

Schlussbericht

Entwicklung nachhaltiger Verarbeitungstechnologien für die
Umwandlung von Nebenprodukten in gesunde Lebensmittel

SUSFOOD Sustainable & Healthy:

Development of sustainable processing technologies for converting by-products into healthy,
added value ingredients and food products

Ausführende Stelle:

Technische Universität Berlin

Fakultät III - Prozesswissenschaften

Fachgebiet Lebensmittelbiotechnologie und –prozesstechnik

Frau Prof. Dr.-Ing. Cornelia Rauh

Königin-Luise-Str. 22

D-14195 Berlin

Förderkennzeichen (FKZ):

2814ERA05B

Aktenkennzeichen:

315-06.01-2814ERA05B

Laufzeit und Berichtszeitraum:

20.10.2014 bis 19.10.2017

19.1.2018



Datum, Unterschrift Prof. Dr.-Ing. habil. Cornelia Rauh

Inhaltsverzeichnis

1	Teil I – Kurzdarstellung	1-3
1.1	Ziele und Aufgabenstellung des Projekts.....	1-3
1.2	Einordnung des Projekts in das SUSFOOD-Netzwerk.....	1-3
1.3	Wissenschaftlicher und technischer Stand der Forschung.....	1-3
1.4	Art und Umfang der Zusammenarbeit mit anderen Forschungsstellen	1-4
1.5	Verwendete Literatur	1-5
2	Teil II - Eingehende Darstellung	2-6
2.1	Verwendung der Zuwendungen & Zielabgleich	2-6
2.2	Zahlenmäßiger Nachweis.....	2-7
2.3	Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	2-7
2.4	Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse im Rahmen des Verwertungsplans ...	2-8
2.5	Fortschritte anderer Stellen auf besagtem Forschungsgebiet.....	2-8
2.6	Veröffentlichung der Ergebnisse.....	2-8
3	Anlage	3-9
3.1	Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms	3-9
3.2	Wissenschaftlich-technische Ergebnisse.....	3-9
3.2.1	Hauptergebnisse	3-9
3.2.2	Nebenergebnisse	3-19
3.2.3	Gesammelte Erfahrungen	3-22
3.3	Fortschritt des Verwertungsplans	3-23
3.3.1	<i>Erfindungen & Schutzrechte</i>	3-23
3.3.2	<i>Wirtschaftliche Erfolgsaussichten</i>	3-23
3.3.3	<i>Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten</i>	3-24
3.3.4	<i>Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit</i>	3-24
3.4	Ergebnislose Arbeiten	3-25
3.5	Präsentationsmöglichkeiten der Ergebnisse	3-25
3.6	Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung.....	3-25
4	Kurzbericht	4-26
	Berichtsblatt des wesentlichen fachlichen Inhalts des Schlussberichts	4-26

1 Teil I – Kurzdarstellung

1.1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Die Frucht- und Gemüseindustrie generiert eine große Anzahl und Menge an Neben- und Abfallprodukten (z.B. Presskuchen, Schalen, Kerne, Samen), die bioaktive Verbindungen beinhalten. Dieses Projekt hat die Entwicklung innovativer, nachhaltiger Technologien und Prozesse (Extraktion, Extraktstabilisierung, Lebensmittel mit Mehrwert etc.) über die gesamte Lebensmittel- bzw. Herstellungskette für diese Neben- und Abfallprodukte der Frucht- und Gemüseindustrie zum Ziel. Die für die TUB-LBPT relevanten Arbeitspakete innerhalb des Projekts sahen folgende genaue Aufgabenstellungen und Ziele vor:

- (i) Optimierung der Extrahierbarkeit von phenolischen Verbindungen, fettlöslichen Verbindungen, und Kernölen aus Beerenneben- und abfallprodukten mit Hilfe von Überkritischer Fluidextraktion (*engl.*: supercritical fluid extraction, *kurz*: SFE) in Kombination mit Ultraschall- oder Hochspannungsimpuls-Vorbehandlung bzw. gepulsten elektrischen Feldern (*engl.*: pulsed electric fields, *kurz*: PEF).
- (ii) Wissenstransfer der Ergebnisse und Daten zur Wissenschaftsgemeinschaft und Industrie.

1.2 Einordnung des Projekts in das SUSFOOD-Netzwerk

Die TU Berlin, FG LBPT, war in die Arbeitspakete 1 (4 Personenmonate) und 5 (1 Personenmonat) des Projekts SUSFOOD – Sustainable & Healthy involviert, welches Teil des SUSFOOD ERA net-Forschungsclusters war. Das Konsortium bestand aus einem multidisziplinären Team mit Kompetenzen in Extraktionstechnologie, Verkapselungstechnologie und Prozesstechnologie (Emulsion, Trocknung).

1.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand der Forschung

Derzeit werden alle Blaubeerextrakte unter Zuhilfenahme von Methanol, Ethanol, Hexan oder anderen für die menschliche Gesundheit schädlichen oder risikobehafteten Lösungsmitteln gewonnen. Weitere Nachteile dieser Produktionsmethoden sind ein großer Energiebedarf, eine hohe Schädlichkeit für Umwelt und Produktionspersonal und eine niedrige Extraktqualität (Escribano-Bailón und Santos-Buelga, 2003; Aaby et al., 2013). Konventionelle Extraktionsprozesse von wertgebenden Inhaltsstoffen aus Trester werden daher oft als teuer, energie- und zeitaufwändig angesehen, auch weil die verwendeten

Lösungsmittel nach der Extraktion aufwändig entfernt bzw. abgetrennt und aufgereinigt werden müssen, um mögliche Schäden für den Verbraucher durch das Endprodukt zu verhindern.

Der Einsatz gepulster elektrischer Felder ermöglicht die Permeabilisierung von Zellmembranen und somit eine Verbesserung des Stoff- und Massentransports in und aus der behandelten Matrix (Toepfl et al., 2007). Für Heidelbeermaische konnte u.a. von Jäger et al. (2012) bereits gezeigt werden, dass durch eine PEF-Vorbehandlung die Saftausbeute signifikant erhöht werden kann. Eine gesteigerte Extraktion von sekundären, wertgebenden Inhaltsstoffen aus Treestern wurde u.a. von Corrales et al. (2008) und Pataro et al. (2017) bewiesen. Da es sich bei PEF um eine schonende, nicht-thermische Technologie handelt, kommt es während der Behandlung zu keiner Veränderung der Strukturen und Eigenschaften von Proteinen, phenolischen Verbindungen (u.a. Anthocyane) und anderer thermolabiler Stoffe (Fernandez-Diaz et al., 2000; Barsotti et al., 2001; Zhou et al., 2015). Andere, konventionelle Aufschlusstechnologien führen hingegen oft zu strukturellen Veränderungen von Proteinen, wie z.B. Vitaminen, sowie von bioaktiven phenolischen Verbindungen etc. Eine wässrige Extraktion und/oder SFE von Anthocyanen wird somit durch den Einsatz von PEF erleichtert und Ausbeute gesteigert (Loginova et al., 2011; Bobinaite et al., 2015; Zhou et al., 2015). Die Kopplung von PEF und SFE wurde im Bereich der Tresterextraktion noch nicht durchgeführt. Die SFE selbst gilt nicht als ideale Extraktionsmethode für höhermolekulare Verbindungen und Polyphenole. Im Zusammenspiel mit einem sogenannten Co-Solvent, wie Ethanol, kann die SFE jedoch zu verbesserten funktionellen Eigenschaften der Extrakte und somit neuartigen Produkten führen (del Valle et al., 2017).

1.4 Art und Umfang der Zusammenarbeit mit anderen Forschungsstellen

Sämtliche praktischen Hauptversuche, zur Kopplung von gepulsten elektrischen Feldern und überkritischer Fluidextraktion bzw. CO₂-Hochdruckextraktion in einem Anthocyan-Extraktionsprozess wurden in enger Zusammenarbeit mit dem schwedischen Forschungsinstitut „RISE Research Institutes of Sweden“ (früher: „SP Technical Research Institute of Sweden“) in Göteborg (Schweden), am Sitz des Arbeitsbereichs „Agrifood & Bioscience“ durchgeführt. Hierfür wurden PEF-Anlage und weitere Versuchsutensilien nach Göteborg versandt, dort aufgebaut und die PEF-/SFE-Versuche, sowie die anschließende Analytik durch einen wissenschaftlichen Mitarbeiter der TU Berlin, FG LBPT und einen wissenschaftlichen Mitarbeiter des RISE betreut und durchgeführt.

1.5 Verwendete Literatur

Aaby K, Grimmer S, Holtung L: Extraction of phenolic compounds from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) press residue: Effects on phenolic composition and cell proliferation. *LWT – Food Science and Technology* 54: p. 257-264

Barsotti L, Dumay E, Mu TH (2001): Effects of high voltage electric pulses on protein-based food constituents and structures. *Trends in Food Science & Technology*, 12(3-4): p. 136-144.

Boninaitė R, Pataro G, Lamanaukas N, Šatsauskas S, Viškelis P, Ferrari G (2015): Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9): p. 5898-5905.

Corrales M, Toepfl S, Butz P, Knorr D, Tauscher B (2008): Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Vol. 9(1): p. 85–91.

Del Valle JM, Uquiche E, Valenzuela L (2017): Supercritical Fluid Extraction of Polyphenols. *In: Advances in Technologies for Producing Food-Relevant Polyphenols*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton: p. 125-192.

Escribano-Bailón MT, Santos-Buelga C (2003): Polyphenol extraction from foods. *In: Santos-Buelga C, Williamson G (Eds.), Methods in polyphenol analysis*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge: p. 1-16.

Fernandez-Diaz MD, Barsotti L, Dumay E (2000): Effects of pulsed electric fields on ovalbumin solutions and dialyzed egg white. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): p. 2332-2339.

Jaeger H, Schulz M, Lu P, Knorr D (2012): Adjustment of milling, mash electroporation and pressing for the development of a PEF assisted juice production in industrial scale. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 14: p. 46-60.

Loginova KV, Lebovka NI, Vorobiev E (2011): Pulsed electric field assisted aqueous extraction of colorants from red beet. *Journal of Food Engineering* 106: p. 127-133.

Pataro G, Bobinaitė R, Bobinas Č, Šatkauskas S, Raudonis R, Visockis M, Ferrari G, Viškelis P (2017): Improving the extraction of juice and anthocyanins from blueberry fruits and their by-products by application of pulsed electric fields. *Food and Bioprocess Technology* 2017: p. 1-11. doi: 10.1007/s11947-017-1928-x

Toepfl S, Heinz V, Knorr D (2007): Applications of Pulsed electric fields technology for the food industry. In: *Pulsed electric fields technology for the food industry*. Springer Science + Business Media, New York: p. 197-221

Zhou Y, Zhao X, Huang H (2015): Effects of Pulsed Electric Fields on Anthocyanin Extraction Yield of Blueberry Processing By-Products. *Journal of Food Processing and Preservation* 39(6): p. 1898-1904.

2 Teil II - Eingehende Darstellung

2.1 Verwendung der Zuwendungen & Zielabgleich

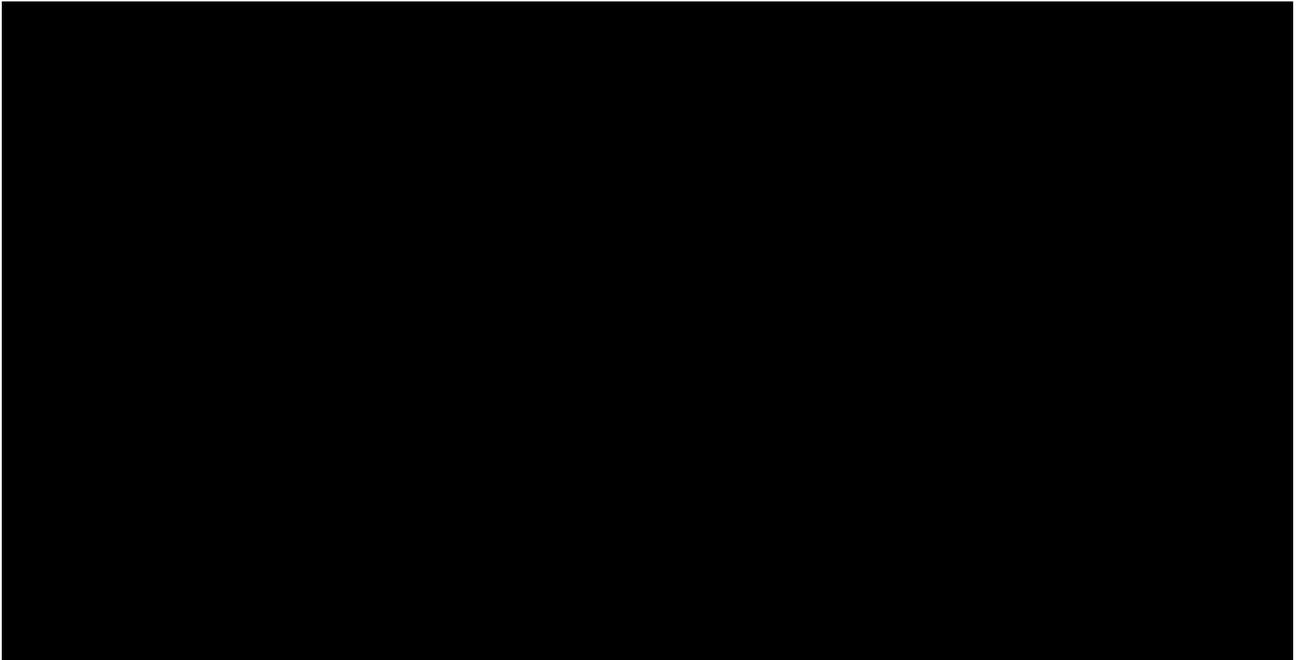
Im Rahmen des Teilprojekts bzw. der zu bearbeitenden Arbeitspakete wurden von der TUB-LPBT, teilweise in Zusammenarbeit mit dem schwedischen RISE-Institut, unter Verwendung der Zuwendung folgende Aspekte untersucht:

- Einfluss des Zerkleinerungsgrads der Heidelbeeren auf die Tresterbeschaffenheit, Zellintegrität im Trester, PEF-Effektivität und Anthocyan-Extraktionsausbeute
- Einfluss der PEF-Behandlung auf die Zellintegrität im Trester bei verschiedenen PEF-Parametereinstellungen (Feldstärke, Energieeintrag etc.). Die Parameter Pulsbreite und Frequenz waren anlagenbedingt nur teilweise variierbar.
- Einfluss der PEF Parameter Feldstärke und Energieeintrag auf die Extraktionsausbeute bei anschließender wässriger Extraktion
- Einfluss der PEF Parameter Feldstärke und Energieeintrag auf die Extraktionsausbeute bei anschließender SFE
- Einfluss der Co-Solvent-Konzentration auf die Anthocyan-Extraktionsausbeute
- Möglichkeit der Gesamtausbeutesteigerung durch Etablierung eines zweistufigen Extraktionsprozesses (wässrige Extraktion + SFE)
- Evaluierung des Einflusses und Nutzens einer Ultraschallbehandlung vor einer SFE zum Zellaufschluss und Ausbeutesteigerung

Diese Untersuchungen ermöglichten die erfolgreiche Bearbeitung der im Forschungsantrag festgelegten Ziele mit Ausnahme der Ultraschalluntersuchungen, bei denen Vorversuche

ergeben hatten, dass es während der US-Behandlung zu einem starken Erhitzen aufgrund der für den Zellaufschluss benötigten Intensitäten kam und damit zur Anthocyanzersetzung, so dass von einer weiteren Bearbeitung abgesehen wurde. Genaue Ergebnisse für den Zielabgleich können dem Anhang, Punkt 2 a-c entnommen werden. Die im Projektantrag vorgeschriebene Publikation der Ergebnisse in Fachmagazinen ist somit uneingeschränkt möglich.

2.2 Zahlenmäßiger Nachweis



2.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Untersuchung und Bewertung der konventionellen und innovativen Technologien in Bezug auf die Extrahierbarkeit und Ausbeutesteigerung sowie die statistische Absicherung der erhaltenen Ergebnisse erforderten eine hohe Anzahl an Versuchen und Analysen, die aufgrund der geringen Haltbarkeit des untersuchten Materials und der Ortsgebundenheit der verwendeten SFE-Anlage am schwedischen RISE-Institut durchgeführt werden mussten. Des Weiteren war die Anpassung der Prozesse auf das in diesem Zusammenhang kaum untersuchte Rohmaterial Blaubeertrester notwendig. Der Aufbau, Abbau, störungsfreie Betrieb und Bedienung der PEF-Anlage und die Anpassung der PEF-Parameter an Rohmaterial und angestrebte Ergebnisse sowie die analytische Begleitung der Versuche erforderten einen intensiven Personaleinsatz von geschultem, und wissenschaftlich qualifiziertem Personal. Die Durchführung der Arbeiten in dieser Form und in diesem Umfang war notwendig und angemessen, um den größtmöglichen Nutzen aus wissenschaftlicher und wirtschaftlicher Sicht mit dem gegebenen finanziellen Budgets zu realisieren.

2.4 Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse im Rahmen des Verwertungsplans

Von Seiten des Konsortiums und der TUB-LBPT wurde stets darauf geachtet, dass die erzeugten Daten die größtmögliche Nutz- und Verwertbarkeit für betroffene und interessierte Industriezweige aufweisen. Die Behandlungsmethoden und Parameter wurden so ausgewählt, dass die Technologien und der entwickelte Prozess mit so wenig Widerständen wie möglich in eine Industrieumgebung und bestehende Prozessketten eingefügt werden können. Durch eine statistische Absicherung der Ergebnisse, sowie durch die Evaluation der Einflüsse von verschiedenen PEF-, SFE- und Produktparametern auf die Edukte und Produkte wird neben der Verwertung durch Wirtschaftsunternehmen auch die wissenschaftliche Verwertung in Form von Publikationen, Vorlesungsinhalten etc. gewährleistet.

2.5 Fortschritte anderer Stellen auf besagtem Forschungsgebiet

Während des Vorhabens sind nur bedingt Fortschritte im Bereich der Anthocyan- / Polyphenolextraktion aus Beerentrester bei anderen Stellen bekannt geworden. Die Arbeiten von *Bobinaité et al. (2015)* beschäftigen sich zwar mit PEF als extraktionsunterstützende Technologie, allerdings wird hier anschließend ein anderes Extraktionsverfahren angewandt, weshalb die Ergebnisse und Fortschritte nicht direkt vergleichbar sind. Daher besaßen weder die vorgenannten noch andere Arbeiten einen Einfluss auf den Versuchsplan oder die Bedeutung und den Nutzen der erzielten Ergebnisse.

2.6 Veröffentlichung der Ergebnisse

Veröffentlichung(en) in wissenschaftlichen Fachmagazinen:

- Voigt E., Eliasson L., Ahrné L., Knorr D., Rauh C. (in Bearbeitung): Pulsed electric fields and high-pressure CO₂ extraction for enhanced extraction of anthocyanins from bilberry pomace in a two-stage process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.

Präsentation(en) auf Fachtagungen:

- „Sustainable & Healthy – Development of sustainable processing technologies for converting by-products into healthy, added value ingredients and food products“. Vortrag auf der EFFoST-Konferenz 2017, 13.11.2017, Sitges, Spanien.

- „Sustainable & Healthy – Development of sustainable processing technologies for converting by-products into healthy, added value ingredients and food products“. Posterpräsentation auf der EFFoST-Konferenz 2017, 13.-16.11.2017, Sitges, Spanien.
- “Extraktion wertgebender Inhaltsstoffe aus Blaubeertrester mittels Kombination von gepulsten elektrischen Feldern (PEF) und überkritischer Fluidextraktion (SFE)“. Kurzvortrag und Posterpräsentation auf der DECHEMA-Fachtagung ProcessNet, 10.-11.03.2016, Erlangen, Deutschland.
- Leider konnten zwei geplante, genehmigte Vorträge auf Fachtagungen („28th International Conference on Polyphenols“ in Wien, Österreich, 11.-15.07.2016 und „9th International Workshop on Anthocyanins“ in Auckland, Neuseeland, 22.-24.02.2017) aus persönlichen bzw. finanziellen Gründen nicht wahrgenommen werden.

3 Anlage

3.1 Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms

Die von der TUB-LBPT generierten Ergebnisse und Daten ermöglichen das Potential der beiden innovativen Verfahren PEF und SFE/HPCDE entlang der Wertschöpfungskette von pflanzlichen Lebensmitteln mit hohen Gehalten an zuvor ungenutzten Sekundärinhaltsstoffen abzuschätzen und so gezielt ein entsprechendes nachhaltiges (Extraktions-)Verfahren dieser Inhaltsstoffe, wie z.B. Polyphenole, für verschiedene Prozessziele und wertgebende Produkte auszuwählen. Der Einsatz der beteiligten Technologien und die daraus gewonnenen Erkenntnisse festigen zum einen das Verständnis der Mechanismen hinter den Technologien und deren Auswirkungen auf die untersuchten Matrices und zeigen zum anderen der Industrie neue Nutzungsmöglichkeiten dieser Technologien und somit von Neben- und Abfallprodukten auf. Letzteres ermöglicht deshalb die Entwicklung neuer innovativer Produkte und nachhaltiger und somit effizientere Produktionsprozesse.

3.2 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse

3.2.1 Hauptergebnisse

Vor jedem Versuch wurde Blaubeertrester aus frischen, gekühlten (+ 4 °C) und unzerkleinerten Wildblaubeeren hergestellt. Die Blaubeeren wurden dabei zuerst für 10 oder 20 Sekunden in einem Haushaltsmixer zerkleinert und die entstandene Maische in einer Tinkturenpresse in Trester und Saft aufgetrennt. Die Pressung verlief immer auf die gleiche

Weise: für jeweils 60 Sekunden wurden aufeinanderfolgend Drücke von 50, 100 & 150 kg/cm² angelegt. Danach wurde die Probe entspannt und für weitere 60 Sekunden bei Umgebungsdruck ruhen gelassen. Der gewonnene Saft und der Trester wurden gewogen und Proben für spätere Analyse entnommen. In späteren Versuchen, in denen der Zerkleinerungsschritt nicht stattfand, wurde der Pressschritt um zwei weitere Stufen (200 & 250 kg/cm²) erweitert, um einen vergleichbaren Feuchtigkeitsgehalt des Tresters zu erhalten.

A. Einfluss Hochspannungsimpulstechnologie auf den Zellaufschlussgrad

Durch einen Energieeintrag von 80 – 160 kJ/kg bei der PEF-Behandlung des Trester-Wasser-Gemischs können im Vergleich zu intakten Beeren Zellaufschlussgrade von insgesamt bis zu 74,9% erreicht werden, wenn die Beeren vor dem Pressen 20 Sekunden im Mixer zerkleinert wurden (siehe Abbildung 2.1). Bei diesen, wie auch Versuchen mit anderen Zerkleinerungsgraden zeigte sich, dass die Membranschädigung umso höher war, je mehr Energie durch die PEF-Behandlung eingetragen wurde. Bei den stark zerkleinerten Proben führt die Verdoppelung des Energieeintrags jeweils zu einer Zunahme der Zellschädigung von 9,1 – 10,5%. Bei unzerkleinerten Beeren lag die Zunahme bei der Verdoppelung von 80 auf 160 kJ/kg bei 11,5%. Für aussagekräftige Trendwerte oder das Erkennen einer Linearität fehlen jedoch ausführlichere Versuchsreihen mit alternativen Energieeinträgen zwischen 40 und 160 kJ/kg bei verschiedenen Tresterzerkleinerungsgraden.

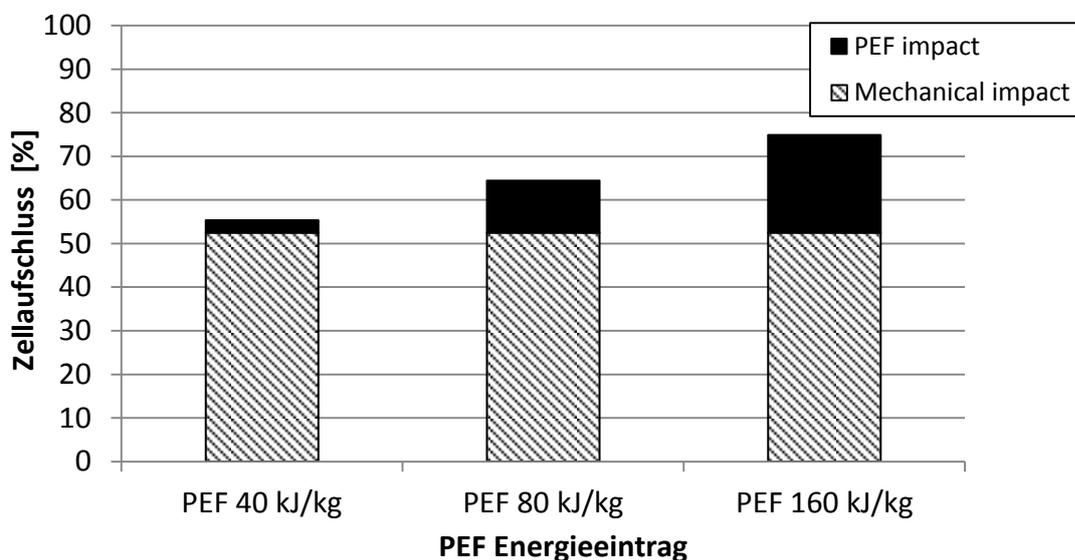


Abb. 2.1: Vergleich des Einflusses der verschiedenen PEF-Energieeinträge auf den Zellaufschlussgrad von stark zerkleinertem Wildblaubeertrester (20 Sekunden) bei verschiedenen Energieeinträgen (40, 80 & 160 kJ/kg) und Angabe des mechanischen Zellaufschlusses durch Zerkleinern und Pressen.

Beim Vergleich aller Kontrollproben (siehe auch Abbildung 2.2) zeigte sich, dass der Prozessschritt des Pressens so effektiv die Zellen aufgeschlossen hatte, dass der Zerkleinerungsgrad der Beeren vor der Tresterherstellung oder des Tresters nur einen sehr geringen Einfluss (< 1%) auf den Gesamt-Zellaufschlussgrad des Tresters vor einer möglichen PEF-Behandlung hatte.

Selbst wenn die Beeren bei der Tresterherstellung nicht zerkleinert, sondern nur gepresst wurden, konnte mittels PEF mit einem Energieeintrag von 160 kJ/kg ein Zellaufschluss von 70,0% erreicht werden. Der Unterschied zur vorher stark zerkleinerten Probe mit 160 kJ/kg lag damit bei nur 4,8%. Bei 80 kJ/kg betrug der Unterschied zwischen unzerkleinertem und stark zerkleinertem Trester nur 5,9%. Da der Unterschied beim Zellaufschluss zwischen 80 kJ/kg und 160 kJ/kg bei den jeweiligen Proben nur zwischen 10,4% und 11,5% lag, erscheint der geringere Energieeintrag aus ökonomischer Sicht und in Bezug auf den reinen Zellaufschluss hier als die bessere Alternative. Zudem muss hier zusätzlich in die Diskussion ein systematischer Fehler der Impedanz-/Membranintegritätsmessung zur Ermittlung des Zellaufschlusses (auch „Cell Disintegration Index“ (CDI) genannt) mit einfließen: Die Kalibrierung des Messgerätes zur Festlegung der Werte einer vollständig intakten Matrix erfolgt mit dem frischen Produkt. Aufgrund der geometrischen Form der Messkammer und der Blaubeeren konnte allerdings keine Kalibrierung ohne luftgefüllte Zwischenräume durchgeführt werden, die das Ergebnis stark verfälscht bis unmöglich gemacht hätten. Daher mussten die Beeren leicht gequetscht werden, wodurch es zum Aufplatzen der Beeren kam. Daher wird der wahre Wert der Membranintegrität nach Pressen und PEF höchstwahrscheinlich deutlich niedriger sein bzw. der Zellaufschluss der behandelten Proben deutlich höher sein, als in der Analyse gemessen und hier gezeigt wird.

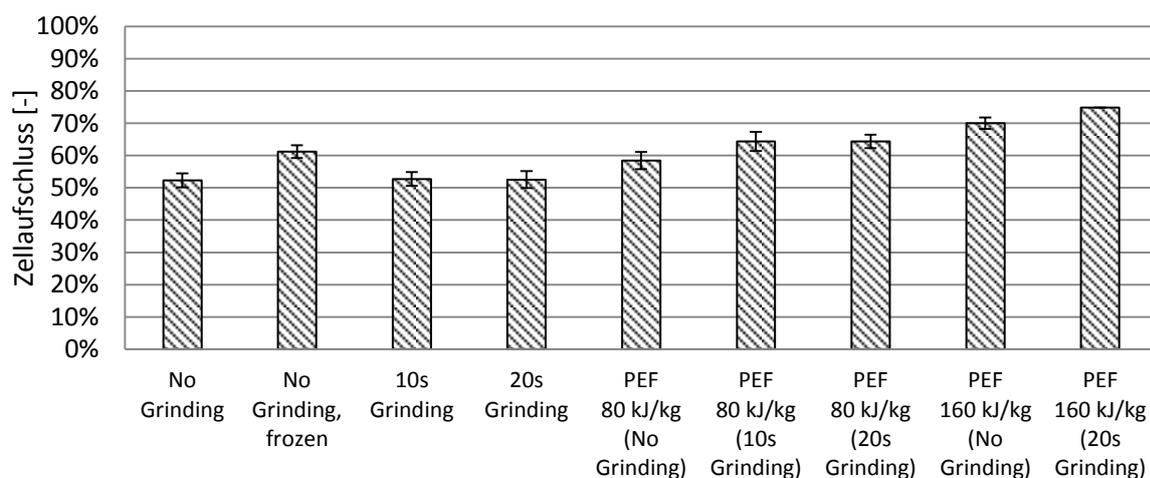


Abb. 2.2: Vergleich des Einflusses von PEF auf den Zellaufschlussgrad von stark (20s), moderat (10s) und nicht zerkleinertem (0s) Wildblaubeertrester bei verschiedenen Energieeinträgen (0, 80 und 160 kJ/kg).

B. Einfluss Hochspannungsimpulstechnologie auf Massentransport und Anthocyanausbeute

Da die PEF-Behandlung ein Mindestgehalt an Wasser bzw. eine Mindest-Leitfähigkeit besitzen muss, wurde der hergestellte Trester in einem Verhältnis von 1:1 mit Leitungswasser verdünnt. Da für eine effiziente überkritische Kohlenstoffdioxidextraktion der hierdurch erhaltene Wassergehalt zu hoch ist, wurde die Entfernung des Wassers in Form eines ersten (wässrigen) Extraktionsschrittes dem Gesamtprozess hinzugefügt. Hierfür wurden die Proben vor der SFE für 10 min bei 4800 U/min zentrifugiert, der Überstand aufgefangen und dieser auf seinen Anthocyanengehalt hin untersucht. Der zurückgebliebene Presskuchen/Trester wurde danach mit überkritischem CO₂ und einem Zusatzlösungsmittel (Co-Solvent), bestehend aus einer 80:20-Ethanol-Wassergemisch, extrahiert. Aufgrund des hohen Ethanolanteils von 50% an der Gesamtlösungsmittelmenge ist rein physikalisch ein kompletter überkritischer Zustand des Lösungsmittels bzw. des Kohlenstoffdioxids nicht möglich, weshalb der Begriff SFE bzw. überkritische Fluidextraktion so nicht gehalten werden kann und korrekterweise von einer Hochdruck-Kohlenstoffdioxid-Extraktion (HPCDE; high pressure carbon dioxide extraction) gesprochen werden muss.

Für die ersten Versuchsreihen wurde für Trester aus stark zerkleinerten (20 Sekunden Mahlen in einer handelsüblichen Haushaltsküchenmaschine) ein niedriger Energieeintrag von 40 kJ/kg Trester (Feldstärke: 3 kV/cm, 9 kV gesamt) gewählt. Hier kam es jedoch zu keinerlei Erhöhung der Extrakt-, bzw. Anthocyanausbeute während der wässrigen Extraktion und HPCDE/SFE im Vergleich zu den unbehandelten Proben. Daher wurden die Parameter angepasst: die Feldstärke wurde auf 6 kV/cm (12 kV gesamt), damit der Energieeintrag auf 80 kJ/kg Trester erhöht werden konnte ohne die Prozesszeit signifikant zu erhöhen. Hierbei erhöhte sich die Anthocyanausbeute von 50,67 mg/g Trockensubstanz (TS) auf 59,90 mg/g TS. Da in späteren Validierungsversuchen mithilfe einer 24-stündigen Methanolextraktion des Tresters der Gesamtgehalt an Anthocyanen im Trester bestimmt wurde, können hier Aussagen zur Extraktionseffizienz bzw. das Verhältnis von Gesamtausbeute zu Gesamtanthocyanengehalt im Trester in Prozent getroffen werden. Es kam zu einer Steigerung von 58,6% auf 71,7%. Allerdings kam es teilweise aufgrund hoher Schwankungen bei den SFE-Extraktionsergebnissen zu einer hohen Standardabweichung, die in etwa dem Zuwachs der Extraktionsausbeute entsprach, d.h. in den Mehrfachbestimmungen konnten nur zum Teil Ausbeutesteigerungen erzielt werden. Die der HPCDE vorausgehende wässrige Extraktion wurde durch die PEF-Behandlung in keinem untersuchten Fall signifikant erhöht. Daher wurden zu Vergleichszwecken Versuche mit gleicher Feldstärke, aber einem doppelt so hohem Energieeintrag (160 kJ/kg) durchgeführt. Der höhere Energieeintrag bei gleicher Feldstärke wurde durch eine Erhöhung der Pulsanzahl erreicht. Bei diesem Energieeintrag

konnte bei stark zerkleinertem Trester ebenfalls keine Erhöhung der Anthocyanausbeute bei beiden Extraktionsstufen verzeichnet werden. Es kam aus ungeklärter Ursache sogar zu einer leichten Verringerung der Ausbeute (- 6,3% bei der SFE, -10,4 % bei der wässrigen Extraktion) und Extraktionseffizienz (- 5,1 Prozentpunkte bei SFE, -1,9%p bei wässriger Extraktion). Allerdings entspricht dies auch hier in etwa der Standardabweichung aufgrund des inhomogenen Probenmaterials (Verhältnis von Schalen zu Kernen zu Fasern).

Aus den Ergebnissen wurde geschlussfolgert, dass die starke Zerkleinerung der Beeren im Trester die Zellen, insbesondere die Zellen der relativ festen Schale, bereits soweit aufgeschlossen hatte, dass das Extraktionsmittel sehr gut an alle entscheidenden Stellen der Zellmatrix kam und zudem hier ein hohes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis die Extraktionsprozesse begünstigte. Daher wurden das Verhalten von Trestern mit anderen Zerkleinerungsstufen vor dem Pressschritt untersucht: (A) Trester, der aus Wildblaubeeren hergestellt wurde, die vorher 10 Sekunden in einer Haushaltsmaschine zerkleinert wurden – im Weiteren „moderat zerkleinert“ genannt – sowie (B) Trester aus unzerkleinerten Wildblaubeeren. Es zeigte sich, dass ein moderates Zerkleinern, sowie ein Nichtzerkleinern der Wildblaubeeren vor dem Pressen, die Gesamtausbeute an Anthocyanen nach dem Extraktionsprozess, im Vergleich zu Trester aus stark zerkleinerten Beeren – merklich erniedrigt. Während diese Abnahme bei dem moderat zerkleinerten Beerentrester (Kontrollproben) mit -4,2% bei der HPCDE und -36,1% bei der wässrigen Extraktion, bzw. bei Betrachtung der Extraktionseffizienz mit -0,5 %p (SFE) und -5,0%p (wässrig) eher gering ausfällt, kommt es bei Trester aus unzerkleinerten Beeren zu einem starken Abfall der Anthocyanausbeute. In beiden Extraktionsstufen erniedrigt sich hier die Ausbeute mit -48,8% bei der HPCDE und -45,5% bei der wässrigen Extraktion um fast die Hälfte. Die Gesamt-Extraktionseffizienz verringert sich somit um 40,7 %p von 85,2% auf 44,5%, also insgesamt um 47,8%. Durch Einsatz der PEF-Technologie zur Vorbehandlung kann dieser Verlust bei der Extraktionseffizienz jedoch bei moderat zerkleinerten Beeren, sowie Trester aus unzerkleinerten Beeren zum Teil aufgefangen werden. Bei einem Energieeintrag von 80 kJ/g beträgt die maximal mögliche Extraktionseffizienz 67,8% bei moderat zerkleinerten Beeren, was gegenüber stark zerkleinertem, unbehandeltem Trester einer Abnahme von 17,4 %p, gegenüber dem moderat zerkleinerten, unbehandelten Beerentrester aber nur einer Zunahme von 0,8%p (0,1%) entspricht. Da die Standardabweichung bei letzteren Werten ebenfalls höher ist, kann man hier von keiner signifikanten Zunahme der Extraktionsausbeute sprechen. Betrachtet man hier jedoch die einzelnen Extraktionsschritte differenziert, kann man erkennen, dass die Ausbeute und die Extraktionseffizienz der wässrigen Extraktion steigen, wenn zuvor eine PEF-Behandlung durchgeführt wurde. Die gleichbleibende Gesamt-Extraktionseffizienz wird durch die erhöhte Ausbeute der HPCDE ausgeglichen, die den PEF-Effekt überlagert bzw. durch die PEF-Behandlung nicht

beeinflusst wird. Als alleinstehender Prozess würde es bei der wässrigen Extraktion nach PEF-Vorbehandlung jedoch zu einer Zunahme der Ausbeute von 81,2% (7,44 mg Gesamtanthocyane/g TM auf 13,48 mg/g TM) und Erhöhung der Extraktionseffizienz von 7,2%p bzw. 80,9%. Bei Trester aus unzerkleinerten Beeren können mit 80 kJ/kg PEF-Energieeintrag 64,7% und mit 160 kJ/kg 68,1% der im Trester enthaltenen Anthocyane extrahiert werden. Das bedeutet zum einen eine Erhöhung der Effizienz um 45,4% (20,2%p) bzw. 53,0% (23,6%p) im Vergleich zur Kontrollprobe des unzerkleinerten und unbehandelten Tresters und zum anderen eine Abnahme von 24,1% (80 kJ/kg) bzw. 20,1% (160 kJ/kg) im Vergleich zur stark zerkleinerten, unbehandelten Kontrollprobe (die bei stark zerkleinertem Trester die höchste Effizienz aufwies). Damit verringert sich der Verlust durch den ausbleibenden Zerkleinerungsvorgang durch PEF um 50,4% / 20,2%p (80 kJ/kg) bzw. 58,0% / 23,6 %p (160 kJ/kg). Es ist somit möglich, durch den Einsatz von PEF weit über die Hälfte (7/10) der enthaltenen Anthocyane aus unzerkleinertem Blaubeertrester in diesem zweistufigen Prozess zu extrahieren. Betrachtet man die Extraktionsschritte getrennt voneinander, ist festzustellen, dass sich hauptsächlich die Ausbeuten der wässrigen Extraktion erhöhen. So erhöht sich die Ausbeute im Vergleich zur unbehandelten Probe nach einer 80 kJ/kg-Behandlung um +114,6% und nach einer 160 kJ/kg-Behandlung um +136,5%, was einer Zunahme der Extraktionseffizienz von +111,8% (11,4%p) bzw. +132,4% (13,5%p) entspricht. Bei der SFE sind ebenfalls deutliche Ausbeutesteigerungen zu verzeichnen, wenn auch in geringerem Maße: Die Ausbeute sowie Effizienz wurden bei 80 kJ/kg um +25,6% und bei 160 kJ/kg um +29,6% gesteigert. Hier ist somit ein signifikanter PEF-Effekt erkennbar, der sich mit den Daten der Impedanzmessung bzw. der Bestimmung des Zellaufschlusses decken. Allerdings verläuft die Ausbeutesteigerung nicht direkt proportional zur Steigerung des Zellaufschlussgrads durch PEF. Alle Ergebnisse sind in den Abbildungen 3.1 und 3.2 grafisch dargestellt, wobei in Abbildung 3.1 die Ergebnisse der 20 und 10 Sekunden zerkleinerten Treestern und in Abbildung 3.2 die Ergebnisse der 20 Sekunden zerkleinerten und unzerkleinerten Beeren bzw. des daraus gewonnenen Tresters verglichen werden.

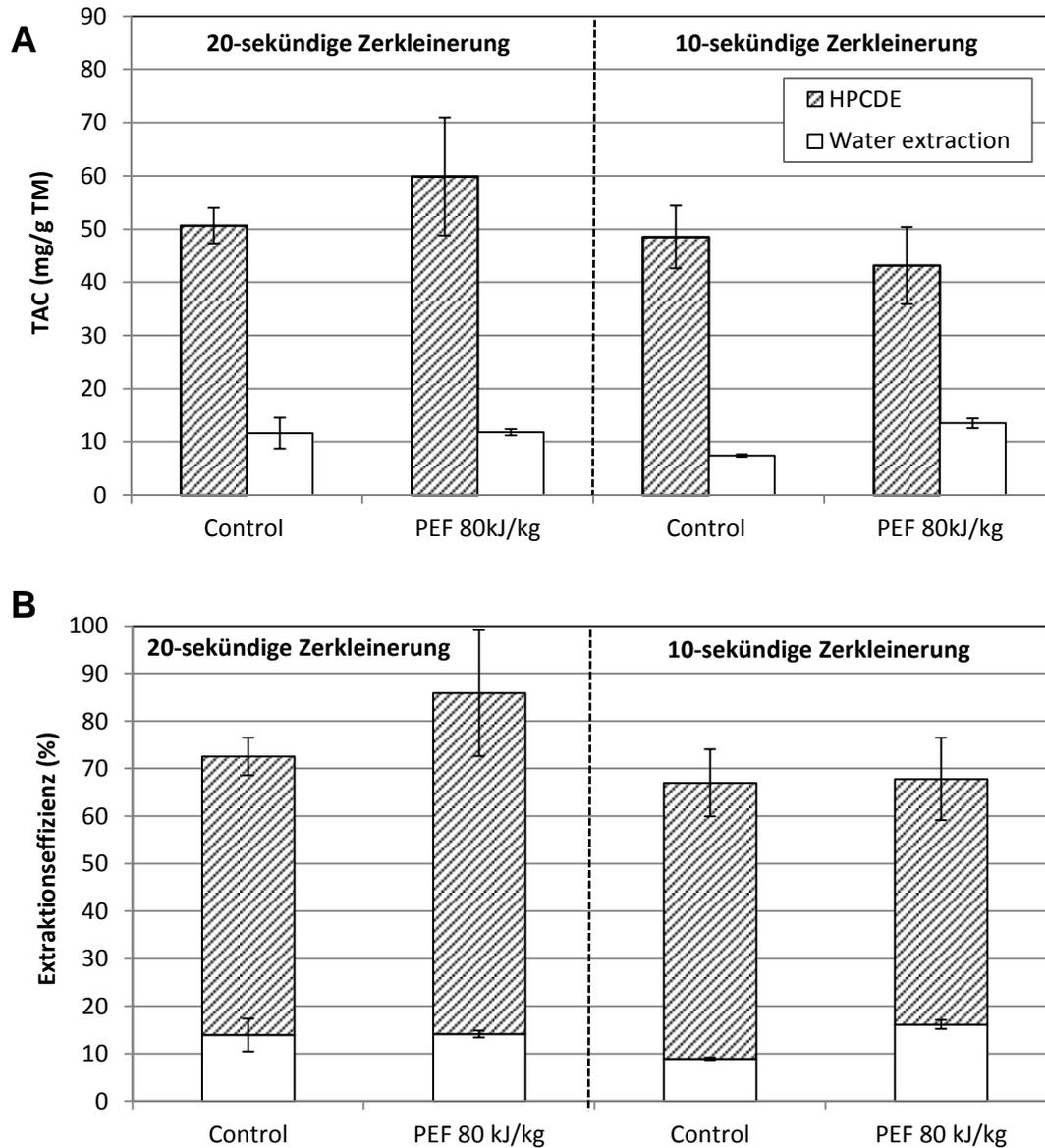


Abb. 3.1: Einfluss gepulster elektrischer Felder (PEF) als Vorbehandlung (Energieeintrag von 80 kJ/kg) und Zerkleinerungszeit (10 und 20 Sekunden) auf die [A] Gesamt-Anthocyanausbeute (TAC) (mg/ g Trockenmasse Trester) und [B] Extraktionseffizienz nach wässriger Extraktion (Stufe 1) und Hochdruck-Kohlenstoffdioxid-Extraktion (HPCDE) (Stufe 2). Die Experimente wurden mit Wildblaubeeren der ersten Charge durchgeführt. Der Gesamt-Anthocyangehalt wurde durch eine 24-stündige Methanolextraktion des frischen Tresters aus stark zerkleinerten Beeren bestimmt.

Die unterschiedlichen Ausbeuteergebnisse der 20-sekündig zerkleinerten Beeren bzw. des daraus hergestellten Tresters in den Abbildungen 3.1 und 3.2 kommen dabei durch die Verwendung unterschiedlicher Wildblaubeer-Chargen zustande. Da sich eine lange Lagerdauer kontraproduktiv auf die Reproduzierbarkeit und Verwertbarkeit der Ergebnisse ausgewirkt hätte (Gewebeerweichung, enzymatischer und mikrobieller Verderb etc.), mussten während der mehrwöchigen Versuchsreihen mehrere bzw. zwei Chargen

Wildblaubeeren in den Experimenten verwendet werden. Diese unterschieden sich leicht in ihrem Anthocyangehalt aufgrund der unterschiedlichen Wuchsorte und Erntezeitpunkte.

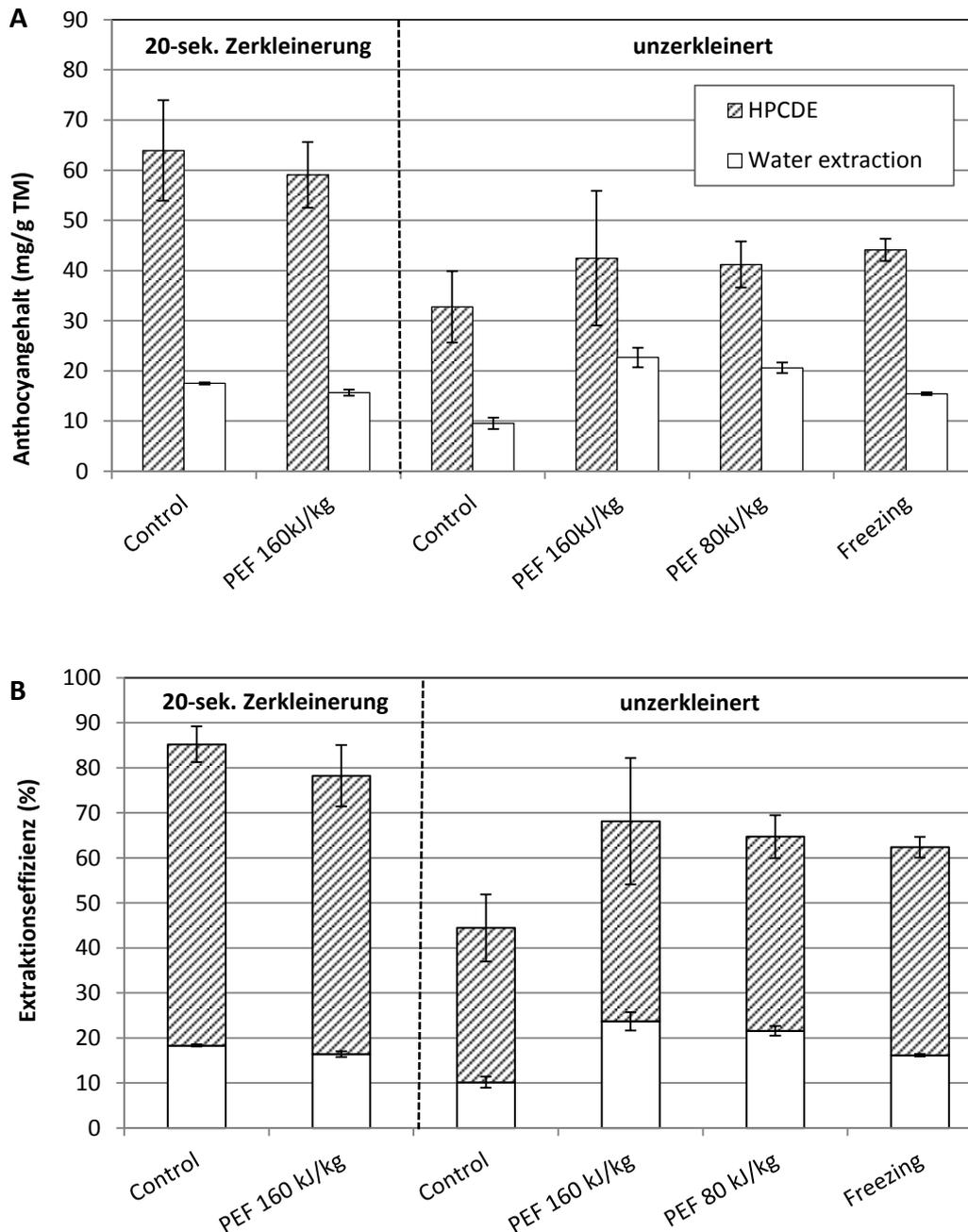


Abbildung 3.2: Einfluss von gepulsten elektrischen Feldern (PEF) als Vorbehandlung mit niedrigem und hohem Energieeintrag (80 und 160 kJ/kg), Gefrieren und Zerkleinerungszeit (0 und 20 Sekunden) auf [A] die Gesamt-Anthocyanausbeute (mg/g Trockenmasse Trester) und [B] Extraktionseffizienz [%] der wässrigen Extraktion (Stufe 1) und Hochdruck-Kohlenstoffdioxid-Extraktion (HPCDE) (Stufe 2). Die Experimente wurden mit Wildblaubeeren der ersten Charge durchgeführt. Der Gesamt-Anthocyangehalt wurde durch eine 24-stündige Methanolextraktion des frischen Tresters aus stark zerkleinerten Beeren bestimmt.

Diese Ergebnisse sind im Hinblick auf ressourcenschonende und nachhaltige Prozessierung von besonderem Interesse, da es zu einer Erhöhung der Anthocyanausbeute kommt, ohne dass energieintensive Techniken oder kostenintensive Extraktionsmittel verwendet werden müssen und zudem das Zerkleinern der Beeren und/oder des Tresters unnötig wird. Sollte jedoch eine Ausbeute von mehr als 68 Prozent der enthaltenen Anthocyane gewünscht werden, müssen die Beeren oder der Trester zuerst vermahlen und/oder höhere Energieeinträge oder Feldstärken >160 kJ/kg bzw. >6 kV/cm (> 12 kV total) gewählt werden. Letztere Aussage ist allerdings rein hypothetischer Natur, da diese Parameter in dieser Studie nicht getestet wurden, um Nebeneffekte, wie Ohm'sches Erhitzen zu vermeiden. Zudem zeigte sich, dass sich die Ausbeutesteigerung nicht proportional zur Steigerung des Energieeintrags verhielt und die Zuwächse durch die Verdoppelung des Energieeintrags eher geringer Natur waren. Für eine ressourcen- und energieschonende, aber trotzdem effektive Gewinnung der Anthocyane aus Blaubeertrester, kann man nun die Empfehlung der Etablierung eines zweistufigen Extraktionsprozesses aussprechen, bei dem einer PEF-Behandlung mit moderatem Energieeintrag von 80 kJ/kg zuerst eine wässrige Extraktion als erste Stufe folgt und der wässrig-extrahierte Trester danach einer SFE- bzw. HPCDE zugeführt werden sollte.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass das Ausbleiben eines Zerkleinerungsschrittes die TAC-Ausbeute und somit auch die Effizienz der SFE deutlich verringert. Dies liegt höchstwahrscheinlich am leicht höheren Feuchtigkeitsgehalt des Tresters und der verringerten Zugänglichkeit des Lösungsmittels an und in die Zellen aufgrund des größeren durchschnittlichen Partikeldurchmessers bzw. verringerten Oberfläche/Volumen-Verhältnisses. Zudem bleibt möglicherweise der PEF-Effekt durch diesen Zustand verborgen. Allerdings ist hierbei auch zu beachten, dass bei den PEF-behandelten Proben bereits vermehrt Anthocyane in den Überstand während der Zentrifugation bzw. wässrigen Extraktion übergangen. PEF erhöht die Extraktionsausbeute bei wässriger Extraktion (mittels Wasser), wenn der Zerkleinerungsgrad der Beeren bzw. des Tresters nicht zu hoch ausfällt. Die besten PEF-Ergebnisse in Bezug auf Ausbeutesteigerung und Membranzerstörung wurden erzielt, wenn die Beeren vor der Pressung nicht zerkleinert wurden. Durch den eingeführten Prozess konnten hier bis zu 68,1% der im Trester enthaltenen Anthocyane extrahiert werden. Mithilfe der PEF-Technologie ist es daher nicht mehr nötig, den Trester bzw. die Beeren vor einer wässrigen Extraktion zu zerkleinern, um eine verbesserte Anthocyan-Ausbeute zu erhalten. Es besteht kein oder nur ein sehr geringer Unterschied zwischen niedrigen und hohen Energieeinträgen in Bezug auf die Gesamt-Anthocyanausbeute (engl. Total Anthocyanin Content, TAC) nach einer HPCDE. Daher ist

bereits bei niedrigem Energieverbrauch eine gleichbleibende TAC-Gewinnung möglich. Es ist kein klarer Effekt einer PEF-Vorbehandlung auf die TAC-Ausbeute durch HPCDE zu beobachten. Da die CDI-Messungen einen klaren PEF-Effekt auf die Membranintegrität zeigen, muss davon ausgegangen werden, dass die SFE-/HPCDE-Technologie in der verwendeten Versuchsanordnung zu effizient und/oder die Analysenauflösung zu grob ist, um diesen PEF-Effekt bei der Extraktion hinreichend genau aufzuzeigen. Alternativ wäre zu diskutieren und zu evaluieren, ob eine weitere Erhöhung der Feldstärke oder des Energieeintrags eine signifikante Ausbeutesteigerung bewirken würde. Der Unterschied bei der Gesamtausbeute des Prozesses ist zwischen den Zerkleinerungsgraden selbst sehr groß. Wie erwartet, ist hier die Ausbeute bei wässriger Extraktion und HPCDE umso höher, je stärker die Beeren bei der Maischeherstellung bzw. vor der Pressung zerkleinert wurden.

C. Einfluss des Ohmschen Erhitzens als PEF-Nebeneffekt auf Membranintegrität und Anthocyanausbeute

Im letzten Teil des Projekts wurden zur Evaluation der Ergebnisse thermische Vergleichsversuche durchgeführt, um den Einfluss von Nebeneffekten während der PEF-Behandlung abzuklären, insbesondere den Einfluss der ohmschen Erhitzung. Hierfür wurde die Temperatur des Tresters vor und nach der PEF-Behandlung bestimmt. Die Temperatur nach der Behandlung wurde als Referenzwert genommen. Für die Vergleichsversuche wurden frisch hergestellte Trester entsprechend der PEF-Prozessierung vorbereitet, allerdings statt der PEF-Behandlung thermisch entsprechend den Temperaturmesswerten von 80 kJ/kg und 160 kJ/kg-Proben behandelt. Hierfür wurde die entsprechende Menge Trester jeweils luftdicht in Kunststoffbeutel eingeschweißt und für die Dauer von 5 Minuten in temperierte Wasserbäder gelegt. Dies war die Zeitspanne, die die PEF-Proben maximal der Ohmschen Erhitzung, inklusive Abkühlungszeit, ausgesetzt waren.

Die Ergebnisse der Temperaturmessungen zeigten, dass es aufgrund der relativ geringen Energieeinträge und trotz hoher Gesamt-Feldstärken von 12 kV zu einer nur geringen Erwärmung der Proben kam. Bei 40 kJ/kg kam es zu einer Erwärmung von durchschnittlich 7,3 K auf maximal 30,8 °C, bei 80 kJ/kg um durchschnittlich 14,2 K auf maximal 37,8 °C und bei 160 kJ/kg zu durchschnittlich 14,6 K Erwärmung auf maximal 36,2 °C. Hierbei hatte der Zerkleinerungsgrad der Blaubeeren keinerlei Einfluss auf das Ausmaß der Temperaturerhöhung durch ohmsches Erhitzen. Die thermischen Behandlungen mit vorgenannten Temperaturen führten zu keinerlei zusätzlichen Membran- oder Zellschädigungen, die durch eine Impedanzmessung erfassbar wären. Auch zeigte sich bei den anschließenden Extraktionen keinerlei signifikanten Einfluss auf die Anthocyanausbeuten im Vergleich zu den Kontrollproben. Daher kann bei den Ergebnissen

der PEF-behandelten Proben davon ausgegangen werden, dass die Ausbeutesteigerungen und zusätzlichen Zellmembranschädigungen die direkten Auswirkungen der Elektropermeabilisation und nicht und auch nicht anteilig der ohmschen Erhitzung sind.

3.2.2 Nebenergebnisse

A. Einfluss der Extraktionszeit und Zusatzlösungsmittel-Konzentration auf die Anthocyanausbeute

In Vorversuchen wurde untersucht, welchen Einfluss zum einen die Extraktionsdauer und zum anderen die Zusatzlösungsmittel- (Co-Solvent) bzw. Ethanol-Konzentration bei der SFE/HPCDE mit CO₂ auf die Extraktion hat bzw. mit welchen Parametern die höchsten Ausbeuten produziert werden konnten/können. Für letzteren Parameter wurden aufgrund von Literaturangaben exemplarisch 30 und 50% Co-Solvent bei der Extraktion ausgewählt, wobei ein Anteil von 50% naturgemäß und prozess-/anlagenbedingt die obere Grenze markiert. Bei der SFE bestand das Zusatz-Lösungsmittel aus einer 80:20-Mischung aus Ethanol und Wasser. Bei der überkritischen CO₂-Extraktion zeigte sich, dass die höchsten Gesamtanthocyan-Extraktionsausbeuten aus Blaubeertrester bei einer Konzentration von 50% erreicht wurden. Die Ausbeute verringerte sich signifikant, wenn der Anteil an Ethanol auf 30% gesenkt wurde. Die Analysen deckten zudem auf, dass die größte Konzentration an Anthocyanen im Extrakt nach 20 min Extraktion nachzuweisen sind. Das bedeutet, dass der ein großer Anteil der Anthocyane gleich am Anfang extrahiert werden können und der Extraktproduktstrom mit fortschreitender Prozesszeit immer weniger Anthocyane pro mL Ethanol enthält. Nach Einberechnung der Trockensubstanz des Tresters sieht man jedoch, dass eine Extraktionsdauer von 40 min in der gewählten Versuchsanordnung nicht unterschritten werden sollte, um einen nachhaltigen und ökonomischen Extraktionsprozess mit hohen Ausbeuten zu gewährleisten. Die höchste Co-Solvent-Konzentration führte in allen Versuchen die höchsten Gesamtanthocyan-Ausbeuten.

Was den Parameter Zeit betrifft, kam es erwartungsgemäß bei längerer Extraktionsdauer zu höheren Ausbeuten. Nach 40 min Extraktionsdauer war der Ausbeutezuwachs allerdings so gering oder nicht mehr vorhanden, so dass von energetischen und ökonomischen Gesichtspunkten aus eine zeitliche Verlängerung keinen zusätzlichen Nutzen bzw. keinen Sinn machte. Im Folgenden wurden daher die Ausbeuten bezogen auf die Trockenmasse des Tresters nach 40 min und der Hälfte dieser Zeit, d. h. 20 min betrachtet. Es zeigte sich, dass die Ausbeuten durch die Verdoppelung der Extraktionszeit bei 50% Co-Solvent mehr als verdoppelt und bei 30% Co-Solvent sogar mehr als vervierfacht werden konnten. Eine Übersicht der Ergebnisse wird in Abbildung 3.3 gezeigt.

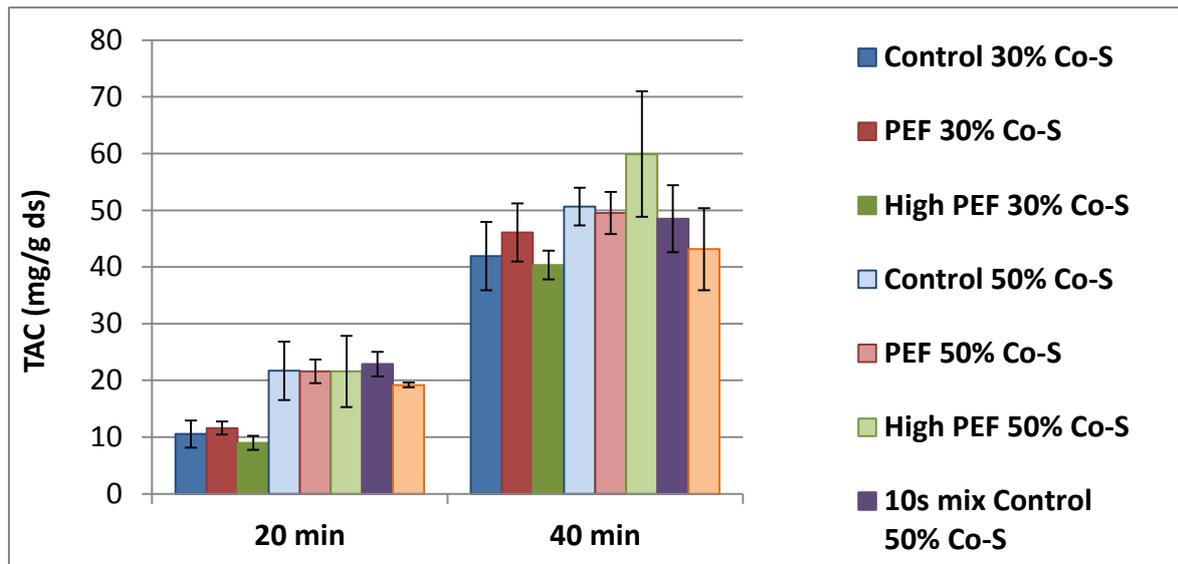


Abb. 3.3: Einfluss der Parameter Zeit und Co-Lösungsmittel-Konzentration auf die Gesamtanthocyanausbeute (TAC; total anthocyanin content) gegeben als Masse (mg) Gesamtanthocyanengehalt pro Gramm Trester trockenmasse. Zeit t: 20 und 40 min; Co-Solvent-Konzentration: 30 und 50%; Zerkleinerungsgrad der Beeren: unzerkleinert oder moderat vermahlen (10s); Mit (PEF: 40 kJ/kg, High PEF: 80 kJ/kg) und ohne (Control) vorheriger PEF-Behandlung.

Für Blaubeertrester können daher im Rahmen einer überkritischen Kohlenstoffdioxidextraktion von Anthocyanen folgende Parameter empfohlen werden, wobei jedoch zu bedenken ist, dass die Versuche unter Laborbedingungen und mit geringen Mengen (12g Blaubeertrester in einem 100 mL Behälter) durchgeführt wurden und nicht zwangsläufig so in einem Scale-Up auf Industriemaßstab unverändert übernommen werden können: Die höchsten Ausbeuten werden, unabhängig von der Vorbehandlung, bei einer Co-Solvent-Konzentration von 50% und einer Extraktionszeit von 40 Minuten erzielt.

B. Einfluss von Gefrieren auf die Membranintegrität von unzerkleinertem Trester

Zum Vergleich des Nutzens bzw. der Auswirkungen von PEF mit konventionellen Verfahren, wurden die durch PEF verursachten Zellaufschlüsse den Zellschädigungen durch Gefrieren gegenübergestellt. Der Gefrierprozess ist ein in der Industrie weit verbreitetes, aber sehr energie-, zeit- und kostenaufwändiges Verfahren. Ein bekannter Nebeneffekt von langsamem bzw. konventionellem Gefrieren ist die Zell- bzw. Membranschädigung von biologischen Zellen durch die entstehenden Eiskristalle. Da Trester in der Industrie aus praktischen Gründen (Konservierung) oft tiefgefroren wird, wurde der Einfluss der PEF-Technologie mit dem Effekt des Gefrierens bezüglich Zellschädigung und Anthocyanausbeute verglichen.

Für diese Versuche, sowie spätere Validierungsversuche wurde nur Trester aus unzerkleinerten Beeren verwendet, um das größtmögliche PEF-Potential für einen Vergleich ausschöpfen zu können und den mechanischen Einfluss soweit wie möglich zu minimieren. Nachdem die Maische bzw. Beeren gepresst wurden, wurde der Trester in einen handelsüblichen Gefrierbeutel überführt, kreisrund zu einer Dicke von ca. 4 bis 7 mm flach gedrückt und der Beutel durch manuelles Auswalken und Glätten des Beutels von überschüssiger Luft befreit, die sonst beim anschließenden Kontakt- oder Luftgefrieren einen negativen Einfluss auf den Gefrierverlauf haben und zu Oxidationen führen könnte. Der Beutel wurde danach luftdicht verschweißt und die Proben in einer handelsüblichen Kühl-Gefrierkombination bei -18 °C eingefroren, für 5 Monate gelagert, aufgetaut und danach die Anthocyane mittels wässriger Extraktion und HPCDE extrahiert. Der Gehalt der Anthocyane im Extrakt wurde photometrisch bestimmt.

Die Ergebnisse der CDI-Messung sind Abbildung 2.2 integriert. Es zeigte sich, dass das Gefrieren erwartungsgemäß ebenfalls zu einer zusätzlichen Zellschädigung führt. Das Ausmaß dieser Schädigung liegt mit 61,2% Gesamtzellschädigung (= +8,9% zusätzliche Zellschädigung gegenüber der Kontrollprobe) knapp oberhalb der Werte, die eine PEF-Behandlung mit einem Energieeintrag von 80 kJ/kg verursacht (+6,2%) und somit nur bei einer Differenz von 2,7% zwischen Gefrieren und PEF mit 80 kJ/kg. Verglichen mit einer PEF-Behandlung mit 160 kJ/kg, erreicht die durch Gefrieren verursachte Membranschädigung bei Weitem nicht deren Level, der im Vergleich zur Kontrollprobe bei +17,7% liegt. Auch hier decken sich die Ergebnisse der CDI-Analyse mit den Extraktionsergebnissen, wobei der Effekt der stärkeren Zellzerstörung nicht linear auf die Ausbeutesteigerung übertragen werden kann.

Es ist somit möglich, mit PEF nicht nur energieschonender und schneller Membranen zu schädigen als durch einen Gefrierprozess, sondern auch zu einem höheren Grad ab Energieeinträgen >80 kJ/kg.

C. Einfluss von Gefrieren auf die Anthocyanausbeute von unzerkleinertem Trester

In Abbildung 3.2 ist zu erkennen, dass es durch das Gefrieren des Tresters aus unzerkleinerten Wildblaubeeren im Vergleich zu frischem Trester (unzerkleinert) zu einer signifikanten Ausbeutesteigerung kommt, die nur 3,6% geringer als die Gesamtausbeute einer PEF-behandelten Probe mit einem Energieeintrag von 80 kJ/kg ist. Die höhere Gesamtausbeute bei der PEF-Behandlung kommt hierbei vor allem durch die höhere Anthocyanausbeute in der wässrigen Extraktion (+24,7% gegenüber den Gefrierproben) zustande, da die HPCDE-Ausbeuten bei gefrorenem Trester 4% höher ausfallen. Bezogen auf den Gesamtgehalt an im Trester enthaltenen Anthocyanen, ist es durch Gefrieren

möglich, bis zu 62,4% der Anthocyane zu extrahieren. Damit liegt die Extraktionseffizienz auch hier knapp unterhalb der Proben, die mit 80 kJ/kg behandelt wurden (64,7%). Bei einem höheren Energieeintrag von 160 kJ/kg fällt der Unterschied in der Extraktionsausbeute und -effizienz noch höher aus. Sie liegt bei 68,1% und somit +8,4% höher als bei den Gefrierproben (+8,5% Ausbeutesteigerung). Auch hier kommt die Differenz zwischen Ausbeute bei PEF und Gefrieren vor allem durch die Ergebnisse der wässrigen Extraktion zustande. Ebenfalls sind die Ausbeuten bei der HPCDE von gefrorenem Trester höher, als bei der PEF-Probe. Allerdings weisen, wie in den Hauptergebnissen bereits beschrieben, die Ergebnisse erhöhte Schwankungsbreiten auf. Die hier generierten Daten bestätigen weitgehend die Ergebnisse der Impedanzmessung, die zeigten, dass das Gefrieren zu einem vorhandenen wenn auch geringeren Zellaufschluss als beim PEF-Einsatz führt und somit das Auswaschen, auch Leeching genannt, bzw. Extraktion der Anthocyane durch Zentrifugation erschwert ist. Der Vorteil der PEF-Behandlung gegenüber dem Gefrieren ganzer Beeren liegt somit im geringeren Zeit- und Energieaufwand bei leicht besserem Extraktionsergebnis d.h. erhöhter Anthocyanausbeute.

3.2.3 Gesammelte Erfahrungen

Es zeigte sich, dass für die Extraktion von Anthocyanen aus Blaubeertrester größere Anteile (50%) eines polaren Zusatzlösungsmittels, genauer Ethanol, nötig sind, um eine effektive Extraktion mit hohen Ausbeuten generieren zu können, weshalb es im Reaktor zu keinem komplett überkritischen Zustand des Kohlenstoffdioxids bzw. des Lösungsmittels kommen kann und man nicht mehr von einer reinen überkritischen Fluidextraktion sprechen kann.

Zudem zeigte sich, dass für die Elektropermeabilisation von stabilen Schalen, wie bei Heidelbeeren erhöhte Feldstärken und Energieeinträge von Nöten sind, als bei anderen Frucht- und Gemüsearten, die weichere Schalen und Membranen haben. Allerdings zeigte sich beim Vergleich der Ergebnisse mit Literaturangaben und Ergebnissen vorangegangener Projekten, dass man keine exakten, allgemeingültigen Werte bzw. PEF-Parameter für Trester außerhalb von Blaubeeren und Blaubeertresters der Industrie oder Wissenschaft an die Hand geben kann, um bestimmte Ausbeutesteigerungen oder Zellpermeabilisierungsgrade zu erhalten, da es offensichtlich zu viele produkt- und prozessspezifische Einflussfaktoren gibt, die die Ergebnisse einer PEF-Behandlung beeinflussen. Allerdings lassen sich Empfehlungen aussprechen, die bei anderen Matrices jedes Mal neu validiert werden müssen.

3.3 Fortschritt des Verwertungsplans

3.3.1 Erfindungen & Schutzrechte

Es wurden keine (patentfähigen) Erfindungen während des Projekts oder danach gemacht und keinerlei Schutzrechte für Ergebnisse oder Technologien beantragt. Ebenso wurden keinerlei Schutzrechte verletzt.

3.3.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die industriellen Hauptnutznießer dieses Projekts sind (i) Lebensmittelproduzenten, die Beeren als Rohmaterial nutzen, z.B. Saftersteller, (ii) Hersteller von emulsionsbasierten Produkten (u. a. fettreduzierte Brotaufstriche, Suppen, Smoothies) und (iii) Lebensmittelproduzenten, die getrocknete Früchte in ihren Produkten verwenden (Frühstückscerealien, Joghurt, Eiscreme etc.). Die in diesem Teil des Projekts erfolgreiche Entwicklung eines Extraktionsprozesses für Neben- und Abfallprodukte der Frucht- und Gemüseindustrie erscheint zudem sehr gut interpolier- und übertragbar auf andere Industriezweige in der Lebensmittelindustrie sowie der Nahrungsergänzungsmittel- und Pharmaindustrie.

Die PEF- sowie die SFE-Technologie findet in der Industrie bereits Anwendung, wenn auch bis jetzt nur in sehr geringem Maße und meist in anderen Lebensmittelindustriezweigen, und sind als schonende, nicht-thermische (Extraktions-) Technologien bekannt. Dies erscheint ideal für die hitzeempfindlichen Polyphenole, die aufgrund ihrer als positiv erachteten Eigenschaften und Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit für den Lebensmittel-, bzw. Nahrungsergänzungsmittelmarkt von Interesse sind. Da eine konventionelle Gewinnung dieser Stoffe aus Trestern in der Industrie bisher als zu kosten- und zeitintensiv angesehen wurde und zudem aggressive Lösungsmittel in diesen Prozessen verwendet wurde, war eine nachhaltige Verwertung dieser Rohstoffe bisher im großen Maßstab in der Lebensmittelindustrie nicht vorgesehen. Die Ergebnisse dieses Projekts und der hier entworfene Prozess können somit wirtschaftlich erfolgreich verwertet werden, da ein berechtigtes Interesse der Lebensmittel-, Nahrungsergänzungsmittel- und Pharmaindustrie sowie der PEF- und SFE-Anlagenhersteller an der schonenden und energieeffizienten Gewinnung dieser Inhaltsstoffe besteht. Hierbei muss jedoch zusätzlich genau der jeweilige Verarbeitungsgrad der Rohstoffe in Betracht gezogen werden, um eine verlässliche Kosten-Nutzen-Rechnung im Vorhinein erstellen zu können, so dass die Wirtschaftlichkeit des Prozesses der jeweiligen Industriebranche aufgezeigt werden kann.

3.3.3 *Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten*

Die im Rahmen des Projekts von der TUB-LBPT generierten Ergebnisse und Daten werden wie folgt wissenschaftlich verwertet:

- Wissenschaftliche Arbeit / Dissertation: Erik Voigt. „Pulsed Electric Fields for the enhancement of mass transport and extraction yield of water and secondary metabolites in plant tissue“ (in Bearbeitung).
- Veröffentlichung: Voigt E, Eliasson L, Ahrné L, Rauh C, Knorr D: Pulsed electric fields and high-pressure CO₂ extraction for enhanced extraction of anthocyanins from bilberry pomace in a two-stage process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (in Bearbeitung).
- Posterpräsentation: „Extraktion wertgebender Inhaltsstoffe aus Blaubeertrester mittels Kombination von gepulsten elektrischen Feldern (PEF) und überkritischer Fluidextraktion (SFE)“. ProcessNet Fachtagung Lebensmittelverfahrenstechnik, März 2016 in Erlangen, Deutschland.
- Präsentation: Verwendung in Lehrveranstaltungen der TU Berlin, u.a. „Innovative Technologien der Lebensmittelprozessierung“.

3.3.4 *Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit*

Die im Verbundprojekt gewonnenen Erkenntnisse sind unter anderem in weitere beantragte und geförderte Forschungsprojekte im Bereich Lebensmitteltechnologie, im Speziellen die nachhaltige Produktion von Lebensmitteln (z.B. SUSFOOD 2) eingeflossen bzw. eingebracht worden. Des Weiteren werden die Daten und Ergebnisse, sowie der etablierte Prozess selbst in Lehrveranstaltungen der Technischen Universität Berlin genutzt und in Form von Vorstellungs- und Demonstrationsangeboten für mögliche Forschungs- und Industriepartner aufbereitet und verwendet. Die Präsentation der Ergebnisse in wissenschaftlichen Veröffentlichungen ist innerhalb des nächsten Jahres, das heißt im Jahr 2018 geplant. Die Daten und Ergebnisse selbst ermöglichen ein besseres Verständnis der beiden eingesetzten Technologien beim Einsatz bei anthocyanhaltigen Lebensmitteln und Trestern sowie bei Extraktionsprozessen. Dieses Wissen kann in späteren Forschungsprojekten in diesen oben genannten Themenbereichen erfolgversprechend eingesetzt werden bzw. auf diesem aufgebaut werden. Gleiches gilt im wirtschaftlichen Bereich für die bereits in (b.) genannten interpolierbaren Erkenntnisse im Bereich der Extraktionsprozesse für Neben- und Abfallprodukte. Diese lassen sich höchstwahrscheinlich entweder in bereits bestehende Prozesse und Prozesslinien zumindest teilweise integrieren oder als separate Prozesslinie in der Wirtschaft etablieren, da bereit Anlagen auf dem Markt existieren.

3.4 Ergebnislose Arbeiten

Die Anwendung von Hochleistungsschall in den gewählten bzw. für die Extraktionsverbesserung nötigen Intensitätsstufen führte während der Vorversuche zu einer nachteiligen starken Erwärmung des Extraktionsgutes, wodurch es zur Zerstörung der thermolabilen Anthocyane und Polyphenole kam. Aufgrund dieser Beobachtung und daraus resultierenden finanziellen Überlegungen zu kosteneffektivem Arbeiten, wurden keine weiteren Versuche mit dieser Technologie durchgeführt.

3.5 Präsentationsmöglichkeiten der Ergebnisse

Die erzielten Ergebnisse können möglichen Nutzern im Rahmen von Konferenzen, Messen, Workshops und Seminaren präsentiert werden. Dies geschah unter anderem bereits während des SUSFOOD-Workshops im Rahmen der EFFoST-Konferenz im November 2017 in Sitges (Spanien) und der ProcessNet Fachtagung Lebensmittelverfahrenstechnik 2016 in Erlangen. In den durchgeführten und zukünftigen Präsentationen konnten bzw. können deutlich die vielfältigen Anwendungsbereiche des hier geschaffenen 2-stufigen, innovativen Extraktionsverfahrens von wertgebenden Inhaltsstoffen aus pflanzenbasierten Neben- und Abfallprodukten verständlich und nachvollziehbar dargestellt werden. Ebenso wird das Potential der Technologien PEF und SFE/HPCDE als technische Einzelprozesse zur Zellöffnung, Modifizierung von Lebensmittelmatrices, sowie zur Massentransportverbesserung in pflanzlichen Strukturen und Ausbeutesteigerung bei Extraktionen offen gelegt, wodurch sich für den Zuhörer eine Vielzahl von möglichen Einsatzgebieten auf dem Lebensmittel- und Pharmasektor für eine nachhaltige Produktion und neuartige Produkte ergibt.

3.6 Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Das Teilprojekt der TUB-LBPT konnte ohne Überschreitung der geplanten Gesamtkosten durchgeführt werden. Dies wurde unter anderen durch das Weglassen der Ultraschallversuche aufgrund der Ergebnisse der Vorversuche erreicht. Die Reisekosten wurden innerhalb des Projekts überschritten und durch eine Mittelverschiebung von Personal- zu Reisekosten ausgeglichen. Die Überschreitung des ursprünglich geplanten Reisemittelbudgets ergab sich durch die Unvermeidbarkeit der örtlichen Zusammenlegung der verwendeten Technologien aufgrund der chemischen Fragilität der extrahierten Inhaltsstoffe und der eingeschränkten Haltbarkeit der verwendeten Frisch- und Zwischenprodukte. Im Gegensatz zur SFE-Anlage handelte es sich bei der verwendeten PEF-Anlage der TUB-LBPT um ein mobiles Gerät. Die leicht überhöhten Projektmittelkosten

in Position 0843 (Verwaltungsausgaben und Verbrauchsmittel) von [REDACTED] erklären sich durch stark angestiegene Preise bei den Wildheidelbeeren, die aufgrund schlechter Ernten 2015 und 2017 höher als vermutet bzw. veranschlagt waren. Zudem wurde für zusätzliche Validierungsversuche aufgrund der ernteabhängigen Schwankungsbreiten beim Rohmaterial zusätzliches Verbrauchsmaterial benötigt. Ein Antrag auf nachträgliche Anrechnung von Restemitteln auf die Überhangkosten wurde bereits beim BLE gestellt.

Die Zeitplanung wurde, mit Ausnahme der Veröffentlichung der Ergebnisse in Fachmagazinen, welche zurzeit noch in Bearbeitung ist, eingehalten.

4 Kurzbericht

Berichtsblatt des wesentlichen fachlichen Inhalts des Schlussberichts

Die TUB-LBPT hat im Rahmen des Verbundprojekts „SUSFOOD – Sustainable & Healthy“ die Potentiale verschiedener innovativer Vorbehandlungstechnologien für die Extraktion wertgebender Inhaltsstoffe, genauer Anthocyane, aus Blaubeertrester evaluiert. Während sich der Einsatz von Hochleistungultraschall bereits in Vorversuchen als nicht opportun erwies, da es während der Vorbehandlung zu einer starken Erhitzung der Probe und somit zur Zersetzung der thermolabilen Anthocyane bzw. Polyphenole kam und niedrigere Intensitäten zu keiner Ausbeutesteigerung oder nennenswerten Zellschädigung führte, zeigte eine Behandlung mit gepulsten elektrischen Feldern (PEF) die Möglichkeiten einer Ausbeutesteigerung in einem zweistufigen Extraktionsprozess, bestehend aus wässriger und überkritischer Fluidextraktion mit CO₂ (SFE) / Hochdruck-CO₂-Extraktion (HPCDE) auf.

Es zeigte sich, dass Zerkleinerungsgrad der Beeren vor der Tresterherstellung oder des Tresters sowie die Höhe des Energieeintrags einen entscheidenden Einfluss auf die Anthocyanausbeute und –steigerung und den PEF-induzierten Zellaufschluss bzw. Membran(elektro)permeabilisation haben. Auf die Extraktionsausbeute der SFE bzw. HPCDE hatte PEF keinen oder einen nur sehr geringen Einfluss. Bei der wässrigen Extraktion vor der HPCDE kam es jedoch zu signifikanten Ausbeutesteigerungen, vor allem bei gering zerkleinertem und unzerkleinertem Beerentrester. Dies ging konform mit der Analyse der Membranintegrität der Kontroll- und PEF-Proben. Es wurde somit ein Prozess entwickelt, bei dem der Großteil der noch im Trester enthaltenen Anthocyane extrahieren kann, der jedoch im Vergleich zu konventionellen Extraktionsprozessen mit einem minimalen Energieeinsatz und ohne Einsatz von gesundheitsgefährdenden Lösungsmitteln auskommt.

Teile der gewonnenen Daten werden und wurden im Rahmen einer Dissertation, einer Publikation in wissenschaftlichen Fachmagazinen, in Posterpräsentationen, Vorträgen auf Fachtagungen sowie in Lehrveranstaltungen und praktischen Demonstrationen an der TU Berlin verwertet.