

# Functionaliteit en structuur van melk

De ene melk is de andere niet; maar om het onderscheid te kunnen maken is een dieper inzicht in de structuur van melk nodig; tot op het moleculaire niveau.

R. van Wijk

## Inleiding

Melk is een uitscheiding van de melkklier. De uitscheiding vindt plaats bij het moeder(dier) onder omstandigheden die verband houden met de belangrijke fase in de voortplanting waarin het pas geboren jonge wezen moet adapteren aan een nieuwe buitenwereld. De natuur heeft voor de overgangperiode na de geboorte een 'natuurlijk' programma waarbij er een afstemming is tussen de ontwikkeling van het jonge wezen en van de moeder. De productie en de samenstelling van de melk variëren hierdoor in de tijd.

Wanneer wij als mensen over melk spreken is die melk al ver verwijderd van de melk in het natuurlijke voedingsprogramma. De melk, die meestal van een koe afkomstig is, heeft immers al vele bewerkingen ondergaan. Niet alleen is deze melk vaak al geruime tijd onder zuurstofrijke omstandigheden en bij lagere temperatuur bewaard, maar deze melk heeft ook een aantal bewerkingen ondergaan zoals pasteurisatie, sterilisatie, of de omvorming tot een melkpoeder, om zo geen gevaar voor de gezondheid te betekenen. De functionele betekenis van deze bewerkte melk wordt over het algemeen maar in zeer beperkte mate vergeleken met de functionaliteit van de natuurlijke melk.

De vergelijking beperkt zich vaak tot het voorkomen in melk van bepaalde ingrediënten waarvan dan de concentratie zoals van eiwitten of van calcium, als maatgevend wordt beschouwd voor het functioneren van melk als voedingsmiddel. Echter, melk is

niet een waterige substantie waarin eenvoudigweg een groot aantal ingrediënten is opgelost. Deze ingrediënten hingen oorspronkelijk met elkaar samen in een structuur die kan worden beschouwd als een levende substantie. En als levende substantie ook zeker was ingesteld op een optimaal gebruik in het maag-darmsysteem van een jong wezen. Wat er van die levende substantie is overgebleven en wat dat betekent voor een optimaal gebruik is in feite een vraag waar nog lang geen afdoende antwoord op te geven valt. Het is goed om deze situatie te signaleren. Dit artikel gaat daartoe in op een aantal natuurlijke en onnatuurlijke aspecten van melk.

## Biologische aspecten van melkproductie

Melkklieren behoren tot de grootste en meest merkwuurlijke secretie (uitscheidings) organen. Ze vormen één van de kenmerken met behulp waarvan een dier wordt gerangschikt onder de zoogdieren. Ze spelen ook op vele andere manieren een belangrijke rol: niet alleen voor het voeden van jongen of als aantrekking van de andere sekse, maar ook als basis voor een grote industrie – de zuivelindustrie – en als groeigebied voor enkele van de meest algemene vormen van kanker. De uitscheiding van melk vindt plaats door bepaalde cellen, die net als vele secretiecellen, zoals de cellen voor de uitscheiding van zweet, traanvocht en speeksel, hun oorsprong vinden in de embryonale epidermis. Deze epider-

male cellen zijn in de loop van de ontwikkeling als ingroeisels van de epidermis ontwikkeld tot diepliggende klieren. Van de vele klieren die zich zo hebben ontwikkeld, heeft de melkklier een wel heel bijzondere eigenschap. De melkklier laat namelijk op een dramatische wijze zien dat ontwikkelingsprocessen zich voortdurend in het volwassen lichaam kunnen afspelen. Deze klier toont ook hoe celdood door apoptose ervoor zorgt dat een ontwikkeling weer in omgekeerde richting kan plaats vinden.

De productie van melk moet worden aangezet wanneer de baby is geboren en worden beëindigd wanneer de baby wordt ontspeend. Een volwassen melkklier 'in ruste' bestaat uit een vertakt systeem van buisjes die zijn ingebed in het vette deel van het losse bindweefsel. Deze buisjes worden begrensd door een epitheel dat ondermeer een sub-populatie van melk-stamcellen omvat. De vroegste stap op weg naar de melkproductie wordt verzorgd door hormonen die tijdens de zwangerschap van de toekomstige moeder gaan circuleren en die ervoor zorgen dat de kliercellen gaan delen. Daardoor wordt het aantal cellen enkele tientallen malen groter. De uiteinden van de buisjes groeien dan uit, vertakken zich en vormen verwijdingen of alveoli die de uitscheidingscellen bevatten. De celdeling in de groeiende melkklier wordt niet alleen door hormonen gereguleerd. Ook bepaalde plaatselijke weefselfactoren (veelal afkomstig uit het bindweefsel waarin de klier ligt ingebed) hebben een signaalfunctie. Een niet-optimaal functioneren van het bindweefsel, bijvoorbeeld als gevolg van ziekte, heeft dan ook een onmiskenbare invloed op de ontwikkeling en functionaliteit van de melkklieren.

De melkproductie in deze cellen begint pas wanneer deze cellen worden gestimuleerd door een combinatie van verschillende hormonen die in de moeder gaan circuleren bij de geboorte van de baby. De volgende cruciale stap is dat de melk uit de klieren komt zetten. Dit gebeurt als volgt. Het zuigen vormt een stimulus voor cellen van de hypo-

thalamus om het hormoon oxytocine te produceren, dat vervolgens via de bloedbaan kan inwerken op zogenaamde myoepitheliale cellen. De oorsprong van deze spier-achtige cellen is gelegen in dezelfde epitheliale precursor celpopulatie als de secretie cellen van de borstklier. De myoepitheliale cellen hebben lange dunne uilopers die om de alveoli heen lopen. Als respons op de oxytocine trekken deze uitlopers samen waardoor als het ware de melk uit de alveoli in de buisjes wordt geperst. Een enkel type van secretoire alveolaire cel produceert zowel de melkeiwitten als het melkvet. De eiwitten worden op de normale wijze door middel van exocytose uitgescheiden. Het vet, daarentegen komt uit de cel vrij als kleine druppeltjes die zijn omgeven door een plasmamembraan.

Wanneer de baby in de late lactatiefase wordt ontspeend en het zogen langzamerhand stopt, sterven de uitscheidingscellen geleidelijk door het proces van apoptose. Door dit gereguleerde proces van celdood verdwijnen de meeste alveoli weer. Macrofagen ruimen dan snel de dode cellen op en de klier keert weer terug tot de rusttoestand. Het stoppen van de lactatie vindt min of meer plotsklaps plaats. Het is niet zozeer een hormonaal proces maar wordt meer geïnduceerd door de opgehoopte melk.

Melk wordt aangeduid als een poly-fasisch uitscheidingsproduct dat bij de koe gemiddeld 3.9% vet, 3.3% eiwit, 5.0% lactose, en 0.7% mineralen bevat. De melkeiwitten omvatten verschillende soorten caseïnen,  $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -lactalbumine, serum albumine, lactotransferrine, immunoglobulines, en  $\beta_2$ -microglobuline. De meeste aandacht zal hierna uitgaan naar de eiwitten die het meest in de melk voorkomen: caseïnen,  $\beta$ -lactoglobuline en  $\alpha$ -lactalbumine. Vanwege de fysiologische betekenis zal ook aan lactotransferrine enige aandacht worden besteed. Verder bevat de melk een groot aantal melkzouten. De melkzouten omvatten minerale en organische zouten. De belangrijkste kationen zijn

natrium, kalium, calcium en magnesium. De belangrijkste anionen zijn fosfaat, citraat, chloride, carbonaat en sulfaat.

### Caseïnen, de meest voorkomende melk-eiwitten

Caseïnen zijn fosfoproteïnen, dus eiwitten met een fosfaatgroep. Wanneer rauwe melk bij kamertemperatuur wordt aangezuurd slaan bij pH 4.6 de caseïnen als een precipitaat neer. Ze omvatten ongeveer 80% van de totale eiwitinhoud van de melk. Het precipitaat van caseïnen bestaat niet uit een enkel type caseïne eiwit. Er zijn meerdere typen en de belangrijkste caseïne soorten zijn het viertal:  $\alpha_{s1}$ -caseïne,  $\alpha_{s2}$ -caseïne,  $\beta$ -caseïne en  $\kappa$ -caseïne. De chemische structuur van de verschillende caseïnen is uitermate goed bekend. Mede dank zij deze bekendheid met hoe in het eiwitmolecuul de verschillende aminozuren zijn gerangschikt, krijgt men een goed beeld van de plaatsen waar positieve en negatieve ladingen op de moleculen voorkomen en kan men ook inschatten welke vorm de eiwitten onder bepaalde omstandigheden, bijvoorbeeld bij een bepaalde pH of in aanwezigheid van bepaalde zouten, kunnen aannemen. De vier caseïne soorten hebben een grote gelijkenis. Het molecuulgewicht, het aantal aminozuren waaruit een eiwitketen is opgebouwd en de hoeveelheid van ieder type van caseïne in koemelk zijn genoemd in tabel 1.

De caseïnen vertonen ook de nodige verschillen,

met name in het voorkomen van bepaalde aminozuren. Terwijl in  $\alpha_{s1}$ -caseïne de vier meest voorkomende aminozuren glutaminezuur (25), proline (17), leucine (17) en glutamine (14) zijn, zijn dit bij  $\alpha_{s2}$ -caseïne de aminozuren glutaminezuur (25), lysine (24), threonine (15) en glutamine (15). Bij  $\beta$ -caseïne zijn het proline (35), glutamine (22), leucine (22) en valine (19), en bij  $\kappa$ -caseïne zijn het proline (20), alanine (15), glutamine (14) en threonine (14). De getallen tussen haakjes geven daarbij het aantal aminozuren van de betreffende soort in het eiwitmolecuul aan.

Alle caseïnen bevatten plaatsen in het eiwitmolecuul waar fosforylatie kan optreden. Dit is een cruciale eigenschap voor de structuur van de melk. Deze plaatsen voor fosforylatie van het eiwitmolecuul hebben een speciale eigenaardigheid. Ze bestaan uit een speciale volgorde van 3 naast elkaar gelegen aminozuren die schematisch kunnen worden aangeduid als – Ser – X – A – . Daarbij staat Ser voor de serine die kan worden gefosforyleerd, op de X plaats kan ieder aminozuur voorkomen, terwijl op de A plaats beslist glutaminezuur of serine dat is gefosforyleerd, moeten voorkomen. In de  $\alpha$ - en  $\beta$ -caseïnen liggen deze kenmerkende gebiedjes allemaal bij elkaar aan een bepaald uiteinde (het amino-uiteinde) van het eiwitmolecuul. Bij  $\kappa$ -caseïne liggen ze niet dicht bij elkaar maar de enkele serine residuen die voor fosforylatie in aanmerking komen liggen hier aan het carboxyl uiteinde van het eiwitmolecuul. De beide  $\alpha$ -caseïnen heb-

Tabel 1

### Caseïnen in koemelk

	$\alpha_{s1}$ -caseïne	$\alpha_{s2}$ -caseïne	$\beta$ -caseïne	$\kappa$ -caseïne
Totaal aminozuren	199	207	209	169
Molecuul gewicht	23.614	24.350	23.982	19.023
% van magere melkeiwit	34-40	11-15	25-35	8-15
g/l magere melk	12-15	3-4	9-11	2-4

Data van Wong et al [1996]

ben de hoogste inhoud aan fosfaat en zijn daarom uiterst gevoelig voor calcium. Beide  $\alpha$ -caseïnen vertonen daardoor een zeer sterke associatie en precipiteren gemakkelijk bij een lagere pH van 4-5, of met veel calcium bij neutrale pH. Deze caseïnen worden door 6mM  $\text{Ca}^{++}$  geprecipiteerd, ongeacht de temperatuur.

$\beta$ -Caseïne bevat een hoeveelheid fosfaat die tussen die van de  $\alpha$ - en  $\kappa$ -caseïnen in ligt. Daardoor is dit caseïne minder maar toch nog redelijk gevoelig voor calcium precipitatie. In tegenstelling tot de voorgaande caseïnen is de associatie van  $\beta$ -caseïne temperatuur afhankelijk. Bij 4°C komen de moleculen los van elkaar voor, terwijl bij een hogere temperatuur van meer dan 8°C er aanzienlijke associatie gaat optreden en gemakkelijker een precipitatie met lage pH of met calcium bij neutrale pH optreedt.

De samenstelling van de caseïnen in melk is sterk afhankelijk van de soort melk. Zo bevat bijvoorbeeld menselijke melk slechts zeer weinig  $\delta$ -caseïnen. Melk van de geit varieert zeer sterk met het ras, terwijl relatief grote hoeveelheden van alle caseïnen voorkomen in melk van het schaap. Tabel 2 geeft een overzicht van de concentraties van de caseïne bestanddelen in verschillende melktypen.

### Micellaire structuur van melk

Een belangrijk element in de melkstructuur is de micel (moleculaire holle bolstructuur). De caseïnen

bestaan in de vorm van grote colloïdale micellen met calcium fosfaat. Deze micellen binden veel water, hun hydratatiegraad is ongeveer 3.7 g water per gram caseïne eiwit met een hoog waterrijk volume van ongeveer 4.4 ml per gram eiwit. De grootte van de micellen loopt van 500 tot 3000 Angstrom, waarbij het maximum van de verdeling bij ongeveer 800 Angstrom is gelegen. De micellen zijn voor 93% uit caseïnen samengesteld, waarbij de verhouding tussen de verschillende soorten  $\alpha_{s1}$ -caseïne :  $\alpha_{s2}$ -caseïne :  $\beta$ -caseïne :  $\kappa$ -caseïne gelijk is aan 3 : 1 : 3 : 1. De overgebleven 7 procent bestaat uit anorganisch calcium (2.8%), fosfaat (2.9%) en citraat (0.4%) en kleine hoeveelheden magnesium, natrium, en kalium.

Verskillende modellen zijn voorgesteld om de bekende eigenschappen van caseïne micellen te verklaren. Aan de basis van het model dat meer en meer wordt geaccepteerd staat het model dat werd voorgesteld door Waugh en Talbot in 1971. Volgens dit model is een caseïne micel te beschouwen als een kern die bestaat uit een mengsel van  $\alpha_s$ - en  $\beta$ -caseïnen die worden gestabiliseerd door een oppervlaktebedekking met behulp van  $\kappa$ -caseïnen. Het bleek dat de hoeveelheid en verhouding waarmee de  $\alpha$ -caseïnen in de micel kunnen worden opgebouwd niet kritisch is. Dat betekent dat de  $\alpha$ -caseïnen minder belangrijk zijn voor de micelvorming. Echter, er bestaat een lineair verband tussen het micel oppervlak en de concentratie van  $\kappa$ -caseïne. De  $\kappa$ -caseïne eiwitten steken uit in de oplossingen

Tabel 2

### Gemiddelde concentratie (g/l) van de caseïne bestanddelen in verschillende melktypen

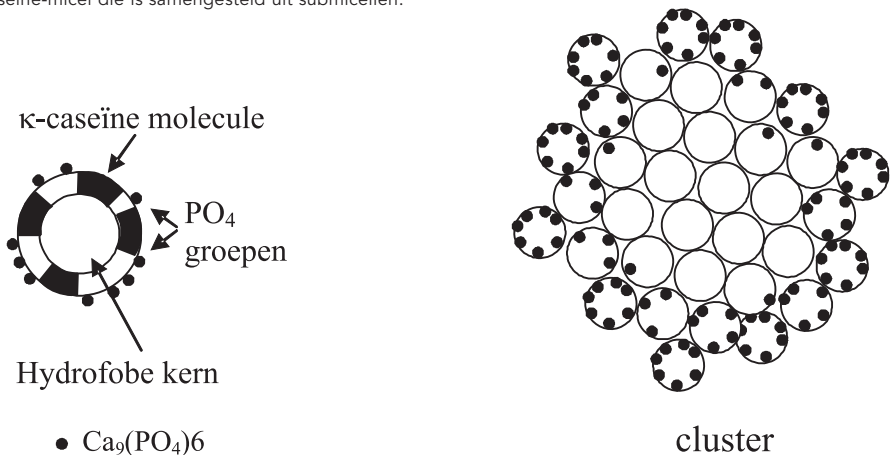
melk type >	mens	koe	schaap	geit
<b>caseïne</b>				
$\alpha_s$ -caseïne	<0.3	14	25	2 of 9
$\beta$ -caseïne	1.8	11	25	18
$\kappa$ -caseïne	0.6	4	10	4

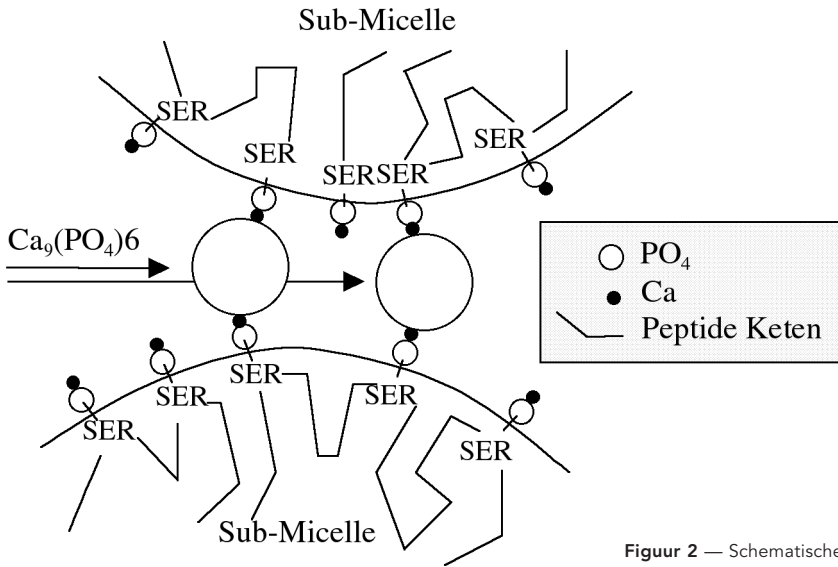
als een laag van flexibele haren op het micel oppervlak en vormen zo een interactie met water. Een verdere uitbreiding van het model bestond uit de veronderstelling dat de micel in werkelijkheid uit een groot aantal kleinere submicellen zou bestaan. Deze submicellen bestaan weer uit  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\kappa$ -caseïnen die op eenzelfde manier in de submicellen voorkomen als daarvoor voor de micel werd aangenomen. Een volgende ontwikkeling in kennis was de veronderstelling dat een micel bestaat uit submicellen waarin de hydrofobe (water-afstotende) gebieden van de caseïne moleculen zijn gericht naar de binnenzijde van de submicel en de hydrofiele gebieden naar de buitenzijde. Echter,  $\kappa$ -caseïnen, als gevolg van hun zelf-associatie, zouden beperkt voorkomen in een bepaald gebied van het oppervlak van de submicel. Daardoor komen er op het oppervlak van de submicel twee gescheiden gebieden voor: een hydrofiele eiwitgedeelte van geassocieerde  $\kappa$ -caseïnen en een fosfaatrijk gebied van de andere caseïnen. De fosfaatgroepen op het oppervlak gaan een interactie aan met calcium in de vorm van calcium fosfaatbruggen. Bij het opbouwen van de micel, zijn dan de hydrofobe interacties

tussen de submicel-oppervlakken georiënteerd op zo'n manier dat ze naar de binnenzijde van de micel zijn gekeerd. Op deze manier beschikt de resulterende micel over een hoog-hydrofiele oppervlak dat rijk is aan  $\kappa$ -caseïnen. De grootte van de micel blijft zo gedicteerd door de relatieve concentratie van  $\kappa$ -caseïne in de submicel (Slattery, 1976). Een nog latere modificatie van dit model gaat uit van een binding tussen submicellen die plaats vindt op grond van electrostatische interacties middels colloïdaal calcium-fosfaat in plaats van door hydrofobe interacties (Schmidt, 1982). De binding van submicellen vindt plaats tussen de negatief geladen ester fosfaatgroepen van het caseïne en de colloïdale calcium fosfaten in de vorm van  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$  clusters van tricalciumfosfaat,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , dat positief is geladen door de adsorptie van twee calciumionen. Omdat  $\kappa$ -caseïne bijna fosfaat-vrij is zijn de submicellen met een lage  $\kappa$ -caseïne inhoud verstopt in het binnenste van de micelstructuur. Deze situatie is weergegeven in figuur 1.

Als de micel groeit zal op het oppervlak de  $\kappa$ -caseïne stijgen met tegelijkertijd een dalende hoe-

**Figuur 1** — Schematische weergave van een submicel en een caseïne-micel die is samengesteld uit submicellen.





**Figuur 2** — Schematische weergave van de binding van twee submicellen via calciumfosfaat clusters.

veelheid aan fosfoserine residuen (van de  $\alpha$ - en  $\beta$ -caseïnen) voor  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$  clusters. De micellaire groei stopt wanneer het micel oppervlak voornamelijk met  $\kappa$ -caseïne is bezet. Submicellen hebben een grootte die varieert tussen 10 en 20 nm. De variatie in de grootte en samenstelling wordt bepaald door de individuele caseïne typen, pH, ionsterkte, en temperatuur.

In koemelk komt ongeveer 2/3 van de calcium en de helft van de fosfaat voor in colloïdale vorm. Tenminste 22% van de ester-fosfaatgroepen zijn onderling met elkaar verbonden (cross linking) om een micel te vormen. Caseïne micellen dissociëren en lossen op bij toevoeging van calcium chelerende agentia of door te dialyseren tegen een calciumvrije buffer. De mate van cross-linking door colloïdaal calciumfosfaat correspondeert ook met het aantal fosfaatgroepen in de individuele caseïne typen. In oplossing is het colloïdale calcium fosfaat in een onstabiele vorm en kan worden omgezet in het stabiele hydroxy-apatiet  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$  na een

bepaalde inductieperiode. Dit omzettingsproces wordt beïnvloed door  $\text{Mg}^{++}$  en citraat-ionen. De eerste zorgt voor een stijging van de hoeveelheid calciumfosfaatcomplex, terwijl de laatste de omzettingssnelheid remt. De cross-linking van calciumfosfaat met caseïnen heeft ook een remmend effect op vorming van hydroxyapatiet, waarschijnlijk door het blokkeren van de plaats van nucleatie.

**Andere melkeiwitten**

$\beta$ -Lactoglobuline is het belangrijkste van de weieiwitten in koemelk. De hoeveelheid bedraagt 7-12% van de total eiwit hoeveelheid van magere melk. Dit eiwit bestaat uit 162 aminozuren en is gekenmerkt door een merkwaardig hoge stabiliteit in zure omstandigheden. Het weerstaat een denaturatie bij pH 2. Bij lage temperatuur en hoge concentraties kan het van een dimere vorm naar een octamere vorm gaan. Bij lagere pH waarden dissocieert dit weer tot monomeren. Koemelk  $\beta$ -lactoglobuline denatureert bij temperaturen boven 65°C en pH 6,7, gevolgd door aggregatie. Over de functie van het

eiwit is veel gespeculeerd. Zo heeft het een vermogen om retinal te binden en wordt het in verband gebracht met het vitamine A transport naar het jong. Het eiwit vertoont ook een duidelijke verwantschap met soortgelijke eiwitten uit andere organen. Een soortgelijk eiwit komt voor in de uitscheidingsvloeistof van lever, speekselklier, bijnier, nier, pancreas, epididymus. Zo wordt het eiwit in de speekselklier in verband gebracht met de binding van feromonen; bij de lever wordt het in verband gebracht met het ontstekingsproces en met de binding van progesteron en retinal.

$\alpha$ -Lactalbumine vormt 2 tot 5% van het totaal eiwit van magere melk. Het is een calcium bindend eiwit dat bestaat uit 123 aminozuren. De calciumbinding is het gevolg van een hoge affiniteit voor calcium en die hoge affiniteit geldt ook voor een aantal andere metaalionen, zoals Zn(II), Mn(II), Cd(II), Cu(II) en Al(III). De binding van calcium functioneert in het stabiliseren van het eiwit tegen hitte-denaturatie.

Met betrekking tot de biologische functie wordt dit eiwit wel als een soort van specificator gezien. Dat betekent dat het de substraatspecificiteit van een enzym kan moduleren, in dit geval galactosyltransferase. Wanneer geen  $\alpha$ -lactalbumine aanwezig is, zorgt het enzym UDP-galactose:N-acetylglucosamine galactosyltransferase voor de volgende reactie: UDP-galactose + N-acetyl-D-glucosamine  $\rightarrow$  N-acetylglucosamine + UDP

In aanwezigheid van  $\alpha$ -lactalbumine verloopt de reactie als volgt:



Het verzekert dus een optimale synthese van lactose bij de relatief lage glucose concentratie in melk-klierweefsel.

*Lactotransferrine* (lactoferrine) is een ijzer-bindend glycoproteïne dat in melk wordt gevonden. Het behoort tot de familie van de transferrines waartoe ook serum transferrine (uit bloedserum), ovotransferrine (uit het eiwit, d.w.z. het witte deel van het ei), en melanotransferrine (uit menselijke melan-

oma cellen) behoren. Het is een veel groter eiwit dan alle voorgaande eiwitten. Het bestaat uit twee eiwitketens van ieder 703 aminozuren die ieder een plaats hebben om ijzer te binden. Er zit aan het eiwit ook een suikerstaart. Deze suikerstaart is belangrijk want verwijdering van deze suiker leidt tot een verlies van de ijzerbinding. De biologische functie van het eiwit is grotendeels het begeleiden en oplosbaar houden van ijzer.  $\text{Fe}^{3+}$  in een niet-gecomplexeerde vorm onder fysiologische omstandigheden gaat gemakkelijker over in ferri-hydroxide. Het vrijkomen van  $\text{Fe}^{3+}$  vanuit de transferrine naar de cel vereist een speciale interactie tussen transferrinen en een transferrine receptor. Door de ijzer bindende functie heeft het ook een bacterie-statische werking: bacteriën kunnen niet over ijzer beschikken en daardoor niet groeien.

### Functionaliteit van melk en het geleringsonderzoek

Melk is het natuurlijke voedingsmiddel voor het jonge wezen. In het bijzonder gedurende enige tijd na de geboorte is, in de natuurlijke situatie, melk de enige, in ieder geval de meest belangrijke voeding en bron voor groei en ontwikkeling. Daartoe is de melk effectief afgestemd op de fysiologie van het jong en wordt in het maag-darm systeem afgebroken. Hoe de stapsgewijze afbraak van met name de caseïnen plaats vindt, is sterk afhankelijk van hoe de caseïnen voor het afbraakproces toegankelijk zijn. Dat hangt uiteraard af van de micel structuur en hoe deze verandert onder invloed van enzymen en de zuurgraad. In dat opzicht zijn twee factoren van groot belang. Ten eerste, de betekenis van de melkzouten voor de caseïne micelstructuur en ten tweede, de externe invloeden op de structuur. Hoewel een volledig beeld nog verre van duidelijk is, zijn toch een aantal bouwstenen voor zo'n volledig beeld reeds voorhanden. Deze bouwstenen komen uit studies naar de gelering van melk.

Gelering vindt in melk plaats door coagulatie bij verzuring en enzym werking, maar ook bij verhit-

ting, en zelfs bij bewaren. De meeste van deze processen hebben te maken met de eigenschappen van caseïnen, al kunnen interacties bijvoorbeeld met  $\beta$ -lactoglobuline en  $\alpha$ -lactalbumine ook een rol spelen.

Als gevolg van de enzymatische afbraak van  $\kappa$ -caseïne treedt er een langzame aggregatie van de reactieve micellen op. De verwijdering van de hydrofiele eiwitgedeelten reduceert namelijk de oppervlakte potentiaal en de sterische repulsie (ruimtelijke afstoting) die de micellen stabiliseert. Als gevolg hiervan is er een toename in de hydrofobe interacties die in feite de belangrijkste kracht is achter de aggregatie. Er is een lagtijd, een na-ijl periode, waarin de klontering nog niet duidelijk zichtbaar wordt. Deze lagtijd komt door de tijd die nodig is voor voldoende proteolyse van het  $\kappa$ -caseïne alvorens de micellen zullen aggregeren. Er is ingeschat dat micellen niet eerder zullen aggregeren voordat ongeveer 88% van het  $\kappa$ -caseïne is gehydrolyseerd. Maar dit is geen vast percentage en hangt af van de micellaire structuur.

Gelering treedt ook op bij verhoging van de zuurgraad. Het aggregatieproces bij verzuring is terug te voeren op de hydrofobe interacties plus electrostatische interacties. Gelering van magere melk treedt op bij pH 4.6. Als de pH waarde daalt naar 5.2 wordt het calciumfosfaat volledig opgelost, terwijl de micellen grotendeels intact blijven. Bij lagere pH beginnen de caseïne micellen te aggregeren tot deeltjes en wordt een gel gevormd, een proces dat niet meer reversibel is. Dit gel netwerk bestaat dan uit clusters van caseïne deeltjes die een ruwe onregelmatige structuur vertonen van korrels die verbonden zijn door draden met grote holten erin.

Gelering treedt ook op bij bewaren van de melk, zelfs in gesteriliseerde vorm. Daarvoor worden verschillende niet-enzymatische processen verantwoordelijk gehouden. Chemische processen zoals Maillard-type reacties waarbij caseïnen en  $\beta$ -lacto-

globuline met lactose reageren, kunnen resulteren in polymerisatie en gelvorming. Daarnaast kan er ook een daling van de oppervlakte potentiaal van micellen in melk plaats vinden als gevolg van de herrangschikking in de micelstructuur – de spontane transformatie van een ion-stabiele toestand met een hoge oppervlakte potentiaal naar een meer stabiele micel met een lage potentiaal. Tenslotte kan niet worden uitgesloten dat er hitte-resistente proteases in melk voorkomen die voor gelering verantwoordelijk zijn. Het verouderingsbeeld vertoont namelijk gelijkenis met het optreden van enzymatische coagulatie. Zo wordt gelering bij veroudering namelijk vaak voorafgegaan door een daling van de viscositeit, hetgeen ook gebeurt bij gelering na enzymwerking.

### Natuurlijke invloeden op melkstructuur

Melkzouten spelen een belangrijke rol in de micelstructuur en zijn dientengevolge ook bepalend voor de natuurlijke stofwisseling van melk bij het jonge wezen. Daarmee komt een belangrijk aspect aan de orde: de invloed van natuurlijke biologische exogene en endogene factoren. De zoutconcentraties van de melk worden namelijk beïnvloed door een grote variëteit aan factoren zoals het type koe, het lactatiestadium, type en hoeveelheid voedsel, en het seizoen.

Zo blijkt dat de melk van Jersey koeien hogere concentraties aan calcium en fosfaat bevat dan melk van Holstein koeien. Jersey melk bevat ook meer caseïne dan Holstein melk. Ook individuele dieren binnen een kudde blijken te verschillen in de hoeveelheid melkzouten die ze produceren. Hiervoor zijn waarschijnlijk genetische factoren verantwoordelijk want tweelingen vertonen over het algemeen een geringere variatie in de productie van deze zouten dan niet-verwante koeien.

Het belang van het lactatie stadium is ook goed bekend. In gezonde koeien worden geringe verschillen in de samenstelling van de melk zouten aange-



troffen over het grootste deel van het seizoen. Echter gedurende zowel de vroege als de late lactatiefase treden er verschillen op. De meest opvallende verschillen worden waargenomen in de hoeveelheden calcium, fosfor, natrium en chloride. Zowel in de vroege lactatie als in de late lactatiefase komen er hogere concentraties van deze bestanddelen in melk voor.

*Het effect van het dieet* is ook onderzocht. Type en hoeveelheid beschikbaar voedsel hebben (behalve onder omstandigheden van honger) slechts een geringe invloed op de concentraties melkzouten, al kan de melkhoeveelheid wel zijn veranderd. Wanneer echter de melkopbrengst wordt gemanipuleerd dan verandert de concentratie van multi-valente ionen. Verschillen in de concentratie van deze multi-valente ionen, als gevolg van een mineraal supplement of van rijk voedsel kan dan optreden ook al blijft de melkproductie op eenzelfde peil. Zelfs kleine verschillen in de concentraties van deze ionen kunnen dan een aanzienlijke invloed hebben op de fysische en chemische eigenschappen van de melk. Die op hun beurt weer invloed kunnen hebben op de verschillende processen van natuurlijke melkverwerking. Zo wordt bijvoorbeeld door een kleine stijging in het calciumgehalte in melk als gevolg van mineralen-suppletie of rijk voedsel de melk minder stabiel. Melk van koeien met een chronische magnesium deficiëntie hebben een toegenomen concentratie  $\text{Ca}^{2+}$  en wordt daardoor ook onstabiel.

*Seizoensvariëties* in melk treden ook op. Deze variatie is met name waargenomen in de concentraties calcium, fosfaat en citraat van de melk. Voor een belangrijk deel zullen deze veranderingen echter ook samenhangen met veranderingen in het dieet en het lactatiestadium. Er is in ieder geval enige daling in de calcium- en fosforniveau's gedurende de zomermaanden van het jaar.

Op de een of andere manier blijken er in melk dui-

delijke correlaties aanwezig tussen verschillende zouten onderling of in samenhang met andere laag-moleculaire verbindingen, zoals lactose. Deze correlaties vallen in drie groepen uiteen. De eerste correlatie groep bestaat uit lactose, kalium, natrium en chloride. Er bestaat ook een negatieve correlatie tussen lactose en osmolariteit als gevolg van de natuurlijke behoefte aan een osmotische balans tussen melk en bloed.

De tweede groep bestaat enerzijds uit diffundeerbare calcium, magnesium en citraat, en anderzijds uit  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  en pH. Bij constante pH zijn diffundeerbare calcium en magnesium direct gecorreleerd aan citraat. Tussen  $\text{Ca}^{2+}$  en  $\text{HPO}_4^{2-}$  bestaat er een negatieve correlatie.

De derde groep correlaties bestaat uit colloïdaal calcium, magnesium, anorganisch fosfaat en citraat. Concentraties van deze micellaire calcium fosfaat componenten zijn over het algemeen nauw gerelateerd aan de caseïne concentratie, met uitzondering van de vroege lactatie wanneer de caseïne minder is gemineraliseerd.

Er bestaat een toestand van evenwicht tussen de zouten in het serum en die in de colloïdale fase. De verdeling van natrium, kalium, chloride en lactose tussen serum en colloïdale fase kan geheel op rekening worden gesteld van een eenvoudige uitwisseling op basis van evenwicht. Calcium en magnesium zijn niet evenredig tussen de twee fasen verdeeld vanwege hun betrokkenheid in de vorming van colloïdale calcium fosfaat. De micel dankt zijn bestaan immers aan een serie van meerdere evenwichtstoestanden. Onder normale omstandigheden voor melk wordt de calcium: fosfaat verhouding gestabiliseerd door een evenwicht in de richting van de micelvorming. Wanneer  $\text{Ca}^{2+}$  concentraties echter onder de 3-5 mM dalen, vindt dissociatie van de eiwitcomponenten van de micel plaats.

In feite is melk oververzadigd ten aanzien van verschillende minerale calcium-fosfaat zouten. Dit betekent dat precipitatie van anorganisch fosfaat

kan plaats vinden onder bepaalde omstandigheden en dan leidt tot de vorming van precipitatiekernen. Dit leidt dan tot een daling in opgelost calcium en anorganisch fosfaat. Omdat het colloïdale calcium fosfaat wordt geacht in evenwicht te zijn met de mineralen in de oplossing, zal ook dit niveau dalen. Dit zal weer oververzadiging veroorzaken met betrekking tot fosfaat precipitaten, enzovoort. Deze processen zullen stoppen wanneer een nieuw evenwicht wordt bereikt, hetgeen soms pas is als alle micellen zijn afgebroken.

### Conclusie

Melk komt voor in een dynamische toestand met een uiterst complexe serie van uitgebalanceerde reacties die zo de integriteit handhaven van de melkserum fase en van de macromoleculen die hierin gedispergeerd voorkomen. Natuurlijke omgevingsfactoren, die een belangrijke invloed hebben op de zoutsamenstelling in de melk, bepalen de structuur en daarmee de biologische functionaliteit van de melk als natuurlijk voedingsmiddel.

Het overweldigende karakter van de natuurlijke, biologische samenhang tussen seizoenen, geboorteen lactatie cycli, natuurlijke voeding, melksamenstelling, biologische verwerkingsmogelijkheden en de behoeften van het groeiende en ontwikkelende jonge wezen komt maar zelden aan de orde. Zeker komt het te weinig aan de orde als de vraag gesteld wordt wat er eigenlijk gebeurt bij het produceren en de industriële verwerking van melk en wat het gebruik van niet-soort specifieke melk, bijvoorbeeld koemelk voor consumptie door de mens, betekent.

Reeds bij de productie van melk is duidelijk dat de productie op onnatuurlijke wijze plaats vindt. Op verschillende biologische gronden, die met de bovengenoemde samenhang te maken hebben, is daardoor van een gemanipuleerde melkproductie, dat wil zeggen onder biologische stress omstandigheden, sprake. De massale productie door het gehele jaar heen en het verzamelen en mengen van

melk leidt daardoor tot een product dat verre van biologisch optimaal is. Maar daarbij dient direct te worden bedacht dat het biologisch optimale aspect in feite slechts geldt voor een soort-specifiek gebruik. De discussie over wat het betekent voor de menselijke consumptie staat nog in de kinderschoenen.

Essentieel in een dergelijke discussie staat een methode om snel en betrouwbaar de structurele toestand van de melk te meten als aanvulling op de eenvoudige analyse van de chemische samenstelling. Op dit aspect zal in een volgend artikel worden ingegaan.

### Literatuur

- Creamer, L.K. (1992) Some aspects of casein micelle structure, In: *Interactions of Food Proteins*, Parris, N. and Barford, R. Eds., ACS Symposium Series 454, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Schmidt, D.G. (1982) Association of caseins and casein micelle structure, In: *Development in Dairy-Chemistry-1*, Fox, P.F. Ed., Applied science Publisher, London
- Slattery, C.W. (1976) Review; casein micelle structure: an examination of models. *J. Dairy Sci.*, 59, pp. 1547-1556
- Waugh, D.F. en B. Talbot, (1974) Equilibrium casein micelle systems. *Biochemistry*, 13, pp. 768-781
- Wong, D.W.S., W.M. Camirand, and A.E. Pavlath, (1996) Structures and functionalities of milk proteins, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36, pp. 807-844

**Samenvatting**Functionaliteit en structuur van melk

In de afgelopen 15 jaren is er flinke vooruitgang geboekt bij het bestuderen van de fijne details in de structuur van de melk. Deze vooruitgang is belangrijk omdat alleen met deze kennis een goed begrip van de biologische betekenis van melk mogelijk is. Deze laatste kennis is echter nog verre

van toereikend. Dit artikel vormt een poging om de verschillende fundamentele aspecten van melk in een kader te plaatsen. Daarbij zal met name aandacht worden besteed aan fundamenteel biologische aspecten van de melkproductie en aan de structuur en functionaliteit van melkeiwitten en van het systeem van melkzouten.

**Summary**Functionality and structure of milk

During the last 15 years, marked progress has been made in the study of the fine details of the structures of milk. This progress is of crucial importance for a better understanding of the biological significance of milk. However, the latter aspect is not yet

fully understood. This article is an attempt to present an overview about the different fundamental aspects of milk. In particular this article emphasizes the basic biological aspects of milk production and the structure and functionalities of milk proteins and the milk salt system.

**Key-words**

milk proteins ■ caseins ■ milk salts ■ milk gland

**Auteur**

Dr. R. van Wijk

Faculteit Biologie, Universiteit Utrecht en  
International Institute of Biophysics, Neuss

**E** meluna.wijk@wxs.nl

Koppelsedijk 1A, 4191 LC Geldermalsen