

Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen: wasserunlösliche Mikrokapselsysteme zur Stabilisierung und kontrollierten Freisetzung von bioaktiven Inhaltsstoffen aus der Heidelbeere

(Teilprojekt 3 im DFG/AiF-Cluster 1)

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/Dipl.-Ing. M. Betz
Industriegruppen:	Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V., Bonn Milchindustrie-Verband e.V., Berlin Fachverband Pektin e.V., Neuenbürg Bundesverband der obst-, gemüse- und kartoffelverarbeitenden Industrie e.V., Bonn Deutscher Verband der Aromenindustrie e.V., Meckenheim Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München
	Projektkoordinator: Prof. Dr. H.-U. Endreß Herbstreith & Fox KG, Neuenbürg
Laufzeit:	2008 – 2011
Zuwendungssumme:	€ 256.900,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Heidelbeeren, insbesondere Wildheidelbeeren, enthalten verschiedene Stoffgruppen, die sich positiv auf die Gesundheit des Menschen auswirken. Sie besitzen aufgrund eines hohen Anteils an Anthocyanen und Polyphenolen die höchste antioxidative Kapazität im Vergleich zu allen anderen Obst- und Gemüsearten und sind daher besonders als Zusatzstoffe für Functional-Food-Produkte geeignet. Viele dieser bioaktiven Substanzen sind jedoch relativ instabil, und sollten daher, wenn sie im Lebensmittel eingesetzt werden, vor den äußeren Milieubedingungen geschützt werden. Ihre Freisetzung soll dann am wirkungsvollsten Ort im Magen-Darm-Trakt stattfinden.

Um eine Stabilisierung der sensitiven Inhaltsstoffe sowie deren kontrollierte Freisetzung im Magen-Darm-Trakt zu ermöglichen, bietet sich die Technologie der Mikroverkapselung an. Im Be-

reich der wasserunlöslichen Mikroverkapselung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen als funktionelle Lebensmittelinhaltsstoffe existieren jedoch bisher kaum Erfahrungen. Der Einsatz von thermisch verfestigten Milchproteinen als Matrixmaterial gilt hierbei als viel versprechender Ansatz. Bisher existieren jedoch nur wenige Arbeiten zur Mikroverkapselung mittels hitzeinduzierter Gelbildung von Milchproteinen. Für medizinische Anwendungen hingegen wird der Einsatz von milchproteinbasierten Hydrogelen als Carriermatrix für die Verkapselung von Wirkstoffen seit einigen Jahren untersucht. Demnach bieten Milchproteine neben ihrer gesundheitlichen Unbedenklichkeit ideale technologische Eigenschaften für eine Matrixbildung sowie für die dadurch mögliche Verkapselung von bioaktiven Substanzen.

Ziel des Forschungsvorhabens (Teilprojekt 3 im [DFG/AiF-Cluster „Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“](#)) war

es, Techniken für die Mikroverkapselung von Blaubeerextrakt sowie daraus isolierten Inhaltsstoffen mittels thermisch induzierten wasserunlöslichen Milchproteingelen zu entwickeln und hinsichtlich ihrer Stabilisierungseigenschaften sowie ihrer Freisetzungskinetik zu optimieren. Als Basis für die Verkapselungstechnik diente ein Wasser-in-Öl-Emulgierprozess.

Forschungsergebnis:

Molkenproteinsysteme mit pH 1,5 und pH 3 wurden für die Verkapselung von Heidelbeerextrakt ausgewählt, da Anthocyane im sauren Milieu ihre maximale Stabilität aufweisen. Dabei stellte sich eine Proteinkonzentration von 20 % als optimal in Bezug auf die Heidelbeerextrakt-Retention und eine technische Umsetzbarkeit heraus. Zur thermischen Gelbildung der Proteinlösungen stellte sich eine Erhitzung auf 80 °C für 10 min als geeignete Kombination heraus. Ab dieser thermischen Belastung wurden bei geringem Anthocyanabbau wasserunlösliche Gele erhalten. Für beide pH-Werte konnte eine verkapselungsbedingte Stabilisierung der Anthocyanfraktion über eine Lagerungsdauer von 28 d im Vergleich zu wässrigen Lösungen festgestellt werden, wobei eine bessere Stabilisierung bei pH 1,5 erreicht wurde.

Die Mikrokapselherstellung aus den Molkenproteinlösungen erfolgte auf Basis der W/O-Emulsionsmethode mittels Rührkessel und 6-blättrigen Scheibenrührer. Mit dieser Apparatur konnten bei einem Dispersphasenanteil von 15 % durch Einsatz des Emulgators PCDL (Phosphatidylcholin depleted lecithin) Mikrokapseln mit mittleren Durchmesser von 20 -180 µm hergestellt werden. Mikrokapseln mit einem maximalen HBE-Gehalt von 10 % ließen sich nur mit pH 1,5 herstellen da bei pH 3 nachteilige Wechselwirkungen zwischen HBE-Komponenten und Molkenproteinen auftraten.

Das antioxidative Potenzial des HBE wurde mittels TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity)-Assay ermittelt. Bei der Mikrokapselherstellung mit Emulgator PCDL kam es aufgrund einer spezifischen PCDL-Anthocyan-Interaktion zu einem starken Anthocyanverlust und damit einem Verlust an antioxidativem Potenzial, weshalb auf den weiteren PCDL-Einsatz verzichtet wurde. Das (ohne Emulgatoreinsatz) mikroverkapselte HBE wies ein hohes antioxidatives Potenzial auf. Da der Anthocyangehalt bei der Erhitzung nahezu konstant blieb, ist die dabei beobachtete verkapselungsbedingte Abnahme

des antioxidativen Potenzials auf einen Verlust anderer antioxidativ wirksamer HBE-Komponenten zurückzuführen. Umfangreiche Zellkulturassays im Cluster-Teilprojekt 7 an der TU Kaiserslautern bestätigten zudem die Bioaktivität des mikroverkapselten Heidelbeerextraktes. Wie anhand von In-vitro- und Ex-vivo-Versuchen (Teilprojekt 6 an der Universität Halle, Teilprojekt 7, eigene Versuche) festgestellt wurde, erfolgt die Freisetzung aus den Molkenproteinmatrices im wässrigen Magen- und Dünndarmmilieu diffusiv und damit zeitabhängig. Durch die zeitverzögerte Freisetzung der verkapselten Anthocyane kann im Dünndarm (Zielort für die Anthocyanfreisetzung) einem kontinuierlichen Anthocyanabbau entgegengewirkt werden. Auf diese Weise ist es möglich, den Zeitraum, in dem eine konstante Konzentration stabiler Anthocyan-Flavyliumkationen im Dünndarm vorliegt, zu verlängern, was in Hinblick auf die Resorption und damit die Bioverfügbarkeit der Anthocyane als positiv zu beurteilen ist.

Zur Vermeidung des diffusiven Anthocyanverlusts vor dem Erreichen des Dünndarms wurden Coatings aus Schellack sowie niedrig- und hochschmelzenden Fetten auf die Mikrokapseln aufgebracht. Durch diese Coatings konnte die diffusive Freisetzung in simuliertem Magensaft signifikant reduziert werden. Neben der Stabilisierung der Anthocyane durch Verkapselung in Molkenproteingele wurde auch für die nativen Molkenproteine ein stabilisierender Effekt auf die Anthocyane beobachtet, der einem Anthocyanabbau bei pH-Werten im neutralen Bereich entgegenwirkte. Zur Ausnutzung dieses Stabilisierungseffektes wurden zusätzlich ein auf dem Verfahren der Sprühkühlung basierendes System zur Verkapselung einer nativen Heidelbeerextrakt-Protein-Lösung sowie ein wasserfreies Verkapselungssystem zur Verkapselung von HBE-Protein-Suspensionen in Fettmatrices entwickelt. Der unterschiedliche Charakter der Verkapselungssysteme ermöglicht es, produktspezifische Anforderungen bei der Auswahl eines geeigneten Kapseltyps zu berücksichtigen. Die verschiedenen Techniken zur Mikroverkapselung ermöglichen somit die Stabilisierung sowie kontrollierte Freisetzung des Heidelbeerextrakts.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Das Projekt leistet mit der Entwicklung von Technologien zur Verkapselung von bioaktiven Inhaltsstoffen einen Beitrag zur Entwicklung innovativer funktioneller Lebensmittelprodukte. Das Vorhaben liefert vor allem den meist weni-

ger forschungsintensiven kleinen und mittleren Unternehmen (KMU) die notwendigen Kenntnisse zur Umsetzung der neuen Produkt- und Verfahrenskonzepte und trägt somit zu einer Steigerung ihrer Wettbewerbsfähigkeit bei. Ein wirtschaftlicher Vorteil ergibt sich für KMU insbesondere dadurch, dass verkapselte Wirkstoffe aufgrund der Matrixunabhängigkeit in Produkten eingesetzt werden können, die bisher als nicht geeignet für sensitive Wirkstoffe angesehen wurden, wodurch neuartige funktionelle Lebensmittel geschaffen werden können.

Laut Schätzung von Experten lässt sich durch die mit einer Anreicherung funktioneller Zusatzstoffe einhergehende Aufwertung von Lebensmitteln ein durchschnittlicher, verbraucherakzeptierter Preisaufschlag von 20 % realisieren. Zwischen 1999 und 2001 wurden in Deutschland 305 „functional food“-Produkte eingeführt, das entspricht 19 % aller Produktinnovationen in diesem Zeitraum. 47 % dieser Produkte wurden von kleinen und mittleren Unternehmen eingeführt.

Von den Ergebnissen des Vorhabens werden insbesondere die Primärproduzenten, die Zulieferer für die Lebensmittelindustrie (Hersteller von Blaubeerextrakten bzw. Mikroverkapselungssystemen) und die Hersteller von Nahrungsergänzungsmitteln sowie die Hersteller von funktionellen Lebensmitteln profitieren. Für eine Anwendung der Ergebnisse kommen insbesondere folgende Produktgruppen in Frage: Milchprodukte, Cerealien, Fertiggerichte sowie Nahrungsergänzungsmittel in Pulverform (z.B. für Sportler oder Senioren).

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.
2. Betz, M., Garcia-González, C.A., Subrahmanyam, R.P., Smirnova, I. und Kulozik U.: Preparation of novel whey protein-based aerogels as drug carriers for life science applications. *J. Supercrit. Fluids* 72, 111-119 (2012).
3. Betz, M., Hörmansperger, J., Fuchs, T. und Kulozik, U.: Swelling behaviour, charge and mesh size of thermal protein hydrogels as influenced by pH during gelation. *Soft Matter* 8, 2477-2485 (2012).
4. Oidtmann, J., Schantz, M., Mäder, K., Baum, M., Berg, S., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Schwarz, K. und Richling, E.: Preparation and Comparative Release Characteristics of Three Anthocyanin Encapsulation Systems. *J. Agric. Food Chem.* 3, 844-851 (2012).
5. Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E. und Kulozik, U.: Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Res. Int.* 47, 51 (2012).
6. Landfeld, A., Matser, A., Strohalm, J., Oey, I., van der Plancken, I., Grauwet, T., Betz, M. et al.: Can qualitatively similar temperature-histories be obtained in different pilot HP units? *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 12 (3), 226-234 (2011).
7. Betz, M. und Kulozik, U.: Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. *Proc. Food Sci.* 1, 2047-2056 (2011).
8. Betz, M., Hörmansperger, J., Fuchs, T. und Kulozik, U.: Swelling behaviour, charge and mesh size of thermal protein hydrogels as influenced by pH during gelation. *Soft Matter* 8, 2477-2485 (2011).
9. Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierter Multikapselsystemen - Zentrale Ergebnisse des gleichnamigen DFG/AiF-Clusterprojektes. (Hrsg. FEI). ISBN 978-3-925032-49-3 (2011).
10. Betz, M. und Kulozik, U.: Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. In: *Proc. 11th Intern. Congr. Engin. Food, ICEF 2011, Athens, Greece, 22.-26.05.2011*, 675-676 (2011).
11. Betz, M. und Kulozik, U.: Whey protein gels for the entrapment of bioactive anthocyanins from bilberry extract. *Intern. Dairy J.*, 21 (9), 703-710 (2011).
12. Betz, M., Heidebach T. und Kulozik, U.: Endstation Dickdarm - Neuartige Milchprotein-Mikrokapseln als Wirkstoffvehikel. *Lab. & More* 2, 74-77 (2010).
13. Betz, M., Heidebach, T. und Kulozik, U.: Targeting the gut - Novel milk protein-based microparticles as vehicles for bioactive ingredients. *Lab. & More* 1, 34-37 (2010).
14. Betz, M. und Kulozik U.: Whey Protein Based Microparticles as Delivery Systems for Bioactive Compounds. *Proc. 13th Food Coll., Granada, Spain, 21.-24.3.2010*, 121 (2010).
15. Betz, M., Tolkach, A. und Kulozik, U.: Acidic whey protein gels for encapsulation of bioactive plant compounds. *5th Intern. Symp. Food Rheol. Structure, ISFRS 2009, Zürich, Schweiz, ISBN 978-3-905609-43-1*, 188-191 (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:



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.