

**Die Beurteilung von Casein und dessen Derivaten, die zur Festigung von Malschichten und als
Überzüge auf mineralischen Untergründen zur Anwendung kamen**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
zur Erlangung des Grades

Doktorin der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

genehmigte Dissertation

von

Dipl.-Restauratorin (FH) Kerstin Klein M. A.

geboren am 27. Januar 1965 in Furtwangen, Schwarzwald/Baar-Kreis

2013

Referent: Prof. Dr. Thomas Scheper

Korreferent: Prof. Dr. Klaus Littmann

Tag der Promotion: 11. September 2013

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie die zur Hilfeleistung herangezogenen Institutionen vollständig angegeben habe. Ich versichere ferner, dass die Dissertation nicht schon als Diplomarbeit oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet worden ist.

Ort, Datum

Kerstin Klein

Kurzzusammenfassung

Die Ausgangssituation zur Entstehung dieser Arbeit waren beobachtete Schäden an Wandmalereien, die mit Caseinaten überzogen wurden. Um die dabei eintretenden Veränderungen an den Überzügen zu verstehen, wurden selbst hergestellte und industriell fabrizierte Caseine unterschiedlich aufgeschlossen, teilweise mit Hemmstoffen behandelt und gehärtet. Die einzelnen Bindemittel wurden dann auf Putzplatten gestrichen. Ein Teil der Proben wurde nicht, ein anderer Teil wurde künstlich gealtert und anschließend untersucht.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: Das selbst hergestellte Salzsäurecasein wies keine, der Quark und das selbst gefällte Milchsäurecasein zeigten geringere Malschichtschäden als die industriell hergestellten Caseine auf. Mit Ammoniak behandelte Caseinate waren stärker geschädigt als die mit Kalk aufgeschlossenen. Mit Lysol konservierte Caseinate neigten weniger zum Verspröden als die unbehandelten oder mit Salicylsäure konservierten Caseinate. Von 72 Proben verbräunten vier. Alle anderen wurden insgesamt heller. Die vollständige Löslichkeit der ungealterten, unbehandelten getrockneten Caseine in Tris-Puffern lag zwischen pH 5 und pH 10. Die Bestimmung der Massenspektren mit MALDI-Tof zeigte, dass die Caseine teilweise schon bei der Fällung denaturiert werden und diese Prozesse während der Behandlung mit Kalk und Ammoniak sowie im Zuge der Alterung fortschreiten. Die Konservierung oder Härtung der Caseinate wirkten sich hingegen nicht auf die Alterung aus.

Keywords: Wandmalerei

Bindemittel

Casein

Alterung

Verbräunung

Abblätterung

Löslichkeit

Tryptischer Verdau

Peptidsequenz

MALDI-Tof, Flugzeitmassenspektrometer

Hauptkomponentenanalyse

Abstract

The initial situation to bring up this thesis was a monitoring of damages on caseinate-coated wallpaintings. To understand alterations of the coatings differently solubilized self-produced and industrially produced caseins were partially treated and also hardened with inhibitors. The compounds were then applied on dummies. One part had artificially been aged and in an investigation afterwards compared to the non-aged part.

The results can be summarized as follows: Self-produced hydrochloric acid casein showed no damages, quark and self-produced lactic acid casein had less damages on paint-layers than industrially produced caseins. Caseinates treated with ammonia were generally more damaged than those treated with lime. Lysol treated caseinates tended less to embrittle than untreated or salicylic acid conserved types. Four out of 72 samples showed browning. All others became lighter. The result of the complete solubility of the non-aged caseins in Tris-buffers was between pH 5 and pH 10. The specification of the mass spectra with MALDI-Tof showed that the caseins were partially denaturated by the precipitation already. This process continued during the treatment with lime and ammonia and during aging. The addition of inhibitors or hardeners did not affect the aging.

Keywords: Wallpainting

Binding material

Casein

Aging

Browning

Flaking

Solubility

Tryptical digest

Peptide sequence

MALDI-Tof, Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization-Time-of-flight

Principal Component Analysis

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand am Institut für Technische Chemie der Universität Hannover unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Scheper. Seine Offenheit auch für andere Fachgebiete ebnete mir den Weg, mein Promotionsvorhaben zu realisieren. Er hat mir trotz mangelnder Forschungsmittel vieles ermöglicht. Für seine uneingeschränkte Unterstützung danke ich ganz herzlich.

Herrn Prof. Dr. Littmann vom Institut für Berufswissenschaften im Bauwesen, der mir ebenfalls sehr freundlich begegnete, danke ich für die Übernahme des Korreferats. Ohne seine spontane Zusage, die Klimakammer und das Spektrophotometer benutzen zu dürfen, wäre ich mit meinen Untersuchungen nicht weitergekommen.

Herrn Christian Möllring sei für seine Hilfestellung bei der Nutzung der Klimakammer gedankt. Herrn Friedbert Gellermann gilt mein Dank für das Bauen des Rags für die Probeplatten. Er hat es anstelle von Herrn Wilhelm Behnsen gebaut, der es aufgrund seiner schweren Erkrankung, an der er verstarb, nicht mehr konnte. Herrn Torleif Hentrop und Herrn Burghard Probst gebührt mein Dank für das Bauen des UV-Röhren-Rags. Frau Martina Weiß danke ich ganz herzlich für ihren fachlichen Beistand und die kollegiale Aufnahme in ihrem Labor. Herrn Patrick Lindner sei für die statistische Auswertung meiner Messergebnisse gedankt.

Ich war an beiden Instituten sehr gern!

Mein herzlicher Dank gebührt auch Herrn Dr. Peter Königfeld, meinem ehemaligen Vorgesetzten, der seine Mitarbeiter immer aufforderte, sich weiterzubilden. Ich durfte ihn beim Wort nehmen, als ich das Studium der Denkmalpflege aufnahm. Er spornte mich auch an, die vorliegende Arbeit zu verfassen.

Herrn Achim Knöfel, Frau Dr. Helene Svahn und Herrn Andreas Menrad danke ich für die Proben meiner Referenzobjekte, Herrn Dr. Helmut Berling für die Unterstützung bei klimatechnischen Fragen.

Bei Herrn Wengenroth bedanke ich mich für das Salzsäurecasein, das er mir großzügig schenkte. Herrn Winckelmann der Firma Frischli sei für die zur Verfügung gestellte nicht pas-

teurisierte und homogenisierte Milch gedankt.

Christiane, Helena, Angelika, Margarete, Heike, Hans und Petra danke ich für ihre offenen Ohren und Kollegialität. Vera und Rita sei ebenfalls für ihre Unterstützung gedankt.

Meinem Mann Uwe kann ich gar nicht genug danken. Er ist das Beste, was mir je passiert ist.

Für Uwe

Jede Wahrheit durchläuft drei Phasen:

In der ersten wird sie verlacht,

in der zweiten wird sie wild bekämpft,

und in der dritten wird sie als Selbstverständlichkeit akzeptiert.

Arthur Schopenhauer

1.	Zielsetzung und methodisches Vorgehen	S. 1
2.	Grundlagen, Begriffe und Definitionen	S. 4
2.1	Farbe, Bindemittel, Malmittel und Farbmittel	S. 4
2.1.1	Farbe	S. 4
2.1.2	Bindemittel und Malmittel	S. 5
2.1.3	Farbmittel	S. 6
2.2	Wandmalerei	S. 8
2.2.1	Kalkmalerei	S. 9
2.3	Casein in der Malerei und Restaurierung aus quellenschriftlicher Sicht	S. 9
2.4	Referenzobjekte	S. 11
2.4.1	Die Wandmalereien auf der Westwand im ehemaligen Kapitelsaal der ev. luth. Kirche St. Alexander in Wildeshausen	S. 12
2.4.2	Die Wandmalereien im Chor der ev. luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg	S. 16
2.4.3	Die Wandmalereien in der Kirche in Vendel, Uppland, Schweden	S. 19
2.5	Alterungsphänomene und Schäden	S. 22
2.5.1	Schichtentrennung	S. 23
2.5.2	Glanzbildung, Gilben und Verbräunen	S. 25
2.5.3	Mikrobieller Befall	S. 26
2.6	Casein	S. 26
2.6.1	Caseine	S. 27
2.6.2	Caseinfällung	S. 30
2.6.3	Chemische Reaktionen, die sich auf die Alterung von Casein auswirken	S. 31
2.6.3.1	Denaturierung bei der Caseinfällung	S. 32
2.6.3.2	Maillard-Reaktion	S. 33
2.6.3.3	Reaktion mit Formaldehyd	S. 33

2.6.3.4	Hydrolyse	S. 34
2.6.3.5	Proteolyse	S. 34
2.6.3.6	Esterbildung	S. 35
2.6.3.7	Decarboxylierung	S. 35
2.6.3.8	Disulfidgruppen	S. 36
2.6.3.9	Reaktionen beim Aufschluss der Caseine	S. 36
3.	Verschiedene Rezepturen zur Herstellung von Casein	S. 37
3.1	Quellenschriften zur Herstellung von Casein	S. 37
3.2	Auswahl der nachzustellenden Rezepturen zur Caseinfällung	S. 43
4.	Auswahl von Rezepten und Materialien zur Herstellung von Festigungsmitteln aus Casein	S. 47
4.1	Aufschlussmittel	S. 47
4.2	Konservierungsmittel	S. 48
4.3	Caseinhärtung	S. 49
4.4	Grundlagen zur Auswahl der Festigungsmittel	S. 50
4.5	Auswahl der Rezepturen	S. 52
5.	Herstellung der Probekörper	S. 60
5.1	Herstellung von Putzplatten	S. 60
5.2	Applikation der Caseinate, Konservierungs- und Härtungsmittel auf die Putzplatten	S. 62
6.	Alterung	S. 63
6.1	Alterung durch ultraviolette Strahlung	S. 64
6.2	Alterung durch Feuchte- und Temperatureinfluss	S. 65
6.3	Künstliche Bewitterung der Probekörper	S. 66
7.	Untersuchungen	S. 68

7.1	Abblätterungsgrad nach DIN EN ISO 4628-5	S. 68
7.2	Veränderung der Farbe	S. 69
7.3	Verwendung von Puffern zur Lösung der Caseine	S. 71
7.4	Veränderungen tryptisch verdauter Caseinate, gemessen mit MALDI-Tof	S. 72
7.4.1	Tryptischer Verdau	S. 72
7.4.2	MALDI-Tof-Analyse	S. 73
7.5	Hauptkomponentenanalyse	S. 75
8.	Ergebnisse	S. 78
8.1	Herstellung der Caseine	S. 78
8.1.1	Herstellung von Quark nach Rezept 1	S. 78
8.1.2	Herstellung von Milchsäurecasein nach Rezept 17	S. 80
8.1.3	Herstellung von Salzsäurecasein nach Rezept 5	S. 80
8.2	Reaktionen beim Aufschluss und der Verarbeitung der Caseine	S. 81
8.3	Beurteilung des Abblätterungsgrades	S. 82
8.4	Farbveränderung an den Probekörpern während der Alterung	S. 95
8.5	Löslichkeit der ungealterten getrockneten Caseine mit Tris-Puffern	S. 107
8.6	Veränderungen in der Zusammensetzung der Caseine durch MALDI-LR-Massenspektrometrie	S. 115
8.6.1	Vorbereitung der Proben	S. 115
8.6.2	Vortest zur Ermittlung optimaler Verdauzeiten des Caseins mit Trypsin	S. 116
8.6.3	Vergleich der ermittelten MALDI-Spektren der ungealterten und gealterten Referenzproben	S. 121
8.6.4	Betrachtung der Proben aus einer Gruppe untereinander und in Bezug auf das „reine“ Casein	S. 124

8.6.5	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Kalk aufgeschlossen wurden	S. 133
8.6.6	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Ammoniak aufgeschlossen wurden	S. 134
8.6.7	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Ammoniak und Kalk aufgeschlossen wurden	S. 136
8.6.8	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die kein Konservierungsmittel enthalten	S. 137
8.6.9	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Salicylsäure konserviert wurden	S. 138
8.6.10	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Lysol konserviert wurden	S. 139
8.6.11	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die entweder nicht konserviert oder konserviert wurden	S. 140
8.6.12	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die nicht gehärtet wurden	S. 142
8.6.13	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Formaldehyd gehärtet wurden	S. 143
8.6.14	Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die entweder nicht gehärtet oder mit Formaldehyd gehärtet wurden	S. 144
8.6.15	Fazit	S. 146
9.	Zusammenfassung und Schlussfolgerung	S. 147
10.	Anmerkungen	S. 149
11.	Literaturverzeichnis	S. 152
11.1	Archivalien	S. 152
11.2	DIN-Normen	S. 152
11.3	Literatur	S. 152

11.4	Internetquellen und Datenbanken	S. 157
12.	Abkürzungen	S. 158
13.	Abbildungsverzeichnis und Abbildungsnachweis	S. 160
14.	Tabellenverzeichnis	S. 166
15.	Anhang	S. 167
15.1	Quellschriften zur Herstellung der Caseine	S. 167
15.2	Verwendete Materialien/Chemikalien	S. 179
15.3	Verwendete Geräte	S. 180
15.4	Buchstabenbezeichnung der Caseine	S. 181
15.5	Tabelle der Proben	S. 182
15.6	Klimaprotokolle zur künstlichen Alterung	S. 185
15.7	Chronologie der entnommenen Proben	S. 189
15.8	Peptidsequenzen der tryptisch verdauten Caseine	S. 192
15.8.1	Alpha-S1-casein	S. 192
15.8.2	Alpha-S2-casein	S. 193
15.8.3	Beta-casein	S. 194
15.8.4	Kappa-casein	S. 194
15.9	Entwicklung der Methoden zur Probenaufbereitung für die Messungen mit MALDI-LR	S. 195
15.9.1	Auswahl des geeigneten Trypsins	S. 195
15.9.2	Ermittlung der Methode, den tryptischen Verdau zu stoppen	S. 195
15.9.3	Ermittlung der erforderlichen Probenmenge	S. 196
15.9.4	Vergleich der Produkte ZIP TP SCX und ZIP TIP 18 zur Entsalzung, Reinigung und Konzentrierung der Proben	S. 197
15.9.5	Vorbereitung der Proben zur Messung mit MALDI-LR	S. 198
	Lebenslauf	S. 199

1. Zielsetzung und methodisches Vorgehen

Die Wandmalerei, Königsdisziplin der Malerei, ist eine Kunstgattung, die nahezu jeden begeistert. Egal, ob im Außenbereich oder im Inneren, in Sakralräumen oder profanen Gebäuden, ob monumental oder eher überschaubar – Wandmalereien fordern zum Betrachten und Innehalten auf. Sie dekorieren oder vermitteln in bildlicher Form Botschaften und Inhalte. Die Höhlenmalereien der Altsteinzeit beispielsweise präsentieren in der Regel Tiergestalten und Jagdszenen, wohingegen in Kirchen oft Geschichten und Begebenheiten aus dem Alten und Neuen Testament bzw. der Biblia Pauperum erzählt sowie Heiligenlegenden visualisiert werden. In profanen Gebäuden schmücken nicht selten lediglich Ornamente die Wände einzelner Räume, um deren Besonderheit und damit die gehobene Stellung respektive den Reichtum des Eigentümers zum Ausdruck zu bringen. Es gibt hier aber durchaus auch figürliche Maleereien, zum Beispiel von Heiligen, die als Schutzpatrone fungieren und über den Beruf oder die Herkunft des Besitzers Auskunft geben. In Burgen, Schlössern und Rathäusern ist das Bildprogramm meist noch umfangreicher. Hier kommen dekorative und illusionistische Maleereien ebenso vor wie weltliche Darstellungen von Legenden, Mythen, bedeutenden Persönlichkeiten und historischen Ereignissen oder religiöse Themen und die Heiligenverehrung. Dabei hat jede Epoche ihre Besonderheiten und Vorlieben.

Dem Maler müssen all diese Themen geläufig sein. Vor allem aber muss er sie auf den zu bemalenden Flächen stimmig arrangieren und darstellen können. Genauso vertraut muss er zudem mit seiner praktischen Arbeit sein. Er sollte die Beschaffenheit des Mauerwerks kennen und die Herstellung der Putze, der Malgründe und der Malfarben beherrschen. Ursprünglich zählten die Maler wie die Maurer, Putzer, Bildhauer, Fassmaler usw. zu den Handwerkern. Erst ab dem 17. Jahrhundert wurden sie dann als Künstler anerkannt, was ihrem Anspruch, die Kunst zum Ideal der Vollkommenheit zu erheben, entsprach. [Königfeld, P. 2001, S. 9]

Der Erhalt von Wandmalereien hängt von vielen Faktoren ab. Diese sind neben materialtechnischen Eigenschaften auch äußere Einflüsse, wie beispielsweise das Außen- und Raumklima. Das Wechselspiel zwischen den einzelnen Faktoren zu verstehen, zu interpretieren und bei der Konservierung zu berücksichtigen ist die Aufgabe der Restauratoren. Die Komplexität der Aufgabe besteht darin, die von Objekt zu Objekt unterschiedlichen Ausgangsbedingungen im-

mer neu zu erfassen und zu begreifen. Eine der größten Herausforderungen bei der praktischen Arbeit für die Restauratoren ist dabei die „richtige“ Materialwahl. Aber was ist richtig, was ist falsch? Das richtige Produkt falsch angewendet ist genauso schädlich, wie der Einsatz eines falschen Produkts. Aber welches Produkt ist richtig? Es ist das Produkt, das für den besten Erhalt sorgt und den geringsten Schaden hinterlässt. Über die Richtigkeit der Materialwahl wissenschaftlich fundierte Aussagen zu treffen ist nur bedingt möglich. Denn das Verhalten eines Produkts kann nur für festgelegte Ausgangsbedingungen wissenschaftlich beschrieben werden, die an den einzelnen Objekten so nicht vorliegen. Der Restaurator schöpft folglich aus der eigenen Erfahrung im Umgang mit den Produkten. Meist besteht nicht die Chance, die Konservierungsmaßnahmen an einzelnen Objekten nach Jahren unter wissenschaftlichen Gesichtspunkten zu kontrollieren.

Für Bindemittel mit einfachen chemischen Strukturen, die wenige chemische Reaktionen eingehen können, ist die Beschreibung der Veränderungen einfacher als für Produkte mit komplexen Strukturen und Verbindungen. Ein Bindemittel mit komplexen Strukturen ist das Casein. Darüber hinaus kann es auf unterschiedliche Weise aus Milchen gefällt und auf verschiedene Arten verarbeitet werden. Diese Vielfalt war der Anlass zu dieser Arbeit. Sie soll einen Beitrag zum besseren Verständnis des Verhaltens von Casein sein.

Die Zielstellung der Arbeit ist es, Caseine unterschiedlich zu präparieren und unter vergleichenden Bedingungen zu untersuchen. Als Grundlage werden Wandmalereitechniken erläutert. Ein Überblick zur Verwendung von Casein bei der Konservierung und Restaurierung von Wandmalereien führt in das Thema ein. Die Referenzobjekte, an denen die Schäden beobachtet und Proben entnommen wurden, werden beschrieben. Danach werden die Schäden und deren Entstehung erklärt. Es wird eine Auswahl an Rezepten zur Fällung von Caseinen präsentiert; einzelne werden nachgestellt, um sie im praktischen Teil der Arbeit mit den industriell hergestellten Caseinen zu vergleichen. Das industriell hergestellte Casein nach Hammersten, Milchsäurecaseine, Salzsäurecaseine und Quark werden untersucht. Eine Sammlung von Rezepten zur Präparation des Caseins mit Ammoniak, Kalk, Hemmstoffen und Formaldehyd wird ausgewertet. Im praxisbezogenen Part werden die Caseine aus den Milchen gefällt. Diese und die industriell hergestellten Caseine werden dann nach den Rezepten zur Herstellung der Festigungsmittel verarbeitet und auf Probekörper aus Putz aufgestrichen. Ein Teil der

Probekörper wird anschließend bei Raumtemperatur gelagert, der andere Teil künstlich gealtert. Nach der Alterung der Referenzkörper durch Temperatur- und Luftfeuchtewechsel sowie UV-Bestrahlung werden vergleichende Untersuchungen der ungealterten und der gealterten Proben vorgenommen. Dabei werden die Malschichtschäden, Farbveränderungen und Veränderungen der Caseinstrukturen betrachtet, um gegebenenfalls Aussagen über die Auswirkungen der Behandlung treffen und das Verhalten der Festigungsmittel charakterisieren zu können.

2. Grundlagen, Begriffe und Definitionen

2.1 Farbe, Bindemittel, Malmittel und Farbmittel

Den Begriff Farbe verwenden wir alle. Was aber ist genau damit gemeint? Ist Farbe ein Produkt oder ein Sinneseindruck? In diesem Kapitel werden die im Allgemeinen wie selbstverständlich verwendeten Begriffe beschrieben, um deren Bedeutung in dieser Arbeit unter maltechnischen und restauratorischen Aspekten richtig einordnen und verstehen zu können.

2.1.1 Farbe

Unter Farbe wird der Sinneseindruck verstanden, den wir mit dem Auge wahrnehmen. Die reflektierten, remittierten oder transmittierten Strahlen eines Gegenstandes, zum Beispiel einer Malschicht, der mit elektromagnetischer Strahlung im Bereich des sichtbaren Lichts mit Wellenlängen von ca. 400-700 nm bestrahlt wurde (siehe Kapitel 7.2), treffen auf die Sehzellen in der Netzhaut, die wiederum im Gehirn Signale produzieren und dort zu einem Farbeindruck verarbeitet werden. Absorbieren Farben sehr viel Licht, wirken sie dunkel und deckend. Die Deckfähigkeit heller Farben hängt hingegen von der Höhe der remittierten Strahlung eines Objektes ab. Diese ist um so höher, je größer die Differenz der Brechungsindizes¹ zwischen Pigment und Bindemittel ist.

Als Farbe werden umgangssprachlich allerdings auch die Gemische aus Pigmenten, Binde- und Malmitteln bezeichnet. Dabei wäre es präziser, Begriffe wie Malfarbe, Öl-, Ölharz-, Kalkfarbe usw. zu verwenden, um deutlich zu machen, dass damit ein Material gemeint ist. [Kühn, H., Roosen-Runge, H., et al.; Schramm, H.-P., Hering, B.; Kittel, H.]

2.1.2 Bindemittel und Malmittel

Bindemittel sind die Stoffe, mit denen Pigmente an den jeweiligen Malgrund geklebt werden. Das Malmittel dient dazu, die Malfarbe je nach Bedarf zu verdünnen und streichfähig zu machen.

Bei den Bindemitteln wird zwischen organischen, anorganischen, polaren, trockenpolaren und unpolaren Stoffen unterschieden. Diese können entweder allein oder als Gemische und Emulsionen verwendet werden. Deshalb ist die Bindemittelpalette sehr umfangreich. Zu den organischen polaren Bindemitteln sind die pflanzlichen und tierischen Leime, aber auch Kunstharze zu zählen. Zu den organischen trockenpolaren Bindemitteln gehören zum Beispiel wiederum künstliche und natürliche Harze (Dammarharz, Sandarak, Mastix, Kopale, Kolophonium usw.), zu den organischen unpolaren Bindemitteln Öl (Lein-, Mohn-, Walnussöl usw.), Wachs (Bienen-, Carnaubawachs usw.) sowie ebenfalls verschiedene Kunstharze. Eine Sonderstellung nehmen das Ei (Vollei), das Eigelb und das Casein ein, die sowohl polare als auch unpolare Eigenschaften aufweisen und deshalb außer als Bindemittel auch als Emulgatoren für Öl-in-Wasser oder Wasser-in-Öl Emulsionen verwendet werden können.

Pflanzliche Leime sind beispielsweise Cellulosen, Dextrin, Stärke, Algen, Gummen (Tragant, Gummi arabicum, Kirschgummi). Zu den tierischen Leimen, den Proteinen, sind das Ei, das Casein, der Haut-, Leder-, Knochen-, Fischleim usw. zu zählen. Im Unterschied zu den pflanzlichen Leimen, die in Wasser gequollen oder in einem Lösemittel gelöst kalt verwendet werden können, müssen tierische Leime – inklusive Ei und Casein – in warmem Wasser gequollen und auch warm verarbeitet werden. (Auf die Verwendung von Casein wird in Kapitel 5 detailliert eingegangen.)

Bis in das 19. Jahrhundert gibt es nur ein natürliches, organisches Bindemittel, den Kalk. Erst dann kommen mit den silikatischen Bindemitteln weitere anorganische Bindemittel hinzu, die wie der Kalk polare Eigenschaften haben.

Bei polaren Bindemitteln ist das Malmittel meist Wasser. Bei den unpolaren Bindemitteln werden als Malmittel zum Beispiel Terpentinöl oder Benzine und dergleichen eingesetzt. Nach dem Verdunsten des Malmittels wird die Farbe fest und haftet am Untergrund. Danach sollte sie abriebfest sein. „Trocknen“ beschreibt im Allgemeinen das Abbinden einer Farbe,

das je nach Bindemittel auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen kann. Wird die Farbe nur durch das Verdunsten des Malmittels fest, handelt es sich um einen rein physikalischen Prozess. Auch das Erstarren beim Abkühlen der thermoplastischen Wachse, die zum Beispiel bei der Enkaustik verwendet werden, ist ein physikalischer Vorgang. Beim Trocknen der Öl-, Ölharzfarben und ölhaltigen Emulsionen kommt neben dem Verdunsten des Malmittels die Oxidation des Öls, also eine chemische Reaktion, hinzu. Auch beim Kalk kommt es neben dem Verdunsten des Wassers zu einer chemischen Reaktion, dem Carbonatisieren des Kalks. Weitere chemische Reaktionen, die beim Trocknen einzelner Bindemittel erfolgen, sind die Polymerisation und die Polykondensation. [Kühn, H., Roosen-Runge, H., et al.; Schramm, H.-P., Hering, B.; Kittel, H.]

2.1.3 Farbmittel

„Farbmittel“ ist die übergeordnete Bezeichnung für organische und anorganische Pigmente sowie Farbstoffe. Farbstoffe lösen sich in Flüssigkeiten und finden deshalb in der Wandmalerei in Form der sogenannten verlackten Pigmente ihre Anwendung. Mit Verlackung ist die Fixierung von Farbstoffen auf weißen Substraten wie Aluminiumhydroxid, Schwerspat, Gips, Ton und grünen Erden gemeint. Lösen sich die Farbstoffe in Bindemitteln wieder vom Substrat und schlagen beispielsweise durch darüberliegende Malschichten durch, spricht man von „Bluten“. Von den organischen Farbstoffen gibt es drei Arten, die tierischen und die pflanzlichen Farbstoffe sowie die Teerfarbstoffe. Zu den Farbstoffen tierischer Herkunft gehören beispielsweise die Cochenille, das Karmin, der Krapplack, das Indischgelb und Xanthonfarbstoffe. Den Pflanzenfarbstoffen ordnet man zum Beispiel das Indigo, das Färberwau, das Alizarin, Brasilholz, den Safran und viele mehr zu. Teerfarbstoffe sind beispielsweise die Nitro-, Nitro-, Azo-, Di- und Trimethyl-, Xanthen- und Schwefelfarbstoffe sowie das Anilinschwarz.

Pigmente (lat. pigmentum = Farbe, Schminke) sind Festkörper, die in Bindemitteln unlöslich sind. Sie können unterschiedlich grob oder fein gemahlen werden, wodurch sich deren Brechungsindex, das Reflexionsvermögen und auch die Deckfähigkeit verändern. Die Pigmente werden in natürliche und künstliche, organische und anorganische Pigmente eingeteilt oder

nach ihrer Farbe, Herkunft und der chemischen Zusammensetzung eingruppiert. Um das Verhalten der Pigmente im jeweiligen Bindemittel zu verstehen, ist die Betrachtung gemäß der chemischen Zusammensetzung erforderlich. Sie werden in folgende Gruppen gegliedert:

Erdalkaligruppe	Calcium, Barium, Strontium
Zinkgruppe	Magnesium, Zink
Cadmiumgruppe	Cadmium, Quecksilber
Kupfergruppe	Aluminium, Kupfer, Silber, Gold
Titangruppe	Titan, Zirkon
Bleigruppe	Blei, Zinn
Chromgruppe	Chrom, Molybdän, Wolfram
Eisengruppe	Mangan, Eisen, Nickel, Kobalt
Kohlenstoffgruppe	Kohlenstoff, Silizium
Arsengruppe	Arsen, Antimon, Wismut, Vanadin

Beim Herstellen der Malfarben ist darauf zu achten, dass nicht jedes Pigment mit jedem Pigment oder jedem Bindemittel gemischt werden darf, weil es zu chemischen Reaktionen kommen kann. Es gibt Pigmente, die nicht in Säuren oder Alkalien beständig sind. Sie dürfen dann nicht mit Kalk oder Silikaten gemischt werden. Kreide zum Beispiel sollte nicht mit sauren Kupferpigmenten und sauren Malmitteln vermengt werden. Pigmente, die mit Schwefelwasserstoff dunkel gefärbte Sulfide bilden, wie unter anderem Bleiweiß, Mennige, Azurit, Malachit oder Zinnober, sind in wässrigen Bindemitteln unbeständig. Mischt man sulfidhaltige Pigmente, wie Ultramarin und Cadmiumrot, mit Kupferpigmenten oder beispielsweise mit Bleiweiß, bilden diese dunkle Sulfide. Bleiweiß und Massicot erzeugen in Verbindung mit Öl Metallseifen, wodurch die Trocknung des Bindemittels beschleunigt wird. Deshalb werden sie auch als aktive Pigmente bezeichnet. Andere Pigmente werden in bestimmten Bindemitteln lasierend, wie die manganhaltige Sienaerde, wenn sie mit Öl gemischt werden. Einige Pigmente neigen in ölhaltigen Malfarben zum Bluten wie bestimmte Sorten des Preussischblaus. Der zusammenfassende Einblick zum Umgang mit Malfarben soll eine Vorstellung vom notwendigen Grundlagenwissen zu diesem Thema vermitteln. [Hering, B., Kühn, H., Roosen-Runge, H., et al.; Wehlte, K.; Kittel, H.; Schramm, H.-P., Hering, B.]

2.2 Wandmalerei

Wandmalereien können auf vielfältige Art und Weise auf allen mineralischen Untergründen ausgeführt werden. Die Wandmalereiarten sind die Fresko- (fresco ital. = frisch), Kalk-, Öl-, Leim- und Temperamalerei (temperare lat. = mischen), die alle miteinander kombiniert werden können. Wird eine Malerei in einer Technik begonnen und in einer anderen oder mehreren Techniken abgeschlossen, spricht man von Misch-, Wechsel- und Kombinationstechnik.

In der Wandmalerei gibt es eine maltechnische Ausnahme. Es ist das Fresko. Diese Maltechnik ist die einzige, bei der auf frischem, noch feuchtem Putz gemalt wird. Das Bindemittel der Pigmente ist der im Putz enthaltene Kalk. Alle anderen Malereien werden vollständig a secco – auf trockenen Untergründen – ausgeführt. Deshalb müssen die Pigmente der Malfarben mit einem Bindemittel gebunden werden. Fresken werden ebenfalls mit Malfarben fertiggestellt, wenn entweder der Putz während des Malens zu trocken geworden ist oder in Alkalien unbeständige Pigmente verwendet werden sollen.

Auf einen trockenen Untergrund ist vor allem beim Malen mit Öl-, Ölharz-, Wachs- oder Emulsionsfarben zu achten – zum einen, weil die Putztrocknung und Carbonatisierung durch die Bindemittel dieser Farben verlangsamt oder gar verhindert werden und es später dadurch zu Schäden am Putz kommen kann. Zum anderen können die öligen Bestandteile der Farben durch die alkalischen Bindemittel des Putzes verseift werden. Trotz dieser Bedingungen wurden und werden Malereien in diesen Techniken ausgeführt, weil nicht jede Maltechnik für jeden Untergrund geeignet ist und jede Technik besondere Möglichkeiten beim Malen bietet. Bei der Leimmelerei kann man sowohl deckend als auch lasierend malen. Mit Ölfarben kann auf Wänden wie auf einer Leinwand gemalt werden. Mit einer wässrigen Tempera lassen sich sehr feine und lang fließende, auch lasierende Striche ziehen, mit der fetten Tempera hingegen pastose Farbaufträge vornehmen wie bei der Öl- und Ölharzmalerei. [Philippot, P.; Mora, P., Mora, L, et al.; Knoepfli, A., Emmenegger, O. et al.]

Auf weitere Erläuterungen zu den Maltechniken – außer zu der Kalkmalerei – wird verzichtet. Zum einen, weil alle Referenzobjekte als Kalkmalereien ausgeführt wurden und deshalb hier nur diese Technik von Interesse ist. Zum anderen, weil es zum Thema Wandmalerei ein hervorragendes und umfangreiches Literaturangebot gibt.

2.2.1 Kalkmalerei

Kalkmalereien können auf trockenem, abgebundenem oder noch feuchtem Kalkputz ausgeführt werden. Vor dem eigentlichen Malen kann ein Entwurf als Skizze erstellt werden, der sowohl freskal (auf dem feuchten Putz), auf dem trockenen Verputz, oder eigens dafür aufgetragenen Kalktünchen angelegt werden kann. Wird die Skizze auf einer Kalktünche ausgeführt, muss der Putz gut vorgemischt werden. Auf die getrocknete Schicht wird dann eine weitere Kalkschlämme aufgetragen und gleich nass in nass gemalt. Beim Malen scheint die Skizze durch die noch nasse Kalkschicht durch. Die Pigmente werden wie beim Fresko vom Kalk gebunden. Für die Herstellung der Farben sind kalkechte Pigmente zu verwenden, die entweder in Wasser, Kalkwasser oder Kalkmilch eingesumpft werden. Als Bindemittelzusatz werden auch Proteine zugegeben. Nicht kalkechte Pigmente oder Pigmente die ihren Brechungsindex stark verändern, wenn man sie auf die nasse Kalkschlämme applizieren würde wie zum Beispiel einige Blaupigmente, werden ganz zum Schluss a secco aufgetragen. Die Kalkmalerei erscheint matter als ein Fresko. Das liegt daran, dass der Putz beim Fresko durch das Glätten einen feinen Glanz bekommt. Aufgrund der Oberflächenbeschaffenheit wirkt die Kalkmalerei auch nicht so lasierend wie ein Fresko, da die Oberfläche je nach Untergrundbeschaffenheit die Farbe unterschiedlich aufnimmt. [Knoepfli, A., Emmenegger, O. et al. 1990, S. 61 ff., 71 ff.]

2.3 Casein in der Malerei und Restaurierung aus quellschriftlicher Sicht

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde umfangreich zum Gebrauch verschiedener Werkstoffe in der Wandmalerei geforscht. Aus dem deutschsprachigen Raum sind hier besonders Alexander Eibner und Ernst Berger hervorzuheben. Ein überraschendes Ergebnis ist, dass der Einsatz von Casein in der Malerei bis in das 18. Jahrhundert hinein nicht mit Rezepturen untermauert worden ist. Es wurde vielmehr versucht, die Verwendung von Casein vor dieser Zeit durch naturwissenschaftliche Experimente zu belegen, bei denen stickstoffhaltige Stoffe nachgewiesen wurden. Der Nachweis von Casein wurde durch das Ausschlussverfahren verschie-

dener Untersuchungsergebnisse vorgenommen. [Eibner, A. 1991, S. 105] Berger bemühte neben dem Quellenstudium auch seine maltechnischen Versuche, um Hinweise für die Benutzung von Casein in der Wandmalerei zu finden. [Berger, E. 1986, S. 93, 120, 123 ff., 181]

Das erste schriftliche Dokument für eine mit Kalkcasein ausgeführte Malerei stammt laut Eibner aus dem Nachlass des Kirchenmalers Martin Knoller aus Steinach aus dem 18. Jahrhundert. [Eibner, A. 1991, S. 430 ff.] An ihm bekannten Ausmalungen, wie dem Chorgemälde in der Klosterkirche in Ettal und Deckengemälden in Neresheim, rühmt er die unveränderte Farbenfrische. Er hebt mehrmals die Wetterfestigkeit des Käsekalks hervor, benennt allerdings auch Malereien, die mit Casein ausgeführt wurden und schon recht bald aufgrund ihrer starken Schäden restauriert werden mussten.

Kurt Wehlte, Akademieprofessor für Maltechnik, befasste sich mit dem Gebrauch von Casein in der Restaurierung und Malerei. Er riet davon ab, Quark selbst herzustellen, zu trocknen und zu Grieß oder Pulver zu zermahlen. Er war der Meinung, dass für maltechnische Zwecke nur fein gemahlene Milchsäurecaseine geeignet seien und lehnte mit Salz-, Schwefel- oder Essigsäure gefällte Caseine als Bindemittel ab. Beim Einsatz von Casein wird auf eventuell auftretende Spannungen, die zum Abblättern und völligen Zerstörung der Wandmalerei führen können, hingewiesen. Hinsichtlich des schwierigen Umgangs mit bereits abblätternden und zu sichernden Farbschichten hielt er fest, dass Malschichtfestigungen früher ausschließlich mit Kalkcasein vorgenommen wurden und bei erneut auftretenden Schäden an diesen Stellen die Sicherungen wieder mit Casein auszuführen seien. [Wehlte, K. 1981, S. 370]

Max Doerner, ebenfalls Akademieprofessor, macht genaue Angaben zur Verwendung des Topfencaseins (Topfen = Quark) und des von ihm „künstlich“ genannten Caseins, womit industriell hergestellte Pulvercaseine gemeint sein dürften. Er äußert sich zur Benutzung von Chemikalien zum Aufschluss der Caseine, spricht über Anwendungsgebiete und thematisiert vor allem im Kapitel über die Restaurierung der Wandbilder die Festigung von Malschichten durch Caseine. Stark verdünntes Ammoniak- oder Topfencasein, das mit 4 %iger Formalinlösung behandelt wurde, beschreibt er als Fixiermittel. [Doerner, M. 1922, S. 260]

Hermann Kühn, ein international anerkannter Chemiker auf dem Gebiet der naturwissenschaftlichen Untersuchung und Konservierung von Kunstgegenständen, ging in einem Beitrag unter anderem Aussagen zur Verarbeitung des Caseins nach, die bereits 1903 von Georg Ha-

ger gemacht worden waren. Darin wird zur Malschichtfestigung Kalkwasser oder Casein empfohlen. Es soll bei der Festigung mit dem Fixierrohr aus möglichst weiter Entfernung wiederholt aufgesprüht werden, um den Wassereintrag zu reduzieren und das Herablaufen des Fixiermaterials zu verhindern. Kühn selbst geht detailliert auf die Motive ein, Überzüge auf Wandmalereien nach deren Restaurierung aufzubringen. Er stellt fest, dass diese Überzüge in der Überzeugung verwendet wurden, Trübungen zu reduzieren oder zu beseitigen und den Farben wieder Tiefe zu geben. Auch das Ansinnen, die Überzüge als Schutz aufzutragen, beschreibt er und dass selbst fortschrittliche Konservatoren wie Georg Hager von der Schutzwirkung eines Überzugs überzeugt waren. [Kühn, H. 2002, S. 255 ff.]

Eibner hingegen verurteilte die Verwendung von Überzügen und warnte vor allem vor den stark lichtbrechenden Schichten. Er schrieb über Verfärbungen, die Irreversibilität und die chemischen Prozesse wie die Oxidation und Vernetzung von eingebrachten Festigungsmitteln in die Malschichten und darunterliegenden Putze. Beim Vergleich der optischen Erscheinungen von Malereien vor und nach solchen Behandlungen kommt er zum Schluss, dass sie sich meist erheblich verschlechtern. Als weitere negative Faktoren hält er fest, dass die genannten Überzüge Schmutz binden und den Feuchtigkeitsaustausch behindern, was zu Putz- und Malschichtschäden führen kann. Eibner erkannte in diesem Zusammenhang auch, dass organische Bindemittel ideale Nährböden für Mikroorganismen sind. [Eibner, A. 1991]

2.4 Referenzobjekte

Bei den hier vorgestellten Referenzobjekten handelt es sich um mittelalterliche Kalkmalereien. Sie sind bereits restauratorisch und teilweise auch naturwissenschaftlich untersucht worden. Diese Untersuchungsergebnisse führen prinzipiell zu vergleichbaren Fragestellungen. Eine der wichtigsten Fragen lautete: Wie ist mit den Caseinüberzügen und den daraus resultierenden Schäden umzugehen, um die Malereien zu erhalten? Diese Frage war für die Auswahl der Referenzobjekt und auch für die Themenstellung der vorliegenden Arbeit ausschlaggebend.

2.4.1 Die Wandmalereien auf der Westwand im ehemaligen Kapitelsaal der ev. luth. Kirche St. Alexander in Wildeshausen

Die Alexanderkirche steht auf einer Anhöhe über der Hunte in der Stadt Wildeshausen im Landkreis Oldenburg in Niedersachsen. Sie ist eine dreischiffige Basilika mit Querschiff, quadratischem Chor und einer Westturmanlage und gehört zu den bedeutendsten Kirchenbauten aus der ersten Hälfte des 13. Jahrhunderts in Nordwestdeutschland. Der ehemalige Kapitelsaal des Stiftes wird in die 2. Hälfte des 13. Jahrhunderts datiert. Er liegt eingebettet zwischen dem südliche Querhaus, dem Kirchenchor und dem ehemaligen Remter, so dass er nur eine Außenwand nach Osten aufweist. Die Wände sind aus Granitfindlingen und Backstein gemauert, auf denen zwei Malereien übereinander liegen. Die eine Malerei entstand um 1270, die andere im 15. Jahrhundert.



Abb. 1 Ostwand des ehemaligen Kapitelsaals

Wandmalereiaufbau und Maltechnik

Der Malgrund der um 1270 entstandenen Ausmalung besteht aus einem einlagigen, ca. 0,5 cm dicken Putz und dünnen Kalktünchen. Die Malerei wurde mit Grün sowie mit schwarzem, rotem und gelbem Ocker ausgeführt. Aufgrund der Oberflächenstruktur im Bereich der Malerei, an der der Pinselduktus erkennbar ist, kann gefolgert werden, dass die Malerei nass in nass ausgeführt wurde und freskalo abgebunden ist. Dafür spricht auch die gute Haftung zum Putz. Zuerst wurden die Binnenflächen farblich angelegt. Die Konturen der Haare, Augen, Brauen, Nasen und Münder und der in Ockertönen gestalteten Hände, Köpfe und Hälse wurden mit Rot gemalt und zum Teil mit Schwarz verstärkt. Von dieser Malerei sind zwei Szenen freigelegt: ein Teil einer Vergänglichkeitsdarstellung, die „Begegnung der drei Lebenden und der drei Toten“ (Falkenjagd) und Teile einer derzeit nicht zuzuordnenden Szene. Die Ausmalung des 15. Jahrhunderts, die vom Leben Christi erzählt, liegt auf der älteren.



Abb. 2 Dargestellt sind auf der Westwand folgende Szenen: Christus unter den Schriftgelehrten (Der zwölfjährige Jesus im Tempel; nur noch fragmentarisch erhalten), Taufe Christi (nur noch fragmentarisch erhalten), 40 Tage in der Wüste (Segnender oder wundertätiger Jesus), Einzug in Jerusalem (nur südliche Bildhälfte erhalten), Abendmahl (Paschamahl), Gethsemane, Gefangennahme Jesu (Judaskuss), Christus vor Herodes, Kreuztragung (Jesu Gang nach Golgatha). Über der Tür ist die Szene der Falkenjagd der älteren Ausmalung zu sehen.

Als Ausgleichsschicht wurde ein dünner Putz mit grobem Sand als Zuschlagsstoff aufgetragen, ohne den darunterliegenden Putz zu zerhacken. Tagwerksgrenzen sind nicht sichtbar. Auf den Putz folgt eine Kalkschlämme, auf die während des Malprozesses immer wieder dünne Kalktünchen aufgetragen wurden, auf die wiederum sogleich gemalt wurde. Dadurch konnte die Malerei freskalt abbinden. Zum Teil wurden Vorzeichnungen mit rotem Ocker angelegt und dann die Binnenmalerei mit Grün, gelbem bzw. rotem Ocker gemalt. Gürtel, Schwerter und andere Details wurden schwarz ausgeführt. Anschließend wurden die Konturen mit rotem Ocker nachgezogen. Die Sterne wurden mit Mennige gemalt. Die Malerei wurde durch eine a secco aufgemalte Rahmung in einzelne Kompartimente gegliedert. Auf die roten Rahmen wurden Rosetten gestupft, wie es in der Tafelmalerei zu dieser Zeit üblich war.

Restaurierungsgeschichte

Im Jahre 1892 erfolgten erste Teilfreilegungen an den Wandmalereien. 1907-1911 wurden die Wände mit Jute bespannten Klappen geschützt. Diese konnten geöffnet und die Malereien betrachtet werden. Ab 1953 wurde die Freilegung fortgesetzt und die gesamte Ausmalung restauriert. Im selben Jahr war Prof. Wehlte vom Institut für Technologie der Malerei in Stuttgart bei den Maßnahmen gutachterlich tätig und empfahl zur Putzfestigung und Oberflächenfixierung Kalkcasein. Putzschollen wurden daraufhin entsprechend hinterspritzt und mittels der sogenannten Freskopresse niedergelegt. Der Rahmen wurde mit Kalkcaseinfarben bis auf einen kleinen Bereich übermalt. Abschließend wurden die Wandmalereien mindestens einmal mit Kalkcasein getränkt, die Westwand wahrscheinlich sogar ein zweites Mal. Die Fixierung der Malereien erfolgte vermutlich, um sie optisch aufzufrischen. Schon 1967-1968 beschrieb der Restaurator Hans Weikert nach mehreren Besuchen der Sakristei die auch heute in Folge dieser Konservierungsmaßnahme zu beobachtenden Schäden. Im Anschluss an diese Arbeiten fanden noch weitere Maßnahmen an den Malereien statt, die allerdings nicht schriftlich belegt sind. [Akten des NLD, zur Akte der ev. luth. Kirche St. Alexander in Wildeshausen]

Beschreibung der durch die Malschichtfestigung und -fixierung bedingten Schäden an den Wandmalereien

Durch den Einsatz der Freskopresse zur Putzsicherung sind Risse und Quetschungen entstanden. Am unteren Rahmen der Abendmahlsszene, ein Bereich, der nicht übermalt wurde, wischt die Malschicht. Das Bindemittel ist an dieser Stelle abgebaut. Der restliche von Weikert mit Kalkcaseinfarbe übermalte Rahmen wurde durch die Fixierung der gesamten Ausmalung mit Kalkcasein übersättigt. Auch die anderen Malereien der Westwand sind übersättigt, was vermutlich an einer mehrfachen flächigen Beschichtung mit Kalkcasein liegt. Die Fixierung ist teilweise stark verbräunt. Die Malschichten sind hart und spröde. Sie stehen dachförmig auf, blättern ab oder rollen in kleinen Schuppen auf und reißen dann vom Untergrund ab. Als weiterer Schaden konnte ein starker Pilzbefall, der als Weißschleier sichtbar ist, festgestellt werden. Er ist mit bloßem Auge an der Westwand an der Darstellung "Christus am Ölberg", "Judaskuss", "Christus vor Herodes", "Abendmahl" und der Falkenjagd erkennbar, an der Südwand im Bereich der nicht identifizierten Darstellungen, an der Nordwand oberhalb und neben der Tür sowie im Bereich der westlichen Gewölbekalotte. Am neu verputzten Sockel der nordwestlichen Ecke sind rosa Bakterien augenfällig.

Für die anstehenden Untersuchungen wurden folgende Proben an der Westwand entnommen:

Probe 1. Linker Rahmen der Szene 40 Tage in der Wüste, Entnahme im Weißbereich des Spruchbandes auf Höhe der erhobenen Hand Jesu.

Probe 2. Linker Rahmen der Szene 40 Tage in der Wüste, Entnahme im Bereich einer übermalten Bordüre

Probe 3. 40 Tage in der Wüste, Entnahmestelle im Weißbereich des Männerkopfes

Probe 4. Einzug nach nach Jerusalem, Entnahmestelle am Hinterteil des Esels.

Allen Proben ist gemeinsam, dass die Malschichten erheblich aufrollen, dachförmig aufstehen und sehr spröde und hart sind. Das Casein reißt den Malschichtträger vom Putzträger ab – ein typisches Schadensbild für Überfixierungen mit Casein.

Es wurde Probe 1 analysiert, da es sich bei dem Weiß um Kalk und nicht um ein gegebenenfalls störendes und zu entfernendes Pigment handelt.

2.4.2 Die Wandmalereien im Chor der ev. luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg

Die ev. Pfarrkirche in Bächlingen, ehemals Maria, Johannes Baptist und dem Evangelisten Johannes geweiht, liegt im Jagsttal unterhalb der Stadt Langenburg im Landkreis Crailsheim in Baden-Württemberg. Im Chorturm des gotischen Saalbaus, der in das frühe 14. Jahrhundert datiert wird, befinden sich die um 1335 entstandenen Wandmalereien.



Abb. 3 Die ev. luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Südost-Ansicht

Wandmalereiaufbau und Maltechnik

Auf die aus Bruchstein gemauerten Wände wurden mehrere ausgleichende Putzschichten aufgebracht. Die aus Quadern bestehenden Fensterlaibungen wurden nicht verputzt. Die Malereien wurden in Kalkseccotechnik ausgeführt. Erhalten blieb im Wesentlichen die Sinopie. Wie viel von der ursprünglichen Ausmalung noch erhalten ist und ob Tagwerksgrenzen vorhanden

sind, kann derzeit nicht gesagt werden. Auf den ursprünglich wohl rotbraun gestrichenen Chorbogen wurden Steinlagen gemalt. Für die Ausmalung wurden hauptsächlich blaue und ockerfarbene Pigmente verwendet. Am Triumphbogen sind die Klugen und Törichten Jungfrauen, im Chorgewölbe die Evangelisten mit ihren Symbolen und an den Wänden unter anderem die Passion und Auferstehung Christi zu sehen.



Abb. 4 Wandmalerei in der Pfarrkirche mit der Darstellung der Verkündigung an Maria

Restaurierungsgeschichte

Die Wandmalereien wurden im Zuge der Reformation 1584 abgedeckt. Sie werden das erste Mal in dem 1906 publizierten Inventarband von Eugen Gradmann erwähnt; die Rede ist dabei von einem übermalten Wandgemälde – Christus am Ölberg. 1914 wurde der Kunstmaler Schmidt aus Schwäbisch Hall mit der Freilegung der Wandmalereien beauftragt. Er klopfte die Anstriche ab, was zu dieser Zeit nicht unüblich war. Anschließend soll Schmidt vom Kunstmaler Reile aus Stuttgart abgelöst worden sein. Ende April 1954 werden die Wandma-

lereien von Willy Eckert aus Bad Mergentheim restauriert. Er merkte an, dass die Malereien zum Teil noch verdeckt seien und nur ihre Hintergründe behandelt wurden.² Seiner Rechnung ist zu entnehmen, dass er die Malereien im Chor gereinigt, Fehlstellen im Putz mit Haarkalkmörtel geschlossen und in Freskotechnik eingetönt hat. Gelockerte Putzstellen hinterspritzte er. Alte Fassungen an den Rippen wurden freigelegt und Fehlstellen eingetönt. Die Malereien wurden entsprechend oft fixiert. Der Chorbogen wurde abgekratzt und farbig passend gefasst. Die unbemalten Sockelflächen strich er im Lokalton, noch verdeckte Malereien legte er frei.³ Ein Jahr später wurde Eckert bereits darauf hingewiesen, dass sich Teile der restaurierten Gewölbemalerei ablösen und abrollen. Die Ursache wird auf die im Chor befindlichen Heizkörper zurückgeführt. Nachdem Pfarrer Fritz 1974 auf Schäden an den Wandmalereien aufmerksam machte, wurde trotz der Dringlichkeit Norbert Eckert erst im Februar 1979 beauftragt, die Wandmalereien zu konservieren und zu restaurieren. Die Arbeiten, Reinigung und Fixierung der Malereien, Hinterspritzen loser Putzstellen, Schließen von Rissen und Eintönen der Fehlstellen im Lokalton⁴, schloss er im Juni desselben Jahres ab.

Beschreibung der durch die Malschichtfestigung und -fixierung bedingten Schäden an den Wandmalereien

Aufgrund der Heizkörper im Chor ist davon auszugehen, dass ein nicht unerheblicher Substanzverlust der Malschichten erfolgt ist. In einem 1987 erstellten Gutachten werden Schäden, bedingt durch die Caseinfixierungen, festgestellt, die sich als aufstehende Malschichten und Abplatzungen dokumentieren lassen. Darüber hinaus hat sich der Mörtel teilweise gelöst. Neben Verschmutzungen und Feuchtebelastung konnte ein weißer Belag konstatiert werden. Ob es sich hierbei um Salzausblühungen oder Mikroorganismen handelt, kann derzeit nicht belegt werden. [Akten des LDA BW, Ortsakte ev. Luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg]

Für die anstehenden Untersuchungen wurden folgende Proben an der Südwand entnommen:

Probe 1. Glänzender Läufer, an dem sich die Malschichtschollen stark aufrollen.

Probe 2. Übermalung in einem ockerfarbenen Feld, ohne Glanz.

Probe 3. Entnahme aus einem ockerfarbenen Bereich, der optisch intakt wirkt.

Es wurde Probe 1 analysiert, da hier der Überzug ohne anhaftende Pigmente präpariert werden konnte.

2.4.3 Die Wandmalereien in der Kirche in Vendel, Uppland, Schweden

Die Kirche in Vendel ist im Uppland in Schweden gelegen. Sie wurde zwischen 1275-1290 gebaut. [Herlin, T., Norström, B. Z] Die erste Wandmalerei stammt aus dem 14. Jahrhundert. Deren Reste sind unter anderem in der Sakristei und im Chor auf den Gewölbebögen sichtbar. Im Rahmen der baulichen Erweiterung der Kirche (Verlängerung des Langhauses und Neuwölbung des Raumes) wurde die Wandmalerei, die heute den größten Teil der Wände bedeckt, um 1450 von dem Maler Johannes Iwan geschaffen. Im 18. Jahrhundert wurden die Malereien im Rahmen einer größeren Instandsetzungsmaßnahme überkalkt, da die Fenster vergrößert und die Kirche abermals erweitert wurden.



Abb. 5 Historische Aufnahme der Kirche in Vendel von 1923

Wandmalereiaufbau und Maltechnik

Die Kirchenwände wurden zweischalig in Ziegel gemauert. Die Wände sind einschichtig mit einem ca. 2-10 mm dicken Kalkmörtel verputzt, der neben Quarzsand auch Stroh- und Grashalme als Zuschlag beinhaltet. Der Putz enthält neben Kalkspatzen auch Luftporen. Auf der Südwand des Chores gibt es zwei horizontal verlaufenden Putzgrenzen, sogenannte Pontate. Über der Putzschicht liegt eine 0,1-0,5 mm dicke Kalkschicht, die als Malgrund dient. An manchen Stellen existiert eine Kalkschlämme, die ca. 0,3 mm dick ist und auf dem Putz liegt. Partiiell ist die Malerei sogar in diese Schicht eingedrungen. Teilweise wurde auf diese Schlämme auch gekalkt, um darauf zu malen. Man hat eine Mischung aus einer Kalkmalerei und einer Seccotechnik (die Malerei wurde auf einem trockenen Putz und einer trockenen Kalkschlämme ausgeführt) gewählt. Unterzeichnungen wurden mit bloßem Auge nicht gesehen, aber unter dem Mikroskop konnte eine braune Farbe unter dem Kalkanstrich beobachtet werden. Kreisförmige Ritzungen und „Zirkeleinstichlöcher“ in den Nimben sowie geritzte Linien, die die architektonischen Einteilungen markieren, wurden festgestellt.



Abb. 6 Figürliche Wandmalerei

Restaurierungsgeschichte

In den 1930er-Jahren wurde der Kirchenraum restauriert und ihm eine neue, ganzheitliche Gestaltung gegeben. Die weiße Übermalung des 18. Jahrhunderts wurde abgehackt, sodass die darunterliegende, aber geschädigte Wandmalerei zum Vorschein kam. Die Malerei wurde in den Bereichen, wo die Originalfarbe undeutlich war, ergänzt und in den Bereichen, wo die Farbe fehlte, rekonstruiert. Anschließend fixierte man die Malerei mit Casein, das einen durchscheinenden Leim ergibt, wenn man es mit Hirschhornsalz oder Borax mischt. 1979 besichtigte das schwedische Denkmalamt die Malereien und plante eine Reinigung. Man notierte, dass die Malerei geschädigt sei und untersuchte die durchsichtige Schicht, die abblätterte. Analysen zeigten, dass es sich um ein Protein handelte, das man als Casein deutete. Die geplante Reinigung wurde gestoppt, weil man kein schlüssiges Konzept hatte, um die abblätternde Malerei zu konservieren.

Beschreibung der durch die Malschichtfestigung und -fixierung bedingten Schäden an den Wandmalereien

Das Casein wurde an manchen Bereichen mit der Zeit hart, spröde und blätterte ab. Die darunterliegenden Farbschichten, die an das Casein gebunden waren, lösten sich vom Putz. Die Schollen waren oft sehr klein und befanden sich dicht aneinander. Diese Schäden waren vor allem im Chor festzustellen. Die rekonstruierte Malerei war an das Casein gebunden. Bei einer Caseinreduzierung hätte man im Zweifelsfall riskiert, diese Malerei mit aufzulösen. Es konnte nicht geklärt werden, ob das Casein zum eigentlichen Bindemittel der Malerei gehörte oder ob es im Zusammenhang mit dem Auftrag der Caseinschicht eingebunden wurde. Die Caseinschicht wurde ungleichmäßig aufgetragen und war an manchen Stellen sehr dick. Es gab auch Partien, wo das Casein die Wände heruntergelaufen war.⁵ [Svahn, H.]

Für die anstehenden Untersuchungen wurden folgende Proben entnommen:

Probe 1. Abblätterung mit blauer Farbe (vermutlich Azurit)

Probe 2. Abblätterung mit blauer Farbe.

Lediglich Probe 2 wurde analysiert, da die Probenmenge von Probe 1 nicht ausreichend war.

2.5 Alterungsphänomene und Schäden

Der Begriff Alterung ist ein in der Restaurierung geläufiger und häufig verwendeter Ausdruck. Er bildet sozusagen die Grundlage zur Beschreibung von Ausgangssituationen, die an Objekten angetroffen werden. Basierend auf diesen vor Ort herrschenden Bedingungen – die zu erfassen sind – können Alterungsphänomene, Schäden und deren Entstehung dargelegt werden. In der Werkstoffkunde wird die Alterung als irreversibel verlaufende chemische und physikalische Veränderung von Materialien und deren Eigenschaften in Abhängigkeit zur Zeit beschrieben, die durch deren Lagerung oder Gebrauch entstehen. [DIN 50 035, Brockhaus Enzyklopädie] Die Veränderungen von Materialien werden durch innere und äußere Alterungsursachen bedingt. [DIN 50 035] Als innere Alterungsursachen werden thermodynamisch instabile Zustände des Materials beschrieben. Diese Zustände können von einer nicht vollständigen Polykondensation, Polymerisation oder Polyaddition, der Eigen- und Orientierungsspannung und einer nur begrenzten Mischbarkeit einzelner Materialien mit einem hochpolymeren Grundstoff stammen. Mit äußeren Alterungsursachen sind chemische und physikalische Einflüsse aus der Umgebung auf ein Material gemeint. Die Belastungen können thermisch, chemisch, mechanisch, biologisch oder durch Strahlung und Witterung bedingt sein. [Trubiroha, P. 1990, S. 88]

In der Restaurierung sind vor allem Informationen über die verwendeten Produkte von Interesse, bei Objekten in Innenräumen interessieren die Belastungen durch UV-Strahlung, Temperatur- und Feuchtwechsel, denn dies sind die wesentlichen Einflussfaktoren, die zu den nachfolgend beschriebenen Schäden bei der Verwendung von Casein führen können.

2.5.1 Schichtentrennung

Einen horizontal verlaufenden Schaden im Schichtenaufbau von Fassungen nennt man Schichtentrennung. Der Schaden kann recht unterschiedlich aussehen. Lediglich beim Bindemittelversagen kann eine Schädigung in allen Ebenen erfolgen. Als Schichtentrennung sind vor allem beginnende Schäden zu benennen, deren Form noch nicht sichtbar ist. Nicolaus differenziert folgende Schäden, die durch Schichtentrennung entstehen: das Bindemittelversagen (Abpulvern), die Abhebung, die Blase und die Lufttasche. [Nicolaus, K., o. J., S. 189 ff.]

Schichten können sich auch auf unterschiedlichen Ebenen trennen. Die Malschicht kann direkt vom Malschichtträger wie Putz, Stein oder Holz gelöst werden. Nicolaus verwendet dafür den Begriff Bildschichtentrennung. Es kann aber auch zu Trennungen in der Untermalung oder zwischen Untermalung und Malschicht sowie innerhalb der Farbschicht und zwischen Überzug und Malschicht kommen. Ist die Trennung fortgeschritten, wird sie als Abhebung der entsprechenden Schicht bezeichnet. Je nach Ursachen kann zwischen Abblättern, Abrollen, Abplatzung, Absplitterung usw. unterschieden werden. Bei Verlust der jeweiligen Schicht spricht man von einer Fehlstelle. [Eibner, A. 1991, S. 431 ff., Nicolaus, K. o. J., S. 189 ff.]

Schichtentrennungen erfolgen meist durch folgende Faktoren:

- Unterschiedliches Quellen und Schwinden des Untergrundes und der Malschicht aufgrund der verschiedenen hygroskopischen Eigenschaften, bedingt durch Änderungen der rel. Luftfeuchtigkeit in Abhängigkeit zur Temperatur, können Schichtentrennungen verursachen.
- Ein weiterer Faktor kann ein falscher maltechnischer Aufbau sein, der zu Spannungen innerhalb der verschiedenen Schichten führt.
- Des Weiteren können Spannungen durch ein eingebrachtes Mittel zur Festigung einer Schicht für Trennungen verantwortlich sein. Bevor jedoch eine Festigung erforderlich wird, muss es schon zu einer Schichttrennung gekommen sein, die auch durch den Abbau eines Bindemittels durch Feuchte, Salz, Mikroorganismen und auch deren abgespaltenen Säuren ausgelöst worden sein kann.
- Eine falsche Behandlung, wie das Auftragen von spannungsreichen Überzügen, z. B. zur Verbesserung des optischen Erscheinungsbildes des Objekts, darf heute neben den bauphysi-

kalischen Einflüssen als einer der gravierendsten Schäden überhaupt gelten. Bildet sich hinter einer relativ dichten hygroskopischen Schicht ein Feuchtigkeitsstau, wird diese gequollen. Nimmt die Feuchtigkeitszufuhr wieder ab, schrumpft diese Schicht wieder. Wiederholt sich dieser Vorgang mehrmals, beginnen sich die entsprechenden Schichten voneinander zu lösen. Erfolgt die Quellung von hinten, wird sich eine Blase bilden, die mit der Zeit aufbricht, oder die oberste Schicht wird sich zelt- oder dachförmig immer wieder anheben und zurückgehen. Dieser Prozess wird sich, sofern die Ursache für den Schaden und der Schaden selbst nicht behoben werden, so lang fortsetzen bis die Schicht an ihren äußeren Kanten abbricht und verloren geht.

Besteht die oberste Schicht hingegen aus einem Film, der spannungsreicher und hygroskopischer als die darunterliegende Schicht ist, wird die Malschicht gegebenenfalls mit anhaftendem Putz vom Untergrund abgerissen. Der Schaden tritt dann als Abrollen oder Scholle auf.

- Beim Versagen des Bindemittels wischt oder kriedet die entsprechende Schicht. Es werden dabei die Adhäsionskräfte innerhalb der Schicht so stark reduziert, dass keine Bindung mehr zwischen dem Pigment, Füllstoff, Bindemittel und der darunterliegenden Schichten vorhanden ist. Im Bereich der Wandmalerei kann der Abbau des Bindemittels durch Salze, Säuren und Mikroorganismen bedingt sein. Für alle Arten des Bindemittelabbaus bedarf es eines erhöhten Feuchtigkeitsgehaltes in der

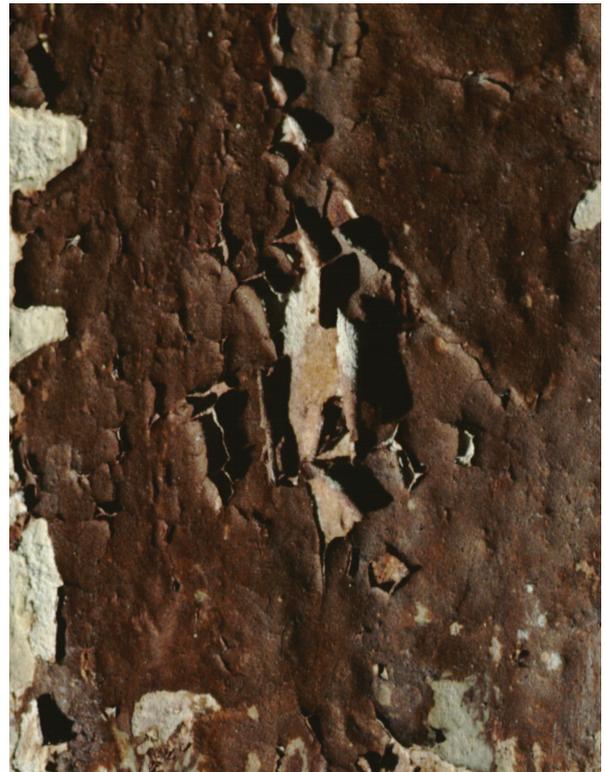


Abb. 7 Vom Putz abrollende, abplatzende spannungsreiche Malschicht



Abb. 8 Wischende Malschicht, nach Bindemittelabbau

Schicht. Ein Bindemittelversagen kann sowohl in der Malschicht als auch einer darunterliegenden Schicht erfolgen. Ist das Zweite der Fall, wird sich die darüberliegende Malschicht in Form einer Scholle vom Untergrund abheben.

- Versprödet ein Bindemittel, erfolgt eine Alterung, die unter anderem durch UV-Einstrahlung und die Oxidation gefördert wird. Bei Leimen spricht man dann auch von „Verhornung“ – Denaturierung. Bei der „Verhornung“ kann es zum splittrigen Aufbrechen der Malschicht kommen. Meistens geht die „Verhornung“ mit einer Veränderung der Löslichkeit des Bindemittels einher, es wird schwerer löslich.

2.5.2 Glanzbildung, Gilben und Verbräunen

Verfärbungen und nachträglich entstandener Glanz von Bindemitteln, als Folge von Oxidation bzw. Photooxidation, sind dann zu Schäden zu zählen, wenn es zu irreversiblen Reaktionen des Bindemittels mit darunterliegenden Schichten kommt oder sich das Bindemittel nicht mehr entfernen lässt. Verfärbte oder glänzende Überzüge, die abgenommen und erneuert werden können, sind hin-



Abb. 9 Verbräunung im Bereich der Figuren

gegen nicht zu den Schäden zu zählen, da die originale Substanz nicht gefährdet wird.

Eine Reaktion, die zur Verbräunung des Caseins führen kann, ist die Maillard-Reaktion. Mit dieser wird die Reaktion zwischen den Proteinen und reduzierenden Kohlenhydraten Melanoidine beschrieben (siehe Kapitel 2.6.3.2 Maillard-Reaktion).

2.5.3 Mikrobieller Befall

Bei mikrobiellem Befall wird die Malerei nicht nur durch enzymatischen Bindemittelabbau und daraus resultierenden möglichen Malschichtverlust (Abpulvern und Schichtentrennung) geschädigt, sondern es kann auch durch die Pigmentierung der Mikroben zu irreversiblen, störenden Flecken bis hin zur Unlesbarkeit einer Malerei kommen. Dabei kann sich je nach Organismus beispielsweise eine Weißschleierbildung, Verschwärzung oder Rosafärbung ausbilden. Ein mikrobieller Befall liegt vor, wenn eine bestimmte, für das Wachstum der Mikroorganismen ideale relative Luftfeuchte sowie pH-Wert und Nährstoffe vorhanden sind.

Damit sich bestimmte Mikroben entwickeln können, müssen die Ausgangsbedingungen so ideal sein, dass sie das Wachstum anderer Mikroorganismen behindern. Bei einigen Bindemitteln ist es darüber hinaus erforderlich, dass sie bereits durch Salze zersetzt wurden, um weiter abgebaut werden zu können. Andere Mikroorganismen wiederum sind resistent gegen Salze und wachsen auch noch bei pH-Werten von 10,5. *Aspergillus* und *Penicillium* können sich bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 85-90 % entwickeln. Die Hefen und Bakterien benötigen hingegen noch höhere Luftfeuchtigkeiten. Die Feuchtigkeit muss entweder als Kondenswasser vorliegen oder wird durch Schmutzablagerungen gespeichert, die auch Nährstoff sein können. [Petersen, K. et al. 2001, S. 221 ff.]



Abb. 10 Mikrobieller Befall in Form eines Weißschleiers

2.6 Casein

Nach der Beschreibung der Bedeutung und Verwendung von Casein als Bindemittel in der Malerei und Restaurierung folgt in diesem Kapitel die naturwissenschaftliche Betrachtung. Sie dient dem besseren Verständnis der anschließenden Untersuchungen.

2.6.1 Caseine

Milch ist der Ausgangsstoff zur Gewinnung von Casein (lat. Caseus = Käse). Sie ist eine wässrige Lösung, in der das Fett in Form von Kügelchen emulgiert ist. Die Proteine, Caseine und globulären Serumproteine sind in der Milch kolloidal dispergiert und nicht untereinander verbunden, sondern frei beweglich (inkohärent korpuskular). [Töpel, A. 1981, S. 15] Der kolloiddisperse Anteil der Caseine in frischer ungekühlter Kuhmilch beträgt ca. 95 %. In einem Milliliter Milch sind ungefähr 10^{14} Caseinmicellen vorhanden. Die Caseinmicellen wiederum enthalten zwischen 20 und 300000 Caseinmoleküle, deren Teilchengrößen zwischen Durchmessern von 0,02 und ca. 0,4 μm (teilweise auch bis zu 0,6 μm) variieren. Die micellare Caseinfraktion einer Rohmilch der Kuh hat durchschnittlich ca. 45,5 Gew.% α -Casein, 35,9 Gew.% β -Casein und 11,9 Gew.% κ -Casein. Deren gesamte Trockenmasse besteht zu 92-93 % aus Casein und zu 7-8 % aus anorganischen Bestandteilen. Der anorganische Hauptbestandteil ist kolloidales Calciumphosphat (Calcium-Magnesium-Phosphat-Citrat-Komplex). Innerhalb einer Micelle sind die einzelnen Caseine ungleichmäßig verteilt. Das κ -Casein befindet sich hauptsächlich an der Micelloberfläche, weshalb kleine Micellen auf ihrer Oberfläche mehr κ -Casein enthalten als größere. Bei einem Micell beispielweise mit einem Durchmesser von 60 nm befinden sich ca. 12 % und bei einem Durchmesser von 150 nm nur 4 % κ -Casein auf der Oberfläche. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 38 ff.]

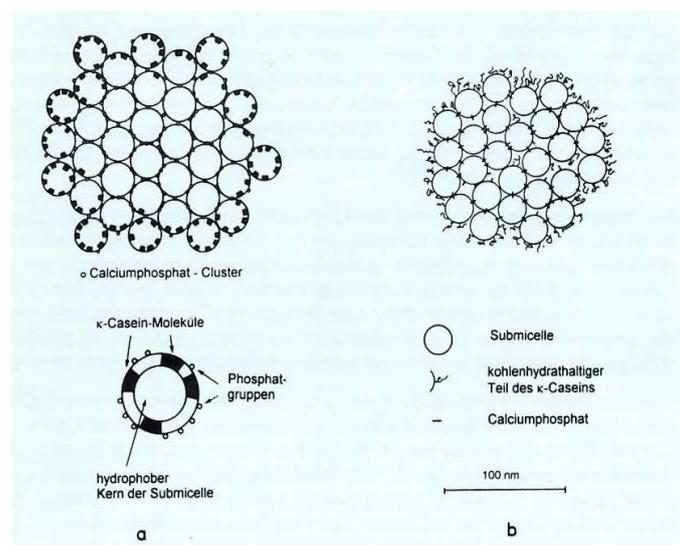


Abb. 11 Modelle für den Aufbau der Caseinmicellen a: nach Schmidt (1982); b: nach Walstra (1990) [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 41]

α_{s1} -Casein

α_{s1} -Casein (α_s -CN) ist mit 38 % der größte Bestandteil der Casein-Komponenten boviner Milch.⁶ Es ist durch Calciumionen fällbar. In den Sequenzbereichen 1 bis 44 und 90 bis 199 ist α_{s1} -Casein hydrophob. Die hydrophoben Bereiche werden durch die polare Sequenz 45 bis 89 getrennt, in der bis auf eine alle Phosphoserin-Gruppen vorhanden sind. Die hydrophoben Regionen enthalten sämtliche Prolinreste. Bislang sind fünf genetische Varianten bekannt: α_{s1} -Casein A, α_{s1} -Casein B bis α_{s1} -Casein E. α_{s1} -Casein B (Rind, *Bos taurus*) setzt sich aus 199 Aminosäuren mit einer molaren Masse von 23614 g·mol⁻¹ zusammen und weist 8 phosphorylierte Serin-Seitenketten auf. Das α_{s0} -Casein unterscheidet sich von dem α_{s1} -Casein B nur durch eine weitere phosphorylierte Serin-Seitenkette in Position 41. Bei α_{s1} -Casein D gibt es neben den 8 phosphorylierten Serin-Resten noch ein phosphoryliertes Threonin in Position 53. Die Varianten A, C und E sind wie das α_{s1} -Casein B in 8 Positionen phosphoryliert. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 43., Töpel 1981, S. 251]

α_{s2} -Casein

α_{s2} -Casein lässt sich ebenfalls mit Calciumionen fällen. Derzeit sind vier genetische Varianten bekannt. Es sind das α_{s2} -Casein A, α_{s2} -Casein B, α_{s2} -Casein C und α_{s2} -Casein D. α_{s3} -, α_{s4} -, α_{s5} - und α_{s6} - bezeichnete Caseine gehören ebenfalls zum α_{s2} -Casein. Sie haben alle die gleiche Primärstruktur, unterscheiden sich aber im Phosphorylierungsgrad. α_{s2} -Casein (Rind, *Bos taurus*) hat eine molare Masse von 25230 g·mol⁻¹ mit einer Peptidkette, die sich aus 207 Aminosäuren zusammensetzt. Das α_{s2} -Casein A hat maximal eine phosphorylierte Threonin-Seitenkette und 12 phosphorylierte Serin-Seitenketten, die in den Sequenzen 7-31, 55-66, 129-143 vorkommen. In Position 36 und 40 enthält es im Gegensatz zu α_{s1} -Casein 2 Cysteinmoleküle. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 45 f.]

β-Casein

β-Casein ist das hydrophobste Casein. Es hat fast den gleich großen Anteil in der Caseinmicelle wie α_{s1} -Casein. Es gibt von ihm 7 genetische Varianten (A^1 , A^2 , A^3 , B, C, D und E). β-Casein A^2 (Rind, *Bos taurus*) mit einer molaren Masse von $29983 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ besteht aus 209 Aminosäuren. Im N-terminalen Bereich der Sequenz 1-35 sind in den Varianten A, B und E fünf Phosphoserine enthalten und in den Varianten C und D vier. β-Casein enthält kein Cystein. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 47 f.]

β-Caseinfragmente (β-Casein)

Durch Plasmin, ein Milchenzym, können aus dem β-Casein drei Fragmente abgespalten werden. Diese werden als γ_1 -Casein (29-209), γ_2 -Casein (106-209) und γ_3 -Casein (108-209) bezeichnet und betragen 3 % in der Caseinfraktion. Die N-terminalen γ -Casein-Fragmente der Sequenzen 1-28, 1-105 und 1-107, 29-105 und 29-107 werden Proteose-Peptide genannt. Das Proteose-Peptid beträgt 0,5-1,8 g/l Milch und stammt von einem Protein der Membran der Fettkügelchen. Es ist elektrophoretisch trennbar, hat hitzestabile, beim isoelektrischen Punkt der Caseine (pH 4,6) nicht präzipitierende Verbindungen, die in der Molke anfallen. Mit Natriumsalzen lassen sie sich bei pH 4,6 fällen. Mit 12 %iger Trichloressigsäure können sie auch aus der Milch gefällt werden. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 48 f.]

κ-Casein

Das κ-Casein (Rind, *Bos taurus*) macht circa 13 % der Caseinmicelle aus und stabilisiert sie. Es sind zwei genetische Varianten (A und B) bekannt. Sie unterscheiden sich voneinander durch den Austausch von zwei Aminosäuren an der Position 136: Thr (A), Ile (B) und Position 148: Asp (A), Ala (B). κ-Casein hat eine molare Masse von $19007 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ und besteht aus 169 Aminosäuren. Es enthält zwei Cysteine, von denen bisher nicht bekannt ist, ob sie eine

Disulfidbrücke bilden bzw. die Caseinmicelle durch intermolekulare Disulfidbrücken stabilisieren. Derzeit wird davon ausgegangen, dass κ -Casein an den Positionen Threonin-131, -133, -135 und -142 und am Serin-141 O-glykosidisch mit Kohlenhydraten verknüpft werden kann. Bevorzugt erfolgt die Verknüpfung allerdings am Threonin-133. Die Kohlenhydratketten enthalten drei bis sechs Teile, die aus Galactose, N-Acetylgalactosamin, N-Acetylglucosamin und N-Acetylneuraminsäure unterschiedlich zusammengesetzt sind. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 49 ff.]

2.6.2 Caseinfällung

In der Restaurierung wurden, wie bereits beschrieben, Casein nach Hammersten, Quark, Milch- und Salzsäurecasein verwendet. Dabei gibt es unterschiedliche Meinungen, welches dieser Caseine am geeignetsten ist. Heute werden hauptsächlich Pulvercaseine verwendet. Früher kamen sowohl die frisch gefällten als auch getrockneten Caseine zur Anwendung.

Bei der Herstellung von Quark nutzt man Milchsäurebakterien, die in der Milch entstehen, wenn die Milch an einem warmen Ort aufbewahrt wird. Das Milchsäurecasein wird durch das Ansäuern der Milch mit Milchsäurebakterien gefällt. Das Casein bildet zuerst ein Gel bevor es ausfällt. Nachdem das Casein gemahlen wurde, ist es locker und körnig. Bei der Verwendung von Salzsäure erfolgt die Fällung sofort. Dieses Casein wird zäh und gummiartig.

Getrocknetes und gemahlene Casein ist ein weißes bis gelbliches Pulver. Es sollte mild und leicht säuerlich riechen. Die Korngröße sollte zwischen 0,3 und 0,6 mm liegen, da feiner gemahlene Caseine beim Quellen zum Klumpen neigen. [Baumann, H. 1967, S. 136] Bei der Säurefällung fallen alle Caseine immer zusammen bei pH 4,6-4,7 aus, obwohl sich ihre isoelektrischen Punkte deutlich voneinander unterscheiden. Die Caseinmicellen sind dann fast unlöslich. [Töpel, A. 1981, S. 260]

Die isoelektrischen Punkte der Hauptproteinfaktoren der Milch sind:

Proteine	as1-CN	as2-CN	b-CN	k-CN
pI (pH)	4,9...5,0	5,2...5,4	5,1...5,5	5,4...5,6 [Töpel, A. 1981, S. 237]

Durch die pH-Änderungen werden die Ionisierung der Aminosäureketten und damit die elek-

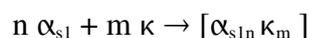
trische Ladungsverteilung beeinflusst, was zu einer Veränderung der Hydrathülle und den Wasserstoffbrückenbindungen führt. Die Caseinmicellen werden denaturiert. [Töpel, A. 1981, S. 239] Das heißt, dass die tertiäre und sekundäre Struktur der Proteinmoleküle gegenüber ihrer nativen Form verändert und der kolloidale Zustand der Caseinmicellen aufgehoben wird. Durch die Hydronium-Ionen wird das Calcium im Casein substituiert, sodass die anfallende saure Molke reich an Calcium ist. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 51] An den hydrophoben Peptidfrequenzen erfolgt der Zusammenschluss der Caseinmoleküle zu großen Molekülverbänden über hydrophobe Wechselwirkungen. Beim α_{s2} -Casein und κ -Casein sind auch Disulfidbindungen beteiligt. Dabei können zwei Cysteinreste in einer gefalteten Polypeptidkette oder zwei voneinander unabhängige Peptidketten intramolekular miteinander verbunden werden. [Töpel, A. S. 260 und 212 f.] Die Neigung zur Assoziation ist bei den einzelnen Caseinen unterschiedlich stark und hängt insbesondere von der Ionenstärke ab.

In wässriger Lösung hängt das Bestreben zur Assoziation von folgenden Punkten ab:

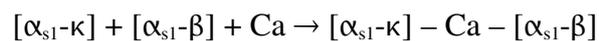
- Zusammenlagerung gleicher Caseinmonomere zur Selbstassoziation



- Assoziation verschiedener Caseine zu Caseinkomplexen



- Verbindung zwischen Caseinkomplexen über Calciumphosphatbrücken zu Caseinmicellen



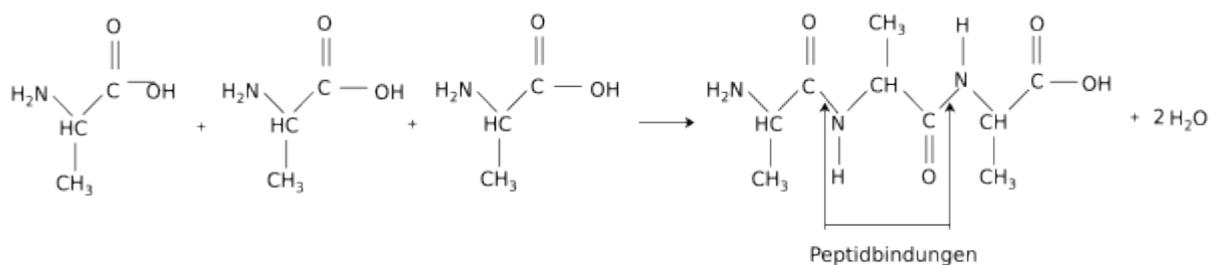
Gefördert wird die Assoziation zusätzlich durch Calcium. Es können Komplexe von einigen Hundert Monomeren bis zu Tausenden Caseinmolekülen entstehen, was der Größe von Caseinmicellen entspricht. Dabei werden zwischen diesen Komplexen Calciumphosphatbrücken gebildet. [Töpel, A. 1981, S. 260]

2.6.3 Chemische Reaktionen, die sich auf die Alterung von Casein auswirken

Die erläuterten Reaktionen laufen entweder durch gezielte Zugabe von Chemikalien ab oder erst im Laufe der Zeit während der Alterung. Bei der Beschreibung dieser Abläufe wird auf die Einflüsse eingegangen, die in der Restaurierung eine Rolle spielen.

2.6.3.1 Denaturierung bei der Caseinfällung

Milchproteine sind lineare Polypeptide, in denen die α -Aminosäuren hintereinander in Kopf (N)-Schwanz (C)-Anordnung verbunden sind. Sie sind dreidimensional und werden durch ihre primäre, sekundäre, tertiäre und quartäre Struktur beschrieben. Bei der Denaturierung kommt es zum Entfalten der nativen sekundären und tertiären Struktur der Proteinmoleküle sowie zur Aufhebung des kolloidalen Zustandes der Caseinmicellen. Es erfolgt eine Verschiebung des Gleichgewichtes der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen, der hydrophoben Kräfte und eine Verringerung der Bindungsenergie der Disulfidbindungen der Molkenproteine. Die Peptidbindungen der primären Struktur bleiben jedoch erhalten. Peptidbindungen sind relativ stabil und können nur durch Kochen in Starken Säuren (HCl) oder proteolytischen Enzymen hydrolytisch gespalten werden. Die Peptidbindung ist die Säureamidbindung $-\text{CO}-\text{NH}-$ zwischen den α -Aminosäuren. Die α -Aminosäuren sind dabei in den Proteinen zu langen Ketten verbunden.



Jede partielle Entfaltung destabilisiert auch die Reststruktur, die dann in ein Zufallsknäuel der Polypeptidkette übergeht. Die an der Aufrechterhaltung der Strukturen beteiligten Bindungen werden frei und können sich neu orientieren. Hinzu kommen die im Inneren der globulären Struktur ursprünglich verborgenen funktionellen Gruppen, die nun Reaktionen eingehen können und mit anderen Proteinmolekülen in Wechselwirkung treten, was in den meisten Fällen zu größeren Teilchen führt. Deshalb ist die Denaturierung häufig mit einem Ausflocken der Proteine verbunden. [Töpel, A. 1981, S. 200 f., 215 ff., 238]

2.6.3.2 Maillard-Reaktion

Maillard-Reaktion wird die autokatalytisch ablaufende chemische Reaktion zwischen Proteinen und reduzierenden Kohlenhydraten (Zuckern) genannt. Die Reaktionspartner in der Milch sind die ϵ -Aminogruppe des Lysins und die Lactose. Um sie auszulösen, sollte der pH-Wert im neutralen oder basischen Milieu, die Temperatur bei mindestens 10 °C und der Feuchtigkeitsgehalt über 7 % liegen. Durch die Maillard-Reaktion können Verbräunungen auftreten. [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 76]

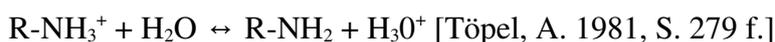
2.6.3.3 Reaktion mit Formaldehyd

Nach der Zugabe von Formaldehyd zu Casein laufen zwei Reaktionen ab, zum einen eine schnelle, bei der Methylolverbindungen entstehen, und zum anderen eine langsamere, bei der Methylenbrücken -CH₂- gebildet werden.

Bei der schnell ablaufenden Reaktion sind die primären Aminogruppen und die Guanidylgruppen, die Aminogruppen in den Seitenketten und die N-terminalen Aminosäuren in den Polypeptidketten, nicht jedoch die sekundären Amidgruppen der Peptidbindungen beteiligt.



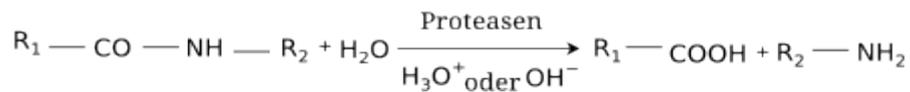
Die primären Aminogruppen befinden sich in ihrer elektrisch geladenen Form im Gleichgewicht. Bei der Reaktion des Formaldehyds mit den neutralen Aminogruppen wird das Gleichgewicht vollständig nach rechts verschoben. Es werden Hydroniumionen gebildet, deren Menge dann der ehemals vorhandenen geladenen NH₃⁺- und Guanidylgruppen entspricht.



Bei der zweiten Reaktion können außer den stickstoffhaltigen Seitengruppen auch Phenylgruppen beteiligt sein. Dadurch kommt es dann zur Vernetzung, durch die das Quellvermögen der Proteine und die kolloidale Löslichkeit stark herabgesetzt wird, was zur Herstellung von Kunststoffen aus Casein genutzt wird. [Töpel, A. 1981, S. 246]

2.6.3.4 Hydrolyse

Die Hydrolyse von Peptidbindungen kann sowohl durch starke Säuren als auch durch Basen erfolgen. Bei der Spaltung der Peptidbindungen in den Polypeptidketten wird das Eiweiß abgebaut, was mit der Denaturierung verbunden ist.



Hydrolyse - Proteolyse

Bei einer Totalhydrolyse mit α -Aminosäuren als Endprodukte erfolgen erhebliche Veränderungen an einzelnen α -Aminosäuren. Bei Zusatz starker Säuren zerfällt das Tryptophan und bildet dunkel gefärbte Huminstoffe. Bei der Zugabe starker Basen bleibt das Tryptophan hingegen erhalten. Bei der alkalischen Hydrolyse erfolgt jedoch teilweise eine Desaminierung und Isomerisierung der L-Form in die D-Form. [Töpel, A. 1981, S. 242]

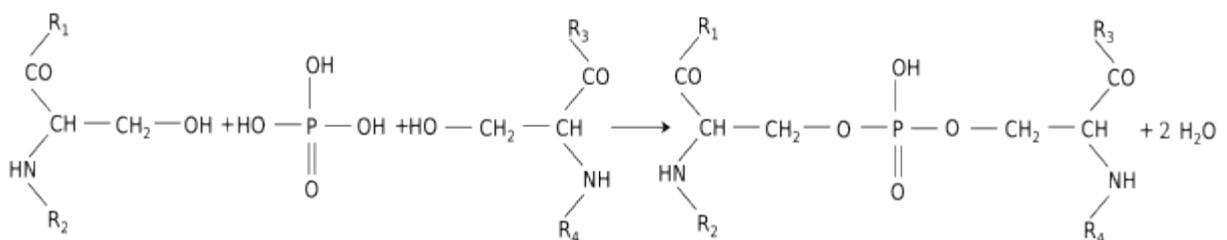
2.6.3.5 Proteolyse

Die Proteolyse ist die enzymatische Hydrolyse durch Proteasen. Aufgrund ihrer Eigenschaften wurden diese Enzyme in zwei Gruppen, die Endopeptidasen und die Exopeptidasen eingeteilt. Die Endopeptidasen spalten die Proteine nur an bestimmten α -Aminosäuren am N- oder C-terminalen Ende bzw. im Inneren der Polypeptidkette in Polypeptidteile und Oligopeptide. Die Exopeptidasen (Aminopeptidasen, Dipeptidasen) hingegen bauen die Peptide zu freien α -Aminosäuren ab. Durch die gezielte Verwendung der Endopeptidasen ist folglich eine Teilhydrolyse möglich, bei der Peptidfraktionen mit bestimmten α -Aminosäuresequenzen gewonnen werden können. [Töpel, A. 1981, S. 242]

Zum Verdau der Caseinate kam hier die Endoprotease Trypsin zur Anwendung. Es spaltet die Peptidbindungen zwischen den α -Aminosäuren Lysin (K) und Arginin (R).

2.6.3.6 Esterbildung

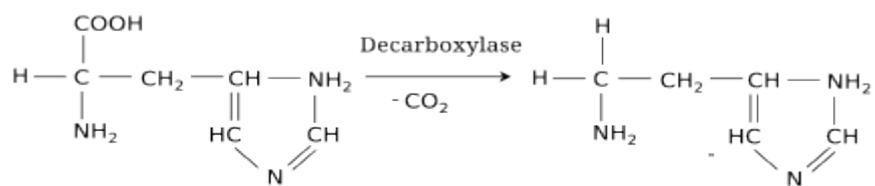
Die Carboxylgruppen der Aspargin- und Glutaminsäure und die Hydroxygruppen von Serin und Threonin können Ester bilden. In Casein liegen diese als Serinphosphorsäureester vor und verbinden über Calciumphosphatbrücken die Submicellen miteinander. Werden zwei Seringruppen verschiedener Polypeptidketten mit Phosphorsäure verestert, werden diese Polypeptidketten miteinander verknüpft. [Töpel, A. 1981, S. 211]



Veresterung

2.6.3.7 Decarboxylierung

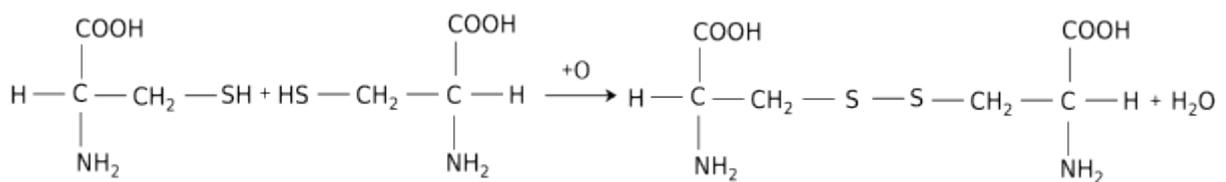
Decarboxylierung wird die enzymatische Abspaltung von CO_2 von den Aminosäuren genannt. Dabei gehen die Aminosäuren in primäre Amine über, die teilweise auch biologische Aktivitäten aufweisen. [Töpel, A. 1981, S. 211]



Decarboxylierung

2.6.3.8 Disulfidgruppen

Beim Erhitzen der Milch wird das Cystein an seiner freien Thiolgruppe gespalten und oxidiert. Dabei entsteht eine Disulfidbindung, die für die globuläre Proteinstruktur von großer Bedeutung ist. Durch die Disulfidbindung können intermolekular jeweils zwei Cysteinreste einer gefalteten Polypeptidkette oder zwei Peptidketten miteinander verbunden werden. Diese Verbindung wird dann Cystin genannt. Die Disulfidbrücken stabilisieren die sekundäre Struktur der Serumproteine im Wesentlichen. [Töpel, A. 1981, S. 212]



Oxidation des Cysteins

2.6.3.9 Reaktionen beim Aufschluss der Caseine

Es kann davon ausgegangen werden, dass beim Aufschluss der Caseine mit Alkalien, wie Kalk und Ammoniak, zumindest eine Teilhydrolyse stattfindet. Welche chemischen Reaktionen jedoch insgesamt beim Aufschluss ablaufen, wurde bislang noch nicht naturwissenschaftlich untersucht.

3. Verschiedene Rezepturen zur Herstellung von Casein

Neben der Erprobung von Casein in der Wandmalerei gab es auch im materialtechnischen und naturwissenschaftlichen Bereich umfangreiche Untersuchungen und Versuche zur besten Gewinnung von Casein. Dabei arbeiteten Naturwissenschaftler an der Optimierung der Gewinnung von Casein. Restauratoren und Maler hingegen versuchten, das Casein unter einfachen Bedingungen zu produzieren und optimal zu verarbeiten. Alle Beteiligten hatten das gemeinsame Ziel, das Casein unter für sie idealen Konditionen herzustellen. In diesem Kapitel werden die Vorgehensweisen vermittelt und diskutiert, um dann die nachzustellenden Rezepturen unter verschiedenen Gesichtspunkten auszuwählen. Die Rezepturen sind im originalen Wortlaut im Anhang (Kapitel 15.1) wiedergegeben.

3.1 Quellenschriften zur Herstellung von Casein

Zur Herstellung von Quark werden von Malern nur zwei Rezepturen aus Primärquellen vorgestellt, obwohl die Quarkherstellung im Handwerk ein gebräuchliches Verfahren war. Da die Fällung immer auf vergleichbare Weise erfolgte, erübrigt sich die Hinzuziehung weiterer Quellenschriften.

Im ersten Rezept wird von Hummel eine sehr einfache Methode vorgeschlagen, nämlich entrahmte Milch so lange stehen zu lassen, bis sie sauer wird. Die saure Milch ist dann mit Wasser zu kochen und mit kaltem, hartem Wasser zu waschen, um die Säure zu entfernen. Anschließend ist das Casein so auszupressen, dass es feucht bleibt.

In der zweiten Rezeptur von Deuerling wird die Fällung mit Eichenrinde beschrieben, die man in die Milch gibt. Er bezieht sich auf eine alte, traditionelle Vorgehensweise. Folglich ist davon auszugehen, dass es ein gebräuchliches Fällungsverfahren war. Besonderen Wert legt er auf das Waschen des Quarks, bei dem die zehnfache Menge warmen Wassers verwendet werden soll. Die Masse soll mehrfach umgerührt werden; nachdem sich der Quark abgesetzt hat, ist er in Leinensäcken abzufüllen, damit er abtropfen kann.

Die Quellenschrift von Scherer ist ein ausgesprochen pragmatisches Werk. Sie beinhaltet so-

wohl eine beachtliche Sammlung von Rezepten zur Fällung des Caseins als auch viele Rezepturen und Angaben zur Anwendung des Materials als Bindemittel für Farben, Kitte usw. In einem Rezept lässt er sich darüber aus, wie Quark zu reinigen ist, um die Milchsäure und das „Butterfett“ [Scherer, R. 1905, S. 24 f.] zu entfernen. Es kann also davon ausgegangen werden, dass hier gekaufter Quark aus dem Lebensmittelhandel verwendet wurde. Es werden 100 Gewichtsteile mit 50 Gewichtsteilen Wasser und 150 Gewichtsteilen 1 %iger Sodalösung gemischt und unter Dampf 25-30 Min. gekocht. Die daraus resultierende milchartige Flüssigkeit ist in ein zweites Gefäß zu gießen mit $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ 40 %ige Salpetersäure so lange zu mischen, bis kein Niederschlag mehr zu erkennen ist. Anschließend ist das Casein so lange zu waschen, bis das Wasser neutral ist. Danach beschreibt Scherer das Auspressen und die Trocknung bei 50-60 °C. Um das Casein völlig zu entfetten, erwähnt er noch das Digerieren des Caseins mit Benzol oder einer Äther-Alkoholmischung, auf das allerdings zumeist verzichtet wird, weil das Verfahren sehr umständlich ist.

Die neun weiteren Rezepte zur Caseinfällung und -behandlung, die Scherer anführt, sind sehr unterschiedlich. Hier wird besonders deutlich, dass es sich um eine Rezeptsammlung handelt. Die Mengenangaben der zu verwendenden Materialien, wie zum Beispiel 1000 l Milch, lassen eher auf die Produktion großer Mengen Caseins schließen. Teilweise werden auch gar keine Mengen sondern Verhältnisse angegeben, oder die Reaktionen, die zu beobachten sind, beschrieben. Die Trocknung des Caseins wird in einigen Rezepten völlig ignoriert und in anderen wiederum detailliert erläutert. Auf die beobachteten Materialeigenschaften wird ebenfalls in jedem Rezept unterschiedlich eingegangen.

Im vierten Rezept legt er die Herstellung von weißem Casein dar, das nicht gelb wie das mit Schwefelsäure gefällte Casein sein soll. Dazu wird der Quark aus auf 40-50 °C erhitzter Milch mit Schwefelsäure gefällt, gewaschen, in der Folge mit Natriumbicarbonat bei 40 °C gelöst und mit Essigsäure behandelt sowie abschließend mit kaltem Wasser gewaschen. Eine weitere Variante, nämlich das Casein mit Salzsäure zu fällen, wird vom Autor ebenso erwähnt wie die Möglichkeit, Ätzkali durch Alkalikarbonat zu ersetzen, um eine andere Caseinqualität zu bekommen.

Scherer führte eine sehr detaillierte und umfangreiche Beschreibung zur Herstellung, Behandlung und Verarbeitung von Casein an, die von Ruprecht (Rezept 5) stammt. Er erläutert nicht

nur die unumgänglichen Materialien, wie entrahmte Milch, Essig- oder Salzsäure, die Waschvorgänge und die Trocknung des Caseins bei 30 °C, sondern auch die erforderliche Gerätschaft. Die Beschreibungen sind so präzise, dass man die Angaben problemlos praktisch umsetzen kann. Ob der Fällungsprozess abgeschlossen ist, überprüft er anhand einer Probe, die er der gefällten Masse entnimmt; er setzt nochmals die entsprechende Säure zu und schaut, ob noch mehr Casein ausfällt. Eine Behandlung mit Alkalien nimmt er nicht vor, sondern wäscht das Casein nur gründlich, um es abschließend auf Horden zu trocknen.

In Rezept 6 von Mierisch und Eberhard wird das Hauptaugenmerk auf die Entfettung der Milch mit Alkalien, z. B. Natriumhydroxyd, vor der eigentlichen Caseinfällung gelegt. Dazu werden folgende Mengenangaben gemacht: 1000 l Magermilch werden bei einer Temperatur von 40-45 °C mit 2-4 kg Natriumhydroxyd, das in Wasser gelöst wird, gemischt. Die Caseinfällung und Weiterbehandlung werden abschließend lediglich gestreift.

Riegel (Rezept 7) schlägt in seinen Angaben vor Äthylschwefelsäure zu verwenden anstatt Essig-, Milch-, Schwefel- oder Salzsäure. Dies begründet er damit, dass er so ein aschefreies und keimärmeres Casein mit geringer Inversionswirkung auf den Milchzucker erhalten würde. Auf die Caseinfällung und die weitere Behandlung geht auch Riegel nur cursorisch ein. Er betont lediglich, das Casein bei mäßiger Hitze zu trocknen, damit es nicht verbrennt. Der körnige Quark soll zuletzt mit einer Alkalilösung behandelt werden, um das Casein dann nach einem amerikanischen Patent zu trocknen. Diese Angaben sind sehr irritierend, weil nicht eindeutig festgestellt werden kann, ob das getrocknete oder das noch feuchte Casein mit Alkalien behandelt wurde.

Székely (Rezept 8) bezieht sich ebenfalls auf ein Patent, bei dem das Casein mit Kohlensäure unter starkem Druck aus 30 °C warmer Milch gefällt wird. Er unterscheidet bei der Verwendung von süßer Vollmilch, süßem Rahm, süßer Magermilch oder süßer Buttermilch nicht. Bei seinem Verfahren muss das Ausgangsprodukt nur süß sein.

Béchamp (Rezept 9) verwendet zur Herstellung aschefreien Caseins Kuhmilch und Essigsäure. Das Casein reinigt er mehrmals mit Wasser, dem er Ammoniumcarbonat zusetzt, bis sich eine nicht näher beschriebene deutlich alkalische Reaktion zeigt, die er dann mit Essigsäure neutralisiert.

Auch Hoppe-Sehler und Hammersten (Rezept 10) verwenden zur Caseinfällung Milch und

Essigsäure. Den Niederschlag behandeln sie mit verdünntem Ammoniak oder Natriumcarbonat, wobei sich keine alkalischen Reaktionen einstellen sollen. Dieser Vorgang soll anschließend wiederholt werden. Dann folgt eine Behandlung mit Alkohol und Äther, um das Fett zu entfernen. Sie machen aber auch den praktischen Vorschlag, bereits entfettete Magermilch zu verwenden.

Im elften Rezept wird die zu verwendende Milch mit Wasser verdünnt. Dieses Gemisch wird mit Essigsäure behandelt, bis die Milch 0,075-0,1 % Säure enthält. Der gewonnene Niederschlag soll dann mit extrem verdünnter Kalilösung behandelt, erneut mit Essigsäure gefällt, mit Wasser gewaschen, anschließend mit 97 %igem Alkohol zerrieben, gefiltert und abschließend mit Äther gewaschen werden. Die Mengenangaben in diesem Rezept sind sehr ungenau. Dieser Beschreibung folgt eine von Besana (Rezept 12), die im Gegensatz zur vorherigen sehr detailliert ist. Es werden die Mengenangaben, die Vorgehensweise und die zu benutzenden Geräte gewissenhaft benannt. Magermilch soll mit Dampf auf 55 °C erhitzt und mit Salzsäure gefällt werden. Das abgekühlte Casein muss dann nur noch gewaschen, ausgepresst und zerrieben werden und ist fertig zum Versand. Zur Trocknung des Caseins werden Dörrapparate und heizbare Trockenkammern favorisiert. Die Trocknung mit heißer Luft wird als nachteilig beschrieben, weil das Casein ständig gewendet werden muss und die Heizkosten hoch sind. Die Trockentemperaturen bewegen sich zwischen 50 und 80 °C, wobei der Wassergehalt des Caseins nach der Trocknung ca. 10 % betragen soll.

Die nun folgenden neun Rezepturen, die Sutermeister anführt, sind im Gegensatz zu den Angaben von Scherer sehr viel genauer, obwohl es sich bei den Rezepten ebenfalls um eine Sammlung handelt. Bei dieser Quelle wird offensichtlich, dass sie von Naturwissenschaftlern verfasst wurde, die die praktischen Aspekte zur Herstellung von Casein nicht außer Acht ließen.

Sutermeister benennt zwar bei den einzelnen Rezepturen nicht mehr alle Ausgangsbedingungen, die vorherrschen müssen, er teilt sie allerdings im Vorfeld mit. Diese Angaben sind folglich bei seinen Rezepturen 13-21 anzuwenden. Die wichtigsten Voraussetzungen, die er für die Caseinherstellung proklamiert, sind Sorgfalt und Sauberkeit. Als Ausgangsmaterial wird Magermilch vorgeschlagen, die nochmals mit Natriumkarbonat- oder Natriumbikarbonatlösung entfettet worden ist. Dies wird damit begründet, dass bei einem Caseinanteil von 3 % in

der Magermilch, die einen Fettgehalt von 0,1 % hat, das gefällte Casein über 3 % Fett enthält. Die praktische Vorgehensweise der Caseinherstellung beschreibt er dann sehr allgemein mit der Fällung des Caseins aus der Milch als Quark, der dann gewaschen, gepresst, zerkleinert und bis zu einem Mindestgehalt Wasser getrocknet werden soll, der nicht unterschritten werden darf, da sonst das Casein denaturiert.

In der ersten Angabe (Rezeptur 13), die auf Untersuchungen von Clark, Zoller, Dahlberg und Weimar beruht, wird die auf 34,5-35 °C erwärmte Milch mit Salzsäure bei einem pH-Wert von 4,8, der mit Methylrot eingestellt wird, gefällt. Das Casein soll ein sehr gleichmäßiges Korn ergeben, das leicht zu waschen ist. Nach einer zweiten Fällung des Caseins kann es verwendet werden. Das Casein kann auch mit einer Ammoniaklösung bei pH 7,5 bis maximal 8,5 weiterbehandelt und dann wieder bei pH 4,8 mit Salzsäure gefällt, ausgepresst und getrocknet werden. Eine weitere Möglichkeit ist, das ausgepresste Casein mit 95 %igem Ethylalkohol zu mischen, mit heißem Ethylalkohol und Äther zu extrahieren und bei niedriger Temperatur zu trocknen.

In einer weiteren Vorschrift (Rezept 14) von Lindström-Lang erfolgt die Fällung des Caseins aus nicht pasteurisierter Milch ebenfalls mit Salzsäure. Das Casein ist hier mit destilliertem Wasser zu waschen und mit der gleichen Menge 96 %igem Ethylalkohol zu mischen. Das Casein wird noch zweimal mit 96 %igem Ethylalkohol gemischt, bevor es wiederum dreimal mit Äther behandelt, im Folgenden zuerst an der Luft und dann 24 Stunden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wird. Auffällig an diesem Rezept sind die präzisen quantitativen und zeitlichen Angaben für die einzelnen Behandlungen.

In Rezept 15 wird die Herstellung von Milchsäurecasein aus Magermilch beschrieben. Dabei wird besonders auf die Eigenschaften, die der Milchsäurewecker – saure Molke – haben soll, eingegangen. Auch auf die Temperaturen der einzelnen Produkte während der Caseinherstellung wird genau geachtet. Die Milch soll vor und während der Fällung 32-43 °C haben. Nachdem die Milch sauer genug ist, erwärmt man sie auf 35-50 °C und rührt so lange, bis sich der Quark von der Molke trennt. Der Quark soll dann mehrfach gewaschen und gepresst werden. Es wird auch erwähnt, dass der Quark zu fein zur Weiterverarbeitung wird, wenn die Magermilch zu sauer geworden ist und sich nicht gut von der Molke trennt, wenn also der Säuregehalt zu niedrig ist. An diesem Punkt wird nachdrücklich auf die Erfahrung eingegangen, die

bei der Herstellung erforderlich ist. Milch, die über Nacht stehen geblieben ist, soll so viel Säurewecker erhalten, dass sie vor der Erhitzung nicht zu lange stehen muss. Dabei ist auch die Temperatur während der Fällung anzupassen. Wenn die Magermilch längere Zeit gestanden hat, ist die Temperatur auf ca. 57-60 °C zu erhöhen. Bei der Fällung muss dann besonders vorsichtig gerührt werden, damit die Partikel nicht zu fein werden.

Im 16. Rezept wird eine weitere Methode zur Fällung von Milchsäurecasein erläutert. Man mischt mit Dampf auf 55-60 °C erhitze Magermilch und Molke, die über Nacht stehen bleibt und sauer wird, im gleichen Verhältnis. Dabei setzt man die Molke der Milch in der gleichen Geschwindigkeit zu, wie jene aus dem Separator abläuft. Diese Mischung wird in einem Filtertuch aufgefangen und gepresst. Man kann den Quark aber auch über Nacht abtropfen lassen, um ihn dann zu malen und zu trocknen. Bei diesem Rezept kommt es vor allem auf die richtige Temperatur beim Fällen an.

Im 17. Rezept wird die sogenannte Ejektormethode zur Trennung von Milchsäurecasein beschrieben. Dabei wird vorausgesetzt, dass die Fällung des Milchsäurecaseins optimal verlaufen ist. Das Casein wird dann mit dem Ejektor – einer Strahlpumpe – von der Molke getrennt. In Rezept 18 erfahren wir von der Fällung des Caseins aus der Magermilch mithilfe von Schwefelsäure. Die Milch ist auf 49 °C zu erwärmen und mit der erforderlichen Menge verdünnter Schwefelsäure portionsweise zu mischen. Dabei kommt 1 l konzentrierte Säure auf 1000 l Magermilch. Nach der Fällung wird die Molke abgezogen, mit Wasser bedeckt und mit Dampf auf 76-80 °C erhitzt, sodass ein halbflüssiger, plastischer Teig entsteht. Anschließend wird das Wasser abgezogen und der Quark geknetet, um möglichst viel Feuchtigkeit zu entfernen. Der ideale Säuregrad, der mittels Titration von Phenolphthalein zu ermitteln ist, soll bei 0,30-0,32 % liegen. Ist der Säuregrad höher, zerfällt der Quark in ganz kleine Teilchen und ist schwer zu handhaben.

Im 19. Rezept geht es wieder um die Herstellung von Salzsäurecasein, das zusätzlich mit Schwefelsäure behandelt werden soll, um einen festeren Quark zu erhalten. Die Milch soll auf 46-49 °C erhitzt und mit arsen- und eisenfreier Salzsäure gefällt werden. Hier werden 2,6 l Säure mit 1000 l Magermilch gemischt. Die Salzsäure ist mit Wasser im Verhältnis 1:4 bis 1:8 zu verdünnen und soll dann portionsweise zugegeben werden. Auch hier ist nur die erforderliche Salzsäuremenge zu verwenden, damit der Quark nicht weich oder gelatineartig wird und

zusammenbackt. Der Quark kann zusätzlich mit verdünnter Schwefelsäure, ca. 16 g pro 100 l, bei einer Temperatur von 55-60 °C behandelt werden, um eine festere und besser zu verarbeitende Masse zu erhalten.

In Rezept 20 wird eine vergleichbare Vorgehensweise bei der Caseinfällung wie in Rezept 19 vorgestellt. Nur ist hier eine Nachbehandlung mit verdünnter Schwefelsäure nicht notwendig. Nach der Fällung wird der Quark mit kaltem Wasser bedeckt und mit Dampf auf 80-85 °C erwärmt, wodurch er plastisch und teigartig wird.

In der 21. Rezeptur wird das Casein mit stark verdünnter 1/1 normaler Salzsäure bei 34 °C und pH 4,6 aus frischer Magermilch gefällt und mit Waschwasser mit demselben Säuregrad gewaschen. Dadurch liegt das Casein als eine feinkörnige Masse vor, die sich gut waschen, pressen und trocknen lässt.

3.2 Auswahl der nachzustellenden Rezepturen zur Caseinfällung

In der Literatur ist zu Casein viel Allgemeines zu finden. Zu den Herstellungsverfahren der einzelnen Caseinsorten gibt es hingegen Quellschriften, die auch auf Details der Herstellung eingehen, nur in reduziertem Maße. Bei fast allen älteren Rezepturen – mit wenigen Ausnahmen – ist festzustellen, dass die Angaben zur Herstellung der Caseine nicht vollständig sind. Es ist davon auszugehen, dass die Herstellungsmethoden in den Fachkreisen entweder so geläufig waren, dass es nicht als notwendig erachtet wurde, diese genau zu beschreiben, oder dass man es für irrelevant hielt, nähere Informationen zu liefern. Einige Rezepturen müssen deshalb um diese Gesichtspunkte erweitert werden.

Bei der Auswahl der einzelnen Rezepturen wird auf die Nachvollziehbarkeit, die Praktikabilität, die Fällungsmittel und folglich auch darauf geachtet, ob die Caseinsorten in der Restaurierung verwendet worden sind. Den Quellen ist nicht zu entnehmen, ob die nach den verschiedenen Rezepturen hergestellten Caseine alle in den Handel gebracht wurden bzw. zur Anwendung kamen. Dadurch wird die Auswahl von Rezepturen zur Nachstellung der Caseine erschwert. Es ist allerdings anzunehmen, dass Restauratoren gekauften Magerquark zur Bindemittelherstellung verwendeten. Dieser Magerquark ist indes mit dem heute erhältlichen nicht

zu vergleichen; deshalb wird der Quark selbst produziert. Die Pulvercaseine wurden im Fachhandel besorgt und entsprechend eingesetzt. Da die heute zu erwerbenden Caseine jedoch aus pasteurisierter Milch gewonnen werden⁷, werden zum Vergleich das Milchsäure- und das Salzsäurecasein ebenfalls selbst aus nicht homogenisierter und nicht pasteurisierter Milch hergestellt.

Herstellung von Quark

Zur Herstellung von Quark werden die ersten beiden Rezepte von Hummel und Deuerling herangezogen. Bei ihrem Vergleich wird deutlich, wie lückenhaft die Anweisungen von Hummel im Verhältnis zu denen von Deuerling sind. Letzterer macht Angaben zur Herstellung von Quark, die sehr wahrscheinlich auch bei der Anwendung berücksichtigt worden sind, wobei in seiner Rezeptur die Beschaffenheit, die Quark haben muss, sehr ungenau umrissen ist. Das Ausfällen des Quarkes mit Eichenrinde wird hier hingegen das erste Mal beschrieben und ist eher ungewöhnlich. Deshalb wird auf die Reproduktion dieser Rezeptur verzichtet. Die Herstellung von Quark nach Hummel muss folglich um Angaben aus anderen Rezepten erweitert werden. Hinsichtlich der Temperatur werden die Anmerkungen von Scherer übernommen. Die Milch wird auf ca. 50 °C erwärmt, um einen Mittelwert für die Ausfällung zu wählen.⁸ Aufgrund der Lückenhaftigkeit der Ausführungen darf davon ausgegangen werden, dass die Quarkherstellung ein selbstverständlicher Vorgang bzw. Magerquark überall im Handel erhältlich gewesen ist.

Herstellung von Milchsäurecasein

Das Milchsäurecasein wird nach Rezept 15 angefertigt, da die Angaben sehr präzise sind und das Casein demzufolge ohne größeren Aufwand vom Restaurator selbst hergestellt werden kann. Die Beschreibungen in Rezept 10 sind im Verhältnis zu den der anderen Rezepturen eher vage, weshalb auf diese Anweisungen verzichtet wird. Rezept 15 ist mit den Anleitungen

16 und 17 nahezu identisch. Indes ziehen hier die Bemühungen, technische Verbesserungen zu erreichen, ein größeres Geräteequipment nach sich. Da nicht jeder Restaurator oder Maler solch einen Aufwand betreiben haben wird, wird deshalb von der Reproduktion dieser Rezepturen Abstand genommen.

Herstellung von Salzsäurecasein

Salzsäurecasein wird nach Rezept 5 von Ruprecht hergestellt, da gut nachvollziehbar hauptsächlich auf das Fertigungsverfahren eingegangen wird. Statt konkrete Mengen festzusetzen, wird das Prozedere ergebnisorientiert dargelegt: Die Menge, die an Säure zugegeben werden muss, wird über das Filtrat kontrolliert. Einige Parameter, die nicht ausdrücklich erörtert werden, wie z. B. die Temperatur und der Fettgehalt der Milch, werden von allgemeingültigen Angaben übernommen. Im Gegensatz zu Rezept 5 werden im 12. genaue Mengen zur Herstellung des Salzsäurecaseins definiert. Es wird auch hier auf Zusätze von Alkalien verzichtet und das Casein nach der Fällung gewaschen und getrocknet. Im Gegensatz zu Scherer sind die Ausführungen von Sutermeister zur Vorgehensweisen bei der Caseinherstellung prägnant. Der Wissensstand Sutermeisters unterstreicht die enorme Entwicklung in der Caseinherstellung. In 13 Rezept werden gleich zwei Fertigungsmöglichkeiten beschrieben. Bei der ersten Rezeptur bleibt die Behandlung mit Ammoniak, Alkohol und Äther aus, auf die die zweite eingeht. Trotz ihrer Genauigkeit werden beide Rezepturen nicht nachgestellt, da die nach Ruprecht gut nachvollziehbar ist und eine Behandlung mit Äther und Alkohol zur Entfettung des Caseins von Restauratoren wahrscheinlich nicht vorgenommen worden ist. Darüber hinaus kann bereits entfettete Milch verwendet werden. Auch die Rezepte 14, 20 und 21 werden aus labortechnischen Gründen nicht berücksichtigt.

Fällung von Casein mit unterschiedlichen Säuren

Alle Rezepturen, die Schwefel-, Äthylschwefel-, Salpeter-, Kohlen- oder Essigsäure zur Fäl-

lung von Casein anführen, werden nicht produziert. Sie wurden hauptsächlich in Erwägung gezogen, um die Rezepte miteinander vergleichen und ggf. technische Angaben übernehmen zu können, die in den nachzustellenden Rezepten fehlen. Obwohl Schwefelsäurecasein selbst heute noch industriell genutzt wird, ist es in der Restaurierung nicht verwendet worden. Eine Behandlung mit Ammoniak, Äther und Alkohol wie in Rezept 13 wird ebenfalls ausgeschlossen, da sie relativ umständlich ist und durch die Verwendung von bereits entfetteter Milch unnötig wird.

4. Auswahl von Rezepten und Materialien zur Herstellung von Festigungsmitteln aus Casein

Die Caseine kamen nach der Fällung aus der Milch in frischer oder getrockneter Form in den Handel. Sie können für die unterschiedlichsten Zwecke weiterverarbeitet werden. In der Restaurierung werden sie von alters her als Bindemittel zur Herstellung von Malfarben und als Festigungsmittel verwendet. Dafür müssen die getrockneten Caseine zuerst in Wasser gequollen und anschließend, wie auch die frischen, mit Alkalien „aufgeschlossen“ werden, um verarbeitet werden zu können. Auch für die Präparierung der ausgewählten Caseine gibt es von Maltechnikern und Restauratoren verschiedene Rezepte. Auf diese parxiserprobten Rezepturen aus der einschlägigen Fachliteratur zur Herstellung von Caseinaten zur Festigung und zum Überstreichen von Wandmalereien soll hier eingegangen werden, obwohl bekannt ist, dass sie aus naturwissenschaftlicher Sicht, wie beispielsweise von Sutermeister, oftmals als ungenügend angesehen wurden.⁹ Zuvor werden jedoch die Aufschluss-, Konservierungs- und „Härtungsmittel“ miteinander verglichen und jene, die eingesetzt werden sollen, ausgewählt. Nachfolgend werden die Rezepte zur Weiterbehandlung von Quark, Casein nach Hammers-ten, Milchsäure- und Salzsäurecasein einander gegenübergestellt und jeweils ein repräsentatives ausgesucht, das in die Praxis umgesetzt wird.

4.1 Aufschlussmittel

Bei allen Aufschlussmitteln, die zur Herstellung der Caseinate verwendet wurden, handelt es sich um Alkalien. Für die Restaurierung von Wandmalereien kam hauptsächlich Kalk zur Anwendung, da Kalk auch das Bindemittel der Putze und teilweise ebenfalls der Farben ist. Darüber hinaus bindet das Kalkcasein wasserunlöslich ab, was im Bereich der Wandmalerei in mancher Hinsicht als vorteilhaft galt.¹⁰ Weil bei der Herstellung der Caseinate sehr häufig von Kalk Gebrauch gemacht wurde, wird er als Aufschlussmittel für die zu untersuchenden Caseinate verwendet.

Ammoniak, Hirschhornsalz (Ammoniumhydrogencarbonat und Ammoniumcarbamat) oder

Ammoniumcarbonat werden dann zum Aufschließen genommen, wenn ein reversibles, wasserlösliches Casein erwünscht ist. Da Ammoniak ein Zerfallsprodukt der genannten Salze ist, wird es als zweites Aufschlussmittel für die Herstellung der zu untersuchenden Caseinate verwendet.

Produkte wie Natriumhydroxyd, Soda, Borax, Natronlauge, Kalilauge, Bariumhydroxid, Barium/Natriumtetraborat usw. können zwar zur Leimherstellung herangezogen werden, stoßen aber in der Literatur in Bezug zur Wandmalereirestaurierung auf Ablehnung, da Reste dieser Alkalien in den Malschichten verbleiben und das Objekt erheblich schädigen können. Folglich werden diese Aufschlussmittel nicht berücksichtigt.

4.2 Konservierungsmittel

Caseinleime sind nach dem Aufschluss relativ lange haltbar. Sie können allerdings nicht dauerhaft in flüssigem Zustand aufbewahrt werden, da sie hydrolysieren und durch Mikroorganismen zersetzt werden können. Die Hydrolyse lässt sich kaum aufhalten, weil sie durch die Alkalien, die zum Aufschluss erforderlich sind, verstärkt wird. Die Zersetzung der noch flüssigen Caseinate durch Mikroorganismen kann man laut Sauer durch Zugabe von Betanaphthol oder Thymol verhindern. [Sauer, E. 1958, S. 246] Maltechniker wie Wehlte hingegen setzten dem Casein Lavendel-, Nelken- oder Rosmarinöl bzw. 1 ml einer 2 %igen ethanolischen Lösung von Tributylzinnoxid hinzu. [Wehlte, K. 1940, S. 61] Christ wiederum bevorzugte als Antiseptikum Borsäure, Salicylsäure, Lysol usw. [Christ, A., 1935, S. 97] Hartlieb, Messner und Riedl schlagen als Hemmstoff – wenn überhaupt – Nipagin vor, das weniger giftig als z. B. Borsäure ist. [Hartlieb, I. 1982, S. 189 ff.]

Da hier Konservierungsmittel verwendet werden sollen, die in der Restaurierung zur Anwendung kamen, wird Betanaphthol nicht weiter berücksichtigt. Auf Borsäure wird aufgrund seiner stark toxischen Eigenschaften verzichtet. Folglich sind Lavendel-, Nelken- oder Rosmarinöl bzw. 1 ml einer 2 %igen ethanolischen Lösung von Tributylzinnoxid, Salicylsäure, Lysol und Nipagin auf ihre antiseptische Wirkung zu prüfen. In Lavendelöl sind Thymol und Phenol enthalten. Die antiseptische Wirkung ist beim Nelkenöl auf den Salicylsäureanteil und

beim Rosmarinöl auf den Camphen- und Camphergehalt zurückzuführen. Raschit und Lysol sind in die Gruppe der Phenole einzuordnen, die ebenfalls keimhemmend wirken. Der konservierende Wirkstoff des Nipagins ist der Gruppe der Hydroxybenzoesäureester zuzurechnen. Die Salicylsäure gehört zu den Hydroxybenzoesäuren. Da in Lavendel- und Nelkenöl die konservierenden Wirkstoffe enthalten sind, die in konzentrierter Form auch in der Restaurierung zur Anwendung kamen, werden die Salicylsäure und das Lysol verwendet. Von der Salicylsäure werden dabei 2 % in Ethanol gelöst.

4.3 Caseinhärtung

Zur „Härtung“ von Casein sind in restauratorischen Quellenschriften nur sporadische Angaben zu finden. Eibner beschreibt den Einsatz von Casein und dessen Härtung im Bereich der Konservierung von Wandmalereien als Sonderfall. Er thematisiert die Verwendung von verdünnter Formalinlösung zur Behandlung des getrockneten Caseins, um möglichen negativen Feuchtigkeitseinflüssen vorzubeugen. [Eibner, A. 1991, S. 469 f.] Doerner vermittelt in seinem Werk von 1922 nicht den Eindruck, als ob er Formalin zur „Härtung“ des Caseins benutzt hätte. Er notiert lakonisch, dass Caseinfarben durch Bestäuben mit 4 %igem Formalin stärker abbinden. [Doerner, M. 1922, S. 260] In der nachfolgenden Auflage seines Buches schreibt er, dass die Verwendung von Formalin zur Behandlung von Casein unnötig ist. Er führt aus, dass stark verdünntes Casein häufig mit 2 %iger Formalinlösung gehärtet wird und dies für die Verwendung im Freien umstritten ist, weil die Schicht spröde wird. [Doerner, M. 1949, S. 364] Christ schlägt vor, eine 3 %ige Formalinlösung aufzuspritzen. Wenn keine Zugluft erzeugt werden kann, empfiehlt er, eine 1 %ige Lösung zu verwenden, weil der Bearbeitende es sonst wegen der Reizung der Schleimhäute kaum aushalten kann; eventuell wird zweimal gespritzt. Mit der Bürste kann wiederum eine stärkere Konzentration aufgebracht werden. [Christ, A. 1935, S. 13] Wehlte handelt die Caseinhärtung ebenfalls nur lapidar ab. Er hält die Härtung für unnötig, schreibt aber, dass sie teilweise trotzdem verwendet wird, weil das Casein verhornt und dadurch noch widerstandsfähiger gegen Feuchtigkeitseinflüsse und mikrobiellen Befall wird. [Wehlte, K. 1946, S. 65] Sandner streift die Möglichkeit der Ca-

seinhärtung mehr als sie kritisch zu betrachten. Er informiert lediglich darüber, dass die sehr harten, nicht spannungsfreien Caseinanstriche mit Formaldehyd wasserfest gehärtet werden können. [Sandner, I. 1990, S. 32]

Scherer beschreibt einmal die Verwendung einer Casein-Formaldehydlösung als Anstrich auf glattem Mauerwerk, um wasserfeste und waschbare Überzüge zu erhalten. [Scherer, R. 1905, S. 41 f.] An einer anderen Stelle bespricht er die Anwendung von Formalindämpfen um Bilder, die mit Caseinfarben gemalt wurden, wasserunlöslich zu machen. [Scherer, R. 1905, S. 84] Unter dem Namen „Formolaktin“ wurde von der Aktiengesellschaft für Chemische Industrie Union in Wien eine konzentrierte, milchartige, dickflüssige Casein-Formaldehydlösung in den Handel gebracht, die dazu gedacht war, Wasserfarbenanstriche oder Drucke auf Papier und papierähnlichen Stoffen wasserdicht, staubfrei und leicht waschbar zu machen und sie gleichzeitig zu desinfizieren. [Scherer, R. 1905, S. 66 f.]

Da sich außer Doerner alle anderen Maltechniker nicht präzise zur Anwendung von Formaldehyd äußern, werden dessen Angaben befolgt. Die Caseinaufstriche werden mit 4%igem Formaldehyd behandelt.

4.4 Grundlagen zur Auswahl der Festigungsmittel

Da die Eigenschaften von nicht weiter modifizierten Caseinaten untersucht werden sollen, finden Rezepturen, in denen weitere Zusätze wie z. B. Acrylate, Glycerin usw. verwendet werden, keine Berücksichtigung. Diese Materialkombinationen wären in einem zweiten Schritt zu beleuchten.

Ausgewählt werden Rezepturen, die in der Restaurierung häufig zur Anwendung kamen wie bei Wehlte, Doerner, Schoenfeld u. a.; weitere Auswahlkriterien sind deren Nachvollziehbarkeit und Zusammensetzung.

Auffällig ist, dass in kaum einer Rezeptur angegeben wird, wie das Bindemittel mit Wasser verdünnt werden soll, sodass hier offensichtlich ein Defizit zu beklagen ist, das nur durch die praktische Erfahrung der Anwender beim Umgang mit Casein ausgeglichen werden kann. Eine Begründung für das Manko lässt sich bei Wehltes Aussagen zur Wandmalereifestigung

finden, da er außer den Caseinaufschluss auch das Objekt und dessen Beschaffenheit in seine Betrachtungen mit einbezieht. Er beschreibt, dass man manchmal abblätternde Farbschichten wieder ankleben muss, die früher bereits mit Kalkcasein fixiert wurden. Er geht auf dessen hohe Klebkraft auch bei extremer Verdünnung ein, macht aber ebenfalls auch auf seine hohe Spannung aufmerksam, durch die Wandmalereien oft zerstört wurden. Seine Folgerung aus diesen Erfahrungen ist, dass der Restaurator bei der Verwendung von Casein die Konzentration des Festigungsmittels an ein und derselben Wand variieren muss und deshalb Maßangaben völlig zwecklos sind. [Wehlte, K. 1981, S. 367]

Bei der Betrachtung der Zusammensetzung der Rezepturen ist besonders auf die Vergleichbarkeit der Mengenangaben zu achten. Da z. B. als Aufschlussmittel Breikalk oder Kalkmilch vorgegeben werden, wurde der Feststoffgehalt von Kalk in Kalkmilch, Breikalk und dem festen, aus dem Fass entnommenen Sumpfkalk ermittelt, um diesen in Bezug zu den Mengenangaben des aufzuschließenden Caseins zu bringen. Zur Ermittlung des Calciumhydroxidanteils von eingesumpftem Kalk wurden von Kalkmilch, -brei und frisch gestochenem Sumpfkalk je zwei Proben von 25 g genommen und in Anlehnung an DIN 52 102 (1988) im Trockenschrank bei 60 °C getrocknet, anschließend eine Stunde im Exsikkator abgekühlt und gewogen.¹¹ Die Proben wurden von Altmannsteiner Sumpfkalk genommen.

	Menge/g	Menge/g Wasser	Menge/g Kalkhydrat
Kalkmilch	25	17,814	7,186
Kalkmilch	25	17,594	7,406
Kalkbrei	25	13,906	11,094
Kalkbrei	25	14,113	10,887
gestochener Sumpfkalk	25	12,556	12,444
gestochener Sumpfkalk	25	12,363	12,637

Tab. 1 Ermittlung des Kalkgehaltes nach der Trocknung

Als Mittelwerte ergeben sich nach der ersten Stelle hinter dem Komma gerundet:

	Menge/g	Menge/g Wasser	Menge/g Kalkhydrat
Kalkmilch	25	17,7	7,3
Kalkbrei	25	14,0	11,0
gestochener Sumpfkalk	25	12,5	12,5

Tab. 2 Mittelwerte der Kalkgehalte

Zum Vergleich von Gewichts- und Volumenangaben wurde das Gewicht von je 10 ml Milchsäurecasein, Kalkmilch, -brei und frisch gestochenen Kalk und Kalkhydrat ermittelt.

	Volumen/ml	Gewicht/g
Milchsäurecasein	10	6,4
Kalkmilch	10	12,2
Kalkbrei	10	13,3
Kalk gestochen	10	13,4
Kalkhydrat	10	4,8

Tab. 3 Gewichtsangaben und Volumenanteile der einzelnen Produkte

4.5 Auswahl der Rezepturen

Allgemein kann beim Vergleich der Rezepturen festgestellt werden, dass die Mengenangaben meistens in Raumteilen ausgewiesen werden. Dies ist für die Verarbeitung der Materialien am Objekt auch der gebräuchlichste Weg, weil die Produkte sonst umständlich gewogen werden müssten. Um die Rezepte abwägen zu können, sind sie in Tabellen nebeneinandergestellt worden. Die Verfasser werden in der ersten Zelle genannt, darunter dann die Rezepte zusammengefasst. In der vierten Zelle stehen die umgerechneten Mengen, um die Angaben miteinander vergleichen zu können. In der fünften werden ggf. Anmerkungen der Autoren notiert, die sich z. B. auf die Verwendung von Konservierungsmitteln beziehen oder die Vorgehensweisen beim Caseinaufschluss näher erläutern.

Caseinate hergestellt aus Quark mit Kalk als Aufschlussmittel

Rezept 1. Denninger	Rezept 2. Deuerling	Rezept 3. Deuerling	Rezept 4/5 Doerner 4.3.	Rezept 6. Wehlte	Rezept 7. Zykan
2,2 % Quarklösung	3 RT Quark	4 RT Quark	50 g frischer Topfen	5 VT Quark	1 T Topfen u.
gesättigtes Kalkwasser (pH-Wert von 7-9)	1 RT Kalkmilch	1 RT Kalkhydrat	werden mit 10 g gelöschtem, am besten eingesumpften Grubenkalk verrieben. Mit 5-6 Teilen Wasser verdünnen.	1 VT Breikalk	3 T eingesumpften Kalk mischen; warten, bis die Substanzen ineinander geronnen sind u. sich verbunden haben.
	100 ml Topfen : 40,7 g Kalkhydrat	100 ml Quark : 12 g Kalkhydrat	50 g Quark : 5 g Kalkhydrat	100 ml Quark : 26,6 g Kalkhydrat	100 ml Topfen : 402 g Kalkhydrat

Tab. 4 Rezeptausswahl der aus Quark hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate

Beim Vergleich der Rezepte fällt auf, dass die Angaben von Denninger zu ungenau sind, um nachvollzogen werden zu können. Die Mengenangaben von Zykan weichen sehr stark von denen der anderen Rezepturen ab und sind für einen Überzug schon deshalb ungeeignet, weil der Kalk auf der Maleroberfläche als Weißschleier verbleiben würde. Die 2. Rezeptur von Deuerling, 3 RT Quark mit 1 RT Kalkmilch zu mischen, scheint die gebräuchlichste zu sein. Seine Aussagen zur Verwendung von Kalkhydrat in Rezept 3 sind dagegen eher unüblich. Auffällig ist beim Vergleich der Angaben von Doerner und Wehlte, dass das Mengenverhältnis 5 : 1 ist. Doerner spricht allerdings von 50 g Quark : 10 g Sumpfkalk, der einem Gewichtsanteil von 5 g Kalkhydrat entspricht. Wehlte hingegen gibt – wie alle anderen Verfasser – Volumenteile an. Dabei entsprechen 5 Volumenteile Quark : 1 Teil Breikalk bei 50 ml Quark (die grob ermittelt mit ca. 55 g Quark übereinstimmen) ca. 5,9 g Kalkhydrat. Vergleicht man diese Angaben mit denen von Deuerling, der bei 50 ml Quark 6 g Kalkhydrat angibt, zeigt sich, dass Wehlte und Deuerling nahezu identische Aussagen treffen. An diesem

Beispiel wird deutlich, wie es zu Abweichungen kommen kann. Um ungefähr bei der Vergleichbarkeit der Rezepturen untereinander zu bleiben, wird die von Wehlte gewählt und von Doerner weggelassen. Die Angaben von Wehlte wurden auch deshalb praktisch umgesetzt, weil er bei der Restaurierung der Wandmalereien in der Alexanderkirche in Wildeshausen beratend tätig war.

Caseinate, hergestellt aus Quark mit Hirschhornsalz oder Ammoniak als Aufschlussmittel

Rezept 1. Deuerling, Joseph:

1 Liter Quark

50 g Hirschhornsalz in warmem Wasser gelöst.

Es liegt nur eine Rezeptur zum Aufschluss von Quark mit Hirschhornsalz vor, keine zum Aufschluss mit Ammoniak. Da jedoch entschieden wurde, Ammoniak als Aufschlussmittel zu verwenden, wird die Rezeptur von Schoenfeld zum Aufschluss von Milchsäurecasein mit Ammoniak (siehe Rezept 3) reproduziert.

Caseinate, hergestellt aus Milchsäurecasein mit Kalk als Aufschlussmittel

Rezept 3. Bryagin	Rezept 6. Christ	Rezept 2. Denninger	4.4. Rezept 4. Deuerling	Rezept 5. Wehlte	Rezept 1. Wihr
1 T Casein in 3 T Wasser gequollen	Pulvercasein	22 g Casein	1 Pfund Trockencasein – das sind 3 Liter Caseinlösung	40 g Pulvercasein in 125 ccm Wasser (kalt!)	Trockencasein von Merck
1 Teil davon mit 3 T gelöschtem Kalk mischen	15 % dickem Sumpfkalk, 9 % CaOH ₂ trocken	1 l gesättigte Calciumhydroxidlösung (pH-Wert 13)	1/8 l Kalkbrei zu dicker Milch, mit Wasser verdünnt od. 130 g CaOH ₂ in H ₂ O	33 g Kalk (Breikalk)	20 % Kalkbrei
100 g Casein : 628 g CaOH ₂	Bei V % entspricht 100 g Casein : 31,4 g Kalk/43,2 g CaOH ₂	In 100 g H ₂ O lösen sich 0,16 g CaOH ₂ d. h. 100 g Casein : 7,3 g CaOH ₂	100 g Casein : 33,25 g Kalkbrei (14,6 g CaOH ₂) od. 100 g Casein : 26 g CaOH ₂	100 g Casein: 82,5 g Breikalk (53,3 g CaOH ₂)	Bei V % entspricht 100 g Casein: 41,6 g Kalkbrei/18,3 g CaOH ₂
	Als Antiseptikum sind Borsäure, Salicylsäure, Lysol usw. zu verwenden.	Chlorkresol od. Salicylsäure. Nach etwa acht Tagen wird der pH-Wert wegen der Umwandlung in das weniger alkalische Kalkcasein auf etwa 9-10 gesunken sein.	Kalk und Casein haben keinen einheitlichen Gütewert, weshalb die Kalkmenge evtl. nicht reicht. Die Alten prüften dies, indem sie den Leim auf Glas strichen und trocknen ließen. Bei weißgrauem, milchglasähnlichem Aussehen fanden sie das Kalkcasein richtig; erschien der Auftrag gelbstichig, fügten sie mehr Kalk bei. Ein leichter Kalküberschuss galt als vorteilhafter.		

Tab. 5 Rezeptauswahl der aus Milchsäurecasein hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate

Denningers Angaben weichen stark von allen anderen Rezepturen ab. Es wird sehr wenig Kalk zum Aufschluss verwendet. Deshalb werden sie nicht weiter verfolgt. Bryagin gibt eine extrem hohe Kalkmenge an; sie würde auf Wandmalereien vermutlich zu Weißschleierbildungen führen. Daher wird Bryagins Rezeptur ebenfalls ausgeschlossen. Die Mengenangaben zum Aufschlussmittel von Wihr und Deuerling sind relativ niedrig. Sie liegen unter denen von Wehlte und Christ, die bei der Mengenangabe von Kalk am dichtesten beieinander sind. Da die Vorgaben von Wehlte praktisch umgesetzt worden sind, werden sie auch hier angewandt.

Caseinate, hergestellt aus Milchsäurecasein mit Ammoniak als Aufschlussmittel

Rezept 1. Christ	Rezept 2. Sandner	Rezept 3. Schoenfeld
Pulverkasein	40 g Casein in 200 ml kaltem Wasser, den Ansatz erwärmen. Caseinpulver dazu, keine technischen Produkte.	300 g Milchsäurekasein in 1600 g Wasser über Nacht einweichen, dann 1 Std. lang auf 60 °C erhitzen.
Ammoniak (9,75 %) 3-4 %	etwa 40 Tropfen (ca. 2 ml) 25 %iger Ammoniaklösung allmählich unter Rühren hinzufügen.	60 ccm Ammoniak (25 %ig) zugeben, auf 90 °C erhitzen, Temperatur 1 Std. halten.
Als Antiseptikum sind Borsäure, Salicylsäure, Lysol usw. zu verwenden.		Raschit W nach Vorschrift des Herstellers

Tab. 6 Rezeptauswahl der aus Milchsäurecasein hergestellten und mit Ammoniak aufgeschlossenen Caseinate

Die Angaben von Christ sind ungenau und werden deshalb nicht weiter verfolgt. Die Mengenverhältnisse, die Sander angibt, scheinen fehlerhaft zu sein. Das Casein wird mit solch einer geringen Menge Ammoniak nicht vollständig aufgeschlossen. Die Angaben von Schoenfeld sind von Restauratoren und Maltechnikern praktisch erprobt worden, die bekanntlich auch in Niedersachsen tätig waren.¹² Deshalb wird diese Rezeptur übernommen.

Salzsäurecasein mit Kalk als Aufschlussmittel

Rezept 1. Christ	Rezept 2. Deuring	Rezept 3. Wehlte
Pulvercasein	1 Pfund Trockencasein – das sind 3 Liter Kaseinlösung	40 g Pulvercasein in 125 ccm Wasser kalt
15 % dicker Sumpfkalk, 9 % Kalkhydrat trocken od. 3-4 % gebrannter und gelöschter Kalk	1/8 l Kalkbrei zu dicker Milch mit Wasser verdünnt od. 130 g Kalkhydrat unter Rühren einrieseln	33 g Kalk (Breikalk)
Als Antiseptikum sind Borsäure, Salicylsäure, Lysol usw. zu verwenden.	Da sowohl Kalk als auch Casein keinen einheitlichen Gütewert haben, kann die Kalkmenge eventuell nicht ausreichen. Die Alten prüften dies auf einfache und sichere Weise: Sie strichen den Leim auf Glas und ließen ihn trocknen. Bei weißgrauem, milchglasähnlichem Aussehen fanden sie das Kalkcasein richtig; erschien der Auftrag gelbstichig, fügten sie mehr Kalk bei. Ein leichter Kalküberschuss ist vorteilhafter als umgekehrt.	
	100 g Casein : 26 g Kalkhydrat	100 g Casein : 36,25 Kalkhydrat

Tab. 7 Rezeptauswahl der aus Salzsäurecasein hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate

Die Angaben von Christ sind sehr ungenau, weil er nicht deutlich macht, ob er Volumen- oder Gewichtsprozent meint. Deuring gibt das Verhältnis von Casein zu Kalkhydrat mit ca. 1 : 4 an, Wehlte mit 1 : 3. Auch hier werden die Angaben von Wehlte nachvollzogen, weil sie lange in der Restaurierung zur Anwendung gekommen sind.

Salzsäurecasein mit Ammoniak als Aufschlussmittel

Rezept 1. Christ	Rezept 2. Sandner	Rezept 3. Schoenfeld
Pulvercasein	40 g Casein in 200 ml kaltem Wasser, den Ansatz erwärmen. Caseinpulver dazu, keine technischen Produkte	300 g Milchsäurecasein in 1600 g Wasser über Nacht einweichen, dann 1 Std. lang auf 60 °C erhitzen.
Ammoniak (9,75 %) 3-4 %	etwa 40 Tropfen (ca. 2 ml) 25 %iger Ammoniaklösung allmählich unter Rühren hinzufügen.	60 ccm Ammoniak (25 %ig) zugeben, auf 90 °C erhitzen, Temperatur 1 Std. halten.
Als Antiseptikum sind Borsäure, Salicylsäure, Lysol usw. zu verwenden		Raschit W nach Vorschrift des Herstellers

Tab. 8 Rezeptauswahl der aus Salzsäurecasein hergestellten und mit Ammoniak aufgeschlossenen Caseinate

Hier gilt dasselbe wie bei der Bewertung zum Aufschluss von Milchsäurecasein mit Ammoniak. Die Angaben von Christ sind zu ungenau. Die Mengenverhältnisse, die Sander angibt, erscheinen fehlerhaft, da das Casein mit der bezifferten Menge Ammoniak nicht vollständig aufgeschlossen werden kann. Da die Angaben von Schoenfeld in der Praxis erprobt worden sind, wird diese Rezeptur übernommen.

Caseinate, hergestellt aus Casein nach Hammersten

Da explizit keine Rezepturen zum Aufschluss von Casein nach Hammersten vorliegen, werden die Alkalien und Rezepturen, die auch schon zur Behandlung von Milch- und Salzsäurecasein zur Anwendung kamen, praktisch umgesetzt.

Mengenangaben zur Herstellung der Caseinate

Als Grundrezepturen für den Aufschluss der Pulvercaseine und frischen Caseine sind aus den gesamten Angaben folgende Mengenverhältnisse ermittelt worden:

Kalkcasein

10 g Pulvercasein : 53 ccm H₂O : 16,5 g Sumpfkalk

15 g frisches Casein : 30 ml H₂O : 5,3 g Sumpfkalk

Ammoniumcasein

10 g Pulvercasein : 53 ccm H₂O : 4 ccm Ammoniak

15 g frisches Casein : 30 ml H₂O : 1,3 ccm Ammoniak

Die Mengenverhältnisse zwischen frischem und Pulvercasein wurden bestimmt, indem 20 ml frisches Casein getrocknet und dann das Trockengewicht von 15 g ermittelt wurde.

5. Herstellung der Probekörper

Die zu reproduzierenden Festigungsmittel nach den oben ausgesuchten Rezepturen mussten, um sie altern und weiter untersuchen zu können, auf Träger aufgebracht werden. Um sich den an den Objekten angetroffenen Bedingungen anzunähern, wurden kleine Putzplatten hergestellt, auf die die Bindemittel aufgestrichen wurden. Auf zusätzliche Prüfkörper aus Glas, die zum Beispiel für mikroskopische Untersuchungen geeignet gewesen wären, wurde verzichtet, da durch den Kontakt der Caseinate mit dem unphysiologischen Material Glas die biologischen Charakteristika von Proteinen verändert werden können. [Lottspeich, Engels, S. 15]

5.1 Herstellung von Putzplatten

Die Zusammensetzung geeigneter Mörtel wurde bereits 1994 in einer Arbeit von der Verfasserin ermittelt. Ausschlaggebend dabei war, das Wasser-/Bindemittelverhältnis der Mörtel und die daraus resultierenden Eigenschaften der Festmörtel zu berücksichtigen. Ein weiterer wichtiger Faktor war die gute Verarbeitbarkeit mit der Kelle. Der am besten geeignete Mörtel setzt sich wie folgt zusammen:

Bindemittel (Bm) : Weißkalkhydrat

Zuschlagstoff (Z) : Sand G23 (feine Körnung)

Bm : Z = 1 : 5 = 16,7 g Ca(OH)₂ + 83,3 g Sand + 25 g H₂O

6 kg Putz = 801,6 g Ca (OH)₂ + 3998,4 g Sand + 800-1200 g H₂O [Klein, K. 1994, S. 14, 29]

Die Mörtel wurden nach DIN 18550 Teil 2 Mörtelgruppe PI a mit einem Mörtelmischer MC 415 M hergestellt. Um gleichmäßig dicke Putzplatten zu erhalten, wurden Formen gebaut. Dazu wurden wasserdichte Resopalplatten verwendet, die mit in Wasser gekochten Nesseltüchern bespannt wurden. Darauf wurden dann die Rahmen geschraubt, die eine Höhe von 1,2 cm hatten. Der Nessel diente dabei als Trennschicht zwischen Resopalplatte und Putzkörper, die sich im feuchten Zustand sonst nicht vom Untergrund hätten trennen lassen. Die Mörtel wurden mit einer Kelle auf die Putzplatten aufgetragen, mit einem Richtscheit grob abgezogen und geglättet.



Abb. 12 Resopalplatte und Werkzeuge



Abb. 13 Auftragen des Putzes



Abb. 14 Fertig geputzte Platte

Nachdem der Putz so weit getrocknet war, dass er druckfest war, wurden die Prüfkörper zugeschnitten. Die Formate der Prüfkörper betragen 6,0 cm x 7,0 cm x 1,2 cm. Die Prüfkörper wurden auf Holzleisten so gelagert, dass sie nicht zerbrechen und dennoch von allen Seiten von Luft umspült werden konnten. Nach einer zweiwöchigen Trockenzeit in Raumluft bei 20 °C Raumtemperatur wurden die Putzplatten vier Wochen mit Kohlendioxid begast. Dadurch konnte die Carbonatisierung der Prüfkörper beschleunigt werden.



Abb. 15 Zugeschnittene Putzplatten

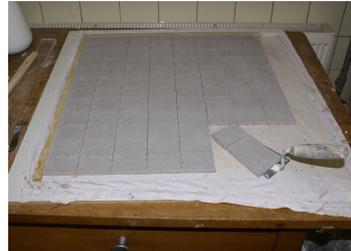


Abb. 16 Putzplatten beim Herausheben



Abb. 17 Putzplatten beim Trocknen

Zur Begasung wurden die Putzplatten auf mit Kunststoffgewebe bespannte Rahmen gelegt und in einer Kunststoffwanne auf Abstandshaltern übereinandergestapelt, sodass das Kohlendioxid wieder die gesamten Proben umspülen konnte. Der Abstand der Probeplatten zum oberen Rand der Wanne betrug ca. 30 cm. Das Kohlendioxid wurde dann mit einem Schlauch aus einer Flasche in die Wanne eingeleitet. Der CO₂-Gaspegel wurde mit einer Kerze in regelmäßigen Abständen kontrolliert und konstant gehalten. Das Einsetzen der Carbonatisierung wurde durch eine starke Kondensatbildung am Wannenrand und einen hohen Kohlendioxidverbrauch deutlich. In diesem Zeitraum wurde der CO₂-Gaspegel alle halbe Stunde kontrolliert. Die Begasung wurde so lange ausgeführt, bis der Gaspegel konstant blieb. Danach wurden die Proben bei Raumklima bis zur Beschichtung gelagert. Es wurden insgesamt 4,25 kg CO₂-Gas verbraucht.



Abb. 18 Horden für die Begasung der Putzplatten



Abb. 19 Putzplatten nach der Begasung

5.2 Applikation der Caseinate, Konservierungs- und Härtungsmittel auf die Putzplatten

Sechs Putzplatten wurden mit den unterschiedlich behandelten Caseinen beschichtet. Dabei wurden der selbst gefällte Quark, die industriell produzierten und selbst hergestellten Milchsäure- und Salzsäurecaseine sowie das Casein nach Hammerstein mit Ammoniak oder Kalk aufgeschlossenen. Die Caseinate wurden dann entweder gar nicht oder mit 1 % Salicylsäure respektive 1 % Lysol konserviert. Von der Salicylsäure wurden zuvor 2 % in Ethanol gelöst. Die unterschiedlichen Caseinate wurden zweimal mit dem Pinsel auf die Putzplatten aufgestrichen. Es wurden dabei jeweils ca. 4 ml Caseinat aufgetragen. Eine Putzplatte blieb unbehandelt. Von diesen Probekörpern wurden anschließend drei Proben mit 4 %iger Formaldehydlösung bestrichen. Die Tabelle der gealterten Proben, in der die einzelnen Beschichtungsmaterialien dokumentiert sind, befindet sich im Anhang (Kapitel 15.5).

6. Alterung

In dieser Arbeit wurden Caseinate untersucht, die auf Wandmalereien in Innenräumen aufgebracht worden sind; deshalb wurden bei der Alterung der Proben in der Klimakammer die Faktoren simuliert, die zur klimatischen Belastung und Alterung bei solchen Objekten führen – nämlich UV-Strahlung, Temperatur- und Feuchtebelastung. Nicht berücksichtigt wurden hingegen Schadensbelastungen wie Luftschadstoffe, Salzverwitterung, Frost-/Tauwechselverwitterung, hygri-sche Längenänderung und biologische Verwitterung.

Nach DIN 50 035 (Teil 1 Grundbegriffe) wird die Alterung polymerer Stoffe, als die Summe aller irreversibel ablaufenden chemischen und physikalischen Vorgänge eines Materials in Bezug zur Zeit definiert. Alterungsvorgänge, die eine Alterungserscheinung hervorrufen, werden unterschieden in:

- chemische Alterung (z. B. Änderung der chemischen Zusammensetzung, der Molekülgröße und der Molekülstruktur des Materials);
- physikalische Alterung (z. B. Änderung des Gefüges, der äußeren Form und Struktur oder der physikalischen Eigenschaften des Materials).

Als Ursachen der Alterung kommen nach DIN 50 035 (Teil 2 Polymere Werkstoffe) innere und äußere Einflüsse in Betracht. Als innere Alterungsursachen werden thermodynamisch instabile Zustände des Materials beschrieben:

- unvollständige Polykondensation, Polymerisation oder Polyaddition;
- Eigen- und Orientierungsspannung;
- begrenzte Mischbarkeit einzelner Komponenten mit dem hochpolymeren Grundstoff.

Als äußere Alterungsursachen werden chemische und physikalische Einwirkungen der Umgebung auf das Material beschrieben:

- thermische Beanspruchung;
- chemische Beanspruchung;
- mechanische Beanspruchung;
- Strahlungsbeanspruchung (ionisierende Strahlung);
- biologische Beanspruchung;
- Beanspruchung durch Witterung (photochemische Alterung). [Trubiroha, P. 1990, S. 88]

6.1 Alterung durch ultraviolette Strahlung

Bei den nach Einwirkung der Witterung sicht- und messbaren Alterungserscheinungen ist meist die Strahlungseinwirkung die primäre Ursache. Die Intensität der Alterung ist abhängig von der Wellenlänge der Strahlung des UV-Spektrums. Ein Bindemittel wird photochemisch durch die Belastung mit kurzwelliger Strahlung stärker abgebaut als durch langwellige Bestrahlung. Dieser Vorgang wird durch höhere Temperaturen zusätzlich verstärkt.¹³ [Trubiroha, P. 1990, S. 88 ff.; Brennan, P. et al. 1988, S. 323 ff.]

	Wellenlänge	Bemerkungen
UV-A	400–315 nm	verursacht Polymerschäden.
UV-B	315–280 nm	kürzeste Wellenlänge an der Erdoberfläche, löst schwere Polymerschäden aus, wird von Fensterglas absorbiert.
UV-C	280–100 nm	nur im Weltraum anzutreffen, wird von der Erdatmosphäre herausgefiltert, wirkt keimtötend.

Tab. 9 Wellenlängenbereiche des UV-Spektrums [Brennan, P. et al. 1988, S. 323]

Absorption der Strahlung

Bei der Bestrahlung werden die Moleküle durch Absorption der Photonen angeregt. Dabei kann die Absorption von UV-Strahlung – die Photonenanregung – unter natürlichen und künstlichen klimatischen Beanspruchungen mit ausreichender Genauigkeit betrachtet werden. [Trubiroha, P. 1990, S. 89]

Desaktivierung des angeregten Zustands

Das thermodynamische Gleichgewicht der Moleküle wird durch die Anregung mittels UV-Strahlung gestört und versucht folglich, die absorbierte Energie wieder abzugeben. Die Desaktivierung kann durch miteinander konkurrierende Prozesse – wie intramolekulare und intermolekulare Desaktivierung – sowie durch chemische Reaktionen erfolgen. Beeinflusst wird

die photochemische Aktivität durch den Energiegehalt, die Lebensdauer, Struktur und Elektronenverteilung des angeregten Moleküls. Die Desaktivierungsvorgänge in einem elektronisch angeregten Molekül sind vor allem von der Temperatur und den vorhandenen Akzeptoren der Reaktionspartner abhängig. [Trubiroha, P. 1990, S. 89]

6.2 Alterung durch Feuchte- und Temperatureinfluss

Trotz des starken Einflusses des UV-Anteils der Strahlung wird der Verlauf der Alterung im Wesentlichen durch das Grenzflächenklima der bestrahlten Oberfläche bestimmt. Das Klima der bestrahlten Oberflächen hat die gleiche Taupunkttemperatur wie das die Probe umgebende Freiluftklima. Wird die Oberfläche durch die globale Strahlung erwärmt, nimmt die relative Feuchte entsprechend ab. Das hat zur Folge, dass die relative Feuchte in einem Freiluftklima von 23 °C, 80 % r. F. bei einer Temperaturerhöhung der Probenoberfläche um 40 °C auf etwa 15 % abnimmt. Nachts hingegen kühlt die Probenoberfläche durch eine effektive Ausstrahlung im langwelligen Bereich unter die Temperatur des Umgebungsklimas ab und die relative Feuchte des Grenzflächenklimas steigt wieder an. Das bedeutet, dass die Schädigung durch UV-Strahlung bei erhöhtem Feuchtigkeitsangebot verstärkt wird.¹⁴ Darüber hinaus zeigte sich, dass die Photooxidation erst oberhalb von 0 °C stattfindet und eine Temperaturerhöhung um 10 °C eine Verdoppelung der Wirkung der Strahlung bedingt. [Schniewind, B. J. 1990, S. 91]

Längenänderung

Ein weiterer nicht außer Acht zu lassender Faktor beim Einfluss der Temperatur auf die Alterung ist die thermische Längenänderung, die im Verbund unterschiedlicher Materialien entstehen kann. Die Ursache für die auftretenden Schäden wie dachförmig aufstehende, abrollende und abgeblätterte Malschichten liegt an der Oberflächenspannung, die durch unterschiedliche Dehnung der Materialien bei alternierender Erwärmung und Abkühlung entsteht. Darüber hinaus können sich die Beschichtungen, die der direkten Sonnenbestrahlung ausgesetzt sind, stärker ausdehnen als der Untergrund.¹⁵

Thermisch gebildete Produkte

Ein anderer wichtiger Alterungsfaktor bei den Caseinaten ist die Bildung von Maillard- und anderen thermisch hervorgebrachten Produkten (siehe Kapitel 2.6.3.2). Wenn eine hohe Wärmebelastung an der Wandfläche auftritt und es zur Maillardreaktion kommt, können sich Verbräunungen ergeben, die negative Auswirkungen auf das Kunstwerk haben können.

6.3 Künstliche Bewitterung der Probekörper

Die Simulation des Raumklimas erfolgte in einer Klimakammer mittels UV-Strahlung, Temperatur- und Feuchtebelastung, um die beschleunigte Alterung von Probekörpern (DIN 53387, DIN EN ISO 4892-3) zu erreichen. Es wird empfohlen, die Alterung durch schnellere Abfolge von Bewitterungszyklen zu erzielen statt die Einflussgrößen stark zu erhöhen. Deshalb wurde eine relativ niedrige UV-Belastung von 315-400 nm durch UV-Leuchtstoffröhren Typ 1B (UV-A-351) gewählt. Es folgten dreitägige Belastungsintervalle in einer Klimakammer, an denen tageweise sprunghafte Änderungen von Luftfeuchtigkeit und Temperatur stattfanden. Nach 72 Tagen entstanden so die oben beschriebenen Schäden, die an den Objekten nach mehreren Jahren der Alterung festgestellt werden können.



Abb. 20 Rags, mit Leuchtstoffröhren Typ 1B (UV-A-351) bestückt



Abb. 21 Bestrahlung der Probekörper mit UV-Licht

Bewitterungszyklen

Intervalle	Dauer [d]	Luftfeuchtigkeit [%]	Temperatur [°C]	UV-A Strahlung [nm]
1	0-1	90	29	400-315
	1-2	50	6	-
	2-3	90	29	400-315
2	0-1	50	29	400-315
	1-2	90	6	-
	2-3	50	29	400-315
3	0-1	50	29	400-315
	1-2	90	29	400-315
	2-3	50	29	400-315
4	0-1	50	6	-
	1-2	90	6	-
	2-3	50	6	-
5	0-1	90	29	400-315
	1-2	90	6	-
	2-3	90	29	400-315
6	0-1	50	29	400-315
	1-2	50	6	-
	2-3	50	29	400-315

Tab. 10 Bewitterungszyklen der Putzplatten

7. Untersuchungen

Durch die Untersuchungen sollen alle zu beobachtenden und messbaren Veränderungen erfasst und betrachtet werden. Mit der Bestimmung des Abblätterungsgrades an den Probekörpern kann eine Aussage über die Eigenspannung der Beschichtung getroffen werden. Die Farbmessung ermöglicht optische Veränderungen festzustellen, die mit dem bloßen Auge nicht wahrgenommen werden können. Durch die Löslichkeitstests der Caseine mit Puffern lassen sich Aussagen über die Materialeigenschaften der Caseine treffen. Die Betrachtung der Peptidsequenzen der tryptisch verdauten Caseinate gibt Auskunft über die strukturellen Veränderungen der Makromoleküle.

7.1 Abblätterungsgrad nach DIN EN ISO 4628-5

Die Untersuchung des Abblätterungsgrades in Anlehnung an DIN EN ISO 4628-5 kann an Beschichtungsstoffen zur Beurteilung von Schäden, deren Menge, Größe und Tiefe angewendet werden. Hier werden der Versprödungsgrad und die Zunahme der Spannung in den Caseinschichten eingeschätzt und der Abblätterungsgrad in Bezug zur Zeit bewertet. Der Anteil der Flächen wird in Prozent abgeschätzt. Die Größe der Flächen wird in mm angegeben. Folgende Bewertungskennwerte werden berücksichtigt:

Kennwert	Größe der Fläche, von der die Beschichtung abgeblättert ist
0	Abblättern nicht sichtbar bei 10 facher Vergrößerung
1	bis 1 mm
2	bis 3 mm
3	bis 10 mm
4	bis 30 mm
5	größer als 30 mm

Tab. 11 Abblätterungsgrad in Anlehnung an DIN EN ISO 4628-5

7.2 Veränderung der Farbe

Farbwerte können durch die Ermittlung von sogenannten Normfarbwerten an verschiedenen Messstellen einer Probe mit einem Farbmessgerät eruiert werden. Dafür werden Drei-Filterphotometer bzw. Spektralphotometer verwendet. Bei der Benutzung eines Drei-Filterphotometers werden die Remission/Transmission, die von der Oberfläche des Probekörpers ausgehen, über drei unterschiedliche Farbfilter ermittelt. Als Remission wird das von einer Farbschicht, als Transmission das von einer transparenten Schicht gestreute Licht bezeichnet. Im Zuge dieser Arbeit wurden transparente Caseinate auf weiße Probplatten appliziert. Während der Farbmes-



Abb. 22 Spektralphotometer

sung der Probplatten trifft das Licht auf die transparente Schicht und durchdringt sie, wird alsdann von dem Probekörper transmittiert und mit dem Spektralphotometer angegeben. Da während der Alterung die Caseinate verbräunen können, werden folglich die optischen Farbveränderungen dieser Schicht registriert. Bei der Messung mit dem Spektralphotometer nach DIN 53236-B lässt sich so die Verteilung der Remission/Transmission über die Normfarbwerte berechnen. Voraussetzung dafür ist die Kenntnis der additiven Farbmischung, bei der das Zusammenwirken mehrerer Wellenlängenbereiche im Wahrnehmungsapparat (Auge oder Messgerät) einen einheitlichen Farbeindruck bildet. Dieser Farbeindruck entsteht über das Auge im Gehirn durch die Empfänger für Rot, Grün und Blau. Die CIE, Commission Internationale de l'Eclairage (Internationale Beleuchtungskommission), legte als Grundlage eines internationalen farbmtrischen Systems virtuelle Primärvalenzen fest, gewissermaßen ein Super-Rot, ein Super-Blau und ein Super-Grün. Mit diesen Mischungsanteilen sollten so rein rechnerisch alle Farbempfindungen bewertet werden können. Die aus diesen Primärvalenzen ermittelten Farbwerte setzen sich also aus nur theoretisch existierenden Grundfarben zusammen und wurden als Normalspektralwert $R(x_\lambda)$, $G(y_\lambda)$ und $B(z_\lambda)$ bezeichnet. Da sich mit den gemessenen Rot- und Grünanteilen die Blauanteile errechnen ließen, wurde der Blauanteil vernachlässigt. Um jedoch die Farben vollständig charakterisieren zu können, war es erforderlich, die Helligkeit einer Farbe zu bestimmen, die über den Farbwert Y dargestellt wurde.

Nachdem CIE-System wurden die Farbwerte X, Y und Z (siehe DIN 5033 Teil 2) benannt. Da sich die Farbsättigungen und Bunttöne jedoch nicht in proportionalen Differenzen der Wellenlängen ausdrücken lassen, wurde das System weiterentwickelt. Mit dem CIELab-System der höheren Farbmeterik können diese Farbunterschiede als Farbabstände (ΔE^*) definiert werden. Diese Farbabstände können visuell nach DIN 6173 A oder bei ebenen und homogenen Probenoberflächen als Farbmessung erfasst werden. Aus den Normfarbwerten wird dann nach DIN 6174 der Farbabstand zum Bezugswert statistisch erschlossen. Dabei werden Mittelwert und Standardabweichung sowie ggf. Variationskoeffizient aus den Messergebnissen (Normfarbwerte X, Y, Z bzw. L^* , a^* , b^* -Farbmaßzahlen) errechnet. L^* gibt die Helligkeit, a^* den Rot-/Grün- und b^* den Gelb-/Blau-Anteil der Farbe an. Diese Berechnungen führen die heute gebräuchlichen Farbmessgeräte¹⁶ automatisch durch. Es liegen also die direkten Werte L^* , a^* , b^* und ΔE^* vor. Dargestellt werden die Messwerte in einem dreidimensionalen L^* - a^* - b^* -Koordinatenraum. Die unbunten Farben liegen auf der L^* -Achse, wobei die Farbe am gesättigsten ist, je weiter der Farbpunkt von der L^* -Achse entfernt ist. In der unten stehenden Tabelle sind die Farbwerte für die einzelnen Farben aufgelistet. [Kittel, H. 1998, S. 277 ff.]

Farbe	L^*	a^*	b^*
schwarz	0	0	0
weiß	100	0	0
grau	$0 < L < 100$	0	0
rot	positiv	positiv	0
grün	positiv	negativ	0
gelb	positiv	0	positiv
blau	positiv	0	negativ

Tab. 12 L^* -, a^* -, b^* -Farbmaßzahlen

Im Idealfall sollen die Remissions-/Transmissions-Messungen an Prüfkörpern durchgeführt werden, die im Normklima 20 °C und 65 r. Lf. bis zur Massenkonstanz gelagert wurden. Die Ermittlung der Normfarbwerte erfolgt in dieser Arbeit für Normlichtart D 65 mit dem 10°-Normalbeobachter, da die mit Ammoniak aufgeschlossenen Caseine nach der Beschichtung stark glänzten und die mit Kalkcasein beschichteten Probeplatten matt blieben. Je nach Beschaffenheit der Probenoberfläche werden 5 bis 30 Messungen an unterschiedlichen Stellen empfohlen. [Schubert, P. et al. 1993, S. 57] Die Farbmessung wurde vor und nach Abschluss

der Alterung und während jeder Probennahme vorgenommen.

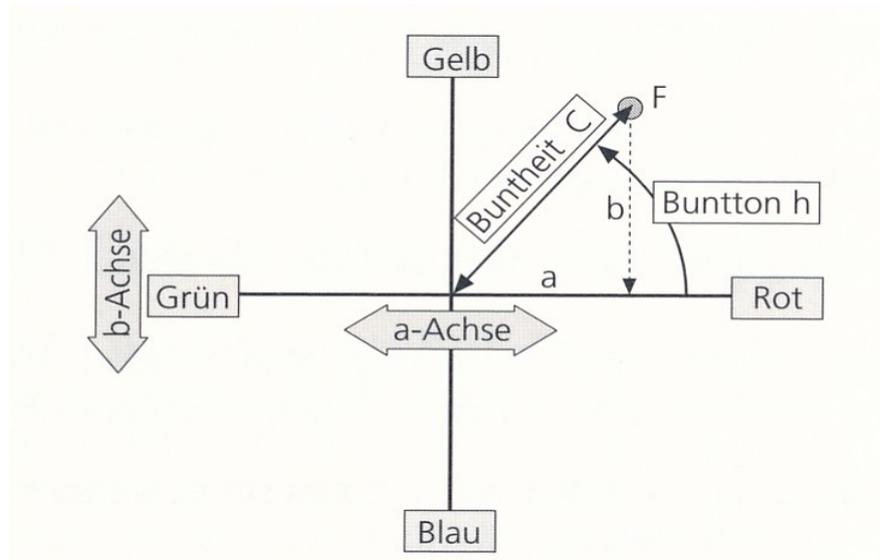


Abb. 23 Die Lage der Farbe F in der a-b-Ebene kennzeichnet ihre Farbart nach Buntheit C (Chroma). Der Buntton h (Hue) ist der Farbwinkel zwischen 0 und 360°. Bei 0° ist es ein blaustichiges Rot und bei 180° ein blaustichiges Grün. [Kittel, H. 1998, S. 299]

7.3 Verwendung von Puffern zur Lösung der Caseine

Bei der Abnahme eines Überzugs von einer Malerei mit einem Puffer ist als wesentlicher Aspekt zu beachten, dass die Löslichkeit des Überzugs einen anderen pH-Wert hat als die zu erhaltende Malschicht. Die Auswahl eines Puffers erfolgt dabei in erster Linie nach seinem pKs-Wert, der möglichst nicht mehr als 0,5-1,0 Einheiten vom gewünschten pH-Wert abweichen sollte. Wird ein eher saurer Puffer hergestellt, kann ein niedrigerer pKs-Wert gewählt werden. Bei der Verwendung eines basischen Puffers muss der pKs-Wert höher sein. Nicht alle Puffer sind für den Einsatz auf kalkhaltigen Oberflächen – wie im vorliegenden Fall – geeignet. Beim Einsatz von Kaliumphosphat-Puffern können beispielsweise unlösliche Salze entstehen. Das Phosphat kann wiederum als Nährstoff für Mikroorganismen dienen.

Puffer, die Aminogruppen wie TRIS [Tris(hydroxymethyl)aminomethan] und Glycin enthalten, können z. B. mit Pigmenten, Metallseifen, Füll- oder Farbstoffen Komplexe bilden. Ammoniumsalze wiederum können beispielsweise mit Kupferpigmenten reagieren und diese auflösen. Solcherlei Betrachtungen können im Rahmen dieser Untersuchung allerdings vernachlässigt werden, da außer Kalk und der Caseinschicht keine Stoffe vorhanden sind, die reagie-

ren können, und somit die Vergleichbarkeit der Tests gegeben ist. Beim Einsatz von flüchtigem Puffer (wie TRIS), der geringe Rückstände am Objekt zurücklässt, ist zu berücksichtigen, dass sich dessen pH-Wert durch Evaporation (Verdunstung) verändern kann. Beim Einsatz von temperaturabhängigen Puffern ist deshalb zu beachten, dass der pH-Wert des Puffers exakt auf die Verarbeitungstemperatur eingestellt wird. Für Testzwecke ist solch ein komplexer Puffer einerseits geeignet, weil man nur einen Puffer herstellen muss, andererseits, weil die Ergebnisse gut miteinander verglichen werden können, da nur ein Parameter, nämlich der pH-Wert, variiert wird.¹⁷ Für die Ermittlung vergleichbarer Werte werden bei den nachfolgenden Untersuchungen hochreine Trispuffer verwendet, die keine Eisenkomplexe bilden. [Pietsch, S. 128 f.]

7.4 Veränderungen tryptisch verdauter Caseinate, gemessen mit MALDI-Tof

Bisher wurden Methoden zu optisch erfassbaren Veränderungen an den Probekörpern und Löslichkeitstests beschrieben, die von Restauratoren an Objekten als Grundlage ihrer Arbeit ausgeführt werden können. Es soll nun untersucht werden, ob sich die beobachtbaren Veränderungen auch mit einer hochsensiblen Messmethode, dem MALDI-Tof, nachvollziehen und bewerten lassen. Die Caseinate sind dafür entsprechend zu präparieren; sie werden tryptisch verdaut und auf einen Träger appliziert, die Peptidsequenzen werden gemessen.

7.4.1 Tryptischer Verdau

Trypsin, ein Enzym aus der Klasse der Endoproteasen, wird zur katalytischen Hydrolyse von Peptidbindungen eingesetzt. Es ist bei pH 3,0 äußerst stabil und weist bei pH 8,0 seine größte proteolytische Aktivität auf. Von Trypsin werden Proteine an der carboxyterminalen Seite von Lysin- und Argeninresten gespalten. Die Arg-Pro- bzw. Lys-Pro-Stellen sind hingegen resistent gegen Trypsin. Peptidbindungen zwischen einer basischen (Lys, Arg) und einer sauren Aminosäure (Glu, Asp) werden von Trypsin nur langsam angegriffen. [Rehm, H. et al. 2010, S. 242] Lactose-Lysin-Verbindungen widerstehen ebenfalls der proteolytischen Wir-

kung von Trypsin, da die polymerisierten Endprodukte Metallionen, speziell Eisen, binden und so deren Verfügbarkeit mindern. [Töpel, A. 1981, S. 719] Die N-terminalen α -Amino- und ϵ -Aminogruppen von Lysinresten werden hingegen bevorzugt chemisch modifiziert, weil die Lysinreste ubiquitär (überall verbreitet) in Proteinen vorkommen, sich hauptsächlich an der Oberfläche von Proteinen befinden und somit leichter für Reagenzien zugänglich sind. [Lottspeich, F. et al. 2006, S. 105] Sollen überwiegend ϵ -Aminogruppen abgewandelt werden, sind die Reaktionen bei pH-Werten größer als neun durchzuführen. Durch Senken des pH-Wertes kann man den Abbau selektieren, da α -Aminogruppen niedrigere pK-Werte haben als ϵ -Aminogruppen. [Lottspeich, F. et al. 2006, S. 206 ff.] Das optimale Verhältnis von Enzym zu Substrat (in Gewicht) liegt bei 1 : 50 bis 1 : 100. Durch Ca^{2+} -Ionen wird der Selbstverdau von Trypsin gehemmt. [Rehm, H. et al. 2010, S. 242] In dieser Arbeit sind folglich die Ca^{2+} -Ionen der Proben von Vorteil, weil der Selbstverdau des Trypsins verlangsamt wird. Da die Spaltungen an jeweils spezifischen Stellen des Proteingerüsts erfolgen, werden für jedes Protein und das jeweils verwandte Enzym ein kennzeichnendes Peptidmuster erstellt. Deshalb werden diese Enzyme bei der Primärstrukturanalyse und zur Erstellung von peptide maps, z. B. in Verbindung mit der Massenspektrometrie, eingesetzt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass beim tryptischen Verdau besonders auf die Wahl des Puffers, den pH-Wert, die Temperatur, die Verdauzeit und das Verhältnis von Enzym zu Substrat zu achten ist. [Lottspeich, F. et al. 2006, S. 210]

7.4.2 MALDI-Tof-Analyse

Für die Untersuchung der mit Trypsin hydrolysierten Caseinate kam das Flugzeitmassenspektrometer, MALDI-Tof (von engl. Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization-Time-of-flight), zur Anwendung.

Nach dem tryptischen Verdau folgt die Vorbereitung der Proben für das MALDI. Es wird die Getrocknete-Tropfen-Methode gewählt, bei der die Peptidlösung mit gesättigter wässrig/organischer Matrixlösung (α -Cyano-Hydroxy-Zimtsäure gelöst in 50 Vol% Acetonitril, 50 Vol% Ethanol und 0,1 Vol% TFA) gemischt und so in die Kristalle von UV-absorbierenden Molekülen (Kokristallbildung) eingebaut wird. Moleküle, die Kokristallbildung, Protonentransfer

und UV-Absorption zeigen, nennt man Matrix. Die Peptidkonzentration liegt bei 10 μM . Vier Tröpfchen von 1 μl werden auf den Probenhalter (Plate) appliziert und bei Raumtemperatur getrocknet. Bei der Kristallbildung übertragen die sauren, UV-absorbierenden Moleküle Protonen auf die Proteine/Peptide und laden sie positiv auf. Die Proteine/Peptide erhalten so in der Regel eine oder zwei positive Ladungen. In dieser Arbeit wurde das MALDI mit den Peptidstandards Angiotensin, Bradykinin, Neurotensin, Renin und ACTH 18 – 39 kalibriert. Anschließend folgt die Ionisierung, bei der die protein- oder peptid-gedopten Kristalle im MALDI mit einem UV-Laser-Puls bestrahlt werden. [Rehm, H. et al. 2010, S. 244 ff.]

In den Flugzeitanalysatoren werden die Ionen aus der Ionenquelle von einem elektrischen Feld beschleunigt und treten dann in den Analysator ein. Auf alle Ionen wirkt dabei das gleiche Feld, es wird auf jedes Ion die gleiche Energie pro Ladung übertragen. Durch das Feld werden die Ionen in einer bestimmten Zeit auf eine bestimmte Geschwindigkeit gebracht, die von ihrem Masse/Ladungsverhältnis (m/z) abhängig ist. Mit dieser Geschwindigkeit und ihrer Anfangsgeschwindigkeit fliegen die Ionen durch einen Schlitz in das feldfreie Vakuum-Flugrohr, den Flugzeitanalysator (TOF). Die Ionen werden nicht mehr beschleunigt (oder abgebremst), sondern fliegen mit der erreichten Geschwindigkeit bis zum Reflektor, der die Ionen umlenkt, wodurch die Fluglänge verdoppelt und die Auflösung verbessert wird. Die Ionen werden mit gleichem m/z , aber unterschiedlichen kinetischen Energien am Reflektor fokussiert. Die schnellen Ionen dringen tiefer in den Reflektor ein und brauchen länger, um wieder an die Oberfläche zu kommen. Je nach Geschwindigkeit erreichen sie dann den Detektor in unterschiedlichen Zeiten, die gemessen werden. [Rehm, H. et al. 2010, S. 257 f.; Lottspeich, F. et al. 2006, S. 330 ff.]

Die positiv geladenen Proteine gehen ohne Gegenionen wie Cl^- und Hydratwasser in die Gasphase. Proteinkomplexe zerfallen in der sauren, denaturierenden Matrixlösung in ihre Untereinheiten und erscheinen im Gas meistens als einzelne Polypeptidketten. [Rehm, H. et al. 2010, S. 244]

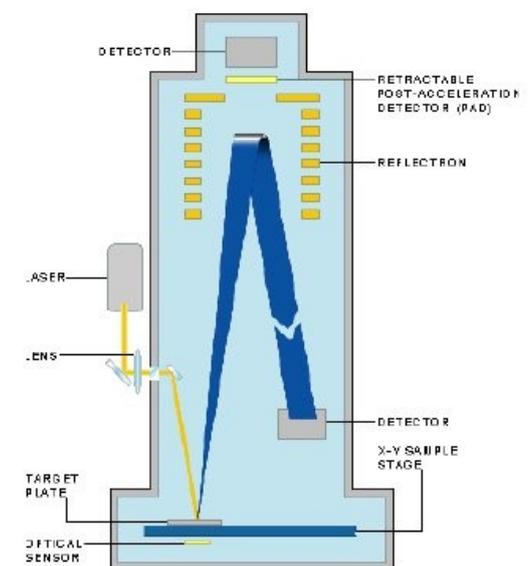


Abb. 24 Schematische Darstellung des MALDI-ToF

Messbereiche und Beeinflussung der Messungen

Da Δm als Halbwertsbreite eines Peaks definiert ist, kann eine echte Trennung der Isotope erst ab einer Auflösung von etwa 1400 festgestellt werden. Ab einem Wert von ca. 2000 wird die Modulation eines Signals zwischen zwei Isotopenpeaks bis auf die Grundlinie erreicht. [Lottspeich, F. et al. 2006, S. 335] Für intakte Proteine mit m/z -Werten größer als 20-30 kDa lässt sich die Isotopenverteilung mit MALDI-Tof nicht auflösen. Die gemessenen Werte können durch Addukte zu höheren Massen oder durch Abspaltungen zu niedrigeren Massen verschoben sein, wodurch eine Peakverbreiterung erfolgt. Addukte können durch Anlagerung von Wasser, Matrixmolekülen sowie von Kationen an das Protein gebildet werden. Auch Derivatisierungsreaktionen einiger Aminosäureseitenketten mit Bestandteilen von Pufferlösungen oder Trennmedien können zu unerwünschten Ergebnissen führen. Bedingt durch mehrere, potenziell reaktive Aminosäureseitenketten der Proteine finden die Reaktionen in der Regel nicht quantitativ statt. Folglich können heterogene Gemische von Proteinen mit einer jeweils unterschiedlichen Anzahl an Derivatisierungen entstehen, die wiederum zu einer Peakverbreiterung zu höheren Massen beitragen können. [Lottspeich, F. et al. 2006, S. 344]

7.5 Hauptkomponentenanalyse

Die mit MALDI-Tof gemessenen Ergebnisse wurden aufgrund der großen Menge von Datensätzen mit der Hauptkomponentenanalyse oder Principal Component Analysis (PCA) ausgewertet. Die Hauptkomponentenanalyse ist ein Verfahren der multivariaten Statistik, mit der umfangreiche Datensätze strukturiert, vereinfacht und veranschaulicht werden können, indem eine Vielzahl statistischer Variablen aus ursprünglichen Daten durch eine geringere Anzahl von Linearkombinationen (die Hauptkomponenten) genähert wird. Dabei werden mit we-

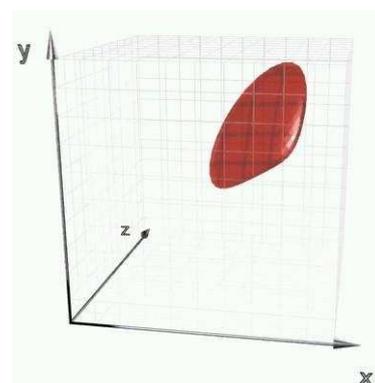


Abb. 25 Das Koordinatensystem wird in den Schwerpunkt der Punktwolke gelegt.

wenigen Faktoren eine Datenmatrix in ein relevanteres Koordinatensystem transformiert, die Dimensionalität der Daten verringert und Informationen vom Rauschen getrennt. Die n Variablen von m Proben oder Messungen einer Datenmatrix lassen sich als Punktwolke in einem n -

dimensionalen Raum beschreiben, wie in Abb. 25 beispielhaft in einem dreidimensionalen Koordinatenraum dargestellt. Das Prinzip der PCA gilt aber auch für höherdimensionale Datenmengen. Zuerst wird das Koordinatensystem in das Zentrum der Daten bewegt. In Abb. 26 wird durch einen blauen Pfeil die Raumrichtung, in der die Daten die größte Varianz aufweisen, angedeutet. Dann wird die x-Achse mit der Raumrichtung dieses Vektors durch Rotation des Koordinatensystems zur Deckung gebracht und die neue Achse der ersten Hauptkomponente abgebildet (Abb. 27). Anschließend wird jedes Mal die Richtung der nächstgrößten Varianz bestimmt, die orthogonal zu den vorherigen Hauptkomponenten sein muss (gelber Pfeil in Abb. 28). Die nächste Achse des Koordinatensystems wird dann in diese Richtung gedreht. Die Achsen bzw. die Hauptkomponenten stehen so senkrecht aufeinander und sind entsprechend in absteigender Varianz sortiert (Abb. 29). Die Daten werden in der ursprünglichen Datenmatrix X durch Score- und Loadingvektoren mathematisch dargestellt. t_n ist der Scorevektor und p_n der entsprechende Loadingvektor der n -ten Hauptkomponente. e ist der nicht erklärte Anteil der Daten der Hauptkomponenten.

$$X = \vec{t}_1 \vec{p}_1' + \vec{t}_2 \vec{p}_2' + \vec{t}_3 \vec{p}_3' + \dots + \vec{t}_n \vec{p}_n' + e$$

Die Hauptkomponenten können mit dem NIPALS-Algorithmus (Non-linear Iterative Projection by Alternating Least-Squares) berechnet werden, der in der Literatur ausführlich beschrieben

ist. Mit diesem Algorithmus werden zuerst die Score- und Loadingvektoren der ersten Hauptkomponente (t_1 und p_1) ermittelt und diese Matrix $t_1 p_1'$ wird dann von der ursprünglichen Datenmatrix X abgezogen. Mit der resultierenden Matrix werden auf analoge Weise die zweite und alle folgenden Hauptkomponenten berechnet, wobei die neu ermittelte Hauptkomponente senkrecht auf den vorherigen stehen muss. Der Informationsgehalt der Hauptkompo-

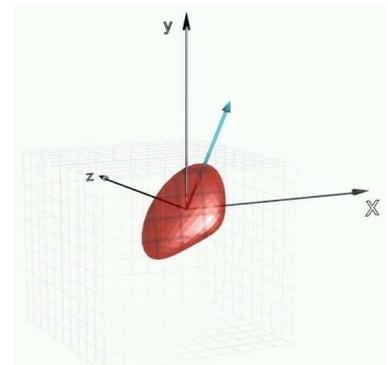


Abb. 26 Drehen des Koordinatensystems, sodass die erste Achse in Richtung der größten Varianz (blauer Pfeil) platziert ist.

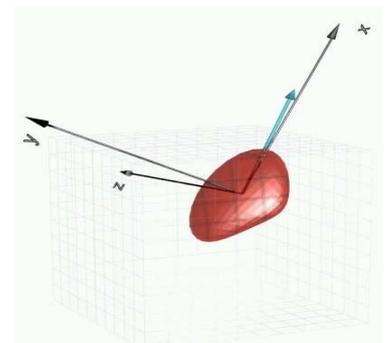


Abb. 27 Drehung der x-Achse zur ersten Hauptkomponente, ohne deren Richtung zu verändern.

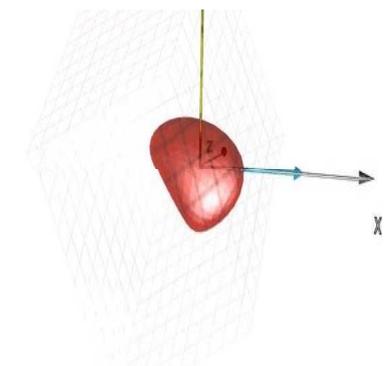


Abb. 28 Nach Rotation der y-Achse entsteht die zweite Hauptkomponente.

zenten nimmt nach und nach ab, sodass die höheren Scores für die Analyse des Datensatzes oft vernachlässigt werden können. Bei welcher Hauptkomponentenanzahl die Beschreibung des Datensatzes ausreicht ist nicht festgelegt; sie wird aber so gewählt, dass sie ca. 90 % der Varianz ausdrückt.

Die Auswertung eines Datensatzes, der mithilfe der Hauptkomponentenanalyse eruiert worden ist, erfolgt mit dem Scoreplot, indem die Werte von zwei (oder auch drei) Scorevektoren der ersten beiden Hauptkomponenten t_1 und t_2 grafisch

dargestellt werden. Objekte (bzw. Proben, Messungen), die im Scoreplot dicht beieinanderliegen, sind sich ähnlich. Je weiter sie voneinander entfernt sind, desto weniger Gemeinsamkeiten haben sie. Gruppen ähnlicher Objekte in einem Datensatz sind im Scoreplot als Punktgruppen (Cluster) zu beobachten. Auch Ausreißer sind im Scoreplot leicht zu erkennen, da sie sich in ihm weitab von den anderen Objekten (Clustern) befinden. [Esbensen, O. et al. in: Lindner, P. 2008, S. 9 ff.]

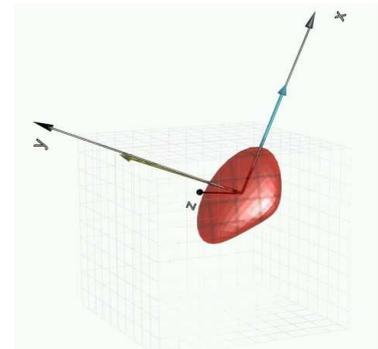


Abb. 29 Fortsetzen des Verfahrens, bis die k-te Achse (k-te Hauptkomponente) in Richtung der größten Varianz ausgerichtet ist.

8. Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in der Reihenfolge der Arbeitsschritte präsentiert und miteinander verglichen.

8.1 Herstellung der Caseine

Die Fällung des Quarks und des Milch- und Salzsäurecaseins erfolgte, um die drei mit den industriell hergestellten Caseinen zu vergleichen, denn die heute käuflichen Caseine werden alle aus pasteurisierter und homogenisierter Milch gewonnen. Der Quark wurde aus frischer und das Milch- und Salzsäurecasein aus 50 °C erhitzter Milch gefällt. Auf die Produktion von Casein nach Hammersten wurde aus herstellungstechnischen Gründen verzichtet.

8.1.1 Herstellung von Quark nach Rezept 1

Die Milch hatte bei ihrer Lieferung eine Temperatur von 6 °C, bei der sie ca. 30 Std. gelagert und anschließend entrahmt wurde. Von den 5 l Milch wurden 550 ml Rahm abgeschöpft. Die Milch ruhte dann bei 22 °C bis zum nächsten Morgen. Es konnten nochmals ungefähr 900 ml Rahm abgenommen werden. Von der entrahmten Milch wurden mit einem Schlauch etwa 3 l abgelassen, wovon 1,5 l zur Quarkherstellung verwendet wurden. Die Milch kam für ca. 20 Std. bei 36 °C in den Wärmeschrank, bis sie geronnen war und säuerlich roch. Der Quark trennte sich sauber und schwamm auf der Molke. Vom Quark wurde nochmals eine dünne Rahmschicht abgenommen, bevor er im Wasserbad 15 Min. bei 50 °C erhitzt und gerührt wurde. Nach annähernd 1 Std. des Stehenlassens bildeten sich im Gefäß drei Phasen: unten eine Molke-, dazwischen eine Quark- und darüber wieder eine Molkeschicht. Der Quark wurde dreimal gewaschen und in einem Tuch ausgepresst. Aus den 1,5 l Milch konnten in etwa 150 g Quark gewonnen werden. Er wurde fein verrieben, auf kleinen Trockenhorden bei 30 °C im Trockenschrank getrocknet und anschließend gemahlen. Es ist das grobkörnigste der untersuchten Caseine; es ist gelblich und glasig.



Abb. 30 Der Quark schwimmt auf der Molke.



Abb. 31 Erhitzen und Rühren des Quarks



Abb. 32 Quark nach dem Rühren



Abb. 33 Quark nach dem Waschen

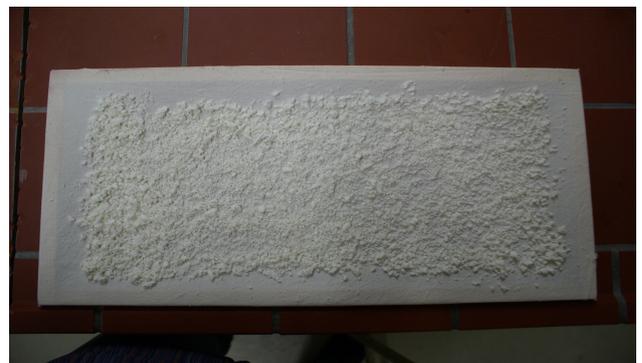


Abb. 34 Gemahlener Quark vor dem Trocknen auf der Horde



Abb. 35 Gemahlener Quark im Trockenschrank



Abb. 36 Quark getrocknet und gemahlen

8.1.2 Herstellung von Milchsäurecasein nach Rezept 17

Zur Herstellung eines Milchsäureweckers wurde Milch im Wärmeschrank ca. 24 Std. bei 40 °C stehen gelassen. Die Milch war danach sauer, flockte aber nicht aus. Von dem Milchsäurewecker wurde zu 1,5 l Milch (pH 6,6) so viel hinzugefügt, dass sich ein pH-Wert bei 6,4 einstellte. Die Milch wurde dann im Wärmeschrank bei 40 °C aufbewahrt. Nach 7 Std. hatte sie einen pH-Wert von 4,6. Nach dem Rühren der Milch bei 45 °C trennte sich der Quark von der Molke. Diese wurde abgelassen und der Quark durch Tücher filtriert. Er wurde viermal mit Wasser gewaschen. Aus den 1,5 l Milch wurden ca. 116 g Quark gewonnen. Er wurde verrieben, auf Trockenhorden ausgebreitet, im Trockenschrank bei 30 °C getrocknet und anschließend gemahlen. Das Casein ist feinkörniger und nicht so gelb wie das von Rezept 1.

8.1.3 Herstellung von Salzsäurecasein nach Rezept 5

1,5 l Milch wurden im Wasserbad auf 35 °C erwärmt. Die Milch wurde durch Zugabe von 32 %iger Salzsäure auf pH 4,6 eingestellt und mit dem Rührwerk sorgfältig verquirlt, bis der Quark fein war. Nachdem die Milch ca. 30 Min. geruht hatte, trennte sich der Quark von der Molke, die abgegossen wurde. Der Quark wurde anschließend viermal gewaschen, in Tüchern ausgepresst, fein verrieben, auf Trockenhorden ausgebreitet und im Trockenschrank bei 30 °C getrocknet. Er ist zäher als das Milchsäurecasein und ließ sich deshalb schwerer zerkleinern und mahlen. Das getrocknete Casein ist feinkörniger und nicht so gelb wie das von Rezept 1, aber gröber als das Milchsäurecasein nach Rezept 17.

8.2 Reaktionen beim Aufschluss und der Verarbeitung der Caseine

Das Quellverhalten der industriell hergestellten Caseine ist sehr unterschiedlich. Am schlechtesten quillt das grobkörnige Salzsäurecasein in Wasser und am besten das Milchsäurecasein. Das Salzsäurecasein lässt sich auch am schwersten aufschließen – im Gegensatz zum Milchsäurecasein. Die selbst hergestellten und frisch verarbeiteten Caseine ließen sich, nachdem sie gemahlen waren, alle gleich gut aufschließen. Nach dem Aufschluss mit Kalk oder Ammoniak werden die Caseinate flüssig und lassen sich beliebig mit Wasser verdünnen. Es sind dann auch bei der Verarbeitung keine Qualitätsunterschiede mehr festzustellen, außer dass die Caseinate verschieden stark kleben und entsprechend verdünnt werden müssen. Durch den Einsatz von Ammoniak oder Kalk kommt es zur Hydrolyse der Caseine. Die Proteolyse fand nicht statt, da die Caseinate direkt nach dem Aufschluss verarbeitet wurden.

Es wurde von jedem aufgeschlossenen und mit Konservierungsstoffen versetzten Casein eine Probe getrocknet. Alle Caseinate wurden spröde und hart. Es zeigte sich, dass die mit Lysol konservierten Caseinate langsamer trockneten als die mit Salicylsäure gehemmten oder die nicht konservierten. Bei den mit Formaldehyd behandelten Caseinen waren keine Veränderungen festzustellen.



Abb. 37 Milchsäurecasein, industriell hergestellt



Abb. 38 Casein nach Hammerstein



Abb. 39 Salzsäurecasein industriell hergestellt



Abb. 40 Getrockneter Quark



Abb. 41 Salzsäurecasein, selbst hergestellt



Abb. 42 Milchsäurecasein, selbst hergestellt

8.3 Beurteilung des Ablätterungsgrades

Bei der Alterung erfolgte die Schadensbildung, wie zu erwarten, nicht einheitlich. Teils wiesen beide Referenzproben einer Caseinmischung, teils nur ein Probekörper Schäden auf. Um die Proben vergleichen zu können, wurden die doppelten Referenzplatten in den weiteren Betrachtungen zu einer Referenz zusammengefasst. Im Anhang (Kapitel 15.7) befindet sich die Chronologie der entnommenen Proben. Bei der prozentualen Bewertung der geschädigten Flächen wurde ein Mittelwert aus beiden Proben gebildet, um auch hier eine Vergleichbarkeit zu erhalten.¹⁸

Beurteilung der Schäden

Die Beurteilung der Proben wurde in Anlehnung an DIN EN ISO 4628-5 durchgeführt. Dabei wurde die Ablätterung nach Häufigkeit der Entnahmen und Größe der Schollen in Bezug auf die Zeit bestimmt und die Menge entnommener Schollen in Bezug auf die Fläche in Prozent abgeschätzt. Es wurde vermieden, die Proben in ihren Halterungen während der Alterung oft zu bewegen, um sie nicht zu sehr zu belasten. Die Platten wurden täglich visuell kontrolliert und die aufstehenden Schollen entnommen, sobald sie sichtbar waren respektive das Stadium der aufbrochenen Oberfläche überschritten hatten (Abb. 43). Die Schollen trennten sich alle innerhalb der



Abb. 43 Aufstehende, abrollende und abplatzen-
de Caseinschicht auf einem Probekörper

obersten Kalkschicht und waren ungefähr gleich tief. Die Caseinüberzüge strappierten sozusagen diese Kalkschicht während des Alterungsprozesses und gipfelten als Schaden in Form einer Abhebung. Die Schadensabfolge verlief, bedingt durch das Quell- und Schwindverhalten der Überzüge, vom Aufbrechen zum Abblättern, Abrollen und Abplatzen der splittrigen, spröden und harten Schichten. Die Entstehung dieses Schadens wurde insbesondere durch die UV-Belastung beschleunigt¹⁹ und konnte folglich vor allem an Tagen beobachtet werden, an

denen die UV-Bestrahlung stattfand, gleichgültig ob Luftfeuchten von 50 % oder 90 % herrschten. An Tagen hingegen, an denen 50 % Luftfeuchte und 6 °C oder 90 % Luftfeuchte und 29 °C herrschten und jeweils keine UV-Belastung vorlag, legten sich die Schollen nieder und waren sehr weich. Nach sieben Tagen wurden bei einer Luftfeuchte von 50 %, einer Temperatur von 29 °C und der UV-Bestrahlung die ersten sieben aufgerollten Proben abgenommen.²⁰ Nach 27 Tagen erfolgte unter denselben klimatischen Bedingungen die nächste Entnahme von elf Proben. Tags darauf wurden zwei weitere bei 50 % Lf., 6 °C und keiner UV-Belastung entfernt. Nach 45 Tagen fand die nächste Probenentnahme von elf Caseinaten wieder bei 50 % Lf., 29 °C und UV-Bestrahlung statt. Nach 69 Tagen stiegen die Schädigungen bei 90 % Lf., 29 °C und UV-Belastung stark an, sodass weitere 27 Proben entnommen werden konnten. In Abbildung 44 ist die Entwicklung der Schadenszunahme in Bezug auf die Zeit grafisch dargestellt.

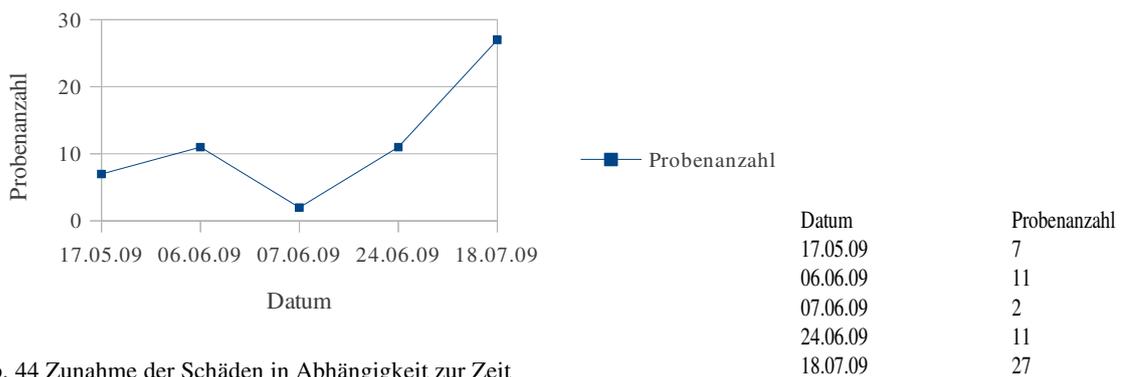


Abb. 44 Zunahme der Schäden in Abhängigkeit zur Zeit

Fasst man die Probenanzahl vom 06.06. und 07.06. zusammen, knickt die Kurve am 07.06. nicht so stark ein. Insgesamt ist deutlich die progressive Zunahme der Probennahmen und somit der Schäden zu erkennen.

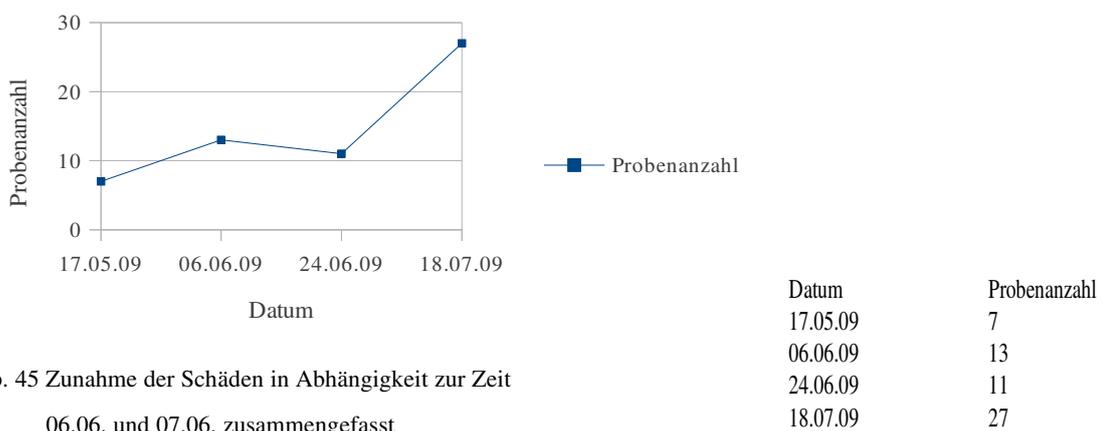


Abb. 45 Zunahme der Schäden in Abhängigkeit zur Zeit
06.06. und 07.06. zusammengefasst

Am 17.05. wurden die ersten sieben Caseinate entnommen. Betrachtet man die Verteilung dieser Proben ist festzustellen, dass vier, die alle mit Ammoniak aufgeschlossen wurden, vom Casein nach Hammersten stammen. Zwei dieser Caseinate enthielten keinen Hemmstoff; je eines wurde mit Lysol bzw. Salicylsäure gehemmt. Zwei Proben wurden mit Formaldehyd gehärtet. Die anderen drei Proben kommen vom industriell hergestellten Salzsäurecasein (Salzsäurecasein ind.). Eins dieser Caseine wurde mit Kalk, die anderen beiden mit Ammoniak aufgeschlossen. Konserviert wurden alle drei Caseinate mit Salicylsäure. Mit Formaldehyd wurde eine mit Ammoniak behandelte Probe bestrichen.

Am 06.06. wurden acht Schollen des Caseins nach Hammersten (Casein n. H.) und drei des industriell hergestellten Salzsäurecaseins entnommen. Beim Casein n. H. überwog wieder Ammoniak als Aufschlussmittel. Beim Salzsäurecasein ind. wurden zwei mit Ammoniak und eine mit Kalk behandelt. Die Hemmstoffe schienen sich hingegen weniger auszuwirken, da beim Casein n. H. vier Proben Salicylsäure, eine Lysol und drei keinen Hemmstoff enthielten. Beim Salzsäurecasein ind. beinhalteten alle drei Caseinate Salicylsäure. Mit Formaldehyd wurden die Hälfte des Caseins n. H. und zwei Proben des Salzsäurecaseins ind. gehärtet.

Am 07.06. wurden zwei weitere Schollen des Salzsäurecaseins ind. gesammelt, die beide mit Ammoniak aufgeschlossen und nicht konserviert wurden. Eine Probe wurde mit Formaldehyd benetzt.

Am 24.06. wurden elf Caseinate entnommen. Dieses Mal stammten zwei Proben davon vom selbst hergestellten Milchsäurecasein (Milchsäurecasein selbst), die mit Ammoniak behandelt wurden und keinen Hemmstoff enthielten; eine wurde gehärtet. Fünf Proben des Caseins n. H. und vier des Salzsäurecaseins ind. wurden mit Ammoniak aufgeschlossen. Zwei Proben des Caseins n. H. enthielten keinen Hemmstoff, zwei weitere Salicylsäure und eine Lysol. Zwei Proben des Salzsäurecaseins ind. sind nicht und zwei sind mit Salicylsäure desinfiziert worden. Vom Casein n. H. wurden zwei Beschichtungen gehärtet. Vom Salzsäurecasein ind. wurde die Hälfte der Proben mit Formaldehyd behandelt.

Am 18.07. wurden insgesamt 27 Caseinate abgenommen. Drei Proben stammen vom Quark, von denen zwei mit Kalk aufgeschlossen und mit Salicylsäure behandelt wurden. Das mit Ammoniak gebildete Caseinat wurde nicht konserviert, aber wie eine der beiden anderen Proben mit Formaldehyd beschichtet.

Vom Milchsäurecasein selbst wurde eine mit Ammoniak aufgeschlossene Probe, die ungehemmt blieb, aber mit Formaldehyd bestrichen wurde, entnommen.

Von den sieben Beschichtungen des Casein n. H. wurde lediglich eine mit Kalk hydrolisiert. Diese enthielt neben Lysol auch Formaldehyd. Von den restlichen sechs Proben waren zwei nicht, zwei mit Salicylsäure und zwei mit Lysol desinfiziert, von denen drei gehärtet wurden. Von dem Salzsäurecasein ind. konnten zwölf Proben gesammelt werden. Davon war die eine Hälfte mit Kalk und die andere Hälfte mit Ammoniak versetzt worden. Von den mit Kalk behandelten Caseinaten beinhalteten zwei keinen Hemmstoff, zwei Salicylsäure und zwei Lysol. Bei den mit Ammoniak aufgeschlossenen Beschichtungen verhielt es sich genauso wie bei den kalkhaltigen Caseinaten. Die Hälfte der mit Kalk oder Ammoniak aufgeschlossenen Salzsäurecaseine ind. wurde mit Formaldehyd gehärtet.

Alle vier Proben des industriell hergestellten Milchsäurecaseins waren mit Kalk behandelt, zwei davon nicht und zwei mit Salicylsäure konserviert. Davon wurde nur ein ungehemmtes Caseinat mit Formaldehyd bestrichen.

Betrachtet man von allen entnommenen Caseinaten das Härtungsmittel in Bezug auf die Aufschlussmittel zeigt sich, dass von den 16 mit Kalk aufgeschlossenen Proben die Hälfte mit Formaldehyd behandelt wurde. Von den 16 mit Ammoniak behandelten Proben wurden hingegen neun mit Formaldehyd gehärtet.

Hinsichtlich der Aufschlussmittel in Bezug auf die Hemmstoffe ist festzustellen, dass von den 16 mit Kalk versetzten Caseinaten fünf keinen Hemmstoff, sieben Salicylsäure und vier Lysol enthalten. Von den 16 Ammoniumcaseinaten wurden acht nicht und je vier mit Salicylsäure oder Lysol konserviert.

Von den 13 ungehemmten Caseinaten wurden acht mit Formaldehyd behandelt. Von elf Salicylsäure enthaltenden Beschichtungen wurden fünf gehärtet. Die Hälfte der acht mit Lysol desinfizierten Proben wurde ebenfalls gehärtet (siehe Tab. 13 und 14).

17. 05. 2009	06. 06. 2009	07. 06. 2009	24. 06. 2009	18. 07. 2009
				5 Quark/Kalk/Salicylsäure/keine
				7 Quark/Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd
				15 Quark/Ammoniak/keine/Formaldehyd
			37 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/keine/keine	
			39 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/keine/Formaldehyd	
				40 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/keine/Formaldehyd
	76 Casein n. H./Kalk/keine/Formaldehyd			
	77 Casein n. H./Kalk/Salicylsäure/keine			
	79 Casein n. H./Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd			
				84 Casein n. H./Kalk/Lysol/Formaldehyd
	85 Casein n. H./Ammoniak/keine/keine		85 Casein n. H./Ammoniak/keine/keine	85 Casein n. H./Ammoniak/keine/keine
87 Casein n. H./Ammoniak/keine/Formaldehyd	87 Casein n. H./Ammoniak/keine/Formaldehyd		87 Casein n. H./Ammoniak/keine/Formaldehyd	87 Casein n. H./Ammoniak/keine/Formaldehyd
89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/keine	89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/keine		89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/keine	89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/keine
91 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	91 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd		91 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	91 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd
93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/keine	93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/keine		93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/keine	93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/keine
				95 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Formaldehyd
				97 Salzsäurecasein ind./Kalk/keine/keine
				99 Salzsäurecasein ind./Kalk/keine/Formaldehyd
101 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/keine	101 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/keine			101 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/keine

17. 05. 2009	06. 06. 2009	07. 06. 2009	24. 06. 2009	18. 07. 2009
				103 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd
				105 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/ keine
				107 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Formaldehyd
		109 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/keine	109 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/keine	109 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/keine
		111 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/Formaldehyd	111 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/Formaldehyd	111 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/keine/Formaldehyd
113 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/keine	113 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/keine		113 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/keine	113 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/keine
115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/Formaldehyd	115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd		115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Salicylsäure/Formaldehyd	115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd
				117 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Lysol/keine
				119 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/ Lysol/Formaldehyd
				122 Milchsäurecasein ind./Kalk/keine/ keine
				123 Milchsäurecasein industriell/Kalk/keine/Formaldehyd
				125 Milchsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/keine
				129 Milchsäurecasein ind./Kalk/Lysol/ keine

Tab. 13 Proben, nach Entnahmedatum sortiert

Datum	Caseinart	Probenanzahl	Aufschlussmittel		Konservierungsmittel			Härtungsmittel	
			Ammoniak	Kalk	Salizylsäure	Lysol	Keine	Formaldehyd	Keine
17.05.09	Casein n. H.	4	4	0	1	1	2	2	2
	Salzsäurecasein ind.	3	2	1	3	0	0	1	2
06.06.09	Casein n. H.	8	5	3	4	1	3	4	4
	Salzsäurecasein ind.	3	2	1	3	0	0	1	2
07.06.09	Salzsäurecasein ind.	2	2	0	0	0	2	1	1
24.06.09	Milchsäurecasein selbst	2	2	0	0	0	2	1	1
	Casein n. H.	5	5	0	2	1	2	2	3
	Salzsäurecasein ind.	4	4	0	2	0	2	2	2
18.07.09	Quark	3	1	2	2	0	1	2	1
	Milchsäurecasein selbst	1	1	0	0	0	1	1	0
	Casein n. H.	7	6	1	2	3	2	4	3
	Salzsäurecasein ind.	12	6	6	4	4	4	6	6
	Milchsäurecasein ind.	4	0	4	1	1	2	1	3

Tab. 14 Verzeichnis der mehrfach entnommenen Proben, zusammengefasst und nach Datum sortiert. (Die vollständige Probenliste befindet sich im Anhang, Kapitel 15.5.)

Beurteilung der Schäden in Bezug zu den Caseinate

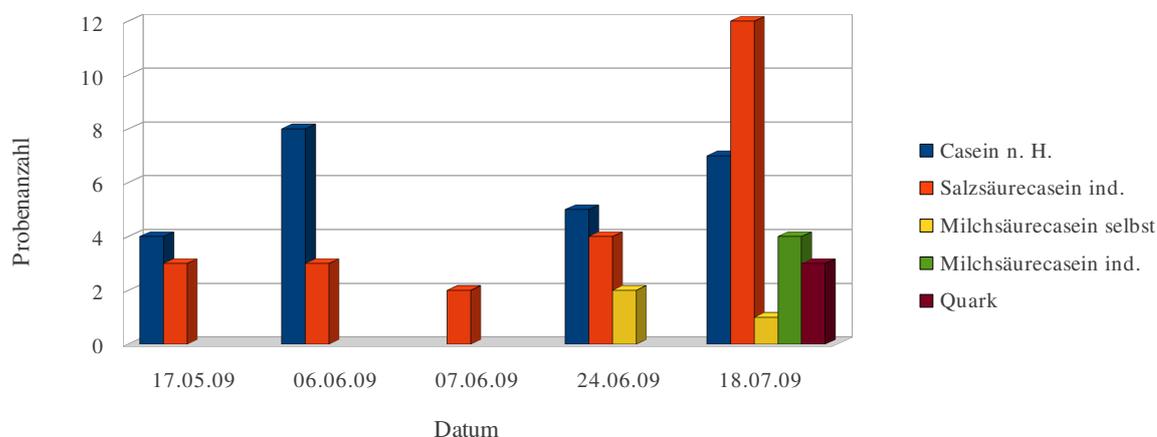


Abb. 46 Schadensverlauf nach Caseintypen

Datum	Casein n. H.	Salzsäurecasein ind.	Milchsäurecasein selbst	Milchsäurecasein ind.	Quark
17.05.09	4	3			
06.06.09	8	3			
07.06.09		2			
24.06.09	5	4	2		
18.07.09	7	12	1	4	3

Betrachtet man nur die Caseintypen, so lässt sich der Abb. 46 entnehmen, dass das Casein nach Hammersten zuerst Schollen bildet, gefolgt vom industriell hergestellten Salzsäurecasein. Erst nach einigen Wochen bilden die Caseinate aus selbst hergestelltem Milchsäurecasein Schollen. Gegen Ende der Alterungsmaßnahmen ist eindeutig festzuhalten, dass das in-

dustriell hergestellte Salzsäurecasein am stärksten zum Verspröden neigt, gefolgt vom Casein nach Hammersten und – mit größerem Abstand – dem industriell hergestellten Milchsäurecasein. Das selbst produzierte Milchsäurecasein und der selbst gewonnene Quark schnitten beide annähernd gleich gut ab. Lediglich das selbst gefällte Milchsäurecasein rollte früher auf als der Quark. Die Schollenbildung der einzelnen Caseinate zeigt, dass die industriell hergestellten Caseine, die gegebenenfalls schon eine Zeit lang zwischengelagert wurden, stärker und früher altern als die selbst hergestellten, frisch verarbeiteten, wobei das selbst hergestellte Salzsäurecasein als einziges keine Schäden aufwies.

Nimmt man nur die Aufschlussmittel in den Blick, lässt sich eindeutig feststellen, dass die mit Ammoniak behandelten Caseine stärkere Schäden bilden als die mit Kalk aufgeschlossenen. Verantwortlich dafür ist die stärkere Wasserquellbarkeit der Ammoniumcaseinate.

Beurteilung der Schäden in Bezug zu den Aufschlussmitteln

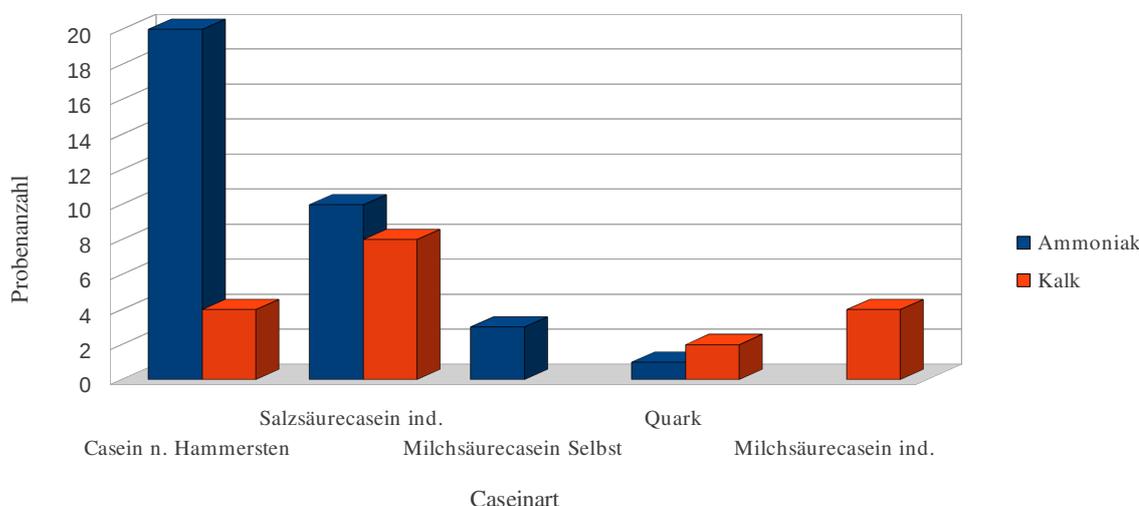


Abb. 47 Schadensverlauf in Bezug auf die Aufschlussmittel

Caseinart	Ammoniak	Kalk
Casein n. H.	20	4
Salzsäurecasein ind.	10	8
Milchsäurecasein selbst	3	0
Quark	1	2
Milchsäurecasein ind.	0	4

Nimmt man nur die Aufschlussmittel in den Blick, lässt sich eindeutig feststellen, dass die mit Ammoniak behandelten Caseine stärkere Schäden bilden als die mit Kalk aufgeschlossenen. Verantwortlich dafür ist die stärkere Wasserquellbarkeit der Ammoniumcaseinate.

Beurteilung der Schäden in Bezug zu den Konservierungsstoffen

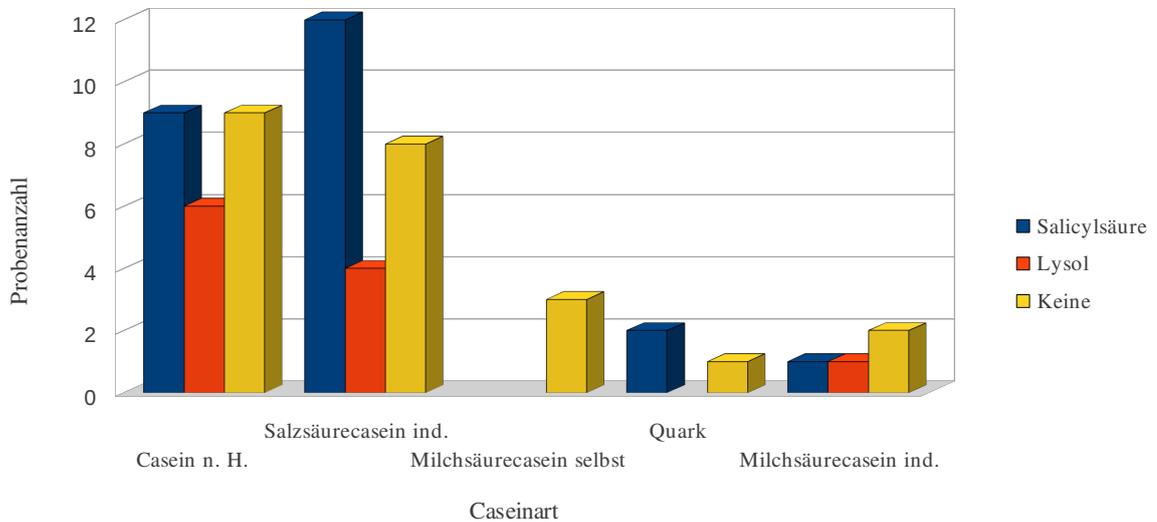


Abb. 48 Schadensverlauf in Bezug auf die Konservierungsmittel

Caseinart	Salizylsäure	Lysol	Keine
Casein n. H.	9	6	9
Salzsäurecasein ind.	12	4	8
Milchsäurecasein selbst	0	0	3
Quark	2	0	1
Milchsäurecasein ind.	1	1	2

Die Beurteilung der durch die Konservierungsstoffe bedingten Einflüsse ergibt, dass mit Lysol versetzte Caseinate weniger stark verspröden als die unbehandelten oder mit Salicylsäure konservierten. Bei den mit Salicylsäure desinfizierten und ungehemmten Beschichtungen waren alles in allem keine Unterschiede festzustellen.

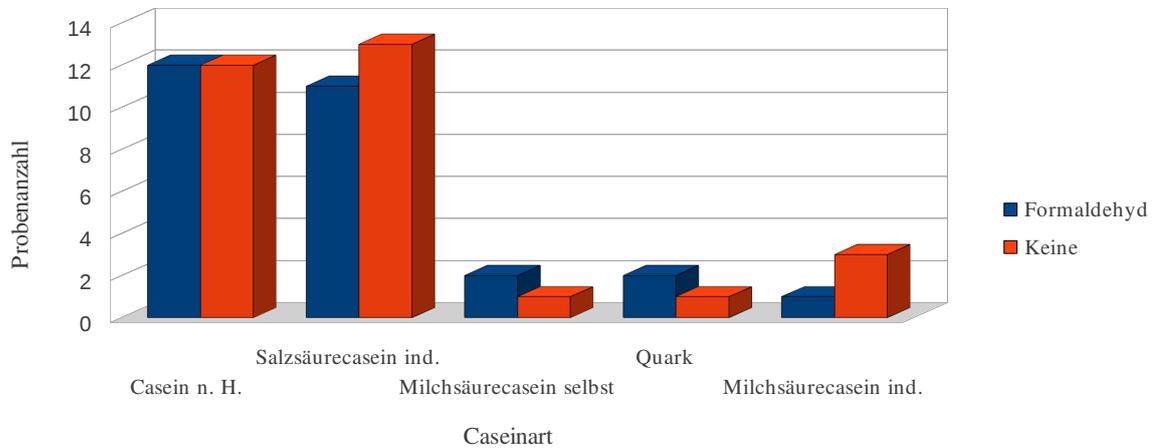
Beurteilung der Schäden in Bezug zum Härtungsmittel

Abb. 49 Schadensverlauf in Bezug auf die Hemmstoffe

Caseinart	Formaldehyd	Keine
Casein n. H.	12	12
Salzsäurecasein ind.	11	13
Milchsäurecasein selbst	2	1
Quark	2	1
Milchsäurecasein ind.	1	3

Bei der Härtung mit Formaldehyd zeigte sich, dass im Vergleich zu den ungehärteten Caseinarten zwei Proben weniger versprödeten. Dabei ist festzuhalten, dass die Wirkung, die man sich durch die Härtung erhoffte, bei der Behandlung der Putzproben nicht zu beobachten war.

Beurteilung der Caseinate nach Größe und Verteilung der Abhebungen

Datum	Probenr.	Casein	Aufschlussmittel	Hemmstoff	Härtungsmittel	Abhebung/ mm	Abhebung/ %
17. 05. 09	88	Casein n. H.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	4-8	5
	89	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	1-8	5
	92	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	1-3	2
	93	Casein n. H.	Ammoniak	Lysol	keine	0,5-3	2
06. 06 09	76	Casein n. H.	Kalk	keine	Formaldehyd	0,5	1
	77	Casein n. H.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5	2
	79	Casein n. H.	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-3	1,5
	86	Casein n. H.	Ammoniak	keine	keine	0,5-3	1
	88	Casein n. H.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5-5	3
	89	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5-8	4
	92	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-4	10
	93	Casein n. H.	Ammoniak	Lysol	keine	0,5-5	6,5
24. 06. 09	85	Casein n. H.	Ammoniak	keine	keine	0,5-1	1,5
	87	Casein n. H.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,3-4	12,5
	89	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5-5	5
	92	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-1	5
	93	Casein n. H.	Ammoniak	Lysol	keine	0,5-1	9
18. 07. 09	84	Casein n. H.	Kalk	Lysol	Formaldehyd	0,5	5
	85	Casein n. H.	Ammoniak	keine	keine	0,5-1	5
	87	Casein n. H.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,1-2	5
	89	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5-1	4,5
	91	Casein n. H.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-1	5
	93	Casein n. H.	Ammoniak	Lysol	keine	0,5	2
	95	Casein n. H.	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd	0,5-1	5
17. 05. 09	102	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,2-05	2
	114	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	1-5	5
	115	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	1-3	5
06. 06 09	102	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5	4
	114	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5-3	5
	115	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-8	7,5
07. 06 09	110	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	keine	0,5-1	2
	111	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5-1	2
24. 06. 09	109	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	keine	0,5-1	4
	112	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5-1	3
	114	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5-1	20
	116	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-3	3

Datum	Probennr.	Casein	Aufschlussmittel	Hemmstoff	Härtungsmittel	Abhebung/m m	Abhebung/ %
18. 07. 09	97	Salzsäurecas. ind.	Kalk	keine	keine	0,5	2
	99	Salzsäurecas. ind.	Kalk	keine	Formaldehyd	0,5	3
	101	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5	4
	103	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5	3
	105	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Lysol	keine	0,5	3
	107	Salzsäurecas. ind.	Kalk	Lysol	Formaldehyd	0,5	2
	109	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	keine	0,5	2
	111	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5	4
	113	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	keine	0,5	3
	116	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5	3
	117	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Lysol	keine	0,5	2
	119	Salzsäurecas. ind.	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd	0,5	1,5
24. 06. 09	37	Milchsäurecas. selb.	Ammoniak	keine	keine	0,5-3	2
	39	Milchsäurecas. selb.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5-3	2
18. 07. 09	40	Milchsäurecas. selb.	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,2	0,5
18. 07. 09	5	Quark	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5-1	1
	7	Quark	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd	0,5-1	1
	15	Quark	Ammoniak	keine	Formaldehyd	0,5-4	2
18. 07. 09	122	Milchsäurecas. ind.	Kalk	keine	keine	0,5	2
	123	Milchsäurecas. ind.	Kalk	keine	Formaldehyd	0,5	2
	125	Milchsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5	2
	126	Milchsäurecas. ind.	Kalk	Salicylsäure	keine	0,5	2
	129	Milchsäurecas. ind.	Kalk	Lysol	keine	0,5	3

Tab. 15 Abhebung in mm in Bezug auf die Fläche in %.

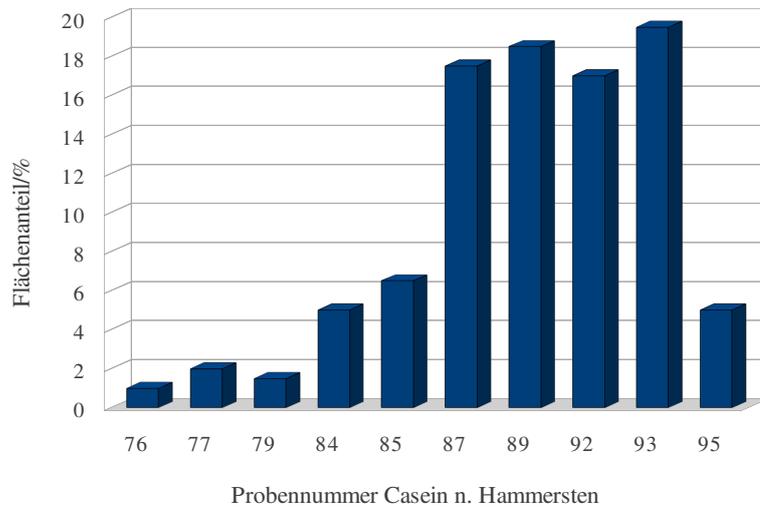


Abb. 50 Flächenanteil der Abhebungen

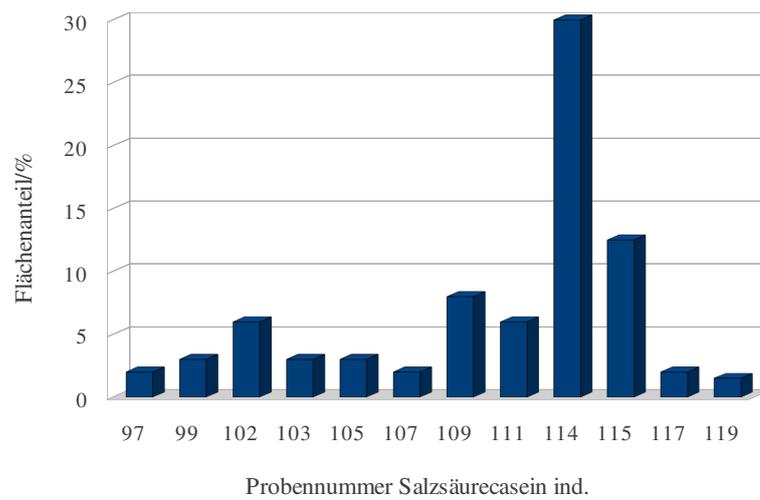


Abb. 51 Flächenanteil der Abhebungen

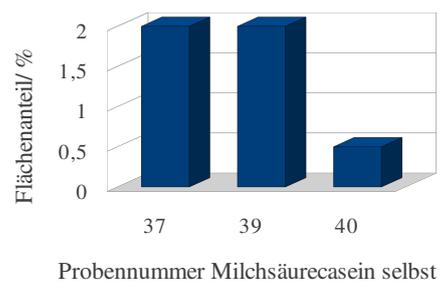


Abb. 52 Flächenanteil der Abhebungen

Die Größe der Abhebungen (Schollen) liegt insgesamt zwischen 0,1 und 8 mm, wobei die kleineren Schollen überwiegen. Der Flächenanteil der Abhebungen beträgt je nach Alterungsgrad 0,5-20 %. Die Flächenanteile der Schollen – nach Caseintyp für den Alterungszeitraum in toto betrachtet – belaufen sich für Casein nach Hammersten auf eine Quote von 1-20 %. Für industriell hergestelltes Salzsäurecasein ergibt sich ein Flächenanteil von 1,5-30 %, für selbst gefälltes Milchsäurecasein von 0,5-2%, für Quark von 1-2 % und industriell produziertes Milchsäurecasein von 2-3 %. Die industriell hergestellten Caseine, Casein nach Hammersten, Quark und selbst gefälltes Milchsäurecasein sind demzufolge weniger als Bindemittel geeignet, als das selbst hergestellte Salzsäurecasein, weil es im Alterungszeitraum keine Schäden bildete.

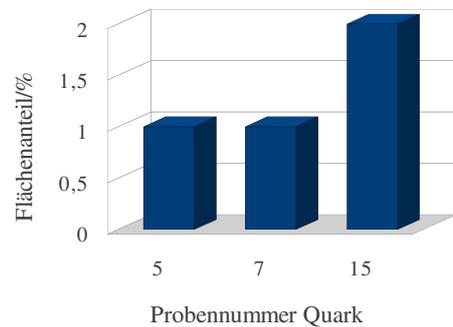


Abb. 53 Flächenanteil der Abhebungen

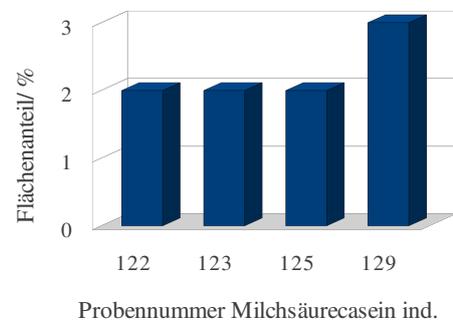


Abb. 54 Flächenanteil der Abhebungen

8.4 Farbveränderung an den Probekörpern während der Alterung

Visuelle Beobachtungen

Gleich am ersten Tag nach Beginn der Alterung konnten die ersten Verbräunungen an den Probekörpern festgestellt werden: Die Pulvercaseine, die mit Kalk aufgeschlossen wurden, verbräunten stark, die selbst hergestellten, frisch verarbeiteten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseine weit weniger intensiv und die mit Ammoniak aufgeschlossenen verbräunten am wenigsten. Am siebten Tag der Alterung konnten an den Proben 1-12 (Quark, mit Kalk aufgeschlossen), 25-36 (Milchsäurecasein selbst hergestellt, mit Kalk aufgeschlossen), 73-84 (Casein nach Hammersten, mit Kalk aufgeschlossen), 97-108 (Salzsäurecasein industriell, mit Kalk aufgeschlossen) starke Vergilbungen beobachtet werden.

Vorgehensweise bei der Messung der Farbabstände

An jeder Probe wurden pro Messeinheit zehn Messungen hintereinander durchgeführt, um einen Mittelwert zu erzielen. Da die Messungen an den Proben immer an derselben Stelle vonstatten gehen sollten, wurde eine Halterung gebaut, in die der Probekörper gelegt und fixiert wurde. Das Farbmessgerät konnte aufgesetzt werden, ohne die Probeplatten zu berühren. Bei der Ermittlung der Farbwerte wurde keine Aufspaltung in einen Helligkeits-, Buntheits- oder Buntton-Betrag vorgenommen, da die Proben beim Verbräunen sowohl die Helligkeit als auch die Buntheit änderten. Um die eruierten Farbabstände vergleichen zu können, wurden sie grafisch dargestellt. Sind



Abb. 55 Teilweise verbräunte Probekörper

die während und nach der Alterung gemessenen Farbabstände größer als zu Beginn der Alterung, bedeutet dies, dass die Probe verbräunt ist; war der Wert hingegen kleiner, wurde der Überzug heller.

Um die Proben in ihren Gestellen nicht zu erschüttern, wurden keine regelmäßigen Farbmessungen vorgenommen, sondern zu Beginn der Alterung, bei jeder Probenentnahme und am Ende des Prozesses. Es wurde davon ausgegangen, dass sich an allen Probeplatten bis zum Abschluss der Alterung Schäden einstellen würden und somit alle Proben mehrfach gemessen werden müssten. Die Alterung musste indes, bevor alle Proben Schäden aufwiesen, abgebrochen werden. Deshalb liegen nicht von allen Proben mehrfache Messungen der Farbabstände vor.

Mit Quark beschichtete Proben

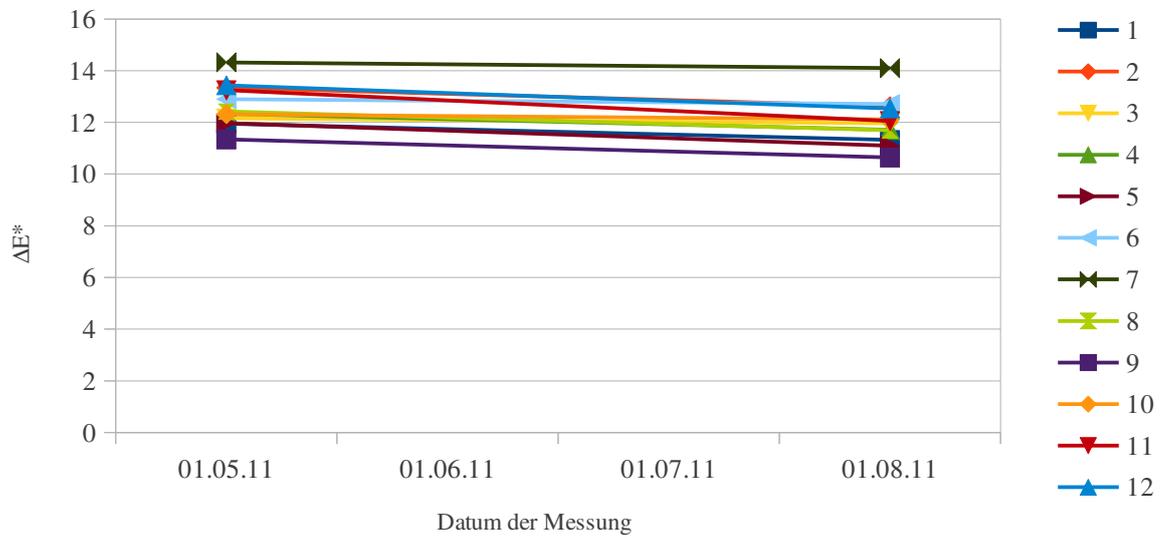


Abb. 56 Farbveränderungen an den mit Quark und Kalk behandelten Probekörpern

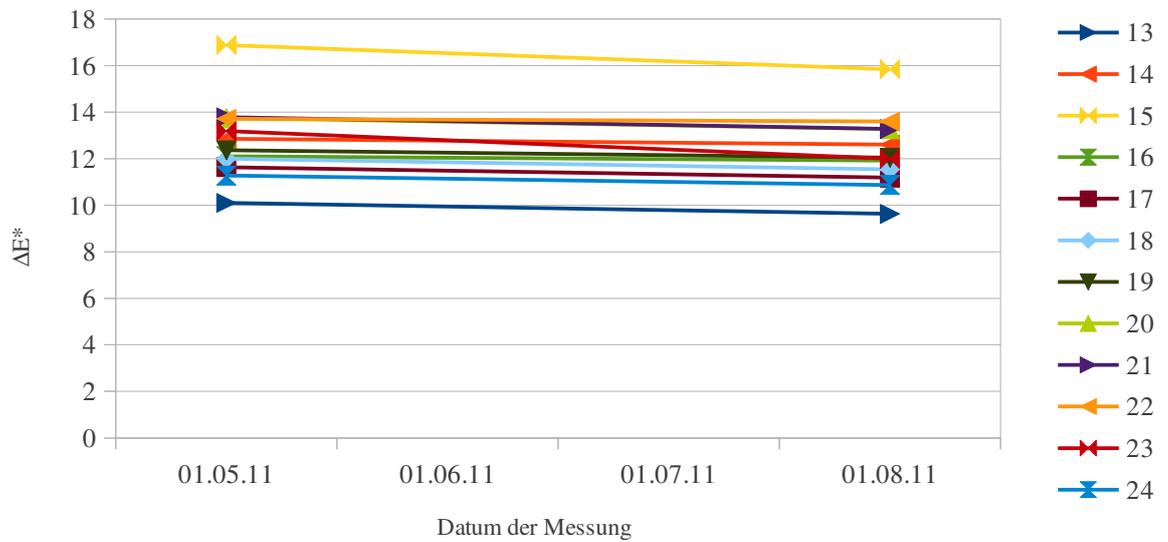


Abb. 57 Farbveränderungen an den mit Quark und Ammoniak behandelten Probekörpern

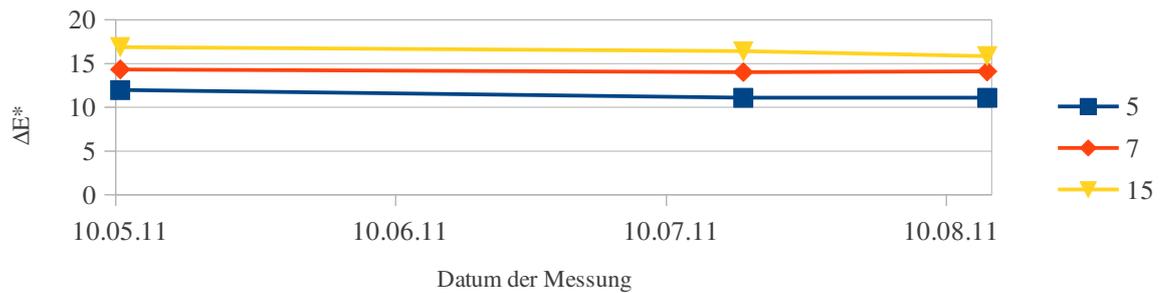


Abb. 58 Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen Probekörpern

Bei allen Beschichtungen, die aus Quark hergestellt wurden, ließ sich feststellen, dass sie unabhängig vom Aufschlussmittel Kalk oder Ammoniak trotz partiell zu registrierender anfänglicher Verbräunung insgesamt heller wurden. Bei der Betrachtung der Farbabstände ΔE^* vor der Alterung, ΔE^* während der Probenentnahmen und ΔE^* nach der Alterung ließ sich allerdings konstatieren, dass die Proben 5 und 15 aufhellten und Probe 7 erst heller, dann wieder dunkler wurde. Die Proben 5 und 7 wurden mit Kalk aufgeschlossen und mit Salicylsäure behandelt. Probe 7 wurde dann noch mit Formaldehyd bestrichen. Probe 15 wurde mit Ammoniak aufgeschlossen und nicht konserviert, allerdings mit Formaldehyd beschichtet.

Mit selbst hergestelltem Milchsäurecasein beschichtete Proben

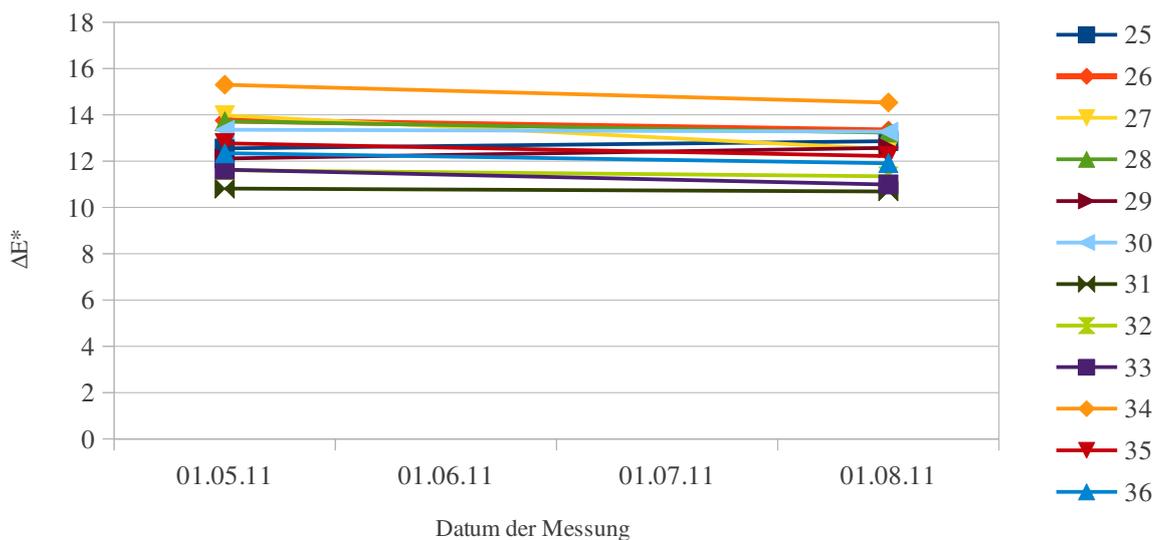


Abb. 59 Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Milchsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern

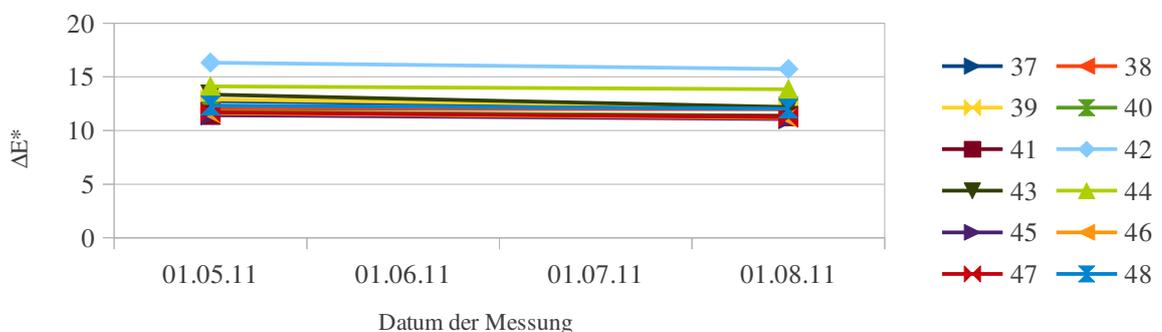


Abb. 60 Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Milchsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern

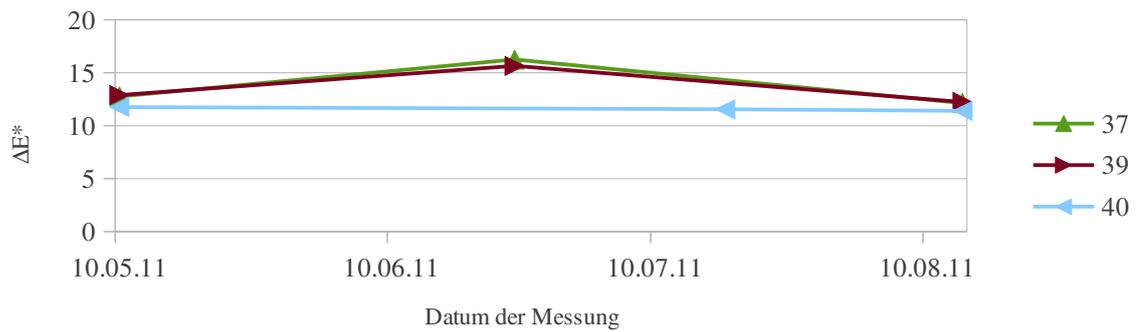


Abb. 61 Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen Probekörpern

Beim selbst hergestellten Milchsäurecasein wurden Probe 25 und 29 dunkler, alle anderen insgesamt heller. Beide Proben wurden mit Kalk aufgeschlossen. Probe 25 wurde nicht weiter behandelt, Probe 29 wurde mit Salicylsäure konserviert. Bei der Betrachtung der Proben, an denen öfters die Farbabstände gemessen wurden, zeigte sich, dass Probe 40 geringfügig, aber kontinuierlich heller wurde. Die Proben 37 und 39 wurden hingegen zuerst dunkler und anschließend wieder heller. Sie hellten sogar stärker auf als zu Beginn der Alterung. Alle Proben wurden mit Ammoniak aufgeschlossen und nicht konserviert. Bemerkenswert ist, dass die Proben 39 und 40 identisch sind und dennoch unterschiedlich reagierten. Probe 37 wurde im Gegensatz zu Nummer 39 und 40 mit Formaldehyd behandelt.

Mit selbst hergestelltem Salzsäurecasein beschichtete Proben

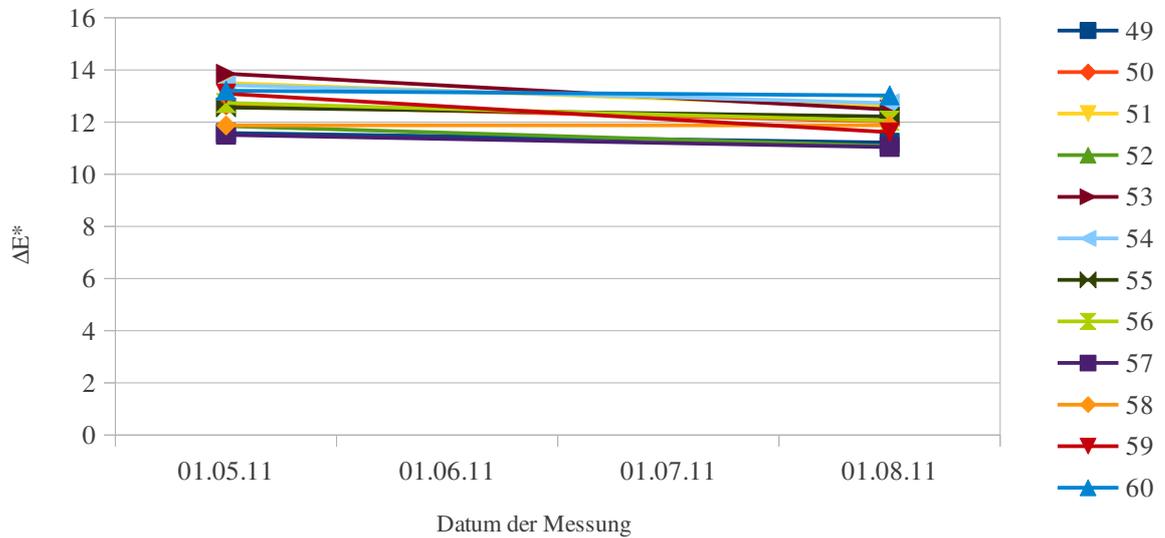


Abb. 62 Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern

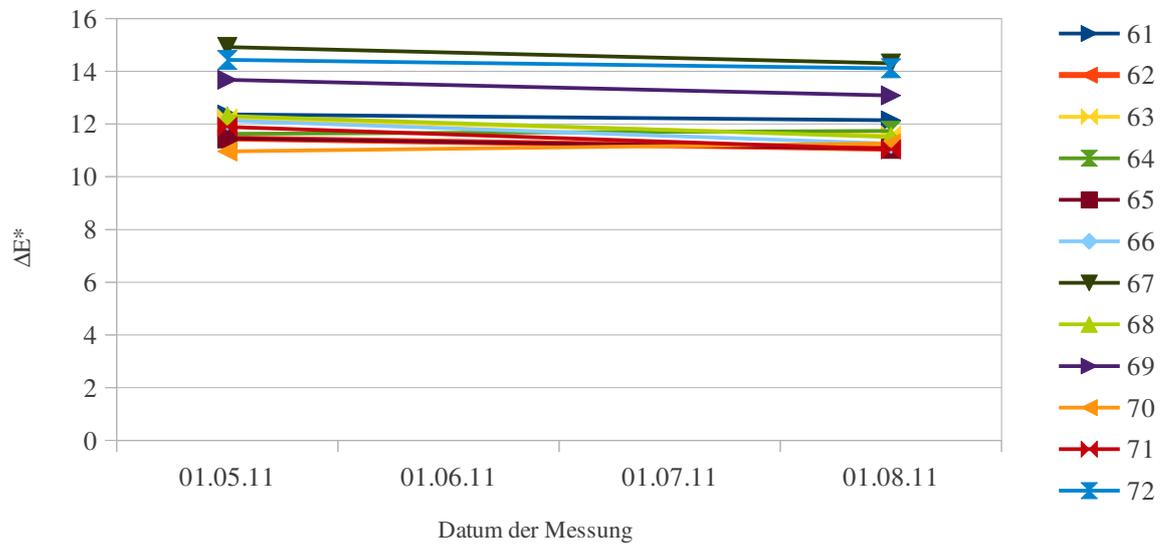


Abb. 63 Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern

Beim selbst hergestellten Salzsäurecasein blieb Probe 58 unverändert. Die Proben 64 und 70 wurden dunkler, alle anderen hellten auf. Probe 58 wurde mit Kalk und Lysol, Probe 64 mit Ammoniak und Formaldehyd und Probe 70 mit Ammoniak und Lysol behandelt.

Mit Casein nach Hammersten beschichtete Proben

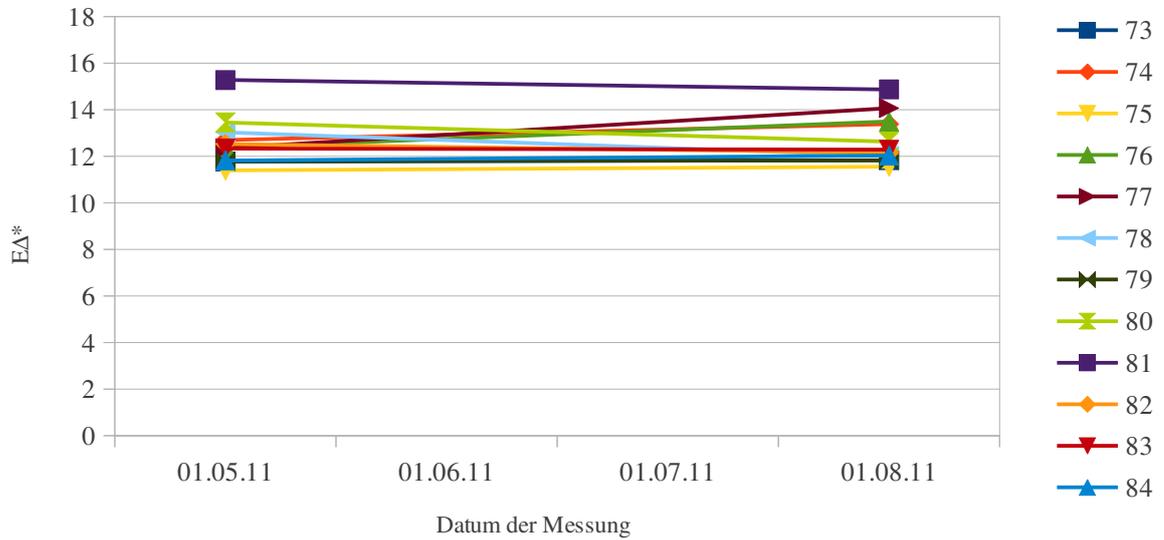


Abb. 64 Farbveränderungen an den mit Casein n. H. und Kalk behandelten Probekörpern

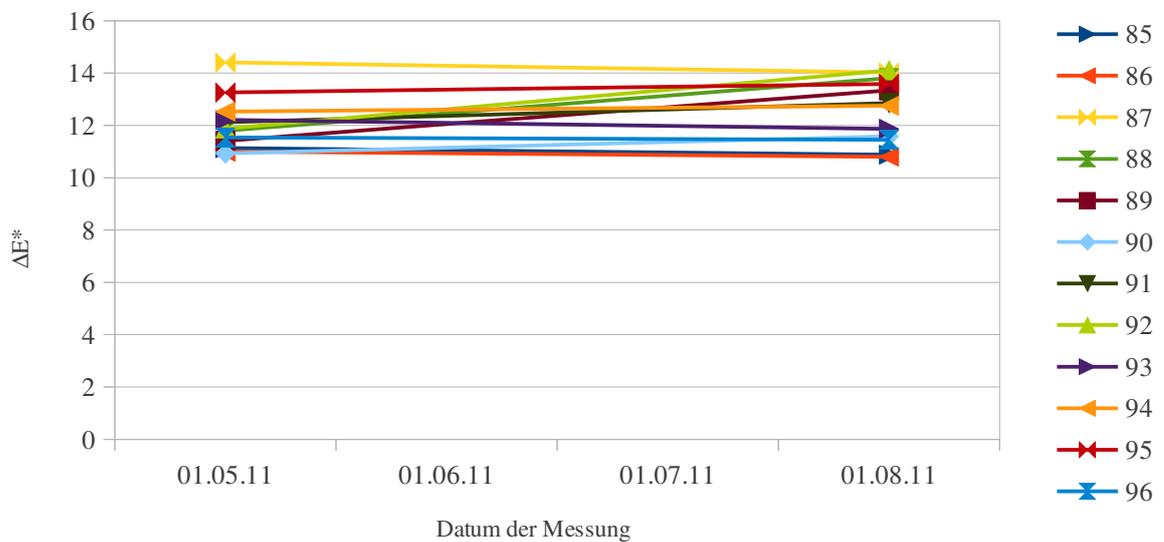


Abb. 65 Farbveränderungen an den mit Casein n. H. und Ammoniak behandelten Probekörpern

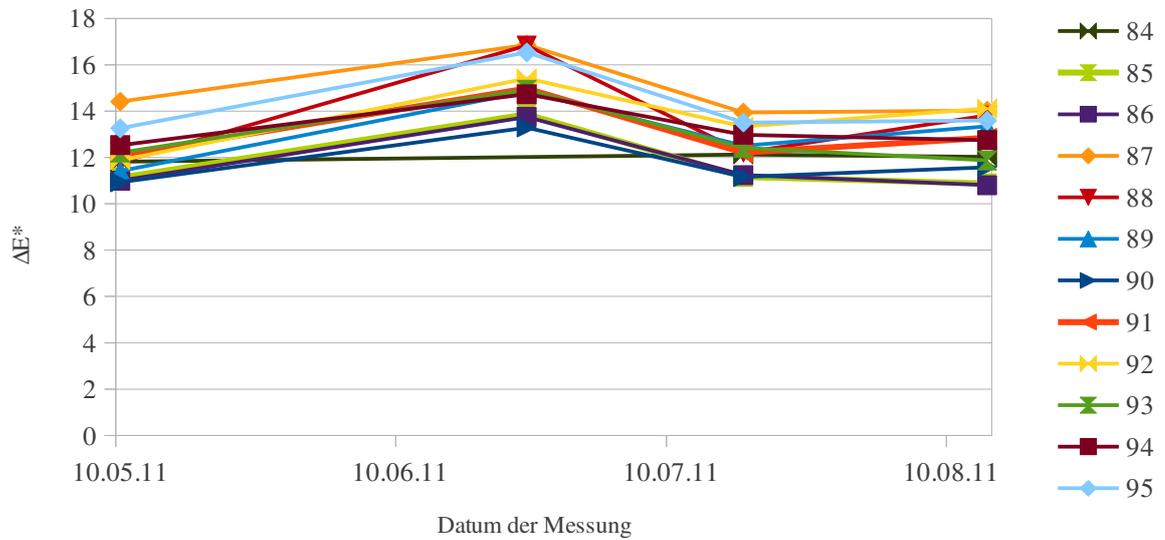


Abb. 66 Farbveränderungen nach mehrmals gemessenen Probekörpern

Beim Casein nach Hammersten ließ sich bei der Betrachtung der Proben nach zweimaligen Messungen feststellen, dass die Proben 73-77, 79 und 84, die mit Kalk behandelt wurden, ebenso verdunkelten wie die, mit Ammoniak behandelten Proben 88-92, 94 und 95. Die Proben 73 und 74 wurden nicht weiter behandelt. Den Proben 75, 76 und 88 wurde Formaldehyd zugegeben. Die Proben 89 und 90 wurden mit Salicylsäure, die Proben 79, 91 und 92 mit Salicylsäure und Formaldehyd behandelt. Probe 94 wurde Lysol und Nummer 95 Lysol sowie Formaldehyd hinzugefügt. Bei den Mehrfachmessungen zeigen die Farbabstände von Casein nach Hammersten die gleichen Tendenzen auf wie beim selbst hergestellten Milchsäurecasein: Die Proben werden zuerst dunkler und dann wieder heller, teilweise sogar heller als zu Beginn der Alterung. Die einzige Ausnahme macht Probe 84, die geringfügig dunkler und daraufhin wieder etwas heller wird. Diese Probe ist bei den Mehrfachmessungen die einzige, die mit Kalk aufgeschlossen wurde.

Mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein beschichtete Proben

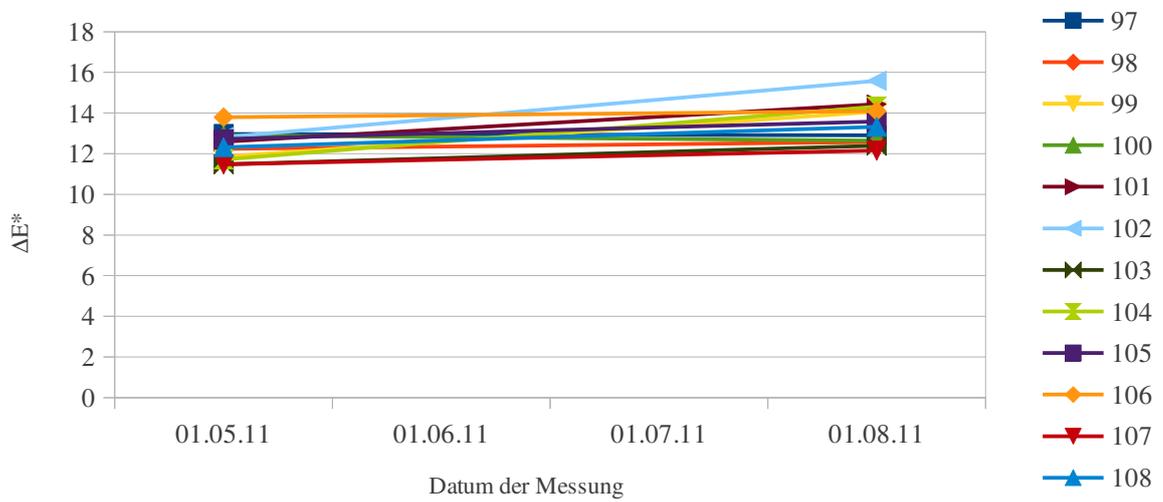


Abb. 67 Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern

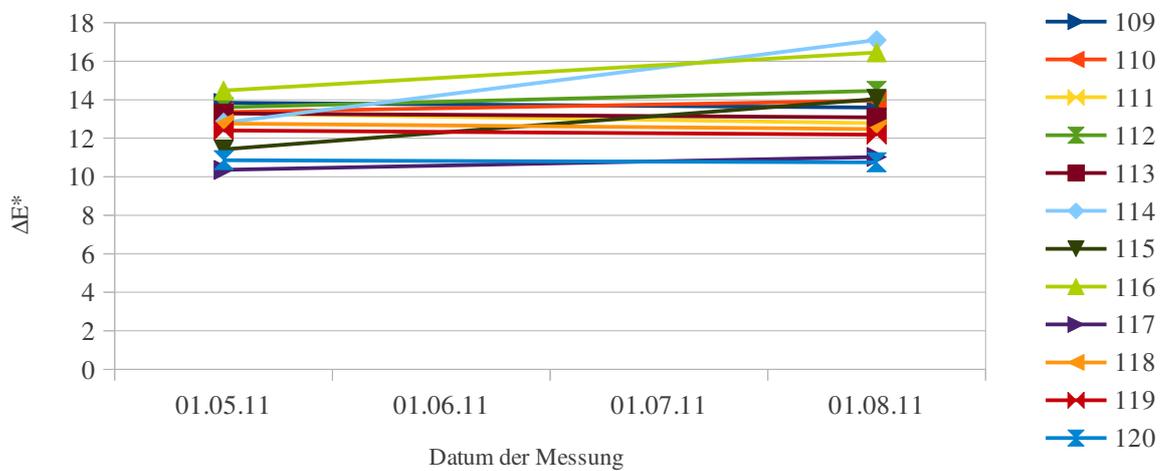


Abb. 68 Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern

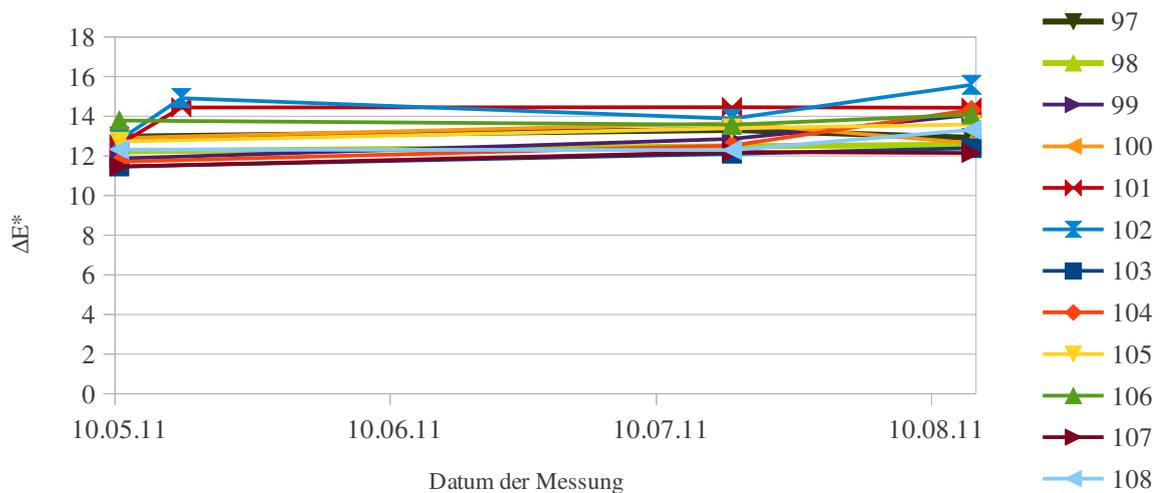


Abb. 69 Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern

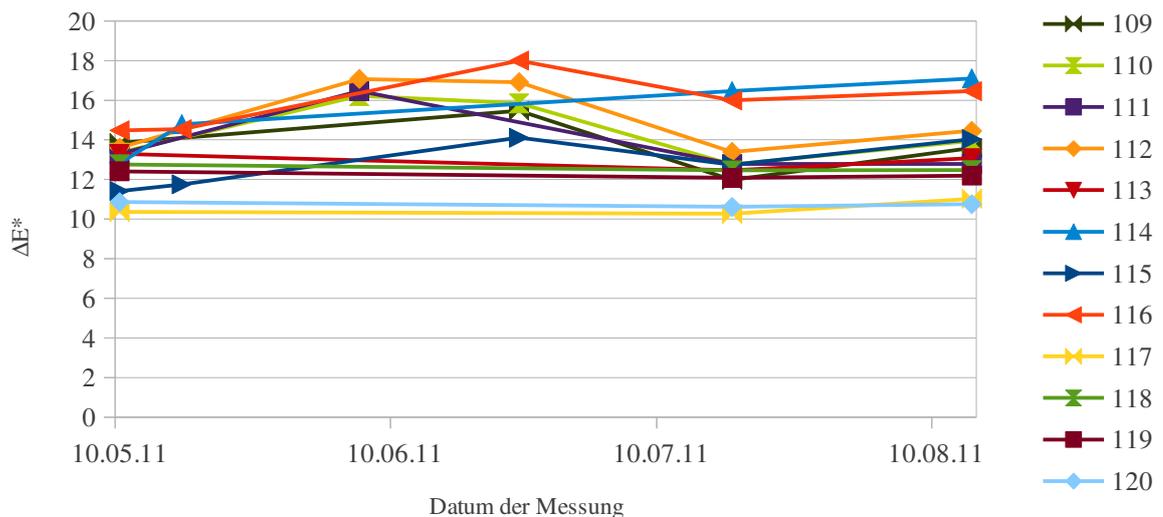


Abb. 70 Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern

Beim industriell hergestellten Salzsäurecasein wurden bei den zweimaligen Messungen der Farbstände alle mit Kalk aufgeschlossenen Proben dunkler – bis auf die Nummer 97 und 100, die heller wurden. Von den mit Ammoniak behandelten Proben wurden die Nummern 109, 111 und 118-120 heller, die anderen dunkler. Dabei verbräunten die Proben 102, 114 und 116 stärker als die übrigen. Die Proben 117-120 wurden heller, die Proben 109-116 verbräunten. Nummer 114 verbräunte kontinuierlich. Die restlichen Proben verbräunten stärker und hellten dann wieder etwas auf. Die Proben 109, 111 und 113 wurden etwas heller. Die Proben 110,

112, 115 und 116 blieben etwas dunkler als zu Beginn der Messung. Die Proben 97-99, 101, 103-105, 107 und 108 des industriell hergestellten Salzsäurecaseins, die mit Kalk aufgeschlossen wurden, verbräunten allesamt. Probe 100 wurde zunächst dunkler, anschließend wieder heller. Probe 102 wurde ebenfalls zuerst dunkler, dann wieder heller und abschließend erneut dunkler. Probe 106 wurde hingegen anfangs heller und nachfolgend erst dunkler.

Beim Vergleich der industriell hergestellten Salzsäurecaseine, die mit Kalk oder Ammoniak aufgeschlossen wurden, lässt sich eindeutig feststellen, dass die mit Ammoniak aufgeschlossenen stärker als die mit Kalk behandelten verbräunen und danach wieder aufhellen.

Mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein beschichtete Proben

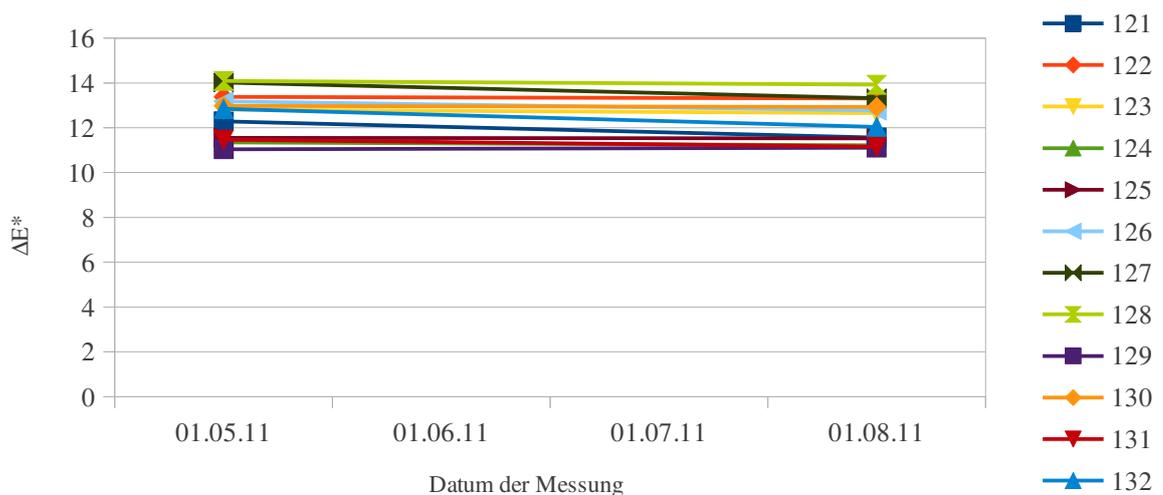


Abb. 71 Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern

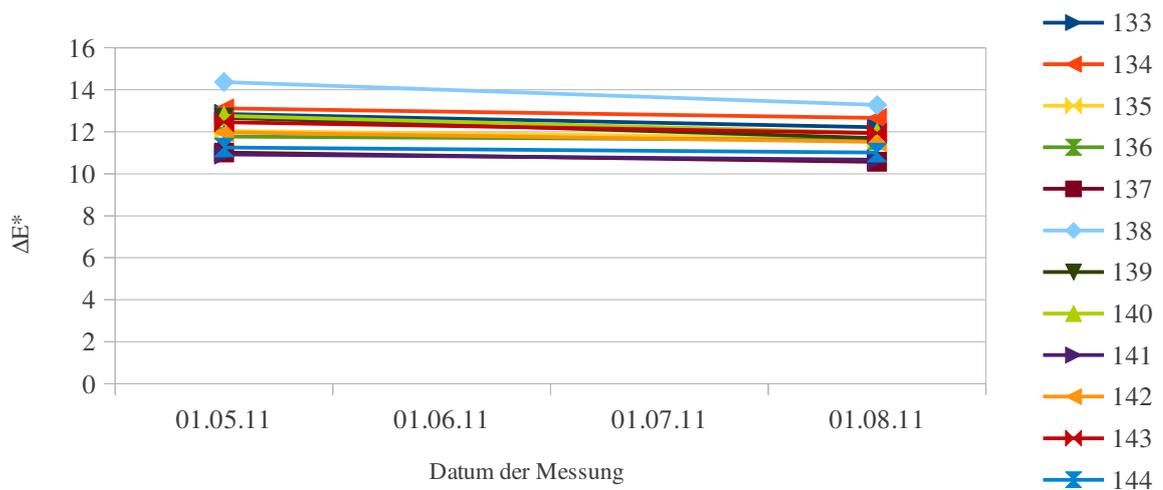


Abb. 72 Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern

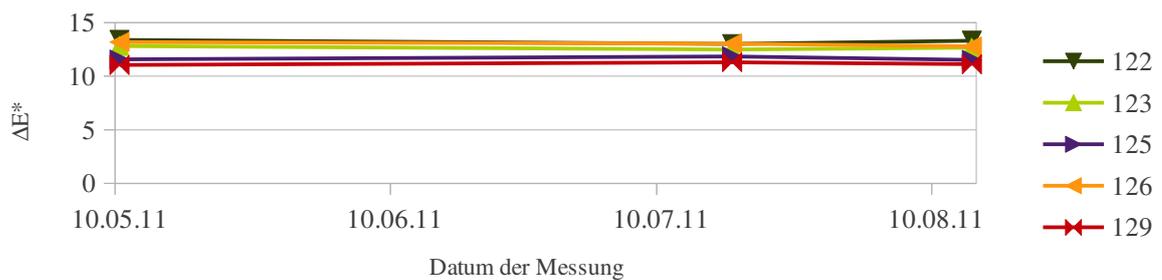


Abb. 73 Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein behandelten Probekörpern

Alle mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein behandelten Proben wurden bis auf Probe 129, die mit Kalk und Lysol bearbeitet wurde, heller. Die industriell hergestellten Milchsäurecaseine verändern sich im Verhältnis zu den anderen Caseinaten relativ wenig. Probe 126, die mit Kalk aufgeschlossen und mit Salicylsäure konserviert wurde, hellte kontinuierlich auf. Probe 129 wurde hingegen gleichmäßig dunkler. Probe 125, wie Probe 126 behandelt, wurde zuerst dunkler und dann heller als zu Beginn der Alterung. Die Proben 122 und 123, beide mit Kalk aufgeschlossen und nur letztere zusätzlich noch mit Formaldehyd behandelt, hellten hingegen anfänglich auf, um in der Folge wieder dunkler zu werden. Allerdings sind auch diese Proben heller als zu Beginn der Messung gewesen.

Beurteilung aller entnommenen Proben

Es kann festgestellt werden, dass von den 72 Proben der selbst hergestellten Caseinen vier verbräunten; alle anderen wurden heller. Beim industriell hergestellten Casein nach Hammersten zeigte sich, dass von je zwölf mit Kalk oder Ammoniak behandelten Proben jeweils sieben Proben dunkler wurden. Beim industriell hergestellten Salzsäurecasein wurden von den zwölf Proben zwei heller und zehn verbräunten. Von den mit Ammoniak aufgeschlossenen Proben wurden hingegen fünf heller und sieben dunkler. Das industriell hergestellte Milchsäurecasein reagiert ähnlich wie die selbst hergestellten Caseine – lediglich eine Probe wurde dunkler. Da diese Caseinate eher aufhellen als verbräunen, sind sie unter diesem Gesichtspunkt für den Einsatz an Wandmalereien am besten geeignet. Casein nach Hammersten und das industriell hergestellte Salzsäurecasein erwiesen sich als ungeeignet, weil sie im Verhältnis zu den anderen Caseinen zu stark verbräunen.

Dass die beiden industriell fabrizierten Caseine stärker als die selbst hergestellten verbräunen hat vermutlich verschiedene Ursachen. Ein wesentlicher Faktor kann dabei die Verwendung der hochdruckhomogenisierten Milchen zur Caseingewinnung sein, wie von Schlimme bereits beschrieben. In diesen Milchen sind die Fettkügelchen kleiner als in Rohmilch; deshalb lässt sich Rohmilch auch besser entfetten. Das Fett neigt zum Verbräunen. In diesem Zusammenhang ist noch hervorzuheben, dass der selbst hergestellte Quark aus vollfetter Milch ebenfalls viel weniger verbräunte als die Pulvercaseine. Ein weiterer wichtiger Aspekt scheint die starke Erhitzung der industriell verarbeiteten Milchen zu sein, durch die entsprechende Reaktionen bei der Verbräunung beschleunigt werden. Sonstige Einflussfaktoren sind die Lagerungstemperatur und die Lagerzeit der Pulvercaseine, deren Wassergehalt und optimaler pH-Wert bei der Herstellung entscheidend sind. Im Anhang (Kapitel 15.5) sind alle Proben und die einzelnen Behandlungen tabellarisch verzeichnet.

8.5 Löslichkeit der ungealterten getrockneten Caseine mit Tris-Puffern

Um die Unterschiede der Löseeigenschaften der einzelnen Caseine herauszustellen, wurde ihre Löslichkeit in Tris-Puffern ermittelt, die wegen ihrer idealen Vergleichbarkeit, verwendet wurden. Die getrockneten Caseine wurden in Tris-Puffern mit verschiedenen pH-Werten gel-

löst. Dabei wurden einzeln entnommene Caseinpartikel vor und während des Lösens in Tris-Puffern unter dem Mikroskop beobachtet, beschrieben und vermessen, bis der Lösevorgang abgeschlossen war. Die Beobachtungen wurden in Tabellen dokumentiert und grafisch dargestellt. An den Schaubildern lassen sich die Unterschiede der Löslichkeit in Bezug auf die Zeit nachvollziehen.

Milchsäurecasein industriell, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 2	60 min	40-640 µm Caseinkörnchen, 640 µm keine Veränderungen.
pH 3	60 min	40-560 µm Caseinkörnchen, 420 µm keine Veränderungen.
pH 4	60 min	20-720 µm Caseinkörnchen, 720 µm keine Veränderungen.
pH 5	60 min	40-480 µm Caseinkörnchen, 160 µm keine Veränderungen.
pH 6	60 min	20-720 µm Caseinkörnchen, 720 µm keine Veränderungen.
pH 7	60 min	40-760 µm Caseinkörnchen, 760 µm keine Veränderungen.
pH 8	60 min	40-720 µm, Caseinkörnchen 660 µm, nach 8 min 440 µm, nach 10 min 560 µm, nach 11-60 min 520 µm, zu Beginn löste sich ein Teil der Probe, quillt dann und behält die Größe.
pH 9	60 min	40-640 µm Caseinkörnchen, gefunden nach 4 min 560 µm, nach 6 min 480 µm, dann verändert sich die Probe nicht mehr, kein Unterschied zu pH 8.
pH 10	60 min	40-600 µm, Caseinkörnchen 600 µm, nach 3 min 560 µm, nach 4 min 520 µm, nach 10 min 480 µm, nach 37 min 520 µm, nach 60 min 720 µm in der gelartigen Phase, die Probe quillt, wird opak, löst sich und wird immer transparenter, bis sie gelartig vorliegt.
pH 11	60 min	40-840 µm Caseinkörnchen, gefunden nach 3 min 440 µm, nach 10 min ist die Probe gelöst 400 µm, nach 20 min 400 µm, nach 60 min 480 µm in der gelartigen Phase. Die Probe quillt, wird opak, löst sich und wird immer transparenter, bis sie gelartig vorliegt, kein Unterschied zu pH 10.
pH 12	4 min	15-800 µm, Caseinkörnchen 440 µm, nach 1,5 min 320 µm, nach 2,5 min Kern 200 µm und 800 µm gelartige Phase, nach 3,5 min ist die Probe gelöst gelartige Phase 720 µm, nach 4 min vollständig gelöst.
pH 13	1 min	15-800 µm, Caseinkörnchen 400 µm, nach 1 min vollständig aufgelöst mit geringer gelartiger Phase.

Tab. 16 Löslichkeit von Milchsäurecasein industriell in Tris-Puffern

Milchsäurecasein industriell

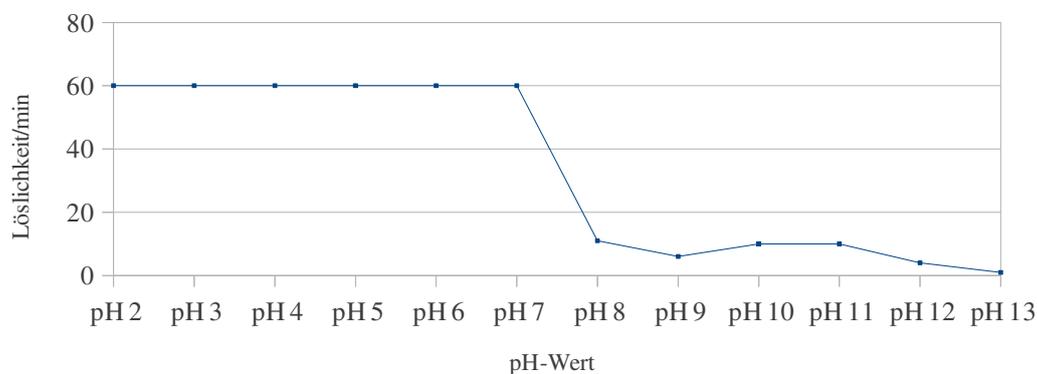


Abb. 74 Löslichkeit von Milchsäurecasein industriell in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Casein nach Hammersten, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 5	60 min	15-600 μm , Caseinkörnchen nach 10 sek 240 μm , Dauer 60 min keine Veränderung.
PH 6	20 min	15-800 μm , Caseinkörnchen nach 50 sek 720 μm , nach 2 min 40 sek 880 μm , nach 4 min 720 μm gelartig, nach 6 min 880 μm , nach 8 min 1000 μm , nach 10 min 1200 μm , nach 15 min 1040 μm , nach 20 min ist die Probe vollständig gelöst.
pH 7	–	15-400 μm , Caseinkörnchen, Größe konnte nicht bestimmt werden, es war sofort vollständig gelöst.
pH 8	50 sek	15-560 μm , Caseinkörnchen, Größe konnte nicht bestimmt werden, sie war nach 50 sek vollständig gelöst.
pH 10	–	15-540 μm , Caseinkörnchen, Größe konnten nicht beobachtet werden, da es sofort gelöst wurde.

Tab. 17 Löslichkeit von Casein nach Hammersten in Tris-Puffern

Casein nach Hammersten

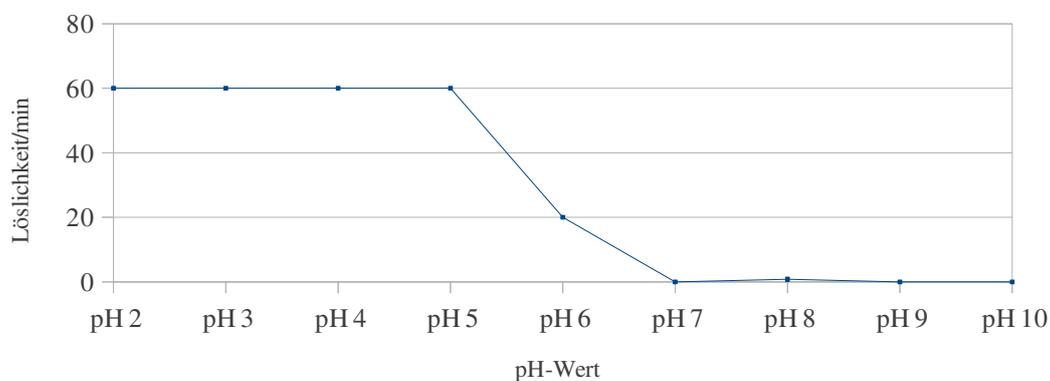


Abb. 75 Löslichkeit von Casein nach Hammersten in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Salzsäurecasein industriell, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 2	60 min	200-2120 μm , Caseinkörnchen 760 μm , nach 6 min 840 μm , nach 15 min 880 μm , Dauer 60 min keine Veränderung. Die Probe wird nur leicht opak und quillt leicht.
pH 3	60 min	120-1920 μm , Caseinkörnchen 1440 μm , nach 6 min 1560 μm , nach 10 min 1600 μm , nach 15 min 1640 μm , Dauer 60 min. Die Probe wird nur leicht opak und quillt leicht.
pH 4	60 min	120-1680 μm , Caseinkörnchen 1280 μm , nach 7 min 1320 μm , nach 9 min 1360 μm , nach 10 min 1400 μm , nach 20 min 1520 μm , Dauer 60 min keine Veränderung. Das Caseinteilchen wird opak und quillt.
pH 5	60 min	40-1760 μm , Caseinkörnchen 800 μm , nach 7 min 920 μm , nach 12 min 960 μm , nach 30 min 1000 μm , Dauer 60 min keine Veränderung mehr, das Caseinteilchen wird opak und quillt.
pH 6	60 min	120-920 μm , Caseinkörnchen 1040 μm , nach 2 min 1120 μm , nach 10 min 1400 μm , nach 15 min 1520 μm , nach 20 min 1560 μm , nach 29 min 1680 μm , nach 40 min 1760 μm , nach 50 min 1840 μm , nach 55 min 1920 μm , 60 min 1920 μm Quellvorgang abgeschlossen. Das Caseinteilchen wird allmählich opak und quillt.
pH 7	5,5 min	400-1480 μm , Caseinkörnchen 960 μm , nach 2,5 min 920 μm , nach 4 min 720 μm , nach 5,5 min gelöst Teilchengröße nicht mehr messbar gelartiger Hof 1440 μm , nach 10 min 1600 μm , nach 15 min 1400 μm , nach 17,5 min 1360 μm , nach 20 min 1200 μm , nach 30 min 1040 μm , nach 40 min 840 μm , nach 60 min 600 μm . Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 9	10 min	400-1600 μm , Caseinkörnchen 920 μm , nach 2 min 880 μm , nach 4 min 800 μm , nach 7 min 600 μm , nach 10 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 10	7 min	480-1280 μm , Caseinkörnchen 800 μm , nach 2 min 840 μm , nach 4 min 680 μm , nach 5,5 min 480 μm , nach 7 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 11	8,5 min	440-1880 μm , Caseinkörnchen 800 μm , nach 2 min 760 μm , nach 4 min 640 μm , nach 5,5 min 560 μm , nach 7 min 400 μm , nach 7,5 min 120 μm ., nach 8,5 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 12	8 min.	480-1600 μm , Caseinkörnchen 1160 μm , nach 2 min 1040 μm , nach 4 min 960 μm , nach 5,5 min 880 μm , nach 7 min 600 μm , nach 7,5 min 360 μm , nach 8 min gelöst. Das. Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 13	6,5 min.	440-1600 μm , Caseinkörnchen 1160 μm , nach 2 min 920 μm , nach 3 min 760 μm , nach 4 min 640 μm , nach 5 min 480 μm , nach 6 min 320 μm , nach 6,5 min gelöst. Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.

Tab. 18 Löslichkeit von Salzsäurecasein industriell in Tris-Puffern

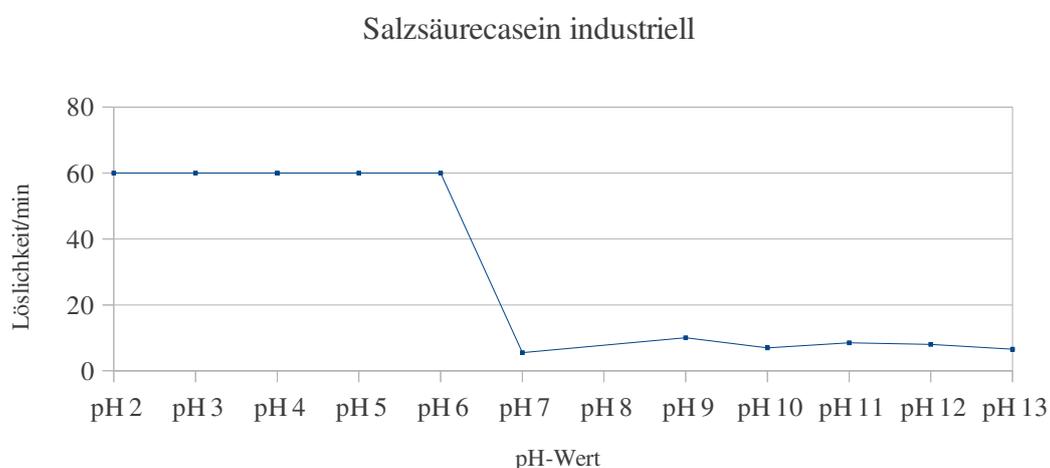


Abb. 76 Löslichkeit von Salzsäurecasein industriell in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Quark getrocknet, selbst hergestellt, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 2	60 min	920-2400 μm , Caseinkörnchen 1440 μm , nach 30 min 1520 μm , nach 40 min 1560 μm , nach 43 min 1640 μm , nach 60 min 1640 μm . Geringe Reaktion.
pH 4	60 min	640-1440 μm , Caseinkörnchen 1200 μm , nach 2 min 1280 μm , nach 5 min 1300 μm , nach 20 min 1300 μm , nach 60 min 1300 μm . Das Caseinteilchen wird gering opak.
pH 6	60 min	480-1880 μm , Caseinkörnchen 1000 μm , nach 2 min 1120 μm , nach 5 min 1200 μm , nach 10 min 1320 μm , nach 15 min 1480 μm , nach 20 min 1540 μm , nach 30 min 1520 μm , nach 40 min 1600 μm , nach 50 min 1640 μm , nach 60 min unverändert. Das Caseinteilchen quillt und wird opak. Die Reaktion ist nach 60 min noch nicht abgeschlossen.
pH 7	60 min	680-1960 μm , Caseinkörnchen 1320 μm , nach 2 min 1480 μm , nach 4 min 1680 μm , nach 5,5 min 1720 μm , nach 10,5 min 1880 μm , nach 12 min 1920 μm , nach 20 min 1880 μm , nach 30 min 1840 μm , nach 47 min 1880 μm , nach 56 min 1760 μm , nach 60 min 1720 μm . Das Caseinteilchen quillt und wird opak. Die Reaktion ist nach 60 min noch nicht abgeschlossen.
pH 9	60 min	400-2040 μm , Caseinkörnchen nach 1 min 1120 μm , nach 2 min 1360 μm , nach 3 min 1480 μm , nach 5 min 1640 μm , nach 10 min 1960 μm , nach 15 min 2040 μm , nach 20 min 2120 μm , nach 60 min 2120 μm . Das Caseinteilchen quillt und wird opak.
pH 10	2,5 min	760-1320 μm , Caseinkörnchen 600 μm , nach 1 min 440 μm , nach 2,5 min gelöst. Das Caseinteilchen löst sich sofort auf und hinterlässt eine gelartige Masse.
pH 11	8 min	280-2520 μm , Caseinkörnchen 920 μm , nach 1 min 840 μm , nach 3 min 600 μm , nach 4 min 560 μm , nach 6 min 520 μm , nach 7 min 480 μm , nach 8 min gequollen. Das Caseinteilchen beginnt sofort zu quellen und ist nach 8 min vollständig gelöst.
pH 13	6 min	360-1840 μm , Caseinkörnchen 720 μm , nach 1 min. 680 μm , nach 2 min. 600 μm , nach 4 min. 400 μm , nach 5 min. 200 μm , nach 6 min. gequollen. Caseinteilchen beginnt sofort zu quellen und ist nach 6 min. vollständig gelöst.

Tab. 19 Löslichkeit von Quark in Tris-Puffern

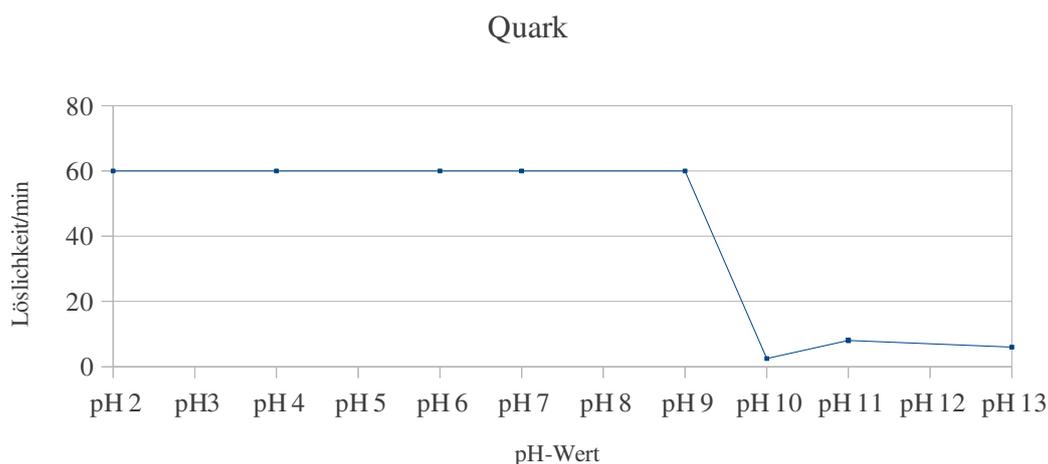


Abb. 77 Löslichkeit von Quark in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Salzsäurecasein selbst hergestellt, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 2	60 min	280-2240 μm , Caseinkörnchen 1000 μm nach 105 min, nach 2 min 1040 μm , nach 4 min 1120 μm , nach 6 min 1180 μm , nach 8 min 1240 μm , nach 60 min 1240 μm gequollen. Das Caseinteilchen quillt und ist leicht opak.
pH 4	60 min	160-3050 μm , Caseinkörnchen 1400 μm , nach 2 min 1440 μm , nach 4 min 1520 μm , nach 7 min 1560 μm , nach 8 min 1600 μm , nach 12 min 1600 μm , nach 15 min 1640 μm , nach 60 min 1640 μm . Das Caseinteilchen quillt und ist leicht opak.
pH 6	60 min	180-2520 μm , Caseinkörnchen 600 μm , nach 1 min 680 μm , nach 2 min 780 μm , nach 4 min 760 μm , nach 6 min 840 μm , nach 8 min 880 μm , nach 10 min 920 μm , nach 12 min 960 μm , nach 15 min 1000 μm , nach 20 min 1120 μm , nach 30 min 1440 μm , nach 40 min 1400 μm , nach 60 min 1400 μm . Das Caseinteilchen quillt und ist leicht opak.
pH 7	5 min	240-2120 μm , Caseinkörnchen 1360 μm , nach 1 min 1160 μm , nach 2 min 1040 μm , nach 3 min 1000 μm , nach 3,5 min 600 μm , nach 4,5 min 520 μm , nach 5 min gelöst. Das Caseinteilchen löst sich auf, quillt und wird gelartig.
pH 9	19 min	320-1880 μm , Caseinkörnchen 1880 μm , nach 2 min 1520 μm , nach 3 min 1440 μm , nach 4 min 1400 μm , nach 6 min 1200 μm , nach 8 min 840 μm , nach 10 min 600 μm , nach 12 min 440 μm , 15 min 280 μm , 19 min gequollen. Das Caseinteilchen löst sich langsam im Kern und quillt.
pH 11	5 min	140-400 μm , Caseinkörnchen 800 μm , nach 1 min 760 μm , nach 2 min 600 μm , nach 3 min 520 μm , nach 4 min 320 μm , nach 5 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich auf .
pH 13	13,5 min	300-1500 μm , Caseinkörnchen 1360 μm , nach 1 min 1160 μm , nach 2 min 1080 μm , nach 4 min 940 μm , nach 8 min 620 μm , nach 10 min 460 μm , nach 13 min 240 μm , nach 13,5 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt, wird opak und löst sich auf.

Tab. 20 Löslichkeit von Salzsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern

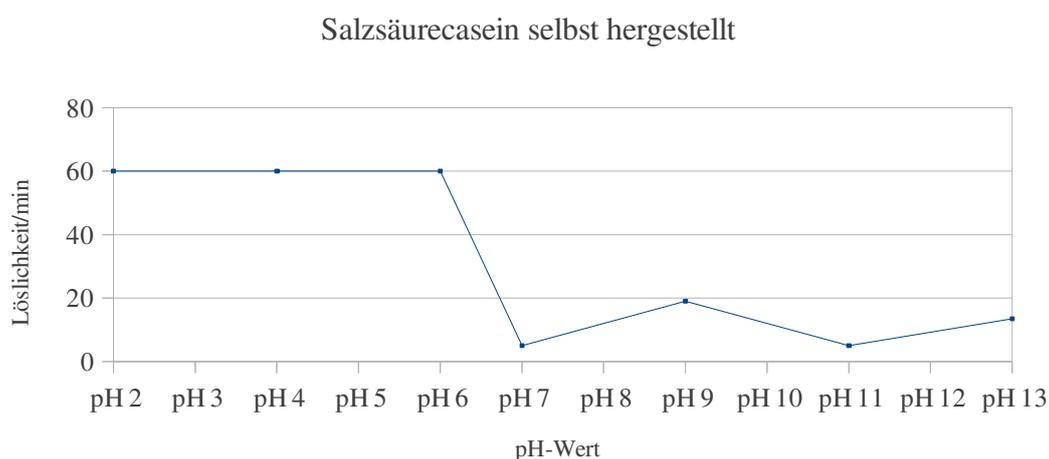


Abb. 78 Löslichkeit von Salzsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Milchsäurecasein selbst hergestellt, in Tris-Puffern gelöst

Tris	Zeit	Beobachtung der Veränderung der Partikelgröße
pH 2	60 min	220-2040 μm , Caseinkörnchen 920 μm nach 1 min, nach 2 min 1020 μm , nach 5 min 1320 μm , nach 6 min 1360 μm , nach 8 min 1400 μm , nach 10 min 1440 μm , nach 12 min 1440 μm , nach 15 min 1480 μm , nach 60 min 1480 μm gequollen.
pH 4	60 min	80-2400 μm , Caseinkörnchen nach 1 min 960 μm nach 2 min 1120 μm , nach 4 min 1240 μm , nach 6 min 1360 μm , nach 60 min 1360 μm gequollen. Keine Reduzierung des Teilchens.
pH 5	5,5 min	160-2120 μm , Caseinkörnchen 1120 μm , nach 2 min 400 μm , nach 3 min 640 μm , nach 4 min 520 μm , nach 5 min 320 μm , nach 5,5 min gelöst. Gelartige Phase nach 1 min 840 μm , nach 5,5 min 1200 μm . nach 8 min 1280 μm , nach 10 min 1280 μm , nach 60 min 1280 μm gequollen.
pH 6	4,5 min	360-1760 μm , Caseinkörnchen nach 1 min 1920 nach 2 min 1400 μm , nach 3 min 1120 μm , nach 4 min 400 μm , nach 4,5 min gequollen und gelöst.
pH 7	9 min	180-1360 μm , Caseinkörnchen 1040 μm , nach 2 min 880 μm , nach 3 min 760 μm , nach 4 min 680 μm , nach 5 min 640 μm , nach 6 min 540 μm , nach 7 min 440 μm , nach 8 min 300 μm , nach 9 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf.
pH 9	6,5 min	80-1920 μm , Caseinkörnchen 880 μm , nach 2 min 680 μm , nach 4 min 500 μm , nach 5 min 350 μm , nach 6 min 240 μm , nach 6,5 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf und hinterlässt eine gelartige Masse.
pH 10	9 min	80-1880 μm , Caseinkörnchen 1440 μm , nach 1 min 1320 μm , nach 2 min 1240 μm , nach 3 min 1160 μm , nach 4 min 1080 μm , nach 5 min 960 μm , nach 6 min 840 μm , nach 7 min 640 μm , nach 8 min 520 μm , nach 9 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort auf und hinterlässt eine gelartige Masse.
pH 11	7,5 min	200-2280 μm , Caseinkörnchen μm , nach 1 min 1760 μm , nach 2 min 1560 μm , nach 4 min 960 μm , nach 6 min 600 μm , nach 7 min 240 μm , nach 7,5 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort
pH 13	4 min.	200-1640 μm , Caseinkörnchen nach 1 min 960 μm , nach 2 min 720 μm , nach 3 min 480 μm , nach 4 min gelöst. Das Caseinteilchen quillt und löst sich sofort.

Tab. 21 Löslichkeit von Milchsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern

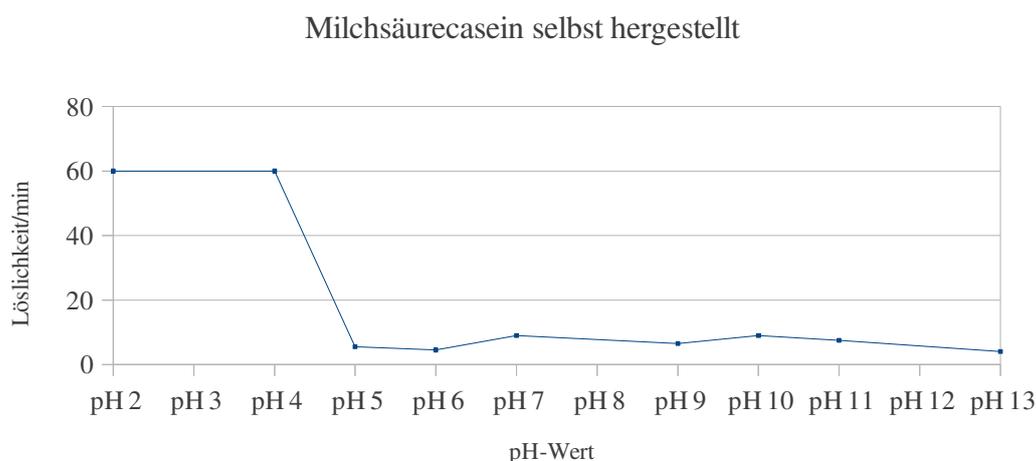


Abb. 79 Löslichkeit von Milchsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit

Ergebnisse

Die Löslichkeit des industriell hergestellten Milchsäurecaseins setzte bei pH 8 ein. Die Probe zerfiel allerdings nach 60 Min. nicht vollständig. Genauso verhielt sich das Casein bei pH 9-11. Erst ab pH 12-13 zersetzte sich die Probe innerhalb von wenigen Minuten. Bei Casein nach Hammersten war die Probe bei pH 5 nach 60 Min. noch nicht vollständig gelöst. Bei pH 6 gingen die Proben nach 20 Min. vollständig in Lösung. Ab pH 7-10 war die Reaktion so schnell gewesen, dass sie nicht mehr gemessen werden konnte.

Beim industriell hergestellten Salzsäurecasein setzte die Lösung bei pH 7 ein, davor quoll die Probe lediglich. Die Löslichkeit bei pH 7-13 war mit der des selbst hergestellten Salzsäurecaseins vergleichbar. Der getrocknete, selbst hergestellte Quark quoll bei pH 2-9. Ab pH 10-13 löste sich das Casein innerhalb weniger Minuten. Das selbst hergestellte Salzsäurecasein quoll zwischen pH 2-6. Ab pH 7-13 löste sich das Casein auf. Das selbst hergestellte Milchsäurecasein quoll bei pH 2 und 4. Ab pH 5-13 löste es sich nach wenigen Minuten.

Die vollständige Auflösung des selbst hergestellten Milchsäurecaseins war bei pH 5 am niedrigsten. Das technisch hergestellte Milchsäurecasein löste sich hingegen erst bei pH 8 vollständig auf. Ob dies am Herstellungsprozess, am unterschiedlichen Alter oder an den Lagerbedingungen der Caseine lag, kann nicht gesagt werden. Das Casein nach Hammersten löste sich bereits bei pH 6 vollständig auf. Die technischen und selbst hergestellten Salzsäurecaseine reagieren zur Gänze bei pH 7. Auch der Zeitraum von ca. 5 Min. stimmte überein. Der Quark lag mit einer Löslichkeit bei pH 10 weit über den anderen Caseinen, wofür unter anderem der erhöhte Fettgehalt der Milch verantwortlich gewesen sein kann.

Die Löslichkeit der Proben von den Putzplättchen konnte am Mikroskop weder im Durch- oder Auflicht noch im UV-Licht beobachtet werden.

8.6 Veränderungen in der Zusammensetzung der Caseine durch MALDI-LR-Massenspektrometrie

Die MALDI-LR-Massenspektrometrie wurde zur Untersuchung der Strukturveränderungen der Makromoleküle der Caseine und der unterschiedlich behandelten Caseinate verwendet. Dazu wurde ein MALDI-LR-Massenspektrometer der Firma Waters eingesetzt. Die Messungen erfolgten mit einem Stickstoff-UV-Laser bei einer Wellenlänge von 337 nm. Die Kalibrierung des Gerätes wurde mit fünf Peptidstandards, die in den Messbereichen der Peptidsequenzen von Casein liegen, durchgeführt. Diese Peptidstandards sind das Angiotensin ($m/z = 1280,5$), das Bradykinin ($m/z = 1060,2$), das Neutensin ($m/z = 1672,92$), das Renin ($m/z = 1759,0$) und das ACTH 18-39 ($m/z = 2465,7$).



Abb. 80 MALDI-LR-Massenspektrometer

8.6.1 Vorbereitung der Proben

Sowohl die unbehandelten Caseine als auch die auf Probekörper applizierten ungealterten und gealterten Caseinate wurden mit Ammoniumbicarbonatpuffern bei einem pH-Wert von 8 innerhalb von 24 Std. gelöst. Dabei wurde 0,01 g Casein/Caseinat mit 500 μ l Ammoniumcarbonat versetzt. In weiteren Vortests wurden das geeignete Trypsin und die

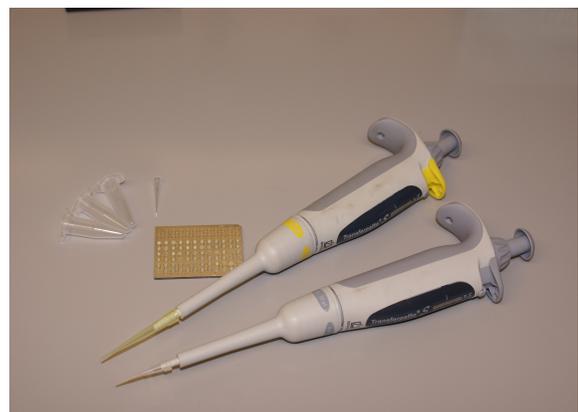


Abb. 81 Pipetten, Pipettenspitze ZIP TIP C 18 und Plate

Verdauzeit ermittelt. Es wurde je 1ml der Caseinlösung mit 40 µl Trypsinlösung (1mg/ ml Ammoniumbicarbonatpuffer) inkubiert und bei 37 °C verdaut. Nach der jeweiligen Verdauzeit wurde die Reaktion mit ca. 5 µl Trifluoressigsäure (TFA) gestoppt. Der pH-Wert musste dabei < 4 sein. Anschließend erfolgten die Reinigung/Entsalzung und die Aufkonzentrierung der Proben mit ZIP TIP C 18. Die gereinigten Proben wurden im Anschluss mit einer Matrix, die der Kristallbildung der Proteine dient, auf ein Plate appliziert und – nachdem sie getrocknet waren – mit dem MALDI-LR Massenspektrometer gemessen (Beschreibung der einzelnen Vortests siehe Kapitel 15.9).

Die einzelnen Caseine wurden der einfacheren Auswertung halber mit folgenden Buchstaben abgekürzt: A-Milchsäurecasein industriell hergestellt, B-Casein nach Hammersten, C-Salzsäurecasein industriell hergestellt, D-Quark selbst hergestellt, E-Salzsäurecasein selbst hergestellt, F-Milchsäurecasein selbst hergestellt.



Abb. 82 Die einzelnen Caseine, mit Buchstaben abgekürzt

8.6.2 Vortest zur Ermittlung optimaler Verdauzeiten des Caseins mit Trypsin

Um die optimale Zeit für den tryptischen Verdau der Proben zur Aufspaltung in die Peptidsequenzen zu ermitteln, wurden für das selbst hergestellte und industriell produzierte Milchsäurecasein unterschiedlich lange Verdauzeiten getestet. Das selbst hergestellte Milchsäurecasein

wurde verwendet, weil festgestellt werden konnte, dass bei diesem Casein proteinspezifische Peptidsequenzen nach 48 Std. nicht mehr gemessen werden konnten. Allerdings ließen sich die meisten Peptide nach dem tryptischen Verdau in dem selbst hergestellten Milchsäurecasein ermitteln. Die beiden Proben wurden jeweils 10, 20, 30, 60, 120 und 1440 Min. verdaut. Nach 10 Min. konnten bestimmte Peptide den einzelnen Caseinaten zugewiesen und so die Unterschiede zwischen ihnen deutlich herausgestellt werden. Nach der Abbaureaktion wurden die Intensitäten der Massezahlen ermittelt. Zudem wurde geklärt, wie die Intensitäten der gemessenen Spektren zu- oder abnehmen respektive gleich bleiben. Zur statistischen Auswertung wurden die Masse-Ladungs-Verhältnisse (MLV) und die Intensitäten betrachtet. Sie wurden zu Mittelwerten zusammengefasst, korrigiert und standardisiert, um sie vergleichbar auswerten zu können. [Lindner, 2008] Die Messdaten des selbst hergestellten und industriell fabrizierten Milchsäurecaseins sind nach der Standardisierung und Skalierung in den beiden unten stehenden Kurven dargestellt. Die mittels MALDI-LR messbaren Peptidsequenzen lagen zwischen 800-4500 Da.

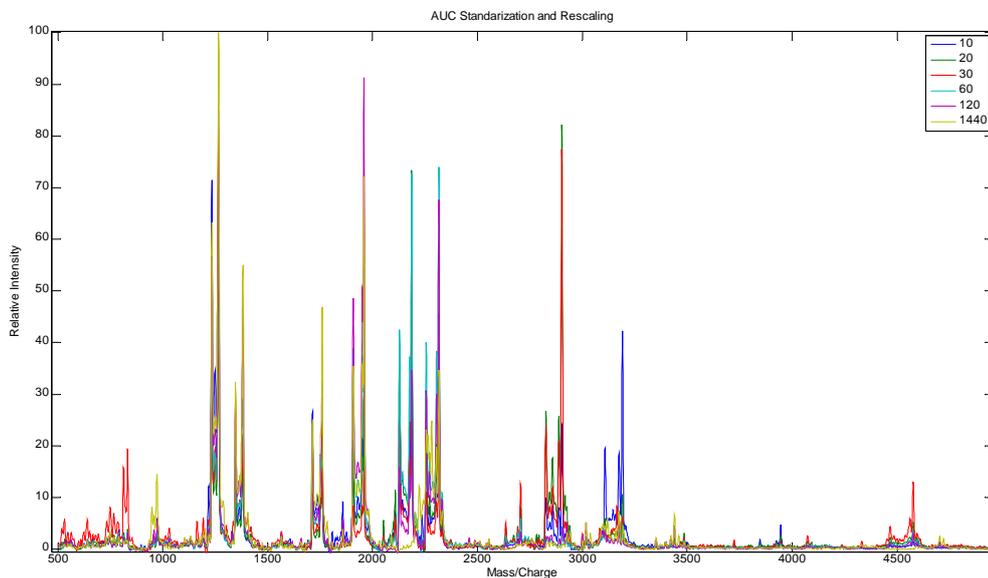


Abb. 83 Selbst hergestelltes Milchsäurecasein (Probe A). Messdaten nach Standardisierung und Skalierung

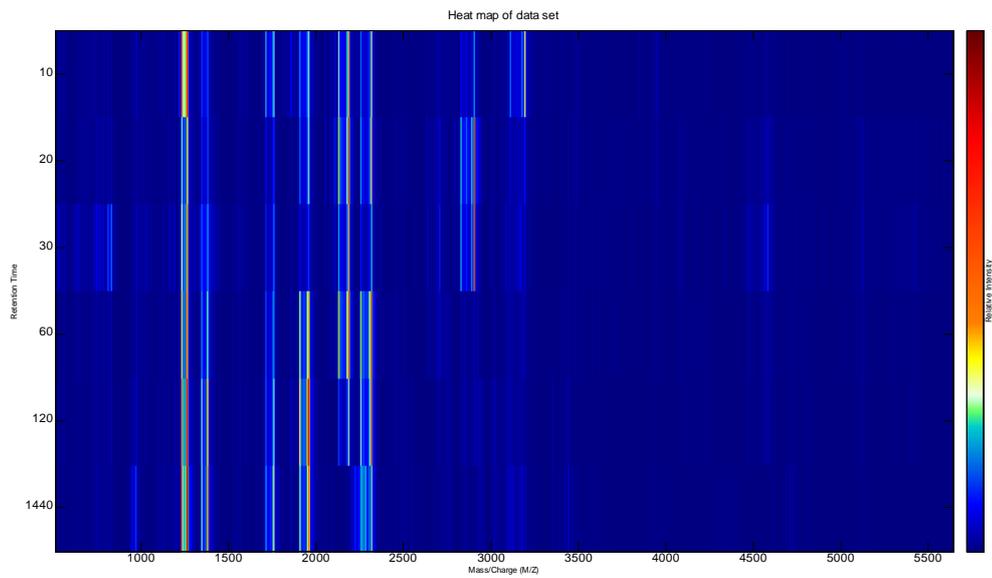


Abb. 84 Selbst hergestelltes Milchsäurecasein (Probe A). Heat map

Als „Heat map“ dargestellt, ließen sich die Mengen der vorhandenen Peptide in Bezug auf die Abbauzeit vergleichen. Es war deutlich zu erkennen, dass einzelne charakteristische Peptide bereits nach 10 Min. vorlagen und einige schon nach 20 Min. abgebaut waren.

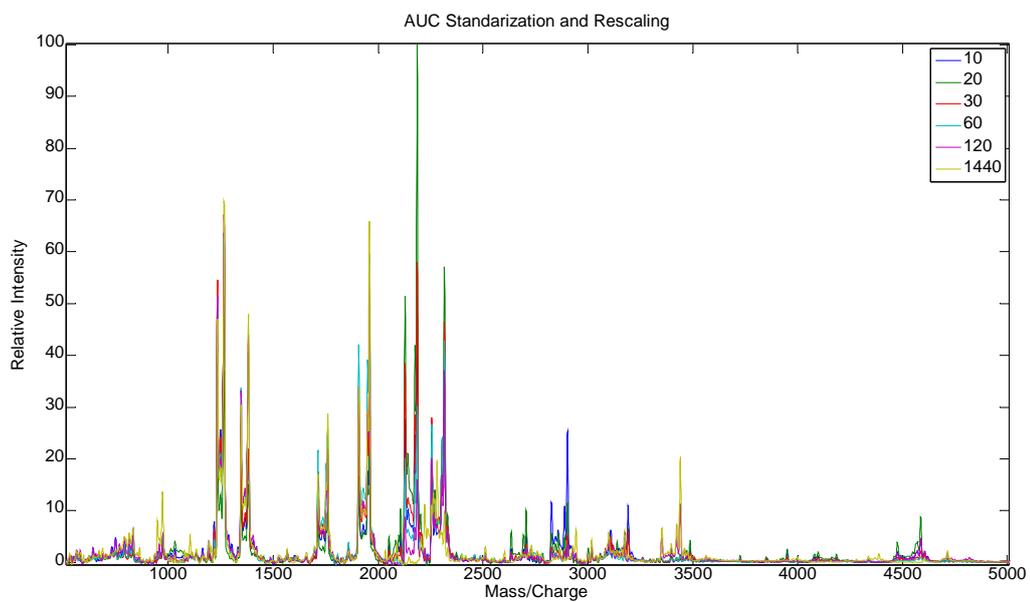


Abb. 85 Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Messdaten nach Standardisierung und Skalierung

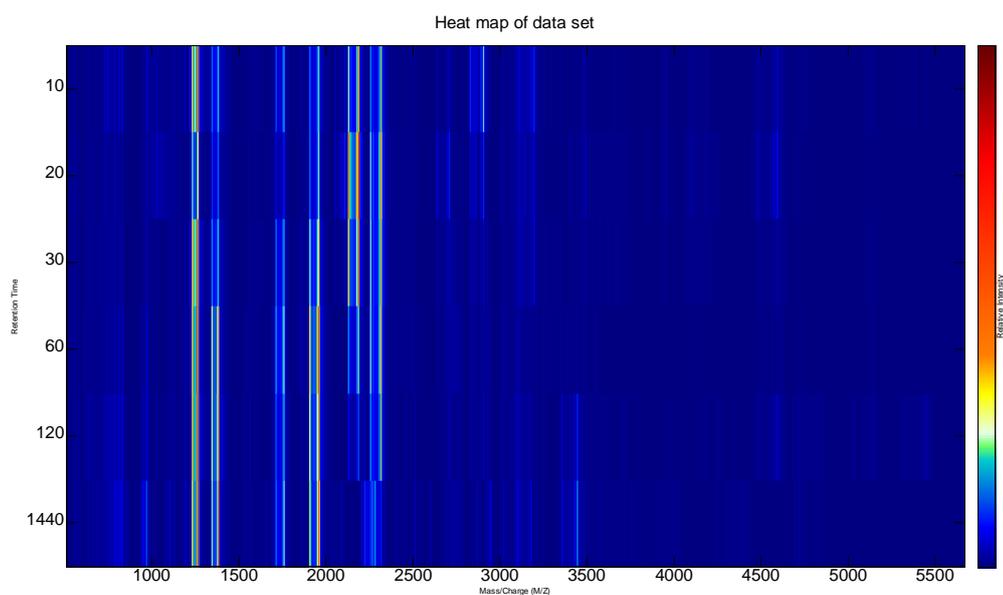


Abb. 86 Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Heat map

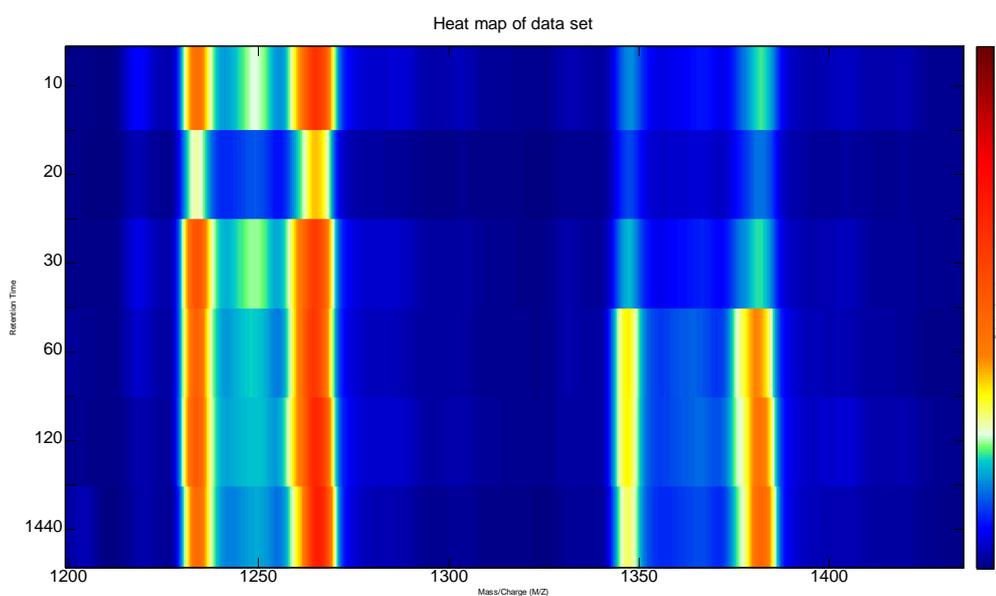


Abb. 87 Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Heat map: Zoom auf 5 Peaks, die in den 6 Messreihen unterschiedliche Intensitäten besitzen.

Auch hier konnte unschwer erkannt werden, dass die einzelnen Peptide auf der linken Seite bereits nach 10 Min. vorlagen, indes sie schon nach 20 Min. stark abgebaut worden sind (Siehe in Tab. 23 die Einträge 1233/20Min./mittel, 1250/20Min./mittel sowie 1265/20Min./stark). Auf der rechten Seite nahm die Intensität der beiden Peaks im Verlauf der Reaktion hingegen kontinuierlich zu (siehe Tab. 23 1350+/mittel sowie 1382+/stark).

Auswertung der Heat maps der Proben A und F

Aufgelistet wurden die Peaks mit den auffälligsten Veränderungen, die Art der Veränderung sowie ihre Stärke.

Beobachtete Veränderungen	
+/-	(kontinuierlicher) Anstieg/Abfall
X max	Maximum bei X min
X min	Minimum bei X min
10 max, +	hoher Wert bei 10 min, dann starker Abfall und Anstieg bis zu 24 h
X, Y max	Maxima bei X min und Y min

Tab. 22 Beurteilungskriterien der tabellarisch erfassten Veränderungen

Probe A			Probe F		
M/Z	Veränderung	Stärke	M/Z	Veränderung	Stärke
833	30 max	schwach	1233	20 min	mittel
972	+	schwach	1250	20 min	mittel
1234	10 max, +	stark	1265	20 min	stark
1250	10 max, +	mittel	1350	+	mittel
1265	10 max, +	stark	1382	+	stark
1350	+	mittel	1713	60 max	mittel
1383	+	mittel	1760	+	mittel
1714	10, 1440 max	schwach	1907	60 max	mittel
1760	10, 1440 max	mittel	1951	60 max	mittel
1908	120 max	mittel	1960	+	stark
1960	120 max	stark	2128	20 max	mittel
2129	20, 60 max	mittel	2175	20 max	mittel
2177	20, 60 max	mittel	2186	20 max	stark
2187	20, 60 max	stark	2255	30 max	mittel
2255	60 max	mittel	2304	60 max	mittel
2306	60 max	mittel	2315	20 max	mittel
2317	60 max	stark	2902	-	mittel
2826	20 max	schwach	3440	+	mittel
2887	20 max	schwach			
2903	20 max	stark			
3191	10 max	mittel			
4500	30 max	schwach			

Tab. 23 Veränderungen der Referenzproben [Lindner, 2008]

Um die Peptidsequenzen, die bereits nach 10-minütigem Abbau messbar waren, erfassen zu können, wurde entschieden, den tryptischen Verdau nach 10 Min. zu stoppen und die gemessenen Sequenzen miteinander zu vergleichen. Folgende Peptidsequenzen ließen sich dabei den einzelnen Caseinen zuweisen: 1250 α_{S2} -Casein, 1760 α_{S1} -Casein, 2187 β -Casein, 2317 α_{S1} -Casein, 3191 α_{S2} -Casein (Summe zweier Peptidsequenzen). Es stellte sich heraus, dass von allen Peptidsequenzen die theoretisch gemessen werden können, nur eine kleine Auswahl zu ermitteln war.

8.6.3 Vergleich der ermittelten MALDI-Spektren der ungealterten und gealterten Referenzproben

Es wurden insgesamt 144 Probekörper hergestellt, wobei mit jedem zu untersuchenden Probenmaterial zwei Platten beschichtet wurden. Somit waren von jeder Probe jeweils eine ungealterte und eine gealterte zu analysieren, insgesamt also 72 ungealterte und 72 gealterte Proben. Diese große Datenmenge wurde durch eine Methode der multivariaten Statistik ausgewertet (siehe Kapitel 7.5).²¹

Bei der ersten Betrachtung der gemessenen Spektren wurde überprüft, ob sich die ungealterten Proben von den gealterten unterscheiden. An dem Scoreplot der Hauptkomponenten (HK) 2 gegen 1 ist erkennbar, dass sich die ungealterten (rot) und die gealterten (blau) Proben voneinander trennen lassen. Bei den fünf Proben, die außerhalb der Ansammlung der Scores liegen, handelt es sich um die an den Objekten entnommenen. [Lindner, 2008]

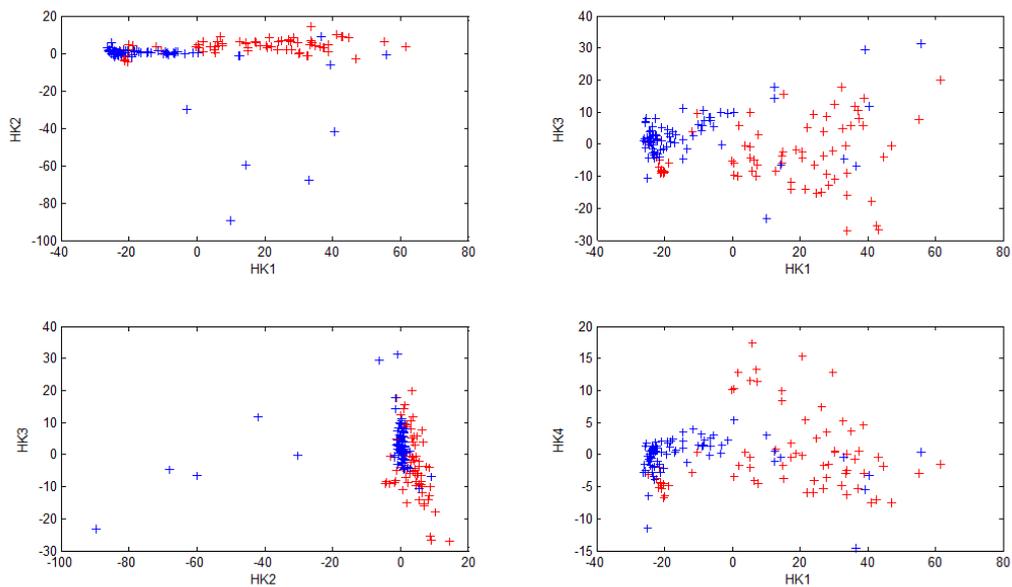


Abb. 88 Scoreplots aller ermittelten MALDI-Spektren der gealterten und ungealterten Referenzproben

Für die Differenzierung der ungealterten und gealterten Proben haben nach der statistischen Berechnung folgende m/z -Werte (Peptide) den größten Einfluss:

1265	+ 0.734892
1234	+ 0.506092
2186	+ 0.249866
1959	+ 0.182505
<hr/>	
1382	+ 0.150627
2316	+ 0.142569
1759	+ 0.123636
1714	+ 0.122815
1951	+ 0.113100
1347	+ 0.108255
1908	+ 0.087004
2305	- 0.050974
2256	+ 0.001191

Die gealterten Proben haben im Mittel niedrige Werte auf HK1 (siehe Plot HK1/HK2). In HK1 geht von den ursprünglichen Variablen $m/z = 1265$ am stärksten ein - erkennbar an dem Loading von + 0.73. Das bedeutet, dass gealterte Proben im Mittel eine geringe Intensität bei

diesem Masse-Ladungs-Verhältnis zeigen – wie auch bei 1234, 2186 usw. Dies ist für die betrachteten m/z-Werte in folgender Vektorgrafik dargestellt:

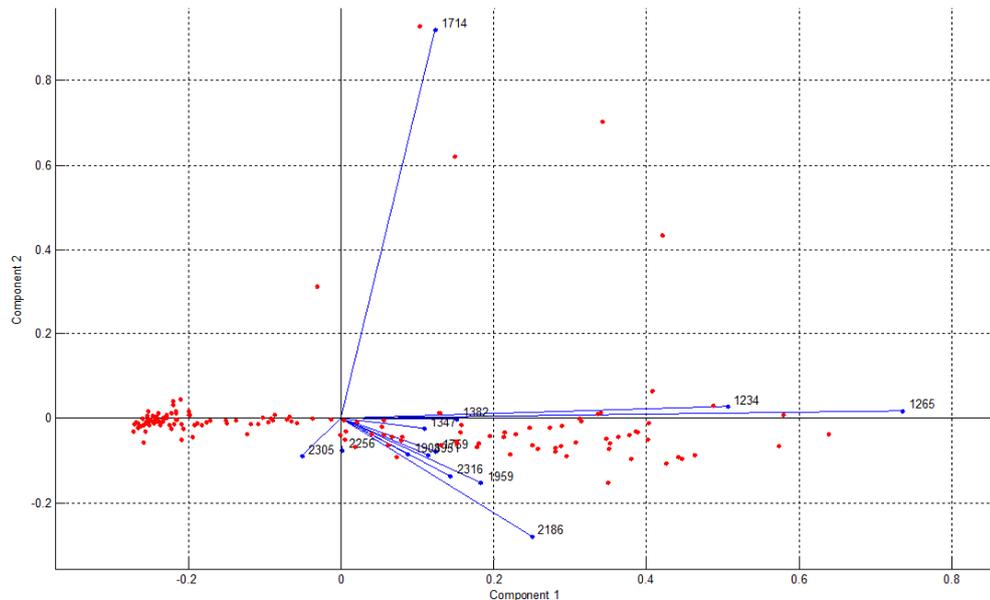


Abb. 89 Vektorgrafik der m/z-Werte der ungealterten und gealterten Proben

Die Vektoren mit der gleichen Richtung wie die Achse "Component 1" haben einen starken Einfluss. Verlaufen sie hingegen orthogonal, haben sie eine schwache Wirkung. Ist der Vektor lang, ist sein Einfluss ebenfalls stark; je kürzer er wird, desto schwächer ist auch sein Einfluss. [Lindner, 2008]

Bei den Messungen wurden alle ermittelten m/z-Werte in die Betrachtung einbezogen. Das heißt, dass auch solche Werte berücksichtigt wurden, die sich keinen Peptidsequenzen der tryptisch verdauten Caseinate zuweisen ließen. Diese Vorgehensweise wurde gewählt, weil davon ausgegangen werden musste, dass die Caseinate schon zu Beginn der Fällung zum Teil denaturiert wurden. Darüber hinaus wurde angenommen, dass sich jeder Behandlungsschritt auf die Caseinate auswirkte und es zu entsprechenden Veränderungen kam. Zu den m/z-Werten mit dem größten Einfluss auf die Auswertung, die den Peptidsequenzen der Caseinate zugeordnet werden können, gehört der m/z-Wert 1759 und 2316 α_{S1} -Casein, 1265 α_{S2} -Casein sowie 2186 β -Casein. Alle anderen Peptidsequenzen konnten nicht berücksichtigt werden. Dies kann bedeuten, dass die restlichen gemessenen Peptidsequenzen im Verhältnis zu den anderen m/z-Werten zu gering waren oder aber die Caseinate schon so weit denaturiert waren,

dass sie nicht mehr vollständig tryptisch verdaut und gemessen werden konnten. Von den fünf Peptidsequenzen, die bei den Vortests zur Ermittlung optimaler Verdauzeiten des Caseins mit Trypsin gemessen werden konnten, ließen sich im Vergleich mit den gealterten und ungealterten Caseinate nur noch vier Peptidsequenzen zuweisen (siehe Kapitel 8.6.2).

8.6.4 Betrachtung der Proben aus einer Gruppe untereinander und in Bezug auf das „reine“ Casein

Für die hier zu betrachtenden Datensätze wurden die jeweiligen Spektren der gealterten und ungealterten Proben, die aus einem Casein hergestellt wurden, dem Spektrum des unbehandelten getrockneten Caseins gegenübergestellt, um mögliche Veränderungen zu erfassen. Das heißt: Alle Proben von Quark, industriell und selbst hergestelltem Milchsäurecasein, industriell und selbst hergestelltem Salzsäurecasein und Casein nach Hammersten wurden miteinander verglichen.

Mit den ermittelten Datensätzen wurde eine Vorverarbeitung gemacht: Gleiche Massenzahlen wurden durch Mittelwertbildung der Intensitäten, Baseline correction, Rauschunterdrückung und Normalisierung zusammengeführt. Dann wurden die Intensitäten von 13 Massenzahlen ausgewählt (1759, 1908, 1951, 1234, 1382, 2316, 1265, 1959, 2305, 2256, 1347, 2186, 1714) und weiter analysiert. [Lindner, 2008] Es wurde jeweils eine PCA ausgeführt und die Scoreplots erstellt. Die ungealterten Proben wurden grün, die gealterten blau und die unbehandelte Caseinprobe wurde rot dargestellt. Als zusätzlicher Indikator wurde der t^2 -Wert nach Hotelling berechnet, der ein Maß für die multivariante Distanz einer Probe zum Zentrum des Datensatzes, also ein Ausdruck der Wahrscheinlichkeitsverteilung ist.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Quark (D)

(Probennummern 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23)

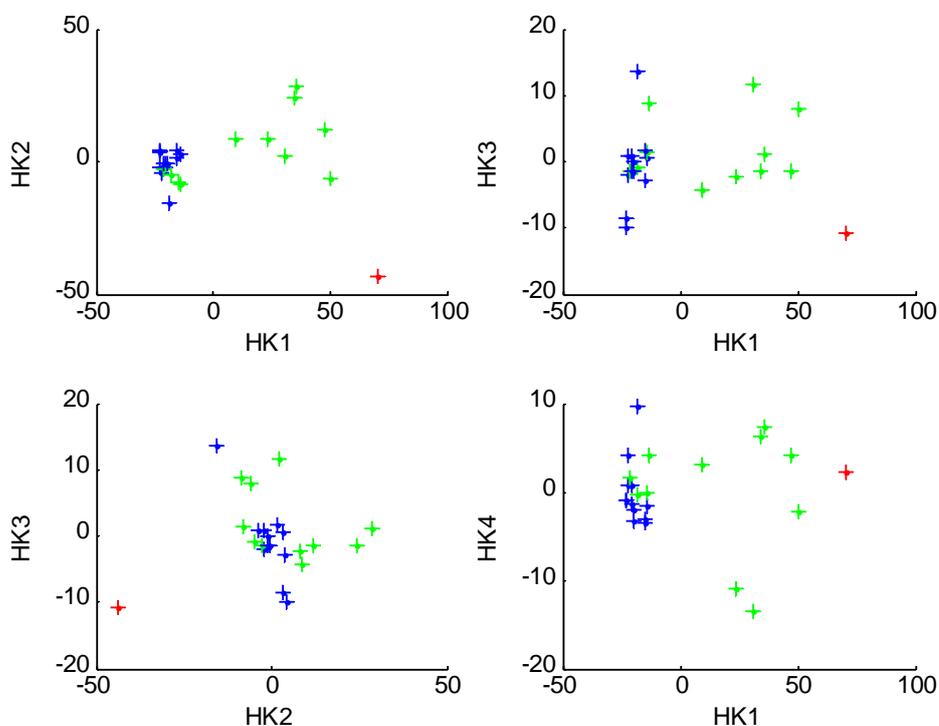


Abb. 90 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Quark (D)

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung ("Loading")
1265	+ 0.616662
1234	+ 0.417772
2186	+ 0.411736
2316	+ 0.318256

Der unbehandelte Quark (rot) ist am weitesten von den behandelten Proben entfernt. Das heißt, dass sich die Caseinate nach dem Aufschluss stark veränderten. Es bildeten sich die entsprechenden Calcium- und Ammoniums Salze. Die ungealterten Proben liegen gestreuter als die gealterten vor. Dies kann die Folge weiterer Reaktionen der Caseinate während der Klimabelastung sein. Die Intensitäten der ungealterten Proben im Massenspektrum sind höher als die der gealterten, was ebenfalls für weitere Veränderungen der Peptidsequenzen spricht. Die vier

m/z-Werte, die den größten Einfluss auf die Gruppierungen haben, können wie folgt zugeordnet werden: 1265 dem α_{S2} -Casein, 2186 dem β -Casein und 2316 dem α_{S1} -Casein.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein selbst hergestellt (F)

(Probennummern 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47)

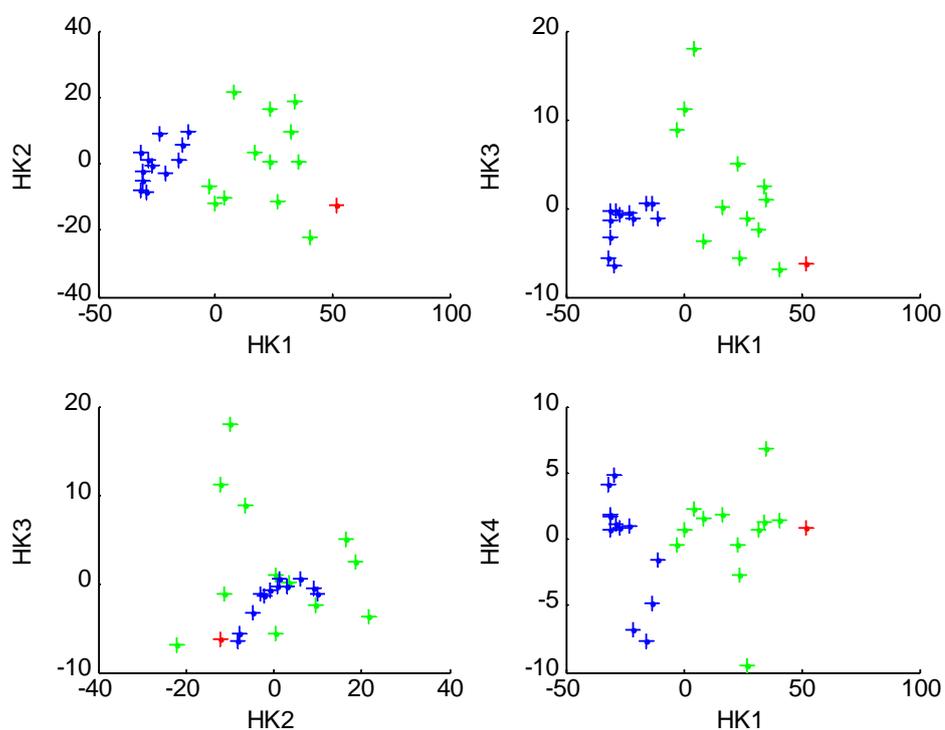


Abb. 91 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein selbst hergestellt (F)

Größten Einfluss für die Gruppierung gealtert/ ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.622562
1234	+ 0.461266
2186	+ 0.412587
2316	+ 0.240346
1959	+ 0.233505

Das unbehandelte Casein liegt näher bei den behandelten ungealterten Proben als beim Quark. Hier sind die Unterschiede der m/z -Werte geringer. Die ungealterten Caseinate liegen ziemlich gestreut vor, die gealterten dichter beieinander, allerdings auch hier verteilter als die von Quark. Die m/z -Werte der ungealterten Proben sind wieder im positiven Bereich. Beide Aspekte sind Indizien dafür, dass die Denaturierung der Caseinate weiter fortgeschritten ist. Auch hier lassen sich von den vier m/z -Werten, die den größten Einfluss auf die Gruppierungen haben, 1265 dem α_{S2} -Casein, 2186 dem β -Casein und 2316 dem α_{S1} -Casein zuordnen.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein selbst hergestellt (E)

(Probennummern 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71)

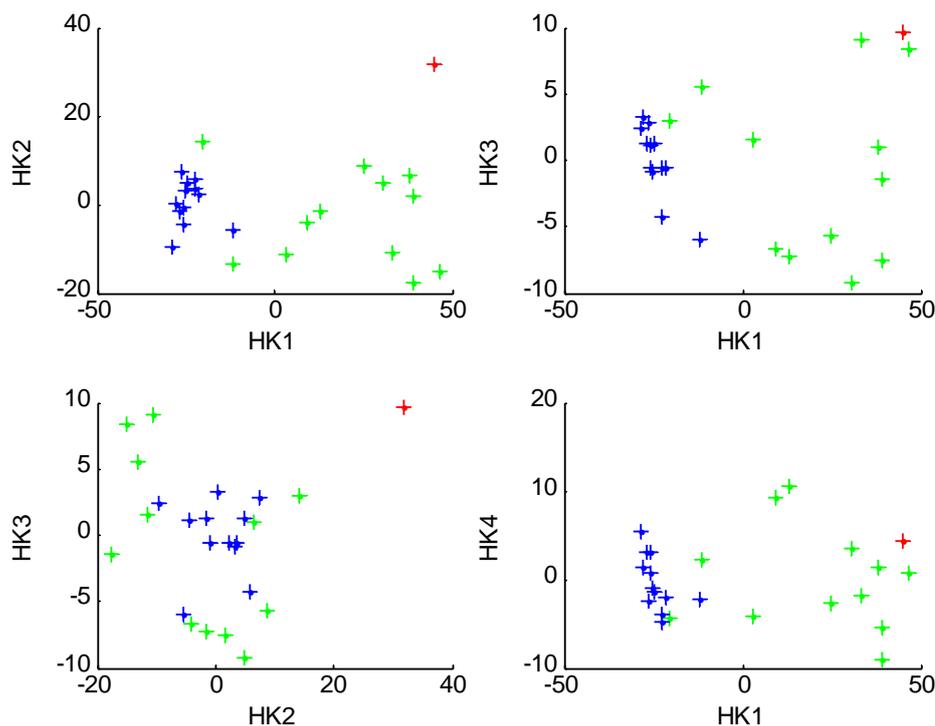


Abb. 92 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein selbst hergestellt (E)

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.664258
1234	+ 0.453219
2186	+ 0.331840
1959	+ 0.258968
2316	+ 0.206213

In diesem Fall ist das unbehandelte selbst hergestellte Salzsäurecasein sehr weit von den ungealterten und gealterten Proben entfernt. Die ungealterten Caseinate sind stark gestreut, die gealterten liegen hingegen dicht beieinander. Der Einfluss der Loadings des β -Caseins und des α_{s1} -Caseins ist hier allerdings geringer als beim Quark und selbst hergestellten Milchsäurecasein, der des 1265 α_{s2} -Caseins indes höher. Die Denaturierung der Caseinate schreitet ebenfalls nach jedem Behandlungsschritt weiter fort.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Casein nach Hammersten (B)

(Probennummern 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95)

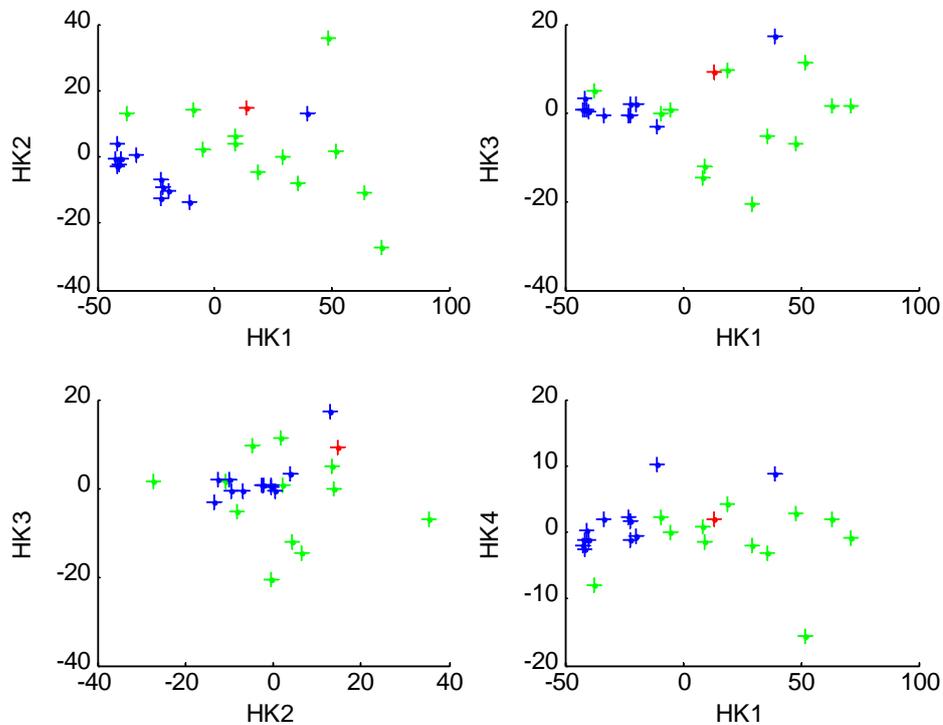


Abb. 93 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Casein nach Hammersten (B)

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.740098
1234	+ 0.495010
2186	+ 0.284039
1959	+ 0.191926
2316	+ 0.169049

Das unbehandelte Casein nach Hammersten befindet sich inmitten der ungealterten behandelten Proben. Die ungealterten Caseinate sind stark gestreut, die gealterten liegen wieder dichter beieinander. Der Einfluss der Loadings des β -Caseins und des α_{s1} -Caseins ist hier noch geringer als beim selbst hergestellten Salzsäurecasein, der des 1265 α_{s2} -Caseins weit höher. Der

Unterschied der Proben ist im Vergleich zu den Loadings der m/z -Werte der anderen Caseine geringer. Das Casein nach Hammersten denaturiert nicht so stark wie die anderen Caseine, was daran liegen kann, dass die Peptidsequenzen, an denen weitere Reaktionen stattfinden könnten, herstellungsbedingt nicht mehr frei sind und somit nicht gespalten werden konnten. Der Einfluss des β -Caseins und α_{S1} -Caseins ist auch in diesem Fall am geringsten.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein industriell (C)

(Probennummer 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119)

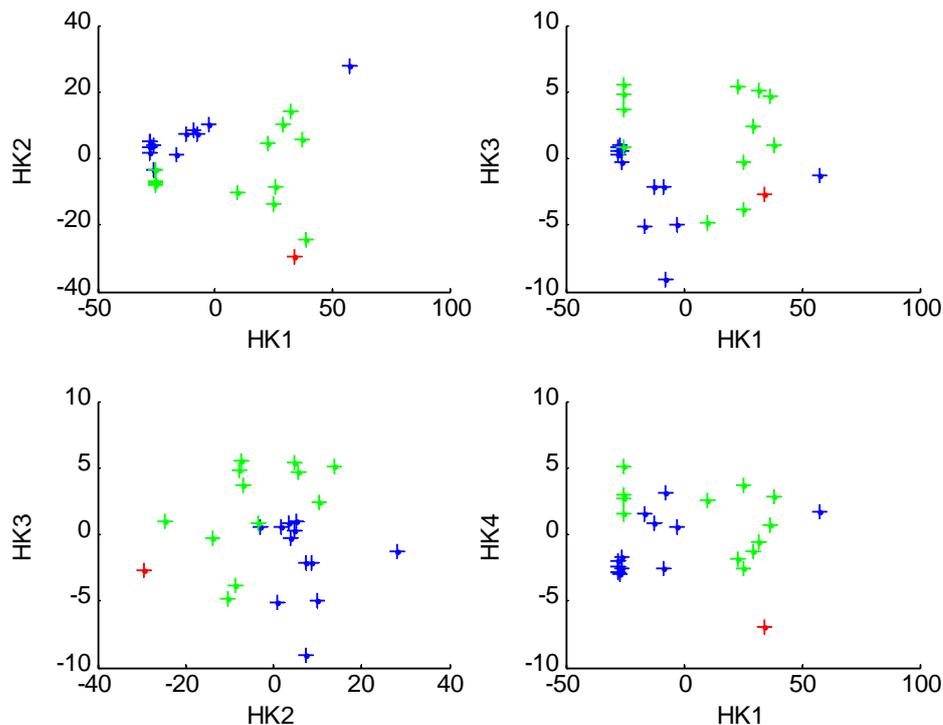


Abb. 94 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein industriell (C)

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z -Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.780656
1234	+ 0.504673
2186	+ 0.223911

Das unbehandelte industriell fabrizierte Salzsäurecasein ist ähnlich weit von den ungealterten Caseinaten weg wie beim selbst hergestellten Milchsäurecasein. Hier kommen die ungealterten Proben wieder relativ gestreut vor. Die gealterten Proben sind ziemlich nah beieinander. Die Denaturierung der Caseinate scheint weiter fortgeschritten zu sein. Bei diesen Proben nehmen nur drei m/z-Werte starken Einfluss: 1265 kann dem α_{S2} -Casein und 2186 dem β -Casein zugeordnet werden.

Betrachtung der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein industriell (A)

(Probennummer 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143)

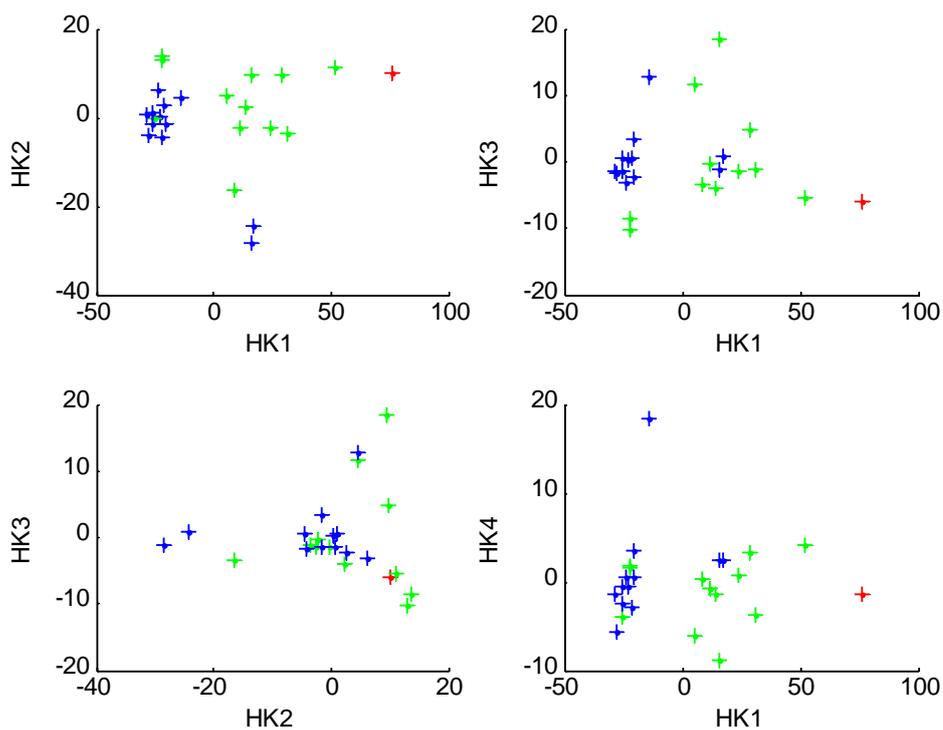


Abb. 95 Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein industriell (A)

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.631801
1234	+ 0.524243
2186	+ 0.361899
1959	+ 0.227424
2316	+ 0.222591

Das unbehandelte industriell produzierte Milchsäurecasein liegt wieder dichter bei den ungealterten als bei den gealterten Proben. Die ungealterten Caseinate kommen gestreut vor. Zwei der gealterten Proben sind relativ weit von den restlichen gealterten entfernt. Es lässt sich wieder das Fortschreiten der Denaturierung beobachten. Bei diesen Proben haben das α_{S2} -Casein, β -Casein und α_{S1} -Casein wieder einen größeren Einfluss auf das Loading.

Die berechneten t^2 -Werte lauten wie folgt:

D	22.00087
F	20.45858
E	22.14221
B	12.0059
C	19.27621
A	21.87612

An allen Scoreplots wird deutlich, dass die unbehandelten Caseine (rot) den ungealterten Proben (grün) ähnlicher sind als den gealterten (blau). Insgesamt kann dies als Beleg dafür angesehen werden, dass die Denaturierung der Caseinate nach dem Aufschluss und den Behandlungen bis zur Alterung fortschreitet. Die Scoreplots und die t^2 -Werte zeigen, dass bei Casein nach Hammersten (B) das unbehandelte Casein geringere Unterschiede zu den ungealterten und gealterten Proben aufweist, während diese bei den anderen Caseinen deutlich größer sind. Das heißt, dass sich die geringsten Veränderungen bei der Alterung der Proben beim Casein nach Hammersten einstellen, was auf seine Herstellung zurückgeführt werden kann.

8.6.5 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Kalk aufgeschlossen wurden

Proben 1, 3, 5, 7, 9, 11, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 127, 129, 131 ungealtert/gealtert

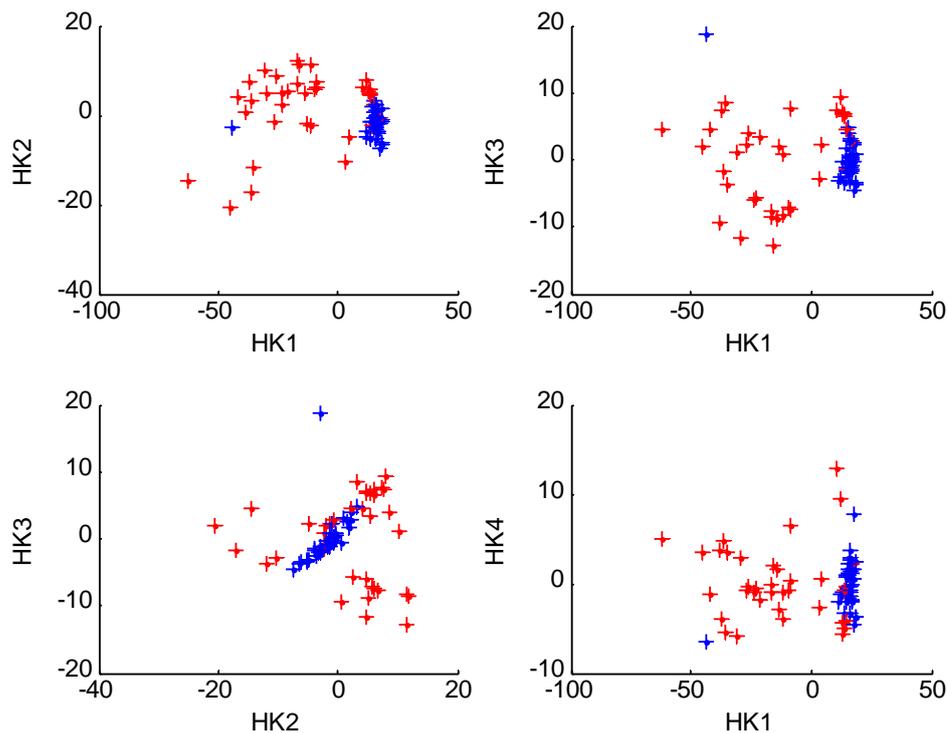


Abb. 96 Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Kalk aufgeschlossen wurden

Die gealterten Proben (blau, hoher Wert auf PC1) haben niedrige m/z-Werte:

m/z	Loading
1265	- 0.704932
1234	- 0.465845
2186	- 0.279582
1959	- 0.255735

Die Kalkcaseinate verhalten sich nach der Alterung alle ähnlich. Dies wird an den Scoreplots deutlich, denn die ungealterten Proben (rot) streuen stärker als die gealterten, die relativ dicht

beieinanderliegen. Einen Ausreißer bildet lediglich die gealterte Probe 81 (Casein nach Hammersten, mit Kalk aufgeschlossen, mit Lysol konserviert und ungehärtet). Warum sich dieses Caseinat anders verhält, kann nicht erklärt werden.

Die Denaturierung der Kalkcaseinate schreitet während der Alterung kontinuierlich fort, wie bereits oben beschrieben. Die gealterten Proben haben eine sehr niedrige Intensität im Massenspektrum. Es lassen sich nur zwei m/z -Werte zuweisen: 1265 dem α_{S2} -Casein und 2186 dem β -Casein. In der HK 1, beträgt die erklärte Varianz (eV) 80 %.

8.6.6 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Ammoniak aufgeschlossen wurden

Proben 13, 15, 17, 19, 21, 23, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 133, 135, 137, 139, 141, 143 ungealtert/gealtert

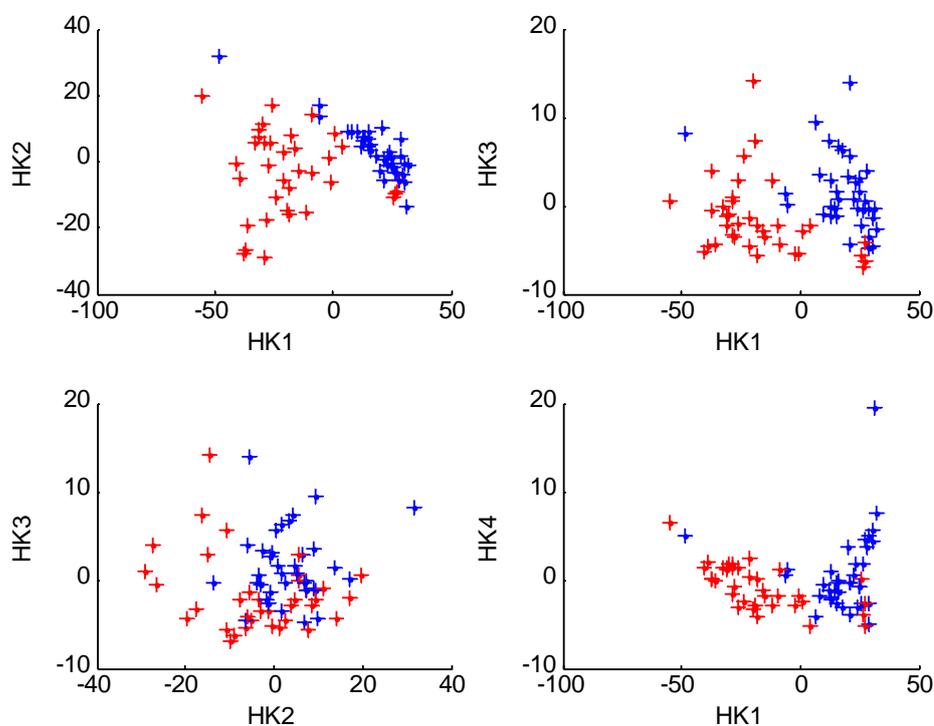


Abb. 97 Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Ammoniak aufgeschlossen wurden

Die gealterten Proben (blau, hoher Wert auf PC1) haben niedrige m/z-Werte:

m/z	Loading
1265	- 0.725518
1234	- 0.503421
2186	- 0.290498
1959	- 0.192164

Auch bei den Ammoniumcaseinaten lässt sich feststellen, dass die ungealterten gestreuter vorliegen als die gealterten. Die Proben scheinen bei der Alterung alle an den gleichen Bindungen und Peptidsequenzen Reaktionen einzugehen. Hier sind ebenfalls dieselben m/z-Werte wie bei den anderen Proben relevant. Die ungealterten Caseinate haben wieder eine höhere Intensität im Massenspektrum. Lediglich zwei m/z-Werte lassen sich zuweisen: 1265 dem α_{s2} -Casein und 2186 dem β -Casein. Vergleicht man die Dichte der Ammoniumcaseinate allerdings mit den Scoreplots von Caseinaten, die mit Kalk aufgeschlossen wurden, zeigt sich, dass diese Proben dichter beieinanderliegen als die mit Ammoniak aufgeschlossenen. Dies kann bedeuten, dass an den mit Ammoniak behandelten Proben – im Gegensatz zu den mit Kalk behandelten – unterschiedlich starke Alterungsvorgänge/Reaktionen erfolgen können.

8.6.7 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Ammoniak und Kalk aufgeschlossen wurden

Proben 1, 3, 5, 7, 9, 11, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 121, 123, 125, 127, 129, 131 ungealtert/gealtert

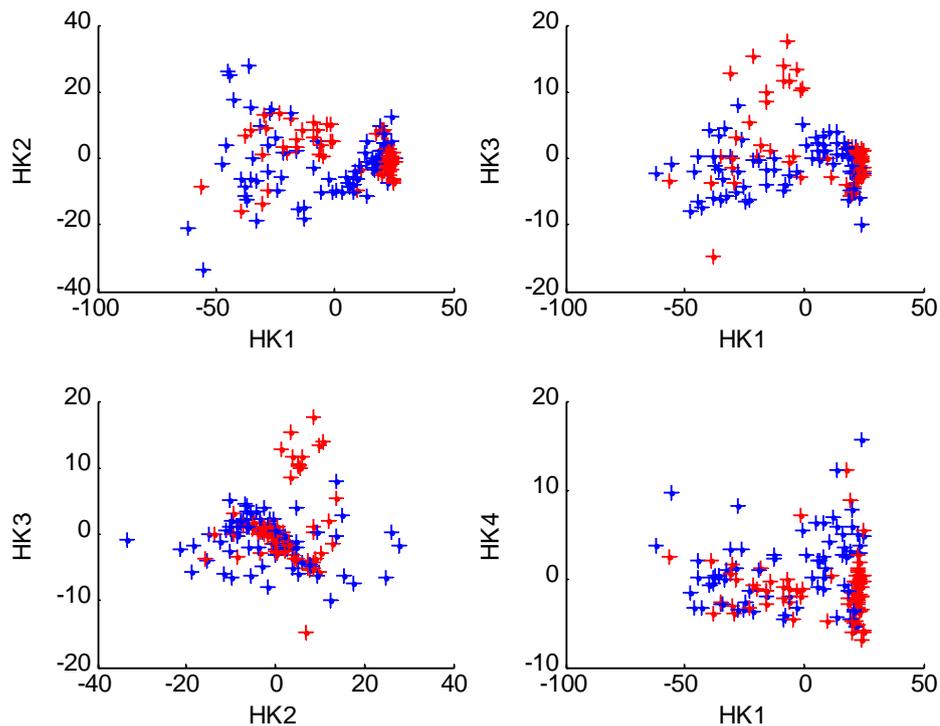


Abb. 98 Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Ammoniak und Kalk aufgeschlossen wurden

Betrachtet man alle mit Ammoniak und Kalk aufgeschlossenen Caseine, ohne die gealterten von den ungealterten zu unterscheiden, zeigt sich, dass ein Teil gleichmäßig gestreut, der andere eher zusammengelagert vorkommt. Dies bedeutet, dass die mit Ammoniak behandelten Proben ein ähnliches Verhalten bei der Alterung aufweisen wie die mit Kalk aufgeschlossene Caseinate.

8.6.8 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die kein Konservierungsmittel enthalten

Proben 1, 3, 13, 15, 25, 27, 37, 39, 49, 51, 61, 63, 73, 75, 85, 87, 97, 99, 109, 111, 121, 123, 133, 135 ungealtert/gealtert

Ohne Berücksichtigung der Objektproben lassen sich anhand der PCA bedeutsame Aussagen erzielen.

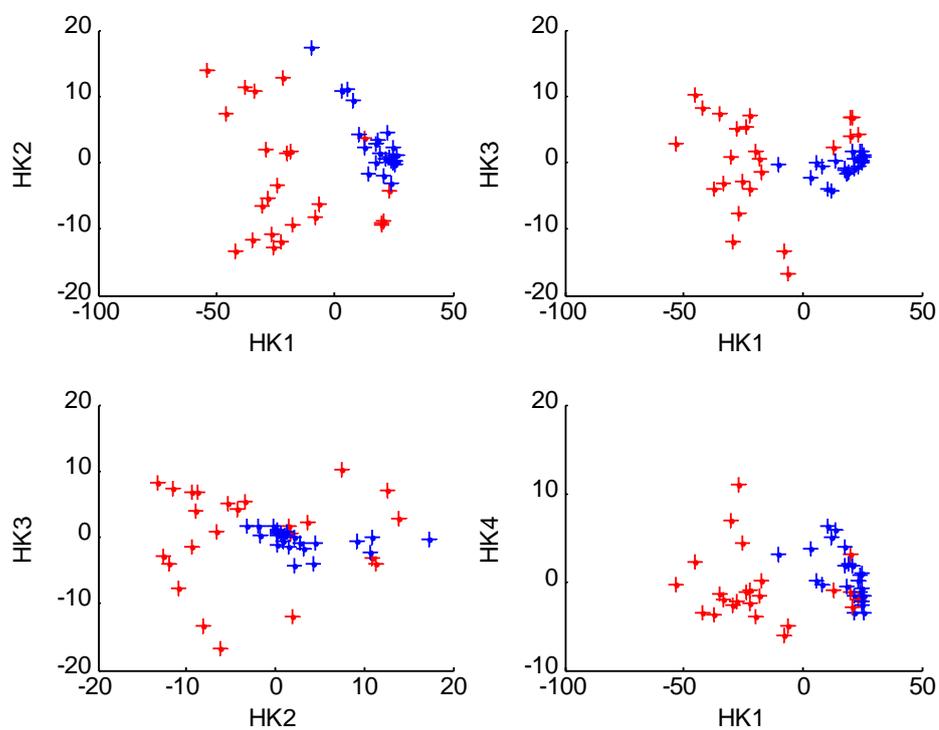


Abb. 99 Scoreplots der Proben, die kein Konservierungsmittel enthalten

Wie bei den anderen Betrachtungen schon festzustellen war, liegen die gealterten Caseinate im Scoreplot dichter beieinander als die ungealterten. Das bedeutet, dass auch hier die Alterungsvorgänge vergleichbar ablaufen und die Caseinate – egal welchen Typs – ein ähnliches Alterungsverhalten aufweisen. Die Behandlung der Proben wirkt sich nicht aus.

8.6.9 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Salicylsäure konserviert wurden

Proben 5, 7, 17, 19, 29, 31, 41, 43, 53, 55, 65, 67, 77, 79, 89, 91, 101, 103, 113, 115, 125, 127, 137, 139 ungealtert/gealtert

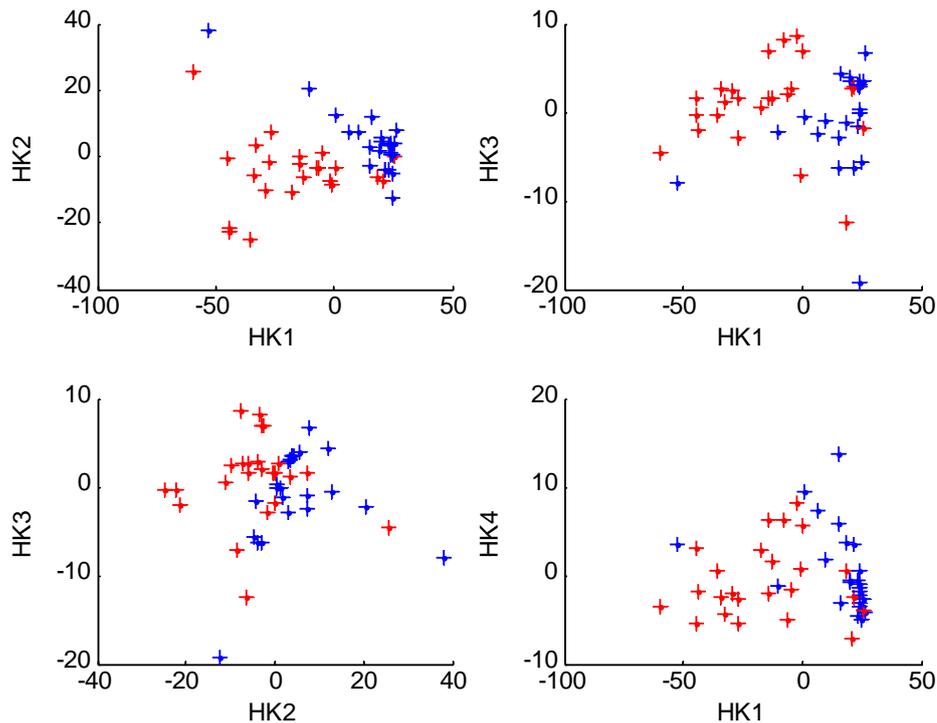


Abb. 100 Scoreplots der Proben, die mit Salicylsäure konserviert wurden

Auch die mit Salicylsäure behandelten Proben zeigen, dass die gealterten im Scoreplot dichter beieinanderliegen als die ungealterten. Die Alterungsvorgänge laufen hier ebenfalls untereinander übereinstimmend ab, was wiederum bedeutet, dass die Caseinate – egal welchen Typs – ein ähnliches Alterungsverhalten aufweisen. Bei dieser Betrachtung weicht lediglich eine gealterte Probe von den anderen ab. Es betrifft die Probe 115 des industriell hergestellten Salzsäurecaseins, das mit Ammoniak, Salicylsäure und Formaldehyd behandelt wurde.

8.6.10 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Lysol konserviert wurden

Proben 9, 11, 21, 23, 33, 35, 45, 47, 57, 59, 69, 71, 81, 83, 93, 95, 105, 107, 117, 119, 129, 131, 141, 143 ungealtert/gealtert

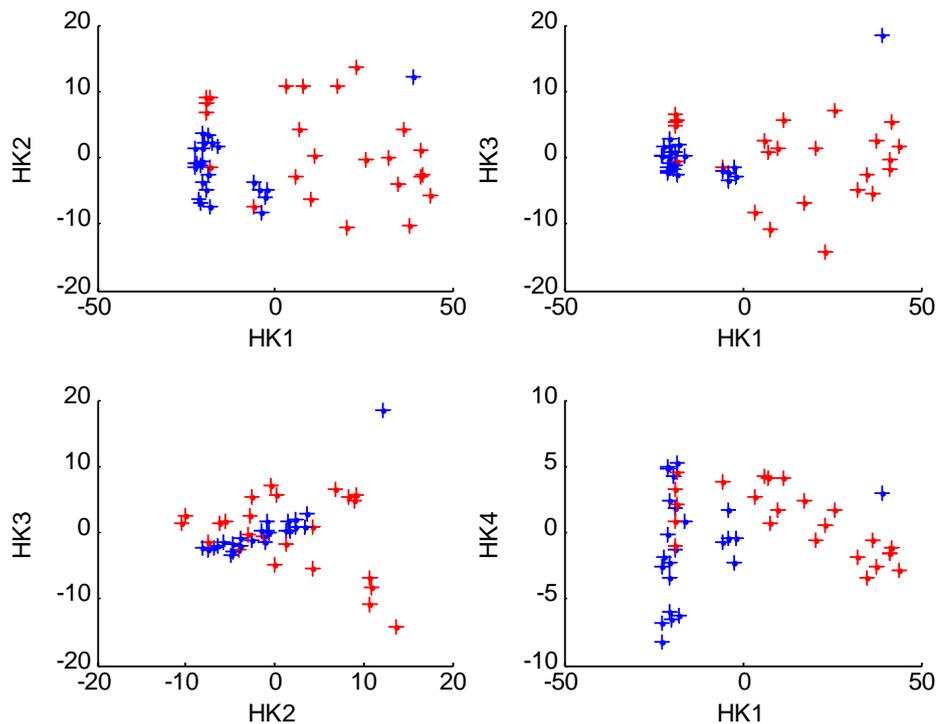


Abb. 101 Scoreplots der Proben, die mit Lysol konserviert wurden

Bei den mit Lysol behandelten Caseinaten liegen die gealterten im Scoreplot ebenfalls dichter beieinander als die ungealterten. Die Alterungsvorgänge gleichen sich nicht minder. Bei dieser Betrachtung weist lediglich Probe 81 ein anderes Verhalten auf. Bei der Begutachtung der mit Kalk aufgeschlossenen Caseine fiel sie bereits auf. Es dreht sich um das Casein nach Hammersten, das mit Kalk behandelt und mit Lysol konserviert, aber nicht mit Formaldehyd gehärtet wurde.

8.6.11 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die entweder nicht konserviert oder konserviert wurden

PCA mit allen Proben; im Scoreplot die Konservierungsarten farblich hervorgehoben: rot = keine; blau = Salicylsäure; grün = Lysol.

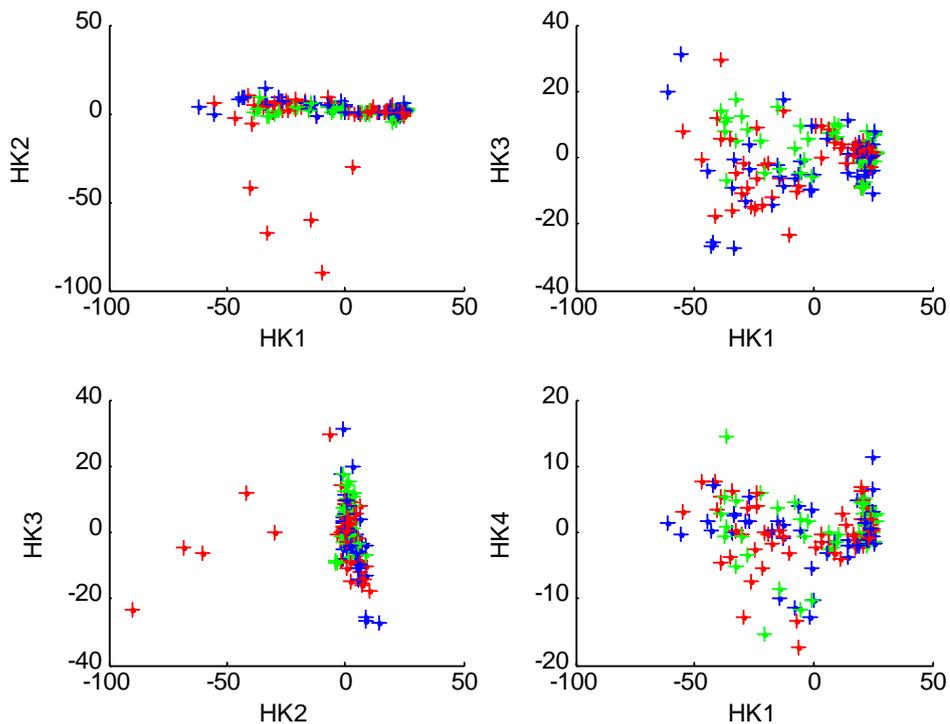


Abb. 102 Scoreplots aller Proben, die nicht konserviert und konserviert wurden im Vergleich, inklusive der Objektproben

Im Scoreplot wird deutlich, dass alle Caseinate außer die Objektproben dicht beieinander liegen; es bilden sich keine speziellen Gruppen aus. Nimmt man die Objektproben heraus und erstellt ein neues Scoreplot, ist zu konstatieren, dass sich die ungealterten und gealterten Proben wieder ähnlich verhalten.

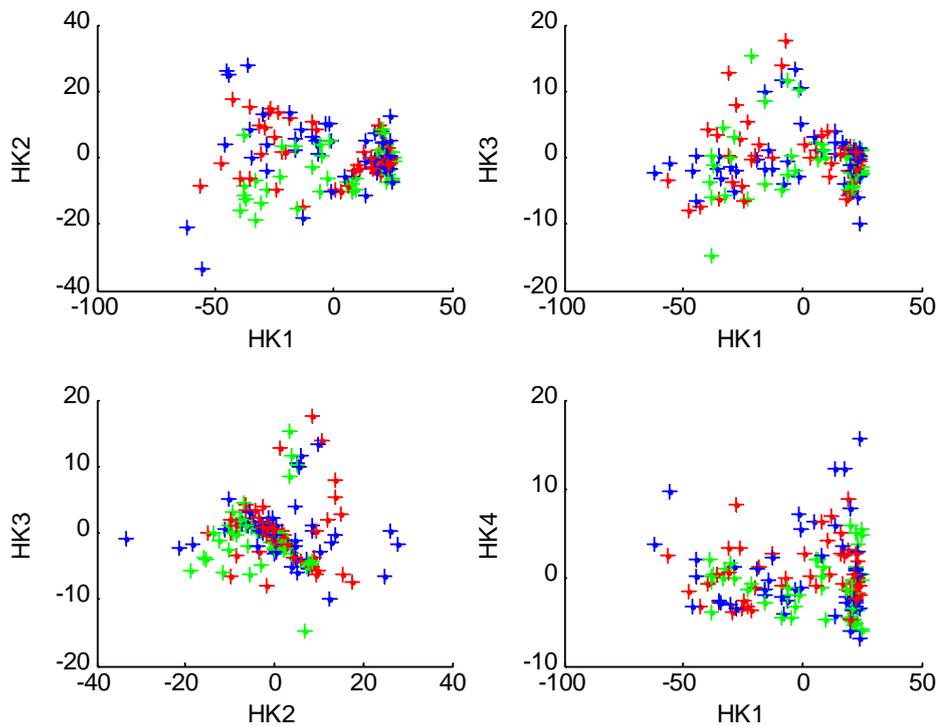


Abb. 103 Scoreplots aller Proben die nicht konserviert und konserviert wurden im Vergleich, exklusive der Objektproben

Den größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z–Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.779389
1234	+ 0.522334
1959	+ 0.158101
1382	+ 0.151929
2186	+ 0.141300

Die ungealterten Proben haben hier eine höhere Intensität im Massenspektrum. Der m/z-Wert 1265 von α_{S2} -Casein nimmt den stärksten Einfluss. Der m/z-Wert 2186 von β -Casein ist hingegen um das Fünffache geringer.

8.6.12 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die nicht gehärtet wurden

Proben 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 141 ungealtert/gealtert

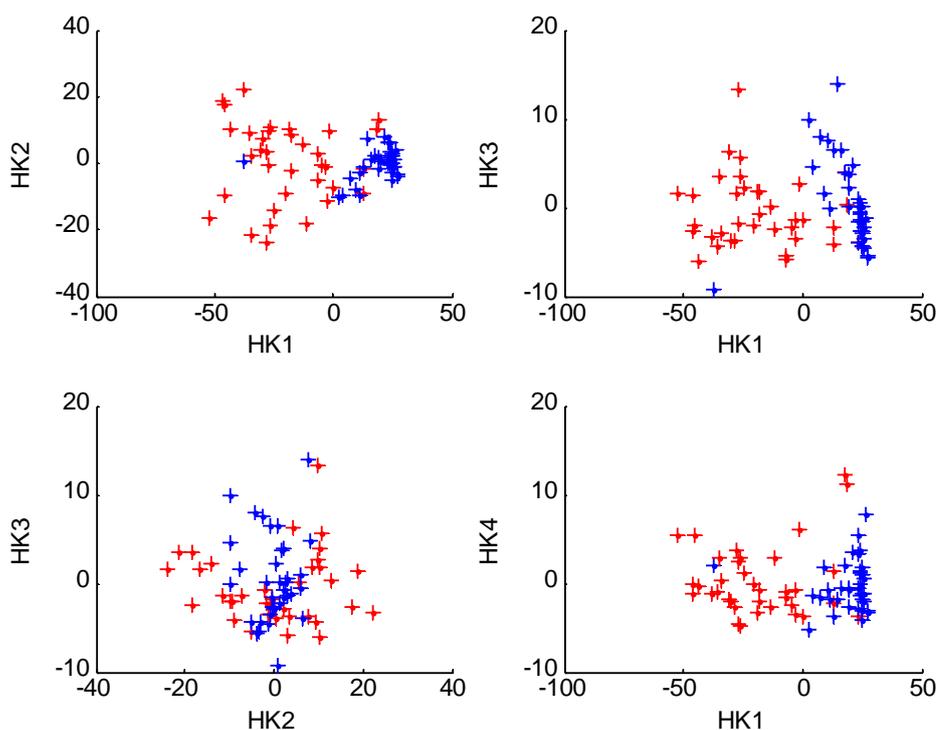


Abb. 104 Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet wurden

Den größten Einfluss für die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	- 0.659443
1234	- 0.476223
2186	- 0.396816
2316	- 0.198030
1959	- 0.191858
1759	- 0.168192

Außer dem Sample 81, das bereits zweimal erwähnt wurde, lassen sich keine Unterschiede im Alterungsverhalten feststellen. Die ungealterten Proben liegen – wie bei den anderen Scoreplots ersichtlich – gestreuter vor als die gealterten, die alle eine ähnliche Reaktion aufweisen.

Die gealterten Proben haben eine sehr geringe Intensität im Massenspektrum. Es lassen sich vier m/z -Werte zuweisen: 1265 dem α_{S2} -Casein, 2186 dem β -Casein, 2316 und 1759 dem α_{S1} -Casein.

8.6.13 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die mit Formaldehyd gehärtet wurden

Proben 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 67, 71, 75, 79, 83, 87, 91, 95, 99, 103, 107, 111, 115, 119, 123, 127, 131, 135, 139, 143 ungealtert/gealtert

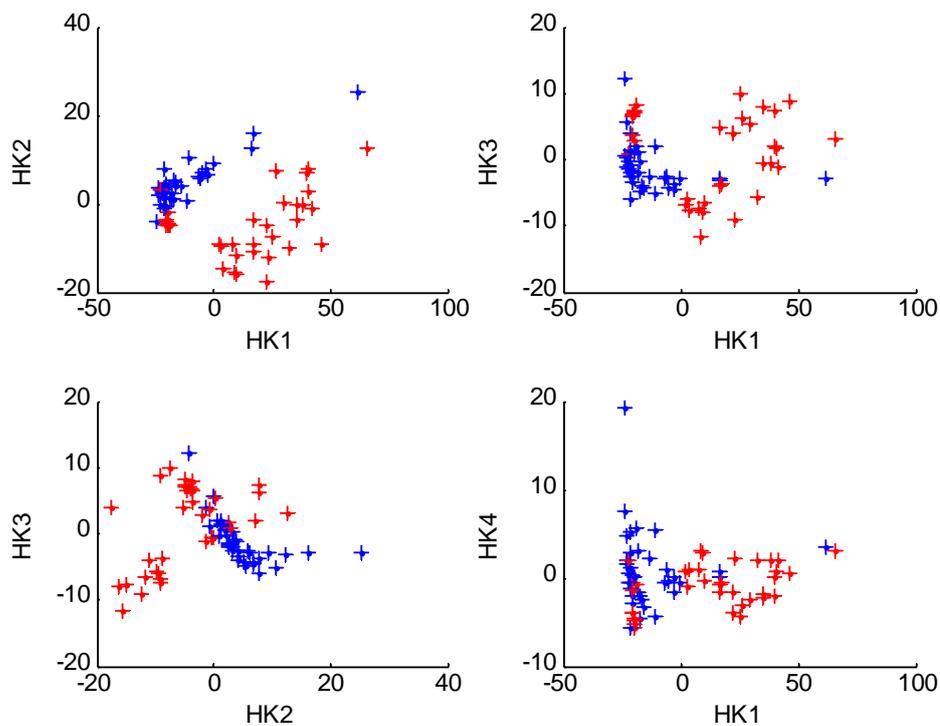


Abb. 105 Scoreplots der Proben, die mit Formaldehyd gehärtet wurden

Es bleibt nur zu wiederholen, dass sich keine Differenzen im Alterungsverhalten konstatieren lassen. Die ungealterten Proben liegen, wie bei den anderen Scoreplots ersichtlich, gestreuter vor als die gealterten; bei allen kann ein ähnliches Verhalten nachgewiesen werden.

Größten Einfluss auf die Gruppierung gealtert/ungealtert haben folgende m/z-Werte:

m/z	Stärke und Richtung
1265	+ 0.776154
1234	+ 0.497468
1959	+ 0.207365
1382	+ 0.158394
2186	+ 0.151778

Die ungealterten Proben haben hier eine höhere Intensität im Massenspektrum. Es lassen sich wieder zwei m/z-Werte zuweisen: 1265 dem α_{s2} -Casein und 2186 dem β -Casein.

8.6.14 Betrachtung der ungealterten und gealterten Caseinate, die entweder nicht gehärtet oder mit Formaldehyd gehärtet wurden

Proben, die nicht gehärtet wurden:

Proben 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 141 ungealtert/gealtert

Proben, die mit Formaldehyd gehärtet wurden:

Proben 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 67, 71, 75, 79, 83, 87, 91, 95, 99, 103, 107, 111, 115, 119, 123, 127, 131, 135, 139, 143 ungealtert/gealtert

PCA mit allen Proben; im Scoreplot ist die Härtung farblich hervorgehoben: rot = keine Härtung, blau = Formaldehyd.

Im ersten Scoreplot (Abb. 106) sind die Objektproben enthalten. Es sind die fünf Proben, die sich nicht zuordnen lassen.

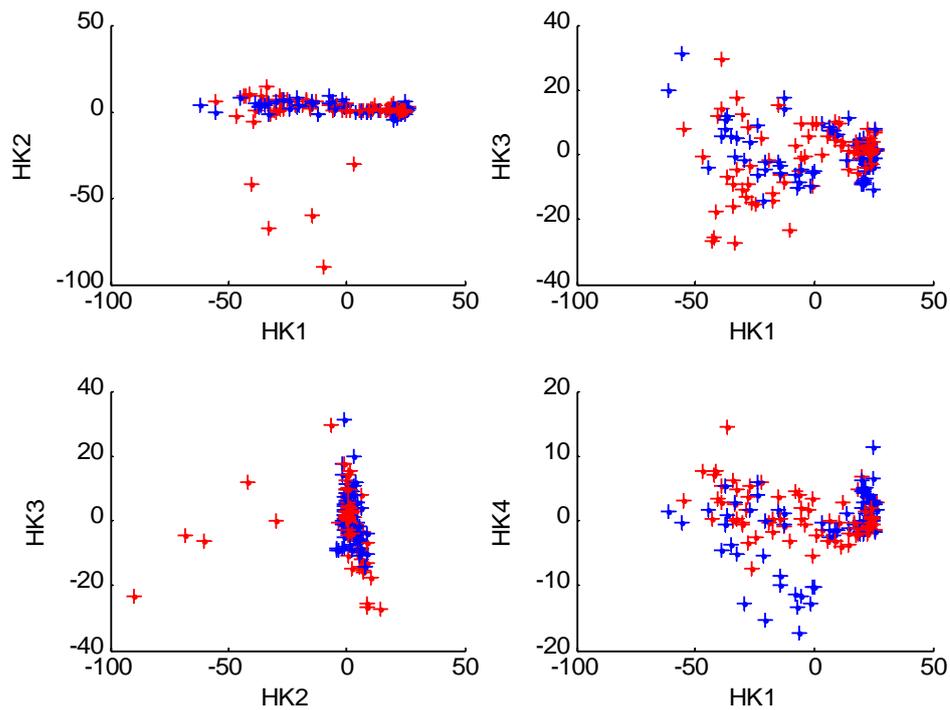


Abb. 106 Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet und mit Formaldehyd gehärtet wurden, inklusive der Objektproben

Nachdem die Objektproben herausgenommen worden sind, sieht der Scoreplot (Abb. 107) wie die anderen aus. Die Härtung mit Formaldehyd ist nicht ablesbar.

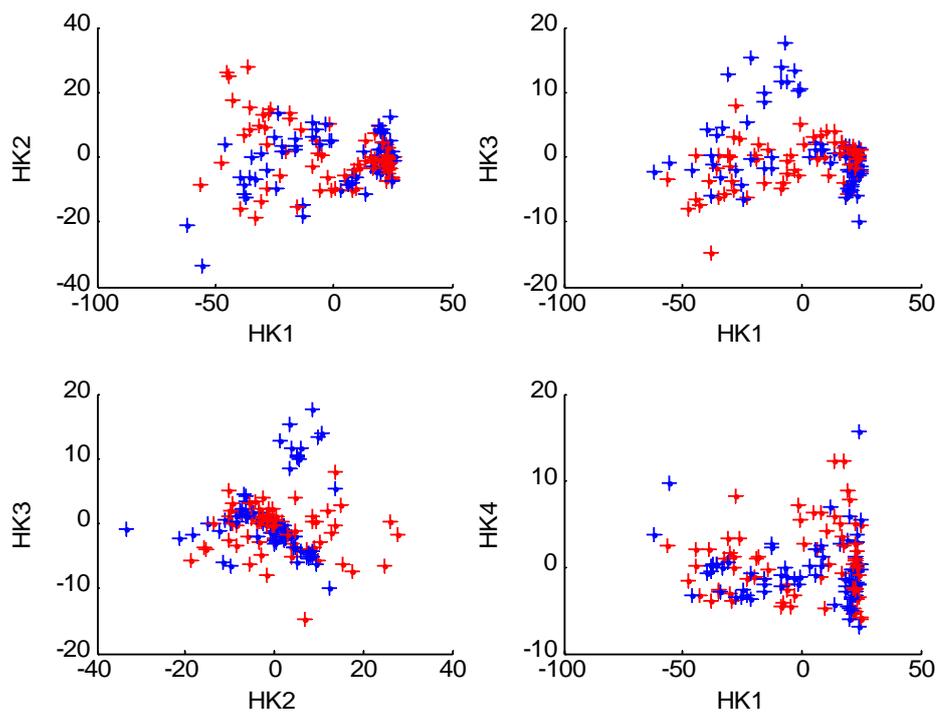


Abb. 107 Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet und mit Formaldehyd gehärtet wurden, exklusive der Objektproben

8.6.15 Fazit

Bei den Betrachtungen der Proben aus einer Gruppe untereinander und in Bezug auf das „reine“ Casein wird an allen Scoreplots offensichtlich, dass die unbehandelten Caseinate den ungealterten Proben ähnlicher sind als den gealterten. Generell kann dies als Beleg dafür angesehen werden, dass die Denaturierung der Caseinate nach dem Aufschluss, den Behandlungen und der Alterung fortschreitet. An den Scoreplots und den t^2 -Werten wird darüber hinaus ersichtlich, dass beim Casein nach Hammersten die reine Probe geringere Unterschiede zu den anderen Proben aufweist, während sie bei den anderen Caseinen deutlich größer sind. Das heißt, dass sich die geringsten Veränderungen bei den ungealterten und gealterten Caseinaten beim Casein nach Hammersten einstellen, was auf seine Herstellung zurückzuführen ist.

Die Untersuchung der Caseinate im Hinblick auf ihre jeweiligen Behandlungen mit Konservierungsmitteln und Formaldehyd oder ohne ergab, dass sich kein Verfahren signifikant auf das Alterungsverhalten der Caseinate ausgewirkt hat. Die ungealterten Proben lagen ebenfalls in einem losen Verbund vor, wobei die gealterten Proben eher ähnliche Scoreplots ergaben. Die m/z -Werte 1265, 1234, 1759, 1959, 1382, 2186 und 2316 hatten einen wesentlichen Einfluss. Folgende Peptidsequenzen ließen sich dabei den einzelnen Caseinen zuweisen: 1759 und 2316 dem α_{S1} -Casein, 1265 dem α_{S2} -Casein und 2186 dem β -Casein.

Es ist zu vermuten, dass die mit Kalk und Ammoniak hydrolysierten Caseine so stark denaturiert wurden, dass sie mit Trypsin nur in geringem Maße verdaut werden konnten. Deshalb wirkten sich die Konservierung oder Härtung nur unwesentlich auf die Caseinate aus. Dies bedeutet, dass solche Behandlungen nicht schädlich zu sein scheinen. Die beschriebene Reaktion der Aminogruppen in den Seitenketten und der N-terminalen Aminosäuren, die sich aufgrund der Behandlung mit Formaldehyd einstellen sollte, konnte – bedingt durch die Hydrolyse – an den Probekörpern gar nicht stattfinden.

Die Vergleiche der m/z -Werte der Probekörper mit denen der Objektproben waren leider nicht möglich, da es zu erheblichen Verschiebungen der Proben in den Scoreplots kam. Deshalb wurden diese Betrachtungen größtenteils außer Acht gelassen. An den Scoreplots inklusive der Objektproben zeigte sich, dass diese Proben weit außerhalb der Caseine und Caseinate der Prüfkörper lagen und somit nicht verglichen werden konnten. Das besagt allerdings auch, dass die Objektproben andere Eigenschaften aufweisen, vielleicht anders behandelt worden sind oder anders gealtert sind.

9. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Es war eine richtige Entscheidung, die Untersuchungen auf Caseinate als Festigungsmittel und Überzüge zu beschränken, da die Arbeit aufgrund der Komplexität des Themas – wie vermutet – nur Teilaspekte beleuchten konnte und mit weiteren Fragen abgeschlossen werden muss. Trotz der abweichenden optischen Erscheinung und des differierenden Quellverhaltens der gemahlten und getrockneten Caseine ließen sich nach Zugabe von Kalk oder Ammoniak keine Unterschiede bei der Verarbeitung feststellen. Die Betrachtung der Schollenbildung der einzelnen Caseinate lässt die Vermutung zu, dass die industriell hergestellten Caseine, die gegebenenfalls schon eine Weile zwischengelagert wurden, stärker und früher altern als die selbst hergestellten, frisch verarbeiteten Caseine. Es war zu beobachten, dass der Quark aus entrahmter Milch und das selbst gefällte Milchsäure- und Salzsäurecasein aus entfetteter, auf 50 °C erhitzter Milch langsamer altern und geringere Schäden und Veränderungen aufweisen als die industriell hergestellten Caseine, die aus ultrahocherhitzten und pasteurisierten Milchen gewonnen werden. Das selbst hergestellte Salzsäurecasein zeigte als einziges Casein keine Schäden und kann generell in Bezug auf die Schadensbildung als das alterungsbeständigste bezeichnet werden. Die mit Ammoniak behandelten Caseinate ließen stärkere Schäden als die mit Kalk aufgeschlossenen erkennen, was an der erhöhten Wasserquellbarkeit der Ammoniumcaseinate liegt. Die mit Lysol konservierten Caseinate neigten weniger stark zum Verspröden als die unbehandelten oder mit Salicylsäure gehemmten. An den mit Salicylsäure behandelten und unbehandelten Proben waren insgesamt keine Unterschiede zu beobachten. Hinsichtlich der Verwendung von Formaldehyd kann konstatiert werden, dass die Wirkung, die man sich von dessen Einsatz erhoffte, bei der Behandlung der Putzproben nicht zu registrieren war. Die Caseinate gingen augenscheinlich keine Reaktion mit dem Formaldehyd ein.

Während der Alterung verbräunten vier von 72 Proben, alle anderen wurden heller. Die selbst gefällten Caseine und das industriell fabrizierte Milchsäurecasein wurden nach teilweise anfänglicher Verbräunung heller. Sie würden sich unter diesem Gesichtspunkt für den Einsatz an Kunstobjekten eher eignen als das Casein nach Hammersten und das industriell produzierte Salzsäurecasein, da Letztere im Verhältnis zu den anderen Caseinen stärker verbräunen. Ein wesentlicher Faktor für die Verbräunung kann der Gebrauch von hochdruckhomogenisierten Milchen sein, die zur Herstellung der industriellen Caseine verwendet werden, weil bei diesen Milchen die Fettkügelchen kleiner sind als in entfetteter Rohmilch; deshalb lassen sie sich

schlechter von den industriell fabrizierten Caseinen trennen. Allerdings ist anzumerken, dass der selbst hergestellte Quark aus vollfetter Milch ebenfalls viel weniger verbräunte als die Pulvercaseine. Ein weiterer wichtiger Indikator scheint die starke Erhitzung der Milchen zu sein, durch die entsprechende Reaktionen bei der Verbräunung beschleunigt werden. Zusätzliche Einflussfaktoren sind die Lagerungstemperatur und die Lagerzeit der Pulvercaseine, deren Wassergehalt und optimaler pH-Wert bei der Herstellung entscheidend sind.

Bei der Betrachtung der Löslichkeit der ungealterten, unbehandelten getrockneten Caseine mit Tris-Puffern zeigte sich, dass die vollständige Auflösung des selbst hergestellten Milchsäurecaseins bei pH 5 am niedrigsten ist. Das technisch hergestellte Milchsäurecasein löst sich hingegen erst bei pH 8 vollständig. Ob dies am Fertigungsprozess, am unterschiedlichen Alter oder an den Lagerbedingungen der Caseine liegt, kann nicht gesagt werden. Das Casein nach Hammersten löst sich bereits bei pH 6 vollständig auf. Das technische und das selbst hergestellte Salzsäurecasein lösen sich bei pH 7 in einem Zeitraum von ca. 5 Minuten. Der Quark liegt mit einer Löslichkeit bei pH 10 weit über den anderen Caseinen, was unter anderem durch den erhöhten Fettgehalt der Milch bedingt sein kann.

Die Bestimmung der Massenspektren mit MALDI-LR bestätigt, dass die Caseine bei der Fällung zum Teil denaturiert werden. Während die ungealterten Proben eher in einem losen Verbund existent sind, weisen die gealterten Proben ähnliche Scoreplots auf. Die mit Kalk und Ammoniak hydrolysierten Caseine konnten mit Trypsin nur in geringem Maße verdaut werden. Alle weiteren Behandlungen – wie die Konservierung oder Härtung – wirkten sich nicht wesentlich auf die Caseinate aus, weshalb sie weder als nützlich noch als schädlich in Bezug auf die Materialeigenschaften eingestuft werden können. Die Reaktion der Aminogruppen in den Seitenketten und der N-terminalen Aminosäuren, die man sich durch die Behandlung mit Formaldehyd erhoffte, fand an den Probekörpern – bedingt durch die Hydrolyse – nicht statt.

10. Anmerkungen

1 Der Brechungsindex ist der Ausdruck für das Brechungsvermögen des Lichts als Zahlenwert.

2 Brief Eckerts an Schmidt vom 23. Mai 1954. LDA BW, Ortsakte ev. Luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg

3 Rechnung Eckerts an die Kirchengemeinde Bächlingen von 10. August 1954. LDA BW, Ortsakte ev. Luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg

4 Kostenvoranschlag Eckerts vom 14. April 1978. LDA BW, Ortsakte ev. Luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg

5 Svahn, H.: Doktorandenprojekt „Theorie und Praxis der Interieurrestaurierung zwischen 1890 und 1960“. Von Katharina Heiling aus dem Schwedischen übersetzt und von der Verfasserin gekürzt.

6 Der Index 's' bedeutet 'sensitiv' für Calciumsalze.

7 Freundliche mündliche Mitteilung der Firma Wengenroth.

8 Hier ist der Hinweis auf die Denaturierung des Caseins bei über 60 °C, der von Sutermeister gegeben wurde, wichtig.

9 „Ursprünglich ging die Entwicklung der Kaseinleime nur auf der Grundlage der einfachsten Empirie vor sich fast ohne jede Rücksichtnahme auf die modernen Kenntnisse von Proteinen, von der physikalischen und von der Kolloidchemie. Mindestens 50 Jahre lang wurden in Büchern, Rezeptsammlungen und Patenten Arbeitsvorschriften veröffentlicht, die, nur auf Erfahrung beruhend, immerhin die Grundlage auch der heutigen Kaltleime darstellen. Sie sind in der üblichen Art des ‚man nehme‘ ausgedrückt. Viele von ihnen sind nicht sehr zweckmäßig, und meistens geben sie für die eigentliche Mischung nur ungenügend Anweisung. Eine einge-

hende Auseinandersetzung über die Chemie der Kaseinleime könnte in ihrem gegenwärtigen Zustande für den Chemiker nicht sehr befriedigend ausfallen. Es sind durchaus noch nicht genügend Versuchsergebnisse für eine solche Theorie vorhanden, obwohl eine wissenschaftliche Untersuchung nicht nur für den Praktiker, welcher von ihr bessere Leime erwarten dürfte, sondern auch für den Wissenschaftler (sowohl für die Proteinchemie als auch für die Kolloidchemie) besonderes Interesse bieten sollte.“ [Sutermeister, S. 156]

10 Bei der Konservierung einer Wandmalerei wird heute hingegen die Irreversibilität als nachteilig angesehen, da – falls erforderlich – weitere Eingriffe an den so behandelten Objekten die oben beschriebenen Malschichtschäden hervorrufen können.

11 Gebr. Kalk = gebrannter Kalk. Die Angaben zur Verwendung von gebranntem Kalk werden vernachlässigt, da er in der Praxis in dieser Form nicht zur Anwendung kommt.

12 Die Angaben Schoenfelds sind deshalb von Interesse, weil Restaurator Goege gelegentlich die Caseinlösung nach dessen Anweisung hergestellt und in den 1960-er Jahren die Wandmalereien in Eilsun/Niedersachsen unter Verwendung von Casein restauriert hat. In: Amann, J.: Kasein in der Konservierung von Wandmalerei, 1990 [Amann, S. 76]

13 In den gemäßigten Breiten erfolgt der photochemische Polymerabbau in erster Linie während der Sommermonate. Der Winter ist aufgrund der geringeren Bestrahlung und des niedrigen Sonnenstandes nicht von Bedeutung, da die Strahlung wesentlich größere Luftmassen durchdringen muss und das besonders zerstörend wirkende UV-B-Spektrum herausgefiltert wird. [Brennan, S. 323 ff.]

14 Das feuchte und warme Tropenklima hat zum Beispiel ein besonders hohes Zerstörungspotential bei polymeren Verbindungen. Schmid, E. V.: Die Degradation organischer Beschichtungen am Wetter. [Bagda, S. 81 ff.]

15 Dies gilt insbesondere für dunkle Anstriche.

16 Zu nennen sind hier Farbmessgeräte der Firma Minolta.

17 In der Praxis geht man so vor: Es werden 6,8 g Kaliumhydrogenphosphat oder 4,9 g H_3PO_4 oder 8,7 g K_2HPO_4 und 6,1 g TRIS in 1 l Wasser (VE) gelöst. Diese angesetzte Pufferlösung wird dann in acht Portionen für die verschiedenen pH-Werte aufgeteilt. [Pietsch, S. 166]

18 Folgende Caseinmischungen zeigten an beiden Probekörpern Schäden: 79, 85, 87, 89, 91, 93, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 125.

19 Im Rahmen des Forschungsprojektes „Innovative Verfahren zur enzymatischen Abnahme von schädigenden Caseinüberzügen auf Wandmalerei“ waren Schäden an den Probeplatten in diesem Umfang nicht zu verzeichnen. Die Probeplatten wurden in dem Projekt allerdings auch nur durch Feuchte- und Temperaturwechsel gealtert.

20 Leider kam es in der Klimakammer immer wieder zu Störungen. Am 27.05. gab es eine Fehlermeldung, weil statt der programmierten 6 °C und 50 % r. F., 50 °C und 75 % r. F. in der Klimakammer herrschten. Im Bereich der Kühlung waren die Filter durch Lindenblüten verstopft. Am 02.06. wurde die Klimakammer wieder in Betrieb genommen. Am 01.07. herrschten in der Kammer 24 °C und 64 % r. F. statt 6 °C und 50 % r.F. Am 08.07. wurde die Kammer erneut gestartet. Die nächste Fehlermeldung vom 14.07. gab 12 °C und 75 % r. F. statt 29 °C und 50 % r. F. Bekannt. Am 10.08. wurden 70 % r. F. Statt 50 % r. F. und 24 °C statt 6 °C angezeigt. Es gab keine Fehlermeldung. Am 11.08. um 17:00 Uhr wurden bei 90 % r. F., und 59 °C kein Fehler verkündet. Die Alterung wurde daraufhin abgeschlossen. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich die einmalige Temperaturerhöhung auf 59 °C nicht schädigend auswirkte, da es ca. 6 Std. bedarf, eine Klimakammer aufzuheizen, und sich die Probekörper erst nach ca. 24 Std. der Raumtemperatur angeglichen haben (freundliche Mitteilung von Herrn Dr. H. Berling).

21 Die statistische und mathematische Auswertung wurde von Dr. Patrick Lindner anhand vorgegebener Fragestellungen ausgeführt.

11. Literaturverzeichnis

11.1 Archivalien

Akten des NLD, zur Akte der ev. luth. Pfarrkirche St. Alexander in Wildeshausen

Akten des LDA BW, Ortsakte ev. Luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Stadt Langenburg

11.2 DIN-Normen

DIN 50 035: Polymere Werkstoffe Teil 1 und 2, März 1989.

DIN 6174: Farbmetrische Bestimmung von Farbabständen bei Körperfarben nach der CIELAB-Formel, Januar 1979.

DIN EN ISO 4628-5: Beschichtungsstoffe – Beurteilung von Beschichtungsschäden, Mai 2007.

DIN EN ISO 4892-3: Kunststoffe – Künstliches Bestrahlen oder Bewittern in Geräten, Mai 2007.

11.3 Literatur

AMANN, J.: Kasein in der Konservierung von Wandmalerei. Unveröffentlichte Diplomarbeit. Köln 1990.

BANCROFT: Applied Colloid Chemistry. McGraw-Hill 1921, S. 219. In: SUTERMEISTER, E., BRÜHL, E.: Das Kasein. Berlin 1932.

BAUMANN, H.: Leime und Kontaktkleber. Berlin, Heidelberg, New York 1967.

BERGER, E.: Die Maltechnik des Altertums. Liechtenstein 1986.

BERGER, E.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Maltechnik. Liechtenstein 1982.

BERGER, E.: Beiträge zur Entwicklungs-Geschichte der Maltechnik, Fresko und Sgraffito-Technik. München 1909.

Berling, H.: Raumklimatische Untersuchungen, Allerheiligen Kapelle, Kloster Wienhausen, 1996.

- BEUTEL, S.: Innovative Verfahren zur enzymatischen Abnahme von schädigenden Caseinüberzügen auf Wandmalereien. Hannover 2000.
- BEUTEL, S., KLEIN, K.: Schädigende Kaseinüberzüge auf Wandmalereien. In: *Restauro*. München 2002, H. 7, S. 496-501.
- BINGHAM: Colloid Symposium Monograph Bd. 2, 1925. In: Sutermeister, E., Brühl, E.: *Das Kasein*. Berlin 1932.
- BRASHOLZ, A.: *Beschichtungs- und Anstrichschäden bei Alt- und Neubauten*. Berlin 1981.
- BRENNAN, P, FEDOR, C., PAUSCH, G.: *Sonnenstrahlung, Ultraviolett- und Kurzbewitterung*. - 4. *Kunststoffe* 78, München 1988.
- Brockhaus Enzyklopädie. Mannheim 1986.
- BRYAGIN, D. E.: Some experiments on strengthening of acient wallpainting supports with lime-casein solution. In: ICOM Committee for Conservation. Triennial Meeting. Venedig 1975.
- CHRIST, A.: *Die Leimfarbentechniken einschließlich der Kaseinfarbentechnik*. München 1935.
- DENNINGER, E.: What is 'Bianco di San Giovanni' of Cennino Cennini? In: *Studies in Conservation*, 1974, Volume 19, S. 185-187.
- DEUERLING, J.: *Die Bindemittel des Malers*. München 1951.
- DOERNER, M.: *Malmaterial und seine Verwendung im Bilde*. München 1921.
- DOERNER, M.: *Malmaterial und seine Verwendung im Bilde*. München 1922.
- DOERNER, M.: *Malmaterial und seine Verwendung im Bilde*. München 1949.
- DOERNER, M.: *Malmaterial und seine Verwendung im Bilde*. Stuttgart: 1980.
- EASTLAKE, C. L.: *Methods and materials of painting of the great schools and masters*. London 1960.
- EIBNER, A.: *Entwicklung und Werkstoffe der Wandmalerei vom Altertum bis zur Neuzeit*. Liechtenstein 1991.
- EIBNER, A.: *Entwicklung und Werkstoffe der Tafelmalerei*. Liechtenstein 1988.
- EMMENEGGER, O., PURSCHE, J., MÖLLER, R.: *Die Alte Kirche in Idensen – Maltechnik und Schadensbilder der Wandmalerei*. In: *Forschungsprojekt Wandmalerei-Schäden*. Hameln 1994.
- ESBENSEN, K. H.: *Multivariate Data Analysis in practice*. 4th edition. CAMO ASA Norwegen 2000.

- FALBE, J., REGITZ, M.: Römpp Chemie Lexikon. Stuttgart, New York 1989-1992.
- GERNGROSS, O., GOEBEL, E.: Chemie und Technologie der Leim- und Gelatine-Fabrikation. Dresden, Leipzig 1933.
- HADERT, H.: Kaseinleim und Kaseinfarbenbindemittel. Berlin 1934.
- HADERT, H.: Rezeptbuch für die Farben- und Lackindustrie. Bd. I, 2. Aufl. Berlin, Leipzig, Wien 1943.
- HAGDORN, C.: Der praktisch lehrende Anstreicher, Zimmermaler und Tüncher. Weimar 1880.
- HARTLIEB, I., MESSNER, K., RIEDL, H.: Wachstum von Schimmelpilzen in Malgründen und ihre Bekämpfung. In: Maltechnik/Restauro, 1982, H. 3, S.2.
- Hering, B.: Weiße Farbmittel. Fürth 2000.
- HERLIN, T., NORSTRÖM, B. Z: Vendels Kyrka (o. J.)
- HERRMANN, A.: Schimmelbeständigkeit von Kaseinverleimungen. In: Gelatine, Leim, Klebstoffe, Heft 10. Berlin 1934.
- Historische Technologie und Konservierung von Wandmalerei. Selbstverlag der Schule für Gestaltung. Bern 1985.
- HUMMEL, J.: Über Bindemittel für Farben aus Käsestoff (Casein). In: Technische Mitteilungen für Malerei. München 1886, S. 2.
- KARPOWICZ, A.: Ageing and detoration of proteinaceous media. In: Studies in Conservation, Nr. 26. London 1981, S. 153-160.
- KEIM, A.: Die Mineral-Malerei. Stuttgart 1995.
- KEIM, A.: Die Keim'sche Mineralmalerei und ihre praktische Anwendung. In: Technische Mitteilung für Malerei. München 1895.
- KISSLING-BREMEN, R.: Leim und Gelatine. Stuttgart 1923.
- KITTEL, H.: Lehrbuch der Lacke und Beschichtungen. Stuttgart, Leipzig 1998.
- KLEIN, K.: Herstellung von Prüfkörpern aus Mörteln und teilweise Beschichtung. Unveröffentlichte Arbeit. Giesen: 1994.
- KLEIN, K.: Innovative Verfahren zur Abnahme von Überzügen auf Wandmalereien. In: Berichte zur Denkmalpflege in Niedersachsen. Hannover 2001, H. 4, S. 150.
- KLEIN, K.: Schädigende Kaseinüberzüge auf Wandmalereien. In: Restauro. München 2002, H. 8, S. 588-592.
- KLOPFER, H.: Anstrichschäden. Wiesbaden, Berlin 1976.

- KNOEPFLI, A., EMMENEGGER, O., KOLLER, M., MEYER, A.: Reclams Handbuch der künstlerischen Techniken. Stuttgart 1990.
- KOCH, K.: Grosses Malerhandbuch. Nordhausen am Harz (o. J.)
- KÖNIGFELD, P.: Johann Heiss. Weißenhorn 2001.
- KÜHLENTAL, M.: Die Restaurierung der Restaurierungen. In: Monumental. Festschrift für Michael Petzet. Arbeitsheft des Bayerischen Landesamtes für Denkmalpflege. München 1998, Bd. 100, S. 313-322.
- KÜHN, H.: Erhaltung und Pflege von Kunstwerken und Antiquitäten. München 1981.
- KÜHN, H., ROOSEN-RUNGE, H., STRAUB, R. E., KOLLER, M.: Reclams Handbuch der künstlerischen Techniken. Stuttgart 1988.
- KÜHN, H.: Historische Materialien und Techniken der Wandmalereirestauration aus naturwissenschaftlicher Sicht. In: Die Restaurierung der Restaurierung? München 2002, S. 255.
- LINDNER, P.: Kurzbericht – Auswertung von Massenspektren einer Casein-Abbaureaktion. Unveröffentlichter Bericht. Hannover 2008.
- LINDNER, P.: Vergleichende Auswertung der Messergebnisse mit Maldi. Unveröffentlichter Bericht. Hannover 2008.
- LINDNER, P.: Entwicklung von Software-Systemen zur Planung, Datenaufnahme und –auswertung von Bioprozessen. Dissertation. Hannover 2006.
- LOTTSPREICH, F., ENGELS, J. W.: Bionalaytik. München 2006.
- MASSART, D. L., VANDEGINSTE, B. G. M., DEMING, S. N., MICHOTTE, Y., KAUFMAN, L.: Chemometrics: A textbook (Data Handling in Science and Technology) Amsterdam 1988.
- MATTEINI, M., MOLES, A.: Naturwissenschaftliche Untersuchungsmethoden in der Restaurierung. München 1990
- MÖLLER, H. H.: Schäden an Wandmalereien und ihre Ursachen. Arbeitshefte zur Denkmalpflege in Niedersachsen 8. Hannover 1990..
- MORA, P., MORA, L., PHILIPOTT, P.: Conservation of Wall Paintings. London, Boston, Durban, Singapor, Sydney, Toronto, Wellington 1984.
- MÜLLER, H. G.: Schoenfelds Malerfibel. Pigmente und Bindemittel. Düsseldorf 1962.
- NICOLAUS, K.: Handbuch der Gemälderestaurierung. Mailand (o. J.)
- OTTO, M.: Chemometrie. Statistik und Computereinsatz in der Analytik. Weinheim 1997.

- PETERSEN, K., MOHR, U., OLTMANN, T., YUN, Y.: Zum Vorkommen alkalitoleranter Mikroorganismen auf Wandmalereien. In: Konservierung von Wandmalerei. Arbeitshefte des Bayerischen Landesamtes für Denkmalpflege, 104, München 2001, S. 221.
- PETZET, M., KOENIGS, W.: Reversibilität – das Feigenblatt in der Denkmalpflege? München 1992.
- PHILLIPOT, P.: Die Wandmalerei – Entwicklung, Technik, Eigenart. Wien, München 1972.
- REHM, H., LETZEL, T.: Der Experimentator: Proteinbiochemie/Proteomics. Heidelberg 2010.
- RIEDERER, J.: Kunstwerke chemisch betrachtet. Berlin, Heidelberg, New York 1981.
- SANDNER, I., BÜNSCHE, B., MEIER, G., SCHRAMM, H.-P., VOSS, J.: Konservierung von Gemälden und Holzskulpturen. München 1990.
- SAUER, E.: Tierische Leime und Gelatine. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1958.
- SCHERER, R.: Das Kasein. Wien, Leipzig 1905.
- SCHLIMME, E.: Kompendium zur milchwirtschaftlichen Chemie. Fachwissen in Frage und Antwort. München 1990.
- SCHLIMME, E., BUCHHEIM, W.: Milch und ihre Inhaltsstoffe. Chemische und physikalische Eigenschaften. Gelsenkirchen 1999.
- SCHMID, E. V.: Die Degradation organischer Beschichtungen am Wetter. In: Bagda et al.: Umwelteinflüsse auf Oberflächen. Ehningen 1989.
- SCHRAMM, H.-P., HERING, B.: Historische Malmaterialien und ihre Identifizierung. Graz 1988.
- SCHUBERT, P., KNÖFEL, D.: Mörtel und Steinerfüllstoffe in der Denkmalpflege. Berlin 1993.
- SCHNIEWIND, B. J.: Boundary Layer Climate at Irradiated Surfaces. In: Lückert, O.: Prüftechnik bei Lackherstellung und Lackverarbeitung. Hannover 1990.
- SNETHLAGE, R.: Steinkonservierung. Berlin 1984.
- STOCK, E.: Taschenbuch für die Farben- und Lackindustrie. Stuttgart 1947.
- SUTERMEISTER, E., BRÜHL, E.: Das Kasein. Berlin 1932.
- SVAHN, H.: Doktorandenprojekt „Theorie und Praxis der Interieurrestauration zwischen 1890 und 1960.“ Stockholm (o. J.)
- TÖPEL, A.: Chemie und Physik der Milch. Leipzig 1981.
- TRUBIROHA, P.: Alterung polymerer Werkstoffe beim Bestrahlen und Bewitterung In: Lückert, O.: Prüftechnik bei Lackherstellung und Lackverarbeitung. Hannover 1992, S. 88.

Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie. Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel 1983.

VANDEGINSTE, B. M. G., MASSART, D. L., BUYDENS, L. M. C., De JONG, S., LEWI, P. J., SMEYERS-VERBEKE, J.: Handbook of Chemometrics and Qualimetrics – Part B. Amsterdam 1998.

WEHLTE, K.: Temperamalerei. Ravensburg 1940.

WEHLTE, K.: Wandmalerei. Ravensburg 1946.

WEHLTE, K.: Werkstoffe und Techniken der Malerei. Stuttgart 1981.

WEYER, A.: Die Restaurierung der Restaurierung? München 2002.

WINNACKER-KÜCHLER: Chemische Technik. Weinheim 2005.

ZYKAN,: Zitat In: Wihr, R.: Erfahrungen bei der Bergung und Konservierung römischer Wandmalereien. In: Arbeitsblätter für Restauratoren, 1968, H. 1, S 9.

11. 4 Internetquellen und Datenbanken

http://de.wikipedia.org/wiki/Hotellings_T-Quadrat-Verteilung

http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html

<http://www-mmdb.iai.uni-bonn.de/lehre/proprak0304/siegemund.pdf>

12. Abkürzungen

ACTH 18-39	Adrenocorticotropic
Bm	Bindemittel
CMP	Caseinmakropeptid
Casein n. H.	Casein nach Hammersten
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
EN	Europäische Norm (EN), deren Deutsche Fassung den Status einer Deutschen Norm erhalten hat
EN ISO	Deutsche Norm auf der Grundlage einer europäischen Norm, die auf der internationalen Normierungsorganisation ISO beruht
eV	erklärte Varianz
gebr.	Gebrannt
Gew %	Gewichts %
GMP	Glykomakropeptid
HK	Hauptkomponente
HMF	5-Hydroxymethylfurfural
ind.	industriell
ISO	International Organization for Standardization
MALDI-Tof	Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization-Time-of-flight
MALDI-LR	Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization-Linear and Reflectron
MLV	Masse-Ladungs-Verhältnis
NIPALS-Algorithmus	Non-linear Iterative Projection by Alternating Least-Squares
NLD	Niedersächsisches Landesamt für Denkmalpflege
PCA	Hauptkomponentenanalyse o. Principal Component Analysis
r. F.	relative Feuchte
r. Lf.	relative Luftfeuchte

RT	Raumteil
T	Teil
t ² -Wert	Maß für die multivariante Distanz einer Probe zum Zentrum des Datensatzes
TFA	Trifluoressigsäure
TRIS	[Tris(hydroxymethyl)aminomethan]
UV	ultraviolett
VT	Volumenteil
V%	Volumenprozent
Ven.	Vendel
Z	Zuschlagstoff

13. Abbildungsverzeichnis und Abbildungsnachweis

Abb. 1	Ostwand des ehemaligen Kapitelsaals	S. 12
Abb. 2	Dargestellt sind auf der Westwand folgende Szenen: Christus unter den Schriftgelehrten (Der zwölfjährige Jesus im Tempel; nur noch fragmentarisch erhalten), Taufe Christi (nur noch fragmentarisch erhalten), 40 Tage in der Wüste (Segnender oder wundertätiger Jesus), Einzug in Jerusalem (nur südliche Bildhälfte erhalten), Abendmahl (Paschamahl), Gethsemane, Gefangennahme Jesu (Judaskuß), Christus vor Herodes, Kreuztragung (Jesu Gang nach Golgatha). Über der Tür ist die Szene der Falkenjagd der älteren Ausmalung zu sehen	S. 13
Abb. 3	Die ev. luth. Pfarrkirche in Bächlingen, Südost-Ansicht	S. 16
Abb. 4	Wandmalerei in der Pfarrkirche mit der Darstellung der Verkündigung an Maria	S. 17
Abb. 5	Historische Aufnahme der Kirche in Vendel von 1923	S. 19
Abb. 6	Figürliche Wandmalerei	S. 20
Abb. 7	Vom Putz abrollende, abplatzende spannungsreiche Malschicht	S. 24
Abb. 8	Wischende Malschicht, nach Bindemittelabbau	S. 24
Abb. 9	Verbräunung im Bereich der Figuren	S. 25
Abb. 10	Mikrobieller Befall in Form eines Weißschleiers	S. 26
Abb. 11	Modelle für den Aufbau der Caseinmicellen a: nach Schmidt (1982); b: nach Walstra (1990) [Schlimme, E., Buchheim, W. 1999, S. 41]	S. 27
Abb. 12	Resopalplatte und Werkzeuge	S. 61
Abb. 13	Auftragen des Putzes	S. 61
Abb. 14	Fertig geputzte Platte	S. 61
Abb. 15	Zugeschnittene Putzplatten	S. 61
Abb. 16	Putzplatten beim Herausheben	S. 61
Abb. 17	Putzplatten beim Trocknen	S. 61
Abb. 18	Horden für die Begasung der Putzplatten	S. 62
Abb. 19	Putzplatten nach der Begasung	S. 62

Abb. 20	Rags, mit Leuchtstoffröhren Typ 1B (UV-A-351) bestückt	S. 66
Abb. 21	Bestrahlung der Probekörper mit UV-Licht	S. 66
Abb. 22	Spektralphotometer	S. 69
Abb. 23	Die Lage der Farbe F in der a-b-Ebene kennzeichnet ihre Farbart nach Buntheit C (Chroma). Der Buntton h (Hue) ist der Farbwinkel zwischen 0 und 360°. Bei 0° ist es ein blautichiges Rot und bei 180° ein blautichiges Grün. [Kittel, H. 1998, S. 299]	S. 71
Abb. 24	Schematische Darstellung des MALDI-Tof	S. 74
Abb. 25	Das Koordinatensystem wird in den Schwerpunkt der Punktwolke gelegt.	S. 75
Abb. 26	Drehen des Koordinatensystems, sodass die erste Achse in Richtung der größten Varianz (blauer Pfeil) platziert ist.	S. 76
Abb. 27	Drehung der x-Achse zur ersten Hauptkomponente, ohne deren Richtung zu verändern.	S. 76
Abb. 28	Nach Rotation der y-Achse entsteht die zweite Hauptkomponente.	S. 76
Abb. 29	Fortsetzen des Verfahrens bis die k-te Achse (k-te Hauptkomponente) in Richtung der größten Varianz ausgerichtet ist.	S. 77
Abb. 30	Der Quark schwimmt auf der Molke	S. 79
Abb. 31	Erhitzen und Rühren des Quarks	S. 79
Abb. 32	Quark nach dem Rühren	S. 79
Abb. 33	Quark nach dem Waschen	S. 79
Abb. 34	Gemahlener Quark vor dem Trocknen auf der Horde	S. 79
Abb. 35	Gemahlener Quark im Trockenschrank	S. 79
Abb. 36	Quark getrocknet und gemahlen	S. 79
Abb. 37	Milchsäurecasein industriell hergestellt	S. 81
Abb. 38	Casein n. Hammerstein	S. 81
Abb. 39	Salzsäurecasein industriell hergestellt	S. 81
Abb. 40	Getrockneter Quark	S. 81
Abb. 41	Salzsäurecasein, selbst hergestellt	S. 81
Abb. 42	Milchsäurecasein, selbst hergestellt	S. 81

Abb. 43	Aufstehende, abrollende und abplatzende Caseinschicht auf einem Probekörper	S. 82
Abb. 44	Zunahme der Schäden in Abhängigkeit zur Zeit	S. 83
Abb. 45	Zunahme der Schäden in Abhängigkeit zur Zeit 06.06. und 07.06. zusammengefasst	S. 83
Abb. 46	Schadensverlauf nach Caseintypen	S. 88
Abb. 47	Schadensverlauf in Bezug auf die Aufschlussmittel	S. 89
Abb. 48	Schadensverlauf in Bezug auf die Konservierungsmittel	S. 90
Abb. 49	Schadensverlauf in Bezug auf die Hemmstoffe	S. 91
Abb. 50	Flächenanteil der Abhebungen	S. 94
Abb. 51	Flächenanteil der Abhebungen	S. 94
Abb. 52	Flächenanteil der Abhebungen	S. 94
Abb. 53	Flächenanteil der Abhebungen	S. 95
Abb. 54	Flächenanteil der Abhebungen	S. 95
Abb. 55	Teilweise verbräunte Probekörper	S. 96
Abb. 56	Farbveränderungen an den mit Quark und Kalk behandelten Probekörpern	S. 97
Abb. 57	Farbveränderungen an den mit Quark und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 97
Abb. 58	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen Probekörpern	S. 97
Abb. 59	Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Milchsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern	S. 98
Abb. 60	Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Milchsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 98
Abb. 61	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen Probekörpern	S. 99
Abb. 62	Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern	S. 100
Abb. 63	Farbveränderungen an den mit selbst hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 100
Abb. 64	Farbveränderungen an den mit Casein n. H. und Kalk behandelten Probekörpern	S. 101

Abb. 65	Farbveränderungen an den mit Casein n. H. und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 101
Abb. 66	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen Probekörpern	S. 102
Abb. 67	Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern	S. 103
Abb. 68	Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 103
Abb. 69	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern	S. 104
Abb. 70	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Salzsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 104
Abb. 71	Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein und Kalk behandelten Probekörpern	S. 105
Abb. 72	Farbveränderungen an den mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein und Ammoniak behandelten Probekörpern	S. 106
Abb. 73	Farbveränderungen an den mehrmals gemessenen, mit industriell hergestelltem Milchsäurecasein behandelten Probekörpern	S. 106
Abb. 74	Löslichkeit von Milchsäurecasein industriell in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 109
Abb. 75	Löslichkeit von Casein nach Hammersten in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 109
Abb. 76	Löslichkeit von Salzsäurecasein industriell in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 110
Abb. 77	Löslichkeit von Quark in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 111
Abb. 78	Löslichkeit von Salzsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 112
Abb. 79	Löslichkeit von Milchsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffer mit unterschiedlichen pH-Werten in Bezug auf die Zeit	S. 113
Abb. 80	MALDI-LR-Massenspektrometer	S. 115
Abb. 81	Pipetten, Pipettenspitze ZIP TIP C 18 und Plate	S. 115

Abb. 82	Die einzelnen Caseine, mit Buchstaben abgekürzt	S. 116
Abb. 83	Selbst hergestelltes Milchsäurecasein (Probe A). Messdaten nach Standardisierung und Skalierung	S. 117
Abb. 84	Selbst hergestelltes Milchsäurecasein (Probe A). Heat map	S. 118
Abb. 85	Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Messdaten nach Standardisierung und Skalierung	S. 118
Abb. 86	Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Heat map	S. 119
Abb. 87	Industriell hergestelltes Milchsäurecasein (Probe F). Heat map: Zoom auf 5 Peaks, die in den 6 Messreihen unterschiedliche Intensitäten besitzen.	S. 119
Abb. 88	Scoreplots aller ermittelten MALDI-Spektren der gealterten und ungealterten Referenzproben	S. 122
Abb. 89	Vektorgrafik der m/z-Werte der ungealterten und gealterten Proben	S. 123
Abb. 90	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Quark (D)	S. 125
Abb. 91	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein selbst hergestellt (F)	S. 126
Abb. 92	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein selbst hergestellt (E)	S. 127
Abb. 93	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Casein nach Hammersten (B)	S. 129
Abb. 94	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Salzsäurecasein industriell (C)	S. 130
Abb. 95	Scoreplots der unbehandelten, behandelten ungealterten und gealterten Proben aus Milchsäurecasein industriell (A)	S. 131
Abb. 96	Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Kalk aufgeschlossen wurden	S. 133
Abb. 97	Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Ammoniak aufgeschlossen wurden	S. 134
Abb. 98	Scoreplots der ungealterten und gealterten Proben, die mit Ammoniak und Kalk aufgeschlossen wurden	S. 136

Abb. 99	Scoreplots der Proben, die kein Konservierungsmittel enthalten	S. 137
Abb. 100	Scoreplots der Proben, die mit Salicylsäure konserviert wurden	S. 138
Abb. 101	Scoreplots der Proben, die mit Lysol konserviert wurden	S. 139
Abb. 102	Scoreplots aller Proben, die nicht konserviert und konserviert wurden im Vergleich, inklusive der Objektproben	S. 140
Abb. 103	Scoreplots aller Proben, die nicht konserviert und konserviert wurden im Vergleich, exklusive der Objektproben	S. 141
Abb. 104	Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet wurden	S. 142
Abb. 105	Scoreplots der Proben, die mit Formaldehyd gehärtet wurden	S. 143
Abb. 106	Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet und mit Formaldehyd gehärtet wurden und den Objektproben	S. 145
Abb. 107	Scoreplots der Proben, die nicht gehärtet und mit Formaldehyd gehärtet wurden exklusive der Objektproben	S. 145

Abbildungsnachweis

1, 3, 4, 7-10, 12-21, 30-82 Kerstin Klein

2 Tobias Trapp

5 Sven Brandel, Kulturmiljöbild, RAÄ

6 Gabriel Hildebrand, RAÄ

11 aus: Schlimme, E., Buchheim, W.: Milch und ihre Inhaltsstoffe. Chemische und physikalische Eigenschaften. Gelsenkirchen 1999, S. 41

22 Konica, Minolta EXAKTE FARBKOMMUNIKATION

23 aus: Kittel, H.: Lehrbuch der Lacke und Beschichtungen. Stuttgart, Leipzig 1998, S. 299

24 Micromass [M@LDI](#) Mass Spectrometer Operator's Guide, 2003

25-29 Eduard Hein, Christian Becker: <http://www.digi-musik.de/PCA/bsp3d.html>

83-107 Patrick Lindner

14. Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Ermittlung des Kalkgehaltes nach der Trocknung	S. 51
Tab. 2	Mittelwerte der Kalkgehalte	S. 52
Tab. 3	Gewichtsangaben und Volumenanteile der einzelnen Produkte	S. 52
Tab. 4	Rezeptauswahl der aus Quark hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate	S. 53
Tab. 5	Rezeptauswahl der aus Milchsäurecasein hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate	S. 55
Tab. 6	Rezeptauswahl der aus Milchsäurecasein hergestellten und mit Ammoniak aufgeschlossenen Caseinate	S. 56
Tab. 7	Rezeptauswahl der aus Salzsäurecasein hergestellten und mit Kalk aufgeschlossenen Caseinate	S. 57
Tab. 8	Rezeptauswahl der aus Salzsäurecasein hergestellten und mit Ammoniak aufgeschlossenen Caseinate	S. 58
Tab. 9	Wellenlängenbereiche des UV-Spektrums [Brennan, P. et al. 1988, S. 323]	S. 64
Tab. 10	Bewitterungszyklen der Putzplatten	S. 67
Tab. 11	Ablätterungsgrad in Anlehnung an DIN EN ISO 4628-5	S. 68
Tab. 12	L*-, a*-, b*-Farbmaßzahlen	S. 70
Tab. 13	Proben, nach Entnahmedatum sortiert	S. 87
Tab. 14	Verzeichnis der mehrfach entnommenen Proben, zusammengefasst und nach Datum sortiert. (Die vollständige Probenliste befindet sich im Anhang, Kapitel 15.5.)	S. 88
Tab. 15	Abhebung in mm in Bezug auf die Fläche in %	S. 93
Tab. 16	Löslichkeit von Milchsäurecasein industriell in Tris-Puffern	S. 108
Tab. 17	Löslichkeit von Casein nach Hammersteb in Tris-Puffern	S. 109
Tab. 18	Löslichkeit von Salzsäurecasein industriell in Tris-Puffern	S. 110
Tab. 19	Löslichkeit von Quark in Tris-Puffern	S. 111
Tab. 20	Löslichkeit von Salzsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern	S. 112
Tab. 21	Löslichkeit von Milchsäurecasein selbst hergestellt in Tris-Puffern	S. 113
Tab. 22	Beurteilungskriterien der tabellarisch erfassten Veränderungen	S. 120
Tab. 23	Veränderungen der Referenzproben [Lindner, 2008]	S. 120

15. Anhang

15.1 Quellenschriften zur Herstellung der Caseine

Rezept 1 Selbstbereiten von Quark, nach Hummel

„Man nimmt abgerahmte Milch und läßt dieselbe sauer werden, so daß das Casein gerinnt. Das Casein kocht man in einem glasierten irdenen Topf 15 Minuten lang mit Wasser und bringt es dann auf ein Sieb, auf welchem man es mit kaltem, harten Wasser wäscht, um es von aller Säure zu befreien. Das so behandelte Casein wird in ein Tuch geschlagen und ausgepreßt, so daß es nur noch feucht bleibt.“ [Hummel 1886, S. 2]

Rezept 2 Quark zu Kaseinleim, nach Deuerling

„Besser ist es aber, dem Vorbild der Alten zu folgen und die Fällung des Kaseins mit einem Stückchen Eichenrinde vorzunehmen, das man in die Milch gibt ... der Quark ist deshalb in jedem Falle vor dem Aufschließen zu reinigen, ganz gleich ob man ihn fertig kauft oder ihn selbst gewinnt. Bei dem mit Eichenrinde gefällten Quark erfolgt die Reinigung in einem Zug. Man gibt ihn in ein größeres Gefäß und gießt etwa die zehnfache Menge warmen Wassers darüber. Dann rührt man des öfteren um und läßt den Quark ganz absetzen ... Durch Überneigen scheidet man das Wasser vom Quark; diesen aber füllt man in ein Leinensäckchen und hängt es auf, damit der Rest des Wassers abtropfen kann.“ [Deuerling 1951, S. 42]

Rezept 3. Reinigen des Käsestoffes, nach Scherer

„100 Gewichtsteile gut abgepreßter Käsequark (Topfen, Siebkäse) werden mit 50 Gewichtsteilen Wasser zu einer breiartigen Masse angerührt, welche, um sie von Milchsäure und Butterfett zu befreien, in einen hölzernen Kochbottich, in dem sich ungefähr 150 Gewichtsteile Sodalösung (1%ig) befinden, eingebracht und mittels Dampf etwa 25-30 Minuten lang gekocht. Der starken Schaumbildung halber muß der Kochbottich ziemlich geräumig sein. Die Masse bildet nach dem Erhitzen eine dünne, milchartige Flüssigkeit, die man in ein zweites Gefäß bringt, sie daselbst abkühlen läßt und nun so lange mit verdünnter Salpetersäure vermischt, bis eine gezogene Probe keinen Niederschlag mehr erkennen läßt. Es sind zumeist etwa $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ 40 %ige Salpetersäure, die man mit 4 Gewichtsteilen Wasser vermischt hat, hinrei

chend. Aus der milchigen Flüssigkeit wird abgelassen, der Käsestoff mit reinem Wasser aufgeschwemmt, absitzen gelassen, das Wasser neuerlich entfernt und das Waschen so lange fortgesetzt, bis das Waschwasser vollkommen neutral reagiert. Nun bringt man das Kasein, um es möglichs wasserfrei zu erhalten, auf Koliertücher, läßt gut ablaufen und beseitigt den weiteren Wasseranteil durch Auspressen in einer gewöhnlichen oder besser in einer Filterpresse. Durch das Pressen ist das Kasein ziemlich wasserfrei geworden; um es aber vollkommen trocken zu erhalten, wird es noch auf Trockenhorden in Trockenkammern bei 50-60 °C getrocknet. Das fertige Produkt kann sofort weiter verarbeitet oder zu späterer Verwendung an einem trockenen Orte aufbewahrt werden. Den geringen Anteil an Fett (Butterfett), welchen das Kasein noch enthält, könnte man noch durch Digerieren mit Benzol oder einer Äther-Alkoholmischung ganz beseitigen, doch wird der Umständlichkeit des Prozesses halber davon gewöhnlich Abstand genommen. Aus den in Arbeit genommenen 100 Teilen Käsestoff erhält man etwa 45 Teile reines, von Milchsäure und Butterfett befreites Kasein.“ [Scherer 1905, S. 24 f.]

Rezept 4. Nach Hatmaker

„Behufs Gewinnung von weißem Kasein, welches nicht wie das mit Schwefelsäure gelblich ist ..., sollen nacheinander mehrere Säuren angewendet werden, und zwar ist es am zweckmäßigsten, das Kasein zunächst mittels Schwefelsäure als Quark zu fällen, den Quark alsdann in Alkalien aufzulösen und nochmals, und zwar in Essigsäure, niederzuschlagen. Man verwendet Schwefelsäure von 66 °Bé mit Wasser verdünnt. Es hat sich gezeigt ..., daß etwa 1¼ l dieser Säure, mit 7 l Wasser verdünnt, den Quark aus 1000 l Milch fällen. Vorher erhitzt man die Milch auf 40-50 °C, wodurch der Quark in großen und festen Stücken ausfällt. Darauf wäscht man den Quark gründlich mit kaltem Wasser aus. Der Quark von 1000 l Milch kann in einer Lösung von 1¾ kg Natriumbicarbonat in 350 l Wasser gelöst werden, wobei die Lösung durch erwärmen des Ganzen auf etwa 40° beschleunigt wird. Man verwendet Essigsäure von etwa 29 %. Diese wird allmählich zugegeben, bis alles Kasein gefällt und die sich abscheidende wässrige Flüssigkeit vollkommen klar ist. Nach Abziehen der wässrigen Flüssigkeit wird das gefällte Kasein gründlich mit kaltem Wasser gewaschen.

Nach U. Hall scheidet man in der Milch den Quark durch Salzsäure aus, unterwirft das so gebildete Kasein einer genügend hohen Temperatur, damit sich die darin befindliche Säure verflüchtigen kann, und leitet einen Luftstrom durch.

Nach U. Spitteler ersetzt man zur Abscheidung des Kaseins das verwendete Alkali durch ein Alkalikarbonat, wenn ein farbloses und zähes Kasein verlangt wird. Die Einwirkung ist in diesem Falle langsamer. Falls Durchsichtigkeit des Produktes ebenfalls gewünscht wird, so wird die abgeschiedene Substanz aus der Lösung nicht eher entfernt, als bis sich eine durchscheinende Lösung zu zeigen beginnt.“ [Scherer 1905, S. 25 f.]

Rezept 5. Nach Ruprecht

„Man bringt zunächst abgerahmte Milch in einen Bottich, der mit einem Rührwerk versehen ist, welches aus einer lotrechten Welle und mehreren horizontalen Flügeln besteht. Hierauf setzt man dasselbe in Gang, so daß die ganze Flüssigkeit in lebhaft drehende Bewegung gerät, und tröpfelt verdünnte Essig- oder Salzsäure in die Flüssigkeit. Die Ausscheidung des Kaseins beginnt sofort in Form von zarten, weißen Flocken, und soll man nur so viel Säure hinzufügen, als überhaupt absolut zur Abscheidung des Kaseins erforderlich ist. Während man fortwährend umrührt, nimmt man eine Probe der Flüssigkeit, filtriert sie und versetzt das klare Filtrat mit der Säure. Bleibt die Flüssigkeit klar, so ist dies der Beweis dafür, daß alles Kasein ausgefällt ist. Die Flüssigkeit wird sodann der Ruhe überlassen, bis sich das Kasein vollständig zu Boden gesetzt hat. Man senkt sodann einen Kautschukschlauch, welcher unten einen Glastrichter trägt, dessen Mündung mit feiner Mullgaze bespannt ist, vorsichtig bis auf das Kasein herab und läßt durch Hebewirkung des Schlauches die klare Flüssigkeit aus dem Bottich abfließen; das Sieb der Mullgaze verhindert, das Kaseinteilchen mitgerissen werden. Die von dem Kasein abgezogene Flüssigkeit enthält noch Albuminat, Salze und die Gesamtmenge des in der Milch enthaltenen Milchzuckers und kann auf letzteren verarbeitet werden. Das in dem Gefäß lagernde Kasein wird unter fortwährendem Gange des Rührwerkes in Wasser aufgeschlämmt, absitzen gelassen, das Wasser abgezogen und dieses Waschen zwei- bis dreimal wiederholt. Das so genügend gereinigte Kasein wird in starke Preßtücher geschlagen und zwischen Holzplatten in eine Spindelpresse gebracht. Man steigert den Druck der letzteren allmählich und so lange, als noch Flüssigkeit abtropft, und nimmt dann die ziemlich festen Kaseinkuchen aus den Tüchern. Da sie noch immer sehr viel Wasser enthalten, zerbröckelt man sie zu kleinen Stücken, welche auf Tüchern, die über Rahmen gespannt sind in dünner Schicht ausgebreitet werden. Die Rahmen werden dann in eine Trockenstube gebracht, welche auf etwa 30 °C erwärmt ist, und darin so lange belassen, bis das Kasein vollkommen wasserfrei geworden ist und beim Drücken mit den Fingern zu einem weißen Pulver zerfällt.“ [Scherer

1905, 26 f.]

Rezept 6. Nach Mierisch und Dr. Eberhard

„Nach vorliegender Erfindung wird die Magermilch mit Alkali vermischt, durch Zentrifugieren das Fett aus der alkalisch gemachten, zweckmäßig angewärmten Milch ausgeschieden und hierauf durch Zusatz von Säuren das Kasein in der üblichen Weise ausgefällt. Beispielsweise werden 1000 l Magermilch mit 2-4 kg Natriumhydroxyd, welches in Wasser gelöst ist, versetzt und die Milch auf 40-45 °C erwärmt. Diese so behandelte Magermilch wird von neuem zentrifugiert, bis sich das Fett nicht mehr abscheidet. Dann wird durch Zusatz verdünnter Schwefelsäure das Kasein ausgeschieden, gesammelt, gewaschen, gepreßt und erforderlichen Falles getrocknet.“ [Scherer 1905, S. 29]

Rezept 7. Nach Dr. W. Riegel

„Bei der Fällung aus der Milch mittels Säure kamen bis jetzt Essigsäure, Milchsäure, Schwefelsäure und Salzsäure in Betracht. Nach vorliegendem Verfahren wird zu dem Zwecke Äthylschwefelsäure benützt. Dieselbe teilt mit der Schwefelsäure und der Essigsäure die Eigenschaft, das Kasein unzersetzt und in kompakter, nicht schleimiger Form zu fällen, übertrifft aber diese beiden Säuren darin, daß sie infolge der leichten Löslichkeit des äthylschwefelsauren Kalkes bei der ersten Fällung bereits ein fast aschefreies Kasein liefert. Ferner erhält man ein keimärmeres Kasein als bei der Milchsäure- und Essigsäurefällung, und die Inversionswirkung auf den Milchzucker ist gering. Es genügt, rohe Äthylschwefelsäure zu verwenden, wie man sie erhält, wenn man gleiche Volumina konzentrierte Schwefelsäure und starken Alkohol übereinander schichtet, schnell mischt und die Mischung mehrere Stunden an einem warmen Orte stehen läßt.

Um lösliches Kasein in trockener Handelsform darzustellen, fällt man zunächst den Quark (Käsestoff) aus der Milch aus, wäscht diesen, um die Molken und das überschüssige Fällungsmittel zu entfernen, trocknet danach den Quark bei mäßiger Hitze, und zwar bei einer so niederen Temperatur, daß er nicht verbrennt, führt ihn in körnige Form über und läßt ihn sodann eine geringe Menge einer Alkalilösung absorbieren, indem man die Lösung mit dem gekörnten Quark durch rasches Umrühren des letzteren vermischt. Zum Schluß trocknet man nach dem amerikanischen Patente Nr. 664.318 das granuliert alkalihaltige Produkt.“ [Scherer 1905, S. 29 f.]

Rezept 8. Nach Dr. Székely

„Patent Nr. 126.423 bezweckt die Zerlegung von Milch in Kasein und entkäste Molke mittels Kohlensäure. Um süße Vollmilch, süßen Rahm, süße Magermilch oder süße Buttermilch in Kasein und entkäste Molke zu zerlegen, leitet man in die in Druckgefäßen befindliche, über 30° erwärmte Milch unter starkem Druck so viel Kohlensäure ein, bis nach kräftigem Schütteln oder Umrühren der Käsestoff vollständig ausfällt.“ [Scherer 1905, S. 30 f.]

Rezept 9. Nach Béchamp

„Reines, aschefreies Kasein erhält man durch Fällern in der Kälte von je 1 l Kuhmilch mit 2,9 cm³ Essigsäure, wobei das meiste Laktoalbumin gelöst bleibt. Den abfiltrierten und etwas gewaschenen Niederschlag reinigt man durch wiederholtes Lösen in Wasser, dem man käufliches Ammoniumcarbonat bis zur deutlichen alkalischen Reaktion zusetzt, und Neutralisation der filtrierten Lösung durch Essigsäure. Dieses reine Kasein löst sich (nach Béchamp) nach dem Trocknen in etwa 1000 Teilen Wasser, sowie in Alkalien und Säuren.“ [Scherer 1905, S. 31]

Rezept 10. Nach Hoppe-Sehler, Hammersten

„... geschieht in der Weise, daß man Milch mit Essigsäure versetzt, den Niederschlag in verdünntem Ammoniak oder Natriumkarbonat unter Vermeidung alkalischer Reaktion löst und den Vorgang wiederholt. Dann wird das Kasein mit Alkohol und Äther gründlich von Fett befreit und nochmals mit Essigsäure und Soda behandelt. Eine Umsetzung des Kaseins ist ausgeschlossen, wenn man stärkere alkalische Reaktionen vermeidet. Die Entfettung kann man sich sehr erleichtern, wenn man statt Vollmilch die fabrikmäßig entfettete Magermilch benützt.“ [Scherer 1905, S. 31]

Rezept 11. Nach Scherer

„Nach einer anderen Angabe wird zur Reindarstellung des Kaseins Milch mit dem vierfachen Volumen Wasser verdünnt und dann mit so viel Essigsäure versetzt, daß die Flüssigkeit 0,075-0,1 % Säure enthält. Der Niederschlag wird durch Zerreiben unter Wasser gereinigt, dann sofort in sehr verdünnter Kalilösung aufgenommen und wieder durch Essigsäure gefällt; das mit Wasser gewaschene Kasein wird endlich mit Alkohol (von 97 %) fein zerrieben, abfiltriert und mit Äther gewaschen.“ [Scherer 1905, S. 31 f.]

Rezept 12. Kasein für technische Zwecke, nach Besana

„In einer Käsewanne oder sonst einem geeigneten Gefäß wird die Magermilch, wie sie von der Zentrifuge kommt, auf ca. 55 °C erhitzt, nötigenfalls durch Einleiten von direktem Dampf. Hierauf bringt man die Milch, per 1000 l durch Zusatz von 3 l roher Salzsäure, welche in der 5-6fachen Menge Wasser verdünnt wurde, zum Gerinnen, läßt die Molke abfließen und schöpft das Gerinnsel heraus, um es durch Ausbreiten auf einem schrägen Tische erkalten zu lassen. Sodann überbraust man die Masse mit kaltem Wasser, um sie auszuwaschen, oder verreibt sie in einem mit Wasser gefüllten Kübel, läßt sie sich zu Boden setzen und gießt das überstehende Wasser ab. Jetzt wird durch Pressen noch weitere Flüssigkeit beseitigt, indem man die Masse entweder in Säcke füllt und diese beschwert, oder sie in irgend einer anderen Presse unter mäßigem Drucke ausgepreßt. Das immer noch feuchte Kasein wird nun in einer Quarkmühle zerkleinert und ist als ‚feuchtes‘ Kasein versandfähig. Für technische Zwecke wird meistens ‚trockenes‘ Kasein verlangt. Zum Trocknen kann man die verschiedensten Apparate verwenden, z. B. die für das Dörren von Gemüse benützten Heißluftapparate, oder auch heizbare Trockenkammern, in denen auf Gerüsten übereinander Horden aufgebaut sind, deren Böden von kräftigem, aber Feuchtigkeit durchlässigem Leinen gebildet sind. Solche Apparate, in denen die Trocknung durch heiße Luft erfolgt, erfordern viel Heizmaterial und sind, falls nicht teure mechanische Rühr- und Wendevorrichtungen dabei angebracht werden, umständlich zu bedienen, da das Kasein während des Trockenprozesses fortwährend gewendet und dabei zerkleinert werden sollte. Auch ist auf eine möglichst gleichmäßige Trockentemperatur zu achten, die zwischen 50 und 80 °C liegen sollte Auf diese Weise erhält man aus 100 Teilen Magermilch etwa 8½ Teile feuchtes oder 3½ Teile trockenes Kasein. Dieses kommt unter dem Namen ‚technisches Kasein‘ oder ‚Laktarin‘ in den Handel. Es ist in Wasser unlöslich, in Alkalien löslich und wird durch Zusatz von 10 % eines Alkali (z. B. Soda, Borax oder Ammoniak) wasserlöslich. Der Wassergehalt des trockenen Kaseins beträgt noch etwa 10 %. Die Qualität des Kaseins bestimmt sich neben dem Wassergehalte vor allem nach dem Aussehen und dem Geruche. Letzterer darf insbesondere nicht ammoniakalisch sein, sondern muß leicht an frische Milch erinnern. Die Farbe muß weiß sein. Je heller das Produkt ist und je angenehmer es riecht, um so teurer wird es bezahlt.“ [Scherer 1905, S. 32 ff.]

Ausgangsbedingungen zur Caseinfällung

„Die Herstellung eines guten Kaseins hängt in erster Linie davon ab, daß die Behandlung aller Rohstoffe und ihre Verarbeitung selbst mit größter Sorgfalt und außerordentlicher Sauberkeit vorgenommen werden. So ist es wichtig, die Magermilch möglichst zu entfetten, weil der Restfettgehalt fast vollständig in das Kasein übergeht. Da die Magermilch nur 3 % Kasein hat, würde ein Gehalt von 0,1 % Fett in ihr schon über 3 % Fett im Kasein bedeuten.

Vielfach wird infolgedessen die Magermilch mit Natriumkarbonat- oder Natriumbikarbonatlösung neutralisiert und noch einmal sorgfältig und schärfstens zentrifugiert. Im Prinzip verläuft die Herstellung des Kaseins wie folgt: Man fällt mit einem der späterhin näher besprochenen Fällungsmittel das Kasein aus der Milch in Form von Quarg, der sorgfältig gewaschen werden muß, durch Pressung nach Möglichkeit entwässert und nach einer Zerkleinerung durch Trocknungsverfahren verschiedenen Systems bis zu einem gewissen Mindestgehalt vom Wasser befreit wird. Ganz und gar, d. h. bis auf 0 % Wassergehalt soll Kasein, zumal es hygroskopisch ist, nicht getrocknet werden, weil dann selbst im Vakuum eine Denaturierung d. h. eine Veränderung seiner Eigenschaften eintritt.“ [Sutermeister, S. 45]

Rezept 13. Nach Clark, Zoller, Dahlberg und Weimar

„Darauf beruhen Untersuchungen von Clark, Zoller, Dahlberg und Weimar, die zu einem Herstellungsverfahren für Kasein führten, bei welchem es leicht durch Waschen von seinen Verunreinigungen bzw. Begleitstoffen befreit werden konnte, da es in feuchtem Zustande Gleichmäßigkeit des Kornes aufwies und nicht zu schwer auswaschbaren, mehr oder weniger undurchdringlichen Massen zusammenbackte. Dazu erwärmt man Magermilch auf 34,5-35 °C, gibt Salzsäure zu, bis die Mischung an Methylrot ein pH von 4,8 hat und läßt den Quarg absetzen. Man zieht die Molke ab, wäscht den Quarg wiederholt mit verdünnter Salzsäure von ebenfalls pH 4,8 und hat dann nach der Trocknung ein recht reines Kasein, das für alle technischen Zwecke genügend frei von Verunreinigungen ist. Man kann es weiter reinigen, indem man es noch feucht in verdünnter Ammoniaklösung auflöst, filtriert oder zentrifugiert, bis man eine ganz blanke Lösung hat, die man unter Einstellung auf pH 4,8 wieder mit Salzsäure ausfällt. Das ausgefällte Kasein wird wiederholt mit salzsäurehaltigem Wasser mit gleichem pH gewaschen und dann getrocknet. Dass das Eiweißmolekül, speziell das des Kasein, gegen Alkalien besonders empfindlich ist, darf man unter keinen Umständen einen starken Überschuß von Alkalien anwenden. Am besten ist ein pH 7,5 aber niemals über 8,5. Nach vollstän-

digem Auswaschen befreit man das wieder ausgefällte Kasein durch Pressen möglichst vollständig vom Wasser und bringt es dann in 95 %igen Äthylalkohol. Nach einigem Stehenlassen wird der Alkohol abgelassen und das Kasein in einem kontinuierlich arbeitenden Extraktionsapparat erst mit heißem Alkohol und dann mit Äther extrahiert, worauf Trocknung bei niedriger Temperatur erfolgt. Vor der Behandlung mit Alkohol sollte das Kasein nicht getrocknet werden, da es sonst nur sehr schwer durchtränkt wird.“ [Sutermeister 1932, S. 61 f.]

Rezept 14. Nach Linderström-Lang

„20 Liter frische, nicht pasteurisierte Magermilch werden mit etwa 15 Litern 0,05 n-Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur (20°) gefällt. Unter kräftigem Rühren wird die Säure in Mengen von jeweils ½ Liter beigelegt, und nach jeder Gabe steht die Milch 5-10 Minuten. Wenn das Aussehen der Suspension die Annäherung an das Niederschlagsoptimum zeigt, läßt man sie etwa 2 Stunden unter dauerndem Rühren stehen, bevor man die letzte Säuremenge in kleinen Portionen von etwa 10-50 ccm hinzufügt. Das abgeschiedene Kasein wird über ein Tuch filtriert und insgesamt 5mal mit je 30 Litern destilliertem Wasser gewaschen. Bei den letzten Waschungen ist das Filtrat durch das Tuch getrübt und enthält emulgiertes Fett zusammen mit einer ganz feinen Kaseinsuspension. Das letzte Waschwasser wird nach Möglichkeit abgepreßt und der Niederschlag mit der anhängenden Feuchtigkeit (7 Liter) mit dem gleichen Volumen 96%igen Alkohols versetzt. Die Mischung steht unter Umrühren ½ Stunde; nach Filtration werden nochmals 10 Liter 96 %igen Alkohols zum Niederschlag gegeben, und nach weiterem 3stündigem Stehenbleiben unter Rühren wird noch einmal filtriert und das Kasein von neuem mit 10 Litern absoluten Alkohols vermischt. Diese Mischung steht bis zum nächsten Tag, wird dann filtriert und der Niederschlag 3mal mit je 10 Litern Äther behandelt. Dann wird das Kasein an der Luft und schließlich 24 Stunden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Aus den 20 Litern erhält Linderström-Lang 545 g Kasein ...“ [Sutermeister 1932, S. 62 f.]

Rezept 15. Nach Sutermeister

„Man läßt die frisch vom Separator kommende Magermilch in hölzernen Gefäßen bei einer Temperatur zwischen 32 und 43 °C stehen, damit sich Milchsäure entwickelt und gibt auch wohl 5-10 % saurer Molke von früherer Fabrikation zwecks Beschleunigung des Gärprozesses zu. Um immer Milchsäurewecker zu haben, läßt man die Molke von einem Tag zum ande-

ren bei einer Temperatur von 32-43 °C stehen. Wenn in der Magermilch genügend Säure entwickelt ist, um angemessene Quargfällung zu ergeben, erwärmt man sie mit direktem Dampf und rührt dabei kräftig mit dem Rührwerk oder einem hölzernen Spaten, bis die Molke und Quarg sich glatt trennen. Zwischen 35 und 50 °C erhält man die besten Resultate. Der Quarg sammelt sich am Boden des Gefäßes in ziemlich zusammenhängenden Massen, während die Molke als klare, quargfreie Flüssigkeit oben steht. Sie wird abgezogen, am besten unter Einschaltung eines Filtersackes, um etwa mitgerissene kleine Quargpartikel zu gewinnen. Ein Teil der Molke bleibt für den nächsten Tag zurück. Der Quarg selbst wird mehrfach mit kaltem Wasser bedeckt, durchgerührt und das Waschwasser abgelassen. Er ist dann fertig zum Pressen. Wenn im Augenblick des Erhitzens die Magermilch zu sauer geworden ist, fällt der Quarg zu fein aus und ist infolgedessen schwierig zu handhaben, während ungenügende Säuremenge eine glatte Trennung von Quarg und Molke verhindert. Es ist Sache der Erfahrung, die ein aufmerksamer Arbeiter rasch gewinnt, festzustellen, welches die richtige Säuerung und Arbeitsweise zur Erzielung bester Resultate ist. Wenn der Säurewecker aktiv genug ist, in genügender Menge zugesetzt wird und die Magermilch die richtige Temperatur hat, entwickelt die Mischung innerhalb weniger Stunden genügend Säure, um klare Trennung bei der Erwärmung zu ergeben. Wenn man, wie es vielfach in Molkereien geschieht, die Magermilch über Nacht stehen läßt, muß die Temperatur und die Menge Säurewecker so eingestellt werden, daß zu langes Stehen der ausgefällten Milch vor der Erhitzung vermieden wird. Der Quarg ist nämlich dann am besten zu verarbeiten, wenn die Erhitzung bald nach dem Koagulieren der Magermilch erfolgt. Stand die gefällte Magermilch schon einige Zeit, so muß man höher erhitzen, auf etwa 57-60 °C (nicht mehr), um saubere Trennung zu erzielen. In diesem Falle muß auch das Rühren besonders vorsichtig erfolgen, um ein Zerteilen des Quarges in zu feine Teilchen zu verhüten.“ [Sutermeister 1932, S. 62]

Rezept 16. Nach Sutermeister

„Eine andere Methode der Fällung mit Milchsäure bzw. saurer Milch beruht darauf, daß Molke, die über Nacht stehen bleibt, starke Säureentwicklung zeigt. Man kann dann sozusagen kontinuierliche Fällung erhalten, indem man die saure Molke der Magermilch ebenso schnell zusetzt, wie diese vom Separator abläuft. Dazu läßt man beide – jede für sich auf etwa 55-60 °C erhitzt – in ein gemeinsames Rohr oder dergleichen laufen, wo sie sich im richtigen Verhältnis mischen und Quarg bilden. Der ganze Inhalt des Rohres läuft dann auf den Boden ei-

nes verhältnismäßig kleinen Gefäßes mit einem Filtertuch. Zur Erwärmung der Molke und der Magermilch kann man zweckmäßigerweise einen Dampfstrom verwenden und bei geeigneter Anordnung der Rohrleitungen und Ventile ergibt sich die Möglichkeit, Magermilch, saure Molke und Hitze so zu dosieren, daß der Quarg in der richtigen Weise ausfällt. Alle Abläufe gehen der Sicherheit und Einfachheit halber über ein mit dichtem Filtertuch bespanntes Filtriergestell und sein Inhalt kommt zur Presse. Läßt man den Quarg über Nacht abtropfen, so ist er meist genügend entwässert, um direkt zur Mühle zu gehen, die der Trocknung vorgeschaltet ist. Dazu ist aber nötig, daß bei der Fällung Hitze und saure Molke richtig dosiert waren.“ [Sutermeister 1932, S. 63]

Rezept 17. Ejektormethode für Milchsäurekasein, nach Sutermeister

„Wenn man gut gesäuerte, festen Quarg enthaltende Magermilch erhitzt, indem man sie durch einen Dampfjektor von einem Gefäße nach einem anderen überträgt, kann man eine schnelle Abscheidung von körnigem, gut waschbarem Quarg erzielen. Man pumpt die frische Magermilch in ein hochstelltes Gefäß; dort wird sie, evtl. unter Zusatz von saurer Molke, der Säuerung überlassen, bis Bildung von dickem Quarg einsetzt, was bei etwa 0,8-0,9 % Milchsäuregehalt erfolgt. Die Weiterleitung durch den Ejektor muß im richtigen Augenblick erfolgen, den nur die Erfahrung lehrt. Wenn man nämlich die Erhitzung zu früh beginnt, bevor feste Fällung eingetreten ist, wird der Quarg eine zähe, gummiartige Masse, die man kaum bearbeiten kann. Hat man nicht die Zeit, das richtige Dickwerden der Magermilch abzuwarten, so muß man eine der beiden vorher beschriebenen Methoden anwenden. Übermäßiges Rühren, z. B. auch Umpumpen der dick gewordenen Magermilch, ist untunlich, da beim Erhitzen im Ejektor dann die Quargteilchen so fein ausfallen, daß ihre Handhabung unangenehm ist und auch leicht Kaseinverluste eintreten.“ [Sutermeister 1932, S. 63 f.]

Rezept 18. B. Erhitzter Quarg, nach Sutermeister

„Die Magermilch wird auf 49 °C erwärmt, die verdünnte Schwefelsäure in der gerade erforderlichen Menge zugegeben und, wenn die Molke abgezogen ist, zerteilt man die Quargmasse im Gefäß selbst, bedeckt mit Wasser und erhitzt die Mischung mit Hilfe von direktem Dampf auf 76-80 °C. Dann sammelt sich der Quarg zu einem halbflüssigen, plastischen Teig. Das Wasser wird abgezogen, der weiche Quarg durchgeknetet, um möglichst viel Feuchtigkeit zu entfernen ... Bei diesem Verfahren muß man in der Zugabe der Säure besonders vorsichtig

sein. Nur soviel darf gegeben werden, wie gerade erforderlich ist, um glatte Trennung zu erhalten. Jeder Überschuß ist von Nachteil und beeinträchtigt die Anwendbarkeit des Verfahrens. Wenn zu viel Säure im Quarg ist, läuft er beim Kochen im Wasser nicht zu der charakteristischen, plastischen Masse zusammen, sondern zerfällt in ganz kleine Teilchen, die sehr schwer zu handhaben sind. Bei richtiger Säuremenge trennt sich die Molke klar vom Quarg und zeigt bei der Titration mit Phenolphthalein einen Säuregrad von 0,30-0,32 %. Wenn man mehr als 34 % Säure findet, kann man mit Sicherheit Schwierigkeiten beim Schmelzen des Quarges erwarten. Um sicher zu gehen, ist es zweckmäßig, die vorgeschriebene Menge (1 Liter konzentrierte Säure auf 1000 Liter Magermilch) von vornherein abzumessen, sie mit Wasser im erforderlichen Umfange zu verdünnen und dann portionsweise zuzusetzen, indem nur soviel hinzugegeben wird, wie für die Zerlegung nötig ist.“ [Sutermeister 1932, S. 65 f.]

Rezept 19. A. Preßquarg, nach Sutermeister

„Die frische Magermilch wird auf 46-49 °C erhitzt, wobei letztere Temperatur keineswegs überschritten werden darf, weil sonst die Güte des Kaseins beeinträchtigt wird. Man kann gewöhnliche Salzsäure verwenden. Besser ist es aber, den verhältnismäßig kleinen Mehraufwand für eine arsen- und eisenfreie Säure nicht zu scheuen, da diese beiden Bestandteile unter keinen Umständen im Kasein sein dürfen. Man verdünnt die handelsübliche Salzsäure mit Wasser im Verhältnis 1 : 4 bis 1 : 8 und fügt dann die erforderliche Menge (2,6 Liter ursprünglicher Salzsäure auf 1000 Liter Magermilch) hinzu. Auch bei Salzsäure muß man sorgfältig darauf achten, keinen Überschuß zu verwenden, weil sonst der Quarg weich bzw. gelatinös wird, zusammenbackt und schlecht zu waschen und zu handhaben ist. Der richtige Weg ist auch hier, die verdünnte Säure in einzelnen Mengen abzugeben und jedesmal gut die verdünnte Säure in einzelnen Mengen zuzugeben und jedesmal gut durchzurühren. Um den weichen, breiigen Quarg in eine zweckmäßigere, härtere Modifikation überzuführen, empfiehlt es sich, ihn gemäß U.S.A. Patent Nr. 721 999 mit verdünnter Schwefelsäure (etwa 16 g auf 100 Liter) von etwa 55-60 °C zu behandeln. Diese verfestigt den Quarg, so daß er nach dem Abfließen des Wassers besser gepreßt werden kann. Beim Rühren muß man vorsichtig sein: zu schnelles Rühren zerkleinert das Kaseinkorn zu sehr; man hat dabei Verluste beim Abziehen und schwierigeres Pressen, während bei zu langsamem Rühren das Gegenteil eintritt: die Quargteile backen zusammen, schließen Molke ein und lassen sich schlecht auswaschen.“ [Sutermeister 1932, S. 66 f.]

Rezept 20. B. Erhitzter Quarg, nach Sutermeister

„Diese Arbeitsweise entspricht der im vorigen Ansatz bei Schwefelsäure (Rezept 20.) beschriebenen. Auch sie macht das Pressen unnötig. Die Fällung erfolgt in gleicher Weise wie sonst bei Verwendung von Salzsäure, nur kann man die Nachbehandlung mit geringen Mengen verdünnter Schwefelsäure unterlassen. Der Quarg wird mit kaltem Wasser bedeckt und dann durch direkten Dampf auf 80-85 °C erwärmt. Dadurch wird er in eine plastische, teigartige Masse verwandelt, falls nicht zuviel Salzsäure angewendet wurde. Das Verfahren unterliegt genau den gleichen Einflüssen, wie sie bei der Herstellung von erhitztem Quarg unter Verwendung von Schwefelsäure beschrieben worden sind; auch die Behandlung des Endproduktes ist die gleiche.“ [Sutermeister 1932, S. 67]

Rezept 21. C. Körniger Quarg, nach Sutermeister

„Das Verfahren ist besonders zweckmäßig in den Fällen, wo die Molke zu Herstellung von Milchzucker verwandt werden soll. Das Prinzip beruht darauf, daß die Salzsäure wesentlich stärker verdünnt wird, daß man bei niedrigerer Temperatur fällt und daß man den Säuregrad anhand der letzten Forschungen wissenschaftlich kontrolliert. Der Quarg wird dann in Form feinkörniger Masse gewonnen, die sich sehr gut und rasch waschen läßt, wenn das Waschwasser den gleichen Säuregrad hat wie beim Fällen des Quarges. Ausgangspunkt war die Beobachtung, daß, wenn $\frac{1}{1}$ normale Salzsäure bei 34 °C frischer Magermilch zugesetzt wurde, bis die abgepreßte Molke bei Prüfung mit Methylrot einen pH von 4,6 zeigt, der ausgefällte Quarg von eigenartiger körnig-elastischer Struktur war, die reichliches Nachwaschen erlaubte, ohne daß das sonst erfolgende Zusammenbacken eintrat. Die praktische Anwendung dieser Methode bietet als Vorteil besseres Kasein, leichteres Pressen und leichteres Trocknen des Quarges, beansprucht aber gewisse zusätzliche Einrichtungsgegenstände in Form von Abtropfrahmen und Abtropftüchern.“ [Sutermeister 1932, S. 67 f.]

15.2 Verwendete Materialien/Chemikalien

Biohof Eilte GbR, Großer Garten 6, D-29693 Ahlden/OT Eilte
entrahmte Milch

Frischli GmbH, Bahndamm 4, D-31547 Rehburg
Milch 0,3 % Fett, nicht pasteurisiert

Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt
Casein nach Hammersten

Kremer Pigmente GmbH & Co. KG, Hauptstr. 41-47, D-88317 Aichstetten
Milchsäurecasein

Überseehandel Wengenroth GmbH, Steinhöft 5-7, D-20459 Hamburg
Salzsäurecasein

Holzkalkbrennerei & Kalklager Robert Körndl, Riedenburger Str. 12, D-93336 Altmannstein
Sumpfkalk

Maas Baustoffe GmbH, Max-Planck-Str. 20, D-74677 Dörzbach
Sand

Fischer Gase GmbH, Spechbacher Str. 1, D-74927 Eschelbronn
CO₂-Gas

Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt
ACTH 18-39
 α -Cyano-Hydrox-Zimtsäure
Ammoniak 25 %ig
Ammoniumbicarbonat

Angiotensin
Bradykinin
Ethanol
Formaldehydlösung in Ethanol 4 %ig
Lysol
Neurotensin
Renin
Salicylsäure 2 %ig in Ethanol
Salzsäure
Trifluoressigsäure
Tris
Trypsin Proteomics
Trypsin TCPK
ZIP TIP C18
ZIP TIP SCX

15.3 Verwendete Geräte

Weiss Umwelttechnik GmbH, Oberlaaer Str. 316, A-1230 Wien

Klimakammer

Konica Minolta Sensing Europe B.V., Edisonbaan 14 E, NL-3439 MN Nieuwegein

Spektrophotometer CM-2002

Waters Corporation, 34 Maple Street, USA Milford, MA 01757

MALDI-LR

UV-Leuchtstofflampen Typ 1B (UV-A-351)

15.4 Buchstabenbezeichnung der Caseine

A	Milchsäurecasein industriell
B	Casein nach Hammersten
C	Salzsäurecasein industriell
D	Quark selbst gefällt
E	Salzsäurecasein selbst gefällt
F	Milchsäurecasein selbst gefällt

15.5 Tabelle der Proben

Putzplatten-Nr.	Caseintyp	Aufschluss	Konservierungsmittel	Härtungsmittel
1	Quark	Kalk	Keine	Keine
2	Quark	Kalk	Keine	Keine
3	Quark	Kalk	Keine	Formaldehyd
4	Quark	Kalk	Keine	Formaldehyd
5	Quark	Kalk	Salicylsäure	Keine
6	Quark	Kalk	Salicylsäure	Keine
7	Quark	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
8	Quark	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
9	Quark	Kalk	Lysol	Keine
10	Quark	Kalk	Lysol	Keine
11	Quark	Kalk	Lysol	Formaldehyd
12	Quark	Kalk	Lysol	Formaldehyd
13	Quark	Ammoniak	Keine	Keine
14	Quark	Ammoniak	Keine	Keine
15	Quark	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
16	Quark	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
17	Quark	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
18	Quark	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
19	Quark	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
20	Quark	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
21	Quark	Ammoniak	Lysol	Keine
22	Quark	Ammoniak	Lysol	Keine
23	Quark	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
24	Quark	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
25	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Keine
26	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Keine
27	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Formaldehyd
28	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Formaldehyd
29	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Keine
30	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Keine
31	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
32	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
33	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Keine
34	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Keine
35	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Formaldehyd
36	Milchsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Formaldehyd
37	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Keine
38	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Keine
39	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
40	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
41	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
42	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
43	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
44	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
45	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Keine
46	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Keine
47	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
48	Milchsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd

Putzplatten-Nr.	Caseintyp	Aufschluss	Konservierungsmittel	Härtungsmittel
49	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Keine
50	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Keine
51	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Formaldehyd
52	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Keine	Formaldehyd
53	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Keine
54	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Keine
55	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
56	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
57	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Keine
58	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Keine
59	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Formaldehyd
60	Salzsäurecasein selbst	Kalk	Lysol	Formaldehyd
61	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Keine
62	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Keine
63	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
64	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
65	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
66	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
67	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
68	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
69	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Keine
70	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Keine
71	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
72	Salzsäurecasein selbst	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
73	Casein nach Hammersten	Kalk	Keine	Keine
74	Casein nach Hammersten	Kalk	Keine	Keine
75	Casein nach Hammersten	Kalk	Keine	Formaldehyd
76	Casein nach Hammersten	Kalk	Keine	Formaldehyd
77	Casein nach Hammersten	Kalk	Salicylsäure	Keine
78	Casein nach Hammersten	Kalk	Salicylsäure	Keine
79	Casein nach Hammersten	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
80	Casein nach Hammersten	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
81	Casein nach Hammersten	Kalk	Lysol	Keine
82	Casein nach Hammersten	Kalk	Lysol	Keine
83	Casein nach Hammersten	Kalk	Lysol	Formaldehyd
84	Casein nach Hammersten	Kalk	Lysol	Formaldehyd
85	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Keine	Keine
86	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Keine	Keine
87	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
88	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
89	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
90	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
91	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
92	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
93	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Lysol	Keine
94	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Lysol	Keine
95	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
96	Casein nach Hammersten	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd

Putzplatten-Nr.	Caseintyp	Aufschluss	Konservierungsmittel	Härtungsmittel
97	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Keine
98	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Keine
99	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Formaldehyd
100	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Formaldehyd
101	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Keine
102	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Keine
103	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
104	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
105	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Keine
106	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Keine
107	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Formaldehyd
108	Salzsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Formaldehyd
109	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Keine
110	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Keine
111	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
112	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
113	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
114	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
115	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
116	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
117	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Keine
118	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Keine
119	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
120	Salzsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
121	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Keine
122	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Keine
123	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Formaldehyd
124	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Keine	Formaldehyd
125	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Keine
126	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Keine
127	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
128	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Salicylsäure	Formaldehyd
129	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Keine
130	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Keine
131	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Formaldehyd
132	Milchsäurecasein industriell	Kalk	Lysol	Formaldehyd
133	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Keine
134	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Keine
135	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
136	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Keine	Formaldehyd
137	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
138	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Keine
139	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
140	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Salicylsäure	Formaldehyd
141	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Keine
142	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Keine
143	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd
144	Milchsäurecasein industriell	Ammoniak	Lysol	Formaldehyd

15.6 Klimaprotokolle zur künstlichen Alterung

<i>Belastungskurven</i>	<i>Dauer [d]</i>	<i>Luftfeuchtigkeit [%]</i>	<i>Temperatur [°C]</i>	<i>UV-A Strahlung [nm]</i>	<i>Datum</i>
1	0-1	90	29	400-315 nm	10.05., 18:30
	1-2	50	6	-	11.05., 19:20
	2-3	90	29	400-315 nm	12.05., 17:30
2	0-1	50	29	400-315 nm	13.05., 17:15
	1-2	90	6	-	14.05., 17:30
	2-3	50	29	400-315 nm	15.05., 15:30
3	0-1	90	29	400-315 nm	16.05., 16:30
	1-2	50	29	400-315 nm	17.05., 16:30
	2-3	90	29	400-315 nm	18.05., 17:30
4	0-1	50	6	-	19.05., 16:30
	1-2	90	6	-	20.05., 17:10
	2-3	50	6	-	21.05., 17:10
5	0-1	90	29	400-315 nm	22.05., 17:20
	1-2	90	6	-	23.05., 17:30
	2-3	90	29	400-315 nm	24.05., 17:15
6	0-1	50	29	400-315 nm	25.05., 17:20
	1-2	50	6	-	26.05., 17:30
	2-3	50	29	400-315 nm	02.06., 17:10

In der Klimakammer können Schwankungen bei der Temperierung zwischen ± 4 °C und bei der relativen Luftfeuchte zwischen ± 4 % liegen. 11. 05. 2009: Die ersten Verbräunungen an den Platten werden sichtbar. Am 17.05. sind an den Platten 37 und 102 erste Schuppenbildungen erkennbar. Proben 1-12, 25-36, 37-84 und 97-108 sind stark vergilbt. Bei den Nummern 88 und 89 sind Schollen aufgerollt, bei den Nummern 92, 93, 102, 114 und 115 haben sich Schuppchen geildet. 26.05., 10:00 Uhr – 27.05. 16:20 Uhr: 50 % r.F. und 6 °C eingestellt. Am 27.05. Fehlermeldung; Anzeige von 50 °C und 75 % r.F. Im Bereich der Kühlung waren die Filter durch Lindenblüten verstopft. Klimakammer ausgestellt, am 02.06. wieder in Betrieb genommen.

<i>Belastungskurven</i>	<i>Dauer [d]</i>	<i>Luftfeuchtigkeit [%]</i>	<i>Temperatur [°C]</i>	<i>UV-A-Strahlung [nm]</i>	<i>Datum/Uhrzeit</i>
1	0-1	90	29	400-315 nm	03.06., 17:00
	1-2	50	6	-	04.06., 19:10
	2-3	90	29	400-315 nm	05.06., 18:15
2	0-1	50	29	400-315 nm	06.06., 17:15
	1-2	90	6	-	07.06., 17:10
	2-3	50	29	400-315 nm	08.06., 16:20
3	0-1	50	29	400-315 nm	09.06.,
	1-2	90	29	400-315 nm	10.06., 18:14
	2-3	50	29	400-315 nm	11.06., 19:10
4	0-1	50	6	-	12.06., 17:15
	1-2	90	6	-	13.06., 17:30
	2-3	50	6	-	14.06., 16:10
5	0-1	90	29	400-315 nm	15.06., 19:15
	1-2	90	6	-	16.06., 18:45
	2-3	90	29	400-315 nm	17.06., 18:40
6	0-1	50	29	400-315 nm	18.06., 16:30
	1-2	50	6	-	19.06., 18:30
	2-3	50	29	400-315 nm	20.06., 18:00

Die Caseinfixierung stand am 16.06. stark hoch, am 17.06. haben sich die Schüppchen wieder niedergelegt. Nach den Zyklen vom 15.05. auf den 16.06. und vom 17.06. auf den 18.06. kamen die Schüppchen hoch. Die Malschichtschollen standen an den Tagen hoch an denen 90 % r. F. und 29 °C herrschten sowie die UV-Lampen eingeschaltet waren. An den Tagen, an denen 50 % r. F. und 6 °C sowie keine UV-Belastung vorlagen, legten sich die Schollen nieder.

<i>Belastungskurven</i>	<i>Dauer [d]</i>	<i>Luftfeuchtigkeit [%]</i>	<i>Temperatur [°C]</i>	<i>UV-A-Strahlung [nm]</i>	<i>Datum/Uhrzeit</i>
1	0-1	90	29	400-315 nm	21.06., 18:15
	1-2	50	6	-	22.06., 19:20
	2-3	90	29	400-315 nm	23.06., 17:20
2	0-1	50	29	400-315 nm	24.06., 19:00
	1-2	90	6	-	25.06., 19:40
	2-3	50	29	400-315 nm	26.06., 17:40
3	0-1	50	29	400-315 nm	27.06.
	1-2	90	29	400-315 nm	28.06., 16:50
	2-3	50	29	400-315 nm	29.06., 19:30
4	0-1	50	6	-	30.06., 17:15
	1-2	90	6	-	08.07., 17:00
	2-3	50	6	-	09.07., 19:00
5	0-1	90	29	400-315 nm	10.07., 17:30
	1-2	90	6	-	11.07., 17:30
	2-3	90	29	400-315 nm	12.07., 16:30
6	0-1	50	29	400-315 nm	13.07., 19:30
	1-2	50	6	-	14.07., 17:45
	2-3	75	29	400-315 nm	15.07., 17:40

Am 20.06. sollte die Probennahme erfolgen. Das Farbmessgerät fehlte. Am 23.06. haben sich die Schüppchen bei 90 % r. F. und 29 °C niedergelegt und waren sehr weich. Am 24.06. fand die Probennahme der sehr spröden, aufstehenden und splittrigen Caseinate statt. Fehlermeldung am 01.07. für F 24: 24 °C und 64 % r. F. statt 50 % r. F. und 6 °C (um 10:00 Uhr war am 01.07. noch alles in Ordnung). Der Techniker wurde informiert. Die Klimakammer konnte am 08.07. wieder in Betrieb genommen werden. Vom 10. auf den 11.07. waren aufstehende Schollen, vom 11. auf den 12.07. niedergelegte Schollen zu beobachten. Fehlermeldung der Klimakammer am 14.07. um 14:30 Uhr: 12 °C und 75 % r. F. Statt 50 % r. F. und 29 °C.

<i>Belastungskurven</i>	<i>Dauer [d]</i>	<i>Luftfeuchtigkeit [%]</i>	<i>Temperatur [°C]</i>	<i>UV-A-Strahlung [nm]</i>	<i>Datum/Uhrzeit</i>
1	0-1	90	29	400–315 nm	16.07., 17:00
	1-2	50	6	-	17.07., 17:30
	2-3	90	29	400–315 nm	18.07., 18:30
2	0-1	50	29	400–315 nm	19.07., 19:20
	1-2	90	6	-	20.07., 18:50
	2-3	50	29	400–315 nm	21.07., 18:20
3	0-1	50	29	400–315 nm	27.07., 18:10
	1-2	90	29	400–315 nm	28.07., 18:10
	2-3	50	29	400–315 nm	29.07., 17:40
4	0-1	50	6	-	30.07., 18:10
	1-2	90	6	-	31.07., 18:40
	2-3	25	6	-	01.08., 19:00
5	0-1	90	29	400–315 nm	02.08., 17:45
	1-2	90	6	-	03.08., 19:00
	2-3	90	29	400–315 nm	04.08., 18:30
6	0-1	50	29	400–315 nm	05.08., 18:30
	1-2	50	6	-	06.08., 18:30
	2-3	50	29	400–315 nm	07.08., 17:30
1	0-1	90	29	400–315 nm	08.08., 18:15
	1-2	50	6	-	09.08., 17:30
	2-3	90	29	400–315 nm	10.08., 18:00
2	0-1	50	29	400–315 nm	12.08.; 08:00-18:00

Am 10.08. wurden um 18:00 Uhr 70 % r. F. statt 50 % r. F. und 24 °C statt 6 °C angezeigt. Es gab keine Warnmeldung. Am 11.08. um 17:00 Uhr wurden bei 90 % r. F. und 59 °C wieder keine Fehler gemeldet. Die Klimakammer wurde ausgestellt und am 12.08. um 8:00 Uhr bei 50 % r. F. und 29 °C wieder in Betrieb genommen. Am 12.08. um 18:00 Uhr wurde sie erneut abgeschaltet und die Alterung abgeschlossen. Um eine Klimakammer auf 59 °C aufzuheizen, bedarf es ca. 6 Std. Die Probenkörper haben nach ca. 24 Std. die gleiche Temperatur wie der Raum (freundliche Mitteilung von Dr. Berling). Die einmalige Temperaturerhöhung führt nicht zur Denaturierung des Caseins, da es dazu eine Hitzebehandlung bei 120 °C benötigt. [Töpel, S. 407]

15.7 Chronologie der entnommenen Proben

Bei den gelb hinterlegten Proben handelt es sich um eine Probe der zweiten Referenzplatte.

17. 05. 2009	06. 06. 2009	07. 06. 2009	24. 06. 2009	18. 07. 2009
				5 Quark/Kalk/Salicylsäure/Keine
				7 Quark/Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd
				15 Quark/Ammoniak/Keine/Formaldehyd
			37 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/Keine/Keine	
			39 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/Keine/Formaldehyd	
				40 Milchsäurecasein selbst/Ammoniak/Keine/Formaldehyd
	76 Casein n. H./Kalk/Keine/Formaldehyd			
	77 Casein n. H./Kalk/Salicylsäure/Keine			
	79 Casein n. H./Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd			
	80 Casein n. H./Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd			
				84 Casein n. H./Kalk/Lysol/Formaldehyd
			85 Casein n. H./ Ammoniak/Keine/Keine	85 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Keine
	86 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Keine			86 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Keine
			87 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd	87 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd
88 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd	88 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd		88 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd	88 Casein n. H./Ammoniak/Keine/Formaldehyd
89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine	89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine		89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine	89 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine
			90 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine	90 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Keine
				91 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd
92 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	92 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd		92 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	92 Casein n. H./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd
93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine	93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine		93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine	93 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine
	94 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine		94 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine	94 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Keine

17. 05. 2009	06. 06. 2009	07. 06. 2009	24. 06. 2009	18. 07. 2009
				95 Casein n. H./Ammoniak/Lysol/Formaldehyd
				97 Salzsäurecasein ind./Kalk/Keine/Keine
				98 Salzsäurecasein ind./Kalk/Keine/Keine
				99 Salzsäurecasein ind./Kalk/Keine/Formaldehyd
				100 Salzsäurecasein ind./Kalk/Keine/Formaldehyd
	101 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Keine			101 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Keine
102 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Keine	102 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Keine			102 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Keine
				103 Salzsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/Formaldehyd
				104 Salzsäurecasein gekauft/ Kalk/ Salicylsäure/Formaldehyd
				105 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Keine
				106 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Keine
				107 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Formaldehyd
			112 Salzsäurecasein gekauft/ Ammoniak/ Keine/Formaldehyd	108 Salzsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Formaldehyd
			109 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Keine	109 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Keine
		110 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Keine	110 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Keine	110 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Keine
		111 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Formaldehyd		111 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Formaldehyd
		112 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Formaldehyd		112 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Keine/Formaldehyd
				113 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Keine
114 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Keine	114 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Keine		114 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Keine	114 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Keine
115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	115 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd			
	116 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd		116 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd	116 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Salicylsäure/Formaldehyd
				117 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Lysol/Keine
				118 Salzsäurecasein ind./Ammoniak/Lysol/Keine

17. 05. 2009	06. 06. 2009	07. 06. 2009	24. 06. 2009	18. 07. 2009
				119 Salzsäurecasein ind./ Ammoniak/Lysol/Formal- dehydind.
				120 Salzsäurecasein ind./ Ammoniak/Lysol/Formal- dehyd
				122 Milchsäurecasein ind./Kalk/Keine/Keine
				123 Milchsäurecasein ind./Kalk/Keine/Formal- dehyd
				125 Milchsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/ Keine
				126 Milchsäurecasein ind./Kalk/Salicylsäure/ Keine
				129 Milchsäurecasein ind./Kalk/Lysol/Keine

15.8 Peptidsequenzen der tryptisch verdauten Caseine

15.8.1 Alpha-S1-casein

You are here: [ExpASy CH](#) > [Tools](#) > [Other prediction tools](#) > [PeptideCutter](#) You have selected the protein CASA1_BOVIN ([P02662](#)) from UniProtKB/Swiss-Prot :

Alpha-S1-casein precursor [Contains: Antioxidant peptide]

Position of cleavage site	Name of cleaving enzyme(s)	Resulting peptide sequence (see explanations)	Peptide length [aa]	Peptide mass [Da]
73	Trypsin	DIGSESTEDQAMEDIK	16	614.761
94	Trypsin	QMEAESISSSEEIVPNSVEQK	21	688.779
98	Trypsin	HIQK	4	747.907
105	Trypsin	EDVPSER	7	830.850
115	Trypsin	YLGYLEQLLR	10	909.997
117	Trypsin	LK	2	1267.490
118	Trypsin	K	1	1384.641
120	Trypsin	YK	2	1580.758
134	Trypsin	VPQLEIVPNSAEER	14	1694.195
139	Trypsin	LHSMK	5	1759.983
147	Trypsin	EGIHAQQK	8	1767.836
166	Trypsin	EPMIGVNQELAYFYPELFR	19	2316.656
208	Trypsin	QFYQLDAYPSGAWYYVPLGTQ	42	2321.495
		YTDAPSFSDIPNPIGSENSEK		
214	end of sequence	TTMPLW	6	4718.079

15.8.2 Alpha-S2-casein

You are here: [ExpASY CH](#) > [Tools](#) > [Other prediction tools](#) > [PeptideCutter](#)

You have selected the protein CASA2_BOVIN ([P02663](#)) from UniProtKB/Swiss-Prot :

Alpha-S2-casein precursor [Contains: Casocidin-1 (Casocidin-I)]

Position of cleavage site	Name of cleaving enzyme(s)	Resulting peptide sequence (see xplanations)	Peptide length [aa]	Peptide mass [Da]
151	Trypsin	EQLSTSEENSK	11	633.789
152	Trypsin	K	1	689.764
164	Trypsin	TVDMESTEVFTK	12	745.920
165	Trypsin	K	1	747.800
167	Trypsin	TK	2	874.023
173	Trypsin	LTEEEK	6	903.006
175	Trypsin	NR	2	979.187
180	Trypsin	LNFLK	5	1044.206
181	Trypsin	K	1	1098.372
185	Trypsin	ISQR	4	1195.384
188	Trypsin	YQK	3	1251.269
196	Trypsin	FALPQYLK	8	1367.524
203	Trypsin	TVYQHQK	7	1386.537
212	Trypsin	AMKPWIQPK	9	1556.970
214	Trypsin	TK	2	2299.448
220	Trypsin	VIPYVR	6	2688.706
222	end of sequence	YL	2	2710.127

15.8.3 Beta-casein

You have selected the protein CASB_BOVIN ([P02666](#)) from UniProtKB/Swiss-Prot :

Beta-casein precursor [Contains: Casoparan; Antioxidant peptide; Casohypotensin]

Position of cleavage site	Name of cleaving enzyme(s)	Resulting peptide sequence (see explanations)	Peptide length [aa]	Peptide mass [Da]
63	Trypsin	FQSEEQQTEDELQDK IHPFAQTQSLVYFPFGPIPNSLP	16	645.772
112	Trypsin	QNIPPLTQTPVVPPFLQPEVM GVSK	49	741.929
114	Trypsin	VK	2	747.907
120	Trypsin	EAMAPK	6	779.978
122	Trypsin	HK	2	829.954
128	Trypsin	EMPFPK YPVEPFTESQSLTLTDVENLHL	6	1438.878
184	Trypsin	PLPLLQSWMHQPHQPLPPTVM FPPQSVLSLSQSK	56	1982.001
191	Trypsin	VLPVPQK	7	2186.597
198	Trypsin	AVPYPQR	7	2646.842
217	Trypsin	DMPIQAFLLYQEPVLGPVR	19	5319.250
224	end of sequence	GPFPIIV	7	6362.323

15.8.4 Kappa-casein

You have selected the protein CASK_BOVIN ([P02668](#)) from UniProtKB/Swiss-Prot :

Kappa-casein precursor [Contains: Casoxin-C; Casoxin-6; Casoxin-A; Casoxin-B; Casoplatelin]

Position of cleavage site	Name of cleaving enzyme(s)	Resulting peptide sequence (see explanations)	Peptide length [aa]	Peptide mass [Da]
55	Trypsin	YIPIQYVLSR YPSYGLNYYQQKPVALINNQF	10	642.709
89	Trypsin	LPYPPYAKPAAVR	34	1193.358
107	Trypsin	SPAQILQWQVLSNTVPAK	18	1251.491
118	Trypsin	SCQAQPTTMAR	11	1608.924
132	Trypsin	HPHPHLSFMAIPPK	14	1980.294
133	Trypsin	K	1	3173.702
137	Trypsin	NQDK TEIPTINTIASGEPTSTPTTEAVE	4	4011.595
190	end of sequence	STVATLEDSPEVIESPPEINTVQ VTSTAV	53	5455.916

15.9 Entwicklung der Methoden zur Probenaufbereitung für die Messungen mit MALDI-LR

15.9.1 Auswahl des geeigneten Trypsins

Als Referenzprobe wurde die ungealterte Probe 137 (Casein nach Hammersten) verwendet.

Alle sechs Proben wurden je in 10 mg/ml, 50 mMol Ammoniumbicarbonatpuffer gelöst und 1 Std. bei 37 °C gerüttelt.

Danach erfolgt der tryptische Verdau. Dabei wurden 1 ml Caseinlösung + 40 µl Trypsinlösung inkubiert und 30, 60 sowie 90 Min. bei 37 °C gerüttelt.

Untersucht wurden Trypsins TCPK und Trypsin Proteomics, um festzulegen, welches am geeignetsten ist.

Casein n. H. 250 µl + 10 µl Tryp TCPK 30 Min.

137/1 250 µl + 10 µl Tryp. Proteomics 30 Min.

137/2 250 µl + 10 µl Tryp. Proteomics 60 Min.

137/3 250 µl + 10 µl Tryp. Proteomics 90 Min.

137/4 250 µl + 10 µl Tryp TCPK 30 Min.

137/5 250 µl + 10 µl Tryp TCPK 60 Min.

137/6 250 µl + 10 µl Tryp TCPK 90 Min.

Es zeigten sich keine messbaren Unterschiede zwischen Trypsin TCPK und Trypsin Proteomics. Deshalb wurde das preiswertere Trypsin Proteomics weiterverwendet.

15.9.2 Ermittlung der Methode, den tryptischen Verdau zu stoppen

Die Proben (A, B, C, D, E, F, 137) wurden wieder in Ammoniumbicarbonatpuffern bei 22 °C über Nacht gelöst (2mg/ml je Probe und 10 mg/ml für Probe 137). Anschließend wurden jede Probe mit 40 µl Trypsin 90 Min. bei 37 °C verdaut. Eine Probenserie wurde nachfolgend mit Trifluoressigsäure (TFA) und eine andere thermisch durch 5 minütiges Erhitzen auf 95 °C gestoppt. Das Stoppen mit TFA erwies sich für die weitere Aufarbeitung der Proben als geeig-

netter, da für die optimale Entsalzung und Aufkonzentration der Proben ein pH-Wert < 4 vorliegen muss. Darüber hinaus kann eine zu hohe Erhitzung zur weiteren Denaturierung der Proteine führen.

	pH-Wert vor	pH-Wert nach tryptischem Verdau mit TFA
137	8,5	3,5
A Milchsäurecasein industriell	8,2	3,5
B Casein nach Hammersten	8,2	3,5
C Salzsäurecasein industriell	8,2	3,5
D Quark selbst hergestellt	8,0	3,5
E Salzsäurecasein selbst hergestellt	8,2	3,5
F Milchsäurecasein selbst hergestellt	8,0	3,5

15.9.3 Ermittlung der erforderlichen Probenmenge

Probe 137 wurde in drei Gewichtsanteilen behandelt und die Peptidsequenzen gemessen.

137	2,1 mg/ml Ammoniumbicarbonatpuffer + 40 µl/ml Trypsin (1mg/ml)
137/1	5,6 mg/ml Ammoniumbicarbonatpuffer + 40 µl/ml Trypsin (1mg/ml)
137/2	13,4 mg/ml Ammoniumbicarbonatpuffer + 40 µl/ml Trypsin (1mg/ml)

Anhand der Messergebnisse mit MALDI-LR zeigte sich, dass mindestens eine Konzentration von 13,4 mg/ml erforderlich ist, um eine gute Signalintensität zu erreichen, weil die Proben durch den Kalk und den Quarzsand stark verunreinigt waren.

15.9.4 Vergleich der Produkte ZIP TP SCX und ZIP TIP 18 zur Entsalzung, Reinigung und Konzentrierung der Proben

Folgende Arbeitsgänge wurden nach Anweisung ausgeführt:

ZIP TIP SCX

Protokoll:

Equilibrieren: 3 x 10 µl Waschlösung (30 % Methanol/ 0,1 % TFA)

Binden: 10-15 x 10 µl Probe

Waschen: 5 x 10 µl Waschlösung

Elution: 2 x 2 µl Elutionslösung (5 % NH₄OH/30 % Methanol)

Mit 4 µl Matrix versetzen und auf das MALDI-Plate auftragen.

ZIP TIP C18

Protokoll:

Benetzen: 2 x 10 µl mit Acetonitril

Equilibrieren: 2 x 10 µl mit Bidest 0,1 % TFA waschen

Binden: 10 x 10 µl Probe

Waschen: 2 x 10 µl mit Bidest 0,1 % TFA waschen

Elution: 4 µl (50 % Acetonitril/0,1 % TFA)

Mit 4 µl Matrix versetzen und auf das MALDI-Plate auftragen.

Messungen mit MALDI am 29. 03. 2010

Probenvorbereitung:

Die Caseine wurden im Vorfeld über Nacht in Ammoniumbicarbonatpuffern bei pH 8 gelöst, 90 Min. verdaut und mit TFA gestoppt.

Casein A und B wurden mit ZIP TIP C 18 und ZIP TIP SCX gereinigt.

Es konnte festgestellt werden, dass für die Aufreinigung und Aufkonzentrierung die ZIP TIP C18-Phase besser geeignet ist, da sich hier eine deutliche Verbesserung der Spektren zeigte.

Bei dem ZIP TIP SCX ging ein zu großer Teil der Peptide verloren.

15.9.5 Vorbereitung der Proben zur Messung mit MALDI-LR

Probenvorbereitung

10 mg Casein + 0,5 ml Ammoniumbicarbonatpuffer (pH 8) innerhalb von 24 Std. lösen

Trypsin Herstellung

1 mg/ml Trypsin in 50 mMol Ammoniumbicarbonatpuffer

Caseinverdau

1 ml Caseinlösung mit 40 µl Trypsinlösung 10 Min. bei 37 °C inkubieren, mit 5 µl TFA
Trifluoressigsäure stoppen, auf pH-Wert 4 > einstellen

Matrix für die Kristallbildung der Lösung

Matrix 1

100 mg/ml α -Cyano-Hydroxy-Zimtsäure in

50 Vol% Acetonitril

50 Vol% Ethanol

0,1 Vol% TFA

Herstellung des Peptidstandards zur Kalibrierung

Zur Anwendung kamen:

Angiotensin 1296,3

Bradykinin 1060,2

Neurotensin 1672,92

ACTH 18-39 2465,7

Renin 1759,0

15 ml Peptidmix (50 pmol/µl) wurden mit 15 µl Matrix gemischt. 1 µl davon wurde pro Spot auf das MALDI-PLATE aufgetragen.

Lebenslauf

Name	Kerstin Bärbel Klein
Anschrift	Holbeinstraße 12 30177 Hannover
Geburtsdatum/-ort	27. 1. 1965 Furtwangen/Schwarzwald
Ausbildung	1. 7. 1984-1. 7. 1987 Restaurierungswerkstätte Baldszuhn in Altenheim: Restaurierung und Konservierung von Wandmalereien, Stein- und Holzobjekten
Studium	21. 9. 1989-6. 7. 1993 Fachhochschule Hildesheim/Holzminde Studiengang Restaurierung, Fachrichtung Wandmalerei und Steinobjekte
Studienabschluss	Diplomrestauratorin (FH) Thema der Diplomarbeit: Wachsseifen und Wachsemulsionen als Bindemittel und die Möglichkeit ihrer Anwendung bei der Retusche, mit einem Beitrag über die Geschichte der Wachse
Postgraduiertenstudium	1. 10. 2002-31. 10. 2003 Otto-Friedrich-Universität Bamberg/Fachhochschule Coburg Studiengang Denkmalpflege Heritage Conservation
Studienabschluss	Master of Arts Denkmalpflege Heritage Conservation Thema der Masterarbeit: Die katholische Kirche St. Johannes der Täufer in Klo- ster Lage/Rieste – Die Konservierung und Restaurierung der Raumschale und der Ausstattung
Berufstätigkeit/Projekte	1. 1. 1988-18. 8. 1989 Restaurierungsunternehmen Kramer/Fulda März. und Juli bis Oktober 1990 Restaurierungsunternehmen Kramer/Fulda 20. 9. 1993-6. 7. 1994 Niedersächsisches Landesverwaltungsamt – Institut für Denkmalpflege: Mitwirkung am Forschungsprojekt zum Thema Steinkonservie- rung am Jagdschloss Clemenswerth/Emsland 15. 5. 1994-30. 9. 1994 Niedersächsisches Landesverwaltungsamt – Institut für Denkmalpflege: Mitwirkung am Forschungsprojekt „Nutzen oder Schaden durch Freilegung historischer Wandmalerei“

- Berufstätigkeit/Projekte** 1. 10. 1994-30. 9. 1997 Fachhochschule Hildesheim/Holzmin-
den
Leitung der Kooperation zwischen dem Niedersächsischen Landesverwaltungs-
amt - Institut für Denkmalpflege und der Fachhochschule Hildesheim/Holzmin-
den
- Seit dem 1. 10. 1997 Niedersächsisches Landesamt für Denkmalpflege:
Amsrestauratorin mit den Schwerpunkten Wandmalerei, historische Architek-
turoberflächen und Stuck
- 1997-1999 Niedersächsisches Landesamt für Denkmalpflege: Mitwirkung am
von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt geförderten Modellvorhaben „Ret-
tung umweltgeschädigter Wandmalereien in Gut Altenkamp/Niedersachsen“
- 1998-2002 Niedersächsisches Landesamt für Denkmalpflege: Mitwirkung am
von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt geförderten Modellvorhaben (ge-
meinsam mit der Universität Hannover, Institut für Technische Chemie,
und der Universität Oldenburg) „Innovative Verfahren zur Abnahme von Ka-
sein-Überzügen auf Wandmalereien – Entwicklung von gesundheits- und um-
weltfreundlichen Abnahmemethoden wandmalereizerstörender organischer
Überzüge und Erprobung an ausgewählten Kulturgütern Niedersachsens“
- 2001-2004 Niedersächsisches Landesamt für Denkmalpflege: Modellvorhaben
(gemeinsam mit der Fachhochschule Hildesheim/Holzmin- den/Göttingen) „Me-
thodenentwicklung zur praxisorientierten Erfassung von Mikroben an Kunstob-
jekten“

Auswahl von Publikationen- 1995 Restauero München

- zum Thema Bindemittel-** Kerstin Klein
„Wachsseifen und Wachsemulsionen als Bindemittel“
- 2001 Arbeitshefte des Bayerischen Landesamtes für Denkmalpflege
Konservierung von Wandmalerei
Kerstin Klein
„Der Einsatz von Enzymen in der Restaurierung von Wandmalereien“
- 2001 Berichte zur Denkmalpflege in Niedersachsen
Kerstin Klein
„Ein innovatives Verfahren zur enzymatischen Abnahme von schädigenden Ka-
seinüberzügen auf Wandmalereien“

Auswahl von Publikationen 2002 Restauro München (Teil I)

zum Thema Bindemittel Kerstin Klein/Sascha Beutel

„Schädigende Kaseinüberzüge auf Wandmalereien“

2002 Restauro München (Teil II)

Kerstin Klein

„Schädigende Kaseinüberzüge auf Wandmalereien“