

Einsatz eines neuartigen Antifreeze-Proteins aus marinen Ressourcen (Kieselalgen) in tiefgekühlten Teiglingen

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I:	ttz Bremerhaven, BILB/EIBT Prof. Dr. Klaus Lösche/Julien Huen
Forschungsstelle II:	Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven Prof. Dr. Karin Lochte/Dr. Gerhard Dieckmann/ Dr. Maddalena Bayer-Giraldi
Industriegruppen:	Verband Deutscher Großbäckereien e.V., Düsseldorf Der Backzutatenverband e.V., Bonn
	Projektkoordinator: C. Wiechmann Martin Braun Backmittel und Essenzen KG, Hannover
Laufzeit:	2011 - 2014
Zuwendungssumme:	€ 407.220,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die Nachfrage nach tiefgekühlten Teiglingen und Backwaren ist groß. Auch sonntags beispielsweise haben Konsumenten den Anspruch, frisch gebackene, qualitativ hochwertige Brötchen zu konsumieren. Mithilfe des Gefrierens von Teiglingen und Backwaren ist es möglich, Produktionsprozesse zu unterbrechen und jederzeit vielfältigste Waren frisch anbieten zu können. So bieten Supermärkte ihren Kunden Tiefkühl(TK)-Backwaren oder über Bake-off-Stationen gebackene Brötchen an, die den Märkten als TK-Teigling geliefert werden. Für Bäckereien, die durch TK-Ware auf Vorrat produzieren können, stellt der Einsatz von TK-Teiglingen eine enorme Arbeitserleichterung dar.

Durch den Vorgang des Tiefgefrierens müssen zurzeit zum Teil erhebliche Einbußen in der Qualität der Produkte hingenommen werden. Ursache der Qualitätseinbußen bei TK-Teiglingen ist u.a. die Entstehung großer Eiskristalle, die u.a. durch mechanische Beanspruchung von Zellwänden oder Glutenstrukturen die Teigmatrix schädigen. Es kommt zu Volumenverlusten, einer Reduzierung der vitalen Hefezellen und einer Beschädigung der Krumenstruktur. Das Kristall-

wachstum (Kristallisation) im Teig beginnt prinzipiell nach einer Unterkühlung des Wassers. Die Bildung der Kristalltextur (grob- oder feinkörnig) ist dabei von dem Verhältnis von Keimbildungsrate zu Kristallwachstumsgeschwindigkeit abhängig. Je größer dieses Verhältnis ist, desto kleiner werden Eiskristalle strukturiert. Beim Gefrieren sollten große Eiskristalle vermieden werden. Hierfür ist eine hohe Gefriereschwindigkeit nötig, um die Keimbildungsrate in der gefrierenden Matrix zu maximieren. Zudem ist eine konstante, niedrige Lagertemperatur notwendig, um das Wachstum großer Eiskristalle auf Kosten kleinerer (Rekristallisation) zu verhindern. Um optimale TK-Bedingungen für Backwaren erfüllen zu können, muss schockgefroren (Umgebungstemperatur von -40 °C) und eine Lagertemperatur von -18 °C bis -20 °C eingehalten werden.

Einige polare oder kältetolerante Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen verfügen über Antifreeze-Proteine (AFP), die in der Lage sind, die Rekristallisation von Eiskristallen zu verhindern und den Gefrierpunkt zu erniedrigen. Die Entdeckung und Isolierung eines speziellen, hochaktiven AFP aus der Meeres-Kieselalge *Fragilariopsis cylindrus* (fcAFP) durch Forschungsstelle II bietet die

Möglichkeit, ein besonders effizientes AFP der Wirtschaft verfügbar zu machen.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, das Antifreeze-Protein fcAFP in seinen Wirkmechanismen zu charakterisieren und seine Eignung für den Einsatz in tiefgefrorenen Teiglingen zu überprüfen.

Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Vorhabens wurde eine Methode zur Herstellung des fcAFP im Labormaßstab optimiert. Diese ermöglichte Erträge von bis zu 70 mg fcAFP/L Kulturmedium. Der Einfluss verschiedener Prozessbedingungen sowie unterschiedlicher Backzutaten auf die Aktivität von fcAFP wurde in Modelllösungen untersucht. Das fcAFP verhinderte zuverlässig die Rekrystallisation in Modelllösungen im pH-Bereich 4 - 7 sowie in Anwesenheit von in Teigen üblichen Konzentrationen von Salz und Zucker. Es zeigte sich außerdem, dass ein Schockgefrieren unabdingbar ist, um eine feine Ausgangskristallstruktur herbeizuführen.

Eine Methode zur Untersuchung gefrorener Lebensmittel mit Schwerpunkt auf Teiglingen mittels konfokaler Raman-Mikroskopie wurde entwickelt. Referenz-Ramanspektren der wichtigsten Bestandteile gefrorenen Teiges (Stärke, Gluten, Eis, flüssiges Wasser, Hefe) wurden aufgenommen und definierte Bereiche innerhalb gefrorener Teigproben gemessen. Dies ermöglichte es, die räumliche Verteilung der einzelnen Teigbestandteile innerhalb der Proben zu visualisieren. Insbesondere konnte die Struktur der Phase Eis erstmalig charakterisiert werden. Dabei wurde deutlich, dass Eis im gefrorenen Teig eine kontinuierliche Phase bildet. Darüber hinaus zeigte sich, dass im Laufe der Lagerzeit größere (ca. 100 μm große) Kristallblöcke unregelmäßiger Form gebildet werden. Die Zugabe von fcAFP in Konzentrationsbereichen von 40 - 160 ppm hatte jedoch keinen Einfluss auf die festgestellte Eisverteilung.

Es wurden Backversuche durchgeführt, die sowohl handwerkliche als auch industrielle Prozesse abbildeten, und die Endgebäcke analytisch und sensorisch bewertet. Die Zugabe von fcAFP in Konzentrationsbereichen von 40 - 160 ppm ergab, konsistent zu den mikroskopischen Beobachtungen, keine Qualitätsveränderung.

Insgesamt konnte die dem Projekt zu Grunde liegende Hypothese in Bezug auf die Anwendbarkeit in gefrorenem Teig nicht bestätigt wer-

den. Dennoch lieferte das Projekt wichtige, praxisrelevante neue Erkenntnisse. Die entwickelten Methoden zur Untersuchung der Eisverteilung in gefrorenem Teig können gewinnbringend bei der Entwicklung und Optimierung von TK-Lebensmitteln generell eingesetzt werden. Die Erkenntnisse über die Aktivität des fcAFP in Modelllösungen eröffnen den Weg für die Entwicklung neuer Anwendungen innerhalb und außerhalb der Lebensmittelbranche, bei Produkten und Systemen mit hohem Wasseranteil.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Tiefgefrorene Lebensmittelprodukte stellen heute einen beträchtlichen Markt dar, der weltweit auf ca. 150 Mrd. € geschätzt wird. Qualitätsverluste werden in nahezu allen Anwendungen festgestellt. Das Projekt hat gezeigt, dass Antifreeze-Proteine nicht für alle Produkte eine geeignete Lösung darstellen können. Es gilt nun, die potentialreichsten Anwendungsszenarien zu identifizieren. In der Backbranche erscheinen TK-Cremes und TK-Füllungen aufgrund ihres hohen Wassergehalts als besonders interessant. In anderen Zweigen der Lebensmittelwirtschaft können analog andere erfolgsversprechende Anwendungen identifiziert werden. Die im Projekt entwickelten Testprozeduren, insbesondere die Kryo-Raman-Mikroskopie, können auf andere Produkte leicht übertragen werden und eine schnelle Überprüfung der Wirksamkeit von Antifreeze-Proteinen in einer gegebenen Matrix ermöglichen.

Auch andere Branchen sind am Einsatz von Antifreeze-Proteinen interessiert. Dies ist insbesondere der Fall in der regenerativen Medizin, bei der Kryokonservierung von Zellen und Gewebe. Deshalb erscheint ein technisch-wissenschaftlicher Austausch über Branchengrenzen hinweg als besonders sinnvoll.

Unternehmen, die Proteine und Peptide herstellen, könnten von der AFP-Technologie besonders profitieren, da es heute weltweit keinen einzigen kommerziellen Anbieter von Antifreeze-Proteinen gibt. Eine enge Zusammenarbeit verschiedener wirtschaftlicher und wissenschaftlicher Akteure wird erforderlich sein, um diese Technologie erfolgreich am Markt zu implementieren.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2014.
2. Huen, J., Bayer-Giraldi, M., Weikusat, C., Weikusat, I., Ringer, L. und Lösche, K.: Controlling ice crystallization in frozen bakery

products. Review: Innovations. baking + biscuit intern., spec. edit., 68-72, f2m food multimedia (2014).

3. Huen, J., Weikusat, C., Bayer-Giraldi, M., Weikusat, I., Ringer, L. und Lösche, K.: Confocal Raman microscopy of frozen bread dough. J. Cer. Sci. <http://dx.Doi.org/10.1016/j.jcs.2014.07.012> (2014).
4. Bayer-Giraldi, M., Weikusat, I. und Isert, C.: Ice growth in the presence of an antifreeze protein. Cryobiol. 26 (3), 438 (2013).
5. Bayer-Giraldi, M. und Huen, J.: Antifreeze Proteins from a Sea Ice Diatom and their Applications. ICE Bulletin – Intern. Glaciol. Soc., 14 (2014).

Weiteres Informationsmaterial:

ttz Bremerhaven, BILB – EIBT
Am Lunedeich 12, 27572 Bremerhaven
Tel.: +49 471 97297-12
Fax: +49 471 97297-22
E-Mail: loesche@ttz-bremerhaven.de

Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung
Am Handelshafen 12, 27570 Bremerhaven
Tel.: +49 471 4831-1996
Fax: +49 176 29436803
E-Mail: Maddalena.Bayer@awi.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:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.