

## Ausblick

◆ Außer für Vitamin B<sub>12</sub> liegen für die einzelnen Vitamine zuverlässige chromatographische Verfahren vor. Die Empfindlichkeit, wie sie für Bioverfügbarkeitsmessungen erforderlich ist, lässt sich durch Kopplung mit der Beschleuniger-Massenspektrometrie enorm steigern, wie die Messung attomolarer Mengen von 5-Methyltetrahydrofolat in Blutplasma zeigt.<sup>14)</sup>

Multivitaminmethoden existieren bisher nur für vitaminangereicherte Produkte, für nichtangereicherte Lebensmittel sind sie mittelfristig zu erwarten. Kombinierte Enzymbehandlungen, um Konjugate zu erfassen, und simultane SIVAS (Abbildung 2), zum Beispiel für Folsäure und Pantothenensäure, sind Schritte in diese Richtung.<sup>15)</sup>

*Michael Rychlik*  
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie der  
TU München, Garching  
michael.rychlik@lrz.tu-muenchen.de

- 1) B. N. Ames, *Mutation Res.* 2001, 475, 7–20.
- 2) I. Pott, D. E. Breithaupt, R. Carle, *Phytochemistry* 2003, 64, 825–829.
- 3) T. Glaser, A. Lienau, D. Zeeb, M. Krucker, M. Dachtler, K. Albert, *Chromatographia* 2003, 57, 5/19–5/25.
- 4) A. Kalman, C. Mujahid, P. Mottier, O. Heudj, *Rap. Comm. Mass Spectrom.* 2003, 17, 723–727.
- 5) G. Fauler, H. J. Leis, J. Schalamon, W. Muntean, H. Gleispach, *J. Mass Spectrom.* 1996, 31, 655–660.
- 6) S. Ndaw, M. Bergaentzle, D. Aoude-Werner, C. Hasselmann, *Food Chemistry* 2000, 71, 129–138.
- 7) P. Vinas, N. Balsalobre, C. Lopez-Eroz, M. Hernandez-Cordoba, *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 1789–1794.
- 8) P. Vinas, N. Balsalobre, C. Lopez-Eroz, M. Hernandez-Cordoba, *Chromatographia* 2004, 5, 381–386.
- 9) A. Freisleben, P. Schieberle, M. Rychlik, *Anal. Bioanal. Chem.* 2003, 376, 149–156.
- 10) A. C. Li, Y.-L. Chen, H. Junga, W. Z. Shou, X. Jiang, W. Naidong, *Chromatographia* 2003, 58, 723–731.
- 11) M. Rychlik, *Analyst* 2003, 128, 832–837.
- 12) A. Malinauskas, R. Garjonyte, R. Mazeikiene, I. Jureviciute, *Talanta* 2004, 64, 121–129.
- 13) H. E. Indyk, E. A. Evans, M. C. B. Caselunghe, B. S. Persson, P. M. Finglas, D. C. Woollard, E. L. Filonzi, *J. AOAC Int.* 2000, 83, 1141–1148.
- 14) B. A. Buchholz, A. Arjomand, S. R. Dueker, P. D. Schneider, A. J. Clifford, J. S. Vogel, *Anal. Biochem.* 1999, 269, 348–352.
- 15) M. Rychlik, *Analytica Chim. Acta* 2003, 495, 133–141.

## Wirkung von Emulgatoren und Enzymen in Backwaren

◆ Zusatzstoffe werden Lebensmitteln zugesetzt, um bestimmte Effekte zu erzielen. Bei Brot und Backwaren beziehen sich diese Effekte auf die Verarbeitungseigenschaften einerseits und die Qualität der Endprodukte andererseits. Erwünschte Eigenschaften, insbesondere bei der industriellen Herstellung von Backwaren, sind hohe Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls, geringe Klebrigkeit, gute Maschinengängigkeit, gutes Gashaltvermögen und hohe Gärtoleranz der Teige. Wichtige Qualitätsparameter der fertigen Backwaren sind gutes Aroma, hohes Gebäckvolumen, ansprechende Farbe und Struktur der Kruste, elastische und gleichmäßige Krume, die nach dem Backen möglichst lange erhalten bleiben soll. Um dies zu erreichen, werden verschiedene Zusatzstoffe meist als Bestandteil von Backmitteln zugegeben. Dazu gehören Redoxreagenzien wie Ascorbinsäure und Cystein ebenso wie Emulgatoren, Hydrokolloide und Enzyme.

### Die Wirkung von Zusatzstoffen messen

◆ Um die Wirkung von Zusatzstoffen in Backwaren beurteilen zu können, bedarf es empfindlicher Methoden, die die Effekte beim Anteigen, die Eigenschaften der Teige und des daraus hergestellten Gebäcks objektiv bestimmen. Da häufig nur geringe Mengen an Emulgator vorliegen, vor allem wenn Emulgatorpräparate fraktioniert oder synthetisiert wurden, ist es erforderlich, mit kleinen Mehlmengen zu arbeiten. Allerdings müssen die Ergebnisse dieser Mikroversuche ohne Einschränkung auf den Normalmaßstab übertragbar sein. Diese Anforderungen erfüllen Mikroversuche mit 10 g Mehl.<sup>1,2)</sup>

Die Wirkung von Zusatzstoffen bei der Herstellung eines Teiges wird mit Mikrofarinographen untersucht. Diese Geräte messen über ein Kraft-Zeit-Diagramm, wie viel Wasser das

Mehl aufnehmen muss, damit der Teig eine definierte Konsistenz bekommt. Zugversuche an einem Mikro-Extensographen geben Auskunft über die Eigenschaften des fertig entwickelten Teiges. Für Mikromengen eignet sich auch die Messung von Teigeigenschaften an dynamischen Rheometern. Diese liefern physikalische Größen wie dynamische Viskosität oder Elastizität, deren Bedeutung für die Backeigenschaften bisher nicht abschließend geklärt ist.

Die aussagekräftigsten Ergebnisse zur Wirksamkeit von Zusätzen liefern Backversuche, die ebenfalls im Mikromaßstab möglich sind. Der wichtigste Parameter ist dabei das Brotvolumen. Die Krume der Mikrobrote lässt sich dann unmittelbar für die Messung der Krumenfestigkeit und des Altbackenwerdens heranziehen. Dazu dient das Komprimieren und Entspannen der Krumenstücke an speziellen Messgeräten („Texture Analyser“). Die Verkleisterungseigenschaften von Stärke bestimmt die Differential Scanning Calorimetry (DSC). Auch hierfür sind nur kleine Materialmengen (10 mg bis 100 mg Stärke) erforderlich.

### Emulgatoren

◆ Emulgatoren dienen als grenzflächenaktive Verbindungen dazu, disperse Systeme zweier nicht mischbarer Phasen zu stabilisieren. Bei Backwaren können reine Emulsionen vorliegen, wenn die äußere Phase ei-



**Peter Köhler**, Jahrgang 1960, studierte Lebensmittelchemie in Stuttgart. Nach dem zweiten Staatsexamen an der Chemischen Landesuniversitätsanstalt Karlsruhe promovierte er 1992 bei Hans-Dieter Belitz an der TU München. 1999 habilitierte er sich an der TU München über Struktur-Wirkungsbeziehungen synthetischer Emulgatoren bei Backwaren. Seit 2001 leitet er die Arbeitsgruppe „Polysaccharide, Enzyme, Zusatzstoffe“ an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, und seit 2003 ist er stellvertretender Direktor des Hans-Dieter-Belitz-Instituts für Mehl- und Eiweißforschung in Garching.

ne Lösung von Salz, Zucker oder Protein ist und die innere Phase ein Öl. Wenn man andererseits die Grenzfläche zwischen der wässrigen (äußeren) Phase eines Teiges und schwer löslichen Komponenten (Stärke, Kleberproteine) betrachtet, handelt es sich um eine Suspension. Auch Schäume spielen eine Rolle, wenn bei der Gare gelöstes Protein und Fett Gasbläschen umschließen.

Emulgatoren werden Backwaren bereits seit den 1930er Jahren zugesetzt und haben heute eine große Bedeutung in der industriellen Produktion, da sich so Schwankungen in der Mehlqualität ausgleichen lassen und eine gleich bleibende Produktqualität gewährleistet ist.

Emulgatoren gehören zur Gruppe der polaren Lipide. Einige kommen in der Natur vor, andere sind synthetische Analoge natürlich vorkommender Lipide. Die Strukturen der wichtigsten Emulgatoren für die Backwarenherstellung zeigt Abbildung 1. Hier sind nur die Leitverbindungen dargestellt, da es sich bei Lebensmittel-emulgatoren immer um Gemische aus Einzelverbindungen handelt, deren Strukturen häufig nicht vollständig identifiziert sind. Es ist daher interessant, die aktiven Strukturen in diesen Gemischen aufzuklären.

### Wie wirken Emulgatoren?

◆ Bei der Herstellung von Backwaren entfalten Emulgatoren ihre Wirkungen sowohl in der Teigphase, als auch während des Backvorgangs und im fertigen Gebäck. Beim Anteiligen des Mehls werden polare Lipide an die Kleberproteine gebunden. Vor allem anionische Emulgatoren wie Datem verringern so die positive Überschussladung der Kleberproteine und begünstigen dadurch ihre Aggregation (Abbildung 2). Der Teig wird fester, weniger klebrig und zeigt ein verbessertes Gashaltvermögen bei der Gare.<sup>3)</sup>

Während des Backens (Abbildung 3) geben die Kleberproteine einen Teil der gebundenen Lipide wieder ab. Bei einer bestimmten Temperatur beginnt die Stärke zu verkleistern. Durch Emulgatoren erhöht sich die

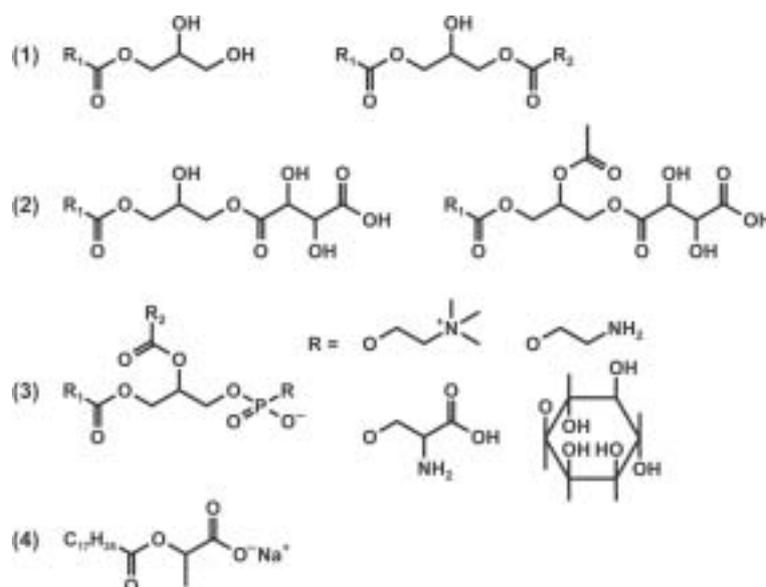


Abb. 1. Leitstrukturen der bei Backwaren wichtigsten Emulgatoren. (1) Mono- und Diacylglyceride, (2) Diacetylweinsäureester von Monoacylglyceriden (Datem), (3) Phospholipide, (4) Natiumstearoyl-2-lactylat (SSL),  $R_1, R_2 = \text{Alkyl}$ .

Verkleisterungstemperatur der Stärke, so dass sich die durch die Kleberproteine unterstützte Ofentriebphase verlängert. Bei der Verkleisterung nimmt die Stärke große Mengen an Wasser auf, das den Kleberproteinen dann nicht mehr zur Verfügung steht. Diese beginnen zu koagulieren, werden für die Triebgase durchlässig und setzen die nach dem Anteiligen noch gebunden vorliegenden polaren Lipide frei. Diese lagern sich an den Grenzflächen der Gasblasen an und übernehmen vom Kleber die Funktion der Gashaltung.<sup>3,4)</sup> Das Ergebnis ist ein höheres Brotvolumen.

Im Gebäck können polare Lipide Amylose-Lipid-Komplexe bilden, wodurch die Kristallisation der Amylose behindert und sich damit das Altbackenwerden verlangsamt.

### Strategien zur Ermittlung aktiver Emulgatorkomponenten

◆ Um die aktiven Emulgatorkomponenten zu ermitteln, ist eine Kombination analytischer Verfahren und chemischer Synthesen erforderlich. Zunächst wird ein Emulgator bis hin zu Einzelkomponenten aufgetrennt. Die Eigenschaften der Fraktionen werden mit einer der oben beschriebenen Mikromethoden bestimmt. Zur Trennung dienen üblicherweise chromatographische Methoden wie Gelchromatographie, kombiniert mit HPLC oder präparativer Dünnschichtchromato-

graphie. Die Strukturen der Verbindungen werden dann massenspektrometrisch und mit NMR aufgeklärt.

Komplementär zu analytischen Verfahren lassen sich die Zielmoleküle auch synthetisch herstellen und auf ihre Aktivität hin untersuchen.

Beim synthetischen Emulgator Datem wurde die Struktur der drei wichtigsten Einzelkomponenten durch Kombination chromatographischer Verfahren identifiziert und die Synthese des Emulgators so optimiert, dass ein hoher Anteil aktiver Komponenten entsteht.<sup>3,5-7)</sup> Von diesen Präparaten reicht eine um 30% geringere Zugabemenge, um die gleiche Aktivität zu erzielen wie mit herkömmlichen Datem-Präparaten.

Versuche mit Datem-Präparaten mit definierten Fettsäureresten zeigen, dass die Aktivität von der Kettenlänge der Fettsäure abhängt. Basierend auf diesen Untersuchungen hat ein Emulgatorhersteller 2003 eine neue Generation an Datem-Produkten auf den Markt gebracht.

Auch bei Phospholipiden, deren Gemische als Lecithin bezeichnet werden, wurden die enthaltenen Verbindungsklassen chromatographisch rein isoliert und ihre Aktivität einzeln und in Kombination bestimmt.<sup>8,9)</sup> Auf diese Weise wurden synergistische Effekte erkannt und Phospholipidgemische hergestellt, die sich für Backwaren besonders gut eignen. →

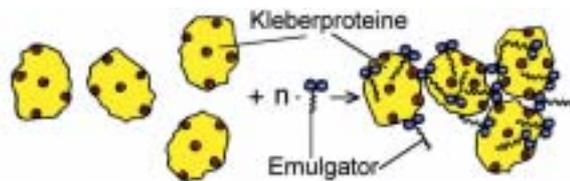


Abb. 2. Enzyme

Schematische Darstellung der kleberverfestigenden Wirkung von anionischen Emulgatoren in einem Weizenteig.

◆ Die Enzyme im Mehl (endogene Enzyme) beeinflussen zusammen mit den Enzymen der Hefe die Teigeigenschaften, die Verarbeitungsqualität und die Eigenschaften des Gebäcks. Je nach Getreidesorte, Bodenbeschaffenheit, Anbaubedingungen, Witterungsverhältnissen und Reifezustand bei der Ernte unterscheiden sich die endogenen Enzymaktivitäten in Getreidemehlen stark. Um diese Unterschiede auszugleichen, werden bei der Herstellung von Backwaren Enzyme zugesetzt. Diese Präparate haben eine definierte Zusammensetzung und Spezifität und ermöglichen so eine reproduzierbare Herstellung und gleich bleibende Qualität der Backwaren.

### Welche Enzyme werden eingesetzt?

◆ Bereits in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts wurden Malzmehle und Malzextrakte eingesetzt, enzymaktives Sojamehl kam 1929 dazu. Seit 1950 ist die Bedeutung der Mikroorganismen als Quelle für Enzyme ständig gewachsen, so dass zunächst  $\alpha$ -Amylasen und Proteinasen aus Pilzen, später dann Xylanasen, Glucoseoxidase, Amylase, Peroxidase, Lipase und Amyloglucosidase aus Bakterien in Backmitteln eingesetzt wurden.<sup>10)</sup> Durch die Entwicklung gentechnischer Methoden hat man heute Zugang zu Mikroorganis-

men, die fast alle relevanten Enzyme mit hoher Ausbeute herstellen.

Die Wirkungsmechanismen dieser Enzyme sind unterschiedlich: Enzyme aus der Gruppe der Hydrolasen spalten glykosidische Bindungen und Peptidbindungen und machen den Teig im Allgemeinen weicher. Lipasen bilden polare Lipide, die den Teig verfestigen. Enzyme aus den Gruppen der Oxidoreduktasen und Transferasen wirken vernetzend, entweder durch die Oxidation von Thiol- zu Disulfidbindungen,<sup>11)</sup> durch Auslösen eines Thiol-Disulfidaustausches oder durch Knüpfen anderer kovalenter Bindungen wie im Falle der Transglutaminase<sup>12,13)</sup> und verfestigen so den Teig ebenfalls.

Als Enzyme werden eingesetzt:

- Hydrolasen:  
 $\alpha$ -Amylase (für besseres Aroma, längere Frischhaltung, intensivere Farbe, höheres Volumen), Xylanasen (für verbesserte Teigeigenschaften, verbesserte Frischhaltung, höheres Volumen), Proteasen (für intensivere Farbe, stärkeres Aroma), Lipasen (für verbesserte Frischhaltung, höheres Volumen);
- Oxidoreduktasen:  
Glucoseoxidase (für Kleberverfestigung, geringe Klebrigkeit des Teigs), Peroxidase (für Kleberverfestigung), Lipooxygenase (verbesserte Teigeigenschaften, hellere Krume);
- Transferasen:  
Transglutaminase (Teigverfestigung, geringere Teigklebrigkeit).

### Neue Entwicklungen

◆ Neuerdings werden Lipasen eingesetzt, die nicht nur gegenüber unpolaren, sondern auch gegenüber polaren Lipiden aktiv sind. Durch Molecular Modeling und Protein Engineering wurde aus Lipasen von Mikroorganismen eine Reihe spezifischer Lipasen kloniert und ihre Aktivität gegenüber Phosphatidylcholin und Glycolipiden sowie ihre backtechnische Wirkung bestimmt.<sup>14)</sup> Einige Lipasevarianten steigern das Brotvolumen und stabi-

lisieren den Teig, so dass ihre Wirkung der des Emulgators Datem ähnelt (Abbildung 1). Daher ist damit zu rechnen, dass Enzyme, die aus Lipiden des Mehls „endogene“ Emulgatoren bilden, die Emulgatoren ersetzen werden.

Ein weiteres Beispiel für den Einsatz von Enzymen ist die Herstellung von Lebkuchen. Hier unterdrückt die Asparaginase die Acrylamidbildung. Durch molekularbiologische Methoden wurde *Aspergillus niger* so modifiziert, dass er Asparaginase in hoher Menge produziert.<sup>15)</sup>

Peter Köhler

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching  
peter.koehler@ch.tum.de

- 1) R. Kieffer, H.-D. Belitz, M. Zweier, R. Ipfelkofer, G. Fischbeck, Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1993, 191, 134–136.
- 2) R. Kieffer, H. Wieser, M. H. Henderson, A. Graveland, J. Cereal Sci. 1998, 27, 53–60.
- 3) P. Köhler, Lebensm. Wiss. Technol. 2001, 34, 359–366.
- 4) A. C. Eliasson, K. Larsson, Cereals in Breading, Marcel Dekker, New York 1993, 31–45.
- 5) P. Köhler, P. W. Grosch, J. Agric. Food Chem. 1999, 47, 1863–1869.
- 6) P. Köhler, Lebensm. Wiss. Technol. 2001, 34, 348–358.
- 7) P. Köhler, Lebensm. Wiss. Technol. 2001, 34, 367–373.
- 8) G. Helmerich, P. Köhler, J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 6645–6651.
- 9) G. Helmerich, P. Köhler, Getreide Mehl Brot 2003, 57, 270–273.
- 10) B. Kniel, Enzyme in der Lebensmitteltechnologie (Hrsg.: K. Lösche), Behr's Verlag, Hamburg, 2000, 17–39.
- 11) R. J. Hamer, Enzymes in Food Processing (Hrsg.: G. A. Tucker, L. F. J. Woods), Blackie Academic & Professional, London, 1995, 190–222.
- 12) N. Bauer, P. Köhler, H. Wieser, P. Schieberle, Cereal Chem. 2003, 80, 781–786.
- 13) N. Bauer, P. Köhler, H. Wieser, P. Schieberle, Cereal Chem. 2003, 80, 787–790.
- 14) L. Christiansen, J. Vind, K. Borch, H. P. Heldt-Hansen, T. Spindler, Recent Advances in Enzymes in Grain processing (Hrsg.: C. M. Courtin, W. S. Veraverbeke, J. A. Delcour), Katholieke Universiteit Leuven, Belgium, 2003, 269–274.
- 15) T. M. Amrein, B. Schoenbaechler, F. Escher, R. Amado, J. Agric. Food Chem. 2004, 52, 4282–4288.



Abb. 3. Unterschiede in der Struktur eines fermentierten Teiges vor dem Backen (links) und der Struktur des Brotes nach dem Backen (rechts).