Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 59 (1968)

Heft: 1-2

Artikel: Ueber die Nachdickung und Gelierung UHT-sterilisierter ungezuckerter Milchkonzentrate bei der Lagerung

Autor: Hostettler, H. / Stein, J. / Imhof, K.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982161

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Ueber die Nachdickung und Gelierung UHT-sterilisierter ungezuckerter Milchkonzentrate bei der Lagerung

H. Hostettler, J. Stein und *K. Imhof*

(Medizinisch-chemisches Institut der Universität Bern und wissenschaftliche Abteilung der URSINA AG, Konolfingen-Bern).*

1. Einleitung

Unter Nachdickung und Gelierung (age-thikening and gelation) UHT-sterilisierter ungezuckerter Milchkonzentrate ist die Neigung zu verstehen, bei der Lagerung bei Raumtemperatur visköser zu werden und schließlich unter Bildung einer Gallerte zu gerinnen. Diese Erscheinung ist nicht zu verwechseln mit der bei der Wärmeeinwirkung eintretenden, durch ungenügende Stabilität des Protein/Salz-Systems der Milch bedingten Hitzegerinnung.

Ueber das Nachdicken und Gelieren steriler evaporierter Milch finden sich im Schrifttum verschiedene Veröffentlichungen.

Bell, Curran und *Evans* (1), sowie *Deysher, Webb* und *Holm* (2) fanden erstmals, daß evaporierte Milch, die zur Sterilisation der Hoch-Temperatur-Kurzzeit-Erhitzung (HTST)** unterworfen wurde, bei der Lagerung nachdickte und gelierte. Die gleiche Milch, nach der üblichen Methode im Autoklav sterilisiert (116 ° C / 20 Minuten) zeigte weit bessere Lagerbeständigkeit.

Die Fehlerscheinungen waren nicht auf bakteriologische Vorgänge zurückzuführen, was auch die von *Kreveld* (3, 4) vorgenommenen Untersuchungen als unwahrscheinlich erscheinen ließen. Bei der auf 9,5—10 % Fett eingedickten ungezukkerten Kondensmilch tritt der Fehler auch sehr viel ausgeprägter in Erscheinung als bei der auf einen Fettgehalt von 7,5—7,9 % eingedickten evaporierten Milch.

Ueber die Bekämpfung der Fehlerscheinungen finden sich zahlreiche Hinweise (5—13), ohne daß die eigentlichen Zusammenhänge der verwickelten Vorgänge erkannt wurden. Von wesentlicher Bedeutung sind unzweifelhaft die Bindungsverhältnisse des Calciums der Milch, die bei der thermischen Behandlung je nach der Intensität der Hitzeeinwirkung eine unterschiedliche Veränderung erfahren (14, 15).

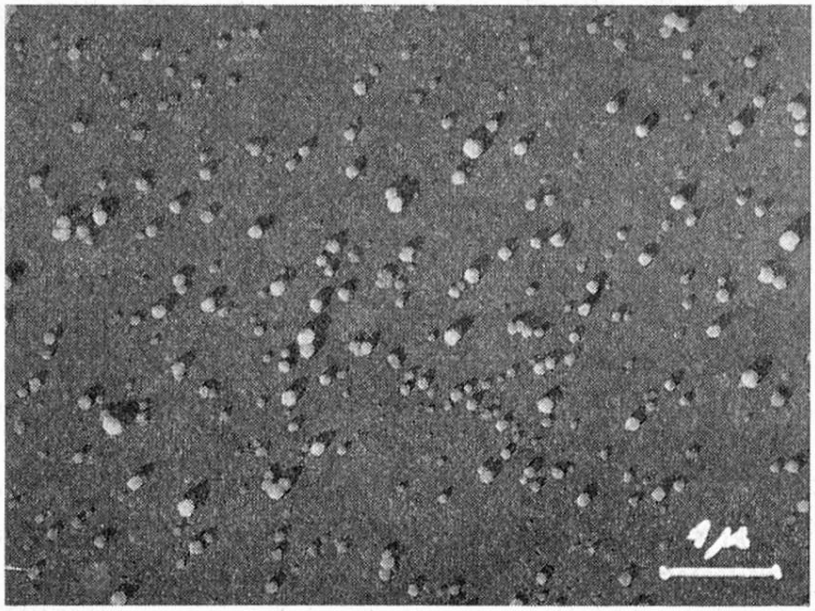
Neben diesen Verschiebungen der Bindungsverhältnisse der Milchsalze vollziehen sich Veränderungen im Verteilungszustand der Milchproteine, vor allem des

* Die vorliegende Studie wurde 1957 an der Eidg. milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld begonnen und später am Medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern ergänzt. Ein Kurzbericht wurde 1965 an einem an der Station Centrale de Recherches Laitières et de Technologie des Produits Animaux, Jouy-en-Josas, stattgefundenen Seminar über «Les Caséines du Lait» vorgelegt.

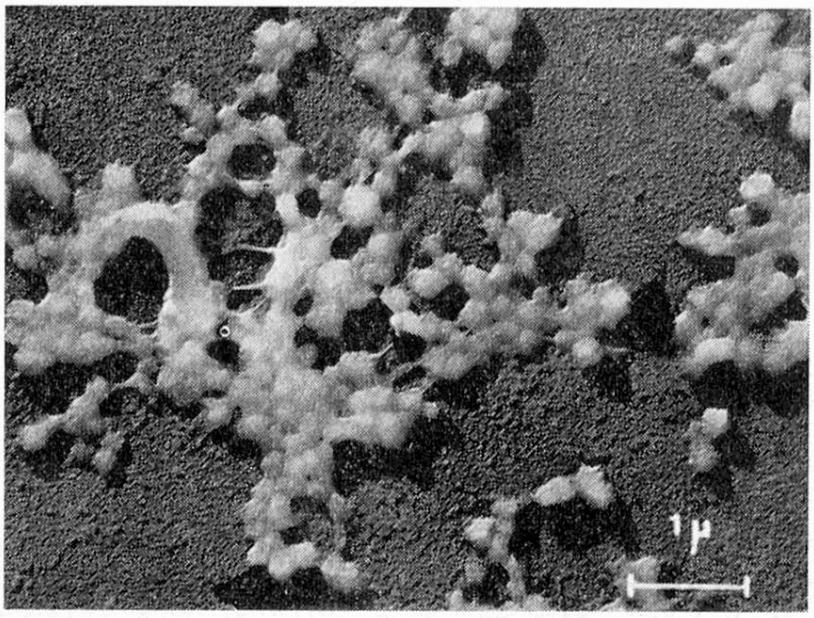
** An Stelle der ursprünglich hauptsächlich in den USA eingeführten Bezeichnung High-Temperature-Short-Time (HTST) ist heute im Schrifttum der Fachausdruck Ultra-High-Temperature (UHT)-Sterilization mehr gebräuchlich.

Caseins. Eine solche Veränderung bewirkt schon die zur Verhinderung der Fettaufrahmung vorgenommene Homogenisation, der das Milchkonzentrat vom Eindampfer weg unterworfen wird. Neben der Zerkleinerung der Fettkügelchen wird durch diese Operation die Viskosität und außerdem die Stabilität beeinflußt; Zusammenhänge, auf die schon an anderer Stelle hingewiesen wurde (16). *Webb* und *Holm* (17) wiesen nach, daß die Viskositätserhöhung durch die Homogenisation mit der Drucksteigerung parallel geht. Die beim Homogenisieren von Vollmilch beobachtete Erhöhung der Viskosität deutete *G. Wiegener* (18) dahin, daß an die neu gebildete und im gesamten stark vergrößerte Oberfläche der Fettkügelchen mehr Casein angelagert sei. *Hostettler* und *Imhof* (19) haben gezeigt, daß als Nebenerscheinung der Homogenisationswirkung auf die Fettkügelchen ein Teil der Caseinpartikel zu Konglomeraten zusammengelagert wird. *Fox, Holsinger, Catra* und *Pallansch* (20) beschrieben einen unter der Einwirkung der Homogenisation entstehenden Fett/Protein-Komplex und untersuchten dessen Verhalten im Zentrifugalfeld. Sie stellten fest, daß die Komplexbildung bei Erhöhung des Fettgehaltes und der Trockenmasse über 31 % TS zunimmt. Verstärkend wirkt ebenfalls eine Erhöhung der Calciumkonzentration. Einen unter der Wirkung der Homogenisation von Milch sich bildenden Fett/Eiweiß-Komplex beschrieben auch *Hostettler* und *Imhof* (21). Weitere elektronen-mikroskopische Untersuchungen über die Struktur der durch die Homogenisation hervorgerufenen Casein/Fett-Aggregate führten zum Schluß, daß es sich dabei um hüllenartige Anlagerungen von Caseinteilchen an die neugeschaffene Fettkügelchenoberfläche handelt. Die Feststellungen von *Fox* und Mitarbeitern (20), daß das Ausmaß der Aggregatbildung von den Homogenisationsbedingungen und dem Gehalt an Fett und Trockenmasse abhängt, fanden sie bestätigt.

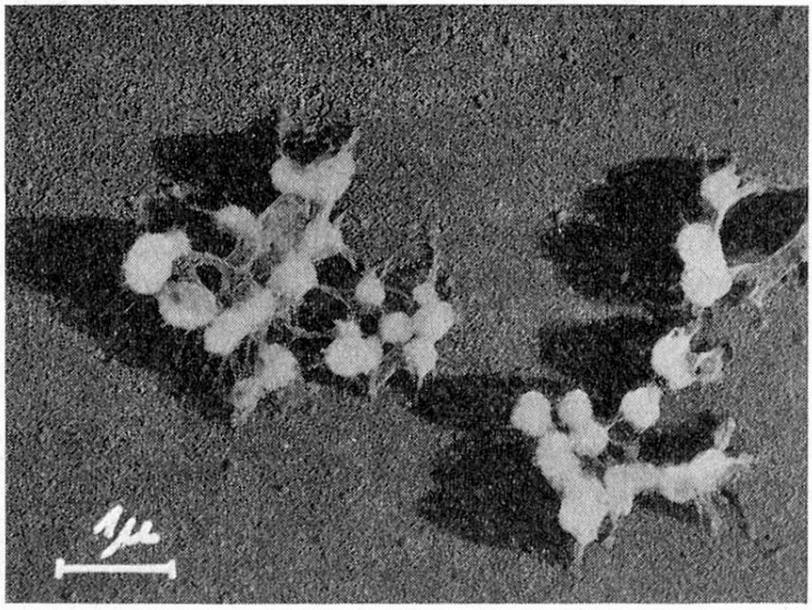
Die hier beschriebene Bildung von Casein/Fett-Aggregaten bei der Homogenisation, die zu Separationen neigen und an sich schon eine Koagulationserscheinung darstellen, vermögen unzweifelhaft die sich bei der anschließenden Hitzebehandlung des Konzentrates abspielenden Veränderungen zu beeinflussen. Diesen liegen chemische und physikalisch-chemische Vorgänge zugrunde. Sie äußern sich am auffallendsten in einer Umgestaltung des Verteilungszustandes der Milchproteine, vor allem des Caseins. Mit Hilfe des Elektronenmikroskopes konnte gezeigt werden (22), daß im Vergleich zu normaler Frischmilch in evaporierter Milch ausgeprägte, in einer Teilchenvergrößerung sich äußernden Strukturveränderungen zu erkennen sind, die bei der Rekonstitution bestehen bleiben. Die Vergrößerung der Caseinpartikel ist um so ausgeprägter, je höher der Gehalt des Konzentrates an fettfreier Trockenmasse ist (Figur 1—4). Die Umgestaltung des Verteilungszustandes vollzieht sich weniger beim Konzentrationsvorgang als vielmehr unter der bei der Sterilisation erfolgenden Wärmeeinwirkung. Da bei der UHT-Sterilisation die Wärmeeinwirkung viel weniger anhaltend erfolgt, ist die sich ergebende Verschiebung des Verteilungszustandes viel weniger weitgehend als bei Erhitzung im Autoklaven. Ein solcher Unterschied trat auch eindeutig beim vergleichenden Erhitzen uneingedickter Trinkmilch durch Pasteurisation, UHT-Sterilisation (Uperisation® 150 ° C/2,4 Sekunden) und Autoklavierung



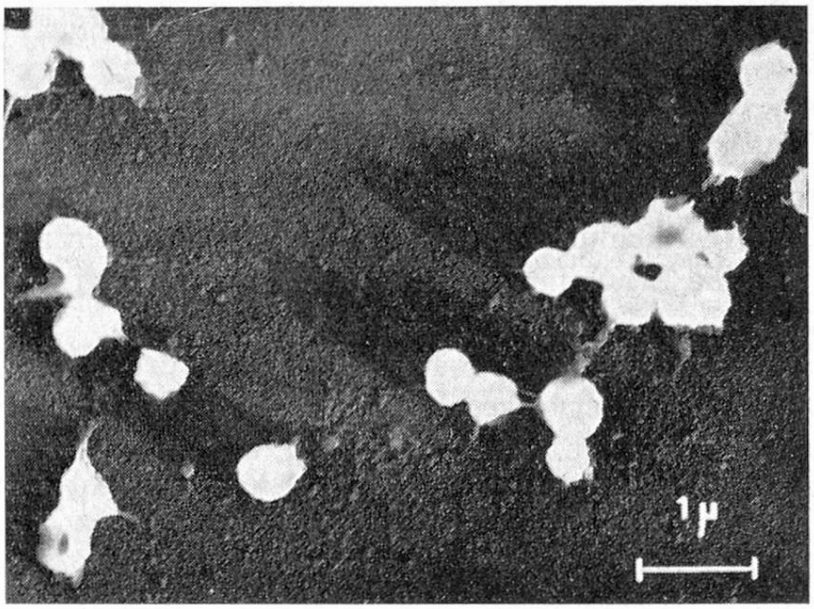
Figur 1. Caseinpartikel in normaler Rohmilch.



Figur 2. Caseinpartikel in UHT-sterilisierter ungezuckerter Kondensmilch (Eindickung 2:1).



Figur 3. Caseinpartikel in UHT-sterilisierter ungezuckerter Kondensmilch (Eindickung 3:1).



Figur 4. Caseinpartikel in autoklavierter ungezuckerter Kondensmilch (Eindickung 3:1).

(116 ° C/15 Minuten) hervor (23). Eine Vergrößerung der Caseinpartikel war auch von *Wilson, Herreid* und *Whitney* (24) mit Hilfe der Ultrazentrifuge festgestellt worden. Manche Partikel enthalten sowohl Fett als auch Protein. *Herreid* und *Wilson* (26) fanden für das sterilisierte 3:1 eingedickte Konzentrat einen mittleren Teilchendurchmesser von 2 μ (0,002 mm). Es dürfte sich hiebei wohl um Partikelkonglomerate handeln (vgl. Abbildungen 1—4).

Wie weit noch andere Faktoren, wie Quellungszustand der Proteine, Bindungsverhältnisse des Wassers usw. das Nachdicken und Gelieren ungezuckerter Milchkonzentrate mitbeeinflussen, ist nicht klar erkannt und müßte eingehender untersucht werden. *Beeby* und *Loftus Hills* (27) weisen darauf hin, daß die in Australien hergestellte evaporierte Milch, verglichen mit der nach gleichen Verfahren hergestellte evaporierte Milch in anderen Ländern eine ausgeprägtere Neigung zum Nachdicken zeigt. In der auf 31 % Gesamttrockenmasse eingedickten Milch ist die Eiweißkonzentration merklich erhöht. Es wurde gefunden, daß innerhalb der für evaporierte Milch bestehenden Grenzwerte kleine Veränderungen im Verhältnis Eiweiß/Wasser erhebliche Unterschiede in der Viskosität der Milch nach dem Erhitzen zur Folge haben. Da in Australien die eine eiweißreiche Milch liefernde Jersey-Rasse überwiegt (28), wird hierin ein fördernder Faktor für erhöhte Neigung zum Nachdicken der ungezuckerten Kondensmilch erblickt.

Der Vorgang der Gelierung ist gekennzeichnet durch eine lange Vorbereitungsphase, während welcher die Viskosität nur wenig ansteigt, um dann unter rascher Erhöhung der Viskosität zur Gelierung überzuleiten. Es zeigt dies eine gewisse Aehnlichkeit zum Vorgang der Labgerinnung mit allen Merkmalen eines enzymatischen Vorgangs, worauf *Hostettler, Stein* und *Bruderer* (29) hinweisen.

Bei einer durch UHT-Sterilisation (Uperisation 150 ° C/0,75 Sekunden) entkeimten, während der Lagerung nachgedickten Milch, wurden folgende Veränderungen festgestellt:

a) ein proteolytischer Caseinabbau unter Zunahme des löslichen Nicht-Casein-Stickstoffes;
b) eine Abnahme der relativen Konzentration an β-Casein im Elektrophoresebild des Gesamt-Caseins;
c) eine Veränderung im Elektrophoresebild des α-Caseins, welches eine gewisse Aehnlichkeit mit dem durch Labenzym veränderten Casein aufweist;
d) eine Erhöhung der Calciumempfindlichkeit im Calciumionentest.

Auf Grund dieser Feststellungen wurde die Möglichkeit eines enzymatischen Vorganges, hervorgerufen durch reaktivierte Milchproteasen, in Betracht gezogen. Eine solche Enzymreaktivierung war keineswegs von vornherein ausgeschlossen, war doch von *Fuchs* (30) eine Reaktivierung von alkalischer Phosphatase in uperisierter Milch nachgewiesen worden. Zu ähnlichen Ueberlegungen gelangten auf Grund ihrer Untersuchungen *Murthy, Herreid* und *Whitney* (31), *Leviton* und *Pallansch* (8).

Bei Verlängerung der Heißhaltezeit von 0,75 Sekunden auf 2,4 Sekunden ließ sich bei später vorgenommenen Untersuchungen eine Enzymreaktivierung in uperisierter Milch allerdings nicht mehr feststellen (32). Unklarheit bestand jedoch über die Ursache des unterschiedlichen Verhaltens ungezuckerter Milchkonzentrate bei der Lagerung je nach bestandenem Erhitzungsverfahren. Weitere Untersuchungen hierüber schienen uns deshalb angezeigt.

2. Experimentelles

2.1. *Untersuchungsmaterial*

a) Evaporierte/uperisierte Magermilch, SNF 17, 3 %, pH 6,50.
Uperisation 150 ° C/2,5 Sekunden.
Vorwärmung 70 ° C/15 Minuten.
Farbe der evaporierter Milch = weiß.

b) Evaporierte/uperisierte Magermilch, die anschließend an die Uperisation einer thermischen Nachbehandlung bei 110 ° C im Drehautoklaven unterworfen wurde. Zusammensetzung wie Milch a), pH = 6,44. Die Farbe war gelbbräunlich, entsprechend dem normalen Aussehen einer autoklavierten Milch.

2.2. *Lagerungsbedingungen*

Die Milch wurde 12 Monate lang in Aluminiumdosen von ca. 350 g Inhalt bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Milch a) dickte nach ca. 7 bis 8 Monaten nach, während die autoklavierte Milch b) nach 14 Monaten noch flüssig war.

2.3. *Untersuchungen*

2.3.1. Stickstoffverteilung im wesentlichen nach *Rowland* (33)

a) Casein + Molkenprotein-Fraktion; Fällung mit Na-Acetat und Essigsäure bei pH 4,6.

b) Molkenproteine, ermittelt durch Ansäuern des bei der Caseinfällung erhaltenen Filtrates mit Trichloressigsäure (TES) bis zu einer Endkonzentration von 4 %, Erhitzen auf dem siedenden Wasserbad, Bestimmung des Stickstoffgehaltes im abfiltrieren und ausgewaschenen Niederschlag.

c) Nicht-Protein-Stickstoff (NPN), bestimmt im trichchloressigsauren Filtrat (Endkonzentration 12 %) und berechnet aus der Differenz zwischen Gesamt-N und der Summe der Fraktionen a) und b).

2.3.2. Aminostickstoff nach *Folin Wu* (34) modifiziert für Milch.

2.3.3. Bestimmung der Absorption im UV-Licht, ausgeführt nach den Angaben von *Lembke* et al. (35) für die Ermittlung kleiner Proteolysegrade in der Milch.

2.3.4. pH-Messung.

2.3.5. Elektrophorese (Tiselius).
Die Vorbereitung der Milch und des Caseins, die Ermittlung und Auswertung der Elektrophoresediagramme erfolgte nach den früher beschriebenen Verfahren (29, 36).

2.3.6 Calciumionentest.
Die Empfindlichkeit des aus der Milch isolierten und gereinigten Caseins gegen Calciumionen wurde nach der früher beschriebenen Methode (29) untersucht.

Die Untersuchungen wurden am Anfang alle 2 Wochen, später in Abständen von 1 bis 2 Monaten während einer Zeitdauer von 12 Monaten vorgenommen.

3. Ergebnisse

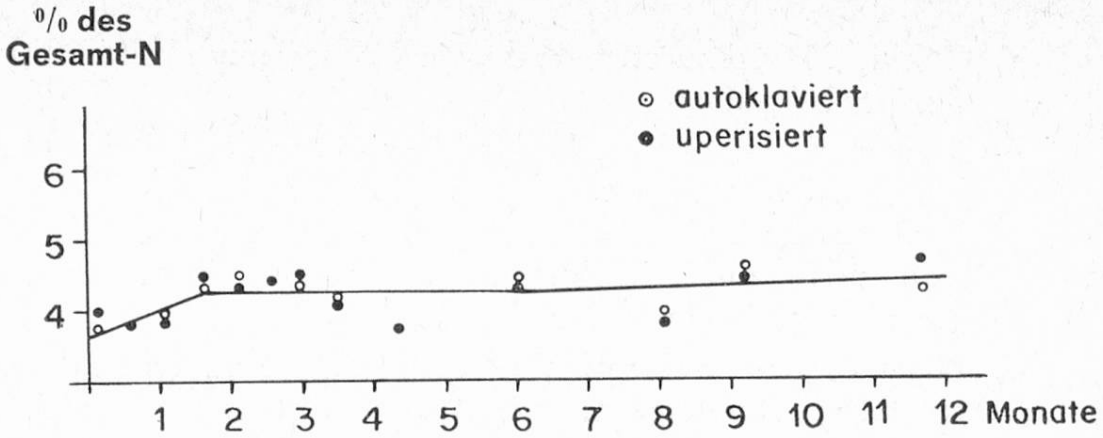
3.1. *pH-Messung*

Der pH-Wert der untersuchten Milchen zeigte während der Lagerung keine wesentliche Veränderung. Das bei der uperisierten Milch am Anfang gemessene pH von 6,50 erreichte nach 12 Monaten den Wert von 6,54.

3.2. *Die Stickstoffverteilung*

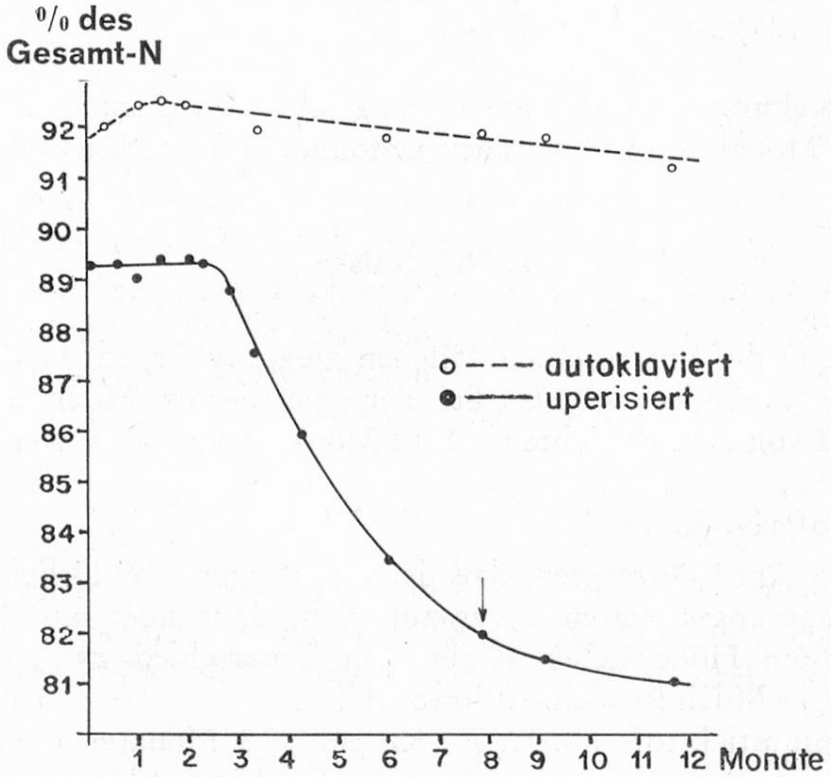
Aus Figur 5 läßt sich ersehen, daß der in 12%iger TES lösliche NPN in den ersten 2 Lagerungsmonaten etwas zunimmt, dann aber auf der nach dieser Zeit erreichten Höhe stehen bleibt. Ein Unterschied zwischen uperisierter autoklavierter Milch ist nicht wahrzunehmen.

Der Aminostickstoff nimmt in den ersten 3 Monaten etwas zu, um sich dann später nur wenig zu verändern. Eindeutige Unterschiede zwischen uperisierter und autoklavierter Milch sind nicht festzustellen. Einen ähnlichen Verlauf zeigen die Absorptionswerte im UV-Licht.



Figur 5. Nicht-Protein-Stickstoff (löslich in 12%iger TES)

Ein völlig anderes Verhalten ergibt sich in beiden Milchen im Anteil der bei pH 4,6 fällbaren Proteinfraktion (Figur 6). Diese Fraktion, die bei einer normalen Rohmilch aus Casein allein besteht, enthält in der hocherhitzten Milch auch Molkenproteine, die unter den angewandten Fällungsbedingungen mit dem Casein niedergeschlagen werden. Die Anfangswerte für diese Casein-Molkenprotein-Fraktion liegen bei der uperisierten Milch niedriger als bei der autoklavierten Milch. Bei dieser bleibt der Wert nach einer zu Anfang erfolgten leichten Zunahme in der Folge ohne wesentliche Aenderung.



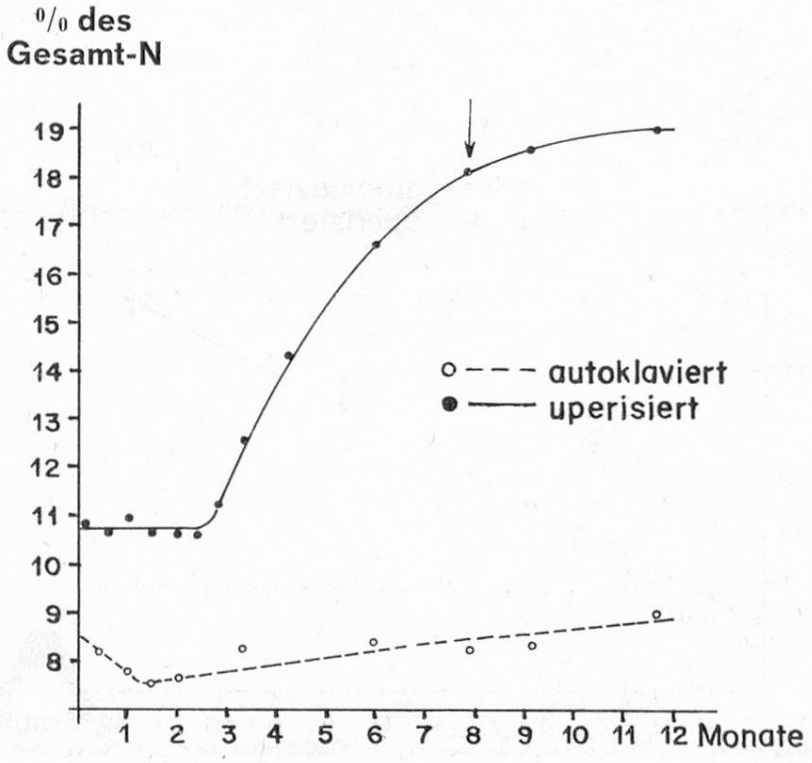
Figur 6. Casein-Molkenprotein-Fraktion (unlöslich in Acetatpuffer bei pH 4,6).

Bei der uperisierten Milch dagegen bleiben die Werte in den ersten $2^1/_2$ Monaten konstant. Anschließend vollzieht sich eine kontinuierliche Abnahme dieser Proteinfraktion, welcher Vorgang sich über den Gelierungspunkt hinaus fortsetzt. Nach 12 Monaten beträgt die Verminderung 8,2 %, bezogen auf den Gesamtstickstoffgehalt der untersuchten Milch.

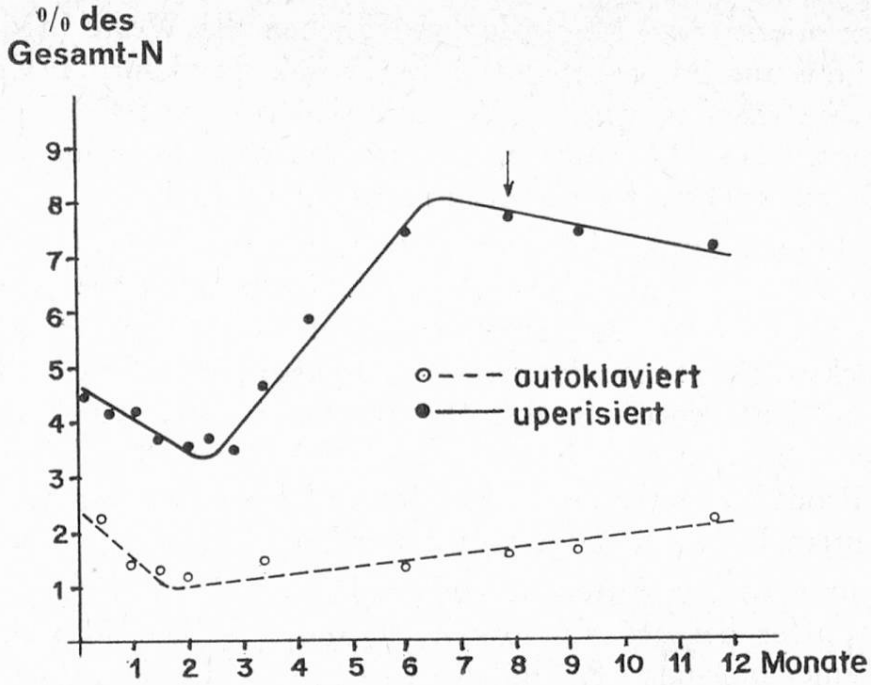
Die in Figur 7 aufgezeichneten Diagramme stellen das Gegenstück zu den Kurven von Figur 6 dar. Sie zeigen den Konzentrationsverlauf derjenigen Proteinfraktion, die im Acetatpuffer bei pH 4,6 löslich ist. Dieser «Nicht-Casein-Stickstoff» setzt sich aus dem Stickstoff der freien Molkenproteine und dem «Nicht-Protein-Stickstoff» zusammen. Bei der hier untersuchten uperisierten Milch sind darin somit auch diejenigen N-haltigen, bei pH 4,6 löslichen Produkte enthalten, die während der Lagerung aus der «Casein-Molkenprotein-Fraktion» abgespalten werden.

In Figur 8 ist der Anteil derjenigen Proteine graphisch aufgetragen, der im Acetatpuffer bei pH 4,6 löslich ist, durch 4%ige TES dagegen gefällt wird. Bei einer normalen Rohmilch ist diese Fraktion identisch mit den Molkenproteinen.

Bei der autoklavierten Milch ist nach einem anfänglichen Rückgang in den ersten 2 Lagermonaten anschließend ein annähernd linearer Konzentrationsanstieg bis auf den ursprünglichen Wert von 2,2 % wahrzunehmen. Die uperisierte Milch zeichnet sich durch ein anderes Verhalten aus: Ausgehend von einem etwas höheren Anfangswert von 4,5 % erfolgt in den ersten

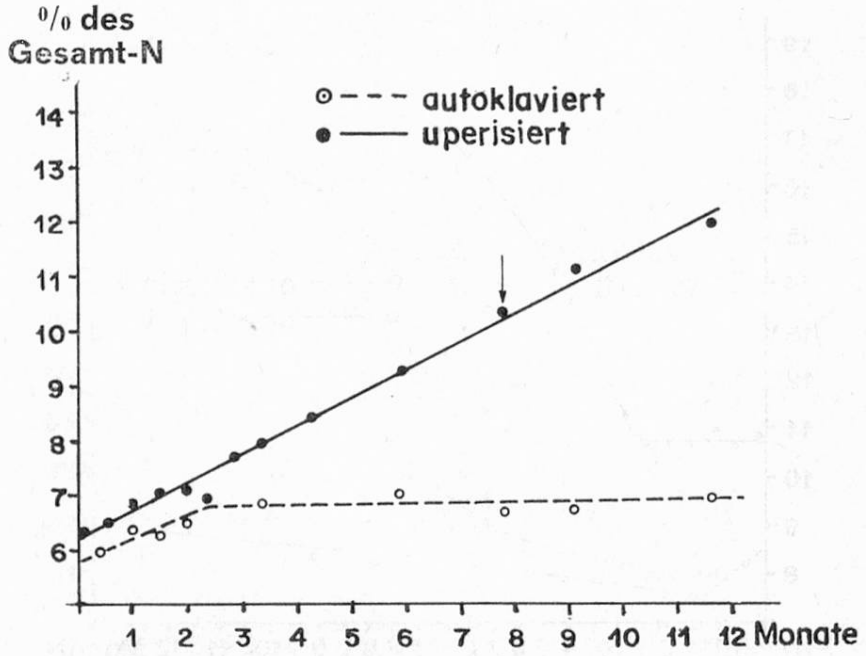


Figur 7. Nicht-Casein-N (löslich in Acetatpuffer bei pH 4,6).



Figur 8. Molkenproteine (löslich bei pH 4,6; unlöslich in 4%iger TES).

2½—3 Monaten ein leichter Rückgang auf 3,5 %. Während der weiteren Lagerung ist ein beträchtlicher Anstieg festzustellen. Nach 8 Monaten, zur Zeit des Gelierens der Milch, erreicht diese Fraktion ein Maximum von 7,7 % des Gesamtstickstoffes, um nach 12 Monaten Lagerung den Wert von 7,1 % anzunehmen.

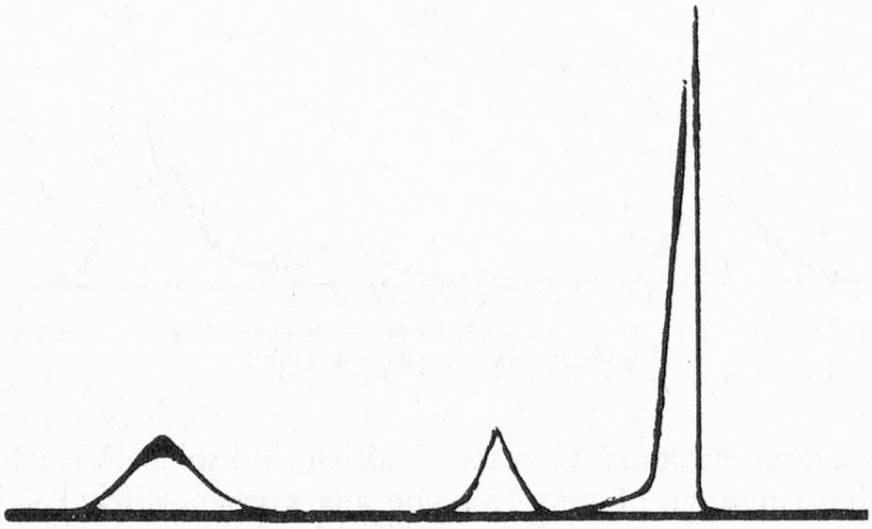


Figur 9. Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) (löslich in 4%iger TES).

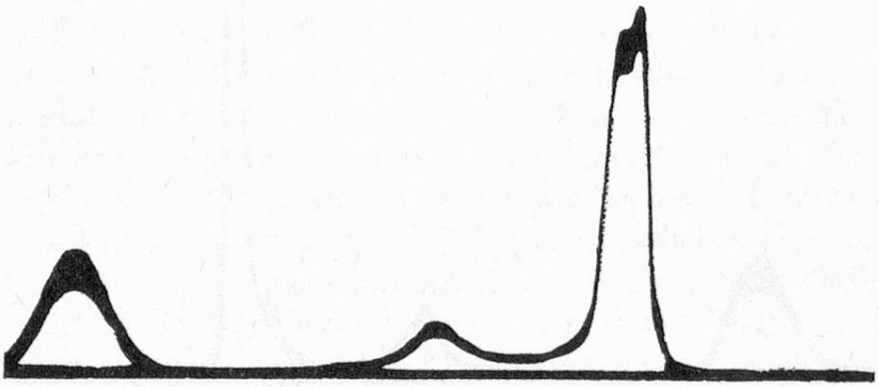
Die Konzentration des in 4%iger TES löslichen Nichtproteinstickstoffes (NPN) nimmt in den ersten 3 Monaten bei der autoklavierten Milch leicht zu und bleibt dann während der Weiterlagerung unverändert. Bei der uperisierten Milch dagegen nimmt die Konzentration dieses Anteils über den Gelierungspunkt hinaus linear zu und erreicht nach 12 Monaten den Wert von ca. 12 % des Gesamt-Stickstoffs (Figur 9).

3.3. *Elektrophoretische Untersuchungen*

Die markantesten Unterschiede zwischen uperisierter und autoklavierter evaporierter Milch zeigten sich bei der Elektrophorese der bei pH 4,6 abgetrennten Proteinfraktion. Bei der aus uperisierter nachgedickter Milch beim IEP des Caseins gefällten Fraktion wurde eine Aufspaltung des α-Gradienten in den aufsteigenden Grenzflächen des Elektrophoresediagrammes beobachtet (Figuren 10 und 11). An anderen nachgedickten Milchen konnte die Feststellung gemacht werden, daß die Veränderung des α-Caseins oft nur in Form einer stark ausgeprägten Asymmetrie dieses Gradienten bestand. Die



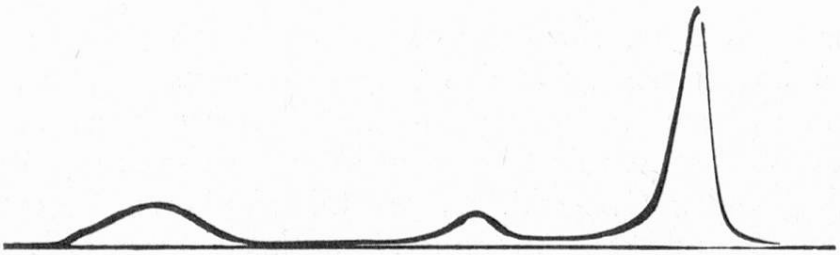
Figur 10. Elektrophoresediagramm der bei pH 4,6 nach der Uperisation abgetrennten Proteinfraktion aus evaporierter Milch.



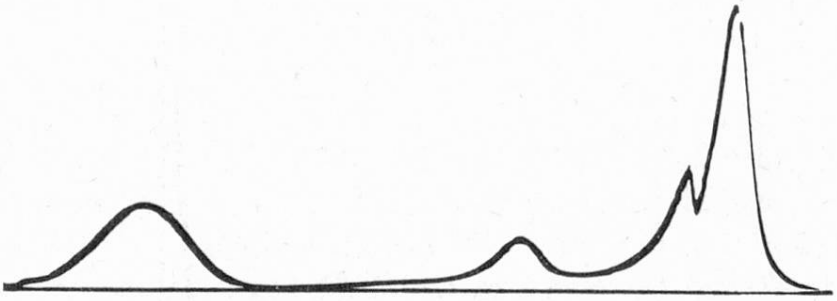
Figur 11. Aus der gleichen Milch nach 12 Monaten Lagerung bei pH 4,6 abgetrennte Proteinfraktion (nach 8 Monaten geliert).

Aufspaltung des α-Gradienten läßt sich besonders dann sehr deutlich beobachten, wenn die nachgedickte Milch nach erfolgter Gelbildung noch einige Zeit gelagert wurde.

Wurde in partiell gelierter evaporierter Milch der gelierte Anteil durch Zentrifugation vom nichtgelierten Teil getrennt und beide Teile für sich zur Elektrophorese gebracht, so traten die Unterschiede sehr deutlich hervor (Figuren 12 und 13).

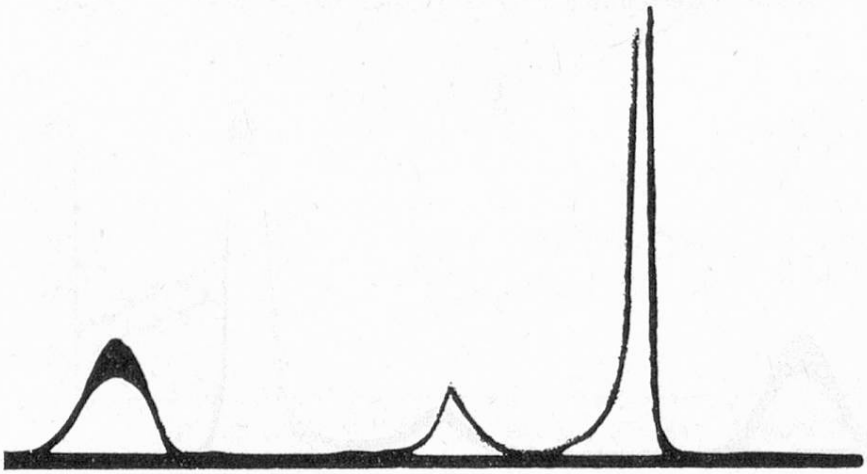


Figur 12. Partiell gelierte evaporierte Milch. Elektrophoresediagramm des nichtgelierten milchig-flüssigen Anteils.

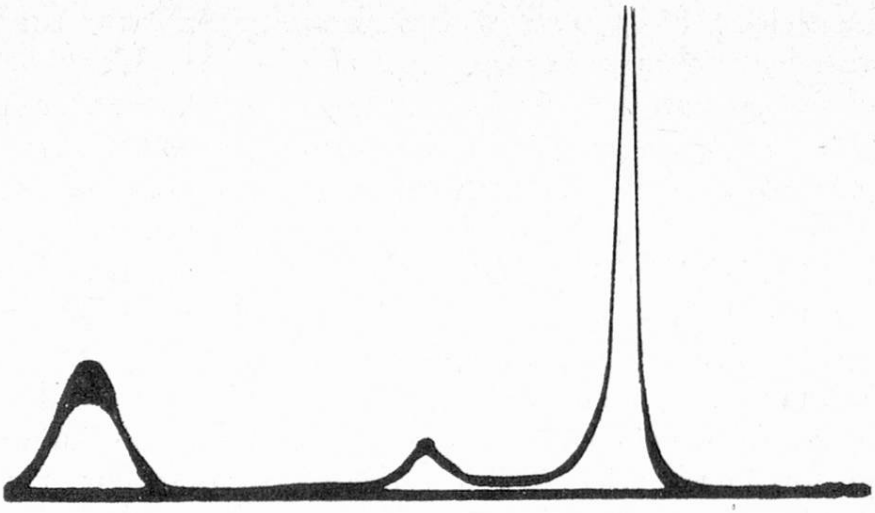


Figur 13. Partiell gelierte evaporierte Milch. Elektrophoresediagramm des gelierten, sedimentierten Anteils.

In der evaporierten/autoklavierten Milch sind solche Veränderungen nicht festzustellen (Figuren 14 und 15). Die aus solcher Milch bei pH 4,6 durch Säurefällung abgetrennte Fraktion ergibt ein damit übereinstimmendes Bild.



Figur 14. Evaporierte/autoklavierte Milch. Elektrophoresediagramm nach der Sterilisation.



Figur 15. Evaporierte/autoklavierte Milch. Elektrophoresediagramm nach 12 Monaten Lagerung.

Am Gelierungsvorgang ist wahrscheinlich auch das β-Casein beteiligt. Infolge seiner Neigung zur Komplexbildung mit dem α-Casein, die von der Proteinkonzentration (37, 38, 39) und von der Intensität der Wärmeeinwirkung (23) abhängig ist, kann es Anlaß zu einer stärker ausgeprägten Asymmetrie des α-Gradienten geben. Bei der Gelierung von UHT-sterilisierter uneingedickter Milch ließ sich ein starker Rückgang der relativen Konzentration an β-Casein feststellen (29).

4. Schlußfolgerung

Auf Grund dieser Untersuchungen und in früheren Veröffentlichungen mitgeteilten Beobachtungen wurde von uns folgender Reaktionsablauf für das Verhalten von autoklavierter und UHT-sterilisierter ungezuckerter Kondensmilch bei der Lagerung in Erwägung gezogen:

Infolge der Protein-Protein-Bindung zwischen dem Casein und den Molkenproteinen während der Sterilisation im Autoklaven wird das Casein gegen mögliche nachträgliche Veränderungen stabilisiert. Diese Reaktion ist irreversibel bei der autoklavierten Milch.

Die geringe Wärmesumme, die der Milch während der UHT-Sterilisation zugeführt wird, bewirkt, daß die erwähnte Bindung bei der uperisierten Milch unvollständig verläuft und auch umkehrbar ist. Dies äußert sich darin, daß bei der uperisierten Milch nach einer gewissen Anlaufzeit während der Lagerung die Protein-Fraktion Casein/Molkenproteine wieder in zwei Eiweißfraktionen zerfällt. Von diesen behält die eine den IEP des Caseins bei, während die andere die Eigenschaft der Molkenproteine annimmt. Das auf diese Weise kontinuierlich destabilisierte, nicht mehr geschützte Casein wird damit weiteren Veränderungen zugänglich. Diese äußern sich in der Abspaltung einer in 4%iger TES löslichen NPN-Fraktion unter Veränderung des α-Caseins, an die sich eine unter Mitwirkung der Calciumionen erfolgende Gelbildung anschließt.

Ob die bei geliertem Milchkonzentrat festgestellte Spaltung des α-Caseins auf einem enzymatischen Vorgang beruht, ist durch weitere Untersuchungen abzuklären. In steriler konzentrierter Milch, die innert 4—5 Wochen gelierte, konnten *Nakai, Wilson* und *Herreid* (40) in ihren Untersuchungen keine milchnativen, die Erhitzung überstehenden oder reaktivierbaren proteolytischen Enzyme feststellen. Sie kommen zum Schluß, daß keine derartigen Enzyme an der Gelierung von konzentrierter, nach der HTST-Methode sterilisierter Milch beteiligt sind. Es ist deshalb auch die Möglichkeit einer durch rein physiko-chemischen Vorgang am Casein-Komplex sich vollziehenden Veränderung in Betracht zu ziehen. Eine solche Veränderung wurde schon 1950 von *Naegeli* (41) an einem im Vakuum über Phosphorpentoxyd aufbewahrten Säurecasein beobachtet. Sie äußerte sich in der Weise, daß mit fortschreitender Alterung das Säurecasein eine zunehmende Ca-Ionenempfindlichkeit aufwies. Bei genügend langer Lagerung erhielt das Säurecasein weitgehend die Eigenschaften von Labcasein, allerdings ohne die elektrophoretischen Eigenschaften des letzteren anzunehmen. Die Erscheinung war auch bei Caseinpräparaten anzutreffen, bei welchen die anhaftenden proteolytischen Enzyme (37) zerstört waren. Es ist denkbar, daß analoge Veränderungen sich auch im Solzustand vollziehen können, besonders dann, wenn die Suspensionen hinreichend lange gelagert werden, wie dies bei sterilen Milchkonzentraten tatsächlich der Fall ist.

Größte Aufmerksamkeit ist dem erstmals von *Waugh* und *Hippel* (42) nachgewiesenen k-Casein zu schenken, das mengenmäßig gegenüber α- und β-Casein zurücktritt, seiner bemerkenswerten Eigenschaften wegen jedoch einen bedeutenden Platz im System der Milchproteine einnimmt. Es weist neben seinen übrigen Eigenschaften eine sehr labile Bindung auf, die durch Lab in der Primärreaktion aufgespalten wird (43). Die Spaltung kann auch durch andere Proteasen, verschiedene Reagentien und durch Hitze bewirkt werden. Es besitzt die Fähigkeit, andere Casein-Fraktionen zu stabilisieren und ist die einzige Casein-Fraktion, die durch Lab angegriffen wird. In Gegenwart von 0,3 M Calcium-Ionen wird der aus α_s-, β- und γ-Casein bestehende Komplex gefällt, nur das k-Casein bleibt in Lösung (44). Es ist denkbar, daß bei genügend langer Einwirkungszeit auch bei niedrigeren Ca-Ionenkonzentrationen eine Spaltung, vor allem des α-Caseinkomplexes, stattfindet. Durch Photooxydation verliert k-Casein die Fähigkeit α_s-Casein zu stabilisieren und wird von Lab nicht mehr angegriffen (45). Bei der Erhitzung auf 74,5 ° C während 30 Minuten beginnt sich zwischen k-Casein und β-Lactoglobulin ein Komplex zu bilden. Unter gleichen Bedingungen auf 85 ° C erhitzt ist die Komplexbildung (Protein-Protein-Interaction) vollständig (46). Mit α-Laktalbumin tritt unter den gleichen Erhitzungsbedingungen die Komplexbildung nicht ein. Komplexbildung beim Erhitzen von Mischungen von k-Casein und β-Lactoglobulin stellten auch *Zittle* und Mitarbeiter (47) fest; desgleichen *McGugan* und Mitarbeiter (48), wenn sie eine Mischung von Casein und β-Lactoglobulin bei pH 6,9 während 30 Minuten auf 85 ° C erhitzten. Das β-Lactoglobulin wurde dabei in eine Form umgewandelt, die bei der Elektrophorese mit dem α-Casein wanderte. Es wurde deshalb auf eine Komplexbildung zwischen

den beiden Proteinen geschlossen. Diese Vorgänge der Komplexbildung zwischen Proteinen beim Erhitzen (Protein-Protein-Interaction) bilden offenbar die Grundlage für das von uns beschriebene unterschiedliche Verhalten autoklavierter und UHT-sterilisierter ungezuckerter Milchkonzentrate bei der Lagerung. Eine besondere Bedeutung kommt dabei höchstwahrscheinlich dem k-Casein zu.

Wir danken Frau *O. Schneeberger-Bhend* und Fräulein *C. Zbinden* für ihre wertvolle Mitarbeit bei der Vornahme der analytischen Bestimmungen, der elektrophoretischen und elektronenmikroskopischen Arbeiten.

Zusammenfassung

Den mit dem Nachdicken und Gelieren sterilisierter ungezuckerter Milchkonzentrate in Zusammenhang stehenden Vorgängen wird nachgegangen.

Die Auswirkungen des Homogenisierens und Erhitzens auf die strukturellen Verhältnisse werden in Betracht gezogen.

Ueber die Ursachen des unterschiedlichen Verhaltens eines autoklavierten und UHT-sterilisierten Magermilchkonzentrates beim Lagern wurden eingehende Untersuchungen vorgenommen. Die festgestellten Verschiebungen in der Stickstoffverteilung und die Veränderung im elektrophoretischen Verhalten der Milchproteine, vor allem des Caseins, lassen auf folgenden Reaktionsablauf schließen:

Infolge der Protein-Protein-Bindung zwischen dem Casein und den Molkenproteinen während der Sterilisation im Autoklaven wird das Casein gegen mögliche nachträgliche Veränderungen stabilisiert. Diese Reaktion ist irreversibel bei der autoklavierten Milch.

Die geringe Wärmesumme, die der Milch während der UHT-Sterilisation, z. B. durch Uperisation®, zugeführt wird, bewirkt, daß die Protein-Protein-Bindung bei der uperisierten Milch unvollständig verläuft und auch umkehrbar ist. Dies äußert sich darin, daß bei der uperisierten Milch nach einer gewissen Anlaufzeit während der Lagerung die Proteinfraktion Casein/Molkenproteine wieder in zwei Komponenten zerfällt. Von diesen behält die eine den IEP des Caseins bei, während die andere die Eigenschaften der Molkenproteine annimmt. Das auf diese Weise kontinuierlich destabilisierte, nicht mehr geschützte Casein wird damit weiteren Veränderungen zugänglich. Dies äußert sich in der Abspaltung einer in 4 % TES löslichen NPN-Fraktion unter elektrophoretisch feststellbarer Veränderung des α-Caseins. Unter Mitwirkung der Calciumionen erfolgt hier anschließend die Gelierung.

Die tieferen Ursachen für den am α-Casein sich abspielenden Spaltungsvorgang werden diskutiert.

Résumé

Des recherches sont faites au sujet des procédés en relation avec l'épaississement et la gélification des concentrés laitiers non sucrés stérilisés.

Les effets de l'homogénéisation et de l'échauffement sur les conditions structurelles sont prises en considération.

Des recherches détaillées ont été faites au sujet du comportement différentiel lors du stockage d'un concentré de lait maigre autoclavé et stérilisé à ultra-haute température. Les changements constatés dans la répartition de l'azote et le comportement électrophorétique différentiel des protéines du lait, avant tout de la caséine, permettent de conclure au processus réactionnel suivant:

Par suite de la liaison protéine-protéine entre la caséine et les protéines du petit-lait pendant la stérilisation dans l'autoclave, la caséine est stabilisée en ce qui concerne des modifications ultérieures possibles. Cette réaction est irréversible pour le lait autoclavé. La somme de chaleur restreinte amenée au lait pendant la stérilisation à ultra-haute température, par exemple par l'upérisation®, a pour effet que la liaison protéine-protéine du lait upérisé se fait de façon incomplète et qu'elle est même réversible. Cela se manifeste de façon que, dans le lait upérisé, après un certain temps de stockage, la fraction protéique caséine/protéines du petit-lait se décompose de nouveau en deux composants. L'un deux conserve le point isoélectrique de la caséine, tandis que l'autre adopte les qualités de la protèine du petit-lait. La caséine, perdant ainsi sa stabilité et n'étant plus protégée, est alors accessible à d'autres modifications. Cela s'exprime par la séparation d'une fraction d'azote non-protéique soluble dans l'acide tri-chloracétique de 4 %, qui modifie la α-caséine, ce que l'on peut constater par l'électrophorèse. La gélification se produit ensuite avec le concours des ions du calcium.

Les causes plus profondes du processus de séparation de la α-caséine sont discutées.

Summary

Research is undertaken on the processes in relation to gelation and agethickening of sterilized unsweetened milk concentrates.

The effect of homogenisation and heating on the structural relations are taken into consideration.

Investigations were carried out on the causes of the various reactions during storage of autoclaved and UHT-sterilised skim milk concentrates. The observed shifts in the nitrogen distribution and the change in the electrophoretic reaction of the milk proteins, especially that of casein, led to the assumption of the following reaction process:

Due to the protein-protein-interaction between the casein and the whey proteins during sterilisation in the autoclave, the casein is stabilised against any further modifications. This reaction is irreversible in milk treated in the autoclave.

The small amount of heat introduced into the milk during the UHT-sterilisation, f. i. in Uperisation®, causes the protein-protein-interaction in the uperised milk to be incomplete and also reversible. After a short initial period this becomes evident in storage as the protein fraction casein/whey proteins of the uperised milk splits up again into two components. One of them retains the isoelectric point (IEP) of casein, whilst the other takes on the qualities of the whey proteins. The casein, thus continuously de-stabilised, is no longer protected and, therefore, subject to further modifications. This manifests itself in the split-off of a non-protein nitrogen (NPN)

fraction soluble in 4 % trichloracetic acid (TES) modifying the α-casein perceivable under electrophoresis. Subsequently, in interaction with calcium ions, gelification takes place.

The deeper causes of the split-off process in the α-casein are discussed.

Literatur

1. *Bell R. W., Curran H. R.* und *Evans F. R.* (1): «Effects of temperature and time of sterilization upon properties of evaporated milk.» J. Dairy Sci. **27**, 913—19 (1944).
2. *Deysher E. F., Webb H. B.* und *Holm G. E.:* «The viscosity of evaporated milks of different solids concentration.» J. Dairy Sci. **27**, 345—355 (1944).
3. *Kreveld A. van:* «Sweet curd in evaporated milk.» XII. Internat. Milchwirtschaftskongreß, Stockholm, Bd. 2, 44—48, (1949).
4. *Kreveld A. van:* «Correlation between bacterial infection and sweet curd in evaporated milk.» Neth. Milk & Dairy J., **4**, 115—20 (1950).
5. *Tarassuk N. P.* und *Tamsma A. J.:* «Control of gelation in evaporated milk: an approach to the problem.» Abstr. Pap. Amer. Chem. Soc., Sept. p. 7 A (1955).
6. *Calbert H. E.* und *Swanson A. M.:* «Technic for processing sterile concentrated whole milk.» XV. Internat. Dairy Congress, London, Bd. 1, 442—448 (1959).
7. *Seehaver M. E.* und *Swanson A. M.* «A study of some factors related to the storage life of sterilized concentrated milk.» J. Dairy Sci. **43**, 846 (1960).
8. *Leviton A.* und *Pallansch M. J.:* «High-temperature-short-time sterilized evaporated milk II, III.» J. Dairy Sci. **44**, 442—450 und 633—643 (1961).
9. *Leviton A., Pallansch M. J.* und *Webb B. H.:* «Effect of Phosphate Salts on the Thickening and Gelation of Some Concentrated Milks.» XVI. Int. Dairy Congress, Copenhagen Bd. 3, 1009—1018 (1962).
10. *Foremost Dairies Inc.:* «Evaporated Milk.» Austral. Pat. 226 169 vom 1. 10. 1958, ausg. 24. 12. 1959.
11. *Hawthorn-Mellody, Inc., Chicago:* «Process for stabilizing dairy products against age-thickening.» US-Pat. 3 008 840; 27. 1. 1955, ausg. 14. 11. 1961.
12. *Nodaway Valley Foods, Inc., Corning, Ia (USA):* «Verfahren zur Herstellung einer sterilen Kondensmilch.» Dtsch. Pat. 1 118 231 vom 9. 8. 1957, ausg. 29. 10. 1964.
13. *Swanson A. M.* und *Seehaver M. E.:* «Procédé de préparation d'un produit laité stable.» Franz. Pat. 1 372 921 vom 25. 10. 1963, ert. 10. 8. 1964 — USA-Priorität 26. 10. 1962.
14. *Davies D. T.* und *White J. C. D.:* «Determination of heat-induced changes in the protein stability and chemical composition of milk.» XV. Int. Dairy Cogress, London, Vol. 3, p. 1677—1685 (1959).
15. *Pyne G. T.:* «The heat coagulation of milk II. Variations in sensitivity of casein to calcium ions.» J. Dairy Res. **25**, 467—474 (1958),
16. *Hostettler H.:* Im Handbuch der Lebensmittelchemie, herausgegeben von L. Acker, K.-G. Bergner, W. Dietmair, W. Heimann, F. Kiermeier, J. Schormüller, S. W. Souci. Bd. V, p. 376 (1968) Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York.

17. *Webb B. H.* und *Holm G. E.:* «The separation of fat in evaporated milk.» J. Dairy Sci. **22**, 363—366 (1939).

18. *Wiegner G.* und cit. nach *Hunziker O. F.:* «Condensed milk and milkprowder.» p. 251, 7th Ed., La Grange, Ill. (1949).

19. *Hostettler H.* und *Imhof* K.: «Der Einfluß der Homogenisation auf die submikroskopische Struktur der Caseinpartikel.» XIII. Internat. Milchwirtschaftskongreß, Den Haag, Bd. 2, p. 382—85 (1953).

20. *Fox K. K., Holsinger H., Caha J.* und *Pallansch M. J.:* «Formation of a fat-protein complex in milk by homogenisation.» J. Dairy Sci. **43**, 1396—1409 (1960).

21. *Hostettler H.* und *Imhof K.:* «Untersuchungen über die Sedimentbildung und die Entstehung einer mehlig-kreidigen Textur bei der UHT-Dampfinjektion in Milch.» Milchwissenschaft **18** (1) 2—6 (1963).

22. *Hostettler H.* und *Imhof K.:* «Die submikroskopische Struktur von rekonstituierter Kondensmilch und Trockenmilch.» XIII. Internat. Milchwirtschaftskongreß, Den Haag, Bd. 2, p. 423—426, (1953).

23. *Hostettler H., Stein J.* und *Imhof K.* «Ueber den Einfluß der Wärmebehandlung und der Lyophilisation auf den Verteilungszustand und die physiologischen Eigenschaften der Milchproteine mit besonderer Berücksichtigung der bei der Uperisation® angewandten Thermik.» Milchwissenschaft **20**, 189—198 (1965).

24. *Wilson H. K., Herreid E. O.* und *Whitney R. M.:* «Ultracentrifugation studies of milk heated to sterilization temperatures.» J. Dairy Sci. **43**, 165—174 (1960).

25. *Wilson H. K.* und *Herreid E. O.:* «Sedimentation of reconstituted concentrated milks.» J. Dairy Sci. **43**, 1751—1757 (1960).

26. *Herreid E. O.* und *Wilson H. K.:* «Problems in making sterile concentrated milk with ultrahigh temperature.» Technical Production of Milk Concentrates/Department of Agricultural Economics. University of Illinois/College of Agriculture, June (1961) p. 6—8, 30—37.

27. *Beeby R.* und *Loftus Hills G.:* «Gelation in evaporated Milk — the effect of protein content.» XVI. International Dairy Congress, Copenhagen, Vol, B, p. 1010—1023 (1962).

28. *Beeby R.* und *Loftus Hills G.:* «Gelation in evaporated milk. The possible influence of the breed of cow.» XVII. Int. Milchwirtschaftskongreß, München, Bd. E/F. p. 81—83 (1966).

29. *Hostettler H., Stein J.* und *Bruderer G.:* «Zur Frage des Nachdickens von sterilisierter Milch.» Landw. Jahrbuch d. Schweiz **71**, 143—164 (1957).

30. *Fuchs A.:* «Biologische und physiologische Merkmale der uperisierten Milch.» XIII. Int. Milchwirtschaftskongreß, Den Haag, Bd. III, p. 1018—20 (1953).

31. *Murthy L., Herreid E. O.* und *Whitney R. M.:* «Electrophoretic properties of casein from sterilized milk stored at different temperatures.» J. Dairy Sci. **41**, 1324—1341 (1958).

32. *Wüthrich S., Richterich R.* und *Hostettler H.:* «Untersuchungen über Milchenzyme. II. Mitt.: Enzyme in zentrifugierter und hitzebehandelter Milch.» Zeitschr. Lebensm. Unters. u. -Forschg. **124**, 345—347 (1964).

33. *Rowland S. J.:* «The Determination of the Nitrogen Distribution in Milk». J. Dairy Res. **9**, 42—46 (1938).

34. *Folin O.* und *Wu H.:* A System of Blood Analysis III. J. Biol. Chem. **51**, 377—391 (1922).

35. *Lembke A., Kaufmann W.* und *Schmidt H.:* «Spektralanalytische Untersuchungen an Molkenproteinen.» Kieler Milchw. Forschungsberichte **4**, 673 (1952).

36. *Hostettler H.* und *Stein J.:* «Ueber das elektrophoretische Verhalten der Milchproteine bei verschiedenen Erhitzungsverfahren.» Landw. Jahrbuch d. Schweiz **72**, 163—182 (1958).

37. *Warner R. C.:* «The separation of α- and β-casein.» J. Am. Chem. Soc. **66**, 1725 (1944).

38. *Nitschmann H.* und *Zürcher H.:* «Ueber die Komplexbildung zwischen α- und β-Casein und die elektrophoretische Bestimmung ihres Mengenverhältnisses in Caseinpräparaten.» Helv. Chim. Acta **33**, 1698—1704 (1950).

39. *Hostettler H.* und *Bruderer G.:* «Zur Elektrophorese der Milchproteine. I. Zur Methodik der Elektrophorese des Caseins.» Schweiz. Milchzeitung/Wissenschaftliche Beilage Nr. 37 (1956).

40. *Nakai S., Wilson H. K.* und *Herreid E. O.:* «Assaying sterile concentrated milk for native proteolytic enzymes.» J. Dairy Sci. **47**, 754—57 (1964).

41. *Naegeli P.:* «Problem der Labwirkung auf Casein». Diss. Univ. Bern, 1951.

42. *Waugh D. F.* und *Hippel P. v.:* «k-casein and the stabilisation of casein micelles.» J. Am. Chem. Soc. **78**, 4576—4582 (1956).

43. *Jollès P., Alais C.* et *Jollès J.:* «Etude comparée des caséino-glycopeptides formés par action de la présure sur les caséines de vache, de brebis et de chèvre.» Biochem. biophysica Acta **51**, 309—14, (1961).

44. *Jollès P.:* «Fortschritte auf dem Gebiet der Casein-Chemie.» Angew. Chemie **78**, 629—637 (1966).

45. *Zittle Ch. A.:* «Some properties of photooxydized k-Casein.» J. Dairy Sci. **48**, 1149—1153 (1965).

46. *Hartmann G. H., Jr.* und *Swanson A. M.:* «Changes in mixtures of whey protein and k-Casein due to heat treatment.» J. Dairy Sci. **48**, 1161—67 (1965).

47. *Zittle C. A., Tompson M. P., Custer J. H.* und *Cerbulis J.:* «k-Casein-β-Lactoglobulin Interaction in Solution when heated.» J. Dairy Sci. **45**, 807—810 (1962).

48. *McGugan W. A., Zehren V., Zehren V. C.* und *Swanson A. M.:* «Interaction between α-casein and β-Lactoglobulin.» Science **120**, 435 (1954).