

## Entwicklung neuer Konzepte zur Optimierung von Struktur und Sensorik fettreduzierter Lebensmittel durch Proteinfunktionalisierung und molekular-sensorische Methoden



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) Abt. Technologie Prof. Dr. Ulrich Kulozik/Caren Tanger  Technische Universität München School of Life Sciences Forschungsdepartment Molecular Life Sciences Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik Prof. Dr. Corinna Dawid/Prof. Dr. Thomas Hofmann
Industriegruppe(n):	Verband der Getreide-, Mühlen- und Stärkewirtschaft e.V. (VGMS), Berlin Kulinaria Deutschland e.V., Verband der Hersteller kulinarischer Lebensmittel, Bonn Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München e.V., Freising
Projektkoordinator:	Dr. Jakob Ley Symrise AG, Holzminden
Laufzeit:	2018 – 2021
Zuwendungssumme:	€ 494.540,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### **Ausgangssituation**

Bei 92 % der Verbraucher richtet sich die Kaufentscheidung bei Lebensmitteln nach der Erwartung auf die Erfüllung sensorischer Präferenzen. Neben Zucker und Salz steht hierbei Fett in direktem Zusammenhang mit den Genusseigenschaften der Produkte. Da Fett dementsprechend häufig in hoher Konzentration in Lebensmitteln enthalten ist, hat es sich zu einem Risikofaktor für ernährungsbedingte Erkrankungen entwickelt. Um dem entgegenzuwirken, wurden bereits vielfältige Konzepte für energiereduzierte Lebensmittel entwickelt. Jedoch scheiterte deren erfolgreiche Umsetzung häufig daran, dass die eingesetzten Fettersatzstoffe (z. B. Inulin) funktionell nur bedingt den Erwartungen der Verbraucher entsprachen oder bei zu hoher Dosierung z.T. unerwünschte physiologische Nebenwirkungen zur Folge hatten. Ein weiterer Nachteil einer Fettreduktion besteht, neben einer Verringerung des Produktvolumens, in einer negativen Beeinflussung der Produktstruktur. Die Struktur spielt jedoch oft eine entscheidende Rolle für das sensorische Profil eines Lebensmittels. Die Zusammenhänge zwischen Produktstruktur, Inhaltsstoffen und sensorischem Profil sind allerdings komplex und noch nicht ausreichend verstanden.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, Fett als energiereichen Lebensmittelbestandteil (physikalischer Brennwert: 39,1 kJ/g) durch optimierte und neue Verfahren unter Nutzung des Funktionalitätspotenzials von Proteinen (physikalischer Brennwert: 22,9 kJ/g) zu ersetzen bzw. zu ergänzen. Die geschmacksgebende und gleichzeitig strukturierende Funktion des Fettes soll vollständig oder partiell ersetzt werden. Hierzu wurde ein integrativer Ansatz zur Proteinfunktionalisierung durch Mikropartikulierung einheimischer Proteine bzw. Proteinhybridsysteme sowie eine molekular-sensorische Optimierung entwickelt. Um der Industrie eine umfassende Toolbox zur Verfügung zu stellen, die ein breites Anwendungs- bzw. Produktspektrum abdeckt, wurde das Strukturierungspotential der hergestellten Mikropartikelate sowohl in geschäumten als auch nicht geschäumten Modellmatrizes untersucht. Die Aufschäumbarkeit wurde dabei als prozesstechnischer Ansatz, einer Volumenverringerung durch Fettreduktion entgegenzuwirken, evaluiert. Zudem wurde die Möglichkeit einer Steigerung des Aroma- und Geschmacksempfindens durch Zugabe von Fettsäuren untersucht. Hierbei wurden neue Erkenntnisse zur stofflichen Interaktion mit Geschmacksrezeptoren einbezogen.

### **Forschungsergebnis**

Im Rahmen des Projektes wurden Mikropartikelate als Fettersatz aus Pflanzenproteinen mittels thermo-mechanischem Prozess hergestellt. Dazu wurden erst unterschiedliche kommerzielle Erbsen-, Kartoffel- und Molkenproteinisolate miteinander verglichen. Kommerziell erhältliches Erbsenprotein war im Gegensatz zu Kartoffel- und Molkenproteinisolat unlöslich und lag schon stark denaturiert und aggregiert vor. Daraus ergaben sich auch unterschiedliche Reaktionen während des Prozesses. Kartoffel- und Molkenproteine folgten dem vorher schon bekannten Prozess des „Bottom-up“, während die Mikropartikulierung von Erbsenproteinen ein „Top-Down“-Prozess war. Bei dem Bottom-up-Prozess werden native Proteine denaturiert und aggregieren während des Mikropartikulierens. Bei dem Top-Down-Prozess werden schon aggregierte Proteinpartikel umstrukturiert und zerkleinert.

Im kleinen Maßstab wurde herausgefunden, dass trotz der unterschiedlichen Prozesse Partikel mit geeigneten Eigenschaften zum Fettersatz aus den beiden Pflanzenproteinen hergestellt werden konnten. Pflanzenproteinmikropartikelate zeigten gegenüber Molkenproteinmikropartikelaten den Vorteil, dass sie überwiegend aus hydrophoben Wechselwirkungen zusammengehalten werden. Im Gegensatz dazu werden die Molkenproteinpartikel durch überwiegend Disulfidbrücken zusammengehalten, die die Partikel starrer und härter machen als Pflanzenproteinmikropartikelate.

Anschließend wurde das im Kleinversuch generierte Wissen auf den Technikumsmaßstab angepasst. Zum Mikropartikulieren von Pflanzenproteinen im Technikumsmaßstab wurde ein Extruder verwendet, um gleichzeitig zu scheren und zu erhitzen. Prozessparameter, wie Temperatur, Massenfluss und Scherrate, wurden variiert, um möglichst geeignete Partikel herzustellen. In einem reinen Erbsenproteinsystem zeigten sich moderate Scherraten zwischen 600 und 800 rpm und Temperaturen zwischen 100 °C und 120 °C bei einem Massenfluss von 4 kg/h Pulver und 11 kg/h Wasser. Auch Gefrier- und Sprühtrocknen der Partikel beeinflusste die Partikelgröße nicht negativ.

Die im Technikumsmaßstab erzeugten frischen und getrockneten Mikropartikelate konnten erfolgreich in einem Modellmilchdessert eingesetzt werden. Das Fett wurde zu 50 % ausgetauscht durch die Mikropartikelate. Hierbei konnte keine signifikante Änderung der Cremigkeit detektiert werden. Das Trocknen der Mikropartikelate resultierte in einer Abnahme des grasig-grünen Erbsen-ähnlichen Aromas.

An Forschungsstelle 2 wurden zunächst die Flavor-Profile der fetthaltigen Milchdessertreferenzen und der zu untersuchenden Proteinisolate (Kartoffel, Erbse) durch ein geschultes Aroma- und Geschmackspanel sensorisch charakterisiert. Das ermittelte Flavorprofil des Milchdesserts steht zur vergleichenden Bewertung der sensorischen Attraktivität mit den zukünftigen fettreduzierten Milchdesserts zur Verfügung und wurde auf einer linierten 5-Punkt-Skala (0: nicht wahrnehmbar; 5: sehr intensiv wahrnehmbar) insbesondere in den Geschmacksattributen süß (2,6), cremig (3,9) und der Mundfülle (2,8) sowie in den Geruchsattributen sauer (3,0), fettig (2,6) und Milch-ähnlich (2,6) mit hohen mittleren Intensitäten bewertet. Für die Proteinsensoren wurde das Erbsenproteinisolat Nutralys® S85F sensorisch aufgenommen und für alle weiteren Protein-



sensoriken als Referenz festgelegt. Die verfügbaren Erbsenproteinisolate unterschieden sich in Hinblick auf ihren Flavor sensorisch nicht voneinander. Erste Flavorprofilanalysen von Milchdesserts mit mikropartikuliertem Erbsen- und Kartoffelprotein konnten zudem zeigen, dass sich mikropartikulierte Erbsenprotein aufgrund einer geringeren Abweichung zur Milchdessertreferenz, insbesondere hinsichtlich der Geschmacksattribute, besser als Fettersatzstoff eignet als mikropartikulierte Kartoffelprotein.

In einem ersten Schritt konnten im Rahmen des Sensomics-Konzepts verschiedene Quantifizierungsmethoden zur Aufklärung des Milchdessertflavors entwickelt werden. Neben zwei UHPLC-MS/MS-Methoden wurden zwei HS-SPME-GC-MS-Methoden entwickelt, erfolgreich validiert (prozentuelle Wiederfindungen zwischen 80-120 %, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen) und zur Messung verschiedener Proben eingesetzt. Daneben fand eine qNMR-Methode zur Quantifizierung höher konzentrierter Zucker und organischer Säuren Anwendung. Wichtige literaturbekannte Aroma- und Geschmacksstoffe in Milchprodukten konnten in der Milchdessertreferenz qualitativ analysiert und quantifiziert werden. Durch die Kalkulation von OAV- und DoT-Werten konnten diejenigen Moleküle ermittelt werden, die per Definition einen entscheidenden Beitrag zum Gesamtflavor der Milchdessertreferenz liefern (KFO: key food odorant, Schlüsselaromastoff; KFT: key food tastant, Schlüsselgeschmacksstoff). Für die Aromastoffe waren dies Diacetyl (KFO), Acetaldehyd, Essigsäure, Buttersäure, Methanthiol, Dimethylsulfid, Phenylessigsäure, Acetoin und Hexansäure in absteigender OAV-Reihenfolge. Als Geschmacksstoffe konnten dagegen Saccharose (KFT), Zitronensäure (KFT), Milchsäure (KFT), Galactose (KFT), Lactose und  $\delta$ -Tetra-,  $\delta$ -Hexa- sowie  $\delta$ -Octadecalacton (KFT) in absteigender DoT-Reihenfolge ermittelt werden. Die Ergebnisse wurden durch sensorische Rekombinations- und Omissionsexperimente in nativen Milchdessertkonzentrationen in einer triacylglyceridfreien lipidähnlichen (TFL)-Matrix validiert und konnten dabei eine gute Übereinstimmung zwischen Referenz und Flavor-Vollrekombinant aufzeigen. Schließlich konnte das Flavor des fetthaltigen Milchdesserts vollständig entschlüsselt, erklärt und authentisch wiederhergestellt werden.

Im weiteren Verlauf dieses Projekts sollte auch das Flavor von kommerziell erhältlichem Erbsenprotein am Beispiel von Nutralys® S85F entschlüsselt werden. Da in einem Vorgängerprojekt (AiF 18814 N) bereits der Geschmack von Erbsenprotein untersucht wurde und das Einbringen von mikropartikuliertem Erbsenprotein in Milchdessertmodellen auch zu keinen signifikanten Geschmacksveränderungen innerhalb der oben beschriebenen Flavorprofilanalysen führte, wurde der Schwerpunkt auf die Aroma-Entschlüsselung im Sinne eines analogen targeted Sensomics-Vorgehens gelegt. Die Anwesenheit wichtiger literaturbekannter Aromastoffe, beschrieben in Erbsen- und Lupinenproteinen, rohen und gerösteten Erbsen sowie in erbsenbasierten funktionellen Lebensmitteln, konnte mittels einer validierten UHPLC-MS/MS-Methode quantitativ überprüft werden. Analog zum Milchdessert konnte via OAV-Kalkulation eine Liste von 27 aromaaktiven Molekülen mit OAV > 1 ermittelt werden. Dabei zeigten 3-Methylbutanal (OAV 10186), Hexanal (OAV 6202), Acetaldehyd (OAV 4512), (E,E)-2,4-Decadienal (OAV 3741), Phenylacetaldehyd (OAV 1173) und (E,E)-2,4-Nonadienal (OAV 1157) per Definition die höchsten Aromawerte in Nutralys® S85F. Unter Einbeziehung der Liste der 27 aromaaktiven Analyten konnte erfolgreich ein mit dem Original gut übereinstimmendes Aromarekombinant hergestellt werden. Um Kenntnis über die KFO in Erbsenprotein zu erhalten, sind zusätzlich noch Omissionsexperimente mittels Triangeltests durchzuführen.

Im Rahmen der Flavor-Optimierung wurden die vorhandenen Methoden schließlich für weitere Proben eingesetzt. Durch ein Sensomics-OAV-Mapping konnte die Mikropartikulation als technologischer Prozess visuell etabliert und dabei auftretende Flavor-Veränderungen besser verstanden werden. Auch Protein-Interaktions- sowie Flavor-Release-Studien führten schließlich zu sensorisch attraktiveren Milchdesserts, welche durch den Einsatz von technologisch optimierten Erbsenmikropartikulaten um 50 % in ihren Fettgehalten reduziert werden konnten, ohne dass dies zu Textur-, Aroma- oder Geschmackveränderungen führte.

Die Untersuchungen führten zu einem deutlichen Erkenntniszuwachs über die Wirkung von Fett in Lebensmitteln. Unternehmen stehen nun Methoden und Wissen zur Verfügung, um funktionalisierte Proteine als Fettersatz einzusetzen.

## **Wirtschaftliche Bedeutung**

Eine gesundheitsbewusste Ernährung liegt im Trend der Zeit und spiegelt sich insbesondere auch in einer steigenden Nachfrage nach bedarfsoptimierten Produkten, d.h. von Produkten mit ausgelobter Energie-, Fett- oder Zuckerreduktion, sowie von „Frei-von“- und Ersatzprodukten (z.B. laktose- oder glutenfreien Produkten oder Fleischersatzprodukten) wider.

Der Umfang des globalen Marktes für Fettaustauschstoffe (kohlenhydrat-, fett- oder proteinbasiert) betrug im Jahr 2015 1,53 Mrd. US-Dollar. Bis 2025 wird mit einem durchschnittlichen jährlichen Wachstum dieses Marktes von 6,2 % gerechnet, wobei der größte Zuwachs für den Bereich proteinbasierter Fettaustauschstoffe erwartet wird. Als besonders bedeutend gilt hierbei das Segment „nachhaltiges Protein“, welches sich mit der Ersetzung tierischen Proteins durch Pflanzenproteine beschäftigt.

Bislang liegt der Weltmarktanteil für Pflanzenprotein mit ca. 1,7 Mio. t im Jahr 2012 zwar noch deutlich unter dem tierischer Proteine (2,3 Mio. t), es sind aber steigende Absatzzahlen für pflanzliche Proteine mit ca. 10 % Steigerungsrate pro Jahr zu verzeichnen. Für Erbsenprotein lag der weltweite Umsatz im Jahr 2016 bei 24,8 Mio. US-Dollar. Bis 2022 wird ein Umsatzanstieg auf ca. 45 Mio. US-Dollar prognostiziert, was einem durchschnittlichen jährlichen Wachstum von 8,9 % entspricht. Der höchste Anteil am Weltmarkt (32 %) entfällt bislang auf texturiertes Erbsenprotein, das vor allem für Fleischersatzprodukte genutzt wird. Europa besitzt den zweitgrößten Markt für Erbsenprotein (33 %); innerhalb der europäischen Region hat wiederum Deutschland den größten Marktanteil. Bislang wird in Deutschland über 90 % der Erbsenproduktion für Tierfutter verwendet, so finden Erbsenproteinkonzentrate und -isolate insbesondere im Bereich der Heimtierernährung Anwendung.

Die Entwicklung einer Prozessplattform zur Herstellung von mikropartikulierten Fettersatzstoffen auf Basis von Erbsen- oder Kartoffelprotein bzw. auf Basis von Hybridsystemen aus Erbsen-, Kartoffel- und/oder Milchprotein in Kombination mit einem Konzept zur molekular-sensorischen Optimierung bietet demgegenüber ein deutlich höheres Wertschöpfungspotential. Die Ergebnisse eröffnen insbesondere kleinen und mittelständischen Unternehmen die Möglichkeit, sich mit neuen Produkten und Produktkonzepten im Markt zu etablieren.

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

## **Publikationen (Auswahl)**

1. FEI-Schlussbericht 2021.
2. Tanger, C.: Functionalisation of pea protein for fat reduction. Jahresb. Milchwiss. Forsch. ZIEL 2020, [www.lmvt.wzw.tum.de/fileadmin/Jahresbericht/JBLMVT-2020.pdf](http://www.lmvt.wzw.tum.de/fileadmin/Jahresbericht/JBLMVT-2020.pdf) (2021).
3. Tanger, C., Engel, J. & Kulozik, U.: Influence of extraction conditions on the conformational alteration of pea protein extracted from pea flour. Food Hydrocoll. 107, 105494 (2020).
4. Dombrowski, J., Möller, A. C. & Tanger, C.: Enhancement of pea protein techno-functionality by Osborne fractionation. Jahresb. Milchwiss. Forsch. ZIEL 2019, ISBN 978-3-947492-10-7, Bd. 61, 58-60 (2020).

## **Weiteres Informationsmaterial**

Technische Universität München  
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL), Abt. Technologie  
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-3535  
Fax: +49 8161 71-4384  
E-Mail: [ulrich.kulozik@tum.de](mailto:ulrich.kulozik@tum.de)

Technische Universität München  
School of Life Sciences  
Forschungsdepartment Molecular Life Sciences  
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik  
Lise-Meitner-Str. 34, 85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-2923  
Fax: +49 8161 71-2949  
E-Mail: corinna.dawid@tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

### **Förderhinweis**

---

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Wirtschaft  
und Energie

Das IGF-Vorhaben **AiF 20197 N** der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, 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.

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

*Bildnachweis - Seite 1: © euthymia - Fotolia.com #89099574*

Stand: 11.06.2021