

Enzymatisches Generieren erhöhter Süße aus Lactose-haltigen Nebenströmen und deren Einsatz als Sirup zur Zuckerreduktion am Beispiel Milcherzeugnis



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie FG Milchwissenschaft und -technologie Prof. Dr. Dr. Jörg Hinrichs Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie FG Biotechnologie und Enzymwissenschaft Prof. Dr. Lutz Fischer
Industriegruppe(n):	Milchindustrie-Verband e. V. (MIV), Berlin
Projektkoordinator:	Robert Kunkel Ehrmann AG, Oberschöneegg
Laufzeit:	2020 – 2023
Zuwendungssumme:	€ 456.373,--

Ausgangssituation

Sozioökonomische Veränderungen, wie z. B. eine geringe körperliche Bewegung und ein verändertes Essverhalten, führen zu einer Zunahme des Anteils übergewichtiger Menschen in der Bevölkerung. Neben einer vermehrten Ernährungsaufklärung und Programmen zur Förderung sportlicher Aktivitäten besteht eine weitere Möglichkeit, dieser Fehlentwicklung zu begegnen, darin, die über Lebensmittel zugeführte Energie, z. B. über die darin enthaltenen Zucker, von Produkten zu verringern. Zwar gibt es bereits eine breite Palette fett- und zuckerreduzierter Produkte, dennoch besteht Bedarf für neue, nachhaltige Ansätze, um ohne sensorische Einbußen den physiologischen Energiegehalt von Lebensmitteln zu reduzieren.

Voruntersuchungen ergaben, dass auch die Lactosehydrolyse dazu genutzt werden könnte, um in Milcherzeugnissen, wie z. B. Fruchtojoghurt, zusätzlich zugesetzten Zucker (Saccharose) zu vermeiden. Noch mehr milcheigene Süße und damit Potenzial zur Reduktion von Saccharose kann erzielt werden, wenn die bei der Lactosehydrolyse gebildeten Monosaccharide in Zucker mit erhöhter Süße isomerisiert werden. Besonders vorteilhaft wäre ein derartiges Verfahren, wenn hierfür Lactose-haltige Nebenströme der Milchverarbeitung genutzt werden könnten.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, aus Lactose-haltigen Nebenströmen der Milchindustrie, wie Süß- und Sauermolke oder Magermilch-UF-Permeat, ein Lactosekonzentrat zu gewinnen, das dann durch einen tri-enzymatischen Prozess in einen süßen Sirup mit vermindertem physiologischen Brennwert überführt wird. Durch die Hydrolyse mittels β -Galactosidasen sollten der Lactosegehalt in der Molke reduziert (> 95 %) und die Süßkraft der dabei resultierenden Monosaccharide durch die Isomerisierung von Galactose zu Tagatose mittels L-

Arabinoseisomerase (L-AI; bi-enzymatisch) und von Glucose zu Fructose mittels Glucoseisomerase (tri-enzymatisch) gesteigert werden. Dafür sollte nach einer neuen acidophilen L-AI gesucht werden, weil keine kommerziellen L-AI-Präparate auf dem freien Markt erhältlich waren und die meisten bereits charakterisierten L-AIs zur Anwendung in Sauermolke (pH 4,3 - 5,1) nicht geeignet sind, weil diese eine geringe Aktivität und Stabilität bei $\text{pH} \leq 5$ aufweisen.

Forschungsergebnis

Im Rahmen des Projekts wurde ein *in silico* Screening mit den Programmen BLAST (*basic local alignment search tool*) der Genomdatenbank JGI IMG (*joint genome institute integrated microbial genomes and metagenomes*) und der Proteindatenbank UniProt durchgeführt, um neue L-AIs zu identifizieren. Dabei wurden > 2000 putative L-AIs gefunden, welche auf L-AIs von Milchsäurebakterien und dem Vorhandensein von katalytisch essenziellen Aminosäuren eingeschränkt wurden. Am Ende wurde eine neue acidophile L-AI (L-AI-X) gefunden, die zunächst rekombinant in *Escherichia coli* und später in dem lebensmittelgeeigneten Organismus *Komagataella phaffii* produziert wurde. Zeitgleich wurden kommerzielle β -Galactosidasepräparate (β -Gal-Präparate) zur Lactosehydrolyse und Glucoseisomerasepräparate (GI-Präparate) zur Glucoseisomerisierung in Magermilch-Ultrafiltrationspermeat (MM-UF-Permeat) pH 4,5 und 6,5 untersucht. Nachdem geeignete β -Gal-, GI-Präparate und eine L-AI (L-AI-X) für die enzymatische Umsetzung von Lactose zu einer Monosaccharidlösung gefunden wurden, wurde ein tri-enzymatischer Prozess (β -Gal, GI, L-AI) zur Umsetzung von 95 g/L Lactose in MM-UF-Permeat pH 6,5 und ein bi-enzymatischer Prozess (β -Gal, L-AI) bei pH 4,5 entwickelt. Zunächst erfolgten die Lactosehydrolysen bei 15 °C mittels Saphera® 2600 L (Novozymes, pH 6,5) und Maxilact® A4 (DSM, pH 4,5) zu den Monosacchariden Glucose und Galactose. Im Anschluss wurde Glucose zu Fructose mittels opti-zym GI2 (Optiferm, pH 6,5) und Galactose zu Tagatose mittels L-AI-X (pH 6,5 und 4,5) simultan bei 60 °C isomerisiert. Dabei erfolgte die Isomerisierung der Glucose nur bei pH 6,5, weil die untersuchten GI-Präparate keine Aktivität bei $\text{pH} \leq 5$ besaßen. Die Lactosehydrolysen in den bi- und tri-enzymatischen Prozessen betragen $\geq 99\%$. Darüber hinaus betragen die Isomerisierungen 52% (Glucose) und 51% (Galactose) in MM-UF-Permeat pH 6,5 und 52% (Galactose) in MM-UF-Permeat pH 4,5 nach 24 h. Ausgehend von 95 g/L Lactose in MM-UF-Permeat pH 6,5 wurde mittels tri-enzymatischer Umsetzung eine Monosaccharidlösung mit Glucose, Fructose, Galactose und Tagatose (je 25 g/L), unter Vernachlässigung des Verdünnungsfaktors durch Enzymzugabe, gewonnen. Außerdem wurden 95 g/L Lactose in MM-UF-Permeat pH 4,5 mittels bi-enzymatischer Umsetzung, zu Glucose (50 g/L), Galactose und Tagatose (je 25 g/L), unter Vernachlässigung des Verdünnungsfaktors, umgesetzt. Die gewonnenen Erkenntnisse wurden zur Sirupherstellung im Labormaßstab umgesetzt. Ausgehend von Süß- und Sauermolken-UF-Permeat wurden 2-, 3- und 4-Zucker-Sirupe hergestellt und sensorisch beurteilt.

Wirtschaftliche Bedeutung

In Deutschland werden jährlich von über 200 milchverarbeitenden Betrieben ca. 31 Mio. t Rohmilch aus ca. 67.000 Erzeugerbetrieben zu Milchprodukten und Halbfertigfabrikaten verarbeitet. Hierbei entstehen große Mengen Lactose-haltiger Nebenströme. Allein aus der Käseproduktion summiert sich die europaweit anfallende Menge an Molke auf 86 Mio. t jährlich (weltweit 160 Mio. t). Durch die Beliebtheit fermentierter Milchprodukte, wie Greek-style-Joghurt oder Skyr, steigt auch der Anteil an Sauermolke stetig an (in Deutschland mehr als 4 Mio. t pro Jahr). Sauermolke enthält verschiedene Metabolite der Mikroorganismen, wenig Molkenproteine und viel lösliches Calcium, weshalb sie technologisch nur aufwändig weiterzuverarbeiten ist. Aktuell wird daher ein Großteil der Sauermolke, die in Milchunternehmen, insbesondere in kleineren Unternehmen, anfällt, nur für die Schweinemast genutzt oder muss z. T. kostenaufwändig in Biogasanlagen entsorgt werden. Darüber hinaus fällt in vielen Unternehmen inzwischen vermehrt auch Lactose-haltiges Milchpermeat an, wenn bei Produkten ein erhöhter Proteingehalt, wie z. B. bei Sportlerdrinks, mittels Ultrafiltration eingestellt wird.

Die Erkenntnisse des Projekts werden Unternehmen zukünftig in die Lage versetzen, Lactose-haltige Nebenströme für die Produktion eines enzymatisch prozessierten Zuckersirups zu nutzen, der als natürliche Alternative zu Saccharose verwendet werden kann. Von besonderem Vorteil ist hierbei, dass dieser Sirup sowohl pump- und dosierbar als auch lagerfähig und damit über weite Strecken vermarktbar ist. Eine weitere wirtschaftliche Bedeutung ist die Produktion des Zuckers Tagatose aus Süß- und Sauermolke mittels der neu entdeckten L-AI-X des Projekts in einem bi-enzymatischen Prozess mit einer kommerziellen β -Gal. Dies eröffnet Biotechunternehmen neue Geschäftsfelder zur Herstellung und Vermarktung der L-AI-X, die auf die komplexe Zusammensetzung und die Milieubedingungen Lactose-haltiger Nebenströme abgestimmt ist. Die Produktion des Zuckersirups und Tagatose aus Lactose-haltigen Nebenströmen erschließt nicht nur neue Wertschöpfungen, sondern bietet Unternehmen Ressourcensicherheit und Autarkie in Zeiten von großen, globalen Krisen. Darüber hinaus wird mit dem im Projekt erschlossenen Verfahren nicht nur eine neue Verwertungsschiene für Nebenströme, sondern auch neue Einsatzgebiete, wie z. B. der Backwarenbereich, zugänglich gemacht.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2023.
2. Lutz-Wahl, S., Pross, E., Hinrichs, J. & Fischer, L.: Multi-Enzymsystem zur Herstellung eines alternativen Zuckersirups. Biospektrum 26, 679–681, <https://doi.org/10.1007/s12268-020-1467-2> (2020).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

Weiteres Informationsmaterial

Universität Hohenheim
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
FG Milchwissenschaft und -technologie
Garbenstraße 21, 70599 Stuttgart
Tel.: +49 711 459-23792
Fax: +49 711 459-23617
E-Mail: j.hinrichs@uni-hohenheim.de

Universität Hohenheim
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
FG Biotechnologie und Enzymwissenschaft
Garbenstraße 25, 70599 Stuttgart
Tel.: +49 711 459-22311
Fax: +49 711 459-24267
E-Mail: lfischer@uni-hohenheim.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

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Klimaschutz

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben **21100 N** der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.