

Verbesserung der technologischen Eigenschaften von Roggenteigen und -backwaren mit Transglutaminase und Peptidasen

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I: (bis 30.6.2009)	Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie FG Prozessanalytik und Getreidetechnologie Prof. Dr. T. Becker/Dr. M. Mitzscherling
Forschungsstelle II:	Hans-Dieter-Belitz-Institut für Mehl- und Eiweißforschung e.V. (hdbi), Garching Prof. Dr. Dr. P. Schieberle/Prof. Dr. P. Köhler
Forschungsstelle III: (ab 1.7.2009)	Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie Prof. Dr. T. Becker/Dipl.-Ing. M. Jekle
Industriegruppen:	Der Backzutatenverband e.V. (BZV), Bonn Verband Deutscher Großbäckereien e.V., Düsseldorf
	Projektkoordinator: Dr. M. Brandt, Ernst Böcker GmbH & Co. KG, Minden
Laufzeit:	2008 – 2010
Zuwendungssumme:	€ 243.690,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die Backfähigkeit von Roggen beruht auf der Quellfähigkeit von Pentosanen, die Wasser binden und die Viskosität des Teiges so erhöhen, dass der Teig bei der Gare und beim Backen seine Form beibehält. Sie behindern aber auch die Ausbildung eines Proteinnetzwerks. Bestimmte Proteinfractionen des Roggens bilden Struktur unterstützende Schäume, die zwar nicht dem Weizenkleber vergleichbare Eigenschaften besitzen, die aber das Gashaltevermögen der Roggenteige beeinflussen. Eine Verbesserung der Backeigenschaften von Roggenteigen ist durch eine Vernetzung der Proteine bei Roggenteigen zu erwarten, wofür das Enzym Transglutaminase genutzt werden kann. Es katalysiert die Ausbildung einer Isopeptidbindung zwischen den Seitenketten der Aminosäuren Lysin und Glutamin. Damit sich eine Isopeptidbindung ausbilden kann, müssen sich die Seitenketten an der Oberfläche

des Proteins befinden und für die Transglutaminase zugänglich sein. Dadurch ist die Zahl der möglichen Bindungsstellen deutlich niedriger als die Zahl an Lysin- bzw. Glutaminmolekülen im Roggenmehl. Eine Erhöhung der Wirkung verspricht die gezielte Hydrolyse der Roggenproteine mit spezifischen oder schwach dosierten Peptidasen, die die Proteine beschränkt aufbrechen und damit die Gesamtoberfläche der Proteine erhöhen, ohne die Ausbildung eines Struktur bildenden Netzwerks wiederum zu schwächen. Bei der Herstellung von Brot ist es gewünscht, Teige zu verarbeiten, die eine trockene Oberfläche besitzen und sich damit gut maschinell verarbeiten lassen, die andererseits aber über genügend Wasser zur Verkleisterung der Stärke beim Backen verfügen. Eine Modifikation der Proteinfractionen zu diesem Zweck wurde bei Roggenteigen bislang nicht verfolgt und war Gegenstand des Forschungsvorhabens. Insbesondere die Wirkung der Transglutaminase zur Verbesserung der Wasserbindung, der

Teigstabilität und der Frischhaltung von Roggenbrot war bis dahin ebenso wenig erforscht wie der kombinierte Einsatz von Transglutaminase und Peptidasen.

Forschungsergebnisse:

Unter Verwendung des Enzyms Transglutaminase (TG) wurden Roggenteige hergestellt und diese auf ihre rheologischen Eigenschaften hin untersucht. Durch Zugabe von TG konnte eine Zunahme der elastischen bzw. viskosen Anteile um ca. 30 bzw. 40 % im Roggenteig ermittelt werden. Die TG behandelten Teige zeigten weniger klebriges Verhalten sowie höhere Werte hinsichtlich Dehnwiderstand sowie Dehnbarkeit. Eine pH-Erniedrigung zeigte hinsichtlich der TG-Aktivität negativen Einfluss, wobei eine Temperaturerhöhung sich positiv auf die TG-Aktivität auswirkte. Durch erhöhte Schüttwassermengen nahm die Teigklebrigkeit stark zu. Hinsichtlich der backtechnologischen Eigenschaften zeigte eine TG-Zugabe eine deutlich erhöhte Krumenelastizität sowie erhöhte Krumenfestigkeit. Eine Beeinflussung des Altbackenwerdens durch TG-Zugabe konnte nicht ermittelt werden. Hinsichtlich des Volumens zeigten sich kleine Veränderungen (kleiner 6 %), wobei bei Dosagen bis 500 U TG eine Volumenerhöhung und bei höheren Dosagen eine Volumenerniedrigung zu erkennen war. Die Protein-quervernetzende Wirkung konnte durch konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie auf mikroskopischer Ebene nachgewiesen werden, wobei sich die Proteinstränge sichtbar miteinander verknüpften. Weiterhin wurden verschiedene Protease-Präparate in Kombination mit TG verwendet, um dem Enzym den Zugriff auf das Reaktions-limitierende Substrat Lysin zu erleichtern. Alleinige Zugaben verschiedener Proteasen zu Roggenteig zeigten eine deutliche Abnahme der viskosen und elastischen Anteile im Roggenteig. Roggenbrote zeigten hierdurch eine Volumenabnahme sowie eine Abnahme der Teigelastizität sowie der Teigviskosität. Durch parallele Zugabe von TG und Protease konnte eine minimale weitere Erhöhung der elastischen und viskosen Anteile im Vergleich zu Teigen mit ausschließlicher Zugabe von TG ermittelt werden. Wurde eine spezielle Protease mit hohem Trypsin-Anteil (Trypsin VI = TRVI) zum Roggenteigen mit TG zugegeben, wurden höhere Gebäckvolumina erreicht im Vergleich zu Broten mit ausschließlicher Zugabe von 300 U TG. Weiterhin wies die Krume dieser Brote eine

elastischere, weichere sowie gleichmäßigere Krumenporung auf.

Transglutaminase-behandelter, gefriergetrockneter Roggenteig wurde chemisch-analytisch charakterisiert. Dazu wurde die Extrahierbarkeit der Proteine mit einer modifizierten OSBORNE-Fraktionierung mit anschließender RP-HPLC-Qualifizierung und -Quantifizierung der extrahierten Proteinmengen charakterisiert. Bei Weizen ist das sogenannte Gluteninmakropolymer hoch mit der Backfähigkeit korreliert. Entsprechend lässt sich bei Roggen das sogenannte Glutelinmakropolymer (GMP) definieren. Dabei handelt es sich um eine gelartige Schicht, die bei der Extraktion mit SDS-Lösung ungelöst zurückbleibt. Das GMP lässt sich unter reduzierenden, desaggregierenden Bedingungen in Lösung bringen und kann dann mittels SE-HPLC über die Peakflächen bei 210 nm qualifiziert und quantifiziert werden. Somit konnte die Polymerisation auch direkt dokumentiert werden. Des Weiteren wurde mittels SDS-PAGE die Quervernetzung der Roggenproteine anhand ausgewählter Proben dokumentiert. Die chemisch-analytischen Untersuchungen haben gezeigt, dass Transglutaminase zur Vernetzung von Roggenproteinen geeignet ist. Die in den technologischen Experimenten beobachteten Effekte konnten durch die Untersuchungen bestätigt werden. Transglutaminase modifiziert dabei insbesondere die Prolaminfraktion. Die Vernetzung der Roggenproteine erhöht deren Molekulargewicht so stark, dass ein Großteil der Prolamine nicht mehr extrahierbar ist und somit in der Glutelinfraktion auftaucht. Des Weiteren werden aber auch Proteine in der Glutelinfraktion derart verknüpft, dass sie nicht mehr unter reduzierenden und desaggregierenden Bedingungen extrahierbar sind. Dies äußert sich in einem stark verringerten Prolamin/Glutelin-Verhältnis ($3,6/1 \rightarrow 1/1$), was mit guten technologischen Eigenschaften korreliert ist. Bei den Untersuchungen des GMP zeigte sich derselbe Effekt. Die Proteine in der SDS-löslichen Fraktion werden zu Proteinaggregaten verknüpft, welche dann hierin nicht mehr löslich sind und somit im GMP auftauchen. Eine Erhöhung des GMP, wie auch beim Weizen bekannt, führt zu verbesserten Backeigenschaften des Teiglings. Durch Transglutaminase kann der GMP bis auf das Neunfache des Ausgangswertes erhöht werden. Die SDS-PAGE zeigte deutlich, dass vor allem die HMW- und γ -75k-Sekaline von Transglutaminase zu Proteinaggregaten mit deutlich höheren Molekulargewichten verknüpft wurden.

Die vorliegenden Forschungsergebnisse verdeutlichen, dass die vorgegebenen Ziele des Vorhabens erreicht wurden. Die in angepassten Prozessen applizierten Enzyme erleichtern nicht nur die Herstellung von qualitativ hochwertigen Roggenbackwaren, sondern weisen auch Potential auf, innovative Backwaren aus Roggen zu kreieren.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Backwarenindustrie in Deutschland ist mittelständisch geprägt. Neben den 16.500 handwerklichen Bäckereien bestimmen ca. 60 mittelgroße industrielle Bäckereien und nur 4 große Betriebe die Brotherstellung. Insgesamt sind 135.000 Beschäftigte in der Backgewerbe tätig. Der Jahresumsatz der Branche beträgt ungefähr 15 Mrd. Euro.

Die in diesem Projekt untersuchten Transglutaminasen und Proteasen zeigen, dass der Einsatz von insbesondere TG Vorteile bei der Produktion von Roggenbackwaren aufweist. Gerade für kleine und mittelständische Unternehmen bietet sich so die Entwicklung neuer Backmittel und Fertigmehle für die Roggenbrotherstellung an, um somit innovative neue Produkte auf den Markt zu bringen. Weiterhin profitieren Enzymhersteller von den Ergebnissen, da diese die notwendigen Enzyme bereitstellen und entwickeln. Die Anwendung der Enzymkombination bietet auch kleinen Bäckereien die Möglichkeit, qualitativ hochwertige Roggenbackwaren herzustellen, Produktnischen aufzubauen und damit wettbewerbsfähig zu bleiben. Eine Reduzierung der Säuerung kann durch Zugabe von TG erlangt werden, wodurch ein neuer Kundenkreis aufgebaut werden kann. Durch veränderte teig-rheologische Eigenschaften ist es zudem möglich, Roggenprodukte mit vermehrtem Maschineneinsatz herzustellen, somit die Produktionskosten zu senken und sich im Wettbewerb mit Mitbewerbern verändert aufzustellen.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2010.
2. Selmair, P. und Köhler, P.: Einfluss von Transglutaminase auf die Konzentration SDS-unlöslicher Proteine in Roggenteig. Jahresbericht Dt. Forschungsanst. Lebens-

mittelchem. (ISBN 978-3-938896-35-8), 116-119 (2011).

3. Beck, M., Jekle, M., Selmair, P. L., Koehler, P. und Becker, T.: Rheological properties and baking performance of rye dough as affected by transglutaminase. *J. Cer. Sci.* 54, 29-36 (2011).
4. Selmair, P., Hartmann, G. und Köhler, P.: Analytische Charakterisierung von Roggenteigen nach Zusatz von Transglutaminase. Jahresbericht Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (ISBN 3-9807686-9-4), 96-99 (2010).
5. Koehler, P. und Selmair, P.: Protein composition of rye dough as affected by the addition of transglutaminase. *Cer. Foods Wrld.* 55, 26 (2010).
6. Beck, M., Jekle, M. und Becker, T.: Protein cross-linking - a method for improving the quality of rye baked goods. *Baking + biscuit* 5, 78-81 (2009).
7. Beck, M., Jekle, M. und Becker, T.: Proteinvernetzung - Ein Weg zur Verbesserung von Roggenbackwaren. *Brot und Backwaren* 6, 36-41 (2009).
8. Beck, M., Jekle, M. und Becker, T.: Optimierung von Roggengebäcken durch Proteinquervernetzung. *Getreidetechnol.* 63, 29-30 (2009).
9. Köhler, P., Hartmann, G. und Selmair, P.: Analytische Charakterisierung von Roggenteigen nach Zusatz von Transglutaminase. Jahresbericht Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem., 96-99 (2009).
10. Beck, M., Mitzscherling, M. und Becker, T.: Darstellung rheologischer und technologischer Eigenschaften von Transglutaminase auf Roggenteige und -backwaren. *Getreidetechnol.* 62, 349-353 (2008).

Weiteres Informationsmaterial:

Hans-Dieter-Belitz-Institut für Mehl- und Eiweißforschung e.V. (hdbi)
Lichtenbergstr. 4, 85748 Garching
Tel.: 089/289-13265, Fax: 089/289-14183
E-Mail: peter.schieberle@lrz.tum.de

Technische Universität München
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW
Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie
Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising
Tel.: 08161/71-3261, Fax: 08161/71-3883
E-Mail: tbecker@wzw.tum.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

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

gefördert durch/via:

