

**Gewinnung und Charakterisierung von Kaseinen aus nicht
verkehrsreicher Milch für industrielle Anwendungen**

**von Diplom-Ingenieur
Abdulah Badarani
aus Syrien**

**von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades**

Doktor der Ingenieurwissenschaften

-Dr.-Ing.-

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. Dr. h.c. B. Handreck

Gutachter: Prof. Dr. B. Senge

Gutachter: Prof. Dr. K. Krenkel

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 20. Dezember 2005

Berlin 2005

D 83

für meine Eltern

Danksagung

Herrn **Prof. Dr. B. Senge** danke ich für die Überlassung des Themas, für die wertvollen fachlichen Ratschläge bei der Ausführung und die hervorragende Betreuung der vorliegenden Arbeit.

Herrn **Prof. Dr. K. Krenkel** danke ich für die Übernahme des Koreferates, Herrn **Prof. Dr. Dr. h.c. B. Handreck** für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission.

Ich bedanke mich auch bei **Dr. R. Valbuena** und **Prof. Dr. G. Westphal** für die hervorragende Zusammenarbeit und den wertvollen wissenschaftlichen Austausch.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Fachgebietes Lebensmittelrheologie am Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin für die hervorragende Zusammenarbeit. Frau **Dipl.-Ing. M. Brückner**, Herrn **Dr. R. Blochwitz**, Frau **Dr. B. Lieske** und Herrn **Dipl.-Ing. N. Hildebrandt** danke für das Engagement bei der Versuchsdurchführung und die fachliche wie persönliche Unterstützung und Diskussion während der Arbeit.

Besonderen Dank an meine Eltern, an meine Brüder und an die ungenannten Freunde und Angehörigen, die mich in schwierigen Phasen angetrieben, aufgebaut und unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	8
2	Aufgabenstellung.....	11
3	Literaturrecherche.....	13
3.1	Nicht verkehrsfähige Milch zur Kaseinherstellung.....	13
3.2	Kasein.....	16
3.2.1	Vorbemerkung.....	16
3.2.2	Charakteristika der einzelnen Kaseinfraktionen.....	18
3.3	Die Kaseingewinnung.....	22
3.3.1	Ausfällung durch Enzyme.....	22
3.3.1.1	Bedeutung der Zusammensetzung des tierischen Labs.....	22
3.3.1.2	Mechanismus der Labgerinnung.....	23
3.3.1.3	Prozessviskositätsverlauf der Labgerinnung.....	25
3.3.2	Ausfällung durch Säure.....	25
3.3.2.1	Bedeutung der Art der Säure.....	25
3.3.2.2	Mechanismus der Säuregerinnung.....	26
3.3.2.3	Mechanismus der Strukturbildung.....	26
3.3.3	Synäreseeffekt der Lab- und Säuregallerten.....	30
3.4	Herstellungsverfahren für technische Kaseine.....	31
3.4.1	Technologischer Ablauf zur Herstellung von Schwefelsäurekasein.....	31
3.4.2	Technologischer Ablauf zur Herstellung von Labkasein.....	35
3.4.3	Zusammensetzung der industriellen Kaseinpräparate.....	37
3.5	Verwendung von Kasein für technische Zwecke.....	38
3.5.1	Einsatz für Lebensmittel.....	39
3.5.2	Photoresiste.....	40
3.5.3	Weitere Anwendungen.....	41
4	Material und Methoden.....	44
4.1	Versuchsmaterialien.....	44
4.1.1	Rohstoffe.....	44
4.1.2	Chemikalien.....	46

4.2	Methoden der chemischen Analytik.....	47
4.2.1	Analyse der Rohmilch.....	47
4.2.2	Bestimmung des Aschegehaltes.....	47
4.2.3	Bestimmung des Proteingehaltes.....	47
4.2.4	Bestimmung des Fettgehaltes.....	48
4.2.5	Bestimmung der Restfeuchte.....	48
4.2.6	Bestimmung des Laktosegehaltes.....	48
4.2.7	Bestimmung der Labfähigkeit der Milch.....	48
4.2.8	Bestimmung der Hitzestabilität.....	48
4.2.9	Methode zur Labkaseinentfettung.....	49
4.2.10	Elektrophoretische Untersuchungen der Labkaseinpräparate.....	49
4.2.11	pH-Wert.....	52
4.2.12	Kaseinanalytik mittels HPLC ÄKTA basic 900.....	52
4.3	Methoden der physikalischen Analytik.....	54
4.3.1	Thermische Analyse.....	54
4.3.2	Löslichkeitsuntersuchungen.....	55
4.3.2.1	Bestimmung der Löslichkeit von isoliertem Kasein in DMF.....	55
4.3.2.2	Bestimmung der Löslichkeit von isoliertem Kasein in Natriumtetraborat.....	56
4.3.3	Rheologische Messung der Löslichkeit.....	57
4.3.4	Bestimmung der Prozessviskosität bei Gerinnung und Fällung.....	59
4.4	Laboraüstungen.....	59
5	Versuchsergebnisse der Labkaseinherstellung	61
5.1	Kleintechnischer Ablauf der Gewinnung von Labkaseinpräparaten.....	61
5.1.1	Einleitende Untersuchungen / Referenzkasein.....	62
5.1.2	Exemplarische Beschreibung der Versuchsdurchführung Charge 1.....	63
5.1.3	Gewinnung und Zusammensetzung der Präparate.....	65
5.2	Zusammensetzung, Ausbeuten und optimiertes Gewinnungsschema für Labkaseinpräparate.....	67
5.2.1	Chemische Zusammensetzung der Labkaseinpräparat.....	67
5.2.2	Ausbeuteberechnungen für Lab-Kaseinpräparate.....	68
5.3	Strukturbildungsverlauf bei der Einlabung von NV-Milchproben.....	69

5.4	Optimierung der Wasch- und Trocknungsprozesse.....	71
5.4.1	Waschprozess.....	71
5.4.2	Trocknungszeit.....	72
5.5	Elektrophoretische Untersuchungen.....	73
5.6	Ergebnisse der Thermoanalyse.....	76
5.7	Kapitelzusammenfassung	78
6	Versuchsergebnisse der Schwefelsäurekaseinherstellung.....	83
6.1	Kleintechnischer Ablauf der Gewinnung von Schwefelsäurekasein-Präparaten.	83
6.1.1	Exemplarische Beschreibung der Versuchsdurchführung Charge 1.....	84
6.1.2	Zusammenstellung ermittelter Größen zur Schwefelsäurekasein-Herstellung...	87
6.2	Zusammensetzung, Ausbeuten und optimiertes Gewinnungs-Schema für Schwefelsäurekaseinpräparate.....	89
6.2.1	Chemische Zusammensetzung der Schwefelsäurekaseinpräparate.....	89
6.2.2	Ausbeuteberechnungen für Schwefelsäurekaseinpräparate.....	89
6.3	Diskussion.....	91
6.4	Viskositäts- und pH-Verhalten bei der Säuerung.....	93
6.4.1	Beschreibung der Fällungsverläufe bei der Säuerung von NV-Milchproben....	93
6.4.2	Generelle Betrachtung der pH-Verläufe bei der Säuerung.....	94
6.4.3	Generelle Betrachtung der Viskositätsverläufe bei der Säuerung.....	96
6.5	Ergebnisse der Thermoanalyse.....	97
6.5.1	Beschreibung der DSC-Messverläufe.....	97
6.5.2	Diskussion.....	103
6.6	Kaseinanalytik mittels HPLC-Untersuchungen.....	103
6.6.1	Ergebnisse.....	103
6.6.2	Kapitelzusammenfassung.....	104
7	Verfahren zur Herstellung von Milchpulver aus verkehrsfähiger Milch...	108
7.1	Verfahren zur Herstellung des Gesamtproteinpulvers durch Ultrafiltration an der FH Hannover, Sprühtrocknung.....	108
7.2	Verfahren zur Herstellung des Kasein und Molkenproteinpulvers durch Mikrofiltration an der FH Hannover, Sprühtrocknung.....	109
7.3	Milchpulveranalytik.....	111

7.4	Bilanzrechnungen - Ausbeute.....	111
7.4.1	Bilanz der Gesamtproteingewinnung.....	111
7.4.2	Bilanz der Kaseingewinnung.....	111
7.4.3	Bilanz der Molkenproteingewinnung.....	112
8	Applikationsuntersuchungen.....	112
8.1	Löslichkeitsuntersuchungen.....	112
8.1.1	Ergebnisse der Löslichkeit von isoliertem Kasein in Dimethylfluorid.....	112
8.1.2	Löslichkeit von isoliertem Säurekasein, Labkasein und Milchpulver in Natriumtetraborat.....	116
8.2	Rheologische Untersuchungen Kaseinlösungen.....	116
8.3	Prüfungsergebnisse der Eignung technischer Kaseine als Photoresiste.....	118
9	Hinweise für weiterführende Arbeiten.....	120
10	Zusammenfassung.....	120
11	Literaturverzeichnis.....	124
12	Anlagen.....	131
12.1	Anlagen: Abbildungen.....	132
12.2	Anlagen: Tabellen.....	152

Verzeichnis verwendeter Formelzeichen und Symbole

Symbol	Bezeichnung	Einheit
A_{TH}	Thixotropiefläche	Pa cm ³ /s
d	Durchmesser	m
h	Höhe	m
K	Konsistenzfaktor	g/ms ²⁻ⁿ
M	Molarität	
m	Masse	Kg
N	Normalität	mol/l
n	Drehzahl	1/min
r	Korrelationskoeffizient	
s	Standardabweichung bei reologischen Messungen	Pa
T	Temperatur	°C
T_i	On-set-Temperatur	°C
T_e	Off-set-Temperatur	°C
ΔT	Temperaturdifferenz on-set/off-set als Bereichsbreite	K
t	Zeit	s; h
V	Volumen	m ³
$\dot{\gamma}$	Schergeschwindigkeit	1/s
η_{Proz}	Prozeßviskosität	Pas
η	dynamische Viskosität	Pas
ρ	Dichte	kg/m ³
τ	Schubspannung	Pa
τ_0	Fließgrenze	Pa

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
abs.	absolut
DIN	Deutsches Institut für Norm
DMF	Dimethylformamid
DSC	Differential Scanning Cattering
DTG	Differentialthermogravimetrie
FG LM-Rheologie	Fachgebiet Lebensmittelrheologie
G	Gerinnung
Gl.	Gleichung
GMP	Glycomakropeptid
GZ	Gerinnungszeit
HPLC	High performance liquid chromatography
IASP	Institut für Agrar- und Stadtökologische Projekte der Humboldt Universität zu Berlin

IP/IEP	Isoelektrischer Punkt
LKV	Landeskontrollverband
LMBG	Lebensmittel-und Bedarfsgegenstands-Gesetz
MIV	Milchindustrieverband
MLUA	Milch Lehr- und Untersuchungsanstalt Oranienburg
MVO	Milch-Güteverordnung
MW	Mittelwert
NV	Nicht-verkehrsfähige (Milch)
NZ-K	Neuseeland-Kasein
PVV	Prozeßviskositätsverlauf
rel.	relativ
SK	Schwefelsäurekasein
s	Standardabweichung
TA	Thermische Analyse
TS	Trockensubstanz
UF	Ultrafiltration
UF-K	Ultrafiltration-Kasein
USD	Universal Dynamischen Spektrometer
WP	Wendepunkt

Summary

The aim of the work is the development of procedures to utilise non marketable milk (non marketable milk presents itself particularly as inhibitor containing milk or colostrum) and surplus milk for the production of casein for technical purposes and their use as valuable raw material. The present work contains the manufacture of the technical rennet and acid caseins from non marketable milk, characterisation of chemical and physical properties and the examination of the suitability of the developed procedures for the production of photosensitive resists (technology development for rennet casein and acidification with sulphuric acid).

In former times casein was used as wood or paper adhesive, aggregate to latex paint, plastics and paper coating material. Due to raw material and manufacturing costs as well as material properties casein is more and more displaced by cheaper and more functional additives. Casein is produced from skimmed milk by acidification or renneting. The components fat, whey protein, lactose and minerals negatively affect the casein quality they have been removed during the production process by repeated washing with water.

Intensive production procedures in the agriculture, which are characterised particularly by concentrated attitude procedures and agricultural techniques, lead to a strong impairment of the ecological system. Apart from the increased accumulation of animal excrement, which lead to a substantial nitrogen load of the agricultural effective areas, huge quantities of milk in the milk production, which must be disposed due to most diverse causes as waste product.

Rennet casein was produced of 9 milk samples. The rennet casein does not correspond to the application standard of acid casein which was produced using sulfuric acid. Using this procedure calcium precipitated in form of sulphate and gel formation.

The results of 8 milk samples show that acid casein of good quality from non marketable milk can be produced. The yield depended on the level of casein in non marketable milk. Generally the production process becomes more difficult if non marketable milk is used.

HPLC-investigations for determination of protein components and examination of solubility for two types of casein were made.

Since the production of the conventional color screen with aperture mask changed to the production of flat screen with LEC technology, other areas of application for technical caseins from non marketable milk, e.g. sticking together windowpanes have to be considered.

1 EINLEITUNG

Durch intensive Produktionsverfahren in der Landwirtschaft, die sich besonders durch konzentrierte Haltungsverfahren und Anbautechniken auszeichnen, kommt es zu einer starken Beeinträchtigung des ökologischen Systems. Neben dem erhöhten Anfall tierischer Exkreme, die zu einer erheblichen Stickstoffbelastung der landwirtschaftlichen Nutzflächen führen, entstehen in der Milchproduktion bisher nicht berücksichtigte Mengen an Milch, die aufgrund verschiedenster Ursachen als Abfallprodukt entsorgt werden müssen.

Als Lebens- und Nahrungsmittel unterliegt Rohmilch einer strengen Qualitätsnorm, die nach entsprechender Klassifikation den unmittelbaren Preis definiert. Rohmilch, die diesen Anforderungen nicht entspricht, darf nach gesetzlichen Regelungen der menschlichen Ernährung in keiner Weise zugeführt werden und ist nicht verkehrsfähig. Nicht verkehrsfähige Milch präsentiert sich vor allem als hemmstoffhaltige Milch und Kolostralmilch. Hemmstoffe gelangen infolge therapeutischer Behandlung von Tieren mit Antibiotika und Sulfonamiden in die Milch. Die Kolostralmilch fällt vom 1. bis 5. Tag der Laktation an. Milch mit erhöhter somatischer Zellzahl erfüllt nicht die Qualitätskriterien im Sinne des Verbraucherschutzes und mindert außerdem das Einkommen der Landwirte, da die Bezahlung der Milch unter anderem von dem Qualitätskriterium „Höhe der somatischen Zellzahl“ abhängt. /1/

Gegenwärtig werden Messzellen mit Sensoren zur Online-Erfassung von Qualitätsparametern der Rohmilch während des Melkprozesses entwickelt. Damit wird die Grundlage geschaffen, Milch von Einzeltieren bzw. einzelnen Eutervierteln, die Qualitätskriterien nicht erfüllt, wie z. B. erhöhter Gehalt an somatischen Zellzahlen, getrennt zu erfassen, um somit nicht die Qualität der Milch im Sammelbehälter negativ zu beeinflussen. Diese Milch, die alle wertvollen Inhaltsstoffe beinhaltet, bietet ein weiteres großes Potenzial zur Verarbeitung zu Kaseinen und Milcheiweißen für technische Zwecke. Bei einem Bestand von 4,8 Millionen Kühen in Deutschland müssen jährlich etwa 1,9 Mio. t nicht verkehrsfähige Milch (davon sind 952.000 t Hemmstoffmilch) von den Agrarbetrieben entsorgt werden. /2/

Ein weiteres Potenzial für die Verwertung von Rohmilch im Non-food-Bereich ergibt sich aus dem Tatbestand, dass neben der nicht verkehrsfähigen Milch und der Milch, die nicht die erforderlichen Qualitätsparameter erfüllt, erhebliche Mengen an sogenannter Überschusmilch anfallen, die sich aus der Überschreitung der mit EU-Recht geregelten, vorgegebenen Milchquoten ergibt. Marktexperten gehen von einer Menge an Überschusmilch in Deutschland von 130.000 bis 180.000 Tonnen im Jahr aus, dies entspricht einem Wert von 46 bis 64 Mio. Euro mit steigender Tendenz, die zu technischen Kaseinen verarbeitet werden können. /3/

Kasein ist eine Gruppenbezeichnung für die vorherrschende Eiweißart in der Milch. Kaseine bilden sehr leicht Polymere aus identischen oder verschiedenen Molekültypen aus. Kasein wird aus Magermilch mittels Säure oder Koagulation mittels Lab hergestellt. Beim Herstellungsprozess müssen die Komponenten Fett, Molkenproteine, Laktose und Mineralien so weit wie möglich durch das mehrmalige Waschen mit Wasser entfernt werden, da sie sonst die Qualität des Kaseins und seine Lagereigenschaften negativ beeinflussen.

Getrocknetes Kasein hat eine relativ gute Lagerstabilität und wird insbesondere in der Lebensmittel- und chemischen Industrie eingesetzt. /4/

Kasein hat eine lange Geschichte der Verwendung in der Industrie als z. B. Holz- oder Papierkleber, Zuschlagstoff zu Latexfarben, Kunststoffen und Papierbeschichtungsstoff. /5/ Bedingt durch Rohstoff- und Herstellungskosten sowie Materialeigenschaften wird Kasein jedoch zunehmend aus der industriellen Verwendung außer in der Lebensmittelproduktion durch billigere und funktionellere Zusätze verdrängt. In folgenden Lebensmitteln sind löslich gemachte Kaseine als sog. Natriumkaseinat bereits erfolgreich eingesetzt worden: Fleischwaren insbesondere Formfleisch (außerhalb der EU), Backwaren, Frühstücksnährgetränke, Soßen, Suppen, Hochfett-Aufstrichmittel, Kindernahrung, Nudeln, Snacks, Süßwaren, Imitationsmilch und Imitations-Milchprodukte, aufgeschlagene Produkte und Kaffeeweißer.

Es gibt jedoch einige noch wenige, funktionelle und wirtschaftlich vorteilhafte Einsatzgebiete für Kasein aus normaler Milch bzw. aus Milch, welche aus hygienischen Gründen nicht für die Lebensmittelproduktion (Konsummilch und Milcherzeugnisse)

verwendet werden kann. In erster Linie sind zu nennen Papierbeschichtungen, photoresistente Lacke und Schlitzmasken für Bildschirme von Farbfernsehern.

Das Ziel der Arbeit ist die Isolierbarkeit der Kaseine aus nicht verkehrsfähiger Milch (NV-Milch) mittels Labortechnologie zu überprüfen und im kleintechnischen Versuchsmaßstab ein technologisches Verfahren zu entwickeln. Erste orientierende Hinweise zur Verfahrensentwicklung sollen abgeleitet werden.

Ein wichtiges Anwendungsgebiet für Kaseine ist die Herstellung von Photolacken und Photoresisten für die Produktion von Bildschirmröhren und Monitoren. In dieser Branche werden Chromate sehr häufig als Photohärtter eingesetzt. Ihr Einsatz ist jedoch aus ökologischer und physiologischer Sicht bedenklich. Chrom-(VI)-Verbindungen werden als giftig und als tierkarzinogen und in Verbindung mit Zink als humankarzinogen eingestuft. Obwohl vielfältige Vorsichtsmaßnahmen für Mensch und Umwelt in der Industrie vorgenommen worden sind, ist ein Restrisiko beim Umgang mit Chromaten nicht auszuschließen. Daher gibt es das Bestreben, Chromate, die als Lichthärter eingesetzt werden, gegen nicht toxische Verbindungen auszutauschen und für diesen Fall Kaseine aus NV-Milch einzusehen.

2 AUFGABENSTELLUNG

Die beschriebene, im Food-Bereich nicht verwendbare Rohmilch besitzt ein erhebliches Potenzial an wertvollen nachwachsenden Inhaltsstoffen. Diese Wertstoffe werden aus ökonomischer und ökologischer Sicht gegenwärtig nicht oder nur ungenügend genutzt.

Ziel der Arbeit ist die Entwicklung von Verfahren zur Verwertung nicht verkehrsfähiger Milch und Überschusmilch zur Gewinnung von Kaseinen für technische Zwecke und deren Nutzung als Wertrohstoffbasis. In dieser Arbeit wird diese Innovation hauptsächlich am Beispiel der umweltgerechten Verarbeitung nicht verkehrsfähiger Milch zu Kaseinen, welche für Photolacke bzw. Lacküberzüge und Photoresisten auf der Basis von nicht toxischen Inhaltsstoffen einsetzbar sind, dargestellt. Dazu sollen die chromathaltigen Komponenten in kommerziell eingesetzten Photoresisten durch umweltfreundliche, nicht toxische ersetzt werden.

Im Rahmen der Themenbearbeitung werden technische Kaseine bzw. komplexe Milchproteine aus nicht verkehrsfähiger Rohmilch, Überschusmilch und Milch mit erhöhter somatischer Zellzahl gewonnen. Die genannte Rohmilch ist ein wertvoller nachwachsender Industrierohstoff, weist jedoch inhomogene Eigenschaften auf. Es variieren sowohl die chemischen als auch die physikalischen Ausgangsparameter.

Die gewonnenen „technischen“ Kaseine/Milcheiweiß müssen anwendungsbezogen standardisierten Qualitätsparametern genügen. Um das zu erreichen, sind verschiedene Verfahren neu entwickelt, getestet und die geeigneten ausgewählt worden.

Die Arbeit befasst sich mit den folgenden Themenschwerpunkten:

1. Technologieentwicklung zur Herstellung technischer Kaseine durch Labgerinnung, Säurefällung und Ultrafiltration mit hoher Effizienz und Funktionalität zur Herstellung von Photoresisten aus nicht verkehrsfähiger Milch im Labormaßstab.
2. Verfahrenstechnische Bewertung/Klassifizierung der durchzuführenden technologischen Abläufe z. B. der Dicklegung der Milch, des Fettabtrennschrittes, der Anzahl der Waschschriffe, Trocknungsverhalten im Festbett.

3. Optimierung des Verfahrens: maximale Entrahmung der Milch im Separator, maximale Ausbeute und Erzielung eines hohen Kaseingehaltes im Finalprodukt/optimale Ausbeute als Wechselwirkung zur Minimierung des Fett- und Laktosegehaltes im Lab- und Säurekaseinpräparate, Ermittlung der geeigneten Trocknungsparameter eines partikulierten Bruches im Festbett vorab. Festlegung der Trocknungstemperatur bei minimierter Proteinschädigung.
4. Ermittlung der Prozessviskosität bei der Labgerinnung und Aufnahme der pH-Wert Veränderung bei der Säuregerinnung zum chargenabhängigen Vergleich der Milchproben.
5. Bewertung der Endprodukte:
 - Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen der Labkaseinpräparate zum Neuseeland-Kasein (Referenz-Kasein);
 - Vergleichende thermogravimetrische Untersuchungen des Neuseelandkaseins und ausgewählter Kaseine;
 - Ermittlung der Zusammensetzung der Proteinmatrix mit HPLC Analytik;
 - Bestimmung der Zusammensetzung der gewonnenen Präparate von Eiweiß, Fett, Restfeuchte, Asche, Laktose, Ausbeute des Kaseins und Proteinbilanz im Finalprodukt;
6. Bewertung und Vergleich der Eignung der hergestellten Lab- und Säurekaseinpräparaten als Photoresiste durch Bestimmung des Fließ- und Viskositätsverhaltens; Löslichkeit der Kaseinpräparate.

3 LITERATURRECHERCHE

3.1 Nicht verkehrsfähige Milch für Kaseinherstellung

Die verdorbene oder verfälschte Milch ist nach der Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis (MVO) vom 24 April 1995 in der Neufassung vom 20. Juli 2000 und der Milch-Güterverordnung vom 9.7.1980 i.d.F. der 6. ÄnderungsVO vom 30.10.2003 wegen der mikrobiellen Kontamination, der veränderten Zusammensetzung und wegen des Restgehaltes an Antibiotika für die Mastitistherapie für die Lebensmittelherstellung nicht zugelassen. Sie wird als NV-Milch bis jetzt generell nicht genutzt. Sie ist jedoch eine Quelle der isolierbaren Proteine (80 % Kaseine), die für eine technische Nutzung verwendbar sind. /6/

Für die Herstellung von Kaseinen für die industrielle Anwendung wird Kuhmilch normaler Beschaffenheit verwendet. Die NV-Milch, welche isolierbares Kasein enthält, kann ebenfalls für diese Zwecke verwendet werden, sie ist jedoch in der Zusammensetzung in qualitativer und quantitativer Weise oft verschieden von der normalen Rohmilch und muss als qualitativ schlechter eingeschätzt werden.

Für die normale Anlieferungsmilch (Rohmilch) in Deutschland gelten folgende hygienische Kriterien.

Tab. 3-1: Hygienische Gütemerkmale der Rohmilch /6/

Lfd. Nr.	Merkmal	Klasse	Grenzwerte seit 01.01.1998	Prüfdichte pro Monat
	Keimzahl¹⁾	1	bis 100.000	mind. 2 (in der Regel 3x)
		2	über 100.000 ³⁾	
	Zellzahl²⁾	1	bis 400.000	mind. 1 (in der Regel 3x)
		2	über 400.000 ³⁾	
	Hemmstoffe		nicht nachweisbar	mind. 2
¹⁾ geometrischer Durchschnitt der vergangenen 2 Monate ²⁾ geometrischer Durchschnitt der vergangenen 3 Monate ³⁾ Milch nicht mehr verkehrsfähig bei Überschreitung nach einem Anpassungszeitraum von 3 Monaten				

Nach § 17 der MGVO wird das Inverkehrbringen der Milch verboten, wenn der Keimgehalt im geometrischen Mittel über die letzten zwei Monate den Wert von 100 000 Keimen je cm³ und/oder der Gehalt an somatischen Zellen im geometrischen Mittelwert über die letzten drei Monate den Wert von 400 000 Zellen je cm³ überschreiten und der

Zustand innerhalb der nächsten Drei-Monats-Frist nicht verbessert wird. Das Verkehrsverbot wird nicht wirksam, wenn bei den Untersuchungen des letzten Monats in Bezug auf Keimzahl jedes Einzelergebnis oder in Bezug auf somatische Zellen das geometrische Mittel die Anforderungen erfüllt. Frühestens am 1. Tag des eingetretenen Verkehrsverbotes kann der Landwirt einen Antrag auf erneute Probenahme stellen. Bei Nachweis der Einhaltung der Grenzwerte an zwei repräsentativen Proben der Herdenmilch, die im Abstand von mindestens 4 Tagen durch die zuständige Behörde gezogen wurden, wird das Verkehrsverbot aufgehoben.

Die NV-Milch stammt von Kühen mit entzündlichen Erkrankungen der Milchdrüse, welche eine verminderte Milchleistung zeigen und die gewonnene Milch physikalisch und chemisch verändert ist (vgl. Tab. 3-2). In dieser Milch, auch Mastitis-Milch genannt, ist ein vermehrtes Auftreten von somatischen (körpereigenen) Zellen - insbesondere polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten zu beobachten. In der Milch normaler Sekretion kommen als Hauptzellarten Makrophagen = Monozyten (66-88 %), Lymphozyten = B-Lymphozyten (etwa 60 % des gesamten Lymphozytengehaltes) und T-Lymphozyten (10-30 %), Epithelzellen (0- 7 %) und polymorphkernige neutrophile Granulozyten (0-11 %) vor. Die letzten dominieren die Zellzahlzusammensetzung (über 90 %) bei entzündlichen Eutererkrankungen da sie als Blutplasmabestandteile aus den Gefäßen im Prozess der Abwehr von Euterinfektionen von den eingedrungenen Bakterien chemotaktisch angelockt und ins Drüsengewebe ausgeschwemmt werden; sie umschließen die Bakterien und verdauen sie intrazellulär. Aber auch jede Reizung anderer Art führt zu einem Anstieg des Zellgehaltes.

Tab. 3-2: Zusammensetzung und Eigenschaften der Milch gesunder und an Mastitis erkrankter Kühe /7/

Lfd. Nr.	Bestandteile bzw. Eigenschaft	Milch gesunder Kühe	Subklinische Mastitis	Klinische Mastitis
1.	Intensität im CMT- bzw Charm-Test	-	+	+++
2.	Somatische Zellen (in Tausend / cm ³)	≤ 100	100...400	>400..5000
3.	Chlor/Zucker-Zahl	1,5...2,5	3,7...4,0	8,6...9,7
4.	pH-Wert	6,66	6,70...6,74	7,0...7,10
5.	Trockensubstanz (%)	13,1	12,5	10,7
6.	Fett (%)	4,2	3,9	3,4
7.	Eiweiß (%)	3,4	3,5	3,8
8.	Kaseinzahl*	77	68	51
9.	Molkenproteinzahl*	18	24	40
10.	Laktose (%)	4,8	4,4	2,9

11.	Aschegehalt (%)	0,72	0,77	0,88
12.	Magnesiumgehalt (mg %)	10	9	8
13.	Kalziumgehalt (mg %)	125	102	81
14.	Kaliumgehalt (mg %)	138	122	85
15.	Natriumgehalt (mg %)	58	76	127
16.	Chloridgehalt (mg %)	103	162	283
17.	Elektr. Leitfähigkeit (mS x cm ⁻¹)	5,6	6,5	6,9
18.	Bereich maximaler Pufferung (pH)	5,45...5,70	5,36...5,55	5,28...5,42
19.	Labgerinnungszeit bei Standardbedingungen (min)	1,80	4,80	gerinnt nicht
20.	Alkoholzahl (Verbrauch von 96 % Ethanol in cm ³ für 10 cm ³ Milch)	7,60	4,60	1,20
21.	Hitzestabilität nach dem subjektiven DAVIES-Test (min)	8,20	3,70	1,00
22.	Gefrierpunkt (°C)	-0,542	-0,541	-0,543

* Die Kaseinzahl und die Molkenproteinanzahl sind ausgedrückt als prozentualer Anteil am Gesamtprotein

Abgesehen von hohen Zellzahlen zeigt Milch von mastitiserkrankten Kühen gegenüber normaler Milch einen verminderten Gehalt an Laktose, Fett und Kasein und höhere Gehalte an Chlorid und Natrium. Der pH-Wert liegt ebenfalls höher. Die wichtigsten negativen Effekte von Mastitiden auf die Verarbeitungs- und Produkteigenschaften von Milch und Milcherzeugnissen liegen in der schlechten Sensorik, der Entstehung der Ranzigkeit durch erhöhten Gehalt an Lipasen sowie in einer thermischen Instabilität und einer Störung der Fermentationen bei der Käse-, Quark-, Joghurt- bzw. Butterherstellung. Der Kaseingehalt als Prozentsatz des gesamten Proteingehaltes nimmt abhängig von dem Grad der Erkrankung um 10 bis 20 % ab.

In der NV-Milch sind in der Zeit der Mastitis-Therapie (medikamentöse Bekämpfung der Mastitis-Erkrankung) auch die in der Tab. 3-3 genannten Antibiotika in unterschiedlichen Mengen vorhanden. Welche es sind, hängt von der Art der Erkrankung ab. Die Streptokokken bedingten Euterinfektionen werden mit Penicillinen und Cephalosporin bekämpft, wohingegen bei der Staphylokokken-Mastitis Oxacillin, Cephalosporine und Neomycin am effektivsten eingesetzt werden. Die möglichen Resistenzen erfordern jedoch in vielen Fällen Wechsel des Antibiotikums. /7/

Tab. 3-3: Antibiotika-Gruppen und Wirkstoffe für die Mastitisbehandlung /7/

Lfd. Nr.	Wirkstoffgruppe	Antibiotikum	empfindliche Mastitiserreger
1.	β-Lactam-A	Penicillin G	Sc.-spp.
		Penicillin-Procaïn	Sta.-spp.
		Penicillin-Benzathin	Actinomyces, Clostridien
	synth. Penicillin	Ampicillin	auch gram-neg.
		Cloxacillin	Bakterien

	Cephalosporine	Oxacillin	Bakterien
		Cafacetil	auch Enterokokken
		Cefoperazon	E. coli
		Cephquinom	Klebsiella
2.	Aminoglykosid-A	Streptomycin	Pasteurella
		Dihydrostrept.	E. coli, Salmonella, - Actinomyces, Mykobakterien, Bacillus
		Kanamycin	Pseudomonas
		Gentamycin	Proteus
		Neomycin	Sta.-spp
		Framycetin	
3.	Tetracycline	Tetracyclin	Sta.-spp.
		Oxytetracyclin	Sc.-spp., Clostridien, Actinomyces, E. coli, Klebsiella, Pasteurella
4.	Makrolid-A	Erythromycin	Sta.-spp.
		Oleandomycin	Sc.-spp., Actinomyces – Pasteurella
5.	Polypeptid-A	Polymyxin B	Aerobacter
		Colistin	Pseudomonas, E. coli, Pasteurella, Sta.-spp., Sc.-spp.

Umfangreiche Angaben zur Euterkrankheit Mastitis sind in /86/ enthalten.

3. 2 Kasein

3. 2. 1 Vorbemerkung

Kasein ist ein Eiweißbestandteil der Milch, der mit ca. 80 % die Hauptproteinkomponente der Milch darstellt, während die restlichen ca. 20 % von Molkenprotein gebildet werden.

Kasein besteht aus mehreren Kaseinkomponenten, diese sind das α_s -, β -, κ -Kasein, das mit ungefähr 60 %, 25 % und 15 % am Gesamtkasein beteiligt ist. /8/

Der Kaseinanteil variiert in Abhängigkeit von der Kuhrasse, dem Laktationsstadium, den Melkzeiten und –Intervallen, den Fütterungsbedingungen und Krankheitsbild. /9/

Allgemein sind zwischen 2,4 und 2,9 % Kasein in der Kuhmilch enthalten. Folglich enthält die bei der Separierung der Milch auf etwa 35 % Fett im Rahm erhaltene Magermilch einen Kaseinanteil von 2,5 bis 3,1 %.

Kasein liegt in der Milch in kolloidal gelöster Form vor, das im Wesentlichen aus Kaseinmolekülen, Kalzium, anorganischem Phosphor und Citraten bestehen.

Je nach Temperatur (mech. Beanspruchung und Ionenhaushalt) kommen Kaseine in den Größen von 10 – 200 nm vor. Bei Größen zwischen 10 - 30 nm spricht man von Kaseinmizellen, darüber (30 – 200 nm) von Kaseinmizellen. Diese Mizellen bestehen aus mehreren Submizellen, die etwa die Hälfte des Mizellvolumens ausmachen. Die andere

Hälfte besteht aus Hohlräumen, die mit Wasser und den darin gelösten Ionen aller Art, Laktose und Enzymen, ausgefüllt sind. /12/

Die Submizellen werden durch Kalziumionen und Kalziumphosphaten zu den Kaseinmizellen verbunden. Tab. 3-4 zeigt eine verkürzte Auflistung der Milcheiweiße.

Tab. 3-4: Eiweißfraktionen der Milch /4, 8, 10 /

	Konzentration in Milch g /kg	% am Gesamteiweiß w/w
α_{S1}-Kasein	10,0	30,6
α_{S2}-Kasein	2,6	8,0
κ-Kasein	3,3	10,1
β-Kasein	9,3	28,4
γ-Kasein	0,8	2,4
• Gesamt Kasein	26	79,5
α-Lactalbumin	1,2	3,7
β-Lactoglobulin	3,2	9,8
Blutserumalbumin	0,4	1,2
Rinderimmunoglobuline	0,7	2,1
Verschiedene (inkl. Proteose-Pepton)	0,8	2,4
• Gesamt Molkenproteine	6,3	19,3
Fettkügelchenmembranproteine	0,4	1,2
• Gesamteiweiß	32,7	100

Die Kaseinfraktionen bestehen aus verschiedenen Polypeptidketten, die aus einer großen Anzahl von Aminosäuren zusammengesetzt sind, die wiederum durch die so genannte Peptidbindung miteinander verknüpft werden. /82/

Die Aminosäurezusammensetzung der Kaseinfraktion ist in folgender Tab. 3-5 aufgeführt (g pro 100 g Protein).

Tab. 3-5: Aminosäurezusammensetzung der Kaseinfraktion /11/

Aminosäure	α_S -Kasein	β -Kasein	γ -Kasein	κ -Kasein
Tryptophan	2,0	0,7	1,2	1,2
Phenylalanin	4,9	5,6	5,8	3,7
Leucin	8,7	11,8	12,1	6,2
Isoleucin	6,1	5,5	4,4	7,5
Threonin	3,9	4,9	4,6	8,6
Methionin	2,7	3,4	4,0	1,5
Lysin	8,9	6,4	6,3	6,4

Valin	6,1	10,1	10,7	6,6
Histidin	2,9	3,1	3,7	2,0
Arginin	4,0	2,8	1,8	3,6
Cystin	0,4	0	0	1,2
Prolin	8,9	17,2	17,8	13,0
Alanin	4,2	2,4	2,4	8,7
Asparaginsäure	8,5	5,0	4,1	7,9
Serin	7,1	7,5	5,7	7,9
Glutaminsäure	22,5	22,3	22,5	18,7
Glycin	3,5	2,5	1,7	2,1
Tyrosin	7,5	2,7	3,5	6,7

Die Kaseine unterscheiden sich signifikant hinsichtlich der Ladungsverteilung innerhalb des Moleküls und in der Fähigkeit, in An- beziehungsweise Abwesenheit von Ca²⁺-Ionen zu aggregieren.

3. 2. 2 Charakteristika der einzelnen Kaseinfraktionen

α_{S1} -Kasein

Die Polypeptidkette des α_{S1} -Kaseins enthält zwei vorwiegend hydrophobe Regionen (Aminosäuren 1-44 und Aminosäuren 90-199) und eine stark geladene polare Zone (Aminosäuren 45-89). Mit Ausnahme einer Phosphatgruppe sind alle anderen Phosphate in der polaren Zone lokalisiert. Die Prolinreste sind gleichmäßig in den hydrophoben Regionen verteilt.

Die Selbstassoziation des α_{S1} -Kaseins hängt signifikant von der Konzentration des α_{S1} -Kaseins in der Lösung, dem pH-Wert sowie der Ionenstärke ab, ist jedoch relativ temperaturabhängig. Die Primärstruktur von α_{S1} -Kasein ist in Abb.12-36 im Anhang enthalten.

α_{S2} -Kasein

α_{S2} -Kasein besitzt eine bemerkenswerte bipolare Struktur mit positivem Ladungsüberhang nahe dem N-Terminus und negativem Ladungsüberhang nahe dem C-Terminus.

Es ist gegenüber einer Ca²⁺-Fällung empfindlicher als das α_{S1} -Kasein.

α_{S2} -Kasein assoziiert im neutralen pH-Bereich in Abwesenheit von Ca²⁺-Ionen.

Die Primärstruktur von α_{S2} -Kasein ist in Abb.12-37 im Anhang enthalten.

β-Kasein

β-Kasein weist nahe dem N-Terminus eine stark negative Nettoladung auf, während der Rest des Moleküls faktisch als ungeladen bezeichnet werden kann. Die sehr große Anzahl an Prolinresten schließt die Ausbildung einer geordneten α-Helixstruktur praktisch aus.

Das hervorragende Charakteristikum des β-Kaseins ist die Assoziation in An- wie auch in Abwesenheit von Ca^{+2} -Ionen, die allerdings stark temperaturabhängig ist.

Die Primärstruktur von β-Kasein ist in Abb.12-39 im Anhang enthalten.

κ-Kasein

Das κ-Kasein wird auch als Schutzkolloid bezeichnet und erhält als charakteristisches Merkmal chemische gebundene Kohlenhydrate als Glykosid.

Der Grund für die Schutzeigenschaften des κ-Kaseins für die gesamte Kaseinmizelle liegt einerseits in dem Vorhandensein der polaren Aminosäuren Glutaminsäure, Asparaginsäure und Lysin und den damit verbundenen hydrophilen Eigenschaften, andererseits an den durch den Kohlenhydrateinbau katalysierten wasseranziehenden Kräften.

Bei der Labgerinnung erfolgt eine Spaltung des κ-Kaseins in para- κ-Kasein und – Glykomakropeptid zwischen der 105. (Phenylalanin) und 106. (Methionin) Aminosäure der Sequenz. Das κ-Kasein ist Ca^{2+} unempfindlich.

Die wichtigsten Unterschiede zwischen den technologisch wichtigsten Kaseinen, dem α_S-Kasein und dem κ-Kasein, sind in Tab. 3-6 veranschaulicht. Die Primärstruktur von κ-Kasein ist in Abb.12-38 im Anhang enthalten.

γ-Kasein

Die am C-Terminus des β-Kaseins befindlichen Reste werden auch γ-Kasein genannt. Sie bilden sich als Spaltprodukt des β-Kaseins durch eine durch das Enzym Plasmin katalysierte Reaktion. Die kleinen bei dieser Spaltung entstehenden Fragmente finden sich bei der Säuregerinnung in der Molke wieder und werden dann Proteose- Pepton- Fraktion genannt /8, 10, 61/.

Durch diese gleichsinnige elektrische Ladung wird verhindert, dass Mizellen zusammentreten und koagulieren.

Tab. 3-6: Die wichtigsten Unterschiede zwischen den technologisch wichtigsten Kaseinen /13/

α_S -Kasein	κ -Kasein
Isoelektrischer Punkt pH: 4,1	Isoelektrischer Punkt pH: 6,0
Hydrophob (Leucin, Valin, Phenylalanin)	Hydrophil (Glutaminsäure, Asparaginsäure, Lysin, Kohlenhydrate)
Phosphoprotein	Glyko-Protein
Enthält chemische gebundene Phosphorsäure	Enthält chemische gebundene Kohlenhydrate
Ca ⁺⁺ empfindlich	Ca ⁺⁺ unempfindlich
-	Labwirkung
-	Schutzkolloid

Die Kalziumempfindlichkeit der Kaseine ($\alpha_{S2} > \alpha_{S1} > \beta > \kappa$ -Kasein) hängt von der Anzahl der Phosphatreste im Kasein ab, über welche das Kalzium an die Kaseine gebunden ist. α_{S2} -Kasein präzipitiert bei Ca²⁺-Konzentrationen < 2 mM /14/, α_{S1} -Kasein ab einer Kalziumkonzentration von 3 - 8 mM. Bei einer Temperatur von 1 °C verbleibt das β -Kasein bis zu einer Ca²⁺-Konzentrationen von 400 mM in Lösung, präzipitiert aber bei 37 °C bei Konzentrationen von 8-15 mM /15/. κ -Kasein bleibt aufgrund einer geringen Anzahl von Phosphoserinresten löslich /14/.

Des Weiteren zeigt die folgende Aufstellung noch einmal die wichtigsten Parameter der einzelnen Kaseinfraktionen.

Tab. 3-7: Die wichtigsten Parameter der einzelnen Kaseinfraktionen /10/

Eigenschaft	α_{S1} -Kasein	α_{S2} -Kasein	β -Kasein	κ -Kasein
Molekulargewicht (Dalton)	23614	25230	23983	19023
Aminosäuren	199	207	209	169
-Prolin	17	10	35	20
-Cystein	0	2	0	2
Kohlenhydrate	0	0	0	vorhanden
Ladungsverteilung	ungleich	ungleich	sehr ungleich	sehr ungleich

α_S -, β - und κ -Kasein sind über die verschiedenen Submizellen heterogen verteilt. Die α_S - und β -Kaseine sind u. a. im Zentrum der Submizellen konzentriert, während κ -Kasein an der Oberfläche vorherrscht.

In der folgenden Abb. 3-1 ist die Struktur einer Kaseinmizelle mit Angaben über die Komponentenzusammensetzung dargestellt.

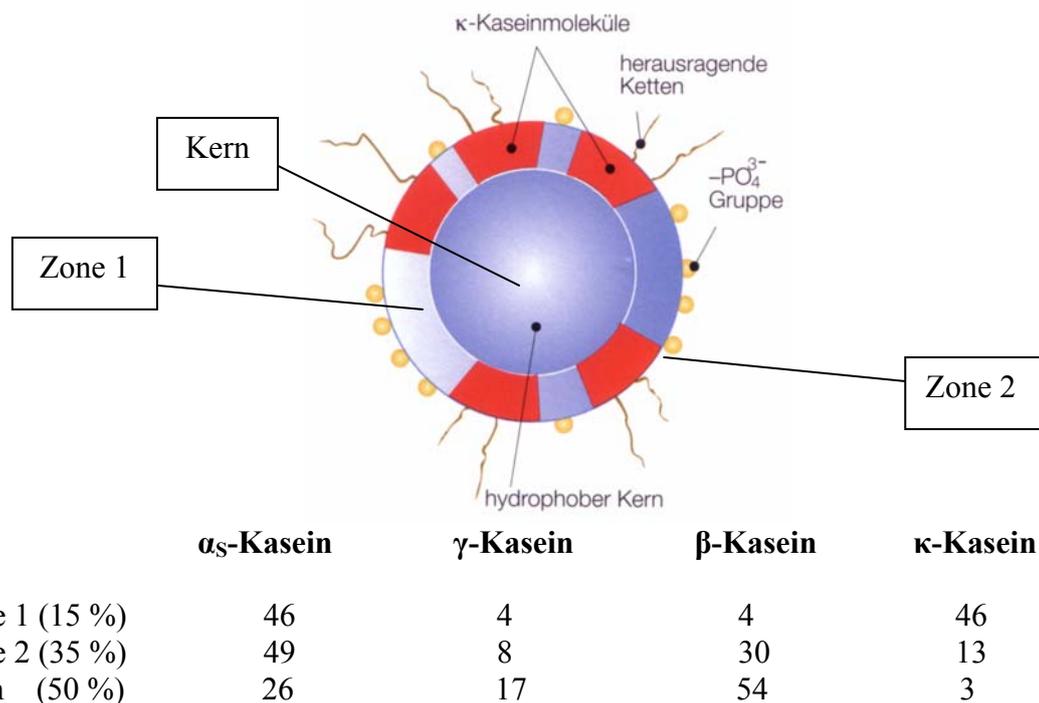


Abb. 3-1: Struktur einer Kaseinmizelle mit Angaben über die Komponentenzusammensetzung /4, 13/

In nativer Milch ist bei einem pH-Wert von 6,6 der Großteil der Carboxylgruppen (Bestandteil von Aminosäuren) an der Kaseinoberfläche dissoziiert und verleiht der Kaseinmizelle eine negative Nettoladung. (Summe aller positiven und negativen Ladungen).

An dieser orientiert sich das Wasser der umgebenden Flüssigkeit aufgrund seines Dipolcharakters in Form einer Wasserhülle. Diese ist für die kolloidale Löslichkeit des Kaseins verantwortlich.

Da die negativen elektrostatischen Kräfte über den Bereich der inneren Hydrathülle hinausreichen, lagern sich positiv geladene Kalziumionen als Gegenionen an die Wasserhülle an und bilden an der Phasengrenze die für beständige Kolloide geforderte elektrische Doppelschicht.

Durch eine gleichsinnige Aufladung der Kaseinteilchen erfolgt eine gegenseitige Abstoßung, daher kommt es in nativer Milch zu keiner Agglomeration der Eiweiße.

Will man das Kasein ausfällen, müssen die Oberflächenladung und damit die Abstoßungskräfte verringert werden. /16/

Damit können sich die Teilchen soweit ändern, dass anziehende Kräfte insbesondere hydrophobe Wechselwirkungen zwischen ihnen wirksam werden.

Die Kaseine aggregieren und bilden Ketten aus. Oberhalb einer kritischen Kettenlänge entsteht ein Netzwerk, welches das gesamte Flüssigkeitsvolumen durchzieht und in seinen Hohlräumen Serum mit den gelösten Milchhaltsstoffen und den evtl. vorhandenen Fettkügelchen einschließt (Gallerte). /12/

3. 3 Die Kaseingewinnung

Bei der Kaseingewinnung unterscheidet man zwischen der Säurefällung und der Labgerinnung.

Unterschiedliche Säure bewirkt ein unterschiedliches Gefüge des gefällten Säurekaseins.

Milchsäurekasein ist körnig, locker, Salzsäurekasein zäher und gummiartiger, während Schwefelsäurekasein körnig und leicht speckig vorliegt.

Zwischen einem hergestellten Labkasein oder Säurekasein gibt es grundsätzliche Unterschiede. Während Säurekasein durch pH-Verschiebung bei erhöhtem pH-Wert löslich ist, ist Labkasein in der Regel unlöslich.

Labkasein enthält einen hohen Kalzium- und Phosphatgehalt, während Säurekasein nur einen geringen Anteil Salze enthält. Beide Kaseine sind jedoch hitzestabil.

3. 3. 1 Gerinnung durch Enzyme

3. 3. 1. 1 Bedeutung der Zusammensetzung des tierischen Labs

Lab wird durch den wässrigen Auszug des vierten Magens eines jungen, milchgenährten Kalbes gewonnen. Dieser Auszug wird konzentriert, standardisiert und abgepackt. Im Kälberlab sind die beiden milchproteolytischen Enzyme, das Chymosin und Rinderpepsin, nebeneinander vorhanden, wobei der Anteil an Pepsin mit zunehmendem Alter ansteigt.

Chymosin besitzt die Eigenschaft, spezifisch die Phe(105)-Met(106)-Bindung des κ -Kaseins zu spalten. Die unspezifische Proteolyse des Chymosin ist relativ gering, aber deutlich messbar vorhanden. Rinderpepsin weist bei einem pH-Wert von 6,5 eine höhere proteolytische Aktivität als Chymosin auf, bei pH 5,5 sind die Unterschiede minimal. Beide Gerinnungsenzyme bilden jedoch unterschiedliche Polypeptide /18/.

Wie bei allen Enzymen ist auch bei den Milchgerinnungsenzymen die Aktivität abhängig von Milieufaktoren, wie z.B. Temperatur, pH-Wert, Substratkonzentration und Ionenkonzentration. /19/, /20/ sowie /21/ stellte die Labmenge auf eine konstante Gerinnungszeit für die verschiedenen Gemische ein. Eine höhere Pepsinkonzentration im Labgemisch führte

dann zu einer langsameren Verfestigung, d.h. die maximale Geschwindigkeit war geringer, weshalb die sogenannte Schnittreife später erreicht wurde.

3.3.1.2 Mechanismus der Labgerinnung

Die Aminosäurekette, aus der sich das κ -Kaseinmolekül bildet, besteht aus 169 Aminosäuren. Aus enzymatischer Sicht ist die Bindung zwischen den Aminosäuren Nr.105 (Phenylalanin) und 106 (Methionin) für viele proteolytische Enzyme leicht zugänglich.

Einige proteolytische Enzyme greifen diese Bindung an und spalten so die Kette. Das lösliche Kettenende enthält die Aminosäuren von 106 bis 169, die stark von polaren Aminosäuren und Kohlenhydraten geprägt sind und dieser Sequenz hydrophile Eigenschaften verleihen. Dieser Teil des κ -Kaseinmoleküls wird als Glycomakropeptid bezeichnet und geht während der Käseherstellung in die Molke über.

Der verbleibende Teil des κ -Kaseinmoleküls, das Para- κ -Kasein, besteht aus den Aminosäuren Nr. 1 bis 105, ist unlöslich und verbleibt zusammen mit dem α_s - und β -Kasein im Koagulum. Das Gesamtkasein ohne Glycomakropeptid bezeichnet man als Para- κ -kasein.

Die Bindung des Koagulums erfolgt nach dem schnellen Entfernen des hydrophilen Makropeptids und dem dadurch ausgelösten Ungleichgewicht bei den zwischenmolekularen Kräften. Zwischen hydrophoben Stellen bilden sich Bindungen aus, die durch Kalziumbrücken verstärkt werden, sobald Wassermoleküle die Mizellenstruktur verlassen. Dieser Prozess wird meist als Dicklegung und Synäresephase bezeichnet.

Das Spalten der Bindung 105 – 106 im κ -Kaseinmolekül wird oft als Primärphase der Labwirkung bezeichnet, während die Koagulations- und Synäresephase als zweite Labphase bezeichnet wird.

Die Labgallertenbindung kann durch folgende verschiedene Faktoren begünstigt werden:

1. Erhöhte Temperatur zwischen 38 – 41°C, da das Temperaturoptimum des Lab-Enzyms bei 41 °C liegt. Ebenso verschiebt sich das Salzgleichgewicht der Milch in der Hinsicht, dass die Kalziumionen verstärkt an die Kaseinteilchen angelagert werden.

2. Abgesenkter pH-Wert

Das pH-Optimum des Labenzym liegt bei pH 5,3 – 6,3. Ebenso wird das Salzgleichgewicht auf die Seite der echt gelösten Kalziumionen verschoben, so

dass diese bei Temperaturerhöhung an die Kaseinmizelle angelagert werden können.

Die Labfällung ist irreversibel, da hierbei Mizellbestandteile abgespalten werden.

Bei der Labkaseinherstellung ist eine Ansäuerung der Magermilch jedoch unerwünscht, da sie zu einer Qualitätsminderung des Kaseins führen kann. /4, 12, 23/

Während der Labgerinnung laufen drei nicht eindeutig voneinander trennbare, ineinander übergehende Prozesse ab: die enzymatische Hydrolyse des κ -Kaseins, die Flockulation der Kaseinmizellen und die Ausbildung und Verfestigung der Gelstruktur z.B. /24/; /25/; /22/; /23/; /27/. Diese Vorgänge werden in Abb. 3-2 schematisch dargestellt.

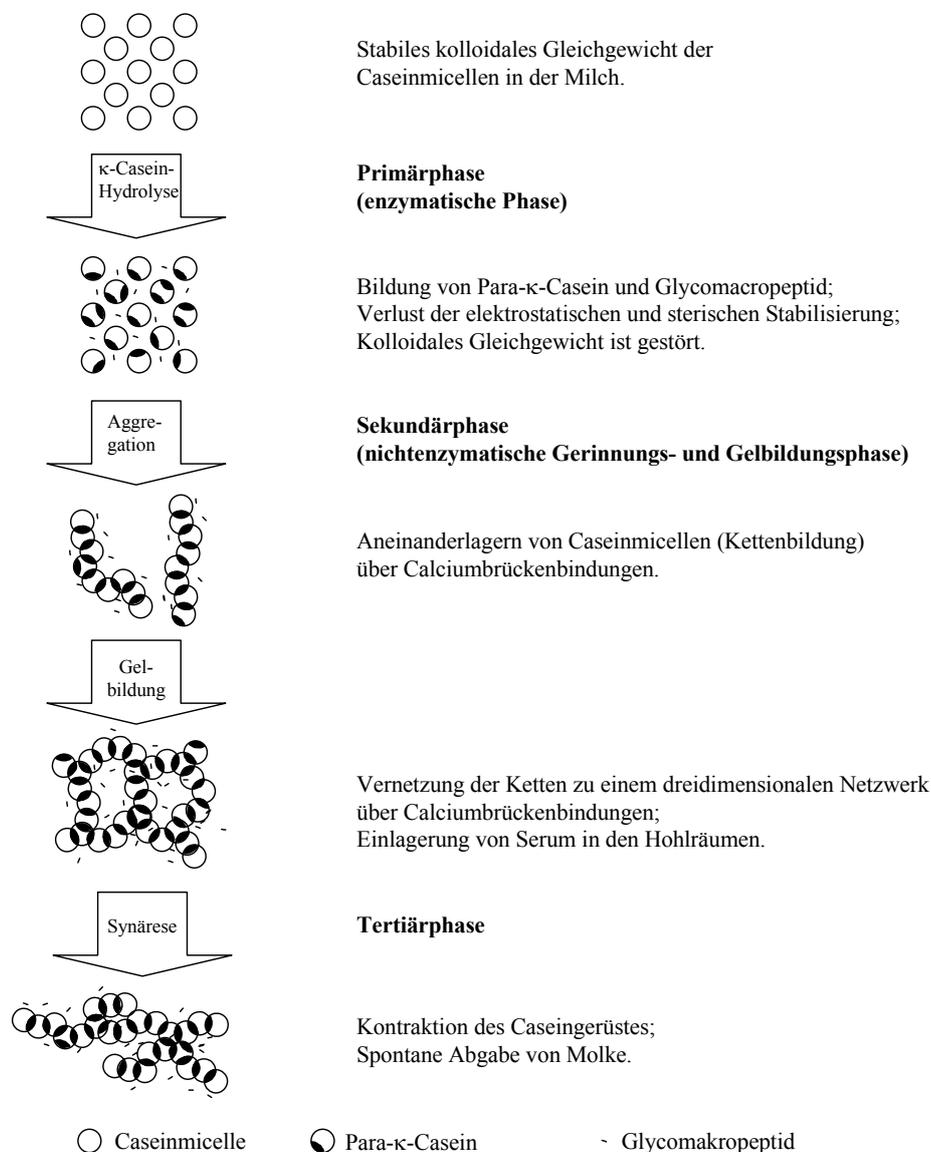


Abb. 3-2: Phasen der Labgerinnung (Nach: FLÜELER /24, 28/; CARLSON et al /25/; DALGLEISH /23/; VAN HOOYDONK /29/.

3.3.1.3 Prozessviskositätsverlauf der Labgerinnung

Der Prozessviskositätsverlauf der Labgerinnung, dargestellt in Abb. 3-3, kann in 5 Abschnitte gegliedert werden. Unmittelbar nach der Labzugabe steigt die Viskosität nur minimal an. Im 2. Abschnitt ist eine starke Beschleunigung des Viskositätsanstieges zu beobachten, im 3. Abschnitt steigt die Viskosität relativ konstant an. Die Abschnitte 2 und 3 können als sigmoid beschrieben werden. Anschließend erreicht die Viskosität im 4. Abschnitt einen Maximalwert, um danach im letzten Abschnitt wieder abzufallen.

Dabei stellen Abschnitt 1 die sogenannte Primärphase, die Abschnitte 2 und 3 die Sekundärphase sowie die Abschnitte 4 und 5 die Tertiärphase der Labgerinnung dar. Ein Einsatz des Meßsystems in Abschnitt 5 wird aufgrund der ablaufenden Synärese als nicht sinnvoll eingeschätzt, da auftretende Inhomogenitäten bzw. Abreißen der Gallerte vom Messfühler zur Meßdatenverfälschung führen.

In der Abb. 3-3 wurde die Prozessviskosität über den Schneidezeitpunkt hinaus aufgezeichnet. Der gesamte Kurvenverlauf kann in 5 Hauptabschnitte eingeteilt werden.

/38, 99/

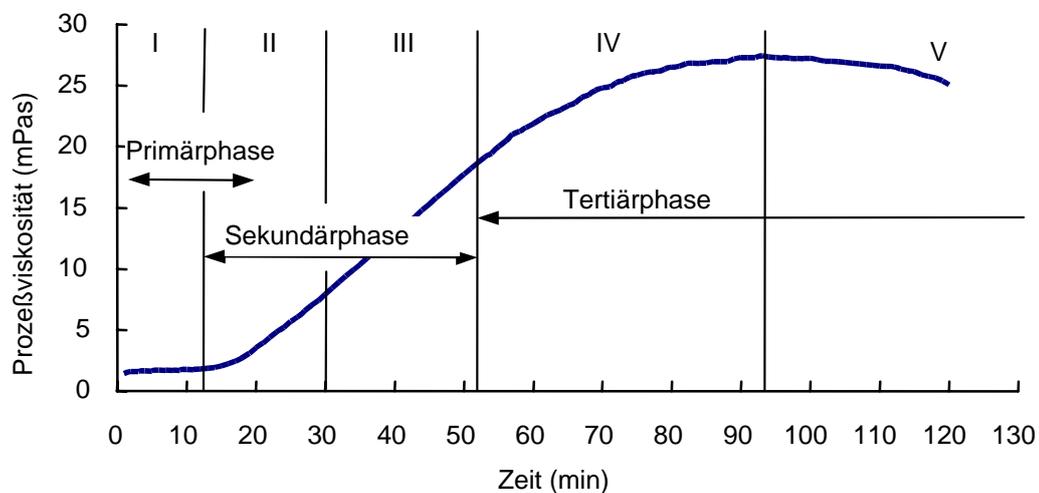


Abb. 3-3: Prozessviskositätsverlauf über der Zeit während der Labgerinnung

3.3.2 Ausfällung durch Säure

3.3.2.1 Bedeutung der Art der Säure

Salz- Schwefel- und Milchsäure sind die am meisten verwendeten Kaseinfällungsmittel. Die Auswahl der Säure hängt von wirtschaftlichen Faktoren und Verwendungsmöglichkeiten der anfallenden Molke ab.

Salzsäuremolke ist gut geeignet für die Erzeugung von Milchzucker. Der Nachteil bei Verwendung von Schwefelsäure als Fällungsmittel besteht darin, dass die anfallende Molke nicht für die Fütterung geeignet ist. Mit Schwefelsäure wird Kasein von höchster Qualität erhalten, vorausgesetzt, dass moderne Hilfsmittel zur Mischung der Säure mit Magermilch verwendet werden. Natürlich muss Säure verwendet werden, die frei von Verunreinigungen ist, wie z. B. Schwermetallen, insbesondere wenn Speisekasein erzeugt werden soll.

Phosphorsäure oder Essigsäure sind ebenfalls als Fällungsmittel geeignet. Essigsäure bringt Schwierigkeiten wegen der schwachen Dissoziation bei der pH-Wert-Einstellung und damit Schwierigkeiten hinsichtlich des ausgefällten Bruches. /30/

3. 3. 2. 2 Mechanismus der Säuregerinnung

Bei einer klassischen Säuerung der Milch durch Milchsäure wird von folgenden Strukturierungsmechanismen ausgegangen:

Die Bildung säureinduzierter Milchgele kann nicht undifferenziert als Entladungs- und Aggregationsreaktion bis zum isoelektrischen Punkt beschrieben werden. Das Zeta-Potential kolloidaler Proteinpartikel nimmt mit sinkendem pH-Wert ab und beträgt am isoelektrischen Punkt gleich 0. Die Kaseinmizellen dagegen zeigen ein abnormales Verhalten des Zeta-Potentials /31/. HEERTJE et al /31/ begründen das Minimum im Zeta-Potential über den isoelektrischen Punkt des β -Kaseins, welcher bei pH 5,2 liegt. Die physikochemischen Veränderungen der Kaseinmizellen während der Säuerung sind in der nachfolgenden Abb. 3-4 zusammengefasst. Die langsame Säuerung unter Ruhebedingungen wird von zwei gegensätzlichen physikochemischen Mechanismen begleitet. Zum einen tendieren die Kaseinmizellen zur Aggregation aufgrund der reduzierten negativen Ladung sowie damit verbundener reduzierter Hydratation und folglich erhöhten hydrophoben Wechselwirkungen mit Gelbildung pH < 5,2. /32, 33, 34/

3. 3. 2. 3 Mechanismus der Strukturbildung

Die Strukturbildung von Milchproteinen während der Säuregerinnung wird im Allgemeinen als ein 4-Phasen-Prozess beschrieben:

1. die Induktionsphase (=lag-Phase, keine Strukturbildung),
2. die Flockulationsphase (Strukturbildung, Aggregation der destabilisierten Kaseinpartikel),

3. Gelbildungsphase mit konstanter Strukturbildungsgeschwindigkeit (nicht bei Schwefelsäurekaseinherstellung)
4. sigmoider Anstieg der Prozessviskosität und Abschluss der Strukturbildung; anschließend Beginn der Synäresephase

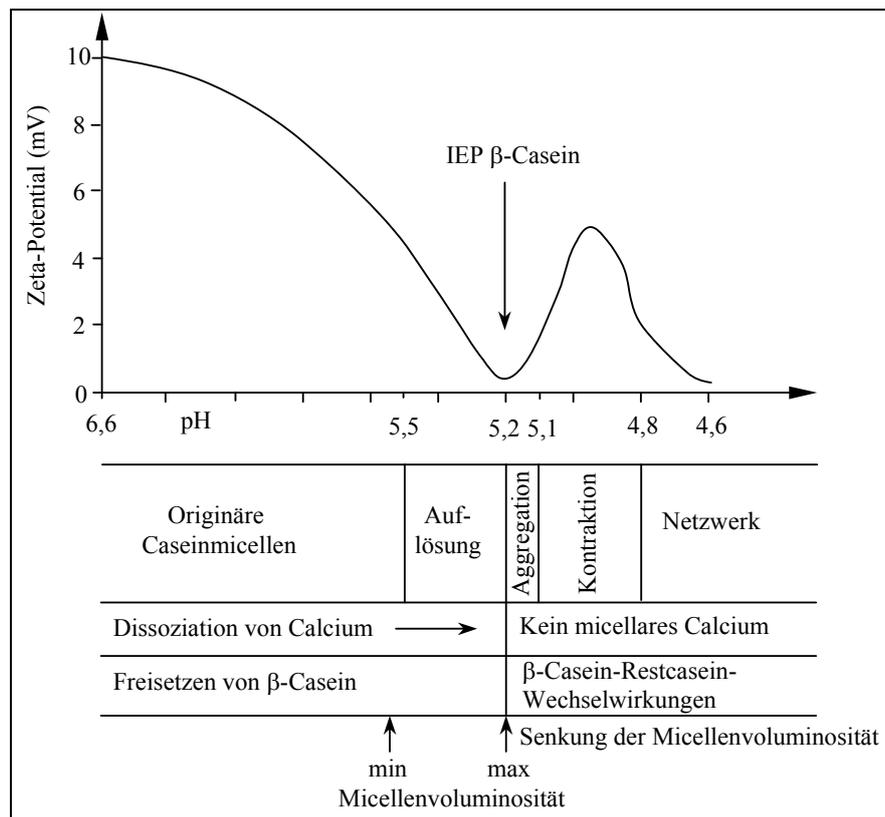


Abb. 3-4: Zeta-Potential von Kaseinmicellen während der Säuerung von Magermilch und daraus resultierende Phasen der Gelbildung /32/

In Abhängigkeit von der Temperatur werden von BANON und HARDY, zitiert in /36/, zwei Wege zur Säuregerinnung unterschieden (siehe Abbildung 3-5). Dabei entspricht eine Säuerung bei niedrigen Temperaturen den Phasen 1, 1', 2a, 2b und 3; bei höheren Temperaturen den Phasen 1, 2 und 3. Während der einzelnen Phasen laufen die nachfolgend beschriebenen Vorgänge ab, wobei die pH-Wert-Grenzen von der Gerinnungstemperatur abhängen.

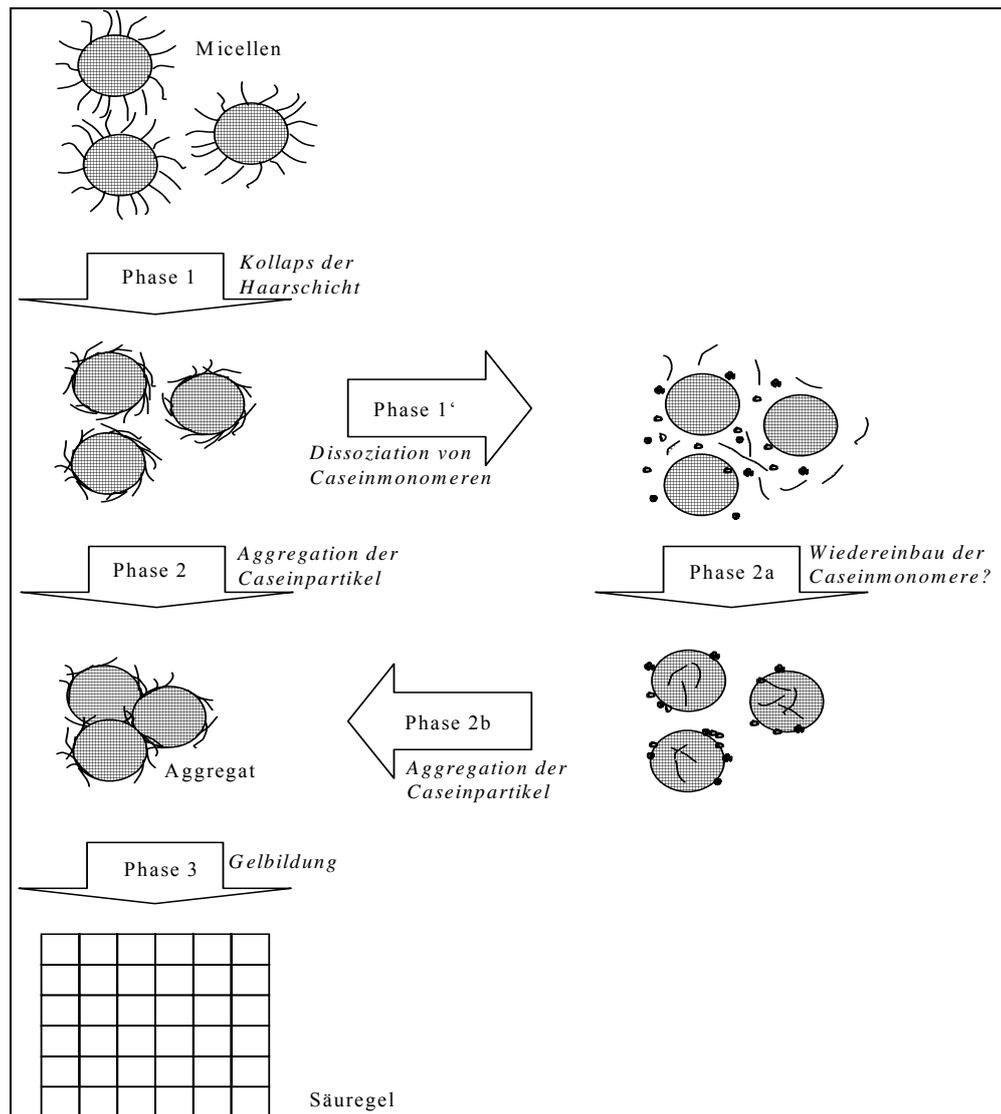


Abb. 3-5: Schematische Darstellung der micellaren Veränderungen während der Säuerung von Milch (aus: /36, 37/, modifiziert).

Phase 1 (Induktionsphase):

Bis zu einem pH-Wert von 5,6 (30 °C) werden keine nennenswerten Veränderungen beobachtet; die einzelnen Mizellen erhalten ihre Form, Größe sowie ihre Integrität. Die Kaseinmizellen sind homogen im Raum verteilt. Es werden jedoch bereits vereinzelt kleine Partikel sichtbar. Der Abfall in der dynamischen Viskosität und dem ζ -Potential in dieser Phase hängt mit dem Kollaps der äußeren Haarschicht zusammen.

Phase 1' (partielles Auswandern der Kaseine aus den Mizellen)

In der pH-Region 5,5 bis 5,2 (30 °C) werden die Mizellen poröser und weniger kompakt; freies fein verteiltes Kasein ist an der Mizellenoberfläche und in der Serumphase zu finden.

BANON und HARDY, zitiert in /36/, beobachteten entsprechend der Temperaturabhängigkeit der Kaseindissoziation diesen partiellen Mizellenzerfall bei 15 und 20 °C, nicht jedoch bei 30 und 42 °C.

Phase 2a (Wiedereinbau der Kaseinmonomere):

In diesem Abschnitt findet wahrscheinlich der Wiedereinbau des in Lösung gegangenen Kaseins statt /23,38/. Bei einem pH von 5,2 - 5,1 ist das kolloidale Kalziumphosphat fast vollständig in Lösung gegangen, die Kaseinmizellen werden poröser und beginnen ihre Form zu verlieren. Nach HEERTJE et al. /31/, DALGLEISH et al. /39/ sowie ROEFS /32/ reaggregiert das dissoziierte Kasein und bildet neue Kaseinpartikel.

Phase 2b (Aggregationsphase):

Bei 30 °C setzt bei einem pH-Wert von ca. 5,2 die Aggregation der Kaseinpartikel ein. Eine ungleichmäßige Verteilung der Kaseinaggregate (zusammengesetzt aus aggregierten Kaseinmizellen und neuen Kaseinpartikeln) wird von HEERTJE et al. /31/ beschrieben. In diesem Stadium beginnt der Aufbau eines Netzwerkes über sich berührende Aggregate; eine durchgehende Strukturierung liegt noch nicht vor.

Phase 3 (Gelierung):

Eine weitere Erniedrigung des pH-Wertes von 4,8 auf 4,6 - 4,5 (IEP der Kaseine) bei 30 °C wird von einem Annähern der Partikel begleitet, welche zunächst lose poröse Stränge bilden, die sich im weiteren Verlauf verzweigen und somit ein dreidimensionales Netzwerk bilden, welches sich durch die gesamte Serumphase zieht.

Diese Gelbildungsphase wird durch das intensive Rühren des Milch-Schwefelsäure-Gemisches im Technologieablauf der Säurekaseinherstellung nicht realisiert, da die Entmolkung und weitere Prozessschritte nicht in Abhängigkeit von der Gallertform stattfinden sollen. Die Dynamik der Säuregerinnung ist ungleich höher als bei der Herstellung von Sauermilchprodukten, etwa 2 min zu 250 min.

Durch das permanente Rühren ist der Aufbau einer Säuregelstruktur bei der Schwefelsäurefällung unmöglich, so dass sich infolge hydrophober Wechselwirkungen immer größere Säurekaseinpartikel ausbilden. Bei größeren Strukturierungen bestimmt das Dispersionsmittel, jetzt das Serum, das messbare Fließverhalten der Dispersion. Die gefundene Serum-/Wasserviskosität nahe 1 mPas bestätigt das beschriebene Gerinnungsverhalten.

Die Säurefällung ist reversibel. Der Grund ist, dass bei Überschreiten des isoelektrischen Punktes die Ladung der Kaseinmizellen wieder zunimmt. Die Hydrathülle wird erneut gebildet und eine elektrische Doppelschicht der Kaseinmizelle angelagert (kolloidaler Lösungszustand durch Zugabe von Lauge oder alkalischen Salzen bei pH-Wert der Lösung von 7). Bei Säurefällung erfolgt die beste Abscheidung der Proteine. /12, 16, 35/

3. 3. 3 Synäreseeffekt der Lab- und Säuregallerten

Synärese ist die charakteristische Eigenschaft der Milchgallerte und wird durch die chemischen Anziehungskräfte zwischen den Kaseinpartikeln hervorgerufen.

Lab- und Säuregallerten binden im Status nascendi/ad hoc die gesamte Flüssigkeitsmenge in ihrem Netzwerk.

Zur Gewinnung soll jedoch die gesamte Flüssigkeitsmenge samt gelösten Milchinhaltsstoffen vom Kasein abgetrennt werden.

Dieser Prozess ist stark temperaturabhängig. Je höher die Temperatur, desto stärker die Synärese. Unterstützend wirkt ein Schneiden bzw. Bewegen der Labgallerte. Je mehr die Gallerte in kleinere Partikel geschnitten wird, desto größer werden die Schnittflächen, desto schneller und mehr Molke kann austreten. Auch der vorliegende pH-Wert der Gallerte wirkt auf den Synäreseeffekt.

Bei der Labkaseinherstellung wird der Synäreseeffekt durch gezieltes Aufrühren der Gallerte unterstützt.

Der entstandene Bruch wird auf verschiedene Temperaturen erhitzt, je nachdem, ob eine Lab- oder Säuregallerte vorliegt. Nach der Theorie wird der Labbruch weniger stark erhitzt als der Säurebruch, weil Labgallerten sowieso schon stärker zusammenfließen als Säuregallerten, da bei ihnen noch Kräfte größerer Reichweite wirksam sind, durch die sich die Kaseinteilchen stärker gegenseitig annähern. Je höher die Temperatur und je länger die Heißhaltezeit zur Unterstützung der Synärese gewählt werden, desto effektiver ist sie. Wird die Temperatur von 38 – 40 °C für Labbruch und 48 °C für Säurebruch überschritten, kann es zu Plastifizierungserscheinungen des Kaseins kommen. Die Folge davon wäre ein erschwertes Abtrennen der flüssigen Phase vom gefällten Kasein.

Für ein langsames, schonendes "Brennen" des Bruchgemisches vor der "Entwässerung" sollte ein indirektes Verfahren verwendet werden, um eine sogenannte Verhornung der Bruch-Randschichten zu vermeiden.

Würde es zu einer Verhornung der Bruch-Randschichten kommen, wäre ein ungestörter Molkenablauf nicht mehr möglich, und es könnte kein "reines" Kasein gewonnen werden, es käme also zu Qualitätsfehlern.

Die Vorhornung ist eine Anhäufung von Kaseinteilchen in der Randschicht des Bruches infolge einer zu raschen und zu starken Entwässerung der Bruchrandschichten durch eine starke thermische oder mechanische Bearbeitung des Bruches. /12/

Eine höhere Prozessdynamik und Dispergierung liegt bei der Herstellung von Schwefelsäurekasein vor.

3. 4 Herstellungsverfahren für technische Kaseine

3. 4. 1 Technologischer Ablauf zur Herstellung von Schwefelsäurekasein

Kasein wird als Säurekasein bezeichnet, wenn für die Fällung der Kaseine Salz- oder vorzugsweise Schwefelsäure benutzt wurde.

In Abb. 3-6 ist vereinfacht der Verfahrensablauf für die Herstellung von Säurekasein bis Eingang Trocknung dargestellt. /2, 12, 18/

Der Rohstoff Magermilch mit maximal 0,05 % Fettgehalt wird in der Regel mit 4 – 6 °C der Kaseinanlage zugeführt. Die Magermilch wird durch die Kreiselpumpe in die Kaseinanlage eingespeist.

Im Plattenapparat wird die Magermilch auf 28 – 30 °C erwärmt. Über die Dosierpumpe wird der Magermilch kontinuierlich z. B. Salzsäure zugegeben. In der Regel reichen 10 – 12 g 10 %ige Säure pro Liter Magermilch aus, um den notwendigen pH-Wert von 4,5 – 4,6 zu erreichen.

Die zudosierte Säure wird mit der Magermilch durch den nachgeschalteten statischen Mischer intensiv vermischt.

Anschließend durchströmt das Produkt die Reaktionsstrecke und einen Rohrbündelwärmetauscher, in dem das Produkt auf ca. 38 °C durch die vom Dekanter I ablaufende Molke erwärmt wird.

Im zweiten Rohrbündelwärmetauscher wird die Produkttemperatur auf ca. 48 °C gebracht. Höhere Produkttemperaturen würden beim Dekantieren des Produktes zu Plastifizierungen/Verhornungen an der Oberfläche des Kaseinkorns führen.

Die Folge davon wäre ein erschwertes Abtrennen der Milchhaltsstoffe, z. B. Laktose, Salze etc. vom gefällten Kasein in der Waschstufe.

Im Dekanter I wird die Molke vom Kasein getrennt. Die durch den Greifer unter Druck schaumfrei abgeführte Molke hat noch einen abschleuderbaren Kaseinstaubanteil von 0,05 – 0,12 %.

Um das in der Molke befindliche Kasein zurückzugewinnen, kann wie in Abb. 3-6 dargestellt der Kaseinstaub in einem Klärseparator (29) abgetrennt werden. Das im Klärseparator aus der Molke abgetrennte Kasein wird im Behälter (30) aufgefangen.

Die Pumpe (31) fördert das Kasein-Molke-Gemisch in den der Waschstufe vorgeschalteten Behälter (11).

Das vom Dekanter I in den Behälter (11) geförderte Kasein hat einen Trockenmassegehalt von ca. 40 %.

Durch einen Waschprozess des in den Behälter (11) zurückgeführten Waschwassers wird die Trockenmasse auf ca. 10 % gebracht. Mit der Pumpe (12) wird das Kasein-Molke-Gemisch in den ersten Behälter (13) der Waschstufe gefördert.

Die Waschbehälter (13, 15, 17) sind mit speziellen, langsam laufenden Rührwerken ausgestattet. Hierdurch wird das Kaseinkorn in Schwebelage gehalten, ohne es jedoch mechanisch zu zerstören.

Der Weg des Kaseins durch die Waschstufe ist wie folgt:

Vom Tank (13) über die Pumpe (14) auf das Sieb des Tanks (15) und von dort in den Tank (15). Mit der Pumpe (16) über das Sieb und den Pasteurisationstank (17).

Die Pumpe (18) fördert das Kasein über den Rohrbündelkühler (19) und die Reaktionstrecke (20) in den Dekanter II.

Das frisch in den Prozess einzuspeisende Waschwasser kühlt im Wärmetauscher (19) das Produkt auf 38 – 40 °C ab.

Im Plattenwärmeapparat (25) wird Waschwasser auf ca. 70 – 72 °C gebracht und in den Waschtank (17) gegeben.

Hierdurch wird im Tank das Produkt auf Pasteurisierungstemperatur gebracht. Letzteres bewirkt eine einwandfreie bakteriologische Beschaffenheit des Produktes. Um Rekontamination des Produktes weitgehendst zu vermeiden, wird die Kühlung des Produktes in einem geschlossenen Rohrsystem indirekt durchgeführt.

Das in den Tank (17) gegeben Waschwasser wird über die Pumpe (18) dem Dekanter II zugeführt.

Im Dekanter II wird das Kasein auf ca. 48 % TS konzentriert. Das vom Dekanter II kommende Kasein kann z. B. durch ein Druckluftfördersystem dem Trocknungsprozess zugeführt werden.

Das Waschwasser wird über den Greifer unter Druck in den Waschbehälter (15) gegeben. Das Waschwasser wird dann über die Pumpe (16) auf das Sieb des Tanks (17) gegeben. Das über das Sieb abgetrennte Waschwasser wird mit der Pumpe (23) zum Anfang der Waschstufe gefördert. Das Waschwasser gelangt dann vom Behälter (11) über die Pumpe (12) in den Behälter (13) und von dort über die Pumpe (14) auf das Sieb des Tanks (15).

Das von diesem Sieb ablaufende Waschwasser ist das am stärksten belastete Wasser. Über die Pumpe (22) wird das Wasser aus dem Prozess gefördert.

Im Klärseparator (28) werden die im Waschwasser befindlichen Kaseinteilchen abgetrennt. Vom Behälter (27) wird das zurückgewonnene Kasein über die Pumpe (26) in den Pasteurisationstank (17) zurückgegeben.

Die Anzahl der Waschtanks in einer solchen Gegenstromwaschanlage sowie die Waschwassermenge richten sich nach dem geforderten Standard für das Endprodukt.

In der Regel werden 3 bis 4 Waschtanks eingesetzt.

Die Waschwassermenge beträgt, bezogen auf die zulaufende Magermilchmenge, ca. 25 – 30 %.

Alle Waschbehälter (13, 15, und 17) sind mit großflächigen, langsamlaufenden Rührwerken ausgerüstet, die für eine gleichmäßige Durchmischung sorgen. Gleichzeitig wird darauf geachtet, das Kaseinkorn nicht mechanisch zu beschädigen, beziehungsweise zu zerkleinern.

Ziel aller Waschstufen ist es, ein Kasein mit möglichst hohem Reinheitsgrad zu erhalten, um so die gesetzlichen Anforderungen im Endprodukt zu erzielen und die gewünschten Eigenschaften sowohl im Trockenkasein, als auch in einem eventuell hergestellten Kaseinat zu erreichen.

Der pH-Wert des Wassers wird in der Regel durch HCL-Zugabe auf den notwendigen Wert eingestellt. Über die Dosierpumpe (24) wird 1 – 1,5 g 10 %ige Säure pro Liter Waschwasser zugegeben.

Nach der Entwässerung wird das Säurekasein gemahlen und in Säcke verpackt.

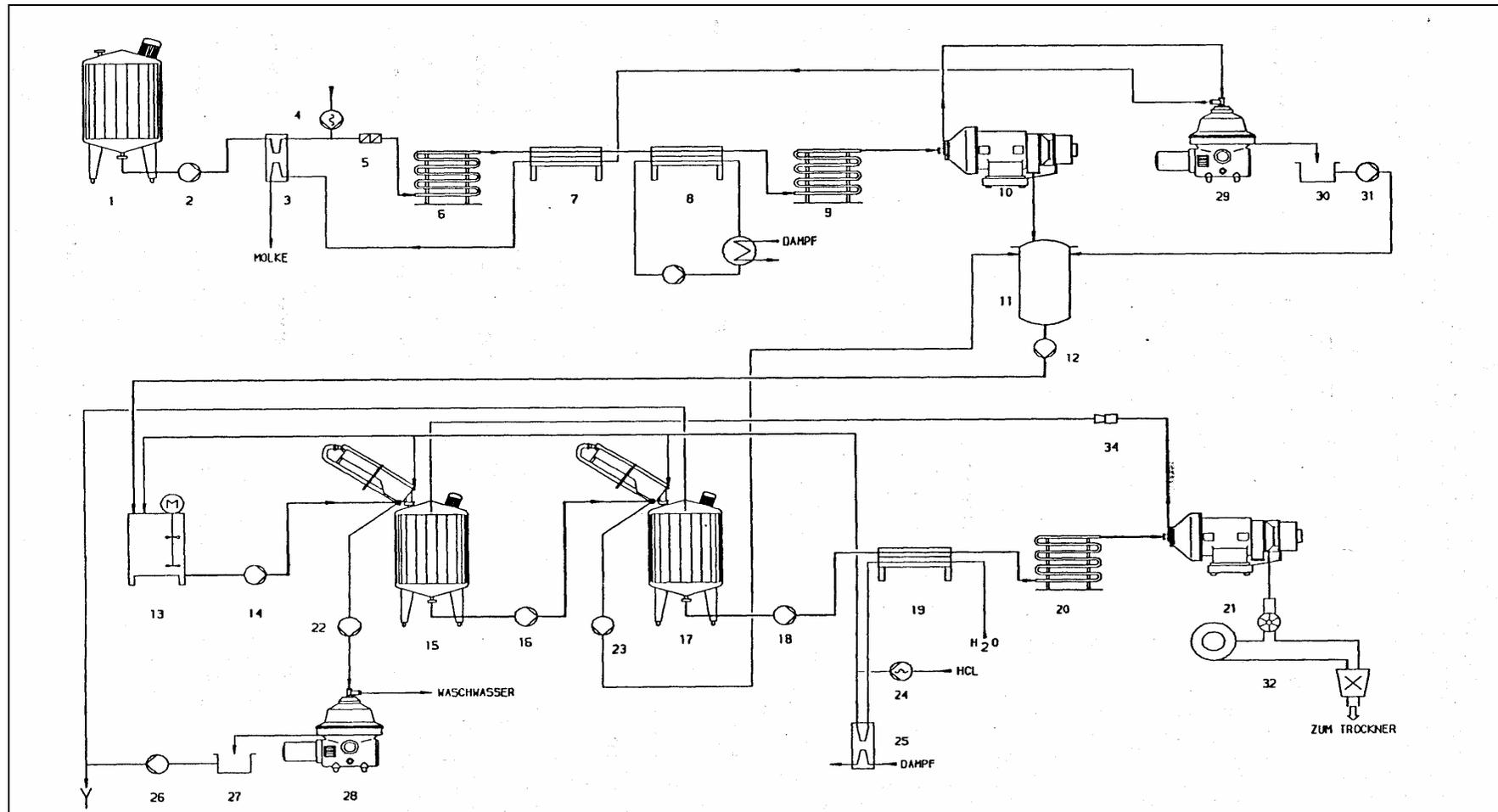


Abb. 3-6: Fließschema für die Herstellung von Säurekasein /12/

- | | | | |
|--------------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| 1. Silo | 9. Reaktionsstrecke | 17. Waschtanks | 25. Plattenapparat |
| 2. Pumpe | 10. Dekanter I | 18. Pumpe | 26. Pumpe |
| 3. Plattenapparat | 11. Behälter | 19. Rohrbündelkühler | 27. Behälter |
| 4. Dosierpumpe | 12. Pumpe | 20. Reaktionsstrecke | 28. Klärseparator |
| 5. Statischer Mischer | 13. Waschtanks | 21. Dekanter II | 29. Klärseparator |
| 6. Reaktionsstrecke | 14. Pumpe | 22. Pumpe | 30. Behälter |
| 7. Rohrbündel-Wärmeaustauscher | 15. Waschtanks | 23. Pumpe | 31. Pumpe |
| 8. Rohrbündel-Wärmeaustauscher | 16. Pumpe | 24. Dosierpumpe | 32. Fördersysteme |

Das nur über die dargestellte indirekte Erwärmung mögliche schonende "Brennen des Bruches" führt im Vergleich zu direkter Erwärmung (Dampf-injektion ins Produkt) zu folgenden Vorteilen:

1. keine Verhornung der Bruch-Randschichten.
2. Aufgrund der fehlenden Verhornung stellt sich ein effizienterer Wascheffekt ein.
3. Durch die schonende und gleichzeitig gleichmäßige Erwärmung des Bruches entstehen signifikant weniger kleinste Kaseinteilchen. Hierdurch ist der Anteil von Kaseinstaub in der den Prozess verlassenden Molke geringer als bei direkten Anwärmsystemen.
4. Da lokale Überhitzung bzw. Verhornung des Bruches nicht eintritt, ist auch durch den dadurch bedingten besseren Wascheffekt die Farbe des Endproduktes "weißer".
5. Die indirekte Erwärmung benötigt gegenüber einer direkten Erwärmung nur ca. 25 % der insgesamt aufzubringenden Wärme- bzw. Kälteenergie. /16, 40/

3. 4. 2 Technologischer Ablauf zur Herstellung von Labkasein

Für die Produktion von Labkasein, ebenso wie für andere Kaseintypen, wird die Magermilch bei 72 °C für 15 bis 20 Sekunden pasteurisiert. Geringe Mengen an Fett wirken sich bereits auf die Qualität aus. Daher ist es wichtig, dass die Milch effizient separiert wurde.

Die Magermilch wird mit 30 – 32 °C in die Einlabtanks geleitet.

Das Befüllen der Einlabtanks sollte relativ zügig durchgeführt werden. Das Gleiche gilt auch für das Entleeren der Tanks. Der Grund ist, dass die vorhandenen Milchsäurebakterien bei dieser für sie optimalen Temperatur sich vermehren und den pH-Wert absenken können.

Die Dicklegung (Einlabung) erfolgt mittels des Enzyms Chymosin.

Der pH-Wert sollte vorzugsweise 6,3 sein, da es sonst schnell zu "Gummibildung" des Kaseins kommen kann. Folgender zeitlicher Ablauf ist zu empfehlen: /12/

1. 10 – 15 min: Tank füllen (bei ca. 10 000 – 20 000 l Tank)
2. 30 – 45 min: Labreaktion (je nach Ausgangssäuregehalt der Milch)
3. Ca. 5 min: Langsames Rühren (Molke tritt aus und steigt im Käsefertiger nach oben)

Die Gallerte wird mit speziellen Rührwerken geschnitten und unter Rühren auf ca. 60 °C erhitzt, um eine gute Synerese zu erzielen. Diese hohe Temperatur ist für die Deaktivierung der Enzyme nötig. Die Brennzeit beträgt etwa 30 Minuten. Anschließend wird das Molke-Kasein-Gemisch auf 38 – 40 °C gekühlt. Die Abkühlung ist notwendig, damit das Kasein bei der anschließenden mechanischen Abtrennung der Molke keine Verhornung an der Oberfläche erfährt.

Die Rückgewinnung des in der Molke befindlichen Kaseinstaubes ist wesentlich schwerer als bei der Säure-Kasein-Molke.

Ist die Endtemperatur erreicht, wird die Molke vom Bruch abgezogen. Das im Behälter verbleibende Kasein wird mit Wasser gewaschen, um Molkenproteine, Laktose und Salze wie z. B. Ca-Laktat zu entfernen. Danach wird mit Heißluft auf einen Wassergehalt von 12 % getrocknet. Die Trocknungstemperatur hängt von der eingesetzten Methode ab. In einem Zweistufenprozess beträgt die Temperatur 50 – 55 °C in der ersten Stufe und ca. 65 °C in der Zweiten. Durch die intensive Waschung wird die Asche auf 7,5 % und der Laktosegehalt auf 0,1 – 0,2 % im Endprodukt reduziert.

Labkasein sollte weiß oder leicht gelblich sein. Eine dunklere Farbe ist ein Zeichen minderer Qualität und kann auf einen zu hohen Laktoseanteil hinweisen. /4, 12, 41/

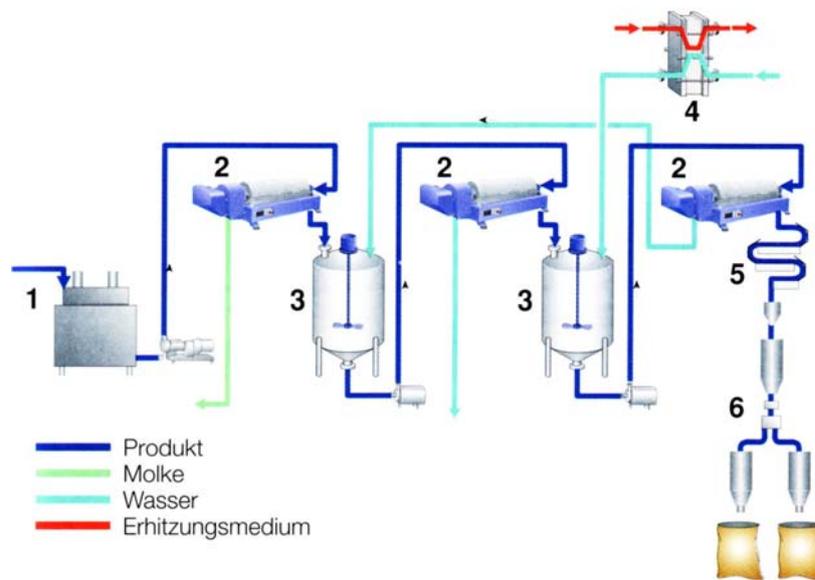


Abb. 3-7 zeigt die verschiedenen Stufen der Herstellung von Labkasein.

1. Behälter für Kaseinproduktion

3. Waschtank

5. Trocknung

2. Dekanter

4. Erhitzer

6. Mahlen, Sieben und Abfüllung

3. 4. 3 Zusammensetzung der industriellen Kaseinpräparate

Kasein ist aus der Milch leicht isolierbar und besitzt eine ausgewogene Aminosäurezusammensetzung. Dadurch ergeben sich vielfältige Einsatzmöglichkeiten. Die prozentualen Anteile einzelner Aminosäuren im Kasein liegen wie folgt: Alanin 2,7 %, Arginin 3,7 %, Asparaginsäure 6,4 %, Cystin 0,3 %, Glutaminsäure 20,2 %, Glyzin 2,4 %, Histidin 2,8 %, Isoleucin 5,5 %, Leucin 8,3 %, Lysin 7,4 %, Methionin 2,5 %, Phenylalanin 4,5 %, Prolin 10,2 %, Serin 5,7 %, Threonin 4,4 %, Tryptophan 1,1 %, Tyrosin 5,7 %, Valin 6,5 %.

Die Zusammensetzung von Labnähr- und Säurekasein nach der Verordnung über Milcherzeugnisse (MilchErzV) zeigt Tab. 3-8.

Tab. 3-8: Zusammensetzung von Labnähr- und Säurekasein /73/

Zusammensetzung	Labnährkasein	Säurekasein
Wassergehalt	max. 10 %	max. 10 %
Milchproteine in der Trockensubstanz	min. 84 %	min. 90 %
davon Kasein	min. 95 %	min. 95 %
Milchfett in der Trockensubstanz	max. 2 %	max. 2,25 %
Aschegehalt (einschl. P ₂ O ₅)	min. 7,5 %	max. 2,5 %
wasserfreier Milchzucker	max. 1 %	max. 1 %
Sedimente (verbrannte Teilchen)	max. 22,5 mg / 25 g	max. 22,5 mg / 25 g

In Tab. 3-9 ist die Zusammensetzung von kommerziellem Kasein (Beispiele) angegeben. In den Zertifikaten wird Laktose nicht erwähnt. Die Berechnung nach dem Gehalt für die Gesamtzusammensetzung ergibt für Laktose max. 1,5 % für das Labkasein bzw. 0,8 % für das Säurekasein. Die Produkte werden in 25 kg Papiersäcke aus Starkpapier, mehrschichtig und mit Polyethylenauskleidung im Inneren, verpackt. Auf Anfrage ist die Lieferung in Big-Bags möglich. Bei einer Lagertemperatur von 5° C bis 25° C und einer relativen Luftfeuchte < 65 % wird eine Haltbarkeit von 18 Monaten angegeben.

Die Werte eines anderen bedeutenden Kaseinproduzenten aus Irland für sein Produkt (Labkasein - Extra Nährqualität) sind wie folgt: Protein 90 %, Fett 0.8 %, Feuchtigkeit 11 %, Asche 8 %, Laktose 0.1 %, Farbe weiß, Geschmack mild, pH (5 % Lösung) 7,1. /52/

Tab. 3-9: Wichtige Zusammensetzungsparameter und mikrobiologischer Hygienestatus kommerzieller Lab- und Säurenährkasein (Korngröße: 30/60 mesh).

/52 , 53/

	Labkasein (LACTALIS®, 2003)	Säurekasein (MEGGLE)
Physikalische und chemische Spezifikation		

	Labkasein (LACTALIS®, 2003)	Säurekasein (MEGGLE)
Physikalische und chemische Spezifikation		
Feuchtigkeitsgehalt	max. 10 %	max. 10 %
Protein in der Trockensubstanz	min. 90 %	min. 95 %
Protein	min. 80 %	-
Fett	max. 1 %	max. 1,5 %
Asche	min. 7,50 %	max. 2,2 %
Eisen	max. 20 ppm	-
Kupfer	max. 5 ppm	-
Blei	max. 1 ppm	-
Arsen	max. 1 ppm	-
Quecksilber	max. 0,05 ppm	-
Cadmium	max. 0,05 ppm	-
Nitrate	max. 50 ppm	-
Antibiotika	Negativ	-
Phosphatasetest	Negativ	-
pH (wässrige Aufschlemmung)	7.0 ± 0.2	4,4 - 5,0
Sediment in 50 g	A	-
Fremdstoffe in 100 g	nicht vorhanden	-
Unlösliche Partikel	nicht vorhanden	-
Mikrobiologische Spezifikation		
Gesamtkeimzahl in 1 g	max. 30 000	max. 5000
Enterobakterien in 0,1 g		Negativ
Coliforme in 0,1 g	Negativ	-
E. coli in 1 g		Negativ
Hefen/Schimmelpilze in 1 g	max. 50	max. 10
Salmonellen in 25 g	Negativ	Negativ
Coagulasepositive Staphylococci in 1 g	Negativ	Negativ
Thermophile in 1 g	-	max. 5000
Clostridium perfringens in 1g	nicht vorhanden	-

3. 5 Verwendung von Kasein für technische Zwecke

Die Gewinnung von Kasein erfolgt im Allgemeinen aus Magermilch, der zur Ausfällung des Kaseineiweißstoffes entweder verschiedene Säuren oder Lab zugesetzt wird.

Etwa 90 % der Weltproduktion entfällt auf durch Säurefällung hergestelltes Kasein.

Bis vor kurzem wurde Kasein hauptsächlich für die Farben und Leimproduktion und in der Papierkartonagenfabrikation benutzt. Durch das Aufkommen von Kunststoffen hat das Kasein seine industrielle Bedeutung verloren.

Papierfabriken in den USA und Japan gewinnen Eiweißprodukte aus Sojabohnen. Andererseits ist der Verbrauch in der pharmazeutischen und in der Nahrungsmittelindustrie

interessanter geworden. Kasein scheint besonders geeignet zu sein, als Ingredienz bei vielen neuen Nahrungsmitteln und Nahrungsmittelpräparaten, wegen seines hohen Milcheiweißgehaltes und wegen anderer hochwertiger Eigenschaften. Aus diesem Grund ist die Verwendung von Kasein in der Lebensmittelindustrie in den letzten Jahren stark angestiegen.

3. 5. 1 Einsatz für Lebensmittel

Im Lebensmittelbereich erfolgen Zusätze zur Proteinanreicherung und/oder zur Erzielung bzw. Stabilisierung bestimmter physikalischer Eigenschaften bei Fleischwaren, Backwaren, Süßwaren, Getreideprodukten, Eiscreme, Aufschlagmassen, Kaffeeweißern (Coffee Whiteners) und diätetischen Erzeugnissen. /58/

POARCH /26/ geht auf die wachsende Bedeutung des Kaseins als Lebensmittelzusatz ein. Von der anfänglichen Verwendung zur Qualitätsverbesserung von Wurst hat sich der Einsatz von Kasein in den USA auf Produkte wie die simulierte Schlagsahne, bzw. Pulver für Instant- Morgenmehlspeisen ausgedehnt.

Ein gutes Beispiel für die Nutzung der funktionellen Eigenschaften von Kasein wird durch die Textilherstellung aus ersponnenen Kaseinfasern gegeben. Dieses Grundprinzip wendet man auch zur Herstellung von Lebensmitteln an, wie künstlichem Fleisch aus Kasein oder aus Sojaproteinen. VISSER /49/ stellte aus Kasein ein Schaummittel durch teilweise Hydrolyse mit Kalziumhydroxyd bei einem pH-Wert 10 – 12 her.

MINAMI et al. /51/ homogenisierten eine Paste aus feuchtem Säure-Rohkasein und Magermilch, setzten Zucker zu und verdampften das Wasser, um eine proteinreiche gesüßte Kondensmilch zu erhalten.

CRAIG und COLMEY /56/ stellten durch Mischen von Kasein, Zucker und Mehl in heißem Wasser mit ca. 20 % Backfett ein pflanzenähnliches Biskuit-Gebäck her. Dabei bildet Natriumhydrogencarbonat im Teig Natriumkaseinat und Kohlenoxid, das die Masse auflockert.

Diese Beispiele beweisen, dass für die Verarbeitung in Lebensmitteln im Allgemeinen die funktionellen Gesichtspunkte wichtig sind.

Nach Sektoren teilt sich der Verbrauch von Kasein und Kaseinaten wie folgt auf (1992; in 1000 t)

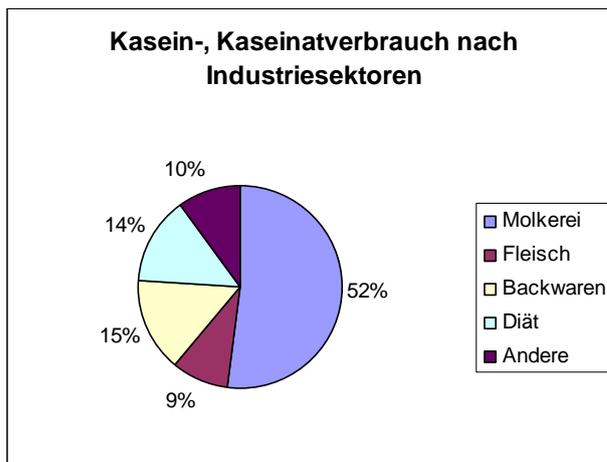


Abb. 3-8: Kasein und Kaseinatverbrauch in der Lebensmittelindustrie /54/

3. 5. 2 Photoresiste

Um periodische Strukturen in Folien, Blechen, Scheiben etc. von kleiner als 1 mm zu erzeugen, kommen mechanische Verfahren wie Stanzen oder Lochen auf Grund ihres begrenzten Auflösungsvermögens nicht mehr zur Anwendung. Deshalb können diese Mikrostrukturen nur noch auf photolithographischem Wege hergestellt werden. Angewandt wird dieses Verfahren u. a. zur Herstellung von strukturgeätzten Blechen (Formteilätze) für:

- Flachmasken für Monitorröhren,
- Scherblätter für Rasierapparate,
- Druckmatrizen,

und in der Halbleitertechnik zur Herstellung von integrierten Schaltkreisen:

- auf Leiterplatten,
- auf Mikrochips.

Für diese Technologie werden Photoresiste eingesetzt. Photoresiste sind Materialien, deren Löslichkeitsverhalten sich durch Belichtung oder Bestrahlung ändert. Sie setzen sich aus Trägerpolymeren (z. B. Gelatine, Kasein, Polyvinylalkohol) und einem Photoinitiator wie z. B. Chromate, Dichromate, Bisazide zusammen. Man unterscheidet sie ferner in positiv und negativ arbeitende Photoresiste. Die ersteren werden durch den photochemischen Abbau bzw. Umwandlung von funktionellen Gruppen leicht löslich. Letztere werden dagegen durch die Photopolymerisation schwer löslich bis unlöslich. Zu dieser letzten Gruppe

gehört das Kasein. Als Grundbestandteil für Photoresiste wird denaturiertes Kasein eingesetzt, welches sich dadurch auszeichnet, dass es sehr reaktionsfähig ist. /65, 66, 77/

3. 5. 3 Weitere Anwendungen

Als weiteres Kaseinprodukt ist Galalith (griechisch: Milchstein) bekannt. Dieser sogenannte **Kaseinkunststoff** wurde 1904 durch eine Internationale Gesellschaft mit deutscher Beteiligung, der Galalith Gesellschaft Hoff & Co, in die Produktion in Deutschland und Frankreich überführt. Bereits im Jahre 1897 wurde dazu ein deutsches Patent erteilt. Die Herstellung von Kunststoff auf Kaseinbasis verbreitete sich in der ganzen Welt. Als wichtigste Produkte auf diesem Gebiet sind Erinoid (UK), Aladdinite (USA), Casolith (NL) und Lactoloid (JPN) zu nennen. Für die Produktion wurde das am besten für diese Zwecke geeignete Labkasein mit einer Korngröße von 350 µm verwendet, mit Füllstoffen, Farbstoffen und Wasser auf 20 bis 35 % Trockensubstanz gemischt und nach einer Haltezeit zur Gleichgewichtseinstellung durch erhitzte Düsen bei hohem Druck (15 bis 75 MPa) gepresst (extrudiert). Die Plastikstäbe wurden danach in Wasser gekühlt, geformt, gegebenenfalls geschnitten und für mehrere Tage in einer verdünnten Formaldehydlösung gehalten sowie danach bearbeitet und poliert. Das Einsatzgebiet dafür waren die Herstellung von Knöpfen, Griffen, Spiel- und Schreibwaren, Galanteriewaren und Schmuck, wobei Kaseinkunststoff auch zur Imitation von Elfenbein genutzt wurde. /5, 67/

Eine Blütezeit erlebte Kasein während des 1. Weltkrieges, aber auch in den Jahren 1940 bis etwa 1960, als auf Kasein-Basis Kunststoffe, Reinigungsmittel und Kosmetika hergestellt wurden.

Ein weiteres Anwendungsgebiet von Kasein war die Herstellung von **Kaseinfasern**. Die Kaseinfaserproduktion umfasste folgende Schritte: Herstellung einer 20 %igen Kaseinlösung in Natronlauge und Einleiten eines dünnen Strahls der Kaseinlösung in ein Säurebad mit anorganischen Salzen und Schwermetallen. Die so gebildeten Stränge konnten als Ersatz von Wolle verwendet werden. Zwar erreichten sie nicht die Zugfestigkeit von Wolle, verfilzten jedoch auch nicht. Durch weitere Versuche sollten die Kaseinfasern gehärtet werden, wobei eine Möglichkeit in der Acetylierung bestand. Bis zum zweiten Weltkrieg gab es Kaseinfasern unter den Namen Aralac (USA), Casolana (NL), Fibrolane (UK), Lanital und Merinova (Italien). Die Produktion der zwei letzt-

genannten Produkte reichte bis in die siebziger Jahre des 20. Jahrhunderts. In den 60er Jahren wurden bis zu 10 000 t Kasein für diese Anwendung genutzt. /1/

Die Kaseinfasern fanden in Kleidung und Teppichen in Verbindung mit anderen Fasern Verwendung, wurden zur Produktion von Filzhüten und zur Herstellung von Bürsten als Pferdehaarerersatz eingesetzt. Sie konnten jedoch nicht gegen die Konkurrenz der synthetischen Fasern bestehen. Heute werden Kaseinfasern aber noch in Japan als Seidenersatz (Kasein als Co-Polymer) verwendet z. B. für Herren-Binder.

Auch im Bereich des Bauwesens ist die Verwendung von Kasein bekannt. Vermutlich wurde Milcheiweiß bereits bei den Höhlenmalereien als Bindemittel benutzt. Mit **Kaseinleim**, der aus Quark und Kalk hergestellt wurde, fertigten ägyptische und chinesische Handwerker Tischlerarbeiten an. **Kaseinmörtel**, ein Gemisch aus Quark, Sand und gelöschtem Kalk wurde zum Bau von Gebäuden und später auch von Kirchen verwendet. Die Wandgemälde der Sixtinischen Kapelle und viele Innen- und Außenfresken der Kirchenmaler verdanken ihre Haltbarkeit der Kaseintechnik. Noch zu Beginn des 20. Jahrhunderts war die Verwendung von Kasein zur Herstellung von Holzleim ein großes Anwendungsgebiet. Färber benutzten es als Bindemittel zum Färben von Leder und Stoffen.

Erst seit kurzer Zeit wurde Kasein von Malern, Färbern und für Chemieprodukte, die mit nachwachsenden Rohstoffen arbeiten, wieder entdeckt. Manche Hersteller verwenden Kaseinleim beim Verlegen von Teppich- oder Parkettböden. Auch bieten bereits Fachmärkte Naturwandfarben an, die für Allergiker geeignet sind und aus Kasein sowie anderen Naturstoffen bestehen. /62/

In Abb. 3-9 ist der Kasein und Kaseinatverbrauch 1992 nach Ländern geordnet (in 1000 t)

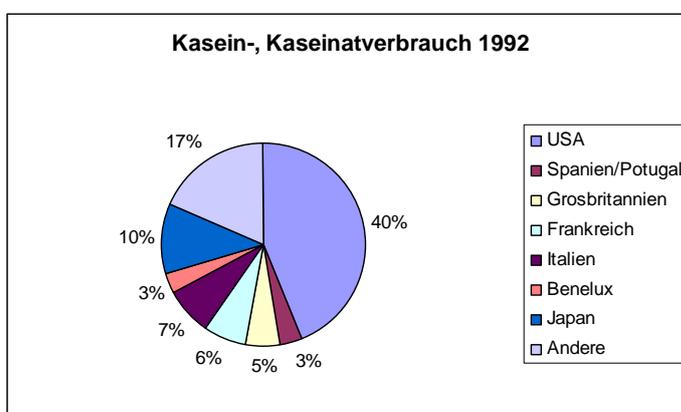


Abb. 3-9: Kasein und Kaseinatverbrauch 1992

Weitere Anwendungsgebiete für Kasein sind die Elektroindustrie und die Mikrobiologie, bei letzterer dient es für die Zubereitung von Nährböden für Mikroorganismen.

Als Versuchsproduktionen sind auch Biopolymere für die Herstellung von Folien, Einweggeschirr oder Dämmmaterial auf Kaseinbasis erhältlich, wobei Kasein als nachwachsender Rohstoff eine Rolle spielt.

Weiterhin werden sogar Uhren aus Kasein hergestellt. Die „Swiss Cheese Watch“ stammt von einem Schweizer Marketingfachmann, der Kasein als einen natürlichen Grundstoff der Milch dafür einsetzt. /54/

4 Material und Methoden

In den nachfolgenden Unterkapiteln werden die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Materialien und Methoden beschrieben. Die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit bestand in der Entwicklung eines neuen Verfahrens. Aus diesem Grund ist bei einigen Versuchen deren Durchführung im Kapitel „Ergebnisse und Diskussion“ detailliert beschrieben.

4.1 Versuchsmaterialien

Im Folgenden werden die zur Herstellung der Kaseinpräparate (Lab-, Säurekasein und Kaseinpulver) verwendeten Rohstoffe und der analytischen Untersuchung der Präparate beschrieben.

4.1.1 Rohstoffe

Als Rohstoff wurde nicht verkehrsfähige Milch für die Lab-, Säurekaseingewinnung und verkehrsfähige Milch für die Kaseinpulvergewinnung verwendet.

In zweiwöchigem Rhythmus wurden verschiedene NV-Milchproben Tab. 4-1 vom IASP zur Kaseinisolierung/Kaseingewinnung zur Verfügung gestellt.

In Tab. 4-1 sind die Angaben zur eingesetzten NV-Milch zusammengefasst.

Tab. 4-1: Kennwerte der NV-Rohmilchproben für die Gewinnung von Lab-, Säurekaseinpräparaten /62, 63/

Nr-	pH-Wert	TS %	Aschegehalt %	Fett (LKV) %	Eiweiß % (LKV) /nach Entfettung ⁺	Laktose (LKV) %	Kaseingehalt %	Molkenproteine %
Labkasein								
1	6,81	12,27	0,71	2,44	3,44/3,50	3,31	2,77	0,66
2	6,72	14,26	0,77	4,82	3,69/3,83	4,64	3,11	0,57
3	6,73	14,09	0,82	4,55	3,68/3,81	4,32	2,91	0,77
4	6,74	13,41	0,64	3,45	3,25/3,36	4,41	2,35	0,89
5	6,68	11,85	0,66	3,40	2,36/2,44	4,85	1,94	0,42
6	6,53	18,07	0,78	4,77	3,45/3,62	4,05	2,75	0,70
7	6,54	13,55	0,71	4,51	2,77/2,89	4,70	2,09	0,67
8	6,55	12,68	0,66	2,86	2,95/3,01	5,01	2,46	1,49
Säurekasein								
1	6,66	16,42	0,64	8,66	2,82/3,00	3,63	2,18	0,63
2	6,41	13,16	0,76	4,17	3,60/3,75	4,55	2,55	0,77
3	6,46	14,46	0,80	4,98	3,86/4,00	4,79	2,80	0,73
4	6,62	13,40	0,73	4,91	3,38/3,50	4,63	2,42	0,65

5	6,60	12,41	0,80	4,35	3,65/3,80	3,51	2,51	0,86
6	6,56	12,23	0,64	3,78	2,93/3,00	4,63	2,01	0,6
7	6,62	13,56	0,73	4,49	4,02/4,18	4,58	3,01	0,77
8	6,63	14,28	0,70	5,66	3,22/3,40	4,73	2,45	0,55

⁺ rechnerisch für Zusammensetzung nach Entfettung ermittelt

Tab. 4-2 enthält Angaben zur mikrobiologischen Betriebskontrolle der eingesetzten NV-Milchen sowie zur Antibiotikagabe, Behandlungszeitraum und Hemmstofffreiheit.

Tab. 4-2: Mikrobiologischen Betriebskontrolle der NV-Rohmilchproben /63/

Nr-	Melktag	Zellzahl 1000/ml	Keime in 1000/ml	Hemm- stoff	Antibiotika [g/Injektor]	1. Behand- lungstag	Letzte Behand- lung
Labkasein							
1	12.11.03	1518	-	positiv	-	-	-
2.	24.11.03	1541	1050	negativ	Ubrocef 10 (1 Vertel)	19.11.	21.11.
3	08.12.03	3519	-	positiv	-	-	-
4	05.01.04	1452	922	-	Ubrocef	01.01.	03.01.
5	20.01.04	59	1050	positiv	Dexamethason ,Hipocalz Ca- P- Mangel	19.01	-
6	02.02.04	320	1050	negativ	Ubrocef 2 x 10g	29.01	30.01.
7	17.02.04	6423	1050	-	Neoclox (3 Tage je 20 ml	13.02	15.02.
8	02.03.04	1109	113	-	Ubrocef	-	29.02.
Säurekasein							
1	22.11.04	-	-	-	Ubrocef	19.11.	21.11.
2	29.11.04	2085	605	positiv	Ubrocef	28.11.	29.11.
3	13.12.04	2239	212	negativ	Ubrocef 10 mg	10.12.	12.12.
4	03.01.05	1417	1050	negativ	Ubrocef	01.01.	03.01.
5	24.01.05	2433	681	negativ	Ubrocef	22.01.	24.01.
6	31.01.05	2146	773	negativ	Ubrocef	30.01.	31.01.
7	15.02.05 *	280	672	negativ	Ubrocef	05.02.	07.02.
8	15.02.05	750	1050	negativ	Ubrocef	09.02.	11.02.

* unterschiedliche Tiere, z.B. Kuh Nr. 286 und Kuh Nr. 325

Mit Ausnahme der Charge 8 (Säurekasein) liegt immer Milch vom letzten Behandlungstag vor.

In der nachfolgenden Tab. 4-3 sind die Ergebnisse der von der FH Hannover durchgeführten Analytik der verkehrsfähigen Milchproben I, II für die Herstellung von Kasein-, Molkenprotein-, und Gesamtproteinpulver enthalten. /76/

Tab. 4-3: Chemische Zusammensetzung der V-Magermilchproben I, II

Eigenschaft	Magermilch I Gesamtproteinpulver	Magermilch II Kasein-, Molkenproteinpulver
Proteingehalt %	2,95	3,54
Fettgehalt %	0,03	0,03
Laktosegehalt %	4,83	4,98
Trockenmasse %	8,5	9,27

4. 1. 2 Chemikalien

Tab. 4-4 : Produktname und Hersteller der verwendeten Chemikalien

Produkt	Hersteller
Schwefelsäure, stickstofffrei, ca. 98 %ig	MERCK, Darmstadt
Natronlauge, stickstofffrei	CHEAPOL
Kaliumsulfat	CHEAPOL
Thymolphthalein, rein	SERVA
Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat	MERCK, Darmstadt
Methylrot	MERCK, Darmstadt
Ethanol, 95 %ig	ROTH, Karlsruhe
Bromkresolgrün	MERCK, Darmstadt
Diäthyläther, 99 %ig	ROTH, Karlsruhe
Saccharose (Rohrzucker), rein	MERCK, Darmstadt
Acrylamid	SERVA
BIS (N,N' Methylenebisacrylamid	SERVA
Glycin, 98 %ig	MERCK, Darmstadt
Harnstoff	MERCK, Darmstadt
Dithiothreitol	SERVA
Bromphtonolblau	MERCK, Darmstadt
Coomassie Brilliant Blue, rein	SERVA
Methanol, 99,9 %ig	MERCK, Darmstadt
Essigsäure, 99 %ig	MERCK, Darmstadt
Tetramethylethyldiamin (TEMED), 97 %	FERAK, Berlin

Ammoniumperoxodisulfat	MERCK, Darmstadt
Natriumchlorid, 99,9 %ig	ROTH, Karlsruhe
Ammoniak-Lösung, 25%ig	MERCK, Darmstadt
Petroleumbenzin, 90 %ig	MERCK, Darmstadt
Salzsäure 25%ig	MERCK, Darmstadt
Schwefelsäure, 90 %	MERCK, Darmstadt
Amylalkohol	MERCK, Darmstadt
Tiersches Käselabextrakt P-99, Stärke nach Soxhlet ca. 1: 15 000	CHRISTIAN HANSEN, Lübeck
Magnesiumacetat-Tetrahydrat-Lösung, 12 %	SERVA
Emulgator E30 – 70	LEUNA-TENSIDE
Phenol, 99,5 %ig	ROTH
Natriumtetraborat Decahydrat Wasserfrei, 97 %	FLUKA AG, Buchs, Schweiz
Enzymatische Analyse- Laktose/D-Galaktose UV-Test	Fa. R-Biopharm, Boehringer Mannheim

4. 2 Methoden der chemischen Analytik

4. 2. 1 Analyse der Rohmilch

Die Rohmilch für die Kaseingewinnung wurde am IASP und LKV-Waldsiedersdorf untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 4-1, 4-2, 4-3 aufgeführt.

4. 2. 2 Bestimmung des Aschegehaltes

Die Bestimmung der gebundenen Asche für Lab- und Säurekasein, Milchpulver erfolgt bei 825 °C nach § 35 LMBG L02.09-2 und IDF 89: 1979 (entspricht DIN 10451).

4. 2. 3 Bestimmung des Proteingehaltes (nach KJELDAHL)

Der Proteingehalt wurde für Kaseinpräparate und Milchpulver mit der Methode nach Arbeitsvorschrift FG LM-Rheologie durchgeführt, entspricht der DIN EN ISO-Norm 8968 (1, 2, 4) 2002.

Der Proteingehalt entspricht dem Kaseingehalt in den ausgefällten und gewaschenen Lab- und Säurekaseinen. Es ist möglich, den Gehalt als Absolutwert bzw. bezogen auf Trockensubstanz anzugeben.

Für Kaseine wird der Umrechnungsfaktor vom Stickstoff auf Proteine von 6,38 verwendet.

4. 2. 4 Bestimmung des Fettgehaltes

Der Fettgehalt wurde für Labkaseinpräparate mit der Methode nach SCHMID-BONDZYNSKI-RATZLAFF DIN 10 313 bestimmt.

Die Eiweißstoffe werden durch Kochen mit Salzsäure aufgeschlossen. Das Fett wird nach Zugabe von Ethanol mit Diäthyläther und Petroleumbenzin extrahiert, von diesen durch Abdampfen oder Destillation befreit und nach der Trocknung gewogen.

Der Fettgehalt wurde für Säurekaseinpräparate und Milchpulver mit der Methode nach RÖSE-GOTTLIEB DIN 10 312 und für Milchproben nach GERBER bestimmt.

4. 2. 5 Bestimmung der Restfeuchte

Die Bestimmung der Trockenmasse erfolgte durch Trocknung bei $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ während 4 Stunden nach § 35 LMBG L02.09-4 und IDF 78C: 1991 (entspricht DIN 10453).

4. 2. 6 Bestimmung des Laktosegehaltes (enzymatisch)

Der Laktosegehalt wurde mit der Methode nach der Vorschrift der

Fa. R-Biopharm/Boehringer Mannheim (Methoden der Enzymatischen Analyse-Laktose/D-Galaktose UV-Test) bestimmt.

4. 2. 7 Bestimmung der Labfähigkeit der Milch

Die Labfähigkeit der Milch wurde nach Soxhlet bestimmt (Anlehnung an IDF Standard 157:1992). Dazu werden 30 ml der auf 35 °C temperierten NV-Milch erwärmt und bei dieser Temperatur mit z.B. 30 µl Flüssiglab, Labstärke 1:15000 lt. Spezifikation, Firma CHR. HANSEN versetzt. Die Gerinnungszeit wird visuell ermittelt und die berechnete Labstärke für die Labfällung bei der Labkaseingewinnung verwendet. Durch diese Modalität verändert sich die in Tab. 5-4 formulierte spezifische Labzugabe in ml/l.

Diese Methode erscheint beim Stand der vorliegenden Messtechnik nicht mehr zeitgemäß.

4. 2. 8 Bestimmung der Hitzestabilität

Die Hitzestabilität wird im praktischen Versuch bei der Erhitzung von 15 ml NV-Milch auf 75 °C und 85 °C über 30 s bestimmt.

4. 2. 9 Methode zur Labkaseinentfettung

Die Entfettung der Kaseine erfolgt mit einem 1:1 Gemisch von Diäthyläther/Petroläther (Charge 1, 2, 3, 4) mit reinem Diäthyläther (Charge 5, 6), mit einem Gemisch von Diäthyläther/Petroläther und Ethanol (2:1, Charge 8.2 als Nassextraktion) und mit Chlorophorm als Zweitextraktion (Charge 5) in einem Soxhlet-Apparat bei einer Extraktionszeit von 0,5; 2 bis 6 h und einer Temperatur von 90 °C.

4. 2. 10 Elektrophoretische Untersuchungen der Labkaseinpräparate

Zur elektrophoretischen Untersuchung wurden die Labkaseinchargen 5 und 6 aus NV-Milch, die Neuseeland-Säurekaseinprobe (Referenzkasein) und Ultrafiltrationspräparate nach der UF-Gewinnung von Gesamtmilchprotein, Kasein und Molkenprotein an der Fachhochschule Hannover verwendet.

Um die Positionen der gefärbten Proteinbanden zuordnen zu können wurden, als Marker Eichproteine: α 1-Kasein Lot No: 82H9575, β -Lactoglobulin Lot No:75H7035 und α -Lactalbumin Lot No: 89F8225, alle von der Firma SIGMA, verwendet.

Für die Untersuchung dieser Präparate, die sich einerseits aus assoziativ verhaltenden Kaseinen, andererseits aus Gesamtmilchproteinen bzw. isolierten Molkenproteinen zusammensetzen, wurde „native“, alkalische Disk-Polyacrylamidgel-Elektrophorese in Gelen 4/10 und ein Puffersystem 8,3/6,8/8,8 pH eingesetzt. Um die Trennung optimal zu gestalten wurde sowohl eine Diskontinuität der Porendimensionierung als auch in der pH-Funktion eingestellt. Es wurde gesichert, dass sämtliche Milchproteine negativ beladen waren, somit ergaben sich anodische Trennläufe.

Polyacrylamidgele

Räumlich vernetzte, klare und durchsichtige Polycrylamid(PAA)gele werden durch Copolymerisation von Acrylamidmonomeren mit dem Vernetzer N,N' -Methylendiacylamid (BIS) hergestellt. Die Polymerisation läuft in Anwesenheit von Katalysator N,N,N',N' -Tetramethylethylendiamin ab. Ein Zusatz eines Reaktionsstarters (Initiator) wie z.B. Ammoniumperoxodisulfat ist darüberhinaus unerlässlich. Die Polymerisation erfolgt bei Zimmertemperatur unter Luftausschluss, da Sauerstoff ein Radikalfänger ist. Die Porengröße des Gels lässt sich durch die Totalacrylamid-Konzentration (T in %) und dem Vernetzungsgrad C (englisch: Crosslinking, C in %) exakt und reproduzierbar einstellen:

$$C = \frac{b \cdot 100}{a + b} (\%) \quad T = \frac{(a + b) \cdot 100}{v} (\%) \quad [\text{Gl. 4-1}]$$

Dabei ist:

a = Masse Acrylamid in g

b = Masse Methylenbisacrylamid in g

v = Volumen des zu polymerisierenden Gelansatzes in ml

Lösungen:

Tab. 4-5: Acrylamidvorratslösung – Lösung Nr. 1

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge	Endkonzentration
1.	Acrylamid (MW 71,08 g/mol)	60 g	30 % m/v
2.	BIS (N,N' Methylenbisacrylamid, MW 154,2 g/mol)	1,6 g	0,8 % m/v
3.	Dest. Wasser	auf 200 ml auffüllen	
Aufbewahrung bei 4 °C ohne Lichteinwirkung. Acrylamid ist neurotoxisch. Die Arbeiten sollen mit Gummihandschuhen bei Vermeidung von Kontakt mit Acrylamid und Bis erfolgen.			

Tab. 4-6: 1,5 M Tris-HCl Trenngelpuffer, pH 8,8 – Lösung 2

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge	Endkonzentration
1.	Tris (MW 121,1 g/mol)	36,3 g	1,5 M
2.	4 N HCl	auf pH 8,8 einstellen	
3.	Dest. Wasser	auf 200 ml auffüllen	

Tab. 4-7: 0,5 M Tris-HCl Sammelgelpuffer, pH 6,8 – Lösung 3

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge	Endkonzentration
1.	Tris (MW 121,1 g/mol)	3,0 g	0,5 M
2.	4 N HCl	auf pH 6,8 einstellen	
3.	Dest. Wasser	auf 50 ml auffüllen	

Tab. 4-8: 0,025 M Tris, 0,192 Glycin Elektrodenpuffer, pH 8,3 – Lösung 4

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge	Endkonzentration
1.	Tris (MW 121,1 g/mol)	12,1 g	0,025 M
2.	Glycin (MW 75,07 g/mol)	57,6 g	0,192 M
3.	Dest. Wasser	auf 4000 ml auffüllen	
Der Elektrodenpuffer hat einen pH-Wert von ca. 8,3. Weitere pH-Korrekturen sind nicht notwendig. Haltbarkeit bei Kühlschranklagerung 2 Monate.			

Tab. 4-9: Pufferpuffer zur Auflösung und Dissoziation der Untersuchungsproben (2 x konzentriert; pH = 6,8)- Lösung 5

Lfd. Nr.	Pufferkomponente	Menge	Endkonzentration
1.	0,5 M Tris-HCl, pH 6,8 (Lösung 3)	2,5 ml	0,125 M
2.	Harnstoff (MW 46 g/mol)	3,68 g	8 M
3.	Dithiothreitol (MW 154,2 g/mol)	0,31 g	0,2 mM
4.	Bromphtonolblau (MW 691,9 g/mol)	1,2 mg	0,175 mM
5.	Dest. Wasser	auf 10 ml auffüllen	
Präzise Ergänzung mit dest. Wasser auf 10 ml zum Schluss ist notwendig da der Harnstoff ein beträchtliches Volumen einnimmt. Portioniert und eingefroren mehrere Monate haltbar.			

Proteinfärbung:

Nach der Proteintrennung während 60 – 70 min bei Zimmertemperatur werden die Proteinbanden in den Gelen über Nacht in der Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB) – Färbelösung gefärbt, der Untergrund wird anschließend in der Entfärbelösung bis zur Farblosigkeit gewaschen.

Tab. 4-10: Färbelösung zur Anfärbung der getrennten Proteinbanden (0,025 % CBB, 40 % Methanol, 7 % Essigsäure)- Lösung 6

Lfd. Nr.	Färbelösungskomponente	Menge
1.	Coomassie Brilliant Blue R-250 (0,3 mM)	0,5 g
2.	Methanol absolut (40 %)	800 ml
3.	Essigsäure (Eisessig) (7%)	140 ml
4.	Mit dest. Wasser auf ein Gesamtvolumen von 2000 ml auffüllen.	

Tab. 4-11: Entfärbelösung zur Beseitigung der Untergrundfärbung (40 % Methanol, 7 % Essigsäure) – Lösung 7

Lfd. Nr.	Färbelösungskomponente	Menge
1.	Methanol absolut (40 %)	400 ml
2.	Essigsäure (Eisessig) (7%)	70 ml
3.	Mit dest. Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1000 ml auffüllen.	

Die Proteintrennungen wurden in Gelen bestehend aus Sammel- und harnstoffhaltigem Trenngel folgender Zusammensetzung durchgeführt:

Gelrezepturen:

Die für eine gute Proteintrennung erforderliche Diskontinuität wird durch Aufeinanderpolymerisieren von Trenngel (T 10 %) und Sammelgel (T 4 %) erreicht.

Die Gele werden wie in Tab. 4-12 und 4-13 aufgeführt hergestellt, dann in Dual-Gel-Caster in die Trennkammern einpipettiert und dort zur Polymerisation gebracht. Das erforderliche Gelvolumen für eine Gelplatte bei 0,075 cm Spacer beträgt 3,18 ml für Trenngel (5,3 cm Höhe) und 1,2 ml für Sammelgel (2 cm Höhe).

Tab. 4-12: Sammelgel zum Fokussieren der Proteinbanden (T=4%, C=2,6%)

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge
1.	Acrylamid-Vorratslösung	0,67 ml
2.	0,5 M Tris-HCl, pH 6,8	1,25
3.	Tetramethylethyldiamin (TEMED)	2,5 µl
4.	Harnstoff	-
5.	Dest. Wasser	3,05
6.	10 % Ammoniumperoxodisulfat (APS)	25 µl
7.	Gesamtvolumen	5 ml

Tab. 4-13: Trenngel zur Separierung der Proteinbanden (T=10%, C=2,6%)

Lfd. Nr.	Gelkomponente	Menge
1.	Acrylamid-Vorratslösung	16,7 ml
2.	1,5 M Tris-HCl, pH 8,8	12,5
3.	Tetramethylethyldiamin (TEMED)	16,7 µl
4.	Harnstoff	18,4 g
5.	10 % Ammoniumperoxodisulfat (APS)	250 µl
6.	Mit dest. Wasser auf ein Gesamtvolumen von 50 ml auffüllen. Erst kurz vor dem Auffüllen auf das Endvolumen APS zugeben und schnell in die Trennkammern pipettieren.	

4. 2. 11 pH-Wert

Der pH-Wert wurde mit einem handelsüblichen (Inline-Online-pH-Meter Consort) für Milch vor Einlaben/Fällung gemessen. Es erfolgte die Aufzeichnung von 2 Messpunkten pro Minute.

4. 2. 12 Kaseinanalytik mittels HPLC ÄKTA basic 900

Neben der Standardanalytik wurde zur Ermittlung der Veränderungen der Kaseinmatrix durch Säuerung eine Analytik mit der o. g. HPLC durchgeführt.

Es handelt sich um ein automatisches Flüssigkeits-Chromatografie-System der Fa. Amersham Biosciences (Schweden) mit folgender Charakteristika:

1. Fluxraten von 100 ml/min bis zu einem Druck von 10 MPa
2. Arbeitsbedingungen für Flüssigkeitschromatographie von Mikrogramm zu Gramm-Einheiten.
3. Das Gerätesystem besteht aus einer kompakten (variablen) Trennsäulen-anwendung und ist zur Sicherung der Betriebsabläufe und zur Registrierung und Speicherung der anfallenden Messwerte mit einem PC kombiniert.
4. Ein Fraktionssammler kann ebenfalls zugeschaltet werden.
5. Als Pumpe dient die Type P-907.
6. Zwei Trennsäulen (für Kaseine (Separose) und Molkenproteine) stehen zur Verfügung.

Die wesentlichen Bausteine der HPLC sind:

1. Monitor UV-900
2. Pumpe P-900
3. Variable Trennsäule
4. Injektionsventil INV-907
5. Mixer M-925
6. Mischkammer
7. UV-Flusszelle

Probenvorbereitung/Probenumfang:

25,0 mg einer repräsentativen Trockenprobe Kasein werden in 5 ml Chromatographie-Hochsalzpuffer gelöst (0,8 M Natriumphosphat, 3,75 M Harnstoff, pH 6,0) und zusätzlich auf 8 M Harnstoff (fest) ergänzt.

Die Probe wird zur Reduktion eventueller Disulfide, bzw. zur Vermeidung solcher Bindungen mit 40 mg Di-Thiothreitol versetzt und eine Nacht im Kühlschrank bei 6 °C zur vollständigen Lösung gelagert. Vor der Chromatographie an der HIC-Säule wird die Probe filtriert (Porenweite 20 µm) und 100 µl auf die Säule zur Trennung in einem Lauf (55 min) aufgetragen.

4.3 Methoden der physikalischen Analytik

4.3.1 Thermische Analyse

Wie veröffentlichte DSC-Untersuchungen belegen, sind diese geeignet für die thermoanalytische Charakterisierung nativer und verarbeiteter Proteine, wie sie im Labkasein(at) bzw. im Säurekasein(at) vorliegen (Kaseinate bevorzugt wegen deren Löslichkeitsverhalten).

Insbesondere durch die Säurefällung geht die natürliche Mizellenstruktur verloren und ist nicht mehr renativierbar. Ebenfalls liegt bei dieser Herstellungstechnologie keine Gelstruktur vor, die das Applikations-, insbesondere das Lösungsverhalten entscheidend erschwert.

Insgesamt ist diese Methodik als Vergleichsmethode geeignet, um die in diesem Zusammenhang gesuchten Unterschiede nachweisen zu können.

Von größter Wichtigkeit ist die Feststellung von materialabhängigen Unterschieden (Technologie, Rohstoff) im Vergleich der hergestellten Labkaseine zum Basismaterial „Neuseeland-Kasein“.

Beschreibung der Messdurchführung/Versuchsmethodik:

Die Untersuchungen erfolgten mit der Netzsch-Thermogravimetrieanalysetechnik. /60/

Der untersuchte Temperaturbereich war 20 bis 490 °C mit einer Aufheizrate von 10 K/min. Jeweils erfolgte eine Doppelbestimmung des Probenmaterials. Insgesamt erfolgten 12 Einzelmessläufe.

Gearbeitet wurde zum Schutz der Proben mit Stickstoff als Trägergas.

Die in den Messtiegel eingefüllten Proben wurden mittels Unterdruck/Vakuum evakuiert. In Abhängigkeit von der Evakuierungszeit und dem angelegten Vakuum kann der Wassergehalt gering differieren.

Ziel der vergleichenden Untersuchungen:

Ziel der vergleichenden Untersuchungen ist die Ableitung/Gewinnung charakteristischer Größen für die thermische Stabilität der jeweiligen Produkte als sogenannten „Fingerprint“; ermittelt durch ein physikalisch orientiertes Messverfahren für ein Standardprodukt bzw. ein Vergleichsprodukt. Standardprodukt ist das Neuseeland-Kasein, dessen chemische Analytik vorliegt.

Aus den Messkurven (Massenverlauf und DSC-Signal) sollen charakteristische Peaks, Kurvenverläufe, deren Wendepunkte/Wendetangenten und die dazugehörigen Temperaturen bzw. onset-offset-Temperaturen analysiert und für den Vergleich der Materialeigenschaften herangezogen werden.

Aus den DSC-Verläufen sollen durch den Operateur die aussagefähigsten Ergebnisse bezüglich der chemischen Stabilität infolge thermischer Belastung durch die Analyse des DTG-Diagrammes abgeleitet werden.

Gleichzeitig soll die aufwendige chemische Analytik /64/ eingeschränkt werden bzw. nicht mehr notwendig sein.

4. 3. 2 Löslichkeitsuntersuchungen

4. 3. 2. 1 Bestimmung der Löslichkeit von isoliertem Kasein in DMF

Der Schwerpunkt der laborexperimentellen Arbeiten war die Untersuchungen zur Löslichkeit an isoliertem Kasein in Dimethylfluorid (DMF). In diesem Rahmen waren Proteinkonzentrationen zwischen 0,5 und 5,0 % zu untersuchen, die möglichst ohne pH-Veränderung und ohne Hydratisierung mit dem Lösungsmittel vermischt werden sollen. Es wurden zwei unterschiedliche Methoden zur Bewertung der Löslichkeit herangezogen:

1. Zentrifugation der Dispersion, wobei bei vollständiger Lösung des Proteins in DMF kein Niederschlag zu verzeichnen ist; und
2. nephelometrische Messungen zur Beurteilung der Löslichkeit. Für diese Messungen wurden 3 unterschiedliche Wellenlängen vorgeschlagen, die zur Beurteilung von Abwässern (690 nm) dienen bzw. in publizierten Arbeiten angewendet wurden (620 und 405 nm).

Für die Untersuchungen der Löslichkeit von Kasein in DMF wurden zwei Methoden eingesetzt. Die Trübungsmessungen wurden bei 405 nm durchgeführt. Untersuchungen an Protein/DMF- Dispersionen haben gezeigt, dass die Empfindlichkeit bei dieser Wellenlänge signifikant größer ist und damit besser geeignet ist als Messungen bei 620, 690 oder 900 nm.

Eine andere Methode zur Beurteilung der Löslichkeit von Kasein in DMF ist die Zentrifugation, die konstant bei 4000 g, 15 min bei 20 °C durchgeführt wurde. Das Fugat wird visuell beurteilt und ist zugleich das Substrat für die Durchführung der Trübungsmessung bei 405 nm.

Die Anwendung der vorgestellten Methodik auf getrocknete Kaseine und resultierende Befunde sind in Punkte 8 gefasst. Als Beispiele dienen: Säurekasein aus Neuseelandkasein Nr. 1), Schwefelsäurekasein aus NV Rohmilch und das gleiche Kasein (beide Kaseinproben Nr. 5) bei pH 8,0 in Wasser dispergiert und schonend getrocknet.

4.3.2.2 Bestimmung der Löslichkeit von isoliertem Kasein in Natriumtetraborat

Die Zusammensetzung der Kaseinlösung für die Bestimmung der Löslichkeit sowie die Viskosität wie folgt: /62/

11,60 % Kasein

0,40 % Phenol

3,08 % Natriumtetraborat Decahydrat ($\text{NaB}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$)

0,10 % Emulgator E30 – 70

Phenol dient zum Schutz gegen mikrobiellen Befall. Der Emulgator E30 – 70 wirkt als Tensid. Luftdicht verschlossen, vor direkter Lichteinwirkung geschützt und bei 18 °C aufbewahrt ist die Lösung weit über sechs Monate lagerfähig. Ihr pH-Wert beträgt ca. 8,0 und ist in Übereinstimmung mit dem größten Absorptionsmaximum von Ammoniumdichromat, das in wässriger Lösung pH-abhängig ist, ausgewählt worden.

Durchführung:

Das Wasser wird auf 50 °C erwärmt. Die Kaseinmenge wird mit dem Wasser gemischt und 120 min unter Rühren (Magnetrührer; IKA-COMBIMAG TYP: RET) bei 50 °C gehalten. Anschließend werden das Phenol, das Natriumtetraborat und der Emulgator E30 – 70 zugegeben. Der pH-Wert wird gemessen und wenn nötig mit 0,1 N NaOH bzw. 0,1 N HCl eingestellt. Die Mischung wird dann unter Rühren innerhalb 5 min. auf 80 °C erwärmt. Diese Temperatur wird 2 min gehalten. Danach wird die Mischung auf Raumtemperatur schnell abgekühlt. Zur Beurteilung der Löslichkeit soll zum Schluss die Lösung zentrifugiert (Zentrifuge Sigma K 10, $n = 3000 \text{ min}^{-1}$, $t = 30 \text{ min}$) werden. Der Überstand soll verworfen und die feste Phase bei 105 °C getrocknet werden. Das Gewicht des trockenen Rückstands ist ein Maß für die Löslichkeit des Kaseins unter den jeweiligen Bedingungen.

Zur Bestimmung des Gewichts des getrockneten Kaseinrestes wird die feste Phase (Kaseinrest) direkt im Zentrifugenglas getrocknet und anschließend da gewogen. Die Einwaage des leeren Zentrifugenglases wird abgezogen.

4. 3. 3 Rheologische Messung der Löslichkeit

Die rheologische Messung wurden mit dem Universal Dynamischen Spektrometer UDS 200 von Paar-Physica Stuttgart, high-tech Luftlagerheometer mit allen Aufrüstungen, Zylindermesseinrichtung Z3 DIN, geriffelter Messkörper, konventionelle Spannungsmessung, Peltiertemperaturung bestimmt.

Für Kaseinlösungen (Lab-, Schwefelsäurekasein und Kaseinpulver) konnten konventionelle rheologische Scherversuche durchgeführt werden.

Fließ- und Viskositätsverhalten:

Die Abb. 4-1 zeigt schematisch ein prinzipielles Messprofil mit fünf Messabschnitten und Deformationsgeschwindigkeitsvorgabe als Messprofilvorgabe für eine rheologische Messung zur Aufnahme einer Fließkurve in den Abschnitten 3 und 5 sowie des rheodynamischen Verhaltens im Abschnitt 4.

In der nachfolgenden Abb. 4-1 ist die Versuchsvorgabe der Schergeschwindigkeit als mechanische Belastung über der Zeit dargestellt.

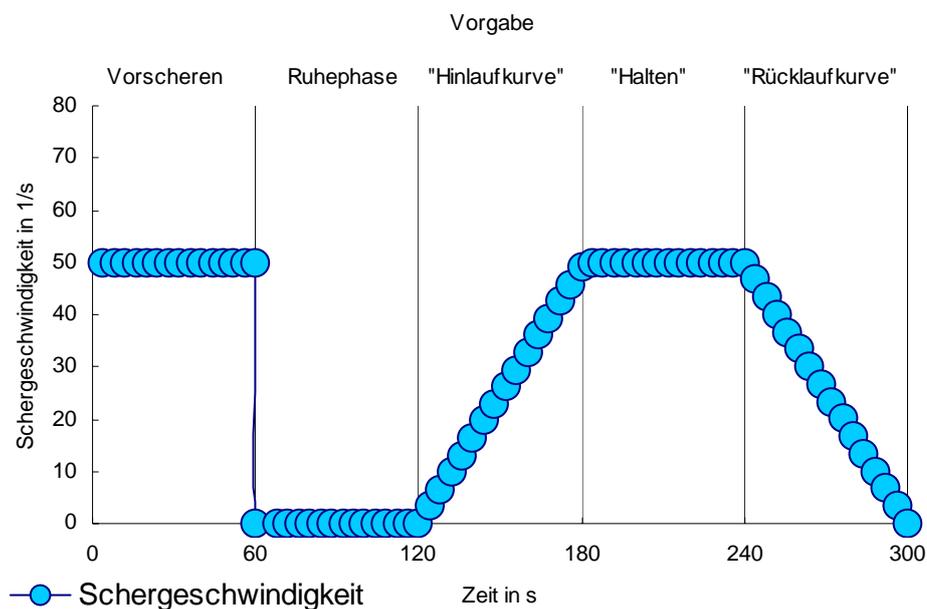


Abb. 4-1: Messvorgabe Scherversuch mit 5 Versuchsabschnitten zur komplexen Analyse

Voruntersuchungen haben ergeben, dass eine Abwärtsrampe („Rücklaufkurve“) einer Aufwärtsrampe („Hinlaufkurve“) vorzuziehen ist, da bei einer Abwärtsrampe der Korrelationskoeffizient bei einer Anpassung der Fließkurven an ein Deformationsmodell entscheidend höher ist.

Die Schergeschwindigkeit wird entsprechend dem Profil in den einzelnen Abschnitten vorgegeben. Folgendes Messprofil kam zum Einsatz:

1. Vorscheren $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$, 60 s zur Einstellung eines gleichen rheologischen Zustandes der Proben vor der Messung
2. Ruhephase $\dot{\gamma} = 0 \text{ s}^{-1}$, 60 s
3. Hinlaufkurve $\dot{\gamma} = 1 \dots 50 \text{ s}^{-1}$ mit 15 Messpunkten in 60 s
4. Halten $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$ mit 15 Messpunkten in 60 s
5. Rücklaufkurve $\dot{\gamma} = 50 \dots 1 \text{ s}^{-1}$ mit 15 Messpunkten in 60 s

Die Thixotropiefläche zwischen der Hin- und Rücklaufkurve als Maß für die strukturelle Differenziertheit der Proben wurde ebenfalls berechnet. Zur Berechnung der Strukturparameter (Bewertung struktureller Abbauvorgänge) werden immer die Daten des 5. Abschnittes, d. h. der Rücklaufkurve, herangezogen. Diese zeigen die höchste statistische Absicherung am Beispiel des Korrelationskoeffizienten und die geringste Standardabweichung und bieten daher die bessere Vergleichbarkeit der strukturellen Eigenschaften. Diese Werte ermöglichen einen Vergleich der Proben untereinander.

Folgende rheologische Standardmodelle werden genutzt:

Tab. 4-14: Rheologische Standardmodelle und dynamische/effektive Viskositäten /68/

Modell	Zustandsgleichung	effektive Viskosität	Anzahl der Modellparameter
	$\tau = f(\dot{\gamma})$ in Pa	$\eta_{\text{eff}} = f(\dot{\gamma})$ in Pas	
NEWTON	$\tau = \eta_{\text{DYN}} \cdot \dot{\gamma}$	$\eta_{\text{DYN}} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$	Linear strukturlos
OSTWALD DE WAELE	$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$	$\eta_{\text{eff}}(\dot{\gamma}) = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1}$	2 Nichtlineare strukturviskose nicht-Newton'sche Flüssigkeit

Linear strukturlos indiziert bei dieser Konzentration und Temperatur eine geringe Wechselwirkungsenergie zwischen dem jeweiligen Protein und dem Wasser der Lösung. Homogene Lösungen mit erhöhten Wechselwirkungskräften zwischen Eiweißen/Peptiden und Wasser als Lösungsmittel werden durch das OSTWALD/De WAELE-Modell beschrieben. In der homogenen Lösung sind Strukturen vorliegend, die aus Interaktionen zwischen den permanenten Dipolen der Proteine/Kaseine mit dem Wasser hervorgehen. Die Viskositätsfunktionen werden nach den aufgeführten Gleichungen aus dem Deformationssystem beschrieben.

4.3.4 Bestimmung der Prozessviskosität bei Gerinnung und Fällung

Die Bestimmung der Viskosität im Verlauf der Koagulumbildung der eingelabten und gesäuerten NV-Milch erfolgt mit dem Torsionsschwinger Rheoswing[®] RSD1-1.

Die Ergebnisse werden in Form von Meßkurven als Relation der Viskosität von der Zeit angegeben. Zur Aufzeichnung wurden 2 Messpunkten pro Minute gefasst.

Für Labkaseinherstellung wird der Schneidezeitpunkt des Koagulums bei einer Prozessviskosität von ca. 16 mPa s festgelegt.

Für Säurekaseinherstellung wurden unter ständigem Rühren je 90 s 1 ml 5 N Schwefelsäure zugegeben, bis ein pH-Wert von 4,6 erreicht wurde.



Abb. 4-2: Messanordnung zur Bestimmung von Prozessviskosität nach der Einlabung der Untersuchungsmilch

4.4 Laborausrüstungen

Zur Versuchsdurchführung erfolgte der Einsatz folgender Labormesstechnik/Laborgerätetechnik:

1. Torsionsschwinger, Rheoswing RSD 1-1, Paar Physica Stuttgart.
2. Drehzahlgesteuerter Rührerantrieb, HEIDOLPH (RZR 2021); 40-2000 /min.
3. Spektralphotometer, Model: 80-2088-64, PHARMACIA LKB Biochrom.
4. Elektronische Waage, Typ: AC210P, SARTORIUS AG GÖTTINGEN.
5. Wärmeschrank mit Belüftung für Produkttrocknung, Typ: 1905330002000, WTC Binder, Temperaturbereich (bis 300 °C).
6. Wärmeschrank ohne Belüftung für Trockensubstanzbestimmung; WTC Binder Typ 150530000202, Temperaturbereich (bis 300 °C).
7. Muffelofen Typ LM 31211, Elektroapparatebau Bad Frankenhausen, Temperaturbereich bis 1200 °C.
8. Zentrifuge Sigma K 10, Sigma Laborzentrifugenbau GmbH, Bad Osterode/Harz.
9. Magnetrührer; IKA-COMBIMAG TYP: RET, Janke und Kunkel GmbH u. Co. KG.

10. Temperierbad für Bestimmung der Milchgerinnung, GFL, Typ 1008.
11. Wasserbad für Fettbestimmung nach der Soxhlet-Methode, GFL, Typ 1042.
12. HPLC ÄKTA basic 900, Amersham Biosciences, Schweden.
13. Küchenmaschinenaufsatz zum Schnitzeln, max. 5 mm, 3. Stufe.
14. Kugelmühle KM-1, MLW KW, auf 18 Stufen regulierbar.
15. Temperierbad für Bestimmung der Milchgerinnung, GFL, Typ 1008.
16. Manueller Rahmseparator, 7800-8075 /min.
17. Kreuzschlagmühle.
18. Mini Spray Dryer B-290, BÜCHI Mini Dryer B-290, Switzerland.
19. Universal Dynamisches Spektrometer (UDS 200) Paar-Physica Stuttgart.
20. Biohomogenizer M 133/2280, 2 Stufig, 230 V, 140 W, Switzerland.
21. Gelherstellung; Dual Gel Caster, MIGHTY SMALL II S245, Hofer, Amersham Biosciences, Gelplatten in der Herstellung zwischen Glass- und Aluminiumplatten 10 x 8 cm und bei Verwendung von Abstandshalter 0,075 cm. Zur Herstellung von Probestaschen wurden Teflonkämme jeweils für 10 Taschen mit den Dimensionen 0,48 x 0,6 x 0,075 cm (für Probenvolumen max. 21,6 µl).
22. Proteintrennapparatur; MIGHTY SMALL II S250, Hofer, Amersham Biosciences mit Kühlung
23. Stromversorgung; MultiDrive XL power supply, Strombedingungen: 300 V (max.), Start 130 – 140 V, End 270 – 300 V. 2 x 20 mA (ca. 10 W).
24. Netzsch-Thermogravimetrieanalysetechnik STA des FG Lebensmittelqualität und Materialwissenschaften, TU-Berlin.
25. pH-Wert Messgerät
26. Ultrafiltrationsanlage Model 92 LAB UNIT UF der Firma MemBrain I(Fm. Advanced Structure, Inc. Escondido, California, USA), Ultrafiltrationsmembran der Firma Osmonics (Cut-off: 0,05 µm, Materialmembran: PES).
27. Mikrofiltrationsanlage mit einer keramischen Rohrmembran(Keramikträger ISOFLUX, Firma TAMI, cut off: 0,14 µm).



Abb. 4-3: MIGHTY SMALL II S250 Trennkammer und MultiDriveXL Stromversorgungsgerät

5. Versuchsergebnisse der Labkaseinherstellung

5.1 Kleintechnischer Ablauf der Gewinnung von Labkaseinpräparaten

Das zu untersuchende Verfahren zur Herstellung von Labkasein aus NV-Milch wurde in Anlehnung an die industrielle Herstellung von Labkasein in Abb. 5-1 modifiziert, wobei einige der Prozessschritte in der Herstellungstechnologie geprüft und angepasst wurden.

Die für die Labkaseingewinnung aus nicht verkehrsfähiger Milch benötigte Labmenge wurde für eine Gerinnungszeit von 15 bis 25 min für jede Charge eingestellt. Der Gallerte-Schneidezeitpunkt soll in Anlehnung an die Käsertechnologie (Schnittkäse) in einem Viskositätsbereich von 12 bis 16 mPas liegen.

Der Verlauf der Koagulumbildung der eingelabten nicht verkehrsfähigen Milch wurde mit dem Torsionsschwinger Rheo-Swing® kontrolliert.

Nachfolgend ist in Abb. 5-1 das Fließschema der Gewinnung von Labkasein dargestellt.

Detailangaben zur Technologieführung sind in Tab. 5-4 gegeben.

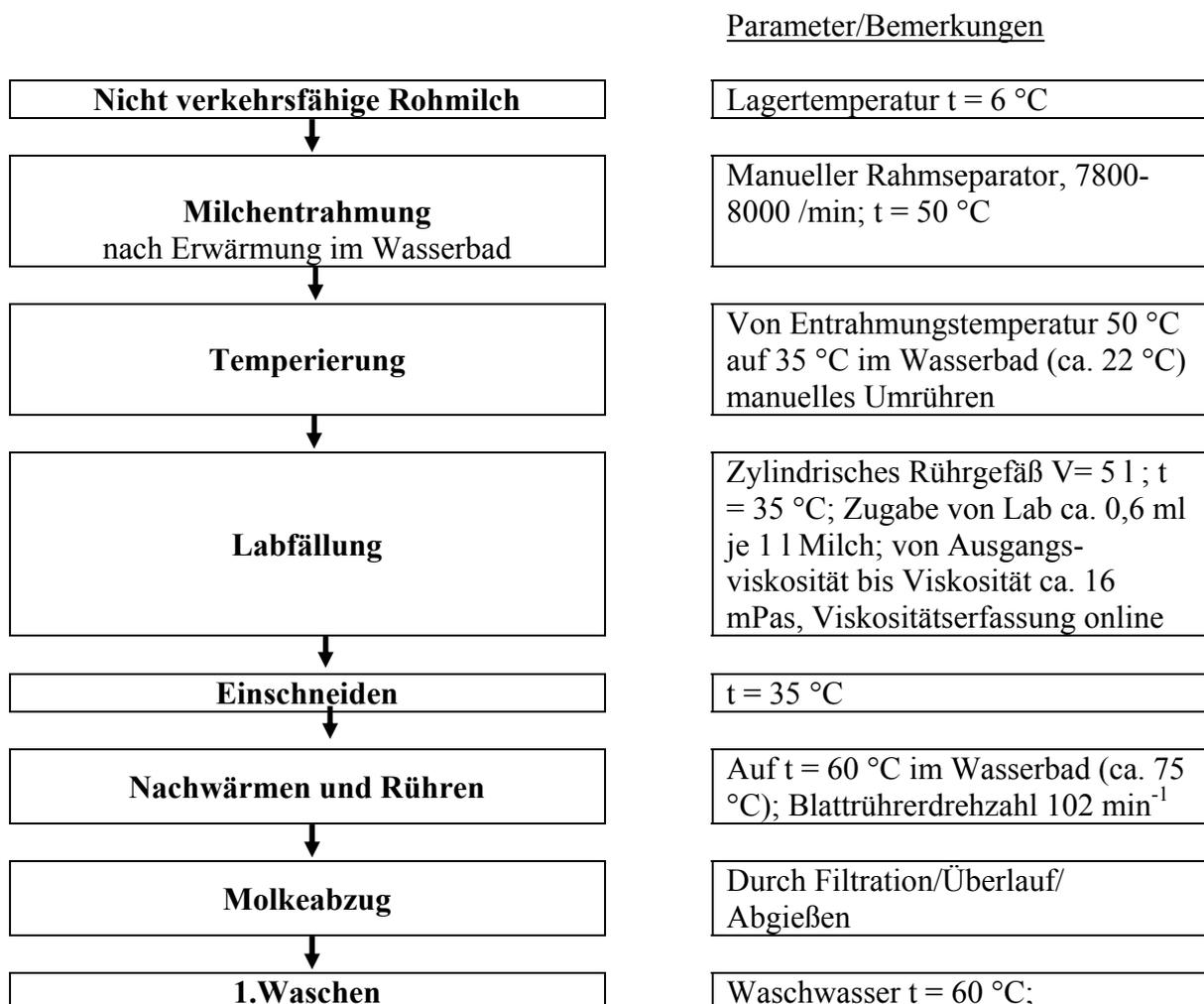




Abb. 5-1: Fließbild zur Herstellung von Labkasein im Labormaßstab

5. 1. 1 Einleitende Untersuchungen/Referenzkasein

Die Vergleichswerte für das zu optimierende Verfahren hinsichtlich der Zusammensetzung der Proteinpräparate wurden aus der Analyse von einem für den Einsatz in der Makrolitographie, insb. in der Matrixfertigung für TV und Monitoranzeigergeräte-Kaseinprodukt vorgesehenes Produkt aus (Neuseeland) als Säurekasein/Referenzkasein gewonnen.

Nach der Höhe des analytisch bestimmten Aschegehaltes handelten sich bei diesem Produkt um ein Säurekasein. Die analytischen Werte entsprechen den Forderungen /81/ für ein mit Mineralsäure-gefälltes-Kasein mit Ausnahme des ermittelten Laktosegehaltes.

Nach Verordnung (EVG) soll ein solches Produkt (Säurekasein) einen Eiweißgehalt i.T. von mindestens 93 % und einen Laktosegehalt unter 0,2 % aufweisen. /81/

Tab. 5-1: Chemische Zusammensetzung eines Kaseinproduktes aus Neuseeland /64/

Lfd. Nr.	Inhaltsstoff/Eigenschaft	Kaseinprobe aus New Zealand
1.	Eiweiß (N x 6,38) (%)	86,10 (das entspricht 94,4 % i.T.)
2.	Fett (%)	0,70
3.	Laktose (%)	0,2
4.	Asche (%)	1,60
5.	Wasser (%)	8,75

Die Überprüfung der Laborgewinnung von Labkasein erfolgte mit pasteurisierter Frischmilch im Vorversuch, wobei der Einschneidezeitpunkt in Tab. 5-2 mit 16 mPas in Anlehnung an die Labkäseproduktion festgelegt wurde.

Tab. 5-2: Chemische Zusammensetzung des Rohstoffes und Viskositätsverlauf einer pasteurisierten Frischmilchprobe- eigene Analyse

Lfd. Nr.	Inhaltsstoff/Eigenschaft	pasteurisierte Frischmilch
1.	Eiweiß (N x 6,38)	3,4
2.	Fett (%)	1,5
3.	Laktose (%)	4,9
4.	Asche (%)	0,7
5.	Wasser (%)	89,5

Zeit (min)	Viskosität (mPas)
0	2
1	2
2	2
3	2
4	2
5	3
6	5
7	7
8	9
9	12
10	15
11	18
12	21
13	22

5. 1. 2 Exemplarische Beschreibung der Versuchsdurchführung Charge 1

Die Mischprobe für die Labkaseinherstellung hat einen Wärmebehandlungstest (72 – 75 °C, 20 – 30 s) und Prüfung auf Labfähigkeit (50 µl Flüssiglab + 30 ml Milch bei 35 °C; Gerinnungszeit visuell mit Objektträger 3 min und 10 s – in Anlehnung an IDF Standard 157:1992) bestanden. Diese Milch wies im Hemmstofftest (Brillantschwarz-Reduktionstest) ein positives Ergebnis auf und war somit für die Lebensmittelverwendung nicht verkehrsfähig.

Entrahmungseffektivität: 2200 ml Ausgangsmilch mit einem Fettgehalt von 2,44 % wurde bei 50 °C im Durchfluss zentrifugiert. Es wurden 1980 ml Magermilch mit 0,52 % Fett und 190 ml Rahm mit 22,8 % Fett gewonnen. 30 ml sind als Zentrifugierverluste bei dem eingesetzten manuellen Entrahmungsseparator entstanden. Die Untersuchung auf Milchproteinfraktionen ergab: Gesamtprotein 3,44 % und der Kaseingehalt 2,77 % (80,5 %).

Zur Kaseingewinnung wurden 1500 ml genommen auf 35 °C temperiert und mit 1 ml Flüssiglab versetzt. Die Kaseinherstellung folgte dem Schema auf der Abb. 5-1. Die Prozessschritte sind in der Tab. 5-4 enthalten. Der Gallerteschnittpunkt wurde bei dieser Gewinnung und allen nachfolgenden Isolierungsprozeduren unter Anwendung des Torsionsschwingers RSD1-1 inline bestimmt. Nach der Herstellung wurde das Labkasein

15 h bei $50\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ im Festbett unter Zwangsbelüftung getrocknet und danach in einer Kugelmühle über 35 min (für 30 g), bei der Stufe 17 auf Feinkörnung zermahlen. Es wurden 52,5 g Labkaseinpräparat gewonnen.

In Tab. 5-3 ist die chemische Zusammensetzung des Rohstoffes und des Labkaseinproduktes aus NV-Milch enthalten.

Tab. 5-3: Chemische Zusammensetzung des Rohstoffes und des Labkaseinproduktes aus NV-Milch /63/

Lfd. Nr.	Inhaltsstoff/Eigenschaft	Rohmilch	Labkasein
1.	Zellzahl (x 1000)	1518	--
2.	Eiweiß (N x 6,38) in %	3,44	71,80 (i. d. TS 74,5)
3.	Fett (%)	2,44 (entrahmte Milch 0,52 %)	11,0
4.	Laktose (%)	4,80	0,9
5.	Asche (%)	-	8,12
6.	Wasser (%)	-	3,6

Zeit (min)	Viskosität (mPas)
0	1,5
1	1,5
2	1,5
3	1,5
4	2,0
5	3,0
6	4,5
7	6,5
8	9,0
9	12,0
10	15,0
11	18,0
12	21,0
13	24,0
14	27,0

In den Abbildungen 12-1 bis 12-8 (Anhang) sind die Viskositätsverläufe der Gewinnung Labkasein-Chargen 2 bis 8.2 dargestellt.

Bei der Untercharge 8.2 wurde nach der Herstellung und vor der Festbett Trocknung eine 30 minütige Fettextraktion aus dem Feuchtprodukt angewendet. Eingesetzt wurde ein Diethylether/Petroleumbenzin und Ethanol (2:1) – Lösungsmittelgemisch. Das Verhältnis Lösungsmittelgemisch/Feuchtprodukt betrug 4:1. Das Extraktionsgemisch wurde bei einer Drehzahl von 800 /min kontinuierlich gemischt.

Bei dieser Behandlung, die eine 45 %ige Entfernung von Restfett aus der Kaseinprobe ergab, ermöglichte die polare Komponente (Ethanol) das Aufbrechen der Fettkügelchenmembran und erhöhte die Extraktionseffektivität mit einem Gemisch aus stark- und mittelhydrophoben Lösungsmittel. Durch die Behandlung des Feuchtproduktes vor der Trocknung wird die Verfestigung der Proteinmatrix vorgebeugt.

Das positive Ergebnis der Restfettentfernung führt zum Vorschlag einer möglichen Integration dieses technologischen Schrittes in das Schema der Gewinnung von fettarmen bis fettfreien Labkasein.

	Zeit der Koagulumbildung (min)	14	12	18,5	58	50	15	31	47	15
	Viskosität Einschneiden (mPa s)	16	16	15	12,1	14,5	18	13,8	12,6	16
	Schneidezeit (min)	2	2	2	2	3	3	3	2	2
6.	Nachwärmen									
	Temperatur (°C)	65	65	65	60	60	60	60	60	60
	Rühren (min ⁻¹)	120	130	130	130	120	120	120	120	120
	Zeit (min)	70	60	60	40	50	45	40	40	35
	Wasserbad (°C)	70	75	80	80	80	90	70	70	70
7.	Molkeabzug bei 65 °C (min)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
8.	1. Waschen +Rühren (min)	10	10	10	10	15	15	15	15	15
	Temperatur des Waschwassers (°C)	65	65	60	60	60	60	60	60	60
	Wasservolumen (ml)	1000	1500	1500	1500	2000	2500	3000	1500	1500
9.	2. Waschen +Rühren (min)	10	10	10	10	15	15	10	10	10
	Temperatur des Waschwassers (°C)	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	Wasservolumen (ml)	1000	1500	1500	1500	2000	2500	3000	1500	1500
10.	3. Waschen +Rühren (min)	10	10	10	10	15	15	10	10	10
	Temperatur des Waschwassers (°C)	22	22	22	22	22	22	22	22	30
	Wasservolumen (ml)	1000	1500	1500	1500	2000	2500	3000	1500	1500
11.	4. Waschen +Rühren (min)	10	10	10	-	15	15	10	10	10
	Temperatur des Waschwassers (°C)	18	18	15	-	18	18	18	18	22
	Wasservolumen (ml)	1000	1500	1500	-	2000	2500	3000	1500	1500
12.	Beladung gesamt Waschwasser Magermilch/Wasser- Verhältnis	1:2	1:2	1:2	1:1,5	1:2,3	1:2,3	1:3	1:2,8	1:3
13.	Entwässern über Auspressen zwischen Filterpapierblättern (min)	10	15	10	15	15	15	10	10	10
14.	Schnitzeln auf 5 +/-2 mm bei Stufe I (min)	15	18	10	15	15	20	10	10	10
15.	Entfettung ohne Trocknung durch org. LM bei 20 °C*	-								30 min

16.	Festbettrocknen	Schichtdicke ca. 20 mm; Charge 7 und 8: 5 mm Umluft 60 %; Charge 7 und 8: 50 %								
	Temperatur (°C)	50	50	55	55	45	45	45	50	50
	Zeit (h)	15	15	15	15	15	15	15	4	3,5
17.	Mahlen									
	Kugelmühle MLW KW, Stufe 17 (min/pro 30 g Probe)	35	35	40	40	-	-	-	-	-
	Schlagmühle Stufe I (s/20 g Probe)	-	-	-	-	35	40	20	20	20

*Diethylether + Petroleumbenzin und Ethanol (2:1)

Die technologisch orientierten Versuchsergebnisse werden durch eine chemische Analytik, Aussagen zur Ausbeute sowie einen optimierten Technologieablauf ergänzt.

5. 2 Zusammensetzung, Ausbeuten und optimiertes Gewinnungsschema für Labkaseinpräparate

5. 2. 1 Chemische Zusammensetzung der Labkaseinpräparat

Die Zusammenfassung aller Analysenwerte bei der Herstellung von Labkasein sind in Tab. 5-5 enthalten.

Tab. 5-5: Zusammensetzung der Labkaseinpräparate 1 bis 8

Lfd. Nr.	Charge	1	2	3	4	5	6	7	8.1	8.2
1.	Proteingehalt (N x 6,38)%	71,8	76,9	67,5	80,7	76,5	80,5	75,7	78,7	77,1
	Protein in der Trockensubstanz %	74,5	79,6	69,0	83,5	80,9	85,6	79,8	84,8	84,2
2.	Fettgehalt %	11,0	52,0	21,4	5,8	6,1	2,2	5,0	5,2	-
3.	Fettgehalt % nach 1. Entfettung	-	1,3	13 (Wdhlg. 1)	-	5,3	2,1	-	-	-
4.	Fettgehalt % nach Entfettung des Nassproduktes mit org. Lösungsmittel	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4
5.	Wassergehalt %	3,6	5,7	2,2	3,4	5,5	6,2	5,4	7,29	8,5
6.	Aschegehalt %	8,2	8,3	7,9	8,6	9,25	8,4	10,3	8,05	7,7
7.	Laktosegehalt %	0,9	1,4	0,4	1,8	1,1	0,4	0,8	0,73	0,2

5. 2. 2 Ausbeuteberechnungen für Labkaseinpräparate

Gesamtproteinbilanz

Es wurden aus 1500 ml Magermilchcharge 1 52,5 g Labkaseinfinalprodukt mit einer Restfeuchte von 3,6 % und einem Proteingehalt von 71,8 % gewonnen. Das entspricht 37,7 g Kasein. Normiert auf den Gesamtproteingehalt in der Ausgangsmagermilch von 3,5 % ergibt sich eine Präparatausbeute von 71,8 %.

Kaseinbilanz

Es wurden aus 1500 ml Magermilchcharge 1 52,5 g Labkaseinfinalprodukt mit Restfeuchte von 3,6 % und einem Proteingehalt von 71,8 % gewonnen. Das entspricht 37,7 g Kasein. Normiert auf den Kaseingehalt in der Ausgangsmagermilch von 2,82 % ergibt sich eine Präparatausbeute von 89,1 %.

Reinkaseinausbeute g / l Milch

Es wurden aus 1000 ml Magermilchcharge 1 35 g Labkaseinfinalprodukt mit einer Restfeuchte von 3,6 % und einem Proteingehalt 71,8 % von gewonnen. Das entspricht 25,13 g Reinkasein.

In der nachfolgenden Tab. 5-6 sind die Ausbeuterechnungen der hergestellten Labkaseinchargen enthalten. In den schwankenden Ausbeutewerten wird die Vorschädigung der Kaseine in der NV-Milch zum Ausdruck gebracht.

Tab. 5-6: Ausbeuterechnungen der hergestellten Labkaseinchargen

Charge	1	2	3	4	5	6	7	8.1	8.2
Kaseingehalt der Ausgangsmagermilch %	2,82	3,23*	3,01	2,43	2,00*	2,88	2,18*	2,53	2,53
Mittelwert und Standardabweichung 2,62± 0,397									
Gewonnenes Kaseinpräparat in g/l Milch mit Restfeuchte	35	41,5	38,4	33,0	25,0	35,0	25,75	30,95	31,8
Gesamtproteinbilanz in %	71,8	83,22	68,07	70,54	78,16	75,79	67,21	81,11	81,70
Kaseinbilanz in %	89,1	98,68	86,17	97,54	95,3	95,27	89,1	96,17	96,89
Reinkaseinausbeute in g/l Milch	25,13	31,91*	25,92	26,63	19,12*	28,17	19,50*	24,35	24,50
Mittelwert und Standardabweichung 25,03 ± 3,98									

* außerhalb ± s

5.3 Strukturbildungsverlauf bei der Einlabung von NV-Milchproben

Am Beispiel der Prozessviskosität in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abb. 5-2 das unterschiedliche Dicklegungsverhalten der verwendeten NV-Milchchargen zusammengefasst.

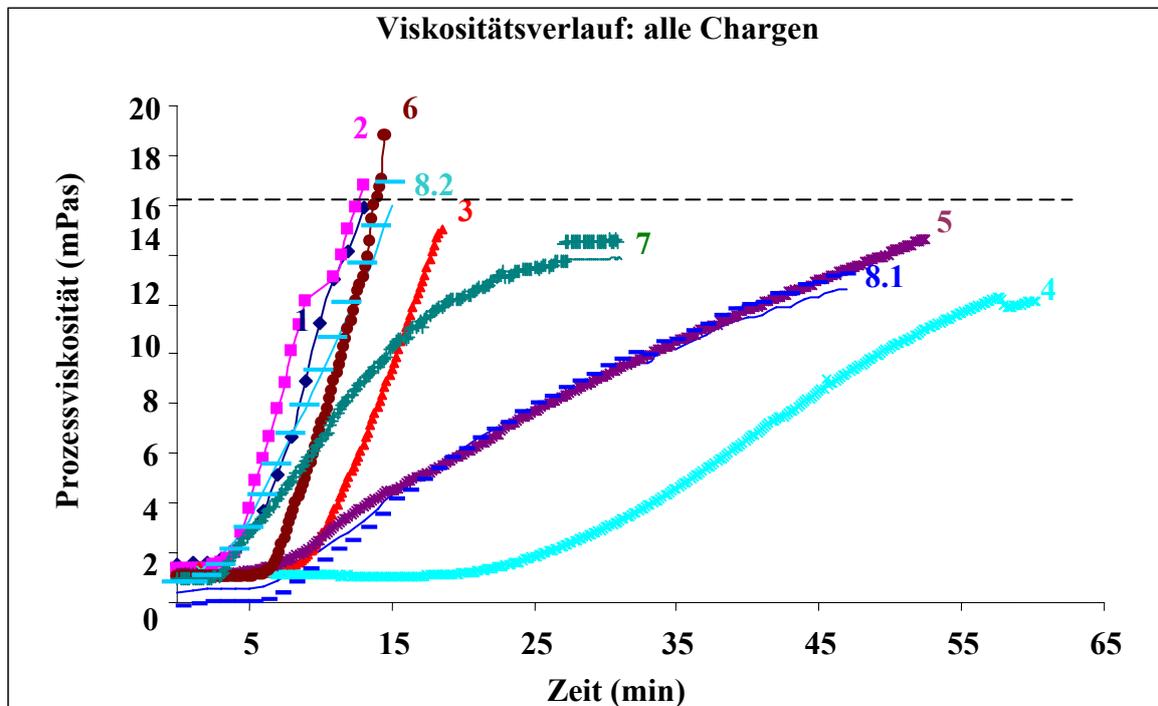


Abb. 5-2: Verlauf der Prozessviskositäten bei den NV-Milchchargen 1 bis 8.2

Deutlich können am Beispiel der Gerinnungszeit 2 Versuchsklassen differenziert werden, die einmal die Gerinnungseigenschaften der NV-Milch charakterisieren zum anderen aber als Funktion der zugegebenen spezifischen Labmenge gewertet werden müssen.

	MW und s der Ausbeute
Alle Versuche:	25,03 ± 3,98
Versuchsklasse 1: Chargen 1, 2, 3, 6, 8.2	27,13 ± 3,01
Versuchsklasse 2: Chargen 4, 5, 7, 8.1 (als labträge eingeschätzt)	22,40 ± 3,69
	MW und s der Gerinnungszeit
Alle Versuche:	28,94 ± 18,11
Versuchsklasse 1: Chargen 1, 2, 3, 6, 8.2	14,9 ± 2,40
Versuchsklasse 2: Chargen 4, 5, 7, 8.1 (als labträge eingeschätzt)	46,5 ± 11,30

Die Ausbeute korreliert mit der Gerinnungszeit.

Die Abweichung beim Versuch 8.1 ist durch eine falsche Positionierung des RSD verursacht worden.

Die untersuchten NV-Milchproben waren als Chargen 1 bis 8 alle labfähig. Der Schneidezeitpunkt wurde nach Erfahrungen aus der Käserei (Herstellung von Labkäse) auf eine Viskosität der Gallerte zwischen 12 und 16 mPas festgelegt. Um bei der Labkäseproduktion sauberer zu entmolken, wird bereits unmittelbar nach Beginn der Gelbildung eingeschnitten, z. B. bei 4 mPas. /55/

Eindeutig ist aus Abb. 5-2 erkennbar, dass die (Versuchsklasse 2) eine geringere Ausbeute aufweisen. Der Zeitbedarf zum Erreichen des Abbruchkriteriums beträgt das 2 bis 3 fache. Als Ursache dürfte u. a. Kalziummangel angenommen werden, da z. B. bei der NV-Charge 5 ein Kalziumantagonist verabreicht wurde.

Aus den Untersuchungen kann auf das Verhalten der NV-Milch nicht geschlossen werden. Bei der Verarbeitung von NV-Milch zu Labkasein müssen stets Vorprüfungen mit geringen Lab- und Milchvolumina erfolgen und die Einsatzmenge für technische Produktion rückgerechnet werden. Es ist nicht möglich Labfähigkeit und Labzeitverhalten der NV-Milch ohne Vorprüfung vorauszusagen. Die Einlabungsergebnisse mit pasteurisierter Frischmilch dienen der Überprüfung des eingesetzten Labpräparates. Ein entsprechendes Schnellverfahren wurde von /38/ entwickelt. Durch die enzymatische Gerinnung wird ein Gel erzeugt. /92/

Rheologische Methoden, z. B. der Einsatz des RSD-Systems liefern objektiv unmittelbar Aussagen zur Gerinnungstauglichkeit der Milch. Die Ergebnisse umfangreicher Untersuchungen sind durch Schulz 1998 beschrieben worden.

Eine NV-Milch, die nur wegen der Antibiotikareste abgewertet wird, kann dem Verhalten einer Frischmilch zu Kaseinproduktion entsprechen. Milchproben von Tieren mit akuter, klinischer Mastitis dagegen zeigen wegen der Veränderung der Proteine und des sehr gestörten Salzgleichgewichts ein anderes Verhalten. Ein besonderer Verlauf der Prozessviskosität ist bei der Charge 7 festzustellen, bei der die Gallerteverfestigung (Plateaubildung) bereits im Untersuchungszeitraum in Richtung Synärese eingesetzt hat. Dieses Verhalten hat jedoch keinen negativen Einfluss auf die Kaseinausbeute bei diesen Präparaten siehe Tab. 5-6. Um die Fettretention im Labkoagulum im Zusammenhang mit dem Prozess der Gallertenbildung zu überprüfen wurden bei Chargen 4 und 5 verlängerte Einlabungszeiten über eine reduzierte Labmenge eingestellt. Diese verlängerte Gerinnungs- und Koagulumbildungszeit (Charge 4 und 5) brachte hinsichtlich der

Fettentfernung aus dem Labkasein durch nachfolgende Waschschriffe keine Vorteile. Demzufolge kann sie nicht empfohlen werden. Sollte diese Frage weiter untersucht werden, müssen zu einem späteren Zeitraum bewertende Untersuchungen mit verschiedenen Koagulumbildungszeiten in einem größeren Umfang durchgeführt werden.

5. 4 Optimierung der Wasch- und Trocknungsprozesse

5. 4. 1 Waschprozess

Das Waschen des Labkaseins hat die Entfernung der Laktose und Salze aus den Präparaten zum Ziel. Ein Teil der proteingebundenen Phosphate und Kationen insb. Kalzium kann durch eine normale Waschprozedur bei neutralem pH-Wert nicht entfernt werden, so dass das Labkasein sich durch einen Aschegehalt von 8 bis 10 % charakterisiert und als Produktidentitäts-Charakteristikum geführt wird.

Die Effektivität der Entfernung von Laktose durch Waschen des Labkaseinbruches wurde analytisch über Enzymuntersuchungen bestimmt und ist in Tab. 5-7 enthalten.

Über 90 % der Laktose wird bereits in der Molke bei der Einhaltung entsprechender Äquilibriumzeit erreicht. Aus der Tab. 5-7 ist ersichtlich, dass das diskontinuierliche Waschen des Labkaseins bei der Einhaltung der untersuchten Parameter in 2 Schritten durchgeführt werden kann.

Wird bei der Herstellung von technischem Kasein die Waschwassertemperatur auf 50 °C erhöht, genügen 2 Waschschriffe aufgrund der Erhöhung der Löslichkeit.

Tab. 5-7: Effektivität der Laktoseentfernung durch das Waschen des Labkaseinbruches

Lfd. Nr.	Behandlung	Volumen (ml)	Laktose (g)	Laktose (%)	Restlaktosegehalt (%)
1.	Ausgangsmilch (Charge IX)	2000	86,900	4,33*	-
2.	Molke	1700	79,944	4,7026	92,1
3.	1. Waschen	1200	6,020	0,5000	6,9
4.	2. Waschen	1285	0,565	0,0440	0,65
5.	3. Waschen	1210	0,145	0,0120	0,16
6.	4. Waschen	1240	0,069	0,0056	0,08

*Fremdanalyse /63/

Die Charge IX wurde als interner Versuch geführt und diente der Optimierung von Verfahrensschritten.

Die Parameter des Waschprozesses (Temperatur Waschwasser, Rührzeit, -organ) können in Tab. 5-4 eingesehen werden.

5. 4. 2 Trocknungszeit

Wie im Literaturteil bereits erwähnt, beeinflussen die Trocknungsbedingungen die Qualität des Endproduktes. Zu hohe Trocknungstemperaturen bei längeren Einwirkungszeiten führen zur Entstehung von braunen Umsetzungsprodukten der Proteine (Maillard-Reaktion) und beeinflussen negativ die Löslichkeit sowie auch andere funktionelle Eigenschaften der Endprodukte. Da die Trocknungstemperatur „nach oben“ auf 50 °C begrenzt wurde sollte in einem Versuch die Trocknungszeit bis auf einen Feuchtegehalt < 10 % bestimmt werden.

Am Beispiel der Charge 8.2 wurde der Verlauf der Trocknung von Labkasein bei einer kleinen Schichtdicke (5 mm), einer Trocknungstemperatur von 50 °C und einer Umluftgeschwindigkeit von 50 % untersucht. Als eine ausreichende Trocknungszeit für die 62 g des Endproduktes mit einem Restfeuchtegehalt von 8,5 % wurde der Zeitraum von 3,5 h ermittelt (vgl. Abb. 5-3).

Es erfolgte eine vorherige Extraktion des Präparates mit einem organischen Lösungsmittel. Eine Verallgemeinerung der Versuchsergebnisse ist nicht möglich, da ein eindeutiger Schichthöheneinfluß bei Trocknungsversuchen bekannt ist.

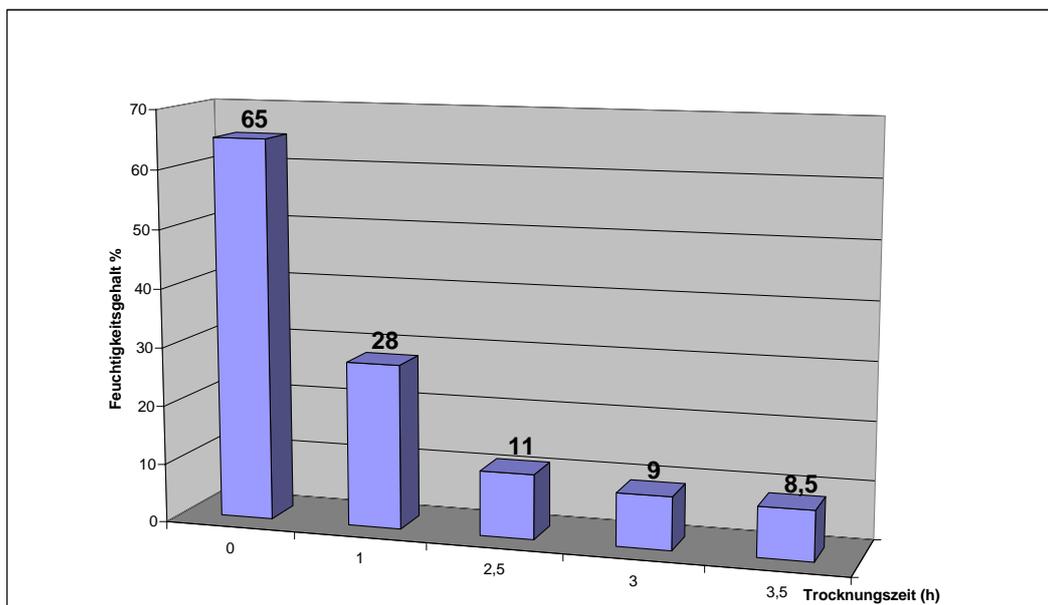


Abb. 5-3: Effektivität der Festbettrocknung von Labkasein

Ein Trocknungsgleichgewicht scheint sich ab 2,5 h einzustellen. Die noch vorliegende Restfeuchte von 8,5 % nach 3,5 h Trocknungszeit ist in der Größenordnung der Gleichgewichtsfeuchte des Kaseins. Die Ursache der hohen Restfeuchten ist die bekannte

„Verhornung“ der Kaseine bei Erwärmung. Ein Stoffübergang durch diese „Hornschicht“ ist limitiert.

5.5 Elektrophoretische Untersuchungen

Die Auftrennung von Untersuchungspräparaten ist in einer repräsentativen Trennplatte in der Abb. 5-4 dargestellt. Die Proteineinwaagen wurden jeweils in 2 ml des Probenpuffers Tab. 5-8 aufgelöst und die Probenauftragsmengen in die einpolymerisierten Probenaschen waren jeweils 10 µl.

Tab. 5-8: Proteineinwaagen und –auftragsmengen in der vertikalen PAAG-Elektrophorese

Lfd. Nr.	Charge	Ch. 5	Ch.6	NZ	St.α-CN	St. β-Lg	St. α-La	UF-G	UF-CN	UF-MP
1.	Proteingehalt der verwendeten Präparate (%)	76,5	80,5	86,1	70,0	90,0	85,0	79,0	81,5	76,6
2.	Proteineinwaage (mg)	13,9	16,5	13,6	22,7	22,8	22,6	13,0	14,1	12,6
3.	Probenauftragsmenge (µg)	69,5	82,5	68,0	113,5	114,0	113,0	65,0	70,5	63,0
4.	Protein auftragsmenge in 10 µl (µg)	53,2	66,4	58,5	79,4	102,6	96,0	51,3	57,5	48,3

Aus der Abb. 5-4 ist ersichtlich, dass die Labkaseine: Charge 5 (Spur A) und Charge 6 (Spur B) aus NV-Milch beide Hauptkaseine α_{s1} -Kasein und β -Kasein in den normalen Proportionen enthalten. In beiden Chargen sind γ -Kaseine, jedoch keine Molkenproteine in geringen Mengen nachweisbar.

Ein direkter Vergleich der Proben A, B (hergestellte Labkaseine) und C (Neuseeland-Säurekasein) zeigt keine generelle Unterschiede im Proteinspektrum trotz unterschiedlicher Herstellungsverfahren. Eine präzisere Analytik erscheint mittels HPLC-Verfahren möglich. Der partielle Abbau des β -Kaseins, der eine normale Erscheinung in der unveränderten Milch ist, ist in diesen Präparaten auf einem Normalniveau und viel geringer als der Abbau in UF-Gesamtmilchproteinpräparat. Der höhere Gehalt an γ -Kaseinen in UF-Präparaten kann mit der verlängerten Zeit bei der Ultrafiltration in Zusammenhang begründet werde.

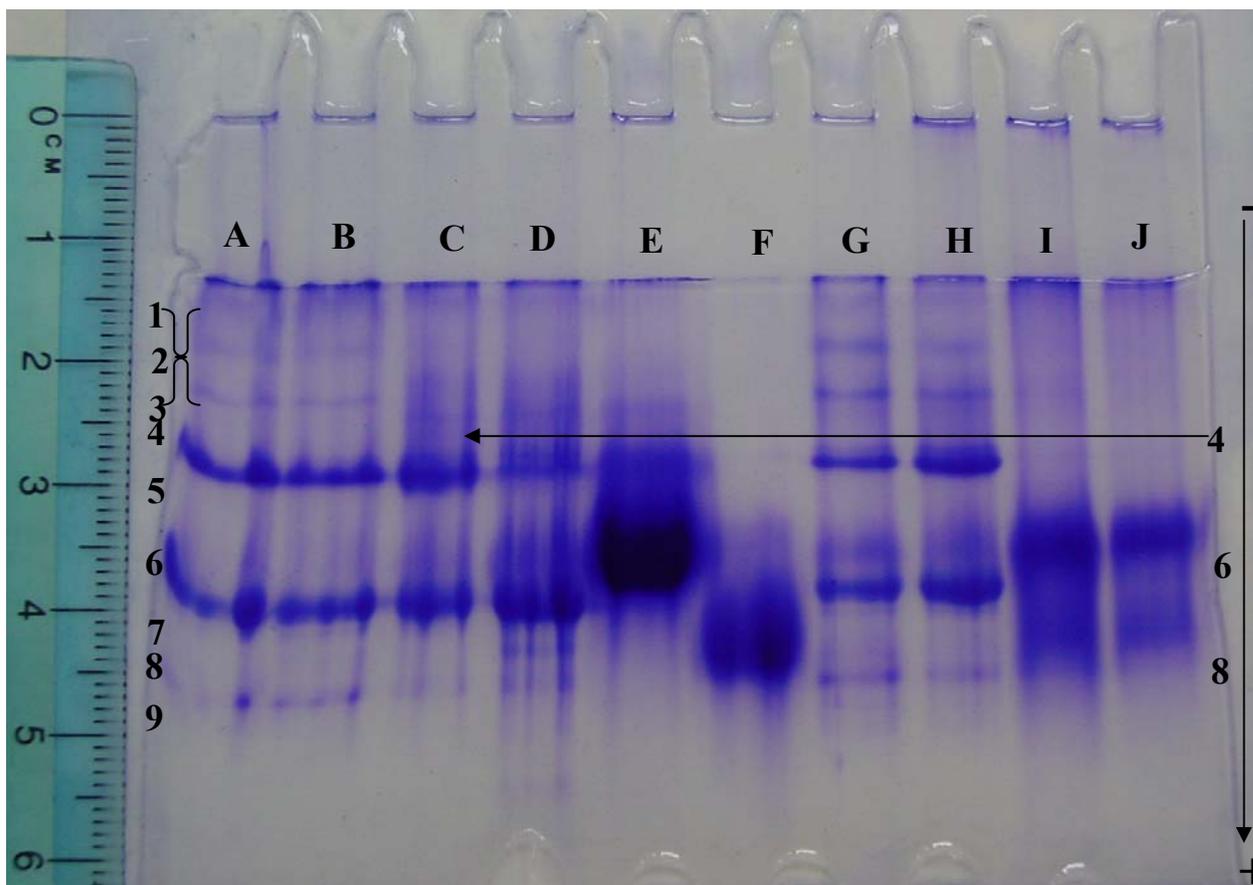


Abb. 5-4: PAAGE-Trennbild der Proteinproben. Anodische Trennung im Disk-System 8,8/8,3. Positionen A = Labkasein Charge 5, B = Labkasein Charge 6, C = Säurekasein Neuseeland, D = Eichprotein α_{s1} -Kasein, E = Eichprotein β -Lactoglobulin, F = Eichprotein α -Lactalbumin, G = UF-Gesamtprotein, H = UF-Kasein, I = Molkenprotein, J = Molkenprotein (Doppelauftrag). Die Zuordnung der Proteinbanden ist wie folgt:
 1, 2 und 3 = γ -Kaseine, 4 = κ -Kasein, 5 = β -Kasein, 6 = β -Lactoglobulin, 7 = α_{s1} -Kasein, 8 = α -Lactalbumin, 9 = Abbauprodukt der Kaseine

Die Aktivität des milchoriginären Enzyms Plasmin, welche zur Bildung von γ -Kaseinen führt, wird durch die Bedingungen der Ultrafiltration nicht gehemmt. Anhand der elektrophoretischen Trennung können die Chargen 5 und 6 als proteolytisch nicht abgebaute, originäre Kaseinproben eingestuft werden. Die in Neuseeland - Säurekasein vorhandene Bande des κ -Kasein ist in den Chargen 5 und 6, die nach der Spaltung dieses Stabilitätsproteins als Labkaseinpräparate entstanden sind, nicht vorhanden. Das para- κ -Kasein als kationisches Abbauprodukt ist in dem alkalischen System, bei der Trennung nach dem Ladungsprinzip nicht beweglich und bleibt am Start.

Das Säurekaseinpräparat aus Neuseeland (Spur C) zeigt beim Auftrag vergleichbarer Proteinmengen auch die regulären Proportionen der Hauptkaseine (Bande 5 und Bande 7), darüber hinaus das Vorhandensein von κ -Kasein und keine Kontamination mit

Molkenproteinen. Auch dieses Präparat kann als nativ und proteolytisch nicht abgebaut eingestuft werden.

Das Eichprotein α_{s1} -Kasein (Spur D) enthält zwar dieses Protein als Hauptkomponente ist jedoch nicht rein sondern enthält noch Restmengen von β -Kasein und von α_{s2} -Kasein.

Die Molken-Eichproteine (Spuren E und F) sind als diffuse aber deutlich zuzuordnende Banden (Nr. 6 und 8) sichtbar. Im Vergleich mit der alkalischen Elektrophorese ohne Harnstoffzusatz (sog. native Elektrophorese) ist die Mobilität der Molkenproteine verändert, d.h. das α -Lactalbumin (Nr.8) besitzt in diesem System eine höhere elektrophoretische Beweglichkeit als das β -Lactoglobulin (Nr. 6). Die Bandenverbreiterung wird bei der Probenpräparation auf die mehrfach nachgewiesene, denaturierende Wirkung von Harnstoff zurückgeführt, die Proteinmenge ist auch bei den Spuren E und F für Einzelkomponenten relativ hoch.

Die Position der Banden Nr. 6 und 8 stimmt mit den Positionen der Hauptkomponenten der UF-Molkenproteine (Spuren I und J) überein, wobei die minoren Komponenten Rinderserumalbumin und Immunglobuline in diesem System nicht identifizierbar oder während des Gewinnungsprozesses entfernt worden sind. Das UF-Molkenproteinpräparat enthält das β -Lactoglobulin als die Hauptkomponente. Dieser Sachverhalt entspricht auch dem normalen Verhältnis unter den Molkenproteinen, in dem dieses Protein etwa die Hälfte des gesamten Proteingehaltes einnimmt und die Funktionalität weitgehend prägt. Das α -Lactalbumin (Bande Nr. 8) ist die nächste, wichtigste Komponente auch in dem untersuchten UF-Präparat.

Abhängig von den gewählten Membranen ist es möglich, das α -Lactalbumin aus den UF-Präparaten partiell oder ganz zu entfernen.

Wie später gezeigt wird, scheiden UF-Präparate zur Herstellung von Photoresisten aufgrund des vorliegenden Proteinspektrums aus.

Die wesentlich geminderte Mobilität des β -Lactoglobulins (Bande Nr. 6) in Disk-Systemen mit 8 M Harnstoff führt zur Interferenz mit der Position für α_{s2} -Kasein. Dieses wird deutlich am Beispiel von Spuren G (UF-Gesamtmilchprotein) und H (UF-Kasein). Bei Spur G ist die Position durch β -Lactoglobulin in Überlagerung mit α_{s2} -Kasein besetzt, wohingegen diese Position im UF-Kasein (Spur H) durch α_{s2} -Kasein allein eingenommen wird. Die minore Bande Nr. 9 ist ein Abbauprodukt des α_{s1} -Kaseins und konnte sowohl in Eichkasein als auch in den Labkaseincharge 6 und den UF-Gesamtmilchprotein und UF-Kasein nachgewiesen werden.

Die Aussagen der elektrophoretischen Untersuchungen sind bedingt verwertbar und werden durch nachfolgende thermoanalytische und HPLC-Analytik erweitert.

5. 6 Ergebnisse der Thermoanalyse

Die hergestellten Präparate wurden in Auswahl mittels eines Netzsch STA 409C Thermoanalysegerätes, das die Messung die Thermogravimetrie mit der Differenz-Thermoanalyse (DTA) oder dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) kombiniert (NN 2004) in einem Temperaturbereich von 20 – 430 °C zeitgesteuert untersucht. Es wurden thermogravimetrische Verläufe der Probenmasse als Funktion von T (TG) der temperaturabhängigen Masseverluste in Stickstoffatmosphäre sowie DSC und Differenz-Thermogravimetrie-Verläufe (DTG) aufgenommen.

Tab. 5-9: Eigenschaften der Kaseinpräparate für die Thermoanalyse

Lfd. Nr.	Inhaltsstoff/Eigenschaft	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
1.	Eiweiß (N x 6,38) in %	71,80	38,9	76,9	67,5	73,2	81,3	86,1
2.	Fett (%)	11,0	52	1,3	21,4	13	1	0,7
3.	Laktose (%)	3,3	1,3	2,5	0,4	0,4	0,5	0,2
4.	Asche (%)	8,12	4,2	8,3	7,9	8,5	9,5	1,6
5.	Wasser (%)	3,6	2,9	5,7	2,2	2,4	2,7	8,7

- G1 Kaseincharge I
- G2 Kaseincharge II nicht entfettet
- G3 Kaseincharge II entfettet
- G4 Kaseincharge III nicht entfettet
- G5 Kaseincharge III partiell entfettet
- G6 Kaseincharge III entfettet
- G7 NZ-Säurekaseincharge

Die untersuchten Proben zeigten typische Verläufe der Probemasse als Funktion der Temperatur (10 K/min). Masseverluste beginnen bei etwa 300 °C (Kurve TG in Abb. 5-5, 5-6 u. 5-7).

Anhand der Kurvenverläufe wurden wesentliche Unterschiede zwischen Säure- und Labkasein nachgewiesen (vgl. Abb. 5-5 und Abb. 5-6). Diese können durch die verschiedene Herstellungsart und dadurch bedingte unterschiedliche Zusammensetzung erklärt werden.

Abhängig vom Fettgehalt der Probe wurden höchsten Zersetzungsgeschwindigkeiten zwischen 310 - 400 °C festgestellt. Ähnlich zusammengesetzte Proben können über Differenz-Thermogravimetrie-Verläufe (DTG-Kurven) nachgewiesen werden. Proben mit

großen Unterschieden in der Zusammensetzung zeigen extreme Unterschiede beim Minimum der DTG – Kurve.

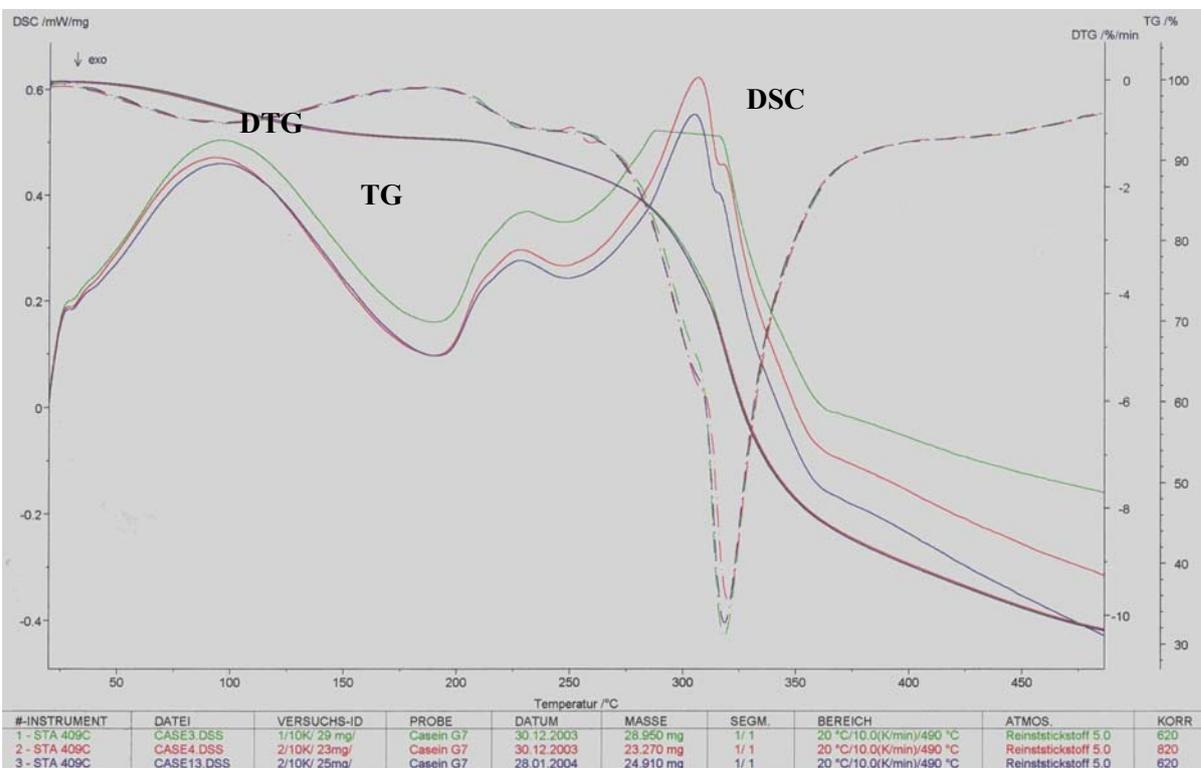


Abb. 5-5: Thermoanalyse von Säurekasein (Probe G7)

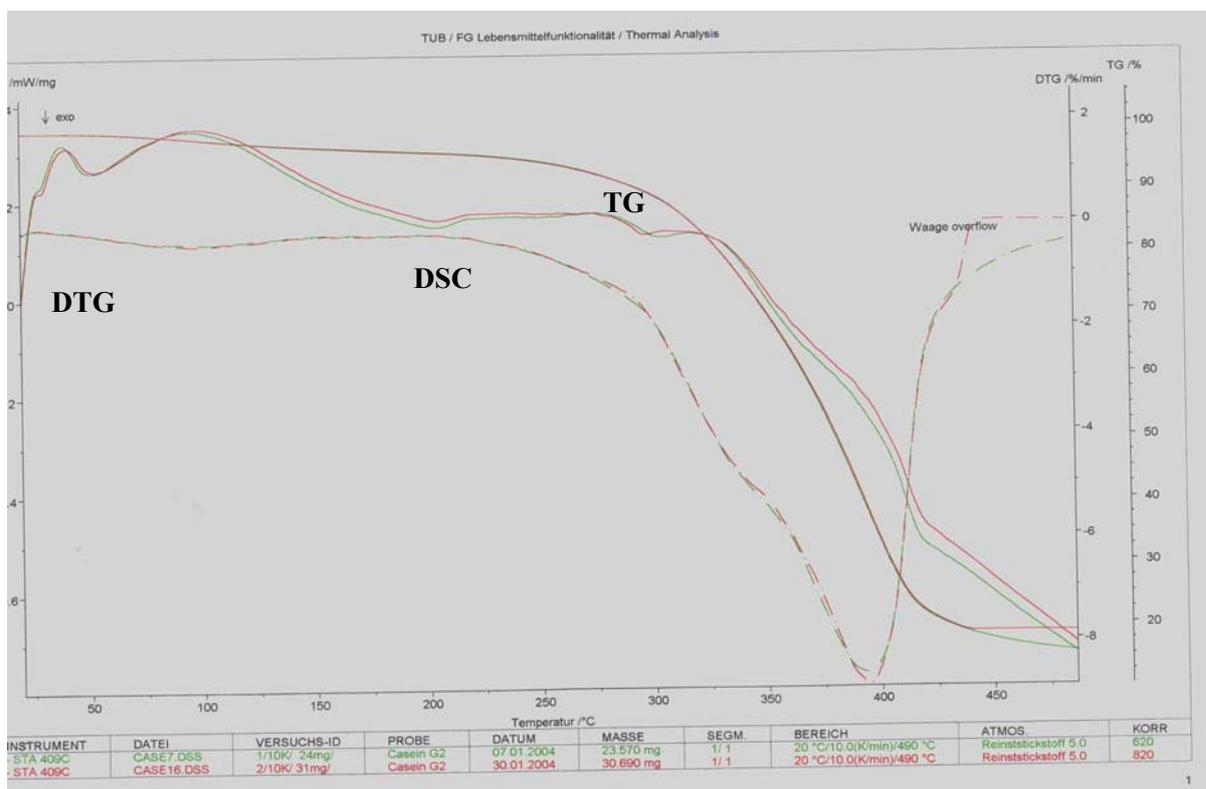


Abb. 5-6: Thermoanalyse von Labkasein (Probe G2)

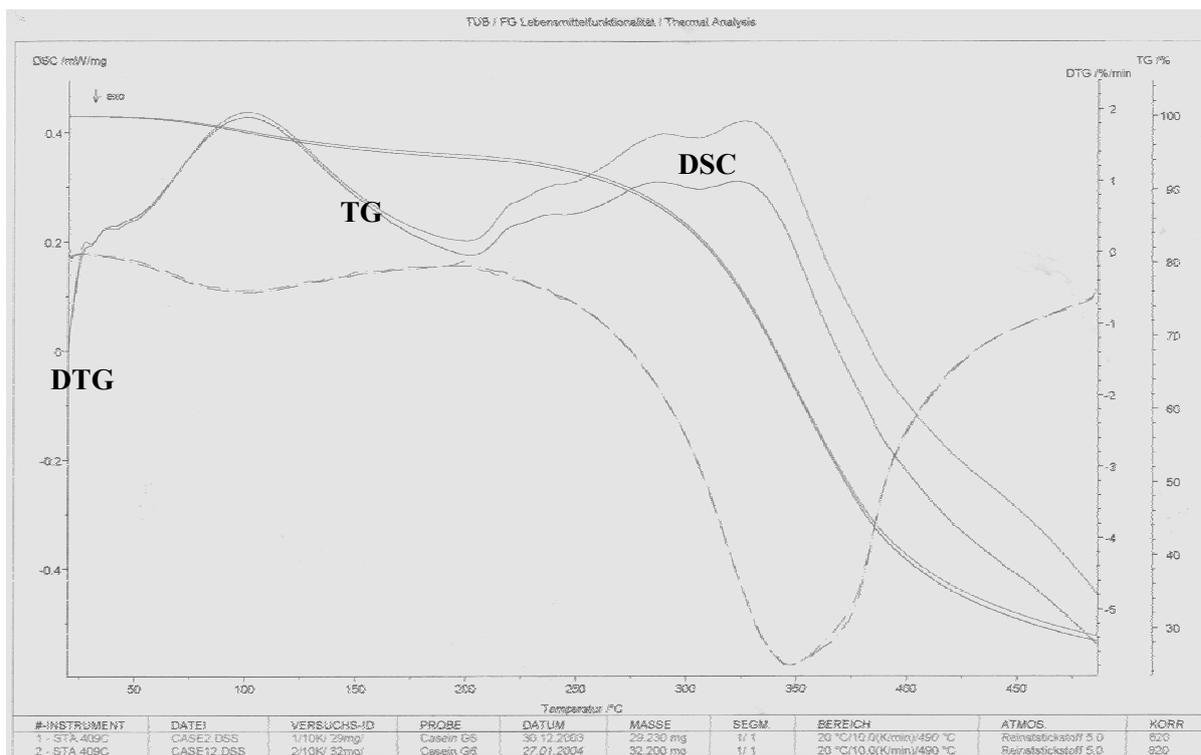


Abb. 5-7: Thermoanalyse von Labkasein (Probe G6)

Aus den Abbildungen 5-5, 5-6 und 5-7 sind beispielsweise die Minima für G7 bei 320 °C, für G6 bei 350 °C und für G2 bei 393,6 °C zu entnehmen. Den höchsten Wert (393,6 °C) zeigt die hochfettthaltige Probe G2.

Komplexer zusammengesetzte Präparate (Fett, Laktose, Proteine, Salze) zeigen eine Verbreiterung des Minimums der DTG – Kurve (G1, G4, G5). Mehr homogene Präparate mit sehr hohem Proteingehalt und einem sehr niedrigen Gehalt an Begleitkomponenten (G7) zeichnen sich dagegen durch scharfe DTG-Peaks aus (Probe G7, Abb. 5-5).

5. 7 Kapitelzusammenfassung

Eine völlig identische Versuchsdurchführung zur Herstellung der Präparate konnte nicht realisiert werden.

Die Gewinnung von Labkasein ist durch den Verlust von Glucomakropeptid (GMP) aus dem Kaseinverband gekennzeichnet. Dieses Peptid (Molmasse 6800 g/mol) ist bei den Bedingungen der Labfällung löslich und geht in die Molke über. Das bedeutet, dass bei einem durchschnittlichem Gehalt von 3 g/l an κ -Kasein (Molmasse 19 007 bis 19 039 g/mol) in die Milch übergehen und rund 1,1 g/l als dieses Protein verloren gehen. Demzufolge ist auch bei Labkaseinen mit einem Gewinnungseffekt von durchschnittlich 97 % zu rechnen. 3 % GMP-Verlust der Kaseinfraktion sind immer verfahrensbedingt.

Die untersuchten NV-Milchproben waren als Chargen 1 bis 8 alle labfähig. Die Dicklegungszeiten differierten dabei erheblich. Über die kurzen Gerinnungszeiten infolge hoher Labkonzentrationen wurden geringe Verluste an Kasein (als sog. Kaseinstaub) erreicht, was sich sehr positiv auf die Ausbeute an Kaseinpräparaten auswirkt aber auch Einschlüsse an Salzen, Laktose bedingt. Die Einlabungsergebnisse mit pasteurisierter Frischmilch dienen der Überprüfung des eingesetzten Labpräparates. Aus diesen Untersuchungen kann auf das Verhalten der NV-Milch jedoch nicht geschlossen werden.

Nach der Bewertung der Gerinnungsverläufe und der durchgeführten chemischen Analytik ist die Verfahrensführung der Labkaseinherstellung aus NV-Milch mit folgenden Prämissen zu betreiben:

1. Sicherung maximaler Kaseinausbeuten und eines hohen Kaseingehaltes im Finalprodukt;
2. Minimierung des Fettanteils im Labkasein, beginnend bei der Separation zur E-Milch;
3. Minimierung des Laktoseanteils, beginnend bei der Entmolkung und 2 sicher durchzuführenden Waschschritten (Verweilzeit, Waschwassermenge und Waschwassertemperatur).

Die Forderungen 1 sowie 2 und 3 sind dabei antagonistisch und müssen zur Sicherung einer technologischen Optimums angepasst werden.

Bei der Verarbeitung von NV-Milch zu Labkasein müssen stets Vorprüfungen (Schnellverfahren) mit geringen Lab- und Milchvolumina erfolgen und die Einsatzmenge für technische Mengen festgelegt werden. Es ist nicht möglich eine Labfähigkeit und Labzeitverhalten der NV-Milch ohne Vorprüfung vorauszusagen. Eine rheologisch determinierte Methode zur Untersuchung der Gerinnungstauglichkeit der Milch steht ausgearbeitet zur Verfügung und wurde dem MIV bereits vorgestellt.

Folgende technologische Parameter sind einzuhalten bzw. in Variationsgrenzen anzupassen:

1. Vor der NV-Milch Be- und Verarbeitung muss die Labfähigkeit der Kesselmilch durch ein Schnellverfahren geprüft werden. Hitzestabile Proben sind auf die optimale Entrahmungstemperatur von 50 bis 55 °C einzustellen.

2. Optimale Vorwärmung und Entrahmung (geforderter Restfettgehalt-Bereich beträgt 0,01 – 0,03 %) bei einer Standardenträumungstemperatur 50 – 55 °C und einem Separator mit sicherem Trenneffekt, wobei eine kontinuierliche Arbeitsweise in der Linie bei der Erwärmung und Separation vorliegt.
3. Die für die Labkaseingewinnung aus NV-Milch benötigte Labmenge soll auf einen Einschneidezeitpunkt von 20 bis 30 min für jede Charge bemessen werden, um kapazitive Probleme zu vermeiden. Die Gallerte-Schneideviskosität soll in einem Bereich von 12 bis 16 mPas liegen.
4. Die Waschprozedur zur Entfernung von Laktose und nicht proteingebundenen Mineralstoffen soll maximal 3 Schritte umfassen. Eine 2-Schrittprozedur ist möglich (vgl. dazu Abb. 5-3) bei entsprechenden Laktosewerten. Die Trocknungszeit bei 50°C und Belüftung von 50 % zur Erreichung einer Trockensubstanz von unter 10 % kann bei Verwendung von dünnen Schichten auf 3,5 h bei vorherigem Lösungsmittelleinsatz begrenzt werden.
5. Eine Entfettung der Labkaseine im Falle einer nicht ausreichenden oder wegen der Besonderheit des Rohstoffes nicht möglichen optimalen Entrahmung soll nicht aus getrocknetem Produkt sondern aus entwässern Feuchtprodukt mit einer Kombination aus polaren und apolaren Lösungsmittel erfolgen.
6. Für die Charakterisierung der gewonnenen Labkaseinpräparate sind thermogravimetrische Untersuchungen gut geeignet.
7. Der höhere Fettgehalt der Proben verhindert eine erfolgreiche Anwendung solcher Chargen als Photoresiste. Die Chargen I und III in nicht entfetteter Form (Tab. 7-1) sind nach Kriterien der Photoresiste als nicht geeignet einzustufen. Eine Entfettungprozedur der Charge III führte zu sehr guten Eignungsergebnissen.
8. Der Vergleich von Säurekaseinen und fettarmen Labkaseinen zeigt eine vergleichbare gute Eignung für die Photoresiste (Tab. 7-1).
9. Die Applikation von Labkasein zur Herstellung von Photoresisten erscheint anhand dieser Voruntersuchungen nicht sinnvoll.

Eine NV-Milch mit einer unzulässigen Antibiotikabelastung kann dem Verhalten einer Frischmilch zur Kaseinproduktion bedingt entsprechen, wobei immer mit einer ungünstigen Verschiebung des Kaseinspektrums gerechnet werden muss. Weiter bedingt der Ca^{++} -Anteil eine Qualitätsverschlechterung für die Herstellung von Photoresiste.

Problematischer sind Milchproben im zeitlichen Verlauf der Mastitiserkrankung. Hier wird wegen der Veränderung der Proteine und des sehr gestörten Salzgleichgewichts ein anderes Verhalten auftreten. Als nicht typisch sind die Chargen 7 und 8 zu betrachten.

Der Schneidezeitpunkt der Gallerte kann über einen Zusatz von Kalziumchlorid stark beeinflusst werden. Dieser Schritt wird bei der Labkäseherstellung im Allgemeinen oft praktiziert, bei der Herstellung von Labkasein verbietet sich diese Maßnahme wegen der Erhöhung des Aschegehaltes der Präparate.

Wie die durchgeführten Untersuchungen zeigen, ist im Gegensatz zu Säurekasein bei Labkasein immer mit einem höheren Aschegehalt zu rechnen (zwischen 8 und 10 %). Bei der Säurekaseingewinnung werden alle Phosphate der Kaseinmicellen mobilisiert und den funktionellen Gruppen der Kaseine die Calcium- und Magnesiumionen entzogen. Der Aschegehalt der Säurekaseine liegt oft unter 1 %. Ein weiterer prinzipieller Unterschied zum Verfahren der Säurekaseingewinnung ist die Gerinnung der Kaseine in der Gelform und die daraus resultierenden Applikationsschwierigkeiten z. B. Löslichkeit in Trocknungsverhalten.

Der Fettgehalt der Präparate ist eine Funktion der Entrahmungsschärfe der Ausgangsmilch. Bei einer Entrahmung auf 0,1 bis 0,5 % entsteht ein Rahm mit 24 bis 35 % Fettgehalt und es ist mit 5 % bis 11 % Fettgehalt im Endprodukt (abhängig vom Kaseingehalt der Milch) zu rechnen. Laut Spezifikationen für kommerzielle Lab- bzw. Säurekaseinpräparate (Tab.3-9 und 5-1) soll der Fettgehalt unter 1 % betragen. Diese Werte sind zu erreichen, wenn eine Trennschärfe der Rahmseparatoren bei der Kaseingewinnung bei 0,01 bis 0,03 % liegt.

Im Falle einer nicht ausreichenden Entrahmungsschärfe, wie in den Laboruntersuchungen, muss eine Lösungsmittel-Nachextraktion der Kaseine erfolgen. Die Untersuchungen zeigten, dass der effektivste Weg die Einbindung des Extraktionsverfahrens im Anschluss an den letzten Waschvorgang ist. Da durch einen Trocknungsschritt die Oberfläche der Labkaseinpartikel nicht „verhornt“ ist, ist eine Behandlung des leicht dehydratisierten Nassproduktes mit einem geeigneten Gemisch aus polarem und apolarem Lösungsmittel möglich.

Eine geeignete Variante bildet die Kaltextraktion mit Diethylether/Petroleumbenzin: Ethanol (50:50) bei den angegebenen Bedingungen (Pkt. 4.2.9. und Tab. 5-4).

Da die Eigenschaften der NV-Milch variieren und abhängig von der Art und dem Grad der Eutererkrankung mit sehr unterschiedlichen Milchproben zu rechnen ist, müssen die technologischen Parameter der Gewinnung für spezielle Fallklassen angepasst werden, was jedoch durch die Verarbeitungsmengen limitiert ist. Da aus Kapazitätsgründen die Verarbeitung eines Sammelgemelks zwingend erforderlich ist repräsentieren NV-Milchproben aus der Mitte des Mastitis bzw. andere Krankheitsverlaufes reale Verhältnisse bei der Dicklegung.

In den durchgeführten Untersuchungen zeigte sich, dass Restgehalte der untersuchten Antibiotika in der NV-Milch die Kaseingewinnung nicht beeinflussen.

Ein verändertes Strukturierungsverhalten (Flockungen, schwammähnliche Gallerte, aufschwimmend) liegt vor, wenn andere Antibiotika (Ursomamycin) gegeben werden.

/106/

6. Versuchsergebnisse der Schwefelsäurekaseinherstellung

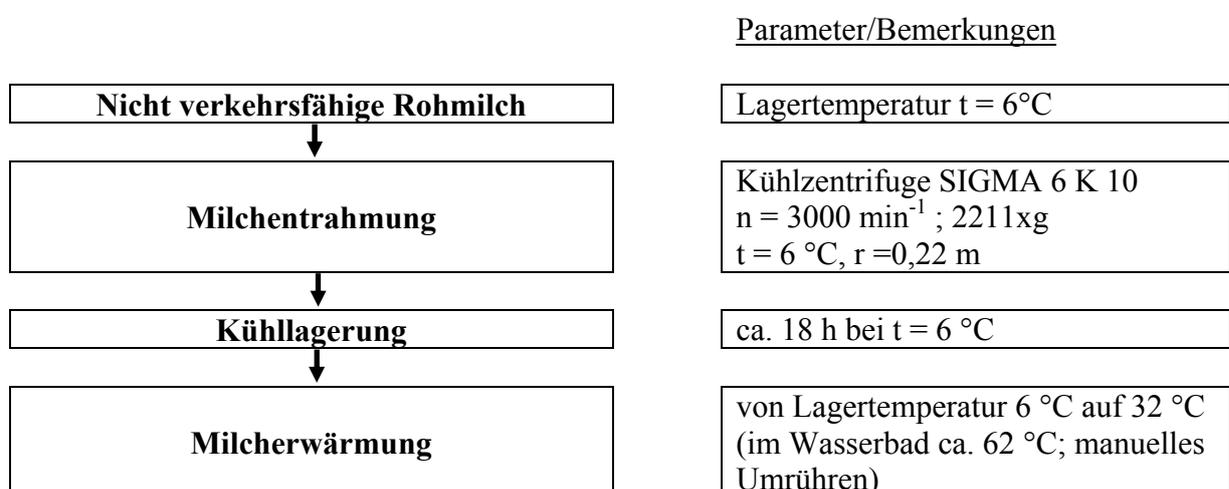
6.1 Kleintechnischer Ablauf der Gewinnung von Schwefelsäurekasein-Präparaten

Kasein wird durch Säurefällung aus nicht wärmebehandelter oder höchstens kurzzeiterhitzter E-Milch mit einem maximalen Fettanteil von 0,05 % hergestellt. Eine verstärkte Temperatureinwirkung würde die Löslichkeit verringern, da Molkenproteine kopräzipitieren. Das Säuern der Milch kann mit Milch-, Salz-, Schwefel- und Essigsäure bei 30 - 35 °C in wenigen Minuten erfolgen. Schwefelsäure wurde gewählt, weil das entstehende unlösliche CaSO_4 (in amorpher Struktur vorliegend) als möglicher Aschebildner im Rahmen dieser Verfahrensführung am sichersten entfernt werden kann und somit ein qualitativ hochwertiges Kasein für den Einsatz als Photoresiste hergestellt werden kann.

Die Verfahrensschritte zur Gewinnung von Säurekaseinpräparaten im Labormaßstab wurden nach der Zielsetzung der optimalen Ausbeute mit minimiertem Gehalt an Begleitstoffen ausgerichtet. Es wurden acht Präparate aus den acht Chargen hergestellt. Die einzelnen Versuchsanstellungen und ihre Ergebnisse werden nachfolgend vorgestellt.

Die Vergleichswerte für das zu optimierende Verfahren hinsichtlich der Zusammensetzung der Proteinpräparate wurden aus der Analyse von einem für den Einsatz in der Makrolitographie, insb. in der Matrixfertigung für TV und Monitoranzeigeräte vorgesehenen Säurekasein aus Neuseeland gewonnen.

Es wurden 8 Schwefelsäurekaseinpräparate unter gleichen Fällungsbedingungen hergestellt. Die nachfolgende Abb. 6-1 enthält das Fließschema zur Herstellung von Schwefelsäurekasein.



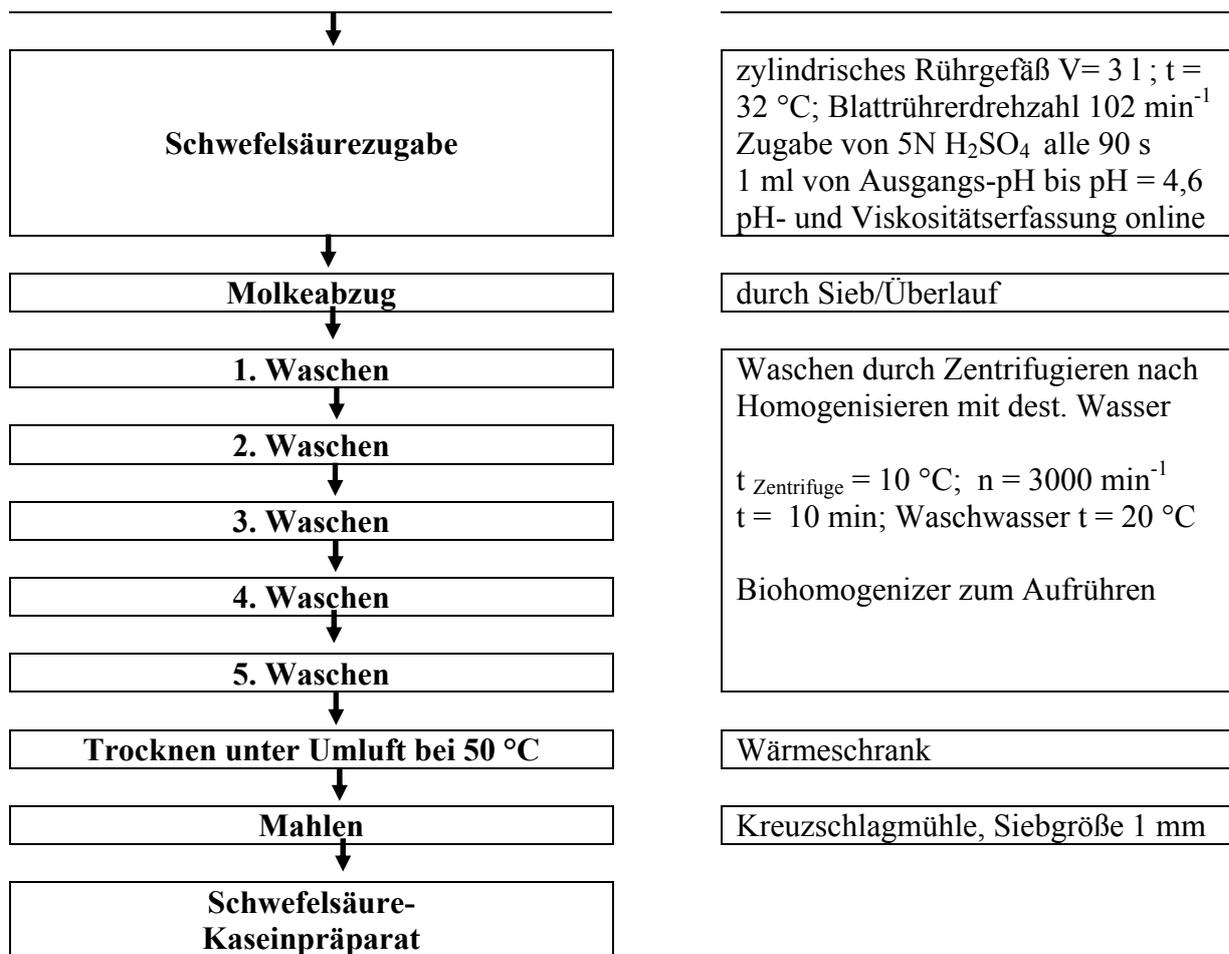


Abb. 6-1: Fließbild zur Herstellung von Schwefelsäurekasein

6. 1. 1 Exemplarische Beschreibung der Versuchsdurchführung Charge 1

Zur Herstellung von Schwefelsäurekasein Charge 1 wurden ca. $4,8\text{ l}$ nicht verkehrsfähige Milch (die Kühe wurden mit dem Antibiotikum Ubrocef behandelt) von IASP der HU-Berlin erhalten. Die folgende Tab. 6-1 enthält die Ergebnisse der chemischen Analyse, die von LKV durchgeführt wurde.

Tab. 6-1: Chemische Zusammensetzung der Rohmilch in % /63/

Reinprotein	2,82	Fettgehalt	8,66
Kaseingehalt	2,18	Laktosegehalt	3,83
Molkenprotein	0,63	Rohprotein	2,99
Trockensubstanz	16,42		

Die Rohmilch wurde durch Zentrifugation mittels Zentrifuge Sigma K10 bei einer Temperatur von 6 °C , einer Drehzahl von $n = 3000/\text{min}$ (entspricht 2221xg) und einer Entrahmungszeit von 30 min entrahmt.

Der Fettgehalt konnte durch diese Verfahrensweise bei allen Versuchsanstellungen stabil unter 0,1 % gesenkt werden. (hoher Trennfaktor und Verfestigung des Milchfettes durch niedrige Temperatur und damit sichere irreversible Abscheidung durch Creaming)

Am Boden des Zentrifugenglases wurden bei dieser Charge Ablagerungen somatischer Zellen und Eiter gefunden. Exemplarisch werden diese Ablagerungen am Beispiel der Chargen 2 und 6 nachstehend in Abb. 6-2 dargestellt.

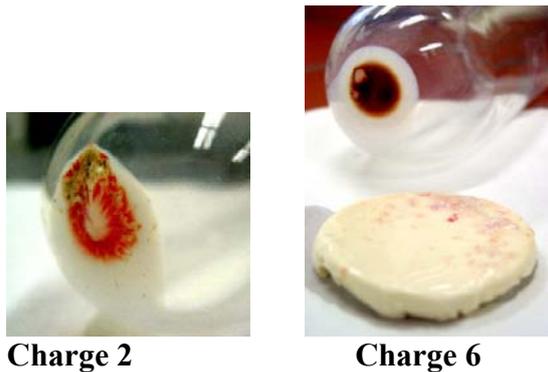


Abb. 6-2: Ablagerungen somatischer Zellen und Eiter nach Entfettung der Charge 2 und 6

Bei jedem Zentrifugengang konnten apparatetechnisch bedingt nur ca. 800 ml Milch entrahmt werden. Das abgeschiedene Fett in fester Konsistenz wurde mit einem Löffel abgetrennt. Nach der Entrahmung betrug die gewonnene Menge an Magermilch ca. 4 l.

Danach wurde die Magermilch im Kühlschrank bei einer Temperatur von 6 °C aufbewahrt. Es wurden 3 l der E-Milch in einem 5 l-Becherglas von 6 °C bis 32 °C im Wasserbad (60 °C) unter kontinuierlichem Rühren innerhalb von 12 min erwärmt.

Die erwärmte Milch wurde in ein weiteres zylindrisches Gefäß ($d = 0,2$ m, Füllstandshöhe $h = 0,12$ m) umgefüllt und in einem Wasserbad auf 32 °C gehalten.

Die Fällung wurde in dem in Abb. 6-3 dargestellten Versuchsaufbau durchgeführt.



Abb. 6-3: Versuchsaufbau

Zur Fällung des Kaseins wurden unter ständigem Rühren mit dem Rührer Heidolph RZR 2021 (Drehzahl $n = 102$ /min) je 90 s 1 ml 5 N Schwefelsäure zugegeben, bis ein pH-Wert von 4,6 erreicht wurde. Insgesamt wurden für diese Versuchsdurchführung 31 ml Schwefelsäure verbraucht. Die Fällungszeit betrug 50 min.

Das gefällte Kasein war von weißer Farbe und stellte sich als eine leicht grießartige langsam sedimentierende Dispersion dar.

Nach der Fällung erfolgte der Molkenabzug zuerst durch Abgießen von 1,5 l Molke über ein Sieb und dann durch Zentrifugation bei einer Temperatur von 10 °C, einer Drehzahl von 3000 /min und in einer Zeit von 10 min.

Das abgegossene Molkenvolumen betrug insgesamt 2,5 l. Nach dem Zentrifugieren wurde das Schwefelsäurekasein in den Zentrifugengläsern mit einem Biohomogenisierer (zweistufig, 140 Watt) unter Zugabe von destilliertem Wasser homogenisiert und gewaschen.

Nach dem Homogenisieren wurden das Säurekasein erneut bei einer Temperatur von 10 °C, einer Zeit von 10 min und einer Drehzahl von 3000/min zentrifugiert.

Der Waschprozess wurde fünfmal durchgeführt, um Laktose und Salze zu entfernen.

Der erhaltene Säurebruch musste aufgrund des Trennungsverhaltens Bruch/Molke bei den Chargen 1, 2 und 7 in zwei Teilchargen unterteilt werden, da die Zentrifuge das Gesamtvolumen nicht fassen konnte. Die nachfolgende Tab. 6-2 enthält das Waschwasservolumen beim Waschen. Es wurden 184,7 g feuchtes Kasein beim Waschen des ersten Anteiles und 268 g feuchtes Kasein beim Waschen des zweiten Anteiles erhalten.

Tab. 6-2: Mengenzufluss beim Waschprozess/Waschschritt Teilcharge 1

	Waschwasser -Menge (g)	Beladung : g Kasein / g Wasser
1. Waschen	Σ 540,7	1:2,9
2. Waschen	Σ 546,1	1:2,9
3. Waschen	Σ 559,9	1:3
4. Waschen	Σ 565,4	1:3
5. Waschen	Σ 571,9	1:3,1
Gesamt	Σ 2784	1:15

Auffällig ist der zur sicheren Entfernung der Laktose benötigte hohe Wasserverbrauch.

Analog wurde bei der Durchführung des Waschprozesses für den zweiten Chargenteil verfahren.

Tab. 6-3: Waschen der Teilcharge 2

	Waschwasser -Menge (g)	Beladung : g Kasein / g Wasser
1. Waschen	Σ 472	1:1,8
2. Waschen	Σ 486,4	1:1,8
3. Waschen	Σ 520,8	1:2
4. Waschen	Σ 475,9	1:1,8
5. Waschen	Σ 488,6	1:1,8
Gesamt	Σ 2443,7	1:9

Anschließend wurde das Kasein in dünner Schicht auf einer Kunststoffvliesunterlage bei einer Trocknungstemperatur von 40 °C und einer Umluftgeschwindigkeit von 20 Skalenteilen in einem Trockenschrank getrocknet. Die Trocknungszeit betrug 18 h.

Durch die Trocknung wurde das Gewicht des Kaseins von 357 g auf 69,9 g reduziert.

Die Abb. 6-4 zeigt das Produkt vor und nach der Trocknung.

**Vor der Trocknung****Nach der Trocknung**

**gelbliches, glasiges
und hart/sprödes
Präparat**

Abb. 6-4: Schwefelsäurekasein

6. 1. 2 Zusammenstellung ermittelter Größen zur Schwefelsäurekasein-Herstellung

Für die durchgeführten acht Versuche wurde eine identische Versuchsdurchführung realisiert. Am exemplarischen Beispiel der Charge 1 soll detailliert der Ablauf der Labortechnologie zur Sicherung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse dargestellt werden.

In der nachfolgenden Tab. 6-4 sind die wesentlichen Angaben zu den Milchinhaltsstoffe, Chargengrößen und das Handling/Processing enthalten.

Tab. 6-4: Milchanalytik, Chargengrößen und Angaben zum Handling/Processing

Lfd. Nr.	Charge	1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Rohmilcheingang								
	Volumen (ml)	4800	4000	4000	4000	4000	4000	3500	3370
	Fettgehalt (%)	8,66	4,17	4,98	4,90	4,35	3,78	4,49	5,66

	Kaseingehalt (%)	2,18	2,55	2,80	2,42	2,51	2,01	3,01	2,45
	Laktosegehalt (%)	3,63	4,55	4,79	4,63	3,51	4,63	4,58	4,73
2.	Milchenträhmung beim Zentrifugieren	Temperatur 6 °C; Drehzahl n = 3000 /min; Zeit 30 min							
3.	Magermilch								
	Volumen in ml	4000	3700	3650	3650	3680	3750	3240	3010
	Viskosität der Milch vor der Fällung in mPas	1,682	1,400	2,011	2,860	2,508	1,261	2,565	1,913
	pH-Wert der Milch vor der Fällung	6,67	6,56	6,60	6,65	6,67	6,70	6,68	6,68
4.	Säurefällung								
	Milchvolumen in ml	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
	Temperatur der Milch in °C	32	32	32	32	32	32	32	32
	Schwefelsäureverbrauch 5N in ml	31	5N 29 1N 25	42	37	34	29	40	36
	Rühren Drehzahl in 1/min	102	102	102	102	102	102	102	102
	Zeit bis pH-Wert 4,6 in min	49	52	62	57	51	45	62	55
	Viskosität bei pH-Wert 4,6 in mPas	1,007	1,080	1,244	1,055	1,461	0,969	1,929	1,489
5.	1. Molkeabzug in ml	2500	2550	2500	2540	2500	2670	2400	2640
6.	1. Waschen durch Zentrifugieren nach Homogenisieren mit dest. Wasser	Temperatur der Zentrifuge 10 °C; Drehzahl n = 3000 /min Zeit 10 min; Waschwasser Temperatur 20 °C							
	Beladung: g Kasein / g Wasser	1:1,8	1:2,2	1:1	1:0,9	1:1,1	1:1,5	1:1,5	1:1,5
7.	2. Waschen durch Zentrifugieren nach Homogenisieren mit dest. Wasser	Temperatur der Zentrifuge 10 °C; Drehzahl n = 3000 /min Zeit 10 min; Waschwasser Temperatur 20 °C							
	Beladung: g Kasein / g Wasser	1:1,8	1:2,1	1:1	1:0,8	1:1,1	1:1,5	1:1,5	1:1,5
8.	3. Waschen durch Zentrifugieren nach Homogenisieren mit dest. Wasser	Temperatur der Zentrifuge 10 °C; Drehzahl n = 3000 /min Zeit 10 min; Waschwasser Temperatur 20 °C							
	Beladung: g Kasein / g Wasser	1:2	1:2,1	1:1	1:0,8	1:0,7	1:1,5	1:1,5	1:1,5
9.	4. Waschen durch Zentrifugieren nach Homogenisieren mit dest. Wasser	Temperatur der Zentrifuge 10 °C; Drehzahl n = 3000/min Zeit 10 min; Waschwasser Temperatur 20 °C							
	Beladung: g Kasein / g Wasser	1:1,8	1:2,2	1:1	1:0,8	1:0,8	1:1,5	1:1,5	1:1,5

10.	5. Waschen durch Zentrifugieren nach Homogenisieren mit dest. Wasser	Temperatur der Zentrifuge 10 °C; Drehzahl n = 3000 /min Zeit 10 min; Waschwasser Temperatur 20 °C							
	Beladung: g Kasein / g Wasser	1:1,8	1:2,5	1:1	1:0,8	1:0,9	1:1,5	1:1,5	1:1,5
11.	Beladung gesamt Waschwasser g Kasein / g Wasser	1:9	1:12	1:5	1:4	1:4,5	1:7,5	1:7,5	1:7,5
12.	Trocknen Festbett	Umluft 20 %							
	Temperatur in °C	40	40	40	50	60	55	55	55
	Schichthöhe in mm	5	5	10	10	10	10	10	5
	Zeit in h	40	19	19	23	20	22	24	20
13.	Mahlen mit Walzenspalt 1mm								
	Kreuzschlagmühle in s/Probe	20	25	30	25	20	20	20	20

6. 2 Zusammensetzung, Ausbeuten und optimiertes Gewinnungs-Schema für Schwefelsäurekaseinpräparate

6. 2. 1 Chemische Zusammensetzung der Schwefelsäurekaseinpräparate

In der nachfolgenden Tab. 6-5 sind die Ergebnisse der chemischen Analytik zusammengetragen. Erfolgt eine Normierung auf gleichen TS-Gehalt, liegen die Ergebnisse in einem engen Ereignisfeld vor.

Tab. 6-5: Zusammensetzung der Schwefelsäurekaseinpräparate 1 bis 8 in %
(In Zeile 1, 2 wird die Trockenmasse gleich 100 % gesetzt.)

Charge	1	2	3	4	5	6	7	8
Proteingehalt abs.	86,50	83,20	83,30	83,30	83,20	85,5	86,2	85,4
Protein in der TS	93,80	97,90	95,70	93,70	94,90	95,00	94,40	94,50
Fettgehalt in % *	2,10	0,63	1,28	2,00	1,42	1,11	0,67	1,83
Laktosegehalt in % *	0,08	0,05	0,13	0,68	0,11	0,01	0,07	0,18
Wassergehalt in %	7,80	15,00	13,10	11,10	12,3	10,0	8,7	9,7
Aschegehalt in % *	1,90	2,00	1,90	1,85	1,65	1,63	1,67	1,72

* Angaben des feuchten Produktes

6. 2. 2 Ausbeuteberechnungen für Schwefelsäurekaseinpräparate

Gesamtproteinbilanz

Es wurden aus 3000 ml Magermilchcharge 1 68,4 g Schwefelsäurekaseinfinalprodukt mit einer Restfeuchte von 7,8 % und einem Proteingehalt von 86,5 % gewonnen. Das

entspricht 59,2 g Kasein. Normiert auf den Proteingehalt in der Ausgangsmagermilch von 3 % ergibt sich eine Präparatausbeute von 65,73 %.

Kaseinbilanz

Es wurden aus 3000 ml Magermilchcharge 1 68,4 g Schwefelsäurekaseinfinalprodukt mit einer Restfeuchte von 7,8 % und einem Proteingehalt von 86,5 % gewonnen. Das entspricht 59,2 g Kasein. Normiert auf den Kaseingehalt in der Ausgangsmagermilch von 2,38 % ergibt sich eine Präparatausbeute von 82,85 %.

Reinkaseinausbeute g / l Milch

Es wurden aus 1000 ml Magermilchcharge 1 22,8 g Schwefelsäurekaseinfinalprodukt mit einer Restfeuchte von 7,8 % und einem Proteingehalt von 86,5 % gewonnen. Das entspricht 19,72 g Kasein.

In der nachfolgenden Tab. 6-6 sind die Ausbeuterechnungen der hergestellten Schwefelsäurekaseinchargen dargestellt.

Tab. 6-6: Ausbeuterechnungen der hergestellten Schwefelsäurekaseinchargen

Charge	1	2	3	4	5	6	7	8
Gewonnenes Kaseinpräparat In g mit Restfeuchte	68,4	87,9	103,5	88,5	79,5	67,5	95,9	84,0
Kaseingehalt der Ausgangsmagermilch %	2,38	2,66	2,94	2,54	2,62	2,08	3,15	2,59
Gesamtproteinbilanz in %	65,73	65,00	71,80	70,20	58,00	64,12	65,90	70,30
Gesamtkaseinbilanz in %	82,85	91,64	97,74	96,74	84,14	92,48	87,47	92,31
Reinkaseinausbeute in g/l Milch	19,72	24,37	28,73	24,57	22,00	19,23	27,55	23,91
Mittelwert und Standardabweichung 23,76 ± 3,38								

Reinkaseinausbeute in g/l = 9,40. Kaseingehalt AEM- 0,871, $r = 0,9047$ [Gl. 6-1]

Die Ausbeute an Reinkasein im Finalprodukt ist eine Funktion des Proteingehaltes der Ausgangsmagermilch. Es wurden die Ausbeuten des Reinkaseins der Finalpräparate verglichen.

Die Chargen 7 und 3 besitzen den höchsten Proteingehalt aufgrund der hohen Werte des Proteingehaltes in der Ausgangsmilch.

6.3 Diskussion

Im Rahmen der Arbeitabschnitte erfolgte in einem Vorversuch und acht Hauptversuchen die Herstellung von Schwefelsäurekasein im Labormaßstab (Säurefällung von 3 l nicht verkehrsfähiger Milch je Charge).

Bis zur abgeschlossenen Fällung wurde in allen Versuchen eine gleiche Technologieführung angewandt.

Bereits bei der Fällung kann am Beispiel des Agglomerationsverhaltens auf ein unterschiedliches Verhalten der Chargen geschlossen werden.

Unterschiede zwischen den Chargen treten weiter aufgrund eines differenzierten Molkeabscheidungsverhaltens auf. Eine gute Sauermolkenabtrennung wurde bei den Chargen 3, 4, 5, 6 und 8 ermittelt.

Der Wassergehalt im Finalprodukt ist eine Funktion der Trocknungsbedingungen (Zeit, Temperatur, Schichthöhe). Aus Reflexion auf den hohen Wassergehalt im Finalprodukt in den Chargen 2 bis 4 wurde die Trocknungstemperatur um 10 K, 20 K und zuletzt 15 K erhöht.

Diese Technologieänderungen sind jedoch von untergeordneter Bedeutung. Eine höhere Trocknungstemperatur verkürzt die Trocknungszeit, das Produkt versprödet mehr und ist besser und feiner mahlbar.

Die Maillardreaktion dürfte bei den noch als niedrig einzuschätzenden Temperaturen und geringem Laktoseanteil von untergeordneter Bedeutung sein.

Zu hohe Trocknungstemperaturen bei längeren Einwirkungszeiten führen zu Entstehung von braunen Umsetzungsprodukten der Proteine und beeinflussen die Löslichkeit sowie auch andere funktionelle Eigenschaften der Finalprodukte (siehe 8.6 im Anhang).

Da die Trocknungstemperatur nach oben auf 55 °C begrenzt wurde, ergaben sich Werte für den Wassergehalt unter 12 %.

Der Proteingehalt schwankt in einem Bereich von 83,2 ... 86,5 %. Es ist anzunehmen, dass bei der Säuerung das affine β -Kasein ganz oder partiell hydrolysiert wurde und sich deshalb die Ausbeute auf einen Wert um 97 % einpegelt. Der Proteingehalt im Finalprodukt ist eine Funktion des Kaseingehaltes der Ausgangsmilch, siehe Chargen 2, 3 und 7.

Lag eine sehr gute Molkeabscheidung vor, verringerte sich das zu waschende Kaseinbruchvolumen. Es konnte ohne Trennung in Teilcharge 1 und 2 gewaschen werden, wodurch die großen Unterschiede in Tab. 6-4 erklärbar sind. Der erhöhte Waschwasserverbrauch der Chargen 1 und 2 beruht auf der unterschiedlichen (schlechten) Molkeabscheidung des Kaseinbruches, der bei diesen Versuchen in zwei Teilen zentrifugiert werden musste. Bei einer Standzeit im Sieb von 10 min kann die Trennung in einer Charge vorgenommen werden.

Wurde mit einem Wasserüberschuss 1:12 gewaschen, wie z.B. in Charge 2, liegen ein Minimum an Laktose und Fett vor. Der Laktosegehalt der Präparate liegt unter 0,13 %.

Der Fettgehalt der Präparate ist analog der Labkaseinherstellung eine Funktion der Entrahmungsschärfe der Ausgangsmilch. Hohe Fettgehalte in der Ausgangsmilch werden im Finalprodukt wieder gefunden.

Bei den Chargen mit einer Aufteilung des Säurebruches in zwei Teilchargen liegt ein niedrigerer Fettgehalt vor.

Wie die durchgeführten Versuche zeigen, werden bei der Säurekaseingewinnung alle Phosphate der Kaseinmicellen mobilisiert und den funktionellen Gruppen des Kaseins die Kalzium- und Magnesiumionen entzogen.

Auf den Aschegehalt (< 2 %) scheint der Wasserüberschuss beim Waschen keinen Einfluss zu haben, siehe Charge 1 bis 8.

Es wurden hohe Ausbeuten an Kasein unabhängig von der Qualität/Vorschädigung der Milch gewonnen. Anhand der Tab. 6-4 unter Punkt 4.5 erfolgte eine Relativierung der Ausbeuterechnung.

Für den vorgesehenen Einsatz als Photoresiste ist die Charge 7 am besten geeignet.

Eine wesentliche Ursache liegt darin, dass die Zeit zwischen letzter Antibiotikabehandlung und Milchprobe eine Woche betrug. Deshalb zeigt die Charge 7 Ähnlichkeiten mit normaler verkehrsfähiger Milch bei der Säurefällung (Viskositäts- und pH-Verlauf).

Bei den anderen untersuchten Chargen betrug die Zeit zwischen letzter Antibiotikabehandlung und Untersuchungszeitpunkt ca. 2 Tage.

Orientierende Applikationsuntersuchungen bestätigen neben der hohen Ausbeute die bessere Eignung des Säurekaseins für die Herstellung z. B. von Photoresisten.

6. 4 Viskositäts- und pH-Verhalten bei der Säuerung

In der milchwissenschaftlichen Literatur sind keine Strukturuntersuchungen bei der Umwandlung/Fällung der Kaseine aus der Milch zu Schwefelsäurekasein ermittelt worden. Aus diesem Grunde wurden die Fällungsverläufe aus materialwissenschaftlicher Sicht analysiert und bewertet. Bereits durch den Verlauf von pH (als Vorgabe) und der Gerinnung der Kaseinmicellen zu Aggregationen mit verschiedenen Mechanismen können Rückschlüsse auf den Zustand der Milch geschlossen werden. Die nachstehenden Untersuchungen stellen Unikate dar.

6. 4. 1 Beschreibung der Fällungsverläufe bei der Säuerung von NV-Milchproben

Die Abb. 6-5 zeigt die Veränderung der Viskosität und des pH-Wertes während der Schwefelsäurezugabe der Charge 1.

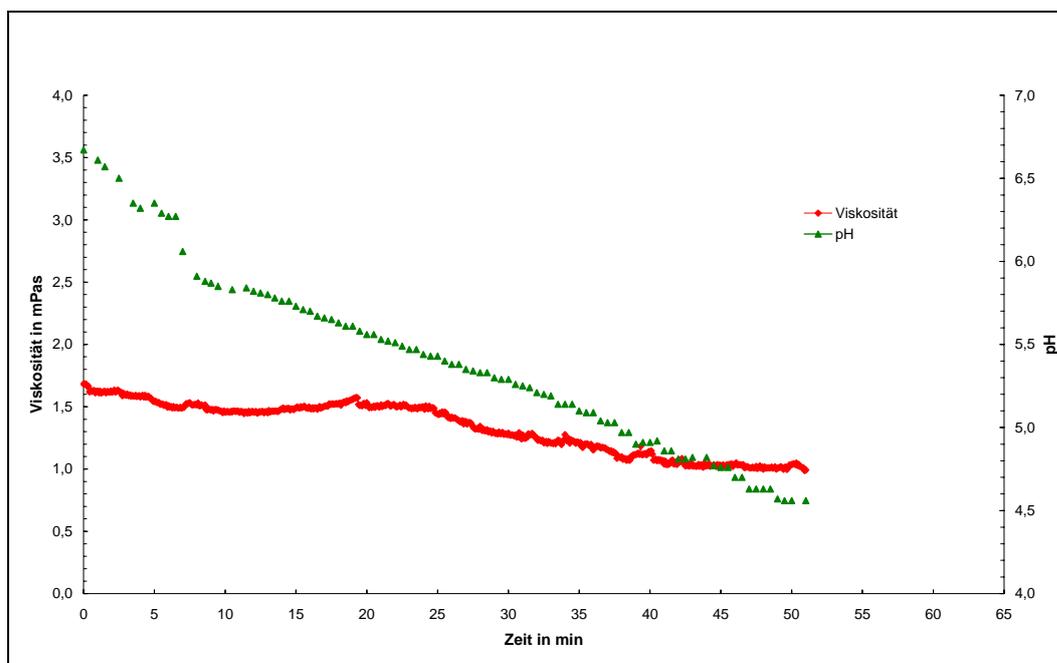


Abb. 6-5: pH-Verlaufskurve und Viskositätskurve nach Schwefelsäurezugabe

Folgende Versuchsbeschreibung ist möglich:

Versuch 1: Ausgangs-pH-Wert: 6,68; End-pH-Wert 4,6;
Fällungszeit: 50 min Verbrauch 34 ml 5 N Schwefelsäure

In den ersten 8 min findet ein starker Abfall des pH-Wertes auf 5,8 statt. Vergleichsweise zugeordnet ergibt sich nur eine geringe Änderung des Viskositätswertes, der gering von 1,6 mPas auf 1,4 mPas abfällt.

Ursache ist der durch den Säureangriff bewirkte Kollaps der Haarschicht des hydrophilen κ -Kaseins auf der Oberfläche der Micelle. Der steile pH-Abfall zu Versuchsbeginn kann auf die Ausfällung von Kalziumionen infolge Kalziumsulfatbildung bewirkt sein.

Danach ist ein leicht alterierendes Verhalten des Viskositätsverlaufes bei fast stetig absinkenden pH-Wert der Milch festzustellen.

Ursache ist jetzt die Ausfällung der Kaseine und deren sofortige Aggregation zu größeren Partikelsystemen, die das Viskositätslevel auf ein relatives Maximum erhöhen. Danach erfolgt in ca. 40 min ein Viskositätsabfall von 1,4 mPas auf ca. 1,1 mPas bei einem pH-Wert von 4,9. Danach ändert sich die Viskosität nur noch um 0,1 mPas, wogegen der pH-Wert weiter auf den End-pH absinkt. Der Viskositätsverlauf lässt auf eine Verkleinerung der Kaseinmicellen schließen, was jedoch nicht der Fall ist.

In den Abbildungen 12-9 bis 12-15 (Anhang) sind die Viskosität- und pH-Verläufe der Gewinnung Säurekasein Chargen 2 bis 8 dargestellt.

6. 4. 2 Generelle Betrachtung der pH-Verläufe bei der Säuerung

Die Säurefällung der Kaseine wird durch die Absenkung des pH-Wertes auf den Isoelektrischen Punkt durch kontinuierliche temporäre Schwefelsäurezugabe bewirkt. Infolge Ausfällung der Kaseine und durch das bereits ab pH 5,5 eintretende Herausdissoziieren der Kalziumionen aus den Mizellen und die Bildung von unlöslichen CaSO_4 aggregieren die Kaseine infolge hydrophober Wechselwirkungen zu Aggregationen beachtlicher Größe, die von der jeweiligen Versuchsdurchführung abhängig sind. Infolge stetigen Rührwerkseinsatzes liegt eine Dispersion/Suspension vor

In der Abb. 6-6 ist analog das inline-online ermittelte Verhalten des pH-Wertes bei den Versuchen dargestellt.

Bei den pH-Verläufen kommt das spezifische Pufferungsverhalten der Milch zum Ausdruck. Die pH-Wertabsenkung erfolgt im Regelfall unmittelbar nach Säurezugabe, was auch durch die Treppenfunktionen in den Auswertungen/Aufzeichnungen ersichtlich ist.

Eine eigene Klasse bilden die Chargen 2 und 3 ab sowie die Charge 7 mit dem geringsten pH-Wertabfall bei der Säuerung.

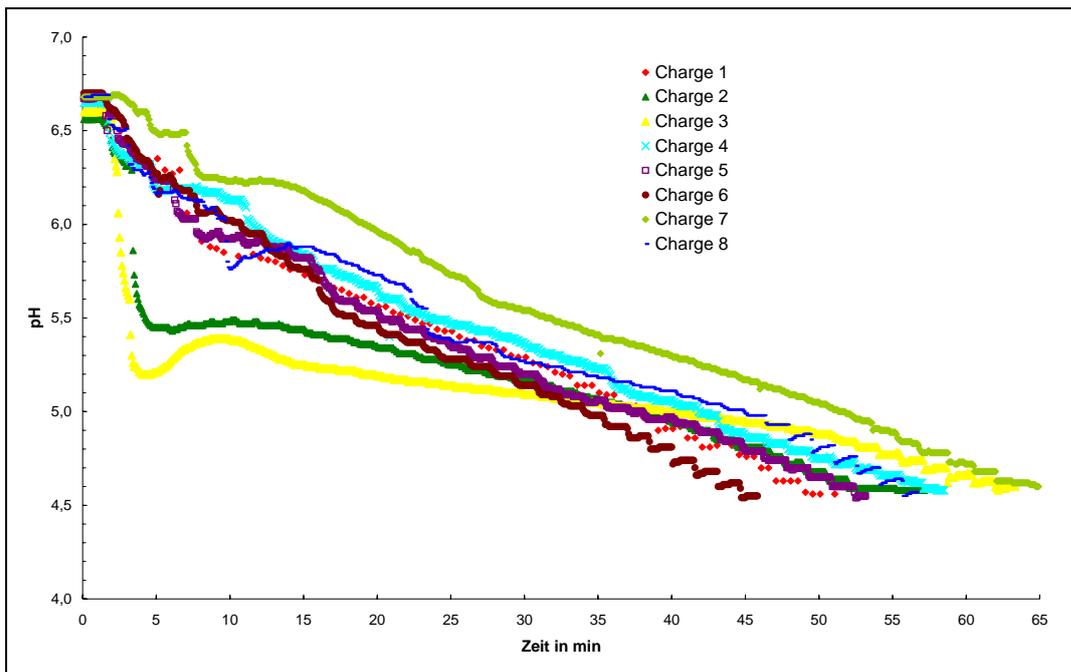


Abb. 6-6: pH-Verläufe bei den Säuerungen der Versuche 1 bis 8

Folgende Klassenbildung ist ableitbar:

Klasse 1: Charge 2 und Charge 3

Klasse 2: intermittierend: Chargen 1, 4, 5, 6, 8

Klasse 3: Charge 7

Die Milchproben 2 und 3 weisen die niedrigsten pH-Werte zu Beginn (6,41 und 6,46 leicht angesäuert) und die Milch hat keine Pufferreaktion wie die normale Milch als charakteristische Eigenschaft der intakten Proteine. Deshalb erfolgt in den ersten 2 min nach Versuchsbeginn bei dieser Fällung ein starker pH-Wert-Abfall.

Die Milchproben 1, 4, 5, 6, 8 haben die ähnlichen pH-Werte (6,56 - 6,66) und Proteingehalte der Ausgangsmilch. Die pH-Werte verändern sich nur langsam und die Milch hat eine größere Pufferkapazität.

Die Milchprobe 7 hat einen ähnlichen pH-Wert wie Klasse 1; aber sie hat den höchsten Proteingehalt in der Ausgangsmilch (4,18 %). Der Verlauf zeigt auch die Pufferkapazität der Milch.

Die Fällungszeit ist vom Kaseingehalt und damit von der Pufferkapazität der Milch abhängig. Charge 6 zeigt mit 45 min die niedrigste Fällungszeit, die Chargen 3 und 7 die höchste Fällungszeit von 62 min.

6. 4. 3 Generelle Betrachtung der Viskositätsverläufe bei der Säuerung

Der Viskositätsverlauf ist ein Ergebnis der unterschiedlichen Werte für Fettgehalt, Kaseingehalt, Zustand des Kaseins, Messtemperatur, pH-Wert, Krankheitsbild und Behandlungsverlauf sowie Ausgangsviskosität der Milchproben.

In der nachfolgenden Abb. 6-7 sind die Viskositätsverläufe bei der Säuerung der acht untersuchten Versuchschargen enthalten. Mit Hilfe des Messsystems Rheoswing RSD 1-1 wurde eine inline-online-Aufnahme der Prozessviskosität in Abhängigkeit von der Zeit, wie auch mit dem inline-online-pH-Meter „Comfort“ ermöglicht.

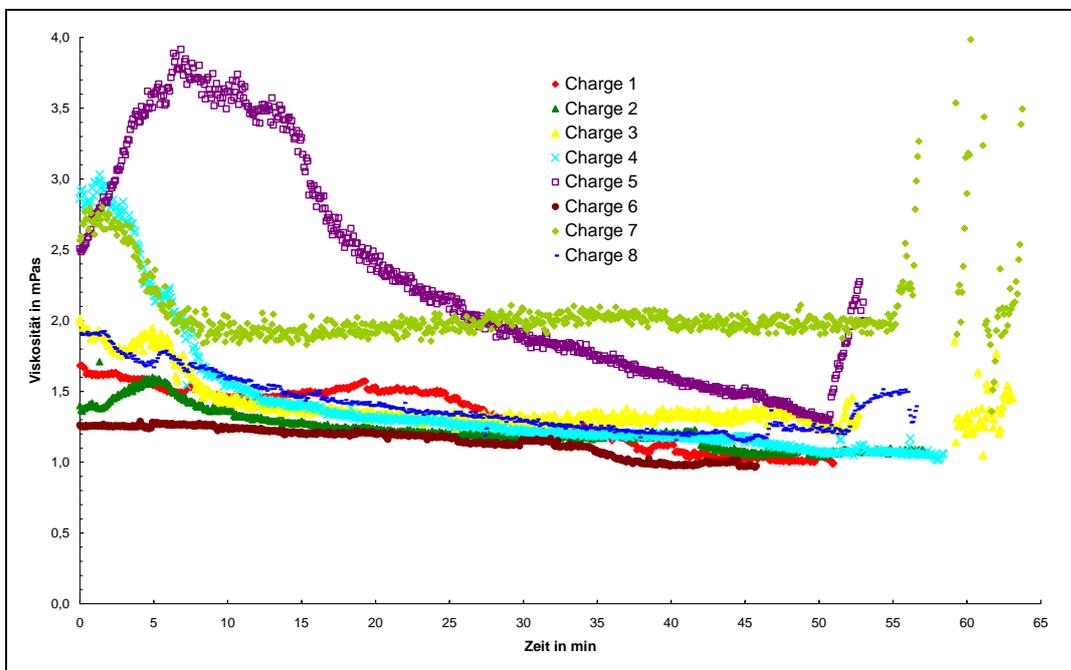


Abb. 6-7: Viskositätsverläufe der Versuche 1 bis 8

Anhand des Verlaufs der Messkurven können bei gleicher Technologieführung die eingesetzten Milchen in verschiedene Klassen unterteilt werden:

Klasse 1: Chargen 1, 2, 3, 8

Klasse 2: intermittierend: Charge 4 und Charge 7

Klasse 3: Charge 5 und Charge 6 mit generell abweichenden Verhalten

Die mitunter große Streuung nach ca. 55 min Prozesszeit ist auf das Ansetzen von Säurekasein an den Sensor zurückzuführen. Die Strömungsintensität reichte aufgrund der

ablaufenden Aggregationen und ihrem Hänsionspotenzial nicht mehr aus, ein Freispülen zu bewirken.

Die für die Versuche 5, 6 und 7 ermittelte „breite Spur“ der Aufzeichnung bestätigt das spezielle Verhalten der Kaseine bei diesen Versuchsdurchführungen.

6. 5 Ergebnisse der Thermoanalyse

Analog wie bei dem Labkaseinen wurden die hergestellten Säurekaseine thermoanalytisch untersucht.

6. 5. 1 Beschreibung der DSC-Messverläufe

Die hergestellten Präparate wurden in Auswahl mittels eines Netzsch STA 409C thermoanalytisch untersucht.

Die Darstellung und Bedeutung der Messkurven ist wie folgt:

In den Messprotokollen/Originalmesskurven blau dargestellt in die THERMOGRAVIMETRISCHE KURVE (Masseverlustkurve); grün in den Originalmesskurven ist das eigentliche DSC-Signal (WÄRMETÖNUNG) dargestellt.

Blau gestrichelt liegt die 1. Ableitung der Massenkurve über der Zeit vor, die Massenänderungsgeschwindigkeiten indiziert und auf ablaufende chemische/biochemische Reaktionen infolge Temperatureinwirkung auf das Probenmaterial kenntlich macht.

Tab. 6-7: Eigenschaften der Kaseinpräparate für Thermoanalyse /76/

Lfd. Nr.	Inhaltsstoff/Eigenschaft	G1	G2	G3	G4	G5
6.	Eiweiß (N x 6,38) in %	87,00	87,70	83,80	83,72	83,72
7.	Fett (%)	0,90	4,94	2,31	4,46	3,12
8.	Laktose (%)	<0,20	0,10	0,19	<0,01	0,95
9.	Asche (%)	1,17	1,91	2,50	1,61	7,72
10.	Wasser (%)	8,70	7,70	10,80	8,80	3,58

G1 Referenzkasein: Säurekasein aus Neuseeland

G2 Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung

G3 Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung

G4 Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung

G5 Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (TUB) Schwefelsäurefällung

G6 Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (FH Hannover) nach Ultrafiltration

Am Beispiel des Neuseeland-Kaseins G1 wird nachfolgend exemplarisch eine Kurvendiskussion der DSC-Messverläufe durchgeführt. /103/

In allen durchgeführten Messläufen stellt sich zu Versuchsbeginn eine breite endotherme Bande in den DSC-Messungen dar.

Diese kennzeichnet die Wasserentfernung aus den unterschiedlichen Pulvern durch Verdunstung und Verdampfung in Abhängigkeit von der jeweiligen Temperatur. Bei einer geringen Massenänderung wird ein „hohes“ DSC-Signal aufgrund der hohen molaren Verdampfungswärme des Wassers angezeigt.

Das Ende des Trocknungsprozesses wird bei etwa 175 °C gesehen und bestätigt Erkenntnisse aus der Praxis. Im Regelfall werden Milchpulverprodukte mit einem Restfeuchtegehalt von 3,5 ... 5 % zur Auslieferung gebracht.

Ab 185,4 °C startet ein erneuter endothermer Vorgang, der als ein der Hauptdegradation vorgeschalteter Prozess angesehen werden kann und der die thermische Stabilität mitbestimmt.

Dieser Vorprozess ist bereits mit einer geringen Massenänderung verbunden. Das Ende wird bei ca. 245 °C bestimmt.

Bis zu einer Temperatur von ca. 250 °C wird das Kasein-Material als relativ informationsarm angesehen.

Danach beginnt bis zu einer Temperatur von ca. 350 °C die Hauptdegradation des Materials.

Die stärkste Reaktivität (thermische Zersetzung) wird bei 320,9 °C mit einer Massenänderungsgeschwindigkeit von $-9,69\%$ /min bestimmt.

Tab. 6-8: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter der DSC-Untersuchungen am Beispiel von Neuseeland-Kasein

Nr.	DSC-Verlauf \longrightarrow					
1	Neuseeland-Kasein					
	Probe I	91,5 °C	185,4 °C	245,0 °C	308,0 °C	341,0 °C
	Probe II	105,9 °C	187,1 °C	242,0 °C	306,0 °C	340,9 °C
	Mittelwert	98,7 °C	186,3 °C	243,5 °C	307,0 °C	340,9 °C

Nr.	DTG-Verlauf \longrightarrow			
1	Neuseeland-Kasein			
	Probe I	92,1 °C	205,7 °C	Onset 279/320,9/-9,69%/min/offset 346,3
	Probe II	106,2 °C		Onset 279/319,8/-9,56%/min/offset 346,1
	Mittelwert	99,15 °C	205,7 °C	Onset 279/320,4/-9,63%/min/offset 346,2

Nr.		Temperatur
1	Neuseeland-Kasein	
	Probe I	295,0 °C
	Probe II	294,4 °C
	Mittelwert	294,7 °C

Aus den Messkurven werden die oben beschriebenen charakteristischen Punkte entnommen und gelistet:

Beispiel: Massenverlauf: 295 °C

DSC-Verlauf: Wendepunkte bei 91,5 °C, 185,4 °C, 244,7 °C, 308,0 °C, 341,6 °C.

DTG-Verlauf. Wendepunkte bzw. Peaks: 92,1°C, 205,7 °C, onset 279/320,9/-9,69%/min/offset 346,3 °C.

Die durch das automatisierte Auswertesystem objektiv erkannten Peaks und Wendepunkte dienen dem Vergleich der Proben und werden nachfolgend in Tabellen (Tab 6-9 und Anhang) zusammengefasst.

In der Abb. 6-8 sind die Versuchsergebnisse der DSC und DTG-Messungen beim Neuseeland-Kasein dargestellt.

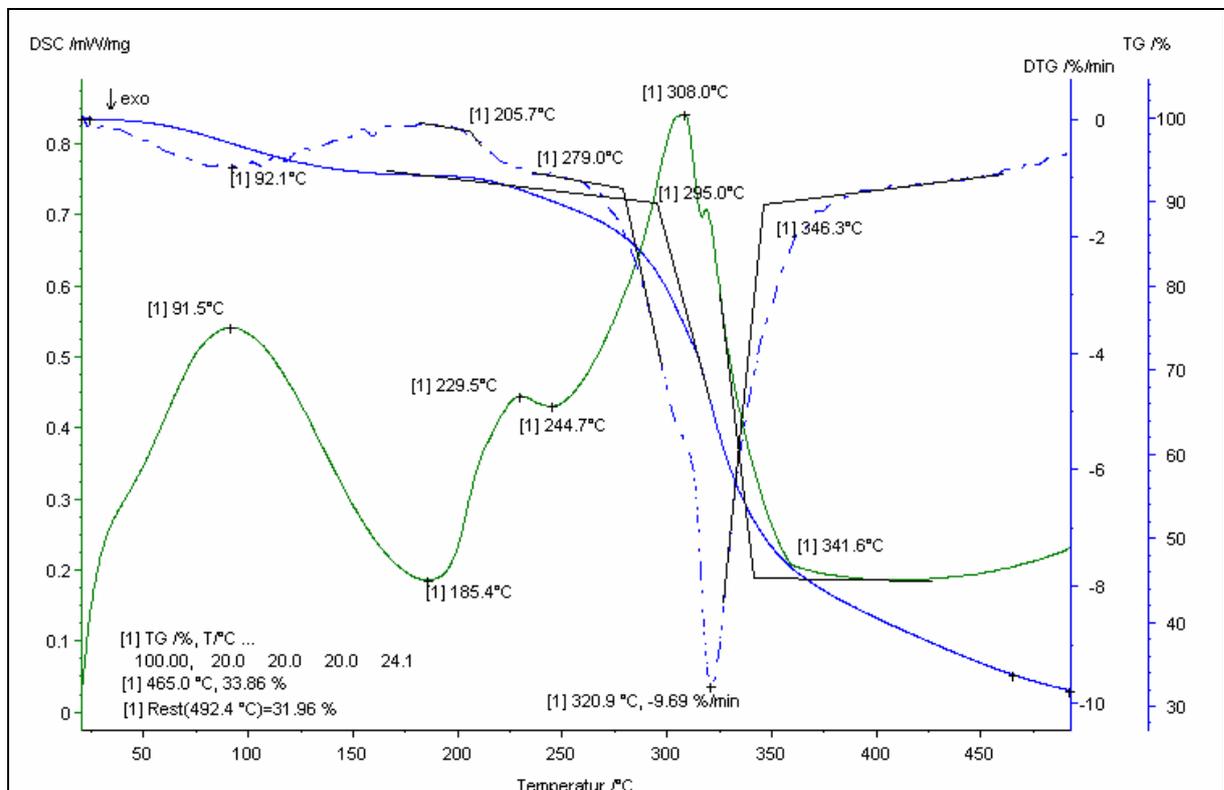


Abb. 6-8: Thermoanalyse von Kasein Nr. 1 (Neuseeland)

In den Abb. 12-16 bis 12-20 (im Anhang) sind die Versuchsergebnisse der untersuchten Kaseine enthalten. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Für charakteristische Parameter, die durch die Software der DSC-Analytik festgelegt wurden, sind Mittelwerte berechnet.

Deutlich ist die Singularität des über UF gewonnenen Kaseins erkennbar.

Abb. 12-21 enthält am Beispiel des Neuseeland-Kaseins den Nachweis der Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse in Form der Darstellung der durchgeführten Doppelbestimmungen.

In Abb. 12-22 findet ein Vergleich durchgeführter DSC-Messungen aus verkehrsfähiger sowie nicht verkehrsfähiger Milch zur Herstellung von Schwefelsäurekasein im kleintechnischen Maßstab statt. Eindeutig ist erkennbar, dass das DSC-Signal des Milchsäurekaseins aus verkehrsfähiger Milch oberhalb des Verlaufes der nicht verkehrsfähigen Milch innerhalb des gesamten Temperaturbereiches liegt.

Eine höhere thermische Stabilität wird dadurch nachgewiesen.

Weiter ist eindeutig die geringere Stabilität der aus nicht verkehrsfähiger Milch hergestellten Kaseine in der Zusammenstellung der Versuche erkennbar.

In den Abb. 12-23 und 12-24 erfolgt eine zusammenfassende Wertung aller Versuchsdurchführungen. Das niedrigste Level in den DTG-Verläufen liegt mit Ausnahme des Versuches 3 (Milchsäurekasein aus nicht verkehrsfähiger Milch Oranienburg) beim Neuseeland-Kasein vor und kennzeichnet geringstes Zersetzungsverhalten und damit wieder höchste thermische Stabilität aufgrund homogener chemischer Zusammensetzung.

Eine Zusammenstellung der wichtigsten thermoanalytischen Kennwerte erfolgt in Tab. 6-9.

Nachstehend erfolgt eine Diskussion der dort aufgeführten thermophysikalischen Parameter.

In Spalte 2 kennzeichnet die Temperatur der ersten Degradationsstufe im Wesentlichen ablaufende Deamidierungsreaktionen innerhalb der Kaseine und kann als erstes Indiz für eine thermische Beständigkeit herangezogen werden.

Die höchsten Temperaturen und damit Thermostabilität werden beim Neuseeland-Kasein gefunden. Hier liegen offensichtlich die nativsten und damit stabilsten Kaseine aufgrund des effizienten und einfachen Herstellungsverfahrens sowie der nicht vorhandenen Vorschädigung der Milch vor.

Die sich anschließende 2. Degradationsstufe (Eintritt) kennzeichnet am Beispiel des Parameters Temperatur T_i den Beginn der Zersetzung der Kaseinstruktur/Kaseinmoleküle von der Carboxyl-Gruppe her. Eine Decarboxylierung findet statt, was letztlich zur Zersetzung der Kaseine in niederatomare Bausteine führt. Als Trend ist wieder zu erkennen, dass bei nicht-verkehrsfähiger Milch, gleich welcher Herstellungstechnologie, die stoffliche Zersetzung am frühesten stattfindet.

Das Neuseeland-Kasein, das Milchsäure-Kasein und das Schwefelsäurekasein aus verkehrsfähiger Milch (beides MLUA Oranienburg) bestätigen den Einfluss bzw. die Bedeutung originärer Kaseine auf die chemische/thermische Stabilität.

Von besonderer Bedeutung ist die als Temperaturdifferenz dargestellte Bereichsbreite ΔT nach Bestimmung der Endtemperaturen der 2. Degradationsstufe T_e . Hier ist ableitbar, dass die geringste Temperaturdifferenz beim Neuseeland-Kasein (aus verkehrsfähiger Milch) mit 67,2 K vorliegt. Fast die doppelte Temperaturspanne wird beim durch Membranfiltration gewonnenen und dann nicht mehr stofflich gewandelten UF-Kasein ermittelt. Die Ursache liegt eindeutig in der durch das Herstellungsverfahren bedingten Reinheit (Homogenität der Kaseine) des Produktes.

Signifikante Unterschiede zwischen verkehrsfähiger und nicht verkehrsfähiger Milch sind als Trend aus den Chargen 2 und 4 abzuleiten. Lediglich das im Labormaßstab hergestellte Schwefelsäurekasein (Charge 5) liegt in der Größenordnung des mittels kleintechnischer Verfahren aus verkehrsfähiger Milch hergestellten Kaseins.

Als weiteres Kriterium für die Vergleichbarkeit der Kaseine wird die Peaktemperatur bei maximaler Zersetzung der zeitlichen Ableitung der TG-Kurve (blaugestrichelt) herangezogen. Das sich abbildende Minimum wird erfasst und ist in Spalte 6 (Tab. 6-9) gelistet.

Die Schwefelsäurekaseine Neuseeland und die eigenen Präparate weisen eine annähernd gleiche Zersetzungspeaktemperatur auf. Um ca. 8 K ist für das Schwefelsäurekasein (verkehrsfähige Milch) Oranienburg diese Temperatur erhöht. Gleichzeitig wurde in diesem Peak die Zersetzungsgeschwindigkeit in % /min durch die Gerätesoftware ermittelt und in Spalte 7 (Tab. 6-9) aufgetragen.

Ableitbar daraus ist: Je reiner (homogener) die Substanz hergestellt wurde, desto größer ist die Zersetzungsgeschwindigkeit in diesem Peak.

Tab. 6-9: Zusammenstellung thermoanalytischer Kennwerte aus den DTG-Messungen

Produkt	1. Degradationsstufe in °C	2. Degradationsstufe Ti in °C	2. Degradationsstufe Te in °C	Bereichsbreite als ΔT in K	Peaktemperatur maximale Zersetzung in °C	Zersetzungsgeschwindigkeit in % /min
Neuseeland-Kasein	205,7	279,0	346,2	67,2	320,4	-9,63
Milchsäuregerinnung verkehrs-fähige Milch MLUA Oranienburg	199,2	279,9	355,0	75,1	334,2	-7,82
Milchsäuregerinnung nicht verkehrs-fähige Milch MLUA Oranienburg	197,5	277,4	357,8	80,4	323,7	-8,27
Schwefelsäurekasein aus verkehrs-fähiger Milch MLUA Oranienburg	198,0	280,0	353,1	73,2	327,5	-8,09
Schwefelsäurekasein aus nicht verkehrs-fähiger Milch TU Berlin	198,9	274,0	348,5	74,1	319,3	-8,90
Hannover-Kasein Membranfiltration FH Hannover	205,3	260,9	394,4	135,2	340,4	-5,52

Mittelwerte aus Doppelbestimmung

Eine detaillierte Zusammenfassung der durch die Software der DSC-Technik determinierten charakteristischen Punkte im TG-, DSC- und DTG-Verlauf ist im Anhang enthalten.

Ein Ranking ergibt: Neuseeland-Kasein > Schwefelsäurekasein TU > Milchsäurekasein und Schwefelsäurekasein Oranienburg als eine Versuchsklasse > Milchsäurekasein verkehrsfähige Milch Oranienburg > UF-Kasein.

6. 5. 2 Diskussion

Anhand der genannten Kriterien kann geschlussfolgert werden, dass mit Hilfe der DSC-Analytik ein Fingerprint der vorliegenden Proben und daraus ableitend ein Vergleich/Bewertung der nach unterschiedlichen Verfahren hergestellten Kaseine möglich ist.

Von besonderer Bedeutung sind folgende Parameter:

1. Degradationstemperatur als Kennwert für die eintretende Deamidierung
2. Degradationstemperatur als Kennwert für die eintretende Decarboxylierung
3. Bereichsbreite T_i bis T_e in K als Maß für die Homogenität der Probe (Einkomponentensystem/Multikomponentensystem) für die Qualitätsbewertung bzw. für die chemische Zusammensetzung der Kaseinpulver.

6. 6 Kaseinanalytik mittels HPLC-Untersuchungen

6. 6. 1 Ergebnisse

In den Abbildungen 12-25 bis 12-33 (Anhang) sind die Versuchsergebnisse dargestellt. Zur Bestimmung des korrigierten Flächenintegrals wurden 500 mg Probenmaterial zugrunde gelegt, die in einem Lauf aufgetragen und zuvor mit einem Mikrofilter mit 20 μm Durchmesser filtriert werden.

In Tab. 6-10 ist die Auswertung der chromatischen Ergebnisse der Kaseinfraktionierungen an einer HIC-Säule „source 15 PHE PE 4,5/100“ zusammenfassend enthalten.

Die Kaseinverteilung ist in % angegeben.

Tab. 6-10: Kaseinverteilungsspektren der Laborpräparate Schwefelsäurekasein

Charge	β -Kasein %	α_{S1} -Kasein %	α_{S2} -Kasein %	κ -Kasein %	korrigiertes Flächenintegral
NZ-Kasein	41,25	40,28	7,58	10,87	19,4120
1	28,60	68,04	1,85	1,51	8,9515
2	48,65	47,57	nicht trennbar*	0,37	17,5130
3	51,87	34,52	8,36	5,26	22,0799
4	59,38	38,46	nicht trennbar*	2,17	23,5284
5	42,91	41,69	nicht trennbar*	15,40	20,8607

6	43,93	45,63	nicht trennbar*	10,44	21,5314
7	41,69	48,27	nicht trennbar*	10,00	21,5164
8	40,49	43,88	nicht trennbar*	15,62	22,5187

* vom α_{S1} -Kasein, da die Peaks ineinander übergehen

6. 6. 2 Diskussion

Nachstehend erfolgt die Diskussion der in Tab. 6-10 zusammengefassten Ergebnisse.

Erkennbar ist die mitunter große Differenz der ermittelten Kaseinanteile zu einer Standardmilch am Beispiel von β -Kasein (Charge 1), α_{S1} -Kasein (Charge 1) von κ -Kasein (Charge 2) sowie der Abtrennbarkeit des α_{S2} -Kaseins in den Chargen 2, 4 bis 8, die ein Indikator für die Eutergesundheit des jeweiligen Tieres sind.

Auf die Untersuchung von eigenen Labkaseinpräparaten (siehe DSC-Untersuchungen) wird bewusst verzichtet, da ein gleiches Kaseinspektrum, lediglich an Ca^{++} -Ionen gebunden vorliegt.

Charge 1: Aus der ermittelten Verteilung, insbesondere aus dem niedrigen β -Kaseinanteil kann auf eine Mastitis im fortgeschrittenen Status geschlossen werden. Das β -Kasein ist das am wenigsten hydrophobe Kasein der inneren Kaseine und somit proteolytisch leichter abzubauen als die anderen 3 Kaseinfraktionen.

Charge 2: Die Probe zeigt eine typische Verteilung für die Auswirkungen einer Antibiotika-Behandlung, die proteolytische Prozesse/Abläufe in der Milch wirksam unterbindet.

κ -Kasein bindet mit seinen glykosylierten Seitenketten Antibiotika und Toxine. Die resultierenden Komplexe sind nur minimal mit dem verbleibenden Kasein assoziiert und somit leicht im sauren Milieu auswaschbar und erklärt so die geringen Befunde beim κ -Kasein.

Der sehr geringe Anteil an κ -Kasein ist durch proteolytische Enzyme in der Milch verursacht und kennzeichnet den Krankheitsgrad des Tieres. In diesem Fall werden insbesondere die κ -Kaseine beschleunigt abgebaut (hydrophiles Kasein).

Charge 3: Die Probe zeigt selektiv abgetrennte Peaks, fast wie das Neuseeland-Kasein. Ein ähnlich hoher Proteingehalt liegt vor. Bestätigt werden diese Aussagen zusätzlich durch das Level des korrigierten Flächenintegrals sowie die Analytik in Tab. 4.5.

Charge 4: Kennzeichnet eine relativ intakte Proteinzusammensetzung der Milch, erkennbar am hohen Anteil von β -Kasein. Die Verschiebung des β -Kaseinanteiles auf

Größenordnungen $> 30 \dots 35 \%$ kann weiterhin durch das Auswaschen (Laktose) von Kaseinbruchstücken erfolgt sein, so dass eine Aufkonzentrierung eintrat. Entscheidend für die Verschiebung vom Standard ist die Euterkrankheit, eventuelle bakterielle Aktivitäten und bei ringförmigen Antibiotika eine bekannte Anlagerung an das Kasein.

Charge 5: Kennzeichnet eine intakte Proteinzusammensetzung der Milch, erkennbar am hohen Anteil von β -Kasein. Der κ -Kaseinanteil wird mit ca. 15 % als sehr hoch bestimmt und bestätigt die gemachte Aussage und erreicht damit den theoretisch möglichen Wert.

Für die Bestimmung des β -Kaseinanteils wurde mit klassischer Grundlinie gearbeitet, weil die morphologische Grundlinie zu falschen Werten beim Integrieren führen würde. Gleiches ist für die chromatographischen Analysen von Charge 6 und 7 zutreffend.

Charge 6: Der β -Kaseinanteil wurde auf klassischem Wege über die Grundlinie kalkuliert.

Charge 7: Die Proteinzusammensetzung der Milch lässt auf abklingende Erkrankung des Liefertieres schließen. Auffällig ist der hohe Eingangspoteingehalt der Milch bei nur leicht erhöhtem Kaseinanteil.

Charge 8: Die Proteinzusammensetzung der Milch lässt auf abklingende Erkrankung des Liefertieres schließen. Auffällig ist der hohe Fettgehalt dieser Milch.

Zusammenfassend kann ausgesagt werden, dass die Chargen 5 bis 8 vom Kaseinspektrum her dem Neuseelandkasein entsprechen.

Als weitere Ergänzungsuntersuchungen wurde die Analytik mit neuer optimierter Säule und Probenvorbereitung durchgeführt wie folgt: /70/

Man löst 30 mg trockenes Kaseins in 10 ml Laufpuffer A (6 M Harnstoff und 0,02 M Natriumacetat werden in dest. Wasser gelöst, mit HCl 1N so justiert, dass der zubereitete Puffer einen End-pH von 5,0 aufweist) und justiert die Probe bei Zimmertemperatur mit verdünnter Natronlauge auf pH 7,0 und gibt 10 μ l Mercaptoethanol dazu. Die Probe wird 1 h bei diesem pH-Wert gerührt. Danach mit 1N HCl auf pH 5,0 zurück. Vor der Chromatographie an der Säule (ResourceTM S 1 ml) wird die Probe mikrofiltriert (20 μ l-Spritzenfilter) und geschüttelt.

In den Abbildungen 6-8 und 6-9 sind die Versuchsergebnisse der Kaseinfraktionierung NZ-Kasein und Labkaseincharge 5 dargestellt.

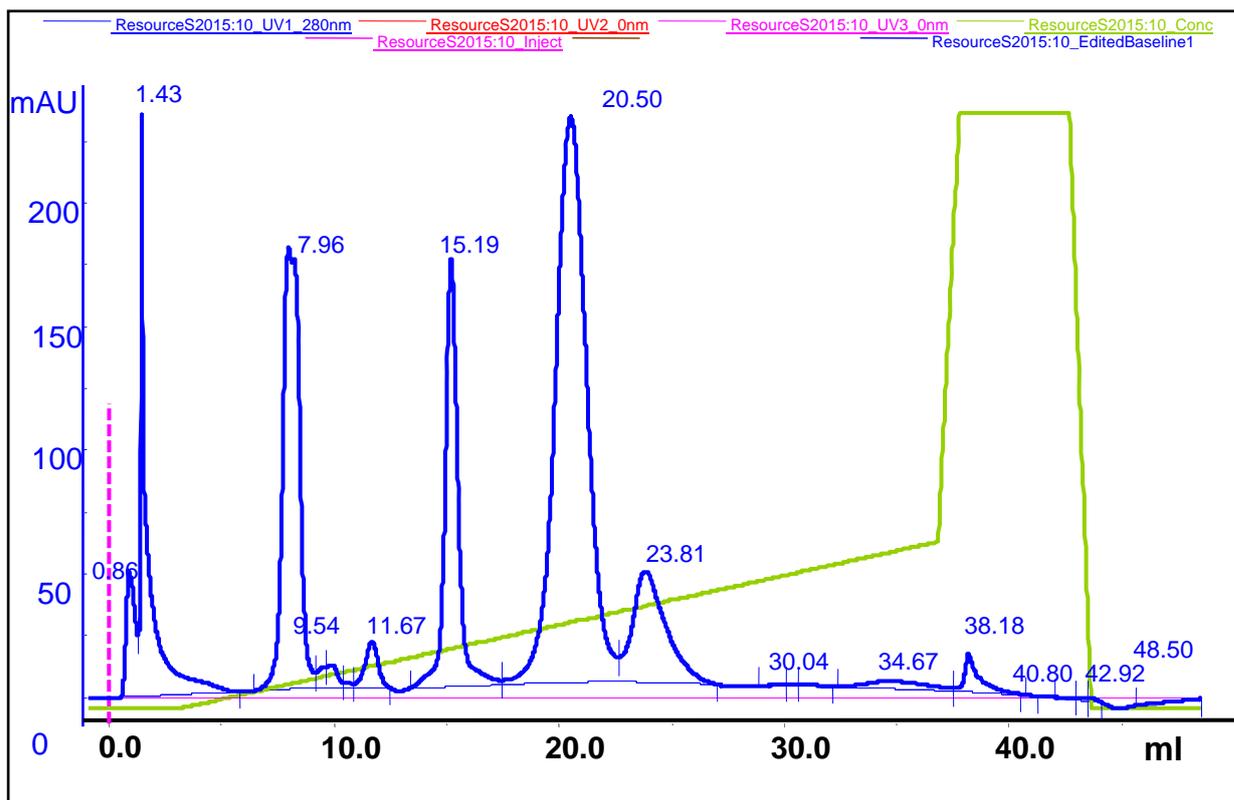


Abb. 6-8: Chromatogramm Labkaseincharge 5

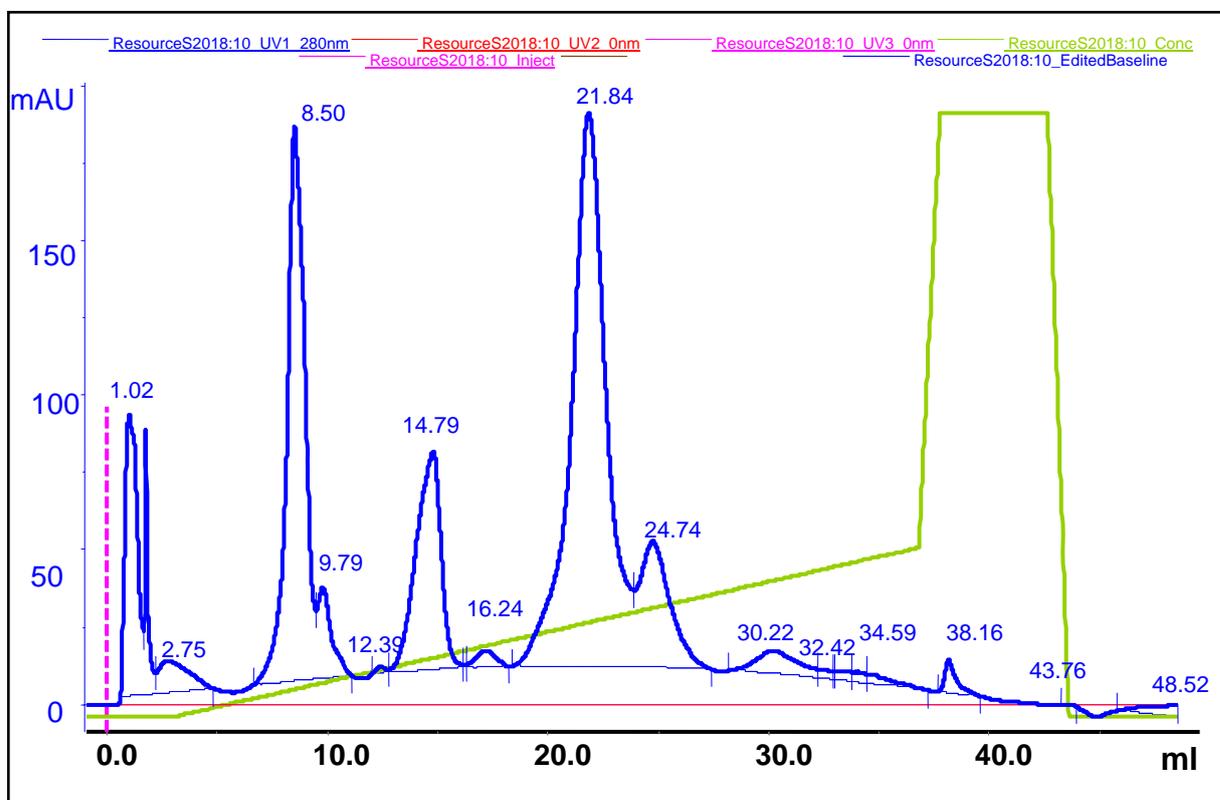


Abb. 6-9: Chromatogramm NZ-Kasein

In Tab. 6-11 ist die Auswertung der chromatischen Ergebnisse der Kaseinfraktionierung NZ-Kasein und Labkaseincharge(5) an einer Säule“ Resource™ S 1 ml „ enthalten. Die Kaseinverteilung ist in % angegeben.

Tab. 6-11: Kaseinverteilungsspektren NZ-Kasein, Labkaseincharge (5)

Charge	β-Kasein %	α_{S1}-Kasein %	α_{S2}-Kasein %	κ-Kasein %
NZ-Kasein	42,66	38,68	7,68	11,06
Labkasein Charge (5)	38,38	41,14	8,28	12,18

Unterschiede zur Tab. 6-10 werden deutlich und belegen der Einfluss der Probenpräparationen, Ternssäule (hydroph Tab.6-10; kationisch Tab. 6-11).

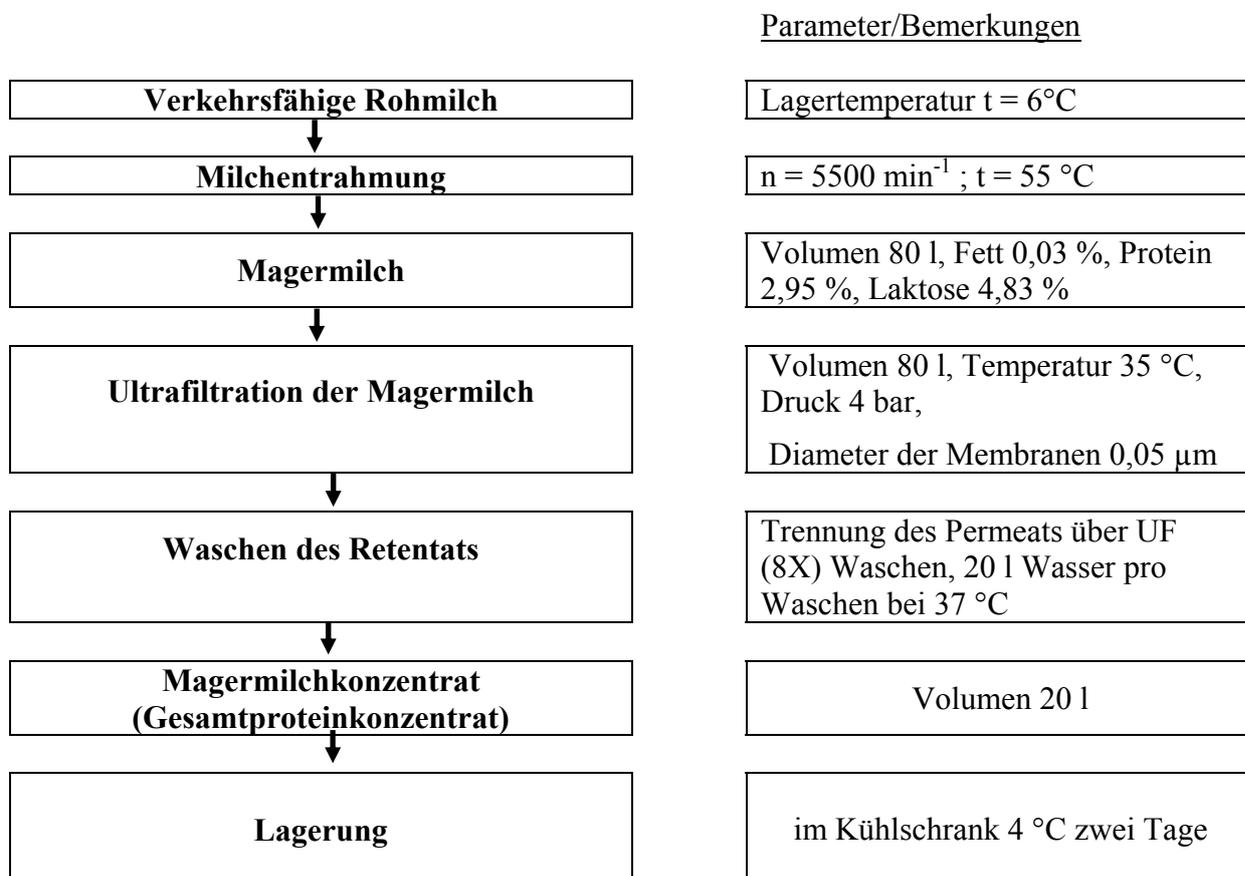
7. Verfahren zur Herstellung von Milchpulver aus verkehrsfähiger Milch

Nachstehend werden die Ergebnisse von Untersuchungen zur Eignung von Gesamtproteinpulvern zur Herstellung von Photoresisten dargestellt.

7.1 Verfahren zur Herstellung des Gesamtproteinpulvers durch Ultrafiltration an der FH Hannover, Sprühtrocknung

Als Ultrafiltrationsanlage wurde das Model 92 LAB UNIT UF der Firma MemBrain eingesetzt. Das Ultrafiltrationsmodul (Fm. Advanced Structure, Inc. Escondido, California, USA) besitzt eine Ultrafiltrationsmembran der Firma Osmonics (Cut-off: 0,05 μm , Materialmembran: PES). Es wurde bei einer Temperatur von 35 °C und einem Eingangsdruck von 7,6 bar gearbeitet.

Die durch Ultrafiltration abgetrennten Milchproteine wurden mit der gleichen Ultrafiltrationsanlage achtmal gewaschen. Die Milchprobe für die Herstellung des Gesamtproteinpulvers wurde bei 55 °C zentrifugiert. Die Gesamtproteinpulverherstellung folgte dem Schema mit den Prozessschritten in der Abb. 7-1



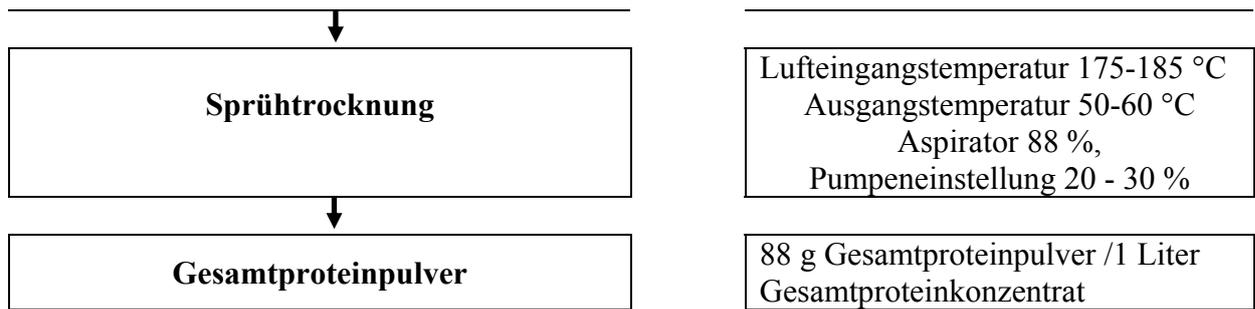


Abb. 7-1: Fließbild zur Herstellung von Gesamtproteinpulver

Die Abnahme der Trockensubstanz und des Aschegehaltes bei den Waschungen ist in der Abb. 7-2 zu ersehen

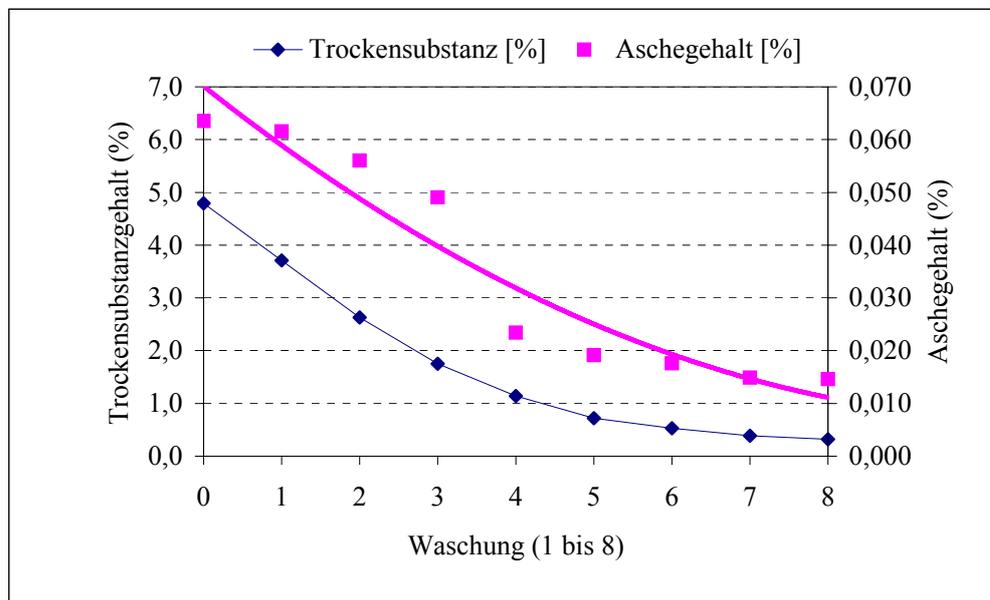


Abb. 7-2: Abnahme der Trockensubstanz und des Aschegehaltes in Abhängigkeit von den Waschungen mit der Ultrafiltrationsanlage

7.2 Verfahren zur Herstellung des Kasein und Molkenproteinpulver durch Mikrofiltration an der FH Hannover, Sprühtrocknung

Die getrennte Gewinnung von Kaseinen und Molkenproteinen erfolgte nach der Entrahmung und Pasteurisierung der Milch mit Hilfe einer Mikrofiltrationsanlage mit einer keramischen Rohrmembran (Keramikträger ISOFLUX, Firma TAMI, cut off: 0,14 µm).

Die Milchprobe für die Herstellung der (Kaseinpulver, Molkenproteinpulver) wurde bei 55 °C zentrifugiert. Die Pulverherstellung folgte dem Schema in Abb. 7-3.

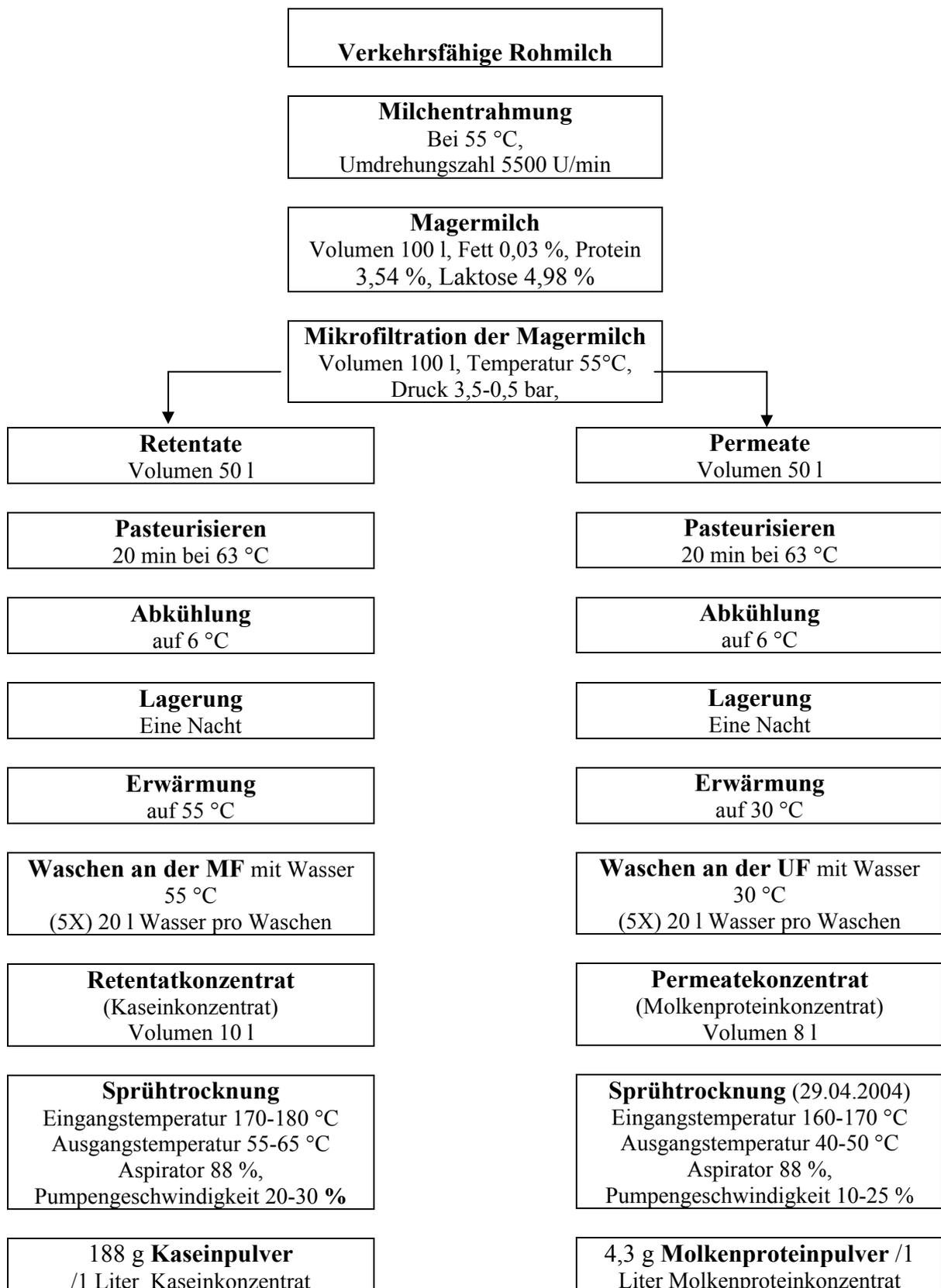


Abb. 7-3: Fließbild zur Herstellung von Kasein und Molkenproteinpulver

7.3 Milchpulveranalytik

In Tab. 7-1 sind die Ergebnisse der Analytik enthalten.

Tab. 7-1: Chemische Zusammensetzung des Pulveres (Gesamtprotein, Kasein, Molkenprotein)

	Gesamtprotein	Kasein	Molkenprotein
Proteingehalt %	79,0	81,2	76,6
Proteingehalt (TS) %	84,5	85,7	88,6
Fettgehalt %	2,92	1,51	0,85
Laktosegehalt %	0,53	0,33	1,13
Trockenmasse %	93,5	94,7	86,4
Aschegehalt %	8,75	9,0	5,0

Der im Gesamtproteinpulver gefundene niedrige Eiweißgehalt im Vergleich zum Kaseinpulver ist durch die eingesetzte Magermilch erklärbar und kein Widerspruch.

7.4 Bilanzrechnungen - Ausbeute

7.4.1 Bilanz der Gesamtproteingewinnung

Der Standardproteingehalt einer Milch beträgt ca. 35 g/l. Die Ausgangsmilch (I) wies einen Gesamtproteingehalt von 2,95 % (Messwert) auf.

Das Ausgangsvolumen der Magermilch (I) war 80 l und nach Ultrafiltration und Waschen waren die Volumen des Gesamtproteinkonzentrats 20 l. Das entspricht 118 g Gesamtproteingehalt pro Liter Gesamtproteinkonzentrat.

Es wurde aus 1 l Gesamtproteinkonzentrat 88 g Gesamtproteinpulver nach der Sprühtrocknung mit 79 % Proteingehalt gewonnen. Das entspricht 69,5 g Gesamtprotein.

Die anhand dieser Daten berechnete Ausbeute des Gesamtproteinpulvers betrug 59 %.

7.4.2 Bilanz der Kaseingewinnung

Die Ausgangsmilch (II) wies einen Proteingehalt von 3,54 % auf (Messwert). Der Kaseingehalt betrug 77 % vom Gesamtproteingehalt der Rohmilch. Das entspricht einem Kaseingehalt der Ausgangsmilch (II) von 2,72 % (gerechnet).

Das Ausgangsvolumen der Magermilch (II) betrug 100 l. Nach der Mikrofiltration und Waschen betrug das Volumen des Retentatkonzentrats 10 l. Das entspricht 272,5 g Kaseingehalt pro Liter Retentatkonzentrat.

Es wurde aus 1 l Retentatkonzentrat 188,6 g Kaseinpulver nach Sprühtrocknung mit

81,2 % Proteingehalt gewonnen. Das entspricht 153,2 g Reinkasein.

Die anhand dieser Daten berechnete Ausbeute des Kaseinpulvers betrug 56,2 %.

7. 4. 3 Bilanz der Molkenproteingewinnung

Die Ausgangsmilch (II) wies einen Proteingehalt von 3,54 % auf (Messwert). Der Molkenproteingehalt beträgt 17 % vom Gesamtproteingehalt der Rohmilch. Das entspricht, dass das Molkenproteingehalt der Ausgangsmilch (II) 0,6 % (gerechnet).

Das Ausgangsvolumen der Magermilch (II) war 100 l und nach Mikrofiltration, UF und Waschen wurden 8 l des Permeatekonzentrats erhalten. Das entspricht 75 g Molkenproteingehalt pro Liter Permeatekonzentrat.

Es wurde aus 1 l Permeatekonzentrat 4,3 g Molkenproteinpulver nach Sprühtrocknung mit 76,6 % Proteingehalt gewonnen. Das entspricht 3,3 g Molkenprotein.

Die anhand dieser Daten berechnete Ausbeute des Molkenproteinpulvers betrug 4,5 % und erscheint fehlerhaft bestimmt.

Die Ursachen dieser Minderausbeute konnten in einer Problemdiskussion nicht gelöst werden. Technische Probleme bei der Trocknungsführung können eine Rolle gespielt haben. Wie die DSC-Untersuchungen ergaben, sollte beim Gesamtproteinpulver zur Herstellung von Photoresisten eingesetzt werden.

8. Applikationsuntersuchungen

Nach der Herstellung von Präparaten sollte die Applikationsfähigkeit von Photoresisten getestet werden. Aus diesem Grunde erfolgten umfangreiche Löslichkeitsuntersuchungen.

8. 1 Löslichkeitsuntersuchungen

8. 1. 1 Ergebnisse der Löslichkeit von isoliertem Kasein in Dimethylfluorid

Erste Untersuchungen zur Löslichkeit von isoliertem Kasein in DMF wurden durchgeführt und dienten der Bewertung der Applikationseigenschaften von Produkten aus nicht verkehrsfähiger Rohmilch.

In die Untersuchungen wurden mehrere Kaseinate einbezogen, allen voran ein Schwefelsäurekasein, das im eigenen Labor aus NV Rohmilch (Probe Nr. 5) isoliert und so lange gewaschen wurde, bis im Fugat kein Sulfat mehr nachweisbar war. Das so isolierte Kasein wurde schonend im Trockenschrank getrocknet und danach fein

vermahlen. Der Proteingehalt wurde mit 87,5 % und Laktose mit ca. 0,2 % bestimmt. Fett war mit der verfügbaren Analytik nicht mehr nachweisbar. In den Versuchen diente ein hochreines Kasein aus Neuseeland als Vergleichsprotein. Ein Beispiel für die Versuchsanstellung ist in Tab. 8-1 wiedergegeben.

Tab. 8-1: Versuchsanstellung

% Protein / 30 g Dispersion	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0
g Kasein	0,17	0,34	0,51	0,68	1,03	1,37	1,71
(20 % Prot.)	(0,74)	(1,48)	(2,23)	(2,97)	(4,51)	(5,99)	(7,48)
g DMF	29,83	29,66	29,49	29,32	28,97	28,63	28,29
(20 % Prot.)	(29,26)	(28,52)	(27,77)	(27,03)	(25,49)	(24,01)	(22,52)

Alle untersuchten Kaseine sind Säurekaseine und der pH-Wert von daraus hergestellten wässrigen Suspensionen liegt zwischen 4,6 und 4,7. Um die Löslichkeit am Neutralpunkt bzw. im leicht basischen Milieu testen zu können, wurde das Säurekasein in destilliertem Wasser im Verhältnis 1:5 bei 40 °C durch Rühren dispergiert und unter Zugabe von verdünnter NaOH mehrere Dispersionen mit einem pH-Wert zwischen 7,0 und 8,0 bereitet. Die erhaltenen Dispersionen wurden entweder sofort untersucht (20 % Protein) oder parallel dazu schonend getrocknet und gemahlen für weitere Untersuchung am getrockneten Produkt.

Die Anwendung der vorgestellten Methodik auf getrocknete Kaseine und resultierende Befunde sind in nachfolgender Tab. 8-2 zusammengefasst. Als Beispiele dienen: Säurekasein aus Neuseelandkasein Nr. 1, Schwefelsäurekasein aus NV Rohmilch und das gleiche Kasein (beide Kaseinproben Nr. 5) bei pH 8,0 in Wasser dispergiert und schonend getrocknet.

Tab. 8-2: Trübungsmessungen von Kasein/DMF-Dispersionen bei Anwendung von nicht hydratisiertem Kasein (in % Durchlässigkeit)

Proteinquelle	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	3,0%	4,0%	5%
(a) Probe Nr. 1 ¹	97,8	96,3	84,5	91,0	87,1	83,5	73,0
(b) Probe Nr.5 ²	100,0	100,0	100,0	100,0	99,2	99,0	97,8
(c) Probe Nr.5; pH 8,0 ³	97,8	96,3	94,5	87,1	86,1	83,5	73,0

¹ 48 h bei 35 °C geschüttelt in DMF

² bei 35 °C 60 min inkubiert, vor und nach der Temperierung jeweils 3 min bei 6000 min⁻¹ homogenisiert

³ 30 min bei 35 °C inkubiert und nachfolgend 2 min bei 6000 min⁻¹

Die Befunde zeigen, dass Kasein in trockener Form kaum bzw. nur unzureichend in DMF dispergiert wird, siehe Abb. 8-1. Die Löslichkeit erreicht am IP des Kaseins ein Minimum und lässt sich durch Veränderungen des pH-Wertes ein wenig verbessern (c) bzw. in Verbindung mit aufwendigen mechanischen und thermischen Behandlungen (a).



Abb. 8-1: Lösungsversuch in DMF

Aus diesem Grunde wurden die weiteren Untersuchungen an hydratisiertem Kasein vorgenommen. Hierfür wurde das Kasein auf einen Proteingehalt von 20 bis 25 % Protein mit Wasser verdünnt und unter pHStat-Bedingungen durch Rühren mit verdünnter NaOH neutralisiert. Die Reaktion ist beendet, wenn keine Lauge mehr verbraucht wird. Die viskose Kaseindispersion wurde in Zentrifugengläser (25 ml) eingewogen und mit DMF verdünnt in Anlehnung an die vorgegebenen Proteinwerte für die Beurteilung der Löslichkeit. Die Dispergierung des Kaseins in DMF wird beschleunigt, wenn man das auf 30 °C angewärmte Gemisch ca. 2 min bei 6000 min⁻¹ homogenisiert. Die Befunde der Löslichkeit von so behandeltem Kasein (pH 7,0) werden im Folgenden am Beispiel einer Versuchsreihe mit NV Rohmilchkasein dargestellt.

Tab. 8-3: Trübungsmessung von löslichen Kasein/DMF-Komplexen im Fugat bei Verwendung von hydratisiertem Kasein

% Kasein	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0
% Durchlässigkeit bei 405 nm	80,4	67,4	49,7	31,6	20,3	10,5	1,7

Die Ergebnisse zeigen, dass eine gute Löslichkeit des Kaseins in DMF in Verbindung mit einer ausreichenden Hydratisierung des Proteins erzielt werden kann. Bei der visuellen Beurteilung der Effekte nach einer Zentrifugation war festzustellen, dass bei allen

untersuchten Chargen Präzipitat gebildet wird; allerdings bleibt von hydratisiertem Kaseinat deutlich weniger Präzipitat zurück. Die gezielte chromatographische Beurteilung der Präzipitate durch hydrophobe Interaktions-Chromatographie (HIC) lässt darauf schließen, dass die Zusammensetzung der individuellen Kaseine weitgehend identisch ist mit jener im Ausgangsprotein. Damit ist bewiesen, dass die Bildung von Präzipitaten im Schwerefeld auf Effekte einer mangelnden Hydratation von Kaseinpartikeln zurückzuführen ist und nicht auf der Unlöslichkeit einer individuellen Kaseinfraktion in DMF. Die Ergebnisse zeigen, dass die weiteren Arbeiten zur Löslichkeit von Kasein in DMF mit hydratisiertem Kasein vorgenommen werden sollten. In diesem Zusammenhang interessieren Effekte des Viskositätsverhaltens des hydratisierten Kaseins unter dem Blickwinkel der technischen Realisierung sowie Auswirkungen des pH-Wertes der hydratisierten Kaseine auf deren Löslichkeit in DMF.

8. 1. 2 Löslichkeit von isoliertem Säurekasein, Labkasein und Milchpulver in Natriumtetraborat

Die Löslichkeit der Labkaseinpräparate konnte nicht untersucht werden, da eine Solvatation nicht möglich war (Gelstruktur). Dagegen konnten Säurekaseinpräparate und Milchpulver sehr gut gelöst werden.

8. 2 Rheologische Untersuchungen Kaseinlösungen

Die rheologischen Untersuchungen sind für die Applikation der verschiedenen Kaseinpräparate von besonderer Bedeutung. Die Versuchsergebnisse dienen der optimierten Herstellung und Applikation des Kaseins zur Herstellung von Lochmasken.

Die Aufnahme der rheologischen Parameter wurde für Säurekaseinlösungen, Neuseeland-Säurekaseinlösung, Pulverkaseinlösung im Temperaturbereich 10 bis 20 °C ($\Delta T = 10$ K) und pH-Wert 7 und 8 durchgeführt. Die Beschreibung des rheologischen Verhaltens erfolgte nach dem Modellansatz von OSTWALD.

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{im Pa} \quad [\text{Gl. 8-1}]$$

Die Messwerte sind ausführlich in der Tab. 8-4 zusammengestellt.

Tab. 8-4: Rheologische kennwerte von Kaseinlösungen nach Ostwald und Newton

Probe	pH/ t °C	OSTWALD				NEWTON			TH
		K kg/ms ²⁻ⁿ	n	R	s	$\dot{\eta}$ Pas	R	S	Pas ⁻¹
SK 1	8 / 20	1,277	0,992	0,9994	0,58	1,247	0,998	0,752	-77,80
SK 1	8 / 20	1,455	0,982	0,9998	0,337	1,382	0,999	0,777	-
SK 1	8 / 10	4,5746	0,98	0,9998	0,857	4,329	0,999	2,363	90,11
SK 2	8 / 20	1,0703	0,995	0,9992	0,581	1,054	0,998	0,663	-76,55
SK 2	8 / 20	1,3972	0,976	0,9997	0,444	1,306	0,998	0,969	-91,26
SK 2	8 / 10	4,505	0,982	0,9998	0,985	4,280	0,999	2,350	195,65
SK 2	8 / 10	4,192	0,9807	0,9999	0,199	3,965	0,999	1,604	233,25
SK 3	8 / 20	0,5751	1,01034	0,9997	0,1997	0,5918	0,999	0,086	-3,06
SK 3	8 / 20	0,6179	0,9909	0,9999	0,0527	0,602	0,999	0,143	-2,90
SK 3	8 / 10	1,63269	0,9908	0,9996	0,5581	1,589	0,999	0,819	2,18
SK 3	8 / 10	1,6801	0,9814	0,9996	0,3566	1,592	0,999	0,893	1,96
SK 4	8 / 20	6,2288	0,9719	0,9994	2,5829	5,7388	0,997	5,412	-29,74
SK 4	8 / 20	6,2828	0,9696	0,9995	2,335	5,751	0,997	5,399	38,22
SK 4	8 / 10	28,188	0,9364	0,9930	33,096	23,247	0,980	55,65	1190,65
SK 4	8 / 10	28,1176	0,9357	0,9938	32,714	23,142	0,980	55,400	1054,90
SK 5	8 / 20	0,7651	1,006	0,9990	0,4758	0,778	0,999	0,370	-36,22
SK 5	8 / 20	0,8890	0,9819	0,9999	0,1221	0,843	0,999	0,386	-16,64
SK 5	8 / 10	2,4491	0,9756	0,9997	0,7428	2,330	0,998	1,466	19,03
SK 5	8 / 10	2,479	0,9756	0,9998	0,5168	2,310	0,998	1,534	19,38
SK 6	8 / 20	1,5018	0,9964	0,9996	0,5147	1,4863	0,999	0,604	-3,515
SK 6	8 / 20	1,5659	0,9844	0,9999	0,2637	1,497	0,999	0,677	-0,30
SK 6	8 / 10	5,2258	0,9819	0,9999	0,6429	4,961	0,999	2,288	4,97
SK 6	8 / 10	5,3137	0,9777	0,9999	0,3337	4,982	0,999	2,368	3,60
SK 7	8 / 20	7,9431	0,9697	0,9994	3,2697	7,270	0,996	7,133	-4,19
SK 7	8 / 20	8,006	0,9678	0,9950	3,0735	7,289	0,996	7,178	17,80
SK 7	8 / 10	37,606	0,9265	0,9912	49,657	30,031	0,973	82,467	1521,8
SK 7	8 / 10	37,543	0,9260	0,9915	48,849	29,940	0,973	81,805	1448,1
SK 8	8 / 20	4,702	0,9804	0,9995	1,7533	4,443	0,998	3,294	3,818
SK 8	8 / 20	4,763	0,9767	0,9996	1,509	4,452	0,998	3,343	7,083
SK 8	8 / 10	18,945	0,9642	0,9970	15,794	17,047	0,993	25,503	447,8
SK 8	8 / 10	19,052	0,9623	0,9970	15,674	17,048	0,992	25,874	408,78
UF-K	8 / 20	0,3713	0,7892	0,944	0,5683	-	-	-	-
UF-K	8 / 20	0,430	0,750	0,9626	0,4977	-	-	-	-
UF-K	8 / 10	3,496	0,4667	0,9846	0,8195	-	-	-	-
UF-K	8 / 10	3,699	0,4609	0,985	0,8362	-	-	-	-
NZ-K	8 / 20	2,052	0,981	0,999	0,668	1,944	0,998	1,319	-61,02
NZ-K	8 / 20	2,149	0,978	0,999	0,316	2,016	0,998	1,125	-5,835
NZ-K	8 / 10	9,23	0,992	0,998	7,00	8,837	0,998	7,86	99,70
NZ-K	8 / 10	9,130	0,992	0,998	7,00	8,918	0,997	8,03	136,24
NZ-K	7 / 20	10,369	0,979	0,999	0,292	9,766	0,999	3,887	-55,43
NZ-K	7 / 20	10,360	0,981	0,999	0,432	9,835	0,999	3,655	-1,815
NZ-K	7 / 10	36,8271	0,854	0,993	31,54	23,219	0,96	73,59	28237,1

NZ-K	7/10	49,638	0,814	0,961	78,56	26,870	0,87	139,22	-
-------------	------	--------	-------	-------	-------	--------	------	--------	---

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Prozessviskosität der Kaseinlösungen in Abhängigkeit von der Schergeschwindigkeit nach der Gleichung zusammengefasst.

$$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma}) = n \cdot K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad [\text{Gl. 8-2}]$$

Tab. 8-5: Berechnungen Prozessviskosität der Kaseinlösungen

Probe	pH/ t °C	$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1})$ Pas	$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma} = 20 \text{ s}^{-1})$ Pas	$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma} = 30 \text{ s}^{-1})$ Pas	$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma} = 40 \text{ s}^{-1})$ Pas	$\eta_{\text{Proz}}(\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1})$ Pas
SK 1	8/20 °C	1,39	1,38	1,37	1,36	1,35
SK 1	8/10 °C	4,37	4,30	4,27	4,25	4,23
SK 2	8/20 °C	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
SK 2	8/10 °C	4,32	4,27	4,24	4,21	4,20
SK 3	8/20 °C	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
SK 3	8/10 °C	1,60	1,58	1,58	1,57	1,57
SK 4	8/20 °C	5,85	5,72	5,65	5,60	5,56
SK 4	8/10 °C	24,30	23,27	22,67	22,29	21,94
SK 5	8/20 °C	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
SK 5	8/10 °C	2,35	2,33	2,31	2,30	2,29
SK 6	8/20 °C	1,49	1,48	1,48	1,48	1,48
SK 6	8/10 °C	5,03	4,95	4,90	4,89	4,87
SK 7	8/20 °C	7,4	7,24	7,15	7,05	7,03
SK 7	8/10 °C	31,71	30,17	29,29	28,67	28,62
SK 8	8/20 °C	4,49	4,43	4,39	4,36	4,34
SK 8	8/10 °C	17,44	17,02	16,77	16,60	16,46
UF-K	8/20 °C	0,23	0,2	0,18	0,17	0,16
UF-K	8/10 °C	1,02	0,71	0,57	0,49	0,44
NZ-K	8/20 °C	1,96	1,94	1,92	1,91	1,90
NZ-K	8/15 °C	4,26	4,24	4,22	4,21	4,2
NZ-K	8/10 °C	9,44	9,39	9,36	9,34	9,32
NZ-K	8/5 °C	14,89	14,32	13,99	13,76	13,59
NZ-K	7/20 °C	9,88	9,74	9,65	9,59	9,55
NZ-K	7/15 °C	24,57	24,01	23,67	23,44	23,27
NZ-K	7/10 °C	26,34	23,81	22,44	21,52	20,83

Die untersuchten Proben charakterisieren die verschiedenen Kaseinlösungen als strukturviskose nicht-Newtonsche Flüssigkeit.

Folgende Aussagen ergeben sich:

1. Für jedes Präparat werden unterschiedliche rheologische Parameter erhalten, was der unterschiedlichen Zusammensetzung der Ausgangsmilch entspricht.

2. Eine Fließgrenze zum sicheren Auftragen und Verbleib der Kaseinlösung auf das Lochmaskenmetall wird nicht nachgewiesen. Ein Antrocknen kann jedoch in Betracht gezogen werden.
3. Orientierende Untersuchungen ergaben eine beachtliche pH-Abhängigkeit der Viskositätsdaten als Reflexion auf den Konformationszustand der Kaseine.
Eine pH-Wertabsenkung von pH 8 auf pH 7 am Beispiel des Neuseelandkaseins ergibt eine Veränderung der rheologischen Parameter wie folgt:

pH8/ 20 °C	$K = 2,052 \text{ Pas}^n$	$n = 0,981$	$\eta_{\text{Proz}} = 1,91 \text{ Pas}$
pH7/ 20 °C	$K = 10,369 \text{ Pas}^n$	$n = 0,979$	$\eta_{\text{Proz}} = 9,55 \text{ Pas}$
4. Ebenfalls liegt eine erhebliche Temperaturabhängigkeit vor.

pH8/ 20 °C	$K = 2,052 \text{ Pas}^n$	$n = 0,981$	$\eta_{\text{Proz}} = 1,91 \text{ Pas}$
pH8/ 10 °C	$K = 9,23 \text{ Pas}^n$	$n = 0,992$	$\eta_{\text{Proz}} = 8,94 \text{ Pas}$
5. Die Löslichkeit der Labkaseinpräparate konnte nicht untersucht werden, da eine Solvation nicht möglich war (Gelstruktur).

7. 3 Prüfungsergebnisse der Eignung von hergestellten technischen Kaseine als Photoresiste

Erste Versuche zur Charakterisierung einiger gewonnener Präparate hinsichtlich ihrer Tauglichkeit für die Herstellung von Photoresisten wurden durchgeführt, um rechtzeitig Rückschlüsse zu ziehen und die Herstellungstechnologie entsprechend anpassen zu können. Die Tab. 8-6 enthält vorläufige Ergebnisse der Eignungsprüfung der Präparate zur Herstellung von Photoresisten.

Die bis jetzt untersuchten Präparate (Säurekasein und entfettetes sowie nicht entfettetes Labkasein) wurden mit dem Referenzkasein aus Neuseeland verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Präparate unterschiedliche Löslichkeit besitzen. Das Labkasein mit einem Fettgehalt von 21,4 % konnte nicht gelöst und somit nicht weiter untersucht werden. Der Kontrast der Proben war gut und in einigen Fällen sogar besser als bei dem Referenzmaterial. Die Empfindlichkeit und die Auflösung waren gut bis ausreichend (etwas schlechter als das Referenzkasein). Die Haftung auf dem Maskenblech war mit Ausnahme des nicht entfetteten Labkaseins gut bis sehr gut. Ein zu hoher Fettgehalt verursacht eine ungenügende Haftung. Die Befürchtung, dass Labkasein wegen des im Vergleich mit Säurekasein höheren Aschegehalts für die Herstellung von Photoresisten ungeeignet wäre, hat sich bislang nicht bestätigt.

Tab. 8-6 : Zusammenfassung aller Ergebnisse der Überprüfung der Eignung der Präparate zur Herstellung von Photoresisten

Lf d. Nr.	Kasein-Typ	Löslichkeit	Haftung auf Maskenblech	Empfindlichkeit [mJ/ cm ²]	Auflösung [µm]	Kontrast	Viskosität [mPa s] 20 °C *	Dichte [g/cm ³]	Bewertung
1	Referenz-Kasein (Meggle)	Sehr gut, klare Lösung	Sehr gut	3,0	2,0	>0,5	86,5	1,02	+++
2	Labkasein Charge [2]	Unlöslich, schäumt stark	mittel	7,0	2,0	0,6	108		+
3	Labkasein Charge [3] (nicht entfettet)	unlöslich	ungenügend	4,0	3,5	≈ 1			-
4	Labkasein Charge [3] (entfettet)	Schwer löslich	Sehr gut	4,5	4,5	≈ 1	98	1,0035	+
5	Labkasein Charge [4]	Weißer Bodensatz	schlecht	6,5 Blasseneinschlüsse	3,0	≈ 1	95	1,0076	~
6	Labkasein Charge [5]	Schwer löslich, leicht trübe	gut	5,5	2,5	0,75	80	1,0087	++
7	Labkasein Charge [6] (nicht entfettet)	-	Koaguliert sofort	-	-	-	450		~
8	Labkasein Charge [6] (entfettet)	Zuerst Ausfällung, Ausflockung, nach längerem Rühren hochviskose Lösung	gut	-	-	-	40	1,0046	+
9	Labkasein Charge [7]	Schäumt leicht	schlecht	20	-	-	40	1,005	+
10	Labkasein Charge [8.1]	Fällung von dicken Flocken und starke Trübung, Überstand wasserartig	-	Einschlüsse von Partikeln	-	-	12	1,0089	+
11	Labkasein Charge [8.2]	Sehr stark Schaumbildung,	-	Blasen-Einschlüsse	-	-	15	1,0038	-
12	UF	Sofortige Fällung	schlecht	6,0 Einschlüsse von Partikeln	5,5	0,5	70	0,9999	+
13	UF-Kasein	Schäumt etwas	gut	-	-	-	20-45	0,9989	+
14	UF- Molkenproteine	Bis auf weinge kleine Partikel sehr gut löslich (pH E = 9,5) nachErwärmen starke Quellung	-	-	-	-		1,0037	-
15	Schwefelsäurekasein	Sehr gut	Sehr gut	3,5	3,0	0,8	80	1,0005	+++

9 Hinweise für weiterführende Arbeiten

Der Markt für Photoresiste bei der Farbbildröhrenherstellung ist stark gesunken und wird weiter sinken, da sich Flachbildröhren (LEC- Technik) durchgesetzt haben. Aus diesem Grund ist es nötig, weitere Anwendungsfelder für das gewonnene technische Kasein zu suchen. Eine Diversifizierung der Produktion hat außerdem den Vorteil, dass je nach Rohmilchqualität das Endprodukt festgelegt werden kann, sollte Marktfähigkeit vorhanden sein. Die verschiedenen Produktionsprozesse können somit an den Rohstoff angepasst und besser gesteuert werden.

Eine Möglichkeit der Anwendung technischer Kaseine ist die Verklebung optisch wirksamer Glasscheiben.

Als weitere Möglichkeit wird die Gewinnung von reinen Proteinkomponenten durch Chromatografie im technischen Maßstab aus nicht verkehrsfähiger Milch angesehen.

Bei der enzymatischen Dicklegung der Milch durch Lab bewirken umfangreiche Veränderungen am Milchkasein die strukturelle Umwandlung der Milch aus dem Sol- in den Gelzustand. Aus diesem Grund sollten gleichzeitig ablaufende biochemische und strukturelle Veränderungen, wie die Freisetzung von glycosyliertem und nicht-glycosyliertem Kaseinmakropeptid und parallel dazu die Strukturierungsvorgänge bei der Labgerinnung der Milch untersucht werden.

Ebenso könnte eine Fallunterscheidung Salzsäurekasein/Schwefelsäurekasein und deren Einfluss auf die Materialeigenschaften zukünftig untersucht werden.

10 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beinhaltet die Entwicklung von Verfahren im kleintechnischen Maßstab zur Herstellung von Lab- und Säurekasein aus NV-Milch.

Das Literaturstudium ergab, dass für die Herstellung von Photoresisten Säurekasein die beste Variante darstellt. Das Kasein soll einen sehr niedrigen Gehalt an Fett, Asche (Ca, Salze), Molkenprotein, Laktose und Eiweißabbauprodukten aufweisen.

Angaben der Literatur zur Herstellung von Kaseinpräparaten aus NV-Milch konnten nicht ermittelt werden. Ein direkter Vergleich war damit nicht möglich, bzw. um mit Produkte aus verkehrsfähiger Milch durchführbar.

Im kleintechnischen Maßstab wurden Verfahrensentwicklungen für die Herstellung von Lab- und Säurekasein entwickelt und Versuche zur Herstellung technischer Kaseine durchgeführt.

Zunächst wurde die Herstellung von Labkasein untersucht. 9 Chargen wurden hergestellt und untersucht. Eine Gelform mit Applikationsschwierigkeiten bezüglich Löslichkeit, Aschegehalt und Trocknungsverhalten wurde hergestellt. Die Labkaseine entsprechen nicht dem Applikationsstandard von Säurekaseinen.

Von den möglichen Säurekaseinpräparaten wurde bewusst Schwefelsäurekasein in 8 Chargen hergestellt, da der Aschegehalt aufgrund der Ausfällung von Kalzium in die Sulfatform einfach möglich ist.

Die besonderen Randbedingungen zur Applikation als Photoresiste am Beispiel des Neuseelandkaseins wie geringer Fettgehalt, geringer Laktosegehalt, geringer Aschegehalt und Wassergehalt $< 9 \%$ werden am Beispiel von Laktose und Fett je nach Versuchsdurchführung eingehalten, obwohl die Säurekaseinausbeute leicht unterhalb der Labkaseinausbeute liegt.

Die ermittelten Ausbeuten des Verfahrens sind anhand dieser Untersuchungen vorab nicht an die Abbaureaktionen der Kaseine durch proteolytische Enzyme in der Milch infolge Krankheitsbild (Charge 1) gekoppelt. Wohl aber verschiebt sich das Spektrum der Kaseinzusammensetzung, gekennzeichnet durch den Abbau von β -Kasein und κ -Kasein zugunsten von α_S -Kasein.

Als weitere zusätzliche Leistung wurden DSC-Untersuchungen des Neuseelandkaseins und ausgewählter Kaseine durchgeführt. Aus diesem „Fingerprint“ können über den Vergleich des TG-, DSC- und DTG-Signals Rückschlüsse auf die Qualität (chemische Zusammensetzung, thermische Stabilität bezüglich Deamidierung und Decarboxylierung) geschlossen werden.

In Ergänzungsuntersuchungen wurde die Problematik „Milchpulveranalytik sprühgetrockneter Konzentrate“ bearbeitet.

Eine generelle Ermittlung der Abhängigkeit der Einflussgrößen aus der Ausgangsmilch auf die Zusammensetzung des Endproduktes erscheint schwierig.

Die Ergebnisse der HPLC-Untersuchungen zeigen, dass im Vergleich zum Neuseelandkasein die Chargen 5 bis 8 nur geringe Abweichungen aufweisen und damit mit den bereits genannten anderen Parametern ein für die Herstellung von Photoresisten geeignetes

Kaseinpräparat vorliegt. Die Unterschiede im Gehalt an β -Kasein als Indikator stark wirkender proteolytischer Prozesse bzw. der differenzierte Anteil an κ -Kasein lassen Rückschlüsse auf die Eutergesundheit zu.

Trockenes Kasein ist ohne zusätzliche pH-Beeinflussung in (DMF) Dimethylformamid sehr schlecht löslich.

Über pH-Änderungen und die Zugabe definierter Wassermengen kann die Löslichkeit entscheidend beeinflusst werden. Die Löslichkeit von technischen Kaseinen in organischen Lösungsmitteln ist für bestimmte Anwendungen von Bedeutung. Eine wichtige Anwendung ist die Herstellung von Klebstoffen für glatte Glassoberflächen (naturbelassener Leim).

Für die Herstellung von Photoresisten ist nur die Löslichkeit des Kaseins in wässrigen Medien von Bedeutung. Die Anwendung von organischen Lösungsmitteln würde nur Probleme bei der zurzeit üblichen Technologie mit sich ziehen.

Es ist anzunehmen, dass anhaftende Antibiotika bei Herstellung von Photoresisten nicht stören, weil die Konzentrationen sehr gering sind. Antibiotika und Unreinheit würden auch nicht bei der Herstellung von Glasuren und Leim stören.

Es ist möglich, Säurekaseine guter Qualität aus nicht verkehrsfähiger Milch zu gewinnen. Der Produktionsprozess gestaltet sich allgemein schwieriger als bei verkehrsfähiger Milch, da Unterschiede in der aufzubereitenden Milch stärker zu berücksichtigen sind. Über die verschiedenen Prozessschritte ist es möglich, Unterschiede in der Milchqualität auszugleichen. Über eine gute Zentrifugation können Blut, Zellen und Fett abgetrennt werden. Durch ein längeres Waschen des Koagulums werden Eiweißabbauprodukte abgetrennt.

Am Beispiel der Charge 7 kann eindeutig abgeleitet werden, dass die Milch nach einer Antibiotikabehandlung von 7 Tagen (Rekonvaleszenz) am besten für die Schwefelsäurekaseinherstellung geeignet ist (also der nativen Milch mit intaktem pH-Wert und Proteingehalt entspricht).

Da die elektronische Industrie vom konventionellem Farbbildschirm mit Lochmaske zum Flachbildschirm mit LEC-Technik allgemein übergegangen ist, sollen andere Anwendungsgebiete für technische Kaseine aus nicht verkehrsfähiger Milch, z. B. das Verkleben von Glasscheiben angedacht werden.

Die Inbetriebnahme einer Produktionsanlage mit einer Tagesverarbeitung von ca. 4000 l NV-Milch erscheint anhand der durchgeführten ökonomischen Untersuchungen nicht sinnvoll.

11 Literaturverzeichnis

- (1) N. N., 2005: Entwicklung von Verfahren zur Gewinnung von Kaseinen für technische Zwecke Unterlagen für den Endbericht, 04/2005 IASP Berlin;
- (2) N. N., 2000: Jahresbericht, Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e. V. S. 17;
- (3) Statistische Bundesamt., 2001: statistische Jahrbuch;
- (4) Bake, K., 2003: Handbuch der Milch- und Molkereitechnik Tetra Pak, Verlag Thomas Mann GmbH;
- (5) Southward, C.R., 1986: Utilization of Milk Components: Casein in Robinson, R.K., Modern Dairy Technology, Vol. 1, Elsevier Applied Sci. Publishers, S. 317-368;
- (6) Milch-GVO., 1980: Milch-Güteverordnung (Verordnung über Güteprüfung und Bezahlung der Anlieferungsmilch) Milch-Güteverordnung vom 9.7.1980 i.d.F. der 6. ÄnderungsVO vom 30. 10 2003 (BGBl. I (2003));
- (7) Wendt, K., Lotthammer, K.-H., Fehlings, K., Spohr, M., 1998: Handbuch Mastitis, Kamlage Verlag GmbH & Co., Osnabrück, S. 146
- (8) Jenness. R und S. Patton., 1959: Grundzüge der Milchchemie, Bayerischer Landwirtschaftsverlag; München-Basel- Wien;
- (9) Mc Dowell; A.K.R., 1971: New Zealand Journal of Dairy Science and Technology 6, 128;
- (10) Walstra. P. und R. Jenness., 1984: Dairy Chemistry ans Physics, John Wiley& Sons; 107
- (11) Renner, E., 1982: Milch und Milchprodukten in der Ernährung des Menschen, Verlag Th. Mann, Hildesheim;
- (12) Lehmann, H.R., Dolle, E und Bücken., Prozesslinien für die Herstellung von Kasein und Kaseinat, Technisch- wissenschaftliche Publikationen der Westfalia Separator AG, Oelde;
- (13) Kirchmeier, O., 1987: Phasenumwandlungen in der Technologie der Milch, Volkswirtschaftsicher Verlag München; VV- GmbH;
- (14) Toma, S.J. und Nakai, S., 1973: Calcium sensitivity and molecular weight of alpha s2-Casein, J. Dairy Sci. 56, 1559-1562;

- (15) Farrell Jr., H. M., Kumosinski, T.F., Pulaski, K. und Thompson, M.P., 1988: Calcium-induced associates of the kaseins: a thermodynamic linkage approach to precipitation and resolubilization, *Arch. Biochem. Biophys.* 265, 146-158;
- (16) K. Kirkpatrick, N. J. Walker.,1985: Kasein und Kaseinat Herstellung und Anwendung;
- (17) Sponcet, M., Sifflet, P. und Michallet, A., 1985: Current developments and understanding of rennet use in the dairy industry, *Dairy Ind. Intern.* 50, 27-29;
- (18) Fox, P.F., 1969: Milk-clotting and proteolytic activities of rennet, and of bovine pepsin and porcine pepsin, *J. Dairy Res.* 36, 427-433;
- (19) Ustunol, Z., Hicks, C.L. und Payne, F.A., 1991: Diffuse reflectance profiles of eight milk-clotting enzyme preparations, *J. Food Sci.* 56, 411-415;
- (20) Ustunol, Z., 1993 Coagulation properties, proteolytic activities of milk-clotting enzymes and their effect on cheese yield, *IDF Seminar, Cork 1993*, 267-278;
- (21) Hicks, C.L. und Payne, F., 1993: A near-infrared system that may enhance cheese yield and process control, *IDF Seminar Cork*, 260-266;
- (22) Fox, P.F. und Mulvihill, D.M., 1990: Kasein. In: *Food Gels*. Hrsg. P. Harris, Elsevier Applied Science Publishers, London, 121 – 173;
- (23) Dalgleish, D.G., 1993: Enzymatic Coagulation of Milk. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1 General Aspects. Hrsg. P. F. Fox. Chapman and Hall, London, 69-100;
- (24) Flüeler, O., 1982: Lab- und Säuregerinnung der Milch, *dmz Deutsche Molkerei-Zeitung* 103, 1172-1178;
- (25) Ison, A., Hill, C.G. Jr. und Olson, N.F., 1987a: The kinetics of milk coagulation. II. The kinetics of milk coagulation: micelle flocculation, *Biotechnol. Bioengin. Heft* 29, Seite 590-600;
- (26) Poarch, E. A., 1967: *International Dairy Federation Seminar an Caseins and Caseinates*, Paris-Sem Subject 6, France;
- (27) Fox, P.F., 1994: *Chemistry and Biochemistry of Cheese Manufacture and Ripening. Manual*, Department of Food Chemistry, University College Cork;
- (28) Flüeler, O., 1987: Labgerinnung und Labfähigkeit der Milch, *Milchwirtschaft. Berichte* 92; 144-150.
- (29) van Hooydonk, A.C.M. und van den Berg, G., 1988: Control and determination of the curd-setting during cheesemaking, *Bulletin of the IDF* 225, 2-10;

- (30) Doring, E., 1971: Die kontinuierliche Kaseinherstellung, *Milchw. Berichte* 27, 103-105;
- (31) Heertje, I., Visser, J. und Smits, P., 1985: Structure formation in acid milk gels, *Food Microstructure* 4, 267-277;
- (32) Roefs, S.P.F.M., 1986: Structure of acid kasein gels. A study of gels formed after acidification in the cold, PhD Thesis Agricultural University, Wageningen, Netherlands;
- (33) Roefs, S.P.F.M., Walstra, P., Dalgleish, D.G. und Horne, D.S., 1985: Preliminary note on the change in kasein micelles caused by acidification, *Neth. Milk Dairy J.* 39, 119-122;
- (34) van Hooydonk, A.C.M., Boerrigter, I.J. und Hagedoorn, H.G., 1986: pH-induced physico-chemical changes of kasein micelles in milk and their effect on renneting. 1. Effect of acidification on physicochemical properties, *Neth. Milk Dairy J.* 40, 281-296;
- (35) Hammelehle, B., 1994: Die Direktsäuerung von Milch. Untersuchungen zur gezielten Einflussnahme auf Textur und Konsistenz gesäuerter Milchgele, Dissertation TU München-Weihenstephan;
- (36) Fox, P.F. und Mulvihill, D.M., 1990: Kasein. In *Food Gels*, Hrsg. P. Harris, Elsevier Applied Science Publishers London, 121 – 173;
- (37) Gastaldi, E., Lagaude, A. und Tarodo de la Fuente, B., 1996: Micellar transition state in kasein between pH 5.5 and 5.0, *J. Food Sci.* 61, 59-64;
- (38) Schulz, D., 2000: Untersuchung von Strukturierungsvorgängen bei der Lab- und Säuregerinnung von Milch, Dissertation, Technische Universität Berlin;
- (39) Dalgleish, D.G. und Law, A.J.R., 1988: pH-induced dissociation of bovine kasein micelles, I. Analysis of liberated kasein, *J. Dairy Res.* 55, 529-538;
- (40) Tscheuscher, H.- D., 1986: *Lebensmitteltechnik*, VEB Fachbuchverlag Leipzig, 1. Auflage;
- (41) Kessler, H.G., 1996: *Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik - Molkereitechnologie*. 4. Aufl., Verlag A. Kessler, München, 455-489;
- (42) Hüllmann, M., 1995: Verfahren zur Gewinnung von Kasein aus Magermilch, FH Hannover;
- (43) Preller, W., 1991: Lehrbrief Milchpulverherstellung, Kapitel Herstellung von Lab- und Säurekasein, Humboldt-Universität zu Berlin;

- (44) Bylund, C und Mitarb., 1993: Handbuch der Milch- und Molkereitechnik, Verlag Th. Mann Gelsenkirchen-Buer (ab 1995 auch als CD-ROM) 2. Auflage;
- (45) Fahr, Quade H. D., 1977: Neues Verfahren zur Herstellung von Schwefelsäurekasein Milchforschung- Milchpraxis;
- (46) Morr, C. V., 1984: Herstellung, funktionelle Eigenschaften und Verwendung von Produkten aus Milcheiweiß, International Milk Protein Congress in Luxemburg;
- (47) Spreer, E., 1995: Milchtechnologie, Behr's-Verlag Hamburg, 5. Auflage;
- (48) Burston D. O., Muller, L. L., Heyes J. F., 1967: Moderne Herstellungsverfahren für Kaseinate und abgeleitete Erzeugnisse, International Dairy Federation, Paris;
- (49) Visser, F. M. W., 1982: Bulletin, International Dairy Federation, Dairy science Abstracts 42, 3319;
- (50) Dilanjan, S. Ch., 1974: Grundlagen der Käseherstellung, Leipzig VEB Fachbuchverlag;
- (51) Minami, J., Shigato, M. and Ishibashi, S., 1979: UK Patent Application, Dairy Science Abstracts (1980). 42, 1951;
- (52) Lactalis Industrie U.S.A., 2003: Rennet Kasein, 30/60, 90, & Mixed Mesh, Produktinformation, Inc, 2376 South Park Ave, Buffalo, NY 14220;
- (53) Meggle Milchindustrie GmbH., 1981: Neuseeländisches Patent Produktinformation 188288;
- (54) Maurer, B., 1993: Europel's Milk Protein 1993 congress;
- (55) Hyldig, G., 1993: Rennet coagulation: effect of technological parameters on the enzymatic reaction and gel formation in milk and UF concentrates, Ph.D. thesis, The Royal Veterinary and Agriculture University Copenhagen, Denmark;
- (56) Craig, T. W. und. Colmey, J. C. Davey, P. T., Williams, D. R. and Winter, G. (1980). 1971: Bakers Digest, 45 (1), 36, Journal of Applied Biochemistry, 2, 60;
- (57) Coskun,H., Sienkiewicz,T., 1999: Degradation of milk proteins by extracellular proteinase from *Brevibacterium linens* FLK – 61, Food Biotechnology, 13(1999)3, 267-275;
- (58) Belitz, H.-D und Grosch.W., 1987: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Auflage 3, Verlag Berlin Heidelberg Germany;
- (59) Lomholt, S.B. und Qvist, K.B., 1997: Relationship between rheological properties and degree of kappa-Kasein proteolysis during renneting of milk, J.Dairy Res. 64(1997) 541-549;

- (60) N. N., 2004: Gerätedokumentation zu STA 409C, NETZSCH Gerätebau GmbH, Wittelsbacherstraße 42, D-95100 Selb/Bayern;
- (61) Töpel, A., 1991: Chemie der Milch. Eine Einführung in die milchwirtschaftliche Chemie und die milchwirtschaftlich-chemische Laborpraxis, 3. Aufl., Fachbuchverlag Leipzig;
- (62) N. N., 2005: Mitteilung aus dem Institut Chemie der Humboldt Universität zu Berlin;
- (63) LKV Waldsiedersdorf., 2004: Durchgeführte und durch das IASP übergebene Analysendaten zu den Milchinhaltsstoffen sowie Mikrobiologie und Hemmstoff, Interne Mitteilung,
- (64) Schedler, U., 2003: Säurekasein geeignet für den Einsatz in der Makrolitographie, insb. in der Matrixfertigung für TV und Monitoranzeigergeräte-Produktbeschreibung, Poly-An, Gesellschaft zur Herstellung von Polymeren für spezielle Anwendungen und Analytik, GmbH, Mitteilungsblatt;
- (65) Sienkiewicz, T., Badarani, A., Blochwitz, R., Senge, B., 2004: Zwischenbericht „Entwicklung von Verfahren zur Gewinnung von Kaseinen für technische Zwecke zur Herstellung von chromatfreien Photoresisten und photohärtbaren Lacken unter umweltgerechter Verwertung von nicht verkehrsfähiger Milch, Fachgebiet LM-R, TU Berlin;
- (66) DeForest, W. S., 1975: Photoresist, Materials and Processes, McGraw Hill Book Company, NY, Toronto;
- (67) Muller, L., 1971: Manufacture and uses of Kasein and Co-Precipitate, Dairy Science Abstracts 33;
- (68) Mezeger, T., 2000: Das Rheologie-Handbuch für Anwender von Rotations-Oszillations-Rheometern, Vincentz Verlag, Hannover;
- (69) Sienkiewicz, T., 1975: Gelchromatographische und elektrophoretische Untersuchungen von ultrafiltrierten Molkenproteinen, Die Nahrung 19 (1975)2, 143-154;
- (70) Lieske, B., 2005: persönliche Mitteilung, TU Berlin, FG Lebensmittelrheologie;
- (71) Sienkiewicz, T.; Scherze, I.; Krenkel, K., 1994: Untersuchungen zum proteolytischen Abbau der Kaseine 1. Wirkung von Plasmin und Chymosin auf Kaseine im Modellsystem, Milchwissenschaft 49 (1994)9,499-504;

- (72) Gloyna, D., 2004: persönliche Mitteilung und Überlassung von Messdurchführungen 11/2004, TU Berlin, FG Lebensmittelqualität und Materialwissenschaft;
- (73) N. N., 1992: Verordnung über die Durchführung von Güteprüfungen für Milch und Milcherzeugnisse im Land Brandenburg, Anlage 1Milch ErzV, Gruppe x11, 3 und 4;
- (74) van Hooydonk, A.C.M., Olieman, C. und Hagedoorn, H.G., 1984: Kinetics of the chymosin-catalysed proteolysis of kappa-kasein in milk, *Neth. Milk Dairy J.* 38(1984)207-222.
- (75) Wade, T., Beattie, J.K., Rowlands, W.N. und Augustin, M.A., 1996: Electroacoustic determination of size and zeta potential of kasein micelles in skim milk, *J. Dairy Res.* 63, 387-404;
- (76) Hülsen, U., 2004: unveröffentlichte Ergebnisse, persönliche Mitteilung, Fachhochschule Hannover;
- (77) Dalgleish, D.G., 1984: Measurement of electrophoretic mobilities and zeta-potentials of particles from milk using laser Doppler electrophoresis, *J.Dairy Res.* 51(1984) 425-438;
- (78) Ernst, K., 1969: Erzeugung, Verwendung und Verwertung von Milcheiweiß in den wichtigsten Erzeugerländern, Diss., Berolzheim;
- (79) Amersham Biosciences., 1999: Mighty Small II, SE 250 Mini-Vertical Gel Electrophoresis Unit, User Manual;
- (80) Dalgleish, D.G., 1993: Enzymatic Coagulation of Milk. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1 General Aspects. Hrsg. P. F. Fox. Chapman and Hall, London, 69-100;
- (81) N. N., 2004: Verordnung (EWG) Nr. 2921/90 der Kommission über die Gewährung von Beihilfen für die zur Herstellung von Kasein und Kaseinaten bestimmte Magermilch, amtliche Veröffentlichungen der Europäischen Gemeinschaften;
- (82) Lipatov, N. N., 1976: Separieren in der Milchindustrie, Fachbuchverlag Leipzig;
- (83) Kammerlehner, J., 1986: Labkäse-Technologie. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, Bd.1;
- (84) Kessler, H.G., 1988: Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Molkereitechnologie, Verlag A. Kessler, PF 1538, Freising;

- (85) Kessler, H.G., 1998: The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. In: Texture of fermented milk products and dairy desserts. Proceedings of the IDF symposium 1997 in Vicenza, Italien, 93-105;
- (86) Dziuba, J., Darewicz, M., Minkiewicz, P., Panfil, T., 2002: *Milchwissenschaft* 57 497-501
- (87) Van Dijk, H.J.M., 1990a: The properties of casein micelles. 1. The nature of the micellar calcium phosphate. *Neth. Milk Dairy J.* 44, 65-81;
- (88) Walstra, P., 1993: The syneresis of curd. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1. General Aspects. Hrsg. P.F. Fox, Chapman and Hall, London, 141-191;
- (89) Töpel, A., 1981: *Chemie und Physik der Milch*, 2. Aufl. Leipzig: VEB Fachbuchverlag;
- (90) Swaisgood, H.E., 1992: Chemistry of the caseins. In: *Advanced Dairy Chemistry – 1. Proteins*; Hrsg. P.F. Fox, Elsevier Applied Science Publishers, London, 63-110;
- (91) Schulze, K., Raeuber, H.-J. und Guthy, K., 1991: Viskoelastische Eigenschaften der Milch während der Joghurtfermentation. *Rheology* 1, 160-169;
- (92) Senge, B., Krenkel, K., Schwarzlos, M., Schulze, W.-K. und Sienkiewicz, T., 1996: Verfahren zur Kontrolle der Verarbeitungstauglichkeit von Milch durch inline-online Bestimmung des Gerinnungsverhaltens, Patent-Nr. DE 195 16 615 A1, Berlin;
- (93) Walstra, P. und van Vliet, T., 1986: The physical chemistry of curd making. *Neth. Milk Dairy J.* 40, 241–259;
- (94) Weipert, D., Tscheuschner, H.-D. und Windhab, E., 1993: *Rheologie der Lebensmittel*, Behr's Verlag, Hamburg;
- (95) Swaisgood, H.E., 1982: Chemistry of milk protein. In: *Developments in Dairy Chemistry – 1. Proteins*. Hrsg. P.F. Fox, Elsevier Applied Science Publishers, London, 1-59;
- (96) Krenkel, K., Senge, B., Schulze, W.-K., 1996: Eine neue Methode zur Bestimmung des Gerinnungsverhaltens von Milch. *Deutsche Milchwirtschaft.* 47, 856-862;
- (97) Payne, F.A., Hicks, C.L. und Shen, P.-S., 1993: Predicting optimal cutting time of coagulating milk using diffuse reflectance, *J. Dairy Sci.* 76, 48-61;
- (98) McMahon, D.J. und Brown, R.J., 1985: Effects of enzyme type on milk coagulation, *J. Dairy Sci.* 68, 628-632;

- (99) Senge, B., Schulz, D., Krenkel, K., 1997: Strukturierung von Milch bei der Labgerinnung, *Appleid Rheology Volume 7*. 153;
- (100) Walstra, P. und Jenness, R., 1984: *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley & Sons, New York;
- (101) Walstra, P., 1990: On the stability of casein micelles, *J. Dairy Sci.* 73, 1965–1979;
- (102) Kammerlehner, J., 1994: Die Labkäseausbeute, *Deutsche Milchwirtschaft.* 45, 118–125;
- (103) Senge, B., 2004: Vortrag zwischen Auswertung IASP 11/ 2004 Berlin;
- (104) O'Callaghan, D.J., O'Donnell, C.P. und Payne, F.A., 1999: A comparison of on-line techniques for determination of curd setting time using cheesemilks under different rates of coagulation, *J. Food Engin.* 41, 43-53;
- (105) Rohm, H., 1990: *Textureigenschaften und Milchprodukte*, Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer;
- (106) Lapatzki, T., 2005: Untersuchung von Milchproteinumwandlungen aus struktureller und chemischer Sicht bei der labinduzierten Gerinnung von verkehrsfähiger und nicht verkehrsfähiger Milch, TU-Berlin;
- (107) Mayr, W., 1997: Auswirkung technologischer Parameter auf das Gerinnungsverhalten und den Schneidezeitpunkt von Labgallerten - Beispiel Weichkäse. XI, *Käsereitechnologischer Sonderlehrgang 1997*, StLuVa für Milchwirtschaft, Kempten, 55-66;
- (108) Koutras, T., 1998: Rheologische Untersuchungen zur Lab-Säure-Wirkung auf Milch. Diplomarbeit, Technische Universität Berlin, FB 15 Lebensmittelwissenschaften und Biotechnologie;
- (109) Roefs, S.P.F.M., 1986: Structure of acid casein gels. A study of gels formed after acidification in the cold, PhD Thesis, Agricultural University, Wageningen, Netherlands;
- (110) Payens, T.A., 1979: Casein micelles: the colloid-chemical approach, *J. Dairy Res.* 46, 291-306;
- (111) Sienkiewicz, T.; Schleusener, R., 1982: Elektrophoretisch überprüfbarer Kasein-/Molkenproteinindex zur Kontrolle von Produkten mit Milchproteinanteil, XXI. Internationaler Milchwirtschaftskongress 12-16. 07. 1982, Moskau, Vol.1., Book 2. S. 133-134;

12 Anlagen

12.1 Anlagen: Abbildungen

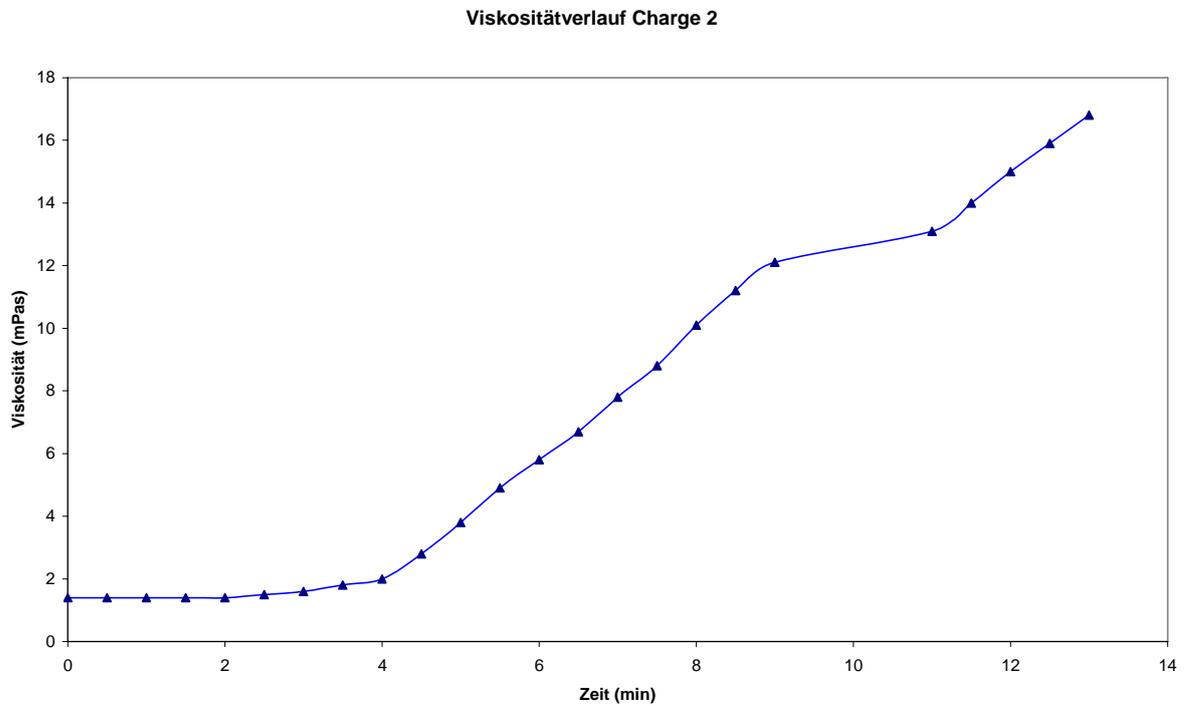


Abb. 12-1: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 2

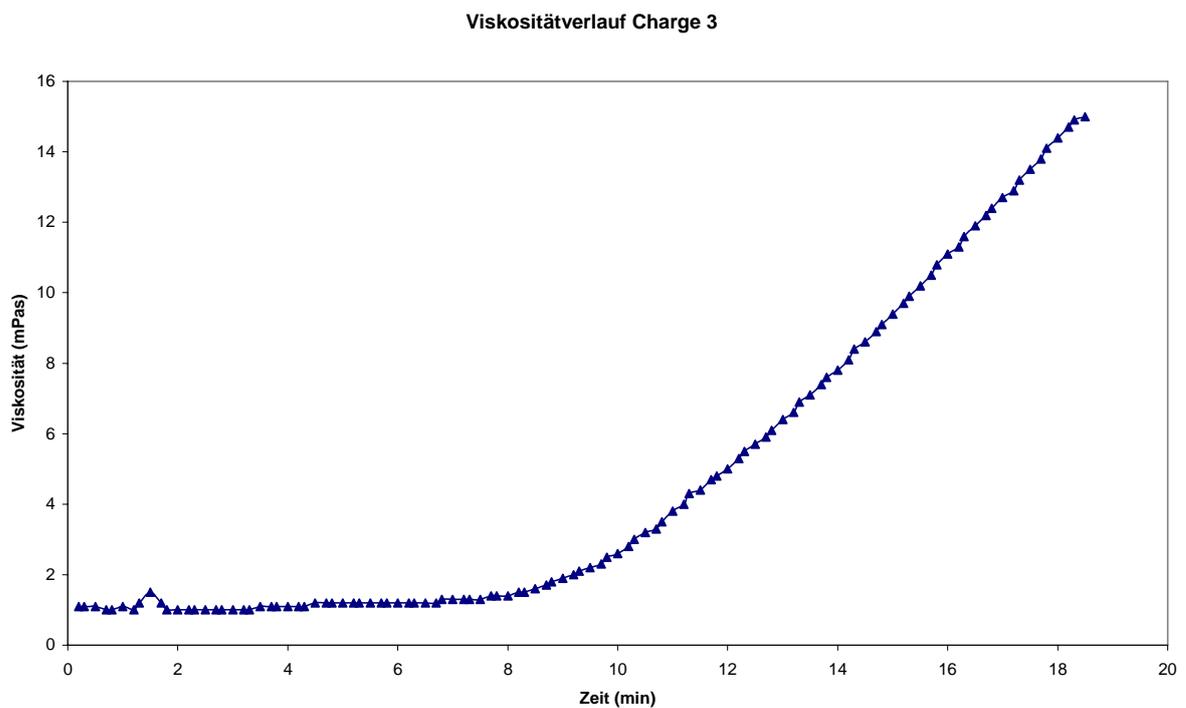


Abb. 12-2: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 3

Viskositätsverlauf Charge 4

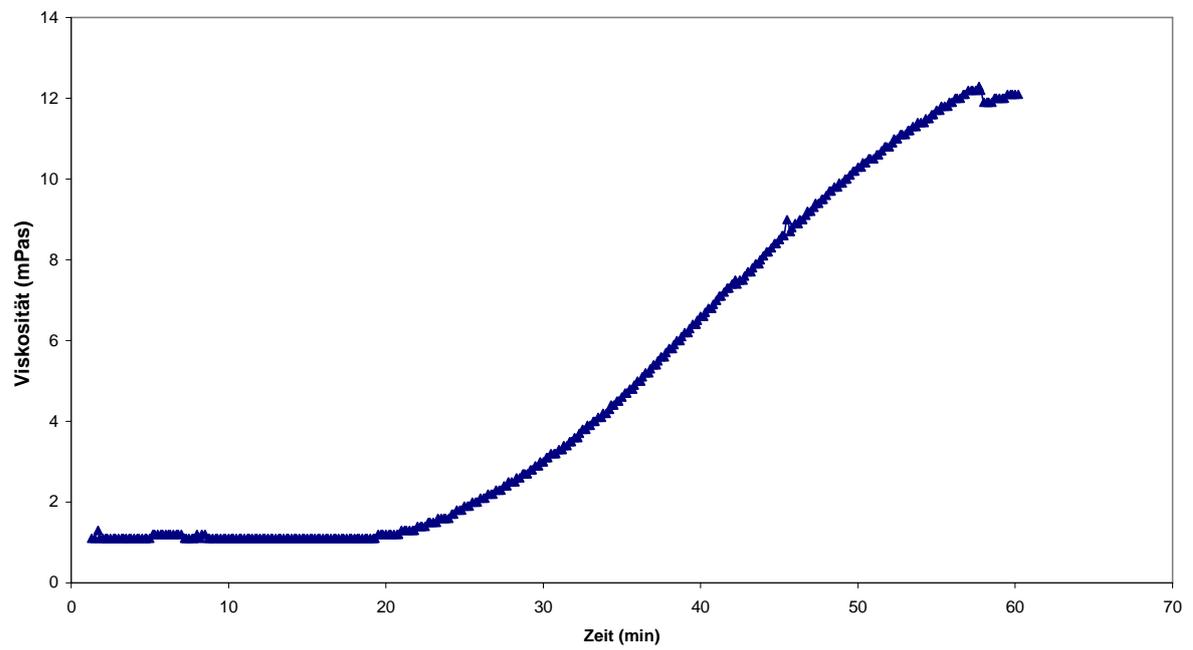


Abb. 12-3: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 4

Viskositätsverlauf Charge 5

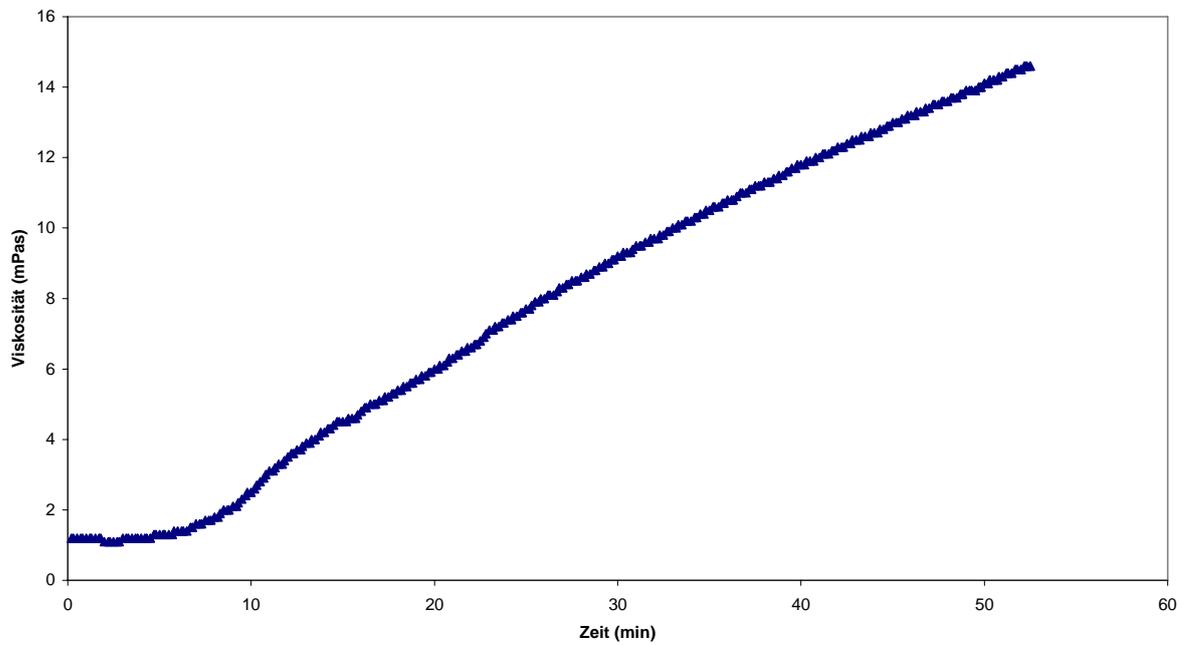


Abb. 12-4: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 5

Viskositätsverlauf Charge 6

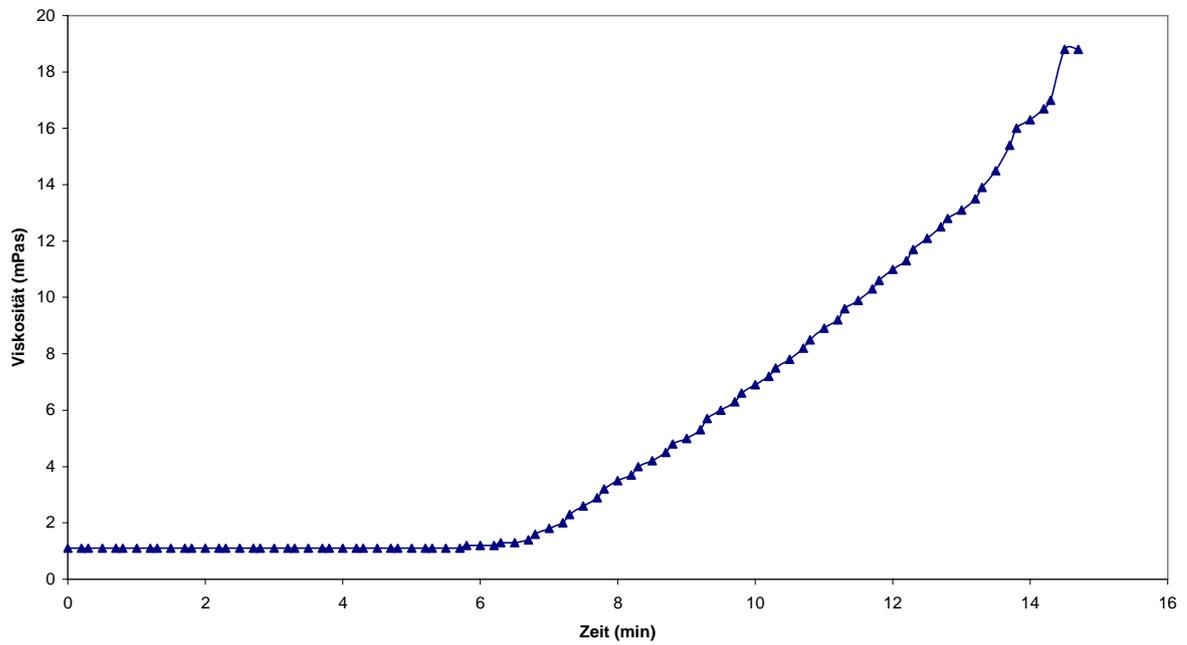


Abb. 12-5: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 6

Viskositätsverlauf Charge 7

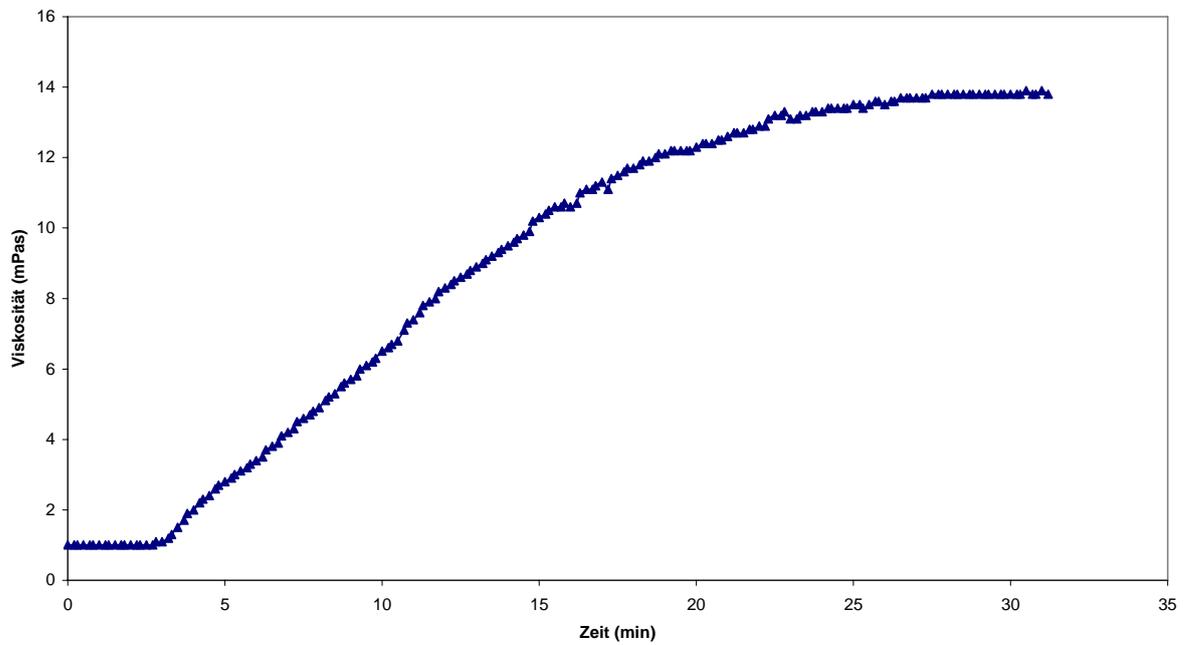


Abb. 12-6: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 7

Viskositätsverlauf Charge 8.1

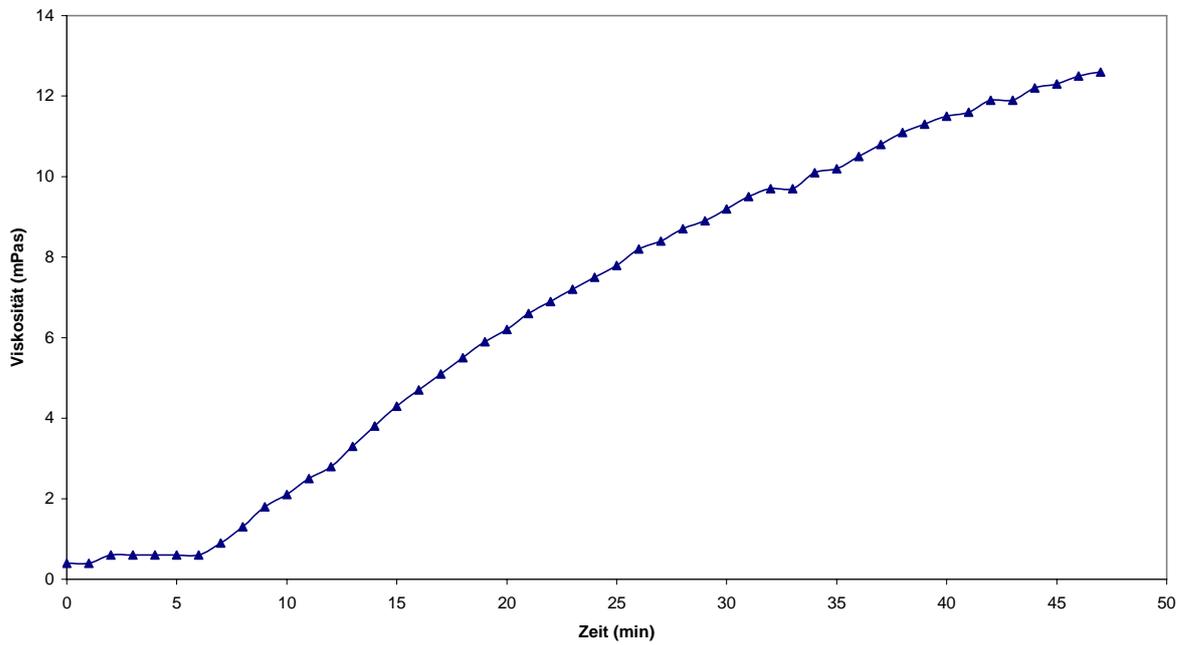


Abb. 12-7: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 8.1

Viskositätsverlauf Charge 8.2

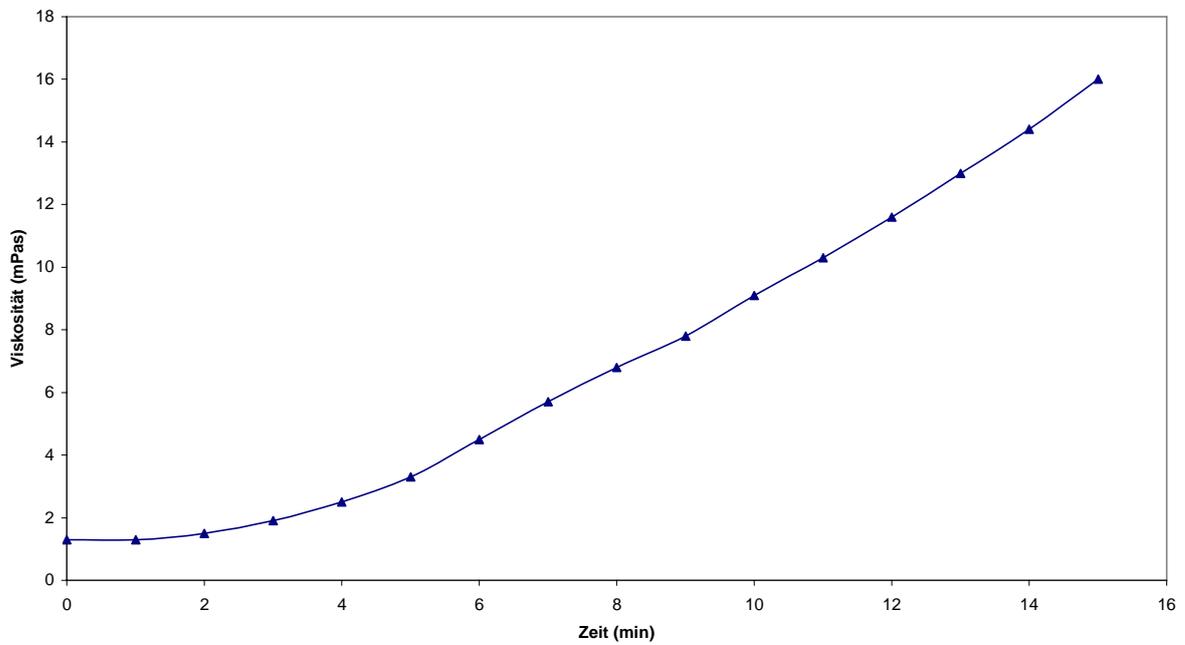


Abb. 12-8: Viskositätsverlauf der Gewinnung Labkasein-Charge 8.2

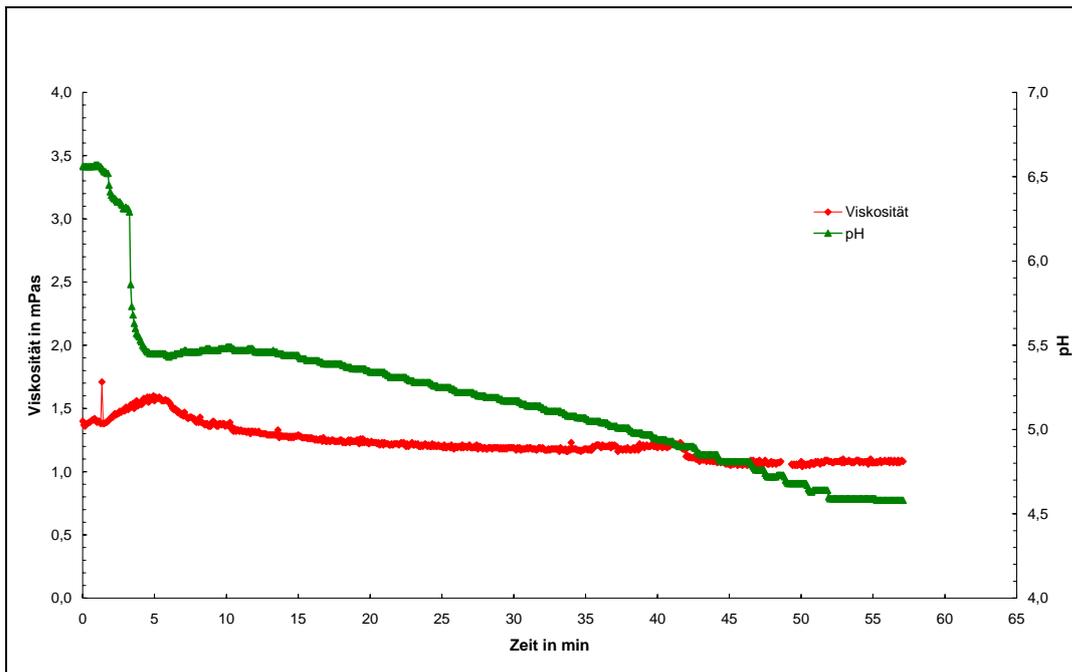


Abb. 12-9: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 2

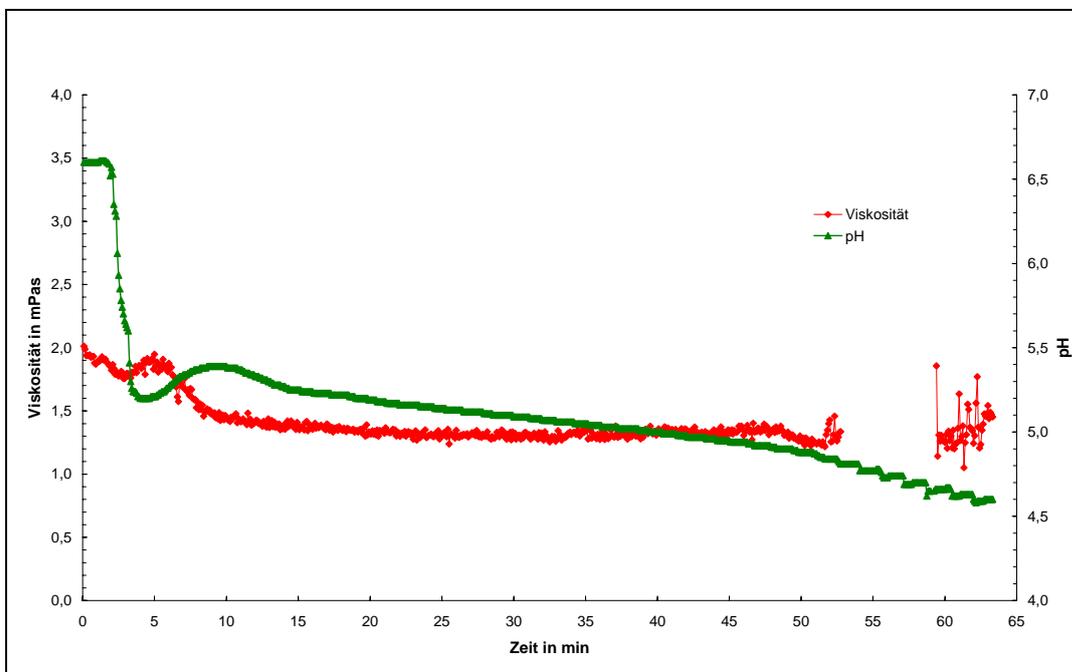


Abb. 12-10: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 3

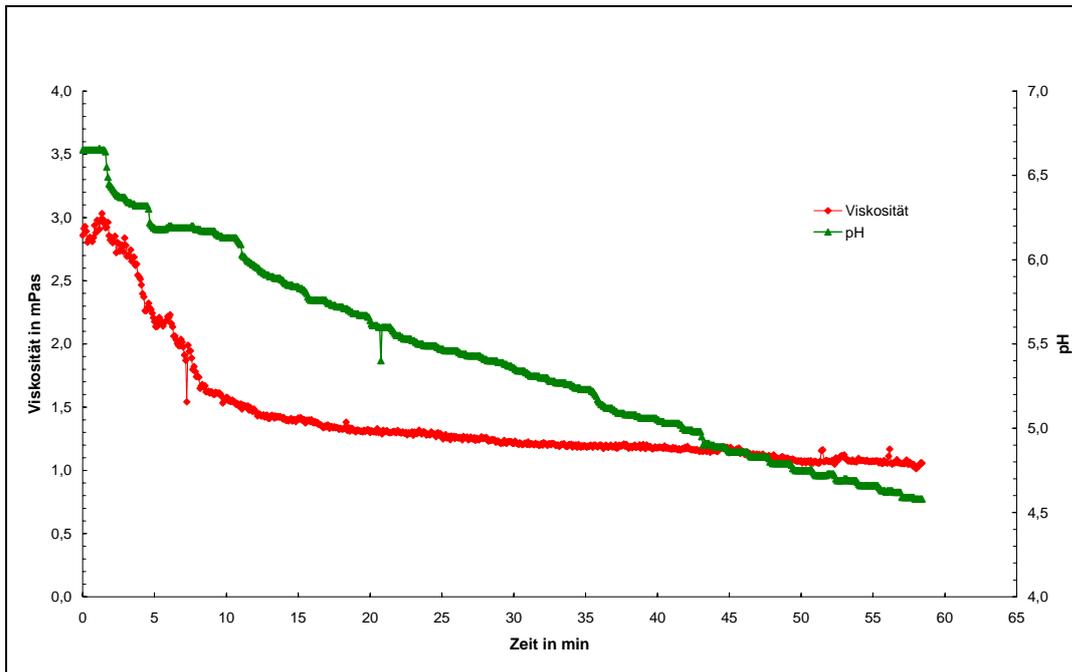


Abb. 12-11: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 4

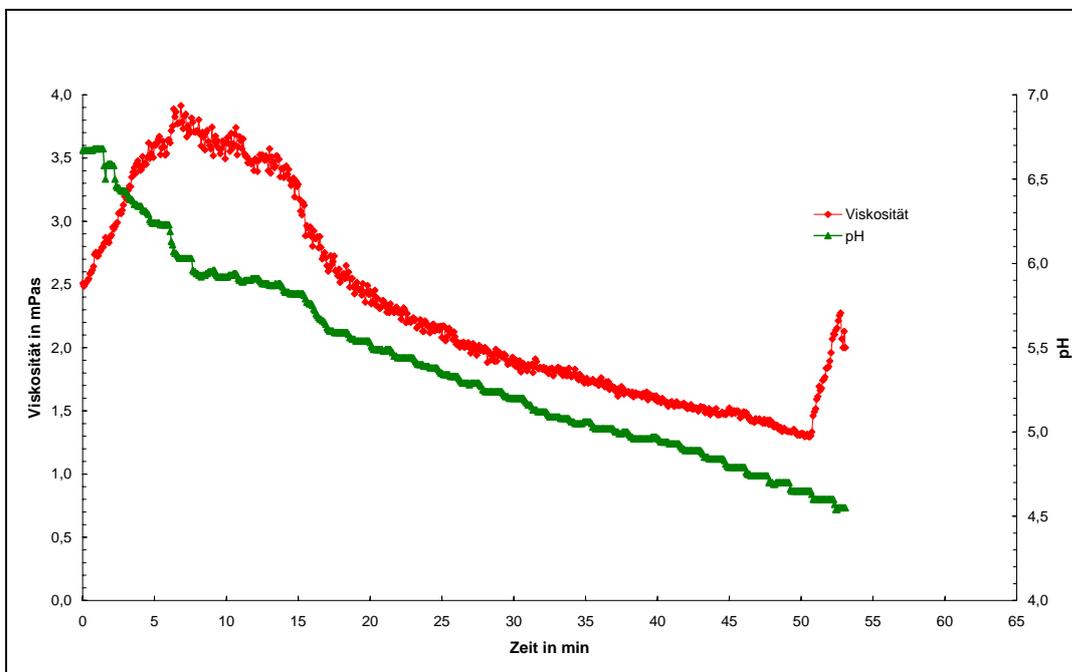


Abb. 12-12: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 5

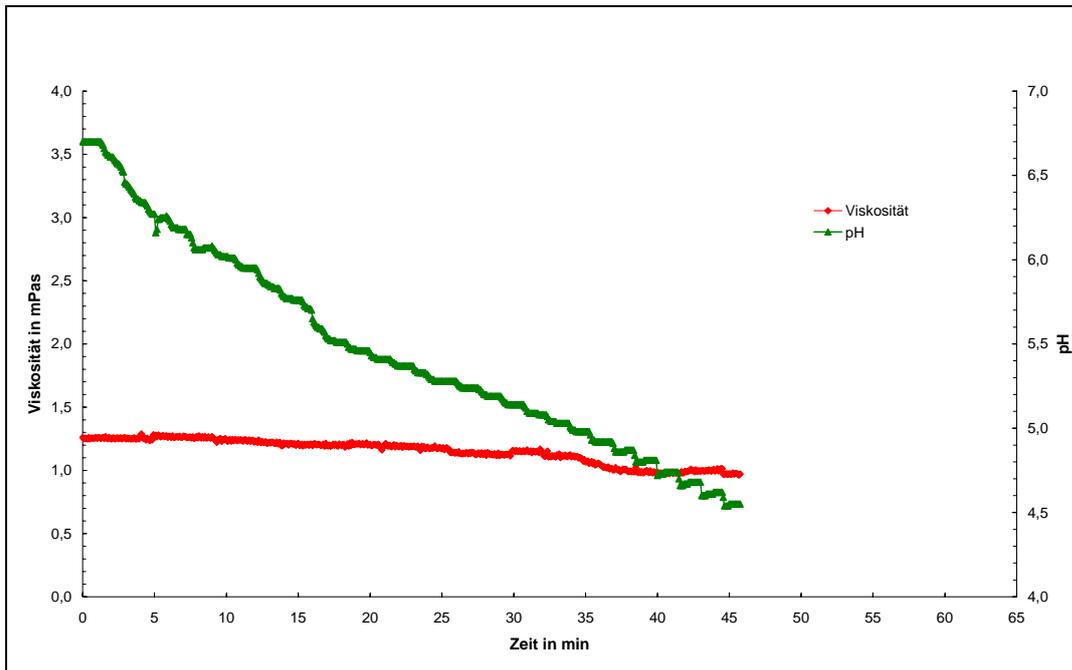


Abb. 12-13: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 6

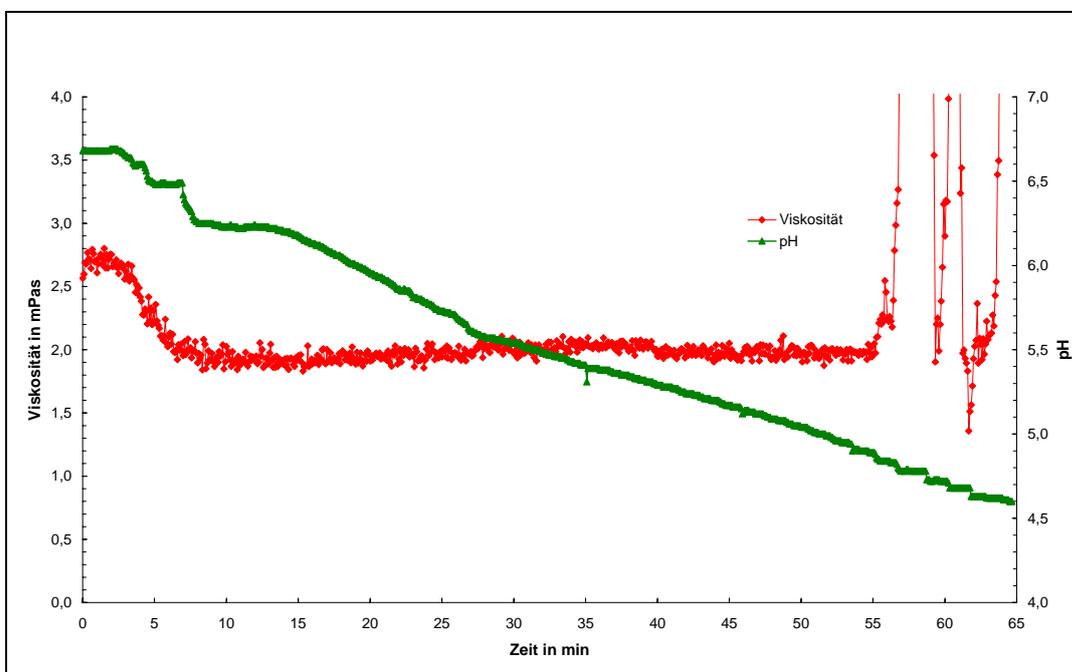


Abb. 12-14: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 7

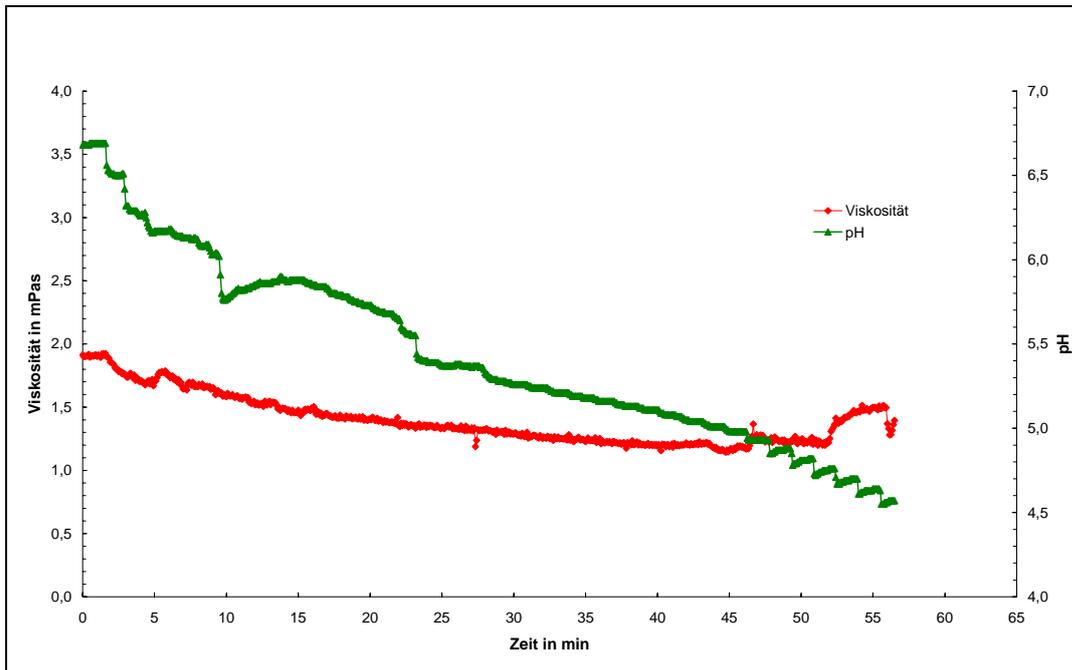


Abb. 12-15: Viskositäts- und pH-Verlauf der Gewinnung Säurekasein-Charge 8

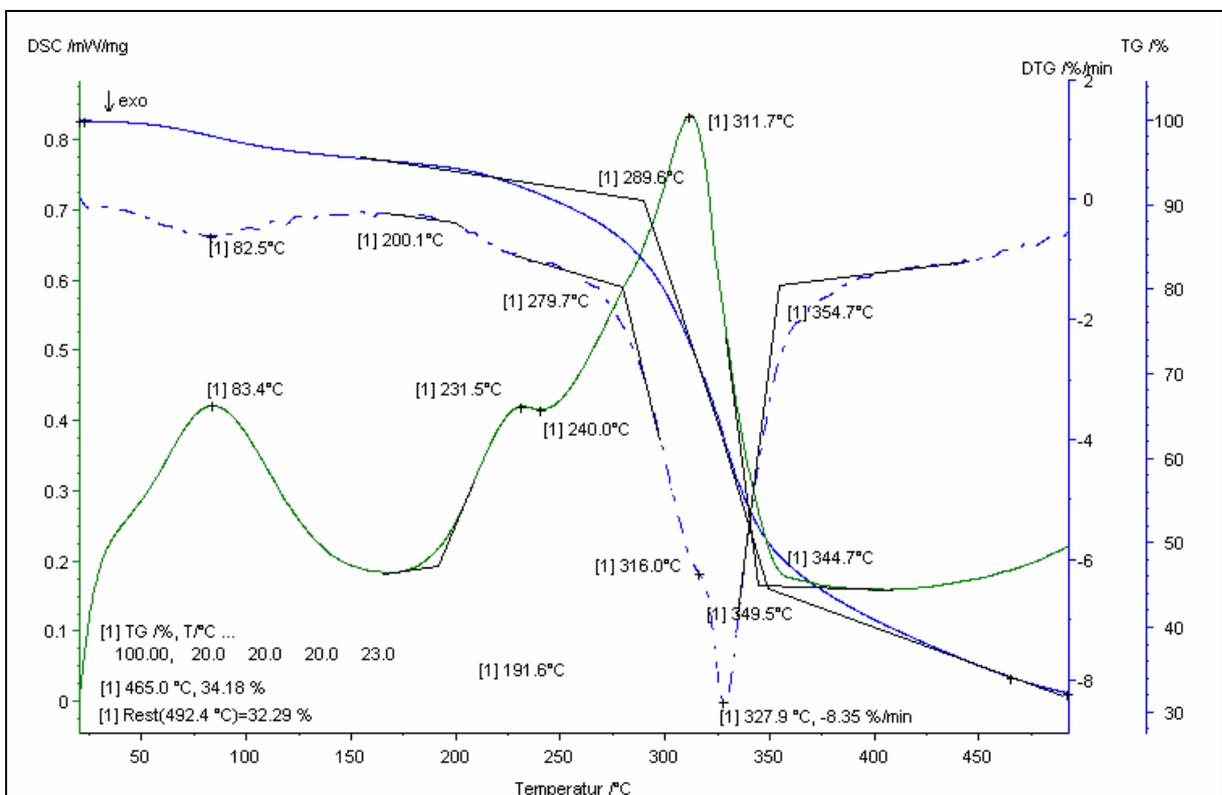


Abb. 12-16: Kasein Nr. 2 (verkehrs-fähige Milch (MLUA) Milchsäurefällung)

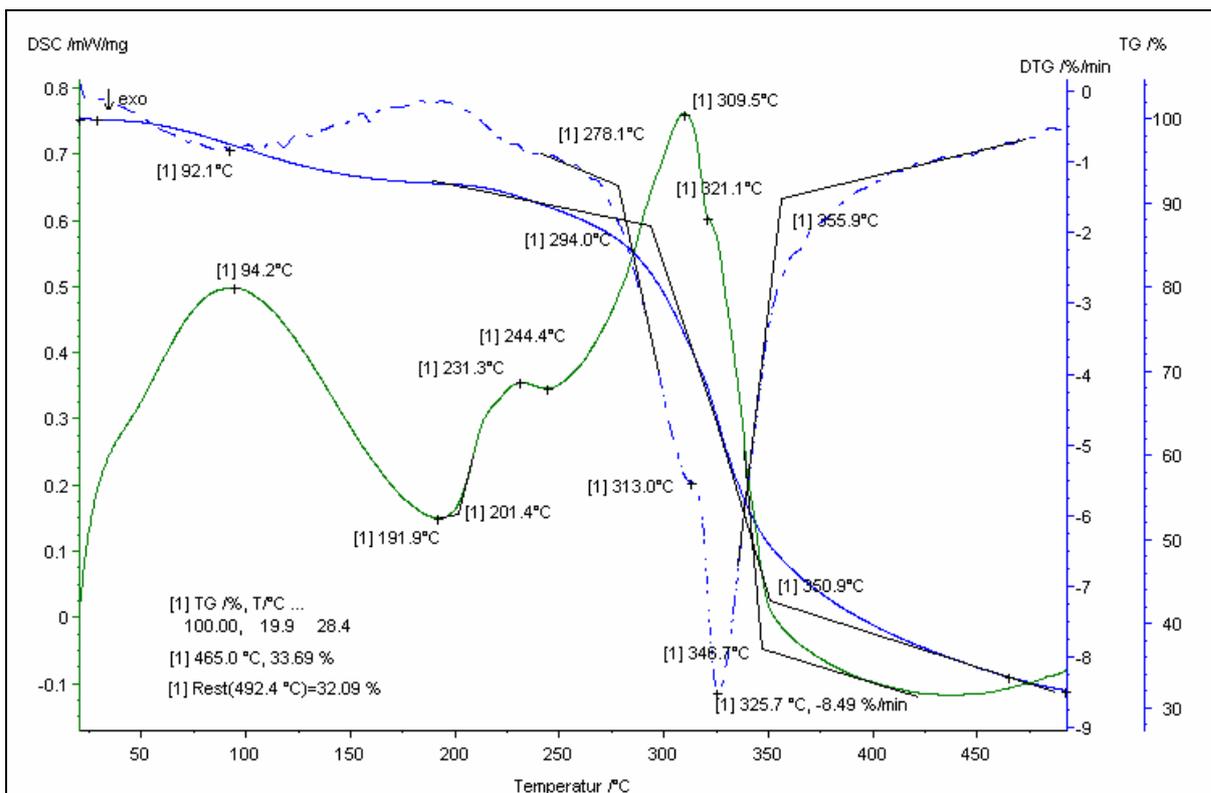


Abb. 12-17: Kasein Nr. 3 (nicht verkehrsfähige Milch (MLUA) Milchsäurefällung)

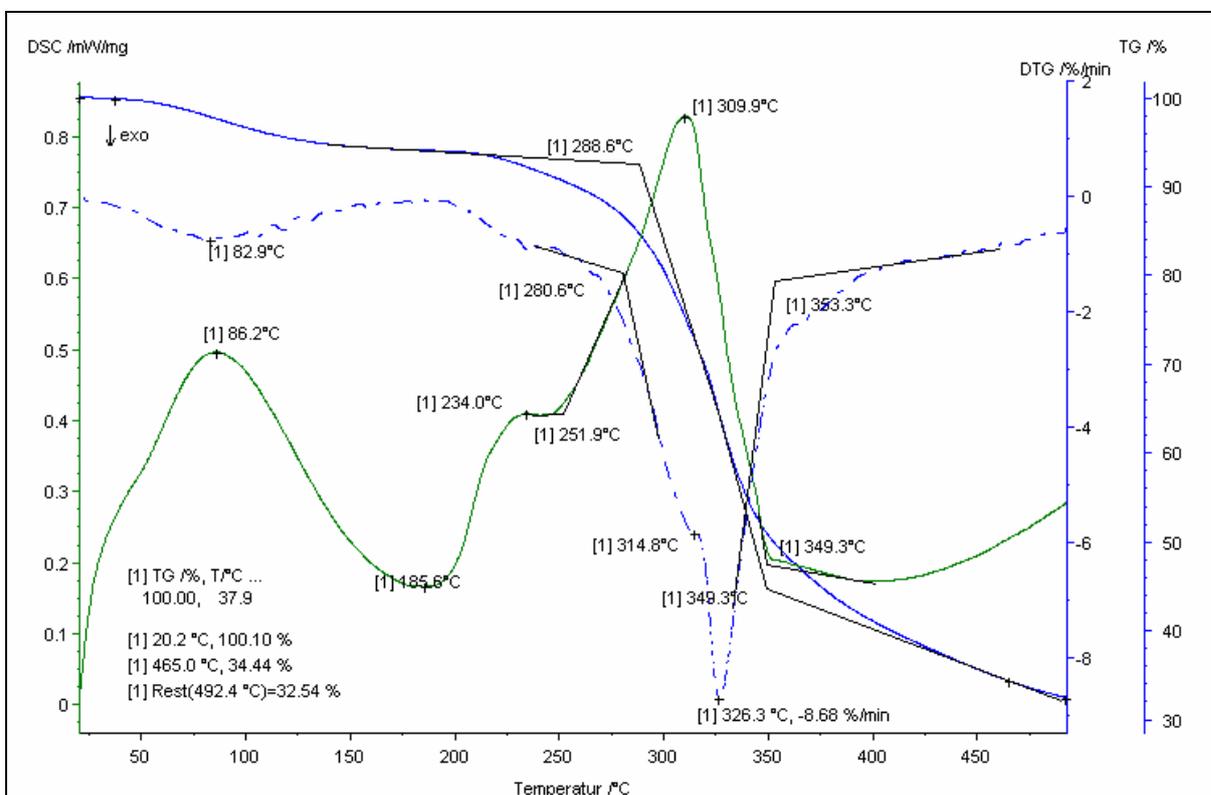


Abb. 12-18: Kasein Nr. 4 (verkehrsfähige Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung)

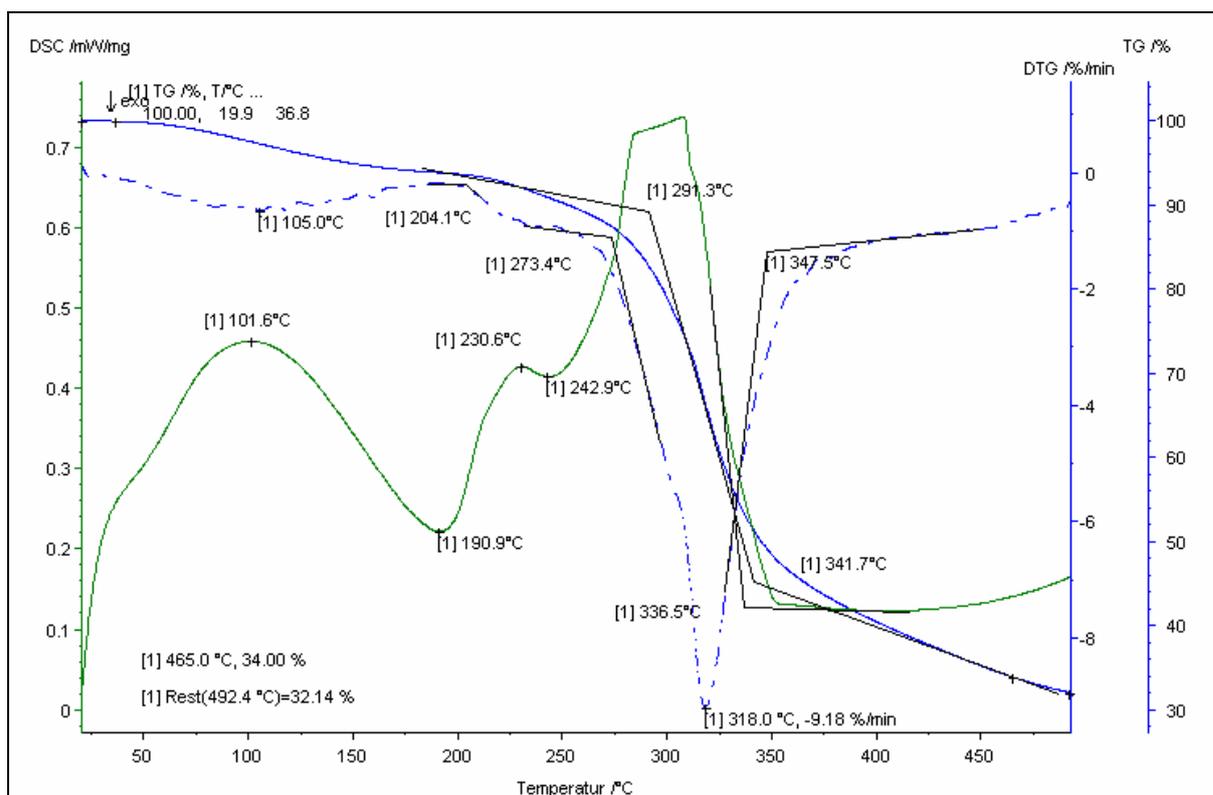


Abb. 12-19: Kasein Nr. 5 (nicht verkehrsfähige Milch (TUB) Schwefelsäurefällung)

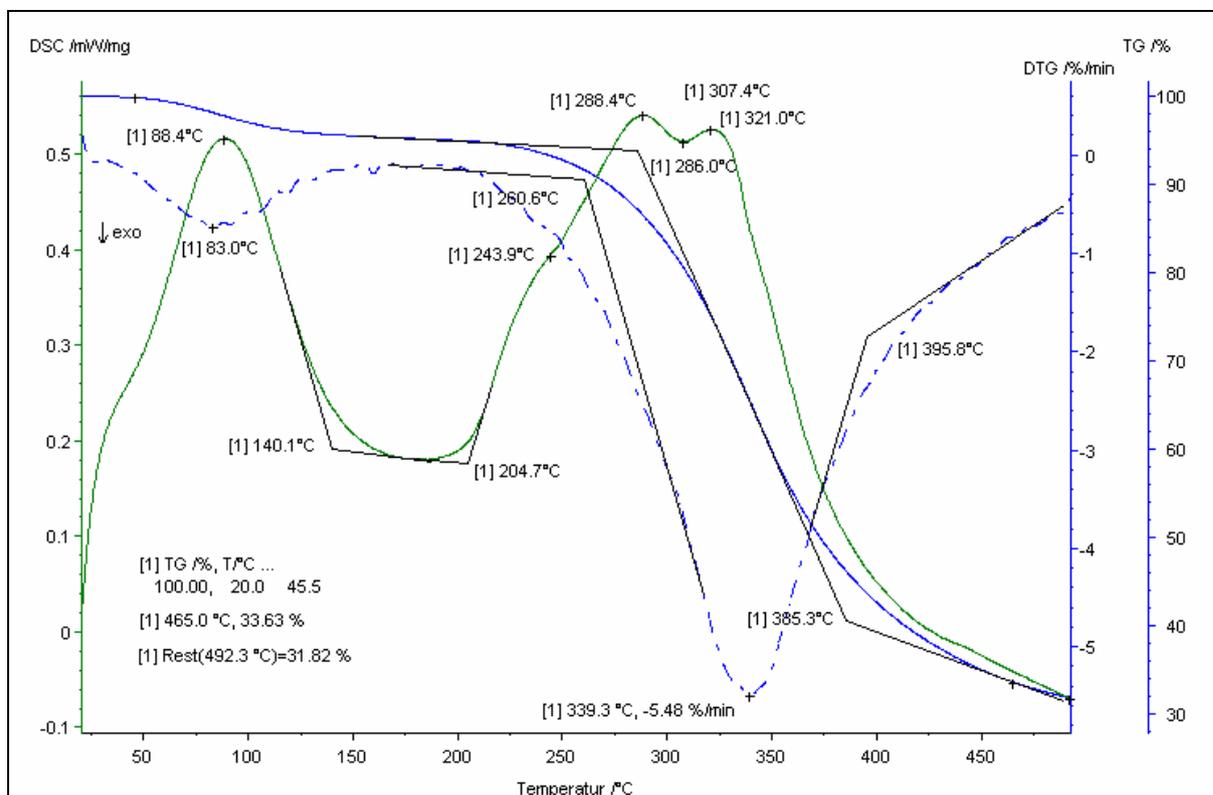


Abb. 12-20: Kasein Nr. 6 (verkehrsfähige Milch (FH Hannover) nach Ultrafiltration)

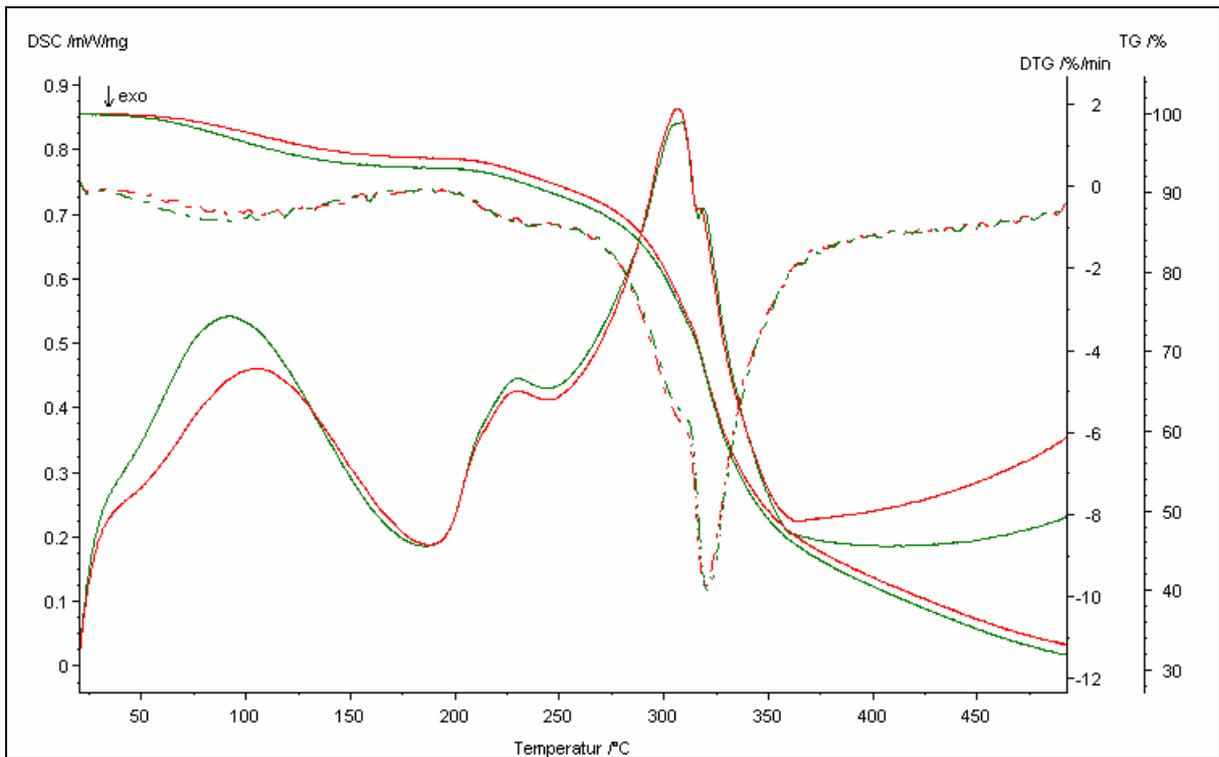


Abb. 12-21: Reproduzierbarkeit (Kasein Nr. 1)

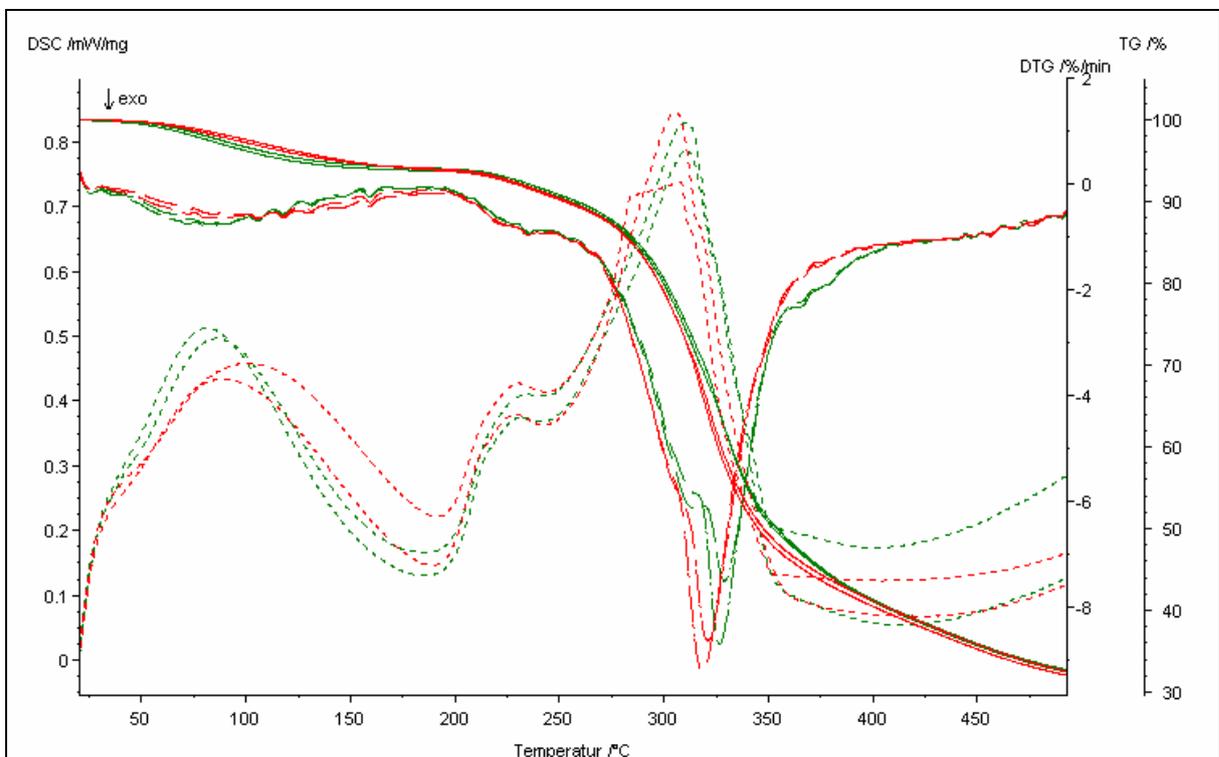


Abb. 12-22: Zusammenstellung Probe 4 und Probe 5

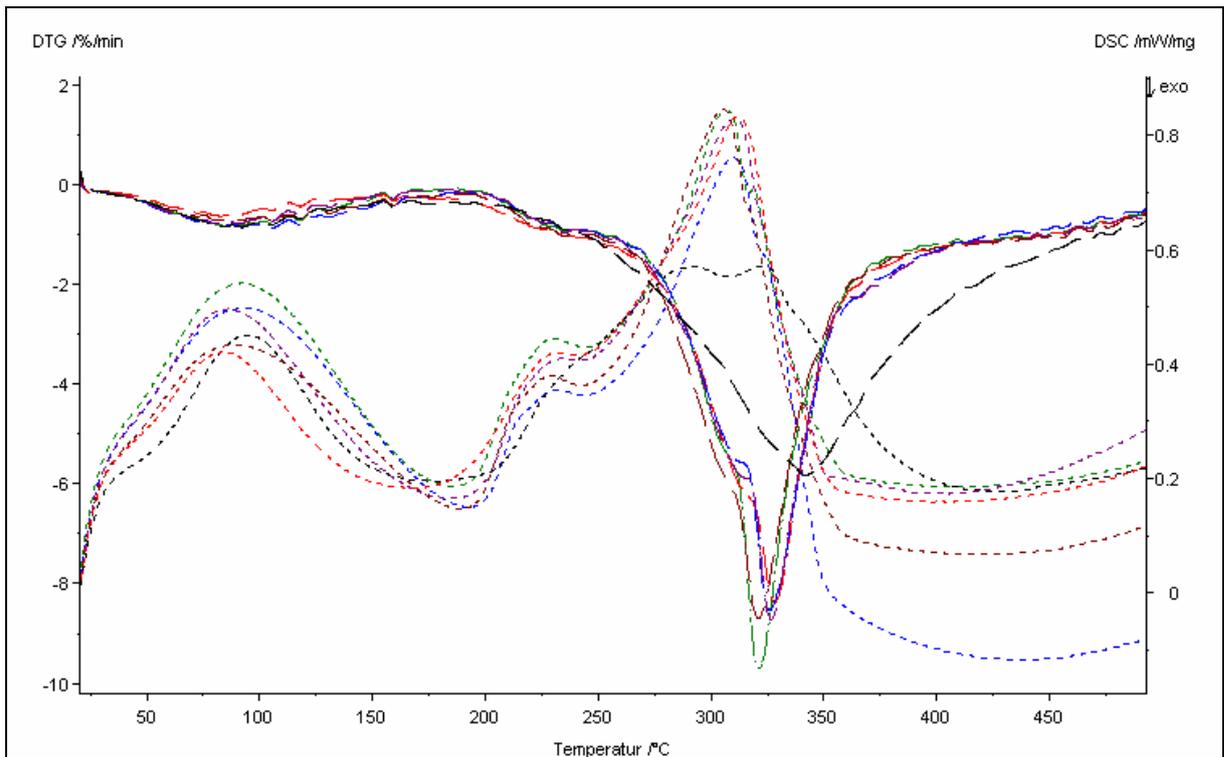
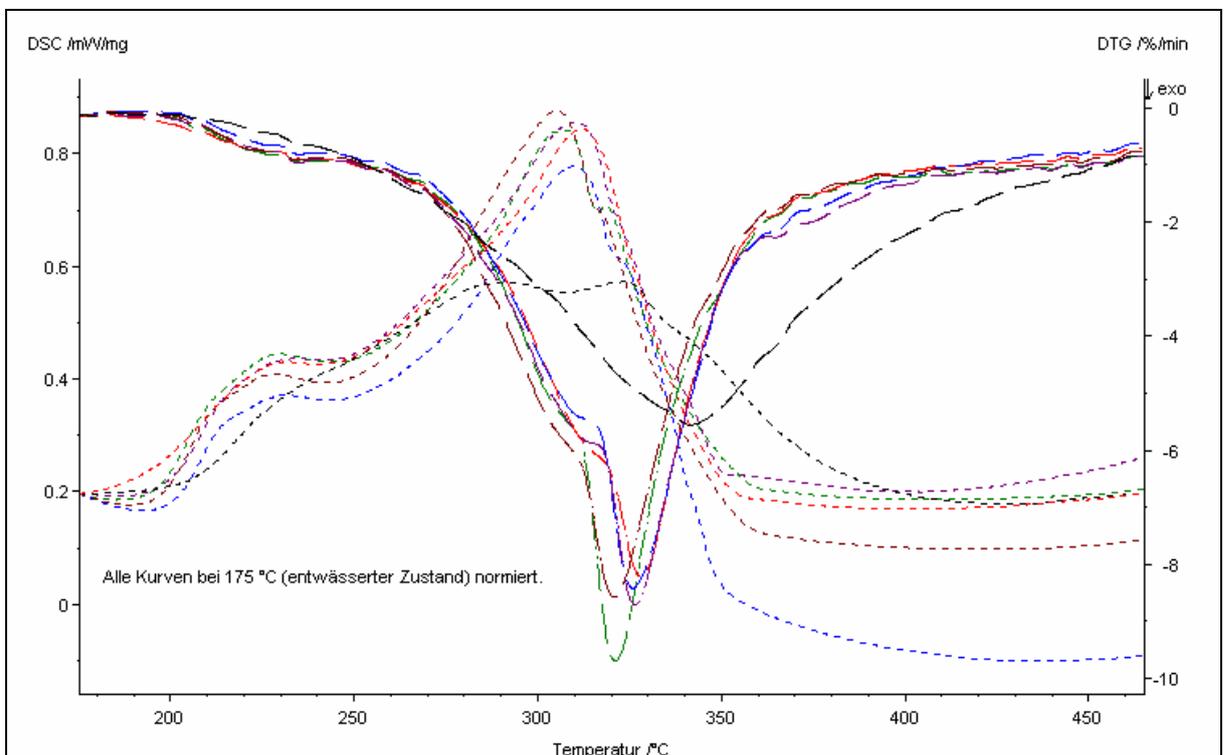


Abb. 12-23: Zusammenfassende Darstellung der sechs Kaseinproben

Kasein Nr. 1 Kasein Nr. 2 Kasein Nr. 3 Kasein Nr. 4 Kasein Nr. 5 Kasein Nr. 6



Kasein Nr. 1 Kasein Nr. 2 Kasein Nr. 3 Kasein Nr. 4 Kasein Nr. 5 Kasein Nr. 6

Abb. 12-24: Zusammenfassende Darstellung der sechs Kaseinproben

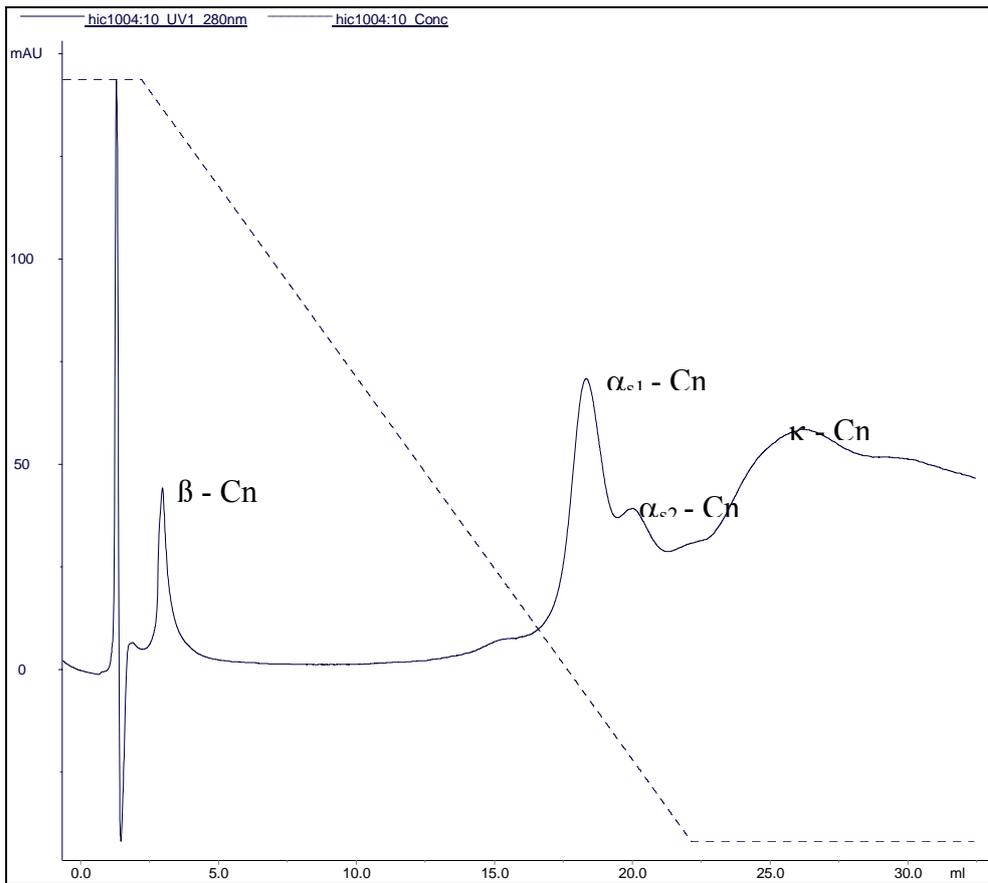


Abb. 12-25: Chromatogramm Neuseeland-Kasein

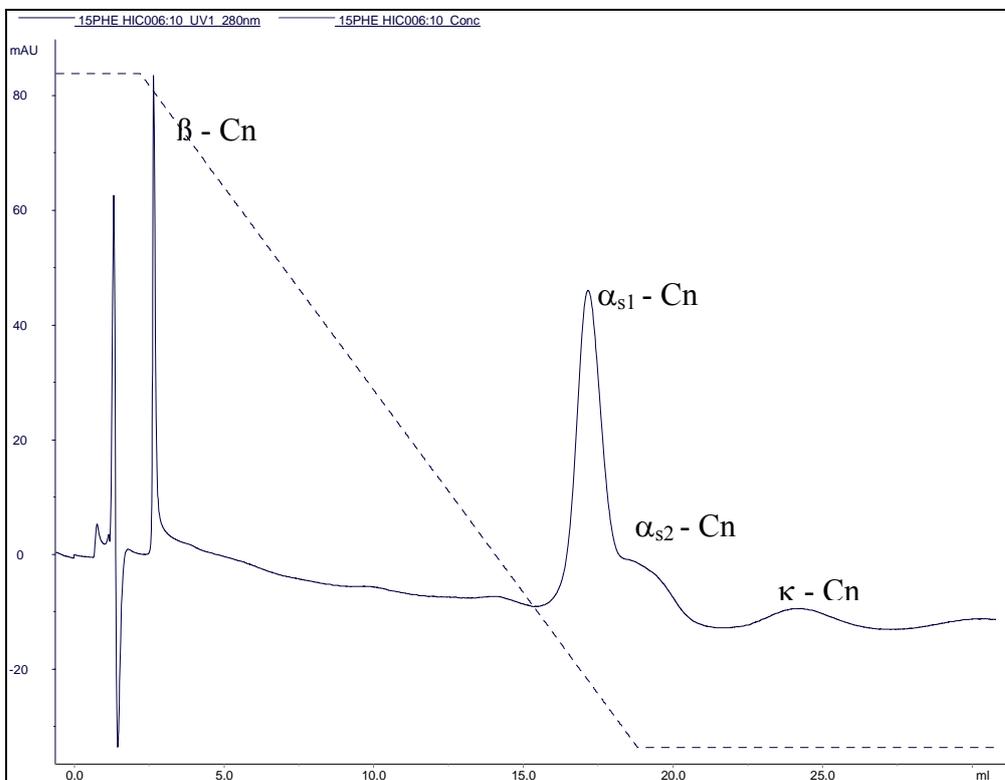


Abb. 12-26: Chromatogramm Charge 1

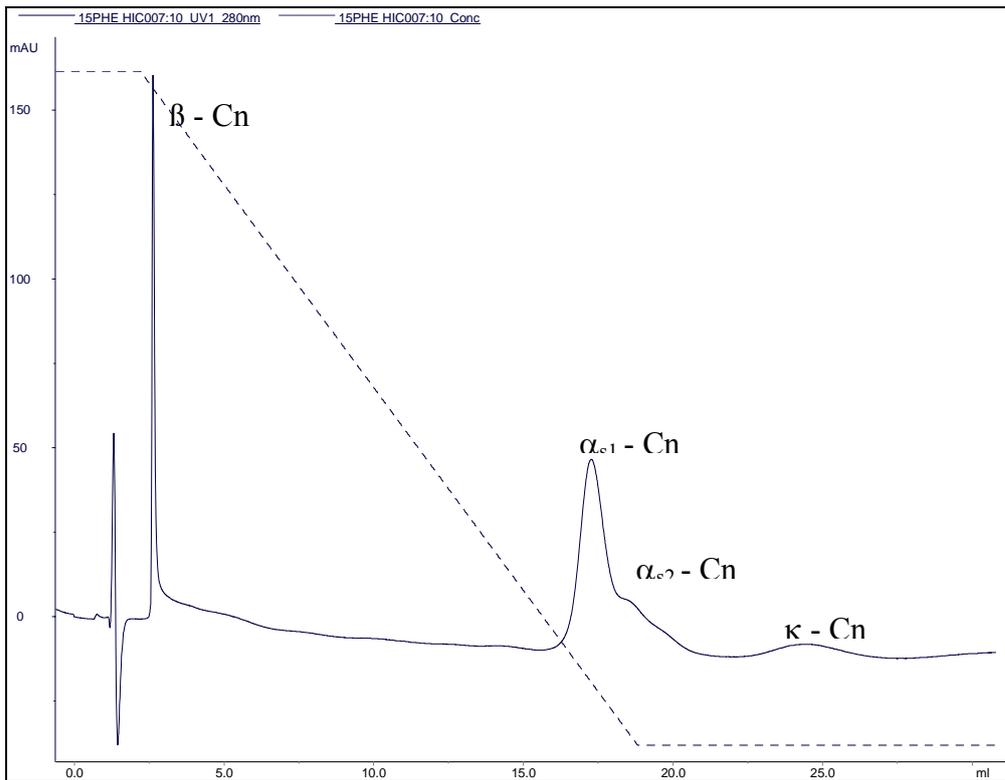


Abb. 12-27: Chromatogramm Charge 2

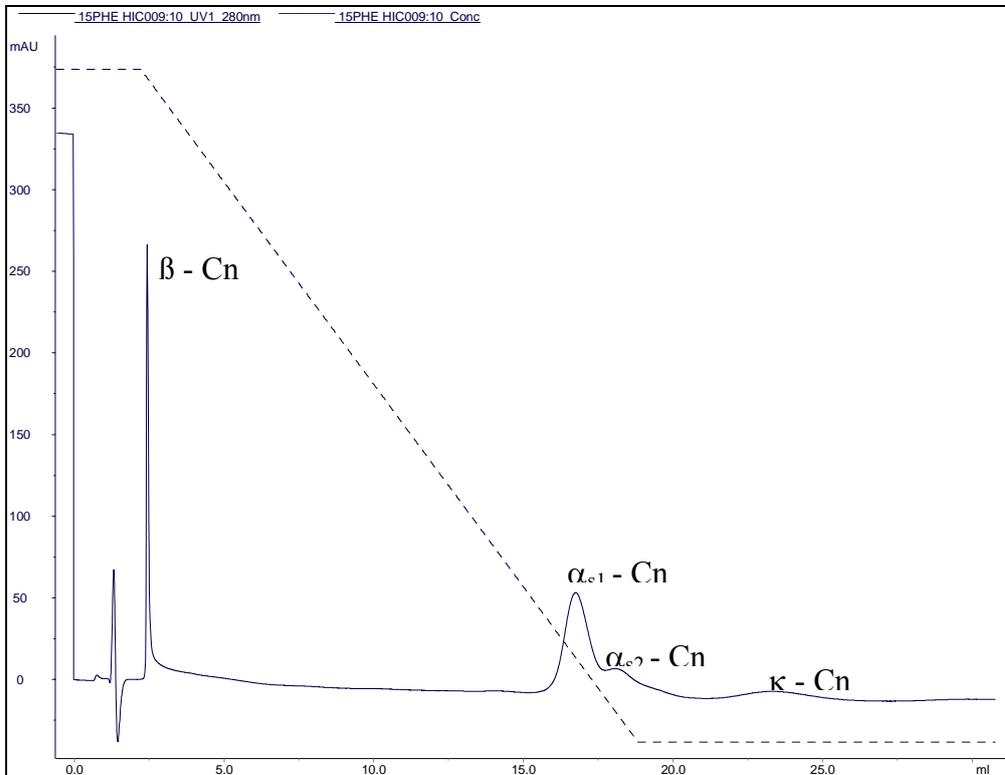


Abb. 12-28: Chromatogramm Charge 3

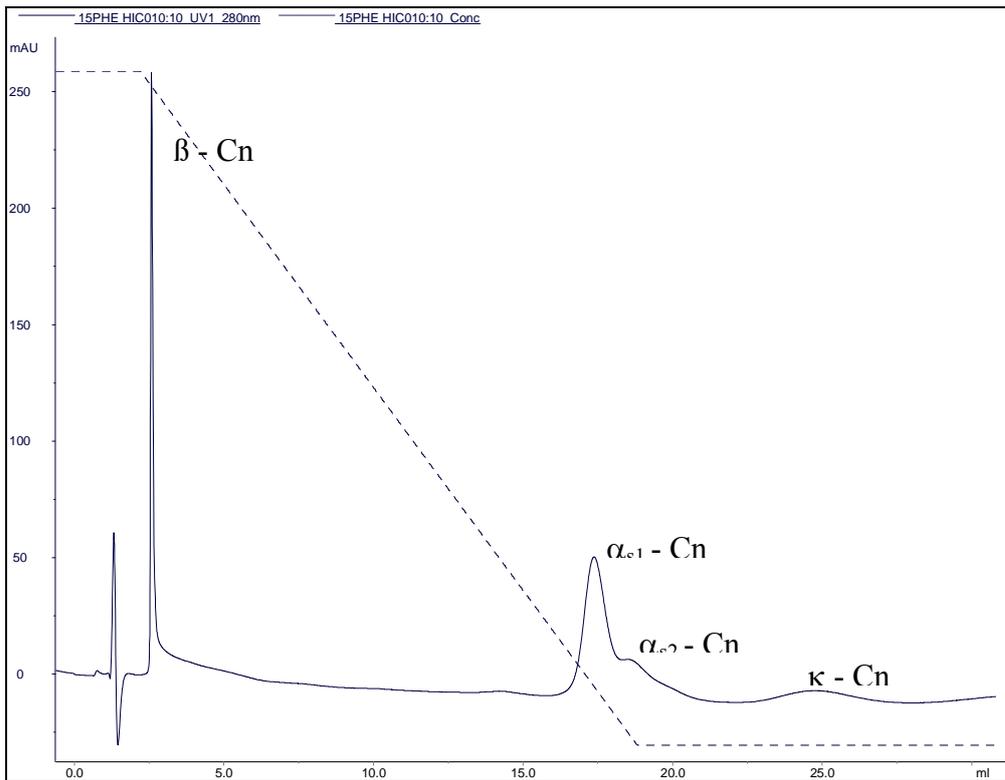


Abb. 12-29: Chromatogramm Charge 4

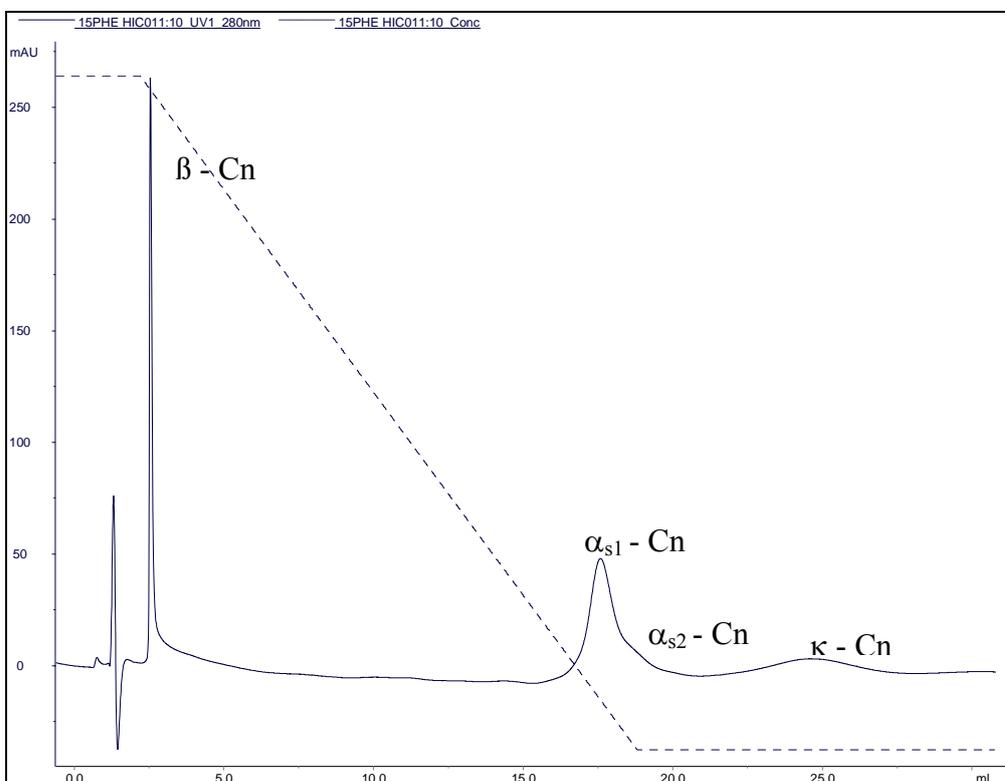


Abb. 12-30: Chromatogramm Charge 5

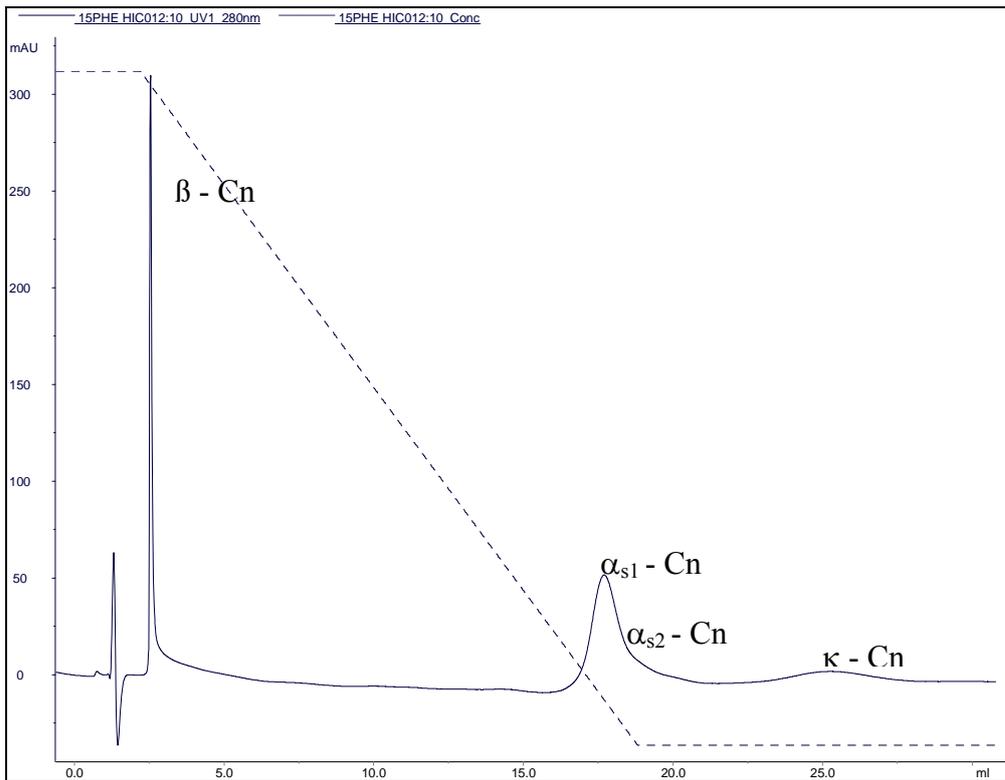


Abb. 12-31: Chromatogramm Charge 6

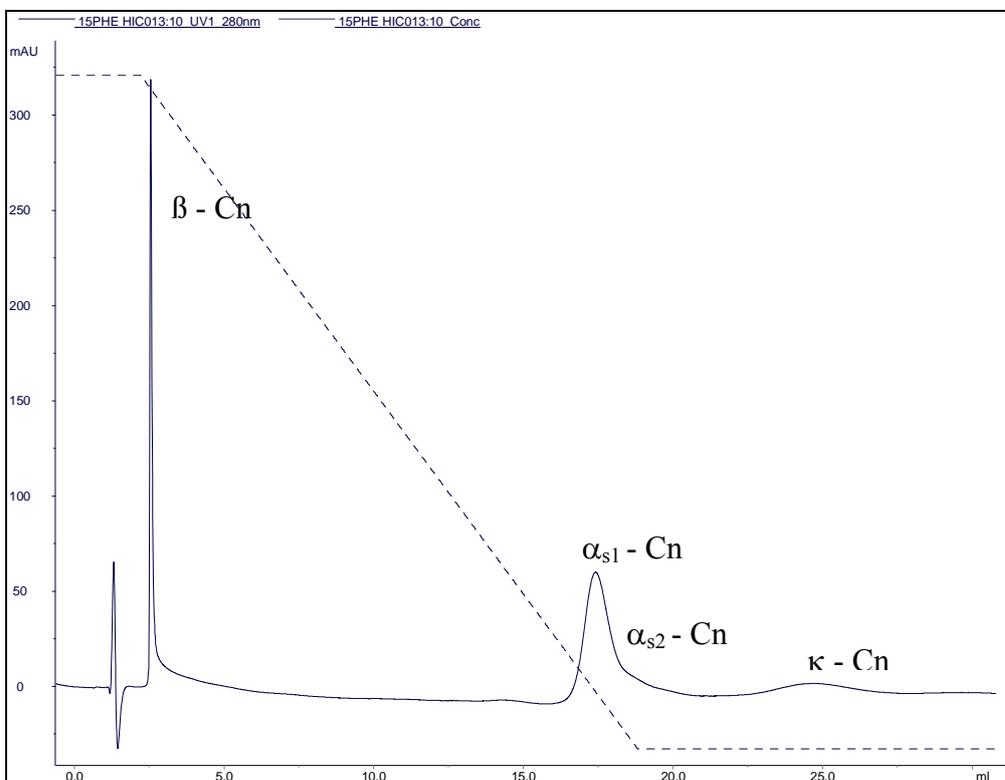


Abb. 12-32: Chromatogramm Charge 7

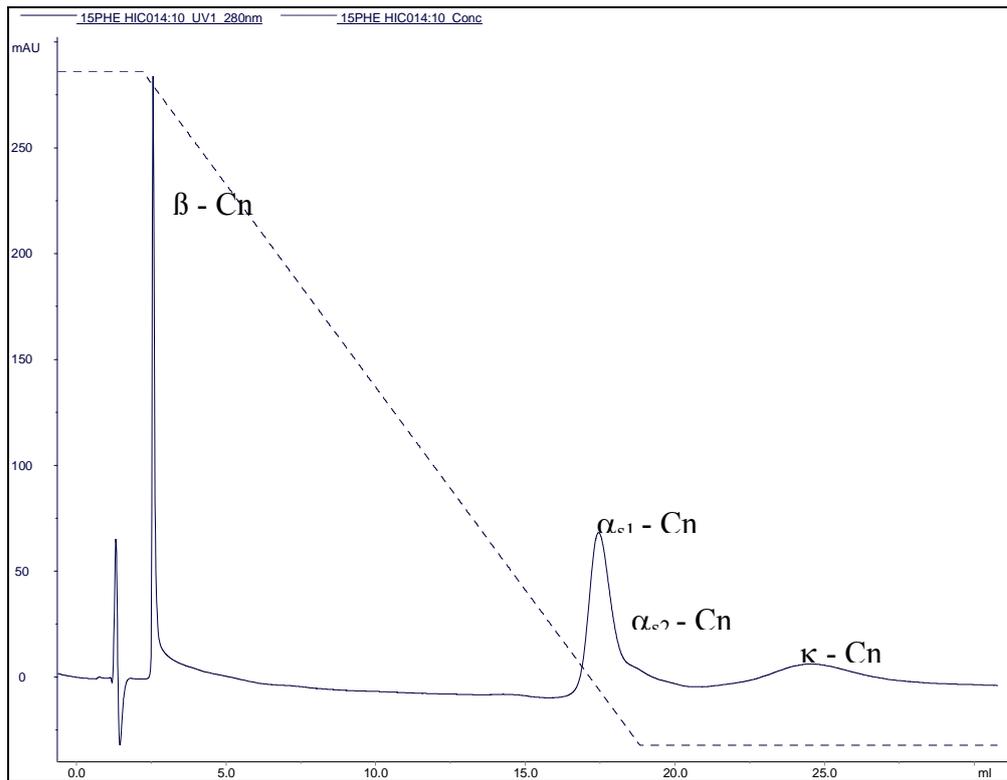


Abb. 12-33: Chromatogramm Charge 8

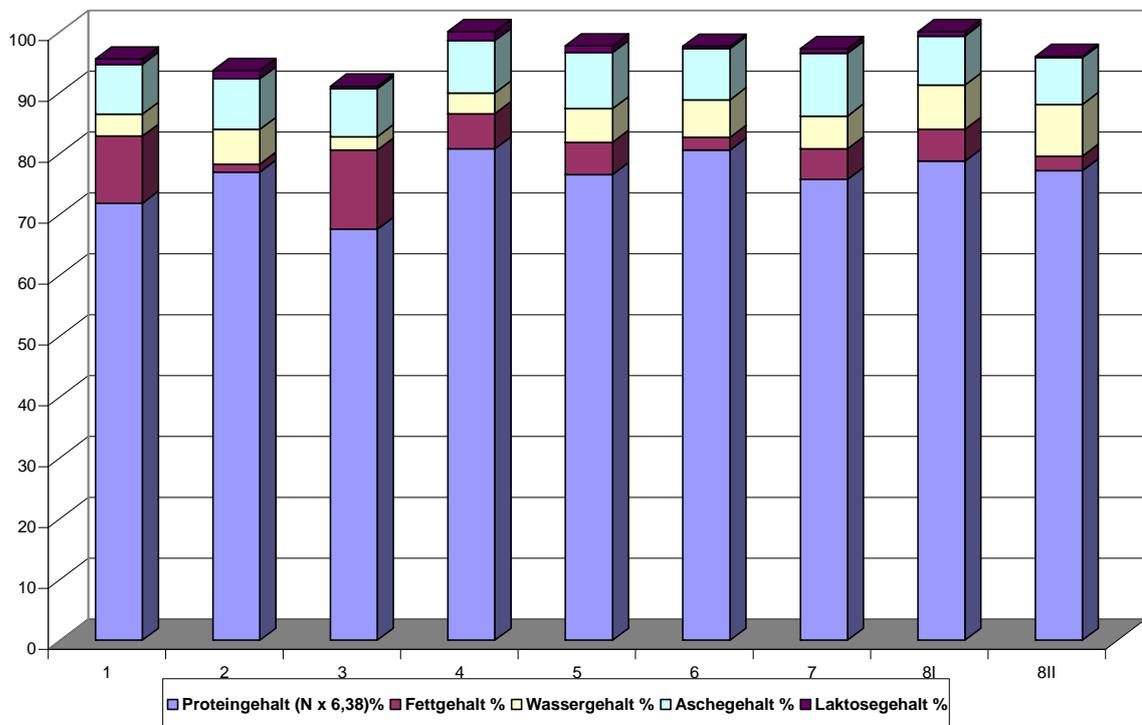


Abb. 12-34: Chemische Zusammensetzung der Labkasein-Präparate

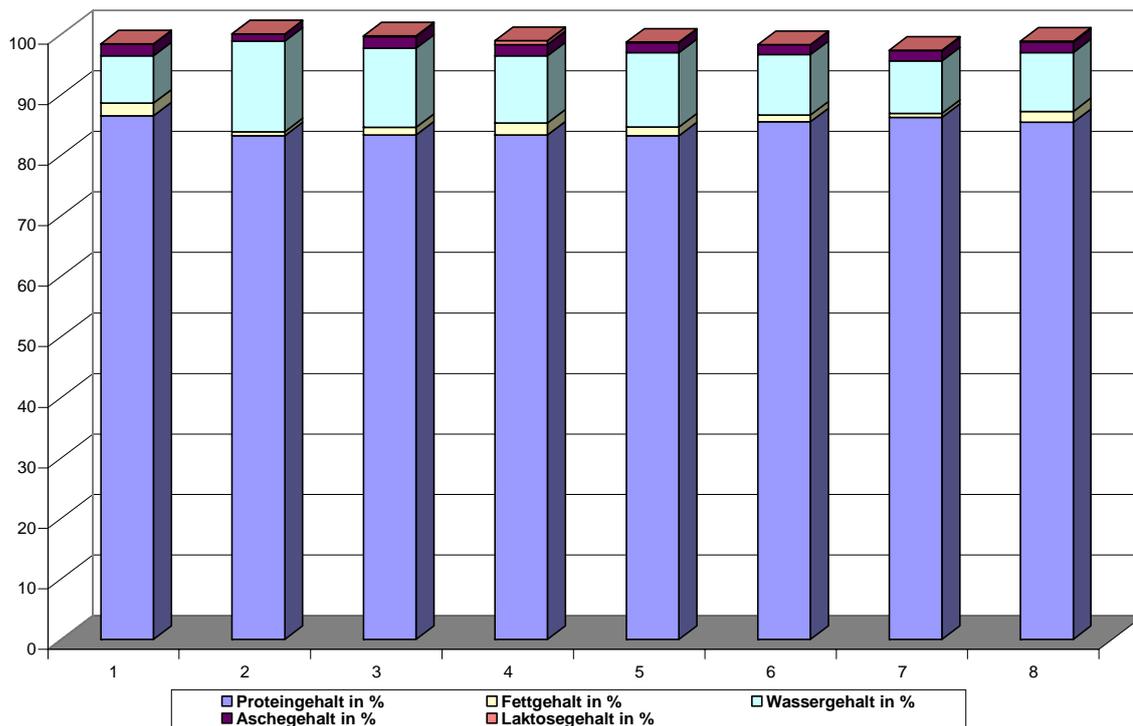


Abb. 12-35: Chemische Zusammensetzung der Schwefelsäurekasein-Präparate

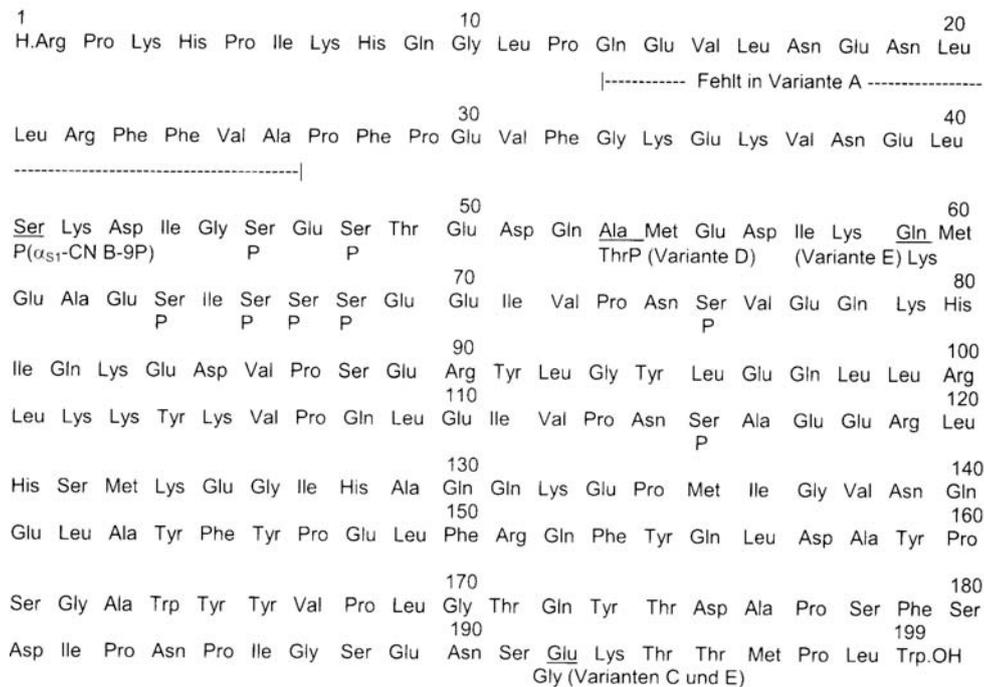


Abb. 12-36: Primärstruktur von Rinder- α_{S1} -Kasein B-8P (*Bos taurus*) mit Angabe der genetischen Varianten (GROSCLAUDE, MAHE, MERCIER, RIBADEAU-DUMAS 1972; RIBADEAU-DUMAS: in BARTH und SCHLIMME 1988; SCHLIMME und BUCHHEIM 1995)

```

1                               10                               20
H.Lys Asn Thr Met Glu His Val Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ile Ile Ser Gln Glu Thr Tyr
P P P
Lys Gln Glu Lys Asn Met Ala Ile Asn Pro Ser Lys Glu Asn Leu Cys Ser Thr Phe Cys
30
Lys Glu Val Val Arg Asn Ala Asn Glu Glu Glu Tyr Ser Ile Gly Ser Ser Ser Glu Glu
P P P
Ser Ala Glu Val Ala Thr Glu Glu Val Lys Ile Thr Val Asp Asp Lys His Tyr Gln Lys
P
Ala Leu Asn Glu Ile Asn Gln Phe Tyr Gln Lys Phe Pro Gln Tyr Leu Gln Tyr Leu Tyr
90                               100
Gln Gly Pro Ile Val Leu Asn Pro Trp Asp Gln Val Lys Arg Asn Ala Val Pro Ile Thr
110                               120
Pro Thr Leu Asn Arg Glu Gln Leu Ser Thr Ser Glu Glu Asn Ser Lys Lys Thr Val Asp
P P
Met Glu Ser Thr Glu Val Phe Thr Lys Lys Thr Lys Leu Thr Glu Glu Glu Lys Asn Arg
P
Leu Asn Phe Leu Lys Lys Ile Ser Gln Arg Tyr Gln Lys Phe Ala Leu Pro Gln Tyr Leu
170                               180
Lys Thr Val Tyr Gln His Gln Lys Ala Met Lys Pro Trp Ile Gln Pro Lys Thr Lys Val
190                               200
Ile Pro Tyr Val Arg Tyr Leu.OH
207

```

Abb. 12-37: Primärstruktur von Rinder- α_2 -Kasein A-11P (*Bos taurus*) (BRIGNON, RIBADEAU-DUMAS und MERCIER1976; RIBADEAU-DUMAS in: BATH und SCHLIMME 1988, SCHLIMME und BUCHHEM 1955)

```

1                               10                               20
PyroGlu Glu Gln Asn Gln Glu Gln Pro Ile Arg Cys Glu Lys Asp Glu Arg Phe Phe Ser Asp
Lys Ile Ala Lys Tyr Ile Pro Ile Gln Tyr Val Leu Ser Arg Tyr Pro Ser Tyr Gly Leu
30
Asn Tyr Tyr Gln Gln Lys Pro Val Ala Leu Ile Asn Asn Gln Phe Leu Pro Tyr Pro Tyr
50
Tyr Ala Lys Pro Ala Ala Val Arg Ser Pro Ala Gln Ile Leu Gln Trp Gln Val Leu Ser
70
Asn Thr Val Pro Ala Lys Ser Cys Gln Ala Gln Pro Thr Thr Met Ala Arg His Pro His
90
Pro His Leu Ser Phe Met Ala Ile Pro Pro Lys Lys Asn Gln Asp Lys Thr Glu Ile Pro
105 106 110
Thr Ile Asn Thr Ile Ala Ser Gly Glu Pro Thr Ser Thr Pro Thr Ile Glu Ala Val Glu
130 136 140
Ser Thr Val Ala Thr Leu Glu Ala Ser Pro Glu Val Ile Glu Ser Pro Pro Glu Ile Asn
148 150
(Variante A) → Asp P
Thr Val Gln Val Thr Ser Thr Ala Val.OH
169 160

```

Abb. 12-38: Primärstruktur von Rinder- κ -Kasein B-1P (*Bos taurus*) und der genetischen Variante A (EINGEL, BUTLER, ERNSTROM, FARRELL, jr., HAWALKAR und WHITNEY (1984); MERCIER, BRIGNON und RIBADEAU-DUMAS 1973; RIBADEAU-DUMAS in BARTH und SCHLIMME 1988; SCHLIMME und BUCHHEIM 1955)

12.2 Anlagen: Tabellen

Tab. 12-1: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter der DSC-Untersuchungen

Nr.		—————→				
1	Neuseelandkasein					
	Probe I	91,5 °C	185,4 °C	245,0 °C	308,0 °C	341,0 °C
	Probe II	105,9 °C	187,1 °C	242,0 °C	306,0 °C	340,9 °C
	Mittelwert	98,7 °C	186,3 °C	243,5 °C	307,0 °C	340,9 °C
2	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung					
	Probe I	83,4 °C		240,0 °C	311,7 °C	344,7 °C
	Probe II	84,8 °C	163,2 °C	240,3 °C	311,8 °C	346,0 °C
	Mittelwert	84,1 °C	163,2 °C	240,1 °C	311,8 °C	345,4 °C
3	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung					
	Probe I	94,2 °C	191,9 °C	244,4 °C	309,5 °C	350,9 °C
	Probe II	101,6 °C	195,6 °C	244,6 °C	306,3 °C	350,6 °C
	Mittelwert	97,9 °C	193,7 °C	244,5 °C	307,9 °C	350,8 °C
4	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung					
	Probe I	86,2 °C	185,6 °C	234,0 °C	309,9 °C	349,3 °C
	Probe II	80,9 °C	185,5 °C	231,5 °C	310,1 °C	352,7 °C
	Mittelwert	83,6 °C	185,6 °C	232,8 °C	310,0 °C	351,0 °C
5	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (TUB) Schwefelsäurefällung					
	Probe I	101,6 °C	190,9 °C	242,9 °C		341,7 °C
	Probe II	89,0 °C	189,0 °C	242,2 °C	304,9 °C	344,6 °C
	Mittelwert	95,3 °C	190,0 °C	242,6 °C	304,9 °C	343,2 °C
6	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (Hannover) nach Ultrafiltration					
	Probe I	83,0 °C	140,1 °C	288,4 °C	321,0 °C	385,0 °C
	Probe II	94,6 °C	142,1 °C	291,8 °C	323,3 °C	379,8 °C
	Mittelwert	88,8 °C	141,1 °C	290,1 °C	322,2 °C	382,4 °C

Tab. 12-2: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter der DTG-Untersuchungen

Nr.		DTG- Verlauf —————→		
1	Neuseelandkasein			
	Probe I	92,1 °C	205,7 °C	Onset 279/320,9/-9,69%/min/offset 346,3
	Probe II	106,2 °C		Onset 279/319,8/-9,56%/min/offset 346,1
	Mittelwert	99,15 °C	205,7 °C	Onset 279/320,4/-9,63%/min/offset 346,2
2	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung			
	Probe I	82,5 °C	200,1 °C	Onset 279,7/327,9/-8,35%/min/offset 354,7

	Probe II	81,8 °C	198,3°C	Onset 280,1/330,4/-7,29%/min/offset 355,3
	Mittelwert	82,2 °C	199,2°C	Onset 279,9/329,2/-7,82%/min/offset 355
3	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung			
	Probe I	92,1 °C		Onset 278,1/325,7/-8,49%/min/offset 355,9
	Probe II	105,5 °C	206,8 °C	Onset 276,6/321,8/-8,64%/min/offset 359,6
	Mittelwert	98,8 °C	206,8 °C	Onset 277,4/323,8/8,56%/min/offset 357,8
4	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung			
	Probe I	82,9 °C		Onset 280,6/ 326,3/-8,68%/min/offset 353,3
	Probe II	81,0 °C	206,4 °C	Onset 279,3/328,6/-7,49%/min/offset 352,9
	Mittelwert	82,0 °C	206,4 °C	Onset 280/327,5/-8%/min/offset 353,1
5	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (TUB) Schwefelsäurefällung			
	Probe I	105,0 °C	204,1 °C	Onset 273,4/318/-9,18%/min /offset 347,5
	Probe II	82,2 °C	201,2 °C	Onset 274,6/320,6/-8,61%/min/offset 349,5
	Mittelwert	93,6 °C	202,7 °C	Onset 274/319,3/-8,9%/min/offset 348,5
6	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (Hannover) nach Ultrafiltration			
	Probe I	83,0 °C		Onset 260,6/339,3/-5,48%/min /offset 395,8
	Probe II	91,0 °C		Onset 261,1/341,5/-5,55%/min/offset 393
	Mittelwert	87,0 °C		Onset 260,9/340,4/-5,5%/offset 394,4

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	341,6°C	340,9 °C	341,3 °C
End-Temperatur (DTG)	346,3 °C	346,1 °C	346,2 °C
Peak	91,5 °C	105,9 °C	98,7°C

Tab. 12-3: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Neuseelandkaseins

Peak	185,4 °C	187,1 °C	186,3 °C
Peak	229,5 °C	229,7 °C	229,6 °C
Peak	244,7 °C	242,0 °C	243,4 °C
Peak	308,0 °C	306,0 °C	307,0 °C
Peak (DTG)	92,1 °C	106,2 °C	99,2 °C
Onset	295,0 °C	294,4 °C	294,7 °C
Onset (DTG)	279,0 °C	279,0 °C	279 °C
TG	33,86 %	35,12 %	34,49 %
DTG	-9,69 %/min	-9,56 %/min	-9,63 %/min
TG/%,T/°C...100.00	20,0	19,9	20,0
Restmasse	31,96 %	33,28 %	32,62 %

Tab. 12-4: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter der Massenverlauf-Untersuchungen

Nr.		Massenverlauf
1	Neuseelandkasein	
	Probe I	295,0 °C
	Probe II	294,4 °C
	Mittelwert	294,7 °C
2	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung	
	Probe I	289,6 °C
	Probe II	287,8 °C
	Mittelwert	288,7 °C
3	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung	
	Probe I	294,0 °C
	Probe II	295,3 °C
	Mittelwert	294,7 °C
4	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung	
	Probe I	288,6 °C
	Probe II	283,8 °C
	Mittelwert	286,2 °C
5	Kaseinpulver aus nicht verkehrsfähiger Milch (TUB) Schwefelsäurefällung	
	Probe I	291,3 °C
	Probe II	288,0 °C
	Mittelwert	289,7 °C
6	Kaseinpulver aus verkehrsfähiger Milch (Hannover) nach Ultrafiltration	
	Probe I	286,0 °C
	Probe II	287,8 °C
	Mittelwert	286,9 °C

Tab. 12-5: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Kaseinpulvers aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	344,7°C	346 °C	345,4 °C
End-Temperatur (DTG)	354,7 °C	355,3 °C	355,0 °C
Peak	83,4 °C	84,8 °C	84,1 °C
Peak	231,5 °C	230,5 °C	231,0 °C
Peak	240,0 °C	240,3 °C	240,2 °C
Peak	311,7 °C	311,8 °C	311,8 °C

Wendepunkt (DTG)	316,0 °C	318,6 °C	317,3 °C
Peak (DTG)	82,5 °C	81,8 °C	82,2 °C
Onset	289,6 °C	287,8 °C	288,7 °C
Onset (DTG)	279,7 °C	280,1 °C	279,9 °C
TG	34,18 %	35,33 %	34,76 %
DTG	-8,35 %/min	-7,29 %/min	-7,82 %/min
TG/%,T/°C...100.00	20,0	20,2	20,1
Restmasse	32,29 %	33,43 %	32,86 %

Tab. 12-6: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Kaseinpulvers aus nicht verkehrsfähiger Milch (MLUA) Milchsäurefällung

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	346,7 °C	342,2 °C	344,5 °C
End-Temperatur (DTG)	355,9 °C	359,6 °C	357,8 °C
Peak	94,2 °C	101,6 °C	97,9 °C
Peak	191,9 °C	195,6 °C	193,8 °C
Peak	309,5 °C	306,3 °C	307,9 °C
Peak	231,3 °C	234,2 °C	232,8 °C
Peak	244,4 °C	244,6 °C	244,5 °C
Peak (DTG)	92,1 °C	105,5 °C	98,8 °C
Onset	294,0 °C	295,3 °C	294,7 °C
Onset (DTG)	278,1 °C	276,6 °C	277,4 °C
TG	33,69 %	33,74 %	33,72 %
DTG	-8,49 %/min	-8,64 %/min	-8,57 %/min
TG/%,T/°C...100.00	19,9	19,9	19,9
Restmasse	32,09 %	32,29 %	32,19 %
Wendepunkt (DTG)	313,0 °C	303,2 °C	308,1 °C
Wendepunkt	321,1 °C	316,3 °C	318,7 °C

Tab. 12-7: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Kaseinpulvers aus verkehrsfähiger Milch (MLUA) Schwefelsäurefällung

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	349,3 °C	352,7 °C	351,0 °C
End-Temperatur (DTG)	353,3 °C	352,9 °C	353,1 °C
Peak	86,2 °C	80,9 °C	83,6 °C
Peak	185,6 °C	185,5 °C	185,6 °C
Peak	234,0 °C	231,5 °C	232,8 °C
Peak	309,9 °C	310,1 °C	310,0 °C
Peak (DTG)	82,9 °C	81,0 °C	82,0 °C
Onset	288,6 °C	283,8 °C	286,2 °C
Onset (DTG)	280,6 °C	279,3 °C	280,0 °C
TG	34,44 %	34,66 %	34,55 %
DTG	-8,68 %/min	-7,49 %/min	-8,08 %/min
TG/%,T/°C...100.00	37,9	20,1	29,0
Restmasse	32,54 %	32,82 %	32,68 %
Wendepunkt (DTG)	314,8 °C	319,1 °C	317,0 °C

Tab. 12-8: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Kaseinpulvers aus nicht verkehrsfähiger Milch (TUB) Schwefelsäurefällung

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	341,7 °C	343,8 °C	342,8 °C
End-Temperatur (DTG)	347,5 °C	349,5 °C	348,5 °C
Peak	101,6 °C	89,0 °C	95,3 °C
Peak	190,9 °C	189,0 °C	190,0 °C
Peak	230,6 °C	228,5 °C	229,6 °C
Peak	242,9 °C	242,2 °C	242,6 °C
Peak (DTG)	105,0 °C	82,2 °C	93,6 °C
Onset	291,3 °C	288,0 °C	289,7 °C
Onset (DTG)	273,4 °C	274,6 °C	274,0 °C
TG	34,00 %	34,55 %	34,28 %
DTG	-9,18 %/min	-8,61 %/min	-8,89 %/min
TG/%,T/°C...100.00	19,9	40,5	30,2
Restmasse	32,14 %	32,63 %	32,39 %

Tab. 12-9: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter des Kaseinpulvers aus verkehrsfähiger Milch (Hannover) nach Ultrafiltration

Parameter	Probe I	Probe II	Mittelwert
End-Temperatur	385,3 °C	386,5 °C	385,9 °C
End-Temperatur (DTG)	395,8 °C	393 °C	394,4 °C
Peak	88,4 °C	94,6 °C	91,5 °C
Peak	321,0 °C	323,3 °C	322,2 °C
Peak	307,4 °C	307,2 °C	307,3 °C
Peak	288,4 °C	291,8 °C	290,1 °C
Peak (DTG)	83,0 °C	91,6 °C	87,3 °C
Onset	286,0 °C	287,8 °C	286,9 °C
Onset (DTG)	260,6 °C	261,1 °C	260,9 °C
TG	33,63 %	35,34 %	34,49 %
DTG	-5,48 %/min	-5,55 %/min	-5,52 %/min
TG/%,T/°C...100.00	20,0	74,5	47,3
Restmasse	31,82 %	33,52 %	32,67 %

Tab. 12-10: Zusammenfassung charakteristischer Kurvenparameter der Proben

Parameter	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6
End-Temperatur	341,3 °C	345,4 °C	344,5 °C	351,0 °C	342,8 °C	385,9 °C
End-Temperatur (DTG)	346,2 °C	355,0 °C	357,8 °C	353,1 °C	348,5 °C	394,4 °C
Peak	98,7 °C	84,1 °C	97,9 °C	83,6 °C	95,3 °C	88,8 °C
Peak	186,3 °C	163,2 °C	193,7 °C	185,6 °C	190,0 °C	-
Peak	243,5 °C	240,1 °C	244,5 °C	232,8 °C	242,6 °C	243,9 °C
Peak	307,0 °C	311,8 °C	307,9 °C	310,0 °C	304,9 °C	322,2 °C
Peak (DTG)	99,2 °C	82,2 °C	98,8 °C	82,0 °C	93,6 °C	87,3 °C
Onset	294,7 °C	288,7 °C	294,7 °C	286,2 °C	289,7 °C	286,9 °C

Onset (DTG)	279,0 °C	279,9 °C	277,4 °C	280,0 °C	274,0 °C	260,9 °C
TG	34,49 %	34,76 %	33,72 %	34,55 %	34,28 %	34,49 %
DTG	-9,63 %/min	-7,82 %/min	-8,57 %/min	-8,08 %/min	-8,89 %/min	-5,52 %/min
TG/%,T/°C ...100.00	20,0	20,1	19,9	29,0	30,2	47,3
Restmasse	32,62 %	32,86 %	32,19 %	32,68 %	32,39 %	32,67 %

**Tab. 12-11: Mengenbilanz beim Waschprozess/Waschschritt Teil(1)-
Säurekaseincharge 1**

	Zentrifugenglas mit Halterung in g	Zentrifugenglas mit Halterung und Kasein in g	Zentrifugenglas mit Halterung nach Wasserzugabe in g	Waschwassermenge in g	Beladung g Kasein/ g Wasser
1. Waschen	960	1005,6	1141,2	135,6	
	960	1007,5	1141,2	133,7	
	960	1005,3	1141,2	136,1	
	960	1006,3	1141,6	135,3	
			Σ 540,7		1:2,9
2. Waschen	960	1005,6	1140	134,4	
	960	1001,6	1140	138,4	
	960	1002,1	1140	137,9	
	960	1004,6	1140	135,4	
			Σ 546,1		1:2,9
3. Waschen	960	999,99	1140	140	
	960	998,7	1140	141,3	
	960	1000,8	1140	139,2	
	960	1000,7	1140	139,3	
			Σ 559,9		1:3
4. Waschen	960	997,2	1140	142,8	
	960	998,8	1140	141,2	
	960	998,7	1140	141,3	
	960	999,9	1140	140,1	
			Σ 565,4		1:3
5. Waschen	960	998,0	1140	142,0	
	960	995,9	1140	144,1	
	960	997,1	1140	142,9	
	960	997,1	1140	142,9	
			Σ 571,9		1:3,1
			Σ 2784		1:15

**Tab. 12-12: Mengenbilanz beim Waschprozess/Waschschritt Teil(2)-
Säurekaseincharge 1**

	Zentrifugenglas mit Halterung in g	Zentrifugenglas mit Halterung und Kasein in g	Zentrifugenglas mit Halterung nach Wasserzugabe in g	Waschwasser- menge in g	Beladung g Kasein/ g Wasser
1. Waschen	960	1027,1	1145	118	
	960	1027,1	1145	118	
	960	1027,4	1145	117,6	
	960	1026,6	1145	118,4	
			Σ 472		1:1,8

2. Waschen	960	1024,5	1144,0	119,5	
	960	1023,8	1144,4	120,6	
	960	1019,1	1144,6	125,5	
	960	1023,9	1144,7	120,8	
				Σ 486,4	1:1,8
3. Waschen	960	1019,6	1151	131,4	
	960	1021,5	1151	129,5	
	960	1021,6	1151	129,5	
	960	1020,6	1151	130,4	
				Σ 520,8	1:2
4. Waschen	960	1020,6	1142	121,4	
	960	1021,4	1142	120,6	
	960	1021,7	1142	120,3	
	960	1028,4	1142	113,6	
				Σ 475,9	1:1,8
5. Waschen	960	1025	1144,9	119,9	
	960	1025	1144,9	119,9	
	960	1019	1144,9	125,9	
	960	1022	1144,9	122,9	
				Σ 488,6	1:1,8
				Σ 2443,7	1:9

Tab. 12-13: Proteingehalt der Säurekaseinpräparate im feuchten Produkt

Proben-Nr.	Einwaage in mg	Verbrauch 0,025m H ₂ SO ₄ in ml	Proteingehalt in %	Mittelwert in %
1.1	21,5	4,4	91,4	86,5
1.2	23,9	4,6	86,0	
1.3	29,3	5,7	86,9	
2.1	25,7	4,8	83,4	83,2
2.2	26,1	4,8	82,2	
2.3	27,2	5,1	83,8	
3.1	21,5	4,0	83,1	83,3
3.2	21,2	4,0	84,3	
3.3	32,6	6,0	82,3	
4.1	21,2	4,1	86,4	83,3
4.2	28,4	5,3	83,4	
4.3	48,3	9,0	83,3	
5.1	18,5	3,4	82,1	83,2
5.2	19,9	3,7	83,0	
5.3	27,3	5,1	83,5	
6.1	20,9	4,0	85,5	85,5
6.2	27,0	5,1	84,4	
6.3	23,0	4,4	85,5	
7.1	28,8	5,6	86,8	86,2
7.2	24,0	4,6	85,6	
7.3	35,7	6,9	86,4	
8.1	28,8	5,5	85,3	85,4
8.2	36,6	7,0	85,5	
8.3	25,1	4,8	85,4	
Mittelwert und Standardabweichung				84,5±1,4

Tab. 12-14: Aschegehalt Säurekaseinpräparate im feuchten Produkt

Proben-Nr.	Einwaage Glas leer vor Trocknung in g	Einwaage in g	Rückwaage des Glases mit Asche nach Trocknung in g	Aschegehalt in %	Mittelwert in %
1.1	27,4209	2,4348	27,6368	1,89	1,92
1.2	28,2425	2,5300	28,4619	1,96	
2.1	26,4555	2,8860	26,6844	2,04	2,04
2.2	29,2694	3,0041			
3.1	27,4117	3,0997	27,6379	1,82	1,90
3.2	27,9355	3,1467	28,1656	1,97	
4.1	26,4561	3,0679	26,6820	1,82	1,85
4.2	27,9838	3,0315	28,2102	1,86	
5.1	26,4548	2,6128	26,6578	1,65	1,65
5.2	29,2869	2,2959	29,4850	1,66	
6.1	28,7944	2,9274	29,0018	1,62	1,63
6.2	27,6123	2,9108	27,8201	1,64	
7.1	27,9812	2,7363	28,1884	1,73	1,67
7.2	28,9740	2,5220	29,1747	1,62	
8.1	27,4192	2,7736	27,6256	1,68	1,72
8.2	30,0750	2,3905	30,2771	1,76	
Mittelwert und Standardabweichung				1,80±0,15	

Tab. 12-15: Wassergehalt der Säurekaseinpräparate

Proben-Nr	Einwaage Glas leer vor Trocknung in g	Einwaage in g	Rückwaage des Glases mit Proben nach Trocknung in g	Wassergehalt in %	Mittelwert in %
1.1	40,3379	2,9997	2,7651	7,8	7,8
1.2	47,0123	3,0124	2,776	7,8	
2.1	47,1508	2,9960	2,5438	15,0	15,1
2.2	42,7178	2,9790	2,5291	15,1	
3.1	46,6722	3,1100	2,7007	13,1	13,1
3.2	41,8871	3,0704	2,6674	13,1	
4.1	42,7438	3,0980	2,7520	11,1	11,1
4.2	44,8265	3,0010	2,6666	11,1	
5.1	46,2387	3,0342	2,6597	12,3	12,3
5.2	43,4351	3,1135	2,7299	12,3	
6.1	47,0076	2,9551	2,6582	10,0	10,0
6.2	56,2165	2,9711	2,6721	10,0	
7.1	40,3350	3,0316	2,7691	8,6	8,7
7.2	42,5386	3,0855	2,8165	8,7	

8.1	43,0853	3,0019	2,7099	9,7	9,7
8.2	42,7404	3,1821	2,8719	9,7	
Mittelwert und Standardabweichung				11,0±2,4	

Tab. 12-16: Fettgehalt der Säurekaseinpräparate

Proben-Nr.	Einwaage Glas vor Trocknung in g	Einwaage in g	Rückwaage der Proben nach Extraktion und Trocknung in g	Fettgehalt in %	Mittelwert in %
1.1	99,8788	1,5490	99,9130	2,20	2,10
1.2	110,2132	1,5151	110,2430	1,97	
2.1	110,4048	1,5511	110,4124	0,49	0,63
2.2	96,2086	1,5367	96,2204	0,76	
3.1	98,4206	1,6206	98,4404	1,22	1,28
3.2	99,6560	1,5000	99,6760	1,33	
4.1	100,0718	1,5089	100,1024	2,00	1,99
4.2	107,3318	1,5025	107,3616	1,98	
5.1	96,6716	1,5639	96,6930	1,36	1,42
5.2	110,1432	1,5752	110,1668	1,49	
6.1	99,8570	1,5228	99,8744	1,14	1,11
6.2	99,6678	1,5045	99,6840	1,08	
7.1	110,2998	1,5222	110,3100	0,67	0,67
7.2	96,1970	1,5942	96,2078	0,67	
8.1	98,6784	1,6132	98,7090	1,89	1,83
8.2	107,3338	1,5071	107,3606	1,78	
Mittelwert und Standardabweichung				1,38±0,57	