

## Einsatz von selektiv enzymatisch modifizierten Molkenproteinen als Emulgier- und Bindemittel zur Optimierung von aufschlagfähigen Desserts auf Basis von Milchfette-mulsionen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik (DIL), Quakenbrück Dr. H.-D. Jansen/Dipl.-Ing. H. Rohenkohl
<b>Forschungsstelle II:</b>	Hochschule Anhalt (FH), Köthen FB Lebensmitteltechnologie, Biotechnologie, Verfahrens- und Umwelt- technik FG Lebensmittelverfahrenstechnik/Milchtechnologie, Prof. Dr. T. Kleinschmidt/Dr. G. Konrad
<b>Industriegruppe:</b>	Milchindustrie-Verband e.V., Bonn
	Projektkoordinator: D. Gorzki Frischli Weißenfels GmbH, Weißenfels
<b>Laufzeit:</b>	2002 – 2003
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 272.450,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Zu den industriell hergestellten Desserts gehören u. a. Pudding-, Joghurt-, Quark- und Mousseprodukte, Cremefüllungen und Speiseeis. Diese Produkte unterscheiden sich im pH-Wert und lassen sich hinsichtlich des Aufbaues von Textur und Struktur in zwei Gruppen einteilen: in geschäumte und nicht geschäumte Desserts, deren Textureigenschaften und Schaumstrukturen durch Zusatz von Proteinen, niedermolekularen Emulgatoren, Hydrokolloiden und modifizierten Stärken erreicht werden und geschäumte Desserts, deren Schaumstrukturen durch Aufbau eines Fettagglomeratgerüsts durch partielle Koaleszenz der Fettpartikel stabilisiert werden. Für die gezielte Destabilisierung des Fettes erfolgt der Einsatz niedermolekularer Emulgatoren. Zu dieser Produktgruppe gehören Speiseeis, Cremefüllungen, geschlagene Sahne und Toppings.

Von der Milchindustrie wird eine Vielzahl funktioneller Milch- und Molkenprotein-Compounds mit unterschiedlichen Proteingehalten angeboten. Für die Herstellung von Desserts, insbesondere von geschäumten Produkten, werden diese in Kombination mit niedermolekularen

Emulatoren und Hydrokolloiden eingesetzt. Bis heute fehlt es jedoch an preiswerten funktionellen Milch- und Molkenproteinen, die einen Austausch des Milchpulvers ohne Qualitätsverluste ermöglichen. Weiterhin fehlt es an funktionellen Milch- und Molkenprotein-Rohstoffen, die eine ausreichende Schaumbildung und insbesondere eine Destabilisierung der Phasengrenze zum Fett ermöglichen, so dass Dessertprodukte mit reduziertem Anteil an Stabilisatoren und niedermolekularen Emulgatoren produziert werden können. Die funktionellen Eigenschaften des Molkenproteins lassen sich durch Modifizierungen gezielt verändern. Enzymatische Modifizierungen wurden bisher nur am stark aufkonzentrierten oder isolierten Molkenprotein vorgenommen, ein hohes Einsatzpotential kann aufgebaut werden, wenn die gezielte Verbesserung der Funktionalität der Molkenproteine durch selektive Proteolyse direkt in Molke und Konzentraten durchgeführt und standardisiert werden kann. Ziel des Projektes war die Entwicklung von modifizierten Molkenproteinprodukten als funktioneller Rohstoff für die Herstellung von geschäumten Desserts auf Basis geschäumter Emulsionen durch eine limitierte partielle Pepsinhydrolyse von Molkenprotein.

### Forschungsergebnis:

Die Modifizierung der funktionellen Eigenschaften durch eine peptische Partialhydrolyse wurde in Molke und in WPC-35 durchgeführt. Die systematischen Versuche zur Pepsinhydrolyse von WPC-35 erfolgten in Abhängigkeit von der Substratkonzentration, des Enzym-Substrat-Verhältnisses, des pH-Wertes, der Temperatur und der Reaktionsdauer und wurden unter pH-stat-Bedingungen durchgeführt, wobei die Zunahme des  $\alpha$ -Amino-Stickstoffs mit der Cu-Carbamat-Methode verfolgt wurde. Der im Labor gefundene Reaktionsverlauf ließ sich im Pilotmaßstab wiederholen.

Die Auswertung der Elutionsprofile der Größenausschluss-Chromatographie (SE-FPLC) unter Verwendung der Superose 12-Säule ergab, dass zu Beginn der Pepsinhydrolyse das thermisch geschädigte  $\beta$ -Lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) und das Bovine Serumalbumin (BSA) proteolysiert werden. Die Ergebnisse sprechen dafür, dass dem eigentlichen hydrolytischen Abbau eine Auffaltung der molekularen Struktur des Molkenproteins durch das Enzym vorhergeht. Dies lässt sich belegen durch eine Trübungszunahme zu Beginn der Hydrolyse. Der hydrolysierbare Anteil vom  $\beta$ -Lg entsprach dem mit einer spektrophotometrischen Methode ermittelten Denaturierungsgrad dieses Proteins im WPC-35. Im weiteren Verlauf der peptischen Molkenproteinhydrolyse wird das  $\alpha$ -Lactalbumin kontinuierlich abgebaut, so dass die weitere Zunahme an freiem  $\alpha$ -Amino-Stickstoff diesem Protein zugeschrieben werden muss. Das native  $\beta$ -Lg ist pepsinresistent und bleibt unversehrt.

Die funktionellen Eigenschaften wurden in Modellsystemen und Standardrezepturen untersucht. Mit zunehmendem Hydrolysegrad ist eine deutliche Abnahme der Grenzflächenspannung festzustellen. Hinsichtlich der Emulgier- und Schaumeigenschaften sowie der Oberflächen-Hydrophobizität stellten sich in Modellsystemen in Abhängigkeit vom Abbaugrad zwei Optima ein, die sich stets bei Hydrolyseraten von 1-1,5% und 5,8% wiederholten. Die deutliche Verschlechterung der funktionellen Eigenschaften bei Hydrolyseraten  $>6,5\%$  wird den zu kleinen Peptiden und der steigenden Oberflächen-Hydrophobizität zugeschrieben. Bei keinem Abbaugrad wurden Bitterpeptide sensorisch nachgewiesen. Die Enzymkosten für eine peptische Modifizierung von 100 kg WPC-35 belaufen sich auf etwa 3 bis 6 €, je nach eingesetzter tatsächlicher Enzymaktivität.

Zur weiteren Beurteilung der funktionellen Eigenschaften wurden rekombinierte Emulsionen (Toppings) hergestellt. Unter Einsatz der partiell hydrolysierten Molkenproteine stellten sich kleinere Fetttropfendurchmesser ein. Mit zunehmendem Hydrolysegrad wurden tendenziell verringerte Anteile an extrahierbarem Fett gemessen. Eine mechanische Beanspruchung der Emulsionen führte zur partiellen Destabilisierung der Fettmembran. Entsprechend der Versuche in Modellsystemen konnten auch hier zwei Bereiche bei Hydrolyseraten von 1-1,5% und 5,8% festgestellt werden, in denen die Emulsionen eine erhöhte Scherstabilität aufwiesen. Für eine Anwendung im Dessert-Bereich wird eine möglichst hohe Stabilisierung bei Emulsionen mit geringem Fettgehalt angestrebt, während bei aufschlagfähigen Emulsionen (Fettgehalt  $> 25\%$ ) eine gezielte Destabilisierung der Fettmembran für den Aufbau eines Fettagglomeratgerüsts gefordert wird. Somit kann das partiell hydrolysierte Molkenprotein für die jeweilige Anforderung angepasst werden. In fettfreien Schäumen konnte unter Einsatz der partiell hydrolysierten Molkenproteine erhöhte Verschäumungskapazitäten festgestellt werden, wobei die Ergebnisse stark abhängig waren von der Zusammensetzung des Produktes.

### Wirtschaftliche Bedeutung:

Das vorliegende Projekt ist von erheblicher wirtschaftlicher Bedeutung, insbesondere für kleinere und mittlere Unternehmen in den Bereichen Molkeverarbeitung, Zutaten- und Compoundhersteller, für alle Produzenten im Bereich der Dessurtherstellung sowie für die Hersteller von Verschäumungsanlagen. Es liefert wichtige grundlegende Erkenntnisse zur Funktionalität von Molkenproteinen in geschäumten Desserts. Auf der Basis Ergebnisse sind Lösungsansätze für die Herstellung neuartiger Produkte sowie für die Herstellung von geschäumten Desserts zu erwarten und bieten insbesondere mittelständischen Unternehmen eine Basis, die Herstellungstechnologie den neuen Produkten anzupassen.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2004.
2. Rohenkohl, H.: Einsatz von selektiv enzymatisch modifizierten Molkenproteinen als Emulgier- und Bindemittel zur Optimierung von aufschlagfähigen Desserts auf Basis von Milchfette-Emulsionen. Jahresbericht Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik, Quakenbrück, 31-35 (2002). Jahresbericht Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik, Quakenbrück, 33-37 (2003).
3. Konrad, G., Kleinschmidt, T. und Rohenkohl, H.: Enzymatische Modifizierung von Molkenproteinkonzentrat zur Verbesserung der Schaum- und Emulgiereigenschaften. Teil I: Peptische Partialhydrolyse. Dt. Milchwirt. 55 (18), 722-723 (2004). Teil II: Auswirkungen auf die Oberflächeneigenschaften im Modellsystem. Dt. Milchwirt. 55 (19) 780-783 (2004).
4. Konrad, G., Kleinschmidt, T., Rohenkohl, H. und Reimerdes E.H.: Peptic partial hydrolysis of whey protein concentrate for modifying the surface properties of whey protein. I. Optimization of the hydrolysis conditions. Milchwiss. 60 (1), 59-62 (2005).
5. Konrad, G., Kleinschmidt, T., Rohenkohl, H. und Reimerdes E.H.: Peptic partial hydrolysis of whey protein concentrate for modifying the surface properties of whey protein. II. Effects on the emulsifying and foaming properties. Milchwiss. 60 (2), 195-198 (2005).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.  
(DIL)  
Prof.-v.-Klitzing-Str. 7, 49610 Quakenbrück  
Tel.: 05431/183-0, Fax: 05431/183114  
E-Mail: [info@dil-ev.de](mailto:info@dil-ev.de)

Hochschule Anhalt (FH)  
FB Lebensmitteltechnologie, Biotechnologie,  
Verfahrens- und Umwelttechnik,  
FG Lebensmittelverfahrenstechnik/Milch-  
technologie  
Bernburger Str. 55, 06366 Köthen  
Tel.: 03496/67-472, Fax: 03496/67-480  
E-Mail: [gerd.konrad@lbv.hs-anhalt.de](mailto:gerd.konrad@lbv.hs-anhalt.de)

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150  
E-Mail: [fei@fei-bonn.de](mailto:fei@fei-bonn.de)