

Fermentation von Milch zu gesäuerten Milcherzeugnissen und Käse

Abbau der Milchproteine noch nicht völlig geklärt / Von G. Kielwein und J. Baatz

Vor etwa 10 000 Jahren haben Menschen begonnen, die Milch von Tieren als Nahrungsmittel zu verwenden. Sicherlich dürften in den wärmeren Ländern die ersten Milchtrinker schon bald die Erfahrung gemacht haben, daß Milch beim Lagern säuert, und dann – besonders nach dem Abfließen der Molke – zu einem haltbaren Produkt wird. Aber nicht nur die Haltbarkeit der gesäuerten Milchprodukte, sondern auch ihr Wohlgeschmack waren Anlaß, daß sich die Kunst der Milchfermentation und damit die der Herstellung von Sauermilch und Käse bis zu ihrem heutigen hohen Stand weiterentwickeln konnte. Das Ergebnis der jahrtausendealten Erfahrungen ist eine Vielfalt unterschiedlicher Erzeugnisse (s. Tabelle 1).

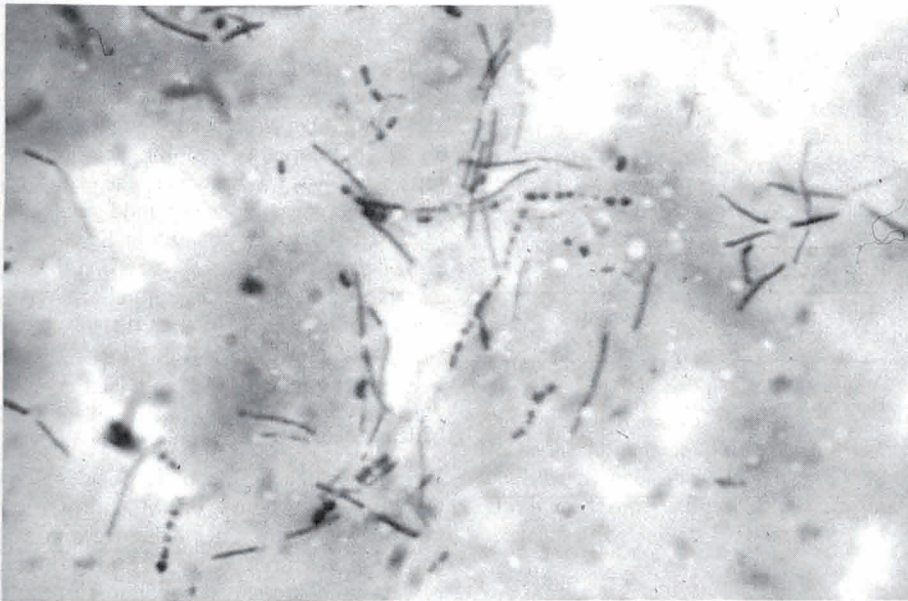


Bild 1: Milchsäurebakterien in Käse (Lactobazillen und Streptokokken).

Nachdem Berzelius und Justus von Liebig die Milchsäurebildung noch auf rein chemische Vorgänge zurückführten, erkannte Cagniard-Latour um 1836, daß die Bierhefe aus sich vermehrenden Zellen besteht. Louis Pasteur führte dann den endgültigen Beweis, daß auch die Bildung von Milchsäure auf einer mikrobiellen Aktivität beruht. Mit der Reinzüchtung der Milch-Streptokokken (*Streptococcus lactis*, s. Bild 1) durch Lister im Jahre 1873 begann dann die wissenschaftliche Bearbeitung der an der Fermentation von Milch beteiligten Mikroorganismen. Diese führte auch zur Bereitstellung von Reinkulturen (Starterkulturen, Säurewecker und Käseinkulturen). Dadurch konnte die früher mehr dem Zufall überlassene Technologie der Sauermilch- und Käseherstellung entscheidend verbessert werden.

Lange Zeit stand bei der technologischen und auch diätetischen Bewertung von fermentierten Milcherzeugnissen und Käse die mikrobielle Umsetzung von Lactose (Milchzucker) zu Milchsäure oder auch zu anderen organischen Säuren im Vordergrund. Erst spät wurde die für die Aroma-

bildung der Käse wichtige mikrobielle Umsetzung der MilCHFette erforscht. Die Vorgänge bei der Umsetzung der Milchproteine in Sauermilcherzeugnissen und besonders im Käse sind bis zum heutigen Tage noch nicht vollständig aufgeklärt. Erst moderne Untersuchungstechniken ermöglichten Einblicke in die außerordentlich komplizierten Zusammenhänge. Hierbei muß den bei der Proteolyse (Eiweißabbau) freigesetzten Peptiden besondere Beachtung geschenkt werden, da diese zum einen an der Steuerung der mikrobiellen Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen beteiligt und zum anderen in diätetischer Hinsicht von besonderem Interesse sind. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß durch mikrobielle Proteolyse aus dem β -Casein der Kuhmilch Peptide mit morphinartiger Wirkung abgespalten werden können (Casomorphine – s. die Gießener Untersuchung von U. Hamel, G. Kielwein und H. Teschemacher 1985).

Fermentation der Milch

An der mikrobiellen Fermentation der Milch sind zahlreiche Mikroorganismen be-

teiligt: Bakterien, Hefen und Schimmelpilze. Im Vordergrund stehen jedoch die Milchsäurebakterien: Streptokokken, Leuconostoc und Laktobazillen.

Die Biochemie der Umsetzung von Lactose zu Milchsäure ist aufgeklärt. Die Milchsäurestreptokokken und auch die Laktobazillen schleusen über das Phosphotransferase-System Lactose in die Bakterienzelle ein, wobei die Lactose während des Transportes unter Mitwirkung von Phosphoenolpyruvat, eines Carrierproteins (HP) und der substratspezifischen Enzyme I und II phosphoryliert wird. In der Bakterienzelle wird dann die phosphorylierte Lactose in Glucose und Galactose 6-Phosphat gespalten. Die Glucose wird hauptsächlich über den Hexose-Diphosphatweg und die Galactose über den D-Tagatose-6-Phosphatweg zu Pyruvat umgesetzt. Eine extrazelluläre Spaltung der Lactose unter Mitwirkung von β -Galactosidase erfolgt bei den meisten Milchsäurebakterien nur in geringem Umfang; bei einigen – z. B. *Streptococcus thermophilus* – wird jedoch die Lactose ausschließlich extrazellulär in Glucose und Galactose gespalten. Die extrazellulär abgespaltene Glucose wird dann nach Aufnahme in der Bakterienzelle intrazellulär über den Fructose-Diphosphatweg zu Pyruvat abgebaut, während die freigesetzte Galactose von diesen Bakterien nicht umgesetzt werden kann. Da *Streptococcus thermophilus* bei der Herstellung von Joghurt Verwendung findet, enthält Joghurt zwischen 0,2–1,3% freie Galactose, jedoch höchstens Spuren von Glucose.

Was enthält Joghurt?

Obwohl die proteolytische Aktivität der Milchsäurebakterien Voraussetzung für ihre Vermehrung und die Milchsäurebildung ist, ist der proteolytische Abbau von Milchproteinen in Sauermilcherzeugnissen durch die Milchsäure nicht offensichtlich und gibt sich bei Käse erst im fortgeschrittenen Reifungszustand zu erkennen. Milchsäurebakterien sind in ihrem Stoffwechsel auf bestimmte, für sie essentielle Aminosäuren angewiesen. Das Spektrum der für Mikro-

Tabelle 1: Einige fermentierte Milcherzeugnisse

Bezeichnung	Herkunft	
Dickmilch	Weltweit	Mild gesäuerte Milch
Saure Sahne	Weltweit	Mild gesäuert; mindestens 10% Fett Schmand 24%, Crème fraîche >30%
Buttermilch	Weltweit	Mild gesäuert; auch nachträglich gesäuert
Joghurt	Ursprünglich Balkan	Stichfest oder gerührt; auch mit Zusätzen: z.B. Früchten
Kefir	Ursprünglich Kaukasus	Enthält Kohlensäure und 0,02% Ethanol
Kumys	Asien, Rußland	Aus Stutenmilch; enthält 2–3% Ethanol
Taettermilch	Skandinavien	Langgereifte schleimige Sauermilch (Sc. cremoris)
Kwas	UdSSR	Aus Molke mit Zusatz von Brotextrakt
Mazun	Armenien, Georgien	Joghurtähnlich aus Büffel-, Kuh-, Schaf- oder Ziegenmilch
Villi	Finnland	Leicht säuerlich mit dünnem Schimmelbesatz
Ayran	Türkei	Mit Wasser und Kochsalz versetztes Trinkjoghurt
Lebben	Nordafrika, Kleinasien	Enthält Ethanol (Hefen)
Doogh	Iran	Lang gereift, joghurtähnlich, mit Pfefferminze- und Sellerieblättern
Yakult	Japan	Hergestellt aus Magermilch mit Zusatz von Glucose, Glycin und Algenextrakt
Mursik	Kenia	Reift in Flaschen, die mit speziellen Kräutern behandelt wurden

Tabelle 2: Lokalisation der am Abbau von Milchproteinen zu freien Aminosäuren beteiligten Enzyme der Milchsäurebakterien

Extrazelluläre Proteolyse		Intrazelluläre Proteolyse	
In der Milch	An die Zellwand gebunden	In der Zellmembran	Zellinneres
Proteinasen	Proteinasen	Aminopeptidasen	Dipeptidasen
Peptidasen	Tripeptidasen	Dipeptidasen	Tripeptidasen
	Dipeptidasen	Endopeptidasen	Aminopeptidasen
		Pyrrolidon-Carboxypeptidasen	Carboxypeptidasen

Tabelle 3: Der mittlere Gehalt an freien Protein-Aminosäuren in Käse – Angaben in mg/100 g

Käsesorte	Freie Aminosäuren	Anteil essentielle Aminosäuren %	Käsesorte	Freie Aminosäuren	Anteil essentielle Aminosäuren %
Speisequark	26,4	48,9	Edelpilzkäse	1984,7	60,4
Rahmfrischkäse	35,3	49,3	Roquefort	3772,0	60,7
Handkäse	532,9	67,2	Gouda – jung	1511,9	55,2
Schmelzkäse	333,5	61,6	Gouda – mittel	3062,7	52,5
Weichkäse mit Schimmel	840,2	47,6	Gouda – alt	3238,9	54,7
Weichkäse mit Schmiere	1099,4	72,8	Edamer	1717,2	53,5
Ziegenkäse	567,0	44,6	Emmentaler	2738,9	55,3
Halbfeste Schnittkäse	1412,5	54,2	Parmesan	7840,2	55,4

Tabelle 4: Mittlere Konzentrationen an Protein- und Peptid-gebundenen sowie an freien Aminosäuren in Rohmilch, Joghurt und Roquefort-Käse

	Protein-gebundene Aminosäuren		Peptid-gebundene Aminosäuren		Freie Aminosäuren	
	g/100 g	Anteil essentieller Aminosäuren %	g/100 g	Anteil essentieller Aminosäuren %	g/100 g	Anteil essentieller Aminosäuren %
Rohmilch	2,919	41,6	0,036	59,1	0,005	37,9
Joghurt	3,635	41,2	0,068	36,3	0,025	28,9
Roquefort	22,994	41,0	3,763	32,8	3,972	60,7

ben essentiellen Aminosäuren ist jedoch nicht identisch mit der Vielfalt der für den Menschen essentiellen Aminosäuren. Der geringe Gehalt an freien Aminosäuren und an Oligopeptiden in der frischen Milch reicht für ein befriedigendes Wachstum der Milchsäurebakterien nicht aus. Daher ist die Freisetzung weiterer Aminosäuren und Oligopeptide aus den Milchproteinen notwendig. So wird das Wachstum von *Streptococcus thermophilus* und die damit verbundene starke Milchsäurebildung bei der Joghurtherstellung durch intensive proteolytische Aktivität von *Lactobacillus bulgaricus* ermöglicht. Verwendet man jedoch an Stelle von *Lactobacillus bulgaricus* den nur geringgradig proteolytisch aktiven *Lactobacillus acidophilus*, dann tritt eine verminderte Säuerung ein, da das Angebot an verfügbaren Aminosäuren und Oligopeptiden für *Sc. thermophilus* und *Lb. acidophilus* vermindert ist. Verbraucher, die das *Lb. acidophilus* enthaltende und mild gesäuerte Joghurt bevorzugen, müssen in Kauf nehmen, daß auch das Angebot an den direkt resorbierbaren Aminosäuren und an Peptiden vermindert, das Joghurt also weniger gut verdaulich ist.

Milchsäurebakterien

Der grundsätzliche Mechanismus des proteolytischen Abbaus von Milchproteinen und die Verwertung der dabei freiwerdenden Aminosäuren und Peptide durch Milchsäurebakterien ist bekannt. Für viele Arten der Milchsäurebakterien sind jedoch die Einzelheiten des Proteinstoffwechsels noch nicht aufgeklärt.

Milchsäurebakterien können wie auch andere Bakterien aktiv Aminosäuren und Peptide mit einem Molekulargewicht von unter 1500 durch die Zellmembran aufnehmen. Der Mechanismus für die Aufnahme der Peptide ist bei den einzelnen Milchsäurebakterien unterschiedlich. So kann *Sc. lactis* Peptide sowohl über zellwandgebundene Peptidasen verwerten als auch direkt in das Zellinnere transportieren. *Sc. thermophilus* zerlegt durch an der Zelloberfläche gebundene Peptidase größere Peptide in kleinere, direkt resorbierbare.

Während der letzten 10 Jahre konnten detaillierte Studien einige Einblicke in den Komplex der proteolytischen Fähigkeiten der Milchsäurebakterien gewähren. Allerdings gibt es hier noch viele offene Fragen und auch einige widersprüchliche Aussagen. Die Milchsäurebakterien verfügen über ein weites Spektrum von Proteinasen und Peptidasen mit sehr unterschiedlicher Spezifität (s. Tabelle 2). Die Proteinasen werden entweder extrazellulär abgegeben oder sie sind an die Zellwand gebunden. Di- und Tripeptidasen sowie Amino-peptidasen haben ihren Sitz auf und in der Zellwand

sowie in der Zellmembran. Im Innern der Zellen können Peptide durch zahlreiche, im einzelnen nur schwer zu differenzierende cytoplasmatische Peptidasen gespalten werden.

Steuerung der Käsereifung

Die proteolytische Aktivität der Milchsäurebakterien dient primär der Versorgung der Bakterien mit Aminosäuren. Da die Quantität und Qualität des proteolytischen Abbaus von Milchproteinen und damit das Angebot an freien Aminosäuren und Oligopeptiden in der Milch nicht nur von den Bakterienarten, sondern auch von zahlreichen anderen Faktoren abhängig ist, besteht eine kaum überschaubare gegenseitige Beeinflussung innerhalb der Bakterienflora fermentierter Milcherzeugnisse und besonders Käse. Eine Aufklärung der Zusammenhänge ist dringend erforderlich, um die Reifungsvorgänge besser steuern und damit Fehlprodukte verhindern zu können. Aber auch in ernährungsphysiologischer Sicht ist die Erforschung der proteolytischen Aktivität der Milchsäurebakterien vordringlich, denn sie ist für die Größenordnung und das Muster der leicht resorbierbaren freien Aminosäuren und Peptide verantwortlich.

Bedeutung der Peptide

Während ältere Angaben in der Literatur zum Gehalt der Sauermilcherzeugnisse und der Käse an freien Aminosäuren sich aus methodischen Gründen oft nur auf die Untersuchung eines einzelnen Käses beschränkten, ist es heute methodisch möglich, Aussagen über den Gehalt an freien Aminosäuren in Käse auf der Grundlage umfangreicher Untersuchungen und auch unter Berücksichtigung des Reifungsstadiums zu machen. Ebenfalls aus methodischen Gründen sind bisher kaum Untersuchungen zum Gehalt der Milch und besonders der fermentierten Milcherzeugnisse und der Käse an Peptiden durchgeführt worden. Wir konnten in den letzten Jahren hierzu erstmals Untersuchungsergebnisse veröffentlichen (s. Tabellen 3 und 4). Hinsichtlich des Peptidgehaltes der Milch und der Erzeugnisse aus Milch sollten jedoch nicht nur summierte Angaben gemacht werden, sondern es sollten auch die vorkommenden Peptide charakterisiert werden. Mittels der HPLC (Hochauflösende Flüssigkeitschromatographie, ein Verfahren der Eiweißauftrennung – Reversed phase) steht uns eine Möglichkeit zur Verfügung, die Peptidfraktionen der Milch und der Erzeugnisse aus Milch aufzutrennen und möglichst auch die einzelnen Peptide darzustellen (s. Bild 2–4). Solche Untersuchungen müssen nicht nur den Nährwert der Peptide berücksichtigen, sondern können auch zur Abklärung beitragen, inwieweit einzelnen

Peptiden besondere biologische Wirkungen zuzuschreiben sind. Sofern den fermentierten Milcherzeugnissen, wie etwa dem aus Stutenmilch hergestellten Kумыß, eine besondere gesundheitliche Wirkung zukommen sollte, was vielfach behauptet, bisher aber weder bewiesen noch widerlegt wurde, spricht vieles dafür, daß den Peptiden hier eine entscheidende Bedeutung zukommt.

Weitere Forschungen nötig

Zusammenfassend ist festzustellen, die ernährungsphysiologische und diätetische Bedeutung der fermentierten Milcherzeugnisse liegt in ihrem hohen Gehalt an leicht resorbierbaren freien Aminosäuren und Peptiden sowie in der besseren Verdaulichkeit der von den Milchsäurebakterien aufgeschlossenen Proteine. Darüber hinaus aktiviert die Milchsäure die Verdauungstätigkeit und schützt vor bakteriellen Infektionen.

Auch Käse ist eine leicht verdauliche Quelle für Aminosäuren, wobei besonders bei den länger gereiften Käsen in beträchtlicher Menge freie Aminosäuren mit einem hohen Anteil an essentiellen Aminosäuren zur Verfügung stehen (s. auch Tabelle 3). Die immer wieder auf der Grundlage von Beobachtungen behaupteten, bisher jedoch nicht bewiesenen besonderen Wirkungen einzelner fermentierter Milcherzeugnisse bedürfen dringend der Erforschung.

JUSTUS-LIEBIG-



Bild 2: Peptide im Ultrafiltrat aus Joghurt HPLC-Chromatogramm.

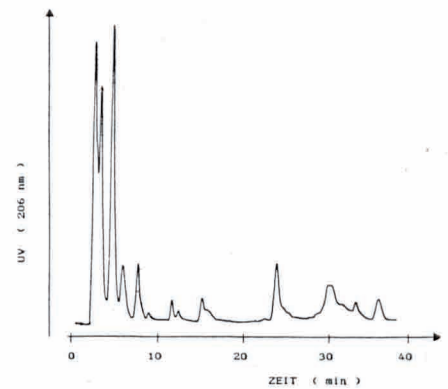


Bild 3: Peptide im Ultrafiltrat eines wäßrigen Auszuges aus Parmesankäse (1:10) HPLC-Chromatogramm.

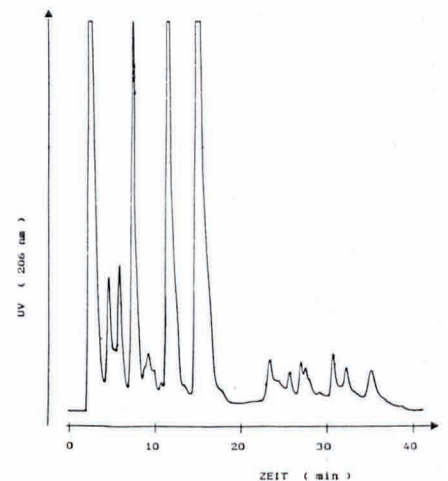


Bild 4: Peptide im Ultrafiltrat aus Kумыß HPLC-Chromatogramm.

