



Leibniz-Institut
für Lebensmittel-Systembiologie
an der Technischen Universität München

Monitoring von Amylase bei der Toastbrotherstellung – Vom Mehl zum Brot

Gerold Felix Rebholz, Sebastian Dirndorfer, Thomas Hofmann und
Katharina Anne Scherf

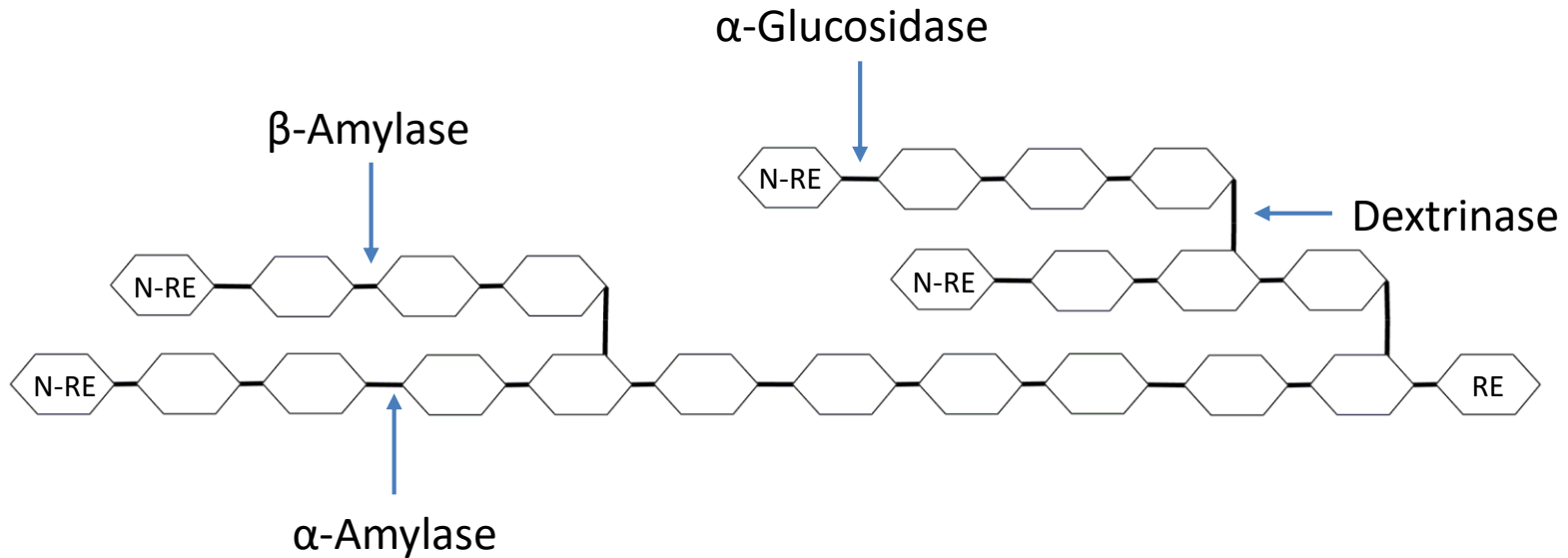
Frühjahrstagung des Weihenstephaner Instituts für Getreideforschung, Freising, 26.3.2019

Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising, Germany
www.leibniz-lsb.de



Amylasen in Weizen

Abbau von Weizenstärke: Reaktionsmechanismen verschiedener Amylasen



N-RE: Nicht reduzierendes Ende

RE: Reduzierendes Ende

Amylasen in Weizen

- Zuordnung zur Proteinfraktion Albumine/Globuline
- Abbau der Stärke im Endosperm während der Keimung des Korns

α -Amylase

β -Amylase

α -Glucosidase

Dextrinase

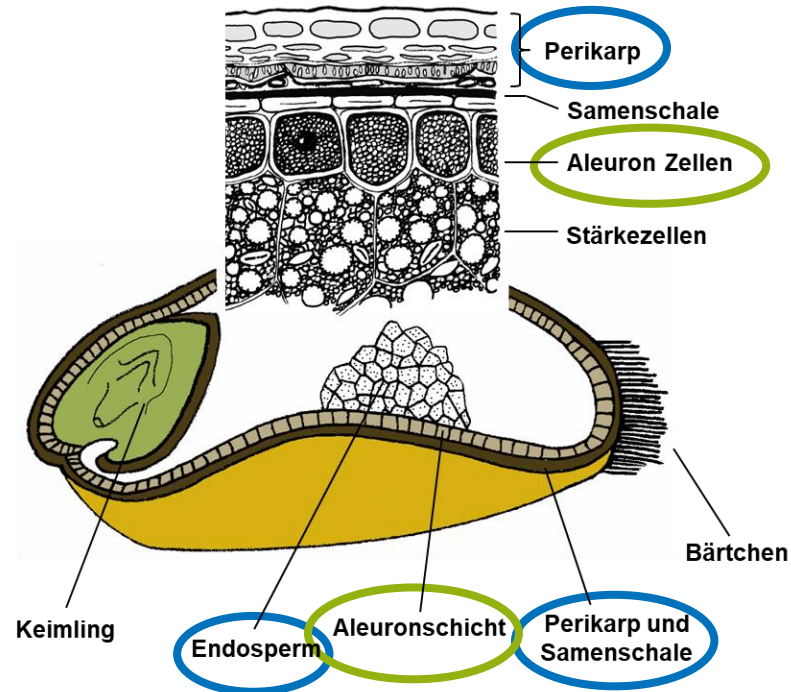


Bild: S. Bijewitz

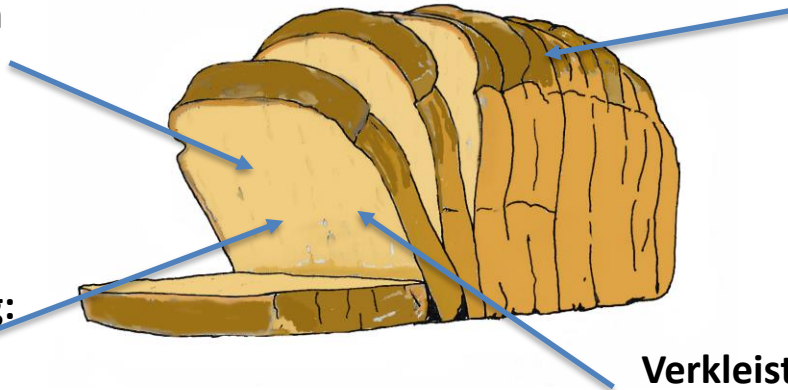
Funktionalität von Amylasen

- Einsatz von mikrobiellen Amylasen: *Bacillus* sp., *Aspergillus* sp.

Temperaturstabilität ?

Fermentation:
Brotvolumen

Maillard Reaktion:
Brotfarbe und -geschmack

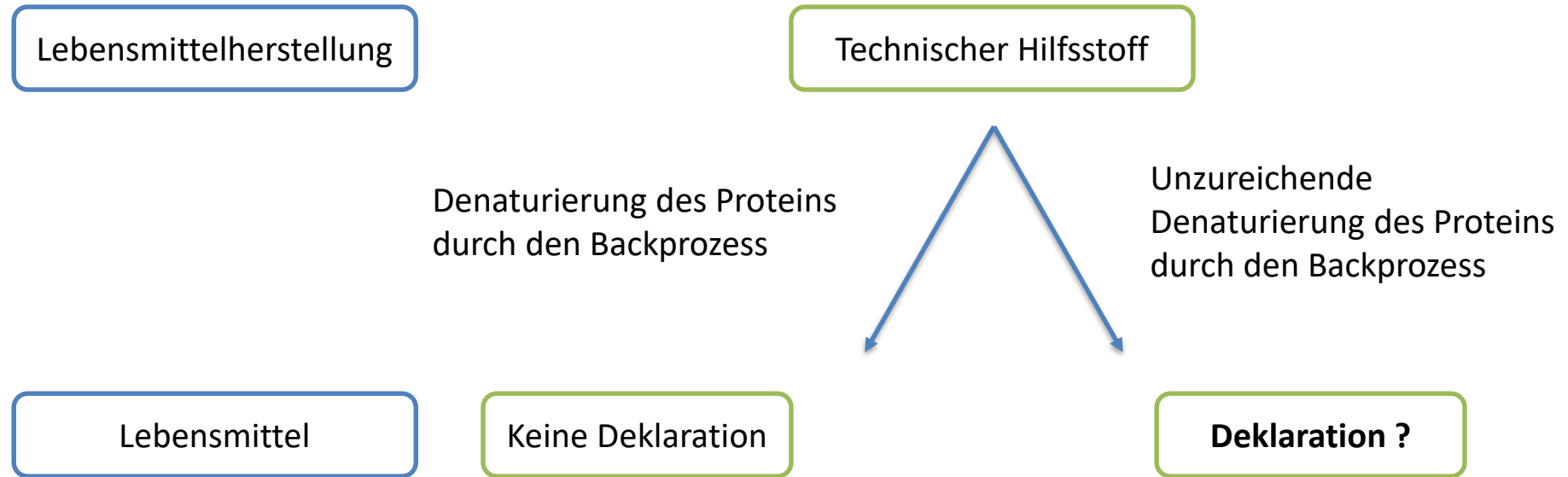


Krumenverfestigung:
Brotalterung

Verkleisterung der Stärke:
Brotvolumen

Bild: S. Bijewitz

Enzyme im Lebensmittelrecht

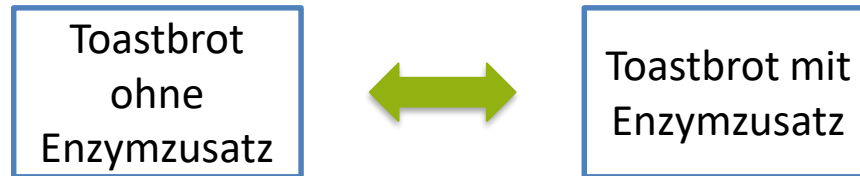


Deklaration nur bei technologischem Effekt auf das Enderzeugnis

Restaktivität \neq technologischer Effekt

Ziel der Arbeit

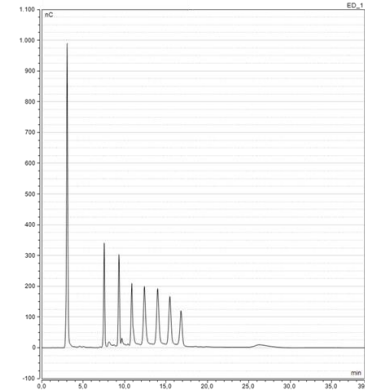
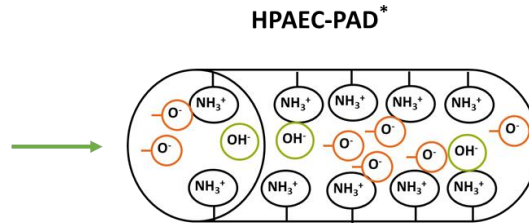
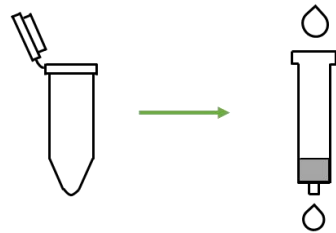
- Vergleich der Amylaseaktivität:



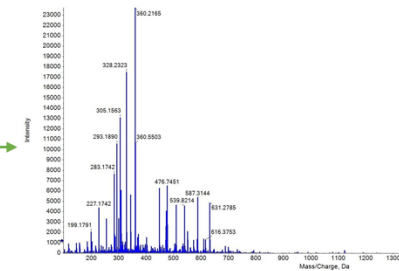
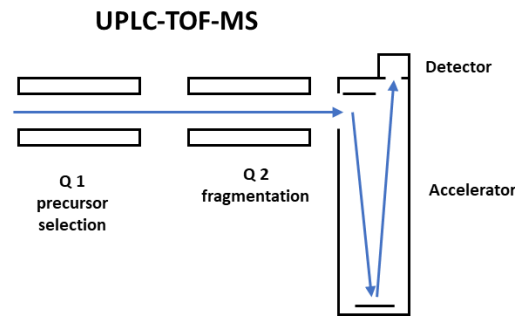
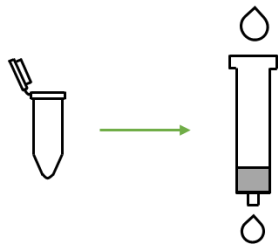
- Detektion einer möglichen Restaktivität der Amylasen im Toastbrot
- Identifizierung relevanter Amylasen in Weizenmehl Type 550 und in kommerziell erhältlichen Enzympräparaten:
 - 5 x α -Amylase
 - 2 x maltotetragene Amylase
 - 5 x maltogene Amylase

Methodik

Indirekte Bestimmung der Amylaseaktivität über Quantifizierung der Stärke-Hydrolyse-Produkte



Untargeted LC-MS/MS Screening der Amylasepeptide



* High performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection

Methodik

Modell-Toastbrot im 50 g-Maßstab

- Weizenmehl, Type 550
- Pufferlösung, Teigausbeite 160,3:
 - 0,1 mol·L⁻¹ Citronensäure-Monohydrat
 - 0,1 mol·L⁻¹ Trinatriumcitrat-Dihydrat
 - pH 2,75
- 0,5 % Natriumchlorid
- 4,0 % Backpulver
- (600 ppm α -Amylase aus *Bacillus subtilis*)

Kneten:
60 upm; 6,5 min



Teigruhe:
30°C; 20 min



Gare: 30°C; 40 min



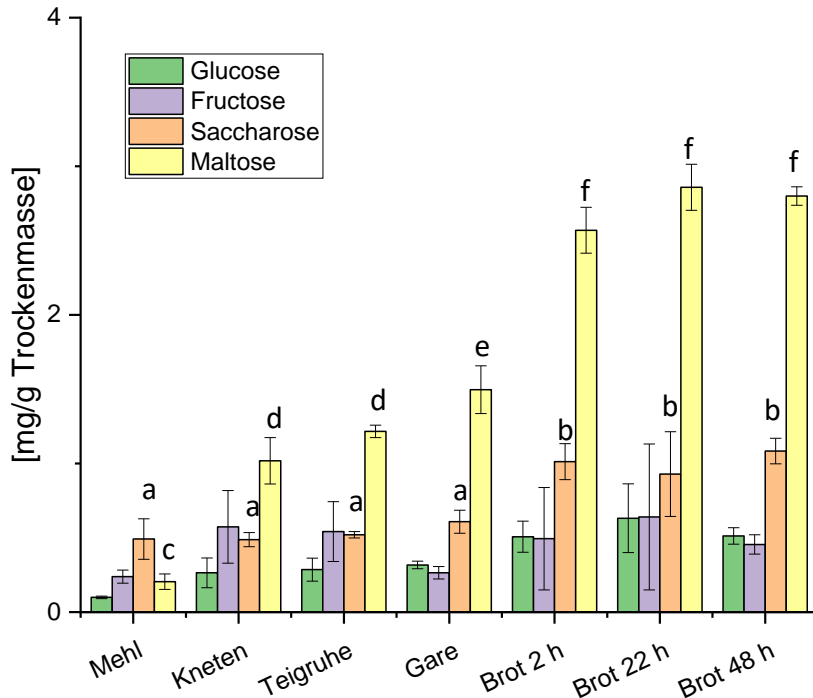
Backen:
230°C; 20 min



Lagerung:
20°C; 48 h; Folienbeutel



Gehalte freier Zucker in Toastbrot ohne Amylasezusatz



Statistik:

- Linear gemischte Modelle
- P-Werte für multiples Testen angepasst (Bonferroni-Korrektur)

Signifikante Unterschiede im Zuckergehalt:

Saccharose, Maltose

Keine signifikanten Unterschiede im Zuckergehalt:

Glucose, Fructose

Detektierbar: Maltotriose, Maltotetraose

Gehalt freier Zucker in Toastbrot ohne Amylasezusatz

- Größte absolute Veränderung im Maltosegehalt

Mehl: 0,205 mg·g⁻¹

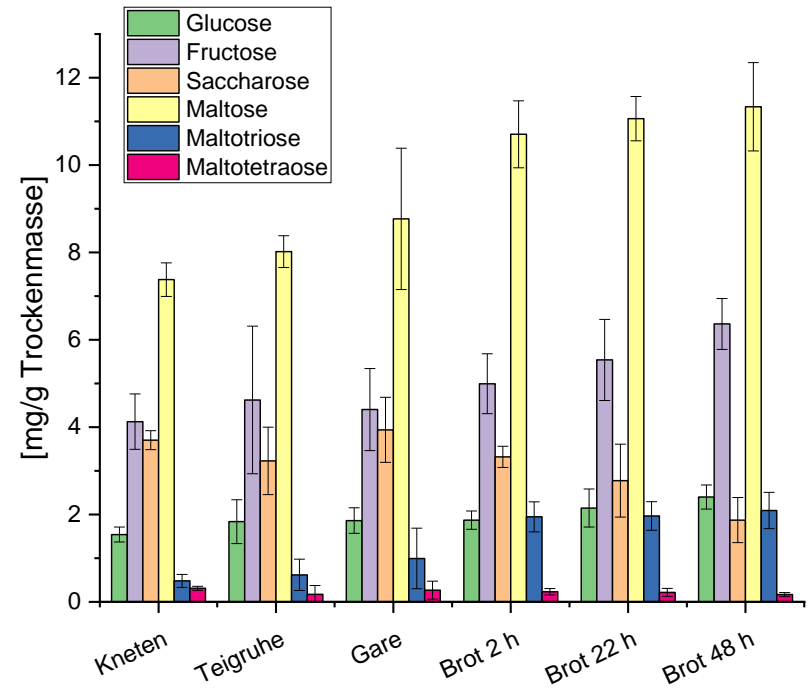
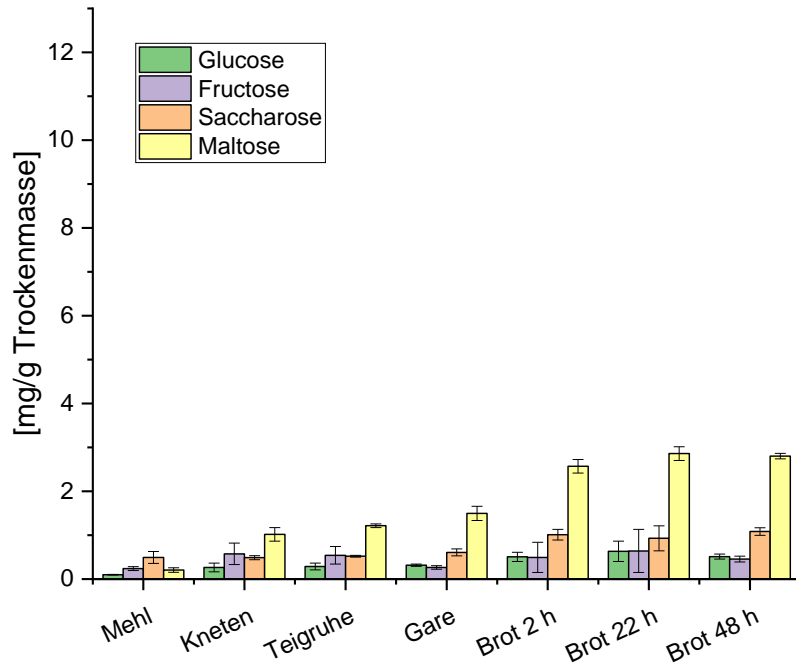
Brot 2 h: 2,569 mg·g⁻¹

- Untargeted LC-MS/MS Screening von Amylase-Peptiden in Weizenmehl Type 550
Ausschließlich β -Amylase-Peptide wurden detektiert

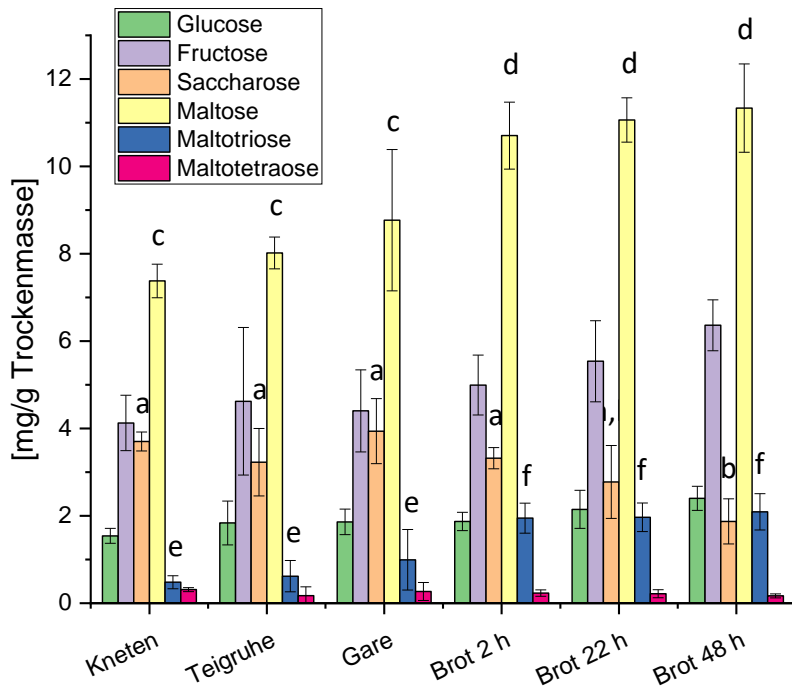
A0A2X0TUH3_Wheat
M1MQ51_Wheat
Q7X9M2_Wheat
AMYB_Wheat

} β -Amylasen

Gehalt freier Zucker in Toastbrot ohne/mit Amylasezusatz



Gehalt freier Zucker in Toastbrot mit Amylasezusatz



Signifikante Unterschiede im Zuckergehalt:
Saccharose, Maltose, Maltotriose

Keine Signifikante Unterschiede im Zuckergehalt:
Glucose, Fructose, Maltotetraose

Detektierbar: Maltoctose



Gehalt freier Zucker in Toastbrot

- Größte absolute Veränderung im Maltotriosegehalt
Kneten: $0,205 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Brot 2 h: $1,948 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$
- Hauptzucker: Maltose
Brot 2 h: $10,704 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$
- Untargeted LC-MS/MS Screening von Amylase-Peptiden im Amylasepräparat

Keine ‚unique peptides‘ für *B. subtilis* gefunden:

daher: Keine eindeutige Identifizierung des verwendeten Organismus bzw. der Amylase-Proteine möglich



Fazit

- Etablierung einer Methode zur Bestimmung der Zuckergehalte in Mehl, Teig und Brot
- Entwicklung eines Toastbrot-Modells zur Simulation einer praxisnahen Amylaseaktivität
- Erster Vergleich der Amylaseaktivität ohne und mit mikrobieller Amylase



Ausblick

- Backversuche mit verschiedenen Amylase-Präparaten
 → Restaktivität ?
- Verifizierung möglicher Restaktivitäten über Enzymassays
- Untargeted LC-MS/MS Screening verschiedener Amylase-Präparate mit semiquantitativer Auswertung der MS Daten
- Optimierung der Extraktion intakter Amylasen aus Teig und Brot

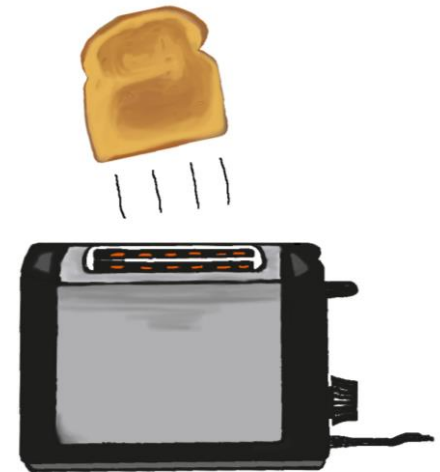


Bild: S. Bijewitz



Leibniz-Institut
für Lebensmittel-Systembiologie
an der Technischen Universität München

Gerold Rebholz
Leibniz-LSB@TUM
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising
Phone: +49 8161 71 2926
Mail: g.rebholz.leibniz-lsb@tum.de

1918-2018
100
YEARS
Advancing science
for food & health



Leibniz-Institute
for Food Systems Biology
at the Technical University of Munich



Das IGF-Vorhaben 19543 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, 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.