

Herstellung und funktionelle Eigenschaften von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Abt. Technologie, Freising-Weihenstephan Prof. Dr. U. Kulozik/M.Sc. J. Toro
Industriegruppe:	Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM, Freising-Weihenstephan
	Projektkoordinator: Dr. A. Wolfschoon, Kraft Food R&D Inc., München
Laufzeit:	2008 – 2011
Zuwendungssumme:	€ 259.400,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Mikropartikulierte Molkenproteine, hergestellt aus Molkengesamtprotein, d.h. aus α -La/ β -Lg-Gemischen, haben sich für praktische Einsätze innerhalb kurzer Zeit sehr bewährt. Diese werden in Milchprodukten und anderen Lebensmitteln eingesetzt, um überwiegend drei Hauptziele zu erreichen: zur Reduzierung des Fettgehaltes, zur Verbesserung der sensorischen Qualität sowie zur Erhöhung der Produktausbeute, wobei die ersten zwei Ziele oft kombiniert werden. Aufgrund der unterschiedlichen molekularen Eigenschaften der individuellen majoren Molkenproteinen ist zu vermuten, dass sich Aggregate aus den einzelnen Molkenproteinen in einer unterschiedlichen Weise ebenfalls hochfunktionell sind. Durch den Einsatz der einzelnen Proteinfraktionen in Form von Mikropartikeln können deren individuelle positiven ernährungsphysiologischen Eigenschaften mit neuartigen technologischen Partikelfunktionalitäten verbunden werden. Da allerdings über die Herstellung von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen und ihre technologisch relevanten Eigenschaften kaum etwas bekannt ist, war es Ziel des Forschungsvorhabens, dies sowohl in Modelllösungen als auch in komplexen Produktsystemen zu untersuchen.

Forschungsergebnis:

Zur Analyse der Molkenproteine wurde im Rahmen des Vorhabens eine Methode mittels HPLC entwickelt, die pro Probenlauf nur 15 min anstelle von bislang 30 min benötigt. Dies war wichtig für die weiteren Schritte des Vorhabens, ist aber auch für die Praxis zur Steigerung der Effizienz in Laboren und zur Prozessbegleitung von großer Bedeutung. Die entwickelte Methode erlaubt es zudem, mit unterschiedlichen Lösungsmitteln zu arbeiten (Methanol, Acetonitril), so dass nun bei Preisschwankungen am Markt bzw. bei Verknappung (wie im Verlauf des Vorhabens geschehen) größere Flexibilität bezüglich Auswahl des kostengünstigsten bzw. verfügbaren Lösungsmittels besteht.

Des Weiteren wurde eine optimierte Fraktionierungsmethode im Pilotmaßstab für die Gewinnung von reinem α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin entwickelt. Zusätzlich zu Milch und Molke bzw. Idealmolke wurde WPI als Ausgangsmaterial qualifiziert. Das Verfahren wurde mittels thermischer Behandlung zur selektiven reversiblen Aggregation von α -La, Membrantrennung und Renaturierung durchgeführt. Die entscheidende Größe ist neben der Wahl der bestgeeigneten Bedingungen in Bezug auf Temperatur/Zeit, Protein- und Laktosekonzentration der Zitratgehalt, der zur Destabilisierung

von α -La führt. Die jeweils aggregierte Komponente wird mittels Ultra-/Mikrofiltration (UF/MF) abgetrennt. Zur Stofftrennung (Retention der Aggregate, Permeation der nativen Fraktion) wurde eine Methode zur Optimierung der UF/MF-Trennleistung entwickelt, die praxisgerecht ist und die in Hinblick auf die Übertragung der Ergebnisse die spätere Prozessentwicklung erleichtert. α -La wurde einerseits irreversibel aggregiert, wobei die Aggregate bereits als Mikropartikel betrachtet und eingesetzt werden können, also keineswegs als Verlust anzusehen sind. Andererseits wurde eine Methode entwickelt, α -La in einen reversibel aggregierten Zustand zu überführen, so dass am Ende beide Fraktionen nativ erhalten werden können, was für die Babyfood-Industrie von Bedeutung ist, wenn β -Lg als Allergen ausgeschleust, aber trotzdem für andere Anwendungen als natives Molekül zur Verfügung stehen soll. Voraussetzung ist, dass eine Temperaturgrenze von 50 °C nicht überschritten wird, was allerdings lange Heißhaltezeiten erfordert. Die so hergestellten Aggregate lassen sich mit hoher Ausbeute (60 %) renaturieren, wobei auch BSA und Immunoglobuline in nativem Zustand erhalten werden. Das übrige α -La bleibt in denaturiertem, aber löslichem Zustand ebenfalls erhalten.

Im Vergleich zum Gemisch verhalten sich β -Lg und α -La in isolierter Form während der thermischen Behandlung grundsätzlich anders. Die Reaktivität beider Fraktionen ist deutlich höher als im Gemisch, insbesondere gilt dies für β -Lg. Es hat sich herausgestellt, dass Laktose einen starken Effekt auf beide Fraktionen hat, indem die Auffaltungsreaktion gehemmt wird. So lässt sich die Aggregationsreaktion in ihrer Geschwindigkeit und damit die Aggregatgröße modulieren. Dazu haben sich eine Absenkung des pH-Wertes auf 4,6 sowie eine Einstellung des Calcium:Protein-Verhältnisses aus 1:15 als weitere Faktoren zur Steuerung der Aggregationsgeschwindigkeit der Molkenproteinfraktionen ergeben. Aus den reaktionskinetischen Daten wurden Linien gleichen Effektes in Abhängigkeit von den Temperatur-Zeitbedingungen dargestellt, mit denen Unternehmen Erhitzungsprozesse zur gezielten Denaturierung beider einzelnen Fraktionen auslegen können.

Zur Mikropartikulierung der zuvor isolierten Fraktionen von β -Lg und α -La wurden zwei Ansätze untersucht und etabliert: die simultane thermisch-mechanische Behandlung im Schabewärmetauscher (SWT) und die sequentielle

Behandlung im Röhrenwärmetauscher mit anschließender Hochdruckhomogenisation. Die Eigenschaften von Mikropartikulen von β -Lg bzw. α -La unterscheiden sich markant von Partikulen aus der natürlichen Mischung. Dies äußert sich in den funktionellen Eigenschaften: Grenzflächenspannung, Hydrophobizität, Emulgierwirkung, Serumbindevermögen. Die mittels sequentieller Behandlung erzeugten Aggregate können durch Wahl der Scherintensität (Homogenisierdruck) im Grunde auf beliebige Partikelgrößen eingestellt werden. Es können grundsätzlich kleinere Mikropartikel erzeugt werden als beim simultanen Verfahren mit dem Schabewärmetauscher. Stellt man die Partikelgröße bei beiden Verfahren auf gleiche Werte ein, so ergeben sich auch ähnliche funktionelle Eigenschaften. Das sequentielle Verfahren erlaubt es auch denjenigen Unternehmen, Mikropartikel selbst zu erzeugen, die nicht über SWT verfügen.

Da Molkenpräparate üblicherweise als Pulver vertrieben und eingesetzt werden, stellte sich die Frage, ob sich durch Trocknung eine irreversible Veränderung der Mikropartikelgröße ergeben würde. Es wurde festgestellt, dass dies nicht der Fall ist. Nach Resuspendierung ergeben sich die gleichen Partikelgrößen wie in der Ausgangslösung vor der Trocknung. Dies gilt unabhängig von der Trocknungsbedingungen (Zu- und Ablufttemperaturen) und den Verfahren (Düsen- oder Scheibenzerstäubung).

An frühere Arbeiten der Forschungsstelle mit Mikropartikulen anknüpfend wurden Joghurt und Eiskrem als Modellprodukte gewählt, um die funktionellen Eigenschaften der individuellen Mikropartikel im Vergleich zu Mischpartikulen zu demonstrieren. Beurteilungskriterien waren Serumbindevermögen, Abschmelzverhalten, Gelfestigkeit und Fließigenschaften. Beide Fraktionen haben in mikropartikulierter Form in Joghurt vollständig andere funktionelle Eigenschaften als die zuvor untersuchten Mischpartikulate. Als besonders interessant erwies sich der Einsatz von α -La-Mikropartikulen. Es konnte ein deutlich gesteigerter sensorischer Eindruck im Sinne von Fettempfinden festgestellt werden. β -Lg-Partikel erwiesen sich als besonders scherstabil, was deren Einsatz in Produkten mit nachfolgender Scherbelastung oder -behandlung empfehlenswert macht. Alle Mikropartikel bleiben bei variablen pH-Werten stabil, unabhängig davon, bei welchem pH-Wert sie erzeugt wurden.

In Eiskrem ist das Abschmelzverhalten deutlich besser als in einer Standardrezeptur bzw. auch besser als in einer Eiskrem mit Mischpartikulaten, wenn 50 % des Magermilchpulvers durch Molkeprotein-Mikropartikulate ersetzt wurde. Im Vergleich zu einer früheren Studie der Forschungsstelle, bei der durch Mikropartikulateinsatz bestenfalls das Verhalten der Standardrezeptur erreicht werden konnte, waren die Ergebnisse deutlich besser.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Ergebnisse des Vorhabens werden vornehmlich Anwendung finden im Bereich der Milchindustrie. Dieser Sektor erwirtschaftet in Deutschland mit insgesamt ca. 240 Unternehmen und ca. 40.000 Mitarbeitern einen Gesamtjahresumsatz von ca. 21,1 Mrd. €; 200 Unternehmen der Branche sind als kmU einzustufen.

Das Vorhaben liefert einen Beitrag zu neuen Wegen der Gestaltung von Milchprodukten durch Einsatz von einzeln mikropartikulierten Molkenproteinen. Die Partikel unterscheiden sich von Mikropartikulaten aus dem Gemisch von Molkenproteinen. Neben den Modellprodukten Joghurt und Eiskrem, bei denen die funktionellen Eigenschaften der Mikropartikulate demonstriert wurden, dürften sich auch in Käseprodukten oder Nicht-Milchprodukten praktische Anwendungen ergeben.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.
2. Toro-Sierra, J., Schumann, J. und Kulozik U.: Impact of spray-drying conditions on the particle size of microparticulated whey protein fractions. *Dairy Sci. Technol.* 93, 487-503 (2013).
3. Toro-Sierra, J., Tolkach, A. und Kulozik, U.: Fractionation of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin from whey protein isolate using selective thermal aggregation, an optimized membrane separation procedure and resolubilization techniques at pilot plant scale. *Food Bioproc. Technol.* 6 (4), 1032-1043 (2013).
4. Toro-Sierra, J., Schumann, J. und Kulozik, U.: Herstellung von mikropartikuliertem Molkenprotein mittels Hochdruckhomogenisation: Jahresbericht Zentralinst. f. Ernährungs- u. Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL), TU München 55, ISBN 978-3-939182-52-8, 111-113 (2012).
5. Gebhardt, R., Toro-Sierra, J. und Kulozik, U.: Pressure dissociation of β -Lactoglobulin oligomers near its isoelectric point – Pressure dissociation of β -Lactoglobulin oligomers near their isoelectric point. *Soft Matt.* 46, 11654-11660 (2012).
6. Lisak, K., Toro-Sierra, J., Kulozik, U., Bozanic, R. und Cheison, S. C.: Chymotrypsin selectively digests β -Lactoglobulin in whey protein isolate away from enzyme optimal conditions: Potential for native α -Lactalbumin purification. *J. Dairy Res.* 1-7 (2012).
7. Toro-Sierra, J. und Kulozik, U.: Mikropartikulierte Molkenproteinfraktionen und deren Einsatz bei der Strukturgestaltung von Milchprodukten. *Proc. 5th Symp. Produktgestaltung in der Partikeltechnologie, Fraunhofer ICT, Pfinztal (Berghausen)*, ISBN 978-3-8396-0246-1, 389 (2011).
8. Toro-Sierra, J., Naarmann, A. und Schumann, J.: Funktionalität von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in Eiskrem. *Jahresbericht Zentralinst. f. Ernährungs- u. Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL), TU München 54*, ISBN 978-3-939182-43-6, 135-138 (2011).
9. Toro-Sierra, J. und Kulozik, U.: Optimization of spray drying conditions of microparticulated whey proteins in laboratory and pilot plant scale towards minimization of particle size. *Proc. 5th Nordic Drying Congr., Espoo, Finnland*, ISBN 978-82-92739-98-3 und 978-82-92739-84-6, 35 (2011).
10. Cheison, S. C., Leeb, E., Toro-Sierra, J. und Kulozik, U.: Influence of hydrolysis temperature and pH on the selective hydrolysis of whey proteins by trypsin and potential recovery of native alpha-lactalbumin. *Inter. Dairy J.* 21 (3), 166-171 (2011).
11. Toro-Sierra, J., Dachmann, E. und Kupfer, J.: Herstellung von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen. *Jahresbericht Zentralinst. f. Ernährungs- u. Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL), TU München 53*, ISBN 978-3-939182-34-4, 113-116 (2010).
12. Toro-Sierra, J., Kulozik, U. und Tolkach, A.: Modelling the effect of shear stress on the formation of β -Lactoglobulin (β -Lg) micro-particles during heat treatment of whey protein solutions, *Proc. Wrlld. Congr. Particle Technol.* 6, Nürnberg, Germany (ISBN 978-3-00-030570-2) (2010).

13. Toro-Sierra, J. und Tolkach, A.: Modellierung des Schereffektes bei der Bildung von Mikropartikeln aus β -Laktoglobulin (β -Lg) während der Hitzebehandlung von Molkenproteinlösungen. Jahresbericht Zentralinst. f. Ernährungs- u. Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL), TU München 52, 110-112 (2009).

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und
Lebensmittelforschung, Abt. Technologie
Weihenstephaner Berg 1
85350 Freising-Weihenstephan
Tel.: +49 8161 71-4205
Fax: +49 8161 71-4384
E-Mail: ulrich.kulozik@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

