

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht zum Thema

“ Erbsenfaser 2.0 – Neue Konzepte zur Erhöhung der Wertschöpfung und zur Optimierung der technofunktionellen sowie nutritiven Eigenschaften der bei der Erbsenverarbeitung anfallenden faserreichen Nebenprodukte “

FKZ: 2815EPS010 und 2815EPS062

Projektnehmer: Technische Universität Berlin, Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, Fachgebiet Lebensmitteltechnologie und -materialwissenschaften, Prof. Dr. Stephan Drusch

Projektpartner: Universität Hamburg, Hamburg School of Science, Institut für Lebensmittelchemie, Prof. Dr. Sascha Rohn

Laufzeit des Vorhabens: 3 Jahre (01.09.2017 – 31.12.2020)

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen der BMEL Eiweißpflanzenstrategie.

Kurzfassung

Erbsenfaser 2.0 – Neue Konzepte zur Erhöhung der Wertschöpfung und zur Optimierung der technofunktionellen sowie nutritiven Eigenschaften der bei der Erbsenverarbeitung anfallenden faserreichen Nebenprodukte

R. Morales-Medina, S. Schalow, S. Schefer, S. Rohn*, S. Drusch**

**jetzt: Technische Universität Berlin, Lebensmittelchemie und Analytik, Gustav-Meyer-Allee 25, 13355 Berlin, Email: rohn@tu-berlin.de*

***Technische Universität Berlin, Lebensmitteltechnologie und -materialwissenschaften, Königin-Luise-Straße 22, 14195 Berlin, E-mail: stephan.drusch@tu-berlin.de*

In Deutschland werden jährlich mehr als 150.000 t Erbsen verarbeitet. Hierbei fällt mit den Erbsenschalen ein Nebenprodukt mit einem hohen Ballaststoffgehalt (> 80 Gew.-%) an, das aufgrund der kompakten Struktur der Zellwandpolysaccharide geringe technofunktionelle Eigenschaften aufweist und hauptsächlich für die Tierfütterung verwendet wird.

Ziel des Projekts war es daher, Strategien zur Steigerung des Mehrwerts dieser Erbsenschalen durch Verbesserung ihrer technofunktionellen Eigenschaften und ihres Nährwerts zu entwickeln. Hierfür wurden sowohl enzymatische als auch mechanische Verfahren einzeln und in Kombination eingesetzt sowie verschiedene Trocknungsverfahren hinsichtlich ihrer stabilisierenden Wirkung beurteilt.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch eine nassmechanische Behandlung mittels Hochdruckhomogenisierung oder Mikrofluidisierung eine Zunahme der Wasserbindungseigenschaften und eine Freisetzung von Sekundärmetaboliten erreicht werden konnte. Dieser Effekt war umso ausgeprägter, je geringer die erzielte Partikelgröße war. Zudem führten Partikel mit einem $D_{90} \leq 80 \mu\text{m}$ zu stabilen viskoelastischen Suspensionen. Durch eine zusätzliche enzymatische Vorbehandlung mit verschiedenen einzeln oder in Mischung eingesetzten Enzymen konnten die technofunktionellen Eigenschaften der Erbsenfasern zusätzlich gezielt beeinflusst werden, während der Gehalt an Saponinen sank.

Ein Vergleich der Auswirkungen verschiedener Trocknungsverfahren auf die technofunktionellen Eigenschaften der behandelten Erbsenfasern zeigte, dass mit einer Vakuumtrocknung Faserprodukte erzielt werden konnten, deren Wasserbindekapazität mit einigen kommerziellen Ballaststoff-Rohstoffen vergleichbar ist.

Darüber hinaus zeigte diese Studie, dass eine kommerzielle Nutzung der Fasern zur Gewinnung von Saponinen und Flavonoiden prinzipiell möglich ist. Dies ist jedoch nur bei einzelnen Sorten mit außergewöhnlich hohem Gehalten dieser Sekundärmetaboliten sinnvoll.

Abstract

New concepts to increase the techno-functional and nutritive properties of the fibre-rich by-products obtained during pea processing.

R. Morales-Medina, S. Schalow, S. Schefer, S. Rohn*, S. Drusch**

**current adress: Technische Universität Berlin, Food Chemistry and Analytics,, Gustav-Meyer-Allee 25, 13355 Berlin, Email: rohn@tu-berlin.de*

***Technische Universität Berlin, Food Technology and Food Material Science, Königin-Luise-Straße 22, 14195 Berlin, E-mail: stephan.drusch@tu-berlin.de*

In Germany, more than 150,000 tonnes of peas are processed per year. From this, pea hulls are a by-product of low commercial value, but of high nutritional interest due to their content of dietary fibre. However, owing to the compact structure of the cell wall polysaccharides their techno-functional properties are poor, and they are mainly utilised as animal feed so far.

Hence, the project aimed to develop strategies to increase the economic value of the pea hulls. A combination of enzymatic and mechanical treatments followed by stabilisation via drying was conducted to improve nutritional and techno-functional properties.

The results show that an increase in water binding properties and a release of secondary metabolites could be achieved by wet mechanical treatment using high-pressure homogenisation. This effect was more pronounced if a smaller particle size was achieved. Moreover, particles with a $D_{90} \leq 80 \mu\text{m}$ resulted in stable viscoelastic suspensions. By applying an additional enzymatic pre-treatment with various enzymes used individually or in combination, the techno-functional properties of the pea fibres could be specifically influenced, while the content of saponins decreased. A combination of enzymatic and mechanical treatments can therefore be employed to customise the techno-functional properties with regard to applications of pea hulls as dietary fibres.

A comparison of the effects of different drying methods on the techno-functional properties of the treated pea fibres showed that vacuum drying led to fibre products with a water binding capacity comparable to some commercial dietary fibre raw materials.

Furthermore, the study showed that commercial use of the fibres for the extraction of saponins and flavonoids is possible in principle. However, this is only feasible for fibres from pea varieties with exceptionally high contents of these secondary metabolites.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	2
Abstract.....	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis.....	5
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	9
I. Schlussbericht.....	11
1. Einführung	11
1.1. Gegenstand des Vorhabens.....	11
1.2. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen der Eiweisspflanzenstrategie	11
1.3 Planung und Ablauf des Projektes	12
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand vor Projektstart	155
3. Materialien und Methoden	166
3.1 Materialien	166
3.2 Methoden.....	177
4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	29
4.1 Erbsenaußenfaser und Erbseninnerfaser: Basischarakterisierung.....	29
4.2 Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern	43
4.3. Erbseninnerfaser: Pektinextraktion aus Kotyledonen.....	70
5. Diskussion der Ergebnisse	72
5.1. Basischarakterisierung der Erbsenaußenfaser und Erbseninnerfaser.....	72
5.2. Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern	72
6. Verwertungsplan.....	77
7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen	77
8. Zusammenfassung	79
9. Literaturverzeichnis.....	80

10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.)	82
II. Anhang zum Schlussbericht: kurz gefasster Erfolgskontrollbericht	85
1. der Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen, z.B. des Förderprogramms	85
2. Wissenschaftliche und technische Ergebnisse des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen	85
3. Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte	86
4. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)	86
5. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende	86
6. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit	87
7. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer	87
8. Die Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung.....	878
III. Merkblatt mit den Projektergebnissen.....	89

Abkürzungsverzeichnis

AIR	alkoholunlöslicher Rückstand
AIS	alkoholunlösliche Substanz
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AP	Arbeitspaket
C	Cellulose
D	Partikelgröße
E'	Speichermodul
E''	Verlustmodul
DM	Trockenmasse
HPLC	High-performance liquid chromatography
G'	Speichermodul
G''	Verlustmodul
H	Hemicellulose
K	Kontrolle
k	Konsistenz-Index
n	Fließindex
P	Pectinase
REM	Rasterelektronenmikroskop

T	Temperatur
t	Zeit
WRK	Wasserretentionskapazität
T_0	Fließgrenze
η	Viskosität

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Fließschema zur Gewinnung von Pektin, Fasern und Sekundärmetaboliten (Saponine/Flavonoide) aus den Nebenprodukten der Erbsenverarbeitung (in Rot und Blau: Vorläuferprojekte, Grün: dieses Projekt). 13
- Abbildung 2: Schematische Darstellung des Schälprozesses im Technikumsmaßstab (durchgeführt an der TU Berlin) zur fraktionierten Gewinnung von Schalen und Kotyledonen aus sortenreinen Trockenerbsen. 20
- Abbildung 3: Fließschema zur Trockenvermahlung und Siebfraktionierung für die Bereitstellung einer geeigneten Größenfraktion (50 – 140 μm) von Erbsenaußenfasern für die mechanische Prozessierung. 21
- Abbildung 4: Partikelgröße (D90) von Erbsenaußenfasern in Abhängigkeit von der Anzahl an Durchläufen (N) im Mikrofluidizer bei der mechanischen Prozessierung (Kammerkombination 200/100 μm). 23
- Abbildung 5: Schematische Darstellung der Pektinextraktion aus der Erbseninnenfaser. 28
- Abbildung 6: Chemische Zusammensetzung (Feuchte, Asche-, Stärke und Proteingehalt) von jeweils fünf Chargen industriell gewonnener Erbseninnenfaser (a) und Erbsenaußenfaser (b). (E) und (G) kennzeichnen die unterschiedlichen Produktionsstandorte (Emlichheim, Golßen) der jeweiligen Chargen. 29
- Abbildung 7: Chemische Zusammensetzung (Feuchte, Protein- und Gesamtballaststoffgehalt sowie Gehalt an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen) von vier sortenreinen Erbseninnenfasern (a) und Erbsenaußenfasern (b). 31
- Abbildung 8: Ermittelte Parameter D10, D50 und D90 der Partikelgrößenverteilung von industriell hergestellten Erbseninnenfasern (a), Erbsenaußenfasern (b) (beide jeweils unbehandelt) sowie Erbsenaußenfasern nach Trockenvermahlung (< 500 μm) (b). 33
- Abbildung 9: Ermittelte Parameter D10, D50 und D90 der Partikelgrößenverteilung von (a) Erbseninnenfasern, (b) Erbsenaußenfasern der sortenreinen Proben; (c), exemplarische Volumenverteilung der Erbseninnen und -außenfasern der Sorte Dolores. 34
- Abbildung 10: Lichtmikroskopische Aufnahme von industriell hergestellter Erbseninnenfaser (L-303199, links) und Erbsenaußenfaser (L-310907, rechts) nach Trockenvermahlung (< 500 μm). 36

Abbildung 11: Wasserretentionskapazität (a) und Quellvermögen (b) von Innen- und Außenfasern industrieller und sortenreiner Proben.	37
Abbildung 12: Kinetik der Wasseraufnahme von Erbseninnenfaser (L-303199) und Erbsenaußenfaser (L-310907) bestimmt mittels Kapillarsaugmethode.	37
Abbildung 13: Umwandlung von DDMP-Saponin zu Saponin B und Maltol.	38
Abbildung 14: Dünnschichtchromatographische Trennung der Saponine in einer ausgewählten Erbsenfasercharge.	39
Abbildung 15: Verteilung des Saponingehaltes einer ausgewählten Erbsenstichprobe ($n \geq 10$) des Projektes DemoNetErBo. Häufigkeiten der Erbsensorten: Alvesta ($n = 45$), Astronaute ($n = 43$), Salamanca ($n = 13$), Respect ($n = 10$) und Rocket ($n = 10$).	39
Abbildung 16: Korrelation des Tausendkorngewichtes (g) und dem Saponingehalt (mg/g) in Erbsen des Projektes DEmoNetErbo in den drei Anbaujahren 2016, 2017, 2018 insgesamt.	40
Abbildung 17: Oligosaccharidprofile der Erbsenfasersuspension (hier: 1- Außenfaser 316089, 2- Außenfaser 314939, 3- Außenfaser 274156, 4- Außenfaser 313169, 5- Außenfaser 310907)	42
Abbildung 18: Oligosaccharidprofile der Reinsorten. 1- Pea Hull Astronaute, 2- Cotyledone Astronaute, 3- Pea Hull Salamanca, 4- Cotyledone Salamanca, 5- Pea Hull Ostinato, 6- Cotyledone Ostinato, 7- Pea Hull Dolores, 8- Cotyledone Dolores.	42
Abbildung 19: Lichtmikroskopische Aufnahme von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 μm).	44
Abbildung 20: Kinetik der Wasseraufnahme von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 μm) bestimmt mittels Kapillarsaugmethode.	44
Abbildung 21: Berechnete Kurvenverläufe für den D90 in mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen für eine verschiedene Anzahl an Durchläufen N in Abhängigkeit vom Homogenisierdruck P.	46
Abbildung 22: Prozentuale Anteile wasserunlöslicher, ethanolunlöslicher sowie ethanollöslicher Ballaststoff-Fractionen nach mechanischer Prozessierung in Erbsenaußenfasersuspensionen mit unterschiedlichem D90.	48
Abbildung 23: Lichtmikroskopie-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern; (a) Nativ (unbehandelt) (b) – (e) mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D90 (120–60 μm). Pfeile kennzeichnen Makrofibrillen während der Defibrillierung. Die Skalierung repräsentiert eine Länge von 500 μm für die unbehandelte Probe und 100 μm für alle anderen Proben.	48
Abbildung 24: REM-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern; (a) Nativ (unbehandelt) (b) – (e) mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D90 (120–60 μm).	49
Abbildung 25: Wasserretentionskapazität (WRK) von Erbsenaußenfasern; links: nativ (unbehandelt), daneben: mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D90 (120-60 μm).	50
Abbildung 26: Viskositätskurven mechanisch-prozessierter Erbsenaußenfaser-Suspensionen mit einem D90 von 80 μm (A, B: hergestellt durch Mikrofluidisierung bei unterschiedlichen	

Bedingungen, siehe Abbildung 21) und 60 µm.	51
Abbildung 27: Amplituden-Sweep mit mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.	52
Abbildung 28: Temperatur-Sweep für mechanisch prozessierte Erbsenaußenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') und Temperaturrampe beim Erhitzen und Abkühlen der Suspensionen.	52
Abbildung 29: Ermittelte Parameter D10, D50 und D90 der Partikelgrößenverteilung von 1 %igen Erbsenfaser basierten Suspensionen nach Behandlung im Mikrofluidizer.	53
Abbildung 30: Fließkurve ausgewählter mechanisch prozessierter Erbsenfasersuspensionen.	53
Abbildung 31: Amplituden-Sweep ausgewählter mechanisch prozessierter Erbsenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.	54
Abbildung 32: Wasserretentionskapazität (g Wasser / g unlösliches Material) 1 %iger Fasersuspensionen in Abhängigkeit von der verwendeten Sorte.	55
Abbildung 33: Abnahme des Anteils der wasserunlöslichen Fraktion (WU) bei der enzymatischen Hydrolyse von Erbsenaußenfasern unter Anwendung zellwandabbauender Enzyme allein (C, H, P) und in Kombination miteinander (C+H, C+P, P+H, C+P+H).	55
Abbildung 34: Prozentuale Anteile wasserunlöslicher, ethanolunlöslicher sowie ethanollöslicher Ballaststoff-Fractionen in Erbsenaußenfasersuspensionen nach kombinierter enzymatisch-mechanischer Prozessierung (sechs Durchläufe, 2000 bar; K = Kontrolle).	56
Abbildung 35: Partikelgröße von Erbsenaußenfasern (D90) nach kombinierter enzymatisch-mechanischer Prozessierung (sechs Durchläufe, 2000 bar, K = Kontrolle).	57
Abbildung 36: REM-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern nach enzymatischer Vorbehandlung mit (a) Zellulase bzw. (b) Zellulase + Hemizellulase und nachfolgender mechanischer Prozessierung im Mikrofluidizer (sechs Durchläufe bei 2000 bar).	58
Abbildung 37: Viskositätskurven für die Kontrollvariante (K = ohne Enzymbehandlung) und ausgewählte mit Enzym (C, C+H) vorbehandelte und nachfolgend mechanisch prozessierte Erbsenaußenfasersuspensionen.	59
Abbildung 38: Amplituden-Sweep mit mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen nach enzymatischer Vorbehandlung mit Zellulase (C) bzw. Zellulase und Hemizellulase (C+H); und Kontrollvariante (K = ohne Enzymbehandlung Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.	60
Abbildung 39: Wasserretentionskapazität (WRK) von Erbsenaußenfasersuspensionen nach enzymatischer Vorbehandlung und nachfolgender mechanischer Prozessierung mittels Mikrofluidizer im Vergleich zur Kontrolle (K = ohne Enzymbehandlung) bzw. zur Ausgangsfaser (N = Nativ).	60
Abbildung 40: Konturdiagramme des Trockensubstanzgehalts in Abhängigkeit von der Temperatur und den Trocknungsbedingungen: Hochtemperatur (links) und recht Tieftemperatur (rechts).	61

Abbildung 41: Konturdiagramme der Wasserretentionskapazität von rehydrierten Proben in Abhängigkeit von der Temperatur und den Trocknungsbedingungen.	61
Abbildung 42: Maximal und minimal erreichbare Werte des Wasserretentionskapazität die in Abhängigkeit vom Trockenmassegehalt erreicht werden können. Die obere Linie stellt den Verlauf für eine längere Prozesszeit bei niedrigerer Temperatur dar, während die untere Linie den Verlauf für eine kürzere Prozesszeit bei höheren Temperaturen darstellt.	62
Abbildung 43: Ermittelte Saponingehalte der Erbsenfaser-Suspensionen (hier: 1 wt% dest. H ₂ O= ohne enzymatische Behandlung, in dest. Wasser gelöst; C=Zellulase; P=Pektinase, H=Hemizellulase; control=ohne enzymatische Behandlung, in Natriumcitratpuffer) mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.	66
Abbildung 44: Ermittelte Trypsininhibitoraktivität der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.	68
Abbildung 45: Oligosaccharidprofile der Erbsenfasersuspension mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.	69
Abbildung 46: Speichermodul (Storagemodulus) E' und Verlustmodul (loss modulus) E'' in Abhängigkeit der Deformation (deformation) für Sojasaponin I (Sigma Saponin) und Saponin-Extrakt (liquid Saponin).	70
Abbildung 47: Schematische Darstellung der Zellwandzerstörung mit abnehmender Partikelgröße und deren Einfluss auf das viskoelastische Verhalten und die Wasserretentionskapazität .	72
Abbildung 48: Schematische Darstellung zur Wirkungsweise von Zellulasen und Enzymkombinationen mit Zellulase bei der enzymatischen Vorbehandlung von Erbsenaußenfasern (zum Vergleich: Kontrolle ohne Enzymbehandlung).	74
Abbildung 49: Schematische Darstellung zum Effekt der mechanischen Prozessierung mittels Mikrofluidizer auf enzymatisch vorbehandelte Erbsenaußenfasersuspensionen (zum Vergleich: Kontrolle ohne Enzymbehandlung).	75

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Rohstoffe für die weitere Aufarbeitung im Projektverlauf (Pektin- bzw. Fasergewinnung).	16
Tabelle 2: Charakteristika von sortenreinen Trockenerbsen (Werte zu Keimfähigkeit und Tausendkorngewicht zur Verfügung gestellt von Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG) und Ausbeute von Erbsenfraktionen nach Trockenschälung im Technikumsmaßstab	17
Tabelle 3: Ballaststoffgehalte (gesamt, unlöslich und löslich) ausgewählter Innen- und Außenfaser-Chargen.	30
Tabelle 4: Gehalt an Galakturonsäure und Veresterungsgrad der Innen- und Außenfasern ausgewählter industriell hergestellter und sortenreiner Fasern.	32

Tabelle 5: Farbwerte von Erbseninnen- und -außenfasern.	35
Tabelle 6: Gesamtsaponingehalt in [mg/g Probe] und Trypsininhibitoraktivität [TIU/mg].	41
Tabelle 7: Zusammensetzung sowie physikalische Parameter und Wasserbindungseigenschaften von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 μm).	43
Tabelle 8: Versuchsdesign für die mechanische Prozessierung von Erbsenaußenfasern mit den Faktoren Druck (P) und Anzahl an Durchläufen (N) sowie den experimentell ermittelten Daten für das 90. Perzentil der Partikelgrößenverteilung (D90) als Antwortvariable.	45
Tabelle 9: Berechnete und gemessene (experimentell ermittelte) D90-Werte von Erbsenaußenfasern und prozentuale Abweichung voneinander nach mechanischer Prozessierung bei unterschiedlichen Homogenisierbedingungen.	46
Tabelle 10: Werte der Herschel-Bulkley Parameter Fließgrenze (τ_0), Konsistenzindex (k), und Fließindex (n) der Proben mit hohem Anteil unlöslicher (HIDF) und löslicher Ballaststoffe (HSDF). Die Proben wurden entweder bisher nicht getrocknet (FRESH) oder nach dem Trocknen rehydratisiert (REHYD).	63
Tabelle 11: Übersicht der Probenbeschriftung der Erbsenfasersuspensionen (hier: C=Zellulase; P=Pektinase, H=Hemizellulase).	64
Tabelle 12: Gesamtsaponingehalt der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.	65
Tabelle 13: Messung der Trypsin-Inhibitor-Aktivität der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.	67
Tabelle 14: Arbeits- und Zeitplan	88

I. Schlussbericht

1. Einführung

1.1. Gegenstand des Vorhabens

In Deutschland werden mittlerweile jährlich weit über 150.000 t Körnererbsen verarbeitet, einzelne Großunternehmen der Stärkeindustrie verarbeiten allein bereits mehr als 30.000 t Erbsen/Jahr. Die wirtschaftliche Bedeutung von Erbsen liegt derzeit hauptsächlich in der Verwendung als Futtermittel und in der Gewinnung von Stärke. Um eine höhere Wertschöpfung zu erzielen, ist ein stärkerer Einsatz in Lebensmitteln unverzichtbar („Veredelung“). Während der Wertschöpfung von Erbsen verbleiben Nebenprodukte, die bisher nur unzureichend genutzt werden. Dazu gehören unter anderem die bei der Stärke- und Proteingewinnung anfallenden Erbsenschalen sowie die Kotyledonen-Rückstände, wobei die derzeitigen Verarbeitungsmengen schon jetzt ausreichen, um alternative Nutzungswege sowohl für Pektinproduzenten (notwendiges Rohstoffaufkommen ca. 2.000 t/a) als auch für Faserproduzenten (notwendiges Rohstoffaufkommen ca. 200 t/a) ökonomisch interessant zu machen.

Die Zielstellung des aktuellen Vorhabens bestand in der Erhöhung der Wertschöpfung dieser bei der Erbsenverarbeitung entstehenden ballaststoffreichen Nebenprodukte, die darüber hinaus auch reich an bioaktiven sekundären Pflanzenstoffen sind. Dabei sollten zum einen die technofunktionellen Eigenschaften der aus der Erbsenschale gewonnenen Erbsenaußenfasern und die aus den Kotyledonen-Rückständen gewonnenen Erbseninnenfasern durch neue technologische Verfahren verbessert und zusätzlich deren ernährungsphysiologisches Potential anhand der Gehalte an assoziierten bioaktiven Substanzen wie Saponine und Flavonoiden, aber auch von Trypsininhibitoren charakterisiert werden. Im Ergebnis der Forschungsarbeiten wurden neue Wege zur nachhaltigen Nutzung heimischer Körnerleguminosen für die Herstellung hochfunktioneller, sicherer und gesundheitsfördernder Lebensmittelzutaten aufgezeigt und somit ein wichtiger Beitrag für eine gesunde und nachhaltige Humanernährung geleistet.

1.2. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen der Eiweisspflanzenstrategie

Das Vorhaben wurde im Rahmen der Bekanntmachung Nr. 09/14/31 vom 27.03.2015 über die Durchführung von modellhaften Demonstrationsnetzwerken sowie von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben zur „Ausweitung und Verbesserung des Anbaus und der Verwertung von Leguminosen mit Schwerpunkt Bohnen und Erbsen in Deutschland“ beantragt und war Bestandteil der Eiweißpflanzenstrategie des BMEL. Die Eiweißpflanzenstrategie wurde auch in der Charta für Landwirtschaft und Verbraucher im Handlungsfeld 2 als wichtiges Element zur Lösung von Zielkonflikten in der Landnutzung und Ressourcenschonung/-ausnutzung erwähnt.

Dabei wird der Begriff Nachhaltigkeit meist im Zusammenhang mit ökologischen Vorteilen im Sinne

einer besseren Verwaltung von Ressourcen und damit einer erhöhten Umweltverträglichkeit verwendet. Gerade im agrarwissenschaftlichen Bereich ist Nachhaltigkeit jedoch ebenso notwendig gewesen, um eine bessere wirtschaftliche Planbarkeit zu erreichen, die Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der Motivation (der Produzenten), weitere Maßnahmen im Sinne der Nachhaltigkeit anzunehmen. Oftmals ergab sich hier jedoch eine gewisse Diskrepanz zwischen dem Anbau der Rohstoffe – der Urproduktion – und der Produktion der fertigen Produkte. Die Urproduktion wurde dabei gehemmt von der Unsicherheit, dass nicht der gesamte Ertrag zu einem guten Preis verkauft werden konnte, die Hersteller von Lebensmitteln beklag(t)en, dass nicht genügend Rohstoff für eine Marktabdeckung vorhanden war und vor allem Nebenproduktströme anfallen (in diesem Fall: Schalen und faserreiche Fraktion der Erbsenkotyledonen), die bisher nur unzureichend verwertet werden konnten und in manchen Fällen sogar noch teuer entsorgt werden müssen. Diese Unsicherheit behindert z.T. auch die Entwicklung von Produktinnovationen.

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

In diesem Projekt sollten speziell die Wertschöpfung der Schalen und Kotyledonen-Rückstände evaluiert werden, da diese bisher nicht ausreichend charakterisiert und für etwaige Produktinnovationen nicht berücksichtigt wurden. Entsprechend musste die Charakterisierung intensiviert werden. Dies betraf dabei nicht nur die Struktur der Fasern und die Zusammensetzung der Polysaccharide, sondern auch deren nutritiven Eigenschaften aufgrund der darin enthaltenen sekundären Pflanzenstoffe. Im Rahmen des durchgeführten Projektes sollten auf diese Weise, die bei der Erbsenverarbeitung bestehenden Lücken in der Wertschöpfung, durch systematische technologische sowie analytische Entwicklungen geschlossen und neue Ansätze zur Erhöhung des Nutzungspotentials von Erbsenschalen und Kotyledon-Rückständen aufgezeigt werden (Abbildung 1).

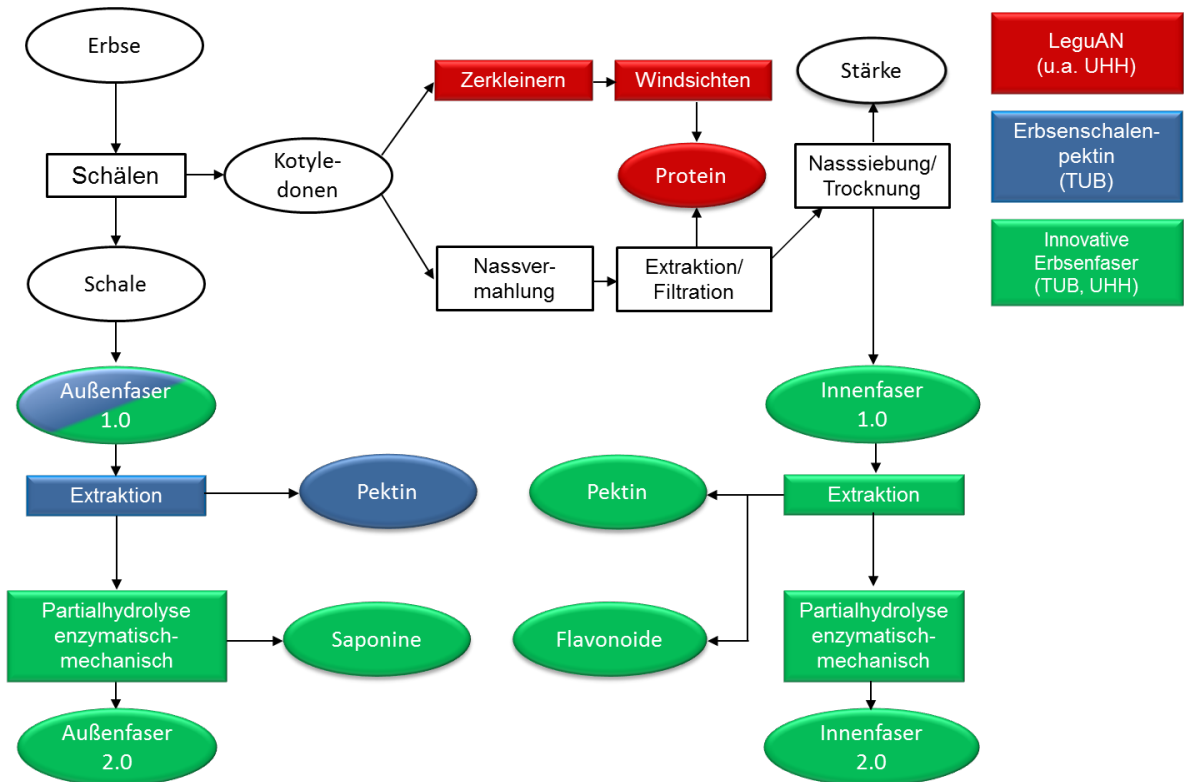


Abbildung 1: Fließschema zur Gewinnung von Pektin, Fasern und Sekundärmetaboliten (Saponine/Flavonoide) aus den Nebenprodukten der Erbsenverarbeitung (in Rot und Blau: Vorläuferprojekte, Grün: dieses Projekt).

Der Arbeitsplan unterteilt sich in insgesamt fünf Arbeitspakete (AP):

- AP 1) „Basischarakterisierung von Erbsenschalen und Kotyledonen-Rückständen“ Ziel dieses Arbeitspaketes war eine umfassende Charakterisierung der zur Pektin- und Fasergewinnung eingesetzten Rohstoffe.
- AP 2) „Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der *Erbsenaußenfasern*“ Dieses Arbeitspaket hatte zum Ziel, die technofunktionellen Eigenschaften der bisher nur unzureichend berücksichtigten Erbsenaußenfasern zu verbessern. Zu diesem Zweck wurden geeignete Prozessbedingungen für einen kombinierten mechanisch-enzymatischen Aufschluss von Erbsenschalen (Mikrofibrillierung) definiert und Wechselwirkungseffekte zwischen Struktur, Zusammensetzung und funktionellen Eigenschaften der Fasern identifiziert. Des Weiteren sollte das weitere Potential der Fasern im Hinblick auf die Sekundärmetaboliten Saponine, Flavonoide und Trypsininhibitoren bewertet werden.
- AP 3) „Saponin-Gewinnung aus Erbsenschalen und Charakterisierung der Saponin-Extrakte“ Das Ziel dieses Arbeitspaketes bestand in der Bereitstellung eines geeigneten Verfahrens zur quantitativen Extraktion und Anreicherung von Saponinen aus Erbsenschalen und zur Charakterisierung der Zusammensetzung sowie der funktionellen Eigenschaften der Saponin-

Extrakte.

- AP 4) „Pektinextraktion aus den Kotyledonen-Rückständen, Funktionalisierung der Innenfaser und Flavonoid-Gewinnung aus den alkoholischen Extrakten der Pektingewinnung“

Ziel dieses Arbeitspaketes war es, die Entwicklung von Verfahrensschritten zur Gewinnung von Pektinen und Innenfasern aus den faserreichen Kotyledonen-Nebenprodukten zu untersuchen.

- AP 5) „Zusammenfassende Bewertung des Gesamtverfahrens, aktualisierte Strategien zur Erhöhung des Nutzungspotentials und Erstellung des Abschlussberichtes“

Das Ziel dieses Arbeitspaketes bestand in einer abschließenden Bewertung des Gesamtverfahrens zur Gewinnung der verschiedenen Wertstoffe (Pektine, Außen- und Innenfasern (TUB), Saponine, Flavonoide (UHH)).

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand vor Projektstart

Leguminosen sind reich an Stärke, Proteinen und Ballaststoffen und somit ernährungsphysiologisch von besonderer Bedeutung. Mit Proteingehalten zwischen 20-45 % stellen Leguminosen in der Humanernährung einen sehr wichtigen Eiweißlieferanten dar. Im Rahmen der Gewinnung von Stärke und Proteinen aus den Kotyledonen der Erbsensamen fallen jedoch als Nebenprodukte zunächst die faserreichen Erbsenschalen (Rohstoff zur Gewinnung von Erbsenaußenfasern) an, die einen Anteil von ca. 10 % des Erbsensamens ausmachen und zum größten Teil aus Nicht-Stärke-Polysacchariden wie Cellulose (60-70 %), Hemicellulosen (8 %), sowie pektinartigen Substanzen (15-17 %) bestehen (Weightman et al., 1994). Demgegenüber weisen die Kotyledone neben den Hauptkomponenten Stärke und Protein einen Faseranteil von ca. 7 % auf (Kotyledonenfasern), welcher aus bis zu 55 % pektinartigen Substanzen, ca. 22 % Hemicellulosen und ca. 10 % Cellulose besteht (Brillouet et al., 1983). Es ist zu erwarten, dass sich die technofunktionellen Eigenschaften der Erbsenaußenfasern durch kombinierte mechanische und enzymatische Prozessschritte zusätzlich verbessern lassen. Vergleichbare Verfahren wurden bislang z.B. an Holzrohstoffen erprobt, wobei der enzymatische Abbau amorpher Cellulosestrukturen mittels Endocellulasen erfolgte und die Aufweitung der Cellulosematrix durch sukzessive Prozessschritte in Hochdruckhomogenisatoren bewirkt wurde (Pääkkö et al., 2007). Des Weiteren gibt es Ansätze durch Aufschluss von Erbsenschalen Mikrofibrillen im Sinne kurzkettiger Faserstoffe herzustellen, welche jedoch bislang auf der alleinigen Anwendung chemischer Verfahren basierten (Chen et al., 2009) und aufgrund der hier gegebenen Zielstellung, hochquellende Produkte zu gewinnen, nicht den Forschungsansatz des beantragten Projektes berühren. Zur Technofunktionalität von Erbsenpektinen existiert nach bestem Wissen der Antragsteller keine Literatur. Neueste Studien belegen, dass insbesondere die aus Erbsen gewonnenen löslichen Faserfraktionen über erhebliche Gehalte an Galacturonsäure (50-60 %) verfügen (Brummer et al., 2015). Von besonderem Interesse ist zudem der Veresterungsgrad des Galacturonans, der u.a. für die Geliereigenschaften von Pektinen eine wichtige Rolle spielt. Hierüber, wie auch über Möglichkeiten zur Gewinnung von Pektinen aus den Erbsenkotyledonen, wurde hingegen bislang nicht berichtet. Eigene Voruntersuchungen zeigten jedoch bereits, dass Erbsenschalenpektine niederverestert sind, was deren Anwendung insbesondere in kalorienreduzierten Lebensmitteln interessant macht.

Darüber hinaus sind die Erbsenaußenfasern und -innenfasern reich an sekundären Pflanzenstoffen, v.a. Saponinen und Flavonoiden. Die Saponine besitzen aufgrund ihrer amphiphilen Struktur grenzflächenaktive Eigenschaften und können so einen Einfluss auf die technofunktionellen Eigenschaften der Fasern ausüben (Reim & Rohn, 2015). Dies ist für die Entwicklung innovativer Produkte von Bedeutung. Flavonoide sind natürliche Antioxidanzien und gelten als gesundheitsfördernd im präventiven Einsatz gegen degenerative Krankheiten (Kahlon & Smith, 2007). In Leguminosenarten kommen besonders Flavonole vor, die eine vergleichsweise hohe Bioaktivität besitzen (Reinkensmeier et al., 2015).

3. Materialien und Methoden

3.1 Materialien

Es wurden sowohl industriell-erhältliche Mischchargen als auch sortenreine Chargen der Trockenerbsen als Rohstoffe in diesem Projekt verwendet.

Es wurden fünf Chargen zweier kommerzieller Erbsenfaserprodukte charakterisiert, welche von der Emsland-Stärke GmbH bereitgestellt wurden und als Ausgangsmaterialien für die weitere Aufarbeitung dienten: Empet E5 B10 (Erbsenaußenfaser aus der Schale) und Emfibre EF 200 (Erbseninnenfaser aus dem Kotyledonen-Rückstand) (Tabelle 1). Erbsenschalen fallen beim Schälen der Futtererbsen als erster Aufbereitungsschritt vor der Protein- und Stärkegewinnung an und enthalten ggf. geringe Mengen an anhaftendem Endosperm. Die verwendeten Mischchargen von Erbsenschalen (Außenfasern) stammten von zwei Produktionsstandorten der Firma Emsland-Stärke GmbH (Emlichheim und Golßen). Alle Innenfaser-Chargen stammten ausschließlich vom Standort Emlichheim.

Tabelle 1: Rohstoffe für die weitere Aufarbeitung im Projektverlauf (Pektin- bzw. Fasergewinnung).

Rohstoff	Produktname	Charge (Lot-Nr.)	Produktionsstandort
Erbsenkotyledonen-Rückstand (Innenfaser)	Emfibre EF 200	313295	Emlichheim
		312655	
		303199	
		312864	
		313153	
Erbsenschale (Außenfaser)	Empet E5 B10	316089	Golßen
		314939	Golßen
		274156	Emlichheim
		313169	Emlichheim
		310907	Emlichheim

Zusätzlich wurden vier sortenreine Chargen Trockenerbsen (Sorten: Ostinato, Salamanca, Dolores und Astronaut) von der Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG zur Verfügung gestellt. In Tabelle 2 sind wesentliche Charakteristika (Keimfähigkeit, Tausendkorngewicht) der Trockenerbsen sowie die per Trockenschälung im Technikumsmaßstab (durchgeführt an der TU Berlin) erzielten Ausbeuten an Kotyledonen und Schalen dargestellt.

Tabelle 2: Charakteristika von sortenreinen Trockenerbsen (Werte zu Keimfähigkeit und Tausendkorngewicht zur Verfügung gestellt von Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG) und Ausbeute von Erbsenfraktionen nach Trockenschälung im Technikumsmaßstab

Sorte	Keimfähigkeit [%]	Tausendkorngewicht [g]	Ausbeute*		
			Kotyledonen	Schalen	Verlust
Ostinato	91	186	74,0	6,0	20,0
Salamanca	97	290	78,5	6,0	15,5
Dolores	92	192	74,5	6,1	19,5
Astronauta	96	257	80,5	5,4	14,1

*Ausbeute in g der jeweiligen Fraktion bezogen auf 100 g ganzer Erbsen.

Die für die Experimente genutzten Enzyme waren Celluclast (1,5 L; Ultraflo® XL), das freundlicher Weise von Novozymes A/S (Bagsværd, Denmark) zur Verfügung gestellt wurde, sowie Pectinase E6287 (Sigma Aldrich GmbH, Seelze, Deutschland).

Zusätzlich wurde Sojasaponin I (95 %, Sigma Aldrich GmbH, Seelze, Deutschland) und das Saponin-Rohextrakt aus *Quillaja saponaria Molina* mit einer Reinheit von 15,5 % (Ingredion Germany GmbH, Hamburg, Germany) genutzt, um die Grenzflächenfilmeigenschaften des Saponins zu charakterisieren.

3.2 Methoden

Die Methoden wurden in drei Abschnitte unterteilt: (i) Basischarakterisierung der Erbsenaußenfaser und Erbseninnenfaser; (ii) Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern und (iii) Pektinextraktion aus Erbseninnenfaser.

3.2.1 Basischarakterisierung der Erbsenaußenfaser und Erbseninnenfaser

Gehalte an Pektin, Stärke, Ballaststoffen und Asche

Die Charakterisierung des Pektins erfolgte dabei zum einen über die Ermittlung des Galacturonangehaltes mittels spektralphotometrischer Verfahren nach enzymatischer Hydrolyse. Zum anderen wurde der Veresterungsgrad des Galacturonans ebenfalls spektralphotometrisch ermittelt. Die Bestimmung des Stärkegehaltes erfolgte enzymatisch mittels kommerziell erhältlichen Tests. Der Ballaststoffgehalt (lösliche und unlösliche Fraktion) wurde über die enzymatisch-gravimetrische Methode nach AOAC Official Method 993.19 ermittelt.

Charakterisierung der physischen und funktionellen Eigenschaften

Zunächst wurden die Partikelgrößenverteilungen der industriell hergestellten Fasern mittels Siebanalyse bestimmt. Hierfür wurden die Materialien zunächst einer Siebfraktionierung im Bereich 50 – 5000 µm unterzogen und die ermittelten Daten der jeweiligen Häufigkeitsverteilungen mittels Rosin-Rammler-Modell angepasst und ausgewertet. Da die Partikelgrößenverteilung wässriger

Suspensionen mittels statischer Lichtstreuung durchgeführt wurde, wurde diese Methode ebenfalls bereits für die Charakterisierung der sortenreinen Proben eingesetzt. Hierfür wurde die Partikelgrößenverteilung mittels statischer Lichtstreuung (LA-950, Horiba, Retsch Technology GmbH, Haan, Germany) unter Anwendung des Fraunhofer Modells zur Berechnung von D_{10} , D_{50} und D_{90} untersucht. Zudem wurde die Farbe im CIE $L^*a^*b^*$ -Farbsystem analysiert. Eine qualitative Beschreibung der Morphologie (z. B. Grad der Gewebeerstörung, Oberflächenbeschaffenheit) von Schalen- und Kotyledonenpartikeln erfolgte mittels Licht- bzw. Rasterelektronenmikroskopie. Darüber hinaus wurden bezüglich der technofunktionellen Eigenschaften der Rohstoffe die Wasserbindung im Quellungsversuch sowie die Wasserabsorption mittels Kapillarsaugmethode und die Wasserretention mittels Zentrifugenmethode charakterisiert (Robertson et al., 2000).

Saponin- und Trypsin-Inhibitor-Gehalt

Die Analytik der Saponine erfolgte mittels Hochleistungsdünnschichtchromatografie (HPTLC) und densitometrischer Auswertung, die der Flavonoide mittels LC-MS. Die Vorgehensweisen wurden im Projekt LeguAN etabliert und publiziert (Neugart et al., 2015; Reim & Rohn, 2015) und wurde auf die hier verwendeten Rohstoffe und hergestellten Faserfraktionen angewendet. Gleichfalls wurde eine Proteinanalytik durchgeführt, auch um den Verbleib von Trypsinhibitoren in den anfallenden Fraktionen zu untersuchen (Reinkensmeier et al., 2015). Für die Charakterisierung der Fraktionen wurde der Gehalt an Saponin B bzw. Gesamtsaponin quantitativ mittels HPTLC (*high-performance thin-layer chromatography*) bestimmt. Hierfür wurde der Automatic TLC Sampler 4 (CAMAG, Muttenz, Schweiz) verwendet. Nachdem die dünnschichtchromatographische Trennung erfolgte, konnten die Gehalte mittels TLC Scanner (CAMAG, Muttenz, Schweiz) densitometrisch ausgewertet werden. Dafür wurden ca. 0,5 g der lyophilisierten Proben mit 5 mL Methanol/ Wasser-Gemisch (90:10; v/v) versetzt und 2 h bei 50 °C und 650 rpm auf einem Thermoschüttler extrahiert. Nach anschließender Zentrifugation (15 min, 4000 rpm) (Eppendorf AG, Wesseling-Berzdorf, Deutschland), wurden 3 mL des Überstandes abgenommen und mit 0,2 mL 0,8 M Ammoniumsulfat-Lösung versetzt. Über Nacht erfolgte eine Präzipitation. Nach erneuter Zentrifugation wurden 3 mL des Überstandes abgenommen. Das Lösungsmittel wurde mithilfe einer Vakuumzentrifuge von Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH (Osterode am Harz, Deutschland) entfernt. Der Rückstand wurde in 100 µL Ethanol aufgenommen, mittels Automatic TLC Sampler 4 aufgetragen und anschließend 60 Minuten bei einem Gemisch von Chloroform: Essigsäure: Methanol: Wasser (6,4/3,2/1,2/0,8; v/v/v/v) entwickelt. Nach 2 h erfolgte die Derivatisierung mit p-Anisaldehyd-Reagenz und 5 minütiges Erhitzen bei 70 °C. Anschließend wurde die HPTLC-Platte mittels TLC Visualizer (CAMAG, Muttenz, Schweiz) bei 545 nm, 366 m und Weißlicht dokumentiert.

Für die Analyse der Flavonoide mittels HPLC-DAD/ESI-MSⁿ wurde zunächst eine dreifache Extraktion der Proben mit 60 % wässrigem Methanol durchgeführt. Die Identifizierung und Quantifizierung erfolgte mit einem 1100 series HPLC System (Agilent Technologies GmbH, Waldbronn) mit DAD-Detektor und einem Ion Trap Massenspektrometer (Bruker Daltonics GmbH,

Bremen) und einer Gradientenelution mit 0,5 % Essigsäure in bidest. Wasser und Acetonitril über 59 min (Neugart et al., 2014).

Im Weiteren wurde in diesem Projekt, unter Verwendung des synthetischen Substrats *N*-benzoyl-D,L-arginine *p*-nitroanilide hydrochloride (BAPNA), die Analyse der Trypsininhibitoraktivität nach dem Protokoll von Valdebouze et al. (1980) durchgeführt. Es wurden ca 50 mg der lyophilisierten Proben mit 1 mL 0,1 M Natronlauge 30 Minuten geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension bei 4 °C und 10000 rpm für 10 min zentrifugiert. Die Messung erfolgte mittels Platereader von BioTek (Winooski, USA). Das Ergebnis ist als Trypsin-inhibierende Einheiten pro mg Probe definiert, wobei die Menge des Enzyms (TIU) eine Zunahme der Extinktion von 0,01 au/skt darstellt.

Charakterisierung der Neutralzucker/Oligosaccharide/Polysaccharide

Zur Charakterisierung der Neutralzucker wurde ein Screening dieser mittels HPTLC durchgeführt. Dafür wurden die Proben homogenisiert und anschließend ca 200 mg mit 1 mL Wasser versetzt und über Nacht bei 40 °C und 400 U/min extrahiert. Nach anschließender Zentrifugation (20 Min, RT, 15000 rpm) wurden die Proben mithilfe von HPTLC getrennt. Für die Entwicklung wurde ein Gemisch von Chloroform: Essigsäure: Wasser (4,2/5,0/0,8; v/v/v) verwendet. Nach 2 h erfolgte die Derivatisierung mit Anilin-Diphenylamin-*o*-Phosphorsäure und 10 minütiges Erhitzen bei 120 °C. Anschließend erfolgte eine Detektion und Dokumentation bei Weißlicht.

3.2.2 Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern

Das Ziel besteht in der Erarbeitung von kombinierten mechanischen und enzymatischen Prozessschritten zur Verbesserung der techno-funktionellen Eigenschaften von Erbsenaußenfasern. Im Fokus der Arbeiten steht der mechanische Aufschluss der Fasern (Mikrofibrillierung) mit dessen Hilfe die Fähigkeit zur Wasseraufnahme und Wasserretention erhöht werden soll, um somit das spätere Anwendungsspektrum von Erbsenaußenfasern im Lebensmittelbereich deutlich zu erweitern.

Dieser Abschnitt ist unterteilt in:

- Mechanische Vorbehandlung der sortenreinen Trockenerbsen: Auftrennung in Erbsenschalen und Erbsenkotyledonen,
- Festlegung und Herstellung einer geeigneten Partikelgrößenfraktion von Erbsenaußenfasern als Ausgangsmaterial für die mechanische Prozessierung,
- Systematische Untersuchung der geräteseitigen Einflussfaktoren (Druck, Anzahl der Durchläufe, Kammerkombination) auf Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften der Erbsenaußenfasern,
- Untersuchung des Einflusses der Erbsensorte auf die Funktionalität von

Erbsenfasersuspensionen,

- Einfluss von enzymatischer Vorbehandlung auf die Eigenschaften von mechanisch-prozessierten Erbsenaußenfasern,
- Einfluss von Trocknung auf die Eigenschaften von mechanisch und enzymatisch-mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern
- Saponin- und Trypsin-Inhibitor-Gehalt der prozessierten Proben

Mechanische Vorbehandlung der sortenreinen Trockenerbsen: Auftrennung in Erbsenschalen und Erbsenkotyledonen

Abbildung 2 zeigt das Verfahrensschema zur fraktionierten Gewinnung von Erbsenschalen und Erbsenkotyledonen im Technikumsmaßstab ausgehend von den sortenreinen Trockenerbsen. Dementsprechend wurden die Erbsen zunächst in einem Fliehkraftschäler grob vorzerkleinert. Bei diesen Schritten lösten sich die Schalen bereits größtenteils von den Erbsenkotyledonen (Erbsenkerne) aufgrund von Scher- und Pralleffekten. Nachfolgend wurden Schalen und Kotyledonen mittels Windsichtung und nachfolgender Siebfractionierung voneinander getrennt. Um eine möglichst reine Schalenfraktion zu erzeugen, wurden die Schritte Sichtung/Siebung nochmals wiederholt. Im Ergebnis des Schälprozesses wurden für jede Sorte drei Fraktionen erhalten: eine Schalenfraktion (> 2 mm) mit einer sortenabhängigen (massenbezogenen) Ausbeute im Bereich von 5,4 bis 6,1 %, eine Kotyledonenfraktion (> 2 mm; Ausbeute: 74,0 – 80,5 %) sowie eine Mischfraktion Schale/Kotyledone (< 2 mm; Ausbeute: 14,1 – 20,0 %) (Tabelle 2). Letztere konnten mittels Windsichtung nicht weiter separiert werden und werden daher als Verlustfraktion verworfen.

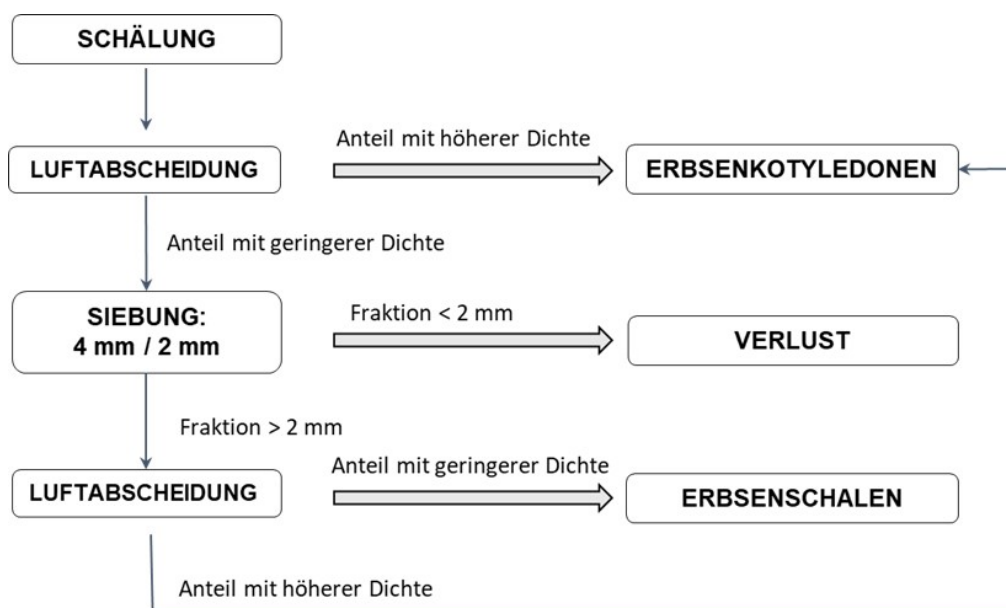


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Schälprozesses im Technikumsmaßstab (durchgeführt an der TU Berlin) zur fraktionierten Gewinnung von Schalen und Kotyledonen aus sortenreinen Trockenerbsen.

Die gewonnenen Schalen- und Kotedonenfraktionen der sortenreinen Chargen wurden im weiteren Projektverlauf mittels Zentrifugalmühle auf eine Partikelgröße von $< 500 \mu\text{m}$ vermahlen und anschließend analog zu den industriellen Mischchargen behandelt.

Festlegung und Herstellung einer geeigneten Partikelgrößenfraktion von Erbsenaußenfasern als Ausgangsmaterial für die mechanische Prozessierung

Die Mikrofibrillierung ist ein physikalischer Prozess, bei welchem die größtenteils kristalline Cellulosematrix (als Hauptpolysaccharid der Erbsenschale) mittels Hochdruckhomogenisierung aufgeweitet werden soll, um somit die Wassereinlagerung zu begünstigen. Dieser Prozess wird mittels des im Rahmen des Projektes beschafften Mikrofluidizers LM 20B (Microfluidics Inc. Corp., USA) bewerkstelligt. Dabei kommt es zu einer Größenreduktion der Faserpartikel durch die kombinierten Effekte von Turbulenz, Scherung und Kavitation im Homogenisierspalt bzw. Mikrokanal der jeweiligen Interaktionskammer. Das Gerät ist mit zwei Interaktionskammern ausgestattet, welche sich hinsichtlich des Durchmessers der Mikrokanäle unterscheiden (200 bzw. $100 \mu\text{m}$). Die Kammern können allein bzw. hintereinandergeschaltet (in Serie) verwendet werden, um die Intensität der Mikrofibrillierung zu erhöhen (Maximaldruck: 2000 bar). Zur Vorbereitung für die mechanische Prozessierung im Mikrofluidizer war aufgrund der vorgegebenen Mikrokanalgrößen der Interaktionskammern ein weiterer Vermahlungs- sowie Siebfraktionierungsschritt notwendig, um ein Zusetzen der Kanäle bei der Hochdruckhomogenisierung zu vermeiden. Die Außenfasern wurden daher gemäß nachfolgendem Schema in mehreren Schritten behandelt, um die gewünschte Partikelgrößenfraktion $50 - 140 \mu\text{m}$ zu erzeugen (Abbildung 3).

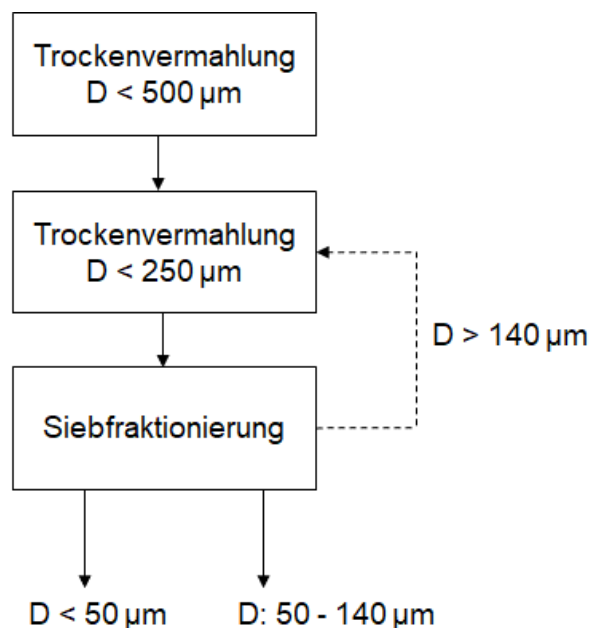


Abbildung 3: Fließschema zur Trockenvermahlung und Siebfraktionierung für die Bereitstellung einer geeigneten Größenfraktion ($50 - 140 \mu\text{m}$) von Erbsenaußenfasern für die mechanische Prozessierung.

Es wird davon ausgegangen, dass in diesem Größenbereich die Cellulose-Matrix noch weitestgehend erhalten ist (als Grundvoraussetzung für die Mikrofluidisierung). Im Rahmen dieser Aufbereitung wurde die Fraktion $> 140 \mu\text{m}$ mehrfach dem zweiten Trockenvermahlungsschritt wieder zugeführt. Auf diese Weise konnte die Ausbeute der gewünschten Partikelgrößenfraktion ($50 - 140 \mu\text{m}$) auf einen Wert von 65 % (g Probe/100 g Ausgangsmaterial) maximiert werden. Die ausgewählte Fraktion wurde anschließend wie in Abschnitt 3.2.1. beschrieben charakterisiert.

Systematische Untersuchung der geräteseitigen Einflussfaktoren (Druck, Anzahl der Durchläufe, Kammerkombination) auf Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften der Erbsenaußenfasern

Zunächst wurde ein Screening durchgeführt, um die maximale Anzahl an Durchläufen im Mikrofluidizer zu ermitteln, bei der eine hinreichende Partikelgrößenreduzierung erreicht werden konnte (asymptotische Annäherung an den Minimalwert). Hierzu wurden jeweils 1 %ige Suspensionen von Erbsenaußenfasern mit definierter Ausgangsgröße (Siebfraktion: $50-140 \mu\text{m}$) eingesetzt und im Mikrofluidizer (Kammerkombination $200/100 \mu\text{m}$) bei maximalem Druck von 2000 bar prozessiert. Die Partikelgrößenverteilung der mikrofluidisierten Fasersuspension wurde durch Laserbeugung mittels Partikelgrößenanalyse LA-950 (Horiba, Retsch Technology GmbH, Haan, Germany) vermessen. Abbildung 4 zeigt die Abnahme der Partikelgröße mit zunehmender Anzahl an Durchläufen. Der ermittelte Größenparameter D_{90} beschreibt die Partikelgröße in μm , unterhalb derer 90 % der gemessenen Partikelgrößenwerte (volumenbezogen) liegen. Nach acht Durchläufen im Mikrofluidizer sank der D_{90} auf einen Wert von ca. $70 \mu\text{m}$. Mit jedem weiteren Durchlauf war der Einfluss auf die Partikelgröße nur noch minimal ($<1 \%$ Abnahme).

Alle weiteren Versuche wurden daher mit max. acht Durchläufen durchgeführt. Es waren allerdings mindestens zwei Durchläufe notwendig, da bei lediglich einem Durchlauf Flockungseffekte durch vermutlich nicht ausreichende Rehydratisierung/Dispergierung der Fasern in den prozessierten Fasersuspensionen festzustellen waren.

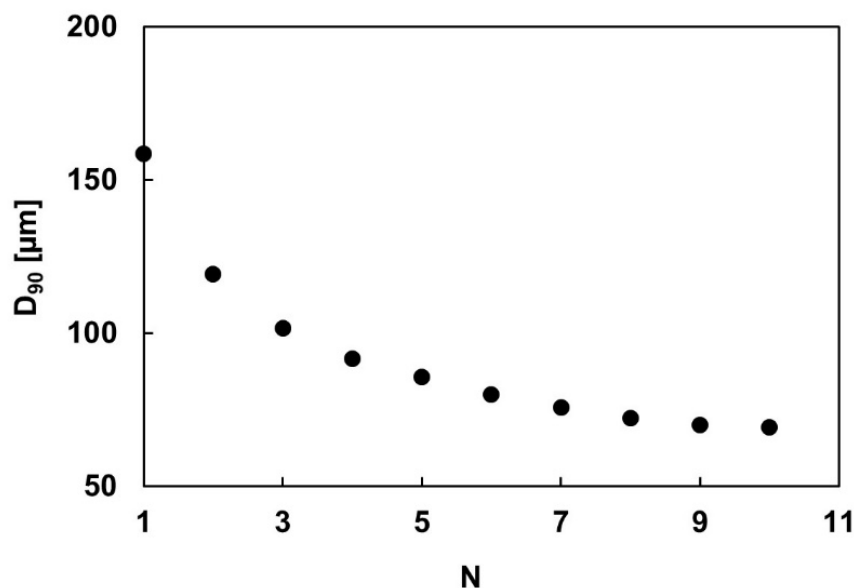


Abbildung 4: Partikelgröße (D_{90}) von Erbsenaußenfasern in Abhängigkeit von der Anzahl an Durchläufen (N) im Mikrofluidizer bei der mechanischen Prozessierung (Kammerkombination 200/100 µm).

Im nächsten Schritt wurde ein Faktorenversuchsplan aufgestellt, anhand dessen Experimente zur Untersuchung des Einflusses der Prozessvariablen „Druck“ und „Anzahl an Durchläufen“ auf die Partikelgröße (D_{90}) durchgeführt werden sollten. Das Versuchsdesign umfasste 13 Experimente mit fünf Zentralpunkten, wobei die Einflussgrößen (Faktoren) „Druck“ und „Anzahl an Durchläufen“ jeweils auf drei Stufen (Druck: 500, 1250, 2000 bar; Anzahl an Durchläufen: 2, 5, 8) variiert wurden. Die experimentell ermittelten Daten wurden mittels der Statistik-Software Design Expert 8.0 (Stat Ease Inc, USA) ausgewertet und anschließend eine Polynomgleichung aufgestellt, welche den D_{90} als Funktion der genannten Einflussfaktoren beschreibt.

Darauf aufbauend sollte dann der Einfluss der Partikelgröße auf die technofunktionellen Eigenschaften (Wasserretentionskapazität, Fließverhalten, Viskoelastizität) untersucht werden und Zusammenhänge mit Änderungen in den physikalisch-chemischen Eigenschaften (Mikrostruktur, Anteile an wasserunlöslichen, ethanolunlöslichen und ethanollöslichen Faserfraktionen) identifiziert werden, wie es in Morales-Medina *et al.* (2020) beschrieben wurde.

Untersuchung des Einflusses der Erbsensorte auf die Funktionalität von Erbsenfasersuspensionen

Das Ziel war es die Partikelgrößenverteilung und funktionellen Eigenschaften (z.B. Wasserretentionskapazität, Fließ- und viskoelastisches Verhalten, Morales-Medina *et al.* (2020)) von mechanisch-prozessierten Suspensionen aus industriell gewonnenen Fasern (L-310907) mit denen aus sortenreinen Fasern zu vergleichen. Hierfür wurden 1 %ige (w/w) wässrige Suspensionen hergestellt. Die Versuchsparameter waren zwei Durchläufe mit der 200 µm Kammer gefolgt von vier

Durchläufen mit den 200 und 100 µm Kammern in Reihe bei einem festgelegten Druck von 2000 bar.

Einfluss von enzymatischer Vorbehandlung auf die Eigenschaften von mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

Um den Einfluss einer enzymatischen Vorbehandlung auf die Eigenschaften mechanisch-prozessierter Erbsenfasern zu untersuchen, waren zunächst Enzympräparate mit geeigneten Aktivitäten für einen effizienten Aufschluss der Zellwandpolysaccharide auszuwählen. Im Anschluss daran waren Vorversuche zur Festlegung einer definierten Behandlungsdauer für den enzymatischen Aufschluss notwendig. Daraufhin erfolgte die enzymatische Hydrolyse unter definierten Bedingungen (nähere Beschreibung unten), bevor dann wiederum die mechanische Prozessierung im Mikrofluidizer bei 2000 bar und max. sechs Durchläufen erfolgte. Wie zuvor wurden die Erbsenaußenfasersuspensionen im Anschluss an die enzymatisch-mechanische Behandlung mit Hinblick auf die prozentualen Anteile der verschiedenen Ballaststofffraktionen, die Partikelgröße D_{90} , die Mikrostruktur (REM) sowie die technofunktionellen Eigenschaften (Wasserretentionskapazität, Rheologie) charakterisiert. Diese Methoden wurden wie zuvor beschrieben durchgeführt.

Erbsenschalen sind hinsichtlich ihrer Zusammensetzung im Wesentlichen durch drei Zellwandpolysaccharid-Komponenten gekennzeichnet: Cellulose (~60 %), Hemicellulosen (~7 %) und Pektin (~10 %). Dementsprechend können zellwandabbauende Enzyme wie Cellulasen, Hemicellulasen und Pektinasen eingesetzt werden, um den Zellwandverbund durch Depolymerisierung der Polysaccharide partiell aufzulösen und eine partielle Degradation physikalischer Verhakungen/Verschlaufungen im Fasernetzwerk im Vorfeld der mechanischen Prozessierung zu bewirken. In der Literatur sind bereits vereinzelt Studien für einen kombinierten enzymatischen Aufschluss (mittels Cellulasen) mit nachfolgender Mikrofluidisierung zur Verbesserung der funktionellen Eigenschaften von Cellulosepulpe beschrieben (Pääkkö et al., 2007). Jedoch fehlt es an systematischen Untersuchungen zur Effektivität eines kombinierten enzymatischen Aufschlusses mit Hinblick auf die Zusammenhänge zwischen Struktur und Eigenschaften bei Fasermaterialien mit komplexer Zellwandmatrix. Aus diesem Grund wurden kommerziell verfügbare, zellwandabbauende Enzyme einzeln (Cellulase (C), Hemicellulase (H), Pektinase (P)) sowie in Zweifach- (C+H, C+P, P+H) als auch in Dreifach-Kombination (C+P+H) verwendet. Auf diese Weise sollte herausgefunden werden, welchen Einfluss die jeweilige Zellwandpolysaccharid-Komponente auf Struktur und Technofunktionalität von Erbsenaußenfasersuspensionen hat. Als Kontrolle diente ein Versuchsansatz, bei welchem keine Enzyme (nur mechanische Prozessierung) eingesetzt wurden.

Es wurden jeweils 1 %ige Erbsenaußenfasersuspensionen in Natrium-Citrat-Phosphat-Puffer (pH 5) hergestellt und bei 50 °C und einem Enzym-Substrat-Verhältnis von 5:95 hydrolysiert. Die Hydrolysezeit betrug max. 10 Stunden und zu definierten Zeitpunkten (1, 2, 4, 6, 8 Stunden) wurde den Proben jeweils ein Aliquot entnommen und zur Enzyminaktivierung bei 80 °C für 10 min hitzebehandelt. Die Effektivität der enzymatischen Behandlung wurde zunächst anhand der Abnahme

des Anteils an unlöslicher Ballaststofffraktion in der Fasersuspension über den Hydrolysezeitraum bewertet.

Einfluss von Trocknung auf die Eigenschaften von mechanisch- und enzymatisch-mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

In diesem Zusammenhang wird dieses Teilpaket nochmals in drei spezifische Aufgaben unterteilt:

- Beurteilung physikalischer und funktioneller Eigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter und rehydrierter Faser-Suspensionen mit und ohne enzymatische Vorbehandlung in Abhängigkeit vom Trocknungsverfahren
- Beurteilung des Einflusses der Prozessbedingungen während der Vakuumtrocknung auf die Rehydratationseigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter Faser-Suspensionen
- Einfluss des Verhältnisses zwischen löslichen, unlöslichen und alkohol-unlöslichen Bestandteilen in mechanisch prozessierten, getrockneten Faser-Suspensionen auf die Rehydratationseigenschaften.

Beurteilung physikalischer und funktioneller Eigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter und rehydrierter Faser-Suspensionen mit und ohne enzymatische Vorbehandlung in Abhängigkeit vom Trocknungsverfahren (Gefriertrocknung, Ofentrocknung und Vakuumtrocknung).

In diesem Falle wurden, aufbauend auf dem Wissen aus den vorangegangenen Arbeitspaketen, Erbsenschalen-Suspensionen mit einem D_{90} von 80 μm mittels mechanischer oder einer Kombination aus enzymatisch-mechanischer Vorbehandlung hergestellt (Verwendung von Cellulase, Hemicellulase und Pectinase). Die Proben wurden entweder gefriergetrocknet in einem Lyophilizer Beta1-8LSCplus (Christ alpha 2e4, Osterode, Germany) ofengetrocknet bei 80 °C für 14 h oder vakuumgetrocknet in einem Vakuumofen (VT 6060 M Thermo Scientific, MA, USA, gekoppelt an ein Vakuumpumpensystem für die Luftregulierung (LVS 610 T, Welch Vacuum, Gardner Denver Thomas GmbH, Fürstenfeldbruck, Germany) bei 50 mmHg und 80°C für 8 h)). Alle Proben hatten einen Trockenmassegehalt größer als 85%. Die Wasserretentionskapazität der rehydrierten Proben wurde gemessen, um das Rehydratationsverhalten zu bestimmen.

Beurteilung des Einflusses der Prozessbedingungen während der Vakuumtrocknung auf die Rehydratationseigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter Faser-Suspensionen.

Um das Rehydratationsverhalten der Proben zu untersuchen, wurden zwei faktorielle Faktorenversuchspläne durchgeführt: (i) Hochtemperatur (T: 130-160°C, Zeit: 80-140 min) und (ii) Tieftemperatur (T: 100-130°C, Zeit: 150-230 min). Nach dem Trocknen wurde der Feuchtigkeitsgehalt der Proben in einem Feuchtebestimmer (Mettler Toledo, OH, USA) gemessen. Dann wurden die Proben rehydriert, und es wurde die Wasserretentionskapazität und die Partikelgröße bestimmt. Um die Stabilität zu testen, wurde das Sedimentationsverhalten bestimmt. Die experimentell ermittelten Daten wurden mittels der Statgraphic Centurion Software (Stat Ease Inc, USA) ausgewertet und

anschließend eine Polynomgleichung aufgestellt, welche den D_{90} , die Wasserretentionskapazität und die Sedimentation als Funktion der Zeit und Temperatur beschreibt.

Eine biobjektive Optimierung wurde mit dem Solver-Tool in Excel durchgeführt (beschrieben in Morales-Medina *et al.* (2017)). Sowohl die Wasserretentionskapazität als auch die Trockenmasse (DM) sind eine Funktion der Temperatur (T) und der Zeit (t): $DM = f(T, t)$; $WRK = f(T, t)$. Daher wurde das Maximum oder das Minimum der Wasserretentionskapazität ($WRK(T, t)$) bei folgenden Bedingungen berechnet:

$100 \leq T \leq 160$ °C; untersuchter Bereich der Temperatur

$80 \leq t \leq 140$ min; untersuchter Bereich der Zeit

$DM(T, t) = \varepsilon$; spezifische Trockenmasse, bei der die Wasserretentionskapazität maximiert oder minimiert wurde

Einfluss des Verhältnisses zwischen löslichen, unlöslichen und alkohol-unlöslichen Bestandteilen in mechanisch prozessierten, getrockneten Faser-Suspensionen auf die Rehydratationseigenschaften.

Zwei Proben mit dem gleichen D_{90} (80 μm) und einem verschiedenen Verhältnis von unlöslich zu löslichen Ballaststoffen (86.7-14.3 and 78.6 – 22.3%) wurden hergestellt, vakuumgetrocknet (115 °C und 190 min) und rehydratisiert. Die Wasserretentionskapazität, die Viskosität und die Partikelgröße wurden bestimmt, um zu bestimmen, ob ein Anstieg der löslichen Ballaststoffanteile die Wasserretentionskapazität verbessert.

Um das Fließverhalten zu charakterisieren und das rheologische Verhalten der Suspensionen zu vergleichen, wurden die Fließkurven aller Proben mittels der Herschel-Bulkley Gleichung gefittet [1]:

$$\tau = \tau_0 + k \cdot (\dot{\gamma})^n. \quad [1]$$

mit der Fließgrenze (τ_0), dem Konsistenz-Index (k) und dem Fließindex (n).

Saponin-, Flavonoid- und Trypsininhibitor-Gehalt prozessierter Proben

Der Gehalt an Saponin- und Trypsin-Inhibitor-Komponenten aller prozessierten Proben, basierend auf den industriell-erhältlichen oder reinen Rohstoff-Chargen an Außenfaser wurde, analog zu den Messungen in Abschnitt 3.2.1 beschrieben, gemessen.

Charakterisierung der Neutralzucker/Oligosaccharide

Das Screening der Neutralzucker/Oligosaccharide erfolgte analog zu der Durchführung in Abschnitt 3.2.1.

Saponinextraktion und Charakterisierung des Grenzflächenverhaltens

Zu diesem Zweck erfolgte die Anwendung einer präparativen HPLC. Auf diese Weise konnten nur einige wenige Milligramm Saponine für weitere Untersuchungen und dem Einsatz in möglichen Modellproduktapplikationen gewonnen werden. Die Saponine wurden extrahiert und von den

Nebenbestandteilen chromatographisch getrennt. Danach erfolgt die Trennung an einer präparativen HPLC der Firma Agilent mit einer Säule der Dimension 250 x 21 mm (Nucleodur C 18, HTec, 110 Å 5 µm, Machery & Nagel). Für diese präparative Isolierung der Erbsensaponine musste jedoch eine Methodenanpassung an den präparativen Maßstab und an die entsprechenden Matrices vorgenommen werden. Dennoch ließen sich nur wenige Mengen an Probenmaterial für nachfolgende Untersuchungen gewinnen (z.B. NMR, Reinheitskontrolle, Einsatz für materialwissenschaftliche Charakterisierung).

Das Grenzflächenverhalten der Saponine an der Öl-Wasser-Grenzfläche wurde mittels Pendant drop-Methode an einem Tropfenkontur-Tensiometer untersucht (PAT1M, Sinterface Technologies, Berlin, Germany). Es wurde dafür ein System bestehend aus 2 Nadeln genutzt: über die äußere Nadel wird die Bulk-Phase dosiert und über die innere Nadel wird der zu untersuchende grenzflächenaktive Stoff injiziert. Diese Methode wurde in Schestkova et al. (2019) publiziert. Die Bulkphase war hier in diesem Fall 0,1 M Phosphatpuffer pH 7. Die zu untersuchende Saponin-Probe wurde in dem gleichen Puffer mit einer Konzentration von 0.5 und 0.05 für Sojasaponin I und das Saponin-Rohextrakt aus *Quillaja saponaria Molina* gelöst. Die Konzentration wurde in Anlehnung an Böttcher et al., (2017) verwendet. Das Grenzflächenverhalten wurde an Hand der Viskoelastizität des ausgebildeten Grenzflächenfilms beurteilt. Dafür wurde zunächst mit dem Tropfentensiometer ein Tropfen der Bulkphase erzeugt und nach 30 s wurden 10 % des Tropfenvolumens durch die Saponinlösung ausgetauscht, wodurch sich eine Endkonzentration im Tropfen von 0.05 und 0.005 wt% Saponin ergab. Der Tropfen wurden dann zur Filmbildung für 14 h hängen gelassen. Anschließend wurde der Tropfen mittels Amplitudensweep (1 bis 10 % Tropfendeformation) bei 0,01 Hz, wie in Tamm & Drusch, (2017) beschrieben, vermessen. Die Änderung der Grenzflächenspannung in Abhängigkeit der Tropfenflächenänderung kann dann genutzt werden, um das viskoelastische Verhalten zu beurteilen. Je höher der viskoelastische Charakter ist (hohes Speichermodul E'), desto besser kann der Grenzflächenfilm Deformationen ausgleichen und desto stabiler ist der Film und damit die Emulsion gegenüber Tropfenkoaleszenz.

3.2.3. Pektinextraktion aus Erbseninnenfaser

Für die Pektinextraktion wurden zunächst die Chargen an Kotyledonen-Rückständen mit hohem Galacturonangehalt ausgewählt (Erbseninnenfaser L-303199).

Die industrielle Pektinextraktion wird üblicherweise durch Säurebehandlung bei pH-Werten zwischen pH 1,5 und pH 3,0 und hohen Temperaturen zwischen 80 °C und 90 °C unter Anwendung von Salpeter- oder Salzsäure durchgeführt, um das Pektin zu verflüssigen. Anschließend wird das gelöste Pektin mittels Zentrifugation vom verbleibenden unlöslichen Zellwandmaterial getrennt, mit Alkohol (Ethanol oder Isopropanol) ausgefällt und anschließend mehrmals mit Alkohol gewaschen um Verunreinigungen zu entfernen (Lopes da Silva & Rao, 2016). Die Extraktionsbedingungen wie

Temperatur, Zeit und pH-Wert während der Extraktion müssen sorgfältig überwacht werden, um Entesterung und andere Abbaureaktionen zu vermeiden. In AP 4 wurde die industrielle Methode auf den Labormaßstab skaliert und zusätzlich wurden die Ergebnisse der FEI Projekts 18678N „Erhöhung des Nutzungspotentials des Nebenprodukts Erbsenschale durch Extraktion von Pektinen und gleichzeitige Gewinnung optimierter Faserprodukte“ berücksichtigt. Der Extraktionsprozess ist in Abbildung 5 dargestellt. Diese Methode wurde zuvor erfolgreich für die Extraktion von Pektin aus Citrusfasern und Erbsenaußenfasern verwendet.

Für die experimentelle Durchführung wurden 25 g Erbseninnenfaser in 1 L Wasser bei pH 1 (eingestellt mit 65 %iger (w/w) HNO_3) suspendiert und zwei Stunden bei 90 °C gerührt. Die Extraktionsbedingungen wurden anhand der Prozessoptimierung durch Gutöhrlein, Drusch, & Schalow, (2020) für die Extraktion von Pektin aus Erbsenaußenfaser ausgewählt, so dass die Pektinausbeute mit sinkendem pH-Wert und steigender Temperatur zunahm. Nach der Extraktion wurde die Suspension filtriert (Filtertuch P4033, Winkler GmbH, Germany) und das Retentat mit 400 g destilliertem Wasser gewaschen und nochmals filtriert. Beide Filtrate wurden vereint und in einem Eisbad auf 20 °C gekühlt. Das Pektin im Filtrat wurde mit der doppelten Menge Ethanol (95 % (v/v)) gefällt und die Suspension 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen.

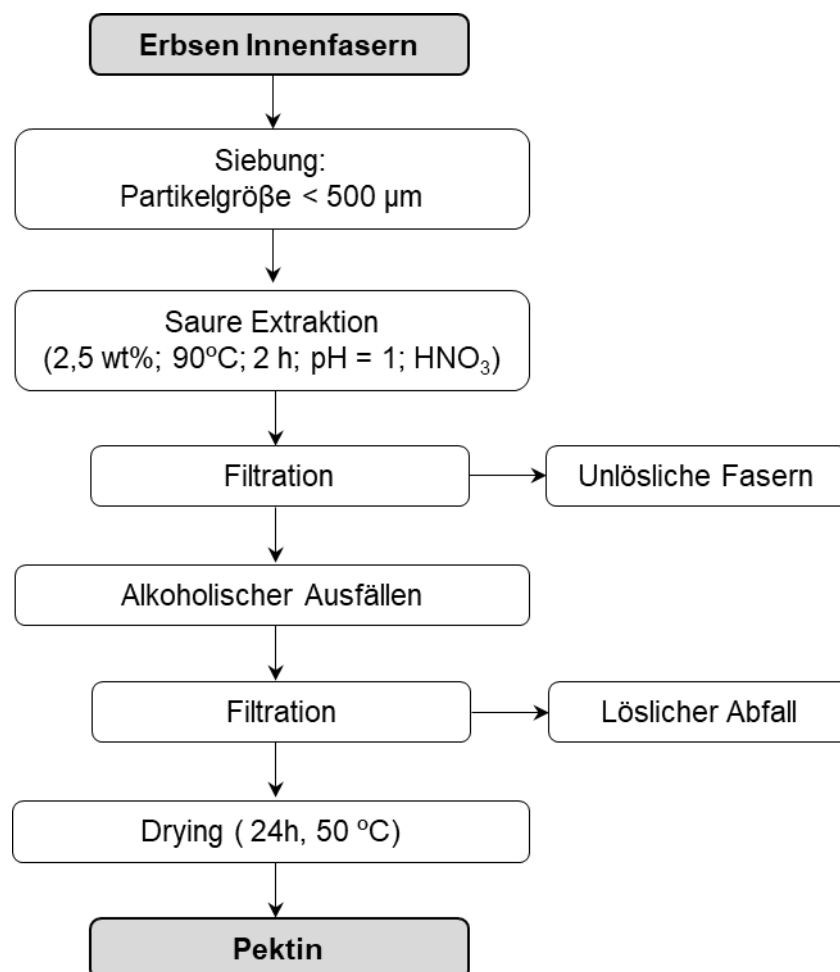


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Pektinextraktion aus der Erbseninnenfaser.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Erbsenaußenfaser und Erbseninnerfaser: Basischarakterisierung

Gehalte an Pektin, Stärke, Ballaststoffen und Asche

In Abbildung 6 werden zunächst die Parameter für die chemische Zusammensetzung der kommerziellen Erbsenfaserprodukte – wie von der Fa. Emsland-Stärke GmbH spezifiziert – dargestellt.

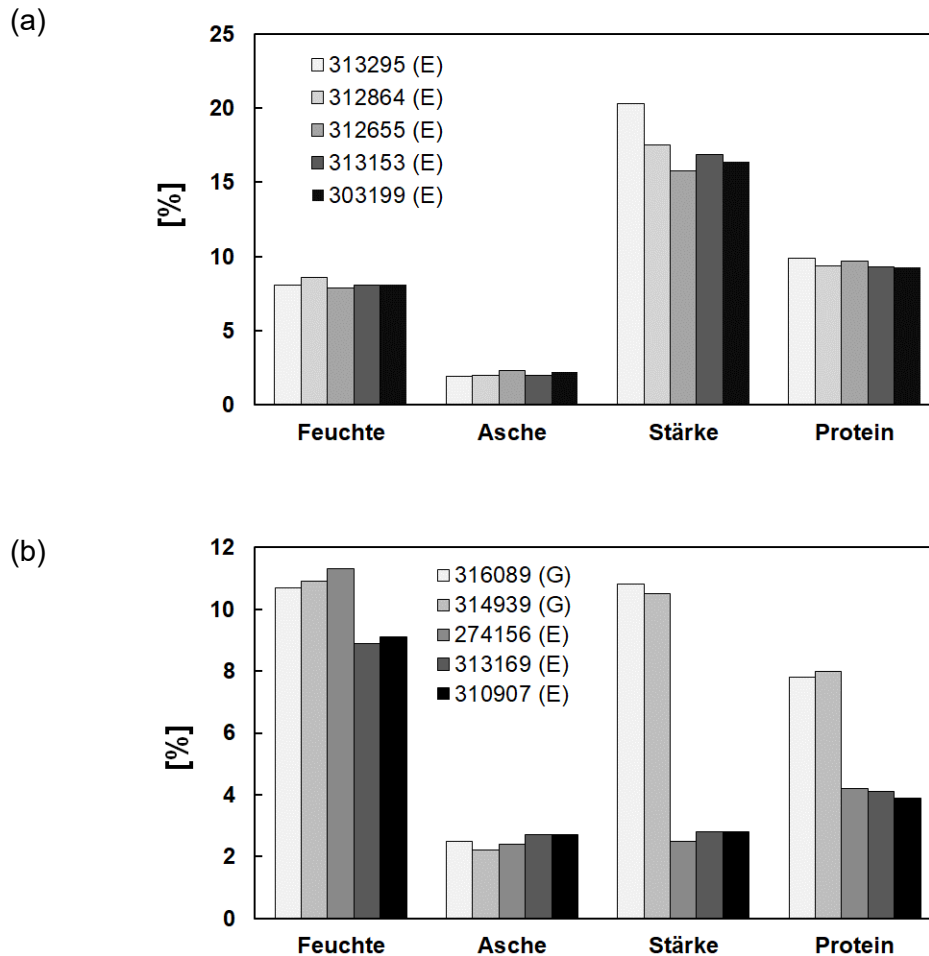


Abbildung 6: Chemische Zusammensetzung (Feuchte, Asche-, Stärke und Proteingehalt) von jeweils fünf Chargen industriell gewonnener Erbseninnerfaser (a) und Erbsenaußenfaser (b). (E) und (G) kennzeichnen die unterschiedlichen Produktionsstandorte (Emlichheim, Golßen) der jeweiligen Chargen.

Die fünf Chargen der Innenfasern (Abbildung 6a) wiesen nur sehr geringfügige Unterschiede untereinander auf. Im Gegensatz dazu zeigten die fünf Chargen Außenfasern eine starke Heterogenität auf (Abbildung 6b), welche offensichtlich auf die unterschiedlichen Produktionsstandorte und die jeweiligen Prozesstechnologien zurückzuführen ist. So konnten in den Chargen aus Golßen (Lot-Nr. 316089 und 314939) mit 11 bzw. 8 % deutlich höhere Stärke- bzw. Proteingehalte als in den Chargen aus Emlichheim (Lot-Nr. 274156, 313169 und 310907) mit 2 bzw. 4 % nachgewiesen werden. Die gefundenen Abweichungen sind wahrscheinlich auf die höheren Anteile an verbliebenen Endospermbestandteilen in den Schalen zurückzuführen. Auf Grundlage

dieser Ergebnisse wurden für die weiterführenden Projektarbeiten Chargen mit vergleichsweise geringen Protein- bzw. Stärkegehalten ausgewählt, mit dem Ziel den Anteil an nicht-Ballaststoff-Fractionen zu minimieren (Außenfaser-Lot 303199, Innenfaser-Lot 310907).

Diese Chargen wurden anschließend hinsichtlich ihres Ballaststoffgehalts (unlösliche und lösliche Ballaststoffe) untersucht. Erwartungsgemäß wies die Außenfaser deutlich höhere Ballaststoffgehalte mit einem geringeren Anteil an löslichen Ballaststoffen auf als die Innenfaser (Tabelle 3).

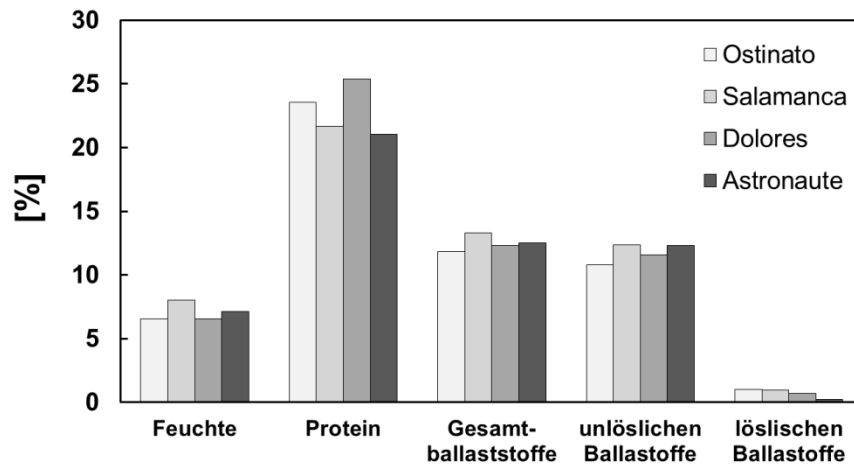
Tabelle 3: Ballaststoffgehalte (gesamt, unlöslich und löslich) ausgewählter Innen- und Außenfaser-Chargen.

Charge Lot-Nr.	Ballaststoffe [%]		
	gesamt	unlöslich	löslich
310907 (Außenfaser)	82,1 ± 1,0	79,4 ± 0,4	2,7 ± 1,1
303199 (Innenfaser)	67,7 ± 0,5	66,5 ± 0,0	1,2 ± 0,5

Die Gehalte an Feuchte, Protein und Gesamtballaststoffen (unterteilt in lösliche und unlösliche Fraktionen) für die sortenreinen Proben sind in Abbildung 7 dargestellt. Hierbei zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den Protein- und Gesamtballaststoffgehalten industriell hergestellter Innenfasern ($9.5 \pm 0.3 \%$ / $67.7 \pm 0.5 \%$, Abbildung 6, Tabelle 3) und den entsprechenden Fraktionen aus den sortenreinen Proben ($22.9 \pm 1.9 \%$ / $12.5 \pm 0.6 \%$, Abbildung 7a). Diese Unterschiede können auf die Extraktion von Stärke und Protein bei der industriellen Gewinnung der Innenfaser zurückgeführt werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Innenfasern wurden bei der Untersuchung der Außenfasern keine bedeutsamen Unterschiede im Protein- ($\sim 5 \%$) und Gesamtballaststoffgehalt ($78.9 \pm 0.4 \%$) zwischen den industriellen und den sortenreinen Proben gefunden.

Um auf den Pektingehalt der Proben schließen zu können, wurden der Galakturonsäure-Gehalt als Markersubstanz für Pektin und der Veresterungsgrad der Proben in den jeweiligen Faser-Rohstoffen bestimmt. Für die untersuchten industriellen Misch-Chargen wurden dabei jeweils vergleichbare Gehalte an Galacturonan (Außenfaser: $10.6 \pm 0.2 \%$; Innenfaser: $11.9 \pm 0.2 \%$) und ein vergleichbarer Veresterungsgrad (Außenfaser: $24.0 \pm 0.2 \%$; Innenfaser: $25.4 \pm 0.4 \%$) ermittelt. Im Vergleich zwischen industriellen und sortenreinen Proben zeigten sich hauptsächlich Unterschiede zwischen den Innenfasern. So wies die industrielle Probe L-303199 im Vergleich zu den sortenreinen Innenfasern das Zehnfache an Galakturonsäure auf. Der Veresterungsgrad war jedoch bei allen Proben ähnlich (Tabelle 4). Es ist davon auszugehen, dass die industrielle Entfernung von Stärke und Protein bei der industriellen Gewinnung der Innenfaser zum erhöhten Galakturonsäuregehalt geführt hat. Genauer gesagt handelt es sich hierbei um einen relativen Effekt: durch die Entfernung der nicht-Ballaststoff-Komponenten nimmt die Reinheit der gewonnenen Fasern und damit der Pektingehalt in der Probe zu.

(a)



(b)

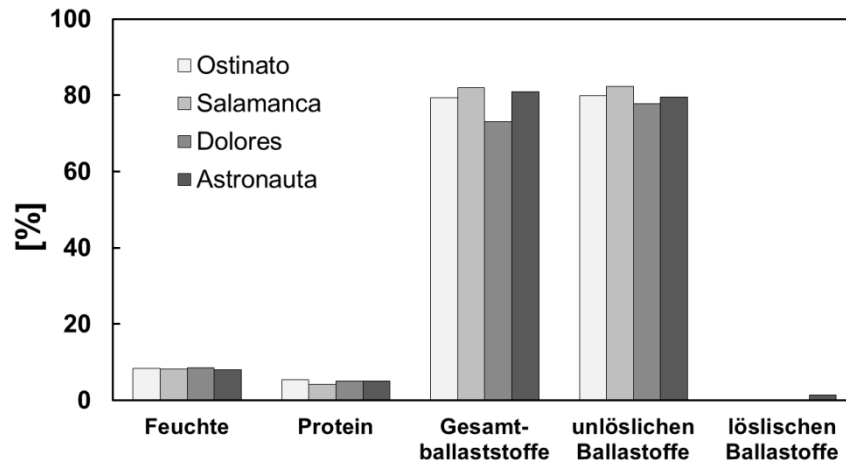


Abbildung 7: Chemische Zusammensetzung (Feuchte, Protein- und Gesamtballaststoffgehalt sowie Gehalt an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen) von vier sortenreinen Erbseninnenfasern (a) und Erbsenaußenfasern (b).

Tabelle 4: Gehalt an Galakturonsäure und Veresterungsgrad der Innen- und Außenfasern ausgewählter industriell hergestellter und sortenreiner Fasern.

Sorte	Galakturonsäure Gehalt [%]	Veresterungsgrad, [%]
<i>Innenfaser</i>		
L-303199	10,60 ± 0,20	24,0 ± 0,2
Ostinato	1,38 ± 0,01	18,6 ± 0,3
Salamanca	1,38 ± 0,02	19,1 ± 0,2
Dolores	1,22 ± 0,01	16,1 ± 0,4
Astronauta	1,67 ± 0,06	16,0 ± 0,5
<i>Außenfaser</i>		
L-310907	11,9 ± 0,2	25,4 ± 0,4
Ostinato	8,8 ± 0,1	33,2 ± 0,3
Salamanca	9,6 ± 0,5	29,1 ± 0,1
Dolores	8,5 ± 0,2	29,3 ± 0,1
Astronauta	9,6 ± 0,3	33,7 ± 0,5

Charakterisierung der physikalischen und funktionellen Eigenschaften

Die Proben wurden im Weiteren hinsichtlich ihrer Partikelgrößenverteilung, ihrer Farbeigenschaften sowie mittels Lichtmikroskopie charakterisiert.

Zunächst wurden die Partikelgrößenverteilungen der industriell hergestellten Fasern mittels Siebanalyse bestimmt. Abbildung 8 zeigt die ermittelten Größenparameter D_{50} (Median), D_{10} und D_{90} (zehntes und neunzigstes Perzentil der massenbezogenen Partikelgrößenverteilung) für die Innen- und Außenfaser-Chargen. Im Ergebnis wiesen die verschiedenen Innenfaser-Chargen im Vergleich untereinander ähnliche Größenparameter D_{10} , D_{50} und D_{90} auf, welche jedoch beträchtlich kleiner waren verglichen mit den jeweiligen Parametern der Außenfaser-Chargen. So zeigte sich für die Innenfasern im Mittel ein D_{90} von 367 μm und für die Außenfaser ein D_{90} von 2222 μm . Alle Außenfaser-Chargen wurden daher vor der weiteren Charakterisierung einer Trockenvermahlung (< 500 μm) unterzogen, durch welche eine deutlich homogenere Partikelgrößenverteilung zwischen den Chargen erzielt werden konnte (Abbildung 8, c).

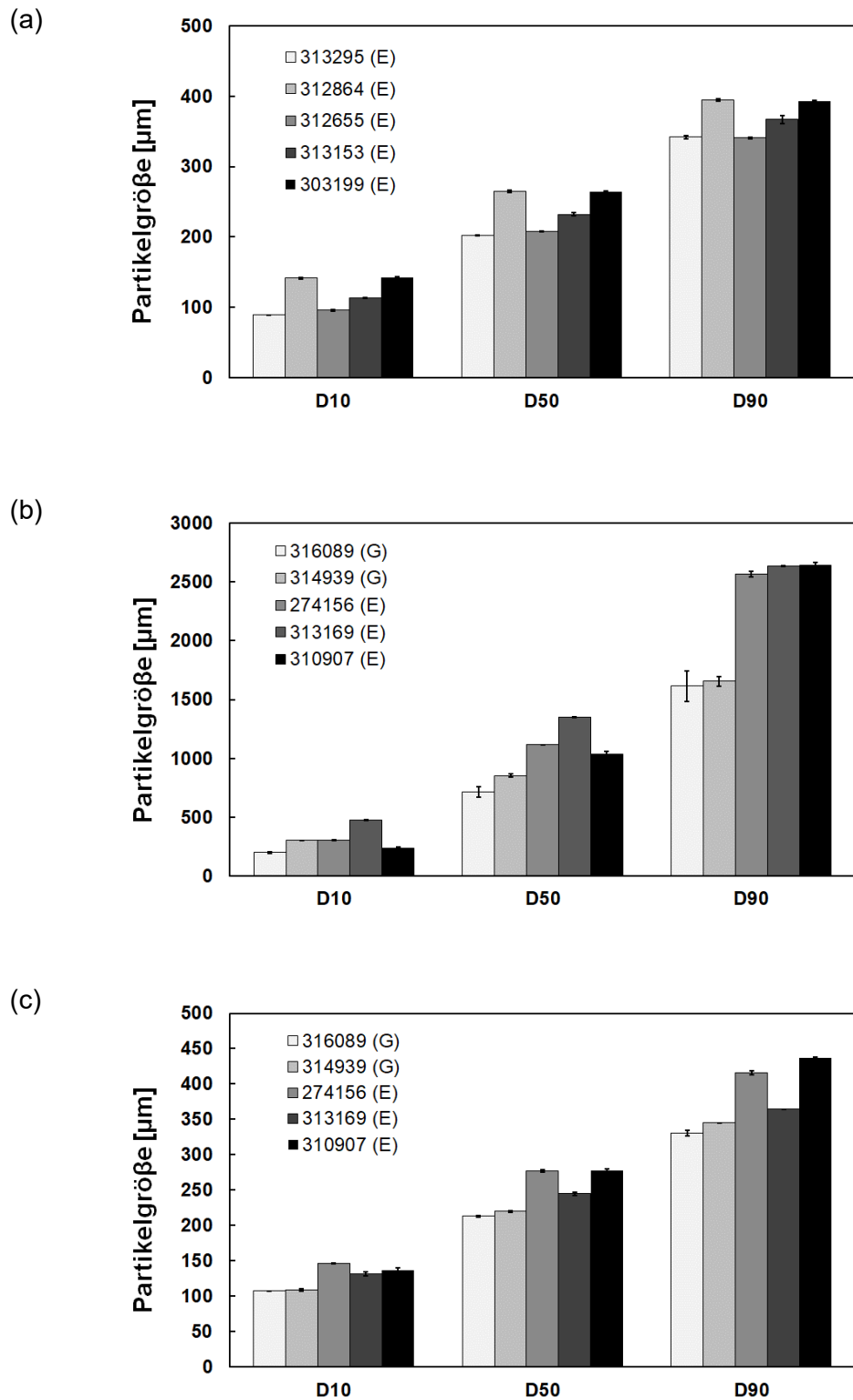


Abbildung 8: Ermittelte Parameter D_{10} , D_{50} und D_{90} der Partikelgrößenverteilung von industriell hergestellten Erbseninnenfasern (a), Erbsenaußenfasern (b) (beide jeweils unbehandelt) sowie Erbsenaußenfasern nach Trockenvermahlung ($< 500 \mu\text{m}$) (c).

Für die sortenreinen Proben, die durch Lichtstreuung analysiert wurden, ergab sich eine bimodale Verteilung für die Innenfaser und eine monomodale Verteilung für die Außenfaser (vgl. Abbildung 9).

Im Vergleich zwischen Abbildung 8 und Abbildung 9 zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Größe

der Proben. Dieser ist auf die Anwendung der verschiedenen Methoden zurückzuführen. Da bei der Siebanalyse eine Ausrichtung der Partikel stattfindet wird bei dieser Methode vornehmlich die Partikelbreite bestimmt. Dies erklärt die geringere gemessene Partikelgröße für die industriellen Proben.

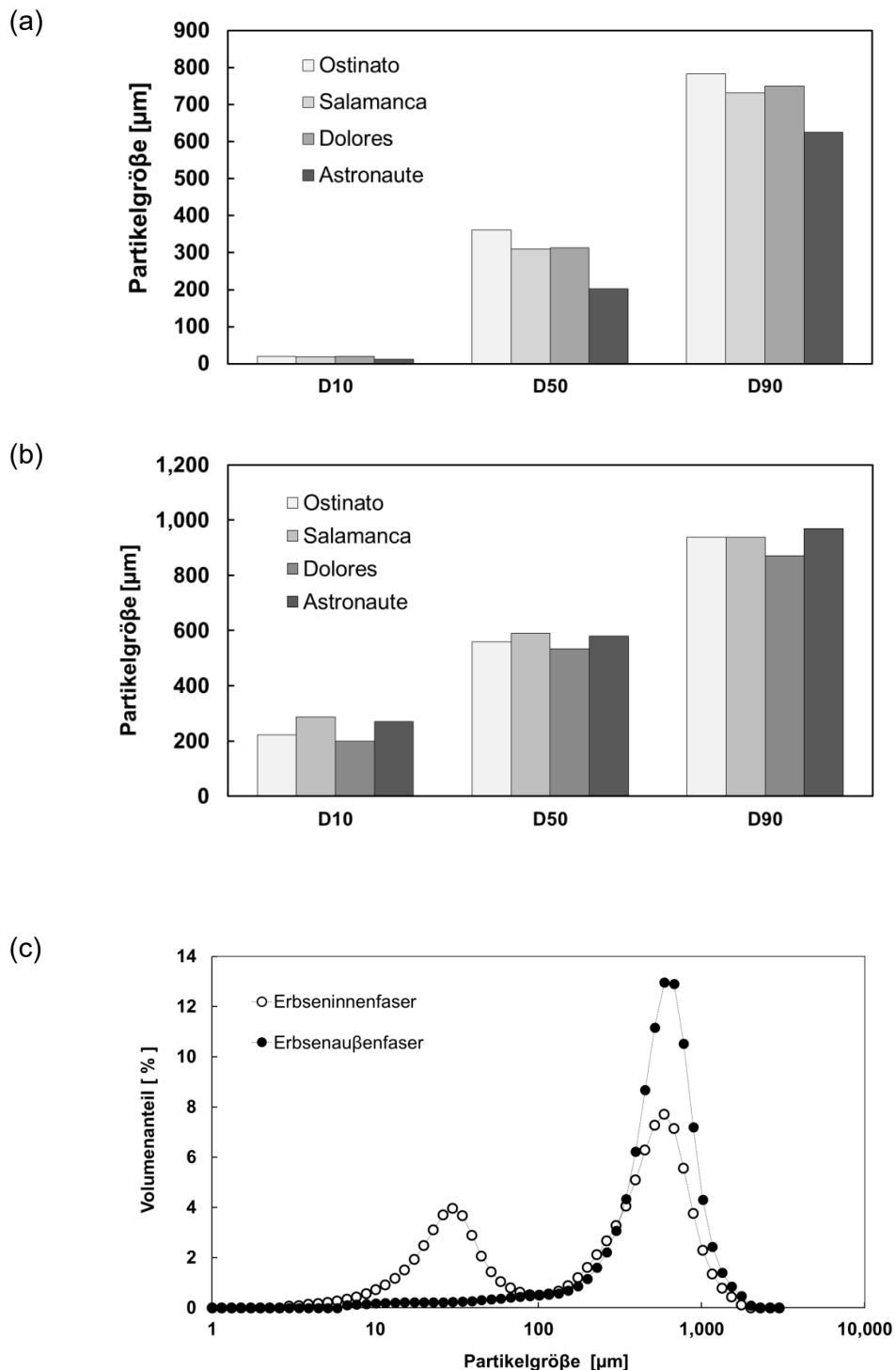


Abbildung 9: Ermittelte Parameter D_{10} , D_{50} und D_{90} der Partikelgrößenverteilung von (a) Erbseninnenfasern, (b) Erbsenaußenfasern der sortenreinen Proben; (c), exemplarische Volumenverteilung der Erbseninnen- und -außenfasern der Sorte Dolores.

Die Farbeigenschaften von Erbseninnenfasern und -außenfasern wurden entsprechend dem CIE-Lab-Farbraum ermittelt, wobei der L*-Wert die Helligkeit, der a*-Wert die Rot(+)- bzw. Grün(-)-Intensität und der b*-Wert die Gelb(+)- bzw. Blau(-)-Intensität widerspiegelt. Die ermittelten Werte sind in Tabelle 5 dargestellt. Mit Ausnahme der braunen Außenfaser der Sorte Dolores zeigten alle Proben einen hohen L*-Wert ($\geq 80\%$) (Tabelle 5). Helligkeit ist in Hinblick auf eine mögliche spätere Anwendung im Lebensmittel aus Gründen der Farbneutralität von Produkten von besonderer Bedeutung. Im Vergleich wiesen die Außenfasern geringere L*-Werte auf als die Innenfasern. Diese waren im Vergleich mit Literaturwerten dennoch höher als entsprechende Werte für z. B. Hafer-, Weizen- oder Apfelfasern (Rosell et al., 2009). Dementsprechend ist eine grundsätzliche Eignung der untersuchten Erbsenfasern für den Lebensmitteleinsatz bestätigt.

Tabelle 5: Farbwerte von Erbseninnen- und -außenfasern.

Charge/ Sorte	Farbwerte (CIE-Lab)		
	L*	a*	b*
<i>Innenfaser</i>			
L-303199 (E)	91,9 ± 0,2	0,02 ± 0,1	12,1 ± 0,2
Ostinato	90,8 ± 0,2	1,2 ± 0,1	24,6 ± 0,7
Salamanca	92,1 ± 0,3	1,1 ± 0,3	20,8 ± 0,6
Dolores	91,7 ± 0,3	0,4 ± 0,1	22,3 ± 1,0
Astronaut	91,8 ± 0,9	0,4 ± 0,1	24,2 ± 1,6
<i>Außenfaser</i>			
L-310907	79,8 ± 0,5	0,43 ± 0,04	14,9 ± 0,6
Ostinato	80,4 ± 0,2	0,51 ± 0,04	16,5 ± 0,1
Salamanca	81,1 ± 0,1	0,46 ± 0,04	15,4 ± 0,1
Dolores	54,3 ± 2,0	6,20 ± 0,04	14,4 ± 0,5
Astronaut	80,5 ± 0,2	0,73 ± 0,05	16,9 ± 0,1

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen ergaben keine bedeutenden Unterschiede innerhalb der verschiedenen Chargen von industriell hergestellten Innen- und Außenfasern. Exemplarisch ist jeweils eine Aufnahme in Abbildung 10 dargestellt. Gut zu erkennen ist der höhere Anteil an Endosperm (Kotyledonen)-Zellen bei der Innenfaser im Vergleich zur Außenfaser.

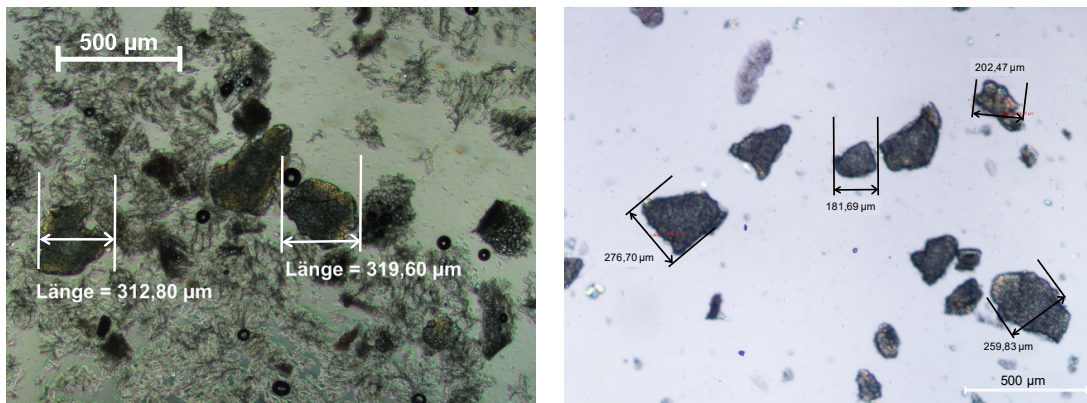
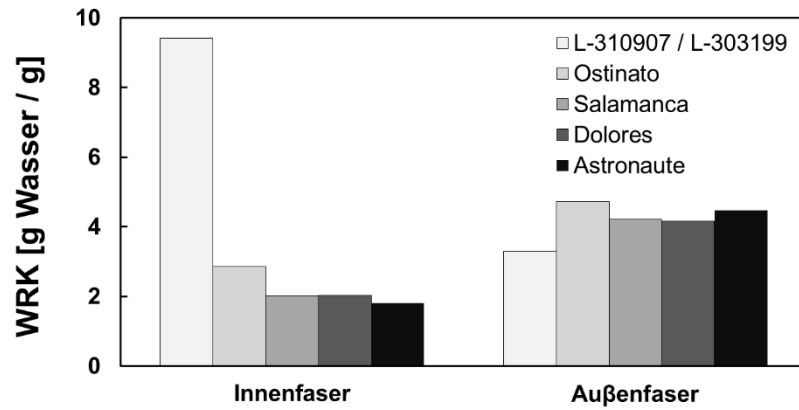


Abbildung 10: Lichtmikroskopische Aufnahme von industriell hergestellter Erbseninnenfaser (L-303199, links) und Erbsenaußenfaser (L-310907, rechts) nach Trockenvermahlung ($< 500 \mu\text{m}$).

Die technofunktionellen Eigenschaften der Fasern wurden anhand deren Wasserbindungseigenschaften (Wasserretentionskapazität (WRK), Quellvermögen und Wasseraufnahme) bewertet. Alle industriellen Proben zeigten ähnliche Ergebnisse für die Wasserretentionskapazität (WRK) und das Quellvermögen. Dementsprechend sind nur Werte für ausgewählte Chargen in Abbildung 11 dargestellt. Die industriell gewonnene Innenfaser erreichte die höchsten Werte für die WRK und das Quellvermögen ($9,4 \pm 0,2 \text{ g Wasser/g Probe}$ und $16,2 \pm 0,3 \text{ mL/g}$). Diese Ergebnisse lassen sich auf eine höhere Porosität aufgrund der Extraktion von Protein und Stärke zurückführen. Die Außenfasern der sortenreinen Proben zeigten im Vergleich zu den entsprechenden Innenfasern leicht erhöhte WRK und Quellvermögen.

Abbildung 12 zeigt weiterhin die Kinetik der Wasseraufnahme über einen Zeitraum von zwei Stunden bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Beide Fasertypen nehmen innerhalb der ersten fünf Minuten vergleichsweise schnell Wasser auf und nähern sich dann asymptotisch einem Endwert zum Versuchsende, wobei die Innenfaser insgesamt mehr Wasser aufnimmt als die Außenfaser. Damit werden die Ergebnisse der WRK und Quellung bestätigt.

(a)



(b)

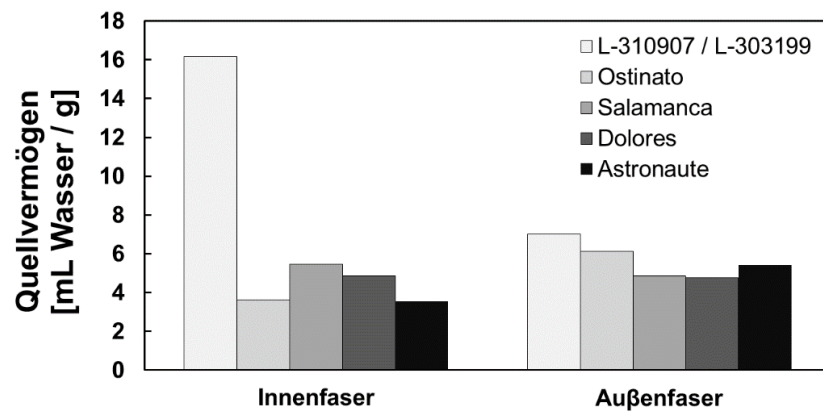


Abbildung 11: Wasserretentionskapazität (a) und Quellvermögen (b) von Innen- und Außenfasern industrieller und sortenreiner Proben.

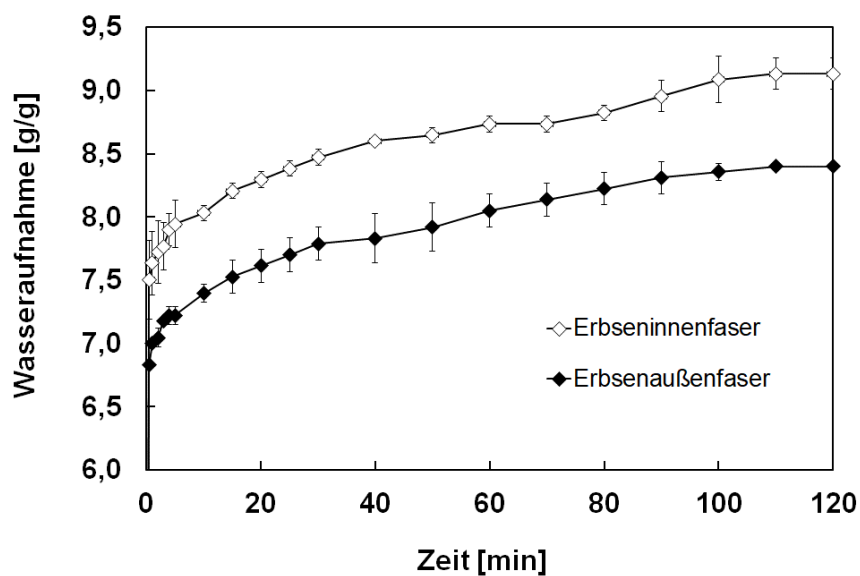


Abbildung 12: Kinetik der Wasseraufnahme von Erbseninnenfaser (L-303199) und Erbsenaußenfaser (L-310907) bestimmt mittels Kapillarsaugmethode.

Zusammenfassend wurden verschiedene Chargen nicht sortenreiner industriell hergestellter Innen- und Außenfasern sowie entsprechende sortenreine miteinander verglichen. Im Ergebnis wurden jeweils eine Charge Innenfaser (L-303199) und Außenfaser (L-310907) für die weiterführenden Versuche in den nachfolgenden Arbeitspaketen ausgewählt.

Saponin- Flavonoid- und Trypsininhibitorgehalte

Erbsenaußen- und -innenfasern sind reich an sekundären Pflanzenstoffen. Um weitere Vorteile der Ressourcenverwendung zu nutzen, ist es notwendig, die chemische Zusammensetzung im Hinblick auf wertgebende und antinutritive Inhaltsstoffe der Erbsenschalen und Kotyledonen zu untersuchen, v.a. Saponine, Flavonoide und Trypsininhibitoren, wobei letztere ggf. als adverse Substanzen diskutiert werden können.

Aus vorhergehenden Projekten waren die Erbsensaponine DDMP-Saponin (Sojasaponin β g) und Saponin B (Sojasaponin I) bekannt, die eine Zuckerkette an C3-Position aufweisen. Das DDMP-Saponin enthält zusätzlich einen 2,3-Dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (DDMP)-Rest an Position C22. Die DDMP konjugierte Verbindung ist nur bedingt stabil und hydrolysiert unter bestimmten Bedingungen während der Lebensmittelbe- und -verarbeitung zum Saponin B und Maltol (Abbildung 13). Dies ist für die in diesem Projekt durchzuführenden Arbeiten ein wichtiger Aspekt.

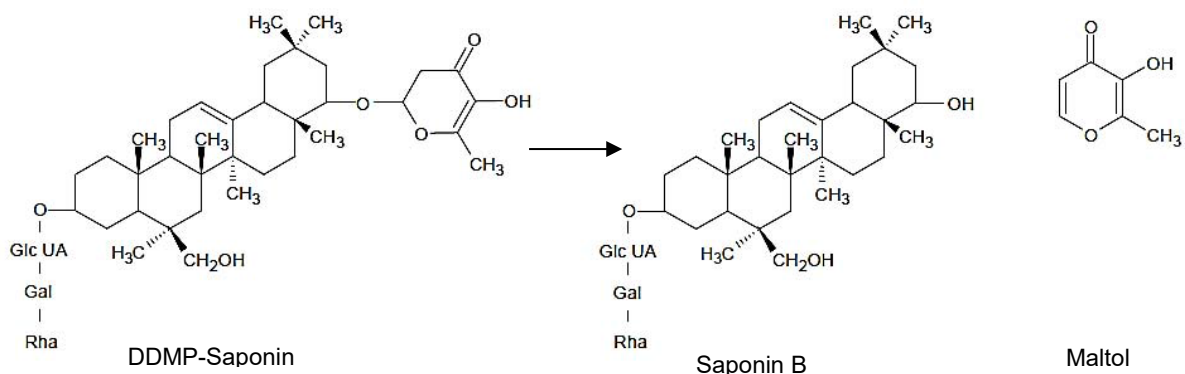


Abbildung 13: Umwandlung von DDMP-Saponin zu Saponin B und Maltol.

Die Charakterisierung einzelner Mahlfractionen/Erbsenfraktionen wurde über den Gehalt an Saponin B bzw. Gesamtsaponin quantitativ mittels HPTLC (*high-performance thin-layer chromatography*) ermittelt.

Bei dem Vergleich der Saponingehalte in den Außen- und den Innenfasern war auffällig, dass die Saponingehalte in den Innenfasern ziemlich homogen sind, die in den Außenfasern aber deutlichen Schwankungen unterliegen. Die dünnschichtchromatografische Trennung der Saponine zeigt die Intensität der Banden mit einem deutlichen Unterschied zwischen der Außenfaser (1-6) und der Innenfaser (7-10) (Abbildung 14). Die Außenfaserproben enthalten einen deutlich höheren Gehalt an DDMP-Saponin (lila Bande) als die Innenfasern. In der Innenfaser sind beide Saponine, sowohl Saponin B, als auch DDMP-Saponin dominierend und führen somit auch zu einem höheren Gesamtsaponingehalt vergleichend zur Außenfaser.

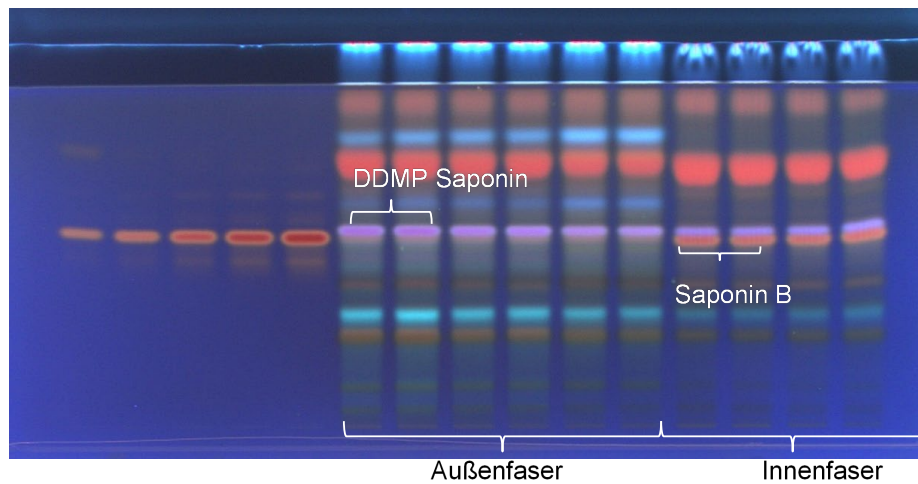


Abbildung 14. Dünnschichtchromatographische Trennung der Saponine in einer ausgewählten Erbsenfasercharge.

Zwischenzeitlich wurde auch durch das Projekt DemoNetErBo bekannt, dass die Schwankungsbreiten der Saponinkonzentration in Erbsen sehr groß sein können. Dies ist einerseits abhängig vom Genotyp, aber auch andererseits sehr stark beeinflusst durch ökophysiologische Faktoren (u.a. Anbaupraxis, Verwendung von Pestiziden/Insektiziden) und somit auch von Jahresschwankungen und der generellen Zusammensetzung der Inhaltsstoffe (Ergebnisse der Universität Hamburg im Projekt DemoNetErBo). Beispielhaft ist hier die Abhängigkeit vom Genotyp dargestellt. Abbildung 15 zeigt die Auftragung der Saponingehalte der im Projekt DemoNetErBo am häufigsten beprobten Erbsensorten. Die Sorten Alvesta und Salamanca weisen mit 3.1 mg/g die höchsten Saponingehalte auf, die Sorte Respect mit 2.4 mg/g den durchschnittlich niedrigsten.

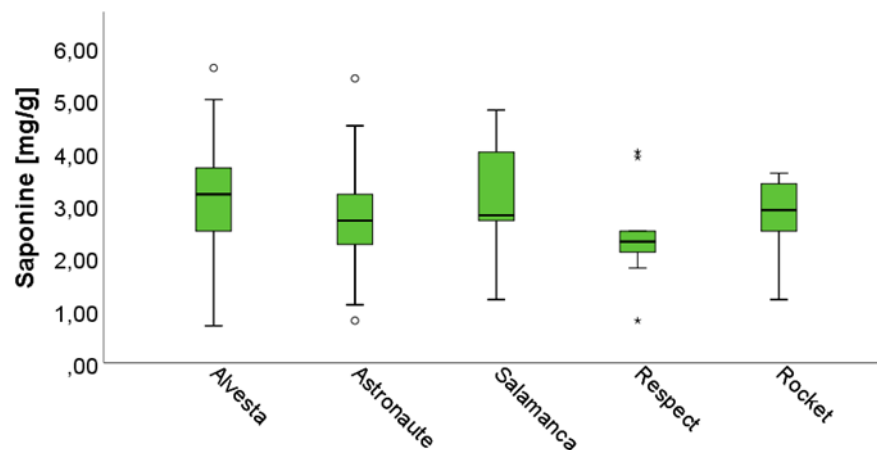


Abbildung 15: Verteilung des Saponingehaltes einer ausgewählten Erbsenstichprobe ($n \geq 10$) des Projektes DemoNetErBo. Häufigkeiten der Erbsensorten: Alvesta ($n = 45$), Astronaute ($n = 43$), Salamanca ($n = 13$), Respect ($n = 10$) und Rocket ($n = 10$).

In der Schale von Erbsen ist der Saponingehalt ca. dreimal höher als in dem restlichen Korn (Reim & Rohn, 2015). Demnach müsste mit zunehmendem Tausendkorngewicht der Saponingehalt niedriger werden, da der saponinärmere Mehlkörper mit steigender Korngröße überproportional

zunimmt im Vergleich zur saponinreicheren Schale. In Abbildung 16 ist die Korrelation zwischen dem Saponingehalt und dem Tausendkorngewicht in Erbsen dargestellt.

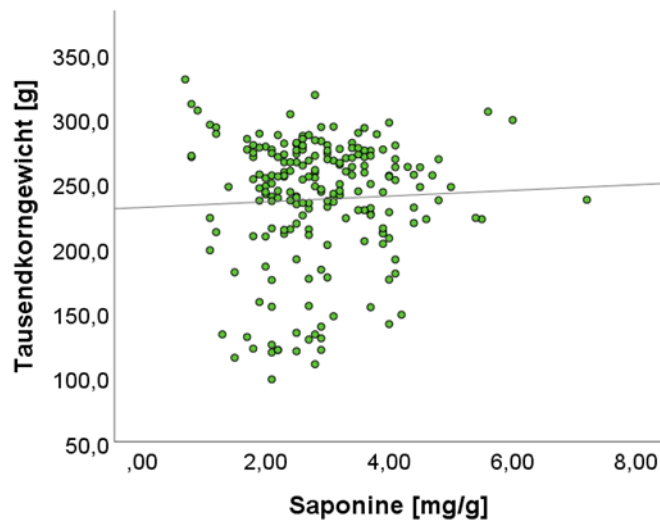


Abbildung 16: Korrelation des Tausendkorngewichtes (g) und dem Saponingehalt (mg/g) in Erbsen des Projektes DEMoNetErbo in den drei Anbaujahren 2016, 2017, 2018 insgesamt.

Es konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen dem Tausendkorngewicht und dem Saponingehalt ermittelt werden. Als Begründung ist anzuführen, dass der Saponingehalt in Erbsen primär von abiotischen und exogenen Faktoren beeinflusst wird und somit nicht im Zusammenhang mit den anderen genotypischen Merkmalen gebracht werden kann. Zwar könnte eine Isolierung aus sortenreinen, sehr saponin-reichen Sorten möglich sein, dann wäre aber auch ein entsprechendes Anbauprotokoll einzuhalten, um die Ausbeute aus den Schalen zu erhöhen

Vergleichend zum Proteingehalt kann gesagt werden, dass der Gesamtsaponingehalt mit dem Proteingehalt steigt. Der Saponingehalt und Proteingehalt ist in der Innenfaser höher als in der Aussenfaser. Die Interaktion von Saponinen mit bestimmten Proteinen, wie Casein und Sojaprotein ist bereits bekannt und erklärt die Proportionalität des Saponingehaltes mit dem Proteingehalt.

Flavonoide sind sekundäre Pflanzenstoffe, denen positive Wirkungen für die menschliche Ernährung nachgesagt werden. Sie können u.a. antioxidativ, antimikrobiell und ggf. sogar antikanzerogen wirken. Leider verhält es sich mit den Flavonoiden in ähnlicher Weise wie mit den Saponinen. Hier waren die Gehalte noch deutlich niedriger als ursprünglich erwartet und es konnten keine reproduzierbaren Werte ermittelt werden.

Wie in Tabelle 6 zu erkennen, ist die Trypsininhibitoraktivität (TIU/mg Probe) in der Innenfaser im Vergleich zu der Außenfaser erhöht. Aus den Ergebnissen des Projektes DemoNetErBo ist bekannt, dass die durchschnittliche Trypsininhibitoraktivität einer Erbse bei 36,1 TIU/mg Erbse liegt. In der Schale der Erbsen wurde eine verhältnismäßig hohe TI-Aktivität festgestellt und kann entsprechend durch eine Vorbehandlung dieser kommerziellen Proben, z.B. durch Schälern vermindert werden.

Proteaseinhibitoren haben ihren Namen aufgrund ihrer bekanntesten Eigenschaft, Proteinasen zu hemmen, erhalten. Sie inhibieren dabei sowohl proteolytische als auch esterolytische Prozesse. Die Inhibitoren sind charakteristisch für Hülsenfruchtsamen. Durch Erhitzen werden Protease-Inhibitoren meist inaktiviert. In diesem Projekt wurde wie in 3.2 beschrieben die Trypsin-inhibierende Einheiten pro mg Probe bestimmt.

Tabelle 6: Gesamtsaponingehalt in [mg/g Probe] und Trypsininhibitoraktivität [TIU/mg].

Charge (Lot-Nr.)	Saponingehalt [mg/g]	Trypsininhibitoraktivität [TIU/mg]
Innenfaser		
313295 (E)	5,02 ±1,63	18,21 ±0,87
312864 (E)	4,91 ±0,39	16,81 ± 3,62
312655 (E)	4,40 ±1,63	25,51 ± 1,69
313153 (E)	4,97 ±0,14	n.n.
303199 (E)	n.n.	n.n.
Astronaute	0,93 ± 0,03	45,45 ± 1,84
Salamanca	0,48 ± 0,06	43,68 ± 5,77
Ostinato	0,82 ± 0,05	30,79 ± 0,67
Dolores	0,68 ± 0,07	33,1 ± 3,00
Außenfaser		
316089 (G)	3,24 ±0,16	14,96 ± 2,06
314939 (G)	4,97 ±0,44	19,44 ± 1,15
274156 (E)	2,61 ±0,25	2,02 ± 1,17
313169 (E)	0,95 ±0,12	5,66 ± 0,96
310907 (E)	0,86 ±0,25	3,70 ± 1,09
Astronaute	3,15 ±0,06	3,17 ± 0,25
Salamanca	2,76 ± 12	3,11 ± 1,39
Ostinato	3,3 ± 0,44	5,04 ± 0,38
Dolores	1,64 ± 0,47	26,93 ± 2,35

Basierend auf den bis hierher erhaltenen Ergebnissen wurden für die weiterführenden Untersuchungen jeweils eine Charge von Innen- und Außenfaser ausgewählt. Ausschlaggebend für die Entscheidung waren zum einen die Protein- und Stärkegehalte, welche mit Hinblick auf die Gewinnung von Fasern mit hohem Ballaststoffanteil, möglichst gering sein sollten. Da sich die Chargen hinsichtlich der weiteren untersuchten Parameter zum anderen nur minimal voneinander unterschieden, wurde somit die Außenfaser-Charge mit der Lot-Nr. 310907 ausgewählt. Weiterhin wurde anhand dieser Kriterien eine Innenfaser-Charge (Lot-Nr. 303199) ausgewählt, welche zunächst als Vergleichsprobe für die weitere Basischarakterisierung, darunter Ballaststoffgehalt und Wasseraufnahme, diente.

Charakterisierung der Neutralzucker/Oligosaccharide

Ein *Screening* der Neutralzucker bzw. des Oligosaccharidprofils soll die Basischarakterisierung zur Bewertung der vorhandenen Fasern unterstützen. Viel wesentlicher ist die Anwendung jedoch, wenn die Fasern verändert werden, da dann ggf. anhand der Zucker- oder Oligosaccharidprofile bewertet kann, welche Anteile einzelner Kohlenhydrate (u.a. Cellulose) bevorzugt in den Fraktionen vorliegt bzw. durch eine Behandlung verändert wurden (ggf. auch Spaltprodukte).

Die Erbsenfaser-Suspensionen der TUB wurden wie in 3.2.1. behandelt und anschließend mittels HPTLC getrennt. Die aufgetragenen Proben sind in Abbildung 17 und Abbildung 18 und dargestellt.

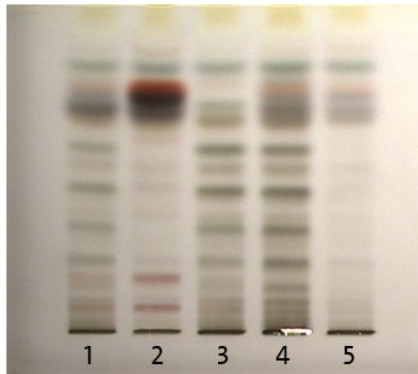


Abbildung 17: Oligosaccharidprofile der Erbsenfasersuspension (hier: 1- Außenfaser 316089, 2- Außenfaser 314939, 3- Außenfaser 274156, 4- Außenfaser 313169, 5- Außenfaser 310907)

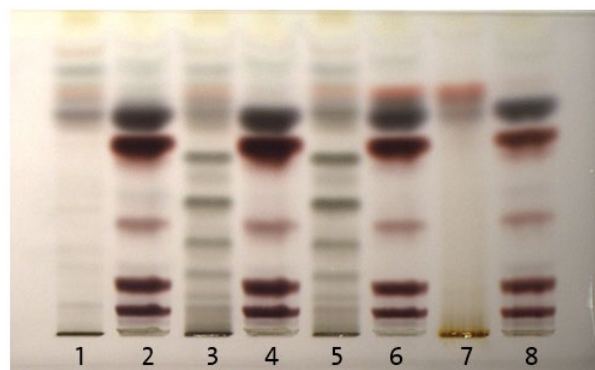


Abbildung 18: Oligosaccharidprofile der Reinsorten. 1- Pea Hull Astronaute, 2- Cotyledone Astronaute, 3- Pea Hull Salamanca, 4- Cotyledone Salamanca, 5- Pea Hull Ostinato, 6- Cotyledone Ostinato, 7- Pea Hull Dolores, 8- Cotyledone Dolores.

Wie den chromatografischen Trennungen zu entnehmen ist, sind die Zusammensetzungen der Neutralzucker/Oligosaccharidprofile in den Innen- und Außenfasern unterschiedlich. Zudem sind in den Cotyledonen, wie zu erwarten, höhere Konzentrationen dieser zu erkennen. Die Zusammensetzungen der Cotyledonen aller Proben unterscheidet sich gering, während in der Neutralzucker-Zusammensetzung der Außenfaser-Proben mithilfe des *Screenings* z.T. mehr und/oder weniger Banden sind.

4.2 Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern

Basischarakterisierung der Partikelgrößenfraktion 50 – 100 µm

Die Ergebnisse der Basischarakterisierung der für die mechanische Prozessierung vorbereiteten Außenfaser-Fraktion sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Die Schritte der Trockenvermahlung und Siebfractionierung führten zu einer Erhöhung des Ballaststoffgehaltes (vgl. Tabelle 7) sowie zu einer Reduzierung des Protein- und Stärkegehaltes im Vergleich zur Ausgangsfaser (vgl. Abbildung 6). Im Gegensatz dazu wies die Fraktion < 50 µm einen deutlich höheren Proteingehalt ($6,0 \pm 0,1$ %) sowie einen geringeren Anteil und unlöslichen Ballaststoffen ($71,9 \pm 0,4$ %) auf.

Tabelle 7: Zusammensetzung sowie physikalische Parameter und Wasserbindungseigenschaften von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 µm).

Außenfaser (L-310907)	
Zusammensetzung	
Feuchte [%]	$4,1 \pm 0,7$
Asche [%]	$2,6 \pm 0,1$
Stärke [%]	$0,29 \pm 0,05$
Protein [%]	$3,4 \pm 0,1$
Ballaststoffe gesamt [%]	$86,3 \pm 0,6$
davon unlöslich [%]	$82,7 \pm 0,1$
davon löslich [%]	$3,6 \pm 0,6$
Saponin gesamt	$0,86 \pm 0,25$
Trypsininhibitoren [TIU/g]	$4,24 \pm 0,93$
Partikelgröße	
D ₁₀ [µm]	$72,8 \pm 0,2$
D ₅₀ [µm]	$112,7 \pm 0,4$
D ₉₀ [µm]	$148,8 \pm 0,5$
Farbe	
L*	$83,7 \pm 0,1$
a*	$-0,01 \pm 0,02$
b*	$13,8 \pm 0,1$
Wasserbindungseigenschaften	
Quellung [mL/g]	$6,0 \pm 0,0$
WRK [g/g]	$3,3 \pm 0,4$

Hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften, konnte des Weiteren festgestellt werden, dass die Reduzierung der Partikelgröße die Farbneutralität der untersuchten Außenfaser-Fraktion erhöhte, was sich gegenüber der entsprechenden Ausgangsfaser (Tabelle 7) in einem höheren L*-Wert und einem reduzierten b*-Wert (Gelb(+)-Intensität) zeigte. Eine Veränderung der Partikelform durch die

Trockenvermahlung konnte nicht festgestellt werden. Die Partikel wiesen auch im vermahlenden Zustand eine größtenteils rundliche Form auf (Abbildung 19).

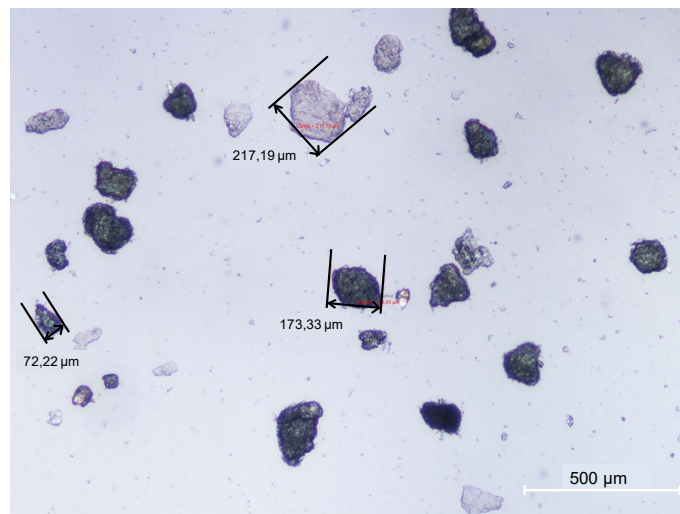


Abbildung 19: Lichtmikroskopische Aufnahme von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 µm).

Beim Vergleich der Wasserbindungseigenschaften zeigt sich, dass die Außen-Fraktion (50-140 µm) ähnliche Quellungs- und WRK-Werte wie die Fraktion < 500 µm aufweist (Abbildung 11). Demgegenüber ist die Wasseraufnahme der Fraktion 50 – 140 µm deutlich reduziert (Abbildung 20, vgl. Abbildung 12). Vermutlich ist dieser Effekt auf eine partielle Zerstörung der Zellstruktur durch die Trockenvermahlung zurückzuführen, in dessen Folge die Fähigkeit zur Wasserabsorption offenbar beträchtlich herabgesetzt wird.

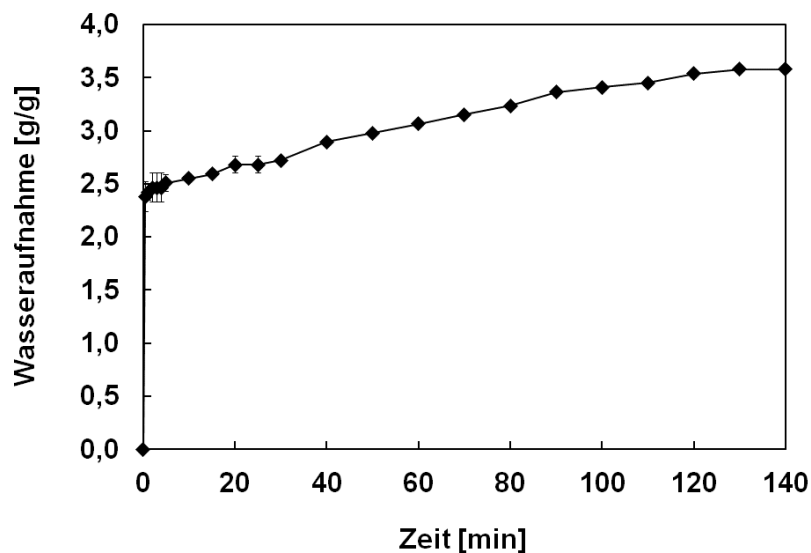


Abbildung 20: Kinetik der Wasseraufnahme von Erbsenaußenfaser (Fraktion 50 – 140 µm) bestimmt mittels Kapillarsaugmethode.

Systematische Untersuchung der geräteseitigen Einflussfaktoren (Druck, Anzahl der Durchläufe, Kammerkombination) auf Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften der Erbsenaußenfasern

Das Versuchsdesign umfasste 13 Experimente mit fünf Zentralpunkten, wobei die Einflussgrößen (Faktoren) ‚Druck‘ und ‚Anzahl an Durchläufen‘ jeweils auf drei Stufen (Druck: 500, 1250, 2000 bar; Anzahl an Durchläufen: 2, 5, 8) variiert wurden (Tabelle 8). Die experimentell ermittelten Daten wurden ausgewertet und anschließend eine Polynomgleichung [2] aufgestellt, welche das 90. Perzentil der Partikelgrößenverteilung (D_{90}) als Funktion der genannten Einflussfaktoren beschreibt.

Tabelle 8: Versuchsdesign für die mechanische Prozessierung von Erbsenaußenfasern mit den Faktoren Druck (P) und Anzahl an Durchläufen (N) sowie den experimentell ermittelten Daten für das 90. Perzentil der Partikelgrößenverteilung (D_{90}) als Antwortvariable.

Versuchs-Nr.	Druck P [bar]	Anzahl Durchläufe N	D_{90} [μm]
1	500	2	121,1
2	500	5	90,2
3	500	8	79,4
4	1250	2	98,6
5	1250	5	74,2
6	1250	8	66,9
7	2000	2	92,3
8	2000	5	73,2
9	2000	8	62,2
10	1250	5	75,7
11	1250	5	74,1
12	1250	5	75,1
13	1250	5	74,2

$$1/D_{90} = 3.5 \cdot 10^{-3} + 1.4 \cdot 10^{-3} \cdot N + 5.0 \cdot 10^{-6} \cdot P + 9.9 \cdot 10^{-8} \cdot P \cdot N - 7.2 \cdot 10^{-5} \cdot N^2 - 1.5 \cdot 10^{-9} \cdot P^2 \quad [2]$$

Polynomgleichung mit P = Druck [bar] und N = Anzahl an Durchläufen zur rechnerischen Ermittlung der Partikelgröße (D_{90})

Mit Hilfe dieser Gleichung wurden im vordefinierten Druckbereich (500 - 2000 bar) für eine unterschiedliche Anzahl an Durchläufen Modellkurven für den D_{90} berechnet, welche in Abbildung 21 dargestellt sind.

Zunächst lässt sich feststellen, dass der D_{90} sowohl mit zunehmendem Druck als auch mit zunehmender Anzahl an Durchläufen asymptotisch abnimmt. Des Weiteren sollte sich anhand der

Modellkurven theoretisch für jede Kombination von Druckstufe und Anzahl an Durchläufen die spezifische Partikelgröße D_{90} in den mechanisch prozessierten Erbsenfasersuspensionen vorhersagen und somit produzieren lassen.

Um dies nachzuweisen und somit das Modell zu validieren, wurden Erbsenfasersuspensionen erneut bei festgelegten Druck-Durchlauf-Kombinationen im Mikrofluidizer prozessiert und die D_{90} experimentell ermittelt. Dabei war zu berücksichtigen, dass sich theoretisch gleiche D_{90} -Werte bei unterschiedlichen Bedingungen erzielen ließen. Zum Beispiel könnte ein D_{90} von 80 μm sowohl bei 1270 bar und vier Durchläufen als auch bei 560 bar und sieben Durchläufen erreicht werden. Es wurden daher sechs Versuche durchgeführt welche in Tabelle 9 näher spezifiziert sind.

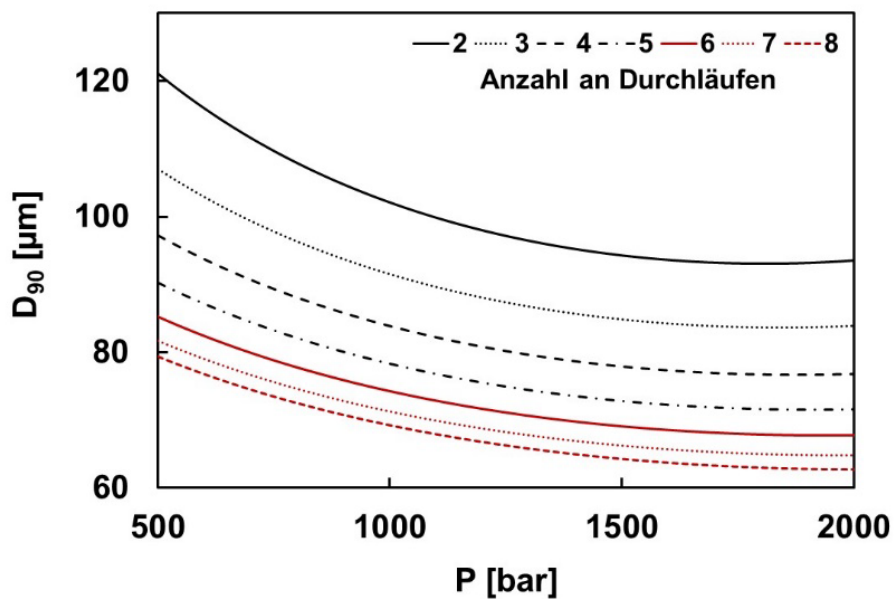


Abbildung 21: Berechnete Kurvenverläufe für den D_{90} in mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen für eine verschiedene Anzahl an Durchläufen N in Abhängigkeit vom Homogenisierdruck P .

Tabelle 9: Berechnete und gemessene (experimentell ermittelte) D_{90} -Werte von Erbsenaußenfasern und prozentuale Abweichung voneinander nach mechanischer Prozessierung bei unterschiedlichen Homogenisierbedingungen.

Probe	Druck P [bar]	Anzahl Durchläufe [N]	D_{90} berechnet [μm]	D_{90} gemessen [μm]	Abweichung [%]
120	520	2	120	119.8	-0.2
100A	1090	2	100	95.5	-4.7
100B	680	3	100	98.4	-1.6
80A	1270	4	80	81.5	+1.8
80B	560	7	80	82.5	+3.0
60	2000	8	63	60.2	-4.3

Dementsprechend wurden die D_{90} -Stufen 120, 100, 80 und 63 μm ausgewählt („ D_{90} berechnet“) und die Suspensionen mit einem Ziel- D_{90} von 100 bzw. 80 μm jeweils bei zwei unterschiedlichen Prozessbedingungen (A: höchster Druck mit minimaler Anzahl an Durchläufen bzw. B: geringster Druck mit maximaler Anzahl an Durchläufen) hergestellt. Im weiteren Verlauf sollte anhand dieser Varianten zudem bewertet werden, ob unterschiedliche Prozessbedingungen bei gleichem D_{90} zu abweichenden Struktureigenschaften und/oder abweichender Technofunktionalität führen. Darüber hinaus wären daraus entsprechende Überlegungen zur Wirtschaftlichkeit des Verfahrens abzuleiten.

Für alle sechs untersuchten Varianten wurden experimentell D_{90} -Werte bestimmt („ D_{90} gemessen“), welche nur eine geringe Abweichung ($< 5\%$) von den berechneten (vorhergesagten) Werten zeigten. Damit wiesen die berechneten Modelle eine hinreichende Genauigkeit für die Vorhersage der Partikelgröße bei der mechanischen Prozessierung von Erbsenaußenfasern im Mikrofluidizer auf. Im Folgenden wurden die sechs Fasersuspensionen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung, ihrer Mikrostruktur und ihrer technofunktionellen Eigenschaften näher charakterisiert.

Zunächst wurden unterschiedliche Faserfraktionen entsprechend ihrer Wasser- bzw. Ethanol-Löslichkeit ermittelt. Anteile von drei Ballaststofffraktionen ermittelt. Diese waren:

- eine wasserunlösliche Fraktion (vorrangig Cellulose und unlösliche Hemicellulosen)
- eine wasserlösliche, aber ethanolunlösliche Fraktion (hochmolekulare Polysaccharidverbindungen wie Pektin oder lösliche Hemicellulosen)
- eine wasser- sowie ethanollösliche Fraktion (nicht fällbar durch Alkohol, niedermolekulare Oligosaccharide, z.B. kurzkettige Hemicellulose- oder Pektinbruchstücke) (Elleuch et al., 2011).

In diesem Zusammenhang sei insbesondere die Fraktion ii) (in der Literatur auch als alkoholunlösliche Substanz (AIS) oder alkoholunlöslicher Rückstand (AIR) bezeichnet) hervorgehoben, welche bei Leguminosen häufig aus pektinähnlichen Substanzen zusammengesetzt ist und einen maßgeblichen Einfluss auf rheologische Eigenschaften (z.B. Viskositätserhöhung) oder Wasserbindungseigenschaften haben kann.

Abbildung 22 zeigt die prozentualen Anteile der einzelnen Ballaststoff-Fraktionen in den sechs untersuchten Fasersuspensionen nach mechanischer Prozessierung.

Alle Suspensionen mit einem $D_{90} \geq 80 \mu\text{m}$ zeigten eine ähnliche Zusammensetzung und keine bzw. vernachlässigbare Anteile an ethanolunlöslicher Substanz. Lediglich die Variante mit dem minimalen D_{90} von 60 μm wies einen Anteil von 5,6 % dieser Fraktion auf. Vermutlich wurden hier bei den Hochdruckhomogenisierungsbedingungen (acht Durchläufe bei 2000 bar) entsprechende Anteile an Polysaccharidfraktionen durch die intensive mechanische Belastung in kürzere Bruchstücke zerlegt und somit deren Wasserlöslichkeit begünstigt.

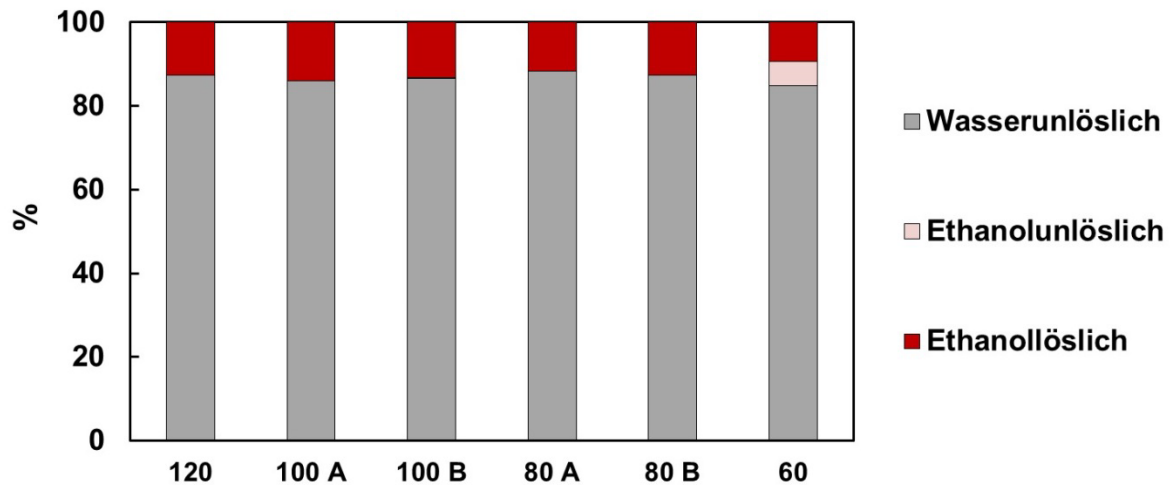
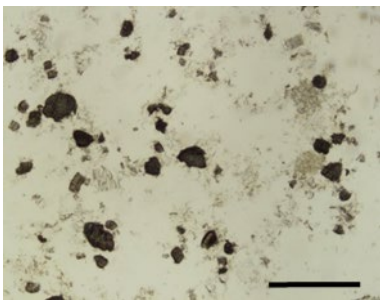
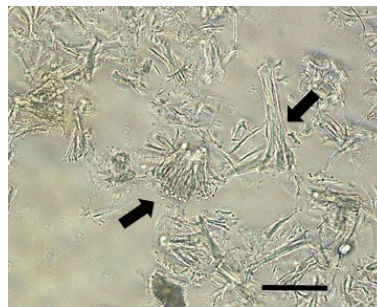


Abbildung 22: Prozentuale Anteile wasserunlöslicher, ethanolunlöslicher sowie ethanollöslicher Ballaststoff-Fractionen nach mechanischer Prozessierung in Erbsenaußenfasersuspensionen mit unterschiedlichem D₉₀.

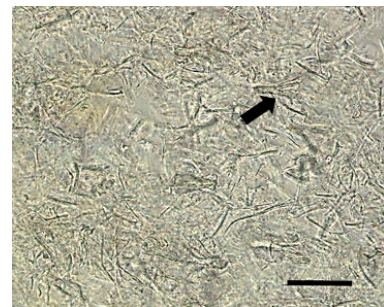
(a) Nativ



(b) 120



(c) 100A



(d) 80A



(e) 60

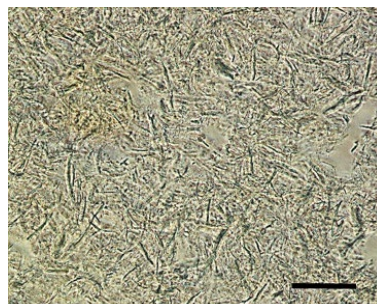


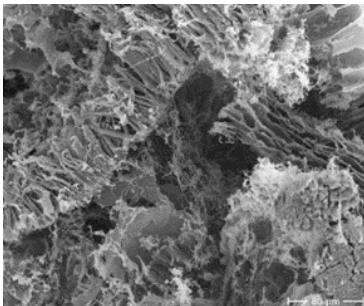
Abbildung 23: Lichtmikroskopie-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern; (a) Nativ (unbehandelt) (b) – (e) mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D₉₀ (120–60 µm). Pfeile kennzeichnen Makrofibrillen während der Defibrillierung. Die Skalierung repräsentiert eine Länge von 500 µm für die unbehandelte Probe und 100 µm für alle anderen Proben.

Der Grad der Zellwandzerstörung und Cellulose-Defibrillierung lässt sich anhand von lichtmikroskopischen Aufnahmen entsprechender Suspensionen beurteilen (Abbildung 23). In allen Suspensionen mit D₉₀ ≥ 80 µm konnten Partikel während der Defibrillierung nachgewiesen werden

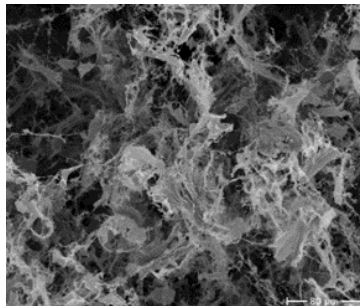
(durch Pfeile in Abbildung 23 gekennzeichnet). Cellulose hat eine komplexe, auf verschiedenen Ebenen organisierte makromolekulare Struktur bestehend aus: Cellulose-Molekül, elementaren Fibrillen, Mikrofibrillen und Makrofibrillen (Nishiyama et al., 2002). Während der Behandlung im Mikrofluidizer werden Aggregate aus Makrofibrillen zunächst zu Mikrofibrillen defibrilliert (Breite $> 1\mu\text{m}$) und anschließend weiter zu Mikrofibrillen mit Längen von bis zu über $100\mu\text{m}$ (Fry, 2001) je nach Rohstoff. Dementsprechend ist die Abnahme der Partikelgröße weitestgehend auf die Zerstörung von verbleibenden Zellwandfraktionen und die Defibrillierung von Aggregaten aus Makrofibrillen und Makrofibrillen und die Freisetzung von Mikrofibrillen zurückzuführen.

Die Mikrostruktur der mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern konnte mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) visualisiert werden und so Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsvarianten verdeutlichen (Abbildung 24).

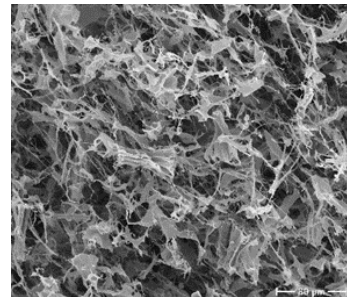
(a) Nativ



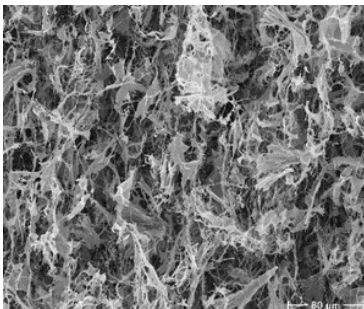
(b) 120



(c) 100A



(d) 80A



(e) 60

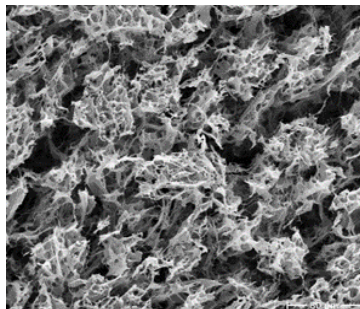


Abbildung 24: REM-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern; (a) Nativ (unbehandelt) (b) – (e) mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D_{90} (120–60 μm).

Die unbehandelten Fasern („nativ“) wiesen hauptsächlich größere Gewebepartikel mit vergleichsweise kompakter Zellwandstruktur auf (Abbildung 19 (a)). Mit zunehmender Intensität bei der mechanischen Prozessierung und abnehmendem D_{90} bildete sich ein kontinuierliches fibrilläres Netzwerk aus. Insbesondere die Fasersuspension „60“ (minimaler D_{90}) war durch einen hohen Anteil interfibrillärer Hohlräume gekennzeichnet, welche vermutlich in einer erhöhten Zellwandflexibilität resultierte und somit ausschlaggebend war für die vergleichsweise hohe Wasserretentionskapazität (hohe WRK, Abbildung 25). Dieser Effekt könnte zusätzlich durch die Freisetzung ethanolunlöslicher Substanz begünstigt worden sein. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits für Citruschalenfasern gezeigt, welche mittels einer Kombination von Hochdruckhomogenisierung und partieller Pektinextraktion

behandelt wurden (Willemsen et al., 2017). Die bei unterschiedlichen Bedingungen prozessierten Faservarianten 100A und 100B bzw. 80A und 80B zeigten untereinander keine merklichen Unterschiede in der Mikrostruktur (REM-Aufnahmen hier nicht gezeigt).

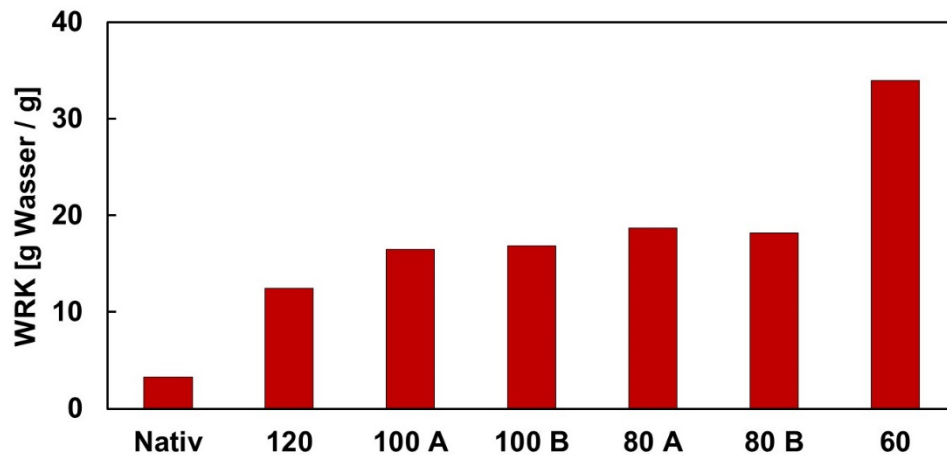


Abbildung 25: Wasserretentionskapazität (WRK) von Erbsenaußenfasern; links: nativ (unbehandelt), daneben: mechanisch prozessierte Fasern mit unterschiedlichem D_{90} (120-60 μm).

Abbildung 25 zeigt die Ergebnisse der WRK für die unbehandelten (nativen) und die bei unterschiedlichen Homogenisierungsbedingungen prozessierten Erbsenaußenfasern. Wie oben bereits beschrieben, wurde der höchste WRK-Wert für die Variante mit dem geringsten D_{90} (60 μm) ermittelt (33,9 g/g) und lag damit 10,4-fach höher als die WRK der nativen Faservariante. Die Varianten mit gleicher Partikelgröße, aber unterschiedlicher Behandlung (variierende Anzahl an Durchläufen bzw. variierender Druck), wiesen WRK-Werte in einem ähnlichen Größenbereich auf.

Abschließend wurden die rheologischen Eigenschaften der prozessierten Erbsenfasersuspensionen im Rahmen von Rotations- (Fließeigenschaften) und Oszillationsversuchen (viskoelastische Eigenschaften) bewertet. Dabei zeigte sich zunächst, dass lediglich die Varianten mit einem $D_{90} \leq 80 \mu\text{m}$ stabile Suspensionen (keine Sedimentation von Partikeln innerhalb eines Zeitraums von mehreren Tagen) ausbildeten.

Die drei näher untersuchten Varianten 80A, 80B und 60 zeigten im Rotationsversuch scherverdünnendes (strukturviskoses/pseudoplastisches) Fließverhalten (Abbildung 26). Strukturviskosität ist eine charakteristische Eigenschaft u.a. Cellulosebasierter Suspensionen (Nechporchuk et al., 2014). Hierbei kommt es zu einer Ausrichtung von suspendierten Feststoffpartikeln (Polysacchariden) entlang der laminaren Scherströmung. Mit zunehmender Scherrate werden dabei ggf. Netzwerkstrukturen zerstört, was mit einer deutlichen Viskositätsabnahme verbunden ist (Willenbacher and Georgieva, 2013).

Wie aus Abbildung 26 ersichtlich wird, zeigte die Faservariante mit kleinstem D_{90} die höchsten Viskositätswerte über den gesamten Scherratenbereich, was vermutlich auf die vergleichsweise

größere Anzahl an Partikeln in der Suspension, der damit verbundenen größeren spezifischen Oberfläche und einer großen Anzahl freiverfügbarer OH-Gruppen der Faserpolysaccharide zurückzuführen ist. Darüber hinaus können durch die mechanische Prozessierung freigesetzte Mikrofibrillen den Fließwiderstand und damit die Viskosität erhöht haben (Naderi et al., 2015; Pääkkö et al., 2007). Wie bereits für die Wasserbindung beschrieben, können ethanolunlösliche Bestandteile (pektin- und Hemicellulosebasierte Polysaccharide) viskositätserhöhend wirken und zusätzlich physikalische Verfilzungen/Verhakungen im Fasernetzwerk durch ihre gelbildenden Eigenschaften begünstigen (Dikeman & Fahey, 2006).

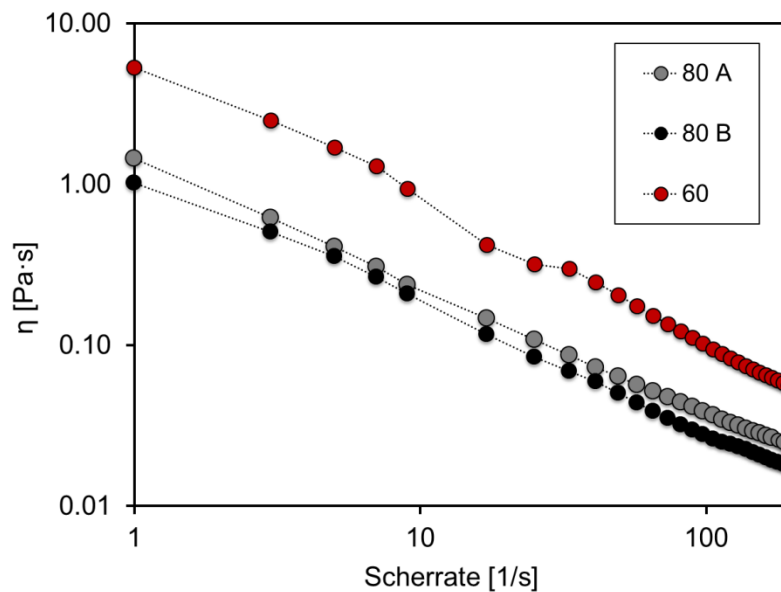


Abbildung 26: Viskositätskurven mechanisch-prozessierter Erbsenaußenfaser-Suspensionen mit einem D_{90} von 80 μm (A, B: hergestellt durch Mikrofluidisierung bei unterschiedlichen Bedingungen, siehe Abbildung 21) und 60 μm .

Das viskoelastische Verhalten der Erbsenaußenfasersuspensionen wurde anhand eines Deformationstests (Amplitudensweep) im Oszillationsversuch ermittelt (Abbildung 27). Dabei werden das Speichermodul G' (elastischer Anteil) sowie das Verlustmodul G'' (viskoser Anteil) in Abhängigkeit von der Deformation bestimmt (Willenbacher and Georgieva, 2013). Alle untersuchten Fasersuspensionen zeigten im linear-viskoelastischen Bereich ausgeprägte elastische Eigenschaften ($G' \gg G''$) und somit deutlichen Gelcharakter bis zu einem Deformationswert von ca. 10 %. In diesem Bereich kommt es zum sogenannten Crossover beider Module mit beginnendem Fließen der Suspension, d.h. überwiegendem Flüssigkeitscharakter (Taheri and Samyn, 2016). Die am stärksten ausgeprägten Geleigenschaften wies wiederum die Variante mit dem kleinsten D_{90} (60 μm) auf.

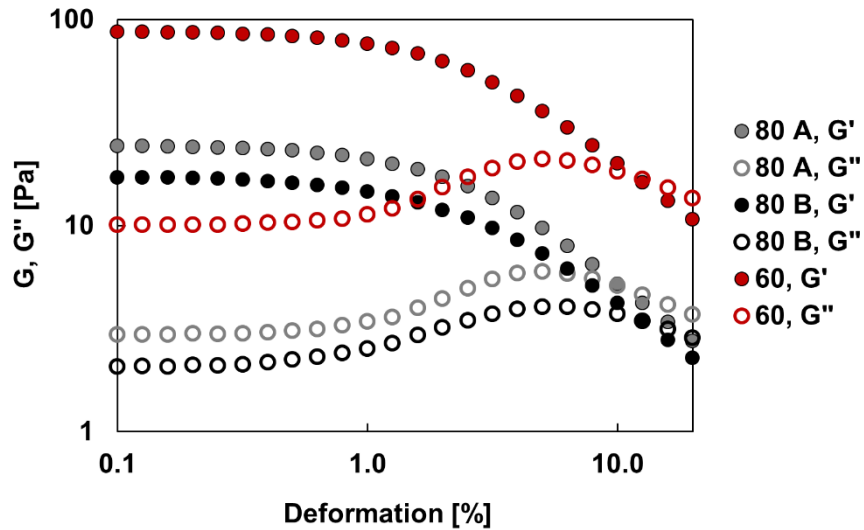


Abbildung 27: Amplituden-Sweep mit mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.

Die thermische Stabilität der Fasersuspensionen wurde in einem Temperaturbereich von 20 - 80 °C anhand des Verlaufes von Speicher- und Verlustmodul bei konstanter Deformation und Frequenz bestimmt (Temperatur-Sweep). Abbildung 28 zeigt die ermittelten Kurvenverläufe für G' und G'' sowie die Temperaturrampe für den Aufheiz- und Abkühlvorgang. Alle untersuchten Fasersuspensionen zeigten im untersuchten Temperaturbereich nahezu gleichbleibende viskoelastische Eigenschaften und damit ein stabiles thermisches Verhalten.

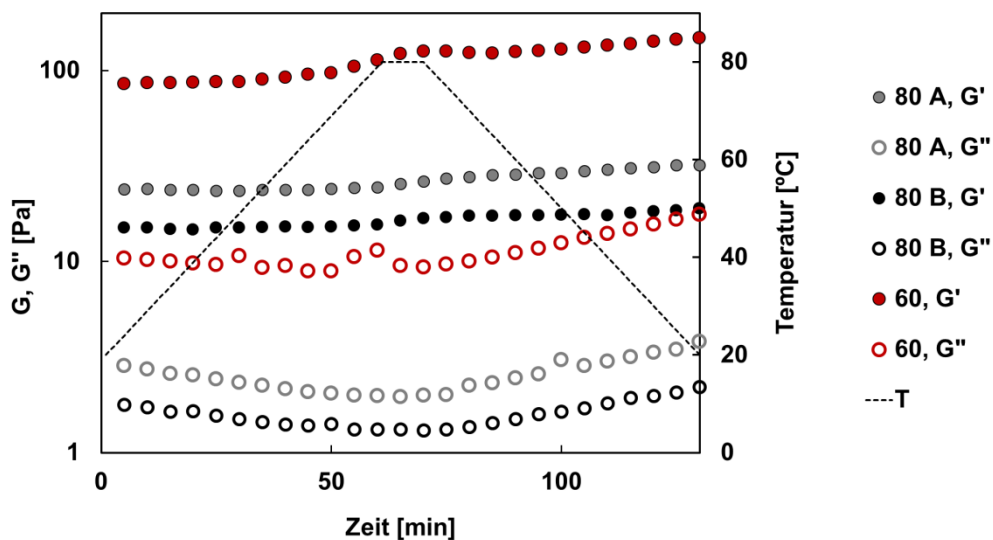


Abbildung 28: Temperatur-Sweep für mechanisch prozessierte Erbsenaußenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') und Temperaturrampe beim Erhitzen und Abkühlen der Suspensionen.

Untersuchung des Einflusses der Erbsensorte auf die Funktionalität von Erbsenfasersuspensionen

Abbildung 29 zeigt die Partikelgrößenverteilung der verschiedenen Erbsenfaser Suspensionen. Der D_{90} variierte zwischen $\sim 70 \mu\text{m}$ (Dolores) und $\sim 90 \mu\text{m}$ (Salamanca). Diese Schwankungen lassen sich auf sortenbedingte Unterschiede in der Härte der Zellwände zurückführen.

Suspensionen aus sortenreinen Fasern haben ein pseudoplastisches und viskoelastisches Verhalten (Abbildung 30 und Abbildung 31). Viskositäten der sortenreinen Fasern aus den Sorten Astronaute und Dolores entsprachen denen der industriell gewonnenen Faser L-310907 ($1.4 \pm 0.2 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ bei einer Scherrate von 1 1/s). Salamanca und Ostinato hingegen erreichten bei dieser Scherrate deutlich geringere Werte ($0.70 \pm 0.07 \text{ Pa}\cdot\text{s}$). Diese Unterschiede nahmen jedoch mit zunehmender Scherrate ab.

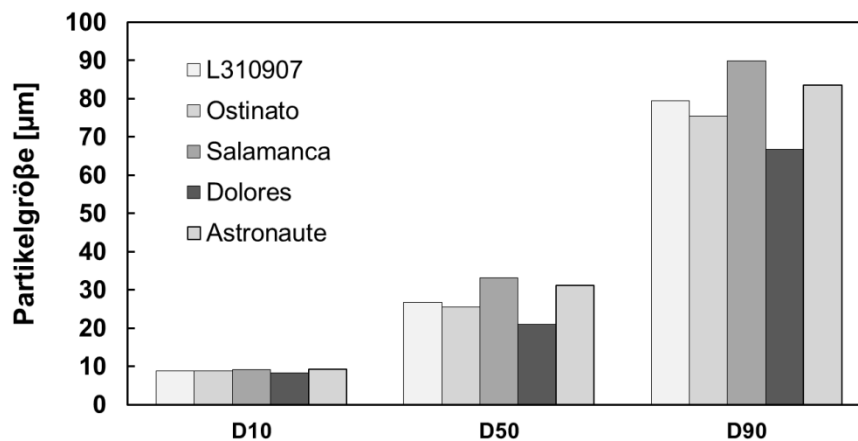


Abbildung 29: Ermittelte Parameter D_{10} , D_{50} und D_{90} der Partikelgrößenverteilung von 1 %igen Erbsenfaser basierten Suspensionen nach Behandlung im Mikrofluidizer.

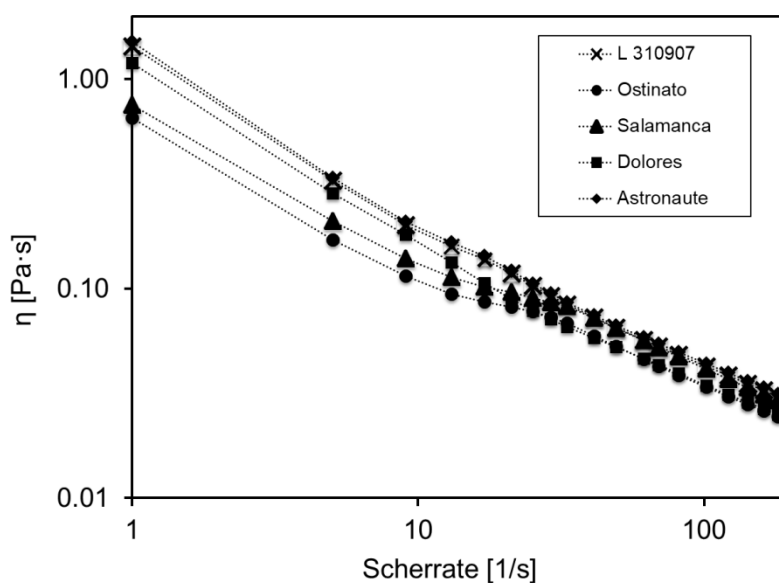


Abbildung 30: Fließkurve ausgewählter mechanisch prozessierter Erbsenfasersuspensionen.

Zur Beurteilung des viskoelastischen Verhaltens wurden in Amplitudenversuchen das Speichermodul G' und das Verlustmodul G'' bestimmt. Die Versuchparameter entsprachen denen in Abschnitt 1.2.3 und 1.2.4. Untersuchungen von Ostinato, Salamanca, Astronaute und L-310907 führten zu nahezu identischen Kurven für G' und G'' . Dementsprechend sind in Abbildung 31 nur die Ergebnisse für Ostinato und Dolores dargestellt. Im linear viskoelastischen Bereich lag der Verlustfaktor $\tan \delta$ (G''/G') für alle Suspensionen bei 0.132 ± 0.002 . Dies entspricht einem vorwiegend elastischen rheologischen Verhalten. Das Speichermodul G' der Dolores-basierten Suspension war um das 2,7-fache geringer als das der anderen Proben. Nichtsdestotrotz zeigten die Dolores-basierten Suspensionen mehr Widerstand gegenüber Deformationen, da der Schnittpunkt zwischen G' und G'' bei einer vier-mal höheren Deformation erreicht wurde als bei den anderen Proben.

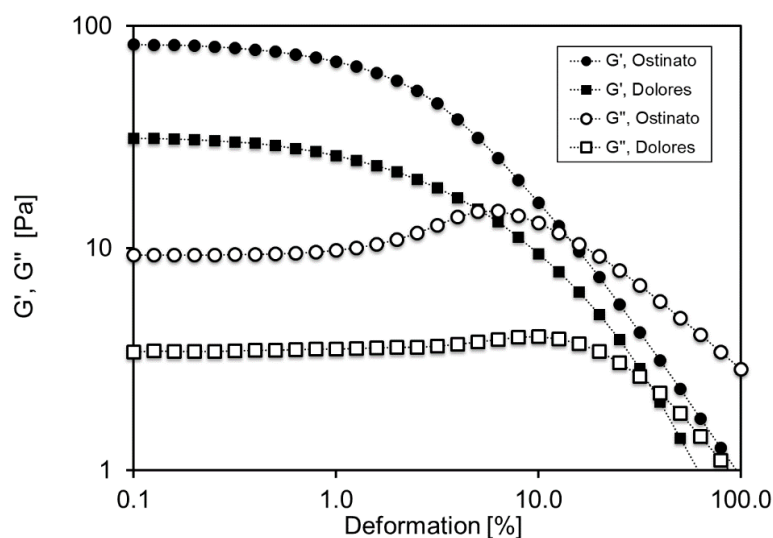


Abbildung 31: Amplituden-Sweep ausgewählter mechanischprozessierter Erbsenfasersuspensionen; Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.

Zusätzlich lässt sich ein Anstieg des Verlustmoduls G'' der Ostinato-basierten Suspension bis zu einer Deformation von ca. 8 % beobachten. Derartiges Verhalten wurde bereits zuvor für mikrokristalline Cellulose-Suspensionen gezeigt (Zhao et al., 2011) und kann auf die Verschiebung zwischen Partikeln, flexiblen Kettenenden oder Agglomeraten, die nicht im Netzwerk verankert sind, zurückgeführt werden (Mezger, 2014).

Alle untersuchten, mechanisch-prozessierten Suspensionen zeigten Wasserretentionskapazitäten zwischen 19 und 25 g Wasser / g unlöslichem Material (Abbildung 32).

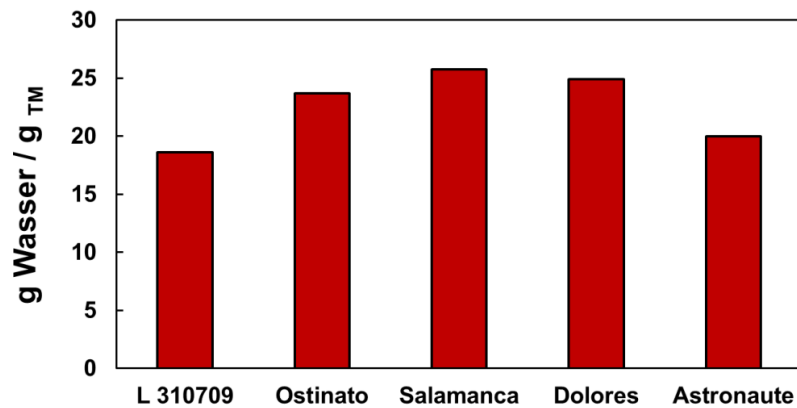


Abbildung 32: Wasserretentionskapazität (g Wasser / g unlösliches Material) 1 %iger Faser-Suspensionen in Abhängigkeit von der verwendeten Sorte.

Einfluss von enzymatischer Vorbehandlung auf die Eigenschaften von mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

Die Effektivität der enzymatischen Behandlung wurde zunächst anhand der Abnahme des Anteils an unlöslicher Ballaststofffraktion in der Fasersuspension über den Hydrolysezeitraum bewertet (Abbildung 33). Die stärkste Abnahme nach 8 Stunden war dabei für die alleinige Cellulasebehandlung zu verzeichnen. Die maximale prozentuale Abnahme an wasserunlöslicher Substanz wurde daraufhin auf 5 % festgesetzt, da so immer noch eine hinreichende Unterscheidung der Varianten mit Hinblick auf die Effektivität des/r jeweiligen Enzyms/Enzymkombination möglich war und so die „Einbußen“ an quellfähiger Cellwandmatrix geringgehalten werden konnten.

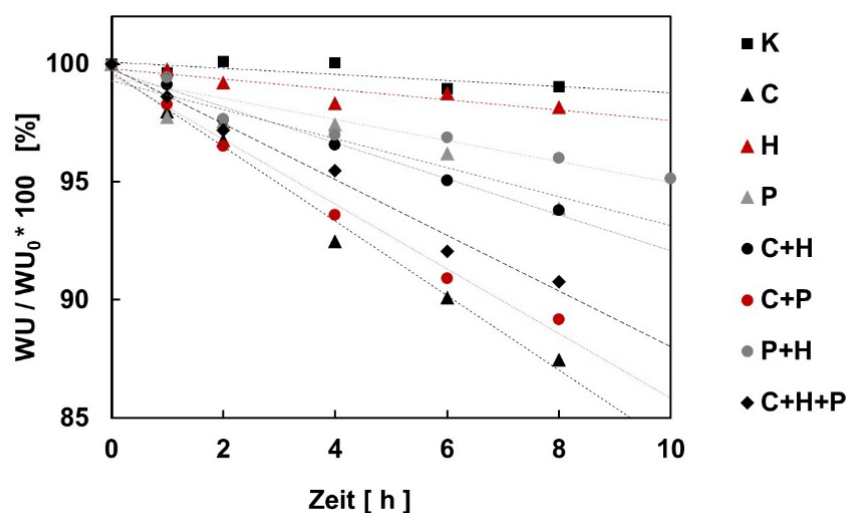


Abbildung 33: Abnahme des Anteils der wasserunlöslichen Fraktion (WU) bei der enzymatischen Hydrolyse von Erbsenaußenfasern unter Anwendung zellwandabbauender Enzyme allein (C, H, P) und in Kombination miteinander (C+H, C+P, P+H, C+P+H).

Die Abnahme des Anteils der wasserunlöslichen Fraktion korrelierte dabei linear ($R^2 > 0,8$) mit der Hydrolysezeit. Anhand der erhaltenen Regressionsgleichungen wurde ggf. die Hydrolysezeit für das Erreichen einer 5 %igen Abnahme berechnet (z.B. 10 Stunden für die alleinige Pektinase-

Behandlung). Für die alleinige Hemicellulase-Behandlung wurde das Enzym-Substrat-Verhältnis auf 19,3 % erhöht, um eine 5 %ige Abnahme innerhalb von 8 Stunden zu erzielen. Anschließend wurden die Enzyme deaktiviert und die Proben weiterhin bei 50 °C für eine Gesamtzeit von 24 Stunden (inclusive der Hydrolysezeit) inkubiert, um den Einfluss der Hydrolysezeit zu minimieren. Die enzymbehandelten Erbsenaußenfaser-Suspensionen wurden anschließend im Mikrofluidizer bei 2000 bar für zwei, vier und sechs Durchläufe prozessiert und nachfolgend charakterisiert. Dabei zeigte sich mit zunehmender Anzahl an Durchläufen erwartungsgemäß eine abnehmende Partikelgröße, verbunden mit einer Zunahme der WRK und der Gelfestigkeit. Die nachfolgenden Ergebnisse basieren auf den Varianten mit sechs Durchläufen, da hier die größten Unterschiede feststellbar waren.

Mit Ausnahme der Pektinase-Behandlung zeigten alle anderen enzymbehandelten Varianten nach sechs Durchläufen im Mikrofluidizer bei 2000 bar geringere Anteile an wasserunlöslicher Fraktion im Vergleich mit der Kontrollvariante ohne Enzym-Behandlung. Die alleinige Cellulose-Behandlung resultierte in der stärksten Abnahme von wasserunlöslichen Bestandteilen (43.8 %) verbunden mit einer deutlichen Zunahme an ethanollöslichen Bestandteilen (vgl. Abbildung 34). Die größten Anteile an ethanolunlöslicher Fraktion (höhermolekulare wasserlösliche Ballaststoffe) wurden nach enzymatischer Vorbehandlung mit C+H bzw. C+P+H (26.4 bzw. 22.3 %) erzielt. Im Gegensatz dazu führte die Enzymierung mit P bzw. C+P zu einer geringeren Freisetzung an ethanolunlöslicher Fraktion im Vergleich mit der Kontrolle (K).

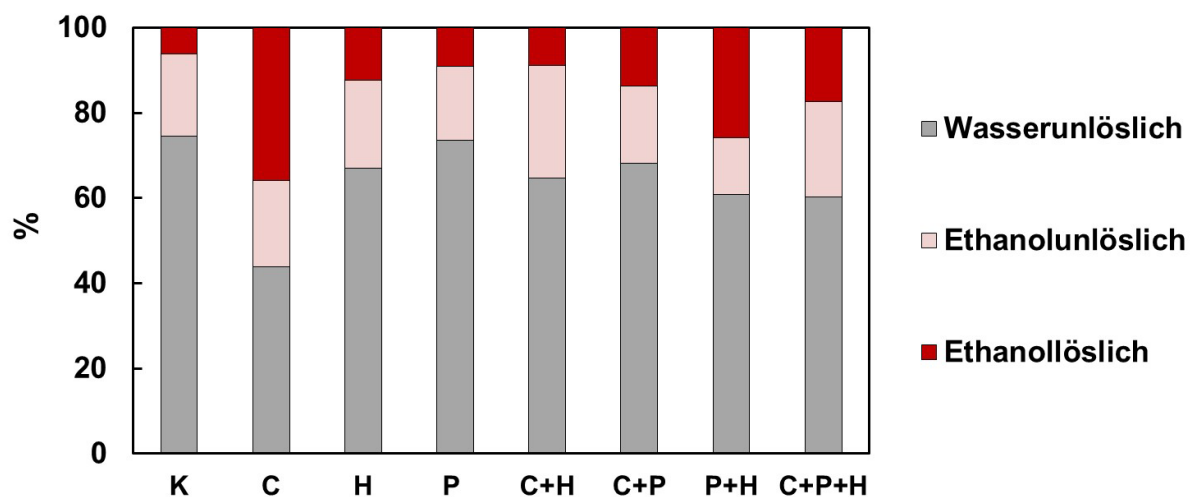


Abbildung 34: Prozentuale Anteile wasserunlöslicher, ethanolunlöslicher sowie ethanollöslicher Ballaststoff-Fractionen in Erbsenaußenfasersuspensionen nach kombinierter enzymatisch-mechanischer Prozessierung (sechs Durchläufe, 2000 bar; K = Kontrolle).

Die Größe von Erbsenaußenfaserpartikeln (D_{90}) in den mit Enzym vorbehandelten Fasersuspensionen war in allen Fällen kleiner als jene in der Kontrollvariante (vgl. Abbildung 35).

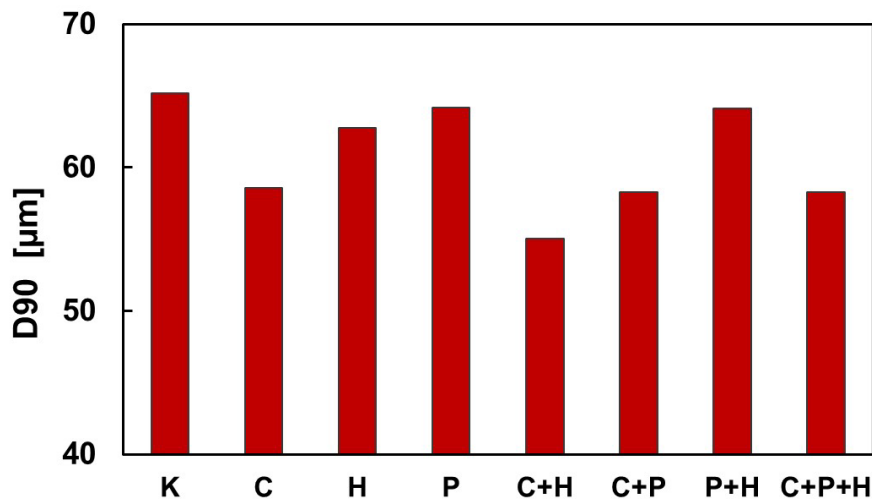


Abbildung 35: Partikelgröße von Erbsenaußenfasern (D_{90}) nach kombinierter enzymatisch-mechanischer Prozessierung (sechs Durchläufe, 2000 bar, K = Kontrolle).

Fasersuspensionen welche mit Cellulase allein oder in Kombination mit Hemicellulase (C+H) und/oder Pektinase (C+P, auch C+P+H) vorbehandelt wurden, wiesen die kleinsten Werte für D_{90} auf (insbesondere C+H = 55 µm). Die Varianten mit Hemicellulase (H) bzw. Pektinase (P) und deren Kombination (P+H) wiesen demgegenüber größere D_{90} -Werten auf. Trotz der vergleichsweise stärkeren Abnahme an wasserunlöslicher Fraktion in mit der Cellulase (C) vorbehandelten Fasersuspension, zeigte diese dennoch einen relativ hohen D_{90} von 58,6 µm. Offensichtlich führte also die Freisetzung größerer Anteile an löslichen Bestandteilen (Polymerisationsgrad DP <10) zu keiner merklichen Verringerung der Partikelgröße.

In Abbildung 36 sind ausgewählte REM-Aufnahmen enzymatisch-mechanisch prozessierter Erbsenaußenfasern gezeigt. Exemplarisch für alle mit Enzym vorbehandelten Varianten mit Ausnahme von C+H sowie C+P+H zeigt Bild (a) ein homogenes fibrilliertes Fasernetzwerk. Im Gegensatz dazu zeigten letztgenannte Cellulase-Kombinationen gitternetzähnlich Faserstrukturen wie in Bild (b) dargestellt.

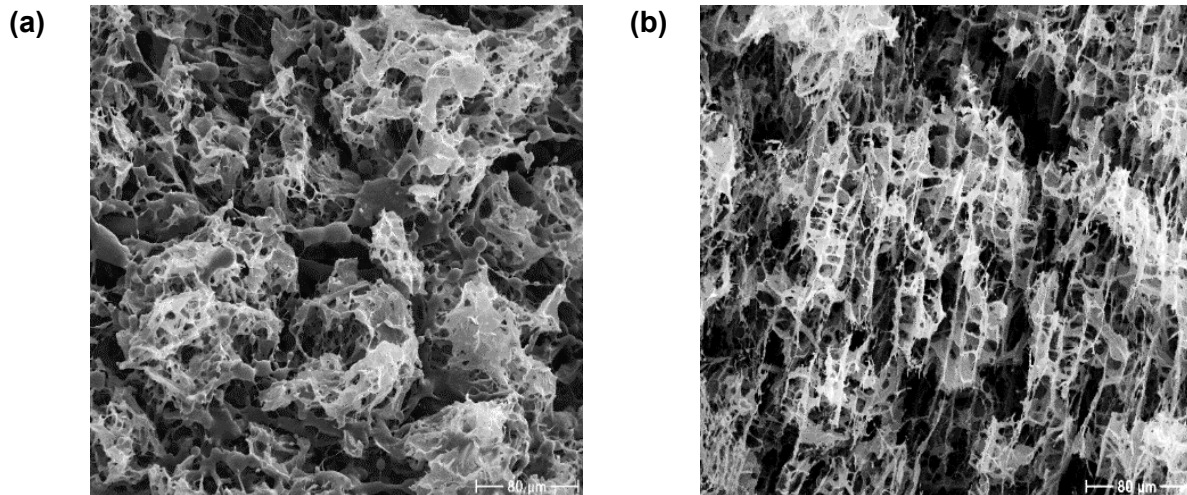


Abbildung 36: REM-Aufnahmen von Erbsenaußenfasern nach enzymatischer Vorbehandlung mit (a) Cellulase bzw. (b) Cellulase + Hemicellulase und nachfolgender mechanischer Prozessierung im Mikrofluidizer (sechs Durchläufe bei 2000 bar).

Die bisher erhaltenen Ergebnisse verdeutlichen, dass insbesondere die enzymatische Vorbehandlung mit Cellulasen und deren Kombination mit anderen zellwandabbauenden Enzymen einen Effekt auf Mikrostruktur und Zusammensetzung von Erbsenaußenfaser bei der sukzessiven enzymatisch-mechanischen Prozessierung hat. In Kapitel 5 werden die möglichen Mechanismen dahinter diskutiert.

Die mit Enzym vorbehandelten und nachfolgend mechanisch-prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen zeigten im rheologischen Versuch ebenfalls scherverdünnende Eigenschaften. Abbildung 37 zeigt die entsprechenden Viskositätskurven für die Kontrollvarianten sowie ausgewählte, mit Enzym vorbehandelte Varianten.

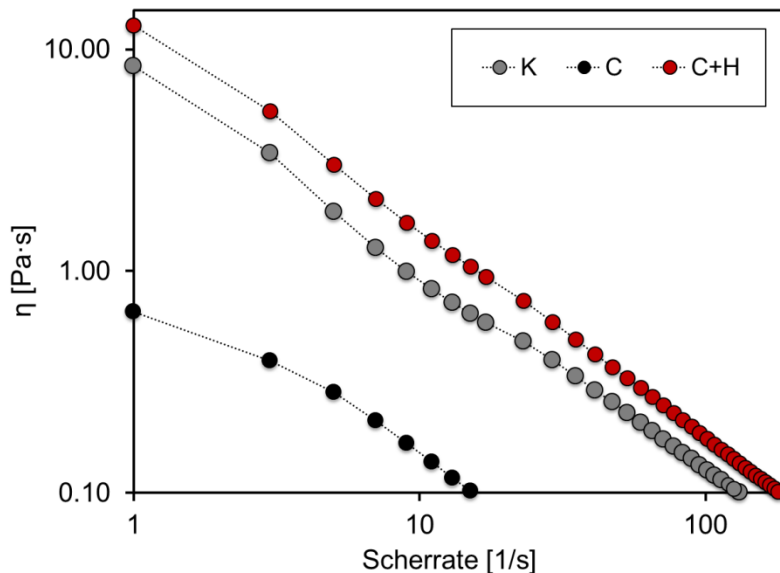


Abbildung 37: Viskositätskurven für die Kontrollvariante (K = ohne Enzymbehandlung) und ausgewählte mit Enzym (C, C+H) vorbehandelte und nachfolgend mechanisch prozessierte Erbsenaußenfasersuspensionen.

Hierbei wurden die höchsten Viskositätswerte für die mit Cellulase plus Hemicellulase (C+H) vorbehandelten Fasersuspensionen detektiert, was wiederum auf den vergleichsweise geringen D_{90} -Wert und den höheren Anteil an ethanolunlöslicher Fraktion zurückzuführen war. Im Gegensatz dazu zeigte die allein mit Cellulase behandelte Variante eine niedrigere Viskosität als die Kontrolle (K), was auf den vergleichsweise geringeren Anteil an wasserunlöslicher Fraktion, eine geringeren Partikeldichte und der damit verbundenen verminderten Interaktionen im Fasernetzwerk zurückgeführt wurde.

Die beschriebenen Effekte erklären auch die gefundenen Tendenzen im Amplituden-Sweep des Oszillationsversuches (Abbildung 38). So führte die Kombination C+H zu ausgeprägten viskoelastischen Eigenschaften mit hoher Gelfestigkeit (G' höher als Kontrolle). Auch hier war die alleinige Cellulase-Behandlung (C) durch deutlich geringe Gelfestigkeiten charakterisiert. Zudem war durch die vermutlich weniger stark ausgeprägten Partikelinteraktionen im Fasernetzwerk der linearviskoelastische Bereich deutlich verkürzt. Somit ging diese Fasersuspension schon bei deutlich geringer Deformation ins Fließen (irreversible Zerstörung des Gelnetzwerkes) über.

Die Ergebnisse zur Wasserretentionskapazität (WRK) für die Kontrollvariante und die acht enzymatisch vorbehandelten Fasersuspensionen ist in Abbildung 39 dargestellt. Im Vergleich zur Kontrolle führt die zusätzliche enzymatische Vorbehandlung in allen Fällen zu einer nochmaligen Erhöhung der WRK. Der höchste Wert wurde mit 37.2 g/g für die Enzymkombination Cellulase+Hemicellulase (C+H) erzielt. Generell wiesen die Suspensionen, welche aus Enzymmischungen mit Cellulase behandelt wurden, die höchsten WRK-Werte auf und konnten somit gut mit den physikochemischen Eigenschaften korreliert werden.

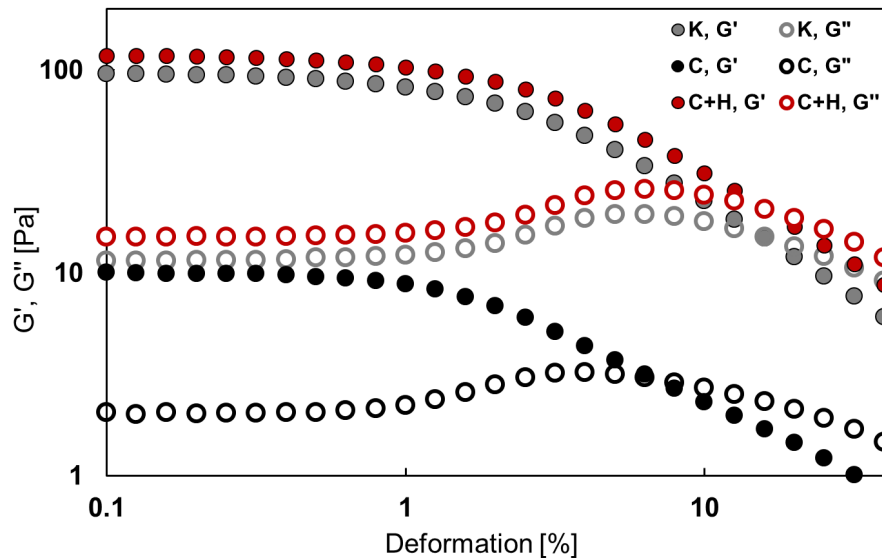


Abbildung 38: Amplituden-Sweep mit mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasersuspensionen nach enzymatischer Vorbehandlung mit Cellulase (C) bzw. Cellulase und Hemicellulase (C+H); und Kontrollvariante (K = ohne Enzymbehandlung Speicher- (G') und Verlustmodul (G'') in Abhängigkeit von der Deformation.

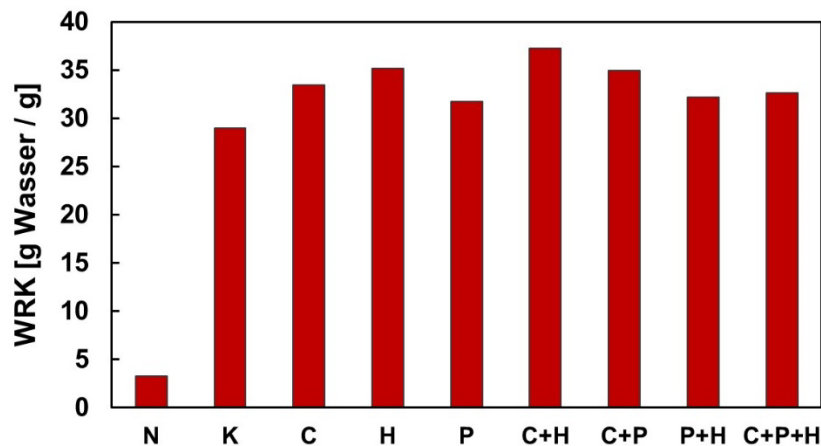


Abbildung 39: Wasserretentionskapazität (WRK) von Erbsenaußenfasersuspensionen nach enzymatischer Vorbehandlung und nachfolgender mechanischer Prozessierung mittels Mikrofluidizer im Vergleich zur Kontrolle (K = ohne Enzymbehandlung) bzw. zur Ausgangsfaser (N = Nativ).

Einfluss von Trocknung auf die Eigenschaften von mechanisch und enzymatisch-mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

Im folgenden Kapitel wird die Beurteilung physikalischer und funktioneller Eigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter und rehydrierter Faser-Suspensionen mit und ohne enzymatische Vorbehandlung in Abhängigkeit vom Trocknungsverfahren (Gefriertrocknung, Ofentrocknung und Vakuumtrocknung) betrachtet.

Gefriergetrocknete Proben wiesen den höchsten WRK-Wert auf und belegen damit, dass ein Struktur- und Funktionserhalt während der Trocknung in vollem Umfang möglich ist, jedoch ist dieses

Verfahren aus ökonomischer Sicht nicht relevant. Daher wurde im weiteren Verlauf des Projekts mit der Vakuumtrocknung gearbeitet, da hier im Gegensatz zu konventioneller Trocknung ein geringer Struktur- und Funktionalitätsverlust erwartet wurde.

Beurteilung des Einflusses der Prozessbedingungen während der Vakuumtrocknung auf die Rehydratationseigenschaften mechanisch prozessierter, getrockneter Faser-Suspensionen

In Abbildung 40 ist der Trockensubstanzgehalt der Partikel nach dem Trocknen unter verschiedenen Bedingungen gezeigt. Es ist zu sehen, dass unterschiedliche Trocknungsbedingungen zu einem ähnlichen Trockensubstanzgehalt führen.

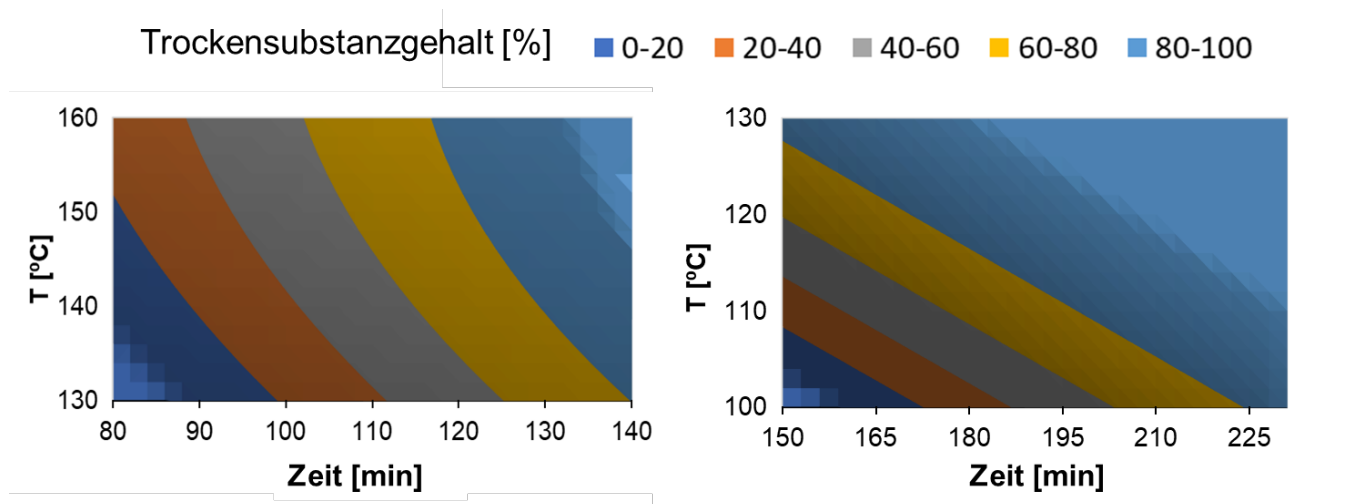


Abbildung 40: Konturdiagramme des Trockensubstanzgehalts in Abhängigkeit von der Temperatur und den Trocknungsbedingungen: Hochtemperatur (links) und recht Tieftemperatur (rechts).

Wie aus Abbildung 41 hervorgeht, ist jedoch bei gleichem Trockensubstanzgehalt die Wasserretentionskapazität bei Proben, die bei höheren Temperaturen getrocknet werden, viel geringer.

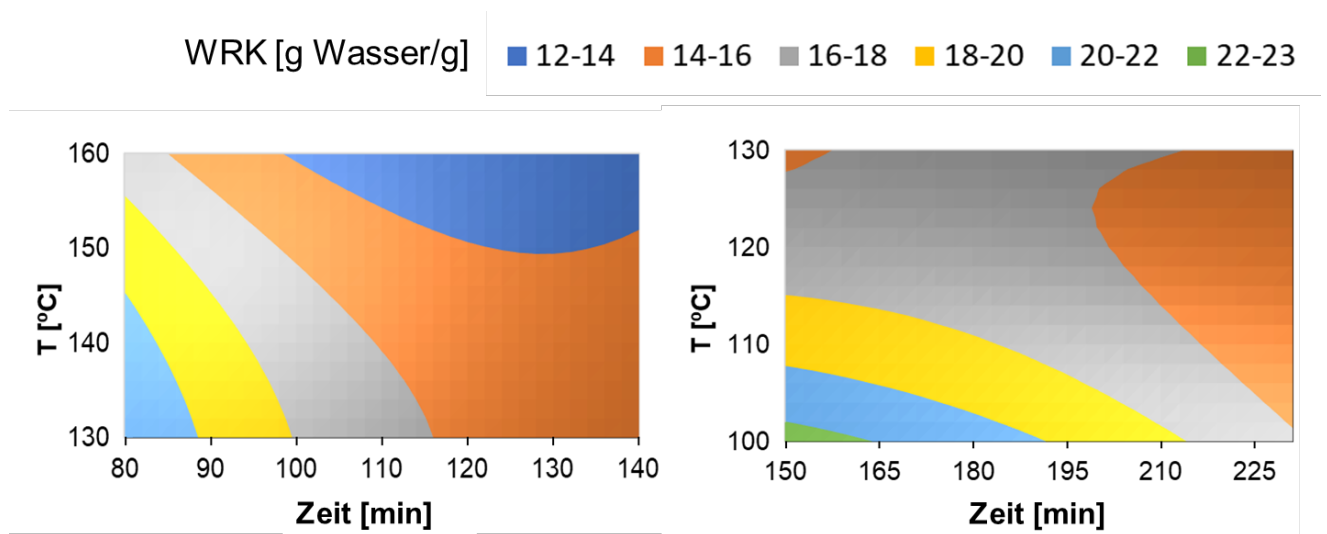


Abbildung 41: Konturdiagramme der Wasserretentionskapazität von rehydrierten Proben in Abhängigkeit von der Temperatur und den Trocknungsbedingungen.

Die höheren Temperaturen führten auch zu einem größeren Partikeldurchmesser und weniger stabilen Suspensionen, die eine größere Sedimentation aufwiesen. Daher sind die strukturellen Veränderungen bei hohen Temperaturen als viel intensiver und irreversibler zu bewerten.

Die hohe Wasserretentionskapazität korreliert mit den rehydratisierten Suspensionen mit Partikelgrößen von 80 µm, während die Bildung von Aggregaten, die die Partikelgröße vergrößern, die Wasserretentionskapazität verringern.

Zusammenfassend kann für den Bereich der Wasserretentionskapazität, der pro festgelegte Trockensubstanz erreicht werden kann, gesagt werden, dass eine zwei-Faktoren-Optimierung durchgeführt wurde, mit der für jeden festgelegten Trockensubstanzwert das Maximum und das Minimum der WRK berechnet wurde (Abbildung 42). Durch Variation der Temperatur- und Zeitbedingungen kann jede WRK, die zwischen beiden Linien liegt, erreicht werden. Die Maximalwerte können durch geringere Temperatur und längerer Prozesszeit erreicht werden. Die Ergebnisse geben einen Überblick über die realisierbare industrielle Anwendung und ermöglicht es gleichzeitig, den Trocknungsprozess in Abhängigkeit von den Endanforderungen an die getrocknete Faser wirtschaftlich zu optimieren.

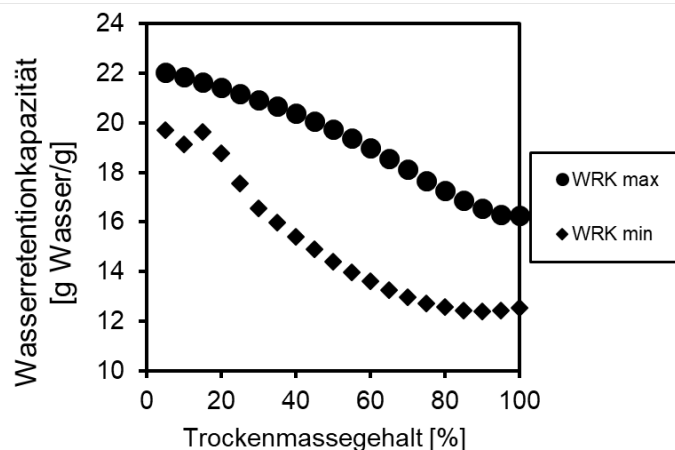


Abbildung 42: Maximal und minimal erreichbare Werte des Wasserretentionskapazität die in Abhängigkeit vom Trockenmassegehalt erreicht werden können. Die obere Linie stellt den Verlauf für eine längere Prozesszeit bei niedrigerer Temperatur dar, während die untere Linie den Verlauf für eine kürzere Prozesszeit bei höheren Temperaturen darstellt.

Einfluss des Verhältnisses zwischen löslichen, unlöslichen und alkohol-unlöslichen Bestandteilen in mechanisch prozessierten, getrockneten Faser-Suspensionen auf die Rehydratationseigenschaften.

Zwei auf Erbsenschalen-basierenden, mikrofluidisierte Suspensionen wurden hergestellt: eine mit hohem nicht-löslichen Ballaststoffanteil (HIDF) und eine mit hohem löslichen Ballaststoffanteil (HSDF). Die rehydratisierte HSDF-Suspension hatte einen größeren D_{90} (95.8 µm) als die rehydratisierte HIDF-Suspension (84.8 µm). Die Änderung der Partikelgröße auf Grund von Trocknung führte zu einer Änderung des rheologischen Verhaltens(Tabelle 10).

Tabelle 10: Werte der Herschel-Bulkley Parameter Fließgrenze (τ_0), Konsistenzindex (k), und Fließindex (n) der Proben mit hohem Anteil unlöslicher (HIDF) und löslicher Ballaststoffe (HSDF). Die Proben wurden entweder bisher nicht getrocknet (FRESH) oder nach dem Trocknen rehydratisiert (REHYD).

Sample	τ_0 [Pa]	k [Pa*s]	n
HIDF FRESH	0.55	0.26	0.54
HSDF FRESH	0.36	0.29	0.52
HIDF REHYD	0.26	0.12	0.58
HSDF REHYD	0.26	0.05	0.68

Die Suspensionen aus bisher nicht-getrockneten Partikeln (frisch) verfügten über größere Fließgrenzen als die rehydratisierten Proben. Da die Fließgrenze den Anteil an Kraft repräsentiert, der nötig ist, um die Suspension zum Fließen zu bringen (Saarikoski et al. 2012), sind die frischen Suspensionen resistenter gegenüber dem Fließbeginn. Ebenso zeigten die rehydratisierten Proben einen niedrigeren Konsistenzindex. Dieser Parameter ist proportional zu den Partikel- und molekularen Wechselwirkungen (Zhang et al., 2018). Daher trat durch Trocknung eine Agglomeration auf, die zu weniger Wechselwirkungen und einer niedrigeren Viskosität führte. Die Freisetzung von löslichen Fasern scheint dies zu begünstigen, anstatt die Aggregation von Partikeln zu verhindern. Dies führte auch zu einer Abnahme der Wasserretentionskapazität für HSDF 15,6 g Wasser / g, während die rehydratisierte HIDF-Suspension eine Wasserretentionskapazität von 17,1 g Wasser / g aufwies.

Saponin- und Trypsininhibitor-Gehalt der prozessierten Proben

In Tabelle 11 sind die Probenbeschriftungen mit den jeweiligen Aufarbeitungen der TUB zusammengefasst. Dabei wurden die Proben 1W-6W vor der mechanischen Behandlung bei Raumtemperatur in dest. Wasser extrahiert. Die Proben 1-24 wurden stattdessen für 24 Stunden bei 50 °C in einem Natrium-Citrat-Phosphat-Puffer (pH 5.0) inkubiert und – wie zuvor beschrieben – enzymatisch behandelt. Nach anschließender Inaktivierung der Enzyme für 15 Minuten bei 80 °C erfolgte die mechanische Behandlung der abgekühlten Proben. Anhand der Proben 25-32 soll der Einfluss der Mikrofibrillierung ausgeschlossen werden und die Proben wurden daher lediglich enzymatisch behandelt. Die Probe 32 dient als Kontrollprobe dieser Serie und durchlief ebenfalls den Prozess der Inkubation und der Inaktivierung, jedoch ohne Enzymzugabe. Die bestimmten Saponingehalte dieser Proben sind in Tabelle 12 aufgeführt. Aus dem Vergleich der Saponingehalte der enzymatisch-mechanisch behandelten Erbsenfaser-Suspensionen geht hervor, dass nach der Behandlung mit jeweils Cellulase, Pektinase oder Hemicellulase (C, P, H) die höchsten Saponingehalte quantifiziert werden konnten. Eine Kombination dieser Enzyme führte zu keinem höheren Saponingehalt. In Abbildung 43 ist die Verteilung der Saponingehalte der Erbsenfaser-Suspensionen dargestellt. Es ist zu erkennen, dass bei einer mechanischen Behandlung von acht Durchläufen bei 2000 bar ein höherer Saponingehalt analysiert werden konnte. Bei der enzymatischen Behandlung mit Pektinase und Hemicellulase (P+H) bzw. Cellulase und

Hemicellulase (C+H) konnte diese Tendenz nicht festgestellt werden. Ein deutlicher Unterschied in den Saponingehalten besteht zwischen den enzymatisch unbehandelten Proben 1W-6W im Vergleich zu den enzymatisch-mechanisch behandelten Suspensionen. Bei den Kontrollproben (7-9), die ebenfalls keiner enzymatischen Behandlung unterzogen wurden, konnte ebenfalls kein höherer Saponingehalt detektiert werden.

Tabelle 11: Übersicht der Probenbeschriftung der Erbsenfasersuspensionen (hier: C=Cellulase; P=Pektinase, H=Hemicellulase).

Proben- name	N	Druck [bar]	Enzym	Proben- name	N	Druck [bar]	Enzym
1-W¹⁾	2	520	/	14²⁾	4	2000	C+P
2-W¹⁾	2	1090	/	15²⁾	6	2000	C+P
3-W¹⁾	7	560	/	16²⁾	2	2000	P
4-W¹⁾	4	1270	/	17²⁾	4	2000	P
5-W¹⁾	3	680	/	18²⁾	6	2000	P
6-W¹⁾	8	2000	/	19²⁾	2	2000	H
1²⁾	2	2000	C+P+H	20²⁾	4	2000	H
2²⁾	4	2000	C+P+H	21²⁾	6	2000	H
3²⁾	6	2000	C+P+H	22²⁾	2	2000	P+H
4²⁾	2	2000	C	23²⁾	4	2000	P+H
5²⁾	4	2000	C	24²⁾	6	2000	P+H
6²⁾	6	2000	C	25³⁾	/	/	C
7²⁾	2	2000	/	26³⁾	/	/	H
8²⁾	4	2000	/	27³⁾	/	/	P
9²⁾	6	2000	/	28³⁾	/	/	C+P
10²⁾	2	2000	C+H	29³⁾	/	/	C+H
11²⁾	4	2000	C+H	30³⁾	/	/	P+H
12²⁾	6	2000	C+H	31³⁾	/	/	C+P+H
13²⁾	2	2000	C+P	32⁴⁾	/	/	/

¹⁾ in dest. Wasser bei Raumtemperatur über Nacht extrahiert, anschließend mechanisch. behandelt

²⁾ in Natriumcitrat-Puffer für 24 h bei 50 °C mit Enzym inkubiert; Inaktivierung des Enzyms für 15 min bei 80 °C; anschließend mechanisch behandelt

³⁾ in Natriumcitrat-Puffer für 24 h bei 50 °C mit Enzym inkubiert, Inaktivierung des Enzyms für 15 min bei 80 °C

⁴⁾ in Natriumcitrat-Puffer für 24 h bei 50 °C inkubiert, Inaktivierungsprozess für 15 min bei 80 °C

Tabelle 12: Gesamtsaponingehalt der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.

Probenname	Saponingehalt [mg/g]	Probenname	Saponingehalt [mg/g]
1W	3,22 ± 0,30	10	0,98 ± 0,05
2W	4,75 ± 0,62	11	0,27 ± 0,07
3W	3,23 ± 0,85	12	0,68 ± 0,06
4W	5,15 ± 0,12	13	0,58 ± 0,04
5W	6,04 ± 0,17	14	0,51 ± 0,07
6W	3,30 ± 0,34	15	0,68 ± 0,06
1	0,76 ± 0,10	16	1,25 ± 0,04
2	0,80 ± 0,11	17	0,73 ± 0,09
3	1,04 ± 0,02	18	1,24 ± 0,15
4	0,98 ± 0,00	19	1,04 ± 0,07
5	0,66 ± 0,05	20	1,23 ± 0,09
6	1,14 ± 0,05	21	1,01 ± 0,11
7	0,91 ± 0,07	22	1,06 ± 0,08
8	1,45 ± 0,13	23	0,21 ± 0,01
9	1,58 ± 0,03	24	0,09 ± 0,01

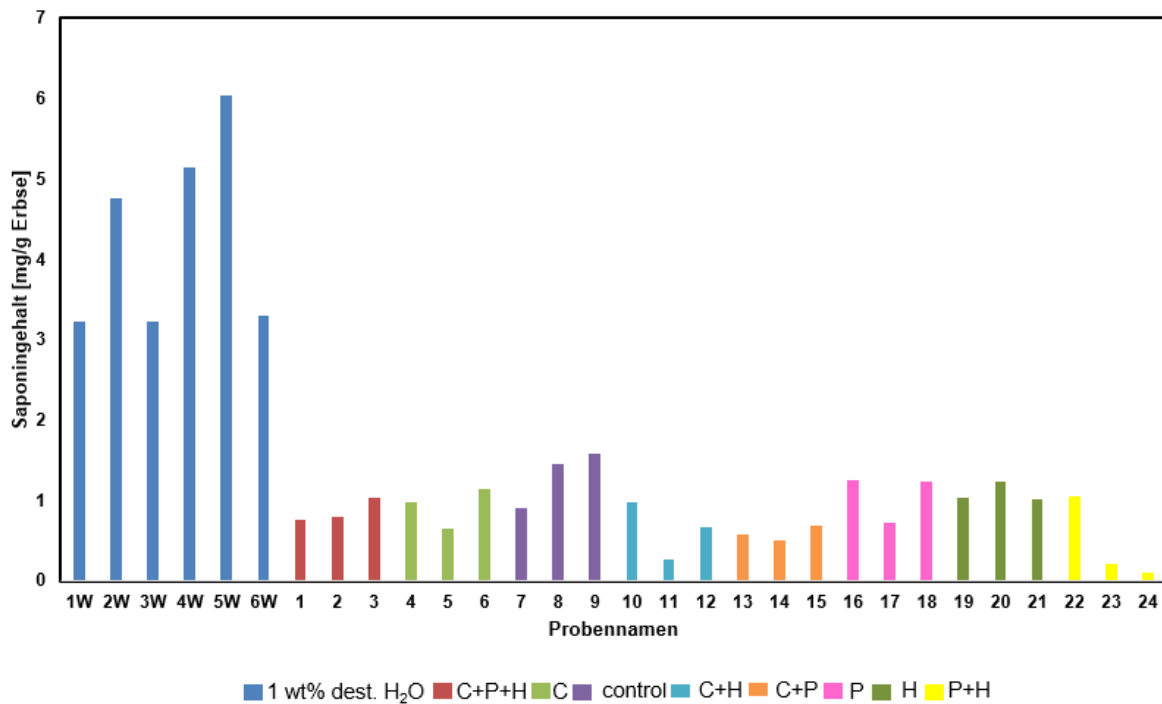


Abbildung 43: Ermittelte Saponingehalte der Erbsenfaser-Suspensionen (hier: 1 wt% dest. H₂O= ohne enzymatische Behandlung, in dest. Wasser gelöst; C=Cellulase; P=Pektinase, H=Hemicellulase; control=ohne enzymatische Behandlung, in Natriumcitratpuffer) mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.

Aufgrund der sehr geringen Konzentrationen von Saponinen in den Fasern, konnte im weiteren keine *Scale-up*-fähige Methode zur Anreicherung von Saponinen aus entsprechenden Faserextrakten etabliert werden.

Im Hinblick auf die Trypsininhibitoraktivität konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden (vgl. Tabelle 13 und Abbildung 44): Beim Vergleich der enzymatisch unbehandelten Proben (1W-6W) mit den behandelten Proben ist auffällig, dass die Trypsininhibitoraktivität (TIU/mg) deutlich erhöht ist. Nach der enzymatischen Vorbehandlung dieser Proben war generell die TI-Aktivität erniedrigt. Die Kontrollproben 7-9, die den gleichen Prozess ohne enzymatische Vorbehandlung durchliefen, zeigten eine ähnliche TI-Aktivität wie einige andere Proben mit enzymatischer Vorbehandlung. Tendenziell führen die weiteren Behandlungsschritte jedoch zu einer Abnahme der TI-Aktivität. Dies liegt vor allem an den klassischen Mechanismen der (Protein) denaturierung. Etwaige weitere Abbauprozesse, infolge der Behandlungen (z.B. Freisetzung von Aminosäuren und Peptiden aus den Inhibitoren) konnten nicht beobachtet werden.

Tabelle 13: Messung der Trypsin-Inhibitor-Aktivität der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.

Proben- name	Trypsininhibitor- Aktivität [TIU/mg]	Proben- name	Trypsininhibitor- Aktivität [TIU/mg]
1W	4,8	10	2,8
2W	12,2	11	1,5
3W	14,6	12	1,2
4W	11,0	13	0,0
5W	11,7	14	0,0
6W	3,1	15	0,0
1	0,0	16	0,6
2	0,0	17	1,0
3	0,2	18	0,0
4	1,8	19	0,0
5	1,0	20	0,0
6	3,2	21	3,7
7	0,0	22	3,2
8	2,5	23	2,3
9	1,9	24	6,3

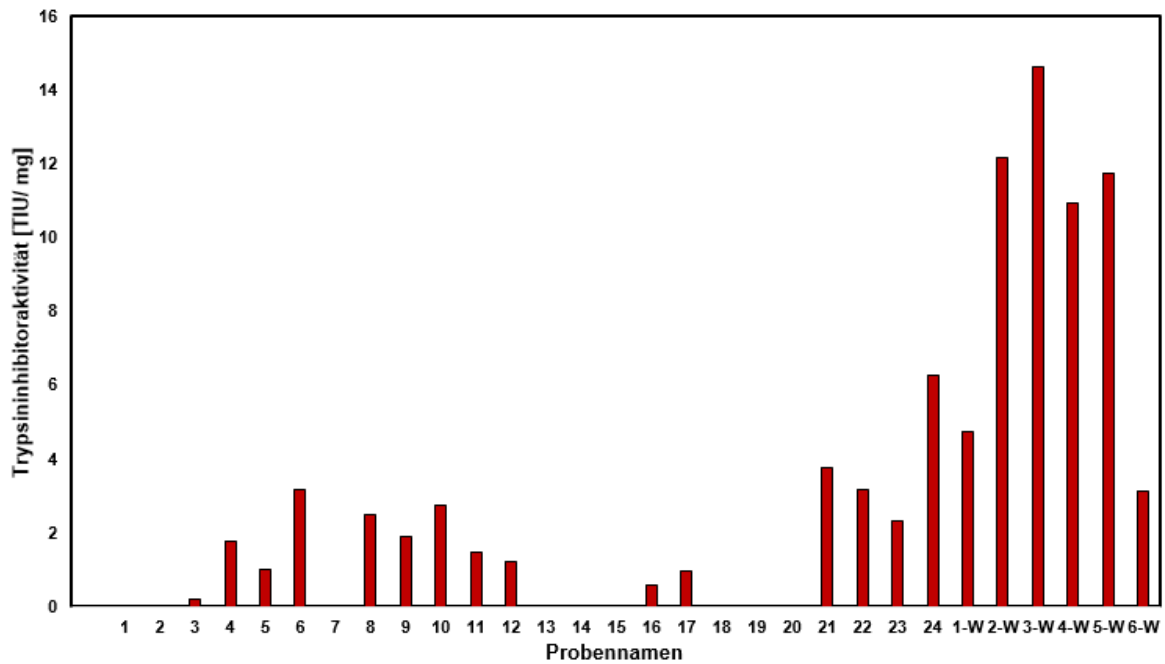
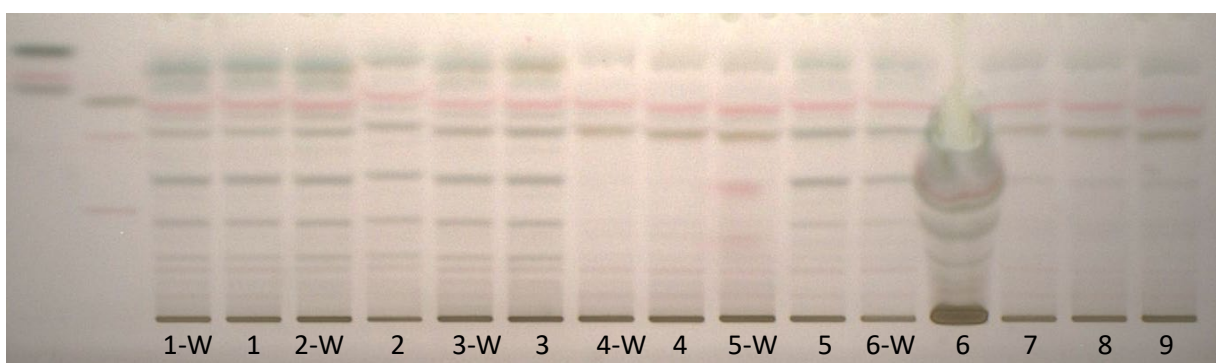


Abbildung 44: Ermittelte Trypsininhibitoraktivität der Erbsenfaser-Suspensionen mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.

HPTLC-Screening der Neutralzucker prozessierter Proben

Beim Vergleich der Erbsenfaser-Suspensionen, die zum einen nur enzymatisch und zum anderen sukzessive enzymatisch und mechanisch behandelt wurden, wird deutlich, dass keine signifikanten Unterschiede vorliegen. Beispielsweise wurden bei den Proben, die mit Cellulase bearbeitet wurden (25, 4-6), keine neuen Banden oder fehlende Banden identifiziert.

Lediglich bei der Probe 28, welche mittels Cellulase und Pektinase (C+P) aufgearbeitet wurde und die im Vergleich mit den Proben 13-15 steht, die zusätzlich mechanisch behandelt wurden, ist erkennbar, dass die Bande bei einem R_f von 0,38 bei der mechanisch unbehandelten Probe 28 fehlt.



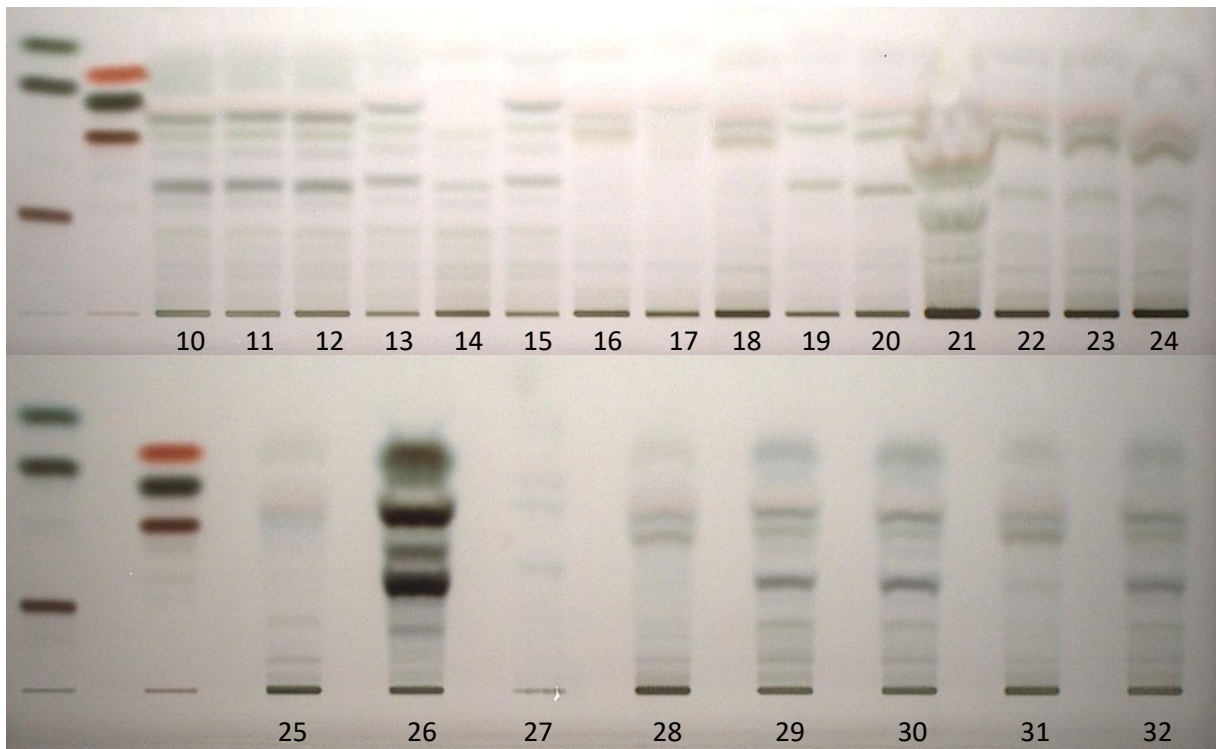


Abbildung 45: Oligosaccharidprofile der Erbsenfasersuspension mit der jeweiligen Probenbeschriftung aus Tabelle 11.

Saponin-Extraktion und Charakterisierung des Grenzflächenverhaltens

Aufgrund der sehr geringen Konzentrationen von Saponinen in den Fasern, konnte bisher keine *Scale-up*-fähige Methode zur Anreicherung von Saponinen aus entsprechenden Faserextrakten etabliert werden (vgl. vorherigen Abschnitt).

Darüber hinaus war es aufgrund von Lieferschwierigkeiten des Saponin-Standards nicht vollständig möglich, die erhaltenen Fraktionen zu charakterisieren und der TU Berlin eine geeignete Menge extrahierten Saponins zur Verfügung zu stellen.

Da von der Universität Hamburg keine ausreichenden Mengen Saponinextrakte zur Verfügung gestellt werden konnten, wurde an der TUB im Rahmen einer Diplomarbeit eine umfangreiche Literaturrecherche durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur von Saponinen und deren funktionellen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Saponinquelle besser zu verstehen. Im Anschluss an die Literaturrecherche eine Bewertung anhand eines kommerziellen Sojasaponin I mittels Tropfenkonturanalyse durchgeführt werden. Um die Grenzflächenfilmeigenschaften von Saponin zu ermitteln, wurden Sojasaponin I und ein Saponin-Extrakt aus *Quillaja saponaria Molina* (15,5 % Reinheit) mittels Tropfenkonturanalyse untersucht. Dafür wurde ein 30 mm³ großer Tropfen der Bulkphase in MCT-Öl (mittelkettige Tryglyceride) erzeugt und nach 30 s wurde 3 mm³ des Tropfens durch 0.5 und 0.05 wt-% Saponin-Lösung ausgetauscht. Der Tropfen hatte dann eine finale Saponinkonzentration von 0.05 und 0.005 wt%. Der Grenzflächenfilm konnte anschließend für insgesamt 14 h ausreifen. Der ausgereifte Film wurde danach mittels Oszillation deformiert. Die Deformation betrug ca. 1-5 % Tropfenkonturfläche. Die Antwort des Filmes auf diese Deformation wurde über die gemessene Grenzflächenspannung und

die Verschiebung des Phasenwinkels zwischen Grenzflächenspannung und Deformation abgebildet. Daraus lässt sich das Speichermodul E' , welches die elastischen Anteile des Films widerspiegelt, und das Verlustmodul E'' , welches die viskosen Anteile des Films widerspiegelt, umrechnen. Wenn $E' > E''$, so gilt, dass der Grenzflächenfilm elastisch ist. Je größer E' , desto widerstandsfähiger ist der Grenzflächenfilm gegenüber Deformation und desto stabiler wäre eine daraus gebildete Emulsion. Die beiden Module E' und E'' sind in Abhängigkeit der Deformation für beide getesteten Saponine in Abbildung 46 dargestellt.

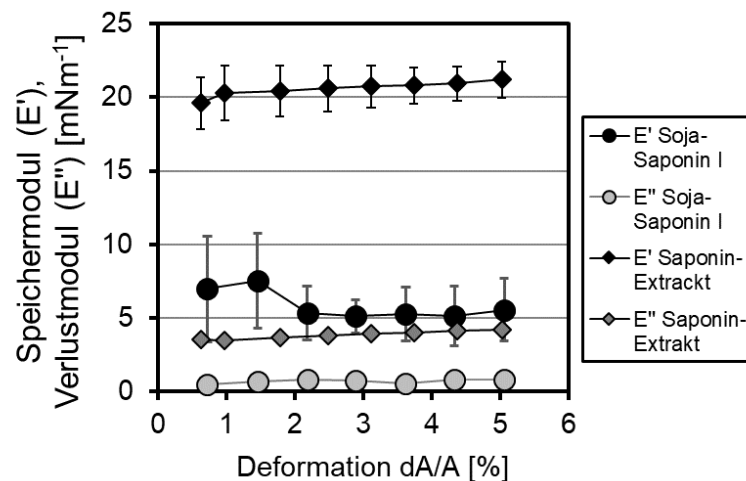


Abbildung 46: Speichermodul (Storagemodulus) E' und Verlustmodul (loss modulus) E'' in Abhängigkeit der Deformation (deformation) für Sojasaponin I (Sigma Saponin) und Saponin-Extrakt (liquid Saponin).

Für beide Saponine gilt, dass E' größer als E'' ist (Abbildung 46) und somit der Charakter des Grenzflächenfilms überwiegend elastisch ist. Des Sojasaponin I besitzt ein höheres E' und E'' als das Soja-Extrakt, weswegen anzunehmen ist, dass eine durch Sojasaponin I stabilisierte Emulsion stabiler wäre.

4.3. Erbseninnenfaser: Pektinextraktion aus Kotyledonen

Obwohl die Methode von Gutöhrlein, Drusch, & Schalow, (2020) angewendet wurde, konnte auch nach längeren Fällungszeiten keine unlösliche Fraktion zurückgewonnen werden. Dementsprechend wurde in einem zweiten Schritt der Anteil an Alkohol auf das Dreifache des Filtratvolumens erhöht, um die Präzipitation des Pektins zu fördern. In diesem Fall war nach zwei Stunden eine kleinere Menge an Partikeln ausgefallen. Diese wurden allerdings im anschließenden Filtrationsschritt wieder zerstört, sodass kein unlöslicher Anteil gewonnen werden konnte.

Die Zellwandstruktur der Erbseninnenfaser unterscheidet sich deutlich von der der Erbsenaußenfaser. Wie in Kapitel 4.1 beschrieben, weisen die Innenfasern einen höheren Gehalt an Protein und Stärke und einen geringeren Gehalt an Ballaststoffen auf. Dies kann für die geringere Freisetzung von Pektin während der Extraktion verantwortlich sein. Somit lässt sich zusammenfassend feststellen, dass Erbseninnenfasern kein adäquater Rohstoff für die industrielle

Pektingewinnung sind. Dies trifft auch auf die Gewinnung der Flavonoide zu, die in den untersuchten Rohstoffen nur sehr geringe Konzentrationen aufwiesen. Entsprechend konnte auch hier bisher keine *Scale-up*-fähige Methode zur Anreicherung von Flavonoiden aus entsprechenden Faserextrakten etabliert werden.

5. Diskussion der Ergebnisse

5.1. Basischarakterisierung der Erbsenaußenfaser und Erbseninnerfaser

Erbsenaußenfasern besitzen einen höheren Anteil an Ballaststoffen als die Erbseninnerfaser (Tabelle 4 und Abbildung 7), welche überwiegend aus Stärke besteht, wodurch hier die ursprüngliche Wasserretentionskapazität der Erbseninnerfaser erhöht ist.

Es ist festzuhalten, dass industriell-erhältliche Erbsen einen signifikant höheren Anteil an Galacturonsäure aufweisen als aufgereinigte Proben aus dem Pilot-Maßstab (Tabelle 4). Es könnte sein, dass während der industriellen Verarbeitung ein zusätzlicher Reinigungsschritt durchgeführt wurde, der die Aufkonzentrierung des Pektins begünstigte, der jedoch nicht im gleichen Maße auch bei den Proben aus dem Pilot-Maßstab durchgeführt wurde. Daher wird dieser Aspekt hier nicht weiter diskutiert.

5.2 Mechanisch-enzymatischer Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern

Systematische Untersuchung der geräteseitigen Einflussfaktoren (Druck, Anzahl der Durchläufe, Kammerkombination) auf Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften der Erbsenaußenfasern

Die Partikelgröße ist der Hauptparameter, der die technofunktionellen Eigenschaften der resultierenden mikrofluidisierten Probe definiert. In der Abbildung 47 wird schematisch der Prozess des Aufbrechens der Zellwand und der Defibrillation von Cellulose beschrieben. Wie zu sehen ist, wurden stabile, viskoelastische Suspensionen für $D_{90} \leq 80 \mu\text{m}$ hergestellt.

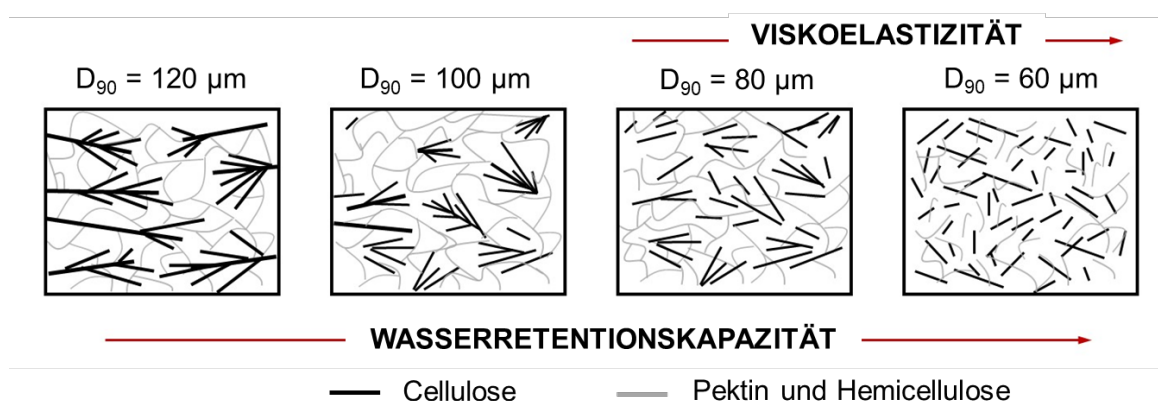


Abbildung 47: Schematische Darstellung der Zellwandzerstörung mit abnehmender Partikelgröße und deren Einfluss auf das viskoelastische Verhalten und die Wasserretentionskapazität.

Der Hauptunterschied der Funktionalität (Wasserretentionskapazität und Viskosität, Abbildung 25 und Abbildung 26) wurde beobachtet, wenn der D_{90} von 80 auf $60 \mu\text{m}$ reduziert wurde. Diese Änderung ist auf die Verringerung der Partikelgröße und die Freisetzung einiger löslicher Ballaststoffe zurückzuführen, die effizienter mit Wasser interagieren können. In Bezug auf die

Verarbeitungsparameter können verschiedene Druckbedingungen und die Anzahl der Durchläufe zu Suspensionen mit gleicher Partikelgrößenverteilung und vergleichbarer Funktionalität führen (Abbildung 21). Somit kann der Prozess energetisch und damit wirtschaftlich optimiert werden.

Untersuchung des Einflusses der Erbsensorte auf die Funktionalität von Erbsenfasersuspensionen (TUB)

Nachdem die Suspensionen reiner Sorten mikrofluidisiert worden waren, zeigten alle ein pseudoplastisches und viskoelastisches Verhalten (Abbildung 30 und Abbildung 31). Daher kann die entwickelte Methode unabhängig von der Art der Erbse allgemein angewendet werden. Jedoch besaßen die Suspensionen Wasserretentionskapazität zwischen 19 und 25 g Wasser / g unlösliches Material (Abbildung 32). Folglich kann das Endprodukt durch Auswahl bestimmter Sorten unter derselben Behandlung eine verbesserte Funktionalität aufweisen. In diesem Fall präsentierte Astronaute die geringste Wasserretentionskapazität. Beim Vergleich des viskoelastischen Verhaltens war der beobachtete Trend dagegen unterschiedlich: Reine Sorten wie Ostinato, Salamanca, Astronaute und die Industrieprobe L-31.0907 zeigten ein ähnliches Verhalten (Abbildung 31). Im Gegensatz dazu hatte Dolores trotz kleinerer Partikelgröße eine erheblich geringere Festigkeit.

Einfluss von enzymatischer Vorbehandlung auf die Eigenschaften von mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

Die getesteten Enzyme wurden ausgewählt, um die drei Zellwandpolysaccharidnetzwerke Cellulose, Hemicellulose und Pektin teilweise zu hydrolysieren. Cellulasen hydrolysieren die β -1,4-D-glykosidischen Verknüpfungen der Cellulose. Das eingesetzte kommerzielle Cellulase-Präparat enthält zum einen eine Endoglucanase-Aktivität, welche im Innern der Cellulose, vorrangig in amorphen Bereichen, spaltet. Zum anderen sorgt eine Exoglucanase/Cellobiohydrolase-Aktivität dafür, dass zwei bis vier Glucose-Bausteine enthaltene Cellulosebruchstücke vom äußeren Ende der Cellulosekette abgespalten werden, sogenannte Tetra, Tri- oder Disaccharide (Juturu & Wu, 2014). Letztere werden als Cellobiose bezeichnet.

Dementsprechend begünstigt die Wirkung der Cellulase (insbesondere Endoglucanase) offenbar die Aktivität von Hemicellulase und Pektinase durch die Verminderung von sterischer Hinderung als Folge des (partiellen) Abbaus von Pektin und Hemicellulose. Der Celluloseabbau ist in diesem Fall gekennzeichnet durch die Freisetzung langkettiger Cellulosepolymere und führt zu einer allgemeinen Lockerung des Zellwandverbundes (Abbildung 48). Im Gegensatz dazu wird aufgrund der kompakten Zellwandstruktur die Aktivität von ExoCellulasen bei alleiniger Anwendung der Cellulase begünstigt. Infolgedessen kommt es lediglich in den äußeren Bereich der Cellulose-Mikrofibrillen zur Hydrolyse und nur zu einer mäßigen Lockerung.

Der Einfluss der nachfolgenden mechanischen Prozessierung auf die bereits enzymatisch

vorbehandelten Zellwandpolysaccharide ist schematisch in Abbildung 49 dargestellt. So wird bei alleiniger Cellulase-Behandlung die Freisetzung von sehr kurzen Cellulosebruchstücken, wie oben beschrieben, begünstigt und damit der Anteil an ethanollöslicher Fraktion in der nachfolgend mikrofluidisierten Fasersuspension erhöht. Suspensionen, welche nach Behandlung mit Cellulase und Hemicellulase/Pektinase mechanisch prozessiert wurden, führen demgegenüber zu einer höheren Freisetzung an ethanolunlöslicher Fraktion, da der Zellwandverbund hier schon nach dem enzymatischen Abbau stark vorgelockert war. Es wird davon ausgegangen, dass diese Fraktion aus höhermolekularen Polysaccharidfragmenten eine Stabilisierung der Cellulose-Mikrofibrillen bewirkt und verantwortlich für die Ausbildung der oben beschriebenen Gitternetzstrukturen im Fasernetzwerk (siehe Abbildung 36) ist. Im Folgenden werden anhand der Abbildung 48 und Abbildung 49 Erklärungsansätze für diesen Effekt unter Zugrundelegung der jeweiligen spezifischen Aktivität der eingesetzten Enzyme beschrieben.

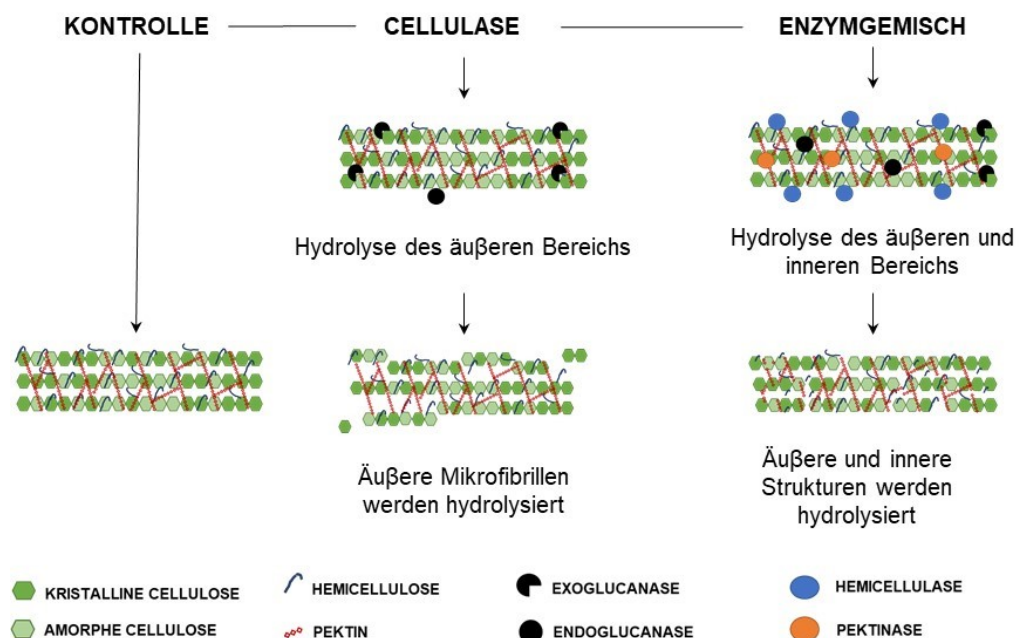


Abbildung 48: Schematische Darstellung zur Wirkungsweise von Cellulasen und Enzymkombinationen mit Cellulase bei der enzymatischen Vorbehandlung von Erbsenaußenfasern (zum Vergleich: Kontrolle ohne Enzymbehandlung).

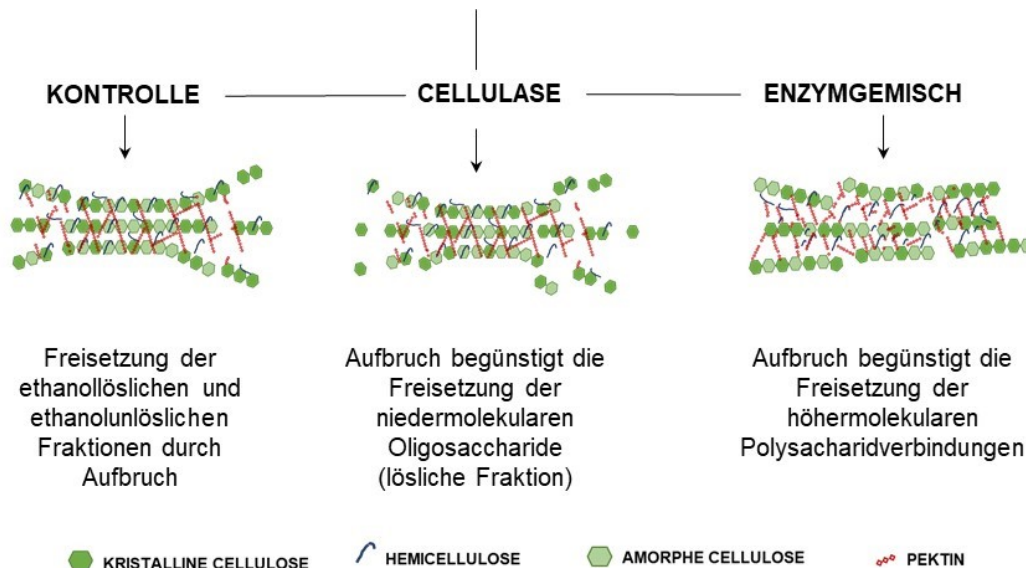


Abbildung 49: Schematische Darstellung zum Effekt der mechanischen Prozessierung mittels Mikrofluidizer auf enzymatisch vorbehandelte Erbsenaußenfaser-suspensionen (zum Vergleich: Kontrolle ohne Enzymbehandlung).

Diese Unterschiede lassen sich auf die thermische Behandlung und den Natrium-Gehalt in den Suspensionen zurückführen. Eine thermische Behandlung kann die Löslichkeit pektinartiger Substanzen erhöhen, was dann zur Lockerung des Zellwand-Netzwerks führt (Kieserling et al., 2019). Darüber hinaus können monovalente Kationen wie Natrium dissoziierte Carboxylgruppen in Pektinen abschirmen (Renard & Thibault, 1991). Vor diesem Hintergrund – und auf Grundlage unveröffentlichter Daten – ist es wichtig an dieser Stelle das gesamte Arbeitspaket im Blick zu behalten und die technofunktionellen Eigenschaften der Kontrollprobe mit denen der Suspension L-310907 aus Abschnitt 4.2.4 zu vergleichen. Diese Proben wurden aus demselben Rohstoff und unter denselben mechanischen Prozessierungsbedingungen jedoch mit unterschiedlicher Vorbehandlung und in verschiedenen Medien hergestellt. Während in Abschnitt 4.2.4 Natrium-Citrat-Phosphat-Puffer (pH 5.0) eingesetzt und die Probe 24 h bei 50 °C inkubiert wurde, um die Bedingungen der enzymatischen Hydrolyse zu simulieren, wurden die Fasern in Abschnitt 4.2.2 bei Raumtemperatur über Nacht in destilliertem Wasser suspendiert. Eine Suspension in destilliertem Wasser führte zu einer vernachlässigbar kleinen Menge an freigesetzten alkohol-unlöslichen Fraktionen (Abbildung 22), während die in Puffer inkubierte Probe einen relativ hohen Anteil an alkohol-unlöslichen Fraktionen aufwies (Abbildung 25). Desweiteren führte die Inkubation in Puffer zu einer zehnfach höheren Viskosität (Abbildung 29 und Abbildung 35) und einer höheren Wasserretentionskapazität (Abbildung 32 und Abbildung 39).

Einfluss von Trocknung auf die Eigenschaften von mechanisch und enzymatisch-mechanisch prozessierten Erbsenaußenfasern

Bei der Trocknung Cellulosereicher Suspensionen nehmen die Wasserbindeeeigenschaften der

Partikel durch das Schrumpfen der Struktur stark ab. Darüber hinaus kann die Porosität der Partikel durch das Kollabieren einzelner Poren weiter reduziert werden und Partikel können irreversibel miteinander interagieren und Aggregate bilden. Dies wiederum führt zu einer drastisch reduzierten Oberfläche und weniger exponierten OH-Gruppen, wodurch die Funktionalität eingeschränkt werden kann (Déléris & Wallecan, 2017).

Das Ausmaß an Partikelaggregation und -schrumpfung hängt von der Trocknungsmethode, der Partikelgröße, der Partikelkonzentration und der Zusammensetzung der Suspension ab (Peng et al., 2012). Bezüglich der Zusammensetzung der Suspension könnte das Verhältnis zwischen löslichen und unlöslichen Komponenten eine wichtige Rolle spielen, da manche Komponenten als „Abstandshalter“ dienen können und somit die Aggregation der Cellulose-Mikrofibrillen einschränken können. So führt z.B. die Gegenwart großer Xyloglucan-Ketten zu einer verbesserten Ausbreitung der Partikel in wässrigem Medium und könnte strukturelle Änderungen während der Trocknung und Rehydrierung reduzieren (Déléris & Wallecan, 2017). Dementsprechend ist es möglich, Strukturveränderungen und Funktionalitätsverluste durch Optimierung des Trocknungsprozesses oder Zusatz von förderlichen Substanzen zu reduzieren oder zu vermeiden.

Unter Betriebsbedingungen führte eine Erhöhung der Trocknungsrate (durch Erhöhung der Temperatur) bei gleichem Trockenmassegehalt zu einem höheren Funktionsverlust. Zum Beispiel könnte das Erreichen von 80 % Trockenmasse bei weichen oder intensiven Bedingungen (180 °C, 200 min bzw. 160 °C, 116 min) durchgeführt werden, was zu einer WRK von 17,3 und 12,6 g Wasser / g führt (Abbildung 42). Wie beim Mikrofluidisierungsprozess können daher die Bedingungen des Trocknungsprozesses ausgewählt werden, um eine spezifische WRK zu erzeugen oder den Funktionsverlust zu minimieren.

In Bezug auf den Einfluss der Zusammensetzung wurde beschrieben, dass die Freisetzung löslicher Verbindungen als Abstandshalter wirken kann, die die Aggregation verhindern (Déléris & Wallecan, 2017). Die aktuellen Ergebnisse zeigten jedoch den entgegengesetzten Trend (Abschnitt 4.2.5). Vermutlich waren die löslichen Verbindungen zu klein, um eine Aggregation zu verhindern, und können beim Trocknen sogar als Klebstoff wirken. Es ist möglich, dass die Freisetzung einer alkoholunlöslichen Substanz mit höherem Molekulargewicht die Aggregation verhindern kann.

6. Verwertungsplan

In Bezug auf das Upgrading der Erbsenaußenfasern konnten durch mechanische und eine Kombination aus enzymatisch-mechanischer Behandlungen thermisch-stabile viskoelastische Gele hergestellt werden, deren Eigenschaften mit einigen Faserprodukten vergleichbar sind, die bereits auf dem Markt verfügbar sind. Darüber hinaus konnten die Suspensionen durch Vakuumtrocknung stabilisiert werden. Obwohl dieses Verfahren zu einer relativen Abnahme der WRK führte, hatten die getrockneten Partikel einen hohen WRK-Wert (19 g Wasser / g), was von industrieller Relevanz ist. Im Hinblick auf eine Kommerzialisierung sollten sich Anwendungsversuche in Lebensmitteln, die Beurteilung der Konsumentenakzeptanz angereicherter Lebensmittel sowie Scale-up-Versuche zur Umsetzung des Prozesses im industriellen Maßstab durchgeführt werden. Die Ergebnisse wurden und werden allgemein zugänglich veröffentlicht, so dass sie von allen interessierten Parteien genutzt werden können. Eine direkte kommerzielle Verwertung und/oder Schutzrechtsanmeldung durch die Forschungseinrichtungen ist nicht geplant.

Des Weiteren führte die Extraktion von Pektin aus Erbseninnerfasern zu einem Verfahren, das eine viel intensivere Behandlung erfordert, als das derzeit zur Extraktion von Pektin aus Äpfeln verwendete Verfahren. Daher ist die Anwendung von Erbsenkeimblättern als Pektinquelle im industriellen Maßstab keine wettbewerbsfähige Methode.

7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Im Projektantrag wurden fünf Meilensteine beschrieben. Im Folgenden wird das Erreichen dieser Teilziele bewertet.

MS-1: Kenntnis über Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften aller untersuchten Rohstoffe (Schalen und Kotyledonen-Nebenprodukt) und Auswahl geeigneter Chargen für weitere Verfahrensentwicklungen.

Dieser Meilenstein wurde erreicht und die Ergebnisse sind in Abschnitt 4.2 beschrieben. Weitere Kenntnisse über die Struktur der Pektine und Hemicellulosen könnten nützlich sein, um die am besten geeignete enzymatische Behandlung auszuwählen.

MS-2: Definition geeigneter Prozessbedingungen für den enzymatisch-mechanischen Aufschluss von Erbsenschalen (Mikrofibrillierung) anhand der erzielten funktionellen Eigenschaften (Verbesserung von Wasserbindungseigenschaften und viskoelastischen Eigenschaften), Identifizierung von Wechselwirkungseffekten zwischen Struktur, Zusammensetzung und funktionellen Eigenschaften (TUB, UHH). Bewertung des nutritiven Potentials anhand der Gehalte an Saponinen (UHH).

Dieser Meilenstein wurde erreicht und die Ergebnisse wurden in Kapitel 4.2. beschrieben.

Weiterführende Fragestellungen betreffen die Verarbeitung, die weiter untersucht werden sollte, da folgende Fragen während der Bearbeitung aufgekomen sind:

- Wie kann die Konzentration der Suspension, die mikrofluidisiert wird, weiter erhöht werden?
- Wie können verschiedene Vorbehandlungen und Partikelgrößen den Prozess weiter beeinflussen?
- Wie kann die Mikrofluidisierung verbessert werden? Könnte eine Kombination von Temperatur-Vorbehandlung und Ionenstärke die benötigte Energie für den Prozess verringern?
- Wie können verschiedene Pektinasen und Hemicellulasen zur Hydrolyse der Zellwand-Polysaccharide eingesetzt werden?
- Kann die Aggregation während der Trocknung durch Hinzufügen von Alkohol-unlöslichen Substanzen verhindert werden?

MS-3: Definition geeigneter Verfahrensschritte zur Gewinnung von Saponin-Fractionen aus Erbsenschalen (UHH) und Identifizierung von Einsatzmöglichkeiten als Lebensmittel stabilisierende Zutat anhand der funktionellen Eigenschaften der gewonnenen Saponin-Extrakte (TUB).

Eine Verwertung der Fasern und intermediären Produkte zur Gewinnung von Saponinen oder Flavonoiden war nicht möglich. Im Gegensatz zu den Erwartungen waren die Gehalte beider Sekundärmetabolite einerseits insgesamt zu niedrig und andererseits auch zu schwankend für eine zielgerichtete Aufarbeitung. Im Hinblick auf technofunktionelle und funktionelle Eigenschaften kann aber bestätigt werden, dass Erbsensaponine stabile Grenzflächenfilme und somit kinetisch stabilisierte Emulsionen ausbilden können.

MS-4: Definition geeigneter Prozessbedingungen für die Extraktion von Pektinen aus Kotyledonen-Nebenprodukten und für die Aufarbeitung zur Erbseninnenfaser (TUB). Festlegung eines Verfahrens zur Gewinnung eines flavonoidreichen Wertstoffes aus den ethanolhaltigen Filtraten der Pektingewinnung (UHH).

In diesem Fall erforderte die Extraktion von Pektin aus Erbseninnerfasern sehr intensive Bedingungen und das Hinzufügen von mehr Schritten, die zu einem Produkt führen würden, das mit den derzeit verfügbaren Pektinen nicht wettbewerbsfähig ist.

MS-5: Darstellung eines aktualisierten Gesamtkonzeptes zur Erhöhung des Nutzungspotentials der untersuchten Nebenproduktströme bei der Erbsenverarbeitung (Erbsenschalen und Kotyledon-Rückstände) und abschließende Bewertung des Gesamtverfahrens zur Gewinnung funktionalisierter Wertstoffe.

Die bisherige Nutzung von Erbsen fokussierte einseitig auf die Stärkegewinnung. Zunehmend wächst ein Bewusstsein, dass über das bis dato als Nebenprodukt vernachlässigte Erbsenprotein, in

optimierten Prozessen mit dualer Nutzungsstrategie eine höhere Wertschöpfung zu erzielen ist. Basierend auf den Ergebnissen des vorliegenden Projekts wird deutlich, dass mit der Erbsenaußenfaser ein weiterer bisheriger Nebenstrom in eine hochfunktionelle Lebensmittelzutat umgewandelt werden kann. Eine weitergehende Diversifizierung wie die Gewinnung bioaktiver Inhaltsstoffe aus der Erbsenaußenfaser oder die Pektinengewinnung aus Kotyledonenrückständen erscheinen ökonomisch nicht sinnvoll. Die Projektergebnisse wurden in jährlichen Treffen vorgestellt, an denen folgende Unternehmen teilgenommen haben: Emsland-Stärke GmbH, Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Herbafood Ingredients GmbH, sowie Institutionen wie Ökologischer Landbau und andere Formen der nachhaltigen Landwirtschaft - Eiweißpflanzenstrategie Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) und die Gemeinschaft zur Förderung von Pflanzeninnovation eV (GFPI).

8. Zusammenfassung

Ziel des Projekts war es daher, Strategien zur Steigerung des Mehrwerts dieser Erbsenschalen durch Verbesserung ihrer technofunktionellen Eigenschaften und ihres Nährwerts zu entwickeln. Hierfür wurden sowohl enzymatische als auch mechanische Verfahren einzeln und in Kombination eingesetzt sowie verschiedene Trocknungsverfahren hinsichtlich ihrer stabilisierenden Wirkung beurteilt.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch eine nassmechanische Behandlung mittels Hochdruckhomogenisierung oder Mikrofluidisierung eine Zunahme der Wasserbindungseigenschaften und eine Freisetzung von Sekundärmetaboliten erreicht werden konnte. Dieser Effekt war umso ausgeprägter, je geringer die erzielte Partikelgröße war. Zudem führten Partikel mit einem $D_{90} \leq 80 \mu\text{m}$ zu stabilen viskoelastischen Suspensionen. Durch eine zusätzliche enzymatische Vorbehandlung mit verschiedenen einzeln oder in Mischung eingesetzten Enzymen konnten die technofunktionellen Eigenschaften der Erbsenfasern zusätzlich gezielt beeinflusst werden, während der Gehalt an Saponinen sank.

Ein Vergleich der Auswirkungen verschiedener Trocknungsverfahren auf die technofunktionellen Eigenschaften der behandelten Erbsenfasern zeigte, dass mit einer Vakuumtrocknung Faserprodukte erzielt werden konnten, deren Wasserbindekapazität mit einigen kommerziellen Ballaststoff-Rohstoffen vergleichbar ist.

Darüber hinaus zeigte diese Studie, dass eine kommerzielle Nutzung der Fasern zur Gewinnung von Saponinen und Flavonoiden prinzipiell möglich ist. Dies ist jedoch nur bei einzelnen Sorten mit außergewöhnlich hohem Gehalten dieser Sekundärmetaboliten sinnvoll.

9. Literaturverzeichnis

- Böttcher, S., Keppler, J. K. J. K., & Drusch, S. (2017). Mixtures of Quillaja saponin and beta-lactoglobulin at the oil/water-interface: Adsorption, interfacial rheology and emulsion properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 518, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.12.041>
- Brillouet, J.-M., Carry, B., & Carré, B. (1983). Composition of cell walls from cotyledons of *Pisum sativum*, *Vicia faba* and *glycine max*. *Phytochemistry*, 22(4), 841–847. https://ac.els-cdn.com/0031942283850092/1-s2.0-0031942283850092-main.pdf?_tid=a3325ec2-cdc5-11e7-8e1f-00000aab0f02&acdnat=1511163619_70175f998fafa15664338f129a233c7
- Brummer, Y., Kaviani, M., & Tosh, S. M. (2015). Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Research International*, 67, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.009>
- Chen, Y., Liu, C., Chang, P. R., Cao, X., & Anderson, D. P. (2009). Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.030>
- Déléris, I., & Wallecan, J. (2017). Relationship between processing history and functionality recovery after rehydration of dried cellulose-based suspensions: A critical review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 246(June), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.06.013>
- Dikeman, C. L., & Fahey, G. C. (2006). Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 649–663. <https://doi.org/10.1080/10408390500511862>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Fry, S. C. (2001). Plant Cell Walls. In *Encyclopedia of life Sciences* (pp. 1–11). Nature Publishing Group. http://rubisco.ugr.es/fisiofar/pagwebinmalcb/contenidos/Tema19/pared_celular.pdf
- Gutöhrlein, F., Drusch, S., & Schalow, S. (2020). Extraction of low methoxylated pectin from pea hulls via RSM. *Food Hydrocolloids*, 102, 105609. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105609>
- Juturu, V., & Wu, J. C. (2014). Microbial cellulases: Engineering, production and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 188–203. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.077>
- Kahlon, T. S., & Smith, G. E. (2007). In vitro binding of bile acids by blueberries (*Vaccinium* spp.), plums (*Prunus* spp.), prunes (*Prunus* spp.), strawberries (*Fragaria X ananassa*), cherries (*Malpighia puniceifolia*), cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and apples (*Malus sylvestris*). *Food Chemistry*, 100(3), 1182–1187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.066>
- Kieserling, K., Meyer, L., Drusch, S., & Schalow, S. (2019). Influence of mechanical and thermal treatment on particle structure, leaching of alcohol insoluble substances and water binding properties of pectin-rich orange fibre. *European Food Research and Technology*, 245, 1251–1262. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03249-5>
- Lopes da Silva, J. A., & Rao, M. A. (2016). Pectin: Structure, Functionality, and Uses. In M. S. Alistair, O. P. Glyn, & P. A. Williams (Eds.), *Food Polysaccharides and Their Applications* (Second, pp. 354–397). CRC Taylor & Francis Group.
- Mezger, T. G. (2014). *The rheology handbook for users of rotational and oscillatory rheometers* (V. Network (ed.); 4th ed.). European Coatings Library.
- Morales-Medina, R., Dong, D., Schalow, S., & Drusch, S. (2020). Impact of microfluidization on the microstructure and functional properties of pea hull fibre. *Food Hydrocolloids*. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105660>
- Morales-Medina, R., Pérez-Gálvez, R., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2017). Multiobjective optimization of the antioxidant activities of horse mackerel hydrolysates produced with protease mixtures. *Process Biochemistry*, 52, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.11.001>
- Naderi, A., Lindström, T., Sundström, J., Pettersson, T., Flodberg, G., & Erlandsson, J. (2015). Microfluidized carboxymethyl cellulose modified pulp: a nanofibrillated cellulose system with some attractive properties. *Cellulose*, 22(2), 1159–1173. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0577-3>
- Nechyporchuk, O., Belgacem, M. N., & Pignon, F. (2014). Rheological properties of micro-/nanofibrillated cellulose suspensions: Wall-slip and shear banding phenomena. *Carbohydrate Polymers*, 112, 432–439.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.092>

- Neugart, S., Fiol, M., Schreiner, M., Rohn, S., Zrenner, R., Kroh, L. W., & Krumbein, A. (2014). Interaction of moderate UV-B exposure and temperature on the formation of structurally different flavonol glycosides and hydroxycinnamic acid derivatives in kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(18), 4054–4062. <https://doi.org/10.1021/jf4054066>
- Neugart, S., Rohn, S., & Schreiner, M. (2015). Identification of complex, naturally occurring flavonoid glycosides in *Vicia faba* and *Pisum sativum* leaves by HPLC-DAD-ESI-MSn and the genotypic effect on their flavonoid profile. *Food Research International*, *76*(P1), 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.02.021>
- Nishiyama, Y., Langan, P., & Chanzy, H. (2002). Crystal Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose I from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. *Journal of American Chemical Society*, *124*(9074), 9082. <https://doi.org/10.1021/ja0257319>
- Pääkkö, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykä, A., Ahola, S., Österberg, M., Ruokolainen, J., Laine, J., Larsson, P. T., Ikkala, O., Lindström, T., Paakko, M., Ankerfors, S., Nykanen, A., Ahola, A., Osterberg, M., Ruokolainen, J., Laine, J., Larsson, P. T., ... Lindstrom, T. (2007). Enzymatic Hydrolysis Combined with Mechanical Shearing and High-Pressure Homogenization for Nanoscale Cellulose Fibrils and Strong Gels. *Biomacromole*, *8*, 1934–1941. <https://doi.org/10.1021/BM061215P>
- Peng, Y., Gardner, D. J., Han, Y., Douglas, J., Gardner, J., & Han, Y. (2012). Drying cellulose nanofibrils: in search of a suitable method. *Cellulose*, *19*(1), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9630-z>
- Reim, V., & Rohn, S. (2015). Characterization of saponins in peas (*Pisum sativum* L.) by HPTLC coupled to mass spectrometry and a hemolysis assay. *Food Research International*, *76*(P1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.043>
- Reinkensmeier, A., Bußler, S., Schlüter, O., Rohn, S., & Rawel, H. M. (2015). Characterization of individual proteins in pea protein isolates and air classified samples. *Food Research International*, *76*(P1), 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.009>
- Renard, C. M. G. C., & Thibault, J.-F. (1991). Composition and Physico-chemical properties of Apple Fibres from Fresh Fruits and Industrial Products. *Lebensm. Wiss Und Technol.*, *24*, 523–527.
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseleer, P., Guillon, F., Amadó, R., & Thibault, J.-F. (2000). Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, *33*, 72–79. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0595>
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, *42*(1), 176–184. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2008.10.003>
- Schestkova, H., Wollborn, T., Westphal, A., Maria Wagemans, A., Fritsching, U., & Drusch, S. (2019). Conformational state and charge determine the interfacial stabilization process of beta-lactoglobulin at preoccupied interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, *536*, 300–309. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979718312499>
- Tamm, F., & Drusch, S. (2017). Impact of enzymatic hydrolysis on the interfacial rheology of whey protein/pectin interfacial layers at the oil/water-interface. *Food Hydrocolloids*, *63*, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.013>
- Weightman, R. M., Renard, C. M. G. C., & Thibault, J. F. (1994). Structure and properties of the polysaccharides from pea hulls. Part 1: Chemical extraction and fractionation of the polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, *24*(2), 139–148. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(94\)90024-8](https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90024-8)
- Willemsen, K. L. D. D., Panozzo, A., Moelants, K., Debon, S. J. J., Desmet, C., Cardinaels, R., Moldenaers, P., Wallecan, J., & Hendrickx, M. E. G. (2017). Physico-chemical and viscoelastic properties of high pressure homogenized lemon peel fiber fraction suspensions obtained after sequential pectin extraction. *Food Hydrocolloids*, *72*, 358–371. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.06.020>
- Zhang, W., Xie, F., Lan, X., Gong, S., & Wang, Z. (2018). Characteristics of pectin from black cherry tomato waste modified by dynamic high-pressure microfluidization. *Journal of Food Engineering*, *216*, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.032>
- Zhao, G. H., Kapur, N., Carlin, B., Selinger, E., & Guthrie, J. T. (2011). Characterisation of the interactive properties of microcrystalline cellulose–carboxymethyl cellulose hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*, *415*(1–2), 95–101. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2011.05.054>

10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

Veröffentlichungen:

- Morales-Medina, R., Dong, D, Schalow, S und Drusch, S. (2020) Impact of microfluidization on the microstructure and functional properties of pea hull fibre, *Food Hydrocolloids*, 103, 105660
- Morales-Medina, R., Manthei, A und Drusch, S. Impact of a combination of enzymatic treatments and microfluidization on the microstructure and functional properties of pea hull fibre.
- Morales-Medina, R., Jorkowski, J und Drusch, S. Impact of vacuum-drying conditions on the functionality of microfluidized pea hull suspensions.

Wissenschaftliche Abschlussarbeiten:

- Masterarbeit, Technische Universität Berlin [Lebensmitteltechnologie], Funktionalisierung von Erbsenfasern mittels Hochdruckhomogenisation.
- Masterarbeit, Technische Universität Berlin [Lebensmitteltechnologie], Impact of enzymatic and mechanical treatment on water-binding properties of pea fibre.
- Masterarbeit, Technische Universität Berlin [Lebensmitteltechnologie], Impact of Vacuum-Drying Conditions on the Functionality of Microfluidized Pea Hull Suspensions.
- Diplomarbeit, Technische Universität Berlin [Lebensmitteltechnologie], Zusammenhang zwischen molekularer Struktur und Funktionalität von Saponinen
- Bachelorarbeit, Universität Hamburg [Lebensmittelchemie], Untersuchung von Polysacchariden in pflanzlichen Lebensmitteln mittels LC-MS.
- Diplomarbeit, Universität Hamburg [Lebensmittelchemie], Dünnschicht-chromatographische Charakterisierung von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen sowie Untersuchungen zur Allergenität in Erbsen (*Pisum sativum*).

Vorträge auf nationalen und internationalen Fachtagungen:

- Rohn S. Legumes supply chain and added value sharing – Specific quality parameters for food and feed. Legume Conference 2020 of the European Commission, Projektmeeting des EU-Projektes LEGVALUE, 30. April 2020, Riga/LAT.
- Zehring J, Walter S, Rohn S. Beurteilung der Eignung heimischer Körnerleguminosen anhand chemischer Qualitätsparameter im Hinblick auf verschiedene Interessensprofile. 54. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. (DGQ) zum Thema „Qualität 2030: Produktqualität in Zeiten des globalen Wandels“, 04.-06. März 2020, Hohenheim. [Abstract abgedruckt in: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland (eds.), Qualität 2030: Produktqualität in Zeiten des globalen Wandels, Eigenverlag, Quedlinburg, ISSN 1866-590X (2019), pp. 30]
- Morales Medina R., Dong, D., Schalow, S, Drusch S. Impact of microfluidization on the microstructure and functional properties of pea hull fibre. The 20th Gums & Stabilisers for the

Food Industry Conference. San Sebastian. Spain. 11-14.06.2019.

- Manthei, A. Morales Medina, R., Schalow, S., Drusch, S. Impact of enzymatic and mechanical treatment on techno-functional properties of pea hull fibre. Processnet. Lausanne. Switzerland. 05-07.03.2019
- Rohn S. ‚Give peas a chance‘ – das Revival der Hülsenfrüchte. „Wissen vom Fass 2019“ des Deutschen Elektronen-Synchrotron DESY, 25. April 2019, Hamburg.
- Rohn S. Hülsenfrüchte – die wahren Alleskönner. „Sommer des Wissens“ der Freien und Hansestadt Hamburg, anlässlich des 100. Geburtstags der Universität Hamburg, 30. Juni 2019, Hamburg.
- Rohn S. Qualitätsparameter von Leguminosen – Bedeutung und Neubewertung entlang der Wertschöpfungskette. PROTEINA 2019 – Nationales Symposium zum Thema „Proteine aus der heimischen Ackerbohne“, 21. Oktober 2019, Magdeburg.
- Rohn S. Qualitäten von Ackerbohnen und Erbsen. Gemeinsamer Workshop der Fava-Trading GmbH & Co. KG und des nationalen Demonstrationsnetzwerkes DemoNetErBo zum Thema „Ackerbohnen anbauen und vermarkten“, 23. Oktober 2019, Cadenberge.
- Rohn S. Technische und hygienische Herausforderungen bei der Protein- und Stärkeerzeugung aus Getreide und Leguminosen – Eine Einführung. Anwenderworkshop „Technische und hygienische Herausforderungen bei der Protein- und Stärkeerzeugung aus Getreide und Leguminosen“ der EurA AG und des ILU e.V., 14. März 2018, Berlin.
- Zehring Z, Cloppenborg S, Stevens K, Zerhusen-Blecher P, Schäfer BC, Quendt U, Rohn S. Modellhaftes Demonstrationsnetzwerk zur Ausweitung und Verbesserung des Anbaus und der Verwertung von Leguminosen mit Schwerpunkt Erbsen und Bohnen in Deutschland – DemoNetErBo. 52. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. (DGQ) zum Thema „Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten“, 26.-27. März 2018, Gießen. [Abstract abgedruckt in: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Braunschweig, Deutschland (eds.), Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten, Saphir Verlag, Ribbesbüttel, ISSN 1866-590X (2018), pp. 37]
- Rohn S. Qualitätsparameter von Erbsen – Bedeutung und Neubewertung entlang der Wertschöpfungskette. 17. Kooperationsforum des Forschungsbereichs der Ernährungsindustrie (FEI) "Proteinversorgung der Zukunft – Chancen für mehr Nachhaltigkeit und Ressourceneffizienz in der Lebensmittelproduktion", 24. April 2018, Bonn.
- Rohn S. Qualitätsparameter von Erbsen – Bedeutung und Neubewertung entlang der Wertschöpfungskette. Jahrestagung der Fachkommission "Tierernährung" der Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen e.V. (UFOP), 24. Mai 2018, Berlin.
- Rohn S. Innovative functional food and feed products based on regional grain legumes with special consideration of the whole food supply chain. Legume Conference 2018 of the European Commission, Projektmeeting des EU-Projektes LEGVALUE, 07. Juni 2018, Lelystad/NL.
- Rohn S. ‚Give peas a chance‘ – Funktionelle Lebensmittel aus heimischen Körnerleguminosen. Hightech Transfertag des IHK-Technologieforums und dem Wissenschaftspark Potsdam-Golm, 19. Oktober 2018, Potsdam-Golm.

- Rohn S. Legumes supply chain and added value sharing – Specific quality parameters for food and feed. Legume Conference 2018 of the European Commission, Workshop “Processing” des EU-Projektes LEGVALUE, 03.-04. Dezember 2018, Paris, Frankreich.

Posterbeiträge auf nationalen und internationalen Fachtagungen:

- Morales Medina R, Dong D, Schalow S and Drusch S. Interplay between physicochemical composition, size and functionality of microfluidized pea hull fibre gels (Processnet 2021)
- Schefer S, Mink K, Rohn S. Dünnschichtchromatographische Untersuchung von Saponinen, Proteinen und Nicht-Stärke-Polysacchariden in Erbsenfasern. 48. Deutscher Lebensmittelchemikertag, 16.-18. September 2019, Dresden. [Abstract abgedruckt in: Tagungsband 48. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Dresden, ISBN 978-3-947197-15-6 (2019), pp. 87]
- Beckmann J, Zehring J, Rohn S. Characterization of secondary plant metabolites in byproducts from pea fibre processing. 52. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. (DGQ) zum Thema „Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten“, 26.-27. März 2018, Gießen. [Abstract abgedruckt in: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Braunschweig, Deutschland (eds.), Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten, Saphir Verlag, Ribbesbüttel, ISSN 1866-590X (2018), pp. 47]
- Cloppenburg S, Zehring J, Quendt U, Rohn S. Bundesweiter Vergleich der Proteingehalte und der Trypsininhibitor-Aktivität von Erbsen aus dem ‚DemoNetErBo‘ des Jahres 2016. 52. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V. (DGQ) zum Thema „Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten“, 26.-27. März 2018, Gießen. [Abstract abgedruckt in: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Braunschweig, Deutschland (eds.), Sekundäre Pflanzenstoffe – Rohstoffe, Verarbeitung und biologische Wirksamkeiten, Saphir Verlag, Ribbesbüttel, ISSN 1866-590X (2018), pp. 56]
- Cloppenburg S, Zehring J, Quendt U, Rohn S. Bundesweiter Vergleich der Proteingehalte und der Trypsininhibitor-Aktivität von Erbsen aus dem ‚DemoNetErBo‘ der Jahre 2016 und 2017. 47. Deutscher Lebensmittelchemikertag, 17.-19. September 2018, Berlin. [Abstract abgedruckt in: Tagungsband 46. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Berlin, ISBN 978-3-947197-08-8 (2018), pp. 274]

II. Anhang zum Schlussbericht: kurz gefasster Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen

Das Vorhaben wurde im Rahmen der Bekanntmachung Nr. 09/14/31 vom 27.03.2015 über die Durchführung von modellhaften Demonstrationsnetzwerken sowie von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben zur „Ausweitung und Verbesserung des Anbaus und der Verwertung von Leguminosen mit Schwerpunkt Bohnen und Erbsen in Deutschland“ durchgeführt und ist somit Bestandteil der Eiweißpflanzenstrategie des BMEL. Die Eiweißpflanzenstrategie wird auch in der Charta für Landwirtschaft und Verbraucher im Handlungsfeld 2 als wichtiges Element zur Lösung von Zielkonflikten in der Landnutzung und Ressourcenschonung/-ausnutzung erwähnt. Dabei wird der Begriff Nachhaltigkeit meist im Zusammenhang mit ökologischen Vorteilen im Sinne einer besseren Verwaltung von Ressourcen und damit einer erhöhten Umweltverträglichkeit verwendet. Gerade im agrarwissenschaftlichen Bereich ist Nachhaltigkeit jedoch ebenso notwendig, um eine bessere wirtschaftliche Planbarkeit zu erreichen, die Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der Motivation (der Produzenten), weitere Maßnahmen im Sinne der Nachhaltigkeit anzunehmen. Oftmals ergibt sich hier jedoch eine gewisse Diskrepanz zwischen dem Anbau der Rohstoffe – der Urproduktion – und der Produktion der fertigen Produkte. Die Urproduktion wird dabei gehemmt von der Unsicherheit, dass nicht der gesamte Ertrag zu einem guten Preis verkauft kann, die Hersteller von Lebensmitteln beklagen, dass nicht genügend Rohstoff für eine Marktabdeckung vorhanden ist und vor allem Nebenproduktströme anfallen. Im vorliegenden Projekt wurden Erbsenschalen und faserreiche Fraktion der Erbsenkotyledonen adressiert, die bisher nur unzureichend verwertet werden konnten und in manchen Fällen sogar noch teuer entsorgt wurden. Diese Unsicherheit behinderte z.T. auch die Entwicklung von Produktinnovationen. Ganzheitliche Wertschöpfungskonzepte basieren auf einer möglichst umfassenden Nutzbarmachung von Haupt- und Nebenströmen bei der Verarbeitung von Rohstoffen. Ansatzpunkte ergaben sich hier unter anderem zu Demonstrationsnetzwerk Erbse/Bohne, indem viele Proben zur Verfügung standen und teilweise erste Ansatzpunkte für die hier durchgeführten Arbeiten ermöglicht wurden. Das in DemoNetErBo entwickelte Netzwerk bzw. die dort etablierten Wertschöpfungsketten, können nun teilweise für die weitere Verwertung der hier erhaltenen Ergebnisse nutzbar sein.

2. Wissenschaftliche und technische Ergebnisse des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen

Aus technischer Sicht wurde die Rolle der Hauptprozessparameter der Mikrofluidisierung (Anzahl der Läufe und Druck) auf die Stabilität, Viskosität, Viskoelastizität und Wasserrückhaltekapazität von Erbsenfasersuspensionen untersucht. Zusätzlich wurden enzymatische Hydrolyse und Mikrofluidisierung kombiniert, um die Auswirkungen auf die Funktionalität zu bewerten. Schließlich wurden die Hauptprozessparameter der Vakuumtrocknung (Zeit und Temperatur) variiert, um zu

untersuchen, wie sie die Funktionalität getrockneter Proben beeinflussten und so ein Prozess zur Nutzung der Erbsenaußenfasern als funktionelle Lebensmittelzutat etabliert. Aus wissenschaftlicher Sicht wurde das Zusammenspiel der chemischen Zusammensetzung, der physikalischen Mikrostruktur sowie der Funktionalität (Wasserbindungseigenschaften, Viskosität und Viskoelastizität) analysiert und aufgeklärt. Es konnten die Partikelgröße bestimmt werden, die zur Herstellung stabiler viskoelastischer Gele benötigt wird.

3. Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte

Die Ergebnisse wurden und werden allgemein zugänglich veröffentlicht, so dass sie von allen interessierten Parteien genutzt werden können. Eine direkte kommerzielle Verwertung und/oder Schutzrechtsanmeldung durch die Forschungseinrichtungen ist nicht geplant.

4. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Es ist davon auszugehen, dass der Absatz von Leguminosenrohstoffen weiterhin an Bedeutung gewinnen wird, da insbesondere Erbsenprotein und Erbsenstärke verstärkt am Markt nachgefragt werden. Verbunden mit dem regionalen Anbau sind – wie bereits im Antrag beschrieben – eine Senkung der Transportkosten sowie eine adäquate Verfügbarkeit der Rohstoffe und daraus hergestellter Produkte, welche für alle interagierenden Beteiligten (aus Anbau, Verarbeitung und Handel) zukünftig lukrative Wirtschaftseffekte in Aussicht stellen. Dementsprechend werden auch in Zukunft vergleichsweise große Mengen an Nebenproduktströmen zu verarbeiten sein, was die Hersteller von Erbsenprotein bzw. -stärke zunehmend vor die Aufgabe stellt, Wertstoffe mit verbesserten funktionellen Eigenschaften zu gewinnen, um diese erfolgreich am Markt platzieren zu können. Mit besonderem Hinblick auf das Nebenprodukt Erbsenschale besteht seitens namhafter Produzenten, ein sehr großes Interesse an der Umsetzung der Ergebnisse im Unternehmen. Ein genauer Zeithorizont ist zum jetzigen Zeitpunkt der Entwicklung noch schwer abzuschätzen und hängt zudem von der technischen Realisierbarkeit (ggf. Neuinvestitionen) im Unternehmen ab.

5. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende

Basierend auf den Ergebnissen dieses Projekts wird die TUB in Zusammenarbeit mit dem Karlsruher Institut für Technologie (KIT) das Projekt mit dem Titel „Entwicklung mechanisch-enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Qualitätsviskoser Ballaststoffkonzentrat (AiF 09791/20 N)“ durchführen. Ziel des Forschungsvorhabens ist es, kombinierte mechanisch-enzymatische Verfahren zur Herstellung niedrigviskoser Ballaststoffkonzentrate mit einem erhöhten Anteil an niedermolekularen Ballaststoffkomponenten (Oligosacchariden) zu entwickeln und deren Eignung zum Einsatz in gelartigen und flüssigen Lebensmitteln aufzuzeigen. Dieses Projekt wird im Zeitraum 2021 bis 2024 bearbeitet und wird vom Forschungskreis der Entwicklungsindustrie e V. (FEI) finanziert.

Verschiedenen Firmen und Organisationen, wie Cargill R&D Centre Europe BVBA, Emslandstärke

GmbH, Gemeinschaft zur Förderung von Pflanzeninnovation e.V., Fachverband Pektin e.V., J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Südzucker AG, und Symrise AG, sind Projektpartner. Ebenso sind weitere Partner, u.a. Herbstreith & Fox GmbH & Co. KG Pektin-Fabriken, Privatmolkerei Naarmann GmbH, Prolupin GmbH, A. Rieper AG und VF Nutrition GmbH, involviert

6. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Wie aus dem zuvor genannten Punkt ersichtlich wird, wurden die bisher erzielten Projektergebnisse bereits in Fachzeitschriften veröffentlicht, sowie im Rahmen von Workshops und Fachtagungen einem breiten Publikum aus unterschiedlichen Interessensbereichen vorgestellt. Darüber hinaus arbeiten die Forschungspartner bereits seit Längerem mit verschiedenen Unternehmenspartnern, u. a. der Emsland-Stärke GmbH, der Herbstreith & Fox Pektinfabriken KG sowie der J. Rettenmaier & Söhne GmbH & Co. KG zusammen, welche die FuE-Arbeiten beratend unterstützen und *vice versa* von den Forschungsstellen beraten werden. Bei erfolgreichem Projektabschluss sind die Industriepartner an einer Umsetzung der Verfahrensentwicklungen grundsätzlich interessiert.

7. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Die Projektergebnisse wurden in jährlichen Treffen vorgestellt, an denen Unternehmen wie die Emslandstärke GmbH, die Norddeutsche Pflanzenzucht GmbH, Herbstreith & Fox GmbH & Co. KG Pektin-Fabriken und die Gemeinschaft zur Förderung von Pflanzeninnovation eV teilnahmen. Das im Demonstrationsvorhaben *DemoNetErBo* entwickelte Netzwerk bzw. die dort etablierten Wertschöpfungsketten, können nun teilweise für die weitere Verwertung der hier erhaltenen Ergebnisse nutzbar sein.

8. Die Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung.

Der finale Zeitplan wurde eingehalten und ist in Tabelle 14 gezeigt.

Tabelle 14: Arbeits- und Zeitplan

		2017												2018												2019												2020											
		Jahr												Jahr												Jahr												Jahr											
		Sep	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mar	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mar	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mar	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov									
Projektquartal												Projektquartal												Projektquartal												Projektquartal													
AP1	TUB	Basischarakterisierung (Schale/Kotyledone): Struktur, Zusammensetzung und technofunktionelle Eigenschaften																																															
	UHH	Basischarakterisierung (Schale/Kotyledone): Sekundärmetabolite, Proteine, Zellwandeinzelbausteine												MS 1																																			
AP2	TUB	Mech.-enzym. Aufschluss von Erbsenschalen und Charakterisierung der Erbsenaußenfasern (Zusammensetzung und funktionelle Eigenschaften)																																				MS 2											
	UHH	Charakterisierung der Erbsenaußenfasern (Sekundärmetabolite, Proteine, Zellwandeinzelbausteine)												MS 2																																			
AP3	TUB	Charakterisierung der Saponin-Extrakte (funktionelle Eigenschaften)																																				MS 3											
	UHH	Saponin-Gewinnung aus Erbsenschalen und Charakterisierung der Saponin-Extrakte (Zusammensetzung)																								MS 3																							
AP4	TUB	Pektinextraktion aus Kotyledonen- Rückständen, Funktionalisierung der Innenfaser und Charakterisierung (Zusammensetzung, funkt. Eigenschaften)																																				MS 4											
	UHH	Flavonoid-Gewinnung aus den flüssigen Nebenströmen der Pektinextraktion und Charakterisierung der Pektine und Innenfaser																																				MS 4											
AP5	TUB	Zusammenfassende Bewertung des Gesamtverfahrens und Abschlussbericht: (Teilaspekt: Pektine und Fasern)																																				MS 5											
	UHH	Zusammenfassende Bewertung des Gesamtverfahrens und Abschlussbericht (Teilaspekt: Saponine und Flavonoide)																																				MS 5											

III. Merkblatt mit den Projektergebnissen