

Nutzbarmachung bakterieller beta-Glukane für die Strukturverbesserung und die Erhöhung des nutritiven Wertes von Backwaren



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität München School of Life Sciences Department Molecular Life Sciences Lehrstuhl für Mikrobiologie Prof. Dr. Wolfgang Liebl/Prof. Dr. Matthias A. Ehrmann Universität Jena Institut für Ernährungswissenschaften Professur für Ernährungstoxikologie Prof. Dr. Michael Glei/Dr. Wiebke Schlörmann
Industriegruppe(n):	Der Backzutatenverband e.V. (BZV), Berlin Weihenstephaner Institut für Getreideforschung e.V. (WIG), Freising
Projektkoordinator:	Dr. Markus Brandt Ernst Böcker GmbH & Co. KG, Minden
Laufzeit:	2018 – 2022
Zuwendungssumme:	€ 526.745,--

Ausgangssituation

Pflanzliche β -Glukane aus Hafer und Gerste sind wertvolle lösliche Ballaststoffe, für die eine cholesterinsenkende sowie blutzuckerregulierende Wirkung beschrieben ist. Darüber hinaus können sie in ihrer Funktion als Ballaststoff präbiotische Wirkungen entfalten und so zur Gesunderhaltung des Darms beitragen und das Risiko für die Entstehung von Darmkrebs reduzieren.

Derzeit ist eine gezielte Nutzung gesundheitsfördernder pflanzlicher β -Glukane in Backwaren dadurch limitiert, dass von Natur aus β -glukanreiche Getreide, wie Hafer oder Gerste, aufgrund ihrer technologischen und sensorischen Eigenschaften nur bedingt für Backanwendungen geeignet sind. Reinerer bzw. angereicherter β -Glukan-Präparationen pflanzlichen Ursprungs wiederum sind gegenwärtig relativ teuer und zur Herstellung von Backwaren aus wirtschaftlicher Sicht wenig geeignet. Darüber hinaus haben frühere Studien gezeigt, dass pflanzliche β -Glukane intensiv mit frei verfügbarem Wasser reagieren, wodurch es im gewählten Ansatz zu negativen strukturellen Beeinflussungen von Weizen-/Roggenbäckwaren kam. Hingegen wurden in jüngerer Zeit mehrere Spezies von Milchsäurebakterien (MSB) (*Lactobacillus spp.*, *Pediococcus spp.*) identifiziert, welche klassische Spezies der Weizen-/Roggensauerteigmikrobiota sind und die darüber hinaus in der Lage sind, β -Glukane zu bilden. Im Gegensatz zur überwiegenden Anzahl an Homopolysacchariden, die in Backwaren insbesondere hinsichtlich ihrer strukturgebenden Eigenschaften genutzt (z. B. Dextrane) und aus Saccharose durch Sucrasen gebildet werden, werden β -Glukane durch MSB in hohen Mengen insbesondere aus Maltose

produziert, die in Sauerteigen aus Stärke durch getreideeigene Amylasen oder die Exoamylase-Aktivität von Sauerteigstartern freigesetzt wird. Somit würde beim Einsatz β -Glukan-bildender MSB in Sauerteigen auch bei unvollständiger Substratverwertung keine Restsüße verbleiben, wie es beim Zusatz von Saccharose als Substrat zur effizienten Exopolysaccharid (EPS)-Bildung in Sauerteigen häufig der Fall ist.

Derzeit gibt es keine Studien dazu, inwieweit sich β -Glukane aus MSB, die sich in ihrer Makromolekülstruktur von pflanzlichen β -Glukanen unterscheiden, auch hinsichtlich ihres nutritiven Werts, also z. B. bezüglich ihrer cholesterinsenkenden und chemopräventiven Eigenschaften, unterscheiden. Zudem ist bislang unbekannt, ob Weizen- oder Roggenbrote, die von Natur aus einen geringen β -Glukangehalt aufweisen, durch den Zusatz β -glukanhaltiger Sauerteige hinsichtlich ihrer strukturellen und sensorischen Eigenschaften verbessert werden können.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Erarbeitung von Grundlagen für den Einsatz β -Glukan-bildender Milchsäurebakterienstämme zur Verbesserung der Struktur und der ernährungsphysiologischen Wertigkeit von Backwaren. Die Untersuchungen sollten zudem wissenschaftlich fundierte Daten für einen möglichen künftigen Health Claim der β -Glukane aus MSB liefern und deren mögliche Vorteile gegenüber β -Glukanen anderen Ursprungs aufzeigen.

Forschungsergebnis

An Forschungsstelle 1 erfolgte die Selektion β -Glukan-bildender Milchsäurebakterien (*Furfurilactobacillus*, *Levilactobacillus* und *Pediococcus*), welche eine gute Durchsetzungsfähigkeit in Weizen- und Roggensauerteigen aufwiesen. Mehrere *Levilactobacillus* (L.)-*brevis*-Stämme und *Pediococcus* (P.) *clausenii* TMW 2.340 wiesen in Weizen- und Roggensauerteigfermentationen eine gute Durchsetzungsfähigkeit auf. Sauerteigfermentationen mit *Furfurilactobacillus* (F.) *rossiae* TMW 1.2152 ergaben, dass sich dieser Stamm in Weizen- und Roggensauerteigen nicht durchsetzen konnte. Anhand mikroskopischer Methoden, wie der Kapsel-färbung, und dem Agglutinationstest sowie mittels ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), einem immunologischen Nachweisverfahren, konnte die β -Glukanbildung und der β -Glukangehalt im Sauerteig nachgewiesen werden. Rheologische Messungen ergaben eine signifikante Viskositätserhöhung von Weizensauerteigen, welche mit *L. brevis* TMW 1.2112 und TMW 1.2113 fermentiert wurden, im Vergleich zu mit *P. clausenii* TMW 2.340 und β -Glukan-defizienten MSB fermentierten Sauerteigen. Die β -Glukanbildung und somit auch dessen β -Glukangehalt konnte über Veränderungen der Fermentationsparameter (Temperatur und Zeit) in den Sauerteigen optimiert werden. Anhand dieser Ergebnisse zeigte sich, dass die Temperaturführung in Bezug auf die Optimierung der β -Glukankonzentration in den Sauerteigen den stärksten Einfluss hat. Backversuche mit optimierten β -Glukan-haltigen Sauerteigrezepturen zur Bestimmung der sensorischen Eigenschaften ergaben, dass ein ungeschultes Panel keinen signifikanten Unterschied zwischen Weizen- und Roggensauerteigbrot mit und ohne bakteriellem β -Glukan detektierte. Außerdem wurden die Sauerteigbrote gegen Kontrollbrote ohne Sauerteig auf sensorische Kriterien und deren allgemeinen Akzeptanz bewertet. Hierbei war die Akzeptanz von Weizensauerteigbrot mit *L. brevis* TMW 1.2112 und Roggensauerteigbrot mit *P. clausenii* TMW 2.340 im Vergleich zu den Kontrollen bei den Probanden höher. Roggenbrote mit *L. brevis* TMW 1.2112 wurden im Vergleich zum Kontrollbrot als relativ sauer beurteilt.

Mittels Proteomanalysen konnten Enzyme der β -Glukan-Biosynthese identifiziert werden. Außerdem konnte dessen Abbau zur Energiegewinnung größtenteils widerlegt werden. Diese Erkenntnisse dienen dem Verständnis der Dynamik bzgl. Bildung und Stabilität des bakteriellen β -Glukans. Des Weiteren wurden neue Ansätze zur Erforschung der β -Glukan-Kapsel und potenzielle probiotische Merkmale identifiziert.

An Forschungsstelle 2 wurden die bakteriellen Zell (Mutanten)- und β -Glukan (Wildtyp)-Präparationen aus *P. clausenii* und *L. brevis* sowie käuflich erworbene Vergleichsglukane aus Hafer, Gerste, Hefe sowie Curdlan und im Anschluss Sauerteig- und Brotproben, welche mit den jeweiligen Mutanten- und Wildtyp-Stämmen generiert wurden, in vitro verdaut und fermentiert. Fermentationsüberstände (FÜ) und -pellets gewonnen und die Gehalte an kurzkettigen Fettsäuren (short-chain fatty acids, SCFA), Ammoniak und Gallensäuren bestimmt sowie das Bakterienprofil untersucht. Darüber hinaus wurden Cholesterin-bindende Eigenschaften

der verschiedenen Proben und das chemopräventive Potential der resultierenden FÜ an LT97-Zellen untersucht. In den FÜ der Vergleichsglukane und der Sauerteige und -brote waren die Gehalte an SCFA im Vergleich zum Blank FÜ (Leerkontrolle) erhöht, die Verhältnisse der SCFA zugunsten von Butyrat verschoben und die Ammoniakgehalte teilweise signifikant gesenkt. Die FÜ der bakteriellen β -Glukan-Präparationen wiesen eine Verschiebung zugunsten von Propionat sowie eine signifikante Erhöhung der Ammoniakgehalte auf. Eine Senkung der Gehalte an sekundären Gallensäuren erfolgte in fast allen FÜ (außer Weizenbrote). Die relativen Anteile der verschiedenen Bakterienfamilien in den Fermentationspellets wurden unterschiedlich beeinflusst. Generell kam es zu einem Anstieg der Bifidobacteriaceae im Vergleich zum Blank-FÜ. Ein Cholesterin-bindendes Potential konnte für alle Proben, bis auf Glukane aus Hefe sowie Curdlan und Brote, nachgewiesen werden. Für die aufgereinigten β -Glukan-Präparationen aus Wildtyp-Stämmen ergaben sich bezüglich der Cholesterin- und Gallensäuren-senkenden sowie hinsichtlich der fermentativen Eigenschaften (Bildung von SCFA) stärkere Effekte als bei Präparationen aus Mutanten-Stämmen. Die FÜ zeigten insgesamt keine genotoxischen Effekte, konnten aber das Wachstum und die Vitalität von LT97-Zellen hemmen. Die Caspase-2- und -3-Aktivität wurde durch die FÜ signifikant induziert. Die mRNA-Expression und Proteinexpression von Genen der antioxidativen Abwehr und Zellzykluskontrolle wurden durch die FÜ teilweise moduliert. Insgesamt war die chemopräventive Wirkung der FÜ von Proben, die mittels Wildtyp-Stämmen oder Mutanten-Stämmen generiert wurden, vergleichbar. Dennoch zeigten die FÜ der mit den MSB hergestellten Sauerteige und Brote das Potenzial, über apoptotische sowie Zellzyklus-regulatorische Prozesse, das Wachstum von LT97-Kolonadenomzellen zu inhibieren. Dabei übte das von den Bakterien gebildete β -Glukan in vitro keinen messbaren Zusatzeffekt auf potentielle cholesterinsenkende Eigenschaften, präbiotische oder chemopräventive Effekte aus. Die in den Sauerteigen und Broten vorhandenen Ballaststoffe könnten die Effekte des β -Glukans überlagern. Dennoch weisen die aufgereinigten Glukane aus Wildtyp-Stämmen Cholesterin-senkendes Potential auf, weshalb deutlichere In-vivo-Effekte des bakteriellen β -Glukans auch in komplexen Lebensmitteln, wie Brot, nicht auszuschließen sind und im humanen System überprüft werden sollten.

Wirtschaftliche Bedeutung

Das Bäckerhandwerk in Deutschland umfasst rd. 12.000 Betriebe und erwirtschaftet einen Jahresumsatz von ca. 14 Mrd. €. Die Ergebnisse werden insbesondere kleinen und mittelständischen Unternehmen (KMU) zugute kommen, die Nischenmärkte bedienen und Spezialprodukte produzieren, die dem Verbraucherwunsch nach traditionellen, zusatzstofffreien Produkten mit ernährungsphysiologischem Zusatznutzen entgegenkommen. Das Vorhaben nutzt insbesondere KMU der Backwarenindustrie, aber auch Herstellern von Backmitteln und Backzutaten sowie fermentierten Produkten auf pflanzlicher Basis, die Verbraucher mit zunehmend ausgeprägtem Ernährungsbewusstsein mit qualitativ hochwertigen Produkten ansprechen wollen. Die Nutzung der möglichen positiven Eigenschaften von β -Glukanen aus MSB in Backwaren über deren In-situ-Bildung in Vor- und Sauerteigen würde es vielen KMU ermöglichen, die Vielfalt an Produkten (mit Clean Label) zu erweitern. Hierbei können mittels traditioneller Herstellungsverfahren Strukturverbesserungen aus dem Einsatz EPS-bildender Kulturen unter Vermeidung von Restsüße in Backwaren sowie ein gesundheitlicher Zusatznutzen erzielt werden.

Publikation (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2022.
2. Schlörmann, W., Horlebein, C. Hübner, S. M., Wittwer, E. & Gleis, M.: Potential Role of ROS in Butyrate- and Dietary Fiber-Mediated Growth Inhibition and Modulation of Cell Cycle-, Apoptosis and Antioxidant-Relevant Proteins in LT97 Colon Adenoma and HT29 Colon Carcinoma Cells. *Cancers* 15, 440, 2-24 doi.org/10.3390/cancers15020440 (2023).
3. Bockwoldt, J. A. & Ehrmann, M. A.: Characterisation of recombinant GH 3 β -glucosidase from β -glucan producing *Levilactobacillus brevis* TMW1.2112. *Antonie van Leeuwenhoek* 115, 955–968, doi.org/10.1007/s10482-022-01751-7 (2022).

4. Bockwoldt, J. A., Meng, C., Ludwig, C., Kupetz, M. & Ehrmann, M. A.: Proteomic analysis reveals enzymes for β -D-glucan formation and degradation in *Levilactobacillus brevis* TMW 1.2112. Intern. J. Mol. Sci. 23, 3393, doi: 10.3390/ijms23063393 (2022).
5. Schlörmann, W., Bockwoldt, J. A., Hübner, S. M., Wittwer, E., Reiners, S., Lorkowski, S., Dawczynski, C., Ehrmann, M. A. & Glei, M.: Use of the β -Glucan-Producing Lactic Acid Bacteria Strains *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus clausenii* for Sourdough Fermentation-Chemical Characterization and Chemopreventive Potential of In Situ-Enriched Wheat and Rye Sourdoughs and Breads. Nutr. 14 (7), 1510. doi: 10.3390/nu14071510 (2022).
6. Schlörmann, W., Bockwoldt, J.A., Mayr, M.F., Lorkowski, S., Dawczynski, C., Rohn, S., Ehrmann, M. A. & Glei, M.: Fermentation profile, cholesterol-reducing properties and chemopreventive potential of β -glucans from *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus clausenii* - a comparative study with β -glucans from different sources. Food Funct. 12 (21), 10615-10631, doi: 10.1039/d1fo02175c (2021).
7. Bockwoldt, J. A., Fellermeier, J., Steffens, E., Vogel, R. F. & Ehrmann, M. A.: β -Glucan Production by *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus clausenii* for In Situ Enriched Rye and Wheat Sourdough Breads. Foods 10, 547, doi:10.3390/foods10030547 (2021).
8. Bockwoldt, J. A., Stahl, L., Ehrmann, M. A., Vogel, R. F. & Jakob, F.: Persistence and beta-glucan formation of beer-spoiling lactic acid bacteria in wheat and rye sourdoughs. Food Microbiol. 91, 103539, doi:10.1016/j.fm.2020.103539 (2020).
9. Bockwoldt, J.A.; Stahl, L., Ehrmann, M.A., Vogel, R.F. & Jakob, F.: "Persistence and beta-glucan formation of beer-spoiling lactic acid bacteria in wheat and rye sourdoughs". Food Microbiology, 91, 103539. [https://doi.org/ 10.1016/j.fm.2020.103539](https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103539) (2020).
10. Bockwoldt, J. A. Fellermeier, J., Steffens, E., Vogel, R.F. & Ehrmann, M.A.: " β -Glucan Production by *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus clausenii* for In Situ Enriched Rye and Wheat Sourdough Breads". Foods, 10, 547 (2021).
11. Bockwoldt, J. A. : Bacterial β -glucan - Applicability for in situ enriched sourdoughs and molecular background of the biosynthesis and degradation. Dissertation (2022).

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität München
School of Life Sciences
Department Molecular Life Sciences
Lehrstuhl für Mikrobiologie
Emil-Ramann-Str. 4, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-3301
Fax: +49 8161 71-3327
E-Mail: m.ehrmann@wzw.tum.de

Universität Jena
Institut für Ernährungswissenschaften
Professur für Ernährungstoxikologie
Dornburger Str. 24, 07743 Jena
Tel.: +49 3641 949-670
Fax: +49 3641 949-672
E-Mail: michael.glei@uni-jena.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

... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



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 Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: © TU München, Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie, Dr. Jakob

Stand: 31.05.2024