

## Gewinnung cholesterin-abgereicherter Eigelbfraktionen und innovative Ansätze zur Produktgestaltung



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/M. Sc. Priska Pröll
Industriegruppe(n):	Bundesverband der Deutschen Eiprodukten-Industrie e. V., Bonn Kulinaria Deutschland e. V., Bonn Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e. V., Freising
Projektkoordinator:	Klaus Mielke OVOBEST Eiprodukte GmbH & Co. KG, Neuenkirchen-Vörden
Laufzeit:	2019 – 2021
Zuwendungssumme:	€ 269.680,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### **Ausgangssituation**

Hühnereigelb wird aufgrund seiner nutritiven und funktionellen Eigenschaften in vielen Lebensmitteln eingesetzt. Das Einsatzspektrum umfasst neben klassischen Produkten, wie Mayonnaise oder Salatsoßen, auch Sauce Béarnaise/Hollandaise, Cremes, Fleisch-, Back- und Teigwaren. Die Produktion sowie der Konsum von Hühnereiern und Eiprodukten ist in den vergangenen Jahren stetig gestiegen. Neben Proteinen enthält Hühnereigelb (52 % TS) auch essentielle Fettsäuren (Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren), Lecithin, Vitamine, Mineralien und Phospholipide, von denen vielfältige positive nutritive Eigenschaften bekannt sind; des Weiteren sind Triglyceride und Sterole enthalten.

Vorangegangene IGF- Projekte zeigten, dass die Funktionalität der Eigelbkomponenten beim Einsatz als Emulgator und Strukturbildner durch den Einsatz einzelner Eigelbfraktionen zielgerichtet gestaltet bzw. relativ zu Gesamteigelb sogar noch gesteigert werden kann. So war es im Rahmen des IGF-Vorhabens AiF 16009 N gelungen, Eigelb in industriellem Maßstab in seine Hauptfraktionen zu trennen („Granula“ bzw. „Plasma“), von denen Granula cholesterin- und LDL-arm ist und in Emulsionen sehr starke gelstrukturbildende Effekte bewirkt, während die lösliche Plasma-Fraktion als Emulgator unabhängig vom Milieu (pH, Ionenstärke) sehr kleine Fetttropfen stabilisiert. Mit beiden Fraktionen können stabile Emulsionen in einem breiten Anwendungsbereich mit Potential für innovative Lebensmittel hergestellt werden. In Bezug auf die industrielle Umsetzung ist das Spektrum der möglichen Zielprodukte der Eigelbfraktionen aber wesentlich größer, z.B. in geschäumten Produkten oder als strukturbildende Komponente in Teig- oder Backwaren, was aber bislang noch nicht untersucht wurde.

Ziel des Forschungsvorhabens war es deshalb, die zentrifugale Gewinnung der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula weiter zu vertiefen, indem durch höhere g-Zahlen die cholesterin- und fettreiche LDL-Fraktion aus Granula und Plasma entfernt wird. Die so entstehenden Subfraktionen der Livetine, HDL und Phosvitin können als cholesterinfreies bzw. -abgereichertes Eigelb in der Lebensmittelherstellung oder Kosmetikindustrie genutzt werden. Dabei entsteht außerdem eine LDL-reiche Fraktion, die zur Extraktion von Lecithin, als Zellschutzmedium für eingefrorenen Samen oder als Ausgangssubstanz für die Biosynthese von Steroiden oder Vitamin-D-Derivaten verwendbar ist. Auch ist ein Rückvermischen der LDL-Fraktion zu Eigelb oder Vollei denkbar, um die funktionellen Komponenten (Phospholipide und Proteine) zu nutzen. Des Weiteren sollten neue Gestaltungsmöglichkeiten im Bereich der Emulsionsherstellung und -stabilisierung aufgezeigt werden, um deren industrieller Nutzung neue Impulse zu geben. Durch gezielte Auswahl der Subfraktionen kann eine cholesterinfreie Mischung erhalten oder der Cholesteringehalt gezielt niedrig gehalten werden. Die Funktionalität hinsichtlich der Stabilisierung der Öltröpfchen (v.a. durch Plasmabestandteile) und die Strukturbildung (v.a. durch Granula) kann kombiniert werden, um ein Produkt mit den gewünschten Eigenschaften und Einsatzmöglichkeiten zu erhalten. Hypothese war, dass sowohl durch das anteilige Mischen von Plasma und Granula als auch durch das Entfernen und gesonderte Verwenden der LDL-Komponenten aus den Fraktionen neue funktionelle Systeme geschaffen werden können. Die Einzelfraktionen und die Mischung dieser eignen sich zur Strukturbildung in Emulsionen, weil sich unterschiedliche Zusammensetzungen in der besetzten Grenzfläche ergeben. Diese Erwartung war dadurch begründet, dass in allen bisherigen Arbeiten die Plasma- bzw. Granulafraktionen sehr unterschiedliche Funktionalitäten aufwiesen. Hieraus ergab sich auch die Annahme, dass sich in Mischungen der Einzelfraktionen wiederum andere Funktionalitäten (Fettkugelgröße, Viskosität, Festigkeit) gezielt einstellen lassen könnten.

Bezüglich des Abtrennens der LDL-Anteile aus der Granulafraktion war die Hypothese, dass die mit ansteigender NaCl-Konzentration zunehmende Granula-Desintegration gezielt nutzbar ist, um eine Teildesintegration zu bewirken, die auf der einen Seite ausreicht, um die Freisetzung der gebundenen LDL-Vesikel zu erreichen, auf der anderen Seite aber Granulapartikel unterschiedlicher Größe erzeugt; dies sollte zu unterschiedlichen Grenzflächenaktivitäten bzw.-zusammensetzungen und Emulsionseigenschaften führen.

Unter Einsatz von Köchen sollten ferner neue, bisher nicht in Betracht gezogene Anwendungsfelder für Eigelb erschlossen werden, die außerhalb der klassischen Produktsysteme liegen. Dazu sollten Modelllebensmittel (Kuchen, Teige, Emulsionen, Gele, Saucen) hergestellt und die erhaltenen Strukturen charakterisiert werden.

### ***Forschungsergebnis***

LDL macht in der Trockenmasse circa 9 % der Granula aus, während dieses mit 85 % den Hauptbestandteil von Plasma darstellt. Dabei können bestenfalls die Granula-Subfraktionen HDL und Phosvitin und die Plasma-Subfraktion der Livetine gewonnen werden. Um die zentrifugale Abreicherung der LDL-Fraktion aus Plasma und Granula zu quantifizieren, wurde im Rahmen des Vorhabens eine Methode zur Messung des Cholesteringehaltes in Eimatrices etabliert. Neben der enzymatischen Messung wurde außerdem die gaschromatographische Methode als Goldstandard genutzt. Mittels einer Labor-Ultrazentrifuge konnte der Einfluss von pH-Wert, Salzkonzentration, Zentrifugationsdauer und Temperatur auf die zentrifugale Abtrennung von Plasma und Granula in seine Subfraktionen geprüft werden. Eine Salzzugabe hat in der Plasmafraktion einen dominierenden Effekt auf die Löslichkeit der Livetinfraaktion und die Dichte der kontinuierlichen Phase, wobei ab 10 % NaCl der Trenneffekt nicht weiter optimiert werden konnte. In der Granulafraktion sollte durch Salzzugabe die Desintegration gesteuert werden, um eine gute LDL-Abreicherung zu erreichen. Es wurde erwartet, dass sich die Desintegration der Granula größtenteils bei einer Zugabe von 1,8-3,2 % NaCl abspielt. Eine Kombination aus höheren Dichteunterschieden und stärkerer Desintegration bei einer Salzkonzentration > 5,8 % zeigte jedoch bessere Abtrennungen. Ein pH-Wert von 5-8 zeigte sich für Plasma und Granula als gut geeignet, um LDL abzutrennen. Außerdem konnte festgestellt werden, dass sich bei Temperaturen von 30 °C LDL besonders gut und scharf von den cholesterinarmen Fraktionen abtrennen ließ. Die Zentrifugationszeit beeinflusst den Abtrennprozess maßgeblich, wobei in Kombination mit optimalen Milieubedingungen eine Zeit von 3 h

notwendig war, um reine Subfraktionen zu gewinnen. Somit konnte aus Plasma reines LDL und Livetin gewonnen werden sowie aus Granula eine LDL-freie HDL- und Phosvitin-Fraktion.

Diese als optimal ermittelten Parameter wurden auf eine semikontinuierliche, hochdrehende Röhrenzentrifuge Z11 (85.600 U<sub>g</sub>) der Firma Carl Padberg GmbH übertragen. Außerdem wurde eine Kühlung mittels Wirbelrohr etabliert, die eine Erhitzung des Zylinders auf > 50 °C verhindern konnte. Der Volumenstrom wurde auf ein funktionales Minimum reduziert, um maximale mittlere Verweilzeiten zu erreichen. Eine mittlere Verweilzeit von 35 min wurde mittels einer Membranpumpe realisiert, ohne Produktschädigungen zu erhalten. Zudem wurde der Einfluss der Plasma-Verdünnung überprüft. Dabei konnte festgestellt werden, dass eine 1:2-Verdünnung von Plasma die Abtrennung von LDL von 81 % auf 39 % reduzieren kann. Eine semikontinuierliche Röhrenzentrifuge zeigte sich zur Granulafraktionierung als ungeeignete Apparatur, da diese Zentrifugenart aufgrund ihrer Bauweise vorwiegend zur Feststoffentfernung oder zur Abtrennung volumenbezogen geringer Unterstände geeignet ist. Für die Granulafraktionierung wäre eine Untersuchung mit einer kontinuierlich laufenden Röhrenzentrifuge in Betracht zu ziehen. Deren Einsatz ist jedoch durch die niedrigen Drehzahlen bislang limitiert.

Aus den reinen Subfraktionen LDL, Livetin und HDL+Phosvitin wurden in der Kolloidmühle (6.000 rpm) Emulsionen bei unterschiedlichen pH-Werten erstellt, um das milieuhabhängige technofunktionelle Potential jeder Fraktion zu ermitteln. Dazu wurde ein 80 %iger Sonnenblumenanteil bei einem Proteingehalt von 2 % in der wässrigen Phase verwendet. Die Emulsionen wurden mittels Rheometer und Texturprofilanalyse auf ihre Textur und auf die Öltröpfchengrößenverteilung untersucht. Reines LDL ist aufgrund seiner flexiblen, hydrophoben Proteine und der ebenso enthaltenen grenzflächenaktiven Phospholipide (darunter Lecithin) milieunabhängig zur Stabilisierung sehr kleiner Öltröpfchen fähig. Gleichzeitig sind LDL-Emulsionen sehr weich und zeigen im sauren Milieu eine eher gelartige Struktur, während diese im neutralen Milieu eher pastös werden. Dies ist damit zu erklären, dass sich Phospholipide und kleine Apoproteine an die Grenzflächen anlagern, während größere Apoproteine ungebunden zu keiner Quervernetzung beitragen, die im neutralen Milieu noch stärker beeinträchtigt ist, da der hydrophobe Charakter geringer wird. Verglichen mit Eigelb und LDL zeigen die reinen Livetin- und HDL+Phosvitin-Fraktionen sehr feste Emulsionen mit größeren Öltröpfchen. Diese Livetin-Emulsionen sind im sauren Milieu eher fest, während die HDL+Phosvitin-Emulsionen eher im neutralen pH-Bereich fester sind. Bei pH 3 verliert HDL+Phosvitin seine Löslichkeit zu 85 %. Bei der Livetin-Fraktion zeigt sich bei pH 6,5 ein so starkes kompetitives Grenzflächenverhalten, dass Emulsionen brechen. Dies macht eine Untersuchung einer Kombination von HDL+Phosvitin- und Livetin-Fraktionen in verschiedenen Anteilen notwendig, um ein Eigelbprodukt zu designen, das in einem pH-Bereich von 3-7 eingesetzt werden kann.

Die Kombinationen aus Livetin- und HDL+Phosvitin-Fraktionen bildeten milieunabhängig stabile Emulsionen, die in ihrem Charakter aber sehr stark variieren können. Emulsionen mit Anteilen 50/50 (% w/w) waren am wenigsten durch die Veränderung des pH-Wertes zu beeinflussen. Emulsionen mit 75 % Livetin und 25 % HDL+Phosvitin zeigten vergleichsweise feste Emulsionen und Emulsionen aus 25 % Livetin und 75 % HDL+Phosvitin eher weichere Emulsionen, insbesondere bei pH 3. Die weicheren Emulsionen korrelierten stets mit leicht größeren Öltröpfchen, die eine geringere innere Reibung erzeugen, jedoch ist der Hauptgrund in dem kompetitiven Verhalten beider Fraktionen an der Grenzfläche zu vermuten. Bei einem Verhältnis von 25 % Livetin und 75 % HDL+Phosvitin (w/w) liegt das stöchiometrische Gleichgewicht, da die drei Livetin-Spezies kleiner sind als das HDL und das Phosvitin. Zudem bilden sich wahrscheinlich in der limitierten wässrigen Phase Aggregate durch elektrostatische Wechselwirkungen aus, die eine eher faserige Membran um die Öltröpfchen bilden und so eher zu Schichtverschiebungen neigen statt zu einer elastischen Quervernetzung. Somit können cholesterinarme Eigelbfraktionen genutzt werden, um Emulsionen milieunabhängig zu stabilisieren und um gleichzeitig ihr individuelles Potential auszunutzen.

Zuletzt sollten unter Einbeziehung von eigelbverarbeitenden Unternehmen des Projektbegleitenden Ausschusses und mittels des „gastronomic engineering“ neue Ansätze und Anwendungskonzepte erschlossen werden, die außerhalb der klassischen Produktsysteme liegen. Aufgrund der COVID-19-Pandemie und der damit verbundenen Kontaktbeschränkungen konnten diese geplanten Praxistests nur auf Technikumsebene durchgeführt werden. Hierbei wurde zum einen das Schaumverhalten der Eigelbsubfraktionen und zum anderen das

Gelbildungsverhalten in Pancake-Teigen untersucht. Zur Untersuchung der Schaumbildungsfähigkeit wurden die Eigelbsubfraktionen sowohl nativ als auch thermisch denaturiert als „Pickering Partikel“ verwendet. Die thermische Aggregation führte in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Salzkonzentration zu Partikeln, die klein ( $d_{50,3} < 1 \mu\text{m}$ ) oder groß waren ( $d_{50,3} = 40\text{-}74 \mu\text{m}$ ). Zudem zeigten die nativen und denaturierten Proteine bzw. Proteinaggregate sehr unterschiedliche Nettoladungen, die bestenfalls weder zu stark noch gleich 0 mV sein sollten, da sonst die Grenzflächenbelegung gestört abläuft oder eine Koaleszenz der Luftblasen gefördert wird.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich LDL milieunabhängig und Livetine zwischen pH 5,5 und 6,5 im denaturierten Zustand sehr gut eignen, um Schäume zu stabilisieren. Dies ist der Fall, da sich aufgrund der gebildeten großen Aggregate ( $d_{50,3} = 40\text{-}74 \mu\text{m}$ ) bei Grenzflächendrücken von  $\sim 21 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  (LDL) und  $\sim 12 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  (Livetin) und moderaten Abstoßungskräften von maximal  $-9,4 \text{ mV}$  sehr stabile Schäume bilden. Die HDL+Phosvitin-Fraktion kann Schäume ausschließlich im nativen Zustand und im dissoziierten Zustand bei 3,2 % NaCl-Zusatz stabilisieren. Wird diese Fraktion mit der Livetin-Fraktion vermischt, kann im erhitzten Zustand ein Schaum erzeugt werden, der jedoch weit weniger stabil ist als die Schäume aus Livetin und LDL.

Bei der Gelbildung zeigten alle Eigelbfraktionen sehr individuelle Eigenschaften. LDL zeichnet sich durch seine ausgezeichnete Fettbindefähigkeit aus, während Livetin, insbesondere in Kombination mit glutenhaltigem Mehl, nicht den Austritt des Fetts verhindern kann. Außerdem zeigten Livetin-Pancakes die gelartigsten Strukturen, während LDL eher pastöse Pancakes entstehen lässt. Wird HDL+Phosvitin eingesetzt, werden die gebackenen Teige stets fester als die mit Livetin und LDL. Gleichzeitig kann festgestellt werden, dass der Einsatz von Milchproteinen in Kombination mit Eigelbproteinen meist zu einer Senkung der Festigkeit führt und zu einer verstärkten Vernetzung über Wasserstoffbrückenbindungen. Dieser Effekt, der nur bei LDL- und Livetin-Gelen auftritt, kann durch vermehrte elektrostatische Protein-Protein-Wechselwirkungen und/oder eine stärkere Amylose-Verkleisterung hervorgerufen werden. Bei HDL+Phosvitin-Gelen zeigten sich aufgrund der hohen Ladung von Phosvitin, die im HDL+Phosvitin-Verbund herrscht, keine Wechselwirkungen und somit keine Änderung in der Quervernetzung der Gele. Die Gelbildung, d. h. die Quervernetzungsart, Fettbindung und Gelelastizität, ist somit stark von der verwendeten Eigelbsubfraktion abhängig und beeinflussbar. Wird Eigelb mittels Zentrifugation in seine Bestandteile separiert, entstehen cholesterinreduzierte Subfraktionen, die in ihrer Anwendung durch das verwendete Milieu limitiert sind. Jedoch können sie durch Kombination miteinander so funktionalisiert werden, dass sie milieunabhängig über ein gutes Emulgier-, Schäumungs- und Gelbildungsverhalten verfügen.

### ***Wirtschaftliche Bedeutung***

Eigelb ist aus Sicht vieler Verbraucher in Bezug auf sein gesundheitsbezogenes Image ein polarisierendes Lebensmittel. Oft wird es wegen seines Cholesteringehalts gemieden, andererseits steht es aber wegen seiner positiv wirkenden Komponenten (u.a. Lecithin) in positivem Licht. Durch eine zentrifugale Abtrennung können generell unterschiedliche Eigelbfraktionen erzeugt werden, deren Cholesteringehalt gesenkt werden kann, ohne deklarationspflichtige Zusatz- und Hilfsstoffe verwenden zu müssen.

Die Ergebnisse des Projektes bieten ein breites Anwendungsspektrum in vielen Wirtschaftsbereichen (Feinkosthersteller, Gastronomie, Bäckereien), um das technofunktionelle Potential der Einzelfraktionen LDL, Livetin und HDL+Phosvitin besser auszunutzen. Die neuen Erkenntnisse über ihr individuelles Verhalten im Bereich der Emulsionsstabilisierung, Schaum- und Gelbildung sind zudem Innovationstreiber für neue, bislang nicht etablierte Anwendungsfelder.

Cholesterinreduzierte Eigelbfraktionen können sowohl im nativen Zustand, als auch im thermisch denaturierten Zustand in energie- bzw. fettreduzierten Produkten Verwendung finden und Emulsionen, Gele sowie Schäume stabilisieren. Insbesondere in der Dessert-, Feinkost- und Fleischersatzherstellung ist diese Anwendung denkbar. Besonders die bislang nur wenig untersuchte Livetin-Fraktion zeigt sich im leicht bis stark sauren Bereich als eine sehr vielseitig nutzbare Proteinquelle mit sehr guten Gel-, Emulsions- und Schaumbildungseigenschaften. Durch eine Kombination aus Livetin und der Granula-Fraktion bzw. HDL+Phosvitin-Fraktion können Proteinmischungen hergestellt werden, die weniger auf Milieuschwankungen reagieren. Damit wurde die

Grundlage geschaffen für die Herstellung neuer, innovativer cholesterin- und fettreduzierter sowie proteinreicher Eigelbprodukte.

Die Ergebnisse des Vorhabens, kombiniert mit den Erkenntnissen des IGF-Projektes AiF 16009 N liefern den Eiprodukteherstellern einen umsetzbaren zweistufigen Eigelbfraktionierungsprozess. Mithilfe einer Dekanterzentrifuge kann aus Eigelb das LDL-arme Granula und mittels einer Röhrenzentrifuge in einem zweiten Prozess aus dem LDL-reichen Plasma eine LDL-arme Livetin-Fraktion gewonnen werden. Damit ist die methodische Basis gelegt, um eine neue Eigelb-Produktpalette zu realisieren. Zudem konnten Fragen bezüglich der Haltbarmachung mittels Pasteurisation und Sprühtrocknung beantwortet werden.

Von den Ergebnissen des Vorhabens können darüber hinaus Unternehmen des Maschinen- und Anlagenbaus, insbesondere Hersteller von Zentrifugen profitieren, da Fragen der generellen Umsetzbarkeit der Eigelbfraktionierung geklärt und die Luftkühlung als neues Tool untersucht sowie neue innovative Prozesse mit geringeren Volumenströmen und somit größeren Verweilzeiten untersucht wurden.

### **Publikationen (Auswahl)**

1. FEI-Schlussbericht 2021.
2. Pröll, P. & Heidebrecht H.-J.: Einfluss der Verweilzeit auf den Fraktionierungsprozess von Eigelb-Plasma in einer hochdrehenden Röhrenzentrifuge mit hoher Zentrifugationsbeschleunigung. Jahressb. Milchwiss. Forsch. ZIEL, ISBN 978-3-947492-20-6, 63-65 (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)

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](mailto:fei@fei-bonn.de)

### **Förderhinweis**

... 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.