

## Separate Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma zur Steigerung von deren Emulgierereigenschaften

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Abt. Technologie, Freising-Weihenstephan Prof. Dr. Ulrich Kulozik/M.Sc. Oliver Gmach
<b>Industriegruppen:</b>	Bundesverband der Deutschen Eiprodukten-Industrie e.V. (BVEP), Bonn Verband der Hersteller kulinarischer Lebensmittel e.V., Bonn Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München e. V., Freising
	Projektkoordinator: Klaus Mielke OVOBEST Eiprodukte GmbH, Vörden
<b>Laufzeit:</b>	2014 – 2016
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 249.550,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Hühnereigelb findet aufgrund seiner funktionellen Eigenschaften eine breite Anwendung als Emulgator in vielen Bereichen der Lebensmittelindustrie. Es lassen sich damit bereits stabile Emulsionen erzeugen, allerdings sind bisher nur wenige Möglichkeiten bekannt, die emulgierenden Eigenschaften von Eigelb in Hinblick auf Aufrahm-, Koaleszenz-, Gefrier-Tau-Stabilität, Farbe oder Strukturbildung spezifisch ausgerichtet auf die sehr unterschiedlichen Anwendungen zu nutzen bzw. zu beeinflussen. Beim Einsatz von Gesamteigelb ergeben sich eine Reihe von konkreten Problemen bzw. Limitationen. So kann eine verbesserte Transport- und Lagerstabilität von Emulsionsprodukten nur durch verkleinerte Öltröpfchengrößen und damit mit einem erhöhten Einsatz von Eigelb erzielt werden. Gleichzeitig werden jedoch sensorische Attribute, wie Produktfarbe und Eigelbcharakter, verstärkt, was aufgrund von marktspezifischen Konsumentenansforderungen unerwünscht sein kann. Solche begrenzten Freiheitsgrade müssen derzeit durch deklarationspflichtige Zusatzstoffe (z.B. Stabilisatoren) kompensiert werden.

Gerade das komplexe Gemisch Eigelb mit seinen verschiedenen Komponenten beinhaltet jedoch ein interessantes technofunktionelles Potenzial, das in komponentenspezifischer, innovativer Weise wirtschaftlich genutzt werden kann, um so die Limitationen beim Einsatz von Gesamteigelb zu umgehen. Die Basis dazu wurde durch mehrere IGF-Vorhaben gelegt, wodurch Eigelb inzwischen mittels zentrifugaler Trenntechnik nicht nur analytisch, sondern auch industriell in eine nicht-sedimentierbare („Plasma“) und eine sedimentierbare Fraktion („Granula“) getrennt werden kann. So konnte im IGF-Vorhaben AiF 16009 N eine besondere Dekantierzentrifuge („Sedicanter“) für die Trennung von Eigelb weiterentwickelt und für die industrielle Trennung von Eigelb nutzbar gemacht werden. Die erarbeitete Technologiebasis wurde inzwischen in die industrielle Produktion mehrerer Firmen implementiert, so dass Eigelbfraktionen bereits im industriellen Maßstab kommerziell verfügbar sind. Es fehlen jedoch noch umfassende Studien zum Einfluss weiterverarbeitender Schritte (Pasteurisierung, Enzymbehandlung, Milieubedingungen) sowie zur wechselseitigen Beeinflussung von funktio-

nellen Eigenschaften beider Einzelfractionen, insbesondere der Emulgierereigenschaften. Diese waren Gegenstand des Forschungsvorhabens.

Im Rahmen des Projekts sollte zunächst das grundlegende Verständnis zur Steuerung der molekularen Eigenschaften der Granula- und Plasma-Bestandteile geschaffen werden. Daran anschließend sollten Veränderungen in den Fraktionen durch unterschiedlich gestaltete Modifizierungsprozesse beschrieben und die daraus resultierenden technologischen Eigenschaften in Emulsionen evaluiert werden. Ziel des Forschungsvorhabens war eine umfassende Beurteilung und eine spezifische Steigerung der funktionellen Eigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma durch Pasteurisation sowie durch enzymatische und milieubedingte Modifikationen.

#### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Vorhabens wurden die Eigelbfractionen einer thermischen (69 - 78 °C/0,5 - 18 min.) und enzymatischen Vorbehandlung mit Phospholipase A2 (PLA<sub>2</sub>) unterzogen. Weiter wurden pH-Wert (pH 4 und pH 6,5) und Ionenmilieu (0,15 M und 0,55 M NaCl) als Variablen eingesetzt und ein Zusammenhang zur Emulgieraktivität hergestellt. Die untersuchten Parameter waren dabei die charakteristischen Eigenschaften Partikelgrößenverteilung, Viskosität, Gelbildungsvermögen, Proteinkonzentration und Proteinlöslichkeit. Des Weiteren wurde die Oberflächenaktivität an einer Grenzfläche zwischen hydrophiler und hydrophober Phase anhand der Absenkung der Oberflächenspannung bestimmt. Es zeigte sich, dass durch Kombination verschiedener Temperatur-Zeit-Bedingungen bei der Erhitzung und in Kombination mit der Enzymbehandlung eine Vielzahl verschiedener Resultate in Bezug auf Partikelgrößenverteilung, Viskosität, Proteinlöslichkeit und Oberflächenspannungsabsenkung erzielt werden konnten.

Granula wies bei nativen Milieubedingungen aufgrund seiner Struktur eine höhere Hitzestabilität als Plasma auf, was zu einer geringeren Aggregation bei der Erhitzung führte. Dadurch wurden die für einen Emulgator entscheidenden Eigenschaften, wie Partikelgröße und Oberflächenaktivität, nicht negativ beeinflusst, wohingegen die emulgierende Aktivität von Plasma deutlich abnahm. Durch den Einsatz von PLA<sub>2</sub> konnte diese Aggregation in der Plasma-Fraktion verhindert werden, so dass

auch die funktionellen Eigenschaften des Plasmas erhalten blieben. Gleichzeitig führte diese Behandlung zu einer deutlich stärkeren Absenkung der Oberflächenspannung bei fast allen betrachteten Milieubedingungen. Durch den Einsatz des Enzyms konnten höhere Erhitzungstemperaturen und längere Zeiten realisiert werden, was zu einer höheren Produkthaltbarkeit bei gleicher Funktionalität führen könnte.

Anschließend an die Vorbehandlungen wurden mit ausgewählten Fraktionen bei definierten Milieubedingungen und Vorbehandlungen Öl-in-Wasser-Emulsionen mit Sonnenblumenöl hergestellt. In der wässrigen Phase (0,15/0,55 M NaCl-Lsg) wurden 2 % Protein der jeweils verwendeten Eigelbfraction zugegeben. Die Emulsionen wurden mittels Hochdruckhomogenisator bei 100 - 500 bar (30 % Öl disperse Phase) sowie mittels Kolloidmühle bei 3.000 - 9.000 rpm (80 % Öl disperse Phase) hergestellt. In diesem Arbeitspakt wurde der betrachtete pH-Bereich auf pH 3 - 10 ausgeweitet, um den Einsatz in einem breiten Produktspektrum zu untersuchen. Beim Einsatz als Emulgator führte die Verwendung von Plasma, unabhängig der Vorbehandlungen, zu kleineren Fetttropfen als der Einsatz von Granula. Der Tropfendurchmesser konnte durch die enzymatische Vorbehandlung bei beiden Fraktionen verringert werden. Eine zusätzliche Erhitzung in einem aufgrund der vorangegangenen Versuche ausgewähltem Temperatur-Zeit-Bereich führte zu keiner Verbesserung. Unabhängig von Fraktion und Vorbehandlung konnten mit beiden Emulgierapparaten sehr stabile Emulsionen hergestellt werden. Eine Koaleszenz von Fetttropfen konnte während der betrachteten Lagerzeit von 24 Stunden nicht festgestellt werden. Bei der Verwendung des Hochdruckhomogenisators wiesen die plasmastabilisierten Emulsionen mit 30 % Fett als disperser Phase über den gesamten betrachteten pH-Bereich von pH 3 - 10 eine sehr ähnliche mittlere Öltropfengröße (1-3 µm) und Viskosität auf. Auch Granula stabilisierte ähnlich kleine Fetttropfen, wies jedoch eine deutlich höhere Viskosität auf. Die Zugabe von Salz hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Partikelgröße, reduzierte jedoch die Viskosität bei der Verwendung von Granula deutlich. Bei der Verwendung der Kolloidmühle und 80 % Fett als disperser Phase wurden durch Plasma, abhängig von der Drehzahl, zwischen 5 und 10 µm, bei Granula zwischen 5 und 50 µm erreicht. Bei granulastabilisierten Emulsionen nahm die mittlere Partikelgröße kontinuierlich von pH 3 bis pH 10 ab. Zusätzlich konnte ein

starker Anstieg der Viskosität und der Festigkeit im basischen Milieu beobachtet werden. Auch bei diesen Emulsionen bewirkte die Zugabe von NaCl eine Verringerung der Viskosität.

Bei der Untersuchung der Gefrier-Tau-Stabilität (dreimaliger Wechsel -20 °C/+20 °C) trat bei Einsatz nativer Eigelbfractionen ein Emulsionsbruch im stark sauren Bereich (pH 3 und pH 4) auf. Dies konnte durch enzymatische Modifikation der Fraktionen sowie durch Erhöhung der Ionenstärke auf 0,55 M durch die Zugabe von NaCl verbessert werden. Durch die Analyse der Zusammensetzung des Films um die Fetttropfen mittels SDS-PAGE konnten die oberflächenaktiven Proteine identifiziert werden.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

In Deutschland werden jährlich über 800.000 t Eier produziert, von denen rund 250.000 t in der Industrie weiterverarbeitet werden. 75 % des industriell verarbeiteten Eies werden flüssig verarbeitet und eingesetzt. Ausgehend von einem durchschnittlichen Eigelbgehalt von 3 % ist eine Lebensmitteltonnage von etwa 6 Mio. t/a von den Ergebnissen des Vorhabens betroffen.

Die Ergebnisse kommen einem breiten industriellen Anwenderbereich zugute und bieten eine Plattform für alle Unternehmen, die Eigelb bzw. Eigelbfractionen als Emulgatoren einsetzen. Der Einsatz funktionalisierter Eigelbfractionen, z.B. in Soßen, Mayonnaisen, Dressings, Fleischprodukten, Backmischungen und Backwaren, Speiseeis oder Desserts ist wirtschaftlich lukrativ. Durch eine getrennte Applikation der beiden Fraktionen lassen sich sensorisch besonders gewünschte Attribute, wie der eitypische Geschmack und der Geruch (Plasma-Fraktion), aber auch die Textur und das Mundgefühl (Granula-Fraktion), realisieren. So könnten länderspezifische Verbraucheransprüche (z.B. Mayonnaisen im angelsächsischen Raum mit intensivem Eigelbcharakter, in Osteuropa farblich weiß und neutral im Geschmack) bedient werden. Ein weiterer signifikanter Wettbewerbsvorteil kann in Hinblick auf ein „clean labelling“ (Verzicht auf Zusatzstoffe) generiert werden. Durch die stark texturierende Wirkung einer funktionalisierten Granula-Fraktion könnten z.B. auch fettreduzierte, cholesterinarme Mayonnaisen ohne weitere stabilisierende Zusätze hergestellt werden.

Die Kenntnis der thermischen Sensitivität einzelner Eigelbproteine (Livetine) ist außerdem für Hersteller von Immunglobulinen und für neue Produktzweige, wie therapiebegleitende Nahrungsmittel, von Interesse.

Die Resultate sind darüber hinaus auch für Unternehmen des Maschinen- und Anlagenbaus von Relevanz. Sie können dazu dienen, die Konstruktion von Pasteuren, Heißhaltern zu optimieren bzw. Prozessanlagen neu zu konzipieren.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2016.
2. Weidlich, D. et al.: Measurement of large lipid droplet size by probing lipid diffusion restriction effects using DW-MRS at 3 T. *J Magn. Reson. Med.* DOI: 10.1002/mrm.27651, 1-13 (2019).
3. Gmach, O. & Bertsch, A.: Abhängigkeit der Grenzflächenspannung zwischen Öl- und Wasser von der Zusammensetzung des Öls. *Jahresber. 2016 Milchw. Forsch. ZIEL*, ISBN 978-3-974 492 00-8, 65-67 (2017).
4. Gmach, O. & Kulozik, U.: Enzymatisch und thermisch induzierte Veränderung der Oberflächenaktivität von Eigelb Plasma und Granula. *Jahresb. 2015 Milchwiss. Forsch. ZIEL*, ISBN 978-3-939182-89-4, 95-97 (2016).
5. Gmach, O. & Kulozik, U.: Trennung und Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma. *Jahresb. 2014 Milchwiss. Forsch. ZIEL*, ISBN 978-3-939182-75-7, 92-93 (2015).
6. Holzmüller, W., Gmach, O., Griebel, A. & Kulozik, U.: Casein precipitation by acid and rennet coagulation of buttermilk: Impact on the isolation of milk fat globule membrane proteins. *Int. Dair. J.* 63, 115-123 (2016).
7. Gmach, O. und Kulozik, U.: Improvement of emulsifying properties of hen's egg yolk fractions by combined enzymatic and heat treatment. *XVI. Eur. Symp. Qual. Eggs Egg Prod., Proc.*, EISSN 1743-4777, 36 (2015).

**Weiteres Informationsmaterial:**

Technische Universität München  
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmit-  
telforschung, 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 125, 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 125, 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.