ABSCHLUSSBERICHT

Zuwendungsempfänger:	**Förderkennzeichen:**
Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung eingetragener Verein	281A603A19

Thema:

Entwicklung fettreduzierter Lebensmittel unter Einsatz mikropartikulierter Pflanzenproteine (MiPro)

Laufzeit des Vorhabens:

01.10.2020-31.03.2024

Teil I – Kurzdarstellung

Deutschlandweit steigt die Häufigkeit ernährungsbedingter Krankheiten, wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2 oder Krebs. Ein Grund für diese Erkrankungen kann die Aufnahme von zu viel Nahrungsfett bei gleichzeitigem Bewegungsmangel sein. Fette in Lebensmitteln haben jedoch zahlreiche ernährungsphysiologische, technofunktionelle und vor allem sensorische Funktionen. In fetthaltigen Lebensmitteln sorgt das Fett, für die Erzeugung eines „vollen“ und cremigen Mundgefühls. Fettreduzierte Lebensmittel wirken dagegen oft „leer“ und wässrig, was zu einer geringeren Akzeptanz beim Verbraucher führt. Eine Möglichkeit den Fettgehalt bei gleichbleibendem Genusswert zu reduzieren, ist der Einsatz von Fettersatzstoffen aus proteinbasierten Mikropartikulaten. Bislang beschränkt sich das Angebot an proteinbasierten Fettersatzstoffen auf tierische Proteine (z.B. Molkenproteine). Aufgrund der zunehmenden Bedeutung pflanzlicher Proteine steigt die Nachfrage nach mikropartikulierten Fettersatzstoffen auf Basis pflanzlicher Proteine. Ziel des Projektes war es, den Fettgehalt in Lebensmittel, durch den Einsatz von pflanzlichen, mikropartikulierten Partikeln, bei gleichbleibendem Genusswert, um mindestens 50 % zu reduzieren. In fettreichen Lebensmitteln sorgt das Fett, aufgrund der Form und definierten Größe (1 – 10 µm) der Fettpartikel, für ein cremiges Mundgefühl (Kugel-Lager-Effekt). Werden Teile des Fettes durch pflanzliche Mikropartikulate ersetzt, ist die Größe und Form der Mikropartikulate von entscheidender Bedeutung. Zu kleine Partikel führen zu einem wässrigen, zu große Partikel hingegen zu einem sandigen Mundgefühl.

Zur Herstellung von proteinbasierten Mikropartikulaten unterscheidet man zwischen dem „Bottom-Up“ und „Top-Down“ Prinzip. Beim „Bottom-Up“ Prinzip liegen als Ausgangsmaterial native Proteine im Nanometerbereich vor. Durch den Mikropartikulierungsprozess werden die nativen Proteine durch Hitzedenaturierung aufgefaltet. Die denaturierten Proteine lagern sich durch freigelegte Bindungsstellen zu größeren Aggregaten im Mikrometerbereich zusammen und werden anschließend durch Scherung auf eine definierte Größe, im Bereich von emulgierten Fettpartikeln, zerteilt. Dieses Prinzip wird bereits bei dem kommerziellen Mikropartikulat aus tierischen Proteinen angewendet. Liegen hingegen als Ausgangsmaterial denaturierte, aggregierte Proteine im Mikrometerbereich vor, findet das „Top-Down“ Prinzip Anwendung. Durch den Mikropartikulierungsprozess werden die Proteine durch Hitze und Scherung auf Partikel mit definierter Größe, im Bereich von emulgierten Fettpartikeln, zerteilt.

Um die Eigenschaften und insbesondere die Partikelgröße der pflanzlichen Mikropartikulate gezielt einstellen zu können, wurden im Rahmen des Projektes MiPro verschiedene Proteinzutaten und Herstellungsverfahren untersucht. Aus Lupine und Erbse wurden zunächst, durch nasstechnische Aufbereitung sieben Proteinzutaten mit unterschiedlichen Eigenschaften, wie Nativität, Löslichkeit und Proteingehalt, gewonnen. Diese Proteinzutaten wurden anschließend durch verschiedene Verfahren mikropartikuliert. Dabei wurde der Einfluss von thermischer und

mechanischer Behandlung auf die Eigenschaften der Mikropartikulate, wie zum Beispiel die kritische Partikelgröße, systematisch analysiert. Zum einen wurde ein simultanes Verfahren, wie die Doppelschneckenextrusion, getestet. Hierbei wurden die Proteinzutaten durch die Rotation der Schnecken und das Erhitzen des Prozessraums gleichzeitig thermisch und mechanisch behandelt. Zum anderen wurde ein sequenzielles Verfahren aus der Kombination von Wärmetauscher und Hochdruckhomogenisator getestet, bei dem die Proteinzutaten zunächst thermisch und anschließend mechanisch behandelt wurden. Die mit den unterschiedlichen Verfahren hergestellten Mikropartikulate wurden anschließend charakterisiert und hinsichtlich ihrer Performance als Fettersatzstoff in verschiedenen Applikationen wie Wurstalternativen, Schnittkäsealternativen, Frischkäse, Saucen, Speiseeis, Pudding und Joghurt beurteilt.

Die Ergebnisse zeigten, dass aus Lupine und Erbse Proteinzutaten mit unterschiedlicher Nativität, Löslichkeit und Proteingehalt hergestellt werden konnten. Unabhängig von diesen Eigenschaften wiesen alle pflanzlichen Proteinzutaten Partikelgrößen oberhalb des Zielgrößenbereichs auf, so dass ein Mikropartikulierungsverfahren nach dem „Top-down“-Prinzip erforderlich war. Sowohl durch das simultane als auch durch das sequenzielle Verfahren, konnten mikropartikulierte Proteinzutaten im Zielgrößenbereich von 1 – 10 µm hergestellt werden. Fettreduzierte Lebensmittel, bei denen 50 % des Fettes durch die entwickelten Mikropartikulate ersetzt wurden, wurden im Vergleich zu vollfetten Produkten sensorisch als weniger cremig und teilweise als „grün-grasig/pflanzlich“ beschrieben. In den entwickelten Lebensmittelapplikationen wie Wurstalternativen, Schnittkäsealternativen, Saucen und Aufstrichen zeigten die mikropartikulierten Proteinzutaten jedoch einen viskositätserhöhenden Effekt im Vergleich zu den unbehandelten Proteinzutaten, was zu einer deutlichen Verbesserung der Produkttextur führte.

Teil II – Eingehende Darstellung

1. Durchgeführte Arbeiten

Für die Entwicklung von pflanzlichen, mikropartikulierten Fettersatzstoffen, wurden im Rahmen des Teilprojektes verschiedene Proteinzutaten und Herstellungsverfahren untersucht. Die wichtigsten wissenschaftlichen-technischen Ergebnisse des Teilprojektes werden anhand der in der Teilprojektbeschreibung dargelegten Arbeitspakete dargestellt.

AP 1. Rohstoffvorbehandlung und Herstellung der Proteinzutaten für die Mikropartikulierung

AP 1.1 Vorbehandlung der Rohwaren

Als Rohwaren wurde Erbsensaat (*Pisum sativum L.*), sowie entölte Lupinenflakes (*L. angustifolius*) verwendet. Die Erbsensaat wurde vom Projektpartner Müller's Mühle zu Erbsenmehl vorbehandelt. Das Erbsenmehl und die entölten Lupinenflakes wurden hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung (Trockensubstanz- (TS), Protein-, Faser-, Stärke- und Fettgehalt) am Fraunhofer IVV analysiert.

AP 1.2 Gewinnung der Proteinzutaten aus Lupine und Erbse

Durch unterschiedliche Fraktionierungsverfahren und Variation der Prozessparameter wurden am Fraunhofer IVV eine Vielzahl an Proteinzutaten im Labormaßstab hergestellt und hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung, Nativität, und Proteinlöslichkeit analysiert. Basierend auf den Analyseergebnissen wurden sieben Proteinzutaten ausgewählt und das Herstellungsverfahren auf den Technikumsmaßstab übertragen. Die verwendeten Verfahren sind in Abbildung 1 dargestellt. Aus Erbsenmehl konnten die Proteinzutaten *Fraktion 1* und *Fraktion 3* gewonnen werden. *Fraktion 1* wurde durch wässrige Extraktion bei pH 7,5 und anschließender Fällung bei pH 4,5 gewonnen. Aus dem wässrigem Überstand der Fällung wurde durch Ultrafiltration *Fraktion 3.1* und Diafiltration *Fraktion 3.2* gewonnen. Aus Lupinenflakes konnten die Proteinzutaten *Fraktion 2*, *Fraktion 4* und *Fraktion 5* gewonnen werden. *Fraktion 2* wurde durch wässrige Vorextraktion bei pH 4,5, gefolgt von einer wässrigen Extraktion bei pH 7,5 und anschließender Fällung bei pH 4,5 gewonnen werden. Aus dem wässrigen Überstand der Vorextraktion wurde durch Ultrafiltration *Fraktion 4.1* und Diafiltration *Fraktion 4.2* gewonnen. *Fraktion 5* wurde durch wässrige Extraktion bei pH 7,5 und anschließender Ultrafiltration gewonnen. Die gewonnenen Erbsen- und Lupinen- Proteinzutaten wurden anschließend auf pH 7 neutralisiert und sprühgetrocknet. Die Ausbeute bezogen auf die TS betrug für *Fraktion 1*,

Fraktion 2 und *Fraktion 5* ca. 15 %, für *Fraktion 3* und *Fraktion 4* ca. 10 %. Aufgrund der geringeren Ausbeute und des niedrigen Proteingehaltes der *Fraktion 3* (Proteingehalt ca. 40 %) und *Fraktion 4* (Proteingehalt ca. 45 %) wurden *Fraktion 1*, *Fraktion 2* und *Fraktion 5* für den weiteren Projektverlauf ausgewählt.

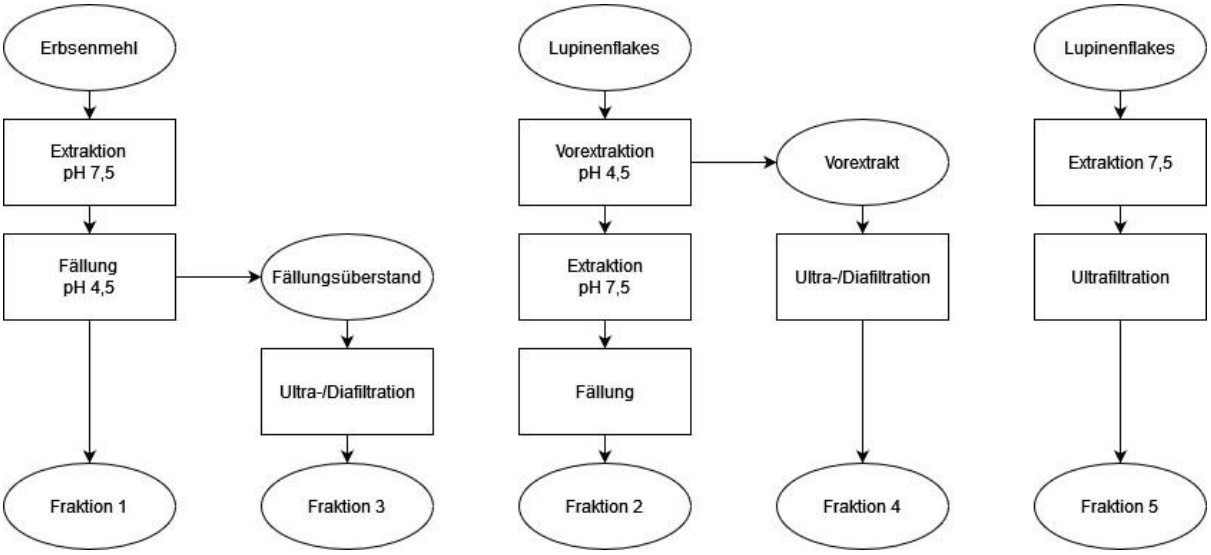

Abbildung 1: Prozessschema zur Herstellung der Proteinzutaten *Fraktion 1* und *Fraktion 3* aus Erbsenmehl und *Fraktion 2*, *Fraktion 4* und *Fraktion 5* aus Lupinenflakes im Technikumsmaßstab.

AP 2. Analytische und rheologische Charakterisierung der Proteinzutaten

AP 2.1 Analytische Charakterisierung

Die ausgewählten Proteinzutaten wurden von einem Expertenpanel (n = 5) vom Projektpartner Silesia mittels einer Einfach beschreibenden Prüfung nach DIN 10964 sensorisch analysiert. Proteinzutaten auf Basis von Erbse wurden mit den Attributen *bitter* und *umami* beschrieben. Proteinzutaten auf Basis von Lupine wurden mit den Attributen *bitter, getreidig, umami* und *süß* beschrieben.

Des Weiteren wurden die Proteinzutaten hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung (TS-, Protein-, Faser-, Stärke- und Fettgehalt) am Fraunhofer IVV analysiert. *Fraktion 2* und *Fraktion 5* wiesen eine ähnliche chemische Zusammensetzung auf, wohin gegen *Fraktion 1* einen niedrigeren Proteingehalt und einen höheren Faser- und Fettgehalt aufwies.

Die thermischen Eigenschaften der ausgewählten Proteinzutaten wurden mittels Differential-Scanning-Kalorimetrie (DSC) bestimmt. Das Denaturierungsverhalten von Proteinen kann durch die Denaturierungsenthalpie (ΔH) und die Denaturierungstemperatur (T_D) charakterisiert werden. Im Vergleich zu *Fraktion 1* und *Fraktion 5* weist *Fraktion 2* die höchste Denaturierungsenthalpie auf. Da eine hohe Enthalpie mit einem hohen Anteil an nativen Proteinmolekü-

len korreliert, weist *Fraktion 2* die höchste Nativität auf. Die ausgewählten Proteinzutaten wiesen zwei endotherme Peaks auf. Die zwei Peaks deuten auf unterschiedlich thermisch stabile Proteinfraktionen hin. Laut Susmann *et al.* (2013) bestehen Lupinenproteine, die entsprechend dem Verfahren zur Extraktion von *Fraktion 2* hergestellt werden, aus α-Conglutin und β-Conglutin. Da β-Conglutin keine Disulfidbrücken enthält ist es thermisch instabiler als α-Conglutin. Daher ist davon auszugehen, dass es sich bei dem ersten Peak bei *Fraktion 2* um β-Conglutin handelt. Im Gegensatz dazu besitzt α-Conglutin Disulfidbrücken, was dazu führt, dass diese Proteinfraktion thermisch stabiler ist und erst bei einer höheren Temperatur denaturiert.

Die Partikelgrößenverteilung der ausgewählten Proteinzutaten wurde am Fraunhofer IVV mittels Laserbeugung analysiert. Die Partikelgröße der ausgewählten Proteinzutaten liegt knapp oberhalb der Zielgrößenverteilung von 1 bis 10 µm. Die Ergebnisse der Partikelgrößenverteilung korrelieren mit den Ergebnissen des Denaturierungsgrades der ausgewählten Proteinfraktionen, *Fraktion 2* mit dem höchsten Anteil nativer Proteine weist die niedrigste mittlere Partikelgröße auf.

Die tribologischen Eigenschaften der ausgewählten Proteinzutaten wurden am Fraunhofer IVV mittels Rotationsrheometer, mit einer Tribologie-Messzelle („ball-on-three-pins“ Set-up) analysiert. Für die Messung wurden Suspensionen mit einem Proteingehalt von 10 % hergestellt. Die tribologischen Eigenschaften der ausgewählten Proteinzutaten wurden aus den Reibungskoeffizienten (COF) in Abhängig von der Gleitgeschwindigkeit beschrieben. Der COF beschreibt den Schmiereffekt von Lebensmitteln bei Reibung zwischen Zunge und Gaumen, je niedriger der COF, desto besser sind die Gleiteigenschaften des Lebensmittels. *Fraktion 2* und *Fraktion 5* weisen bei einer Gleitgeschwindigkeit von 1 mm/s einen ähnlichen COF auf. *Fraktion 1* dagegen weist einen geringfügig niedrigeren anfänglichen COF auf, der mit dem höheren Fettgehalt in Verbindung gebracht werden kann. Mit zunehmender Gleitgeschwindigkeit gleicht sich der COF der ausgewählten Proteinzutaten jedoch an.

Die rheologischen Eigenschaften der Proteinzutaten wurden von dem Projektpartner VAN HEES analysiert.

AP 2.2 Bestimmung der Denaturierungskinetiken und des Aggregationsverhaltens von Proteindispersionen unter definierten Scherbedingungen

Um Aussagen über das Denaturierungs- und Aggregationsverhalten der ausgewählten Proteinzutaten bei der Mikropartikulierung treffen zu können, wurde der Prozess zuerst im Labormaßstab durch eine thermo-mechanische Behandlung im Rotationsrheometer simuliert. Dabei wurde die Konzentration der Proteinzutaten (Proteingehalt: 10 – 30 %), der pH-Wert (pH-Wert:

4 – 7), der thermische (Heißhaltezeit: 1 – 10 min) und der mechanische Energieeintrag (Scherrate: 100 – 2500 s^{-1}) systematisch variiert. Die Partikelgrößenverteilung der im Rotationsrheometer behandelten ausgewählten Proteinzutaten wurde mittels Laserbeugung analysiert.

Die Ergebnisse der behandelten *Fraktion 2* zeigen, dass die Partikel durch die thermo-mechanische Behandlung im Rotationsrheometer zerkleinert werden, es können mikropartikulierte Proteine im Zielgrößenbereich von emulgierten Fettpartikeln von 1 bis 10 µm gebildet werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Heißhaltezeit bei geringer Scherrate keinen großen Einfluss auf die Partikelgrößenverteilung hat. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass durch Erhöhung der Scherrate, bei geringer Heißhaltezeit, insbesondere der Anteil an Partikeln mit einer Größe größer 10 µm zunimmt. Dies lässt darauf schließen, dass mit zunehmender Scherrate die Kollisionsrate der Aggregate steigt, sodass größere Aggregate, mit Partikelgrößen oberhalb der Zielgröße, gebildet werden. Auch der pH-Wert beeinflusst die Partikelgrößenverteilung. Die Ergebnisse zeigen, dass bei geringen Scherraten und geringen Heizhaltezeiten, eine Abnahme des pH-Wertes zu einer starken Erhöhung der Partikelgröße führt. Außerdem wird ersichtlich, dass die Proteinkonzentration bei geringen Scherraten und geringen Heizhaltezeiten keinen großen Einfluss auf die Partikelgrößenverteilung hat. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde der Mikropartikulierungs-Versuchsplan in AP 3 erstellt.

Des Weiteren wurden die mikropartikulierten Proteinzutaten am Fraunhofer IVV hinsichtlich ihres Denaturierungsgrades, wie in AP 2.1 beschrieben, analysiert. Alle mikropartikulierten Proteinzutaten wiesen keine endothermen Peaks auf, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die Proteinzutaten, während der thermo-mechanischen Behandlung im Rotationsrheometer vollständig denaturiert wurden.

AP 3 Mikropartikulierung

Die ausgewählten Proteinzutaten wurden mittels Extrusion (AP 3.1 Simultan thermisch-mechanische Behandlung) und mittels Wärmetauscher und anschließender Hochdruckhomogenisation (AP 3.2 Sequenzielle thermisch-mechanische Behandlung) behandelt. Die simultan thermisch-mechanische Behandlung im Schabewärmetauscher, konnte aufgrund der erforderlichen großen Menge an Proteinzutat nicht getestet werden.

AP 3.1 Simultan thermisch-mechanische Behandlung

Die ausgewählten Proteinzutaten wurden am Fraunhofer IVV in einem gleichläufigen Doppelschneckenextruder (ZSK26, Coperion) im Pilotmaßstab behandelt. Die Proteinzutaten wurden

in Wasser dispergiert, der Proteingehalt der hergestellten Dispersion betrug 10 %. Anschließend wurden die Proteinzutaten extrudiert. Während der Extrusion wurden der pH-Wert (pH-Wert: 4 - 7), der thermische Energieeintrag (Gehäusetemperatur: 70 – 100 °C) und der mechanische Energieeintrag (Schneckendrehzahl: 400 – 1000 rpm) systematisch variiert. Das Prozessschema der simultan thermisch-mechanischen Behandlung mittels Extrusion ist in Abbildung 2 dargestellt. Während der Extrusion wurden die Prozessgrößen Verweilzeit, Druck und Massentemperatur ausgewertet. Der Projektpartner Coperion stand dem Fraunhofer IVV mit beratender Tätigkeit hinsichtlich der Prozessauslegung zur Seite.

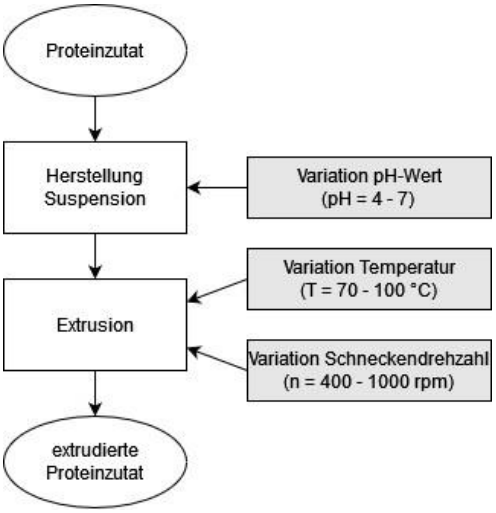

Abbildung 2: Prozessschema der simultan thermisch-mechanischen Behandlung der ausgewählten Proteinzutaten.

AP 3.2 Sequenziell thermisch-mechanische Behandlung

Die ausgewählten Proteinzutaten wurden zunächst in Wasser dispergiert, der Proteingehalt der hergestellten Dispersion betrug 10 %. Dann wurden die Proteinzutaten in einem Wärmetauscher erhitzt und anschließend in einem Hochdruckhomogenisator über zwei Druckstufen homogenisiert. Dabei wurden sowohl der pH-Wert (pH-Wert: 4 - 7), als auch der thermische (Gehäusetemperatur: 70 – 100 °C) und mechanische Energieeintrag (Druck: 250 – 500 bar) systematisch variiert. Das Prozessschema der sequenziellen thermisch-mechanischen Behandlung mittels Wärmetauscher und Hochdruckhomogenisator ist in Abbildung 3 dargestellt. Der Projektpartner Alpma stand dem Fraunhofer IVV mit beratender Tätigkeit hinsichtlich der Prozessauslegung zur Seite.

Bei der Homogenisation von *Fraktion 1* kam es wiederholt zu einem Verstopfen des Homogenisators, sodass diese Proteinzutat nicht sequenziell thermisch-mechanisch behandelt werden konnte.

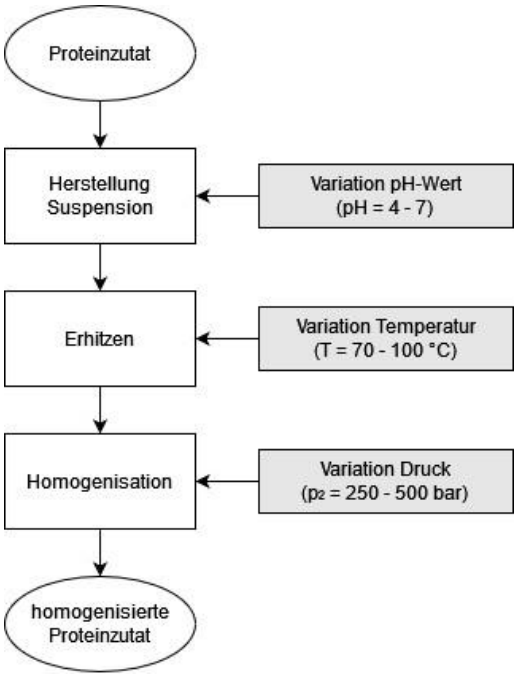

Abbildung 3: Prozessschema der sequenziell thermisch-mechanischen Behandlung der ausgewählten Proteinzutaten.

AP 3.3 Nutzung von Leguminosenmehlen für die Mikropartikulierung

Das in AP 3.1 entwickelte Mikropartikulierungsverfahren wurde auf ein Erbsenmehl und ein Erbsenproteinkonzentrat vom Projektpartner Müller's Mühle übertragen. Dafür wurde zur *Fraktion 1*, Erbsenmehl bzw. Erbsenproteinkonzentrat in variierenden Konzentrationen (20 – 60 %) zugegeben. Aus den Proteinrohstoffen wurde eine Suspension mit 12 % TS und einem pH-Wert von 7 hergestellt. Die Suspensionen wurden bei einer Gehäusetemperatur von 100 °C und einer Schneckendrehzahl von 1000 rpm extrudiert.

Die Partikelgrößenverteilungen wurden mittels Laserbeugung analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Partikelgrößen mit zunehmendem Anteil an Erbsenmehl bzw. Erbsenproteinkonzentrat zunehmen. Dabei ist bei der Zugabe von Erbsenmehl eine stärkere Zunahme der Partikelgröße ersichtlich als bei der Zugabe von Erbsenproteinkonzentrat. Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass die in Erbsenmehl und Erbsenproteinkonzentrat enthaltene Stärke während der thermo-mechanischen Behandlung verkleistert, was zu einer Erhöhung der Partikelgröße führen könnte.

AP 3.4 Vorbehandlung der Proteinzutaten

Das in AP 1.2 beschriebene Verfahren zur Herstellung von *Fraktion 1* aus Erbsenmehl wurde durch eine enzymatische Hydrolyse der Proteine modifiziert. Die *modifizierte Fraktion 1* wurde

durch Zugabe von Endopeptidasen bzw. Exopeptidasen zur wässrigen Extraktion und anschließender Fällung gewonnen. Dabei wurde der pH-Wert bei der Fällung variiert (pH-Wert: 4,0 - 5,0).

Die Versuche zeigten, dass eine weitere Aufkonzentrierung der Proteine durch Fällung des modifizierten Extraktes nicht möglich war. Der Proteingehalt des Extraktes betrug 60,2 %, während sich der Proteingehalt des mit Endopeptidasen modifizierten Extraktes auf 31,4 % und des mit Exopeptidasen modifizierten Extraktes auf 31,5 % reduzierte. Des Weiteren nahm die Ausbeute, bezogen auf die TS, durch die Modifikation der Proteine von ca. 65 % auf ca. 35 % ab. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde eine Vorbehandlung der Proteinzutaten nicht weiterverfolgt.

AP 4 Charakterisierung der mikropartikulierten Proteinzutaten

Die mikropartikulierten Proteinzutaten wurden hinsichtlich ihrer chemisch-analytischen und sensorischen Eigenschaften charakterisiert. Die *mikropartikulierte Fraktion 2* wies die vielversprechendsten Ergebnisse auf, daher werden im Nachfolgenden nur diese Analyseergebnisse dargestellt.

AP 4.1 Chemisch-analytische Charakterisierung

Die thermischen Eigenschaften der mikropartikulierten Fraktionen wurden am Fraunhofer IVV, mittels DSC bestimmt. Die mikropartikulierten Fraktionen wiesen keinen endothermen Peak auf, sodass sowohl während der simultan als auch der sequenziellen Mikropartikulierung von einer vollständigen Denaturierung ausgegangen werden kann.

Die Partikelgrößenverteilung der simultan und sequenziell mikropartikulierten Fraktionen wurde am Fraunhofer IVV mittels Laserbeugung analysiert. Es zeigte sich, dass die Partikelgrößenverteilung bei der simultan thermisch-mechanischen Behandlung mittels Extrusion von der Temperatur, der Schneckendrehzahl und dem pH-Wert abhängig ist. Die Ergebnisse der *extrudierten Fraktion 2* zeigen, dass bei niedriger Schneckendrehzahl die Partikelgröße mit steigender Temperatur abnimmt. Der gleiche Effekt ist in der Literatur bei der Mikropartikulierung von Erbsenprotein mittels Extrusion beschrieben (Tanger *et al.*, 2021). Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass bei niedriger Temperatur die Partikelgröße mit steigender Schneckendrehzahl abnimmt. Für Molkenproteine ist aus der Literatur bekannt, dass die bei niedrigen Temperaturen gebildeten Aggregate aus schwachen Wasserstoffbrückenbindungen bestehen, die durch die mechanische Behandlung einfach zerkleinert werden können (Simmons *et al.*, 2007). Ähnliche Effekte werden bei der Mikropartikulierung der Lupinenproteine beobachtet: umso stärker die mechanische Behandlung bei niedriger Temperatur, umso kleiner

die Partikel. Es zeigt sich, dass bei niedrigen Temperaturen und Schneckendrehzahlen eine Abnahme des pH-Wertes zu einer starken Erhöhung der Partikelgröße führt. Dies kann auf den Isoelektrischen Punkt (IEP) zurückgeführt werden, welcher bei Lupine bei pH 4,5 – 5 liegt. Am IEP ändert sich die Konfiguration der Proteine, die Nettoladung und die Proteinlöslichkeit wird verringert und es bilden sich größere Aggregate. Bei pH 7 sind die Partikel hingegen stabil und aggregieren nicht von selbst (Vogelsang-O´Dwyer *et al.*, 2020).

Auch bei der sequenziell thermisch-mechanischen Behandlung mittels Wärmetauscher und Hochdruckhomogenisator zeigte sich, dass die Partikelgrößenverteilung von der Temperatur, dem Druck und dem pH-Wert abhängt. Aus den Ergebnissen der *homogenisierten Fraktion 2* geht hervor, dass bei niedrigerem Druck die Partikelgröße mit steigender Temperatur abnimmt. Die Partikelgrößenverteilungen sind breiter und weisen eine bimodale Verteilung auf. Dies zeigt sich insbesondere an einem hohen Anteil an Partikeln mit einer Größe kleiner 0,1 µm. Weiterhin ist zu erkennen, dass die Partikelgröße mit steigendem Druck abnimmt. Diese Ergebnisse stimmen mit der Literatur überein, in der Bader *et al.* (2011) ebenfalls über eine starke Verringerung der Partikelgröße von Lupinenproteinen nach der Hochdruckhomogenisation berichten. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse der *homogenisierten Fraktion 2*, dass bei niedriger Temperatur und niedrigem Druck eine Abnahme des pH-Wertes zu einer starken Erhöhung der Partikelgröße führt.

Die Versuche verdeutlichen, dass sowohl bei der simultanen als auch bei der sequenziellen thermisch-mechanischen Behandlung die gleichen Effekte auftreten. Im Vergleich zu den extrudierten Proteinzutaten, weisen die homogenisierten Proteinzutaten jedoch bimodale Partikelgrößenverteilungen mit einem größeren Anteil an besonders kleinen Partikeln (< 0,5 µm) auf. Basierend auf den Ergebnissen zu den Partikelgrößenverteilungen wurden mikropartikulierte Proteinzutaten für den weiteren Projektverlauf ausgewählt. Die weiteren Analyse-Ergebnisse dieser ausgewählten mikropartikulierten Proteinzutaten werden im Nachfolgenden dargestellt.

AP 4.2 Bewertung des Mundgefühls

Die ausgewählten mikropartikulierten Proteinzutaten wurden von einem Expertenpanel (n = 5) von den Projektpartnern Silesia und Mondelez mittels Einfach beschreibender Prüfung nach DIN 10964 sensorisch analysiert. Die mikropartikulierte Proteinzutat auf Basis von Erbse (*extrudierte Fraktion 1*), wurde genauso wie die unbehandelte Proteinzutat auf Basis von Erbse mit den Attributen *bitter* und *umami* beschrieben. Zusätzlich wurde die *extrudierte Fraktion 1* mit dem Attribut *fleischig/Huhn* beschrieben. Die mikropartikulierten Proteinzutaten auf Basis von Lupine (*extrudierte Fraktion 2*; *extrudierte Fraktion 5*; *homogenisierte Fraktion 2*; *homogenisierte Fraktion 5*) wurden, genauso wie die unbehandelten Proteinzutaten auf Basis

von Lupine, mit den Attributen *bitter, getreidig, umami* und *süß* beschrieben. Des Weiteren wurden die mikropartikulierten Proteinzutaten auf Basis von Lupine mit den Attributen *salzig* und *fleischig/Huhn* beschrieben.

Die tribologischen Eigenschaften der ausgewählten mikropartikulierten Proteinzutaten wurden mittels Tribologie-Messzelle im Rotationsrheometer gemessen. Für die Messung wurden Suspensionen mit einem Proteingehalt von 10 % hergestellt. Die Fraktionen weisen ähnliche Stribeck-Kurven auf, wobei der COF der mikropartikulierten Fraktionen, im Vergleich zur unbehandelten Fraktion, geringfügig höher ist. Dies lässt vermuten, dass die kleineren Partikel der mikropartikulierten Fraktionen wider Erwarten nicht zu einem verbesserten Schmiereffekt und somit zu einem reduzierten COF führen. Auch Schädle *et al.* (2022) konnte bei pflanzlichen Emulsionen mit Fettaustauschstoffen keine Korrelation zwischen dem Reibungskoeffizient COF und der Partikelgrößenverteilung feststellen. Der im Vergleich zur *Fraktion 2* höhere COF der mikropartikulierten Proteinzutaten kann somit eher auf die erhöhte Viskosität der mikropartikulierten Proteinzutaten zurückgeführt werden.

Die rheologischen Eigenschaften der mikropartikulierten Proteinzutaten wurden vom Projektpartner VAN HEES analysiert.

AP 5 Formulierung und Charakterisierung fettreduzierter Modelllebensmittel

Auf Basis der Ergebnisse in AP 4 wurde das Verfahren zur Herstellung der ausgewählten *extrudierten Fraktion 2* und der ausgewählten *homogenisierten Fraktion 2* in AP 6 großtechnisch umgesetzt. Die mikropartikulierten Proteinzutaten wurden anschließend sprühgetrocknet und den Projektpartnern zur Entwicklung (AP 5.1) und Analyse (AP 5.2) von fettreduzierten Modelllebensmitteln zur Verfügung gestellt.

AP 5.1 Formulierung der Modelllebensmittel im Labormaßstab

Die ausgewählte *extrudierte Fraktion 2* und *homogenisierte Fraktion 2* wurden von Fraunhofer IVV, sowie den Projektpartnern VAN HEES, Mondelez, E.V.A. und Silesia in unterschiedliche fettreduzierte Modelllebensmittel eingearbeitet. Als fettreduzierte Modelllebensmittel wurden Wurstalternativen (VAN HEES), Schnittkäsealternativen (E.V.A.), Frischkäse (Mondelez), Saucen (VAN HEES), Speiseeis (Silesia), Pudding (Silesia) und Joghurt (Silesia) ausgewählt. Dabei wurde die Fettquelle im Modelllebensmittel zu 50 % durch die ausgewählte *extrudierte Fraktion 2* und *homogenisierte Fraktion 2* ersetzt. Die fettreduzierten Modelllebensmittel wurden jeweils mit der vollfetten Variante und mit der fettreduzierten Variante auf Basis der unbehandelten *Fraktion 2* verglichen.

AP 5.2 Analyse der produktspezifischen texturellen und sensorischen Eigenschaften

Durch den Einsatz der neu entwickelten Proteinzutaten konnte der Energiegehalt der Mayonnaise pro 100 g von 2307 kJ / 551 kcal (vollfette Variante) auf 1255 kJ / 300 kcal (fettreduzierte Variante) gesenkt werden. Die hergestellten Mayonnaisen wurden von einem ungeschulten Panel (n = 12) am Fraunhofer IVV sensorisch analysiert. Bewertet wurden die Attribute *cremig, sandig, fest, wässrig* und *belegend* mit null (trifft nicht zu) bis drei Punkten (trifft voll zu). Die Ergebnisse der Sensorik zeigten, dass die fettreduzierten Mayonnaisen mit den entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten (*extrudierte Fraktion 2*, *homogenisierte Fraktion 2*), im Vergleich zu den fettreduzierten Mayonnaisen mit der unbehandelten *Fraktion 2* als fester und weniger wässrig sowie cremiger und weniger sandig wahrgenommen wurden. Im Vergleich zu der vollfetten Mayonnaise wurden die fettreduzierten Mayonnaisen jedoch als wässriger und weniger fest sowie sandiger und weniger cremig bewertet. Des Weiteren wurden die tribologischen Eigenschaften der fettreduzierten Mayonnaisen mittels Tribologie-Messzelle im Rotationsrheometer analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass durch den Einsatz der mikropartikulierten Proteinzutaten der Reibungskoeffizient im Vergleich zur Mayonnaise mit der unbehandelten *Fraktion 2* reduziert werden konnte.

Bei den von den Projektpartnern hergestellten, fettreduzierten Modelllebensmitteln (Schnittkäsealternativen, Frischkäse, Speiseeis und Pudding) führte der Einsatz der entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten im Vergleich zu der unbehandelten *Fraktion 2* ebenfalls zu einer festeren/hochviskoseren Textur. Eine Verbesserung der Cremigkeit konnte jedoch bei diesen Modelllebensmitteln durch den Einsatz der mikropartikulierten Proteinzutaten nicht erzielt werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass zwar die Cremigkeit der fettreduzierten Modelllebensmittel durch den Einsatz der entwickelten Proteinzutaten im Vergleich zu den vollfetten Modelllebensmitteln nicht vollständig kompensiert werden kann. Jedoch hat der Einsatz der entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten im Vergleich zur unbehandelten *Fraktion 2* aufgrund der viskositätserhöhenden Wirkung einen positiven Effekt auf die texturellen Eigenschaften der Modelllebensmittel. Hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften konnte gezeigt werden, dass alle fettreduzierten Modelllebensmittel durch den Einsatz der entwickelten Proteinzutaten einen starken pflanzlichen Eigengeschmack aufweisen.

AP 6 Scale-Up des Mikropartikulierungsverfahrens

Auf Basis der Ergebnisse in AP 4 wurde das Verfahren zur Herstellung der ausgewählten *extrudierten Fraktion 2* und der ausgewählten *homogenisierten Fraktion 2* am Fraunhofer IVV

großtechnisch umgesetzt. Die hergestellten, mikropartikulierten Proteinzutaten wurden anschließend sprühgetrocknet und den Projektpartnern zur Entwicklung von fettreduzierten Modelllebensmitteln (AP 5) zur Verfügung gestellt. Es wurden jeweils ca. 15 kg sprühgetrocknete *extrudierte Fraktion 2* und *homogenisierte Fraktion 2* hergestellt.

Des Weiteren wurde die Partikelgrößenverteilung der hergestellten mikropartikulierten Proteinzutaten sowohl vor als auch nach der Trocknung analysiert. Die Ergebnisse zeigten, dass die Partikelgröße durch die Trocknung nicht verändert wurde.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Ein Nachweis der konkreten Verwendung der bereitgestellten Fördermittel wird dem Projektträger von der Zentrale der Fraunhofer Gesellschaft übermittelt. Es ergaben sich keine Änderungen gegenüber der Ausgabenplanung.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeit

Deutschlandweit steigt die Häufigkeit ernährungsbedingter Krankheiten, wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2 oder Krebs. Ein Grund für diese Erkrankungen kann die Aufnahme von zu viel Nahrungsfett bei gleichzeitigem Bewegungsmangel sein. Für die Entwicklung von mikropartikulierten Pflanzenproteinen als Fettersatzstoff lagen vor Projektbeginn nur wenige wissenschaftliche Daten vor. Somit bestand für die Durchführung der Projektarbeiten ein technisches und wirtschaftliches Risiko, das ohne öffentliche Förderung nicht eingegangen werden konnte. Die Expertise im Bereich Zutatenhersteller, Anlagenbauer und Lebensmittelhersteller war eine notwendige Kombination an Partnern zur erfolgreichen Verfahrensentwicklung mikropartikulierter Pflanzenproteine. Die Notwendigkeit und Angemessenheit der Arbeiten ergeben sich aus den dargestellten Zielen und geplanten Arbeiten des Antrags. Die Mittel wurden ausschließlich für Aufwendungen ausgegeben, die in direktem Zusammenhang mit den bewilligten Projektaufgaben und -arbeiten laut Antragstellung stehen. Die Ziele des Vorhabens wurden mit angemessenen Mitteln erreicht. Soweit möglich wurde auf bekannte Methoden und etablierte Analyseverfahren zurückgegriffen.

4. Voraussichtliche Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans.

Im Rahmen des Projektes konnte nachgewiesen werden, dass die entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten im Vergleich zu den unbehandelten Proteinzutaten zu einer Verbesserung der texturellen Eigenschaften der fettreduzierten Modelllebensmittel führte. Im Rahmen

des Projektes wurden auch vergleichende Messungen mit einem kommerziellen, mikropartikulierten Molkenprotein durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass die entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten aus pflanzlichen Proteinen in fettreduzierten Modelllebensmitteln hinsichtlich der texturellen Eigenschaften besser performten als das kommerzielle mikropartikulierte Molkenprotein. Die entwickelten mikropartikulierten Proteinzutaten stellen daher eine gute, pflanzliche Alternative zu den bereits kommerziell auf dem Markt erhältlichen molkenproteinbasierten Fettersatzstoffen dar. Es ist davon auszugehen, dass die pflanzlichen Mikropartikulate eine wachsende Zahl an Verbrauchern mit veganer und bewusster Ernährungsweise, Laktoseintoleranz und Unverträglichkeiten anspricht. Somit eröffnen sich für die Industrie sehr gute Absatzmöglichkeiten für die neu entwickelten pflanzlichen Mikropartikulate.

Zur wissenschaftlichen Verwertung wurden die gewonnen Erkenntnisse bezüglich des Effektes thermo-mechanischer Behandlungen auf das Aggregationsverhalten pflanzlicher Proteine auf zahlreichen Tagungen vorgestellt. Zusätzlich ist eine zeitnahe Publikation in einer wissenschaftlichen Fachzeitschrift geplant.

5. Darstellung des während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Zeitgleich zum Verbundprojekt MiPro wurde am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik der Technischen Universität München (Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising) in einem AiF-Projekt (AiF 20197 N) mit dem Titel „Entwicklung neuer Konzepte zur Optimierung von Struktur und Sensorik fettreduzierter Lebensmittel durch Proteinfunktionalisierung und molekular sensorische Methoden“ unter anderem die Mikropartikulierung von Erbsenprotein (*Pisum sativum*) erforscht. Daraus hervorgegangen sind folgende Publikationen mit hoher Relevanz für das Vorhaben MiPro: Tanger *et al.*, 2020: Influence of extraction conditions on the conformational alteration of pea protein extracted from pea flour (https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105949), Tanger *et al.*, 2021: Comparative Assessment of Thermal Aggregation of Whey, Potato, and Pea Protein under Shear Stress for Microparticulation (https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00104) , Tanger *et al.*, 2021: Pea protein microparticulation using extrusion cooking: Influence of extrusion parameters and drying on microparticle characteristics and sensory by application in a model milk dessert (https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102851), Tanger *et al.*, 2021: Quantification of protein-protein interactions in highly denatured whey and potato protein gels (https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101243), Tanger *et al.*, 2022: Influence of pH and ionic strength on the thermal gelation behaviour of pea protein (https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106903).

Die Ergebnisse aus diesem Projekt, insbesondere zur Mikropartikulierung von kommerziellem Kartoffel-, Molken- und Erbsenprotein sowie der chemischen Analyse der Protein-Protein Interaktionen vor und nach der Mikropartikulierung, stellen eine wertvolle Ergänzung zu den im Projekt „MiPro“ gewonnenen Erkenntnissen dar und unterstreichen die Bedeutung von Fettaustauschstoffen auf Pflanzenproteinbasis als wichtiges Instrument zur Fettreduktion in Fertigprodukten.

Über die oben beschriebenen Arbeiten hinaus wurden keine weiteren wissenschaftlichen Publikationen oder Patente gefunden, die das Vorhaben berühren oder komplementär zum Vorhaben sind.

6. Erfolgte Veröffentlichungen des Ergebnisses

Gesellschaft Deutscher Lebensmitteltechnologen e.V. (20.03.2021): Vortrag A. Martin: „Fettreduzierte Lebensmittel durch mikropartikulierte Pflanzenproteine“

Reduction 2025 (06.07.2021): Vortrag T. Jesch: “Mipro – Entwicklung fettreduzierter Lebensmittel unter Einsatz mikropartikulierter Pflanzenproteine“

Zukunftstage pflanzlicher Lebensmittel (14.09.2021): Vortrag T. Jesch: „“Mipro – Entwicklung fettreduzierter Lebensmittel unter Einsatz mikropartikulierter Pflanzenproteine“

BLE Broschüre (2023): Artikel V. Schmidt, C. Opaluwa, C. Verheyen: „Pflanzenproteine als neuartiger Fettersatzstoff“

Reduction 2025 (25.05.2023): Vortrag V. Schmidt: “Mipro – Entwicklung fettreduzierter Lebensmittel unter Einsatz mikropartikulierter Pflanzenproteine“

International Lupin Conference XVI (23.06.2023): Vortrag C. Opaluwa: “Microparticulation of lupin protein as a fat replacer – Effect of thermomechanical treatment on the aggregation behavior”

Jahrestreffen der Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik 2024 (27.02.2024): Vortrag C. Opaluwa: „Microparticulation of plant protein-based fat replacers – Effect of process parameters on particle size and product performance”

7. Literaturverzeichnis

Bader, S., Bez, J., & Eisner, P. (2011). Can protein functionalities be enhanced by high-pressure homogenization? – A study on functional properties of lupin proteins. *Procedia Food Science*, *1*, 1359-1366.

Schädle, C. N., Bader-Mittermaier, S., & Sanahuja, S. (2022). Characterization of reduced-fat mayonnaise and comparison of sensory perception, rheological, tribological, and textural analyses. *Foods*, *11*(6), 806.

Simmons, M. J. H., Jayaraman, P., & Fryer, P. J. (2007). The effect of temperature and shear rate upon the aggregation of whey protein and its implications for milk fouling. *Journal of Food Engineering*, *79*(2), 517-528.

Sussmann, D., Pickardt, C., Schweiggert, U., & Eisner, P. (2013). Influence of different processing parameters on the isolation of lupin (Lupinus angustifolius L.) protein isolates: A preliminary study. *Journal of Food Process Engineering*, *36*(1), 18-28.

Tanger, C., Utz, F., Spaccasassi, A., Kreissl, J., Dombrowski, J., Dawid, C., & Kulozik, U. (2021). Influence of pea and potato protein microparticles on texture and sensory properties in a fat-reduced model milk dessert. *ACS Food Science & Technology*, *2*(1), 169-179.

Vogelsang-O'Dwyer, M., Bez, J.; Petersen, I.L., Joehnke, M.S., Detzel, A., Busch, M., Krueger, M., Ispiryan, L., O'Mahony, J.A., Arendt, E.K., Zannini; E. (2020). Techno-Functional, Nutritional and Environmental Performance of Protein Isolates from Blue Lupin and White Lupin. *Foods*, *9(2)*, 230.

Wolz, M., Kastenhuber, S., & Kulozik, U. (2016). High moisture extrusion for microparticulation of whey proteins–Influence of process parameters. *Journal of Food Engineering*, *185*, 56-61.