 15 min bei 20'000 min⁻¹ geschlagen. Dabei wird die Temperatur mit einem Wasserbad bei 26°C konstant gehalten.

Schaumstabilität

Das Zentrifugenglas wird unten geöffnet, damit Restflüssigkeit ablaufen kann. Dabei wird die Zeit in s gemessen bis 50% der Masse (Schaum und Flüssigkeit) abgelaufen sind. Daraus lässt sich die Schaumstabilität ableiten.

Overrun

Der Stopfen am Zentrifugenglas wird geschlossen sobald alle Flüssigkeit abgeflossen ist, dann wird das Schaumvolumen am Zentrifugenglas abgelesen. Daraus lässt sich der Overrun berechnen. Der Overrun gibt das Verhältnis der Dichte der Ausgangslösung im Vergleich zur Dichte des Schaumes in Prozent an (Formel 6). Ein hoher Wert bedeutet, dass der Schaum im Vergleich zur Ausgangslösung eine kleine Dichte und damit eine hohe Volumenzunahme durch Gaseinschluss aufweist.

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{(\text{Dichte Proteinlösung} - \text{Dichte Schaum})}{(\text{Dichte Schaum})} \cdot 100 \quad \text{Formel 6}$$

6.5.3 Weitere Methoden

Auch Kilara (1984) spricht von Overrun bezüglich der Schaumbildungseigenschaften, auf Morr et al. (1973) verweisend.

Für die Bestimmung der Schaumstabilität kann auch die Bestimmung der Grössenverteilung der Poren über die Zeit oder die makroskopische Erhaltung des Schaumes wie es z.B. in der Bierbranche üblich ist, herangezogen werden (Nienhaus und Reimerdes, 1987).

Als weitere Möglichkeit zur Bestimmung der Grössenverteilung der Poren werden heute auch moderne Bilderfassungs- und Bildanalysensysteme diskutiert. Anhand mikroskopischer Aufnahmen des Schaumes wird die Häufigkeitsverteilung über die Anzahl Blasen gleichen Durchmessers mit ausreichender Genauigkeit ermittelt. Damit wird z. B. auch eine Beschreibung der Homogenität des Schaumes möglich.

Zur Untersuchung der Schaumstruktur wurde bisher eine kleine Teilprobe des Schaumes auf einen Objektträger aufgestrichen und unter dem Mikroskop betrachtet (Aufstrichmethode). Ein Problem bei dieser Methode der Auswertung stellten die durch den Aufstrich verursachten Deformationen der Blasen dar. Es ist aber auch möglich, Bildaufnahmen zu gewinnen, ohne die Struktur des Schaumes zu zerstören. Mit Hilfe einer horizontal zur Verschäumungsapparatur herangeführten Bilderfassungseinheit (Kombination eines Mikroskopes und einer CCD-Kamera⁵) ist es möglich, Bilder digital zu erfassen und über einen Rechner auszuwerten. Das System bietet die Möglichkeit, eine statistische Analyse nach verschiedenen Merkmalen durchzuführen. So können beispielsweise Blasenfläche, Umfang, minimaler und maximaler Durchmesser sowie Formfaktor ausgewertet werden.

Eine weitere Möglichkeit, die Schaumstabilität quantitativ zu erfassen, bilden Trübungsmessgeräte. Über eine längere Zeitperiode wird die Probe mit Transmissions- und Reflexionsmessungen optisch verfolgt. Es sind kommerzielle Geräte erhältlich.

Rohenkohl (2002) misst die Schaumfestigkeit und deren Stabilität mittels Oszillationstests im Torsionsviskosimeter mit einem Kegel-Platte-System. Die Auswertung erfolgt über das Speichermodul G' bei einer Frequenz von 1 Hz und einem Drehmoment von 0.500 Nm. Diese Bedingungen gelten für Schlagrahm. Es wurden auch Messungen an Speiseeis durchgeführt.

⁵ englische Abkürzung: Charge Coupled Device. Ein CCD-Chip besteht aus einer definierten Anzahl lichtempfindlicher Elemente und ist der Bildaufnahmeteil elektronischer CCD-Kameras.

6.6 Viskosität und Gelbildung

Protein-Gele sind dreidimensionale Netzwerke von teilweise assoziierten und/oder ineinander verschachtelten Polypeptiden, in denen Wasser- und/oder Fetttröpfchen eingeschlossen sind. Gele haben eine hohe Viskosität. Sie sind visko-elastisch, da sie Eigenschaften von Flüssigkeiten und von Festkörpern vereinigen. Grundsätzlich werden von Brownsey und Morris (1988) folgende Gele unterschieden:

- Ein-Komponenten-Gele.
- Zwei-Komponenten-Gele (Verknüpfte Netzwerke, phasenetrennte Netzwerke und sich durchdringende Netzwerke).
- Gefüllte Gele (Fasern, Gasblasen, Kristalle, Fettkügelchen, zelluläre Komponenten).

Bezüglich der Struktur werden folgende Gele unterschieden:

- Fischnetz-Gele (Lineare, flexible, durch kovalente Bindungen verknüpfte Ketten bilden dreidimensionale Netzwerke; z. B. Acrylamid),
- thermoreversible Gele (Partielle Kristallisation oder Konformationsübergang; z.B. Gelatine, Agarose, Carrageenan),
- «Egg-box»-Strukturen (Verknüpfungen über ionische Komplexe; z. B. Alginat, Pektin) und
- kolloidale Gele (Ketten von mehr oder weniger kugelförmigen Aggregaten; z.B. Kaseine, denaturierte Molkenproteine).

Bekannte Gele sind labinduziertes Kaseingel, säureinduziertes Kaseingel, koaguliertes Eiklarprotein, Gelatinegel oder Tofu. Esteves et al. (2003) beschreiben den Einfluss der Temperatur von Magermilchgele, hergestellt mit Chymosin oder pflanzlichen Koagulanzen. Dabei wurden mit pflanzlichen Koagulanzen kürzere Gelierzeiten und höhere Werte in der Zunahme von G' -Werten (Speichermodul) erreicht. Der Gelierungsmechanismus wurde von Vasbinder et al. (2003) an Milchproteinlösungen untersucht, die mit Transglutaminase und mit Glucono- δ -lacton versetzt wurden. Dabei wurden stabilere Gele erhalten, wenn zuerst der pH-Wert herabgesetzt und anschließend die Temperatur erhöht wurde. Tavares und da Silva (2003) untersuchten die rheologischen Eigenschaften von Molkenproteinlösungen zusammen mit Galactomannan. Säureinduzierte Milchgele (Glucono- δ -lacton) wurden durch Pereira et al. (2003) erforscht. Resultate von rheologischen Eigenschaften und der Mikrostruktur wurden mit sensorischen Daten verglichen. Weitere rheologische Eigenschaften wurden durch Gastaldi et al. (2003) an säureinduzierten Milchgele publiziert.

Die Eigenschaft von Proteinen, Gele zu bilden, eröffnet viele Möglichkeiten in der Produktentwicklung der Lebensmittelindustrie. Beispiele sind vegetarische texturierte Produkte, Käseanaloge, Dessertprodukte, Backwaren oder Wurstwaren. Als Alternative zu Eiklarprotein eröffnen die Gelbildungseigenschaften der Milchproteine interessante Anwendungsmöglichkeiten.



Gelbildung im Becher

Die Gelbildung kann durch folgende Parameter beeinflusst, bzw. initiiert werden:

- Temperaturänderung (thermoinduzierte Gele, Denaturierung, Strukturänderung, «Coil-Helix»-Übergang)
- Enzyme (Transglutaminase, Chymosin)
- Druck (Denaturierung von Proteinen)
- Ionische Komplexierung (Zugabe von bivalenten Ionen (Ca^{2+} bzw. Mg^{2+}), Vernetzung zwischen Ionen und Polysacchariden)
- pH-Wert (säureinduzierte Caseingele infolge hydrophober Wechselwirkung).

Die Gelbildungsfähigkeit kann mittels Rheometrie, z.B. mit einem Rotationsviskosimeter, bestimmt werden (Kinsella, 1976). Altenbach und Tesch (2002) beschreiben solche Systeme.

Ein visko-elastisches Produkt kann über Oszillationsversuche eindeutig charakterisiert werden. Die Substanz wird hierbei einer harmonisch oszillierenden Scherdeformation unterworfen. Die Systemantwort ist eine mit gleicher Kreisfrequenz oszillierende Schubspannung. Als wichtige Voraussetzung dafür gilt, dass der linear-visko-elastische Bereich nicht verlassen werden darf. Für ideal viskose Lösungen (z.B. Wasser, Milch, Fruchtsaft, Zuckerlösung) ist die Schubspannung der Schergeschwindigkeit direkt proportional, was einer Phasenverschiebung von 0° entspricht. Ein rein elastischer Körper (elastische Feder, Stahl) hingegen liefert eine Phasenverschiebung von 90° . Liegt nun ein unbekanntes Fluid vor, lassen sich aufgrund der Phasenverschiebung mehr elastische (Speichermodul G') oder mehr viskose (Verlustmodul G'') Anteile zuordnen (Mezger, 2000).

Kinsella (1976) weist darauf hin, dass die Gelbildung üblicherweise eine vorhergehende Erhitzung benötigt. Interessant und aufschlussreich ist die Messung des Verlaufes von G' und G'' einer Milchproteinlösung während der Erhitzung und Abkühlung im Rotationsviskosimeter mit gesteuertem Temperaturverlauf bis 95°C . Für eher tiefere Viskositäten ist ein koaxiales Zylinder-Rotationsrheometer geeignet, für höhere Viskositäten sind sogenannte Torsionsviskosimeter mit Kegel-Platte-Messsystem einzusetzen. Auch nach der Abkühlung sind Speichermodul G' und Verlustmodul G'' zu messen. Plock und Kessler (1992) zeigen eine interessante Beziehung zwischen Gelfestigkeit und Wasserbindevermögen von Molkenproteinpräparaten. Demnach korreliert eine hohe Gelfestigkeit mit einem hohen Wasserbindevermögen. Daraus lässt sich prinzipiell das Wasserbindevermögen aus einem Gelfestigkeitstest voraussagen.

Die wichtigsten rheologischen Parameter und Messmethoden nach Steffe (1996) sind:

- G' = Speichermodul (Elastische Eigenschaften)
- G'' = Verlustmodul (Viskose Eigenschaften)
- $\tan \delta = G''/G'$ => Verlustfaktor, ($G' = G''$ => Gelpunkt)
- $I_E = [d(\log G')/dt]_{\max}$, definiert von Bohm und Kulicke (1999) als Gelierungsrate oder als Elastizitätszuwachs. Ein grosser I_E -Wert zeigt eine schnelle Gelierung an.
- AS (Amplituden-«sweep»): Linear visko-elastischer Bereich wird ermittelt unter konstanter Frequenz und Erhöhung der Deformation.
- FS (Frequenz-«sweep»): Bei konstanter Deformation wird die Frequenz verändert:
 - Hohe Frequenz: Kurzzeitverhalten
 - Tiefe Frequenz: Langzeitverhalten.
- TS (Temperatur-«sweep»): Die Temperatur wird bei konstanter Deformation und Frequenz geändert, Gelbildungs- und Schmelzverhalten.
- ZS (Zeit-«sweep»): Detektion von zeitabhängiger Strukturbildung oder -zerstörung.

Weitere interessante physikalische Eigenschaften von thermisch induzierten Gelen sind:

- Mechanische Eigenschaften (E-Modul, maximale Kraft bei Bruch, maximale Deformation bei Bruch) gemessen mit einer Universalprüfmaschine.
- Mikrostruktur (Messung mit Mikroskopie: Rasterelektronenmikroskop, «Atomic force»-Mikroskop, CSLM [Confocal scanning laser microscope]).
- Thermoreversibilität der Gele (Eigenschaften der Gele nach mehrmaligem Aufwärmen und Abkühlen)
- Differential scanning calorimetry (DSC): Schmelzverhalten eines Gels.
- Textur & Sensorik

In dieser Arbeit wurden die visko-elastischen Eigenschaften sowie die Gelbildung bei der Erhitzung auf 90°C mit einem Rotationsrheometer untersucht.

7. Material und Methoden

7.1 Auflöseverhalten

Die Löslichkeit wurde in der vorliegenden Arbeit gemäss den IDF-Standards 173:1995/2002 «Dried milk protein products – Determination of nitrogen solubility index» und 129A:1988 «Dried milk and dried milk products – Determination of insolubility index» bestimmt. Die Methoden sind im Kapitel 6.1 beschrieben.

7.2 Wasserbindung

Das Wasserbindevermögen wurde mit der Zentrifugationsmethode am unbehandelten Pulver bestimmt. 1 g Pulver wurde mit 9 g Wasser versetzt, stark geschüttelt (Vortex) und 5 bis 45 min im Wasserbad bei 50°C erhitzt. Danach wurde während 15 min bei 3021 min⁻¹ mit einer Zentrifugalziffer (Z) von 1602⁶ bei 20°C zentrifugiert. Es wurde abdekantiert und der Überstand mittels eines Glastiegels unter Vakuum filtriert. Die Rückstände nach der Zentrifugation und beim Filtrieren wurden gewogen und die Gewichte addiert. Die Gewichtszunahme im Verhältnis zur Einwaage ergibt das Wasserbindevermögen:

$$\text{Wasserbindevermögen} = \frac{(\text{Rückstand Zentrifugation} + \text{Rückstand Filtration}) - \text{Einwaage}}{\text{Einwaage}}$$

7.3 Fettbindung

Das Fettbindevermögen wurde durch Zugabe von flüssigem Fett im Überfluss und anschliessender Zentrifugation bestimmt. 1 g Pulver wurde eingewogen und mit ca. 6 ml Sonnenblumenöl versetzt. Eine intensive Durchmischung erfolgte durch kräftiges Schütteln (Vortex) während ca. 10 min bis sich alles Pulver gelöst hatte. Die anschliessende Zentrifugation erfolgte während 15 min mit einer Zentrifugalziffer (Z) von 1602 bei 20°C (3021 min⁻¹). Der Ölüberstand wurde abgelesen. Das Ölbindevermögen wurde aus dem Verhältnis von gebundenem Öl zur Pulvereinwaage berechnet:

$$\text{Ölbindevermögen [ml/g]} = \frac{\text{Ölzugabe [ml]} - \text{Ölüberstand [ml]}}{\text{Einwaage Pulver [g]}}$$

7.4 Grenzflächeneigenschaften

In den folgenden Versuchen wurde ein Tropfenvolumenmeter der Firma Krüss GmbH (Hamburg, Deutschland) eingesetzt. Die Milchproteinpulver wurden in Milli-Q-Wasser gelöst (1 g Milchproteinpulver und 100 ml Wasser) und 3 h mit dem Magnetrührer bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Grenzflächenspannung gegen die Durchflussrate und damit dem Oberflächenalter gemessen. Als Ölphase wurde Sonnenblumenöl (Sabo, Coop, Schweiz) eingesetzt. Dessen Dichte, dessen Gehalt an freien Fettsäuren und weitere Parameter sind in Tabelle 11 ersichtlich.

Tabelle 11: Dichte, Freie Fettsäuren und weitere Parameter des verwendeten Sonnenblumenöls

	Sonnenblumenöl Sabo
Dichte bei 25°C	0.91636 g/ml
Tetradecans C14	0.4 mg/kg
Hexadecans. C16	21.6 mg/kg
Octadecans. C18	24.8 mg/kg
Octadecens. C18:1	114.8 mg/kg
Octadecadiens. C18:2	257.9 mg/kg
Lipolysegrad: C6 bis C20	419.5 mg/kg
Ranzigkeitsgrad: C4 bis C10	0.0 mg/kg
Säuregrad	2.1 mmol/kg
Phosphor im Öl	0.2 mg/kg

7.5 Schaumbildung und Schaumstabilität

Das Ziel dieser Arbeit war, verschiedene Milchproteinlösungen unter vorgegebenen und konstanten Bedingungen mit derselben Methode auf die Schaumbildungseigenschaften zu prüfen. Es gelangte die Mikromethode von Huang et al. (1997) in modifizierter Form zur Anwendung.

7.5.1 Apparatur zur Schaumerzeugung und Hilfsmittel (Abbildung 12)

- Polytron PT4000, 20 mm Dispergier Aggregat (Kinematika, Littau/Luzern)
- Glasgefäss 50 ml mit verschliessbarer Öffnung unten (Eigenfabrikat)
- Magnetrührer
- Schottflasche 100 ml
- Gummischaber oder Stopfen zum Ausgleichen des Schaums

Die Modifikationen gegenüber der Methode von Huang et al. (1997) sind folgende: Die Proteinlösung wurde nur während 10 min anstatt 15 min aufgeschlagen und dabei mit Eiswasser anstatt mit Wasser von 26°C gekühlt, um ein lokales Überhitzen zu vermeiden. Nach der Schaumerzeugung wurde unten am Glasgefäss der Stopfen geöffnet, um die restliche Flüssigkeit (ohne Schaum) abzulassen. Das Gewicht der abgelassenen Flüssigkeit wurde gemessen. Danach wurde der Schaum 30, 45 oder 60 min lang beobachtet und das Endvolumen notiert (Schaumstabilität). Das Schaumvolumen wurde in Relation zum ursprünglichen Flüssigkeitsvolumen gesetzt (rel. Schaumvolumen als Mass für die Schaumbildung). Ebenso wurde das Schaumvolumen nach der Beobachtungszeit in Relation zum ursprünglichen Flüssigkeitsvolumen gesetzt (Mass für die Schaumstabilität).

⁶ Zentrifugalziffer Z: Vielfaches der Erdbeschleunigung g: $Z = \frac{R \cdot n^2}{894}$ R= Radius Umlaufbahn, n = Umdrehungen pro Minute



Abbildung 12: Apparatur zur Schaumerzeugung

7.6 Viskosität und Gelbildung

Die rheologischen Untersuchungen wurden mit einem Rotationsrheometer MCR 300 der Firma Physica (Physica Messtechnik GmbH, Stuttgart, Deutschland) durchgeführt. Für die Viskositätsmessung wurde ein Doppelspaltmesssystem (DG26.7) und für die Bestimmung der visko-elastischen Eigenschaften während der Gelbildung ein Flügelrührer (St 14) eingesetzt. Die Temperatur wurde mit einem Peltiertemperiersystem TEZ 150P, mit einer Genauigkeit von $\pm 0.1^\circ\text{C}$ eingeregelt.

Für die Viskositätsmessungen wurden 6 g Proteinpulver in 80 ml Milli-Q-Wasser bei Raumtemperatur unter 3-stündigem Rühren aufgelöst. Der pH-Wert wurde nicht eingestellt. Die Lösung wurde quantitativ in einen 100 ml-Messkolben überführt und mit Milli-Q-Wasser bis zur Marke ergänzt (6% w/v). Im Rotationsrheometer wurde für die Viskositätsbestimmung eine Scherrate von 10 bis 1000 s^{-1} und eine Temperatur von 20°C gewählt.

Für die Bestimmung der Gelbildungseigenschaften wurden 5 g Proteinpulver unter Rühren (3 h bei Raumtemperatur) in 100 ml Milli-Q-Wasser aufgelöst. Ein Aliquot wurde mit 1 N HCl oder 1 N NaOH auf pH 6.5 eingestellt. Die Proteinlösungen

wurden in Aluminiumbecher gefüllt und mit 6 Tropfen Silikonöl überschichtet. Im Rotationsrheometer wurde für die Bestimmung der Gelbildung während der Aufwärm-, Halte- und Abkühlphase die Proteinlösung (bzw. das thermisch induzierte Gel) einer oszillierenden Scherdeformation (Temperatur-«sweep») unterworfen. Die Lösung wurde innerhalb von 5 Minuten auf 90°C erhitzt, 30 min bei dieser Temperatur gehalten und innerhalb von 10 min auf 4°C gekühlt. Die Bedingungen waren wie folgt: Frequenz $f = 1.6 \text{ Hz}$, Deformation $\gamma = 0.1\%$, Temperaturrampe gemäss Tabelle 12.

Die Datenauswertung erfolgte mit der Rheometersoftware US200.

Tabelle 12: Temperaturprofil der Gelbildung

Zeitdauer [min]	Temperatur [$^\circ\text{C}$]	Bemerkungen
1	20°C	
5	$20^\circ\text{C} \rightarrow 90^\circ\text{C}$	
30	90°C	Temp. konstant
10	$90^\circ\text{C} \rightarrow 4^\circ\text{C}$	
30	4°C	



Abbildung 13: Rotationsrheometer mit Flügelrührereinsatz für zerstörungsfreie Oszillationsmessungen

8. Resultate der physikalisch-technologischen Charakterisierung

8.1 Auflöseverhalten

Das Auflöseverhalten ist mit den Resultaten der beiden Messmethoden Unlöslichkeitsindex [ml Sediment] und N-Löslichkeitsindex [%] in Abbildung 14 aufgetragen. Die Ergebnisse der beiden Methoden sind umgekehrt proportional (Abbildung 15). Bei guter Löslichkeit ergibt sich ein kleiner Wert für den Unlöslichkeitsindex (wenig Sediment) und ein hoher Wert für den N-Löslichkeitsindex. Zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden ergibt sich im vorliegenden Fall eine Korrelation von $r = -0.92$ und ein Bestimmtheitsmass von 0.84. Dies stellt einen hohen Wert dar. Im weiteren wird daher nur noch mit dem N-Löslichkeitsindex argumentiert. Die Produkte 1, 2, 3, 6, 7 sowie 13 weisen einen hohen N-Löslichkeits-

index von über 95% auf. Es handelt sich um Na-Kaseinat (1), Gesamtmilchprotein (7), Serumproteinisolat (2) und um Serumproteinkonzentrate (3, 6, 13). Der Anteil an Molkenproteinen und nativen Molkenproteinen bei diesen Produkten ist sehr unterschiedlich. Nachfolgend ist ersichtlich, dass mit den Gehalten an Gesamt-Molkenproteinen und an nativen Molkenproteinen nur schwache Korrelationen bestehen. Besonders schlecht löslich sind die Produkte 4 und 5 (Gesamtmilchproteine), 10 (Serumproteinkonzentrat) sowie auch das Produkt 9 (Kaseinat mit Serumproteinen).

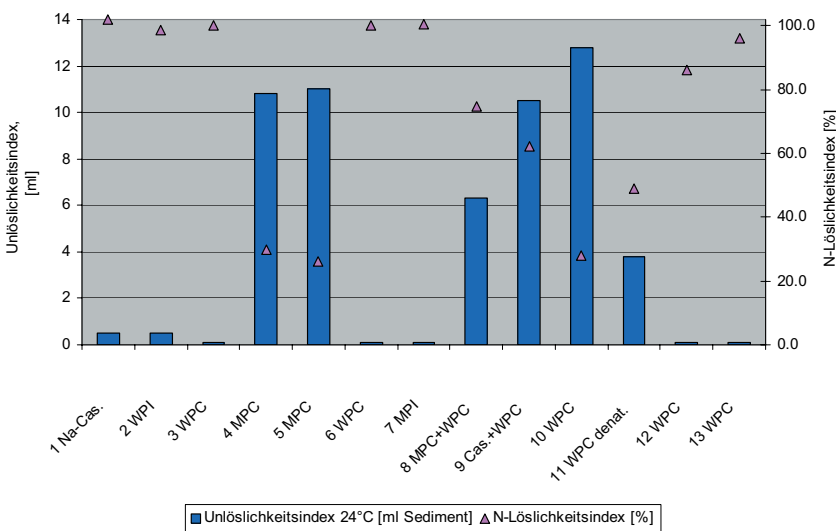


Abbildung 14: Auflöseverhalten (Unlöslichkeitsindex und N-Löslichkeitsindex) der untersuchten kommerziellen Milchproteinprodukte

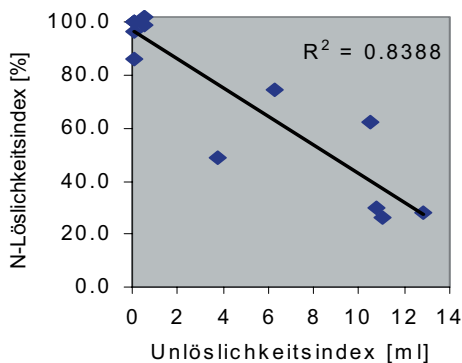


Abbildung 15: Korrelation zwischen den zwei Methoden N-Löslichkeitsindex und Unlöslichkeitsindex zur Bestimmung des Auflöseverhaltens, mit Bestimmtheitsmass R^2

8.1.1 Korrelation des N-Löslichkeitsindex mit chemischen Analysendaten

In Tabelle 13 sind die Korrelationen zwischen dem N-Löslichkeitsindex und den chemischen Analysendaten aufgeführt. Werte über 0.5 ($0.5 < |r| < 0.8$ mittlere Korrelation) sind fett gedruckt. Unter Einbezug aller untersuchten Produkte ergeben sich nur schwache Korrelationen. Mit 0.37 ist die Korrelation mit der Summe der monovalenten Ionen noch am höchsten, gefolgt von jener mit den nativen Molkenproteinen mit 0.31. Mit dem Laktose-Gehalt zeigt sich über alle Proteinprodukte gerechnet eine leichte negative Korrelation.

Werden nur ausgewählte Proteinprodukte berücksichtigt (ohne Produkte 1, 3, 7 bis 11), dann ergeben sich hohe Korrelationen von 1.0 mit dem Molkenproteingehalt in der TS und von 0.95 mit der Summe der monovalenten Ionen. Eine mittlere positive Korrelation zeigt sich mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen (0.66) und eine mittlere negative mit dem Gehalt an bivalenten Ionen.

Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten des N-Löslichkeitsindex mit chemischen Analysendaten.

TrP = True Protein, TS = Trockensubstanz. P = Produkt. Positive Korrelationen sind vorteilhaft

	Kaseine in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Summe der monovalenten Ionen [mg/kg]	Lactose wasserfrei [g/kg]
alle Produkte	-0.12	0.17	0.13	0.31	0.31	-0.19	0.37	-0.24
ohne Produkt 1	-0.29	0.31	0.27	0.38	0.38	-0.16	0.40	-0.21
ohne P 1 und 7-11	-0.92	0.76	0.82	0.45	0.46	-0.25	0.46	-0.15
ohne P 1, 3, 7-11	-0.99	1.00	0.99	0.66	0.67	-0.53	0.95	0.04

8.2 Wasserbindevermögen

Die Ergebnisse der Bestimmung des Wasserbindevermögens sind in Abbildung 16 dargestellt. Die verwendete Methode der Bestimmung des Wasserbindevermögens ist nicht ideal, da durch das Auflöseverhalten der Pulver das Resultat beeinflusst wird (siehe Kap. 9.2). Eine gute Auflösung ergibt einen hohen negativen Wert beim Wasserbindevermögen. Dies zeigt der Korrelationskoeffizient zwischen dieser Methode und dem N-Löslichkeitsindex, der mit -0.76 mittel-hoch ist.

Tabelle 14 zeigt die Korrelationskoeffizienten zwischen dem Wasserbindevermögen und den chemischen Analysewerten. Aus den genannten Gründen soll hier nicht mehr weiter auf die Ergebnisse eingegangen werden. Eine Methode, welche unabhängig vom Auflöseverhalten ist, ist vorzuziehen. In Kapitel 9.2 ist dies weiter diskutiert.

Tabelle 14: Korrelationskoeffizienten des Wasserbindevermögens mit chemischen Analysendaten. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt

	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS %	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	-0.10	-0.15	-0.40	-0.42	-0.12	-0.14
ohne Produkt 1	-0.23	-0.29	-0.48	-0.50	-0.16	-0.23
ohne P 1 und 7-11	-0.65	-0.73	-0.48	-0.50	0.02	-0.52
ohne P 1, 3, 7-11	-0.95	-0.95	-0.76	-0.78	0.31	-0.54

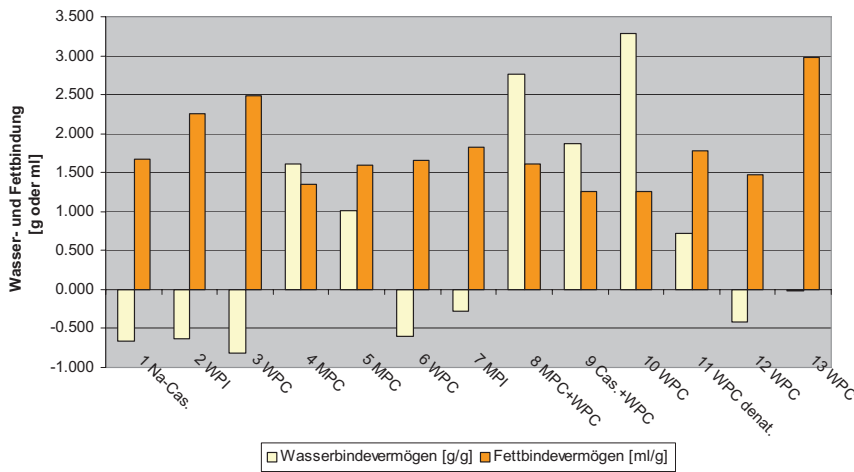


Abbildung 16: Wasser- und Fettbindevermögen der untersuchten kommerziellen Milchproteinprodukte

8.3 Fettbindevermögen

Das Fettbindevermögen der untersuchten Milchproteinprodukte ist in Abbildung 16 ersichtlich. Es bewegt sich im Bereich von 1.26 bis 2.99 ml/g. Produkt 13 (Serumproteinkonzentrat) weist mit 2.99 ml/g den höchsten Wert auf. Die tiefsten Werte treten bei den Produkten 9 (Caseinat mit Serumproteinen) und 10 (Serumproteinkonzentrat) auf. Tabelle 15 listet die Korrelationskoeffizienten zwischen dem Fettbindevermögen und den chemischen Analysenwerten auf. Bei Einbezug aller untersuchten Produkte ergeben sich insgesamt nur schwache Korrelationen oder gar kein Zusammenhang. Mit dem Gehalt

an Molkenproteinen ergeben sich schwache Korrelationen im Bereich 0.26 bis 0.29, mit den nativen Molkenproteinen ist der Korrelationskoeffizient praktisch null. Mit dem Gehalt an bivalenten Ionen ergibt sich auch nur eine schwache Korrelation von 0.18. Werden nur ausgewählte Proteinprodukte berücksichtigt (ohne Produkte 1,3, 7–11), so ergeben sich mit dem Gehalt an Molkenproteinen mittlere Korrelationen von 0.54 bis 0.57, mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen wiederum praktisch null und mit dem Gehalt an bivalenten Ionen eine schwach negative Korrelation von -0.19.

Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten des Fettbindevermögens mit chemischen Analysedaten.
TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt

	Kaseine [% in TS]	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	-0.35	0.26	0.29	0.09	0.08	0.18	0.25
ohne P 1	-0.35	0.26	0.29	0.08	0.07	0.17	0.24
ohne P 1 und 7–11	-0.46	0.35	0.38	-0.16	-0.18	0.06	0.28
ohne P 1, 3, 7–11	-0.53	0.57	0.54	-0.01	-0.04	-0.19	0.27

8.4 Grenzflächeneigenschaften

Abbildung 17 zeigt, dass Tween 80 die Grenzflächenspannung stärker erniedrigt als die untersuchten Milchproteinprodukte und damit die besseren Grenzflächeneigenschaften aufweist. Die untersuchten Milchproteinprodukte haben meistens Proteingehalte über 80% mit Ausnahme der Produkte 3, 11 und 12 mit Proteingehalten zwischen 43 und 70%. Die 13 Milchproteinprodukte liegen in ihren Grenzflächeneigenschaften nahe beieinander. Sojalezithin erniedrigt die Grenzflächenspannung weniger als die Milchproteinprodukte und liegt zwischen Milli-Q-Wasser und Milch. Von den untersuchten

Milchproteinen ergeben die Gesamtmilchproteine, Produkte 4, 5 und 7, sowie Na-Kaseinat (Produkt 1) leicht höhere Reduktionen der Grenzflächenspannung als die übrigen Proteinprodukte. Auffallend ist die starke Reduktion der Grenzflächenspannung des Produktes 7 beim Grenzflächenalter 1000 s. Mit 7.6 mN/m ist diese Grenzflächenspannung sogar tiefer als jene von Tween 80, das eine solche von 8.3 mN/m aufweist. Das Gesamtmilchprotein Produkt 4 weist über alle Grenzflächenalter eine sehr ähnliche Grenzflächenspannungsreduktion auf wie Milch.

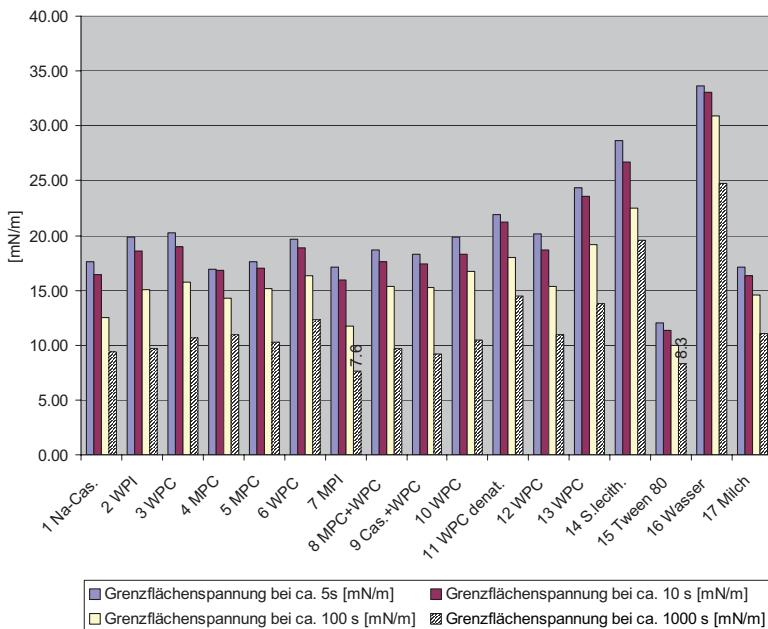


Abbildung 17: Dynamische Grenzflächenspannung der untersuchten Milchproteinprodukte und von Vergleichswerten als Funktion des Grenzflächenalters der Lösungen gegen Sabo Sonnenblumenöl (Grenzflächenalter berechnet, variiert leicht)

8.4.1 Korrelation der Grenzflächeneigenschaften mit chemischen Analysendaten

Tabelle 16 und Tabelle 17 geben Auskunft über die Korrelationen der Grenzflächenspannungen bei einem Grenzflächenalter von ca. 5 s bzw. von ca. 1000 s. Da tiefe Grenzflächenspannungen vorteilhafter sind, zeigen negative Korrelationen einen positiven Einfluss der untersuchten chemischen Parameter auf. Dies ist im Grenzflächenalter 5 s beim Gehalt an Kaseinen mit $r = -0.74$ bis -0.80 und dem Gehalt an bivalenten Ionen mit einer mittleren Korrelation von -0.52 bei ausgewählten Proteinprodukten der Fall. Mehr Molkenproteine wirken sich mit Korrelationen von 0.65 bis 0.79 deutlich

negativ auf die Herabsetzung der Grenzflächenspannung bei 5 s aus. Dies kann auf abnehmende Anteile an Kasein oder auf die denaturierten Molkenproteine zurückgeführt werden, da die nativen Anteile sich mehr oder weniger neutral in Bezug auf die Herabsetzung der Grenzflächenspannung bei 5 s verhalten. Mit dem Gehalt an Kaseinen (Differenz True Protein minus Mittelwert der Molkenproteine aus CE/Labchip) ergibt sich bei jungem Grenzflächenalter von ca. 5 s eine mittelstarke negative Korrelation von -0.74 bis -0.80 , d.h. die Kaseine wirken bei jungem Grenzflächenalter deutlich positiv auf die Absenkung der Grenzflächenspannung.

Tabelle 16: Korrelationskoeffizienten der Grenzflächenspannung nach ca. 5 s mit chemischen Analysenwerten. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt

	Kaseine [% in TS]	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	-0.80	0.68	0.79	0.14	0.16	-0.17	0.25
ohne Produkte 1	-0.80	0.66	0.78	0.09	0.12	-0.22	0.19
ohne P 1 und 7–11	-0.74	0.65	0.70	-0.02	-0.01	-0.40	0.06
ohne P 1, 3, 7–11	-0.75	0.74	0.75	0.01	0.02	-0.52	0.06

Im Grenzflächenalter von ca. 1000 s (vgl. Tabelle 5) ist ebenfalls der positive Einfluss der bivalenten Ionen mit einem Korrelationskoeffizienten von -0.70 bis -0.73 bei ausgewählten Proteinprodukten feststellbar. Desgleichen zeigt das Produkt aus den bivalenten Ionen mit dem Gehalt an Molkenproteinen eine mittlere negative Korrelation. Tendenziell ist der Einfluss der nativen Molkenproteine zumindest bei ausgewählten Proteinprodukten hier leicht positiv, mit negativen Korrelationen von -0.25 bis -0.37. Auch mit hohem Grenzflächenalter von ca. 1000 s ist der Einfluss des Anteils an Molkenproteinen leicht bis mittel negativ mit Koeffizienten von 0.38 bis 0.66. Dies ist einerseits auf weniger Kaseinanteil zurückzuführen, da Kaseine auch im hohen Grenzflächenalter günstig für die Herabsetzung der Grenzflächenspannung wirken (Korrelation von -0.38 bis -0.68). Andererseits könnten die denaturierten

Anteile einen mittel-starken negativen Einfluss ausüben, da die nativen Anteile günstig wirken. Die Korrelation der Grenzflächenspannung mit dem Kaseingehalt ist mit $r = -0.68$ bei hohem Grenzflächenalter von 1000 s etwas weniger hoch als bei tiefem Grenzflächenalter mit $r = -0.80$. Dies zeigt zusammen mit den Korrelationen für Molkenproteine und native Molkenproteine, dass die Kaseine rascher an der Grenzfläche adsorbieren als die Molkenproteine oder die nativen Molkenproteine.

Die Summe der bivalenten Ionen erweist sich bei tiefem und hohem Grenzflächenalter mit $r = -0.17$ bis $r = -0.73$ als tendenziell bis mittel grenzflächenspannungsreduzierend. In Kapitel 9.4 findet sich ein Erklärungsansatz dazu.

Tabelle 17: Korrelationskoeffizienten der Grenzflächenspannung nach ca. 1000 s mit chemischen Analysenwerten. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt

	Kaseine [% in TS]	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	-0.68	0.48	0.66	0.08	0.11	-0.18	-0.01
ohne Produkt 1	-0.66	0.44	0.64	0.05	0.07	-0.21	-0.07
ohne P 1 und 7–11	-0.38	0.41	0.40	-0.25	-0.26	-0.70	-0.54
ohne P 1, 3, 7–11	-0.38	0.38	0.38	-0.36	-0.37	-0.73	-0.54

8.5 Schaumbildung und Schaumstabilität

In Abbildung 18 sind die Ergebnisse der Schaumbildungs- und Schaumstabilitäts-Bestimmungen dargestellt. Produkt 1 (Na-Kaseinat) weist mit 480% relativem Schaumvolumen bezogen auf das Ausgangs-Flüssigkeitsvolumen recht gute Schaumbildungseigenschaften auf. Die Schaumstabilität ist mit 280% rel. Schaumvolumen nur mittelmässig. Produkt 2 (Serumproteinisolat) zeigt von den untersuchten Proteinprodukten mit 640% die beste Schaumbildung, die Schaumstabilität ist mit 350% mittel-hoch. Produkt 2 fällt auf durch den höchsten Gehalt an nativem Molkenprotein (68.5% in TS) und dem höchsten Kalziumgehalt (6000 mg/kg). Produkt 3 (Serumproteinkonzentrat) weist mit 560% die zweitbeste Schaumbildung auf, seine Schaumstabilität ist 225% und damit mittel-tief. Produkt 6 (Serumproteinkonzentrat) hat mit 540% das dritthöchste Schaumbildungsvolumen. Deren Schaumstabilität ist mit 320% mittel-hoch. Sowohl Produkt 2 als auch Produkt 6 weisen einen hohen Anteil an nativen Molkenproteinen auf. Nachfolgend sind die Korrelationen zwischen Schaumbildung und nativem Molkenproteingehalt diskutiert. Produkt 3 zeigt auch eine gute Schaumbildung, obwohl nur wenig native Molkenproteine gefunden wurden. Gute Schaumstabilität weisen oft Produkte mit sowohl Kasein

als auch mit Molkenproteinen in bedeutenden Anteilen auf (Produkte 4, 5, 8, 9), für andere Produkte gilt dieser Zusammenhang jedoch nicht (Produkte 3, 10, 12) (vgl. Abbildung 18).

Die Produkte 9 (Kaseinat mit Serumproteinen), 7 (Gesamtmilchprotein), 8 (Gesamtmilchprotein und Serumproteine), 4 (Gesamtmilchprotein), 5 (Gesamtmilchprotein) und 13 (Serumproteinkonzentrat) weisen mit 460 bis 280% mittlere Schaumbildungseigenschaften auf. Die Produkte 5, 4 und 9 haben hohe Schaumstabilitäten (vgl. Abbildung 18). Die Proteinzusammensetzungen der Produkte 4, 5, 7, 8, 9 und 13 sind recht unterschiedlich. Allgemein ist der Molkenproteinanteil eher tief. Die Produkte 7, 8 und 9 enthalten gemäss den Analysen praktisch keine nativen Molkenproteine, bei den Produkten 4 und 5 sind dagegen die Anteile an nativem Molkenprotein vom gesamten Molkenprotein hoch bis sehr hoch.

Die Produkte 10, 11 und 12 (alles Serumproteinkonzentrate) bilden nur wenig Schaum, 125 bis 175%. Diese drei Produkte haben alle einen hohen Anteil Molkenprotein am Gesamtprotein und noch natives Molkenprotein in unterschiedlichen Anteilen.

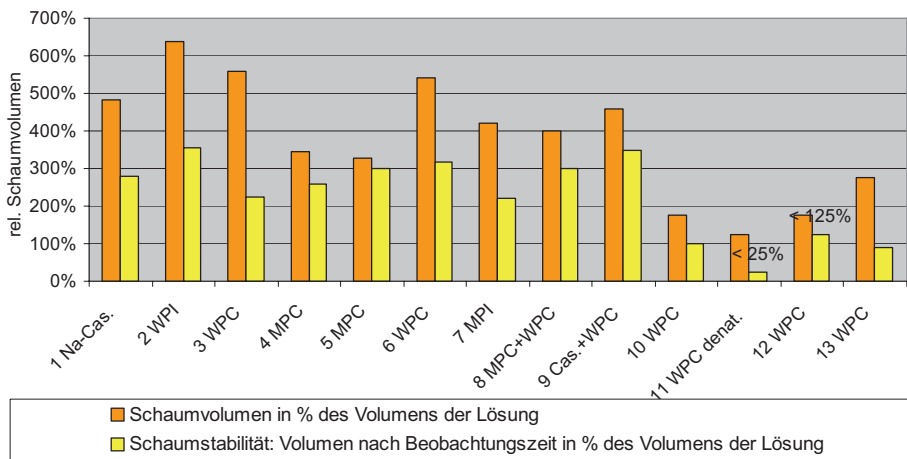


Abbildung 18: Schaumbildung und Schaumstabilität von 13 untersuchten Milchproteinprodukten. Relatives Schaumvolumen aus 4 ml Flüssigkeit einer 5%-igen (w/v) Lösung.

8.5.1 Korrelation der Schaumbildungseigenschaften mit chemischen Analysendaten

In Tabelle 18 sind die Korrelationen zwischen chemischen Analysenwerten und den Schaumbildungseigenschaften aufgeführt. Über alle Produkte gerechnet ergibt sich nirgends eine auch nur mittlere Korrelation. Es kann somit über alle untersuchten Milchproteine kein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Molkenproteingehalt, dem Gehalt an nativen Molkenproteinen oder der Summe der bivalenten Ionen Kalzium und Magnesium und der Schaumbildung fest-

gestellt werden. Erst wenn Kaseinat (1), einige kaseinreiche Proteinprodukte (7, 8, 9), zwei spezielle Serumproteinkonzentrate (10, 11) und das Serumproteinkonzentrat (3), bei dem Analysen-Auswertungsschwierigkeiten auftraten, weggelassen werden, ergibt sich eine mittlere positive Korrelation mit $r = \text{ca. } 0.7$ zwischen dem nativen Molkenproteingehalt und der Schaumbildung. Die Kombination aus Molkenproteingehalt und bivalenten Ionen Ca und Mg zeigt auch eine mittlere Korrelation von $r = \text{ca. } 0.7$, dies auch bei Einschluss von Produkt 3.

Tabelle 18: Korrelationskoeffizienten für die Schaumbildungseigenschaften mit chemischen Analysendaten. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. CE = Kapillarelektrophorese. P = Produkt

	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. /TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	-0.11	-0.27	0.37	0.32	0.33	0.32
ohne Produkt 1	-0.04	-0.22	0.42	0.37	0.37	0.40
ohne P 1 und 7–11	0.15	0.10	0.48	0.42	0.42	0.70
ohne P 1, 3, 7–11	0.35	0.23	0.75	0.68	0.27	0.73

8.5.2 Korrelation der Schaumstabilität mit chemischen Analysendaten und mit der Viskosität

In Tabelle 19 sind die Korrelationen zwischen Schaumstabilität und den chemischen Analysenwerten ersichtlich. Mittlere Werte der Korrelationskoeffizienten von über 0.5 sind wiederum fett markiert. Über alle Proteinprodukte gerechnet sind nur schwache Korrelationen zwischen den chemischen Analysenwerten und der Schaumstabilität feststellbar. Ein hoher Molkenproteingehalt ist demnach leicht negativ für die Schaumstabilität und ein höherer Kaseingehalt leicht positiv. Mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen ergibt sich eine leichte bis knapp mittlere positive Korrelation. Daraus kann

gefolgert werden, dass denaturierte Molkenproteine für die Schaumstabilität negativ sind. Die bivalenten Ionen Ca und Mg sind leicht bis mittel positiv für die Schaumstabilität. Bei der Berücksichtigung einer Auswahl der untersuchten Produkte ist hier auch eine mittlere positive Korrelation zwischen der Kombination des Gehaltes an bivalenten Ca und Mg und an Molkenproteinen festzustellen. Zwischen Schaumstabilität und Viskosität ergibt sich über alle untersuchten Proteine nur eine schwache positive Korrelation von 0.21. Eine höhere Viskosität hat einen schwach günstigen Einfluss auf die Schaumstabilität. Bei der Auswahl von Proteinprodukten ist die Korrelation mittel-negativ, somit ungünstig.

Tabelle 19: Korrelationskoeffizienten für die Schaumstabilität mit chemischen Analysendaten und mit der Viskosität. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz.

P = Produkt

	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen	Viskosität [mPa.s]
alle Produkte	-0.27	-0.48	0.29	0.24	0.30	0.15	0.21
ohne Produkt 1	-0.24	-0.46	0.32	0.27	0.33	0.20	0.17
ohne P 1 und 7-11	-0.12	-0.23	0.50	0.44	0.47	0.52	-0.45
ohne P 1, 3, 7-11	-0.16	-0.26	0.52	0.46	0.61	0.53	-0.53

8.6 Viskosität und Gelbildung

8.6.1 Viskosität

Die Viskositäten bei einer Scherrate von 100 s^{-1} sind in Abbildung 19 ersichtlich. Das Produkt 8 (Gesamtmilchprotein und Serumproteine) ergibt mit $6.2 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ die höchste Viskosität. Das Produkt wird als viskositätsfördernd angepriesen. Der Gehalt an bivalenten Ionen ist bei diesem Produkt nicht besonders hoch. Es hat einen hohen Anteil an Kasein, 69% im True Protein. Weiter ergeben die Produkte 7 (Gesamtmilchprotein, 91% Kasein im True Protein) und das Produkt 1 (Na-Kaseinat) eine vergleichsweise hohe Viskosität. Auch diese beiden Produkte enthalten viel Kasein und wenig bivalente Ionen. Die Produkte 2, 6 und 11 ergeben eine tiefe Viskosität, 1.45 bis 1.68 mPa . Diese drei Produkte enthalten praktisch kein Kasein. Der Gehalt an bivalenten Ionen ist unterschiedlich.

8.6.2 Korrelation der Viskosität mit chemischen Analysendaten

In Tabelle 20 sind die Korrelationen der Viskosität mit den chemischen Analysendaten aufgeführt. Es zeigt sich, dass mit mittlerer Korrelation Molkenproteine negativ für die Viskositätserhöhung sind. Bei selektionierten Produkten (ohne 1, 3 und 7-11) ist eine starke negative Korrelation mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen festzustellen. Mit dem Kaseingehalt ergeben sich meist mittlere positive Korrelationen. Mit der Summe der bivalenten Ionen ist keine bedeutende mindestens mittlere Korrelation feststellbar.

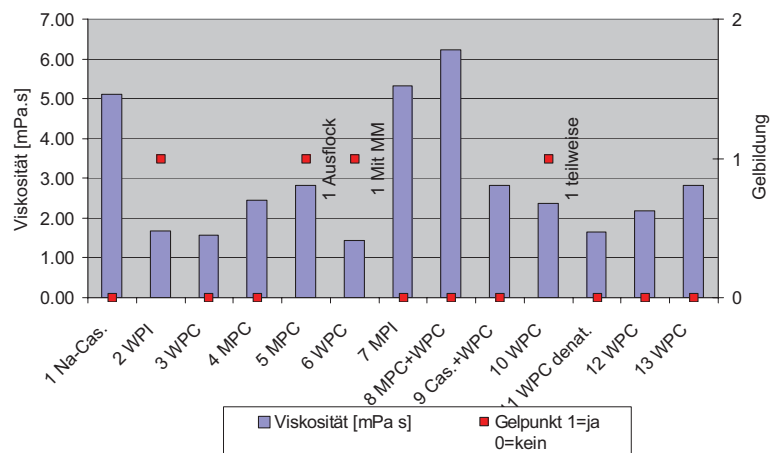


Abbildung 19: Viskosität bei einer Scherrate von 100 s^{-1} und Gelbildung der untersuchten kommerziellen Milchproteinprodukte.

MM = Magermilch

Tabelle 20: Korrelationskoeffizienten für die Viskosität mit chemischen Analysendaten.
 TrP = True Protein. MP = Molkenprotein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt

	Kasein/-at (TrP in TS - MP in TS)	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Molkenp. in TS mal bivalente Ionen	Kasein /-at mal bivalente Ionen
alle Produkte	0.73	-0.58	-0.66	-0.49	-0.51	-0.30	-0.52	0.19
ohne Produkt 1	0.67	-0.50	-0.59	-0.47	-0.48	-0.27	-0.47	0.16
ohne P 1 und 7-11	0.45	-0.32	-0.35	-0.59	-0.58	-0.09	-0.51	0.40
ohne P 1, 3, 7-11	0.54	-0.59	-0.54	-0.93	-0.92	0.20	-0.54	0.57
P 1, 7, 8 und 9	0.50	-0.56	-0.55	-0.34	-0.37	-0.38	-0.59	0.24

8.6.3 Gelbildung

Es ergab sich bei den gegebenen Versuchsbedingungen nur mit wenigen der untersuchten Milchproteinprodukte eine Gelbildung. Dies ist in Abbildung 19 (Gelpunkt ja/nein) ersichtlich. Die Versuchsbedingungen werden im Kapitel 9.7 diskutiert. Am besten war die Gelbildung beim Produkt 2 (Serumproteinisolat). Nach 15 min war die Proteinlösung geliert wie in Abbildung 20 ersichtlich. Dieses Proteinprodukt enthält viel Magnesium, 9'445 mg/kg, und auch relativ viel Kalzium. Die Summe der bivalenten Ionen Ca und Mg beträgt 15'802 mg/kg. Produkt 6 (Serumproteinkonzentrat), das erst mit Magermilch als Lösungsmittel anstelle von Wasser geliert, weist mit 3'842 mg/kg einen tiefen Gehalt der bivalenten Ionen Ca und Mg auf. Beide Produkte 2 und 6 weisen einen hohen Gehalt an nativen Molkenproteinen auf. Produkt 5 (Gesamtmilchprotein) weist mit 22'498 mg/kg einen sehr hohen Gehalt an Kalzium auf. Dies könnte eine Erklärung sein für die Ausflockung-Gelierung dieses Gesamtmilchproteins trotz tiefem Gehalt an nativen Molkenproteinen. Produkt 10 (Serumproteinkonzentrat) gelierte teilweise. Der Ca-Gehalt ist mit 7'919 mg/kg vergleichsweise hoch, der Gehalt an nativem Molkenprotein tief. Produkt 12 (Serumproteinkonzentrat) weist den dritthöchsten Gehalt an nativen Molkenproteinen auf. Der Gehalt an bivalenten Ionen ist jedoch mit 4'237 mg/kg relativ gering. Dieses Produkt zeigte in der Untersuchung keine Gelierung.

Kaseinat (Produkt 1), die Gesamtmilchproteine 7 und 8 sowie das Produkt 9 (Kaseinat mit Serumproteinen) zeigen keine Gelbildung. Diese Produkte enthalten praktisch keine nativen Molkenproteine und einen hohen Anteil an Kaseinen/Kaseinat.

Bei einer höheren Konzentration der Proteine in der Lösung, bis zu 30%, würden vermutlich mehr der Produkte gelieren.

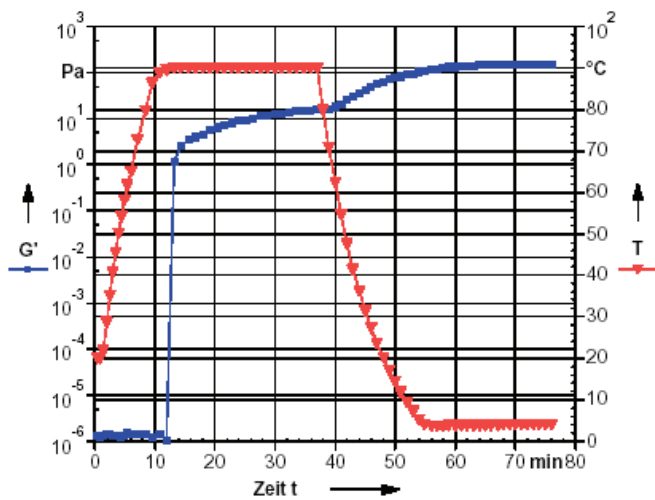


Abbildung 20: Typischer Verlauf einer Gelbildung beim Produkt 2 (Serumproteinisolat): Anstieg des Speichermoduls G' (Quadratische Punkte) bei ca. 12 min in der Aufwärmphase und bei 40 min in der Abkühlphase. Die Linie mit den Dreieckspunkten zeigt den Temperaturverlauf gemäss Tabelle 12.

8.6.4 Korrelation Gelbildungseigenschaften mit chemischen Analysendaten

In Tabelle 21 sind die Korrelationen zwischen Gelbildungseigenschaft und chemischen Analysenwerten aufgeführt. Es ergeben sich mittlere Korrelationen von 0.53 bis 0.60 mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen in der TS. Auch mit

dem Produkt von nativen Molkenproteinen mal der Summe der bivalenten Ionen ergeben sich mittlere Korrelationen von 0.55 bis 0.58. Da sich für die Gelbildung nur die Werte 0 und 1 als Resultat ergeben, sind diese Korrelationskoeffizienten mit Vorsicht zu interpretieren. Effektiv könnte eine höhere Korrelation resultieren.

Tabelle 21: Korrelationskoeffizienten der Gelbildungseigenschaften mit chemischen Analysendaten. TrP = True Protein. TS = Trockensubstanz. P = Produkt (Werte mit Vorsicht interpretieren, da nur Werte 0 und 1 als Resultate)

	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TS	Molkenp. Mittel CE/Labchip in TrP	Native Molkenp. in TS %	Native Molkenp. in TrP	Summe der bivalenten Ionen Mg + Ca [mg/kg]	Native MP in TS mal bivalente Ionen
alle Produkte	0.49	0.34	0.60	0.56	0.38	0.57
ohne Produkt 1	0.46	0.29	0.59	0.55	0.36	0.56
ohne P 1 und 7–11	0.23	0.11	0.60	0.55	0.30	0.58
ohne P 1, 3, 7–11	0.11	0.02	0.53	0.47	0.64	0.55

9. Gesamtdiskussion der physikalischen Untersuchungen

9.1 Pulverauflösung für die physikalische Analytik

Bei diversen Untersuchungen ergaben sich Sedimente in den Proben. Sechs der 13 Produkte (4, 5, 8, 9, 10, 11) zeigten in den Untersuchungen gemäss den IDF-Normen ein schlechtes Auflöseverhalten. Um die funktionellen Eigenschaften voll zur Entfaltung zu bringen ist eine möglichst vollständige Pulverauflösung notwendig. Die Pulverauflösung ist daher mittels leistungsfähiger Dispergiergeräte zu unterstützen. Allenfalls sind erhöhte Temperaturen bis ca. 55°C anzuwenden. Die Vermeidung der Schaumbildung beim Auflösen ist bei intensiver mechanischer Bearbeitung zu beachten.

9.2 Wasserbindevermögen

Bei guter Löslichkeit ergibt die angewandte Methode zur Bestimmung des Wasserbindevermögens negative Werte. Daher ist es für weitere Untersuchungen sinnvoll, die Methode zu modifizieren. Plock und Kessler (1992) haben zuerst durch Erhitzung bei 90°C während 30 min ein Gel hergestellt und danach mit der Zentrifugiermethode das Wasserbindevermögen gemessen. Gemäss Kinsella (1976) wäre das Messen des Quellens (swelling) eine aussagekräftige Alternative. In Lebensmitteln wie Würsten, Crèmen oder Teigen binden Proteine Wasser, lösen sich jedoch nicht auf, da nicht ausreichend Wasser zur Verfügung steht. Details finden sich bei Hermansson (1972). Sie verweist auf den BAUMANN-Apparat und beschreibt die Verwendung desselben.

9.3 Fettbindevermögen

Das Fettbindevermögen der untersuchten Milchproteinprodukte ist mit 1.3 bis 3.0 ml/g recht unterschiedlich. Ein Fettbindevermögen von 3.0 ml/g darf als hoch bezeichnet werden. De Kanterewicz et al. (1987) geben für Na-Kaseinat eine Fettbindekapazität von 1.5 ml /g an.

Traditionellerweise werden für Fleischwaren v.a. Kaseinate oder Magermilchpulver eingesetzt (Nienhaus und Reimerdes, 1987). Manchmal werden auch Molkenproteinprodukte in die Rezepturen eingebaut, deren Einsatzmöglichkeiten seien aber beschränkt, weil sie Fett- und Wasserseparation nur geringfügig verminderten. Mit dem Produkt 13 weist ein Molkenproteinprodukt das höchste Fettbindevermögen auf. Produkt 1, ein Kaseinat, zeigt mit 1.7 ml/g im Vergleich nur einen mittleren Wert, welcher jedoch nahe beim erwähnten Referenzwert aus der Literatur liegt. Die Korrelation zwischen Fettbindevermögen und dem Gehalt an Molkenproteinen liegt in einem bis zu mittleren Bereich von ca. 0.55. Für Fleischwaren sind neben dem Fettbindevermögen noch andere Eigenschaften wie das Wasserbindevermögen oder die Emulgierereigenschaften der Milchproteine wichtig.

9.4 Grenzflächeneigenschaften

Sowohl bei tiefem als auch bei hohem Grenzflächenalter erwiesen sich Milchproteinprodukte mit hohem Kaseinanteil günstiger für die Herabsetzung der Grenzflächenspannung und damit potenziell besser für die Stabilisierung von Emulsionen. Dies entspricht den Erkenntnissen aus der Literatur (Dickinson und Whyman, 1987, Eugster, 2001). Auch native Molkenproteine erwiesen sich tendenziell als günstig für die Herabsetzung der Grenzflächenspannung. Britten und Giroux (1993) fanden für Proteinkonzentrationen unter 0.5% bessere Emulgierereigenschaften der Molkenproteine gegenüber Na-Kaseinat. In den vorliegenden Untersuchungen wurde mit 1%-igen Proteinlösungen gearbeitet. Der günstige Einfluss der zweiwertigen Mineralien könnte durch eine Stabilisierung der Proteine an der Grenzfläche erklärt werden. Die Konzentrationen der zweiwertigen Ionen in den untersuchten 1%-igen Milchproteinlösungen lagen in den vorliegenden Untersuchungen für Ca bei 0.56 bis 5.61 mmol/kg und für die Summe von Ca und Mg bei 0.64 bis 5.93 mmol/kg. Zugaben von hohen Konzentrationen an Kalzium von 9 bis 17 mmol/l führten bei Schokker und Dalgleish (2000) zu Ausfällungen.

9.5 Schaumbildung und Schaumstabilität

Die angewandte angepasste Methode der Bestimmung der Schaumstabilität – Bestimmung des Schaumvolumens nach 30 bis 60 min – weist insofern eine Ungenauigkeit auf, dass die Zeit bis zur Messung zwischen 30 und 60 min schwankt. Bei der Methode von Huang et al. (1997) kann jedoch bei stabilen Schäumen der Schaum austrocknen. Werden kaseinreiche und einige Spezialmilchpulver weggelassen, so ergibt sich für die Schaumbildung eine mittel-hohe positive Korrelation von ca. 0.7 mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen.

Native Molkenproteine sind auch für die Schaumstabilität leicht positiv. Denaturierte Molkenproteine erweisen sich als negativ für die Schaumstabilität.

9.6 Viskosität

Hermansson (1972) verwendet für Viskositätsmessungen Suspensionen von 2 bis 12%, für Molkenproteinkonzentrat (WPC) bis 24%. Die untersuchten Milchproteinprodukte haben für Molkenproteinkonzentrate hohe Proteingehalte von meist über 70% oder es handelt sich um Molkenproteinisolat mit über 90% Proteingehalt (Produkt 2). Mit einer Konzentration von 6% (w/v) liegt die angewandte Methode im mittleren Bereich im Vergleich zur Literatur. Die resultierenden Viskositäten von 1.45 bis 6.24 mPa.s bei einer Scherrate von 100 s⁻¹ sind in einem tiefen bis mittleren Bereich. Zum Ver-

gleich: Die Viskosität von Wasser bei 20°C beträgt 1.0087 mPa·s, jene von Olivenöl 107.5 mPa·s. Es handelt sich um die Viskosität der nicht erwärmten Proteinlösungen. Gemäss den Untersuchungen sind Molkenproteine ohne Erhitzung negativ für die Viskositätserhöhung und Kaseine positiv. Dies im Gegensatz zu Anwendungen mit Erhitzung, wo den Molkenproteinen gute wasserbindende Eigenschaften zugesprochen werden (Mleko und Gustaw, 2002).

9.7 Gelbildungseigenschaften

Für die Bestimmung der Gelbildungseigenschaften kommen Proteinlösungen von diversen Konzentrationen zum Einsatz. Hermansson (1972) verwendet 10%-ige Suspensionen. Plock und Kessler (1992) setzen wässrige Lösungen mit auf 6.5 korrigiertem pH mit einem Proteingehalt zwischen 6 und 16% ein. Vittayont et al. (2002) arbeiten mit 4%-iger auf pH 7.0 eingestellter Lösung von β -Lactoglobulin und erhitzen auf 80°C mit einer Haltezeit von 30 min. Oft arbeiten sie jedoch auch mit 3%-iger Lösung. Gao et al. (2002) wiederum untersuchten 7.5%-ige auf pH 7.0 eingestellte Lösungen von β -Lactoglobulin (0.2 M tris-HCl-Puffer) und halten eine Temperatur von 90°C für 30 min. Gemäss Angaben von Ryser (2004) werden bis zu 30% Proteinpulver als Zutat dazugegeben, um eine Gelbildung zu erreichen.

Der vorhandene Gehalt an Ca- und Mg-Ionen in Pulver und Lösungsmittel sowie der pH sind wichtige Einflussfaktoren für die Gelierung. Zweiwertige Ionen in ausreichenden Mengen sind nötig für die Gelierung. Beim Produkt 6 (Serumproteinkonzentrat) ergibt sich erst mit Magermilch als Lösungsmittel eine Gelierung. Dies könnte auf den Gehalt an Kalzium in der Magermilch zurück zu führen sein. Mleko et al. (2002) fanden mit 15 mM CaCl₂ die höchsten Werte für das Speichermodul G' (Elastizität). Dies fördert die inter- und intramolekularen Kräfte. Noch höhere Kalzium-Zugabe führte zu einer Beeinträchtigung der rheologischen Eigenschaften infolge eines Ungleichgewichtes zwischen inter- und intramolekularen Kräften.

Die Untersuchungen wurden bei einem pH von 6.5 durchgeführt. Beim isoelektrischen Punkt der Molkenproteine, pH 5.2, fanden Ju und Kilara (1998) die grössten Aggregate in Molkenproteinlösungen. Beim Erhitzen werden noch grössere Aggregate geformt. Auch Hoffmann und van Mil (1999) stellten eine starke Abnahme der Aggregats-Grösse mit steigendem pH im Bereich 6.0–8.0 fest. Die Geschwindigkeit von Denaturierung und Aggregatbildung nahm mit steigendem pH im angegebenen Bereich stark zu.

10. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Korrelationskoeffizienten zwischen den physikalischen Eigenschaften und den chemischen Analysenwerten bei Einbezug aller untersuchten Milchprotein-Produkte waren tief, häufig unter 0.5. Einige Korrelationen waren jedoch über 0.5 und damit in einem mittleren Bereich. Dies trifft zu für die Gelbildung in Abhängigkeit des nativen Molkenproteingehalts ($r = 0.60$), für die Viskosität in Abhängigkeit des Molkenproteingehalts (negativer Einfluss, $r = -0.66$), für die Viskosität in Abhängigkeit des Kaseingehalts ($r = 0.73$), für die Grenzflächenspannung nach 5 s mit dem Kaseingehalt ($r = -0.80$) und für die Grenzflächenspannung nach 1000 s mit dem Kaseingehalt ($r = -0.68$).

Ohne die Produkte 1, 3 und 7–11 (1 ist Na-Kaseinat, 3 und 10 sind Serumproteinkonzentrate und haben in der chemischen Analyse teilweise Auswertungs-Schwierigkeiten gegeben, 7, 8 und 9 sind Produkte mit hohem Kasein-Anteil und 11 ist 100% denaturiertes Serumproteinkonzentrat) ergaben sich oft höhere Korrelationen, z.B. für die Schaumbildung mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen ($r = 0.75$), die Schaumstabilität mit dem Gehalt an bivalenten Ionen ($r = 0.61$), die Gelbildung mit dem Gehalt der bivalenten Ionen ($r = 0.64$), für die Viskosität mit dem Gehalt an nativen Molkenproteinen ($r = -0.93$), für den N-Löslichkeitsindex mit dem Molkenproteingehalt ($r = 1.0$), das Fettbindevermögen mit dem Molkenproteingehalt ($r = 0.57$) und für die Grenzflächenspannung bei 1000 s mit dem Gehalt an bivalenten Ionen ($r = -0.70$).

Es müssen somit noch weitere Einflussfaktoren auf die physikalischen Eigenschaften vorhanden sein, als die in dieser Arbeit untersuchten chemischen Faktoren. Gemäss Nielsen et al. (1997) ergibt sich mit längerer Lagerung von Milchpulvern ein unstetes Verhalten derselben. Der Furosine-Wert ist ein Indikator dafür, dass Maillard-Reaktionen ablaufen. Es sind Nebeneffekte der Maillard-Reaktion und allgemein Verderbnis-Reaktionen während der Lagerung feststellbar. Die untersuchten Milchproteinprodukte wiesen beim Untersuchungszeitpunkt ein Alter von ca. 3 Monaten bis 2 Jahren auf. Weitere Faktoren sind die verwendeten Rohstoffe (Magermilch, Molke, Permeat) und die Herstell-Verfahren. Der pH-Wert und die Ionenstärke haben einen entscheidenden Einfluss auf die technologisch-funktionellen Eigenschaften. Sind die Bedingungen anders als bei den definierten Untersuchungsbedingungen, dann ergeben sich auch andere Eigenschaften. Interaktionen zwischen weiteren enthaltenen Stoffen in den Produkten (gelöste Stoffe, Laktose, Fett) oder zwischen den Kaseinen und Molkenproteinen (Dickinson und Parkinson, 2004) beeinflussen die technologischen Eigenschaften ebenfalls.

Die möglichst vollständige Auflösung der Pulver ist für die Untersuchungen wichtig, da die techno-funktionellen Eigenschaften erst bei guter Pulverauflösung zum Tragen kommen. Die Produkte 4 und 5 (Gesamtmilchproteine), 8 (Gesamtmilchprotein mit Serumproteinen), 9 (Kaseinat mit Serumproteinen), 10 und 11 (Serumproteinkonzentrate) wiesen eine schlechte bis sehr schlechte Löslichkeit auf. Bei weiteren Untersuchungen sollten möglichst frische Milchproteinprodukte verglichen werden, möglichst unter 20 Tage alte oder dann im Kühlraum oder Tiefkühlraum gelagerte Proben. Eine andere Möglichkeit ist, vom gleichen Hersteller mit vergleichbarer Technologie und aus bekannten Rohstoffen hergestellte Produkte von vergleichbarem Alter zu untersuchen. Weitere interessante Aufschlüsse würden sich aus der Untersuchungen der Veränderung der techno-funktionellen Eigenschaften im Laufe der Lagerung ergeben.

Eine Schwierigkeit bei der Verwendung von Serumproteinkonzentraten und anderen Milchproteinen ist gemäss Zayas (1997) die Variabilität in der Zusammensetzung und in den technologisch-funktionellen Eigenschaften wegen unterschiedlicher Rohstoffe und Herstellbedingungen.

11. Literaturverzeichnis

- Altenbach-Rehm J., Tesch S.: Charakterisieren von Emulsionen und Emulgierhilfsstoffen: Rheologie. Kursunterlagen Hochschulkurs Emulgiertechnik, Karlsruhe (2002).
- Anbarci A., Armbruster H.: Bestimmung der Grenzflächenbesetzungskinetik. *Tens. Surf. Deterg.* 24 (2), 111–115 (1987).
- Bals A., Kulozik U.: The influence of pore size, the foaming temperature and the viscosity of the continuous phase on the properties of foams produced by membrane foaming. *Journal of Membrane Science* 220 (1–2), 5–11 (2003).
- Bikermann J.J.: *Foams*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1973).
- Bohm N., Kulicke W.M.: Rheological studies of barley (1→3)(1→4)- β -glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation • *Carbohydrate Research* 315 (3–4), 302–311 (1999).
- Britten B., Giroux H.J.: Interfacial properties of milk protein-stabilized emulsions as influenced by protein concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1187–1191 (1993).
- Brownsey G.J., Morris V.J.: Mixed and filled gels – Models for foods. In: Blanshard J.M., Michell J.R.: *Food Structure – its creation and evaluation*. London, Butterworth, 7–23 (1988).
- Celestino E.L., Iyer M., Roginski H.: The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *International Dairy Journal* 7 (2–3), 119–127 (1997).
- Damodoran S. 1996. Functional properties. In *Food Proteins: Properties and Characterization*, Nakai S., Modler H.W. (Eds.) VCH Publishers Inc., New York, Weinheim, Cambridge, 167–234.
- Dannenbergh F.: Zur Reaktionskinetik der Molkenproteindenaturierung und deren technologischer Bedeutung (1986). Dissertation TU München-Weihenstephan. In Kessler H.G., 2002. *Food and Bio Process Engineering – Dairy Technology*. Verlag A. Kessler, München.
- Davenel A., Schuck P., Marchal P.: A NMR relaxometry method for determining the reconstitutability and the water-holding capacity of protein-rich milk powders. *Milchwissenschaft* 52, 35–39 (1997).
- De Block J., Merchiers M., Mortier L., Braekman A., Ooghe W., Van Renterghem R.: Monitoring nutritional quality of milk powders: capillary electrophoresis of the whey protein fraction compared with other methods. *Int. Dairy Journal* 13, 87–94 (2003).
- De Kanterewicz R.J., Elizalde B.E., Pilosof A.M.R., Bartholomai G.B.: Water-oil absorption index (WOAI): A simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. In Zayas J.F., 1997. *Functionality of Proteins in Food*. Springer Verlag, Berlin, p. 241 (1987).
- Dickinson E., Parkinson E. L.: Heat-induced aggregation of milk protein-stabilized emulsions: sensitivity to processing and composition. *International Dairy Journal* 14 (7), 635–645 (2004).
- Dickinson E., Whyman R.H.: Colloidal properties of model oil-in-water food emulsions stabilized separately by α 1-casein β -casein and κ -casein. In *Food Emulsions and Foams*. Dickinson, E. (Ed.) Royal Society of Chemistry, London, 40–51 (1987).
- Esteves C.L.C., Lucey J.A., Hyslop D.B., Pires, E.M.V.: Effect of gelation temperature on the properties of skim milk gels made from plant coagulants and chymosin. *International Dairy Journal* 13 (11), 877–885 (2003).
- Eugster-Meier E.: Adsorptionsverhalten von Proteinen und niedermolekularen Lipiden der Milch an Phasengrenzflächen. Diss. ETH Nr. 14076, Zürich (2001).
- Fleming S.E., Sosulski F.W., Kilara A, Humbert E.S.: Viscosity and water absorption characteristics of slurries of sunflower and soybean flours, concentrates and isolates. *J. Food Science* 39, 188–191 (1974).
- Gao H., Ng-Kwai-Hang K. F., Britten M.: The influence of genetic variants on gelling properties of beta-lactoglobulin. *Milchwissenschaft-Milk Science International* 57 (1), 6–9 (2002).
- Gastaldi E., Trial N., Guillaume C., Bourret E., Gontard N., Cuq J. L.: Effect of controlled kappa-casein hydrolysis on rheological properties of acid milk gels. *Journal of Dairy Science* 86 (3), 704–711 (2003).
- Halling P.J.: Protein-stabilized foams and emulsions. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 13, 155–203 (1981).

- Hardy, J., Scher, J., Banon, S.: Water activity and hydration of dairy powders. *Lait* 82 (4), 441–452 (2002)
- Hermansson A.M.: Functional properties of proteins for foods-swelling. *Lebensm. Wiss. & Tech.* 5, 24–29 (1972).
- Hoffmann M.A.M., van Mil P.J.J.M.: Heat-induced aggregation of beta-lactoglobulin as a function of pH. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1898–1905 (1999).
- Huang X.L., Catignani G.L., Swaisgood H.E.: Micro-scale method for determining foaming properties of protein. *J. Food Sci.* 62, 1028–1030 and 1060 (1997).
- IDF-Standard 129A: Dried milk and dried milk products. Determination of insolubility index (1988).
- IDF-Standard 173: Dried milk protein products. Determination of nitrogen solubility index (1995).
- Janicki N.A., Walczak J.: Wateriness of meat and methods of its determination. *Adv. Food Res.* 10, 355 (1954).
- Ju Z.Y., Kilara A.: Gelation of pH-aggregated whey protein isolate solution induced by heat, protease, calcium salt, and acidulant. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1830–1835 (1998).
- Kato A., Takahashi A., Matsudomi N., Kobayashi K.: Determination of foaming properties of proteins by conductivity measurements. *Journal of Food Science* 48 (1), 62–65 (1983).
- Kilara A.: Standardization of methodology for evaluating whey proteins. *J. Dairy Sci.* 67, 2734–2744 (1984).
- Kim S. H., Kinsella, J. E.: Surface activity of food proteins: Relationship between surface pressure development, viscoelasticity of interfacial films and foam stability of bovine serum albumin. *Journal of Food Science* 50, 1526–1530 (1985).
- Kinsella J.E.: Functional properties of proteins in foods: a survey. *Food Sci. Nutr.*, 219–280 (1976).
- Kinsella, J.E.: Milk proteins: physicochemical and functional properties. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* 21 (3), 197–262 (1984).
- Kneifel W., Abert T., Luf W.: Influence of preheating skimmilk on water-holding capacity of sodium salts of caseinates and coprecipitates. *J. Food Science*, 879–880 (1990).
- Kneifel W., Paquin P., Abert T., Richard J.P.: Water-holding capacity of proteins with special regard to milk proteins and methodological aspects – a review. *J. Dairy Sci.* 74, 2027–2041 (1991).
- Lin M.J.Y., Humbert E.S.: Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Science* 39, 368–370 (1974).
- Lopez-Diez, E. C. & Bone, S.: «An investigation of the water-binding properties of protein plus sugar systems», *Physics in Medicine and Biology* 45 (12), 3577–3588 (2000).
- Lupano, C. E., Renzi, L. A., Romera, V.: Gelation of whey protein concentrate in acidic conditions: Effect of pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 3010–3014 (1996).
- Manegold E.: *Schaum, Chemie und Technik Verlagsgesellschaft, Heidelberg* (1953).
- Matissek R., Schnepel F.M., Steiner G.: *Lebensmittelanalytik – Grundzüge, Methoden, Anwendungen. Springer Verlag, Berlin, 2. korrigierte Auflage* (1992).
- Messinger J.K., Rupnow J.H., Zeece M.G., Anderson R.L.: Effect of partial proteolysis and succinylation on functionality of corn germ protein isolate. *Journal of Food Science* 52 (6), 1620–1624 (1987).
- Mezger T.: *Das Rheologie-Handbuch. Vincentz Verlag, Hannover* (2000).
- Mistry V.V., Pulgar J.B.: Physical and storage properties of high milk protein powder. *International Dairy Journal* 6 (2), 195–203 (1996).
- Mleko S., Glibowski P., Gustaw W., Janas P.: Calcium ions induced gelation of double-heated whey protein isolate. *J. Food Sci. Tech.-Mysore* 39, 563–565 (2002).
- Mleko S., Gustaw W.: Rheological changes due to substitution of total milk proteins by whey proteins in dairy desserts. *Journal of Food Science and Technology – Mysore*, 39 (2), 170–172 (2002).

- Morr C.V., German B., Kinsella J.E., Regenstien J.M., van Buren J.P., Kilara A., Lewis B.A., Mangino M.E.: A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *J.Food Sci.* 50, 1715–1718 (1985).
- Morr C.V., Swanson P.E., Richter R.L.: Functional characteristics of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 38, 324 (1973).
- Nielsen B.R., Stapelfeldt H., Skibsted L.H.: Differentiation between 15 whole milk powders in relation to oxidative stability during accelerated storage: Analysis of variance and canonical variable analysis. *Int. Dairy Journal* 7(8–9), 589–599 (1997).
- Nienhaus A., Reimerdes E.H.: *Milcheiweiss für Lebensmittel*. Behr's Verlag (1987).
- Pereira R.B., Singh H., Munro P.A., Luckman, M.S.: Sensory and instrumental textural characteristics of acid milk gels. *International Dairy Journal* 13 (8), 655–667 (2003).
- Phillips L.G., German J.B., O'Neill T.E., Foegeding E.A., Harwalkar, V.R., Kilara, A., Lewis B.A., Mangino M.E., Morr C.V., Regenstien J.M., Smith D.M., Kinsella J.E.: Standardized procedure for measuring foaming properties of three proteins, a collaborative study. *J.Food Sci.* 55, 1441–1444 (1990).
- Plock J., Kessler H.G.: Molkenproteinpräparate-Gelbildungs- und Wasserbindungsvermögen bei neutralem pH-Wert. *Dt.Molkerei-Ztg.* 113, 895–899 (1992).
- Pohl M.: Charakterisieren von Emulsionen und Emulgierhilfsstoffen: Grenzflächeneigenschaften. *Unterlagen Hochschulkurs Emulgiertechnik, Universität Karlsruhe* (2002).
- Recio I., Olieman C.: Determination of denatured serum proteins in the casein fraction of heat-treated milk by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* 17, 1228–1233 (1996).
- Reh C., Bhat S.N., Berrut S.: Determination of water content in powdered milk. *Food Chemistry* 86, 457–464 (2004).
- Ryser B.: Mündliche Mitteilung April 2004. *Milk Proteins Ingredients*, Champ Thomas, 1754 Corjolens FR, Schweiz (2004).
- Sanchez V. E., Bartholomai G. B., Pilosof A. M. R.: Rheological properties of food gums as related to their water binding capacity and to soy protein interaction. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28 (4), 380–385 (1995).
- Sathe S.K., Deshpande S.S., Salunkhe D.K.: Functional-properties of lupin seed (*lupinus-mutabilis*) proteins and protein-concentrates. *Journal of Food Science* 47 (2): 491–497 (1982).
- Schokker E. P., Dalgleish D. G.: Orthokinetic flocculation of caseinate-stabilized emulsions: Influence of calcium concentration, shear rate, and protein content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2), 198–203 (2000).
- Schuck P., Davenel A., Mariette F., Briard V., Mejean S., Piot M.: Rehydration of casein powders: Effects of added mineral salts and salt addition methods on water transfer. *International Dairy Journal* 12 (1), 51–57 (2002).
- Schuck P., Piot M., Mejean S., Legraet Y., Fauquant J., Brule G., Maubois J. L.: Spray-drying of native phosphocaseinate obtained by membrane microfiltration. *Lait* 74, 375–388 (1994).
- Seguchi M., Hayashi M., Matsumoto H.: Effect of a wheat protein on pH-dependent water-binding capacity and viscosity of wheat tailings fractions. *Cereal Chemistry* 74 (4), 384–388 (1997).
- Sosulski F.W.: The centrifuge method for the determining flour absorption in hard red spring wheats. *Cereal Chem.* 39, 344 (1962).
- Stapelfeldt H., Nielsen B.R., Skibsted L.H.: Effect of Heat Treatment, Water Activity and Storage Temperature on the Oxidative Stability of Whole Milk Powder. *International Dairy Journal* 7 (5), 331–339 (1997).
- Steffe J.F.: *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press, MI 48823 USA (1996).
- Tavares, C., da Silva, J.A.L.: Rheology of galactomannan-whey protein mixed systems. *International Dairy Journal* 13 (8), 699–706.

Van Renterghem R., De Block J.: Furosine in consumption milk and milk powders. *International Dairy Journal* 6, 371–382 (1996).

Vasbinder A.J., Rollema H.S., Bot A., de Kruif C.G.: Gelation mechanism of milk as influenced by temperature and pH; Studied by the use of transglutaminase cross-linked casein micelles. *Journal of Dairy Science* 86 (5), 1556–1563 (2003).

Vittayanont M., Steffe J.F., Flegler S.L., Smith D.M.: Gelling Properties of heat-denatured beta-lactoglobulin aggregates in a high-salt buffer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (10), 2987–2992 (2002).

Walstra P., Jenness R.: *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley, New York, 467p (1984).

Wechsler D.: Mündliche Mitteilung, Ehemals Mitarbeiter der Fa. Lacto-Prosperité, Thun, Schweiz, Herstellerin von Milchproteinprodukten (2003).

Weiss J.: Vergleich verschiedener Verfahren zum Messen der Grenzflächenspannungsbesetzungskinetik von Emulgatoren. Diplomarbeit, Institut für Lebensmittelverfahrenstechnik, Universität Karlsruhe (1996).

Zayas J.F.: *Functionality of Proteins in Food*. Springer Verlag, Berlin. p. 228; pp. 175, 183, 274 (1997).

