

Thiolase

Sulfhydryl-Oxidase – neues Mehlenzym vernetzt Proteine

Ausgangslage

Vor etwa zwei Jahrzehnten wurde bereits Sulfhydryl-Oxidase (SOX, EC 1.8.3.2.) aus *Aspergillus sojae* für den Einsatz in Backwaren und Milchprodukten vorgeschlagen. Es wurde nie großtechnisch hergestellt. Der Grund dafür war die vermutlich hemmende Wirkung der SOX auf die erzeugenden Organismen sowie die Instabilität des Enzyms.

Mit den Methoden der modernen Biotechnologie ist es einem Forschungsteam – bestehend aus Universitäten, Startups und SternEnzym – gelungen, die Genkodierung der SOX von *S. cerevisiae* (Bäckerhefe) zu modifizieren und auf *B. subtilis* zu übertragen. Damit haben wir die entscheidende Voraussetzung zur großtechnischen Herstellung geschaffen. Zurzeit arbeiten wir noch an der Prozessoptimierung, um auch die Wirtschaftlichkeit zu verbessern.

Was ist Thiolase?

Thiolase ist eine reine Sulfhydryl-Oxidase. Sie gehört zur Klasse der Oxidoreduktasen (EC 1.8.3.2) und katalysiert die Oxidation von zwei Sulfhydrylgruppen (Thiolgruppen) zu einer Disulfidbrücke unter Bildung von Wasserstoff-Peroxid nach folgendem Schema:



Das Enzym stammt aus der Bäckerhefe. Die unten beschriebenen Funktionen werden jedoch nur durch das isolierte Enzym, nicht aber mit Hefezellen erreicht.

- Die primäre Aufgabe von **Thiolase** ist die Oxidation der Sulfhydrylgruppen.

Die Wirkung von Thiolase im Mehl

Für den Aufbau einer stabilen Struktur des Brotes sind die Mehlproteine wichtig, die aus langen Ketten von Aminosäuren bestehen. Eine dieser Aminosäuren (Cystein) enthält eine reaktionsfreudige Sulfhydrylgruppe, die sich mit anderen Sulfhydrylgruppen vernetzen kann. Während des Garens und Backens findet unter dem Einfluss der Sulfhydryl-Oxidase eine sehr spezifische Oxidation statt:

- Die Sulfhydrylgruppen verbinden sich paarweise zu Disulfidbrücken. Dadurch verfestigen sich die Proteine und somit auch der Teig.

- Die Proteinmoleküle können über die Disulfidbrücken mit sich selbst (intramolekular) oder auch mit einem oder mehreren anderen Proteinmolekülen (intermolekular) verknüpft werden und so ein Netz chemisch gebundener Proteine bilden.
- Die rheologischen Eigenschaften eines Teiges ergeben sich aus diesem Netzwerk.

Sulfhydryl-Oxidase (SOX) vs. Glukose-Oxidase (GOX)

Durch ihre geringe Größe und durch die chemisch stabile Bindung ihres Koenzyms FAD ist **Thiolase** im Vergleich zu Glukose-Oxidase (der zurzeit für Mehl am häufigsten verwendeten Oxidase) außerordentlich widerstandsfähig gegenüber Hitze und Sauerstoff.



Ein Vergleich von Glucose-Oxidase und Sulfhydryl-Oxidase in Dampfbrot.

Glukose-Oxidase wird durch *Aspergillus*- bzw. *Penicillium*-Arten erzeugt und besteht aus 2 oder 4 großen Untereinheiten. Das Koenzym FAD ist nur lose mit dem Protein verbunden und geht dadurch während der Lagerung oder Verarbeitung leicht verloren. Besondere Stabilität wurde **Thiolase** durch den patentierten Austausch von Aminosäuren verliehen.

Die Anwendung von Thiolase in Backwaren

Thiolase ist ein Proteinvernetzer. Sie hat sich als idealer Synergist mit anderen Mehlbehandlungsmitteln wie Enzymen, Reduktions- oder Oxidationsmitteln, aber auch Emulgatoren erwiesen. Versuche haben gezeigt, dass durch den Einsatz von **Thiolase** die standardmäßig verwendete Menge an Mehltreifungsmitteln verringert werden kann.

Bei der Teig rheologie ist **Thiolase** auch unter den zeitlich begrenzten Bedingungen im Farinographen und im Alveographen wirksam, wo sie die Teigstabilität bzw. den Teigwiderstand erhöht.

Noch konnten nicht alle Anwendungsbereiche systematisch überprüft werden. Sehr gute Ergebnisse wurden bisher erzielt in:

Laminiertem Teig

Z.B. chinesische Dampfbrötchen, Blätterteiggebäck, Plundergebäck, baklavaähnliches Gebäck, Pasteten



Croissants

Insbesondere bei der Herstellung von gefrorenen Teiglingen, Ausbundbrötchen



Backpremixe/Backmittel

In Mischungen backaktiver Substanzen haben sich synergetische Wirkungen gezeigt; so konnte die Zugabe von anderen Oxidationsmitteln verringert werden. Da **Thiolase** – anders als die heute üblichen Oxidationsmittel – langsam wirkt und so die beste Stabilität des Teiges erst am Ende der Garzeit erreicht wird, sind die Teige angenehm zu verarbeiten und wirken nicht durch Überoxidation „bockig“.

- Volumenvergrößerung
- Hohe Stabilität und Gärtoleranz der Teiglinge
- Stabilisierung der hergestellten Backwaren
- Im Gegensatz zur Glukose-Oxidase keine Aroma- und Geschmacksveränderungen oder gar Ranzigkeit bei butterhaltigen Gebäcken, selbst bei Lagerung über 10 Wochen

Nudeln und Pasta

Aufgrund der Erfahrungen in Backanwendungen wird vermutet, dass **Thiolase** auch in Nudel- und Pastaanwendungen Vorteile erzielen könnte, z.B. bei der



- Reduzierung des Anteils an Hartweizen
- Verbesserung der Kochtoleranz

Spezifikation

Sulfhydryl-Oxidase [Methode: 100 µg Thiolase (100) DTT, 30 °C, pH 7,4, 412 nm]	
Aussehen:	beigefarbenes oder gelbliches Pulver
Geruch:	typisch, Fermentation
Typische Dosierung: (Backanwendungen)	100–250 ppm auf Mehl

Temperatur- und pH-Verhalten

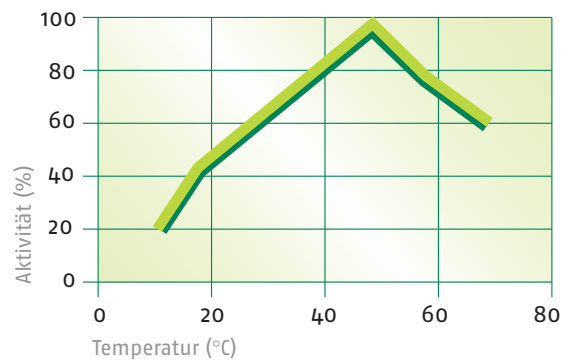


Abb. 1: Temperatur-Aktivitätskurve für Thiolase

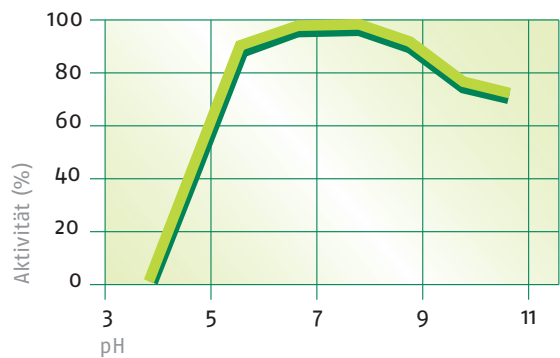


Abb. 2: pH-Aktivitätskurve für Thiolase

Optimaler Temperatur-Bereich 30–60°C
Optimaler pH-Bereich 5,5–9