

Charakterisierung molekularer Parameter von Ballaststoffkomponenten aus Markerbsen und Lupinen im Hinblick auf ihre physiko-chemischen Eigenschaften

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Sabine Lämmche
aus Berlin

von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Ingenieurwissenschaften
- Dr.-Ing. -

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dipl.-Ing. Dr. U. Stahl
1. Bericht: Prof. Dr.-Ing. Dr. e.h. F. Meuser
2. Bericht: Prof. Dr. sc. techn. B. Senge

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 19.05.2004

Berlin 2004
D 83

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Lebensmitteltechnologie, Fachgebiet Getreidetechnologie, der Technischen Universität Berlin angefertigt. Sie entstand unter der Leitung meines Doktorvaters Prof. Dr. Dr. e. h. Friedrich Meuser, dem mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die hervorragende fachliche Betreuung sowie seine nimmermüde Unterstützung meiner beruflichen Weiterentwicklung während der langen Zeit unserer Zusammenarbeit gilt.

Herrn Prof. Dr. sc. techn. B. Senge danke ich sehr für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse und seine Bereitschaft, im Promotionsausschuss mitzuwirken. Herrn Prof. Dipl.-Ing. Dr. U. Stahl danke ich für die Übernahme des Vorsitzes im Promotionsausschuss.

Für die Bereitstellung der finanziellen Mittel zur Durchführung dieser Arbeit danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Ich danke dem Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV) in Freising für die Bereitstellung der verwendeten Lupinenfaserpräparate.

Bei Frau Dr. Claudia Niemann möchte ich mich ganz herzlich für die fachliche Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung dieser Arbeit bedanken. Sie war es, die diese Arbeit initiierte und mich ermutigte, die von ihr begonnene Forschungsarbeit fortzuführen.

Ich danke Herrn Dr. Mirko Bunzel von der Universität Hamburg für die sehr gute Zusammenarbeit und seine fachliche Unterstützung bei der Untersuchung der phenolischen Carbonsäuren.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Kunzek danke ich für sein Interesse an meiner Arbeit, seine fachlichen Ratschläge und die Möglichkeit, die Untersuchung der Wasserabsorption in seinem Institut durchzuführen.

Den Mitarbeitern des Fachgebiets Getreidetechnologie der Technischen Universität Berlin möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danken. Mein besonderer Dank gilt Frau Susanne Löffler für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Planung und Durchführung des Forschungsprojekts.

Nicht zuletzt danke ich meinen lieben Eltern für ihre jahrelange Unterstützung in jeder Hinsicht. Sie haben mich stets in allen meinen Plänen und Vorhaben bestärkt und niemals daran gezweifelt, dass ich die Dinge, die ich mir vorgenommen habe, auch schaffen werde.

Schließlich möchte ich mich ganz besonders herzlich bei Johan und Jamie für ihr Verständnis und ihre Geduld bedanken. Ihr beiden wart in den letzten Jahren für mich die wichtigste Motivation, nicht nur in Bezug auf diese Arbeit!

Inhaltsverzeichnis

1	 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	 STAND DES WISSENS	5
2.1	Verfahren zur Gewinnung von Faserpräparaten aus Markerbsen und Lupinen	5
2.2	Zusammensetzung und Charakterisierung von Ballaststoffkomponenten	6
2.2.1	Zellwandpolysaccharide	6
2.2.2	Zusammensetzung und Struktur von Pflanzenzellwänden	8
2.2.3	Physiko-chemische Eigenschaften von Faserpräparaten	8
2.3	Analystechniken zur Untersuchung der Molekularstruktur von Nichtstärke-Polysacchariden	12
2.4	Kenntnisstand zur Charakterisierung der Nichtstärke-Polysaccharide aus Leguminosen	14
3	 MATERIAL UND METHODEN	16
3.1	Rohstoffe und Untersuchungsmaterialien	16
3.1.1	Markerbsen	16
3.1.2	Lupinenfaserpräparate	16
3.1.3	Enzyme	17
3.2	Pilot-Verfahren zur Gewinnung von Markerbsenfaserpräparaten	18
3.3	Präparative Fraktionierung der Faserpräparate	19
3.3.1	Isolierung der Löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Fractionen	20
3.3.2	Sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen	21
3.4	Analysemethoden	24
3.4.1	Bestimmung des Wassergehaltes	24
3.4.2	Bestimmung des Stärkegehaltes	24
3.4.3	Bestimmung des Rohproteingehaltes	24
3.4.4	Bestimmung des Rohfettgehaltes	24
3.4.5	Bestimmung des Ascherückstandes	24
3.4.6	Bestimmung des Ballaststoffgehaltes	25

3.4.7	Bestimmung der pektinartigen Polysaccharide, Hemicellulosen, Cellulose und Lignin	25
3.4.8	Bestimmung des Gehaltes an resistenter Stärke	25
3.4.9	Bestimmung des Galacturonangehaltes	25
3.4.10	Bestimmung des Kaltwasserquellvermögens	25
3.4.11	Bestimmung des Kaltwasserbindevermögens, des Kaltwasserrückhaltevermögens und der Kaltwasserlöslichkeit	26
3.4.12	Bestimmung der Wasserabsorption mittels Kapillarsaugmethode	27
3.4.13	Rheologische Untersuchungen mittels Rotationsmessungen	27
3.4.14	Rasterelektronenmikroskopie	28
3.4.15	Bestimmung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharide	29
3.4.15.1	Probenvorbereitung	29
3.4.15.2	Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie mit pulsierender elektrochemischer Detektion (HPAE-PED LC)	30
3.4.16	Bestimmung von Molekulargewichten und Molekulargewichtsverteilungen mittels Hochleistungs-Größenausschluss-Chromatographie mit Vielwinkelstreulichtdetektor (HP-SEC/MALLS)	31
3.4.16.1	Probenvorbereitung	31
3.4.16.2	Versuchsanordnung	31
3.4.16.3	Mittlere Molekulargewichte und Polydispersität	35
3.4.17	Identifizierung und Quantifizierung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren in unlöslichen Ballaststoffkomponenten	36
3.4.17.1	Probenvorbereitung	36
3.4.17.2	Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie mit UV-Detektion	36
3.4.18	Charakterisierung der viskoelastischen Eigenschaften von Ballaststoffkomponenten mittels Oszillations-Rheometrie	37
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	39
4.1	Vergleich der Inhaltsstoffzusammensetzung der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparate	39
4.1.1	Ballaststoff-, Stärke-, Protein- und Mineralstoffgehalt	39
4.1.2	Cellulose- und Hemicellulosegehalt im Vergleich zum Gehalt an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen	41
4.1.3	Pektinartige Nichtstärke-Polysaccharide	44
4.2	Vergleich ausgewählter physiko-chemischer Eigenschaften der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparate	47
4.2.1	Wasserbindungseigenschaften	47

4.2.2	Rheologische Eigenschaften	51
4.2.3	Morphologische Eigenschaften	56
4.3	Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HPAE-PED-Chromatographie	57
4.3.1	Monosaccharid-Zusammensetzung der löslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen (<i>lNSP</i>)	57
4.3.2	Monosaccharid-Zusammensetzung der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen (<i>uNSP</i>)	63
4.3.3	Monosaccharid-Zusammensetzung der Extrakte der sequentiellen Extraktion pektinartiger Polysaccharide und Hemicellulosen	69
4.4	Untersuchung der Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen der löslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HP-SEC/MALLS-Chromatographie	78
4.5	Identifizierung und Quantifizierung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren in den unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HPLC mit UV-Detektion	85
4.6	Charakterisierung der Faserpräparate sowie der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels Oszillationsrheometrie	88
4.6.1	Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinen-Kotyledonon	88
4.6.1.1	Amplitudensweeps	89
4.6.1.2	Frequenzsweeps	93
4.6.2	Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der unlöslichen NSP-Fractionen aus den Faserpräparaten	96
4.6.2.1	Amplitudensweeps	96
4.6.2.2	Frequenzsweeps	99
5	ZUSAMMENFASSUNG	103
6	LITERATURVERZEICHNIS	112
7	ANHANG	121
7.1	Tabellen	121
7.2	Abbildungen	123

Verzeichnis der verwendeten Symbole und Abkürzungen

Symbole

Symbol	Bezeichnung	Einheit
G'	Speichermodul	Pa
G''	Verlustmodul	Pa
g	Erdbeschleunigung	m/s^2
M	molare Masse	g/mol, kg/kmol
m	Masse	g, kg
p	Druck	Pa, bar
T	Temperatur	$^{\circ}C$
t	Zeit	s, min
V	Volumen	m^3
$\dot{\gamma}$	Schergeschwindigkeit	1/s
η	Viskosität	Pa s
η_0	Ruhescherviskosität	Pa s
η_{equ}	Gleichgewichtsviskosität	Pa s
τ	Schubspannung	Pa
τ_0	Fließgrenze	Pa
$\tau_{Strukturz}$	Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung	Pa

Abkürzungen

4-HBA	4-Hydroxybenzaldehyd
4-HBS	4-Hydroxybenzoesäure
AACC	American Association of Cereal Chemists
ADF	Acid-Detergens-Faser
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BS	Ballaststoff
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMAC	Dimethylacetamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dn/dc	Brechungsindexinkrement
FS	Ferulasäure
GalA	Galacturonsäure
GC	Gaschromatographie
GlcA	Glucuronsäure
HCl	Salzsäure

HPAE-PED	High Performance Anion Exchange Chromatography with pulsed electrochemical Detection
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HP-SEC	High Performance Size Exclusion Chromatography
ISO	International Organization for Standardization
IVV	Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung in Freising
KOH	Kaliumhydroxid
konz.	konzentriert
KWB	Kaltwasserbindevermögen
KWL	Kaltwasserlöslichkeit
KWQ	Kaltwasserquellvermögen
KWRV	Kaltwasserrückhaltevermögen
LiCl	Lithiumchlorid
INSP	lösliche Nichtstärke-Polysaccharide
LVB	linear viskoelastischer Bereich
MALLS	Multi Angle Laser Light Scattering
n. b.	nicht bestimmt
n. n.	nicht nachweisbar
NaBH ₄	Natriumborhydrid
NaClO ₂	Natriumchlorit
NaN ₃	Natriumazid
NaNO ₃	Natriumnitrat
NaOAc	Natriumacetat
NaOH	Natriumhydroxid bzw. Natronlauge
ncNSP	Nichtcellulose-Nichtstärke-Polysaccharide
NDF	Neutral-Detergens-Faser
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NSP	Nichtstärke-Polysaccharide
PCS	Phenolische Carbonsäure
pNSP	pektinartige Nichtstärke-Polysaccharide
REM	Rasterelektronenmikroskop
RI-Detektor	Refraktionsindexdetektor
RS	Resistente Stärke
RT	Raumtemperatur
TFE	Trifluoressigsäure
TS	Trockensubstanz
TUB-Verfahren	Verfahren zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen nach MEUSER et al.
uNSP	unlösliche Nichtstärke-Polysaccharide
WBK	Wasserbindungskapazität
WRK	Wasserrückhaltekapazität

1 Einleitung und Problemstellung

Die positive ernährungsphysiologische Wirkung der Aufnahme von Ballaststoffen mit der Nahrung auf den menschlichen Organismus ist in den letzten Jahrzehnten eingehend untersucht worden, nachdem in den 70er Jahren von BURKITT et al. die Zusammenhänge zwischen der Ballaststoffaufnahmemenge und einigen Zivilisationskrankheiten entdeckt wurden [1]. Bis zum heutigen Zeitpunkt hat sich aus dieser Erkenntnis in Fachkreisen eine physiologisch-chemisch geprägte Definition für Ballaststoffe durchgesetzt, nach der es sich bei Ballaststoffen um die Überreste essbarer Pflanzenteile handelt, die aus Polysacchariden, Lignin und assoziierten Substanzen bestehen. Diese Überreste entstehen, weil sie gegenüber der Verdauung durch körpereigene Enzyme des Menschen resistent sind und deshalb in den Dickdarm gelangen [2]. Sie werden jedoch teilweise von den im Verdauungstrakt vorhandenen Mikroorganismen verstoffwechselt, worauf ein Teil ihrer ernährungsphysiologischen Wirkung beruht.

Aus der Feststellung einer bei weitem zu niedrigen Ballaststoffaufnahme in den westlichen Ländern, die sich aus dem präferierten Verzehr hochverfeinerter, ballaststoffarmer Lebensmittel ergibt, haben sich lebensmitteltechnologische Entwicklungen ergeben, die darauf gerichtet sind, Lebensmittel mit speziellen Ballaststoffpräparaten anzureichern, die häufig als Nebenprodukte bei der Verarbeitung von Grundstoffen anfallen. Ein wichtiges Beispiel dafür ist die bei der Mehlherstellung aus Weizen anfallende Kleie, die in aufbereiteter Form eine verbreitete Anwendung als Ballaststoffpräparat bei der Herstellung von Lebensmitteln gefunden hat. Solche Ballaststoffpräparate dienen zusätzlich zu ihrer ernährungsphysiologischen Wirkung auch zur Ausprägung von Qualitätsmerkmalen in Lebensmitteln, wie z. B. von Textur und Mundgefühl [3-8]. Die unterstützende Wirkung von Ballaststoffpräparaten zur Ausprägung dieser Merkmale beruht im wesentlichen auf ihrer Fähigkeit, unter Quellen Wasser zu binden. Die physiko-chemische Eigenschaft der Wasserbindung von Ballaststoffen wird in entscheidendem Maße von der chemischen Zusammensetzung und der Struktur der sie bildenden hochmolekularen Nichtstärke-Polysaccharide (NSP) beeinflusst.

Isolierte Pflanzenfasern oder Ballaststoffpräparate fallen auch als Nebenprodukte bei der Gewinnung anderer Inhaltsstoffe, wie z. B. Stärke oder Protein, aus landwirtschaftlichen Nutzpflanzen an. Einen besonders großen Gehalt an Ballaststoffen besitzen Getreide und Hülsenfrüchte (Leguminosen). Leguminosen besitzen einen weit größeren Anteil an löslichen Ballaststoffen als Getreideballaststoffe. Dies ist auf das größere Verhältnis aus den löslichen Ballaststoffen, darunter vor allem pektinartige Substanzen, und den anderen Inhaltsstoffen in den Leguminosen gegenüber dem Getreide zurückzuführen. Eine Quelle für derartige Faserpräparate stellen die Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen dar. Faserpräparate aus Markerbsen und Lupinen werden bislang noch nicht industriell hergestellt, es ist jedoch bekannt, dass sie ein außergewöhnlich großes Wasserbindevermögen besitzen [9, 10].

Die Gewinnung und Verwertung der Faserfraktionen aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen in Form von Ballaststoffpräparaten ist in den letzten Jahren in Mitteleuropa auch deshalb in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen und Interesses gerückt, weil industrielle Verfahren zur Verwertung von Markerbsen zur Stärkegewinnung und zur Verwertung von Lupinen zur Herstellung von Proteinpräparaten entwickelt worden sind, wobei die Faserfraktionen jeweils als Nebenprodukte anfallen. Aus diesem Grund ergibt es sich, dass auch der kommerziellen Verwertung dieser Faserfraktionen aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen ein hoher Stellenwert zukommt.

Lupinen (*lupinus spec.*) sind einjährige, großkörnige Leguminosen, die bezüglich ihrer Inhaltsstoffzusammensetzung, vor allem dem Protein- und Fettgehalt, der Sojabohne ähneln. Ernährungsphysiologisch wertvoll ist insbesondere der große Proteingehalt (bis zu 58 %) und die Zusammensetzung des Proteins, das besonders reich an Lysin, Isoleucin und Threonin, aber arm an Methionin und Cystein ist [11, 12]. Aufgrund dieser Aminosäurezusammensetzung gilt Lupinenprotein als ideale Ergänzung zum Getreideprotein in der für Lebensmittel auf Getreidebasis üblichen Zusammensetzung. Als hinderlich für den Einsatz von Lupinen in der Ernährung erwies sich bisher ihr großer Alkaloidgehalt, der nur durch extraktive Maßnahmen entfernt werden kann. Inzwischen gibt es aber fast alkaloidfreie Varietäten, sogenannte Süßlupinen (*Lupinus albus*, *L. luteus* und *L. angustifolius*), die als Alternative zu Sojabohnen genutzt werden können [13]. Deshalb werden heute bereits in industriellem Umfang aus geschälten Lupinen Mehle hergestellt, die zur Proteinanreicherung vor allem von diätetischen Produkten eingesetzt werden.

Eine weitere Besonderheit von Lupinen besteht in der Einlagerung großer Mengen an nicht-cellulosehaltigen Nichtstärke-Polysacchariden in den Zellwänden der Kotyledonen. Derzeit gibt es noch keine Ballaststoffpräparate aus Lupinen. Es existieren jedoch bereits Verfahren zur industriellen Herstellung von Lupinenfasern, die im Pilot-Maßstab erprobt worden sind [14, 15]. Dabei handelt es sich um Verfahren, bei denen aus Lupinen als Ausgangsstoff über mehrere Verfahrensstufen, die eine wässrige Extraktion einschließen, hauptsächlich Proteinprodukte und Faserpräparate gewonnen werden.

Die Erbse (*pisum sativum*) gehört ebenfalls zur Familie der Leguminosen. Die Kotyledonen von Erbsen besitzen sowohl einen großen Protein- als auch Stärke- und NSP-Gehalt. Die NSP können als Ballaststoffpräparate bei der Extraktion von Stärke aus Pal- und Markerbsen gewonnen werden [16, 17]. Eine Sonderstellung nimmt die Stärke aus der Markerbse (*pisum sativum* var. *medullare*) ein, die auf ihrem großen Amyloseanteil beruht, der bis zu 80 % betragen kann. Da diese Stärke ausgeprägte Filmbildungseigenschaften besitzt, wird ihre Verwendung hauptsächlich im Non-Food-Bereich bei der Herstellung wasserlöslicher, mechanisch stabiler Spezialfolien gesehen [18]. Aus ökonomischer Sicht ist die Stärkegewinnung aus Markerbsen jedoch nur dann sinnvoll, wenn auch die beiden anderen Hauptinhaltsstoffe, Proteine

und Ballaststoffe, einer kommerziellen Nutzung als entsprechende Produkte zugeführt werden können.

Die Hauptinhaltsstoffe von Markerbsen und Lupinen sind in Tabelle 1 gegenübergestellt.

Tab. 1. Inhaltsstoffzusammensetzung von Markerbsen und Lupinen [13].

Inhaltsstoffgehalt [% TS]	Markerbse	Lupine
Verdauliche Kohlenhydrate	28-31	5-8
Proteine	23-30	36-48
Gesamtballaststoffe	25-30	15-18
Fett	1-2	4-12

Quelle: PFOERTNER et al. (2001)

In Untersuchungen über die physiko-chemischen Eigenschaften von Faserpräparaten aus den Kotyledonen von Markerbsen konnten NIEMANN et al. bereits zeigen, dass diese Präparate ein großes Wasserbinde- und Quellvermögen besitzen und in Wasser Dispersionen mit einer großen Scherstabilität bilden [9, 10]. Aus eigenen Vorarbeiten ist weiterhin bekannt, dass sich die physiko-chemischen Eigenschaften von Faserpräparaten aus den Kotyledonen von Lupinen zum Teil gravierend von denen aus Markerbsenkotyledonen unterscheiden, obwohl ihre botanische Herkunft sehr ähnlich ist. Diese Ergebnisse über die bisher durchgeführten Untersuchungen an Leguminosenfaserpräparaten legen den Schluss nahe, dass für die Ausprägung ihrer physiko-chemischen Eigenschaften neben der chemischen Zusammensetzung der Polysaccharide auch die molekulare Struktur, d. h. die Molekülgröße, der Verzweigungsgrad und die Art der chemischen Verknüpfung der Moleküle untereinander entscheidend ist.

Zielsetzung dieser Arbeit war es deshalb, mit Hilfe geeigneter Analysemethoden sowohl die monomeren Bestandteile der NSP in Faserpräparaten aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen als auch ihre molekulare Suprastruktur zu identifizieren. Diese Untersuchungen stellen das fehlende Bindeglied dar, um den Zusammenhang zwischen der molekularen Struktur und den physiko-chemischen Eigenschaften dieser Präparate herzustellen. Es fehlt an dieser Stelle an Grundlagenwissen, das insbesondere auch deshalb geschaffen werden muss, um damit die Voraussetzung sowohl für die gezielte Herstellung von Faserpräparaten aus Pflanzenmaterial zu schaffen, als auch ein besseres Verständnis dafür zu gewinnen, wie prozesstechnische Maßnahmen auf die funktionellen und materialwissenschaftlichen Eigenschaften von Faserpräparaten wirken.

Für die Durchführung und Lösung der Forschungsaufgabe spielt der in jüngerer Zeit auf dem Gebiet der Polysaccharid-Analytik eingetretene Fortschritt eine wichtige Rolle. Diesbezüglich ist zu erwähnen, dass es durch die Einführung der Hochleistungs-Anionenaustauschchromatographie mit pulsierender amperometrischer Detektion (HPAE-PED) möglich geworden ist, die Monosaccharid-Zusammensetzung von relativ großen Abbauprodukten aus Polysacchariden zu analysieren [19]. Weiterhin können durch die Kombination der Hochleistungs-Größenausschlusschromatographie mit Lichtstreu-Detektoren (HP-SEC/MALLS) auch die Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen von hochmolekularen Substanzen untersucht werden [20, 21]. Neben den chromatographischen Methoden sind in den letzten Jahren auch rheologische Methoden entwickelt worden, bei denen mittels Oszillationsmessungen Hinweise auf die komplexen Strukturbildungsmechanismen von Pflanzenpolysacchariden erhalten werden können [22, 23].

Die Bearbeitung der Aufgabenstellung wurde in drei Abschnitte untergliedert. Im ersten Abschnitt wurden zunächst die zu untersuchenden Faserpräparate aus den Kotyledonen zweier Markerbsen- und Lupinensorten im halbtechnischen Maßstab hergestellt. Anschließend wurde die Inhaltsstoffzusammensetzung der so gewonnenen Faserpräparate untersucht. Weiterhin wurden ausgewählte Wasserbindungseigenschaften sowie rheologische Eigenschaften der Präparate bestimmt.

Im zweiten Abschnitt erfolgte die präparative Fraktionierung der Faserpräparate in Einzelkomponenten. Dabei wurden Methoden entwickelt, um die Faserpräparate aufzureinigen und in Einzelfractionen zu zerlegen, um sie so für die Untersuchung der Molekularstruktur vorzubereiten.

Im dritten Abschnitt erfolgte die Untersuchung der Molekularstruktur der gereinigten Polysaccharid-Fractionen, die den zentralen Teil der Aufgabenstellung darstellte. Dabei wurde die Zusammensetzung der Polysaccharide im Hinblick auf ihre Monomere mittels HPAE-PED-Chromatographie untersucht. Weiterhin wurden die Molekulargewichtsverteilungen bestimmter Polysaccharid-Fractionen mit Hilfe der HP-SEC/MALLS-Chromatographie ermittelt.

Phenolische Carbonsäuren (PCS) stellen zwar in Ballaststoffen nur eine Minor-komponente dar, es ist jedoch bekannt, dass sie aufgrund ihrer Eigenschaft, Quervernetzungen zwischen Polysaccharid-Ketten auszubilden, großen Einfluss auf die physiko-chemischen Eigenschaften verschiedener Ballaststoffkomponenten haben können [24]. Aus diesem Grund wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch das Vorhandensein solcher PCS mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie untersucht.

Außerdem wurden an den Faserpräparaten sowie an ausgewählten Einzelfractionen oszillationsrheometrische Messungen durchgeführt, um Informationen über die komplexe Struktur der Polysaccharide in wässriger Dispersion zu erhalten.

2 Stand des Wissens

2.1 Verfahren zur Gewinnung von Faserpräparaten aus Markerbsen und Lupinen

Aufgrund der besonderen Eigenschaften der hochamylosehaltigen Markerbsenstärke hat es viele Versuche gegeben, technische Verfahren für deren Gewinnung zu entwickeln [16, 17, 25-28]. Während die Versuche, die stärkereiche und die proteinreiche Fraktion auf trockentechnischem Wege voneinander zu trennen, nicht den gewünschten Erfolg hatten, sind bei der Entwicklung der nasstechnischen Verfahren zur Gewinnung von Markerbsenstärke zwei Lösungsansätze bis in den Pilot- bzw. Industriemaßstab verfolgt worden. Diese unterscheiden sich im Wesentlichen in der Abtrennung der Samenschale, der Vermahlung des Rohstoffs sowie der Gewinnung des Proteins [29]. Die im Rahmen dieser Arbeit zu untersuchenden **Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbsen** sollten prinzipiell nach dem von MEUSER et al. entwickelten Verfahren (TUB-Verfahren) gewonnen werden, bei dem die Faserfraktion als drittes Hauptprodukt neben Stärke und Protein anfällt [10, 30].

Bei diesem Verfahren wird zunächst eine Abtrennung der Samenschale auf nasstechnischem Wege vorgenommen. Hierzu wird der Rohstoff in Wasser gequollen, wodurch infolge der intensiven Wasseraufnahme die runzlige Oberfläche der Erbsen geglättet und die Zellstruktur aufgeweicht wird. Somit wird erreicht, dass in dem sich anschließenden Nassschälprozess die Samenschale zwischen rotierenden Gummiwalzen abgestreift werden kann. Die Schalen können aufgrund des Dichteunterschieds mittels Flotation von den Kotyledonen abgetrennt werden. Anschließend werden die Kotyledonen in einer Zahnringmühle nasszerkleinert. In der nachfolgenden Verfahrensstufe wird ein Großteil der Stärke und des Proteins mittels Nasssiegung aus der Kotyledonenmasse ausgewaschen. Da der ungelöste Anteil des Proteins zum Teil fest an die Oberfläche der Stärkekörner gebunden vorliegt, kann die Stärke nicht ohne weiteres mittels Zentrifugalabscheidung vom Protein getrennt werden. Aus diesem Grunde ist der zentrifugalen Trennstufe ein Hochdruckhomogenisator vorgeschaltet, in dem die Protein-Stärke-Partikel desintegriert werden. Die eigentliche Trennung von ungelöstem Protein und Stärke erfolgt anschließend in einer Hydrozyklonanlage. Der unter den Verfahrensbedingungen im Prozesswasser gelöste Proteinanteil wird mittels Fällungs- oder Ultrafiltrationsverfahren als Proteinprodukt gewonnen. Die Faserfraktion fällt bei dieser Verfahrensweise als Siebrückstand der Nasssiegung an. Zur Reinigung der Fasern wird der Siebrückstand solange mit Frischwasser gespült, bis der pH-Wert des Waschwassers neutral ist.

Während Lupinenmehle zur Proteinanreicherung von Lebensmitteln heute bereits in industriellem Umfang hergestellt werden, sind **Faserpräparate aus den Kotyledonen von Lupinen** derzeit noch nicht handelsüblich erhältlich. Es existieren jedoch bereits Verfahren zur industriellen Herstellung von Lupinenfasern, die im Pilot-

Maßstab erprobt worden sind [14, 15]. Dabei handelt es sich um Verfahren, bei denen aus Lupinen als Ausgangsstoff über mehrere Verfahrensstufen, die eine wässrige Extraktion einschließen, hauptsächlich Proteinprodukte und Faserpräparate gewonnen werden. Für die Gewinnung von Faserpräparaten aus den Kotyledonen ist es vorteilhaft, wenn die Verfahren von geschälten Lupinen ausgehen. Die in dieser Arbeit untersuchten Präparate wurden nach dem vom Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung in Freising (IVV) entwickelten Verfahren zur Herstellung von Lupinenfaserpräparaten isoliert. Dieses Verfahren beinhaltet eine saure Vorextraktion der entölteten Lupinenflocken am isoelektrischen Punkt bei einer Temperatur von ca. 10-15 °C. Die Extraktionszeit beträgt ca. eine Stunde. Anschließend erfolgt eine Fest-Flüssig-Trennung von Extrakt und Raffinat. Danach wird mit Hilfe eines zweistufigen Extraktionsschrittes bei einem pH-Wert von 7,4 und einer Temperatur von 30 °C das Protein aus dem Raffinat aus der Vorextraktion abgetrennt. Die Extraktionszeit beträgt hier ca. 45 min. Aus dem feuchten Extraktionsrückstand wird durch entsprechende Trocknung und Siebung ein Ballaststoffkonzentrat gewonnen, das einen Gesamtballaststoffgehalt von bis zu 80 % der Trockenmasse hat.

Faserpräparate aus den Kotyledonen von Lupinen sind in der Lage, das bis zu achtfache ihrer eigenen Masse an Wasser zu binden [31]. Dies ist eine Eigenschaft, die nicht nur von ernährungsphysiologischem Interesse ist, sondern auch technologisch eine große Bedeutung für den Einsatz solcher Präparate in Lebensmittelsystemen hat.

2.2 Zusammensetzung und Charakterisierung von Ballaststoffkomponenten

Gemäß der Definition [2] gehören zu den Ballaststoffen u. a. Zellwandbestandteile, nichtverdauliche Speicherpolysaccharide und lösliche Polysaccharide, welche die Pflanze vor dem Austrocknen schützen. Da die Zellwandbestandteile hiervon den mit Abstand größten Anteil ausmachen, sollen sie im Folgenden näher vorgestellt werden.

2.2.1 Zellwandpolysaccharide

In der Natur existieren mehr als 100 verschiedene Monosaccharide, von denen aber im Allgemeinen nur zehn als Monomere von Zellwandpolysacchariden vorkommen. Es handelt sich dabei um L-Arabinose, D-Xylose, D-Mannose, D-Glucose, D-Galactose, D-Ribose, L-Rhamnose, L-Fucose sowie die Uronsäuren D-Glucuronsäure und D-Galacturonsäure [32]. Die Polysaccharide bzw. deren Vorstufen werden während der Entwicklung der Pflanzenzellwand aus den Monosacchariden synthetisiert.

Den Hauptanteil der wasserunlöslichen Zellwandbestandteile bildet die **Cellulose**. Sie ist ein Polymer aus β -anhydro-1,4-Glucose mit einer Kettenlänge von 3000 bis 10.000 Glucoseeinheiten. Diese Ketten bilden Strukturen, die als Mikrofibrillen bezeichnet werden. In der Natur kommt Cellulose in reiner Form nur selten vor, häufig ist sie mit Hemicellulosen zu netzartigen Strukturen vergesellschaftet.

Hemicellulosen können wasserlöslich oder unlöslich sein. Sie besitzen keine einheitliche Gestalt und bestehen aus mindestens 250 verschiedenen Polysaccharid-Polymeren (ca. 150 bis 200 Monosaccharideinheiten pro Kette). Es kommen Homopolysaccharide aus Arabinose, Xylose, Mannose, Glucose und Galactose sowie Heteropolysaccharide, vor allem aus Xylose, Glucose, Galactose und Arabinose, vor [33]. Zusammen mit Pektin bilden Hemicellulosen die Matrix der Pflanzenzellwand, in welche die Cellulosefibrillen eingelagert sind.

Pektin ist ein Polymer aus 1,4- β -D-Galakturonsäure mit einem Molekulargewicht von 60.000 bis 90.000. Die Carboxylgruppen am C₆-Atom der Galakturonsäure sind zu unterschiedlichen Anteilen mit Methyl- oder Acetylgruppen verestert, außerdem kommen Rhamnose-Seitenketten vor. Je nach Struktur und Veresterungsgrad hat Pektin die Fähigkeit, mehr oder weniger stabile Gele zu bilden. Pektin zählt zu den wasserlöslichen Ballaststoffen.

Ebenfalls wasserlöslich sind **β -Glucane**. Sie sind wie Cellulose aus β -1,4-verknüpften Glucoseeinheiten aufgebaut. Getreide- β -glucane besitzen beispielsweise zwischen jedem dritten bis vierten Glucosemolekül eine β -1,3-glykosidische Bindung. Dies erklärt ihre Löslichkeit in Wasser. β -Glucane sind in der Lage, viskose Lösungen und Gele zu bilden [3].

Lignin ist ein Phenylpropan-Polymer mit einem Molekulargewicht zwischen 1000 und 4500, das durch enzymatisch initiierte Dehydrogenierungs-Polymerisation dreier primärer Vorstufen entsteht. Bei diesen handelt es sich um Coniferyl-, Sinapyl- und p-Cumarylalkohol [34]. Funktionell ist Lignin ein phenolisches Polymer, das mit anderen Zellwandbestandteilen in Wechselwirkung tritt, um Festigkeit, Widerstand gegenüber Abbau und Wasserundurchlässigkeit zu gewährleisten.

Phenolische Carbonsäuren stellen unter den Ballaststoffbestandteilen nur eine Minorkomponente dar. Sie sind Produkte des allgemeinen Phenylpropan-Stoffwechsels und nehmen im pflanzlichen Stoffwechsel eine zentrale Rolle ein [35, 36]. Es ist bekannt, dass sie aufgrund ihrer Eigenschaft, Quervernetzungen auszubilden, großen Einfluss auf die physiko-chemischen Eigenschaften von Ballaststoffkomponenten haben. Bereits durch Ausbildung weniger Polysaccharid-Quervernetzungen kann z. B. das Molekulargewicht um ein Vielfaches erhöht werden. In bisher durchgeführten Untersuchungen an löslichen und unlöslichen Getreideballaststoffen wurde die *trans*-Ferulasäure in allen Probenmaterialien als dominierende phenolische Carbonsäure bestimmt. Durch die Bindung von Ferulasäure an

Polysaccharide sind verschiedene chemische Mechanismen vorhanden, Polysaccharid-Ketten miteinander zu koppeln.

2.2.2 Zusammensetzung und Struktur von Pflanzenzellwänden

Die Bildung einer relativ starren Primärwand zwischen pflanzlichen Zellen war ein wesentlicher Entwicklungsschritt für das Leben von Pflanzen an Land. Die Primärwand schließt sich unmittelbar an die Mittellamelle an, welche die Grenze zwischen zwei benachbarten Zellen darstellt. Während die Mittellamelle fast vollständig aus Pektinen besteht, setzt sich die Matrix der Primärwand aus Pektinen und Hemicellulosen zusammen, in die nicht ausgerichtete Cellulosemikrofibrillen eingelagert sind. Nach Beendigung des Zellwachstums können Primärwände eine Sekundärwand bilden, die normalerweise aus drei Schichten aufgebaut ist. Im Gegensatz zur Primärwand besitzt die Sekundärwand einen stark erhöhten Anteil an parallel angeordneten Cellulosemikrofibrillen. Die Matrix besteht aus Hemicellulosen. Sekundärwände können verholzen, wobei Lignin von der Mittellamelle aus eingelagert wird. Die Lignifizierung und die daraus resultierende Festigkeit der Sekundärwand stellte einen weiteren wichtigen Entwicklungsschritt für die Landpflanzen dar [37].

Bezüglich der chemischen Struktur der Zellwände gibt es Unterschiede zwischen verschiedenen Arten von Pflanzen. Insbesondere unterscheiden sich die Zellwände der einkeimblättrigen Gräserfamilie (*Poaceae; Gramineae*) von denen zweikeimblättriger Pflanzen, zu denen u. a. die Leguminosen gehören [38]. Die Hemicellulosen stellen bei Endospermzellwänden von einkeimblättrigen Getreidekörnern mit einem Anteil von bis zu 90 % die Hauptfraktion der Polysaccharide dar. Diese Hemicellulosefraktion setzt sich hauptsächlich aus Arabinoxylanen und β -Glucanen zusammen. Der Celluloseanteil in den Zellwänden von Getreidekörnern kann je nach Art bis zu 30 % betragen. Pektine kommen in diesen Zellwänden nur in sehr geringen Mengen vor. Im Gegensatz dazu bestehen die parenchymatischen Zellwände zweikeimblättriger Pflanzen überwiegend aus Pektinen. Deren Anteil kann in diesen Zellwänden bis zu 55 % betragen [39]. Der Cellulosegehalt macht ungefähr 30 % der Zellwand aus, der Rest besteht aus Hemicellulosen. Unter den Hemicellulosen dominieren die Xyloglucane, während Arabinoxylane nur in sehr geringen Mengen vorkommen.

2.2.3 Physiko-chemische Eigenschaften von Faserpräparaten

Für die Anwendung von Faserpräparaten in Lebensmitteln sind neben ihren ernährungsphysiologischen besonders ihre funktionellen Eigenschaften von Interesse. Darunter werden nach der Definition von MORR und HA alle diejenigen physiko-chemischen Eigenschaften verstanden, welche die Struktur, das Aussehen, die Textur, die Viskosität, das Mundgefühl und die Bindung von Aromastoffen beeinflussen [40]. Die wichtigsten funktionellen Eigenschaften von Faserpräparaten, wie

das Quellvermögen, die Wasserbinde- und Wasserrückhaltekapazität sowie die Viskosität, hängen von der molekularen Struktur der einzelnen Ballaststoffkomponenten und den Herstellungsbedingungen ab, unter denen die zu ihrer Überführung in Trockenprodukte angewendeten Trocknungstechniken einen dominanten Einfluss besitzen. Zusätzlich werden diese charakteristischen Eigenschaften von den Produktionsbedingungen beeinflusst, unter denen die Präparate in die jeweiligen Lebensmittel eingebracht werden (Temperatur, pH-Wert, Ionenkonzentration etc.). Die komplexen Wechselwirkungen dieser Faktoren bestimmen letztendlich die Anwendungsgebiete von Faserpräparaten als texturgebende Lebensmittelinhaltsstoffe.

Wechselwirkungen mit Wasser nehmen unter den funktionellen Eigenschaften von Faserpräparaten eine herausragende Stellung ein. Es ist bekannt, dass Ballaststoffe in der Lage sind, erhebliche Mengen an Wasser physikalisch unter Quellung zu binden und dabei viskose bzw. festkörperartige Strukturen zu bilden.

Die Wasserbindung von Cellulose und Hemicellulosen wird vom Vorhandensein eines faserartigen Grundgerüsts verursacht, das feinste kapillarartige Hohlräume bildet, die das Wasser aufnehmen. Dabei quellen diese Ballaststoffe, wofür deren hydrophile polare Polysaccharid-Ketten verantwortlich sind [41]. Für die Wasserbindung und -rückhaltung dieser Produkte ist also ihre mikrokapillare Struktur von entscheidender Bedeutung. Das erklärt, warum beispielsweise vom gleichen Produkt grobe Partikel durch das Vorhandensein gewachsener Kapillaren mehr Wasser aufnehmen als feine, in denen die Kapillaren durch Zerkleinern zerstört sind.

Eine andere Form der Wasserbindung ist bei matrixbildenden Ballaststoffen, den sogenannten Hydrokolloiden, zu beobachten. Sie haben die Eigenschaft, mit Wasser in gelöster oder molekulardispers verteilter Form ihrer Moleküle oder Partikel eine Matrix auszubilden, die als Gel bezeichnet wird. Die Fähigkeit Gele zu bilden hängt von der Länge der Moleküle, der freien Beweglichkeit ihrer Seitenketten sowie ihrer Verknäuelung und intermolekularen Vernetzung ab. Beispiele für diese Art von Ballaststoffen sind Pektine und andere Schleimstoffe, wie Galactane und Mannane.

Zusätzlich werden die physiologischen und physiko-chemischen Eigenschaften von Ballaststoffen auch durch ihre Löslichkeit in Wasser geprägt. Im Allgemeinen gilt, dass eine strukturelle Verzweigung der Polysaccharide ihre Löslichkeit erhöht.

Grundsätzlich muss bei der Untersuchung der Wechselwirkungen mit Wasser beachtet werden, dass thermische, mechanische oder enzymatische Prozesse (z. B. Kochen, Trocknen, mechanische Zerkleinerung usw.) die Struktur von Ballaststoffkomponenten und damit ihre Wasserbindungseigenschaften wesentlich verändern können [41]. Bei der Bestimmung der Wasserbindung muss beachtet werden, dass die Begriffe Wasserbindungskapazität (WBK) und Wasserrückhaltekapazität (WRK), die in der Literatur häufig nebeneinander gebraucht werden, eine voneinander verschiedene Bedeutung besitzen. Die Wasserbindungskapazität hängt von der Partikelgröße und Partikelstruktur sowie von der chemischen Zusammensetzung

eines Präparates ab. Sie gibt Auskunft über die Fähigkeit eines Präparates, Wasser im Überschuss aufzunehmen, wenn keine nennenswerte Einwirkung äußerer Kräfte vorkommt. Demgegenüber ist die Wasserrückhaltekapazität die Fähigkeit eines Präparates, zugesetztes Wasser unter einer physikalischen Beanspruchung, z. B. Zentrifugieren, gebunden zu halten [42, 43].

Eine weitere physiko-chemische Eigenschaft von Nichtstärke-Polysacchariden besteht in der **Bindung organischer Stoffe**. Es ist bekannt, dass vor allem lösliche und stark quellende, polymere Ballaststoffe organische Verbindungen, insbesondere Sterolderivate wie Gallensäuren, Cholesterol und Steroidhormone, mehr oder weniger stark adsorbieren können. Diese Fähigkeit steht in Beziehung zu den physiologischen Wirkungen von Ballaststoffen, da sie dadurch in der Lage sind, Gallensäuren zu binden und in vivo die Gallensäuren- und Steroidexkretion zu erhöhen bzw. den Serumcholesterolspiegel zu senken [6]. Art und Ausmaß der Sterolbindung sind sehr variabel und hängen von der chemischen Struktur des Ballaststoffs und dem betrachteten Sterolderivat ab. Nach BIRKNER und KERN binden Hemicellulosen und Pektine polare Sterole adsorptiv über Wasserstoffbrücken an ihre hydrophilen Strukturelemente. In gleicher Weise ist auch die Bindung von Fettsäuren möglich [44]. In vielen Fällen sind auch Kombinationen von hydrophoben und hydrophilen Wechselwirkungen vorstellbar.

Durch eine Verkleinerung der Teilchengröße kann nach BURCZAK et al. durch die dadurch verursachte Oberflächenvergrößerung eine zusätzliche Erhöhung der Bindungskapazität bewirkt werden [45]. Außerdem werden Adsorptionsvorgänge auch durch die räumliche Anordnung der Moleküle beeinflusst. Aus den genannten Gründen erklärt sich, dass Hemicellulosen und Pektine, weniger aber Cellulose, Sterole zu binden vermögen.

Aufgrund ihres Gehaltes an sauren chemisch-funktionellen Gruppen (z. B. der Carboxylgruppen der Uronsäuren bei Pektin) ist eine Reihe von Faserpräparaten zur **ionischen Bindung von Kationen** in der Lage. Kationen können aber auch an Sulfatgruppen ionisch gebunden oder über koordinative Bindungen als Komplexe in das Fasergestüt bzw. die Matrix von Ballaststoffen eingeschlossen werden [41]. Hiervon sind besonders Schwermetallionen betroffen. Aus dem Wirkungsmechanismus der Kationenbindung erklärt sich, warum Pektine, saure Hemicellulosen und modifizierte Polysaccharide als Kationenfänger wirken, während reine Cellulose, neutrale Hemicellulosen, ungeladene pektinartige Substanzen und β -Glucane inert gegenüber frei verfügbaren Ionen sind. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass in der Literatur die Frage, ob eine erhöhte Ballaststoffaufnahme mit der Nahrung eine verminderte Bioverfügbarkeit für Spurenelemente und Mineralstoffe bewirkt, nicht eindeutig entschieden ist.

Aufgrund verschiedener Herkunft und Herstellungsweisen unterscheiden sich Faserpräparate in ihrer Partikelgrößenverteilung und in ihren **Oberflächeneigen-**

schaften. EASTWOOD und MITCHELL untersuchten bei verschiedenen Ballaststoffprodukten die Oberflächeneigenschaften. Dabei ergab sich ein positiver Zusammenhang zwischen der äußeren Oberfläche und der Wasserbindungskapazität [46]. Es ist allerdings nicht bekannt, ob es sich bei diesen Untersuchungen um Präparate mit gleicher Partikelgröße handelte.

Zur Ermittlung des Einflusses einer physikalischen Behandlung auf die Eigenschaften von Faserpräparaten wurden von BOCK und OHM elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt [47]. So wurde beispielsweise rasterelektronen-mikroskopisch die Zerstörung der gewachsenen biologischen Struktur zu Pulvern zerkleinerter Präparate verfolgt. Im Verlauf der Strukturzerstörung wurde eine starke Abnahme der Wasserbindungskapazität beobachtet [47].

Die **rheologischen Eigenschaften** von Faserpräparaten charakterisieren deren Viskosität und Fließverhalten unter der Einwirkung äußerer Kräfte und Momente. Es ist bekannt, dass das Fließverhalten von Stoffen von ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften abhängt. Es kann von der Form und Anordnung der Moleküle, deren Konzentration und Vernetzung, der Temperatur des Systems sowie der einwirkenden Schergeschwindigkeit bzw. Schubspannung beeinflusst werden.

Zellwandmaterialien wie Faserpräparate sind chemisch in die Stoffklasse der Biopolymere einzuordnen. Ihr rheologisches Verhalten resultiert aus den komplexen Interaktionen des gesamten Systems aus Feststoff und Wasser. Die trockenen Feststoffe rehydratisieren in Wasser und bilden eine Dispersion. Die Dispersionen können Sole oder Gele sein. Nach TERNES sind Dispersionen mit einer flüssigen kontinuierlichen Phase und einer festen dispersen Phase in die Gruppe der Sole einzuordnen [48]. Gele werden von DICKINSON als spezielle Art von Kolloiden (Molekulardispersionen) definiert, die im Ruhezustand und bei Einwirkung einer Deformation elastisch deformierbare Festkörper darstellen [49].

Zur Untersuchung des Fließverhaltens solcher Dispersionen aus Faserpräparaten werden mit Hilfe der klassischen Rotationsrheometrie Fließkurven aufgenommen, welche die im System auftretende Schubspannung τ in Abhängigkeit von der Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$ darstellen. Abbildung 1 zeigt eine graphische Zusammenfassung typischer Fließkurven [50].

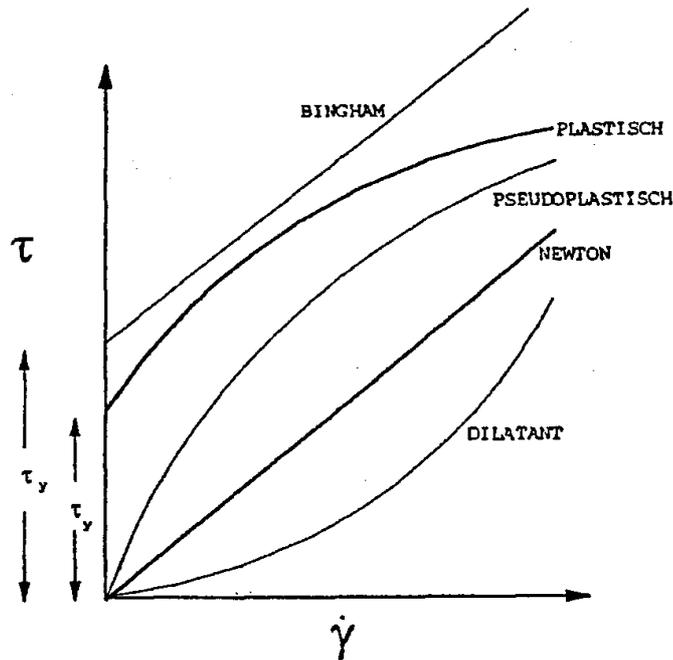


Abb. 1. Typische Fließkurven [50].

Wässrige Dispersionen aus Ballaststoffmaterial zeigen in der Regel pseudo-plastisches oder plastisches Fließverhalten. Scherkräfte bewirken sowohl eine Orientierung der Moleküle in Strömungsrichtung als auch eine Ausdehnung und Entknäuelung der Moleküle. Durch die Streckung des Moleküls wird außerdem noch Lösungsmittel freigesetzt, das vor der Beanspruchung in das Molekülknäuel eingelagert war. Das Zusammenwirken all dieser Effekte hat wiederum zur Folge, dass die innere Reibung, also die Viskosität, in Abhängigkeit von der Schubspannung abnehmen kann.

2.3 Analysetechniken zur Untersuchung der Molekularstruktur von Nichtstärke-Polysacchariden

Im Zusammenhang mit der Bestimmung des morphologischen Aufbaus von pflanzlichen Materialien und deren Zellwänden sind auch die Zellwandkomponenten Gegenstand vieler analytischer Arbeiten gewesen, die jedoch nur in wenigen Fällen mit Blickrichtung auf die funktionellen Eigenschaften von Faserpräparaten durchgeführt worden sind. Es ist zwar bereits ansatzweise versucht worden, Struktur-Eigenschafts-Beziehungen herzuleiten, diese sind jedoch weitgehend in den Anfängen stecken geblieben, weil es die angewendeten analytischen Methoden nicht erlaubten, die hochmolekulare Struktur der stark quellfähigen, zum Teil nur schwer löslichen Makromoleküle zu beschreiben.

In jüngerer Zeit sind jedoch auf dem Gebiet der Polysaccharid-Analytik wichtige Fortschritte gemacht worden. So sind z. B. die Techniken und Trennmaterialien für

die Größenausschluss-Chromatographie (SEC) zur selektiven Trennung von hoch- und niedermolekularen Polysacchariden entscheidend verbessert worden. Diesbezüglich besitzt die Hochleistungs-Größenausschluss-Chromatographie (HP-SEC) gegenüber der Niederdruck-Größenausschluss-Chromatographie (LP-SEC) den großen Vorteil einer erheblich kürzeren Analysenzeit bei sehr hoher Auflösung. Der wichtigste Fortschritt diesbezüglich besteht jedoch in der Kombination der HP-SEC mit Detektionsmethoden zur Bestimmung von Molekulargewichten und Molekulargewichtsverteilungen, die auf Multiwinkel-Laserlichtstreuung (MALLS) beruhen. Mit Hilfe der HP-SEC/MALLS können auch hochmolekulare Substanzen mit Molekulargewichten bis zu mehreren Millionen Dalton getrennt und detektiert werden [20, 21]. Der Vorteil dieser Methode besteht vor allem darin, dass die Bestimmung der Parameter Molekulargewicht, mittleres gewichtetes Molekulargewicht und Polydispersität bei hochpolymeren Substanzen direkt möglich ist. Es brauchen deshalb keine Kalibrationskurven erstellt werden, wie sie normalerweise für die SEC benötigt werden. Eine Kalibration ist bei Polysaccharid-Gemischen aus Faserpräparaten allein schon deshalb nicht möglich, weil es keine Vergleichssubstanzen gibt.

Die Untersuchung der Monosaccharidzusammensetzung von Polysacchariden wurde bis vor einigen Jahren traditionell mit Hilfe der Gaschromatographie (GC) durchgeführt. Diese Methode erfordert einen sehr zeitaufwendigen Derivatisierungsprozess der Probenmaterialien. Durch die Einführung der Hochleistungs-Anionenaustauschchromatographie mit pulsierender amperometrischer Detektion (HPAE-PED LC) ist es jedoch heute möglich, Monosaccharide schnell und eindeutig zu identifizieren und zu quantifizieren. Das Prinzip der amperometrischen Detektion von Monosacchariden basiert darauf, dass Zucker schwache Säuren sind und somit mit Hilfe von starken Basen in die Anionenform umgewandelt werden können. Diese Anionen können elektrochemisch (amperometrisch) detektiert werden. Der Einsatz starker Basen wie z. B. NaOH als Laufmittel bei der HPLC setzt allerdings voraus, dass sowohl die Säulenmaterialien als auch Pumpenköpfe und Kapillaren im pH-Bereich von 1-14 stabil sind.

Durch die Einführung der HPAE-PED-Chromatographie ist es heute möglich geworden, Abbauprodukte aus Polysacchariden bis zu Polymerisationsgraden von 60 Monosaccharid-Einheiten zu analysieren [19]. Damit ist es möglich, die Monosaccharid-Zusammensetzung von relativ großen Abbauprodukten von Polymeren zu untersuchen.

Auch phenolische Carbonsäuren (PCS) als Ballaststoffkomponenten können mit Hilfe der HPLC analysiert werden. Dazu müssen die Probesubstanzen zunächst alkalisch hydrolysiert und anschließend die PCS mit Diethylether extrahiert werden. Der Trennung mittels HPLC folgt hier eine Detektion der zu analysierenden Komponenten mit Hilfe eines Photodioden-Array-Detektors.

Neben den chromatographischen Methoden sind in den letzten 10 Jahren auch rheologische Methoden entwickelt worden, mit denen mittels Oszillationsmessungen

Hinweise auf die komplexe Struktur von Pflanzenpolysacchariden erhalten werden können [22, 23]. Die meisten ballaststoffartigen Substanzen besitzen, in Wasser suspendiert, sowohl Feststoff- als auch Flüssigkeitseigenschaften (Viskoelastizität). Die Anteile dieser beiden gegensätzlichen Eigenschaften können mit Hilfe von Oszillationsmessungen untersucht werden. Bei diesen Messungen wird das Untersuchungsgut einer sinusförmigen Beanspruchung (Momentvorgabe) unter Vorgabe eines Deformationswinkels oder einer Schubspannung ausgesetzt. Die dabei auftretende resultierende Größe, der Verschiebungswinkel, oszilliert ebenfalls und dient als Messgröße. Für Feststoffe gilt dabei, dass der der Deformation entgegengesetzte Widerstand genau proportional zur Deformationsenergie ist. Dementsprechend ist dieser Widerstand während der Messung exakt phasengleich mit der sinusförmigen Scherbeanspruchung. Dies bedeutet, dass bei idealen Feststoffen die gesamte Deformationsenergie gespeichert wird und erst wieder abgegeben wird, wenn die Beanspruchung abnimmt. Die Messgröße, die den Anteil des Feststoffcharakters einer Probesubstanz beschreibt, wird deshalb Speichermodul (G') genannt. Bei idealen Flüssigkeiten wird die zugeführte Deformationsenergie vollständig dissipiert. Dementsprechend ist hier die Messantwort exakt phasenversetzt (-90°) zur sinusförmigen Vorgabe. Sie wird als Verlustmodul (G'') bezeichnet [51]. Das Verhältnis von Speichermodul und Verlustmodul einer Probesubstanz beschreibt das frequenzabhängige Verformungsverhalten des Untersuchungsgutes, das bei chemisch unvernetzten viskoelastischen Substanzen mit hohem Molekulargewicht Informationen über die Struktur des Systems liefert. Es können dadurch „Verschlaufungen“ und „Verhakungen“ der Makromoleküle bzw. Partikel detektiert werden.

2.4 Kenntnisstand zur Charakterisierung der Nichtstärke-Polysaccharide aus Leguminosen

In der Literatur gibt es eine Reihe von Veröffentlichungen, deren Gegenstand die Untersuchung der Hauptinhaltsstoffe von Pelerbsen (*pisum sativum* var. *sativum*) und Markerbsen war [52-57]. Es gibt bereits auch Publikationen über die chemische Zusammensetzung der NSP der Kotyledonen von Pelerbsen [52, 54, 58-60]. Untersuchungen von BRILLOUET und CARRE ergaben, dass Kotyledonen von Erbsen zu ca. 55 % aus pektinartigen Substanzen bestehen, die hauptsächlich aus Arabinose, Galacturonsäure und Glucose aufgebaut sind [60]. Die Glucose liegt dabei in Form von Glucanen vor, die 4,6- und 4,3-glykosidisch verknüpft sind. DANDANELL und AMAN stellten fest, dass das am häufigsten vertretene Saccharid in Erbsenkotyledonen Arabinose ist, gefolgt von Galacturonsäure und Glucose [52]. Außerdem kommen geringe Anteile Xylose und Galactose vor. Über die Monosaccharid-Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharide aus den Kotyledonen von Markerbsen liegen jedoch bislang keine Publikationen vor.

Bislang sind nur wenige Untersuchungsergebnisse über die Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharide in den Kotyledonen von Lupinen veröffentlicht worden [52, 58, 61, 62]. DANDANELL und AMAN haben gezeigt, dass die Polysaccharide von geschälten Weißlupinen hauptsächlich aus Galactose bestehen [52]. An zweiter und dritter Stelle folgten mit weitem Abstand Arabinose und Uronsäuren. Das Verhältnis von Galactose zu Arabinose zu Uronsäuren wurde mit 189:33:25 bestimmt. CARRE et al. fanden mittels Ionenaustausch-Chromatographie, dass in den NSP außerdem geringe Anteile an Rhamnose und Xylose enthalten sind [61]. Von diesen Autoren durchgeführte Methylierungsanalysen ergaben weiterhin, dass die Galactose-Einheiten hauptsächlich 1-4-glykosidisch verknüpft sind, während die Arabinose in stark verzweigten Strukturen vorliegt. Untersuchungen von AL-KAISEY und WILKIE bestätigten die Ergebnisse der Bestimmung der Monosaccharid-Zusammensetzung von Weißlupinen [62]. Da Lupinen keine oder nur sehr wenig Stärke enthalten, vermuten diese Autoren, dass Galactane bei Lupinen die Rolle der Stärke als Reservepolysaccharid einnehmen. Sie nehmen außerdem an, dass die Polysaccharide sowohl als reine Galactane und Arabinane sowie als Heteropolysaccharide in Form von Arabinogalactanen, Rhamnogalacturonanen und Galactoxyloglucanen vorliegen.

Laut PFOERTNER und FISCHER bestehen die Ballaststoffe aus den Kotyledonen von Lupinen hauptsächlich aus nichtstrukturellen Polysacchariden, die aus einem Rhamnogalacturonan-Gerüst gebildet werden und Galactose und Arabinose in den Seitenketten enthalten [13].

Die Literatur belegt, dass über die Monomerenzusammensetzung von Ballaststoffkomponenten hinaus wenig über die makromolekulare Struktur ihrer Einzelkomponenten bekannt ist. Dies rührt hauptsächlich daher, dass es keine analytischen Methoden und Analysentechniken gab, um die Molekülstruktur in diesem Bereich aufzuklären. Bahnbrechend haben sich diesbezüglich die Arbeiten von VORAGEN et al. zur Strukturuntersuchung bestimmter Polysaccharide aus Pflanzenzellwänden erwiesen [63]. Diese Autoren haben durch enzymatischen Abbau homogener Fraktionen hochpolymerer Polysaccharide aus Weizen und Sojabohnen Oligomere gewonnen, die sie gelchromatographisch isolierten, um deren Struktur durch NMR aufzuklären. Damit ist über kleine Bruchstücke der Makromoleküle ein erster Einblick in deren Struktur erhalten worden. Diese Vorgehensweise zur Beschreibung der Struktur makromolekularer Polysaccharide liefert jedoch nur auf indirektem Wege Informationen. Sie liefert keine Aussage über die Molekülgröße, die Molekulargewichtsverteilung oder die Kettenlänge der Polymere.

3 Material und Methoden

In den nachfolgenden Unterkapiteln werden die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Materialien und Methoden beschrieben. Das erste Unterkapitel beinhaltet die Beschreibung der verwendeten Rohstoffe und Untersuchungsmaterialien. Im zweiten Unterkapitel wird das Pilot-Verfahren zur Gewinnung der Faserpräparate aus Markerbsen erläutert. Das dritte Unterkapitel enthält die Verfahren zur präparativen Fraktionierung der Faserpräparate und das vierte Unterkapitel die verwendeten Analysenmethoden zur Untersuchung der Faserpräparate und ausgewählter Ballaststoff-Fractionen.

3.1 Rohstoffe und Untersuchungsmaterialien

Im Folgenden werden die zur Herstellung der Faserpräparate verwendeten Rohstoffe sowie die bei der präparativen Fraktionierung und der analytischen Untersuchung der Präparate verwendeten Enzyme beschrieben.

3.1.1 Markerbsen

Zur Isolierung der Faserpräparate im Pilot-Maßstab wurden Markerbsen (*pisum sativum convar. medullare*) der Sorten Markana und Salout eingesetzt. Diese wurden von der Carl Sperling & Co Saatzucht GmbH, Lüneburg, bezogen.

Die Hauptinhaltsstoffe der beiden Erbsensorten sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Tab. 2. Hauptinhaltsstoffe der verwendeten Markerbsensorten.

Markerbsensorte	Stärke [% TS]	Protein [% TS]	Asche [% TS]	Ballaststoffe [% TS]		Rohfett [% TS]
				unlöslich	löslich	
Markana	29,1	26,3	3,0	21,5	8,9	2,1
Salout	27,9	22,5	3,8	23,3	11,2	2,4

3.1.2 Lupinenfaserpräparate

Die Beschaffung der untersuchten zwei Lupinenfaserpräparate erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV) in Freising. Es handelte sich dabei um ein Präparat aus der Sorte *lupinus albus* (Rumbo Baer, Chile), im Folgenden als **Albus-Präparat** bezeichnet, und ein

Präparat aus der Sorte *lupinus angustifolius* (Mischware, Australien), das die Probenbezeichnung **Angustifolius-Präparat** erhielt. Beide Präparate wurden im IVV aus entöhlten Lupinenflocken hergestellt, wobei bei der Sorte *lupinus albus* Hexan und bei der Sorte *lupinus angustifolius* Kohlendioxid als Extraktionsmittel verwendet wurde.

Das IVV-Verfahren zur Herstellung von Lupinenfaserpräparaten beinhaltet eine saure Vorextraktion der entöhlten Lupinenflocken am isoelektrischen Punkt bei ca. 10-15 °C [15]. Die Extraktionszeit betrug eine Stunde. Anschließend erfolgte eine Fest-Flüssig-Trennung von Extrakt und Raffinat. Danach wurde mit Hilfe eines zweistufigen Extraktionsschrittes bei pH 7,4 und einer Temperatur von 30 °C das Protein aus dem Raffinat aus der Vorextraktion abgetrennt. Die Extraktionszeit betrug hier ca. 45 min. Das feuchte Ballaststoffpräparat aus der Proteinextraktion wurde anschließend in einem Ringtrockner getrocknet ($T_{\text{Eingang}} = 180 \text{ °C}$, $T_{\text{Ausgang}} = 75 \text{ °C}$).

Die Hauptinhaltsstoffe der verwendeten Lupinensorten sowie der entöhlten Lupinenflocken aus diesen Saaten sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Tab. 3. Hauptinhaltsstoffe der Lupinen sowie der entöhlten Lupinenflocken.

Produkt	Protein [% TS]	Asche [% TS]	Fett [% TS]	Ballaststoffe [% TS]		Zucker [% TS]
				unlöslich	löslich	
Saat lupinus albus	35,8	3,4	9,9	n. b.	n. b.	15,3
Entölte Flocken lupinus albus	50,6	4,0	0,3	12,9	10,6	-
Saat lupinus angustifolius	34,4	2,8	7,2	n. b.	n. b.	-
Entölte Flocken lupinus angustifolius	51,5	4,0	0,3	17,2	7,3	-

1) n. b. = nicht bestimmt

3.1.3 Enzyme

Für den amyolytischen Abbau der Stärke in den Faserpräparaten im semipräparativen Maßstab wurde eine hitzestabile α -Amylase (A 3306, Sigma) und eine Amyloglucosidase (A 9913, Sigma) verwendet. Der Abbau der Proteine in den Faserpräparaten erfolgte mittels einer Protease (P 5380, Sigma, wässrige Lösung, 50 mg/ml).

Zur Vorbereitung der Totalhydrolyse der unlöslichen Nicht-Stärke-Polysaccharide (**uNSP**) mittels Trifluoressigsäure wurde ein Xylanase-Präparat (Rohalase 7118, Röhm) und ein Pectinase-Präparat (Pectinex Ultra-SPL, Novo Nordisk) eingesetzt.

3.2 Pilot-Verfahren zur Gewinnung von Markerbsenfaserpräparaten

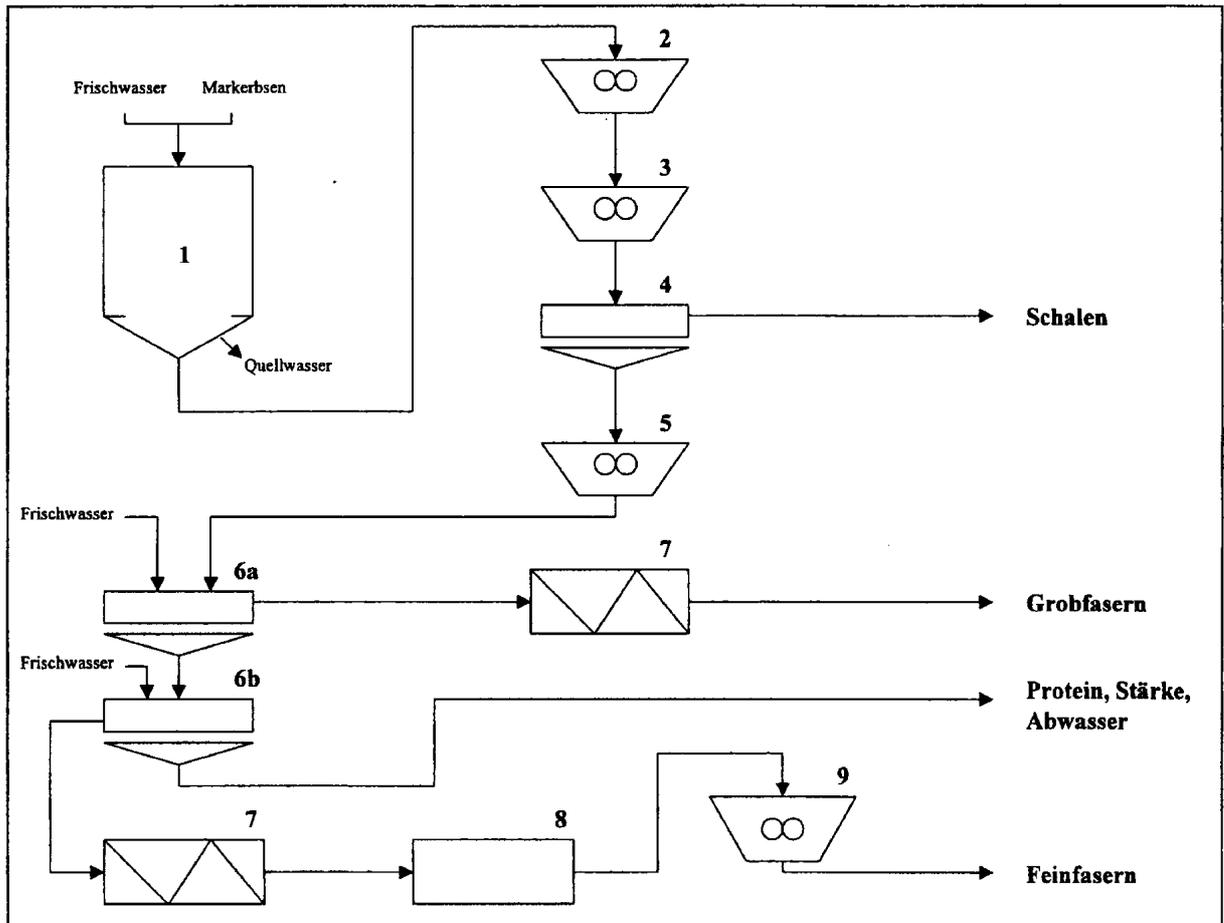
Die Gewinnung der Markerbsenfaserpräparate erfolgte prinzipiell nach dem von MEUSER et al. beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Markerbsenstärke, bei dem die Faserfraktion neben Stärke und Protein als drittes Hauptprodukt anfällt [10, 16, 30]. Dieses Verfahren ist im Kapitel 2.1 prinzipiell beschrieben und wurde während der Bearbeitung dieser Forschungsaufgabe im Hinblick auf die Gewinnung des Faserpräparates optimiert. Stärke und Protein wurden in diesem Zusammenhang nicht weiter untersucht.

Es wurden je Versuchsansatz 15 kg Markerbsen eingesetzt und in 60 l Wasser gequollen. Nach 18 h Quellzeit bei 20 °C erfolgte die Schälung der Erbsen auf einem Gummiwalzenschäler (Typ Variostuhl CZWVE 2031, Bühler), gefolgt von einer Zerkleinerung mittels eines Riffelwalzenbrechers (Typ Variostuhl CZWVE 2031, Bühler). Anschließend wurden die Schalen im wässrigen Medium manuell mit Hilfe von Küchensieben abgetrennt. Die Schalen wurden nach der Isolierung abgepresst und getrocknet, jedoch nicht weiter charakterisiert.

Die verbleibenden Kotyledonen der Markerbsen wurden im Anschluss mittels Nassvermahlung mit einer Zahnkolloidmühle (Typ MZ 100, Fryma, Rheinfelden, Mahlpalt 365 µm) zerkleinert. Die Isolation der Fasern aus den Kotyledonen-Suspensionen erfolgte danach durch kontinuierliche Siebung / Waschung über Schwingsiebe (Type 600 LS 24 S und 450 LS 18 S, Sweco) mit 500 µm und 63 µm Maschenweite. Der Oberlauf des 63 µm-Siebes (Feinfaseranteile der Markerbsen-Kotyledonen) wurde so lange mit Frischwasser gewaschen, bis der Unterlauf klar war und einen pH-Wert von 7,0 hatte. Anschließend wurden die so isolierten Feinfaseranteile der Markerbsen mit Hilfe einer Haushalts-Kelterpresse manuell auf einen Wassergehalt von ca. 80 % abgepresst und in einem Umluft-Trockenschrank (Typ kelvitron[®]t, Heraeus Instruments) unter gelegentlichen Umschichten im Luftstrom bei maximal 40 °C getrocknet.

Die während der Trocknung entstandenen Agglomerate wurden in einer Schlagkreuzmühle (Typ Kamas 200, Falling Number, Schweden) mit einem Siebeinsatz der Maschenweite 1000 µm vermahlen. Die so erhaltenen Faserpräparate erhielten die Probenbezeichnungen **Markana-Präparat** und **Salout-Präparat**.

Zur Erläuterung des Versuchsverlaufs ist in Abbildung 2 ein vereinfachtes Fließschema des Pilot-Verfahrens dargestellt.



- | | |
|--------|---|
| 1 | Quellbehälter |
| 2 | Gummiwalzenschäler (Bühler: Typ Variostuhl CZWVE 2031) |
| 3 | Riffelwalzenbrecher (Bühler: Typ Variostuhl CZWVE 2031) |
| 4 | Küchensieb |
| 5 | Zahnkolloidmühle (Fryma: Typ MZ-100) |
| 6a, 6b | Schwingsiebe (Sweco: Type 600 LS 24 S und 450 LS 18 S) |
| 7 | Haushalts-Kelterpresse |
| 8 | Umluft-Trockenschrank (Typ kelvitron [®] t, Fa. Heraeus Instruments) |
| 9 | Schlagkreuzmühle (Falling Number: Typ Kamas 200) |

Abb. 2. Vereinfachtes Fließschema der Pilotanlage zur Gewinnung von Feinfasern aus Markerbsenkotyledonen.

3.3 Präparative Fraktionierung der Faserpräparate

Zur Vorbereitung der Analyse der Molekularstruktur der im Pilotmaßstab gewonnenen Faserpräparate sollten diese im präparativen Maßstab in einzelne Komponenten fraktioniert werden. Hierzu erfolgte einerseits eine Isolierung der löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Komponenten und andererseits eine sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen.

3.3.1 Isolierung der löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Fractionen

Die Isolierung der unlöslichen und löslichen Ballaststoff-Komponenten (**uNSP/INSP**) aus den Faserpräparaten wurde in Anlehnung an die modifizierte AOAC-Methode zur Bestimmung der Ballaststoffe im präparativen Maßstab vorgenommen [64]. Dazu wurden 100 g des entsprechenden Präparates mit 2500 ml Ethanol (70 % v/v) für 2 h bei Raumtemperatur suspendiert und die Suspension bei 4000 x g zentrifugiert (Laborzentrifuge Typ Minifuge RF, Heraeus Sepatech). Der Überstand wurde dekantiert und nach dem Abdestillieren des Ethanols im Rotationsverdampfer (Typ Rotavapor RE 121, Büchi) gefriergetrocknet (Gefriertrockner Typ Lyovac GT3, Leyboldt-Heraeus).

Der Zentrifugationsrückstand wurde bei Raumtemperatur luftgetrocknet und entsprechend der modifizierten AOAC-Methode nacheinander einem α -amylolytischen Abbau (5 ml Termamyl 120L in 2,5 L 0,05 m Phosphatpuffer, pH 6,0, 25 min bei 95-100 °C), einem proteolytischen Abbau (5 ml Proteaselösung, pH 7,5, eingestellt mit 0,171 m NaOH, 1 h bei 60 °C) und einem amyloglucoolytischen Abbau (15 ml Amyloglucosidase, pH 4,5, eingestellt mit 0,205 m Phosphorsäure, 30 min bei 60 °C) unterworfen. Nach dem Abfiltrieren (Filterpapier Schleicher und Schüll Nr. 5891) und Waschen des Rückstands (je 200 ml heißes Wasser 1x, Ethanol 96 % 3x, Aceton 2x) wurden die so erhaltenen **uNSP** im Vakuumtrockenschrank (Typ VT 6025, Heraeus) bei 45 °C und 20-25 mbar getrocknet.

Zur Überprüfung der Reinheit der gewonnenen **uNSP**-Fraktionen wurden deren Asche- und Proteingehalte bestimmt. Mit den ermittelten Werten wurde der tatsächliche Ballaststoffgehalt der isolierten **uNSP**-Fraktionen ermittelt. Diese lagen zwischen 95 % und 97 % TS. Somit entsprachen die Ausbeuten an **uNSP** aus den vier Faserpräparaten in etwa den erwarteten Mengen.

Die löslichen Ballaststoff-Komponenten (**INSP**) wurden gemäß der modifizierten AOAC-Methode aus den wässrigen Filtraten der **uNSP** gewonnen. Zur Entfernung des Proteins wurden die Filtrate mit HCl auf einen pH-Wert von 4,5 angesäuert, die Lösungen zur Denaturierung des Proteins unter Rühren für 15 min bei 100 °C gehalten und filtriert. Aus den Filtraten wurden die **INSP** mit Ethanol gefällt, abfiltriert und im Vakuumtrockenschrank bei 45 °C und 20-25 mbar getrocknet. Die so erhaltenen **INSP** wurden anschließend in ca. 30 ml Wasser aufgenommen und für 30 h gegen bidestilliertes Wasser dialysiert, um die in den **INSP** angereicherten Puffersalze und andere niedermolekulare Bestandteile abzutrennen (Dialyseschlauch Cellulose, Ausschlussgrenze 1,2-1,4kD, Sigma D 7884). Das Dialysat wurde verworfen und der Dialyserückstand im Vakuum bei 45 °C getrocknet.

Zur Überprüfung der Reinheit wurden die so gewonnenen **INSP**-Fraktionen auf ihren Asche- und Proteingehalt untersucht. Unter Berücksichtigung der ermittelten Werte wurde der tatsächliche Ballaststoffgehalt der isolierten **INSP**-Fraktionen ermittelt.

Die Ausbeuten an **INSP** waren bei allen vier Proben geringer als erwartet. Es ist zu vermuten, dass durch das Aufkochen zwecks Proteinabtrennung einige Polysaccharidmoleküle zu niedermolekularen Substanzen abgebaut wurden, die dann während der Dialyse verloren gingen.

Zur Veranschaulichung der Isolierung der unlöslichen und löslichen Ballaststoff-Fractionen in Anlehnung an die modifizierte AOAC-Methode zur Bestimmung der Ballaststoffe ist die Vorgehensweise in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

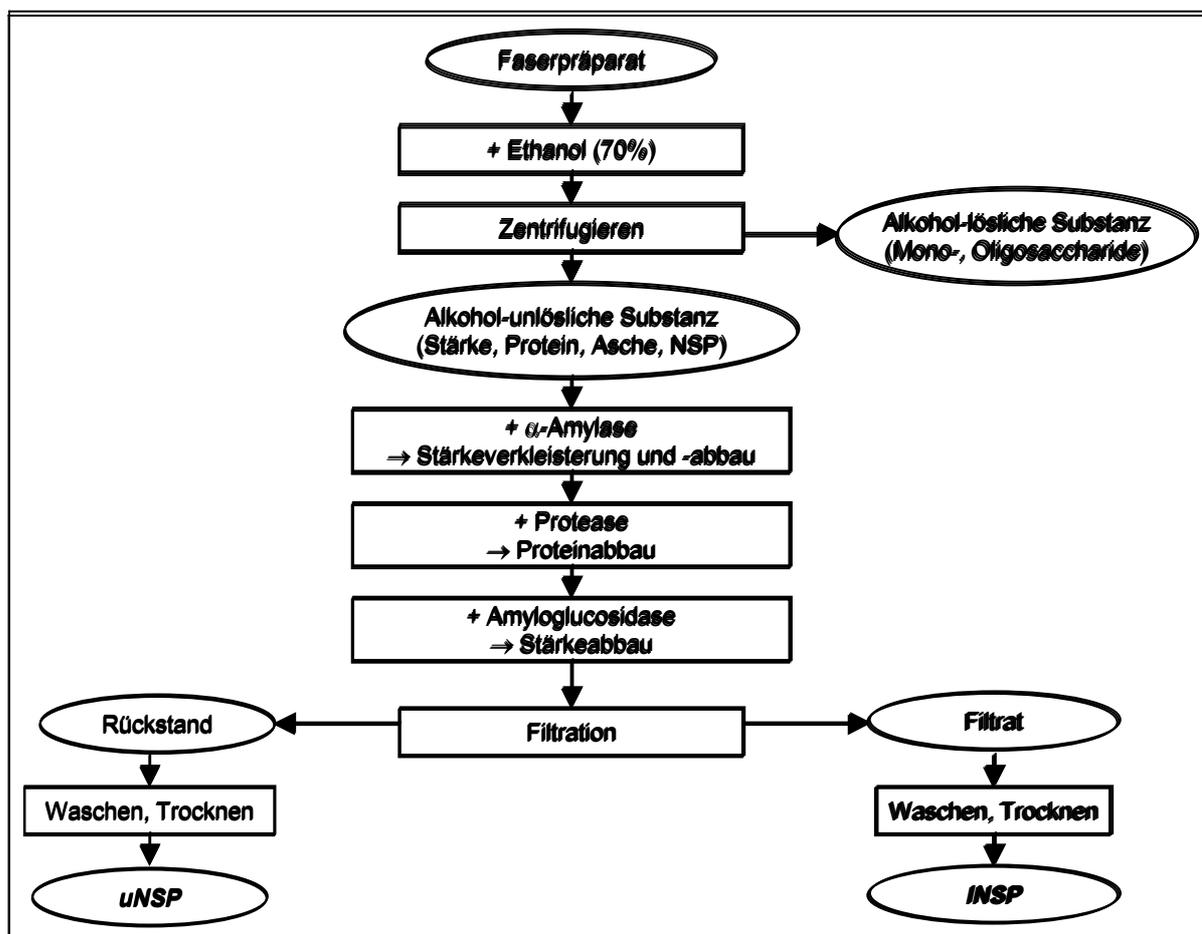


Abb. 3. Schematische Darstellung der Isolierung der **uNSP**- und **INSP**-Fractionen.

3.3.2 Sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen

Die sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen erfolgte mit Hilfe chelatisierender Agenzien im präparativen Maßstab in Anlehnung an aus der Literatur bekannte Methoden [39, 65].

Dazu wurden zunächst jeweils 200 g Faserpräparat mit 4,8 l dest. Wasser und 24 ml 5 %iger Citronensäure für 10 min bei 80 °C blanchiert. Anschließend wurde die Suspension heiß filtriert und der Rückstand so lange mit heißem Wasser gewaschen, bis der pH-Wert des Filtrats neutral war. Das Filtrat erhielt die Bezeichnung **Extrakt BM**. Die Hälfte des Rückstands wurde zweimal mit jeweils 3 l 2 %iger Ammonium-

oxalat-Lösung für 2 h bei 80 °C extrahiert und anschließend zentrifugiert. Die Zentrifugate wurden vereinigt und erhielten die Bezeichnung **Extrakt CH**. Die Zentrifugationsrückstände wurden ebenfalls vereinigt und ein Teil davon (1000 g) mit 2,4 l Wasser gewaschen. Der gewaschene Rückstand wurde mit jeweils 2 l Natriumchlorit-Lösung (2000 ml dest. Wasser vorlegen, Zugabe von 12 ml Eisessig und 100 g 25 %igem NaClO₂) einmal 2 h lang bei 75 °C und einmal 15 h lang bei Raumtemperatur unter Rühren extrahiert. Danach wurde wiederum zentrifugiert und der Rückstand mit Wasser bis zur pH-Neutralität gewaschen. Die Zentrifugate wurden vereinigt und erhielten die Bezeichnung **Extrakt CO**. Anschließend wurden 350 g des feuchten Rückstands mit 1000 ml 1 m Kaliumhydroxid-Lösung und Natriumborhydrid (0,8 g NaBH₄ plus 1000 ml 1 m KOH) für zwei Stunden bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre (Stickstoff) extrahiert. Der Extrakt wurde wiederum durch Zentrifugation vom Rückstand getrennt und mit Salzsäure auf einen pH-Wert von 6,35 eingestellt. Er erhielt die Bezeichnung **Extrakt COA1**. Als letzter Schritt der sequentiellen Extraktion wurden 200 g des verbleibenden feuchten Rückstands mit 4 m Kaliumhydroxid-Lösung (0,6 g NaBH₄ plus 750 ml 4 m KOH) für zwei Stunden bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre (Stickstoff) extrahiert. Der dabei erhaltene Extrakt wurde ebenfalls mit Salzsäure neutralisiert und erhielt die Bezeichnung Extrakt **COA2**.

Alle fünf erhaltenen Extrakte (**BM, CH, CO, COA1** und **COA2**) wurden anschließend mit Hilfe eines Rotationsverdampfers (Typ Rotavapor RE 121, Büchi) auf 200-500 ml eingeeengt und das extrahierte Ballaststoffmaterial mit 3000-5000 ml 95 %igem Ethanol ausgefällt. Die Präcipitate wurden bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet und danach in 400-1000 ml Wasser aufgenommen und für 30 h gegen bidestilliertes Wasser dialysiert, um die enthaltenen Salze und andere niedermolekulare Bestandteile abzutrennen (Dialyseschlauch Cellulose, Ausschlussgrenze 1,2-1,4kD, Sigma D 7884). Das Dialysat wurde verworfen und der Dialyserückstand am Rotationsverdampfer auf ca. 200 ml eingeeengt. Anschließend wurde das extrahierte Ballaststoffmaterial erneut mit 3000 ml 95 %igem Ethanol ausgefällt, zentrifugiert, mit 200 ml Aceton gewaschen und bei Raumtemperatur getrocknet. Die somit erhaltenen Pektin- und Hemicellulose-Fractionen wurden für die Untersuchung ihrer Monosaccharid-Zusammensetzung mittels HPAE-PED-Chromatographie bereitgestellt.

Aliquote Anteile der bei der sequentiellen Extraktion entstandenen Extraktionsrückstände wurden bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet und als Rückstellmuster aufbewahrt. Sie wurden jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht.

Abbildung 4 enthält eine schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der sequentiellen Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen aus den Faserpräparaten.

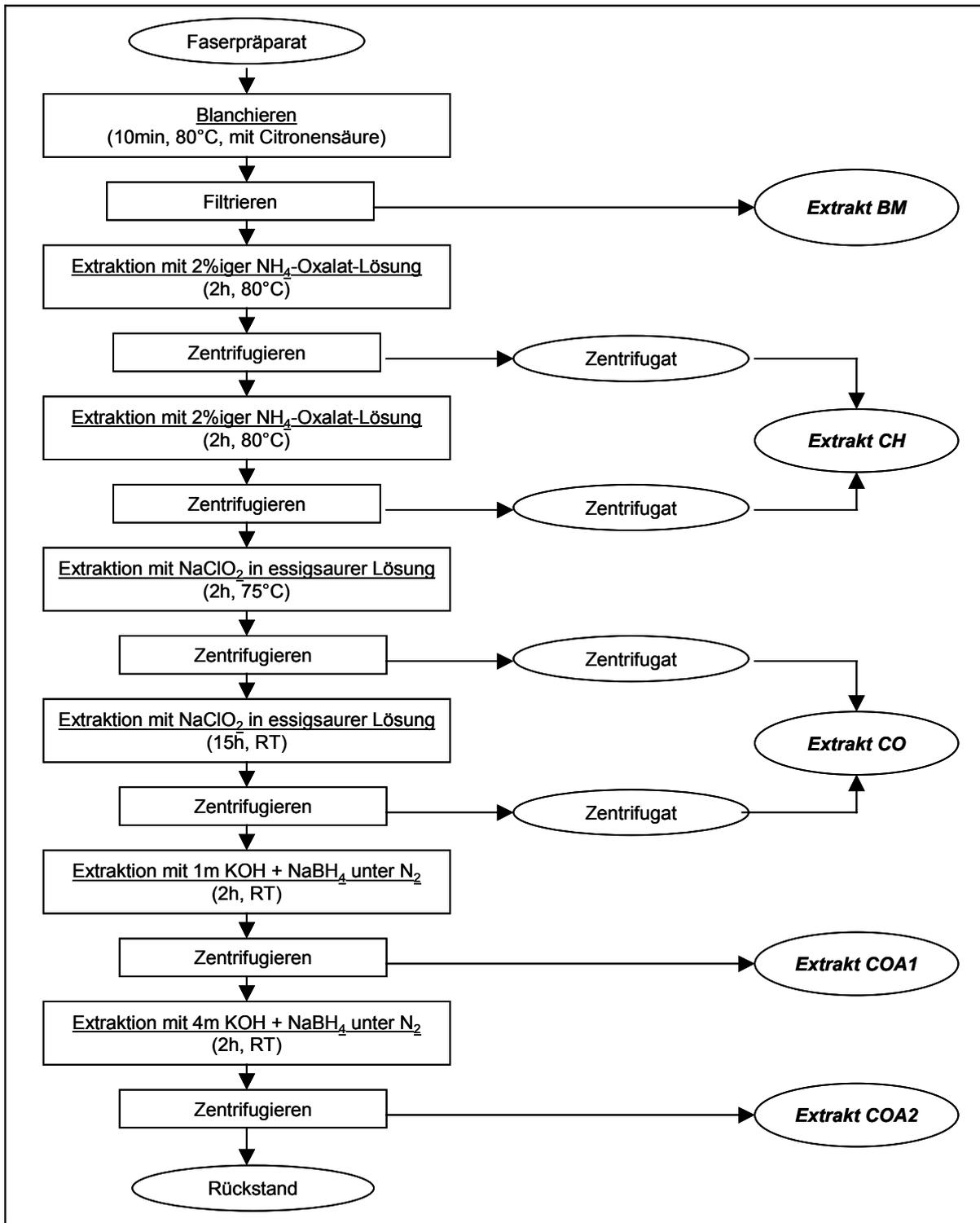


Abb. 4. Schematische Darstellung der sequentiellen Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen.

3.4 Analysenmethoden

Alle Rohstoffe sowie die aus ihnen gewonnenen Faserpräparate wurden hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffzusammensetzung charakterisiert. Weiterhin wurden die physikochemischen Eigenschaften der vier Faserpräparate und ausgewählter Ballaststoff-Fractionen untersucht. Die diesbezüglich verwendeten Analysenmethoden sind nachfolgend aufgeführt. Außerdem enthält das folgende Kapitel auch genaue Beschreibungen der Analysentechniken, die zur Untersuchung der Molekularstruktur der isolierten Ballaststoff-Fractionen angewendet wurden.

3.4.1 Bestimmung des Wassergehaltes

Der Wassergehalt der Rohstoffe, der Faserpräparate und der aus diesen Präparaten isolierten Fractionen wurde nach EN ISO 1666 bestimmt [66]. Hierbei ergibt sich der Wassergehalt des Probenmaterials aus dem Gewichtsverlust nach 90-minütigem Trocknen bei 130 °C im Trockenschrank. Im Falle von gefriergetrockneten Proben wurde der Wassergehalt nach der Karl-Fischer-Methode durch amperometrische Jodtitration (EN ISO 760) bestimmt [67], nachdem das in der Probe enthaltene Wasser zuvor 30 min lang bei einer Temperatur von 60 °C mit Methanol extrahiert worden war.

3.4.2 Bestimmung des Stärkegehaltes

Der Stärkegehalt sämtlicher Proben wurde nach dem ICC-Standard Nr. 128 enzymatisch bestimmt [68].

3.4.3 Bestimmung des Rohproteingehaltes

Der Rohproteingehalt aller Proben wurde nach EN ISO 3188 (Kjeldahl-Methode) bestimmt [69]. Dabei wird der Rohproteingehalt aus dem Stickstoffgehalt des Probenmaterials berechnet, indem der Stickstoffgehalt mit dem Faktor 6,25 multipliziert wird.

3.4.4 Bestimmung des Rohfettgehaltes

Der Rohfettgehalt sämtlicher Proben wurde nach EN ISO 3947 durch Extraktion mit Petrolether ohne vorherige Säurehydrolyse bestimmt [70].

3.4.5 Bestimmung des Ascherückstandes

Der Ascherückstand sämtlicher Proben wurde nach EN ISO 3593 durch Veraschen des Probenmaterials bei 900 °C bestimmt [71].

3.4.6 Bestimmung des Ballaststoffgehaltes

Der Gehalt an unlöslichen und löslichen Ballaststoffen wurde bei allen Faserpräparaten sowie den Markerbsen nach der modifizierten AOAC-Methode enzymatisch-gravimetrisch ohne vorherige Entfettung bestimmt [64]. Die Lupinen mussten wegen ihres hohen Fettgehaltes vor der Ballaststoffbestimmung durch Petroletherextraktion entfettet werden.

3.4.7 Bestimmung der pektinartigen Polysaccharide, Hemicellulosen, Cellulose und Lignin

Der Gehalt an pektinartigen Polysacchariden, Hemicellulosen, Cellulose und Lignin wurde mit der Methode L 00.00-16.00/1 nach § 35 LMBG als Neutral- und Säure-Detergens-Faser bestimmt [72].

3.4.8 Bestimmung des Gehaltes an resistenter Stärke

Der Gehalt an resistenter Stärke wurde in ausgewählten Proben gemäß der Methode nach ENGLYST, modifiziert nach GONI et al. bestimmt [73].

3.4.9 Bestimmung des Galacturonangehaltes

Der Galacturonangehalt der Faserpräparate sowie der *uNSP*- und *INSP*-Fraktionen wurde photometrisch gemäß der Methode nach BLUMENKRANTZ und ASBOE-HANSEN mit m-Hydroxydiphenyl bestimmt [74]. Zur Vorbereitung der Proben wurde jeweils eine Extraktion des Gesamtpektins durch enzymatische Hydrolyse mittels einer Polygalacturonase durchgeführt [75].

3.4.10 Bestimmung des Kaltwasserquellvermögens

Die Bestimmung des Kaltwasserquellvermögens erfolgte für alle Faserpräparate nach einer Methode, die in Arbeiten des European Thematic Network PROFIBRE in einem Ringversuch mit 15 Laboratorien evaluiert worden ist [76]. Die Methode basiert auf der Dispergierung einer bekannten Masse an trockener Faser in einem Überschuss an Lösungsmittel (Wasser mit 0,02 % NaN_3) in einem Messzylinder. Es wird das Volumen gemessen, das die hydratisierten Fasern nach 18 h Quellzeit im Messzylinder einnehmen.

In einen 10 ml-Messzylinder mit 0,2 ml Graduierung wurden analytisch genau 100 mg \pm 5 mg trockenen Probenmaterials eingewogen und genau 10 ml Lösungsmittel zugegeben. Die Probe wurde durch sanftes Rühren (Glasstab) dispergiert. Der Zylinder wurde danach luftdicht verschlossen und ungestört für 18 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wurde das Volumen der gequollenen Fasern V_{hf} [ml] gemessen und das Kaltwasserquellvermögen KWQ [ml/g TS] mittels nachstehender Gleichung berechnet:

$$\text{KWQ} = \frac{V_{\text{hf}} \cdot 100}{(m_{\text{f}} \cdot \text{TS})} \quad [\text{ml/g}] \quad (\text{Gl. 1})$$

Es wurden neun Bestimmungen pro Probe durchgeführt und der Mittelwert gebildet.

3.4.11 Bestimmung des Kaltwasserbindevermögens, des Kaltwasserrückhaltevermögens und der Kaltwasserlöslichkeit

Das Kaltwasserbindevermögen wurde nach der AACC-Methode 56-20 bestimmt [77]. Das Kaltwasserrückhaltevermögen und die Kaltwasserlöslichkeit wurden nach einer Methode bestimmt, die im European Thematic Network PROFIBRE in einem Ringversuch mit 15 Laboratorien evaluiert worden ist [76]. Dabei wird eine bestimmte Masse an Fasermaterial hydratisiert und anschließend bei 3000 x g zentrifugiert. Der Überstand wird vom Sediment abgesaugt. Die von den Fasern zurückgehaltene Wassermenge wird bestimmt.

Zur Messung wurden bezogen auf die Trockenmasse 3 g +/-0,2 g (m_{t1}) der Probe analytisch genau in einen 50 ml-Zentrifugenbecher eingewogen und 30 ml Wasser (0,02 % NaN_3) zugegeben. Die Probe wurde durch leichtes Schütteln dispergiert. Der Zentrifugenbecher wurde mit Parafilm verschlossen und die Probe über Nacht bei Raumtemperatur hydratisiert. Danach wurde die Dispersion bei 3000 x g für 20 min zentrifugiert (Minifuge RF). Der Überstand wurde verworfen und der Rückstand des Zentrifugenbechers quantitativ in einen Glasfiltertiegel G2 (d = 3 cm) überführt. Der Tiegel wurde abgedeckt und dann 20 min über eine Filternutsche mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Anschließend wurde der Tiegel zur Bestimmung der Probenfeuchtmasse (m_{f}) ausgewogen. Der Tiegel mit Inhalt wurde zur Feststellung der Trockenmasse des Rückstands (m_{t2}) bei 105 °C über Nacht getrocknet und dann gewogen. Das Kaltwasserrückhaltevermögen KWRV [g/g TS] wurde mittels nachstehender Gleichung berechnet:

$$\text{KWRV} = \frac{(m_{\text{f}} - m_{t1})}{m_{t2}} \quad [\text{g/g TS}] \quad (\text{Gl. 2})$$

Der scheinbare Verlust an gelöstem Material ergab sich aus $m_{\text{lösl}} = m_{t1} - m_{t2}$. Die Kaltwasserlöslichkeit KWL [% TS] wurde wie folgt berechnet:

$$\text{KWL} = \frac{m_{\text{lösl}} \cdot 100\%}{m_{t1}} \quad [\% \text{ TS}] \quad (\text{Gl. 3})$$

Es wurden jeweils neun Bestimmungen pro Probe durchgeführt und der Mittelwert gebildet.

3.4.12 Bestimmung der Wasserabsorption mittels Kapillarsaugmethode

Die Wasserabsorption der Faserpräparate wurde nach der Kapillarsaugmethode bestimmt [78]. Diese Methode wird in der Literatur oft als Baumann-Methode bezeichnet. Es handelt sich um eine Befeuchtungsmethode, bei der eine auf einer feinporigen Glasfilterplatte in gleichmäßig dünner Schicht verteilte Probe Wasser aus einem unter der Filterplatte liegenden Wasserreservoir aufnimmt, das mit einer Messkapillare verbunden ist. Diese Methode ist auch bei teilweise löslichen Proben gut zur Erfassung der Kinetik der Wasseraufnahme geeignet.

3.4.13 Rheologische Untersuchungen mittels Rotationsmessungen

Das Fließverhalten der Faserpräparate in gequollenem Zustand in kaltem Wasser wurde mit Hilfe eines dynamischen schubspannungsgesteuerten Rheometers (Typ SR 500 Rheometric Scientific, Piscataway, NJ) untersucht. Es wurden Fließkurven aufgenommen, bei denen die Schubspannung von 0,1 Pa kontinuierlich und linear bis zur vollständigen Strukturzerstörung der gequollenen Probe gesteigert wurde. Die Scherrate [s^{-1}] und die scheinbare Viskosität η [Pa s] wurden in Abhängigkeit von der Schubspannung gemessen. Die graphische Darstellung der Fließkurven erfolgte durch Darstellung der Schubspannung bzw. Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate.

Als Messsystem wurde ein Parallel-Platten-System gewählt, da dieses System auch größere Partikel im Messspalt toleriert und besonders für sehr hohe Viskositätslevel geeignet ist. In Vorversuchen hatte sich ein konzentrisches Zylindersystem als ungeeignet erwiesen, da sich bei diesem Messsystem der Spalt nicht ausreichend groß wählen lässt. Im allgemeinen gilt, dass der Spalt mindestens zehnmals größer sein sollte als der Durchmesser der größten Partikel [49].

Mit Hilfe der zum Gerät gehörigen Software WinRhios (Rheometric Scientific, Piscataway, NJ) wurden jeweils die Fließgrenze (τ_0), die dazugehörige Ruhescher-viskosität (η_0), sowie die Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung ($\tau_{\text{Strukturz.}}$) und die dazugehörige Gleichgewichtsviskosität (η_{equ}) ermittelt.

Als Fließgrenze wurde die Schubspannung bei einer Scherrate von $0,01 s^{-1}$ definiert, da bei allen durchgeführten Messungen von diesem Zeitpunkt an ein kontinuierliches Ansteigen der Scherrate zu beobachten war, während bei kleineren Werten oftmals starke Schwankungen auftraten. Als Endpunkt einer Messung wurde der Moment gewählt, in dem die Schergeschwindigkeit so hoch war, dass keine Haftung zwischen Probe und Messkörper mehr vorhanden war. Zu diesem Zeitpunkt stieg die Scherrate sprunghaft an und die Messung wurde vom Gerät selbst abgebrochen. Der letzte Messwert vor dem Abbruch wurde für die Ermittlung von $\tau_{\text{Strukturz.}}$ und η_{equ} herangezogen.

Die bei der Aufnahme der Fließkurven gewählten Testparameter sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Tab. 4. Testparameter für die Aufnahme von Fließkurven.

Test Typ	Steady Stress Sweep Test (Rotationsmessung, schubspannungsgesteuert)
Geometrie	Parallele Platten (d = 40,0mm), Spalt 4,0 mm
Modus	Linear, Anfangswert 0,1 Pa, Endwert 1000 Pa
Vorscherung	30 s bei 30-300 Pa (je nach Probe)
Erlaubte Maximaldeformation (Strain) als Geräteeinstellung	1,0 %
Temperatur	25 °C
Konzentration	10 % TS in Wasser
Quellzeit	30, 60 und 90 min

Bei der Vorbereitung der Proben für die rheologischen Messungen wurde auf eine identische Vorgehensweise besonders geachtet, um die Vergleichbarkeit der Resultate zu sichern. Entsprechend der Konzentration wurde das Probenmaterial in ein 50 ml-Becherglas eingewogen, mit Leitungswasser auf 50 g aufgefüllt und rehydratisiert. Dazu wurde das Probenmaterial mit Hilfe eines Glasstabs manuell dispergiert. Anschließend wurden die Bechergläser mit Parafilm abgedeckt und das Probenmaterial bei Zimmertemperatur quellen gelassen. Das gequollene Probenmaterial wurde vor jeder Messung auf 25 °C temperiert.

3.4.14 Rasterelektronenmikroskopie

Zur visuellen Beurteilung der morphologischen Eigenschaften der Faserpräparate wurden von diesen REM-Aufnahmen gemacht (Typ S 2700, Hitachi). Die Umwandlung der Signale des Elektronenmikroskops zu digitalisierten Bildern erfolgte mit Hilfe der Software Digital Image Processing Systems 2.3.3.0, Point Electronic GmbH. Die trockenen Proben wurden mit Hilfe eines doppelseitigen Klebebandes auf einen Aluminiumprobenteller montiert und auf einem Sputter (Typ SCD 030, Balzers Union) unter Vakuum mit Gold bedampft. Typische Arbeitsparameter waren: Beschleunigungsspannung 20 kV; Strahlstrom $2-7 \times 10^{-11}$ A; Arbeitsabstand 10 mm.

3.4.15 Bestimmung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharide

Die Monosaccharid-Zusammensetzung der verschiedenen isolierten NSP-Fractionen wurde in Anlehnung an aus der Literatur bekannte Methoden zur Trennung von Monosacchariden und Uronsäuren untersucht [79, 80]. In den folgenden Unterkapiteln wird die Probenvorbereitung und Trennung der Monosaccharide und Uronsäuren mittels Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie mit pulsierender elektrochemischer Detektion (HPAE-PED LC) im einzelnen beschrieben.

3.4.15.1 Probenvorbereitung

Zur Vorbereitung der löslichen Ballaststoff-Fractionen (**INSP**) auf die Bestimmung der Monosaccharid-Zusammensetzung wurden jeweils 200 mg der Dialyserückstände in 1,7 ml 2 m Trifluoressigsäure (TFE, Sigma) 70 min bei 110 °C hydrolysiert (Schraubgläser mit Teflondichtung, Wheaton, Thermoblock-Inkubator Typ LabLine, Supelco). Nach beendeter Reaktion wurden die unlöslichen Bestandteile abfiltriert (Spritzenvorsatzfilter 0,45 µm, Minisart, Sartorius) und die TFE im Stickstoffstrom bei 60 °C verdampft. Für die Untersuchung der TFE-Hydrolysate mittels HPAE-PED wurden die jeweiligen Proben in 1-10 ml Wasser, je nach erforderlicher Konzentration für die HPLC, wieder aufgenommen.

Zur Vorbereitung der isolierten unlöslichen Ballaststoff-Komponenten (**uNSP**) auf die Bestimmung der Monosaccharid-Zusammensetzung wurden jeweils 200 mg Probe mit 20 µl einer Pectinase (Pectinex Ultra SPL, Novo Nordisk) und 100 µl einer Xylanase (Rohalase 7118, Röhm) in 10 ml 0,05 m NaOAc-Puffer (pH 4,8) 16 h bei 50 °C und 7 h bei 60 °C im Schüttelwasserbad inkubiert. Danach wurden die Proben im siedenden Wasserbad 15 min gekocht, um die Enzyme zu inaktivieren. Anschließend wurden die Proben gefriergetrocknet. Dieses Verfahren wurde gewählt, weil sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, dass die **uNSP** allein mit 2 m Trifluoressigsäure (TFE) nicht vollständig abgebaut werden konnten. Deshalb wurden sie analog der von QUEMENER et al. vorgeschlagenen Methode enzymatisch vorhydrolysiert [19]. In Abweichung von dem beschriebenen Verfahren wurde jedoch nicht mit einem Gemisch aus Cellulase und Pentosanase, sondern mit einem Gemisch aus Pectinase und Xylanase gearbeitet, um damit in den Abbaugemischen nach der Totalhydrolyse mit TFE einen aus einer cellulytischen Reaktion resultierenden hohen Überschuss an Glucose zu vermeiden.

Die so erhaltenen Rückstände wurden mit 10 ml 2 m TFE 70 min bei 110 °C im Ölbad hydrolysiert. Nach beendeter Reaktion wurden die unlöslichen Bestandteile abfiltriert (Spritzenvorsatzfilter 0,45 µm, Minisart, Sartorius) und die TFE im Stickstoffstrom bei 60 °C verdampft. Für die Untersuchung der TFE-Hydrolysate mittels HPAE-PED wurden die jeweiligen Proben in 1-10 ml Wasser, je nach erforderlicher Konzentration für die HPLC, wieder aufgenommen. Zur Bestimmung des

Monosaccharidgehaltes des Pectinase / Xylanase-Gemisches wurde dieses in entsprechender Konzentration als Blindprobe bei allen Schritten der Probenaufarbeitung mitgeführt.

3.4.15.2 Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie mit pulsierender elektrochemischer Detektion (HPAE-PED LC)

Jeweils 20 µl der wässrigen TFE-Hydrolysate wurden mittels eines Autosamplers (Basic Marathon, Spark Holland) auf eine Anionenaustauschersäule (Carbopak PA 10, 250x4 mm I.D., Dionex) injiziert und bei einer Flussrate von 1 ml/min (GP50-2 Gradient Pump, Dionex) mittels eines mehrstufigen Gradienten aus bidestilliertem Wasser (Eluent A), 0,15 m NaOH (Eluent B) und 0,15 m NaOH/0,5 m NaOAc (Eluent C) eluiert (Tabelle 5).

Tab. 5. Gradientenführung zur Elution von Monosacchariden und Uronsäuren mittels HPAE-PED LC an einer Anionenaustauschersäule Carbopak PA-10 bei einer Flussrate von 1 ml/min. Eluent A: bidest. Wasser, Eluent B: 0,150 m NaOH, Eluent C: 0,15 m NaOH/0,5 m NaOAc.

Zeit [min]	% Wasser (A)	% Eluent B	% Eluent C
0	100	0	0
30,0	100	0	0
35,0	90	10	0
40,0	20	80	0
45,0	0	80	20
55,0	0	76	24
65,0	0	0	100
75,0	0	0	100
80,0	0	100	0
90,0	100	0	0

Die Saccharide wurden mittels eines pulsierenden elektrochemischen Detektors (Dionex) detektiert und die Chromatogramme mit Hilfe der Software PeakNet 6.2 (Dionex) auf einem PC (Typ Optiplex GX110, Dell) aufgezeichnet und ausgewertet. Nicht identifizierbare Peaks wurden aus der Berechnung ausgeschlossen. Als Standard-Substanzen dienten die Monosaccharide Fucose, Arabinose, Rhamnose, Galactose, Glucose, Xylose, Mannose, Galacturonsäure und Glucuronsäure (alles Sigma), die jeweils in drei verschiedenen Konzentrationen gemessen wurden.

Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mittels der Flächenmethode. Aus den einzelnen Peakflächen wurden von der PeakNet-Software die Anteile der Flächen der einzelnen Peaks an der Summe aller Peakflächen ermittelt. Diese Flächenprozent entsprechen bei der verwendeten elektrochemischen Detektion den molaren Anteilen (Mol %) der einzelnen Monosaccharide im gesamten Gemisch. Die Bestimmung der entsprechenden Masse der Monosaccharide im Abbaugemisch erfolgte dann unter Bezugnahme auf die Messungen der Standard-Substanzen in verschiedenen Konzentrationen.

Bei der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der **uNSP**-Fraktionen wurden die Chromatogramme der Blindwerte mit Hilfe der Software PeakNet 6.2 von den Chromatogrammen der **uNSP**-Proben subtrahiert. Alle Analysen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

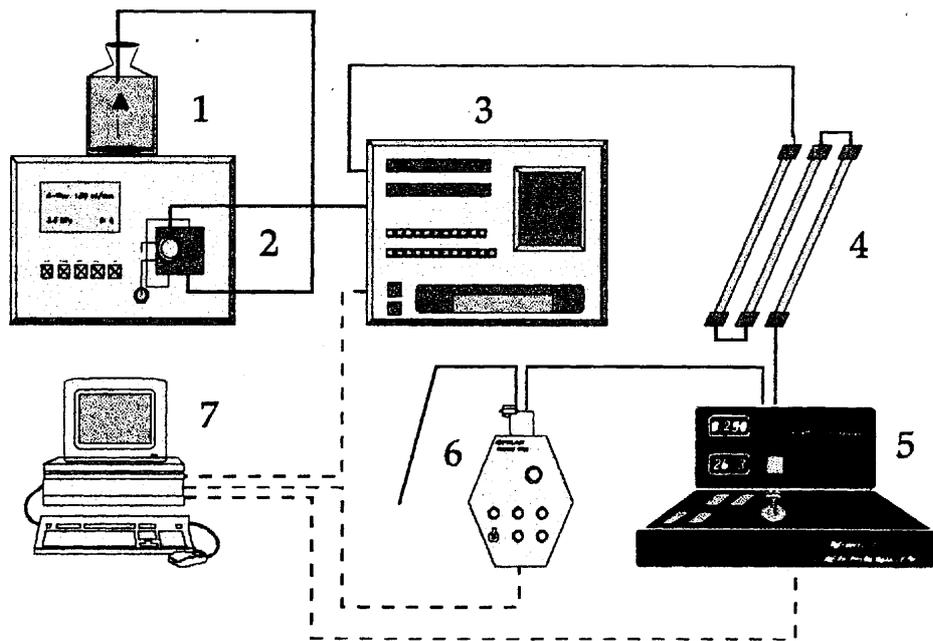
3.4.16 Bestimmung von Molekulargewichten und Molekulargewichtsverteilungen mittels Hochleistungs-Größenausschluss-Chromatographie mit Vielwinkelstreulichtdetektor (HP-SEC/MALLS)

3.4.16.1 Probenvorbereitung

Die Bestimmung von Molekulargewichten mittels HP-SEC/MALLS beruht auf der Messung der Streuung des polarisierten Lichts durch die zu untersuchenden Moleküle. Dies setzt voraus, dass die Moleküle vollständig gelöst und in so hoher Verdünnung vorliegen, dass sie sich nicht gegenseitig beeinflussen [81]. Zur Untersuchung der **INSF**-Fraktionen wurden die Proben in einer Konzentration von 6 mg/ml in dem für die HP-SEC verwendeten Elutionsmittel (0,1 m NaNO₃ Lsg. mit 0,02 % NaN₃) suspendiert und über Nacht bei 60 °C gelöst. Anschließend wurden die unlöslichen Bestandteile abfiltriert (Spritzenvorsatzfilter 0,45 µm, Minisart, Sartorius).

3.4.16.2 Versuchsanordnung

In Abbildung 5 ist die Anordnung der verwendeten Komponenten zur Molekulargewichtsbestimmung schematisch dargestellt. Die einzelnen Komponenten werden im Folgenden näher beschrieben.



- | | |
|---|---------------------------------------|
| 1 | Elutionsmittelvorrat |
| 2 | HPLC-Pumpe |
| 3 | Autosampler |
| 4 | SEC-Säulen |
| 5 | Streulichtphotometer (MALLS-Detektor) |
| 6 | Brechungsindexdetektor (RI-Detektor) |
| 7 | Computer |
- _____ = Kapillaren, - - - - - = Datenverbindung zum Computer

Abb. 5. Versuchsanordnung zur Molekulargewichtsbestimmung mittels HP-SEC/MALLS [81].

Elutionsmittel.- Es wurde eine 0,1 m Natriumnitrat-Lösung (NaNO_3) mit einem Zusatz von 0,02 % Natriumazid (NaN_3) verwendet. Das Elutionsmittel wurde vor der Verwendung mittels eines Vakuumfiltrationsapparates über ein Cellulosenitratfilter (Sartorius) mit einer Porengröße von $0,45 \mu\text{m}$ filtriert. Zum Entgasen des Elutionsmittels wurde ein kontinuierlicher Degasser (Typ ERC-3114, ERC) eingesetzt, der zwischen Elutionsmittelbehälter und HPLC-Pumpe installiert wurde.

Pumpe.- Es wurde eine isokratische HPLC-Pumpe (Typ 1100, Agilent) verwendet. Es handelt sich bei diesem Pumpentyp um eine Doppelkolbenpumpe mit inerten Pumpenköpfen und Dichtungen. Durch diese Bauart wird ein pulsationsarmer, konstanter Förderstrom auch bei geringen Flussraten gewährleistet. Die Analysen wurden bei einer Flussrate von $0,3 \text{ ml/min}$ durchgeführt.

Autosampler.- Zur Probeninjektion wurde ein Autosampler (Typ Basic Marathon, Spark Holland) mit einer $96 \mu\text{l}$ -Injektionsschleife verwendet. Zur korrekten Auswertung der mittels HP-SEC/MALLS durchgeführten Messungen musste die über die Probenschleife eingegebene Probenmenge genau bekannt sein. Dazu ist neben

einer exakten Einwaage der Probe auch die Kenntnis über das Volumen der Probenschleife notwendig. Das Volumen der Probenschleife wurde mit Wasser bei 25 °C (Dichte 1,0000 g/cm³) bestimmt.

Size Exclusion Chromatography (SEC) Säulen.- Zur Größenausschluss-Chromatographie wurden SEC-Säulen (Typ OHpak SB-800, Shodex) eingesetzt. Aus der SB-800 Serie wurden die Vorsäule 800P und die Trennsäulen 805, 804 und 802.5 in der genannten Reihenfolge verwendet. In Tabelle 6 sind die Spezifikationen der Säulen genannt.

Tab. 6. Spezifikationen der verwendeten SB-800 HQ OHpak SEC-Säulen [82].

SEC-Säule	Ausschlußgröße [g/mol]	Theoretische Böden / 30cm
OHpak SB-802.5	1 x 10 ⁴	15.000 (mindestens)
OHpak SB-804	1 x 10 ⁶	15.000 (mindestens)
OHpak SB 805	10 x 10 ⁶	10.000 (mindestens)

Die Säulen sind mit einem Polyhydroxymethylmetacrylat-Gel gefüllt. Der maximale Arbeitsdruck der Säulen beträgt 30 kg/cm². Die maximale Arbeitstemperatur ist mit 70 °C angegeben. Die empfohlene Flussrate des Elutionsmittels beträgt maximal 0,5 ml/min [82].

Vielwinkel-Laserlichtstreuungs (MALLS)-Detektor.- Zur Bestimmung der Lichtstreuungseigenschaften der Proben wurde ein MALLS-Detektor (Typ DAWN DSP Laser Photometer, Wyatt Technology) verwendet. Als Lichtquelle diente ein Helium-Neon Laser mit einer Wellenlänge von 632,8 nm. Um ein Überschreiten des Messbereiches zu vermeiden, wurde das Messsignal geräteseitig um den Faktor 5 reduziert. Die Glasmesszelle des Detektors und die Anordnung der Streulichtdioden sind in Abbildung 6 dargestellt [81].

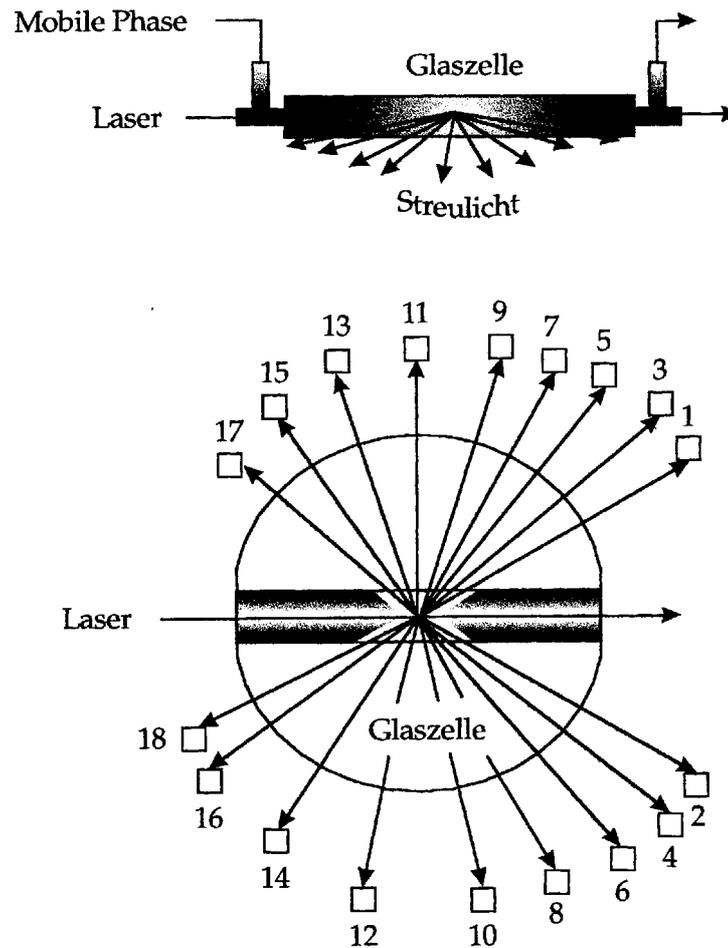


Abb. 6. Messzelle des MALLS-Detektors mit den Streulichtdetektoren 1-18 [81].

Brechungsindex (RI)–Detektor.– Die Änderung des Brechungsindex des Elutionsmittels durch die darin gelösten Proben wurde mittels eines Refraktionsindex (RI)–Detektors (Typ Optilab DSP Interferometric Refractometer, Wyatt Technology) bestimmt [83]. Der RI-Detektor war mit zwei auswechselbaren Messzellen, der P2-Zelle mit einer Messstrecke von 0,2 mm und der P10-Zelle mit einer Messstrecke von 1 mm ausgerüstet. Für die durchgeführten Messungen wurde die P10-Messzelle eingesetzt.

Die absolute Bestimmung der Molmassen und Molmassenverteilung mittels Lichtstreuung setzt die Kenntnis des Brechungsindexinkrementes (dn/dc) des gelösten Stoffes voraus. Dieses Brechungsindexinkrement muss eigentlich für jede einzelne Probesubstanz experimentell bestimmt werden. Dies war jedoch hier nicht möglich, da es für die in den Proben vorkommenden Polysaccharid-Spezies keine Standard-Substanzen gibt und diese Polysaccharid-Spezies sich auch nicht präparativ voneinander trennen ließen. Als Brechungsindexinkrement wurde deshalb hier auf Anraten der Firma Wyatt Technology der Wert 0,146 eingesetzt, der als allgemein anwendbar für ballaststoffartige Polysaccharide gilt.

Messsignalaufnahme vom MALLS- und RI-Detektor.- Die Messdaten des MALLS- und des RI-Detektors wurden über eine serielle Schnittstelle von einem Computer (Typ Vectra 500, Pentium®-Prozessor, 32 MB RAM, Hewlett Packart) mittels der Standard Software für die verwendeten Detektoren aufgenommen. Das Softwarepaket umfasste die Programme ASTRA for Windows 4.70, DNDC for Windows 5.00, Easi 7.03 und Dawn 2.06 [84-87].

3.4.16.3 Mittlere Molekulargewichte und Polydispersität

Mit Hilfe der Software ASTRA for Windows 4.70 wurden nach manueller Festlegung einer Basislinie und des Peakbereichs aus den Messdaten des MALLS- und des RI-Detektors verschiedene Mittelwerte für die Molekulargewichte der untersuchten Proben errechnet. Dies sind der Zahlenmittelwert (M_n), der Gewichtsmittelwert (M_w) und der z-Mittelwert (M_z) einer Probe. Für die Berechnung der Molekulargewichte wurde im Auswerteprogramm die Auswertemethode „Zimm“ erster Ordnung unter der Option der 100 %igen Massewiederfindung angewendet. Die Berechnung erfolgte unter Einbeziehung der Streulichtdetektoren Nr. 6-16. Die Methode „Zimm“ wurde gewählt, weil sie für relativ kleine Moleküle mit einem hydrodynamischen Radius unter 80 nm die genauesten Ergebnisse liefert [81, 88]. Als Berechnungsgrundlage zur Bestimmung des Molekulargewichts verwendet die Software ASTRA 4.70 die folgende Gleichung:

$$\frac{R_\theta}{K^* \cdot c} = M_w P(\theta) - 2A_2 c M^2 P^2(\theta) \quad (\text{Gl. 4})$$

Dabei ist M_w das mittlere gewichtete Molekulargewicht, c die Konzentration der gelösten Molekülfraction und K^* eine optische Konstante, die u. a. aus dem differentiellen Brechungsindexinkrement (dn/dc) der gelösten Probe errechnet wird. A_2 ist der sogenannte zweite Virialkoeffizient, der eine Konzentrationsabhängigkeit aufweist und $P(\theta)$ ein theoretisch hergeleiteter Formfaktor der Moleküle. Das Exzess-Rayleigh-Verhältnis R_θ wird bei Streulichtmessungen aus der Intensität des gestreuten Lichtes nach folgender Gleichung berechnet:

$$R_\theta = \frac{(I_\theta - I_{\theta,LM}) \cdot r^2}{I_0 \cdot V} \quad (\text{Gl. 5})$$

Dabei ist I_θ die Intensität des gesamten gestreuten Lichtes, $I_{\theta,LM}$ die Intensität des durch das Lösungsmittel gestreuten Lichtes, r der Abstand des Lichtstreuendetektors vom betrachteten Streuvolumen V und I_0 die Intensität des einfallenden Lichtes [81].

Die Polydispersität einer Probe wird aus dem Quotienten des Gewichtsmittelwertes des Molekulargewichts (M_w) und des Zahlenmittelwertes des Molekulargewichts (M_n) errechnet und kann somit als ein Maß für die Heterogenität einer Probe herangezogen werden [81, 89].

$$\text{Polydispersität} = \frac{M_w}{M_n} \quad [-] \quad (\text{Gl. 6})$$

3.4.17 Identifizierung und Quantifizierung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren in unlöslichen Ballaststoffkomponenten

Die Bestimmung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren (PCS) und Aldehyde wurde gemäß der von BUNZEL et al. veröffentlichten Methode von uns im Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg durchgeführt [90]. Da sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, dass sich in den löslichen Ballaststoff-Fractionen (*INSP*) keine PCS nachweisen ließen, wurden die Analysen nur mit den unlöslichen Ballaststoff-Fractionen (*uNSP*) durchgeführt.

3.4.17.1 Probenvorbereitung

Zur Vorbereitung der *uNSP*-Fractionen für die Bestimmung der PCS und Aldehyde wurden die Proben zunächst alkalisch hydrolysiert und die PCS anschließend durch eine flüssig-flüssig-Extraktion aus dem angesäuerten Hydrolyseansatz extrahiert [24].

Dazu wurden jeweils 150 mg Probe in ein Pyrex-Glas eingewogen und 3 µg ortho-Cumarsäure (gelöst in 1,4-Dioxan) als interne Standardsubstanz hinzugefügt. Anschließend wurden 5 ml mit Stickstoff entgaste 2 m NaOH-Lösung dazugegeben, der Kopfraum des Gefäßes mit Stickstoff begast und der Ansatz 18 h lichtgeschützt bei Raumtemperatur hydrolysiert.

Vor der Extraktion wurde jeder Hydrolyseansatz mit ca. 0,95 ml konz. Salzsäure auf einen pH-Wert < 2 angesäuert. Die Extraktion der PCS wurde jeweils dreimal mit 4 ml Diethylether durchgeführt, wobei zur besseren Phasentrennung zwischendurch 10 min bei niedriger Drehzahl zentrifugiert und die organische Phase mit einer Pasteurpipette abgenommen wurde. Die organischen Phasen wurden in einem Reaktionsvial vereinigt und im Stickstoffstrom getrocknet. Die so erhaltenen Proben wurden in jeweils 200 µl Methanol/Wasser (50:50 v/v) aufgenommen.

3.4.17.2 Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie mit UV-Detektion

Zur chromatographischen Trennung der extrahierten monomeren PCS und Aldehyde wurden jeweils 20 µl Probelösung manuell auf eine Trennsäule (Nucleosil 100-5 C18 HD, 250x4 mm I.D., Macherey-Nagel) injiziert und bei einer Flussrate von 1 ml/min

(L-6200 Intelligent pump, Merck/Hitachi) und einer Temperatur von 45 °C (T-6300 Column thermostat, Merck/Hitachi) mittels eines mehrstufigen Gradienten aus wässriger 1 mM Trifluoressigsäure (TFE, Eluent 1), Methanol (Eluent 2) und Acetonitril (Eluent 3) eluiert (Tabelle 7).

Die PCS und Aldehyde wurden mittels eines Photodiodenarraydetektors (Typ 994 programmable photodiode array detector, Waters) detektiert und anhand ihrer relativen Retentionszeiten und durch Vergleich ihrer UV-Spektren mit denen von Standardsubstanzen identifiziert. Die Quantifizierung erfolgte bei 280 nm anhand des internen Standards. Alle Analysen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

Tab. 7. Gradientenführung zur Elution von PCS und Aldehyden mittels HPLC an einer Trennsäule Nucleosil 100-5 C18 HD bei einer Flussrate von 1 ml/min. Eluent 1: 1 mM TFE (wässrig), Eluent 2: Methanol, Eluent 3: Acetonitril.

Zeit [min]	% Eluent 1	% Eluent 2	% Eluent 3
0	89	4	7
8	89	4	7
9	81	8	11
20	81	8	11
30	25	35	40
35	25	35	40
40	89	4	7
50	89	4	7

3.4.18 Charakterisierung der viskoelastischen Eigenschaften von Ballaststoffkomponenten mittels Oszillations-Rheometrie

Die viskoelastischen Eigenschaften der Faserpräparate sowie der isolierten **uNSP**-Fraktionen wurden mittels Oszillationsmessungen in gequollenem Zustand in kaltem Wasser untersucht. Alle Proben wurden vor der Untersuchung gesiebt und die Siebfraktion 200-500 µm für die Messungen verwendet. Je nach Viskosität wurden Dispersionen in verschiedenen Konzentrationen (5,0 %, 7,5 % und 10,0 % TS) angesetzt. Alle Dispersionen wurden jeweils einmal nach kurzer Quellzeit (30 min) und einmal in voll ausgequollenem Zustand (18 h Quellzeit) untersucht.

Die Messungen wurden mit Hilfe eines dynamischen schubspannungsgesteuerten Rheometers (Typ SR-500 Rheometric Scientific, Piscataway, NJ) durchgeführt. Als Messsystem wurde als verbesserte Messdurchführung ein Kegel-Platte-System mit

einem Durchmesser von 25,0 mm (Kegelwinkel 0,1 rad) und einem Messspalt von 2,0 mm gewählt.

Gemäß der von KUNZEK et al. veröffentlichten Methode wurden Amplitudensweeps und Frequenzweeps durchgeführt [23]. Die dabei gewählten Testparameter sind den Tabellen 8 und 9 zu entnehmen.

Tab. 8. Testparameter für die Aufnahme von Amplitudensweeps.

Test Typ	Dynamic Stress Sweep
Frequenz	1,0 Hz
Modus	Logarithmisch, Anfangswert 0,1 Pa, Endwert 1000 Pa
Messpunkte pro Dekade	20
Temperatur	25 °C

Tab. 9. Testparameter für die Aufnahme von Frequenzweeps.

Test Typ	Dynamic Stress Frequency Sweep
Schubspannung	10,0 Pa
Modus	Logarithmisch, Anfangswert 79,0 Hz, Endwert 0,01 Hz
Messpunkte pro Dekade	10
Temperatur	25 °C

In Abhängigkeit von der jeweiligen Frequenz bzw. Schubspannung wurden mit Hilfe der zum Gerät gehörigen Software WinRhios jeweils der Speichermodul G' und der Verlustmodul G'' im Verlauf einer Messung ermittelt und graphisch dargestellt.

Die Schubspannungskurve wird bei schubspannungsgesteuerten Rheometern nach folgender Gleichung berechnet:

$$\tau(t) = \tau_0 \sin \omega t \quad [\text{Pa}] \quad (\text{Gl. 7})$$

Zusätzlich wurde der Verlustwinkel $\tan \delta$ ermittelt, der als ein Maß für die Relation zwischen dissipierter und gespeicherter Energie gilt. Der Verlustwinkel $\tan \delta$ wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad [-] \quad (\text{Gl. 8})$$

Alle Untersuchungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Vergleich der Inhaltsstoffzusammensetzung der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparate

Die physiko-chemischen Eigenschaften von Faserpräparaten hängen im Wesentlichen von ihrer stofflichen Zusammensetzung ab. Das wichtigste Kriterium ist das Verhältnis des Gehalts an Ballaststoffen, d. h. Nichtstärke-Polysacchariden, zu anderen Inhaltsstoffen, wie Stärke und Protein.

Die Inhaltsstoffzusammensetzung lässt außerdem die Wirksamkeit des Verfahrens zur Fasergewinnung erkennen, die im Rahmen dieses Vorhabens im Pilotmaßstab erfolgte. Ziel des Verfahrens war es, die Fasern möglichst rein zu gewinnen, d. h. durch die Trenntechnik zu einem möglichst kleinen Stärke- und Proteingehalt im Endprodukt zu kommen.

4.1.1 Ballaststoff-, Stärke-, Protein- und Mineralstoffgehalt

In Tabelle 10 ist die Inhaltsstoffzusammensetzung der aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen gewonnenen Faserpräparate dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass es gelungen war, mit Hilfe des Pilot-Verfahrens zur Gewinnung von Fasern aus Markerbsenkotyledonen Präparate mit Ballaststoffgehalten von ca. 75 % herzustellen. In den Endprodukten betrug der Stärkegehalt 7,9 % bzw. 9,6 % und der Proteingehalt 9,1 % bzw. 9,2 %. Die Zusammensetzung dieser Präparate bestätigt somit die Ergebnisse von MEUSER et al., die mit Hilfe des gleichen Verfahrens Faserpräparate mit Gesamtballaststoffgehalten zwischen 73 % und 79 % hergestellt hatten [10].

Die beiden Lupinenfaserpräparate besaßen Ballaststoffgehalte von 86,2 % bzw. 80,0 %. Dabei war der Proteingehalt des Präparates aus Süßlupinen (Albus-Präparat) mit 9,4 % vergleichbar groß zu dem der beiden Präparate aus Markerbsen, der Proteingehalt des Angustifolius-Präparates war demgegenüber mit 13,6 % jedoch deutlich größer. Der Mineralstoffgehalt, hier ausgedrückt als Asche, die der Rückstandsmenge nach Veraschung der Präparate bei 900 °C entsprach, war bei den Faserpräparaten aus Lupinen mit 1,4 % etwas kleiner als bei den Markerbsenfaserpräparaten (2,4 bzw. 2,2 %). Dies lässt sich darauf zurückführen, dass beim Gewinnungsverfahren der Markerbsenfasern die Schalen aus verfahrenstechnischen Gründen nicht vollständig entfernt werden konnten, die bekanntermaßen den Hauptanteil der Mineralstoffe der Leguminosen enthalten. Der Fettgehalt war bei allen Faserpräparaten mit 0,3 bzw. 0,4 % TS vernachlässigbar klein. Dieses Ergebnis entsprach den Erwartungen, denn der Fettgehalt war schon in den Ausgangsstoffen für die Fasergewinnung sehr klein (< 2,4 % TS).

Tab. 10. Wasser-, Gesamtballaststoff-, Stärke-, Protein- und Aschegehalt der im Pilotmaßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	Wassergehalt [%]	Gesamt-BS [% TS]	Stärke [% TS]	Protein [% TS]	Rohfett [% TS]	Asche [% TS]
Markana-Präparat	9,4	75,5	7,9	9,2	0,4	2,4
Salout-Präparat	7,6	75,4	9,6	9,1	0,3	2,2
Albus-Präparat	7,3	86,2	n. b. ¹⁾	9,4	0,3	1,4
Angustifolius-Präparat	10,6	80,0	n. b. ¹⁾	13,6	0,4	1,4

- 1) n. b. = nicht bestimmt. - Der Stärkegehalt der Lupinenfaserpräparate wurde nicht analysiert, da Lupinen keine oder nur vernachlässigbar geringe Anteile an Stärke enthalten. Stärke existiert in Lupinen nur als temporäre Reservesubstanz während der Keimlingsentwicklung [13]. Sie befindet sich zu diesem Zeitpunkt in sehr geringen Mengen (0,2-0,5 %) als dünne Schicht direkt unter der Schale. In reifen Lupinen ist jedoch keine Stärke vorhanden.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die vier hergestellten Faserpräparate einen ähnlich großen Gesamtballaststoffgehalt besaßen. Aufgrund des großen Ballaststoffgehalts waren sie als Ballaststoffkonzentrate anzusehen.

Damit ein erster Hinweis auf die Ballaststoff-Fractionen der Faserpräparate erhalten werden konnte, wurde zur Ballaststoff-Bestimmung die modifizierte AOAC-Methode angewendet, mit welcher der Ballaststoffgehalt differenziert nach löslichen und unlöslichen Ballaststoffen ermittelt wird [64]. Der in Tabelle 10 angegebene Gesamtballaststoffgehalt ergibt sich dabei aus der Summe der löslichen und unlöslichen Ballaststoffe. Die Ergebnisse der Untersuchungen der Ballaststoffzusammensetzung der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparate sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Zur Veranschaulichung der unterschiedlichen Anteile an löslichen Ballaststoffen in den untersuchten Präparaten ist außerdem der prozentuale Anteil löslicher Ballaststoffe am Gesamtballaststoffgehalt angegeben.

Tab. 11. Gehalt an unlöslichen Ballaststoffen (*uNSP*), löslichen Ballaststoffen (*INSP*), Gesamtballaststoffen (*Gesamt-BS*) und Anteil der löslichen Ballaststoffe am Gesamtballaststoffgehalt der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	<i>uNSP</i> [% TS]	<i>INSP</i> [% TS]	Gesamt-BS [% TS]	Anteil <i>INSP</i> an Gesamt-BS [%]
Markana-Präparat	61,8	13,7	75,5	18,1
Salout-Präparat	64,7	10,7	75,4	14,2
Albus-Präparat	68,2	18,0	86,2	20,9
Angustifolius-Präparat	62,7	17,3	80,0	21,6

Aus einem Vergleich der Analysenergebnisse wird deutlich, dass der Anteil an löslichen Ballaststoffen bei den Lupinenfaserpräparaten größer war als bei den Markerbsenfaserpräparaten.

Wurden zusätzlich die Ergebnisse aus Tabelle 11 mit der Zusammensetzung der Ballaststoffe verglichen, wie sie in den jeweiligen Rohstoffen der Faserpräparate analysiert wurden (s. Kap. 3.1, Tab. 2 und 3), fällt auf, dass der Anteil der löslichen Ballaststoffe am Gesamtballaststoffgehalt in den Rohstoffen sowohl im Fall der Markerbsen als auch der Lupinen weitaus größerer war als in den jeweils entsprechenden Faserpräparaten. In den Rohstoffen der Markerbsen machte er noch ca. ein Drittel aus, in den entsprechenden Faserpräparaten betrug er jedoch nur noch 18 % bzw. 14 % des Gesamtballaststoffgehalts. Im Fall der Lupinen machte er im Rohstoff 45 % bzw. 37 % aus, während er in den Faserpräparaten auf 21 % bzw. 22 % reduziert war. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass ein Teil der löslichen Ballaststoffe während des Herstellungsverfahrens der Ballaststoffpräparate durch die Behandlung mit kaltem Wasser ausgewaschen wurde. Es war deshalb zu überprüfen, ob durch die Art des jeweiligen Herstellungsverfahrens der Faserpräparate auch die Zusammensetzung der löslichen Ballaststoff-Komponenten verändert wurde oder ob generell nur ein bestimmter prozentualer Anteil der *INSP* durch die Behandlung mit kaltem Wasser ausgewaschen wurde (s. Kap. 4.3.1).

4.1.2 Cellulose- und Hemicellulosegehalt im Vergleich zum Gehalt an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen

Die Zusammensetzung der Ballaststoffe aus Cellulose, Hemicellulosen und Lignin in den Faserpräparaten wurde mittels der NDF-Methode untersucht [72] und die Ergebnisse mit denen der Bestimmung der unlöslichen und löslichen Ballaststoffe nach dem modifizierten AOAC-Verfahren [64] verglichen (Tabelle 12).

Das NDF-Verfahren dient der Bestimmung der unlöslichen Ballaststoffe als Neutral-Detergens-Faser (NDF) und bildet die Grundlage für die Ermittlung des Anteiles an Hemicellulosen, Rohcellulose und Rohlignin. Dabei wird nach der Extraktion des Probenmaterials mittels einer ND-Lösung und dem Abbau der Stärke mit α -Amylase/Amyloglucosidase die Menge der unter diesen Bedingungen unlöslichen Bestandteile als Rückstand (NDF) bestimmt, der anschließend weiter mit einer sauren Detergentienlösung (AD-Lösung) extrahiert wird. Die Differenz aus der Menge des ADF-Rückstands und der Menge des NDF-Rückstands ist ein Maß für den Gehalt an unlöslichen Hemicellulosen. Der Rückstand wird weiter mit Schwefelsäure (72 %) behandelt, um die Cellulose aufzulösen. Die Menge des Rückstands nach dieser Behandlung ist ein Maß für den Rohligningehalt. Die Differenz zwischen der Menge des ADF-Rückstandes und des Lignin-Rückstandes ist ein Maß für den Rohcellulosegehalt.

Beim modifizierten AOAC-Verfahren wird ohne Detergentien gearbeitet. Stärke sowie Proteine werden in schwach sauren bis schwach alkalischen Pufferlösungen enzymatisch abgebaut. Nach Abtrennen aller in wässriger Pufferlösung bei pH 7,5 löslichen Bestandteile wird die Menge der unlöslichen Ballaststoffe (***uNSP***) durch Korrektur der Menge des Rückstandes um seinen Gehalt an Protein und Asche ermittelt, die getrennt nach standardisierten Methoden bestimmt werden [69, 71]. Die löslichen Ballaststoffe werden mit Ethanol gefällt. Das Präzipitat wird gewaschen und getrocknet, und es wird sein Protein- und Aschegehalt bestimmt. Die um den Protein- und Aschegehalt korrigierte Menge des Präzipitats ist ein Maß für den Gehalt an löslichen Ballaststoffen (***INSP***).

Zusätzlich wurde der Gehalt an enzymatisch schwer abbaubarer, resistenter Stärke (RS) bestimmt, die unter den Bedingungen des modifizierten AOAC-Verfahrens als Anteil in den ***uNSP*** enthalten ist [73]. Zwar ist ein signifikanter Einfluss dieses normalerweise kleinen Anteils an resistenter Stärke auf die physikalischen Eigenschaften der Faserpräparate nicht anzunehmen, er spielt jedoch eine gewisse Rolle bei der Untersuchung der ***uNSP*** in Bezug auf ihre Monosaccharid-Zusammensetzung (s. Kap. 4.3.2) [91].

Tab. 12. Neutral-Detergens-Fasergehalt (**NDF**), Gehalt an unlöslichen Ballaststoffen (**uNSP**), löslichen Ballaststoffen (**INSP**) und resistenter Stärke (**RS**) der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	NDF [% TS]			uNSP [% TS]	INSP [% TS]	RS [% TS]
	Cellulose	Hemi- cellulose	Rohlignin			
Markana-Präparat	8,0	32,9	0,1	61,8	13,7	1,9
Salout-Präparat	9,3	32,4	0,1	64,7	10,7	1,5
Albus-Präparat	5,5	19,8	0,1	68,2	18,0	n. n. ¹⁾
Angustifolius-Präparat	4,8	15,5	0,3	62,7	17,3	n. n. ¹⁾

1) n. n. = nicht nachweisbar

Anhand dieser Ergebnisse wird zunächst ein weiterer Unterschied bezüglich der Zusammensetzung der Ballaststoffe aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten deutlich. Während der Anteil an Hemicellulose bei den Markerbsenfaserpräparaten 32 % bzw. 33 % betrug, machte er bei den Lupinenfaserpräparaten nur 20 % bzw. 15 % aus. Ähnlich verhielt es sich mit dem Cellulosegehalt. Der Cellulosegehalt der Markerbsenfaserpräparate machte 8 % bzw. 9 % aus, während er für die Lupinenfaserpräparate nur 5-6 % groß war. Der Anteil an Rohlignin war bei allen untersuchten Faserpräparaten vernachlässigbar klein.

Auffällig ist es, dass die Summe der unlöslichen Ballaststoffkomponenten, wie sie mit der NDF-Methode bestimmt werden, nicht mit der Menge an unlöslichen Ballaststoffen, wie sie nach der modifizierten AOAC-Methode bestimmt werden, übereinstimmte. Zwar waren aufgrund der unterschiedlichen Verfahrensweisen bei der Bestimmung der unlöslichen Ballaststoffe unterschiedliche Ergebnisse zu erwarten gewesen, dass die Unterschiede jedoch so groß waren, überraschte. Der nach der AOAC-Methode bestimmte Gehalt an unlöslichen Ballaststoffen war bei allen vier Präparaten weitaus größer als der mit der NDF-Methode bestimmte, welcher der Summe der unlöslichen Bestandteile entspricht. Die Unterschiede betragen bei den Markerbsenfaserpräparaten 20-24 % und bei den Lupinenfaserpräparaten sogar 42 - 44 %.

Die Ursache für diese unterschiedlichen Ergebnisse muss darin liegen, dass während der Extraktion mit der ND-Lösung bestimmte Anteile der NSP in Lösung

gehen, die bei der Behandlung gemäß der AOAC-Methode in schwach alkalischem Puffer nicht löslich sind und somit in den **uNSP** verbleiben.

BELO und DeLUMEN haben anhand zahlreicher Beispiele bewiesen, dass es sich bei den fraglichen Substanzen um pektinartige Materialien handelt [92].

4.1.3 Pektinartige Nichtstärke-Polysaccharide

Die zum Teil erheblichen Differenzen zwischen der Summe des Cellulose-, Hemicellulose- und Ligningehalts der Faserpräparate und ihrem Gehalt an unlöslichen Ballaststoffen zeigten, dass bei deren Bestimmung nach der NDF-Methode einige ihrer Ballaststoff-Komponenten in Lösung gegangen waren. Da diese Komponenten aber nicht wasserlöslich sind, müssen sie den **uNSP** zugerechnet werden. Diese Substanzen werden in der Literatur als pektinartige Nichtstärke-Polysaccharide (**pNSP**) bezeichnet [38, 92]. Zu ihnen zählen, neben den eigentlichen Pektinen (methylierte und acetylierte Polygalacturonsäuren unterschiedlichen Veresterungsgrades) und Rhamnogalacturonanen, beispielsweise auch Arabinane, Galactane, Arabinogalactane, Glucomannane und Galactoglucomannane. Die Klassifikation dieser Substanzen ist nicht eindeutig. Sie werden daher oft auch den Hemicellulosen zugerechnet, d. h. den Gerüstsubstanzen wie Galacto- und Fuco-Galacto-Xyloglucanen, Glucorono-Arabinoxylanen und β -D-Glucanen. Dies ergibt sich unter anderem auch aus ihrer engen Vernetzung untereinander in den Zellwänden, die eine Trennung in Einzelsubstanzen erheblich erschwert [38, 79].

Diese **pNSP** konnten mit Hilfe der ND-Lösung zu erheblichen Anteilen aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten extrahiert werden. Dabei konnte nicht ausgeschlossen werden, dass sich in den mittels der NDF-Methode bestimmten Hemicellulosen auch noch Anteile an **pNSP** befanden. In Tabelle 13 sind die extrahierbaren Anteile an **pNSP** aus den **uNSP** zusammen mit den insgesamt ND-extrahierbaren NSP-Bestandteilen aus den Faserpräparaten aufgeführt. Letztere enthalten auch die **INSP**, wie sie mit der modifizierten AOAC-Methode bestimmt werden. Diese Substanzen werden im folgenden unter dem Begriff ND-extrahierbare Nicht-cellulose-NSP (**ncNSP**) zusammengefasst.

Tab. 13. Gehalt an pektinartigen Nichtstärke-Polysacchariden (*pNSP*) in den *uNSP* und Gehalt an insgesamt ND-extrahierbaren Nichtcellulose-NSP (*ncNSP*) in den im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparaten aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	ND-extrahierbare <i>pNSP</i> in den <i>uNSP</i> [% TS]	Gesamt ND-extrahierbare <i>ncNSP</i> [% TS]
Markana-Präparat	35,2	38,5
Salout-Präparat	35,6	39,6
Albus-Präparat	56,1	57,5
Angustifolius-Präparat	57,6	60,2

Insgesamt war der Gehalt an *pNSP* bzw. *ncNSP* bei allen Präparaten mit 35-58 % bzw. 39-60 % relativ groß, wobei diesbezüglich die Markerbsenfaserpräparate von den Lupinenfaserpräparaten bei weitem übertroffen wurden. Dieses Ergebnis war aufgrund der in Tabelle 12 dargestellten Ergebnisse erwartet worden, weil die beobachteten Differenzen zwischen dem Gehalt der nach der AOAC-Methode und der NDF-Methode bestimmten unlöslichen Ballaststoffe bei den Lupinenfaserpräparaten größer als bei den Markerbsenfaserpräparaten waren.

Somit kann festgestellt werden, dass die *pNSP* bzw. die *ncNSP* in den untersuchten Faserpräparaten einen dominanten Anteil am Trockensubstanzgehalt besitzen. Es ist deshalb anzunehmen, dass diese pektinartigen NSP wegen ihres bekanntlich großen Wasserbindevermögens die physiko-chemischen Eigenschaften der Faserpräparate entscheidend beeinflussen.

Der Gehalt an pektinartigen Bestandteilen in einem Faserpräparat kann auch über die Bestimmung des Galacturonangehaltes nach der Methode von BLUMENKRANTZ und ASBOE-HANSEN ermittelt werden [74]. Dabei wird der Gehalt an Galacturonsäure in einer Probe nach enzymatischem Abbau des Pektins anhand einer Farbreaktion mit m-Hydroxydiphenyl bestimmt. Da es sich bei Pektin um ein Polymer aus 1,4- β -D-Galacturonsäure handelt, stellt der Galacturonangehalt eines Faserpräparates ein Maß für den Anteil an pektinartigen Substanzen dar. Die Ergebnisse einer entsprechenden Untersuchung der Faserpräparate sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tab. 14. Galacturonangehalt der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate und der daraus isolierten **uNSP**-Fraktionen.

Präparat	Galacturonangehalt im Faserpräparat [% TS]	Galacturonangehalt in den uNSP [% TS]
Markana-Präparat	16,8	19,1
Salout-Präparat	14,8	20,1
Albus-Präparat	19,7	16,7
Angustifolius-Präparat	18,4	17,4

Die Ergebnisse lassen erkennen, dass in allen untersuchten Proben ein signifikanter Anteil an Galacturonsäure vorhanden war. Dabei war im Falle der Markerbsefaserpräparate der Galacturonangehalt in den **uNSP**-Fraktionen jeweils etwas größer als im entsprechenden Faserpräparat. Demgegenüber war der Galacturonangehalt in den Lupinenfaserpräparaten größer als in den daraus isolierten **uNSP**-Fraktionen. Dementsprechend war der Anteil an löslichem Pektin in den Lupinenfaserpräparaten größer als in den Markerbsefaserpräparaten. Gegensätzlich dazu verhielt es sich mit dem unlöslichen Pektin.

Die ermittelten Galacturonangehalte lagen weitaus niedriger als die Gehalte an ND-extrahierbaren pektinartigen Substanzen (s. Tab. 13), da Galacturonsäure lediglich die Hauptkette reinen Pektins darstellt. Zu den pektinartigen Nichtstärke-Polysacchariden (**pNSP**) zählen jedoch, wie bereits erwähnt, sowohl die eigentlichen Pektine mit verschiedenen Veresterungsgraden als auch andere Polysaccharide, wie beispielsweise Arabinane, Galactane und Arabinogalactane, die entweder frei vorliegen können oder in den Seitenketten von Polygalacturonanen vorkommen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass der Anteil der erwähnten anderen Polysaccharide an den **pNSP** bei den Lupinenfaserpräparaten größer war als der in den Markerbsefaserpräparaten. Dies geht aus dem Vergleich der Werte aus Tabelle 13 und Tabelle 14 hervor, die zeigen, dass im Falle der Lupinenfaserpräparate jeweils eine viel größere Differenz zwischen dem Gehalt an ND-extrahierbaren **pNSP** und dem Galacturonangehalt bestand als bei den Markerbsefaserpräparaten. Diese Differenz gibt Auskunft über den Anteil an pektinähnlichen Substanzen im Vergleich zum Anteil an reinem Pektin. Genauere Informationen über die Art dieser pektinartigen Polysaccharide gibt die Analyse der Monosaccharid-Zusammensetzung dieser Fraktionen.

Insgesamt bestätigen die Ergebnisse der Bestimmung des Galacturonangehaltes die Vermutung, dass es sich bei dem mit Hilfe der ND-Lösung extrahierbaren Ballaststoffmaterial hauptsächlich um pektinartige Substanzen (*pNSP*) handelt.

4.2 Vergleich ausgewählter physiko-chemischer Eigenschaften der Mark- erbsen- und Lupinenfaserpräparate

In Bezug auf die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit wurden ausgewählte physiko-chemische Eigenschaften der vier im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate bestimmt. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf ihre Rehydratationseigenschaften und das rheologische Verhalten gerichtet. Außerdem wurden die morphologischen Eigenschaften der vier Faserpräparate mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den folgenden Unterkapiteln enthalten.

4.2.1 Wasserbindungseigenschaften

Die Untersuchung der Wasserbindungseigenschaften beschäftigt sich in erster Linie mit dem Verhalten der Faserpräparate im Wasserüberschuss ohne Einwirkung äußerer Kräfte. Die Wasserbindungseigenschaften spielen für die Beurteilung der funktionellen Eigenschaften von Faserpräparaten, insbesondere für ihr texturgebendes Potential, eine sehr wichtige Rolle, da sie wiederum in entscheidendem Maße für das rheologische Verhalten der Produkte, d. h. das Fließverhalten bzw. Konsistenzverhalten unter der Einwirkung von Scherkräften, verantwortlich sind.

Die Kaltwasserbindungseigenschaften wurden differenziert nach dem Kaltwasserbindevermögen (KWB) und dem Kaltwasserrückhaltevermögen (KWRV) bestimmt. Experimentell erfolgte die Differenzierung dadurch, dass das KWB durch Zentrifugation des in Wasser aufgenommenen Probenmaterials bei 1000 x g bestimmt wurde [77], das KWRV jedoch dadurch, dass das Sediment, das aus dem in Wasser aufgenommenen Probenmaterial nach Zentrifugation bei 3000 x g entstand, anschließend auf einem Glasfiltertiegel zusätzlich abgesaugt wurde, um so das nicht fest eingebundene Wasser abzuziehen [76]. Die Methoden zur Bestimmung des KWB und des KWRV liefern Ergebnisse mit unterschiedlicher Aussage, die es erlauben, zwischen dem hauptsächlich kapillar eingelagerten Wasser (KWB) und dem hauptsächlich durch Wasserstoff-Brückenbindungen und van der Waals-Kräfte gebundenem Wasser (KWRV) zu unterscheiden. Zusätzlich wurde das Kaltwasserquellvermögen (KWQ) und die Kaltwasserlöslichkeit (KWL) der Faserpräparate nach den im Kapitel 3.4.10 und 3.4.11 beschriebenen Methoden bestimmt [76, 77].

Die Ergebnisse der Untersuchungen des Kaltwasserquellvermögens (KWQ), des Kaltwasserbindevermögens (KWB), des Kaltwasserrückhaltevermögens (KWRV) und der Kaltwasserlöslichkeit (KWL) sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Dabei ist

anzumerken, dass sich die Kaltwasserlöslichkeit hier auf den gesamten Anteil an löslicher Trockenmasse aus den Faserpräparaten bezieht, in denen präparativ bedingt Proteine, Farbstoffe, Mono- und Oligosaccharide enthalten sind. Die Messwerte dürfen deshalb nicht mit dem Anteil an löslichen Ballaststoffen verwechselt werden.

Tab. 15. Kaltwasserquellvermögen (KWQ), Kaltwasserbindevermögen (KWB), Kaltwasserrückhaltevermögen (KWRV) und Kaltwasserlöslichkeit (KWL) der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	KWQ [ml H ₂ O/g]	KWB [g H ₂ O /g TS]	KWRV [g H ₂ O /g TS]	KWL [% TS]
Markana-Präparat	32,3	16,1	5,5	0,2
Salout-Präparat	26,6	11,1	5,2	0,1
Albus-Präparat	21,4	11,4	5,7	0,2
Angustifolius-Präparat	17,0	9,1	8,0	0,3

Es ist zu erkennen, dass das KWQ der Markerbsenfaserpräparate größer war als das der Lupinenfaserpräparate. Zusätzlich unterschieden sich die Präparate aus den beiden Erbsensorten hinsichtlich des KWQ. Dieser Unterschied zwischen den Präparaten aus den Markerbsensorten ergab sich auch für das KWB. Die Werte für das KWRV und die KWL der Markerbsenfaserpräparate unterschieden sich dagegen nicht wesentlich.

Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass das Wasser, welches vom Markana-Präparat gegenüber dem Salout-Präparat zusätzlich gebunden wurde, nicht sehr fest eingelagert worden war und deshalb bei mechanischer Beanspruchung (Zentrifugation) wieder freigesetzt wurde. Diese Art der Wasserbindung tritt bei der Einlagerung von Wassermolekülen in die Hohlräume faserartiger Grundgerüste von Zellwandmaterialien auf. Diese Hohlräume kapillarartiger Struktur können unterschiedlich aufgebaut sein, wobei sich Unterschiede in der Struktur auch durch die Präparationstechnik ergeben können, so dass für die beobachteten Unterschiede in der Wasserbindung zwei Ursachen in Betracht zu ziehen sind.

Beim Vergleich des KWB und des KWRV der beiden Lupinenfaserpräparate fällt auf, dass das Albus-Präparat zwar insgesamt mehr Wasser binden konnte als das Angustifolius-Präparat, es jedoch unter mechanischer Belastung weniger Wasser zurückhalten konnte als dieses. Das Angustifolius-Präparat besaß mit 8,0 g H₂O/g TS von allen untersuchten Präparaten das größte KWRV. Dies deutet darauf hin, dass die Wasserbindungsmechanismen unter den Faserpräparaten unterschiedlich

ausgeprägt waren. Als physikalische Ursache für die unterschiedliche Wasserbindung kommt auch die Molekularstruktur der NSP der Faserpräparate in Betracht. Das KWRV der beiden Markerbnsenfaserpräparate lag in der gleichen Größenordnung wie das des Albus-Präparates, so dass für diese Präparate eine vergleichbare Ausbildung der Kapillarstruktur anzunehmen war.

Die KWL aller vier Präparate war mit 0,1-0,3 % sehr klein. Es konnte deshalb geschlossen werden, dass die KWL keinen Einfluss auf die funktionellen Eigenschaften der Faserpräparate ausübte.

Zusätzlich zu den genannten Wasserbindungseigenschaften wurde die Wasserabsorption der vier Faserpräparate mit Hilfe der Kapillarsaugmethode (Baumann-Methode) untersucht [78]. Diese Methode ist eine Befeuchtungsmethode, bei der eine auf einer feinporigen Glasfilterplatte in gleichmäßig dünner Schicht verteilte Probe Wasser aus einem unter der Filterplatte liegenden Wasserreservoir aufnimmt, das mit einer Messkapillare verbunden ist. Die Methode ist gut zur Erfassung der Kinetik der Wasseraufnahme, auch bei teilweise löslichen Proben, geeignet. Die Untersuchungen wurden am Fachgebiet für Lebensmittelfunktionalität (Prof. Kunzek) durchgeführt, da dort eine entsprechende Apparatur vorhanden ist. In Abbildung 7 ist der Verlauf der Wasserabsorption für die untersuchten Faserpräparate graphisch dargestellt.

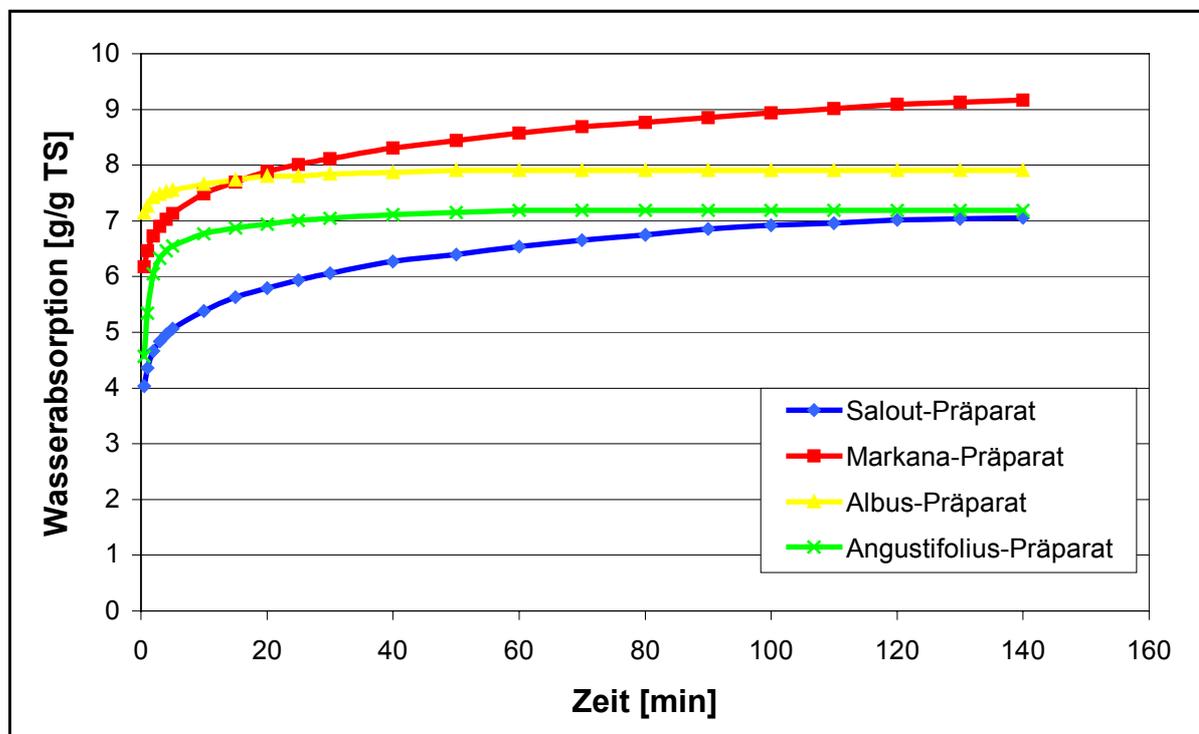


Abb. 7. Graphische Darstellung der Wasserabsorption der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbnsen- und Lupinenkotyledonen.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse zeigt, dass bezüglich der Kinetik der Wasseraufnahme Unterschiede zwischen den Faserpräparaten aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen vorhanden waren. Während nämlich die Wasserabsorption der Lupinenfaserpräparate schon nach 50 bzw. 60 min zum Stillstand kam, war sie bei den Markerbsenfaserpräparaten erst nach 140 min abgeschlossen. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass unterschiedliche Mechanismen der Wasseraufnahme vorlagen, die entweder auf einem unterschiedlichen Aufbau oder einer unterschiedlichen stofflichen Zusammensetzung der Ballaststoff-Polysaccharide beruht haben können.

Außerdem ist zu erkennen, dass das Markana-Präparat bei weitem die größte Wasserabsorptionskapazität besaß. An zweiter Stelle folgte das Albus-Präparat, das Salout-Präparat und das Angustifolius-Präparat lagen mit ungefähr vergleichbaren Werten noch darunter. Diese Ergebnisse korrelieren in gewisser Weise mit den für das KWB der Präparate ermittelten Werten. Auch hier lag das Markana-Präparat mit 16,1 g H₂O/g TS mit Abstand an erster Stelle, während die anderen drei Präparate mit 9,1-11,4 g H₂O/g TS weit weniger Wasser zu binden in der Lage waren. In Tabelle 16 sind die Werte für das KWB zum Vergleich den Endwerten der Wasserabsorption gegenübergestellt.

Tab. 16. Gegenüberstellung des Kaltwasserbindevermögens (KWB) und des Endwertes der Wasserabsorption mittels Kapillarsaugmethode für die im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen.

Präparat	KWB [g H ₂ O/g TS]	Wasserabsorption (Endwert) [g H ₂ O/g TS]
Markana-Präparat	16,1	9,2
Salout-Präparat	11,1	7,1
Albus-Präparat	11,4	7,9
Angustifolius-Präparat	9,1	7,2

Die mit den beiden Methoden absolut ermittelten Werte für das KWB und die Wasserabsorption können nicht direkt miteinander verglichen werden, da es sich bei der Kapillarsaugmethode um eine Befeuchtungsmethode handelt, bei der die Probe aktiv das Wasser aus einer räumlich getrennten Phase (Wasserreservoir unter einer Filterplatte) aufnimmt, die Methode zur Bestimmung des KWB dagegen eine Entfeuchtungsmethode ist, die dadurch charakterisiert wird, dass zu der Probe zunächst Wasser im Überschuss zugegeben wird, das nach einer festgelegten Zeit durch Zentrifugieren entfernt wird. Es war deshalb zu erwarten, dass die Werte für

das KWB größer ausfielen als die Endwerte für die Wasserabsorption. Generell ist jedoch bei beiden Methoden die gleiche Tendenz zu erkennen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bezüglich der Wasserbindungseigenschaften der untersuchten Faserpräparate sowohl Unterschiede zwischen den Faserpräparaten aus Markerbsen und Lupinen als auch zwischen den Sorten der Markerbsen und Lupinen vorhanden waren.

Die Wasserbindungseigenschaften von Faserpräparaten sind von entscheidender Bedeutung für ihren potentiellen Einsatz in bestimmten Lebensmittelformulierungen, insbesondere in Bezug auf eine eventuelle Anwendung von Scherkräften im Verarbeitungsprozess. Dieser Aspekt wird im folgenden Kapitel im Zusammenhang mit den rheologischen Eigenschaften der Faserpräparate, die in enger Beziehung zu den Wasserbindungseigenschaften stehen, ausführlicher diskutiert.

4.2.2 Rheologische Eigenschaften

Rheologische Untersuchungen an Faserpräparaten in wässrigen Medien geben Auskunft über deren Fließverhalten unter Einfluss von Scherkräften. Die Untersuchung der rheologischen Eigenschaften ist aus technologischer Sicht besonders wichtig, da bei der Lebensmittelherstellung nahezu in allen Prozessschritten und auch beim Verzehr Einflüsse in Form von Scherbeanspruchungen auftreten. Im Hinblick auf die Applikation von Faserpräparaten in ausgewählten Lebensmittelformulierungen ist das Fließ- und Viskositätsverhalten dieser Präparate in wässrigen Medien deshalb von besonderem Interesse.

Die rheologischen Eigenschaften der vier Faserpräparate wurden anhand von Rotationsversuchen (Steady Stress Sweep Test) auf einem dynamischen Schubspannungsgesteuerten Rheometer zwischen parallelen Platten mit einem Durchmesser von 40,0 mm und einer Spaltbreite von 4,0 mm ermittelt. Die Proben wurden bei dieser Methode einer linear ansteigenden Schubspannung (Stress) bei einer erlaubten Maximaldeformation (Strain) von 1,0 % ausgesetzt. Wurde dieser Wert überschritten, wurde die Messung automatisch abgebrochen. Nach Vorversuchen hatte sich herausgestellt, dass ein Schubspannungsbereich von 0,1 Pa bis 1000 Pa für die zu untersuchenden, manuell in Wasser dispergierten Proben mit 10 % TS bei 25 °C angemessen war. Mit Hilfe der WinRhios-Software wurde jeweils die Fließgrenze (τ_0), die dazugehörige Ruhescherviskosität (η_0), sowie die Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung ($\tau_{\text{Strukturz.}}$) und die dazugehörige Gleichgewichtsviskosität (η_{equ}) ermittelt. Die Messungen wurden jeweils nach 30, 60 und 90 min Quellzeit durchgeführt, um die Veränderung des Fließverhaltens der Proben in Abhängigkeit von der Quellzeit zu beobachten.

Es muss in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den in Wasser gequollenen Faserpräparaten nicht um „Gele“ und damit „Netzwerke“

oder „innere Strukturen“ einer Einzelsubstanz im klassischen Sinne handelt, sondern um Dispersionen sowie gemischte „Partikelgele“¹.

Solche „Partikelgele“ werden in der klassischen Rheologie sehr wenig beschrieben. In Biopolymersystemen und somit auch in komplexen Lebensmittelsystemen sind sie jedoch die am häufigsten auftretenden Gele [94]. Deshalb müssen die hier erhaltenen Ergebnisse unter dem Vorbehalt diskutiert werden, dass es sich um komplexe System-Dispersionen handelt, deren Eigenschaften in ihrer Gesamtheit durchaus mehr als die Summe der Eigenschaften ihrer Einzelkomponenten darstellen können. In diesem Sinne spiegeln die ermittelten Parameter nur den Wechselwirkungszustand der Mischungen mit Wasser bei einer bestimmten Konzentration wider.

Die Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen nach 30, 60 und 90 min Quellzeit sind den Tabellen 17, 18 und 19 zu entnehmen. Die graphische Auswertung der Fließkurven ist im Anhang dargestellt (Abb. A1-A4).

Tab. 17. Fließgrenze (τ_0), Ruhescherviskosität (η_0), Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung ($\tau_{\text{Strukturz.}}$) und Gleichgewichtsviskosität (η_{equ}) der Faserpräparate nach einer Quellzeit von 30 min.

Präparat	τ_0 [Pa]	η_0 [Pa s]	$\tau_{\text{Strukturz.}}$ [Pa]	η_{equ} [Pa s]
Markana-Präparat	436	$4,57 \times 10^4$	649	114,4
Salout-Präparat	215	$2,35 \times 10^4$	288	26,6
Albus-Präparat	41	$6,37 \times 10^3$	135	1,7
Angustifolius-Präparat	8	$6,53 \times 10^2$	98	0,6

¹ Diese „Partikelgele“ bestehen aus dispergierten festen, plastisch oder elastisch deformierbaren Teilchen in einem mehr oder minder in sich strukturierten „Netzwerk“ von gelbildenden Substanzen. Bei diesen Substanzen kann es sich auch durchaus um mikroskopisch kleine Fibrillen im Größenbereich von einigen Nanometern Molekülgröße handeln, wie sie beispielsweise aus Cellulosefasern erhalten werden können. Die Grenzen des Übergangs zwischen einer Teilchendispersion und einem wirklichen Gel, in dem die Polymer-Moleküle nur durch Verhakungen untereinander ein Netzwerk bilden, werden oft mit dem Begriff „molekulardispers“ umschrieben [93,94].

Tab. 18. Fließgrenze (τ_0), Ruhescherviskosität (η_0), Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung ($\tau_{\text{Strukturz.}}$) und Gleichgewichtsviskosität (η_{equ}) der Faserpräparate nach einer Quellzeit von 60 min.

Präparat	τ_0 [Pa]	η_0 [Pa s]	$\tau_{\text{Strukturz.}}$ [Pa]	η_{equ} [Pa s]
Markana-Präparat	483	$4,79 \times 10^4$	788	83,4
Salout-Präparat	275	$2,63 \times 10^4$	516	77,5
Albus-Präparat	39	$4,93 \times 10^3$	141	2,6
Angustifolius-Präparat	8	$5,65 \times 10^2$	100	0,6

Tab. 19. Fließgrenze (τ_0), Ruhescherviskosität (η_0), Schubspannung bei vollständiger Strukturzerstörung ($\tau_{\text{Strukturz.}}$) und Gleichgewichtsviskosität (η_{equ}) der Faserpräparate nach einer Quellzeit von 90 min.

Präparat	τ_0 [Pa]	η_0 [Pa s]	$\tau_{\text{Strukturz.}}$ [Pa]	η_{equ} [Pa s]
Markana-Präparat	506	$5,08 \times 10^4$	848	178,7
Salout-Präparat	286	$2,80 \times 10^4$	558	79,5
Albus-Präparat	42	$4,39 \times 10^3$	156	2,5
Angustifolius-Präparat	8	$4,34 \times 10^2$	96	0,6

Die Fließkurven der wässrigen Dispersionen aus den Markerbsefaserpräparaten zeigten unter den gewählten Bedingungen das für solche Substanzen typische plastische Fließverhalten (s. Kap. 2.2.2, Abb. 1). Unterschiede waren jedoch bezüglich der Fließgrenze, d. h. der Approximation des Schnittpunktes zwischen Fließkurve und τ -Achse, und der dazugehörigen Ruhescherviskosität zu erkennen (s. Anhang, Abb. A1-A2). Die Dispersion des Markana-Präparates besaß von vornherein eine höhere Fließgrenze, Anfangsviskosität und Endviskosität als die des Salout-Präparates. Die Werte für die Fließgrenze und die Ruhescherviskosität des Markana-Präparates waren nach 30 min Quellzeit mit 436 Pa bzw. $4,6 \times 10^4$ Pa s ungefähr doppelt so groß wie die des Salout-Präparates (215 Pa bzw. $2,4 \times 10^4$ Pa s). Somit kann auch bei der rheologischen Untersuchung der Markerbsefaserpräparate, wie bei der Untersuchungen ihrer Wasserbindungseigenschaften, ein Sorteneinfluss festgestellt werden.

Bezüglich des zeitlichen Quellverhaltens zeigten beide Markerbsenfaserpräparate die Tendenz, dass die Stabilität und Viskosität ihrer Dispersionen mit fortschreitender Quellzeit zunahm. So stieg beispielsweise die Fließgrenze der Dispersion aus dem Markana-Präparat von 436 Pa nach 30 min auf 506 Pa nach 90 min Quellzeit an, und beim Salout-Präparat bei gleicher Quellzeit von 215 Pa auf 286 Pa an. Offensichtlich fand also während der 90 minütigen Standzeit bei Raumtemperatur ein starker Strukturaufbau infolge Wasserimmobilisierung statt.

Die graphische Darstellung des Fließverhaltens der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten zeigt, dass diese ein eher pseudoplastisches Fließverhalten besaßen (s. Anhang, Abb. A3-A4). Die Fließgrenzen lagen hier so niedrig, dass die Fließkurven fast durch den Ursprungspunkt des Koordinatensystems verliefen. Dies bedeutet, dass solche Dispersionen bereits bei geringsten Scherbeanspruchungen zu fließen beginnen.

Die bei der rheologischen Untersuchung der Lupinenfaserpräparate ermittelten Kennwerte waren im Vergleich zu denen der Markerbsenfaserpräparate sehr klein. So lagen beispielsweise die Fließgrenzen nach einer Quellzeit von 30 min bei 41 Pa (Albus-Präparat) bzw. 8 Pa (Angustifolius-Präparat) und die Ruhescherviskositäten bei $6,4 \times 10^3$ Pa s bzw. $6,5 \times 10^2$ Pa s. Somit zeigt sich auch hier ein Unterschied, der jedoch wegen des Einflusses einer möglichen unterschiedlichen Herstellungstechnik oder unterschiedlicher Herstellungsparameter nicht definitiv auf Sortenunterschiede zurückgeführt werden konnte. Das Albus-Präparat schien stabilere Dispersionen zu bilden als das Angustifolius-Präparat. Dennoch erreichten die rheologischen Kennwerte der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten bei weitem nicht die der Markerbsenfaserpräparate.

Bezüglich des zeitlichen Quellverhaltens der Lupinenfaserpräparate war zu beobachten, dass im Gegensatz zu den Dispersionen der Markerbsenfaserpräparate die Strukturausbildung offenbar schon nach 30 min abgeschlossen war und die Fließgrenzen der Dispersionen sich bis zur 90. Minute nicht mehr signifikant veränderten. Dagegen nahm die Ruhescherviskosität der Dispersionen im Verlaufe der 90minütigen Quellzeit sogar ab. Das deutet auf eine Rückbildung der zunächst in kaltem Wasser ausgebildeten Dispersionsstruktur hin. Möglicherweise wurde dies durch Phasensegregation infolge der bei der Quellung auftretenden Veränderung der Kapillarendurchmesser verursacht.

Der Vergleich dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen der Bestimmung des KWQ (Tabelle 15) lässt erkennen, dass die rheologischen Eigenschaften der Markerbsenfaserpräparate im Verlauf der Quellzeit mit dem KWQ in gewisser Weise positiv korrelierten. Je größer das KWQ, desto größer waren auch τ_0 , η_0 , $\tau_{\text{Strukturz.}}$ und $\eta_{\text{equ.}}$. Deshalb wurde das KWQ der Markerbsenfaserpräparate und der Lupinenfaserpräparate nochmals innerhalb der für die rheologischen Messungen gewählten Quellzeiten (30, 60, 90 min) bestimmt und versucht, diese Ergebnisse mit den ermittelten

rheologischen Größen in Beziehung zu setzen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigten prinzipiell die Beobachtung. Das KWQ der Markerbsenfaserpräparate nahm innerhalb der Quellzeit zu, während es bei den Lupinenfaserpräparaten schon nach ca. 30 min annähernd seinen Maximalwert erreicht hatte. Es konnte jedoch kein mathematisch beschreibbarer Zusammenhang zwischen KWQ und rheologischen Parametern festgestellt werden.

Eine positive Korrelation wurde auch für den Zusammenhang zwischen dem KWRV und den untersuchten rheologischen Größen beobachtet. Dieses Ergebnis ist verständlich, da sich sowohl die Bestimmung des KWRV als auch die der rheologischen Parameter auf die Stabilität der Dispersionen unter dem Einfluss äußerer anisotroper Kräfte (Scherung) beziehen.

Alle diese Resultate lassen die Schlussfolgerung zu, dass sowohl für die Wasserbindungseigenschaften als auch für die rheologischen Eigenschaften der untersuchten Faserpräparate in erster Linie die Zusammensetzung und Struktur der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide (**uNSP**) sowie deren räumliche Anordnung verantwortlich ist. Aus der Literatur und aus eigenen Voruntersuchungen ist bekannt, dass die **uNSP** von Markerbsen- und auch Lupinenkotyledonen sich bezüglich ihrer Monosaccharid-Zusammensetzung voneinander unterscheiden [18, 52, 58, 61, 62]. Da außerdem bereits festgestellt wurde, dass alle untersuchten Präparate einen hohen Anteil an pektinartigen NSP in den **uNSP** enthielten (s. Kap. 4.1.3), kann angenommen werden, dass insbesondere die Zusammensetzung dieser **pNSP**-Fraktionen ausschlaggebend für die Ausbildung der physiko-chemischen Eigenschaften der Faserpräparate, wie z. B. Wasserbindung und Fließverhalten, war. Es ist nämlich bekannt, dass die **pNSP** zu den matrixbildenden Hydrokolloiden gehören, d. h. dass sie in molekulardispenser Form eine Matrix ausbilden, in die Wasser eingelagert wird (s. Kap. 2.2.3). Die Verfügbarkeit, d. h. die Festigkeit der Einbindung dieses Wassers hängt von der Zusammensetzung und der Verknäuelung sowie intermolekularen Vernetzung der Polysaccharid-Moleküle ab. Bezogen auf die Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen kann abgeleitet werden, dass der Aufbau dieser Hydrokolloid-Matrix und somit der Mechanismus der Wassereinlagerung in die Matrix bei den **pNSP** der untersuchten Markerbsen und Lupinen verschieden war. Somit war zu erwarten, dass die Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung sowie des molekularen Aufbaus dieser **pNSP**-Makromoleküle Erklärungen für die unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften der Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen liefern würde.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Faserpräparate wegen ihrer rheologischen Eigenschaften für die Herstellung von Lebensmitteln mit kaltwasserquellenden Eigenschaften eignen sollten. Sämtliche Faserpräparate bildeten bei der Rehydratisierung stabile Dispersionen aus, wobei die Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten weitaus höhere Fließgrenzen und Viskositäten besaßen als die aus den Lupinenfaserpräparaten. Zusätzlich muss noch einmal betont

werden, dass die Stabilität der Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten im Laufe der 90 minütigen Quellzeit stark zunahm und ein Endpunkt dieser Zunahme oder eine eventuelle Reversibilität der Viskositätsausbildung unter den gewählten Bedingungen nicht zu ermitteln war. Offensichtlich war in diesen Faserpräparaten die Zusammensetzung im Hinblick auf das Verhältnis zwischen **uNSP**, Stärke und Protein so ausgewogen, dass die wasserbindenden und wasserrückhaltenden Eigenschaften der in diesen Faserpräparaten enthaltenen Polysaccharide dominierend wirken konnten.

Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die erhaltenen Ergebnisse nur für eine Feststoffkonzentration von 10 % TS und eine Temperatur von 25 °C galten. Resultate rheologischer Messungen sind stets unter Berücksichtigung des verwendeten Messsystems und der gewählten Testparameter zu betrachten.

4.2.3 Morphologische Eigenschaften

Die morphologischen Eigenschaften der im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate wurden mikroskopisch festgestellt. Dazu wurden die Faserpräparate mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops betrachtet, um einen Eindruck über die Erscheinungsform der Faserpartikel im trockenen Zustand zu erhalten. Es wurden jeweils von solchen durch REM sichtbar gemachten Ausschnitten der Fasern Fotos angefertigt, die als repräsentativ gelten konnten.

An den Aufnahmen der Markerbsenfaserpräparate ist zu erkennen, dass die Partikel überwiegend aus Agglomeraten kollabierten Zellmaterials bestanden, die sehr uneinheitliche Partikelformen aufwiesen (s. Anhang, Abb. A5 und A7). Einzelne Faserstränge waren kaum erkennbar. Neben Zusammenballungen unstrukturierter Bestandteile waren nur teilweise Cluster aus "faserartigem" Material vorhanden. Größere Partikel mit Durchmessern von bis zu 300 µm ließen z. T. noch Zellwandstrukturen mit Einlagerungen von Stärkekörnern erkennen (s. Anhang, Abb. A6 und A8). Die Detailaufnahmen zeigen außerdem, dass die Partikeloberfläche der Markerbsenfaserpräparate relativ porös war. Unterschiede in der morphologischen Erscheinung zwischen dem Markana- und dem Salout-Präparat konnten nicht beobachtet werden.

Die Aufnahmen der Lupinenfaserpräparate zeigten einen überwiegenden Anteil an nicht eindeutig zuzuordnendem, "unstrukturiertem" Material (s. Anhang, Abb. A9 und A11). Es waren Agglomerate von Zellwandmaterial zu erkennen, die jedoch im Vergleich zu der uneinheitlichen Form der Markerbsenfaserpräparate eine eher rundlich-ovale Partikelform aufwiesen. Die Partikeloberfläche der Lupinenfaserpräparate erschien glatter als die der Markerbsenfaserpräparate. Insgesamt wurde bei den Lupinenfaserpräparaten ein höherer Anteil größerer Partikel mit Durchmessern bis zu 600 µm festgestellt als bei den Markerbsenfaserpräparaten.

In den Detailaufnahmen der Lupinenfaserpräparate waren vereinzelt Faserstränge oder Fasercluster zu erkennen (s. Anhang, Abb. A12). Selten wurden noch intakte Zellwandstrukturen beobachtet. Soweit sie zu erkennen waren, deuten sie darauf hin, dass die Zellen der Lupinenkotyledonen einen Durchmesser von ca. 50 µm besaßen (s. Anhang, Abb. A10).

4.3 Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HPAE-PED-Chromatographie

Die Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der verschiedenen isolierten NSP-Fractionen erfolgte in Anlehnung an aus der Literatur bekannte Methoden zur Trennung von Monosacchariden und Uronsäuren [79, 80].

Aus den Verhältnissen der Monosaccharide untereinander sollte anhand der in der Literatur beschriebenen Zusammensetzungen der verschiedenen Spezies der Zellwand-Polysaccharide eine Beurteilung der Art der in den einzelnen Fractionen vertretenen Polysaccharid-Spezies vorgenommen werden [8, 38, 52, 54, 56, 58, 60, 61, 77, 79, 95-98]. Dabei wurde davon ausgegangen, dass unter den gewählten Hydrolysebedingungen keine oder nur ein sehr geringer Anteil an Cellulose in Monosaccharide gespalten wird [58]. Die Hydrolysebedingungen führten allerdings dazu, dass ein eventueller Methylierungs- oder Acetylierungsgrad von Galactosyl- oder Galacturonylresten nicht bestimmt werden konnte, da diese Substituenten unter den gewählten Hydrolysebedingungen bekanntermaßen abgespalten werden und somit nicht mittels HPAE-PED LC detektiert werden können.

4.3.1 Monosaccharid-Zusammensetzung der löslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen (*INSP*)

Die relativen Anteile der einzelnen Monosaccharide im Abbaugemisch nach der TFE-Hydrolyse der *INSP* sind in Tabelle 20 dargestellt. Außerdem wurden anhand des Ballaststoffgehaltes der verschiedenen *INSP*-Fractionen auch die absoluten Gehalte der Monosaccharide in mg/g Ballaststoff ermittelt. Da jedoch die Wiederfindung der Ballaststoffe als Monosaccharidgemisch bei den einzelnen Analysen sehr unterschiedlich war, eignen sich diese Werte nicht gut zum Vergleich der Monosaccharid-Zusammensetzungen der verschiedenen *INSP*-Präparate. Sie werden deshalb lediglich im Anhang (Tab. A1) aufgeführt. Auch die entsprechenden Chromatogramme befinden sich im Anhang (Abb. A13-A16).

Tab. 20. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der **INSP** aus den Markerbbsen- und Lupinenfaserpräparaten.

Monosaccharid	Relativer Anteil der Monosaccharide in den INSP der Faserpräparate [%]			
	Markana-Präparat	Salout-Präparat	Albus-Präparat	Angustifolius-Präparat
	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	0,3	0,3	0,1	0,1
Arabinose	34,6	48,2	7,9	11,9
Rhamnose	1,7	2,1	1,7	1,7
Galactose	11,1	11,9	79,4	69,5
Glucose	6,8	4,8	1,3	2,0
Xylose	2,6	3,7	1,2	2,6
Mannose	36,2	22,2	5,3	8,6
Galacturonsäure	4,4	5,0	2,2	2,3
Glucuronsäure	2,4	2,0	0,7	1,3

Die Ergebnisse zeigen, dass die **INSP** der Markerbbsenfaserpräparate in erster Linie aus arabinose- und mannosehaltigen Oligo- und Polysacchariden bestanden. Arabinose und Mannose machten zusammen ca. 70 % der im Abbaugemisch der **INSP** enthaltenen Monosaccharide aus. Dennoch war zwischen den Markerbbsenfaserpräparaten ein deutlicher Unterschied feststellbar, der auf die Sorte zurückgeführt wird. Während die Anteile an Arabinose und Mannose bei den **INSP** aus der Markerbbsensorte Markana ungefähr gleich groß waren und ca. 71 % am Gesamtanteil ausmachten, überwog bei den **INSP** aus der Sorte Salout Arabinose mit 48 %. Der Anteil an Mannose betrug in diesen **INSP** nur 22 %, so dass die Summe beider Zucker den gleichen Gesamtanteil an den Zuckern besaß wie bei den **INSP** aus der Sorte Markana. Neben Arabinose und Mannose waren bei den **INSP** aus den Markerbbsenfaserpräparaten die Monosaccharide Galactose und Glucose von Bedeutung, da sie auf das Vorhandensein von Glucomannanen hindeuteten. Da in den **INSP** aus der Sorte Markana sowohl der Glucose- als auch der Mannosegehalt größer war als bei den **INSP** der Sorte Salout, ist es wahrscheinlich, dass erstere einen größeren Gehalt an Glucomannanen besaßen als letztere.

Aus der Anwesenheit von Galacturonsäure und Rhamnose in den **INSP** wurde auf das Vorhandensein von Pektin geschlossen. Da außerdem aus der Literatur bekannt

ist, dass in den pektinartigen Polysacchariden stärkehaltiger Leguminosen Galactosyl- und Arabinosyl-Seitenketten vorkommen, ist es wahrscheinlich, dass zumindest ein Teil der in den **INSP** der Markerbsenfaserpräparate gefundenen Arabinose und Galactose in den Seitenketten von Pektin gebunden vorlag [39].

Bei den **INSP** aus den Lupinenfaserpräparaten war die Galactose (79 % bzw. 69 %) das vorherrschende Monosaccharid. An zweiter und dritter Stelle folgten mit weitem Abstand Arabinose und Mannose. Diese Ergebnisse stimmen prinzipiell mit den Erkenntnissen von DANDANELL und AMAN überein, die allerdings die Gesamt-Polysaccharid-Fraktion von Lupinenkotyledonen untersucht hatten [52]. Es wurde deshalb angenommen, dass das Monosaccharid-Spektrum der **uNSP** aus den Lupinenfaserpräparaten dem der **INSP** ähnlich sein würde.

Weiterhin ist aus der Literatur bekannt, dass in nicht-stärkehaltigen Leguminosen, wie z. B. Lupinen, Galactomannane als Zellwandpolysaccharide vorkommen, die gleichzeitig auch als Reservepolysaccharide dienen [39]. Diese Galactomannane bestehen aus einer linearen Kette von 1,4-glykosidisch verknüpften Mannosemolekülen, die am C-6 Atom mit Galactosylresten substituiert sind. Es ist deshalb wahrscheinlich, dass ein Teil der gefundenen Galactose in den Galactomannanen der **INSP** gebunden vorlag.

Auch bei den **INSP** der Lupinenfaserpräparate lässt die Anwesenheit von Galacturonsäure und Rhamnose auf die Anwesenheit von Pektin schließen, allerdings in weitaus geringeren Mengen als bei den **INSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten. Aufgrund des insgesamt sehr großen Galactosegehaltes der **INSP** aus den Lupinenfaserpräparaten ist es wahrscheinlich, dass das Pektin hier einen beträchtlichen Anteil an Galactosyl-Seitenketten enthält. Außerdem kommen sicherlich auch freie Galactane vor.

Der Gehalt an Fucose war bei allen Proben vernachlässigbar gering.

Zusätzlich zu den **INSP** aus den Faserpräparaten wurden auch die **INSP** aus den Rohstoffen (Markerbsen Markana und Salout, White Flakes *Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius*) präparativ isoliert und deren Monosaccharid-Zusammensetzung mittels HPAE-PED-Chromatographie untersucht. Dadurch sollte festgestellt werden, ob durch das jeweilige Herstellungsverfahren der Faserpräparate die Zusammensetzung der **INSP**-Komponenten verändert wird. Es war nämlich zu vermuten, dass aufgrund der wässrigen Herstellungsverfahren der Präparate bestimmte Anteile der löslichen Ballaststoffe ausgewaschen werden. In diesem Fall müssten sich die Monosaccharid-Zusammensetzungen der **INSP** aus den Faserpräparaten von denen der **INSP** aus den Rohstoffen unterscheiden. Die Ergebnisse der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der **INSP** aus den Rohstoffen sind in Tabelle 21 zusammengefasst, die entsprechenden Chromatogramme sind im Anhang (Abb. A17-A20) dargestellt. Die Gehalte der einzelnen Monosaccharide

wurden ebenfalls in mg/g Ballaststoff ermittelt. Diese Werte sind im Anhang (Tab. A2) zu finden.

Tab. 21. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der **INSP** aus den Rohstoffen (Markerbsen und entfettete White Flakes aus Lupinen).

Monosaccharid	Relativer Anteil der Monosaccharide in den <i>INSP</i> der Rohstoffe [%]			
	Markana	Salout	Lupinus albus (White Flakes)	Lupinus angustifolius (White Flakes)
	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	0,5	0,5	0,5	0,4
Arabinose	16,2	15,6	11,0	11,3
Rhamnose	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾
Galactose	27,9	26,2	42,3	46,4
Glucose	14,6	16,1	4,8	4,1
Xylose	2,5	2,3	1,5	1,7
Mannose	29,0	31,3	37,5	33,2
Galacturonsäure	5,8	4,9	0,9	1,4
Glucuronsäure	3,6	3,2	1,5	1,6

1) n.n. = nicht nachweisbar

Beim Vergleich der Ergebnisse wird deutlich, dass sich die relativen Anteile einiger Monosaccharide in den **INSP** der Rohstoffe tatsächlich stark von den entsprechenden Anteilen der **INSP** aus den Faserpräparaten unterscheiden. Diese Unterschiede, die für beide Markerbsensorten ungefähr gleich waren, sind in Abbildung 8 zur besseren Veranschaulichung für das Markana-Präparat graphisch dargestellt.

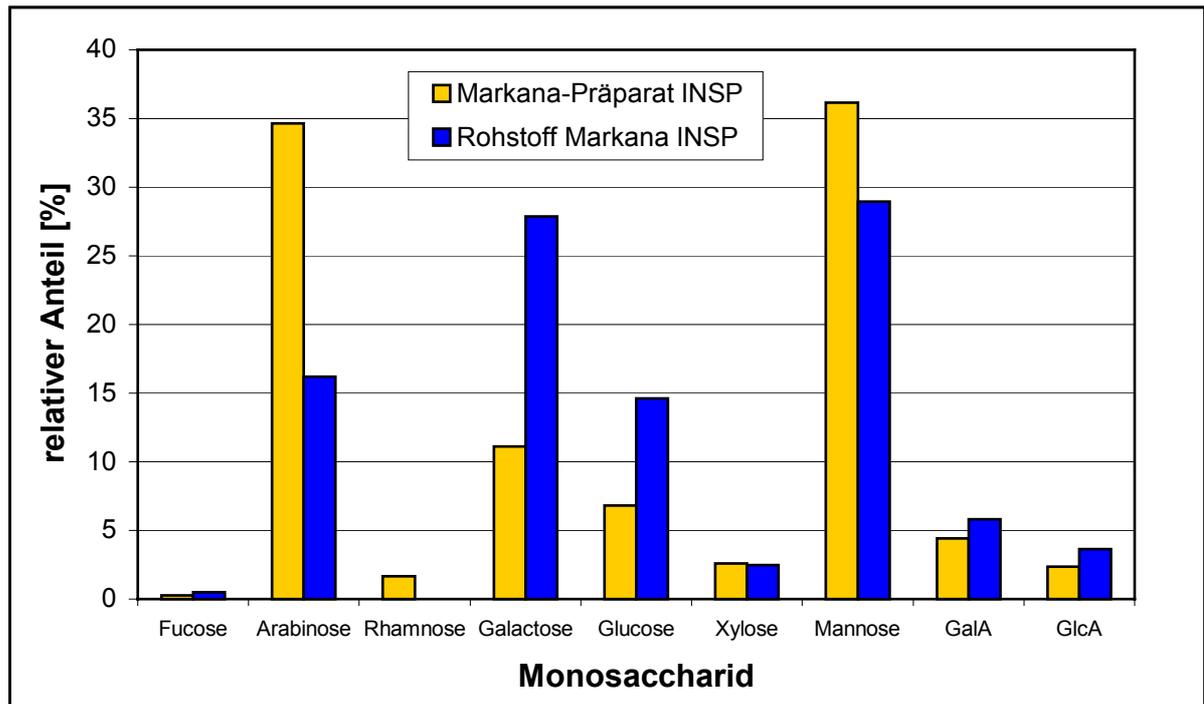


Abb. 8. Relative Anteile der Monosaccharide in den *INSP* aus dem Markana-Präparat im Vergleich zu den *INSP* aus dem Rohstoff Markana.

Es fällt auf, dass die relativen Anteile an Galactose und Glucose in den *INSP* des Rohstoffes weitaus größer waren als in den *INSP* des Faserpräparates. Dagegen waren die relativen Anteile an Arabinose und Mannose in der löslichen Fraktion des Faserpräparates größer als in der entsprechenden Fraktion des Rohstoffes. Die relativen Anteile der übrigen Monosaccharide waren in etwa vergleichbar groß. Diese Ergebnisse lassen sich darauf zurückführen, dass im Rohstoff Markana lösliche Galactane und Glucane vorhanden waren, die während des Herstellungsverfahrens der Faserpräparate durch die Behandlung mit kaltem Wasser ausgewaschen wurden. Dies wird auch durch die Tatsache unterstützt, dass der Anteil der löslichen Ballaststoffe am Gesamtballaststoffgehalt in den Faserpräparaten kleiner war als in den Rohstoffen. Während er in den Rohstoffen noch ca. ein Drittel des Gesamtballaststoffgehaltes ausmachte, betrug er in den Faserpräparaten nur noch 18 % bzw. 14 % des Gesamtballaststoffgehaltes (s. Kap. 4.1.1). Offenbar war also der Verlust von löslichen Ballaststoffen während des Herstellungsprozesses auf das Auswaschen von galactose- und glucosehaltigen Polysacchariden zurückzuführen. Arabinose- und mannosehaltige Polysaccharide wurden dagegen weniger stark durch kaltes Wasser ausgewaschen, so dass der relative Anteil dieser Monosaccharide in den Faserpräparaten zu Lasten der Galactose und Glucose erhöht war.

Auch bei den Präparaten aus Lupinen wurden Unterschiede bezüglich der Monosaccharid-Zusammensetzung der *INSP* in den Faserpräparaten und in den Rohstoffen festgestellt. Da auch hier die Ergebnisse für beide Lupinensorten vergleichbar waren, werden die Unterschiede nur für eine Lupinensorte graphisch veranschaulicht.

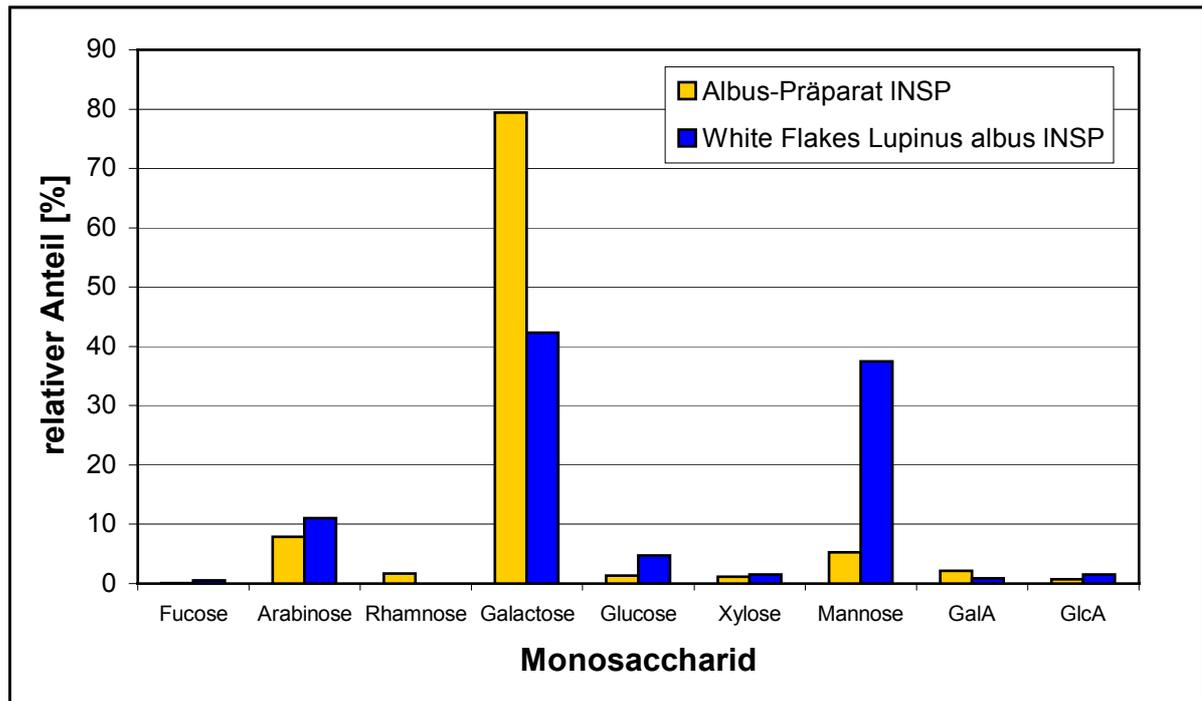


Abb. 9. Relative Anteile der Monosaccharide in den **INSP** aus dem Albus-Präparat im Vergleich zu den **INSP** aus dem Rohstoff White Flakes *lupinus albus*.

In den **INSP** aus den Lupinenfaserpräparaten kamen nur die Monosaccharide Arabinose, Galactose, Glucose und Mannose in signifikanter Menge vor. Die Anteile aller anderen Monosaccharide waren vernachlässigbar klein. Während jedoch in den **INSP** der White Flakes Galactose und Mannose in ungefähr gleicher Menge (42 % bzw. 38 %) vorkamen, war in den **INSP** der Lupinenfaserpräparate die Galactose mit 79 % bzw. 70 % das vorherrschende Monosaccharid. Der Anteil an Mannose betrug hier nur 5 % bzw. 9 %. Auch die relativen Anteile an Arabinose und Glucose fielen im Verhältnis zum Rohstoff kleiner aus. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass in den **INSP**-Fraktionen von Lupinen lösliche Arabinane, Glucane und Mannane (evt. Glucomannane) vorkommen, die bei der Herstellung der Faserpräparate durch die wässrigen Extraktionsmittel ausgewaschen wurden. Es ist deshalb anzunehmen, dass der relative Anteil an Galactose zu Lasten der anderen drei Monosaccharide im Faserpräparat stark erhöht ist. Auch im Fall der Lupinen ist der Anteil der **INSP** am Gesamtballaststoffgehalt im Rohstoff größer als im Faserpräparat, was die Vermutung der Auswaschung bestimmter Anteile der löslichen Ballaststoff-Fraktion unterstützt. Der Anteil der löslichen Ballaststoffe am Gesamtballaststoffgehalt betrug in den White Flakes 45 % bzw. 37 %, während er im Faserpräparat auf 21 % bzw. 22 % reduziert war (s. Kap. 4.1.1).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bei der Gewinnung der Faserpräparate aus Markerbsen und Lupinen mit Hilfe der angewendeten Verfahren offenbar ein Teil der löslichen Ballaststoff-Fraktion durch Auswaschen verloren gegangen war. Der ausgewaschene Anteil setzte sich bei den Faserpräparaten aus Markerbsen hauptsächlich aus galactose- und glucosehaltigen Polysacchariden

zusammen, während er bei den Präparaten aus Lupinen aus arabinose-, mannose- und glucosehaltigen Polysacchariden bestand.

4.3.2 Monosaccharid-Zusammensetzung der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen (*uNSP*)

Die Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der isolierten unlöslichen Ballaststoff-Fractionen erfolgte gemäß der in Kap. 3.4.15 beschriebenen Methode. Tabelle 22 enthält die relativen Anteile der einzelnen Monosaccharide im Abbaugemisch nach der enzymatisch-sauren-Hydrolyse der *uNSP* aus den Faserpräparaten. Auch hier wurden anhand des Ballaststoffgehaltes der verschiedenen *uNSP*-Fractionen zusätzlich die Gehalte der Monosaccharide in mg/g Ballaststoff ermittelt. Diese sind im Anhang (Tab. A3) aufgeführt. Die entsprechenden Chromatogramme befinden sich ebenfalls im Anhang (Abb. A21-A24).

Tab. 22. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem enzymatischen und TFE-hydrolytischen Abbau der *uNSP* aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten.

	Relativer Anteil der Monosaccharide in den <i>uNSP</i> der Faserpräparate [%]			
	Markana-Präparat	Salout-Präparat	Albus-Präparat	Angustifolius-Präparat
Monosaccharid	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	3,2	3,2	1,2	0,8
Arabinose	43,9	48,3	13,5	11,2
Rhamnose	2,1	1,9	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾
Galactose	4,9	4,0	63,1	66,5
Glucose	28,1	26,1	10,2	12,6
Xylose	7,2	6,5	5,4	4,0
Mannose	0,8	0,9	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾
Galacturonsäure	9,9	9,2	6,8	4,9
Glucuronsäure	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾

1) n.n. = nicht nachweisbar

Die Ergebnisse zeigen, dass die *uNSP* der beiden Markerbsenfaserpräparate in erster Linie aus arabinose- und glucosehaltigen Polysacchariden bestanden. Die Arabinose machte mit 44 % bzw. 48 % fast die Hälfte der im Abbaugemisch ent-

haltenen Monosaccharide aus, der Anteil an Glucose betrug 28 % bzw. 26 %. Der große Glucosegehalt der Präparate ist im Zusammenhang mit der Anwesenheit von jeweils ca. 7 % Xylose wahrscheinlich zum Teil auf die Existenz von Xyloglucanen zurückzuführen. Ein weiterer Teil der Glucose lag in Form von resistenter Stärke vor, die, wie bereits erwähnt, bei der Isolierung der **uNSP** nach dem gewählten Verfahren nicht abgetrennt wird und somit in dieser Fraktion angereichert wird. Der Gehalt an resistenter Stärke in den **uNSP**-Fraktionen der beiden Markerbsenfaserpräparate wurde gemäß der Methode von ENGLYST et al. bestimmt [73]. Er betrug bei dem Präparat Markana **uNSP** 3,0 % und bei dem Präparat Salout **uNSP** 2,3 % der Trockensubstanz. Die Vermutung, dass die gefundenen Mengen an Glucose möglicherweise zum Teil auch aus bisher noch nicht in Leguminosen untersuchten Glucanen, beispielsweise β -(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)-D-Glucanen stammt, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Die **uNSP**-Fraktionen aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten waren mit Hilfe einer Methode zur Bestimmung von β -(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)-D-Glucanen nach McCLEARY et al. untersucht worden [95], die Anwesenheit solcher Polysaccharide konnte jedoch in keinem der Präparate nachgewiesen werden.

Weiterhin enthielten die **uNSP** der Markerbsenfaserpräparate 9-10 % Galacturonsäure und ca. 2 % Rhamnose, was auf einen signifikanten Anteil an pektinartigen Polysacchariden schließen lässt, die zum einen als freie Polygalacturonsäuren und zum anderen in Form von Rhamnogalacturonanen vorkommen können.

Der Hauptanteil der in den **uNSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten vorkommenden Polysaccharide wird jedoch von arabinosehaltigen Spezies gebildet. Diese Arabinane sind von HORN untersucht worden [99]. Die vorgeschlagene Molekularstruktur basiert auf NMR-Untersuchungen und beschreibt diese als möglicherweise α -(1 \rightarrow 5)-verknüpfte Hauptkette mit α -(1 \rightarrow 3)-verknüpften Seitenketten undefinierter Kettenlänge. Das Molekulargewicht wird auf ca. 7,5-15 kg/mol geschätzt. Weitere Details werden nicht angegeben.

Diesen Substanzen sind - im Zusammenwirken mit den anderen **pNSP** und den reinen Pektinen - höchstwahrscheinlich die hohen Werte der KWQ und des KWB der Markerbsenfaserpräparate (s. Kap. 4.2.1, Tab. 15) und die mit der Quellzeit zunehmende Viskosität und Scherstabilität der aus ihnen erhaltenen Dispersionen (s. Kap. 4.2.2, Tab. 17-19) zuzuschreiben.

Bei den **uNSP** aus den Lupinenfaserpräparaten war Galactose (63 % bzw. 67 %) das vorherrschende Monosaccharid. An zweiter und dritter Stelle folgten mit weitem Abstand Arabinose (14 % bzw. 11 %) und Glucose (10 % bzw. 13 %).

Der ungewöhnlich große relative Anteil an Galactose in den Abbaugemischen der **uNSP** aus den Lupinenfaserpräparaten bestätigt, dass die löslichen und unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide aus Lupinen bezüglich ihrer Monosaccharid-Zusammen-

setzung relativ ähnlich waren (s. Kap. 4.3.1), denn auch bei den **INSP** machte der relative Anteil an Galactose ca. 70 % aus. Insgesamt lässt die Zusammensetzung der **uNSP** aus den Lupinenfaserpräparaten darauf schließen, dass in diesen große Anteile an Arabinogalactanen und freien Galactanen vorhanden sind. Für diese Galactane haben CHEETHAM et al. eine mögliche Molekularstruktur vorgeschlagen [98]. Danach sind β -(1→4)-verknüpfte langkettige Galactane an die Rhamnosyl-Reste einer Rhamnogalactorunan-Kette gebunden. Eine solche Molekularstruktur konnte anhand der Ergebnisse über die untersuchten **uNSP** nicht bestätigt werden, da in den untersuchten **uNSP**-Fraktionen aus Lupinen mittels HPAE-PED Chromatographie keine Rhamnose nachgewiesen werden konnte.

Die Anwesenheit von Glucose im Zusammenhang mit Xylose (5 % bzw. 4 %) weist, wie schon bei den Markerbsenfaserpräparaten, auf das Vorhandensein von Xyloglucanen bzw. Galacto-Xyloglucanen hin. Resistente Stärke oder andere glucosehaltige Polysaccharide (z. B. β -Glucane) konnten in den **uNSP** der Lupinenfaserpräparate nicht nachgewiesen werden.

Auch bei den **uNSP** der Lupinenfaserpräparate deuteten signifikante Anteile an Galacturonsäure auf das Vorhandensein pektinartiger Bestandteile hin, wenn auch mit 7 % bzw. 5 % in weniger starkem Maße als bei den **uNSP** der Markerbsenfaserpräparate. Da jedoch keine Rhamnose gefunden wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Pektine in Form freier Polygalacturonsäuren vorlagen.

Anhand der Ergebnisse ist festzustellen, dass die Monosaccharid-Zusammensetzung der **uNSP** aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten sehr unterschiedlich war. Deshalb kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass sich die Unterschiede in der Zusammensetzung der **uNSP** zumindest bei den untersuchten Faserpräparaten in deren physikalischen Eigenschaften, d. h. im KWQ, KWB und KWRV widerspiegeln, von denen deren rheologisches Verhalten abhängt.

Der Vollständigkeit halber wurden auch bei den **uNSP** zum Vergleich die entsprechenden Fraktionen aus den Rohstoffen isoliert und mittels HPAE-PED-Chromatographie auf ihre Monosaccharid-Zusammensetzung untersucht. Allerdings wurden hier keine signifikanten Unterschiede erwartet, da nicht anzunehmen war, dass Bestandteile der **uNSP** beim Herstellungsprozess der Faserpräparate verloren gingen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tabellen 23 und Tabelle A4 im Anhang zusammengefasst, die entsprechenden Chromatogramme befinden sich im Anhang (Abb. A25-A28).

Tab. 23. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem enzymatischen und TFE-hydrolytischen Abbau der **uNSP** aus den Rohstoffen (Markerbsen und entfettete White Flakes aus Lupinen).

	Relativer Anteil der Monosaccharide in den uNSP der Rohstoffe [%]			
	Markana	Salout	Lupinus albus (White Flakes)	Lupinus angustifolius (White Flakes)
Monosaccharid	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	1,5	1,9	1,0	1,0
Arabinose	21,2	24,8	14,7	14,6
Rhamnose	1,3	1,5	n.n. ¹⁾	n.n. ¹⁾
Galactose	3,0	3,5	63,8	64,1
Glucose	53,2	49,3	8,8	8,7
Xylose	11,3	10,2	5,0	5,1
Mannose	0,9	1,1	0,5	0,4
Galacturonsäure	7,4	7,5	6,1	6,1
Glucuronsäure	0,2	0,3	0,2	0,2

1) n.n. = nicht nachweisbar

Beim Vergleich dieser Werte mit denen der **uNSP** aus den Faserpräparaten fällt auf, dass im Falle der Markerbsenfaserpräparate der Glucosegehalt in den **uNSP** der Rohstoffe mit 53 % bzw. 49 % ungefähr doppelt so groß war wie in den **uNSP** der Faserpräparate (28 % bzw. 26 %). Dies lässt sich dadurch erklären, dass bei der Isolierung der **uNSP** aus den Rohstoffen auch die Ballaststoffbestandteile der Markerbsenschalen analytisch mit erfasst wurden. Da die Schalen hauptsächlich aus Cellulose und Hemicellulosen bestehen, musste der Glucosegehalt im Hydrolysat der **uNSP**-Fraktionen aus den Rohstoffen viel größer als in den Hydrolysaten der **uNSP** aus den Faserpräparaten sein, da bei deren Herstellungsverfahren die Schalen von den Kotyledonen abgetrennt wurden.

Es ist also davon auszugehen, dass mit Hilfe des enzymatisch sauren Hydrolyseverfahrens zum Abbau der **uNSP** beträchtliche Anteile an Hemicellulosen und evt. auch Cellulose in die entsprechenden Monosaccharide zerlegt wurden. Wird jedoch die Menge an Glucose, die in **uNSP** der Rohstoffe zusätzlich gefunden wurde, unberücksichtigt gelassen, und werden dann die verbleibenden Monosaccharid-Anteile zueinander ins Verhältnis gesetzt, dann wird deutlich, dass

die Monosaccharid-Zusammensetzung in den **uNSP** der Rohstoffe ohne die der Schalen in etwa der Monosaccharid-Zusammensetzung der **uNSP** der Faserpräparate entsprach.

Dieser Zusammenhang ist bei den Lupinenfaserpräparaten direkt gegeben, da als Rohstoffe zu deren Herstellung geschälte und entfettete White Flakes verwendet wurden. Somit können die relativen Anteile der Monosaccharide in den Faserpräparaten direkt mit denen in den Rohstoffen verglichen werden. Wie erwartet entsprachen die relativen Anteile der Monosaccharide in den **uNSP** der White Flakes fast exakt den relativen Anteilen der Monosaccharide in den **uNSP** der entsprechenden Faserpräparate. Somit konnte gezeigt werden, dass nur die Monosaccharid-Zusammensetzung der in den **INSP** der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten vorkommenden Polysaccharide durch die jeweiligen Herstellungsverfahren der Faserpräparate beeinflusst wird, nicht jedoch die der **uNSP**.

Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln die Ergebnisse der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der isolierten Ballaststoff-Fractionen dargestellt wurden, sollen im Folgenden die dabei festgestellten Unterschiede zwischen löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Komponenten der Faserpräparate diskutiert werden.

Bei den beiden Markerbsensorten Markana und Salout war zunächst festzustellen, dass die jeweils gleichen untersuchten Ballaststoff-Fractionen bezüglich ihrer Monosaccharid-Zusammensetzung sehr ähnlich waren. Der einzige signifikante Unterschied, der auf einen Sortenunterschied hindeuten könnte, wurde hier, wie bereits erwähnt, bei der Monosaccharid-Verteilung in den **INSP** bezüglich der Gehalte an Arabinose und Mannose ermittelt. Da ansonsten kein Unterschied zwischen den verschiedenen Markerbsensorten festgestellt werden konnte, sollen in Abbildung 10 die Unterschiede zwischen **INSP** und **uNSP** nur für eine Markerbsensorte beispielhaft graphisch dargestellt werden.

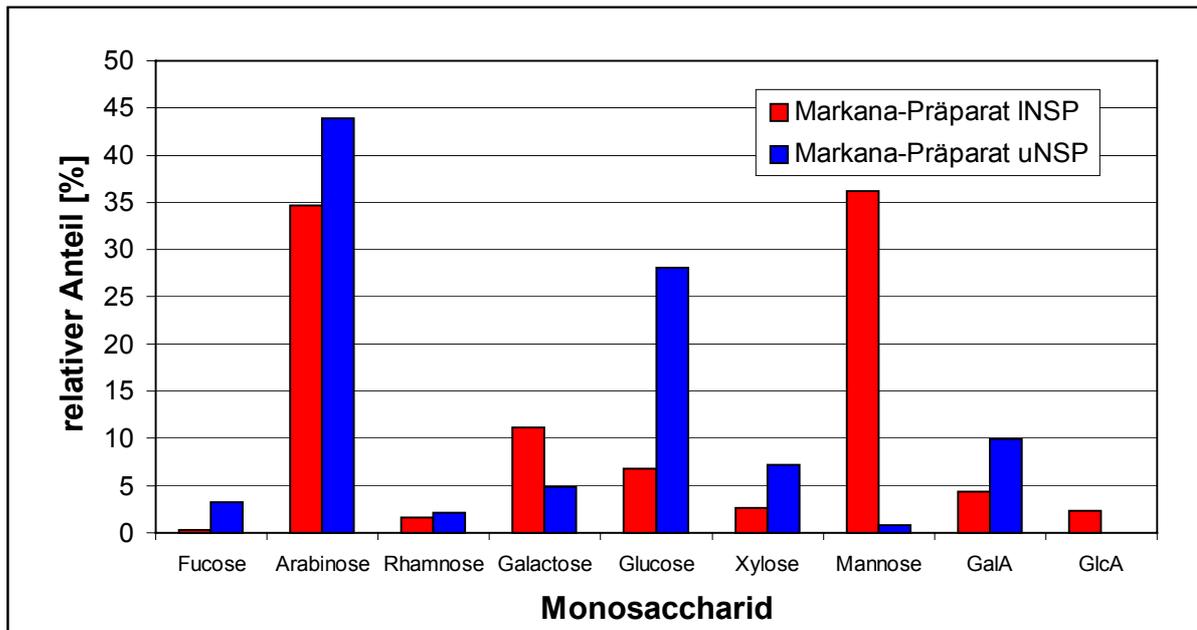


Abb. 10. Vergleich der Monosaccharid-Zusammensetzung der *INSP* und *uNSP* aus dem Markana-Präparat.

Die Abbildung 10 verdeutlicht, dass in den *uNSP* aus den Markerbsenfaserpräparaten Arabinose das dominierende Polysaccharid war. Weiterhin waren hier größere Mengen an Glucose und Xylose vorhanden. Die vermutliche Art und Struktur der daraus gebildeten Polysaccharid-Spezies ist in den vorangegangenen Absätzen bereits diskutiert worden.

In den *INSP* der Markerbsenfaserpräparate dagegen wurde neben der Arabinose auch ein hoher Anteil an Mannose festgestellt. Daneben waren noch geringe Anteile an Galactose, Glucose und Galacturonsäure vorhanden. Dies lässt darauf schließen, dass die *INSP* der Markerbsenfaserpräparate sowohl aus den auch in den *uNSP* vorhandenen arabinosehaltigen Polysacchariden, aber zusätzlich auch aus mannosehaltigen Spezies (möglicherweise Glucomannanen) bestehen. Die Anwesenheit von Pektinen wurde sowohl bei den *INSP* als auch bei den *uNSP* aus den Markerbsenfaserpräparaten durch das Vorhandensein von Rhamnose und Galacturonsäure belegt. Allerdings scheint in den *uNSP* ein höherer Anteil freier Polygalacturonane enthalten zu sein, denn hier ist der Gehalt an Galacturonsäure mit 10 % bzw. 9 % ungefähr doppelt so groß wie bei den *INSP* (4 % bzw. 5 %).

Auch bei den Lupinenfaserpräparaten stellten sich die beiden untersuchten Sorten als sehr ähnlich heraus. Deshalb werden auch hier die Unterschiede zwischen *uNSP* und *INSP* nur für eine der beiden Sorten graphisch dargestellt.

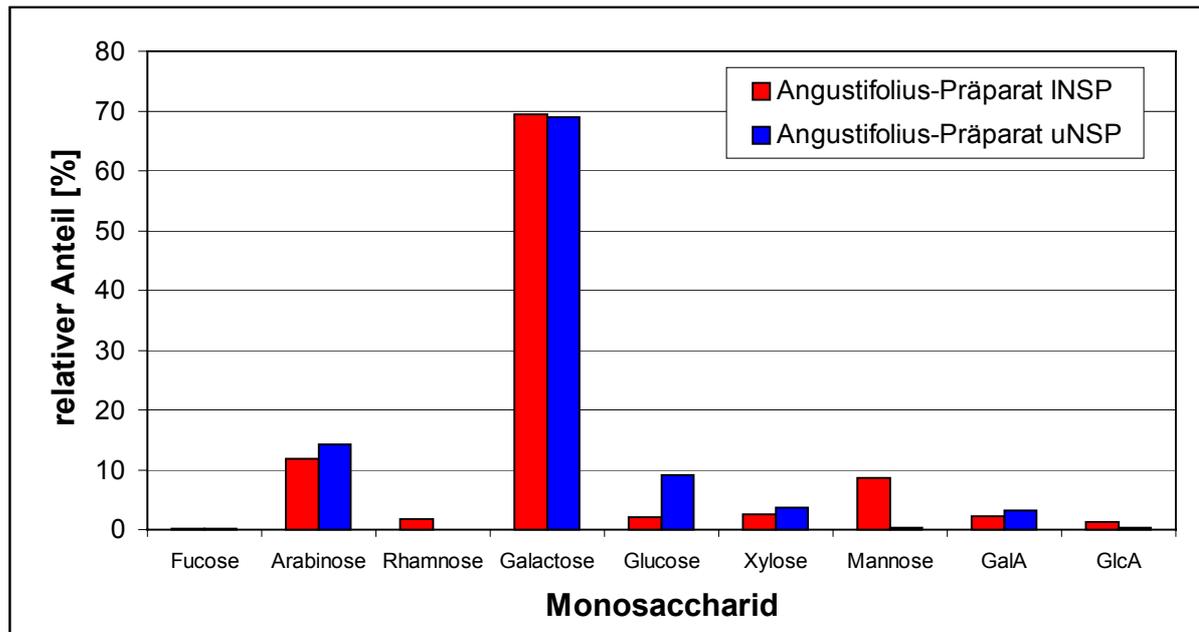


Abb. 11. Vergleich der Monosaccharid-Zusammensetzung der *INSP* und *uNSP* aus dem Angustifolius-Präparat.

Im Gegensatz zu den Markerbsefaserpräparaten waren bei den Lupinenfaserpräparaten die Monosaccharid-Zusammensetzungen der *uNSP* und *INSP* relativ ähnlich. Die jeweiligen Gehalte an Galactose und Arabinose waren annähernd gleich, lediglich der Anteil an Mannose war in den *INSP* größer, während der Glucosegehalt in den *uNSP* größer war. Der größere Gehalt an Mannose in den löslichen Fraktionen lässt sich wahrscheinlich wie bei den Markerbsefaserpräparaten durch die Anwesenheit von Glucomannanen erklären. Die Glucose in den *uNSP* stammte, wie oben erwähnt, aus Galacto-Xyloglucanen. Diese Ergebnisse stimmen prinzipiell mit den Erkenntnissen von DANDANELL und AMAN überein, die die Gesamt-Polysaccharid-Fraktion von Lupinenkotyledonen untersucht hatten [52].

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Polysaccharide der löslichen und unlöslichen Fraktion der Ballaststoffe aus Lupinen offenbar ähnlich aufgebaut sind. Es wird sich deshalb um gleich zusammengesetzte Polysaccharide handeln, deren Löslichkeitsverhalten lediglich durch die Molekülgröße bzw. unterschiedliche starke Vernetzung der Makromoleküle untereinander verursacht wird.

4.3.3 Monosaccharid-Zusammensetzung der Extrakte der sequentiellen Extraktion pektinartiger Polysaccharide und Hemicellulosen

Die sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen erfolgte mit Hilfe chelatisierender Agenzien im präparativen Maßstab in Anlehnung an aus der Literatur bekannte Methoden [39, 65]. Ziel dieser Untersuchungen war es, Aufschluss darüber zu erhalten, wie viel der in den *INSP* und *uNSP* gefundenen Arabinose und Galactose in den Seitenketten des Pektins gebunden ist bzw. welche

Anteile dieser Monosaccharide als freie Arabinane oder Galactane in der Hemicellulose-Fraktion vorliegen.

Aus der Literatur ist bekannt, dass es mit Hilfe verschiedener wässriger Extraktionsmittel möglich ist, pektinartige Polysaccharide und Hemicellulosen sequentiell aus Zellwandmaterialien zu extrahieren. Bei dem von SELVENDRAN und McDOUGALL dafür veröffentlichten Verfahren werden als Extraktionsmittel zunächst heißes Wasser und Ammoniumoxalat-Lösung verwendet, um das relativ leicht lösliche Pektin aus der Sekundärwand der pflanzlichen Zellen sowie pektinartige Galactane und Arabinogalactane zu extrahieren [39]. Anschließend folgt ein Extraktionsschritt mit Natriumchlorit in essigsaurer Lösung, um hochvernetzte pektinartige Polysaccharide zu extrahieren. Dabei werden wahrscheinlich phenolische Etherbindungen aufgelöst [100]. Außerdem gehen bei diesem Extraktionsschritt auch Glycoproteine in Lösung. Im weiteren Verlauf des sequentiellen Extraktionsschemas kommen alkalische Lösungen als Extraktionsmittel zum Einsatz, um schwerer lösliche Polysaccharide aus der Zellwand zu extrahieren. Mit 1-molarer Kaliumhydroxid-Lösung wird dabei zunächst das Pektin aus der Mittellamelle und der Primärwand extrahiert, das teilweise mit Hemicellulosen vergesellschaftet vorliegen kann. In einem letzten Extraktionsschritt werden anschließend mit 4-molarer Kaliumhydroxid-Lösung Hemicellulosen und Xyloglucane in Lösung gebracht.

Tabelle 24 gibt einen Überblick über die verschiedenen Arten von Zellwand-Polysacchariden, die mit den unterschiedlichen Extraktionsmitteln im Verlauf der sequentiellen Extraktion in Lösung gebracht werden können.

Tab. 24. Übersicht über die mit verschiedenen Extraktionsmitteln extrahierbaren Arten von Polysacchariden aus Zellwandmaterialien [39, 65, 100].

Extraktionsmittel	Arten extrahierbarer Polysaccharide
Heißes Wasser	<ul style="list-style-type: none"> • lösliches Pektin aus der Sekundärwand • pektinartige Galactane und Arabinogalactane
NH ₄ -Oxalat-Lösung	<ul style="list-style-type: none"> • lösliches Pektin aus der Sekundärwand • pektinartige Arabinogalactane
NaClO ₂ / Essigsäure	<ul style="list-style-type: none"> • hochvernetzte pektinartige Polysaccharide (Polyphenole) • Glycoproteine
1M KOH	<ul style="list-style-type: none"> • Pektin aus Mittellamelle und Primärwand (z. T. vergesellschaftet mit Hemicellulosen) • pektinartige Galactane • Glycoproteine
4M KOH	<ul style="list-style-type: none"> • Hemicellulosen (z.T. vergesellschaftet mit Cellulose) • Xyloglucane

Die sequentielle Extraktion der **pNSP** und Hemicellulosen wurde gemäß der Beschreibung im Kapitel 3.3.2 durchgeführt.

Da sich in den vorausgegangenen Untersuchungen zur Monosaccharid-Zusammensetzung der Faserpräparate herausgestellt hatte, dass es zwischen den beiden Markerbsenfaserpräparaten und auch den beiden Lupinenfaserpräparaten bezüglich der Monosaccharid-Zusammensetzung keine gravierenden Sortenunterschiede gab, wurde die sehr arbeitsaufwändige sequentielle Extraktion der **pNSP** und Hemicellulosen jeweils nur bei einem Markerbsenfaserpräparat (Markana-Präparat) und einem Lupinenfaserpräparat (Albus-Präparat) durchgeführt. Die dabei erhaltenen Extrakte wurden durch Dialysieren aufgereinigt und anschließend mittels HPAE-PED-Chromatographie auf ihre Monosaccharid-Zusammensetzung untersucht.

Außerdem wurde für jeden Extrakt die Trockenmasse und der Ballaststoffgehalt ermittelt, um die Ausbeuten der einzelnen Extraktionen in Bezug auf ihren Anteil am anfänglich eingesetzten Ballaststoffmaterial zu bestimmen. Die bei den einzelnen Schritten der sequentiellen Extraktion erhaltenen Ausbeuten an Ballaststoffmaterial sind als relative Anteile der insgesamt eingesetzten Masse an Ballaststoff in Tabelle 25 aufgeführt.

Tab. 25. Ausbeuten der bei den einzelnen Extraktionen extrahierten Anteile an Ballaststoffmaterial aus dem Markana-Präparat und dem Albus-Präparat.

Extrakt	Extraktionsmittel	Relativer Anteil des extrahierbaren Ballaststoffmaterials aus den Faserpräparaten [%]	
		Markana-Präparat	Albus-Präparat
BM	Heißes Wasser	2,0	3,5
CH	NH ₄ -Oxalat-Lösung	9,0	4,9
CO	NaClO ₂ / Essigsäure	6,5	12,4
COA(1)	1M KOH	3,8	10,5
COA(2)	4M KOH	6,0	9,2
Rückstand		72,7	59,5

Beim Vergleich der Ergebnisse fällt zunächst auf, dass aus dem Albus-Präparat ein größerer Anteil der insgesamt eingesetzten Ballaststoffmenge mittels sequentieller Extraktion extrahiert werden konnte als aus dem Markana-Präparat. Während der Anteil des insgesamt extrahierbaren Ballaststoffmaterials bei dem Lupinenfaserpräparat 41 % betrug, machte er bei dem Markerbsefaserpräparat nur 27 % aus.

Weiterhin ist festzustellen, dass mit Hilfe der sequentiellen Extraktion offenbar nicht nur die gesamte lösliche Ballaststoff-Fraktion gemäß AOAC-Methode extrahiert wurde, sondern jeweils auch ein Teil der gemäß der AOAC-Methode unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide. Die Differenz zwischen dem Anteil der löslichen Ballaststoffe am Gesamt-Ballaststoffgehalt (s. Kap. 4.1.1) und dem hier extrahierten Anteil der eingesetzten Ballaststoffmenge betrug bei dem Markana-Präparat 9 % und bei dem Albus-Präparat 20 %. Dies macht deutlich, dass bei dem Lupinenfaserpräparat ein weitaus größerer Anteil der nach der AOAC-Methode unlöslichen Ballaststoff-Komponenten mit Hilfe der eingesetzten Extraktionsmittel in Lösung gebracht werden konnte als bei dem Markerbsefaserpräparat.

Werden jedoch die hier erzielten Ausbeuten an extrahiertem Ballaststoffmaterial mit den Ergebnissen der Extraktion von pektinartigen Nichtstärke-Polysacchariden mittels NDF-Lösung (s. Kap. 4.1.3) verglichen, fällt auf, dass mit Hilfe der NDF-Lösung offenbar größere Anteile der **uNSP** extrahiert werden konnten als mit den hier verwendeten Extraktionsmitteln. Der Anteil an insgesamt ND-extrahierbaren

Nichtstärke-Polysacchariden (**ncNSP**) betrug bei dem Markana-Präparat 39 % der Gesamt-Ballaststoffe und bei dem Albus-Präparat 58 %.

Bezüglich der Verteilung des mittels sequentieller Extraktion extrahierten Ballaststoffmaterials auf die einzelnen Extrakte ist festzustellen, dass bei fast allen Extraktionen mehr Nichtstärke-Polysaccharide aus dem Albus-Präparat extrahiert werden konnten als aus dem Markana-Präparat. Lediglich bei der zweiten Extraktion mit Ammoniumoxalat-Lösung wurden 9 % der Ballaststoffe aus dem Markana-Präparat in Lösung gebracht, jedoch nur 5 % der Ballaststoffe aus dem Albus-Präparat. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass die löslichen Pektine und pektinartigen Polysaccharide aus der Sekundärwand der Zellwände von Mark-erbsen- und Lupinenkotyledonen ein unterschiedliches Löslichkeitsverhalten besitzen.

Während bei dem Lupinenfaserpräparat ein größerer Anteil des löslichen Pektins bereits in heißem Wasser in Lösung ging, konnte dies bei dem Markerbnsenfaserpräparat erst mit Ammoniumoxalat-Lösung extrahiert werden. Dies ist wahrscheinlich auf einen unterschiedlichen Molekülaufbau der Pektine aus der Sekundärwand zurückzuführen. Vermutlich sind die in den Sekundärwänden von Markerbnsenkotyledonen enthaltenen Pektine und pektinartigen Substanzen stärker miteinander vernetzt oder haben eine höhere Molekülmasse als die aus den Sekundärwänden von Lupinenkotyledonen und sind deshalb schwerer löslich.

Eine Betrachtung der Ausbeuten der **Extrakte COA(1)**, die wie bereits erwähnt den Anteil des Pektins aus der Mittellamelle und der Primärwand der pflanzlichen Zellen enthalten, macht allerdings deutlich, dass es sich hier genau umgekehrt verhielt. Es wurde nämlich aus dem Albus-Präparat mit 11 % mehr als doppelt soviel des Ausgangsmaterials extrahiert als aus dem Markana-Präparat (4 %). Offenbar stammte also ein großer Anteil der **pNSP** aus dem Lupinenfaserpräparat aus der Mittellamelle und Primärwand.

Wie bereits erwähnt, wurde die Monosaccharid-Zusammensetzung der einzelnen Extrakte mittels HPAE-PED-Chromatographie untersucht, um Aufschluss darüber zu erhalten, welche Arten von Polysacchariden mit Hilfe der einzelnen Extraktionen in Lösung gebracht werden konnten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tabellen 26 und 27 als relative Anteile der Monosaccharide in den Abbau-gemischen der Pektinextrakte aus den beiden untersuchten Faserpräparaten dargestellt. Die entsprechenden Chromatogramme befinden sich im Anhang (Abb. A29-A38).

Tab. 26. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem enzymatischen und TFE-hydrolytischen Abbau der Pektinextrakte aus dem Markana-Präparat.

Monosaccharid	Relativer Anteil der Monosaccharide in den Pektinextrakten des Markana-Präparates				
	Extrakt BM	Extrakt CH	Extrakt CO	Extrakt COA(1)	Extrakt COA(2)
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	0,8	1,1	2,9	0,8	2,6
Arabinose	14,7	33,8	68,3	20,1	56,2
Rhamnose	n. n. ¹⁾	0,6	1,0	0,2	0,4
Galactose	4,9	5,4	4,2	2,4	5,6
Glucose	76,4	10,9	6,6	68,2	17,2
Xylose	1,0	5,7	5,7	4,9	9,2
Mannose	0,5	0,2	0,3	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galacturonsäure	1,7	42,3	8,6	3,5	8,8
Glucuronsäure	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾

1) n. n. = nicht nachweisbar

Zu den Ergebnissen der Monosaccharid-Zusammensetzung des **Extraktes BM** aus dem Markana-Präparat ist zunächst anzumerken, dass der sehr große Glucosegehalt in diesem Extrakt wahrscheinlich hauptsächlich auf Stärke zurückzuführen ist. Da in diesem Faserpräparat noch 7,9 % Stärke enthalten war, muss vermutet werden, dass durch die Behandlung mit heißem Wasser und Citronensäure ein großer Teil an Stärke gelöst wurde und deshalb in das Extraktionsmittel überging. Da sich jedoch nicht genau nachvollziehen ließ, wie viel der in diesem Extrakt gefundenen Glucose aus Stärke stammte, konnten die relativen Anteile der anderen Monosaccharide auch nicht genau bestimmt werden. Es kann lediglich gesagt werden, dass der **Extrakt BM** aus dem Markana-Präparat große Anteile an Arabinose und Galactose enthielt.

An der Monosaccharid-Zusammensetzung des **Extraktes CH** aus dem Markerbsenfaserpräparat fiel zunächst der sehr große Galacturonsäuregehalt (42,3 %) auf. Wird davon ausgegangen, dass sich in diesem Extrakt die löslichen Pektine und pektin-

artigen Polysaccharide aus der Sekundärwand der Markersenzellen befanden, bedeutet dieses Ergebnis, dass diese Sekundärwände zu einem sehr großen Teil aus reiner Polygalacturonsäure bestanden. Der ebenfalls große Gehalt an Arabinose (33,8 %) in diesem Extrakt weist außerdem darauf hin, dass in der Sekundärwand pektinartige Arabinane entweder frei oder als Seitenketten der Polygalacturonsäure vorkamen.

Im Gegensatz dazu wurde in dem **Extrakt CO** aus dem Markana-Präparat ein weitaus kleinerer Gehalt an Galacturonsäure ermittelt, dafür aber mit 68 % ein großer Gehalt an Arabinose. Da sich laut Literatur in dem **Extrakt CO** die hochverzweigten pektinartigen Polysaccharide befinden, muss entsprechend die hochverzweigte Pektinfraktion des Markana-Präparates zu 68 % aus Arabinose bestehen, die vermutlich in Form von stark verzweigten Seitenketten der Polygalacturonsäure vorliegt, die hier einen Anteil von 9 % ausmacht.

An der Monosaccharid-Zusammensetzung des **Extraktes COA(1)** aus dem Markersenfaserpräparat fiel wiederum ein sehr großer Glucosegehalt auf. Hier stellt sich die Frage, ob durch die Verwendung eines alkalischen Extraktionsmittels (1M KOH) ein weiterer Teil der in dem Präparat enthaltenen Stärke in Lösung gegangen war, oder ob die gefundene Glucose aus hemicelluloseartigen Nichtstärke-Polysacchariden stammte, die in Vergesellschaftung mit dem Pektin aus der Mittellamelle und der Primärwand vorlag. Die Anteile an Galacturonsäure und Arabinose waren in diesem Extrakt niedriger als in den vorangegangenen.

Der **Extrakt COA(2)** enthält laut Literatur Hemicellulosen und Xyloglucane. Es ist also davon auszugehen, dass die hier ermittelten Anteile an Glucose (17 %) und Xylose (9 %) aus Xyloglucanen stammten. Weiterhin wurde auch in diesem Extrakt ein großer Arabinosegehalt gefunden. Dies bedeutet, dass bei dem Markana-Präparat die Arabinose nicht nur zu großen Anteilen innerhalb der Pektinfraktion vorkam, sondern auch in der Fraktion der Hemicellulosen. Dort lag sie wahrscheinlich in Form von freien Arabinanen oder Arabinoxylanen vor.

Tab. 27. Relative Anteile der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem enzymatischen und TFE-hydrolytischen Abbau der Pektinextrakte aus dem Albus-Präparat.

Monosaccharid	Relativer Anteil der Monosaccharide in den Pektinextrakten des Albus-Präparates				
	Extrakt BM	Extrakt CH	Extrakt CO	Extrakt COA(1)	Extrakt COA(2)
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
Fucose	0,9	0,3	0,7	0,3	0,2
Arabinose	11,3	17,0	15,9	14,6	19,7
Rhamnose	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galactose	74,0	66,3	75,7	72,9	62,5
Glucose	4,7	0,2	2,9	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Xylose	3,1	5,1	3,3	5,3	7,8
Mannose	1,0	n. n. ¹⁾	0,7	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galacturonsäure	5,0	11,3	0,9	7,0	9,8
Glucuronsäure	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾

1) n. n. = nicht nachweisbar

Im Falle des Albus-Präparates war die Auswertung der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Pektinextrakte weniger problematisch, da hier davon ausgegangen werden konnte, dass die gefundenen Monosaccharide ausschließlich aus den in den Kotedonen der Lupine enthaltenen Nichtstärke-Polysacchariden stammten. Im Gegensatz zu den Extrakten aus dem Markana-Präparat fällt bei dem Albus-Präparat auf, dass die Monosaccharid-Zusammensetzung der verschiedenen Pektinextrakte hier relativ ähnlich war. In allen fünf Extrakten war die Galactose mit 63-76 % das vorherrschende Monosaccharid. An zweiter Stelle folgte jeweils die Arabinose mit 11-20 %. Der größte Anteil an Galacturonsäure wurde mit 11 % in dem **Extrakt CH** ermittelt. Dies bedeutet, dass in diesem Extrakt ein relativ großer Anteil an Pektin in Form von Polygalacturonsäure vorlag, jedoch bei weitem nicht so viel wie in dem entsprechenden Extrakt aus dem Markana-Präparat. Offenbar enthielten die Sekundärwände der Lupinenzellen weniger reines Pektin (Polygalacturonan) als die der Markerbzellen, dafür aber sehr viel pektinartige Galactane, die entweder frei oder als Seitenketten der Polygalacturonsäure vorlagen.

Die Monosaccharid-Zusammensetzung des **Extraktes COA(1)** gibt Auskunft über die Bestandteile der Pektine aus der Mittellamelle und Primärwand. Hier war festzustellen, dass der Anteil an Galacturonsäure mit 7 % kleiner war als im **Extrakt CH**, der Anteil an Galactose mit 73 % gegenüber 66 % dagegen etwas größer. Insgesamt ließ sich jedoch feststellen, dass die Monosaccharid-Zusammensetzungen der **Extrakte CH** und **COA(1)** trotzdem relativ ähnlich waren.

Am **Extrakt COA(2)** aus dem Albus-Präparat fiel auf, dass die Anteile an Arabinose und Xylose im Vergleich mit den anderen Extrakten leicht erhöht waren. Dies deutet darauf hin, dass auch in der Hemicellulose-Fraktion der Lupinenfasern Arabinoxylane enthalten sind. Trotzdem machten auch hier die Galactane mit 63 % den Hauptanteil aus.

Insgesamt stimmen die erzielten Ergebnisse mit den Resultaten der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der **INSP**- und **uNSP**-Fraktionen der Lupinenfaserpräparate überein und lassen erkennen, dass die in den Kotyledonen von Lupinen vorkommenden Nichtstärke-Polysaccharide eine relativ einheitliche Monosaccharid-Zusammensetzung besaßen. Es ist davon auszugehen, dass das unterschiedliche Löslichkeitsverhalten der in den verschiedenen Extrakten enthaltenen Polysaccharide entweder auf eine unterschiedlich starke Verzweigung der Polymere oder auf unterschiedliche Molekülgrößen zurückzuführen ist.

Im Gegensatz dazu besaßen die Polysaccharide der verschiedenen Extrakte aus dem Markana-Präparat unterschiedliche Monosaccharid-Zusammensetzungen, d. h. es handelte sich hier um chemisch unterschiedliche Polymer-Spezies. Die Unterschiede bezüglich der Löslichkeit der einzelnen Polysaccharid-Fraktionen sind deshalb darauf zurückzuführen, dass es sich um chemisch verschiedene Substanzen handelte. Selbstverständlich können daneben auch unterschiedliche Molekülgrößen oder verschieden starke Verzweigungen einen Effekt auf das Löslichkeitsverhalten der in den verschiedenen Extrakten enthaltenen Polysaccharide gehabt haben.

Abschließend ist festzustellen, dass mit den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zur sequentiellen Extraktion pektinartiger Polysaccharide und Hemicellulosen aus den beiden untersuchten Präparaten nur relativ geringe Anteile der insgesamt eingesetzten Ballaststoffmenge extrahiert werden konnten. Der in den Extraktionsrückständen verbliebene unlösliche Anteil war mit 73 % bei dem Markana-Präparat und 59 % bei dem Albus-Präparat jeweils sehr groß. Zum Vergleich sei hier erwähnt, dass bei Untersuchungen von SELVENDRAN et al. an Zellwandmaterialien aus Kartoffeln der Anteil des unlöslichen Rückstandes nach der sequentiellen Extraktion nur 32 % betrug [39].

Möglicherweise liegt die Ursache für den großen Anteil der mit Hilfe der eingesetzten Extraktionsmittel nicht extrahierbaren Ballaststoffe in der Art und Weise, wie die untersuchten Faserpräparate hergestellt worden waren. Im Gegensatz zu den in der

Literatur erwähnten Methoden zur Präparation der Faserpräparate im Labormaßstab wurden die im Rahmen dieser Forschungsarbeit untersuchten Präparate im halbtechnischen Maßstab in Anlehnung an industrielle Verfahren zur Verarbeitung von Markerbsen bzw. Lupinen gewonnen (s. Kap. 3.1.2 und 3.2). Aus diesem Grund war eine schonende Behandlung der Zellwandmaterialien z. B. durch Gefrier-trocknung nicht möglich. Es ist also vorstellbar, dass die in den untersuchten Präparaten enthaltenen Polysaccharide durch die Trocknung im Umlufttrockenschrank beispielsweise aufgrund von Verhärtungen nicht mehr in ihrer nativen Form, sondern in einer für die verwendeten Extraktionsmittel nicht zugänglichen, unlöslichen Form vorlagen. Außerdem war ein gewisser Anteil der löslichen Ballaststoff-Fraktion bereits bei der Herstellung der Präparate durch Auswaschen verloren gegangen (s. Kap. 4.3.1). Auch dieser Umstand reduzierte natürlich den Anteil der extrahierbaren Nichtstärke-Polysaccharide.

4.4 Untersuchung der Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen der löslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HP-SEC/MALLS-Chromatographie

Im Rahmen dieser Arbeit war es vorgesehen, die Molekulargewichte der präparativ isolierten Polysaccharid-Fractionen der verschiedenen Faserpräparate mittels HP-SEC/MALLS Chromatographie zu untersuchen. Als Voraussetzung für eine Trennung und Detektion der Moleküle mit Hilfe dieser Analysetechnik ist es notwendig, dass das Probenmaterial vollständig gelöst und in so hoher Verdünnung vorliegt, dass die Moleküle sich nicht gegenseitig beeinflussen. Dies stellte im Falle der unlöslichen Ballaststoff-Fractionen ein Problem dar, weil unklar war, in welchem Lösungsmittel diese unlöslichen Polysaccharide unbekannter Spezies in Lösung gebracht werden können. Vorversuche mit verschiedenen Salzlösungen, Alkoholen (Methanol, Ethanol, Isopropanol), Acetonitril und Dimethylsulfoxid (DMSO) hatten nicht zum Erfolg geführt. Eine Literaturrecherche zu diesem Thema hatte ergeben, dass es TIMPA gelungen war, mit Hilfe von Dimethylacetamid/Lithiumchlorid Cellulose verschiedener Herkunft in Lösung zu bringen, ohne dabei die Polysaccharid-Makromoleküle abzubauen [101]. Deshalb wurden in Anlehnung an das zitierte Verfahren Versuche durchgeführt, um festzustellen, ob dieses Lösungsmittel auch für die hier zu untersuchenden unlöslichen Polysaccharide geeignet ist. Zu Vergleichszwecken wurde als Probematerial jeweils eine **uNSP**-Fraktion aus einem Markerbsenfaserpräparat und eine **uNSP**-Fraktion aus einem Lupinenfaserpräparat verwendet. Daneben wurde auch eine Weizenfaser (WF 2000, Rettenmaier) getestet, die zu 97 % aus Cellulose besteht und somit als Referenzsubstanz diente.

Zur Durchführung der Versuche wurden jeweils ca. 0,05 g Probenmaterial in 5 ml Dimethylacetamid (DMAC) suspendiert, in einem Ölbad unter Rühren auf 150 °C erhitzt und 2 h bei dieser Temperatur gehalten. Nach dem Abkühlen auf 100 °C wurde unter weiterem Rühren 0,4 g getrocknetes LiCl dazugegeben. Danach wurden

die Suspensionen auf 50 °C abgekühlt und weitere 48 h unter Rühren bei dieser Temperatur gehalten. Nach dieser Behandlung hätte sich sämtliches Probenmaterial in Lösung befinden sollen. In der Praxis war dies jedoch nur bei der Referenzsubstanz, der Weizenfaser WF 2000, der Fall. Bei den beiden anderen Proben setzte sich nach einer kurzen Standzeit ein Niederschlag ab. Nach dem Zentrifugieren der Proben und Trocknen der Niederschläge stellte sich heraus, dass auch ein geringer Anteil des Probenmaterials der **uNSP**-Fraktionen aus den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten in dem Lösungsmittel in Lösung gegangen war. Es war anzunehmen, dass durch die Behandlung mit DMAC/LiCl die celluloseartigen Bestandteile der untersuchten **uNSP**-Fraktionen in Lösung gebracht werden konnten, während sich anders zusammengesetzte Polysaccharide nicht gelöst hatten. Aus diesem Grund wurde anschließend versucht, den in DMAC/LiCl nicht löslichen Rückstand in einem anderen Lösungsmittel, z. B. DMSO, aufzulösen. Da diese Versuche jedoch keinen Erfolg zeigten, wurde beschlossen, keine weiteren Versuche zu dieser Thematik durchzuführen, da die Aussichten auf eine erfolgreiche Bearbeitung dieses Teilaspektes des Forschungsprojektes zu gering waren, um einen weiteren zeitlichen und finanziellen Aufwand zu rechtfertigen. Aus diesen Gründen wurde auf eine Untersuchung der Molekulargewichte der isolierten **uNSP**-Fraktionen im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

Die Untersuchung der **INSP**-Fraktionen mittels HP-SEC/MALLS Chromatographie stellte bezüglich der Probenvorbereitung kein Problem dar, weil das Probenmaterial in dem für die HP-SEC verwendeten Elutionsmittel (0,1 m NaNO₃ Lsg. mit 0,02 % NaN₃) unter Erwärmen gelöst werden konnte. Die Vorgehensweise zur Probenvorbereitung ist im Kapitel 3.4.16.1 beschrieben. Alle Analysen wurden als Doppelbestimmungen bei einer Flussrate von 0,3 ml/min und bei Raumtemperatur durchgeführt.

Die Abbildungen 12 und 13 enthalten die dabei ermittelten Elutionsprofile der Präparate Markana **INSP** und Salout **INSP**. Dabei handelt es sich bei den oberen, roten Elutionsprofilen um die Chromatogramme des Lichtstredetektors und bei den unteren, blau dargestellten um die Signale des RI-Detektors.

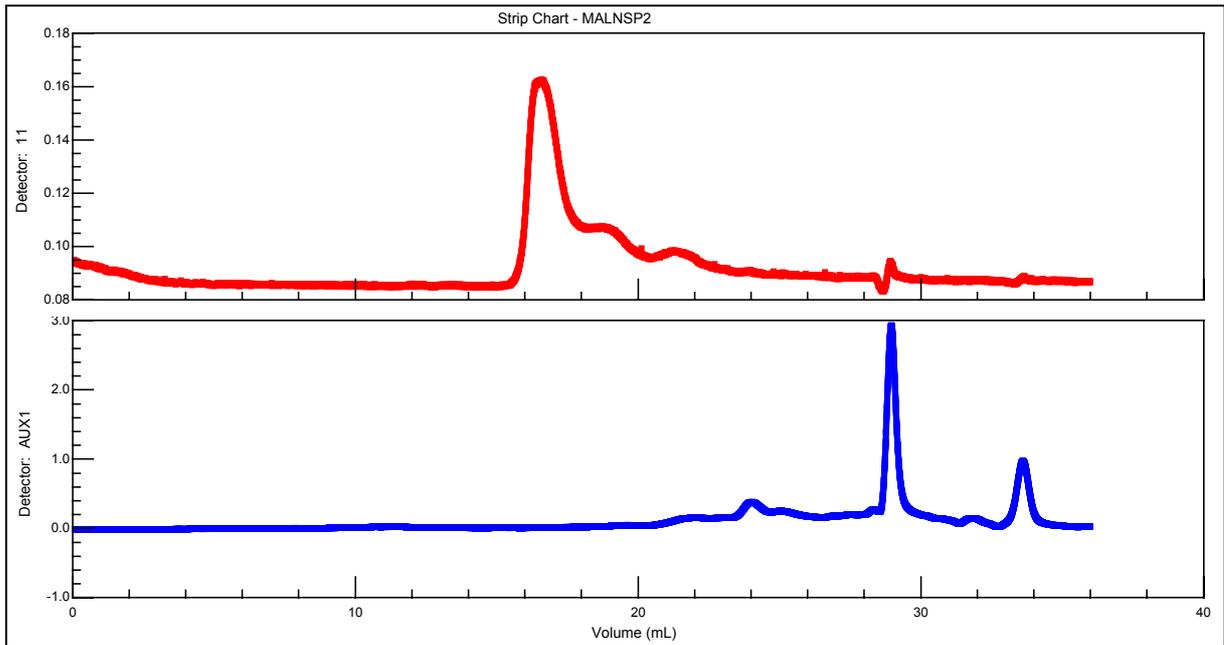


Abb. 12. HP-SEC-Elutionsprofile der Probe Markana *INSP*.

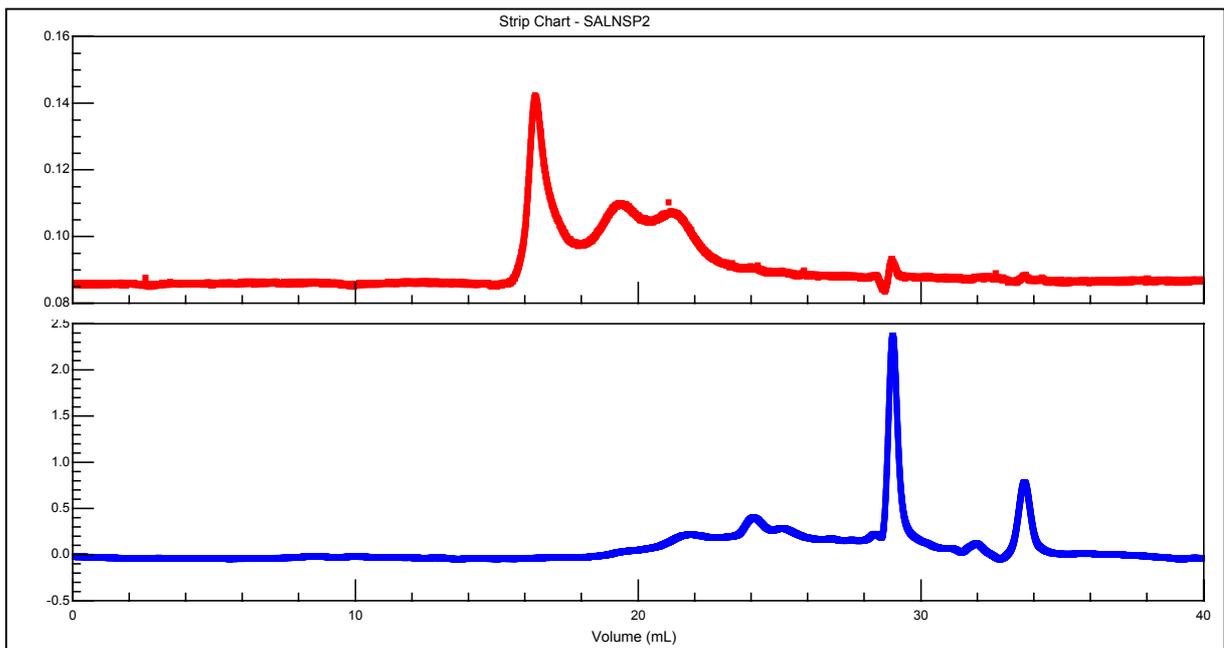


Abb. 13. HP-SEC-Elutionsprofile der Probe Salout *INSP*.

Es ist davon auszugehen, dass nur die im Lichtstreuochromatogramm (rot) sichtbaren großen Peaks mit den drei Maxima die Polysaccharidfraktionen der Proben darstellen. Die später detektierten Peaks im Chromatogramm des RI-Detektors (blau) wurden vermutlich durch Salzreste und andere niedermolekulare Verunreinigungen in den Präparaten verursacht, da sie vom Lichtstredetektor nicht angezeigt wurden. Sie wurden deshalb nur zur Überprüfung der Wiederfindung des Probenmaterials mit in die Auswertung einbezogen, jedoch nicht zur Ermittlung der mittleren Molekulargewichte.

Die Überprüfung der Wiederfindungsrate der Probenmasse nach der Trennung mittels HP-SEC diente zur Kontrolle der Funktionsfähigkeit des Systems. Dazu wurde die jeweils von der ASTRA-Software errechnete eluierte Probenmasse ins Verhältnis zur injizierten Probenmasse gesetzt. In Tabelle 28 sind die aufgegebene sowie die errechnete Probenmasse und die daraus resultierende Wiederfindungsrate für verschiedene Standardsubstanzen (Natrium-Polystyrensulphonate) und die untersuchten Proben dargestellt. Die hohen Wiederfindungsraten (> 93 %) zeigen, dass das HP-SEC/MALLS-System für die Trennung der zu untersuchenden Proben geeignet war.

Tab. 28. Wiederfindung der Masse der mittels HP-SEC/MALLS untersuchten Proben und Standardsubstanzen.

Probe	aufgegebene Probenmasse [g]	errechnete Probenmasse [g]	Wiederfindungsrate [%]
Sodium Polystyrene Sulphonate 8.000	$4,579 \times 10^{-4}$	$4,278 \times 10^{-4}$	93,4
Sodium Polystyrene Sulphonate 35.000	$2,890 \times 10^{-4}$	$3,066 \times 10^{-4}$	106,1
Sodium Polystyrene Sulphonate 200.000	$1,363 \times 10^{-4}$	$1,315 \times 10^{-4}$	96,5
Markana INSP	$5,308 \times 10^{-4}$	$5,047 \times 10^{-4}$	95,1
Salout INSP	$7,762 \times 10^{-4}$	$7,372 \times 10^{-4}$	95,0
Albus INSP	$6,567 \times 10^{-4}$	$6,443 \times 10^{-4}$	98,1
Angustifolius INSP	$5,921 \times 10^{-4}$	$5,673 \times 10^{-4}$	95,8

Anhand der Form der Peaks aus den Abbildungen 12 und 13 war zu erkennen, dass die Polysaccharid-Fractionen der **INSP** aus den beiden Markerbsenfaserpräparaten bezüglich ihres Molekulargewichts offenbar aus drei verschiedenen Anteilen zusammengesetzt waren, die durch die drei Peakmaxima dargestellt wurden. Dies war bei der Probe Salout **INSP** besonders deutlich zu sehen. Da die Peaks nicht bis zur Basislinie getrennt waren, war es nicht sinnvoll, die einzelnen Peakmaxima separat auszuwerten. Es kann jedoch rein qualitativ gesagt werden, dass die **INSP** der Markerbsenfaserpräparate vermutlich aus drei verschiedenen Polysaccharid-Spezies mit unterschiedlichen mittleren Molekulargewichten bestehen.

Bei der Untersuchung der **INSP** aus den beiden Lupinenfaserpräparaten mittels HP-SEC/MALLS stellte sich heraus, dass die darin vorhandenen Polysaccharide, im Gegensatz zu den entsprechenden Präparaten aus Markerbsen, offenbar relativ homogen aufgebaut waren. In den Lichtstreuochromatogrammen wurde nämlich jeweils nur ein großer Peak detektiert. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Resultaten der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der **INSP** aus Lupinenkotyledonen, bei der festgestellt worden war, dass die darin vorhandenen Polysaccharide fast ausschließlich aus Galactanen und einem geringen Anteil an Glucomananen best. In den Abbildungen 14 und 15 sind die HP-SEC-Elutionsprofile der **INSP** aus den untersuchten Lupinenfaserpräparaten dargestellt.

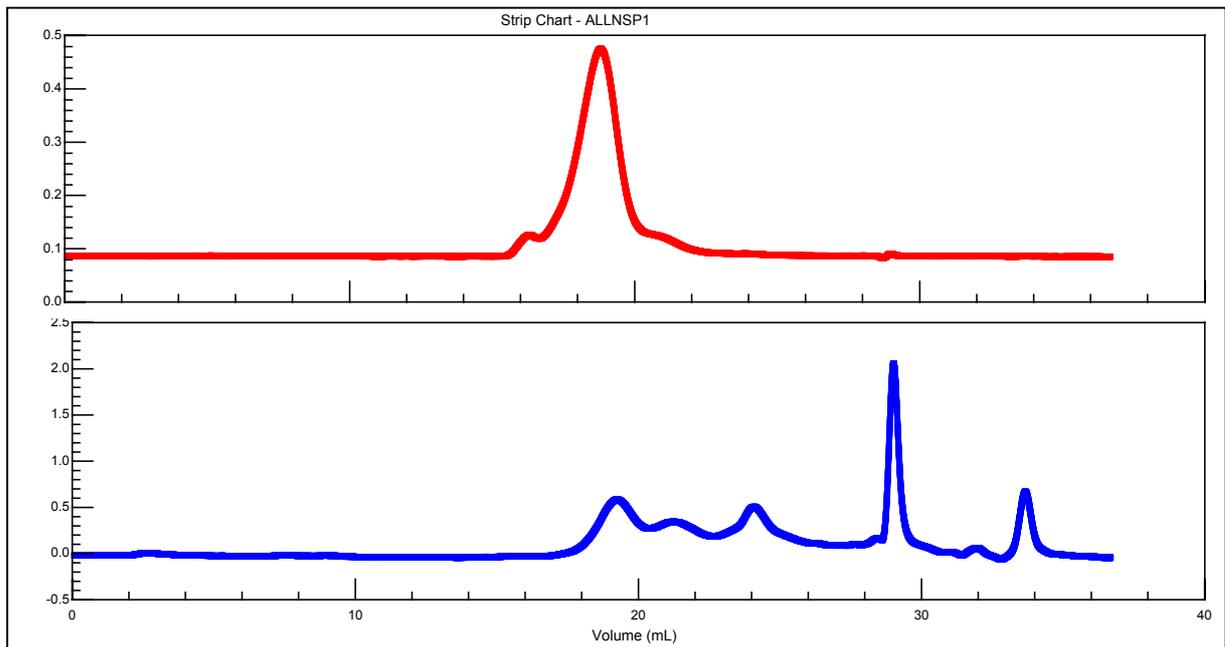


Abb. 14. HP-SEC-Elutionsprofile der Probe Albus **INSP**.

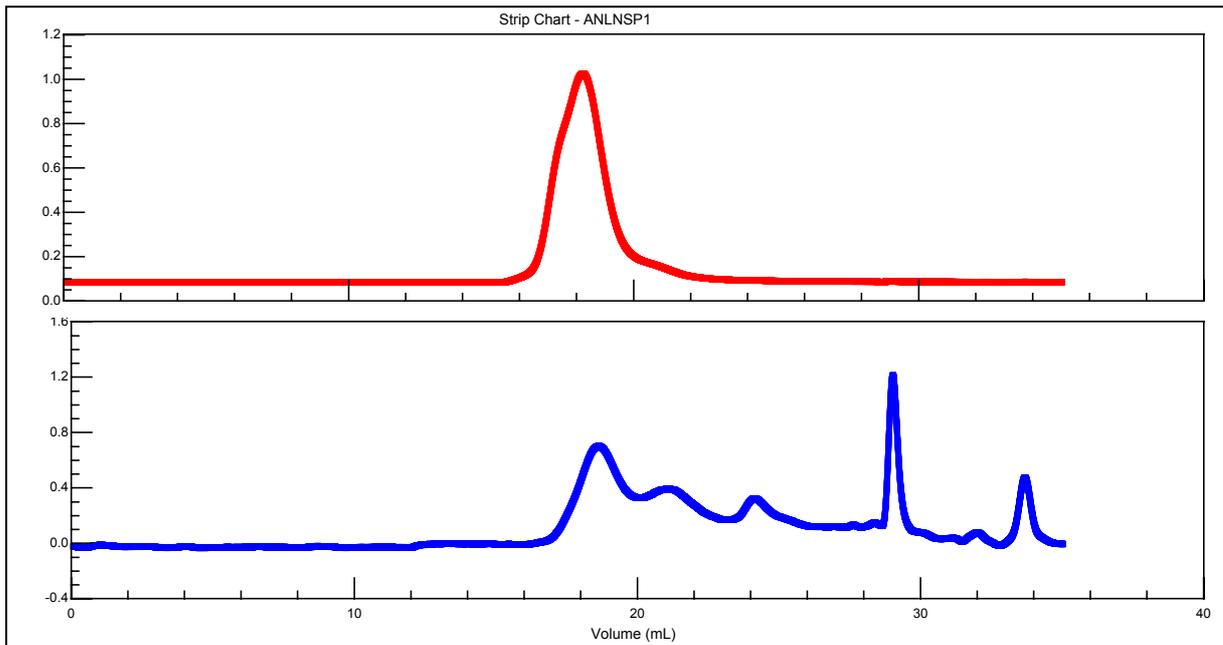


Abb. 15. HP-SEC-Elutionsprofile der Probe Angustifolius *INSP*.

Mit Hilfe der Software ASTRA for Windows 4.70 wurden nach manueller Festlegung einer Basislinie und des Peakbereichs aus den Messdaten des MALLS- und des RI-Detektors verschiedene Mittelwerte für die Molekulargewichte der untersuchten Proben errechnet. Dies sind der Zahlenmittelwert (M_n), der Gewichtsmittelwert (M_w) und der z-Mittelwert (M_z) einer Probe. Für die Berechnung der Molekulargewichte wurde im Auswerteprogramm die Auswertemethode „Zimm“, erster Ordnung unter der Option der 100 %igen Massewiederfindung angewendet. Die Berechnung erfolgte unter Einbeziehung der Streulichtdetektoren Nr. 6-16. Die Methode „Zimm“ wurde gewählt, da sie für relativ kleine Moleküle mit einem hydrodynamischen Radius unter 80 nm die genauesten Ergebnisse liefert. Als Brechungsindexinkrement (dn/dc) wurde auf Anraten der Firma Wyatt Technology der Wert 0,146 eingesetzt, der als allgemein anwendbar für ballaststoffartige Polysaccharide gilt. Das Brechungsindexinkrement muss eigentlich für jede einzelne Polysaccharid-Spezies experimentell bestimmt werden. Dies war jedoch für diese Problemstellung nicht möglich, da es für die in den *INSP* vorkommenden Polysaccharid-Arten keine Standard-Substanzen gibt und diese sich auch nicht präparativ voneinander trennen ließen. Es muss deshalb darauf hingewiesen werden, dass die berechneten Ergebnisse keine absoluten Werte für die Molekulargewichte der untersuchten Polysaccharide darstellen. Da es sich jedoch um ähnliche Moleküle handelt, können die Ergebnisse zumindest für einen Vergleich der Molekulargewichte der untersuchten Proben untereinander herangezogen werden.

Die Polydispersität einer Probe wird aus dem Quotienten des Gewichtsmittelwertes des Molekulargewichts (M_w) und des Zahlenmittelwertes des Molekulargewichts (M_n) errechnet und kann somit als ein Maß für die Heterogenität einer Probe herangezogen werden.

Tabelle 29 zeigt die von der Software berechneten numerischen (M_n), gewichteten (M_w) und die z-Mittel (M_z) des Molekulargewichts sowie die Polydispersitäten für die untersuchten **INSP**-Fraktionen.

Tab. 29. Ermittelte mittlere Molekulargewichte und Polydispersitäten der **INSP**-Fraktionen.

Probe	Molekulargewicht [x 10 ⁶ Dalton]			Polydispersität [-]
	Zahlenmittel (M_n)	Gewichtsmittel (M_w)	z-Mittel (M_z)	M_w / M_n
Markana INSP	0,44	3,95	27,21	7,89
Salout INSP	0,32	1,11	12,09	3,47
Albus INSP	0,73	1,95	9,84	2,67
Angustifolius INSP	0,78	1,97	8,38	2,53

Die Ergebnisse zeigen, dass die aus den Messdaten berechneten Gewichtsmittelwerte sowie auch die Polydispersitäten für die beiden **INSP**-Proben aus den Lupinenfaserpräparaten sehr ähnlich waren. Zwischen **INSP**-Fraktionen aus den Markerbsenfaserpräparaten dagegen waren deutliche Unterschiede zu erkennen. Das Gewichtsmittel M_w war bei den löslichen Ballaststoffen aus dem Markana-Präparat mit $3,95 \times 10^6$ Dalton fast viermal so groß wie bei den löslichen Ballaststoffen aus dem Salout-Präparat ($1,11 \times 10^6$ Dalton).

Zusammenfassend lässt sich anhand der Ergebnisse feststellen, dass die Moleküle der **INSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten einen sehr breiten Molekulargewichtsbereich abdeckten, während die **INSP**-Moleküle aus den Lupinenfaserpräparaten enger verteilt waren. Insgesamt bedeuten Polydispersitätswerte > 2 trotzdem, dass die Molekülgrößen innerhalb einer Probe stark variieren. Dies war jedoch auch erwartet worden, da es sich bei den untersuchten Proben um Naturprodukte handelt, die sich aus einem Gemisch verschiedenartiger Polysaccharide zusammensetzen.

4.5 Identifizierung und Quantifizierung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren in den unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels HPLC mit UV-Detektion

Phenolische Carbonsäuren (PCS) und Aldehyde stellen unter den Ballaststoffbestandteilen mengenmäßig nur eine Minorkomponente dar, nehmen jedoch im pflanzlichen Stoffwechsel eine zentrale Rolle ein [35, 36]. Sie sind Produkte des allgemeinen Phenylpropan-Stoffwechsels und werden auch als „Zimtsäuren“ bezeichnet. Aus der Literatur ist bekannt, dass einige PCS aufgrund ihrer Eigenschaft, Quervernetzungen zwischen Polysaccharid-Molekülen auszubilden, großen Einfluss auf die physiko-chemischen Eigenschaften von Ballaststoffkomponenten haben. Bereits durch Ausbildung weniger Polysaccharid-Crosslinks kann z. B. das Molekulargewicht um ein Vielfaches erhöht werden. Dies wiederum kann die wasserbindenden und rheologischen Eigenschaften von Faserpräparaten in entscheidendem Maße beeinflussen.

Das Vorhandensein von PCS wurde bislang hauptsächlich an Zellwänden von Gräsern (Gramineen) untersucht. Diesbezüglich ist schon lange bekannt, dass in den pflanzlichen Zellwänden, vor allem von Getreidekleien, größere Mengen an Ferulasäure (FS) zu finden sind [102]. Von HARTLEY und FORD konnte nachgewiesen werden, dass die FS hier über eine Esterbindung mit den Zellwandpolymeren verbunden ist [103]. Weiterhin lässt sich anhand der bisher gesammelten Strukturinformationen aus der Literatur erkennen, dass in monokotylen Pflanzen, wie z. B. Gräsern, die PCS hauptsächlich an bestimmte Fraktionen der Hemicellulosen, nämlich Arabinoxylane und Xyloglucane, gebunden sind.

In bisher durchgeführten Untersuchungen an löslichen und unlöslichen Getreideballaststoffen wurde die *trans*-Ferulasäure als dominierende phenolische Carbonsäure bestimmt. Aufgrund der Bifunktionalität der Ferulasäure (Carboxyl- und phenolische Hydroxylgruppe) bieten sich verschiedene chemische Mechanismen an, Polysaccharid-Ketten durch eine Dimerisierung der Phenolcarbonsäuren miteinander zu koppeln. Als wahrscheinlichster Mechanismus diesbezüglich gilt die Bildung von Polysaccharid-Crosslinks durch die Verknüpfung zweier PCS über eine Esterbindung.

Die neuere Literatur belegt, dass auch in den Zellwänden dikotyler Pflanzen, zu denen die Leguminosen gehören, phenolische Carbonsäuren zu finden sind [104, 105]. SAULNIER und THIBAUT ermittelten estergebundene Ferulasäure beispielsweise in den Zellwandpolysacchariden der Zuckerrübe [104]. Im Gegensatz zu Getreide ist die FS in der Zuckerrübe jedoch nicht an Arabinoxylane oder Xyloglucane gebunden, sondern an pektinartige Polysaccharide. Die Primärwände der Zellen der Zuckerrübe sind reich an Pektin und ähneln in Bezug auf ihre Monosaccharid-Zusammensetzung den innerhalb dieser Arbeit untersuchten Faserpräparaten. Aus diesem Grund lag die Vermutung nahe, dass auch in den hier untersuchten Präparaten phenolische Komponenten enthalten sein könnten, die

unter Umständen einen Einfluss auf die Ausbildung der physiko-chemischen Eigenschaften dieser Präparate haben könnten. Deshalb sollten die Faserpräparate auf das Vorhandensein von PCS untersucht werden.

Die Bestimmung estergebundener monomerer Phenolcarbonsäuren (PCS) und Aldehyde wurde gemäß der in Kapitel 3.4.17 beschriebenen Methode im Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg durchgeführt [90]. Da sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, dass sich in den löslichen Ballaststoff-Fractionen (**INSP**) keine PCS nachweisen ließen, wurden die Analysen nur mit den unlöslichen Ballaststoff-Fractionen (**uNSP**) durchgeführt.

In den untersuchten **uNSP**-Proben ließen sich insgesamt nur vier phenolische Substanzen identifizieren. Bei diesen handelte es sich um 4-Hydroxybenzaldehyd (4-HBA), 4-Hydroxybenzoesäure (4-HBS), *cis*-Ferulasäure (*cis*-FS) und *trans*-Ferulasäure (*trans*-FS). Die in den **uNSP** der verschiedenen Faserpräparate ermittelten Gehalte dieser phenolischen Substanzen sind in Tabelle 30 zusammengefasst. Die entsprechenden Chromatogramme befinden sich im Anhang (Abb. A39-A42).

Tab. 30. Gehalt an alkalisch extrahierbaren monomeren phenolischen Substanzen in den **uNSP**-Fraktionen der Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen.

Phenolische Substanz	Markana	Salout	Albus	Angustifolius
	uNSP	uNSP	uNSP	uNSP
	[$\mu\text{g g}^{-1}$ uNSP]			
4-Hydroxybenzaldehyd	2,1	1,8	1,2	2,9
4-Hydroxybenzoesäure	1,0	1,3	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
<i>cis</i> -Ferulasäure	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	2,5	4,0
<i>trans</i> -Ferulasäure	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	3,4	5,8

1) n. n. = nicht nachweisbar

Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den **uNSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten und denen aus Lupinenfaserpräparaten. In den **uNSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten konnten lediglich die Substanzen 4-HBA und 4-HBS in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden. Da diese phenolischen Komponenten jedoch nicht in der Lage sind, Dimere zu bilden und dadurch Querver-

netzungen zwischen Polysaccharid-Ketten auszubilden, kann somit für die **uNSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten eine Beeinflussung der physiko-chemischen Eigenschaften durch PCS von vornherein ausgeschlossen werden. Laut BUNZEL et al. liegen alkalisch extrahierbare Aldehyde, wie der 4-Hydroxybenzaldehyd, in der Zellwand vermutlich an stickstoffhaltige Gruppen gebunden vor, wie z. B. an Aminogruppen von Strukturproteinen [90]. Sie können jedoch auch mit ihrer phenolischen Hydroxylgruppe über eine Esterbindung an Carboxylgruppen von sauren Zellwandkomponenten, wie z. B. Galacturonsäure, gebunden sein.

In den **uNSP** aus den Lupinenfaserpräparaten konnte dagegen neben 4-HBA auch das Vorhandensein von Ferulasäure nachgewiesen werden. Die Summe von *cis*- und *trans*-Ferulasäure ergab bei dem Präparat Albus **uNSP** 6,5 µg/g und bei dem Präparat Angustifolius **uNSP** 9,2 µg/g Ballaststoffmaterial.

Strukturuntersuchungen von SAULNIER ergaben, dass die FS in den Zellwänden der Zuckerrübe in den neutralen Fraktionen der pektinartigen NSP vorliegen [104]. Sie ist somit nicht an Polygalacturonsäure-Ketten gebunden, sondern an die Hauptketten freier Arabinane und Galactane. Es ist zu vermuten, dass die in den **uNSP** der Lupinenfaserpräparaten gefundene FS ebenfalls in dieser Art an freie Galactane bzw. Arabinane gebunden vorliegt.

Insgesamt waren jedoch auch die in den Lupinen-**uNSP** nachgewiesenen Mengen an FS sehr gering. Zum Vergleich sei angeführt, dass die in der Zuckerrübe gefundene Menge an FS mit 1 % ungefähr das tausendfache der in den Lupinen-**uNSP** ermittelten Menge an FS beträgt [104]. Auch die in den **uNSP** von Getreide analysierten Mengen an FS sind um diesen Faktor größer [24].

Die hier ermittelten Resultate stimmen prinzipiell mit den Ergebnissen von PACKERT überein, der das Vorhandensein von PCS in den Nahrungsfasern aus grünen Erbsen, Sojabohnen und anderen Hülsenfrüchten analysierte [106]. Auch PACKERT fand in der gesamten Erbse nur maximal 17 µg/g FS und 6 µg/g 4-HBS.

Da in den untersuchten Proben nur sehr kleine Mengen monomerer phenolischer Substanzen ermittelt werden konnten, wurde angenommen, dass der Gehalt an dimeren PCS noch kleiner sein würde und somit unterhalb der Nachweisgrenze für solche Substanzen liegen würde. Diese Vermutung wurde durch eine Testanalyse der Probe mit dem höchsten Gehalt an monomeren PCS (Angustifolius **uNSP**) bestätigt. Da das dabei erhaltene Chromatogramm nicht auswertbar war, wird auf eine Darstellung desselben verzichtet.

Aufgrund der dargestellten Ergebnisse ist davon auszugehen, dass das Vorhandensein von monomeren estergebundenen PCS und Aldehyden keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbildung der physiko-chemischen Eigenschaften der untersuchten Faserpräparate hat. Die **uNSP**-Fraktionen, insbesondere die aus den Lupinenfaser-

präparaten, enthalten zwar geringe Mengen an monomeren phenolischen Substanzen, da jedoch keinerlei Dimere nachgewiesen werden konnten, ist eine Bildung von Polysaccharid-Crosslinks durch Diferulasäure-Ester äußerst unwahrscheinlich.

4.6 Charakterisierung der Faserpräparate sowie der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharid-Fractionen aus den Faserpräparaten mittels Oszillationsrheometrie

Auf dem Gebiet der rheologischen Untersuchungen von Lebensmitteln sind in den letzten Jahren Methoden entwickelt worden, um Informationen über die komplexen Strukturbildungsmechanismen von Pflanzenpolysacchariden zu erhalten. Die meisten ballaststoffartigen Substanzen besitzen in wässriger Dispersion viskoelastische Eigenschaften. Mit Hilfe von Oszillationsmessungen ist es möglich, die unterschiedlichen Anteile dieser Charakteristika zu untersuchen, um festzustellen, ob bei einer Probe die viskosen oder die elastischen Eigenschaften überwiegen. Die detaillierte Interpretation der Messergebnisse von Oszillationsmessungen liefert nicht nur einen Beitrag zum Verständnis der Materialeigenschaften und der physikochemischen Wechselwirkungen zwischen den Feststoffpartikeln der dispersen Phase, sondern kann auch wichtige Hinweise für den Einsatz von Ballaststoffpräparaten in komplexen Lebensmittel-Formulierungen in Bezug auf die Stabilität der hergestellten Produkte sowie ihre Texturmerkmale geben.

4.6.1 Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der Faserpräparate aus Markerbsen- und Lupinen-Kotyledonen

Die Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der Markerbsen- und Lupinenfaserpräparate erfolgte mittels Oszillationsrheometrie gemäß der in Kap. 3.4.18 beschriebenen Methode. Eine kontinuierliche Erfassung der Strukturausbildung nach der Rehydratisierung der Faserpräparate mit Hilfe einer Langzeitmessung (Time-sweep) konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden, da aufgrund von Quelleffekten eine permanente Volumenerhöhung der Proben bewirkt wurde. Dies führte zum Abgleiten der Proben vom Messkörper und damit zu nicht auswertbaren Messverläufen. Um dennoch den zeitlichen Einfluss bei der Quellung in gewisser Weise zu erfassen, wurden alle Proben jeweils einmal in vollständig gequollenem Zustand (nach 18 h Quellzeit) und einmal nach kurzer Quellzeit (30 min) untersucht.

Im Allgemeinen erlauben Oszillationsmessungen die Charakterisierung einer Probe bei verschiedenen mechanischen Belastungshöhen. Innerhalb des linear viskoelastischen Bereichs ist es möglich, die native Struktur der Probe zu ermitteln. Der linear viskoelastische Bereich (LVB) hängt von der Stabilität der untersuchten Probe ab und muss zunächst mit Hilfe eines Amplitudensweeps bestimmt werden. Bei gleichbleibender Messfrequenz ändert sich hier die Amplitude der aufgegebenen Schwingung und damit die mechanische Belastung. Als linear viskoelastischer

Bereich wird der Bereich der Messkurve bezeichnet, in dem eine stabile Struktur der untersuchten Dispersion vorliegt, d. h. der Speichermodul (G') annähernd konstant verläuft. Laut Definition ist im linear viskoelastischen Bereich ein Abfall des Speichermoduls um maximal 10 % zulässig. Anhand der Messergebnisse des Amplitudensweeps wird aus dem LVB eine geeignete kritische Amplitude (bzw. kritische Schubspannung bei schubspannungsgesteuerten Rheometern) für den darauf folgenden Frequenzsweep ausgewählt. Bei diesem zweiten Schritt der Oszillationsmessung wird bei konstanter Amplitude bzw. Schubspannung die Oszillationsfrequenz variiert und als Messantwort wiederum G' und G'' ermittelt. Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Messergebnisse ist jedoch, dass alle Messungen unter identischen Messparametern durchgeführt werden. Aus diesem Grund wurden in Vorversuchen die Konzentrationen der anzusetzenden wässrigen Dispersionen der Faserpräparate ermittelt, bei denen eine Untersuchung unter den gleichen Messbedingungen möglich war. Die bei den Messungen eingesetzten Konzentrationen sind in Tabelle 31 aufgeführt. Um die Messungen sicher durchführen zu können, musste bei den Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten mit einer geringeren Konzentration gearbeitet werden als bei den Lupinenfaserpräparaten.

Tab. 31. Konzentration der bei den Oszillationsmessungen eingesetzten wässrigen Dispersionen der Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen.

Präparat	Konzentration der wässrigen Dispersion [% TS]	
	Quellzeit 18 h	Quellzeit 30 min
Markana-Präparat	5,0	7,5
Salout-Präparat	5,0	7,5
Albus-Präparat	7,5	10,0
Angustifolius-Präparat	10,0	10,0

4.6.1.1 Amplitudensweeps

Der erwartete linear viskoelastische Bereich für die untersuchten Dispersionen lag bei einer Messfrequenz von 1 Hz im Bereich von Schubspannungsbelastungen unter 1000 Pa. Dementsprechend wurde bei den Messungen die Schubspannung im linearen Modus von einem Anfangswert von 0,1 Pa auf einen Endwert von 1000 Pa gesteigert. Die Messergebnisse der Amplitudensweeps der untersuchten Faserpräparate nach 18 h Quellzeit sind in den Abbildungen 16 und 17 graphisch dargestellt.

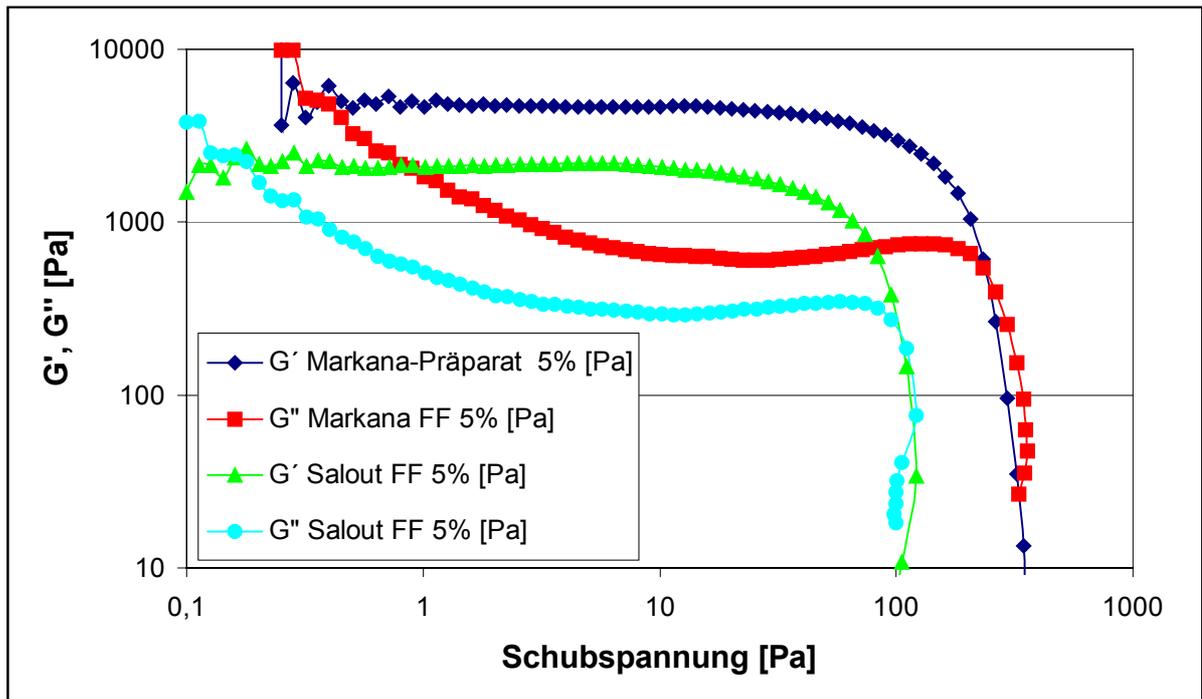


Abb. 16. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten nach 18 h Quellzeit.

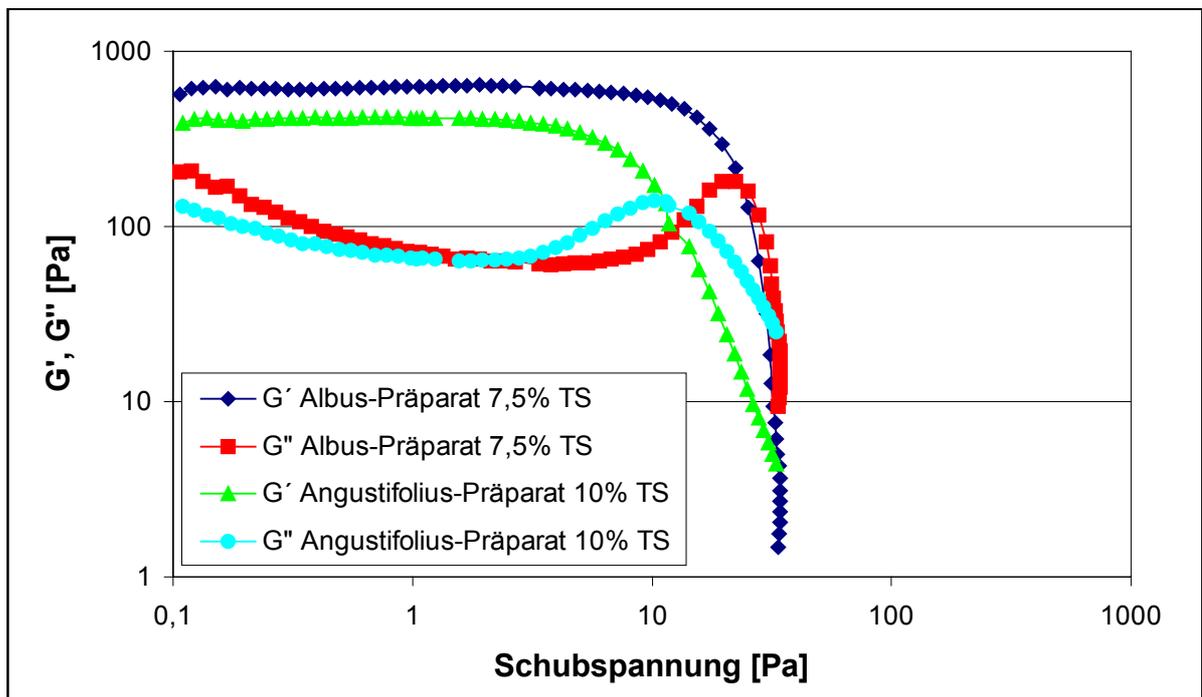


Abb. 17. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten nach 18 h Quellzeit.

Anhand der Abbildung 16 wird deutlich, dass der linear viskoelastische Bereich für die Markerbbsenfaserpräparate bei Belastungen von ca. 20 Pa überschritten wurde. Die Ursache der instabilen Messwerte zu Beginn der Amplitudensweep-Messungen bei diesen Proben liegt darin, dass es infolge zu geringer Belastungshöhe nicht möglich war, eine harmonische Schwingung auf die Probe aufzubringen.

Aus Abbildung 17 wird deutlich, dass der linear viskoelastische Bereich für das Albus-Präparat bereits bei einer Belastung von ca. 10 Pa und für das Angustifolius-Präparat sogar schon bei ca. 5 Pa überschritten wurde. Dies bedeutet, dass die Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten eine geringere Stabilität gegenüber der ansteigenden Belastung besaßen als die aus den Markerbbsenfaserpräparaten. Bezüglich der Stabilität gegenüber der ansteigenden mechanischen Belastung ergab sich für die vier Proben aufgrund der Messwerte die Rangfolge Markana-Präparat, Salout-Präparat, Albus-Präparat und Angustifolius-Präparat.

Insgesamt zeigten alle vier Proben innerhalb des linear viskoelastischen Bereichs ein dominant elastisches Verhalten, da der Speichermodul G' größer war als der Verlustmodul G'' .

Generell wird durch den Amplitudensweep ein Strukturabbau beider Moduli bestimmt. Das bedeutet, dass durch das Messverfahren kein deimmobilisiertes Wasser freigesetzt wird (G'' würde dann ansteigen, G' sinken), sondern generell die Strukturierung (z. B. Punktkontakt oder Verhakung) aufgehoben wird. Es tritt also ein Abbau der Homogenität des Materials ein. Ein weiterer wichtiger Kennwert für die Auswertung oszillationsrheologischer Messungen ist der Verlustfaktor $\tan \delta$, der ein Indikator für die Relation zwischen dissipierter und gespeicherter Energie ist. Er ist definiert als Quotient aus Verlustmodul und Speichermodul und kann somit für jeden Punkt der Messkurve berechnet werden. Definitionsgemäß liegt die stabilste Struktur einer Dispersion an dem Punkt der Messkurve vor, wo der Wert für $\tan \delta$ ein Minimum ($\tan \delta_{\min}$) aufweist. Bei einer Steigerung der Schubspannung über diesen Punkt ($\tau_{\text{krit.}}$) hinaus steigt der Verlustmodul an und übertrifft schließlich die Speichermodulkurve. Es kommt somit zur völligen Zerstörung der aufgebauten Struktur.

Die oben erwähnten Kennwerte, die anhand der Messkurven aus den Amplitudensweeps ermittelt wurden, sind in Tabelle 32 für die untersuchten Faserpräparate zusammengefasst. Wie bereits erwähnt, wurden alle Messungen zusätzlich auch nach einer kurzen Quellzeit von 30 min durchgeführt, um den zeitlichen Einfluss bei der Quellung zu erfassen. Die Kennwerte aus den Ergebnissen dieser Messungen sind ebenfalls in Tabelle 32 aufgeführt, die entsprechenden graphischen Darstellungen befinden sich aus Gründen der Übersichtlichkeit im Anhang (Abb. A43-A44).

Zunächst muss noch einmal darauf hingewiesen werden, dass beim Vergleich der Messergebnisse zu berücksichtigen ist, dass die oszillationsrheometrische Unter-

suchung der vier Proben aus messtechnischen Gründen in unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt werden musste. Es kann also zunächst festgestellt werden, dass die Dispersionen der Lupinenfaserpräparate in weitaus höheren Konzentrationen (Faktor 1,5-2,0) angesetzt werden mussten als die Dispersionen der Markerbbsenfaserpräparate, um überhaupt vergleichbare Messergebnisse zu erhalten. Dieser Umstand ist dadurch begründet, dass die Dispersionen der Markerbbsenfaserpräparate in gleicher Konzentration eine weit höhere Viskosität und Fließgrenze besaßen als die der Lupinenfaserpräparate, was bereits mit Hilfe der rotationsrheologischen Untersuchungen festgestellt worden war (s. Kap. 4.2.2). Es bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass die komplexe Struktur der verschiedenartigen Polysaccharide in wässriger Dispersion einen unterschiedlichen Aufbau bezüglich der Anteile der elastischen und viskosen Komponente besitzt.

Tab. 32. Rheologische Kennwerte aus den Amplitudensweeps der bei den Oszillationsmessungen eingesetzten wässrigen Dispersionen der Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbbsen und Lupinen.

Quellzeit	Präparat	Konz.	Grenzwert des LVB	Crossover G'/G''	Punkt der stabilsten Struktur der Dispersion		
					G'	τ	$\tan \delta_{\min}$
		[% TS]	[Pa]	[Pa]	[Pa]	[Pa]	[]
18 h	Markana- Präparat	5,0	ca. 20	232	4603	17,9	0,13
	Salout- Präparat	5,0	ca. 20	122	2110	9,1	0,14
	Albus- Präparat	7,5	ca. 10	24	619	3,0	0,10
	Angustifolius- Präparat	10,0	ca. 5	11	412	1,6	0,15
30 min	Markana- Präparat	7,5	ca. 20	260	5110	22,6	0,14
	Salout- Präparat	7,5	ca. 20	149	3329	12,7	0,14
	Albus- Präparat	10,0	ca. 20	48	1533	8,2	0,10
	Angustifolius- Präparat	10,0	ca. 5	14	446	2,2	0,14

Beim Vergleich der Kennwerte fällt auf, dass die Schnittpunkte von Speicher- und Verlustmodul für die Markerbbsenfaserpräparate bei weit größeren Schubspannungen

lagen als für die Lupinenfaserpräparate. Das bedeutet, dass die Strukturen dieser Dispersionen wesentlich stabiler gegenüber einer mechanischen Belastung waren als die der Dispersionen der Lupinenfaserpräparate. Während es bei den Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten schon bei Belastungen von 24 bzw. 11 Pa zu einer völligen Strukturzerstörung kam, war dies bei den Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten erst bei 232 bzw. 122 Pa der Fall. Die bei den Amplitudensweeps erreichten absoluten Werte für G' waren für die Markerbsenfaserpräparate um etwa eine Zehnerpotenz größer als die für die Lupinenfaserpräparate. Werden jedoch die Werte für den Verlustfaktor $\tan \delta$ verglichen, lagen alle vier untersuchten Dispersionen im gleichen Bereich. Dies bedeutet, dass die Strukturierungsmechanismen der Dispersionen aller vier Präparate in etwa gleich waren, aber Unterschiede im Festkörperverhalten vorlagen.

Beim Vergleich der nach den unterschiedlichen Quellzeiten ermittelten Kennwerte fiel auf, dass die nach 30-minütiger Quellzeit erreichten Werte für alle untersuchten Proben größer waren als die nach 18-stündiger Quellzeit. Offenbar war also die Struktur der Polymere innerhalb der Dispersion bereits nach 30-minütiger Quellzeit voll ausgebildet und besaß sogar eine größere Stabilität gegenüber ansteigender mechanischer Belastung als nach 18 h Quellzeit. Dies wurde eventuell durch Sekundäreffekte wie z.B. Phasensegregation infolge der bei der Quellung auftretenden Veränderung der Kapillarendurchmesser hervorgerufen.

4.6.1.2 Frequenzsweeps

Beim zweiten Schritt von oszillationsrheometrischen Untersuchungen, dem Frequenzsweep, wird bei konstanter Schubspannung die Oszillationsfrequenz variiert und als Messantwort ebenfalls der Verlauf von Speicher- und Verlustmodul aufgezeichnet. Anhand der Kurvenverläufe für G' und G'' lassen sich Informationen über die Art der Vernetzung der Polymere innerhalb der wässrigen Dispersionsstruktur gewinnen. Die Messergebnisse der Frequenzsweeps für die Dispersionen aus den untersuchten Faserpräparaten nach 18 h Quellzeit sind in den Abbildungen 18 und 19 graphisch dargestellt, die entsprechenden Ergebnisse für die Untersuchungen nach kurzer Quellzeit befinden sich wiederum im Anhang (Abb. A45-A46).

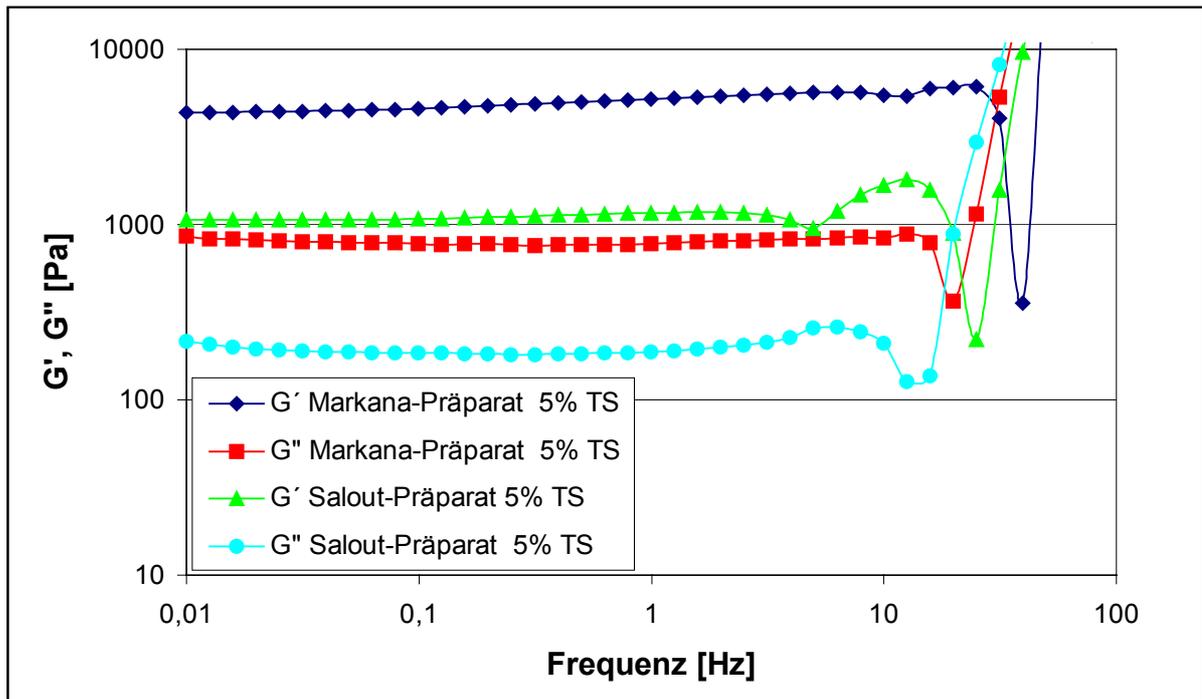


Abb. 18. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten nach 18 h Quellzeit.

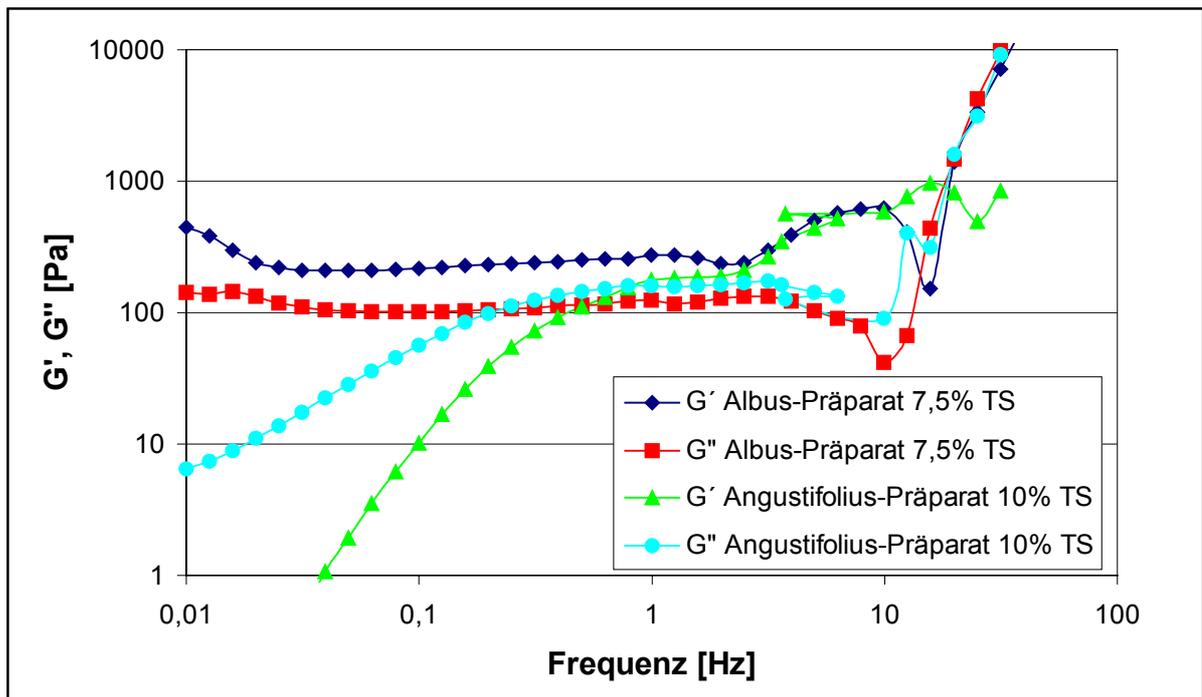


Abb. 19. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten nach 18 h Quellzeit.

Beim Vergleich der Ergebnisse wird deutlich, dass die Messwerte für den Speicher- und Verlustmodul bei den Proben Markana-Präparat, Salout-Präparat und Albus-Präparat ähnliche Kurvenverläufe besaßen. Innerhalb des angewendeten Frequenz-

bereichs war G' größer als G'' , was die dominanten elastischen Eigenschaften der untersuchten Dispersionen anzeigte und somit die Messergebnisse der Amplitudensweeps bestätigte. Beide Module stiegen über den angewendeten Frequenzbereich nur geringfügig an, was bedeutet, dass hier aufgrund der Partikelgröße nur eine sehr geringe Frequenzabhängigkeit vorhanden war. Der annähernd parallele Verlauf von G' und G'' zeigte an, dass es sich hier um klassische Dispersionen mit Strukturen auf Partikelbasis handelte. Es war keine Netzwerkstruktur wie bei einem Gel vorhanden, sondern lediglich Teilvernetzungen und Verhakungen der Feststoffpartikel der dispersen Phase untereinander aufgrund rauer Oberflächen und der gewählten Einsatzkonzentration. Der parallele Verlauf der Kurven von G' und G'' über mehrere Frequenzdekaden deutete außerdem auf eine breite Molekulargewichtsverteilung der enthaltenen Polymere hin.

Die für das *Angustifolius*-Präparat ermittelten Messergebnisse unterschieden sich deutlich von denen der anderen drei Proben. Hier wurde durch die Messkurve der typische Aufbau einer Gelstruktur abgebildet. Der Aufbau des Speichermoduls auf zwei Plateaustufen kennzeichnete das Vorliegen einer Substanz mit zwei dominanten Molekulargewichtsfractionen und einer engen Molekulargewichtsverteilung. Sowohl G' als auch G'' stiegen mit zunehmender Oszillationsfrequenz stark an und erreichten erst nach ihrem Schnittpunkt eine Art Plateaubereich. Diese Form des Kurvenverlaufs deutet darauf hin, dass hier Strukturen auf molekularer Basis vorhanden sind. Ob es sich dabei jedoch um klassische Netzwerkstrukturen wie bei Gelen handelt, ist äußerst fraglich. Aufgrund der Kurvenverläufe von G' und G'' ist eher anzunehmen, dass die beteiligten Polysaccharidmoleküle kleinere Molekulargewichte und eine engere Molekulargewichtsverteilung besitzen als die der anderen drei Präparate. Vermutlich ist dies die Ursache dafür, dass die Polymere sich hier innerhalb der Dispersion freier bewegen können und somit ein anderer Mechanismus der interpartikulären Wechselwirkung innerhalb des dispersen Systems auftritt.

Beim Vergleich der Messergebnisse nach den unterschiedlichen Quellzeiten fällt auf, dass sich zwar die absolut erreichten Messwerte für G' und G'' voneinander unterschieden, aber die Formen der Kurvenverläufe völlig identisch waren. Dies bedeutet, dass die Dauer der Quellzeit offenbar keinen Einfluss auf die Art der Vernetzung der Polymere innerhalb der wässrigen Dispersionsstruktur hatte.

4.6.2 Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der unlöslichen **NSP**-Fraktionen aus den Faserpräparaten

Mit Hilfe der Oszillationsmessungen an den aus den Faserpräparaten isolierten unlöslichen **NSP**-Fraktionen sollte die Fragestellung untersucht werden, ob das rheologische Verhalten der unterschiedlichen Faserpräparate allein durch die **uNSP** bzw. deren komplexe Struktur in wässriger Dispersion bestimmt wird, oder ob auch die anderen Komponenten, wie z.B. **INSP**, Stärke und Protein, einen Einfluss darauf haben. In diesem Fall müssten sich die hier ermittelten Ergebnisse von den in Kapitel 4.6.1 bestimmten Charakteristika unterscheiden.

Die Untersuchungen wurden in Analogie zu den im vorangegangenen Kapitel diskutierten Messungen nach zwei unterschiedlich langen Quellzeiten (18 h und 30 min) durchgeführt. Die genaue Vorgehensweise ist auch hier dem Kap. 3.4.18 zu entnehmen.

Um die Messungen unter identischen Messparametern durchführen zu können, mussten auch im Falle der **uNSP**-Fraktionen in Vorversuchen die einzusetzenden Konzentrationen der wässrigen Dispersionen aus den unterschiedlichen Proben ermittelt werden. Diese sind in Tabelle 33 aufgeführt.

Tab. 33. Konzentration der bei den Oszillationsmessungen eingesetzten wässrigen Dispersionen der **uNSP**-Fraktionen der Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen.

Präparat	Konzentration der wässrigen Dispersion [% TS]	
	Quellzeit 18 h	Quellzeit 30 min
Markana uNSP	5,0	7,5
Salout uNSP	5,0	7,5
Albus uNSP	7,5	10,0
Angustifolius uNSP	7,5	10,0

4.6.2.1 Amplitudensweeps

Die Messergebnisse der Amplitudensweeps der untersuchten **uNSP**-Fraktionen nach 18 h Quellzeit sind in den Abbildungen 20 und 21 graphisch dargestellt.

Anhand der Messergebnisse zeigte sich auch hier, dass alle vier untersuchten Proben innerhalb des linear viskoelastischen Bereichs ein dominant elastisches Verhalten besaßen, da der Wert für den Speichermodul größer war als der des Verlustmoduls.

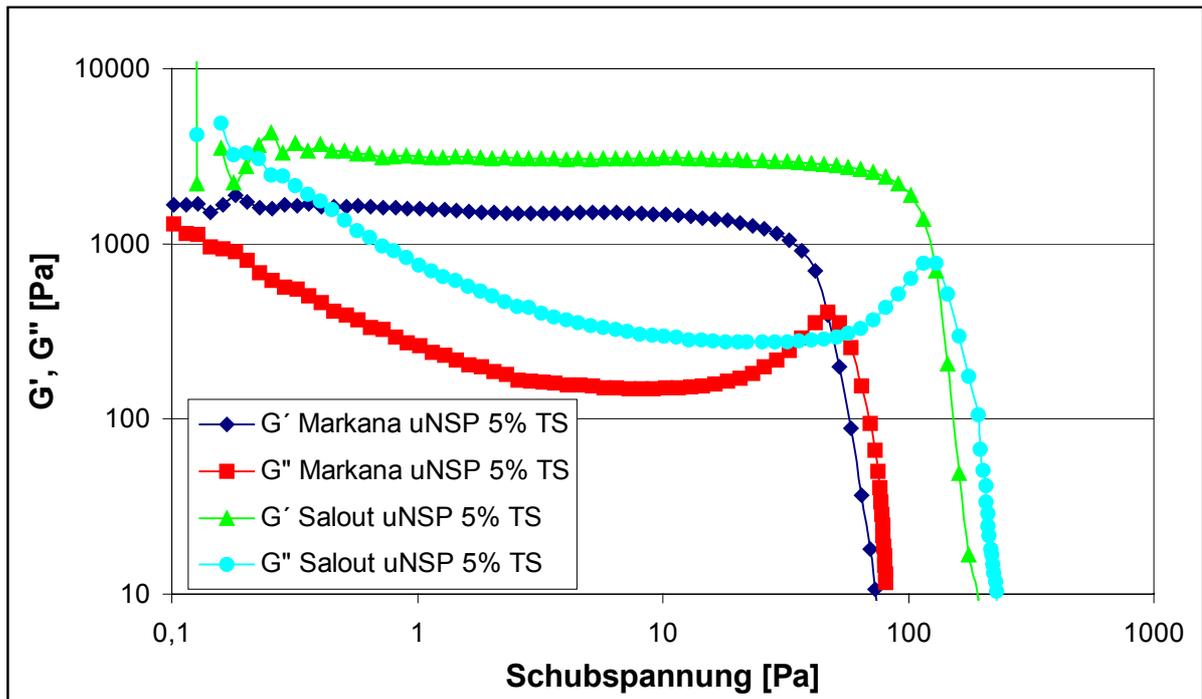


Abb. 20. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den **uNSP**-Fraktionen der Markerbsefaserpräparate nach 18 h Quellzeit.

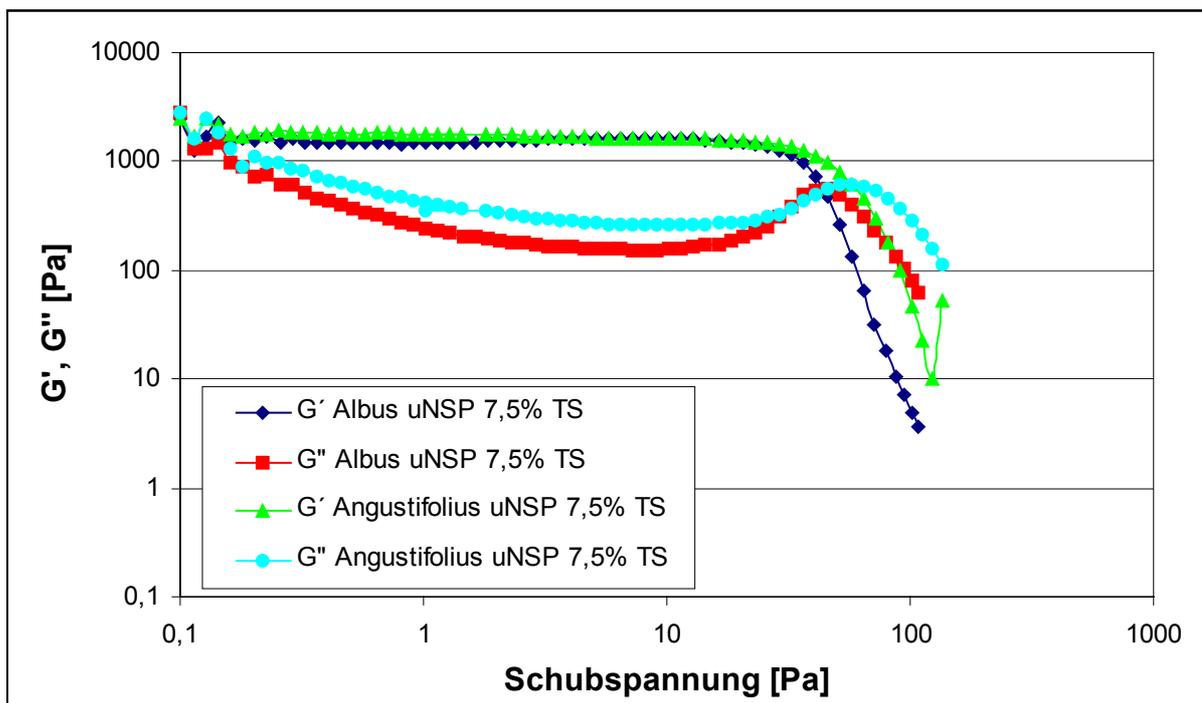


Abb. 21. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den **uNSP**-Fraktionen der Lupinenfaserpräparate nach 18 h Quellzeit.

Weiterhin fiel auf, dass die Kurvenverläufe für G' und G'' bei den Präparaten Markana **uNSP**, Albus **uNSP** und Angustifolius **uNSP** sehr ähnlich waren. Sowohl die Werte für den Schnittpunkt von Speicher- und Verlustmodul als auch die absolut

ermittelten Werte für die beiden Module lagen bei diesen drei Proben relativ dicht beieinander. Eine Ausnahme bildete hier das Präparat Salout **uNSP**, das eine weit-aus stabilere Dispersionstruktur zu bilden schien. Bezüglich der Stabilität gegenüber der ansteigenden mechanischen Belastung ergab sich für die vier **uNSP**-Fraktionen aufgrund der Messwerte die Rangfolge Salout **uNSP**, Angustifolius **uNSP**, Markana **uNSP** und Albus **uNSP**.

Die rheologischen Kennwerte, die anhand der Messkurven aus den Amplitudensweeps ermittelt wurden, sind in Tabelle 34 für die untersuchten **uNSP**-Fraktionen zusammengefasst. Wie bei den Faserpräparaten wurden alle Messungen zusätzlich auch nach einer Quellzeit von 30 min durchgeführt, um den zeitlichen Einfluss bei der Quellung zu erfassen. Die Kennwerte aus den Ergebnissen dieser Messungen sind ebenfalls in Tabelle 34 aufgeführt, die entsprechenden graphischen Darstellungen befinden sich im Anhang (Abb. A47-A48).

Tab. 34. Rheologische Kennwerte aus den Amplitudensweeps der bei den Oszillationsmessungen eingesetzten wässrigen Dispersionen der **uNSP**-Fraktionen der Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbbsen und Lupinen.

Quellzeit	Präparat	Konz.	Grenzwert des LVB	Crossover G'/G''	Punkt der stabilsten Struktur der Dispersion		
					G'	τ	$\tan \delta_{\min}$
					[Pa]	[Pa]	[]
		[% TS]	[Pa]	[Pa]	[Pa]	[Pa]	[]
18 h	Markana uNSP	5,0	ca. 20	47	1487	8,2	0,10
	Salout uNSP	5,0	ca. 50	129	3630	16,0	0,09
	Albus uNSP	7,5	ca. 20	46	1620	8,1	0,09
	Angustifolius uNSP	7,5	ca. 20	65	1628	8,1	0,16
30 min	Markana uNSP	7,5	ca. 20	330	6899	35,7	0,10
	Salout uNSP	7,5	ca. 50	163	2998	22,7	0,11
	Albus uNSP	10,0	ca. 50	143	5054	25,3	0,10
	Angustifolius uNSP	10,0	ca. 10	254	5531	31,8	0,17

Beim Vergleich der Ergebnisse nach 18 h Quellzeit wird deutlich, dass das Präparat Salout **uNSP** in Bezug auf die ermittelten Kennwerte eine Sonderstellung einnimmt. Während es bei den Dispersionen aus den anderen drei Proben schon bei mechanischen Belastungen von 46-65 Pa zu einer völligen Zerstörung der Struktur kam, war dies bei Salout **uNSP** erst bei 129 Pa der Fall. Auch der absolut erreichte Wert für G' ist hier ungefähr doppelt so groß wie bei den anderen drei Proben.

Der Vergleich der nach den unterschiedlichen Quellzeiten ermittelten Kennwerte zeigte auch hier, dass die nach 30 min Quellzeit erreichten Werte für alle untersuchten Proben größer waren als die nach 18-stündiger Quellzeit. Dies bestätigte die Beobachtungen, die auch schon bei der Untersuchung der Faserpräparate gemacht worden waren. Offenbar war also die Struktur der Polymere innerhalb der Dispersion auch bei den rein unlöslichen Ballaststoff-Komponenten bereits nach 30-minütiger Quellzeit voll ausgebildet und besaß sogar eine größere Stabilität gegenüber ansteigender mechanischer Belastung als nach 18 h Quellzeit.

Auffällig ist jedoch die Tatsache, dass insbesondere bei den **uNSP**-Fraktionen aus den beiden Lupinenfaserpräparaten nach kurzer Quellzeit sehr viel größere Kennwerte ermittelt wurden als nach 18-stündiger Quellzeit. Beispielsweise lagen hier die Werte für den Speichermodul nach 30 min Quellzeit zwischen 5000 und 5600 Pa, während sie nach 18 h Quellzeit nur noch ca. 1600 Pa betragen. Dieses Verhalten war bei den Lupinenfaserpräparaten nicht oder nur in sehr viel schwächerer Ausprägung beobachtet worden. Die gleiche Beobachtung trifft interessanterweise auch für das Präparat Markana **uNSP** zu, jedoch nicht für Salout **uNSP**. Somit scheint sich hier ein Sortenunterschied in Bezug auf das rheologische Verhalten der **uNSP** aus den beiden unterschiedlichen Markerbbsenfaserpräparaten abzuzeichnen. Offenbar bildeten die unlöslichen Ballaststoff-Komponenten aus dem Markana-Präparat sowie auch aus den beiden Lupinenfaserpräparaten in wässriger Dispersion innerhalb einer kurzen Quelldauer zunächst eine sehr stabile Struktur, die im Laufe der folgenden 18 Stunden bis zu einem gewissen Grad wieder abgebaut wurde. Das Präparat Salout **uNSP** dagegen baute seine komplexe Struktur in wässriger Dispersion langsam auf und erreichte erst nach 18 h Quellzeit seine maximale Stabilität.

4.6.2.2 Frequenzsweeps

Die Messergebnisse der Frequenzsweeps für die Dispersionen aus den untersuchten **uNSP**-Fraktionen nach 18 h Quellzeit sind in den Abbildungen 22 und 23 graphisch dargestellt, die entsprechenden Ergebnisse für die Untersuchungen nach 30-minütiger Quellzeit befinden sich im Anhang (Abb. A49-A50).

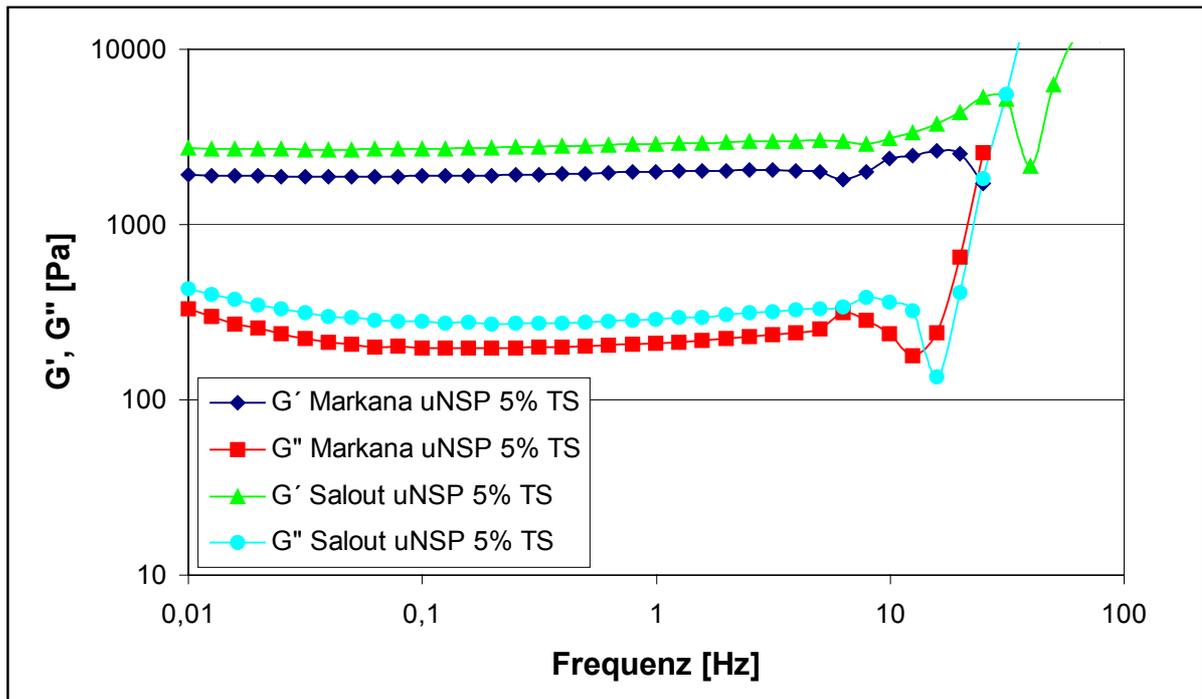


Abb. 22. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den **uNSP**-Fraktionen der Markerbsenfaserpräparate nach 18 h Quellzeit.

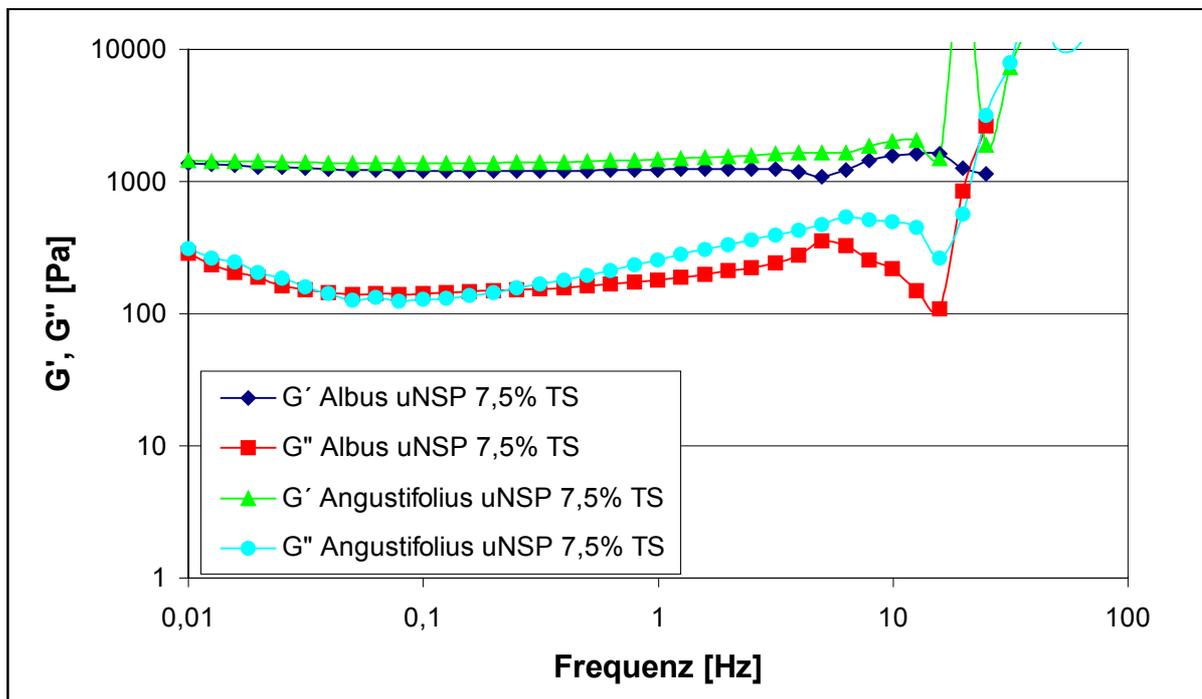


Abb. 23. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den **uNSP**-Fraktionen der Lupinenfaserpräparate nach 18 h Quellzeit.

Innerhalb des untersuchten Frequenzbereichs zeigten alle vier **uNSP**-Präparate ein dominant elastisches Verhalten, was die Ergebnisse der Amplitudensweeps bestätigte. Wie auch bei den Frequenzsweeps der Faserpräparate stiegen sowohl

Speicher- als auch Verlustmodul bis zu einer Messfrequenz von ca. 10 Hz nur geringfügig an, d. h. es bestand lediglich eine geringe Frequenzabhängigkeit der Dispersionsstabilität. Wie auch bei den Faserpräparaten zeigte der annähernd parallele Verlauf von G' und G'' an, dass es sich um klassische Dispersionen mit Strukturen auf Partikelbasis handelte, die lediglich durch Teilvernetzungen und Verhakungen miteinander in Wechselwirkung treten. Weiterhin wurde auch hier ein sprunghafter Anstieg der Speicher- und Verlustmodulkurven ab einer Messfrequenz von ca. 10 Hz beobachtet. Das bedeutet, dass es sich bei allen vier Proben um plastische Substanzen mit Fließgrenze handelt.

Auffällig war hier jedoch, dass im Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen der Faserpräparate das Präparat *Angustifolius uNSP* keine Ausnahme bildete, sondern annähernd das gleiche Verhalten zeigte wie das Präparat *Albus uNSP*. Dies deutet darauf hin, dass zumindest bei dem *Angustifolius*-Präparat die viskoelastischen Eigenschaften nicht von den *uNSP* allein, sondern in entscheidendem Maße auch von den anderen Inhaltsstoffbestandteilen mitbestimmt werden.

Betrachtet man jedoch die Messergebnisse der Frequenzsweeps der Präparate *Albus uNSP* und *Albus*-Präparat genauer, so werden auch hier Unterschiede deutlich. Zwar waren hier die Kurvenverläufe von G' und G'' ähnlich, aber die absoluten Werte für den Speichermodul waren bei den unlöslichen Bestandteilen dieses Präparates um fast eine Zehnerpotenz größer als bei dem ursprünglichen Faserpräparat. Dies bedeutet, dass auch im Falle des *Albus*-Präparates die Feststoffeigenschaften in den reinen *uNSP* weit ausgeprägter waren als in dem Ausgangspräparat. Offenbar spielen also auch hier die übrigen Inhaltsstoffbestandteile, wie z. B. *INSP* und Protein, eine Rolle bei der Ausbildung der viskoelastischen Eigenschaften in wässriger Dispersion, wenn auch in weniger starkem Maße als bei dem *Angustifolius*-Präparat.

Weiterhin fiel auf, dass auch die Messergebnisse der Frequenzsweeps der unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide aus den beiden Markerbsenfaserpräparaten sehr ähnlich waren. Demgegenüber waren bei den entsprechenden Untersuchungen an den Ausgangspräparaten *Markana*-Präparat und *Salout*-Präparat weitaus größere Unterschiede beobachtet worden. Offenbar ist hier also bezüglich der Struktur- und Ausbildung in wässriger Dispersion ein Sortenunterschied vorhanden, der nicht durch die Zusammensetzung oder rheologischen Eigenschaften der *uNSP*, sondern durch die restlichen Inhaltsstoffbestandteile der Ballaststoffpräparate verursacht wurde. Weiterhin ist bemerkenswert, dass dieser Sortenunterschied im Falle des *Salout*-Präparates dazu führte, dass die Feststoffeigenschaften der unlöslichen Ballaststoffbestandteile etwas stärker ausgeprägt waren als die des ursprünglichen Faserpräparates, da der Speichermodul der *uNSP*-Fraktion hier einen größeren Wert hatte. Dies stimmte mit den Beobachtungen überein, die auch bei den beiden Lupinenfaserpräparaten gemacht worden waren, allerdings in weniger starkem Maße. Bei dem *Markana*-Präparat dagegen waren die elastischen Eigenschaften des Gesamtpräparates stärker ausgeprägt als die der *uNSP*. Es ist deshalb anzu-

nehmen, dass hier die übrigen Inhaltsstoffbestandteile (**INSP**, Stärke, Protein) in einer Weise mit den **uNSP** zusammenwirkten, welche die elastischen Eigenschaften und somit die Stabilität der Struktur des Präparates in wässriger Dispersion unterstützten bzw. verstärkten.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die oszillationsrheometrischen Messungen erfolgreich zur Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften der rehydratisierten Faserpräparate und **uNSP**-Fraktionen genutzt werden konnten. Insgesamt konnten alle untersuchten Präparate als klassische Dispersionen mit dominant elastischen Strukturen auf Partikelbasis charakterisiert werden. Die Teilvernetzungen und Verhakungen der Partikel beruhten auf physiko-chemischen Wechselwirkungen der Feststoffpartikel untereinander, wie z. B. Punktkontakt bei hoher Volumenkonzentration oder Verhakung rauer Oberflächen. Es wurden jedoch keine chemischen Netzwerkstrukturen wie bei wirklichen Gelen gebildet.

Mit Hilfe der durchgeführten Untersuchungen konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Ausprägung der viskoelastischen Eigenschaften sowohl zwischen den Faserpräparaten aus Markerbsen- und Lupinen-Kotyledonen im allgemeinen als auch zwischen den verschiedenen Sorten von Markerbsen und Lupinen festgestellt werden.

Die oszillationsrheologischen Untersuchungen der aus den Faserpräparaten isolierten **uNSP**-Fraktionen zeigten, dass für die Ausprägung der viskoelastischen Eigenschaften der vier im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate nicht nur die unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide verantwortlich waren, sondern offenbar auch die übrigen Inhaltsstoffbestandteile, die bei den unterschiedlichen Präparaten zwischen 32 % und 38 % der Trockensubstanz ausmachten. Dabei schien bei den Markerbsenfaserpräparaten in Bezug auf die Ausbildung einer stabilen Struktur in wässriger Dispersion eine eher synergistische Wirkung zwischen den **uNSP** und den **INSP** vorhanden zu sein. Inwieweit auch die Anteile an Stärke und Protein eine Rolle spielten, kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden.

Demgegenüber hatten die Lupinenfaserpräparate vermutlich durch eine andere Polysaccharid-Spezies als Hauptkomponente ein völlig anderes rheologisches Verhalten. Obwohl auch diese Faserpräparate gute Wasserbindungseigenschaften besaßen, wirkten hier offenbar die unlöslichen und löslichen Polysaccharide eher antagonistisch in Bezug auf die Herausbildung einer stabilen Struktur mit dominanter Festkörperkomponente in wässriger Dispersion.

5 Zusammenfassung

Die positiven ernährungsphysiologischen Wirkungen von Ballaststoffpräparaten sind in den letzten Jahren Gegenstand vieler wissenschaftlicher Arbeiten gewesen [1,3-5]. Weiterhin ist bekannt, dass über Faserpräparate in Lebensmittel eingearbeitete Nichtstärke-Polysaccharide (NSP) auch zur Ausprägung von Qualitätsmerkmalen dienen, wie z. B. Textur und Mundgefühl [3-8]. Die unterstützende Wirkung von Ballaststoffpräparaten zur Ausprägung dieser Merkmale beruht im Wesentlichen auf ihrer Fähigkeit, unter Quellen Wasser zu binden. Die physiko-chemische Eigenschaft der Wasserbindung von Ballaststoffen wird in entscheidendem Maße von der chemischen Zusammensetzung und der Struktur der sie bildenden hochmolekularen Nichtstärke-Polysaccharide beeinflusst.

Faserpräparate aus den Kotyledonen von Markerbsen und Lupinen werden bislang noch nicht industriell hergestellt, jedoch konnte in Untersuchungen über die physiko-chemischen Eigenschaften solcher Präparate bereits gezeigt werden, dass sie ein hohes Wasserbinde- und Quellvermögen besitzen und in Wasser Dispersionen mit einer hohen Scherstabilität bilden [9, 10]. Aus eigenen Vorarbeiten ist weiterhin bekannt, dass sich die physiko-chemischen Eigenschaften von Faserpräparaten aus den Kotyledonen von Lupinen zum Teil gravierend von denen aus Markerbsenkotyledonen unterscheiden, obwohl ihre stoffliche Zusammensetzung und ihre botanische Herkunft sehr ähnlich ist. Diese Ergebnisse der bisher durchgeführten Untersuchungen an Leguminosenfaserpräparaten legen den Schluss nahe, dass für die Ausprägung ihrer physiko-chemischen Eigenschaften neben der chemischen Zusammensetzung der Polysaccharide auch die molekulare Struktur, d. h. die Molekülgröße, der Verzweigungsgrad und die Art der chemischen Verknüpfung der Moleküle untereinander entscheidend ist.

Zielsetzung dieser Arbeit war es deshalb, mit Hilfe geeigneter Analysemethoden sowohl die monomeren Bestandteile der NSP in Faserpräparaten aus Markerbsen- und Lupinenkotyledonen als auch ihre molekulare Suprastruktur zu untersuchen. Diese Untersuchungen stellen das fehlende Bindeglied dar, um den Zusammenhang zwischen der molekularen Struktur und den physiko-chemischen Eigenschaften dieser Präparate herzustellen. Es fehlt an dieser Stelle an Grundlagenwissen, das insbesondere auch deshalb geschaffen werden muss, um damit die Voraussetzung sowohl für die gezielte Herstellung von Faserpräparaten aus Pflanzenmaterial zu schaffen als auch ein besseres Verständnis dafür zu gewinnen, wie prozess-technische Maßnahmen auf die funktionellen Eigenschaften von Faserpräparaten wirken.

Die Bearbeitung der Aufgabenstellung wurde in drei Abschnitte untergliedert. Im ersten Abschnitt wurden zunächst die zu untersuchenden Faserpräparate aus den Kotyledonen zweier Markerbsen- und Lupinensorten im halbtechnischen Maßstab hergestellt. Dabei erfolgte die Gewinnung der Faserpräparate aus den Kotyledonen

der Markerbsensorten Markana und Salout nach dem von MEUSER et al. entwickelten Verfahren zur Herstellung von Markerbsenstärke, bei dem die Faserfraktion neben Stärke und Protein als drittes Hauptprodukt anfällt [10, 30]. Die Faserpräparate aus den Kotyledonen der Lupinensorten *lupinus albus* und *lupinus angustifolius* wurden im Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV) in Freising mit Hilfe eines dort entwickelten mehrstufigen Extraktionsverfahrens hergestellt [15].

Die Inhaltsstoffzusammensetzung der vier unterschiedlichen Präparate wurde anschließend analytisch bestimmt. Dabei wurde festgestellt, dass die beiden Markerbsenfaserpräparate einen Gesamt-Ballaststoffgehalt von ca. 75 % besaßen. Der Stärkegehalt im Endprodukt konnte auf 7,9 % (Markana-Präparat) bzw. 9,6 % (Salout-Präparat) reduziert werden, der Proteingehalt beider Präparate betrug ca. 9 %. Die aus den Kotyledonen von Lupinen gewonnenen Faserpräparate besaßen Gesamt-Ballaststoffgehalte von 86 % (Albus-Präparat) bzw. 80 % (Angustifolius-Präparat) und Proteingehalte von 9,4 % (Albus-Präparat) bzw. 13,6 % (Angustifolius-Präparat). Stärke ist in Lupinen nur in vernachlässigbar geringer Menge enthalten.

Die genauere Untersuchung der Zusammensetzung der Ballaststoff-Fraktion der unterschiedlichen Präparate ergab, dass der Anteil an löslichen Ballaststoffen am Gesamt-Ballaststoffgehalt bei den Lupinenfaserpräparaten mit 21 % bzw. 22 % größer war als bei den Markerbsenfaserpräparaten (14 % bzw. 18 %). Mit Hilfe des NDF-Verfahrens zur Charakterisierung der Zusammensetzung der Gesamt-Ballaststoff-Fractionen wurde weiterhin festgestellt, dass der Anteil an Cellulose und Hemicellulosen an den Gesamtballaststoffen bei den Markerbsenfaserpräparaten mit ca. 41 % weit größer war als bei den Lupinenfaserpräparaten (25 % bzw. 20 %) [72].

Wesentlich auffälliger war jedoch, dass die Summe der unlöslichen Ballaststoffkomponenten und Lignin, wie sie mit der NDF-Methode bestimmt wurde, nicht mit der Menge an unlöslichen Ballaststoffen übereinstimmte, wie sie nach der modifizierten AOAC-Methode bestimmt wurde. Der Gehalt an unlöslichen Ballaststoffen nach der AOAC-Methode war bei allen vier Präparaten weitaus größer als die Summe der unlöslichen Bestandteile nach der NDF-Methode. Die beobachteten Differenzen lagen bei den Markerbsenfaserpräparaten bei 20-24 %, bei den Lupinenfaserpräparaten sogar bei 42-44 %. Die Ursache für diese Differenzen muss darin liegen, dass während der Extraktion mit der ND-Lösung bestimmte Anteile der NSP in Lösung gehen, die bei der Behandlung gemäß der AOAC-Methode in schwach alkalischem Puffer nicht löslich sind und somit in den **uNSP** verbleiben. Laut Literatur stellen die beobachteten Differenzen ein Maß für den Anteil an pektinartigen NSP (**pNSP**) in den jeweiligen Faserpräparaten dar [92]. Diese Vermutungen konnten durch weitere Untersuchungen bestätigt werden. Dabei stellte sich auch heraus, dass die Lupinenfaserpräparate einen größeren Anteil an löslichem Pektin enthielten, die Markerbsenfaserpräparate dagegen mehr unlösliches Pektin.

Im Rahmen des ersten Abschnitts der Aufgabenstellung wurden außerdem ausgewählte Wasserbindungseigenschaften sowie rheologische Eigenschaften der Präparate bestimmt.

Bezüglich der Wasserbindungseigenschaften wurde festgestellt, dass die Markerbsenfaserpräparate ein größeres Kaltwasserquellvermögen (KWQ) und eine größere Kaltwasserbindungskapazität (KWB) besaßen als die Lupinenfaserpräparate. Das Kaltwasserrückhaltevermögen (KWRV), das sich auf die Wasserrückhaltung unter dem Einfluss einer physikalischen Beanspruchung bezieht, war jedoch bei den Lupinenfaserpräparaten, insbesondere dem Angustifolius-Präparat größer. Die Untersuchung der Kinetik der Wasserabsorption mit Hilfe der Kapillarsaugmethode ergab, dass auch hier Unterschiede zwischen den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten vorhanden waren. Während nämlich die Wasserabsorption der Lupinenfaserpräparate schon nach 50 bzw. 60 min zum Stillstand kam, war sie bei den Markerbsenfaserpräparaten erst nach 140 min abgeschlossen. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass hier unterschiedliche Mechanismen der Wasseraufnahme vorhanden sind, die durch einen unterschiedlichen Aufbau oder eine unterschiedliche stoffliche Zusammensetzung der Ballaststoff-Polysaccharide begründet sein können.

Die Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen mittels Rotationsmessungen korrelierten mit diesen Beobachtungen. Sämtliche Präparate bildeten nach der Rehydratisierung hochviskose Dispersionstrukturen aus, wobei die Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten weitaus größere Fließgrenzen und Viskositäten besaßen als die aus den Lupinenfaserpräparaten. Außerdem wurde festgestellt, dass die Stabilität der Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten im Laufe der 90-minütigen Quellzeit stark zunahm und ein Endpunkt dieser Zunahme oder eine eventuelle Reversibilität der Viskositätsausbildung unter den gewählten Bedingungen nicht zu ermitteln war. Offensichtlich ist in diesen Präparaten die Zusammensetzung im Hinblick auf das Verhältnis zwischen **UNSP**, Stärke und Protein so ausgewogen, dass die wasserbindenden und wasserrückhaltenden Eigenschaften der in diesen Präparaten enthaltenen Polysaccharide dominierend wirken können.

Im zweiten Abschnitt erfolgte die präparative Fraktionierung der Faserpräparate in Einzelkomponenten. Dabei wurden Methoden entwickelt, um die Präparate aufzureinigen und in Einzelfractionen zu zerlegen, um sie so für die Untersuchung der Molekularstruktur vorzubereiten.

Zum Einen wurde eine Isolierung der in den verschiedenen Faserpräparaten enthaltenen löslichen und unlöslichen Ballaststoffkomponenten in Anlehnung an die modifizierte AOAC-Methode zur Bestimmung der Ballaststoffe im präparativen Maßstab durchgeführt [64], zum Anderen erfolgte eine sequentielle Extraktion der pektinartigen NSP und Hemicellulosen mit Hilfe chelatisierender Agenzien im präparativen Maßstab in Anlehnung an aus der Literatur bekannte Methoden

[39, 65]. Ziel dieser Untersuchungen war es, Aufschluss darüber zu erhalten, wie viel und welche der in den **INSP** und **uNSP** gefundenen Polysaccharid-Spezies in den Seitenketten des Pektins gebunden sind bzw. welche Anteile als freie Polysaccharide unter Umständen in der Hemicellulose-Fraktion vorliegen. Da sich in den vorausgegangenen Untersuchungen herausgestellt hatte, dass es zwischen den beiden Markerbsenfaserpräparaten und auch den beiden Lupinenfaserpräparaten bezüglich der Monosaccharid-Zusammensetzung keine gravierenden Sortenunterschiede gab, wurde die sehr arbeitsaufwendige sequentielle Extraktion der **pNSP** und Hemicellulosen jeweils nur bei einem Markerbsenfaserpräparat (Markana-Präparat) und einem Lupinenfaserpräparat (Albus-Präparat) durchgeführt.

Im dritten Abschnitt erfolgte die Untersuchung der Molekularstruktur der isolierten Polysaccharid-Fractionen, die den zentralen Teil der Aufgabenstellung darstellte. Dies geschah unter Einsatz neuer Analysetechniken, die für den Fortschritt auf dem Gebiet der Polysaccharid-Analytik in den letzten Jahren eine entscheidende Rolle gespielt haben.

Als erstes wurde die Zusammensetzung der Polysaccharide im Hinblick auf ihre Monomere mittels HPAE-PED-Chromatographie untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die **INSP** der beiden Markerbsenfaserpräparate in erster Linie aus arabinose- und mannosehaltigen Oligo- und Polysacchariden bestanden. Arabinose und Mannose machten zusammen ca. 70 % der im Abbaugemisch der **INSP** enthaltenen Monosaccharide aus. Weiterhin ließ die Anwesenheit von Galacturonsäure und Rhamnose auf das Vorhandensein von Pektin schließen, wobei anzunehmen war, dass zumindest ein Teil der in den **INSP** der Markerbsenfaserpräparate gefundenen Arabinose und Galactose in den Seitenketten des Pektins gebunden vorlag.

Bei den löslichen Ballaststoffen aus den Lupinenfaserpräparaten war die Galactose mit 79 % (Albus-Präparat) bzw. 69 % (Angustifolius-Präparat) das vorherrschende Monosaccharid. An zweiter und dritter Stelle folgten mit weitem Abstand Arabinose und Mannose. Vermutlich lag hier ein großer Teil der gefundenen Monosaccharide in Form von Galactomannanen vor, die in nicht-stärkehaltigen Leguminosen, wie z. B. Lupinen, als Zellwandpolysaccharide vorkommen und gleichzeitig auch als Reservepolysaccharide dienen [39]. Auch bei den **INSP** der Lupinenfaserpräparate ließ die Anwesenheit von Galacturonsäure und Rhamnose auf die Anwesenheit von Pektin schließen, allerdings in weitaus geringeren Mengen als bei den **INSP** aus Markerbsen. Aufgrund des sehr hohen Galactosegehaltes der Lupinen-**INSP** insgesamt ist es wahrscheinlich, dass das Pektin hier einen beträchtlichen Anteil an Galactosyl-Seitenketten enthielt. Außerdem kamen sicherlich auch freie Galactane vor.

Die **uNSP** der beiden Markerbsenfaserpräparate bestanden in erster Linie aus arabinose- und glucosehaltigen Polysacchariden. Die Arabinose machte hier mit 44 % (Markana-Präparat) bzw. 48 % (Salout-Präparat) fast die Hälfte der im

Abbaugemisch enthaltenen Monosaccharide aus, der Anteil an Glucose betrug 28 % bzw. 26 %. Der große Glucosegehalt der Präparate war im Zusammenhang mit der Anwesenheit von jeweils ca. 7 % Xylose sicherlich zum Teil auf die Existenz von Xyloglucanen zurückzuführen, ein weiterer Teil der Glucose lag in Form von resistenter Stärke vor. Weiterhin enthielten die **uNSP** der Markerbsenfaserpräparate 9-10 % Galacturonsäure und ca. 2 % Rhamnose, was auf einen signifikanten Anteil an pektinartigen Polysacchariden schließen ließ, die zum einen als freie Polygalacturonsäuren und zum anderen in Form von Rhamnogalacturonanen existieren. Der Hauptanteil der in den **uNSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten vorkommenden Polysaccharide wurde jedoch von arabinosehaltigen Spezies gebildet, denen - im Zusammenwirken mit den anderen **pNSP** und den reinen Pektinen – höchstwahrscheinlich das große Kaltwasserquell- und -bindevermögen der Markerbsenfaserpräparate und die mit der Quellzeit zunehmende Viskosität und Scherstabilität der aus ihnen erhaltenen Dispersionen zuzuschreiben sind.

Im Gegensatz zu den Markerbsenfaserpräparaten waren bei den Lupinenfaserpräparaten die Monosaccharid-Zusammensetzungen der **uNSP** und **INSP** relativ ähnlich. Die jeweiligen Gehalte an Galactose und Arabinose waren annähernd gleich, lediglich der Anteil an Mannose war in den **INSP** größer, während der Glucosegehalt in den **uNSP** größer war. Der größere Gehalt an Mannose in den löslichen Fraktionen lässt sich wie bei den Markerbsenfaserpräparaten durch die Anwesenheit von Glucomannanen erklären. Die Glucose in den **uNSP** stammt wahrscheinlich aus Galacto-Xyloglucanen. Diese Ergebnisse stimmen prinzipiell mit den Erkenntnissen von DANDANELL und AMAN überein, die die Gesamt-Polysaccharid-Fraktion von Lupinenkotyledonen untersuchten [52].

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Monosaccharid-Zusammensetzung der löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Fraktion bei den Markerbsenfaserpräparaten signifikante Unterschiede aufweist, während die Polysaccharide der löslichen und unlöslichen Fraktion der Lupinenfaserpräparate offenbar ähnlich aufgebaut sind. Es kann also angenommen werden, dass es sich um gleich zusammengesetzte Polysaccharide handelt, deren Löslichkeitsverhalten lediglich durch die Molekülgröße bzw. unterschiedlich starke Vernetzung der Makromoleküle untereinander verursacht wird.

Zusätzlich zu den löslichen und unlöslichen Ballaststoff-Fractionen aus den Faserpräparaten wurden auch die entsprechenden Fraktionen aus den jeweiligen Rohstoffen präparativ isoliert und deren Monosaccharid-Zusammensetzung mittels HPAE-PED-Chromatographie untersucht. Dadurch sollte festgestellt werden, ob durch das jeweilige Herstellungsverfahren der Faserpräparate die Zusammensetzung der Ballaststoffkomponenten verändert wird. Es wurde angenommen, dass aufgrund der wässrigen Herstellungsverfahren der Präparate bestimmte Anteile der löslichen Ballaststoffe ausgewaschen wurden. Tatsächlich wurde festgestellt, dass bei der Gewinnung von Faserpräparaten aus Markerbsen und Lupinen mit Hilfe der

angewendeten nasstechnischen Verfahren ein Teil der löslichen Ballaststoff-Fraktion durch Auswaschen verloren ging. Der ausgewaschene Anteil setzte sich bei den Markerbsenfaserpräparaten hauptsächlich aus galactose- und glucosehaltigen Polysacchariden zusammen, während er bei den Lupinenfaserpräparaten aus arabinose-, mannose- und glucosehaltigen Polysacchariden bestand. Demgegenüber konnte gezeigt werden, dass die Monosaccharid-Zusammensetzung der in den **uNSP** von Markerbsen- und Lupinenkotyledonen vorkommenden Polysaccharide durch die jeweiligen Herstellungsverfahren der Faserpräparate nicht beeinflusst wurde.

Die Ergebnisse der sequentiellen Extraktion pektinartiger Polysaccharide und Hemicellulosen ergaben zunächst, dass mit den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen aus den beiden untersuchten Präparaten nur relativ geringe Anteile der insgesamt eingesetzten Ballaststoffmenge extrahiert werden konnten. Der in den Extraktionsrückständen verbliebene unlösliche Anteil war mit 73 % bei dem Markana-Präparat und 59 % bei dem Angustifolius-Präparat jeweils sehr groß. Zum Vergleich sei erwähnt, dass bei Untersuchungen von SELVENDRAN et al. an Zellwandmaterialien aus Kartoffeln der Anteil des unlöslichen Rückstandes nach der sequentiellen Extraktion nur 32 % betrug [39].

Die bei der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der Pektinextrakte erzielten Ergebnisse stimmten prinzipiell mit denen der **INSP**- und **uNSP**-Fraktionen überein und deuteten ebenfalls darauf hin, dass die in den Kotyledonen von Lupinen vorkommenden Nichtstärke-Polysaccharide eine relativ einheitliche Monosaccharid-Zusammensetzung besitzen. In allen fünf Extrakten war die Galactose mit 63-76 % das vorherrschende Monosaccharid, an zweiter Stelle folgte jeweils die Arabinose mit 11-20 %. Deshalb wird das unterschiedliche Löslichkeitsverhalten der in den verschiedenen Extrakten enthaltenen Polysaccharide entweder auf eine unterschiedlich starke Verzweigung der Polymere oder auf unterschiedliche Molekülgrößen zurückgeführt.

Im Gegensatz dazu besaßen die Polysaccharide der verschiedenen Extrakte aus dem Markana-Präparat unterschiedliche Monosaccharid-Zusammensetzungen, d. h. die einzelnen Zellwandbestandteile bestanden hier offenbar aus unterschiedlichen Arten von Polymeren. Die Unterschiede bezüglich der Löslichkeit der einzelnen Polysaccharid-Fractionen können folglich darauf zurückzuführen sein, dass es sich um chemisch verschiedene Substanzen handelt. Insbesondere wurde festgestellt, dass die Sekundärwände der Zellen aus Markerbsen-Kotyledonen zu einem sehr großen Teil nur aus Galacturonsäure bestehen, da der Gehalt an Galacturonsäure in demjenigen Extrakt, der laut Literatur die löslichen Pektine und pektinartigen Polysaccharide aus der Sekundärwand enthält, mit 42 % außergewöhnlich groß war [39].

Weiterhin wurden die Molekulargewichtsverteilungen der löslichen Polysaccharid-Fractionen mit Hilfe der HP-SEC/MALLS-Chromatographie untersucht. Die Molekulargewichte der unlöslichen Ballaststoffkomponenten konnten aufgrund bisher noch fehlender analytischer Verfahren nicht ermittelt werden. Es konnte bisher noch kein geeignetes Verfahren entwickelt werden, mit dem die isolierten **uNSP**-Fraktionen der vier Faserpräparate vollständig in Lösung gebracht werden konnten. Als Voraussetzung für eine Trennung und Detektion der Moleküle mit Hilfe der vorhandenen Analysetechnik ist es jedoch notwendig, dass das Probenmaterial vollständig gelöst und in so hoher Verdünnung vorliegt, dass die Moleküle sich nicht gegenseitig beeinflussen.

Die rein qualitative Auswertung der HP-SEC/MALLS-Chromatogramme der löslichen Ballaststoff-Fractionen aus den verschiedenen Faserpräparaten ergab zunächst, dass die **INSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten aus drei verschiedenen Arten von Polysacchariden mit unterschiedlichen mittleren Molekulargewichten bestehen, die durch drei Peakmaxima innerhalb der Chromatogramme repräsentiert wurden. Bei der Untersuchung der **INSP** aus den beiden Lupinenfaserpräparaten stellte sich heraus, dass die hier vorhandenen Polysaccharide, im Gegensatz zu den entsprechenden Präparaten aus Markerbsen, relativ homogen aufgebaut sind, weil in den Lichtstreuochromatogrammen jeweils nur ein großer Peak detektiert wurde. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Resultaten der Untersuchung der Monosaccharid-Zusammensetzung der **INSP** aus den Lupinenfaserpräparaten.

Außerdem wurden mit Hilfe der Software ASTRA nach manueller Festlegung einer Basislinie und des Peakbereichs aus den HP-SEC/MALLS-Chromatogrammen verschiedene Mittelwerte für die Molekulargewichte sowie die Polydispersitäten der untersuchten **INSP**-Fraktionen errechnet. Dabei stellte sich heraus, dass die Gewichtsmittelwerte sowie auch die Polydispersitäten für die beiden **INSP**-Proben aus den Lupinenfaserpräparaten sehr ähnlich waren. Zwischen **INSP**-Fraktionen aus den Markerbsenfaserpräparaten dagegen waren deutliche Unterschiede zu erkennen. Das Gewichtsmittel M_w war bei den löslichen Ballaststoffen aus dem Markana-Präparat mit $3,95 \times 10^6$ Dalton fast viermal so groß wie bei den löslichen Ballaststoffen aus dem Salout-Präparat ($1,11 \times 10^6$ Dalton).

Zusammenfassend lässt sich anhand der Ergebnisse feststellen, dass die Moleküle der **INSP** aus den Markerbsenfaserpräparaten vermutlich einen sehr breiten Molekulargewichtsbereich abdeckten, während die **INSP**-Moleküle aus den Lupinenfaserpräparaten enger verteilt waren.

Phenolische Carbonsäuren (PCS) stellen in Ballaststoffen zwar nur eine Minor-komponente dar, es ist jedoch bekannt, dass sie aufgrund ihrer Eigenschaft, Quervernetzungen zwischen Polysaccharid-Ketten auszubilden, großen Einfluss auf die physiko-chemischen Eigenschaften verschiedener Ballaststoffkomponenten haben können [24]. Aus diesem Grund wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch das

Vorhandensein solcher PCS mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie untersucht. Aufgrund der ermittelten Ergebnisse ist allerdings davon auszugehen, dass das Vorhandensein von monomeren, estergebundenen PCS und Aldehyden keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbildung der physiko-chemischen Eigenschaften der untersuchten Faserpräparate hat. Die Präparate, insbesondere die aus Lupinen, enthielten zwar geringe Mengen an monomerer Ferulasäure, da jedoch keinerlei Dimere nachgewiesen werden konnten, ist eine Bildung von Polysaccharid-Quervernetzungen durch Diferulasäure-Ester äußerst unwahrscheinlich.

Schließlich wurden an den Faserpräparaten sowie an den daraus isolierten **uNSP**-Fraktionen oszillationsrheometrische Messungen durchgeführt, um Informationen über die viskoelastischen Eigenschaften und die komplexe Struktur der Polysaccharide in wässriger Dispersion zu erhalten. Dabei konnten fast alle untersuchten Präparate als klassische Dispersionen mit dominant elastischen Strukturen auf Partikelbasis charakterisiert werden. Aufgrund der Messergebnisse ist davon auszugehen, dass die Teilvernetzungen und Verhakungen der Partikel auf physiko-chemischen Wechselwirkungen der Feststoffpartikel untereinander beruhen, jedoch keine chemischen Netzwerkstrukturen wie bei wirklichen Gelen gebildet werden. Eine Ausnahme bildete in dieser Beziehung das Angustifolius-Präparat, das bei niedrigen Messfrequenzen ($< 0,8$ Hz) überwiegend viskose Eigenschaften besaß.

Mit Hilfe der durchgeführten Untersuchungen konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Ausprägung der viskoelastischen Eigenschaften sowohl zwischen den Markerbsen- und Lupinenfaserpräparaten im Allgemeinen als auch zwischen den zwei verschiedenen Sorten von Markerbsen und Lupinen festgestellt werden. So zeigte sich z. B., dass die Dispersionen aus den Markerbsenfaserpräparaten eine höhere Stabilität gegenüber einer ansteigenden mechanischen Belastung besaßen als die der Lupinenfaserpräparate. Somit wurden auch die stabilsten Dispersionsstrukturen bei den Markerbsenfaserpräparaten erst bei höheren Schubspannungen erreicht als bei den Lupinenfaserpräparaten. Die bei den Amplitudensweeps erreichten absoluten Werte für den Speichermodul G' waren für die Markerbsenfaserpräparate um etwa eine Zehnerpotenz größer als die für die Lupinenfaserpräparate.

Die oszillationsrheologischen Untersuchungen der aus den Faserpräparaten isolierten **uNSP**-Fraktionen zeigten, dass für die Ausprägung der viskoelastischen Eigenschaften der vier im Pilot-Maßstab hergestellten Faserpräparate nicht nur die unlöslichen Nichtstärke-Polysaccharide verantwortlich sind, sondern offenbar auch die übrigen Inhaltstoffbestandteile, die bei den unterschiedlichen Präparaten zwischen 32 % und 38 % der Trockensubstanz ausmachten. Dabei scheint bei den Markerbsenfaserpräparaten in Bezug auf die Ausbildung einer stabilen Struktur in wässriger Dispersion eine eher synergistische Wirkung zwischen den **uNSP** und den **INSP** vorhanden gewesen zu sein. Inwieweit auch die Anteile an Stärke und Protein eine Rolle spielten, kann hier nicht mit Bestimmtheit gesagt werden.

Demgegenüber zeigten die Lupinenfaserpräparate ein völlig anderes rheologisches Verhalten als die Markerbbsenfaserpräparate. Obwohl auch diese Faserpräparate gute Wasserbindungseigenschaften besaßen, wirkten hier offenbar die unlöslichen und löslichen Polysaccharide eher antagonistisch in Bezug auf die Herausbildung einer stabilen Struktur mit dominanter Festkörperkomponente in wässriger Dispersion.

6 Literaturverzeichnis

- [1] BURKITT, D. R., and PAINTER, N. S.: Dietary fiber and disease. *J. Am. Med. Assoc.* 229 (1974), 1068-1074.
- [2] deVRIES, J. W., PROSKY, L., LI, B., and CHO, S.: A historical perspective on defining dietary fiber. *Cereal Foods World* 44 (1999), 367-369.
- [3] GORDON, D. T.: Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. *Cereal Foods World* 34 (1989), 517-525.
- [4] BLENFORD, D.: Getting to grips with dietary fibre. *Food Ingredients and Analysis International* 18 (1996), 19-20.
- [5] OLDS SCHNEEMAN, B.: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Technology* 2 (1986), 104-110.
- [6] SELVENDRAN, R. R., STEVENS, B. J. H., and Du PONT, M. S.: Dietary fiber: Chemistry, analysis and properties. *Adv. Food Res.* 31 (1987), 117.
- [7] SCHERZ, H.: Regeln der Konsistenz. *Lebensmitteltechnik* 6 (1997), 52-54.
- [8] THIBAUT, J.-F., LAHAYE, M., and GUILLON, F.: Physico-chemical properties of food plant cell walls. In: *Dietary Fibre – A component of food*. T. F. SCHWEIZER and C. A. EDWARDS (eds), Springer Verlag, London (1992), 21-39.
- [9] NIEMANN, C., LÄMMICHE, S. und MEUSER, F.: Ballaststoff statt Stärke – Einsatzmöglichkeiten von Ballaststoffpräparaten aus Markerbsen, Lupinen und Weizenhalmen. *Lebensmitteltechnik* 31 (1999), 16-19.
- [10] MEUSER, F. und NIEMANN, C.: Isolierung von Fasern aus Markerbsen und Charakterisierung ihrer strukturellen und physiko-chemischen Eigenschaften im Vergleich zu Fasern aus Palerbsen, Lupinen und Weizen im Hinblick auf ihre Verwendung als qualitätsverbessernde Lebensmittelzutaten. Abschlußbericht zum AIF-Forschungsprojekt 10500 N, (1998).
- [11] PFEIFFER, G., GUTMANN, M. und MÜLLER, B.: Lebensmittel aus Lupinen – Möglichkeiten der industriellen Verarbeitung. *Lebensmitteltechnik* 3 (1997), 44-46.
- [12] FELDHEIM, W.: Sweet lupine flour – a very healthy asset. *J. Food Ingrid.* 5 (1998), 25-26.
- [13] PFOERTNER, H. P., and FISCHER, J.: Dietary fibres of lupines and other grain legumes. In: *Advanced dietary fibre technology*. B. V. McCLEARY and L. PROSKY (eds), Blackwell Science (2001), 361-366.

- [14] Verfahren und Vorrichtung zum Entzug der Bitterstoffe von Lupinen. PCT/EP82/ 00164. Anmelder: Mittex AG, Vaduz.
- [15] Verfahren zur Behandlung und Verarbeitung alkaloid-, öl- und proteinhaltiger Lupinensamen. DE 198 13207.7-41. Anmelder: Fraunhofer Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V., München.
- [16] MEUSER, F., PAHNE, N., and MÖLLER, M.: Yield of starch and by-products in the processing of different varieties of wrinkled peas on a pilot scale. *Cereal Chem.* 74 (1997), 364-370.
- [17] MEUSER, F., PAHNE, N., and MÖLLER, M.: Extraction of high amylose starches from wrinkled peas. *Starch/Stärke* 47 (1995), 56-61.
- [18] STUTE, R.: Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten von Erbsenstärken, Teil 2: Anwendungsmöglichkeiten. *Starch/Stärke* 42 (1990), 207-212.
- [19] QUEMENER, B., LAHAYE, M., and THIBAUT, J.-F.: Studies on the simultaneous determination of acidic and neutral sugars of plant cell wall materials by HPLC. *Carbohydr. Polym.* 20 (1993), 87-94.
- [20] YU, L.-P., and ROLLINGS, J. E.: Low-Angle Laser Light Scattering – Aqueous size exclusion chromatography of polysaccharides: Molecular weight distribution and polymer branching determination. *J. Appl. Polym. Sci.* 33 (1987), 1909-1921.
- [21] BRÜMMER, T., MEUSER, F., van Lengerich, B., and NIEMANN, C.: Effect of extrusion cooking on molecular parameters of corn starch. *Starch/Stärke* 54 (2002), 1-8.
- [22] WINDHAB, E.: Allgemeine rheologische Messprinzipie, Geräte und Methoden. In: *Rheologie der Lebensmittel*. D. WEIPERT, H.-D. TSCHEUSCHNER und E. WINDHAB (Hrsg.), Behr's Verlag, Hamburg (1993), 173-218.
- [23] KUNZEK, H., OPEL, H., and SENGE, B.: Rheological examination of material with cellular structure. II. Creep and oscillation measurements of apple material with cellular structure, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 205 (1997), 193-203.
- [24] BUNZEL, M.: Monomere und dimere Phenolcarbonsäuren als strukturbildende Elemente in löslichen und unlöslichen Getreideballaststoffen. Dissertation Universität Hamburg, 2001.
- [25] REICHERT, R. D. and YOUNGS, C. G.: Nature of residual protein associated with starch fractions from air-classified field peas. *Cereal Chem.* 55 (1978), 469-480.

- [26] COLONNA, P., GALLANT, D., and MERCIER, C.: *Pisum sativum* and *Vicia faba* carbohydrates: Studies of fractions obtained after dry and wet protein extraction processes. *J. Food Sci.* 45 (1980), 1629-1639.
- [27] BILIADERIS, C. G., GRANT, D. R., and VOSE, J. R.: Molecular weight distribution of legume starches by gel chromatography. *Cereal Chem.* 58 (1979), 475-480.
- [28] GABRIEL-BLANKE, E., WIEGE, B. und KEMPF, W.: Gewinnung von Erbsenstärke im Technikumsmaßstab. In: Schriftenreihe des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A, Heft 380. Bundesamt für Ernährung und Forstwirtschaft (Hrsg.). Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup, (1990), 239-247.
- [29] FUHRMEISTER, H.: Herstellung von Proteinprodukten auf der Grundlage eines Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Markerbsen. Dissertation Technische Universität Berlin, 2001.
- [30] MEUSER, F., MÖLLER, M., PAHNE, N., FUHRMEISTER, H. und RUBACH, K.: Entwicklung eines Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Erbsen mit hohem Amylosegehalt und Aufarbeitung der anfallenden Nebenprodukte. Abschlußbericht zum BMFT-Forschungsvorhaben Nr. 0319496A, (1996).
- [31] MEUSER, F.: Technological aspects of dietary fibre. In: Advanced dietary fibre technology. B. V. McCLEARY and L. PROSKY (eds), Blackwell Science (2001), 248-269.
- [32] ÅMAN, P.: Composition and structure of cell wall polysaccharides in forages. In: Forage cell wall structure and digestibility. H. G. JUNG, D. R. BUXTON, R. D. HATFIELD, and J. RALPH (eds), ASA-CSSA-SSSA, Madison (1993), 183-199.
- [33] PFANNHAUSER, W., PECHANEK, U. und SANFTL, B.: Ballaststoffe: Begriffsbestimmung und Analytik – Eine Literaturübersicht. *Ernährung/Nutrition* 11 (1983), 619-625.
- [34] SARKANEN, K. V., and LUDWIG, C. H.: Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions. Wiley-Interscience, New York (1971).
- [35] HERRMANN, K.: Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28 (1989), 315-347.
- [36] HERRMANN, K.: Hydroxycimtsäure-Verbindungen als biologisch aktive Inhaltsstoffe von Lebensmitteln. *Ernähr.-Umsch.* 38 (1991), 148-154.
- [37] WILSON, J. R.: Organization of forage plant tissues. In: Forage cell wall structure and digestibility. H. G. JUNG, D. R. BUXTON, R. D. HATFIELD, and J. RALPH (eds), ASA-CSSA-SSSA, Madison (1993), 1-32.

- [38] CARPITA, N. C. and GIBEAUT, D. M.: Structural models of the primary walls of flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3 (1993), 1-30.
- [39] SELVENDRAN, R. R., and McDOUGALL, A. J.: Cell-wall chemistry and architecture in relation to sources of dietary fibre. *Eur. J. Clin. Nutr.* 49 (1995), 27-41.
- [40] MORR, C. V. and HA, E. Y. W.: Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33 (1993), 431-476.
- [41] SCHULZE, J. und BOCK, W.: Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung. Behr's Verlag, Hamburg, 1993.
- [42] WALLINGFORD, L. and LABUZA, T. P.: Evaluation of the water binding properties of food hydrocolloids by physical/chemical methods and in a low fat meat emulsion. *J. Food Sci.* 48 (1983), 1-5.
- [43] REY; D. K. and LABUZA, T. P.: Characterization of the effect of solutes on the water binding and gel strength properties of carrageenan. *J. Food Sci.* 46 (1981), 786-789.
- [44] BIRKNER, H.-J. and KERN, F.: In vitro adsorption of bile salts to food residues, salicylazosulfapyridine, and hemicellulose. *Gastroenterology* 67 (1974), 237-241.
- [45] BURCZAK, J. D. and KELLEG, T. F.: Binding of cholate, deoxycholate and chenodeoxycholate in vitro by various sites and sizes of fiber materials. *Nutr. Rep. Int.* 19 (1979), 261-267.
- [46] EASTWOOD, M. A. and MITCHELL, W. D.: Physical properties of fiber: A biological evaluation. In: G. A. SPILLER and R. J. AMEN, (eds): *Fiber in human nutrition*. Plenum Press, New York (1976), 109-129.
- [47] BOCK, W. und OHM, G.: Einfluss der gewachsenen biologischen Struktur auf die Wasserbindungskapazität ausgewählter Obst- und Gemüsepräparate. *Nahrung* 27 (1983), 205-210.
- [48] TERNES, W.: *Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung*. Behr's Verlag, Hamburg, 1994.
- [49] DICKINSON, E.: *An introduction to food colloids* (Oxford Science Publication). Oxford University Press, 1992.
- [50] TA Instruments Thermal Analysis & Rheology: Leitfaden der Rheologie – Fließversuch. Unterlagen zur Bedienung des CSL-Rheometers, TA Instruments, Alzenau, 1993.

- [51] MORRIS, E. R.: Assembly and rheology of non-starch polysaccharides. In: Advanced dietary fibre technology. B. V. McCLEARY and L. PROSKY (eds), Blackwell Science (2001), 30-41.
- [52] DANDANELL DAVEBY, Y. and ÅMAN, P.: Chemical composition of certain dehulled legume seeds and their hulls with special reference to carbohydrates. Swedish J. agric. Res. 23 (1993), 133-139.
- [53] EHLERS, B., GROSSKOPF, W., KAPPELMANN, K. H. und MEUSER, F. In: Schriftenreihe „Nachwachsende Rohstoffe“, Band 9. Hrsg. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn. Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster, 1997.
- [54] CERNING-BÉROARD, J. et FILIATRE-VEREL, A.: Etude comparée de la composition glucidique des graines de pois lisse et ride. Lebensm.-Wiss. Technol. 12 (1997), 273-280.
- [55] WEIGHTMAN, R. M., RENARD, C. M. G., and THIBAUT, J.-F.: Structure and properties of the polysaccharides from pea hulls. Part 1: Chemical extraction and fractionation of the polysaccharides. Carbohydr. Polym. 24 (1994), 139-148.
- [56] RALET, M.-C., DELLA VALLE, G., and THIBAUT, J.-F.: Raw and extruded fibre from pea hulls. Part I: Composition and physico-chemical properties. Carbohydr. Polym. 20 (1993), 17-23.
- [57] RALET, M.-C., SAULNIER, L., and THIBAUT, J.-F.: Raw and extruded fibre from pea hulls. Part II: Structural study of the water-soluble polysaccharides. Carbohydr. Polym. 20 (1993), 25-34.
- [58] QUEMENER, B.: Improvements in the High Pressure Liquid Chromatographic determination of amino sugars and α -galactosides in faba bean, lupine and pea. J. Agric. Food Chem. 36 (1988), 754-759.
- [59] REICHERT, R. D.: Quantitative isolation and estimation of cell wall material from dehulled pea (*pisum sativum*) and concentrates. Cereal Chem. 58 (1991), 266-270.
- [60] BRILLOUET, J.-M. and CARRÉ, B.: Composition of cell walls from cotyledons of *pisum sativum*, *vicia faba* and *glycine max*. Phytochem. 22 (1983), 841-847.
- [61] CARRÉ, B., BRILLOUET, J. M., and THIBAUT, J.-F.: Characterization of polysaccharides from white lupine (*lupinus albus*) cotyledons. J. Agric. Food Chem. 33 (1985), 285-292.
- [62] AL-KAISEY, M. T. and WILKIE, K. C. B.: The polysaccharides of agricultural lupine seeds. Carbohydrate Research 227 (1992), 147-161.

- [63] VORAGEN, A. G. J., SCHOLS; H. A., and GRUPPEN, H. In: Plant Polymeric Carbohydrates. F. MEUSER, D. MANNERS, and W. SEIBEL (eds), The Royal Society of Chemistry, Cambridge (1993), 3-15.
- [64] RABE, E., SEIBEL, W., SUCKOW, P. und MEUSER, F. : Vergleichende Bestimmungen von unlöslichen, löslichen und Gesamtballaststoffen in Getreideerzeugnissen. Getreide Mehl und Brot 42 (1988), 297-305.
- [65] ROMBOULTS, F. M. and THIBAUT, J.-F.: Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp. Carbohydrate Research 154 (1986), 177-187.
- [66] Deutsches Institut für Normung (1973) :EN ISO 1666, Bestimmung des Feuchtegehalts-Wärmeschrankverfahren.
- [67] Deutsches Institut für Normung (1983): EN ISO 760, Bestimmung des Wassergehaltes – Karl-Fischer-Verfahren.
- [68] Internationale Gesellschaft für Getreidechemie und –technologie (ICC) (1980). ICC-Standard Nr. 128, Verfahren zur Bestimmung der Stärke nach enzymatischem Aufschluss.
- [69] Deutsches Institut für Normung (1978) : EN ISO 3188, Bestimmung des Stickstoffgehalts nach dem Kjeldahl-Verfahren.
- [70] Deutsches Institut für Normung (1977) : EN ISO 3947, Bestimmung des Fettgehalts.
- [71] Deutsches Institut für Normung (1981) : EN ISO 3593, Bestimmung der Asche.
- [72] Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hrsg.), Methodenbuch, Band III, 3. Erg., Methode 6.5.1, 6.5.2 und 6.5.3. VDLUFA Verlag, Darmstadt 1993.
Bundesgesundheitsamt (Hrsg.), Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, Band I/3, Lebensmittel (L) Methode 00.0016/1, Beuth Verlag, Köln 1988.
- [73] GONI, I., GARCIA-DIZ, L., MANAS, E., and SAURA-CALIXTO, F: Analysis of resistant starch: A method for food and food products. Food Chemistry 56 (1996), 445-449.
- [74] BLUMENKRANTZ, N., and ASBOE-HANSEN, G.: New method for quantitative determination of uronic acids. Analyt. Biochem. 54 (1973), 484-489.
- [75] KRAUSE, M. und BOCK, W.: Zur Bestimmung und Charakterisierung der Pektinstoffe in Obst und Gemüse. Ernährungsforschung 18 (1973), 111-123.

- [76] ROBERTSON, J. A. : Profibre – Hydration Properties. Unveröffentlichte Ergebnisse, 1996. Thematic Network PROFIBRE, AIR3.CT94.2203 (1995-1997).
- [77] American Association of Cereal Chemists : Approved Methods of the AACC. Method 56-20: Hydration capacity of cereal products. The Association, St. Paul, MN, 1983.
- [78] ROBERTSON, J. A., de MONREDON, F. D., DYSSSELER, P., GUILLON, F., AMADO, R., and THIBAUT, J.-F. : Hydration properties of dietary fibre and resistant starch : A european collaborative study. *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* 33 (2000), 72-79.
- [79] NIEMANN, C. and WHISTLER, R. L.: Chromatographic separation of Tamarind seed gum oligosaccharides. In: *Progress in Plant Polymeric Carbohydrate Research*. F. MEUSER, D. MANNERS, and W. SEIBEL (eds), Behr's Verlag, Hamburg (1995), 81-85.
- [80] DeRUITER, G., SCHOOLS, H. A., VORAGEN, A. G. J., and ROMBOUTS, F.: Carbohydrate analysis of water soluble uronic acid-containing polysaccharides with High Performance Anion-Exchange Chromatography. *Anal. Biochem.* 207 (1992), 176-185.
- [81] Wyatt Technology Deutschland 1994. Eine kurze Einführung in die Ausschlusschromatographie – Vielwinkelstreulichtdetektor-Technik mit dem DAWN-F. Wyatt Technology Deutschland GmbH.
- [82] Showa Denko. Operation Manual No. 1141: Shodex OHPak SB-800 HQ series. Showa Denko, Tokyo, Japan.
- [83] Wyatt Technology Deutschland 1994. Instruction Manual Optilab DSP. Wyatt Technology Deutschland GmbH.
- [84] Wyatt Technology Corporation 1998. ASTRA for Windows User's Guide Version 4.70. Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA.
- [85] Wyatt Technology Corporation 1995. DNDC – User's Guide for the Optilab DSP. Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA.
- [86] Wyatt Technology Corporation 1995. EASI – Software Manual Version 6.0. Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA.
- [87] Wyatt Technology Corporation 1994. DAWN – Software Manual Version 2.04. Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA.
- [88] ZIMM, B. H.: The scattering of light and radial distribution function of high polymer solutions. *J. Chem. Phys.* 16 (1948), 1093-1099.
- [89] PRAZNIK, W.: Die Bestimmung der molekularen Zusammensetzung von Stärken und Stärkeprodukten mittels Gelchromatographie. *Acta Alimen. Pol.* 10 (1984), 125-142.

- [90] BUNZEL, M., ALLERDINGS, E., SINWELL, V., RALPH, J., and STEINHART, H.: Cell wall hydroxycinnamates in wild rice (*Zizania aquatica* L.) insoluble dietary fibre. *Eur. Food Res. Technol.* 214 (2002), 482-488.
- [91] LEE, S. C. and PROSKY, L.: International survey on dietary fibre: Definition, analysis and reference materials. *J. AOAC Int.* 78 (1995), 22-36.
- [92] BELO, P. F. and DeLUMEN, B. O.: Pectic substance content of detergent-extracted dietary fibres. *J. Agric. Food Chem.* 29 (1981), 370-373.
- [93] LAPASIN, R. and PRICL, S.: *Rheology of industrial polysaccharides.* Chapman & Hall, London 1992, 373-438.
- [94] ROSS-MURPHY, S. B.: Rheological methods. In: *Physical techniques for the study of food biopolymers*, S. B. ROSS-MURPHY (ed.), Blackie Academic and Professional, Glasgow (1994), 343-392.
- [95] McCLEARY, B. V. and HOLMES, G.: Enzymatic quantification of β 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4-D-glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.* 91 (1985), 285-295.
- [96] ANNISON, G., CHOCT, M., and CHEETHAM, N. W.: Analysis of wheat arabinoxylans from a large-scale isolation. *Carbohydr. Polym.* 19 (1992), 151-159.
- [97] NIEMANN, C., CARPITA, N. C., and WHISTLER, R. L.: Arabinose-containing oligosaccharides from tamarind xyloglucan. *Stärke/Starch* 49 (1997), 154-159.
- [98] CHEETHAM, N. W., CHEUNG, P. C. K., and EVANS, A. J.: Structure of the principal nonstarch-polysaccharide from the cotyledons of *lupinus angustifolius* (*C. gungurru*). *Carbohydr. Polym.* 22 (1993), 37-47.
- [99] HORN, F. M.: *Zellwandpolysaccharide als neue Rohstoffquellen – Isolierung und Charakterisierung der Polysaccharide aus den Faserstoffen von Markerbsen und Weizenkörnern.* Diplomarbeit, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 1995.
- [100] RYDEN, P. and SELVENDRAN, R. R.: Cell-wall polysaccharides and glycoproteins of parenchymatous tissues of runner bean (*phaseolus coccineus*). *Biochem. J.* 269 (1990), 393-402.
- [101] TIMPA, J. D.: Application of universal calibration in gel permeation chromatography for molecular weight determinations of plant cell wall polymers: Cotton fiber. *J. Agric. Food Chem.* 39 (1991), 270-275.
- [102] HARRIS, P. J. and HARTLEY, R. D.: Detection of bound ferulic acid in cell walls of the *Gramineae* by ultraviolet fluorescence microscopy. *Nature* 259 (1976), 508-510.

- [103] HARTLEY, R. D. and FORD, C. W.: Phenolic constituents of plant cell walls and wall biodegradability. In: Plant cell wall polymers, biogenesis and biodegradation. N. G. LEWIS and M. G. PAICE (eds), ACS, Washington DC (1989), 137-149.
- [104] SAULNIER, L, and THIBAUT, J.-F.: Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxylans. *J. Sci. Food Agric.* 79 (1999), 396-402.
- [105] RALET, M.-C., THIBAUT, J.-F., FAULDS, C. B., and WILLIAMSON, G.: Isolation and purification of feruloylated oligosaccharides from cell walls of sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.* 263 (1994), 227-241.
- [106] PACKERT, M.: Analytik und Bedeutung gebundener aromatischer Carbonsäuren der Nahrungsfaser aus Getreide und anderen Nutzpflanzen. Dissertation Universität Hamburg, 1993

7 Anhang

7.1 Tabellen

Tab. A1. Gehalt der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der *INSP* in den Faserpräparaten.

	Markana- Präparat	Salout- Präparat	Albus- Präparat	Angustifolius- Präparat
Monosaccharid	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]
Fucose	0,9	0,8	0,4	0,2
Arabinose	110,9	146,4	41,6	33,1
Rhamnose	5,3	6,3	6,1	7,0
Galactose	35,7	35,8	243,5	333,3
Glucose	21,8	14,5	7,1	5,4
Xylose	8,3	16,9	9,1	5,1
Mannose	116,0	67,4	29,9	22,2
Galacturonsäure	14,1	15,2	8,1	9,2
Glucuronsäure	7,6	6,1	4,6	3,1

Tab. A2. Gehalt der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der *INSP* in den Rohstoffen (Markerbsen und entfettete White Flakes aus Lupinen).

	Markana	Salout	Lupinus albus (White Flakes)	Lupinus angustifolius (White Flakes)
Monosaccharid	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]
Fucose	2,8	2,4	1,6	0,8
Arabinose	92,2	84,8	34,5	24,9
Rhamnose	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galactose	159,7	142,1	132,5	102,3
Glucose	83,7	87,6	14,9	9,1
Xylose	14,2	12,2	4,8	3,8
Mannose	166,0	169,8	117,5	73,3
Galacturonsäure	33,3	26,5	2,9	3,1
Glucuronsäure	20,8	17,6	4,6	3,5

Tab. A3. Gehalt der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der **uNSP** in den Faserpräparaten.

	Markana- Präparat	Salout- Präparat	Albus- Präparat	Angustifolius- Präparat
Monosaccharid	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]
Fucose	21,4	23,4	7,1	4,8
Arabinose	298,2	355,4	82,5	66,3
Rhamnose	14,1	14,3	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galactose	33,3	29,2	386,9	392,5
Glucose	190,7	192,4	62,7	23,3
Xylose	48,6	47,6	32,9	23,3
Mannose	5,5	6,9	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galacturonsäure	67,4	67,3	41,4	29,0
Glucuronsäure	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾

1) n. n. = nicht nachweisbar

Tab. A4. Gehalt der Monosaccharide im Abbaugemisch nach dem TFE-hydrolytischen Abbau der **uNSP** in den Rohstoffen (Markerbsen und entfettete White Flakes aus Lupinen).

	Markana	Salout	Lupinus albus (White Flakes)	Lupinus angustifolius (White Flakes)
Monosaccharid	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]	[mg g ⁻¹ BS]
Fucose	15,3	19,0	9,1	7,8
Arabinose	211,8	247,1	135,1	114,9
Rhamnose	13,1	14,4	n. n. ¹⁾	n. n. ¹⁾
Galactose	29,7	34,3	588,4	505,9
Glucose	531,2	489,9	81,5	68,3
Xylose	112,3	101,0	46,0	40,0
Mannose	8,6	11,2	4,7	2,8
Galacturonsäure	73,6	75,0	55,8	1,5
Glucuronsäure	2,1	2,6	1,5	1,4

1) n. n. = nicht nachweisbar

7.2 Abbildungen

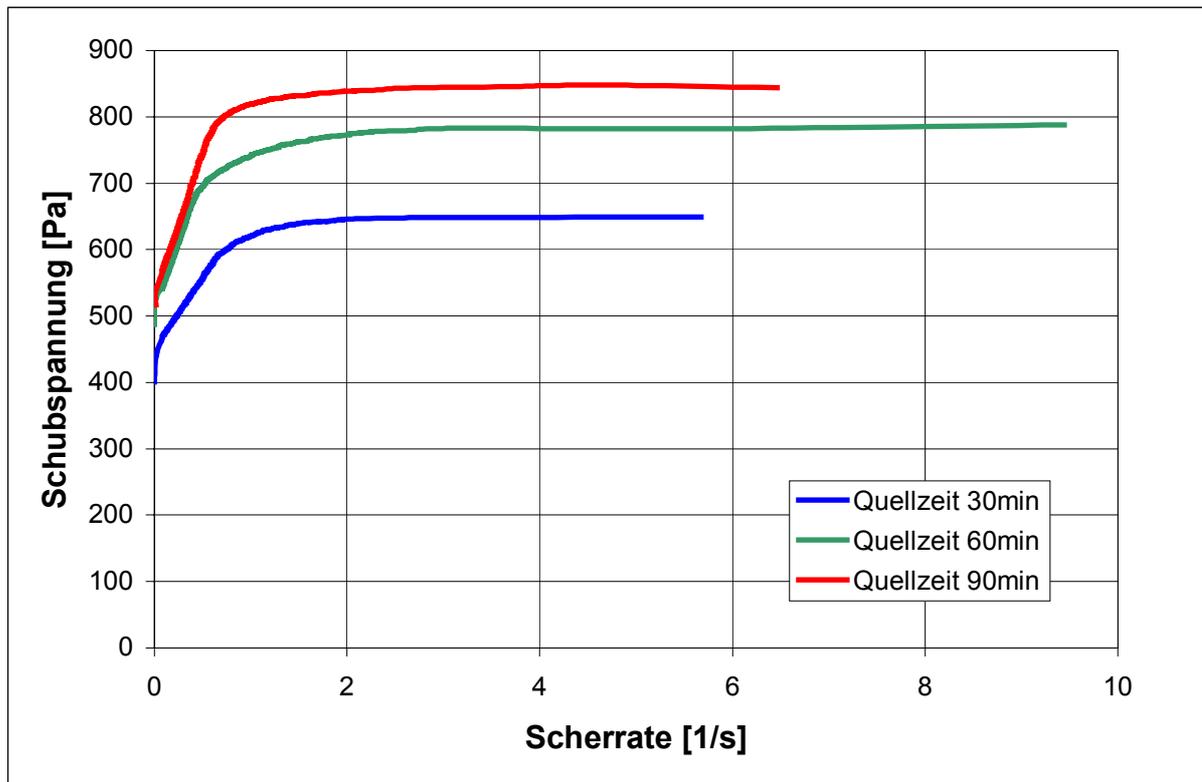


Abb. A1. Fließkurven des Markana-Präparates nach 30, 60 und 90 min Quellzeit.

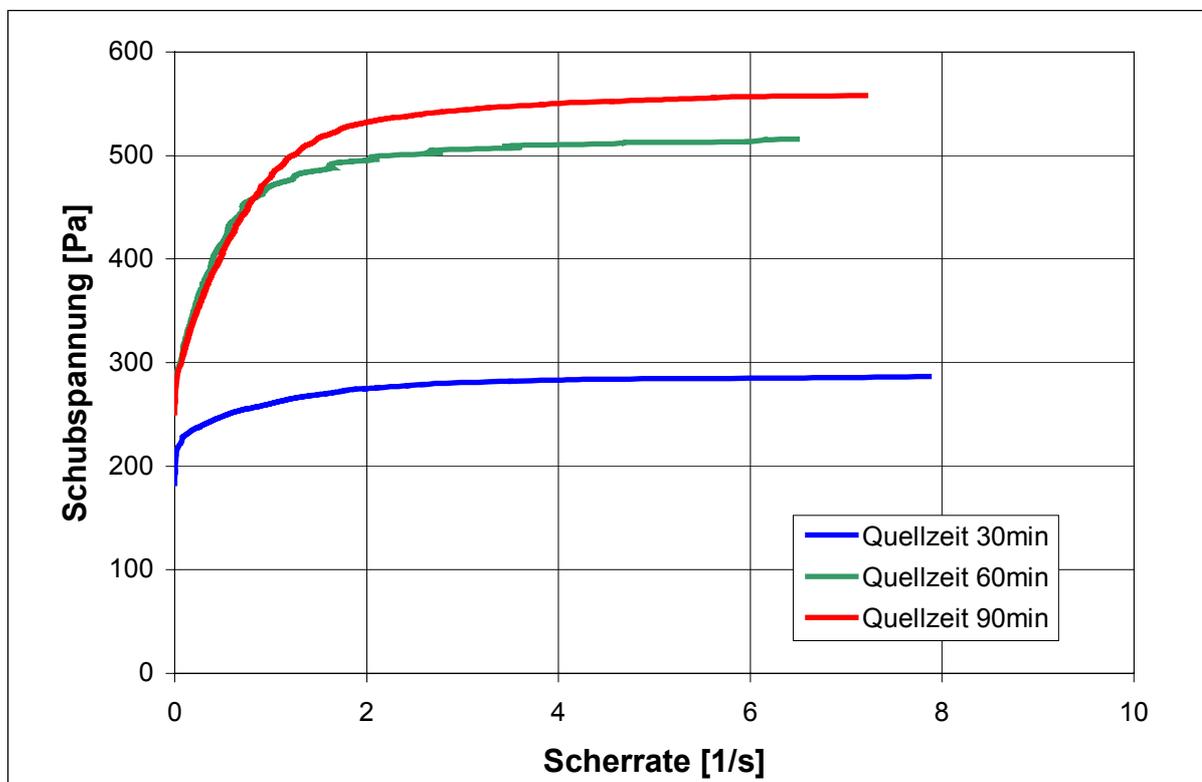


Abb. A2. Fließkurven des Salout-Präparates nach 30, 60 und 90 min Quellzeit.

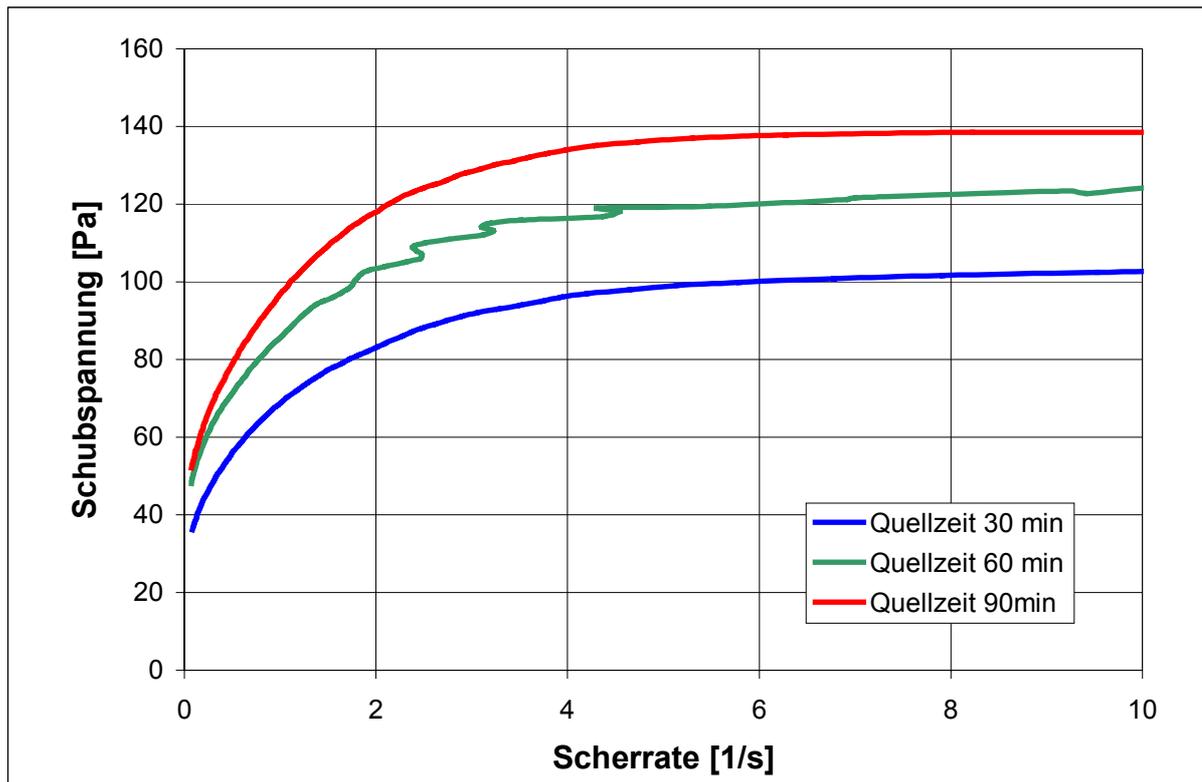


Abb. A3. Fließkurven des Albus-Präparates nach 30, 60 und 90 min Quellzeit.

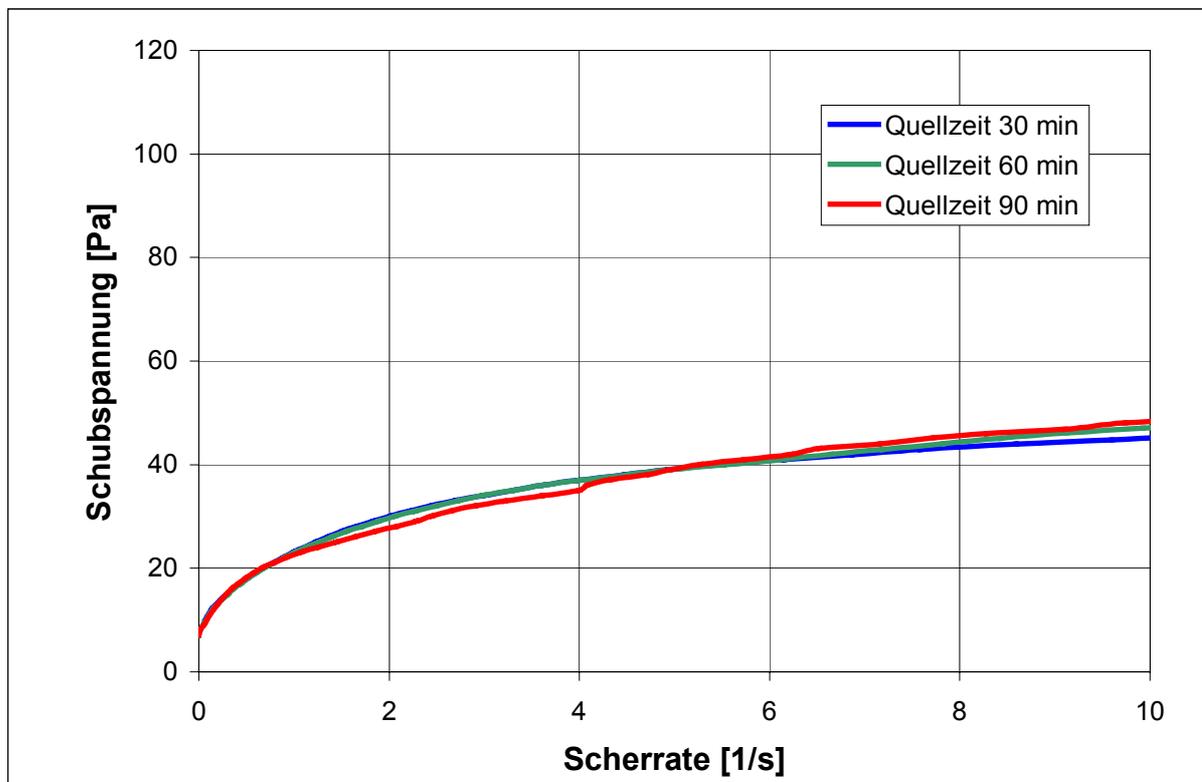


Abb. A4. Fließkurven des Angustifolius-Präparates nach 30, 60 und 90min Quellzeit.

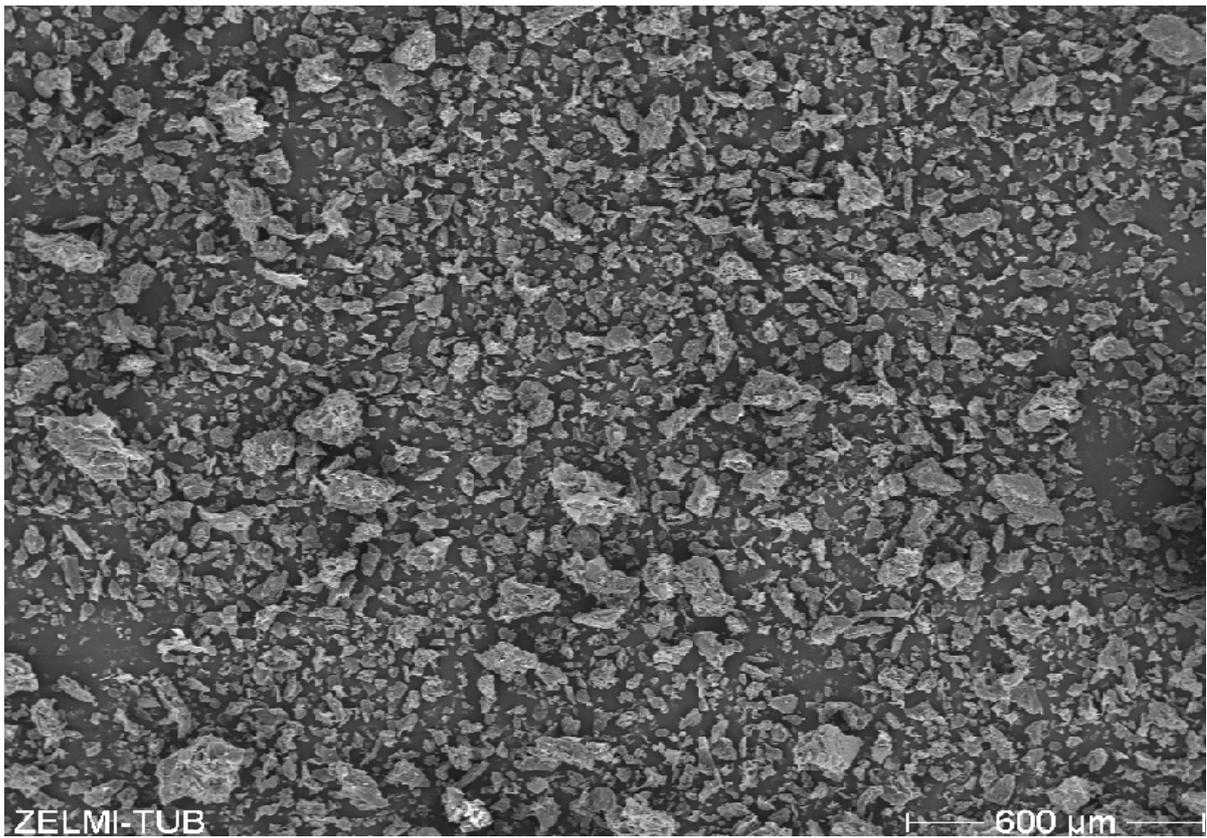


Abb. A5. REM-Aufnahme des Markana-Präparates (Übersicht).

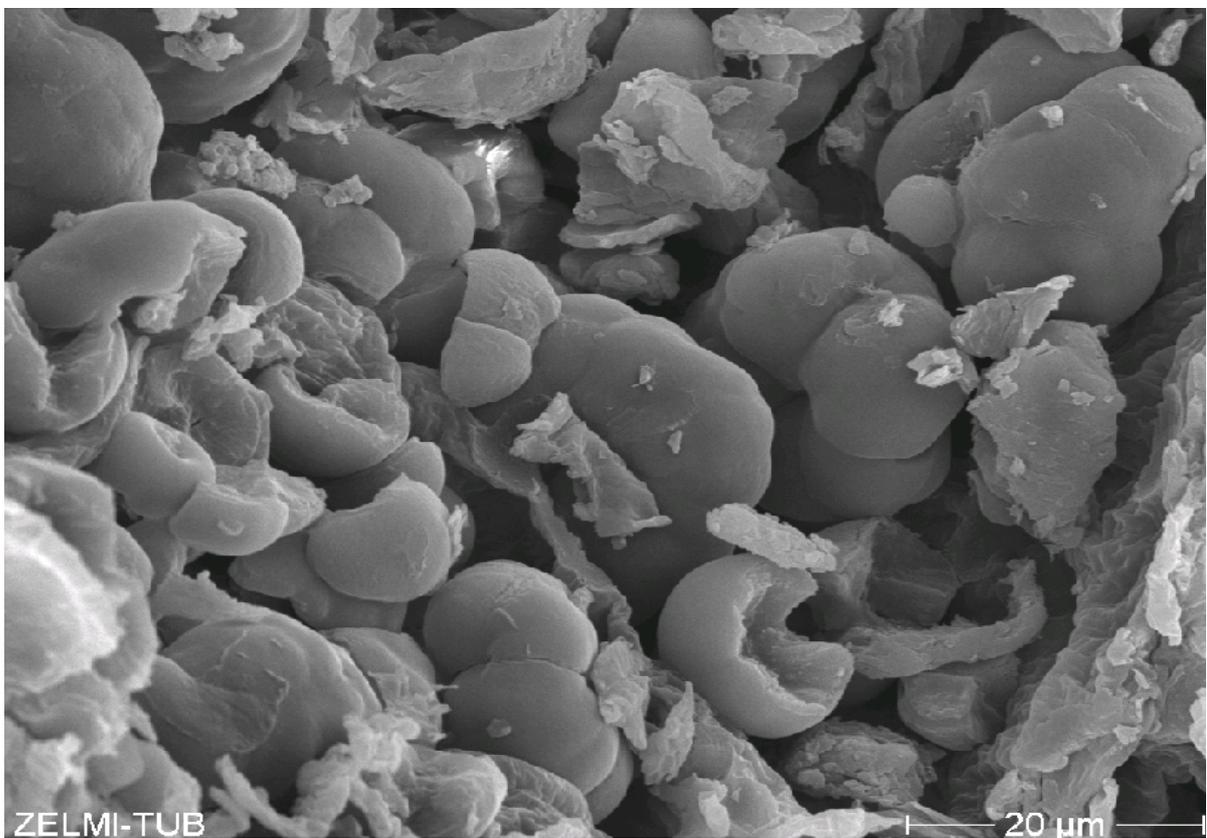


Abb. A6. REM-Aufnahme des Markana-Präparates (Detailansicht).

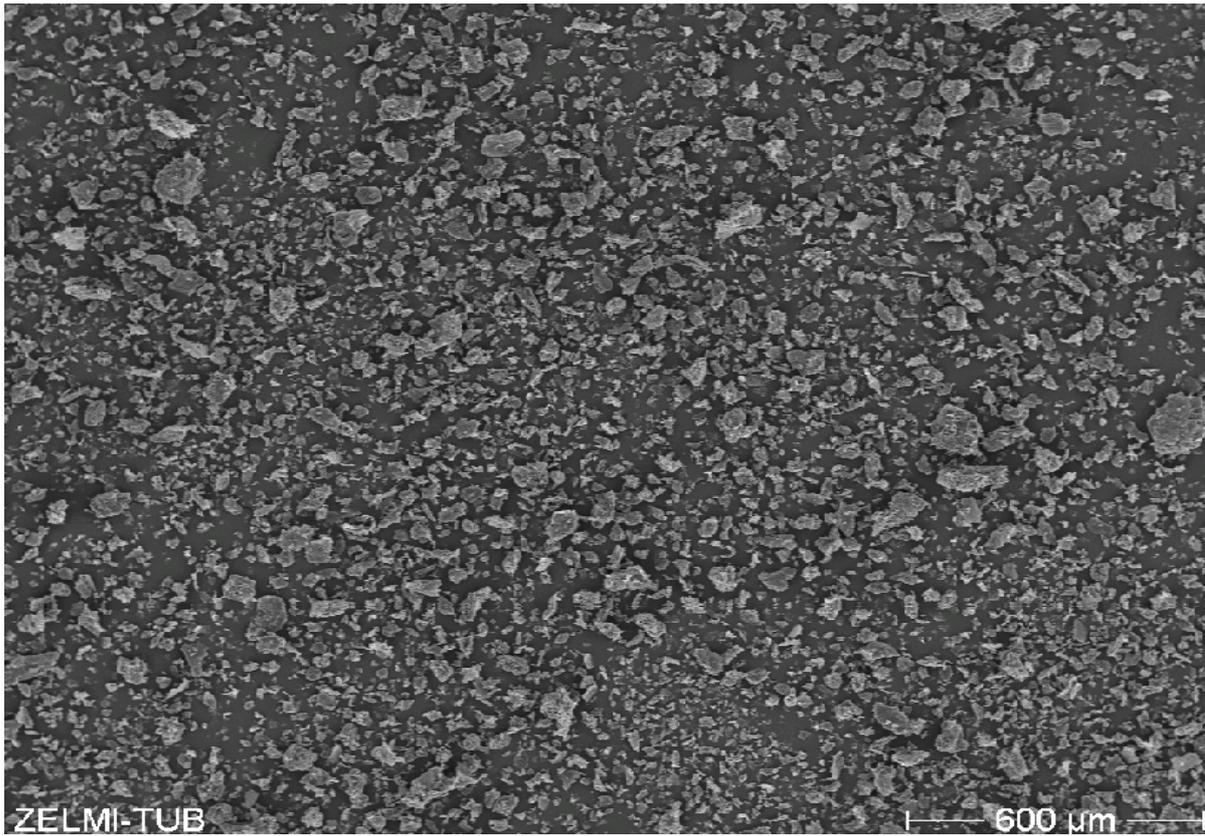


Abb. A7. REM-Aufnahme des Salout-Präparates (Übersicht).

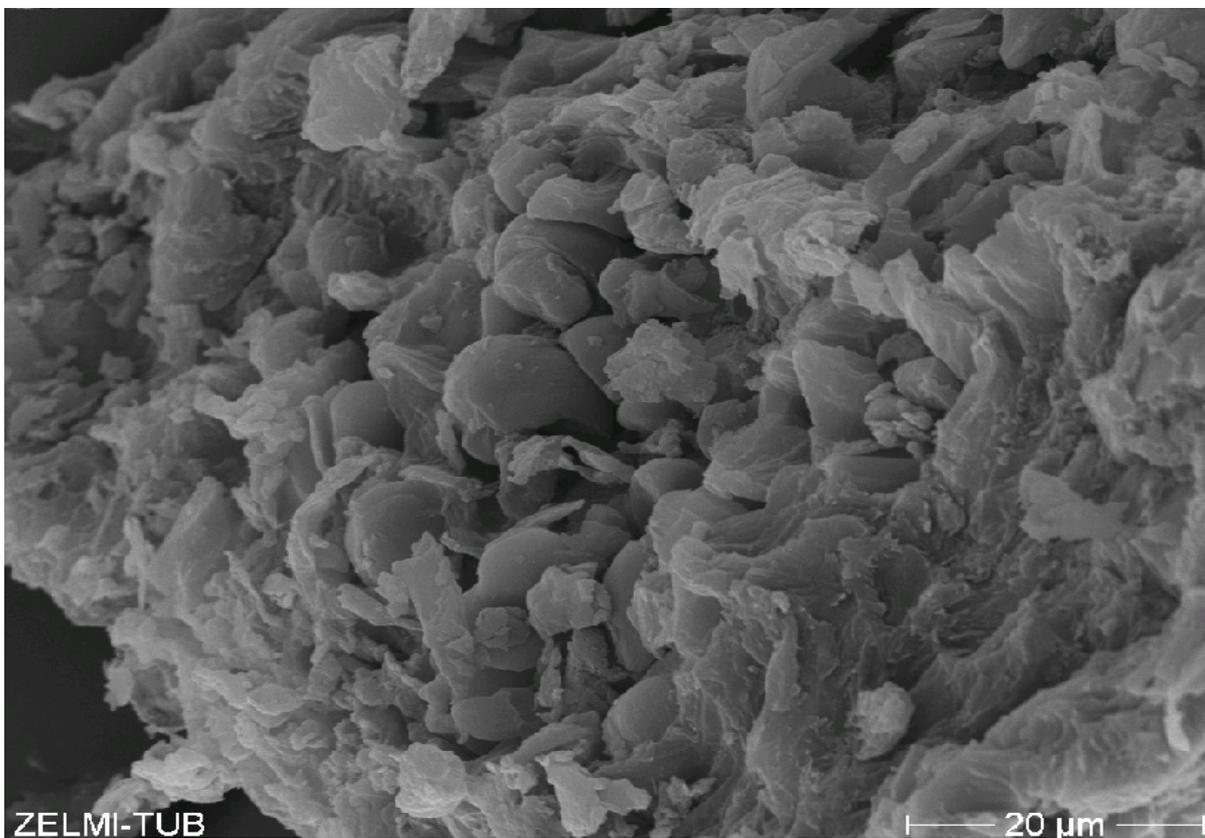


Abb. A8. REM-Aufnahme des Salout-Präparates (Detailansicht).

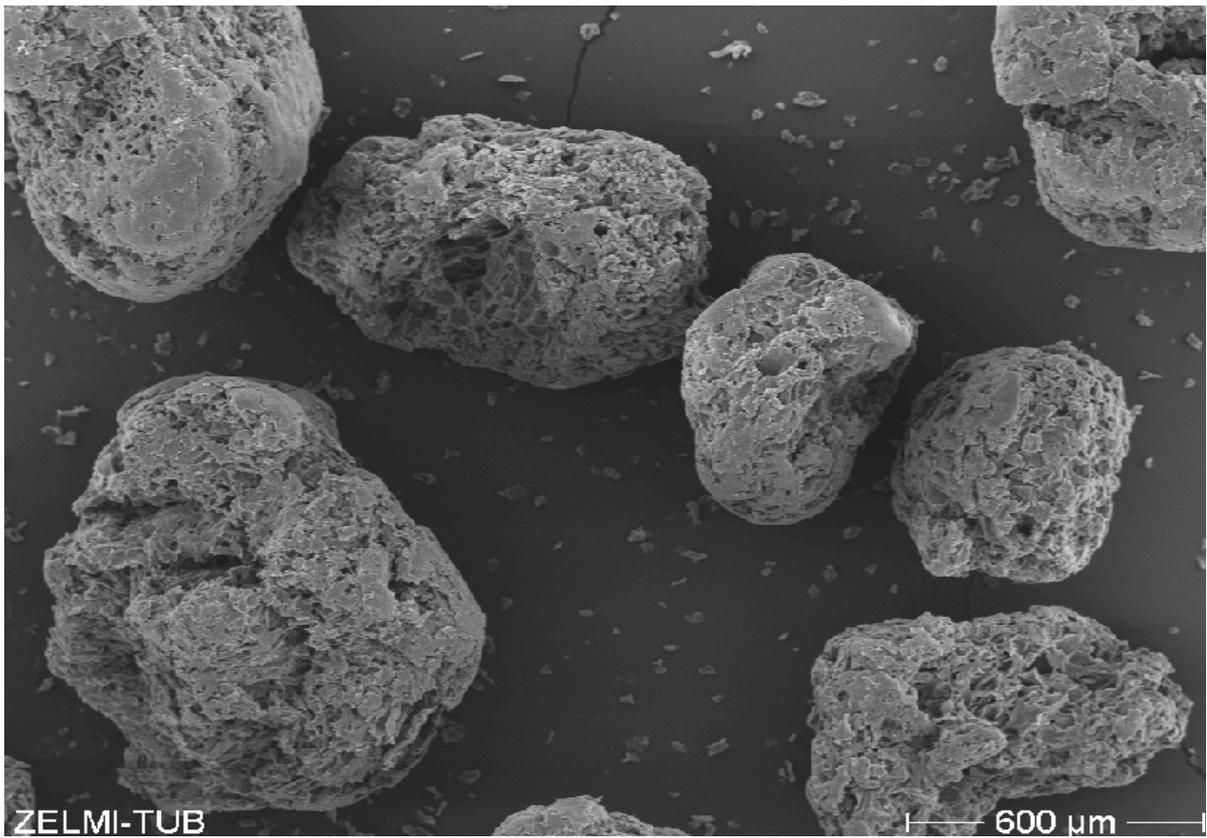


Abb. A9. REM-Aufnahme des Albus-Präparates (Übersicht).

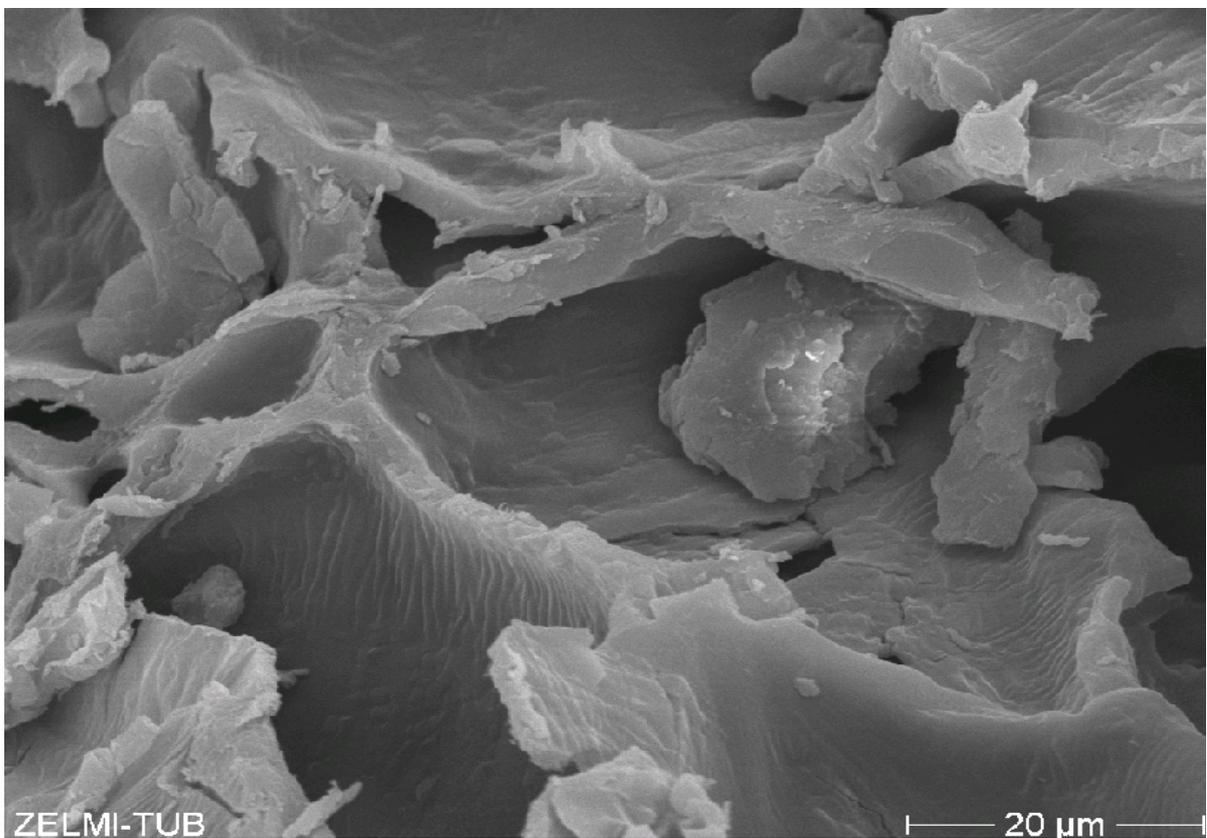


Abb. A10. REM-Aufnahme des Albus-Präparates (Detailansicht).

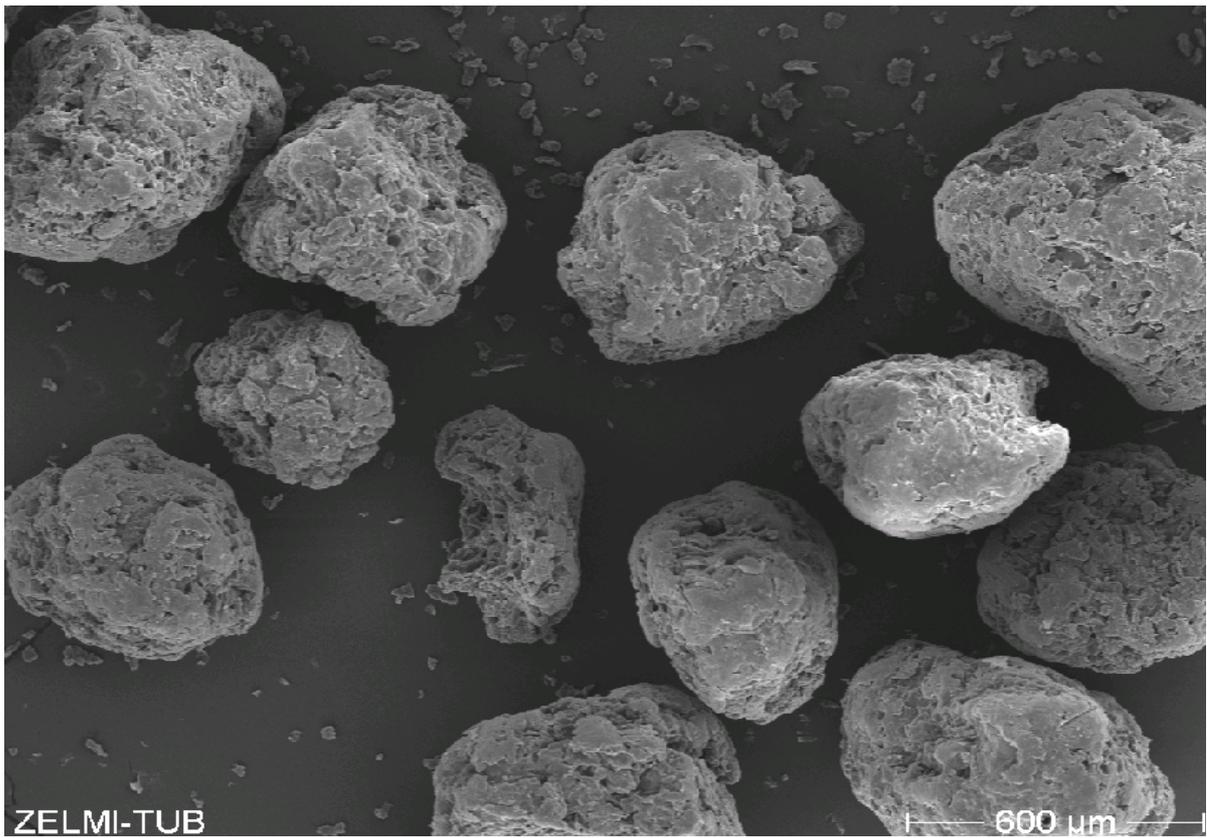


Abb. A11. REM-Aufnahme des Angustifolius-Präparates (Übersicht).

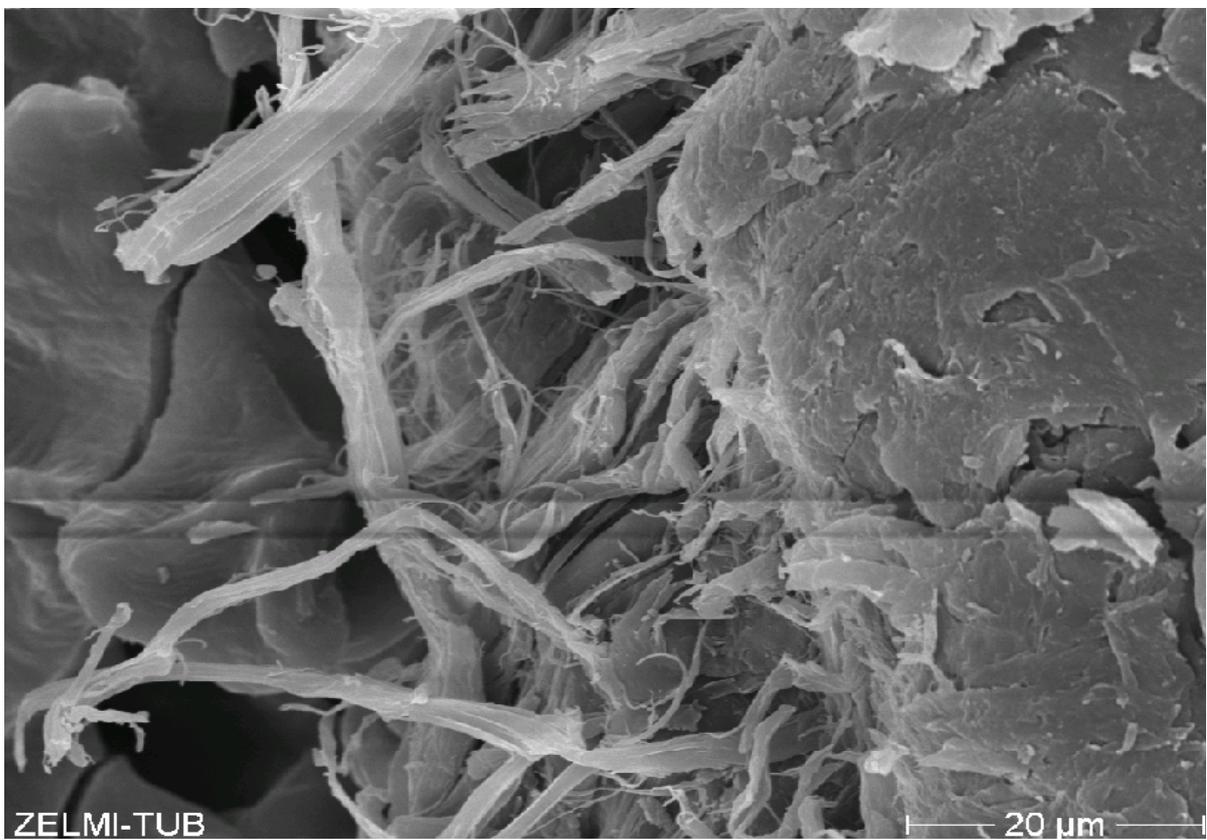


Abb. A12. REM-Aufnahme des Angustifolius-Präparates (Detailansicht).

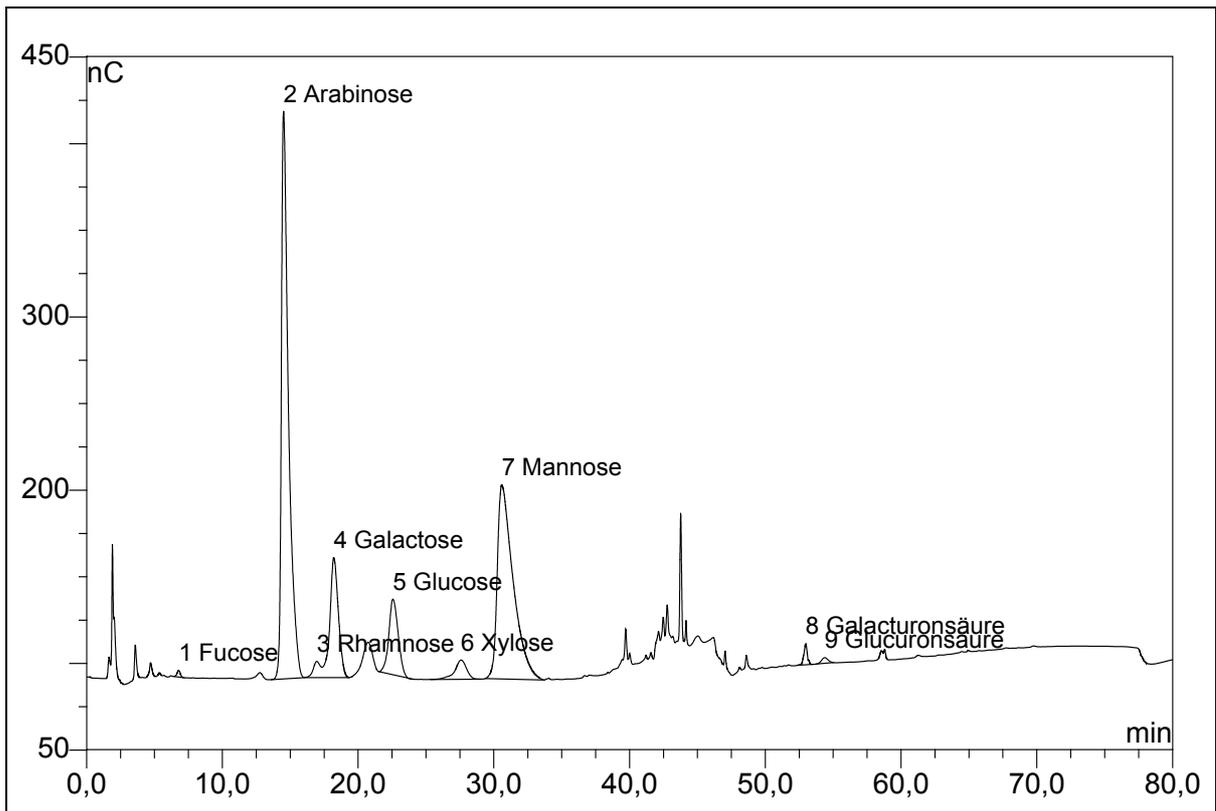


Abb. A13. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Markana-Präparates.

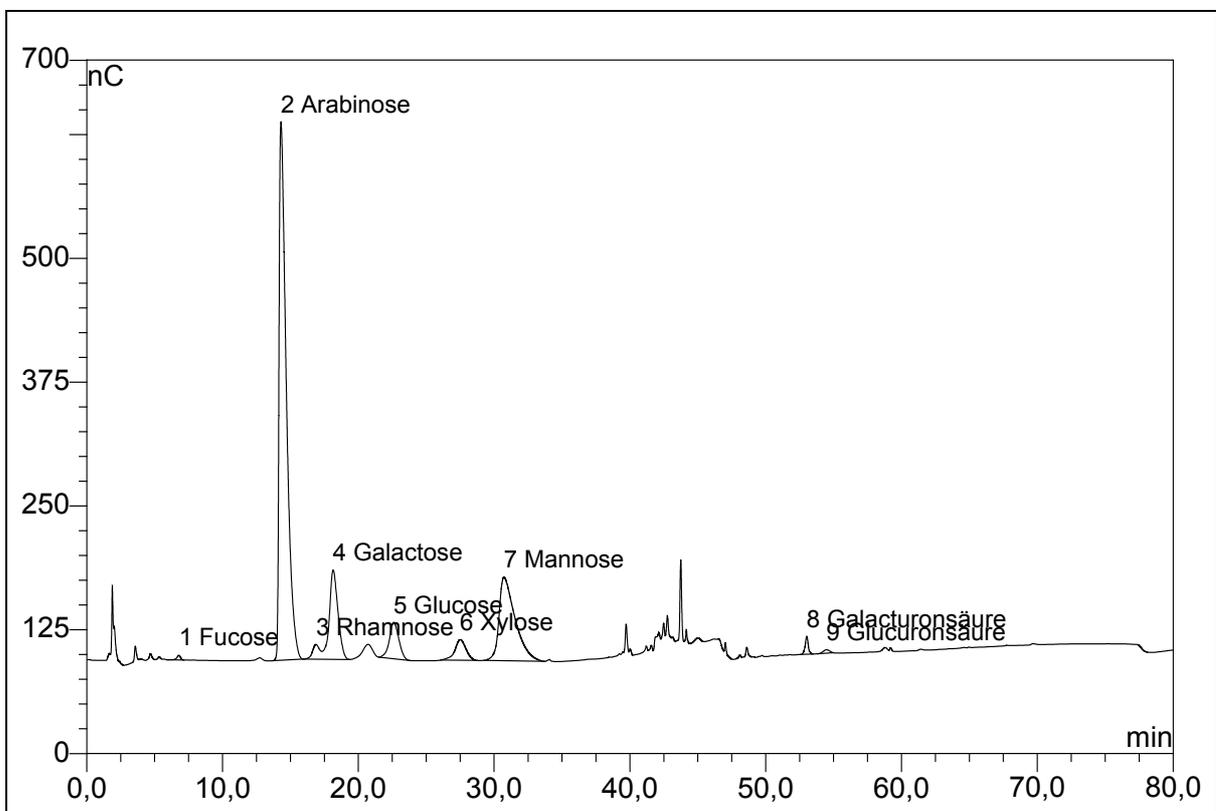


Abb. A14. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Salout-Präparates.

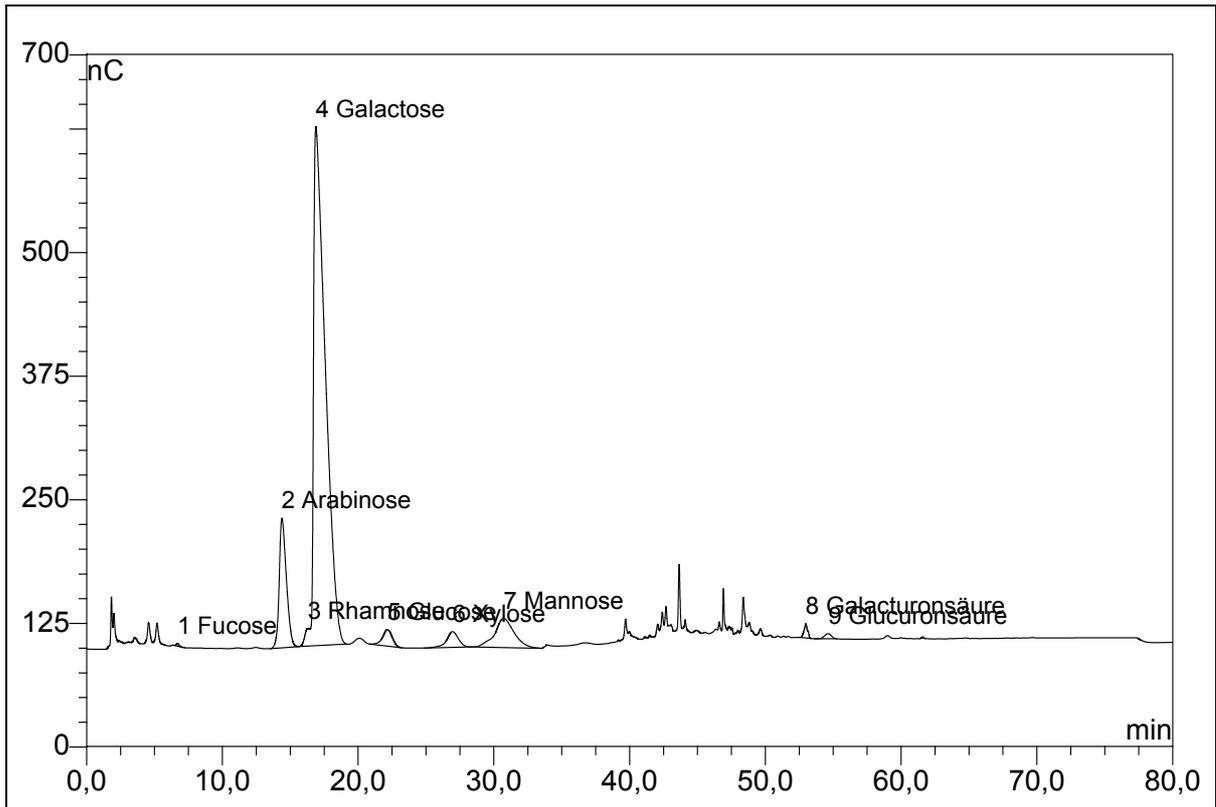


Abb. A15. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **INSP** des Albus-Präparates.

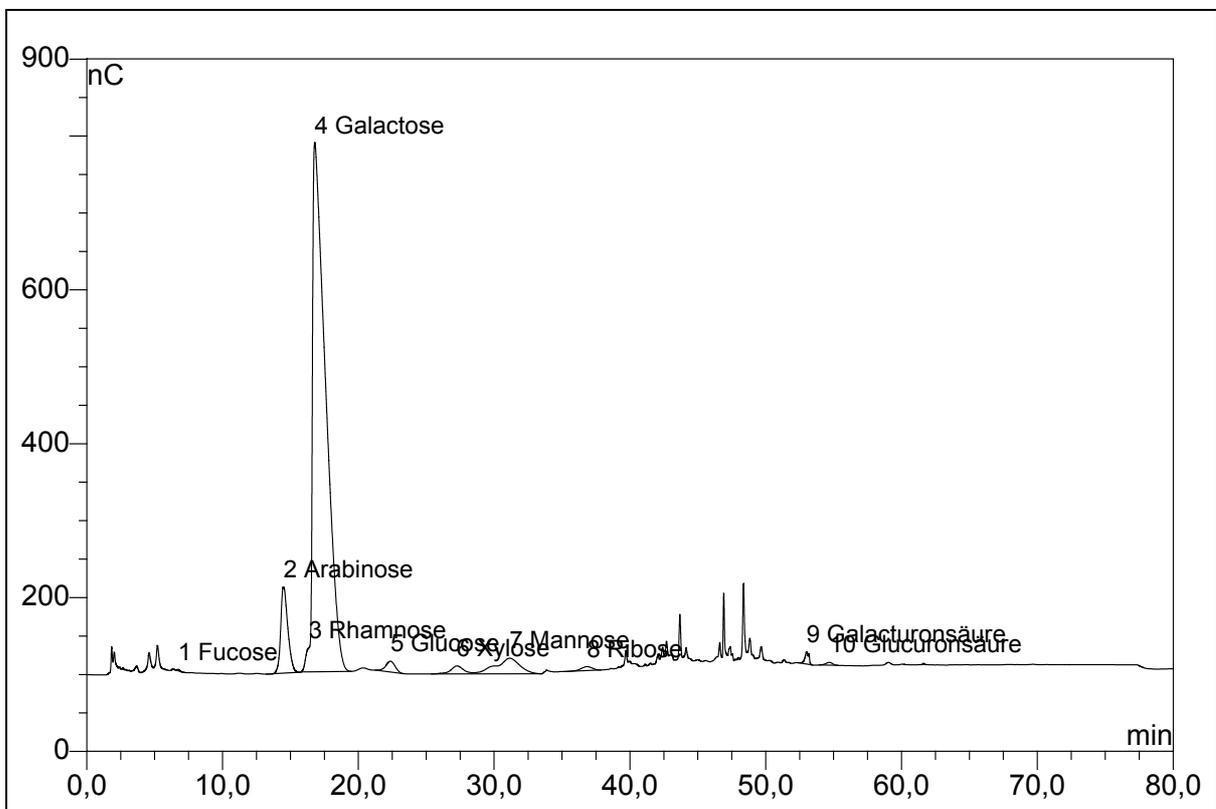


Abb. A16. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **INSP** des Angustifolius-Präparates.

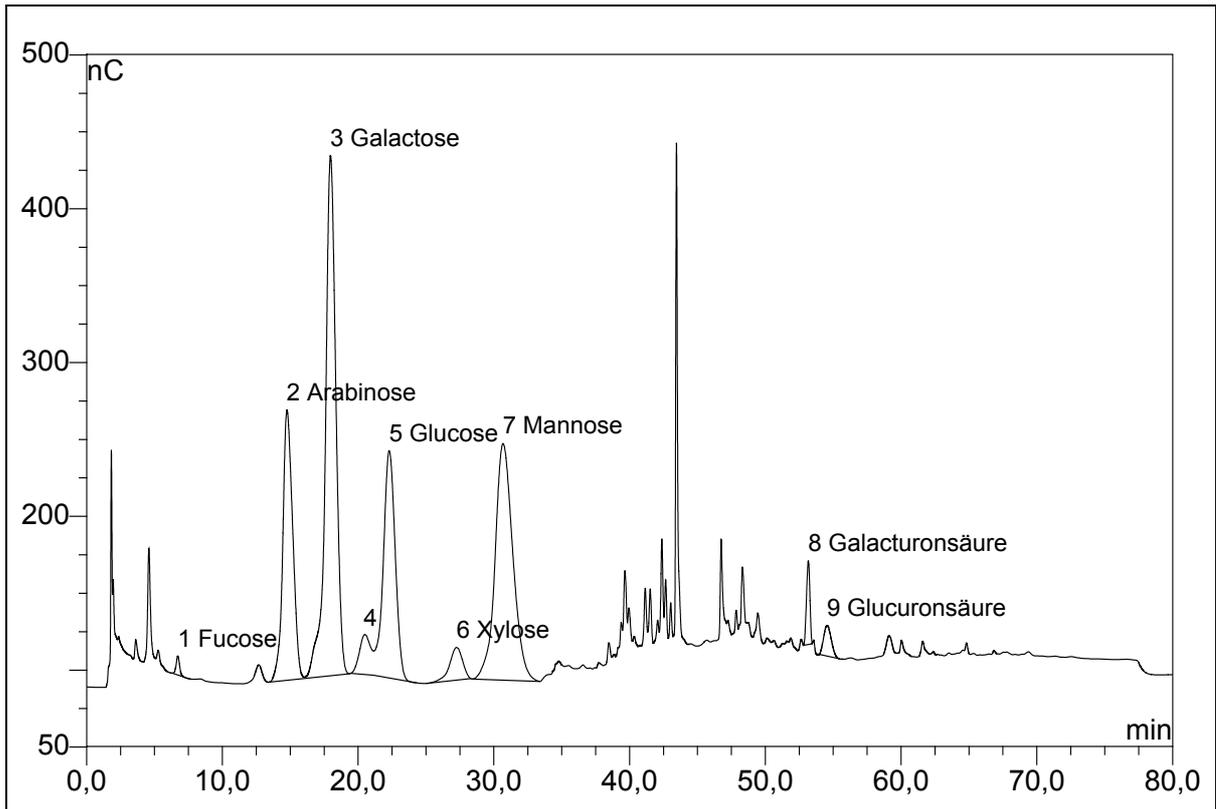


Abb. A17. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Rohstoffes Markana.

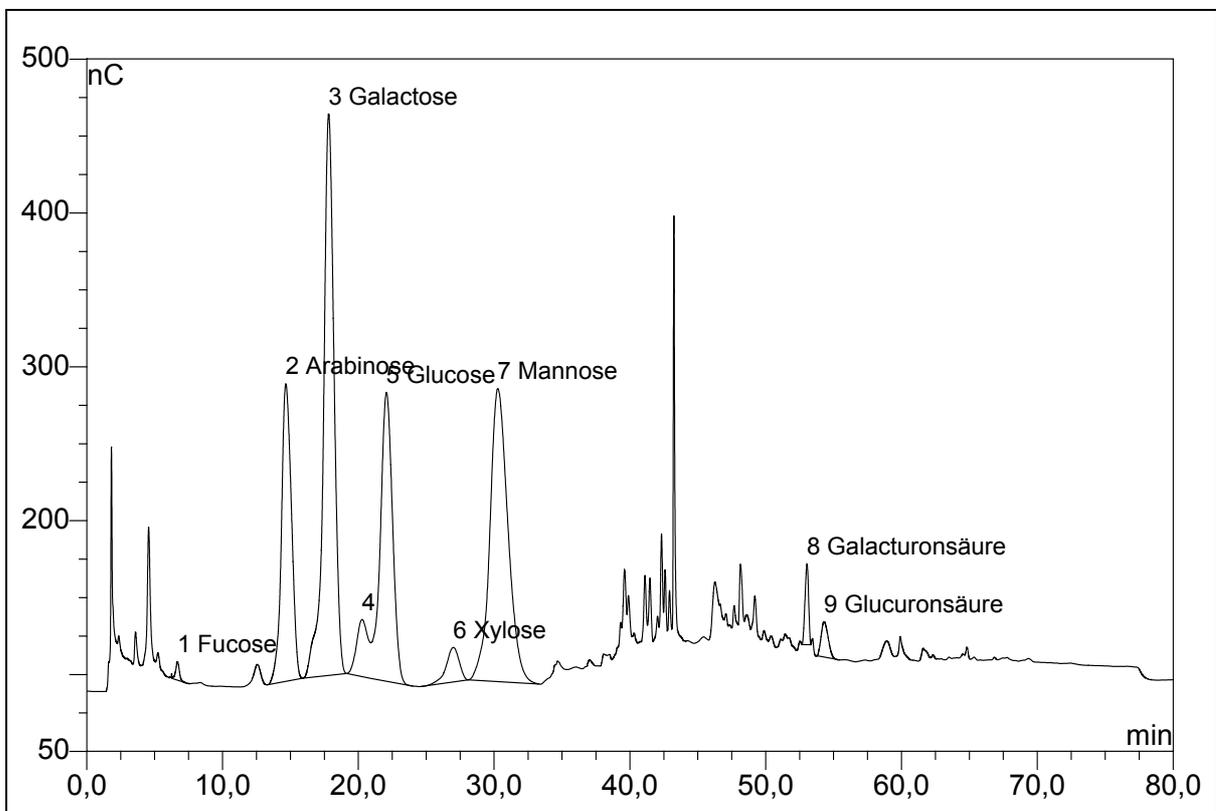


Abb. A18. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Rohstoffes Salout.

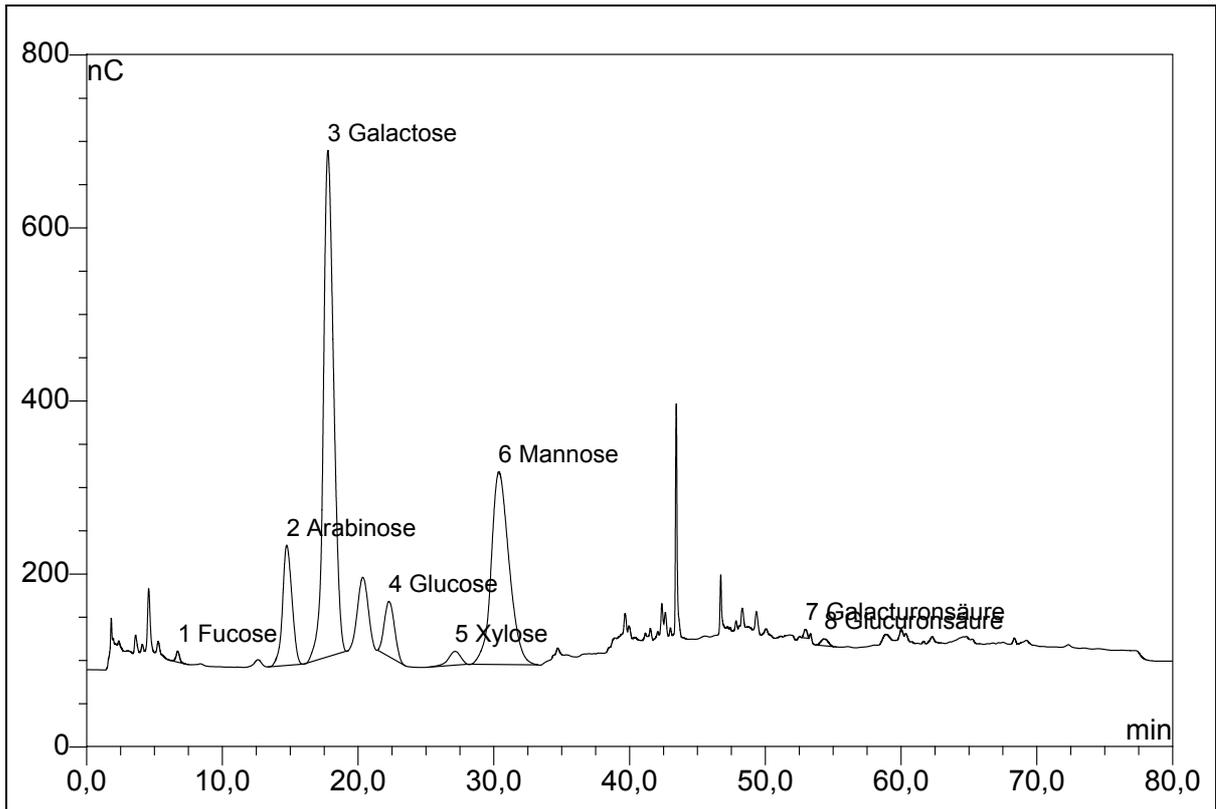


Abb. A19. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Rohstoffes *Lupinus albus* (White Flakes).

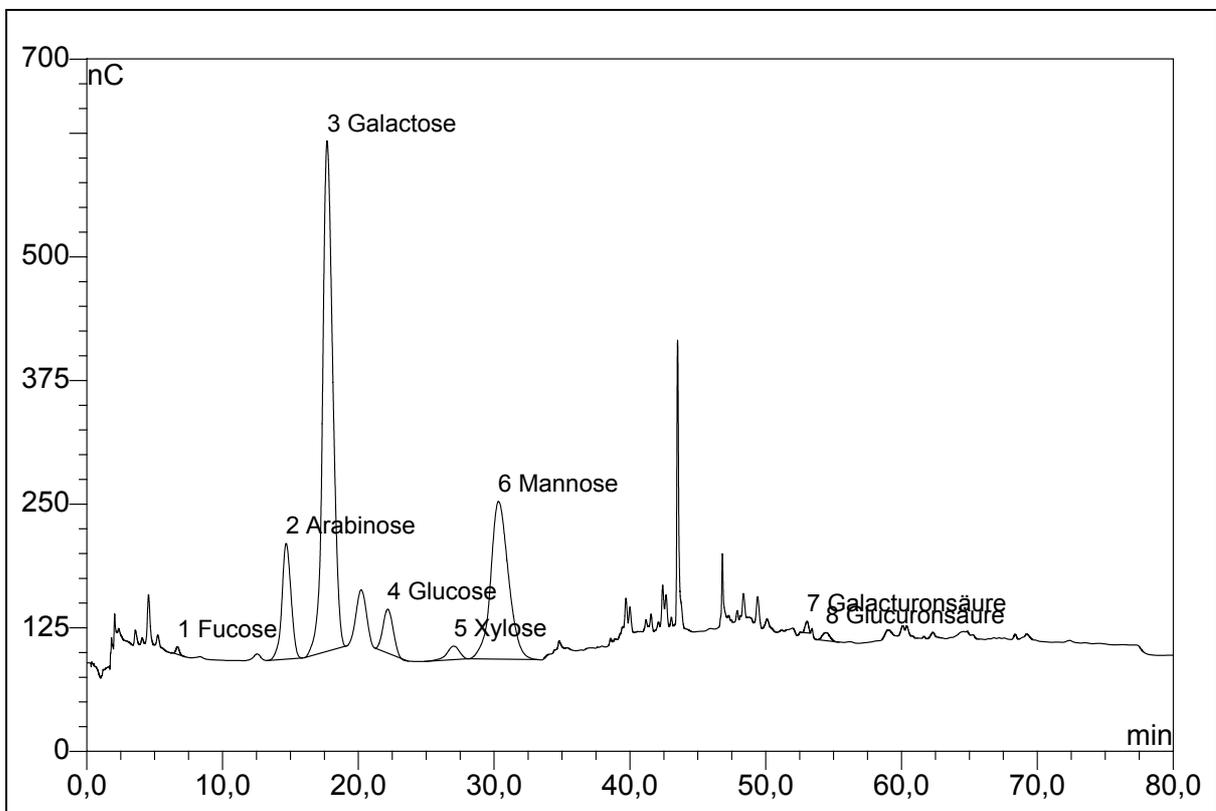


Abb. A20. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *INSP* des Rohstoffes *Lupinus angustifolius* (White Flakes).

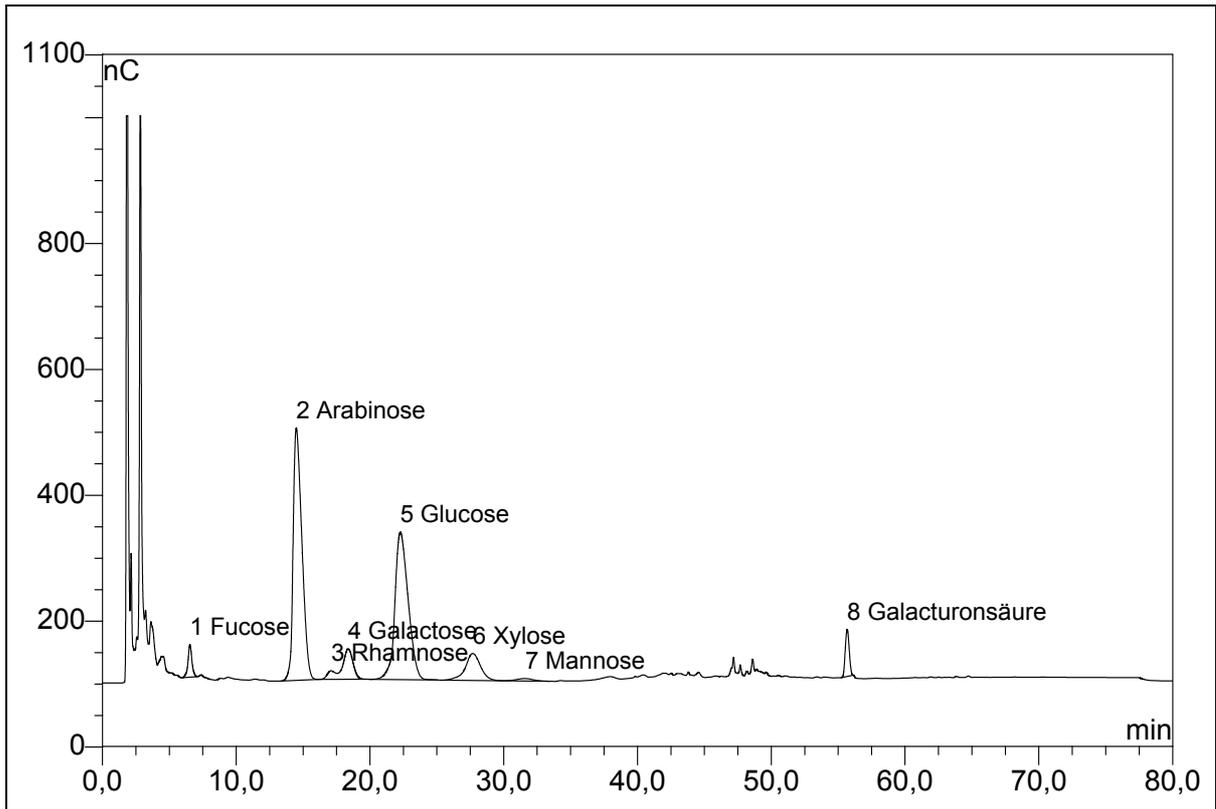


Abb. A21. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Markana-Präparates.

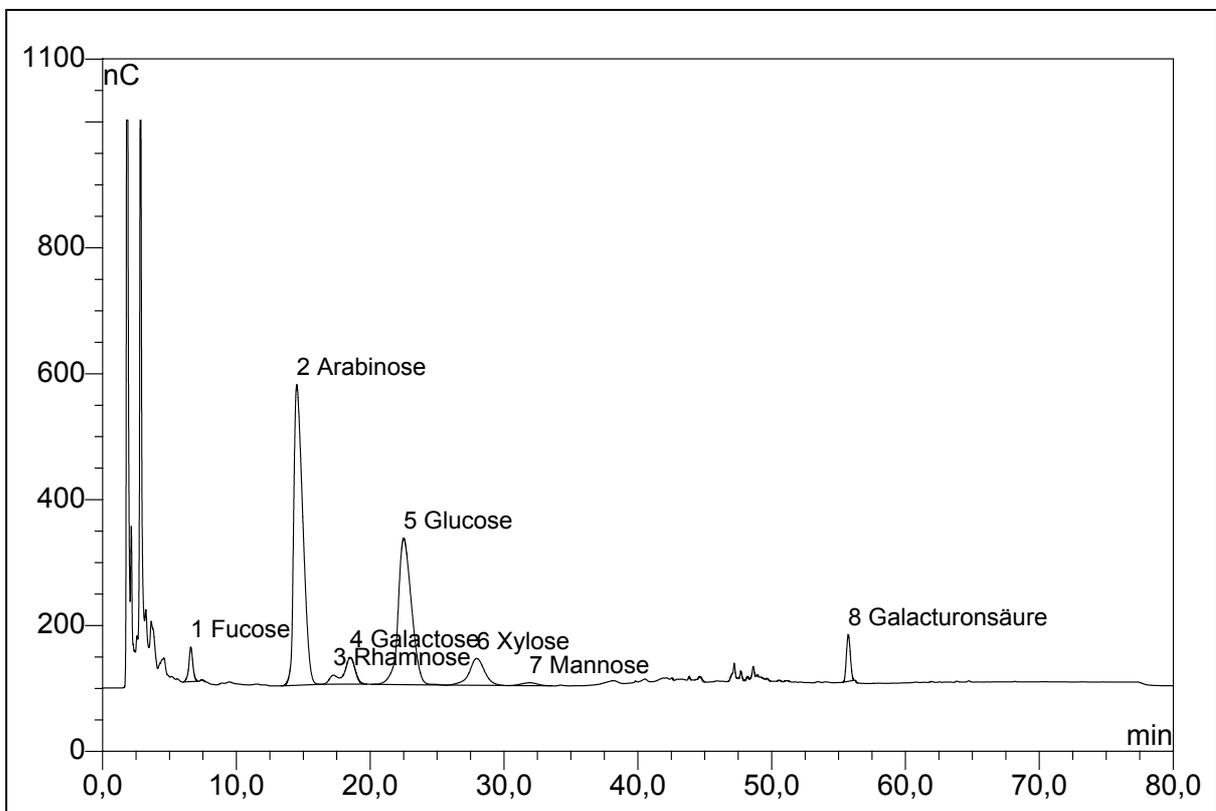


Abb. A22. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Salout-Präparates.

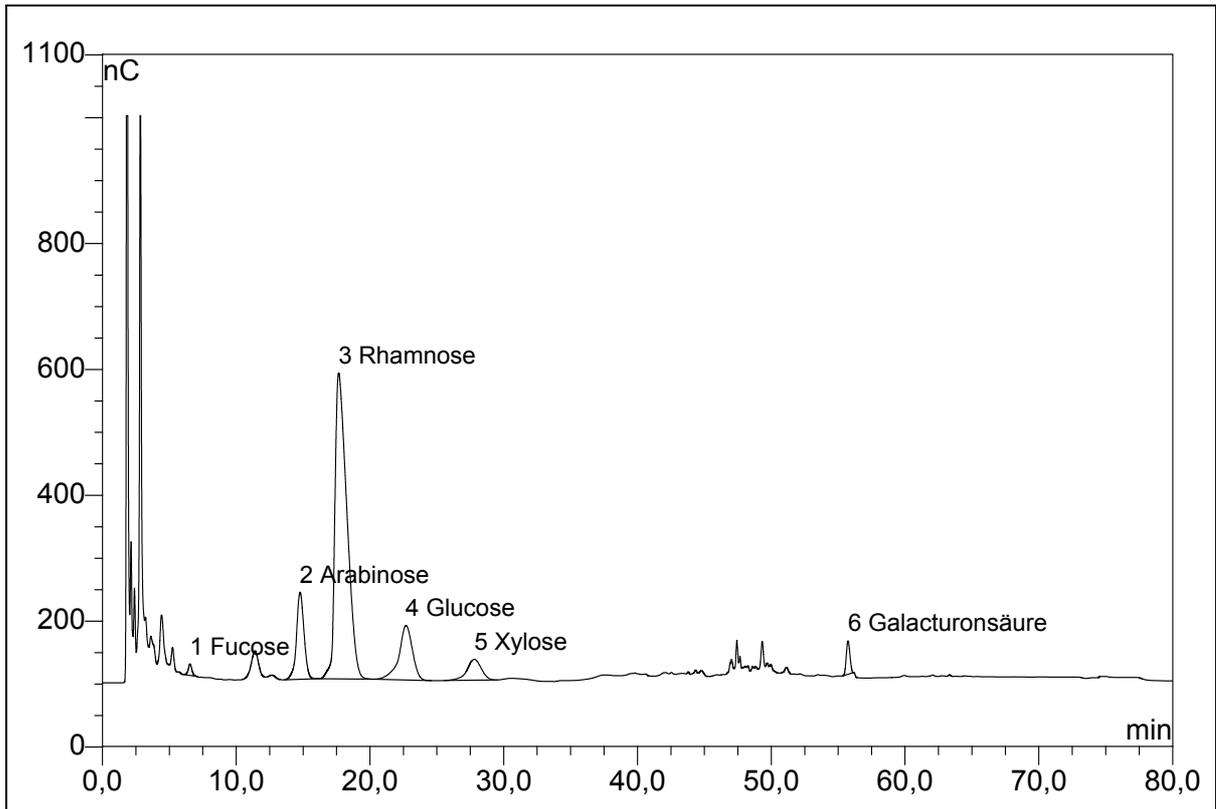


Abb. A23. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Albus-Präparates.

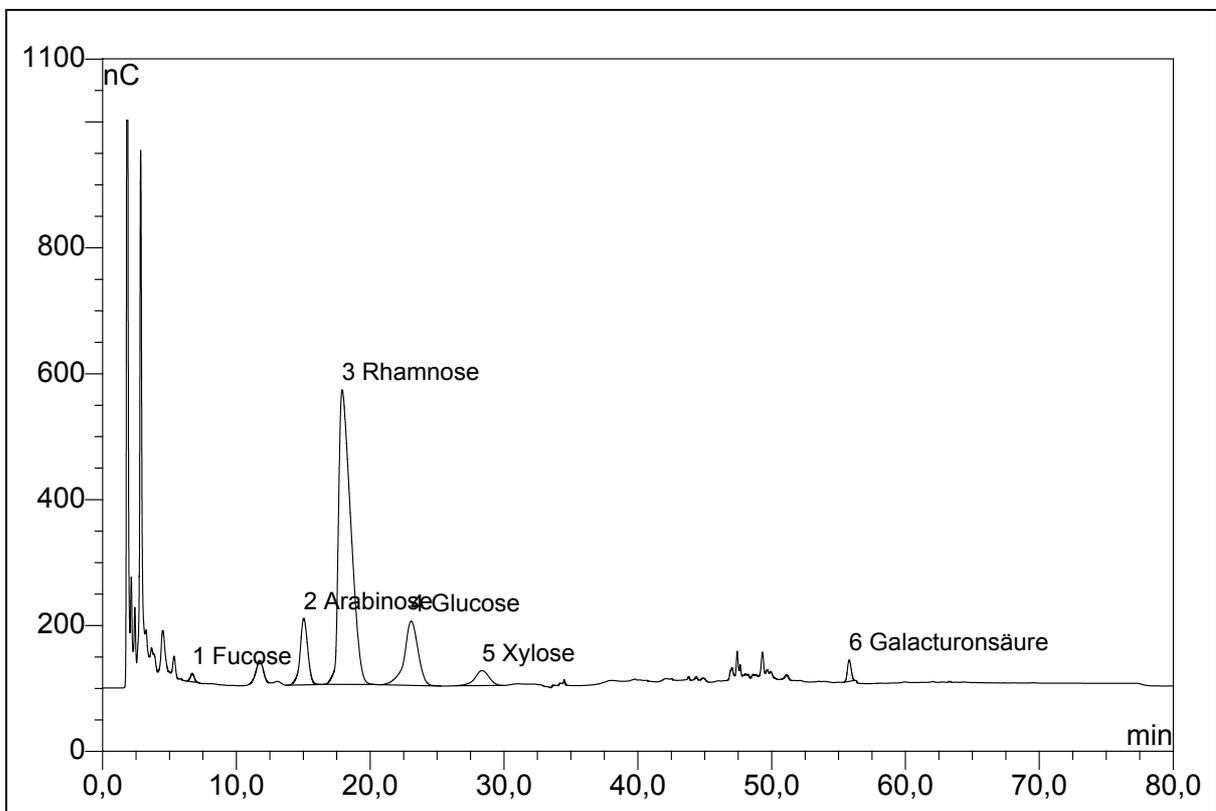


Abb. A24. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Angustifolius-Präparates.

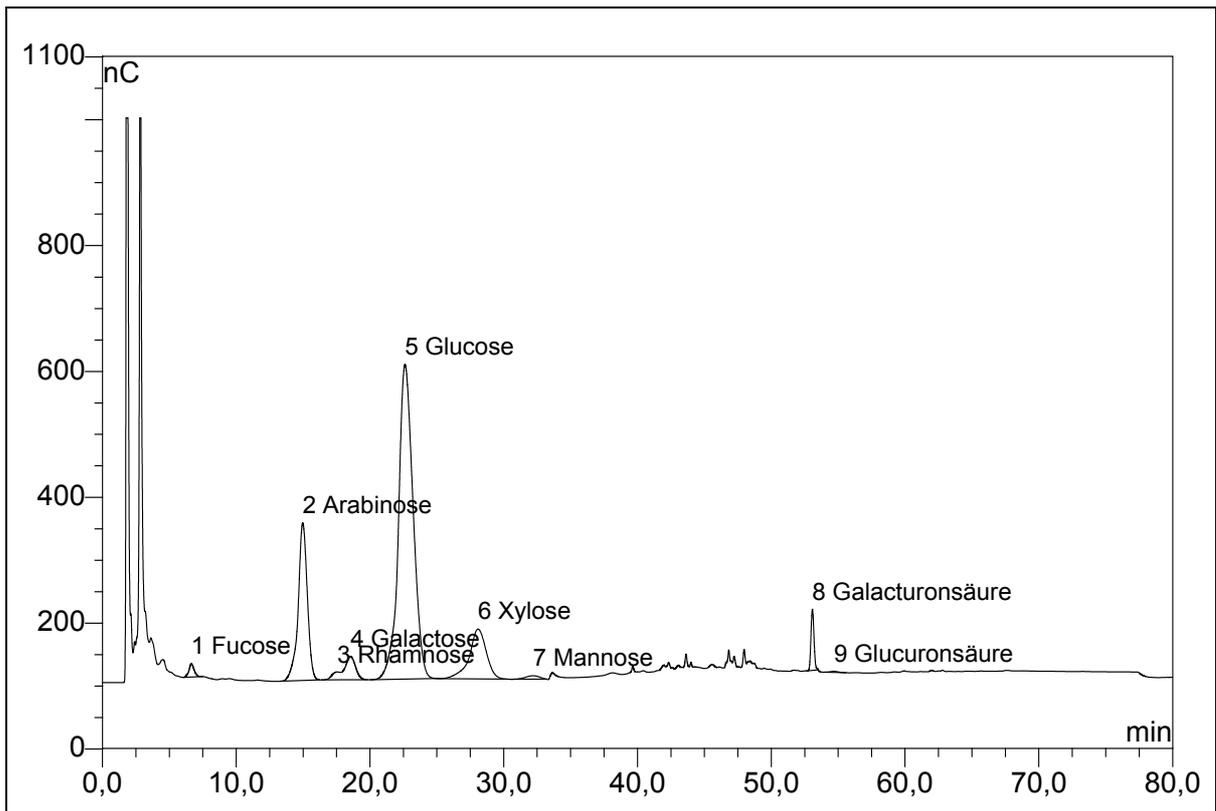


Abb. A25. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *uNSP* des Rohstoffes Markana.

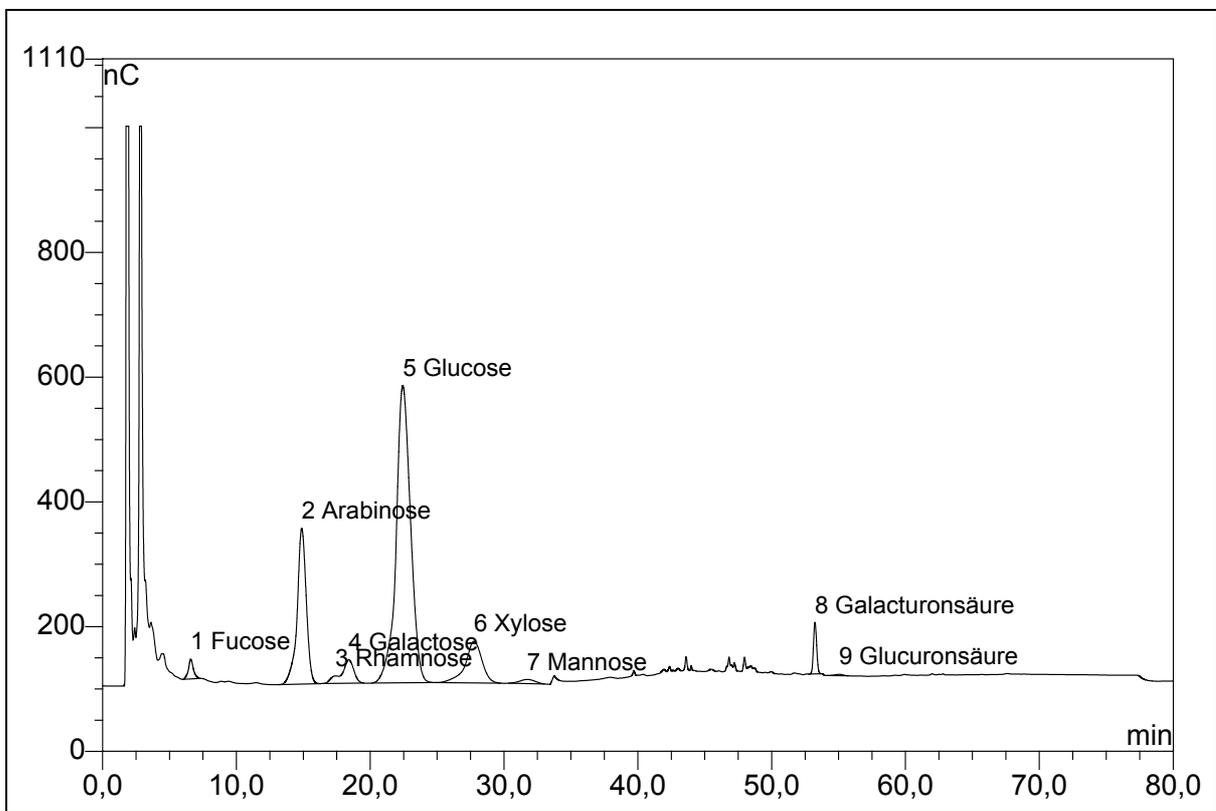


Abb. A26. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten *uNSP* des Rohstoffes Salout.

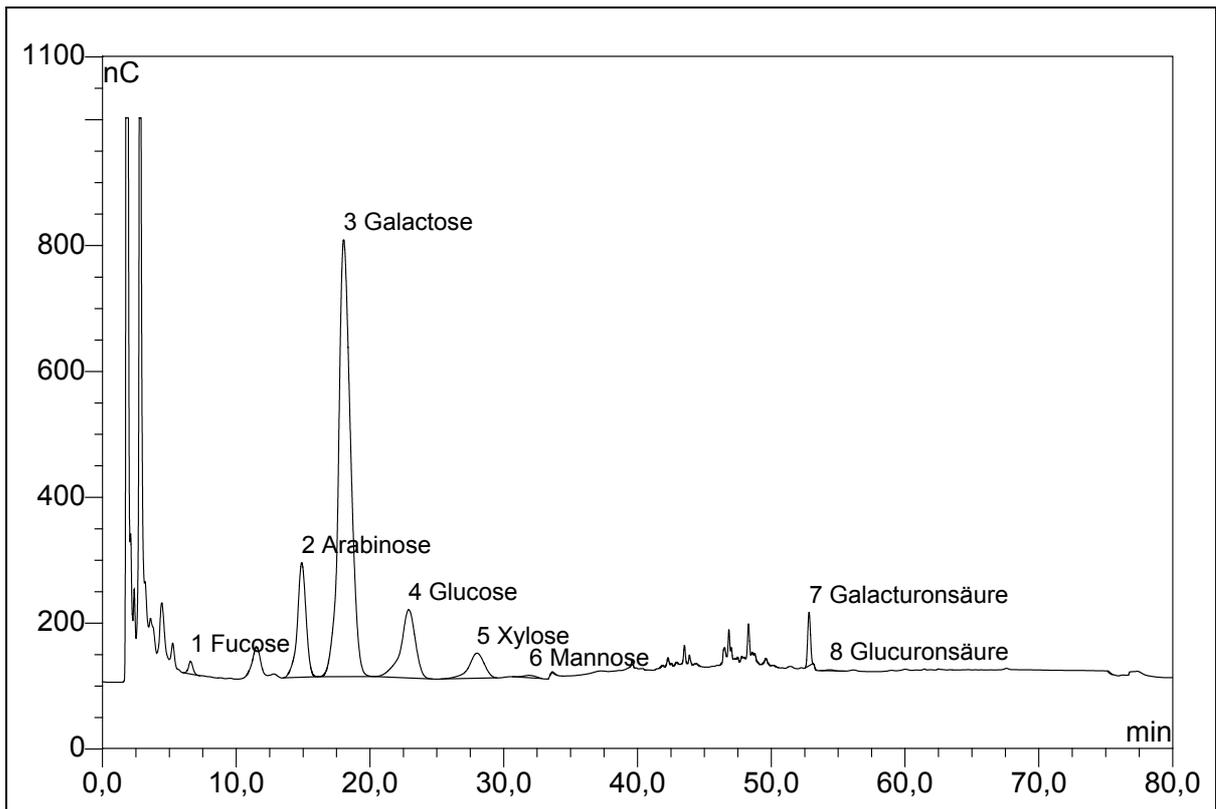


Abb. A27. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Rohstoffes *Lupinus albus* (White Flakes).

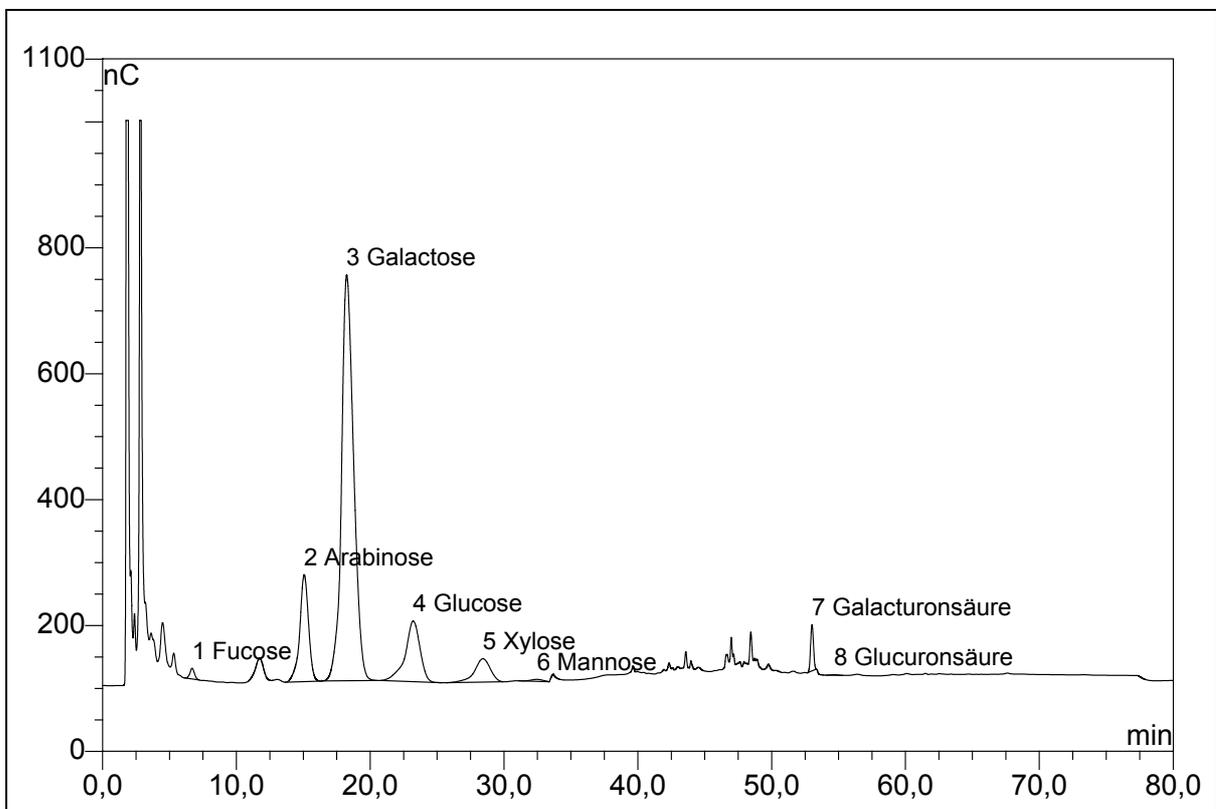


Abb. A28. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus den mit TFE abgebauten **uNSP** des Rohstoffes *Lupinus angustifolius* (White Flakes).

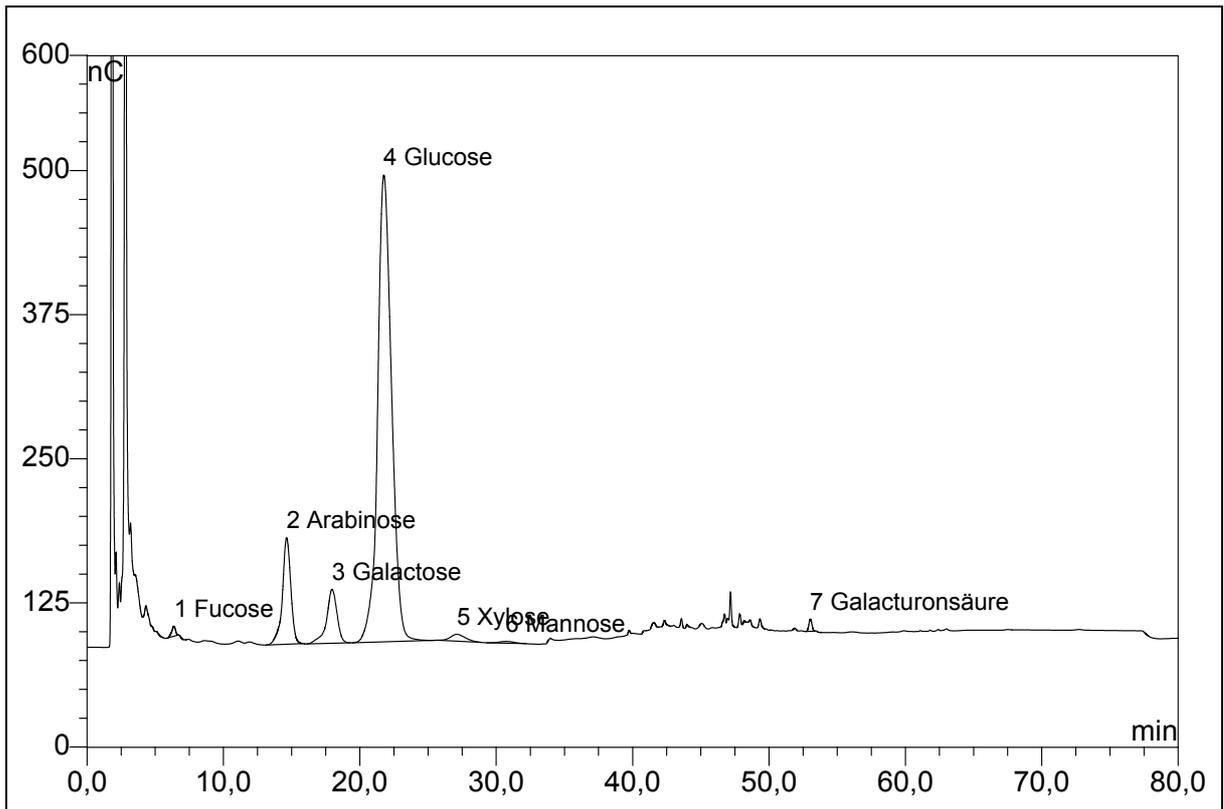


Abb. A29. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt BM** des Markana-Präparates.

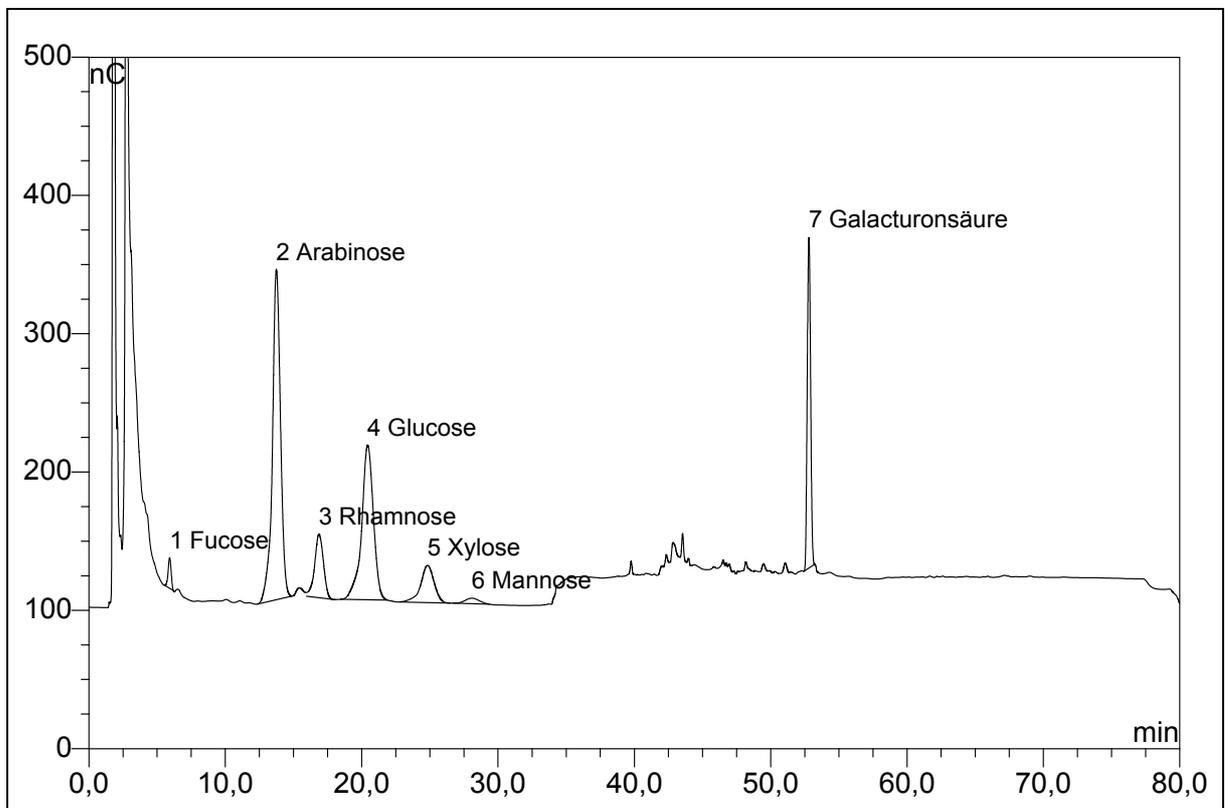


Abb. A30. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt CH** des Markana-Präparates.

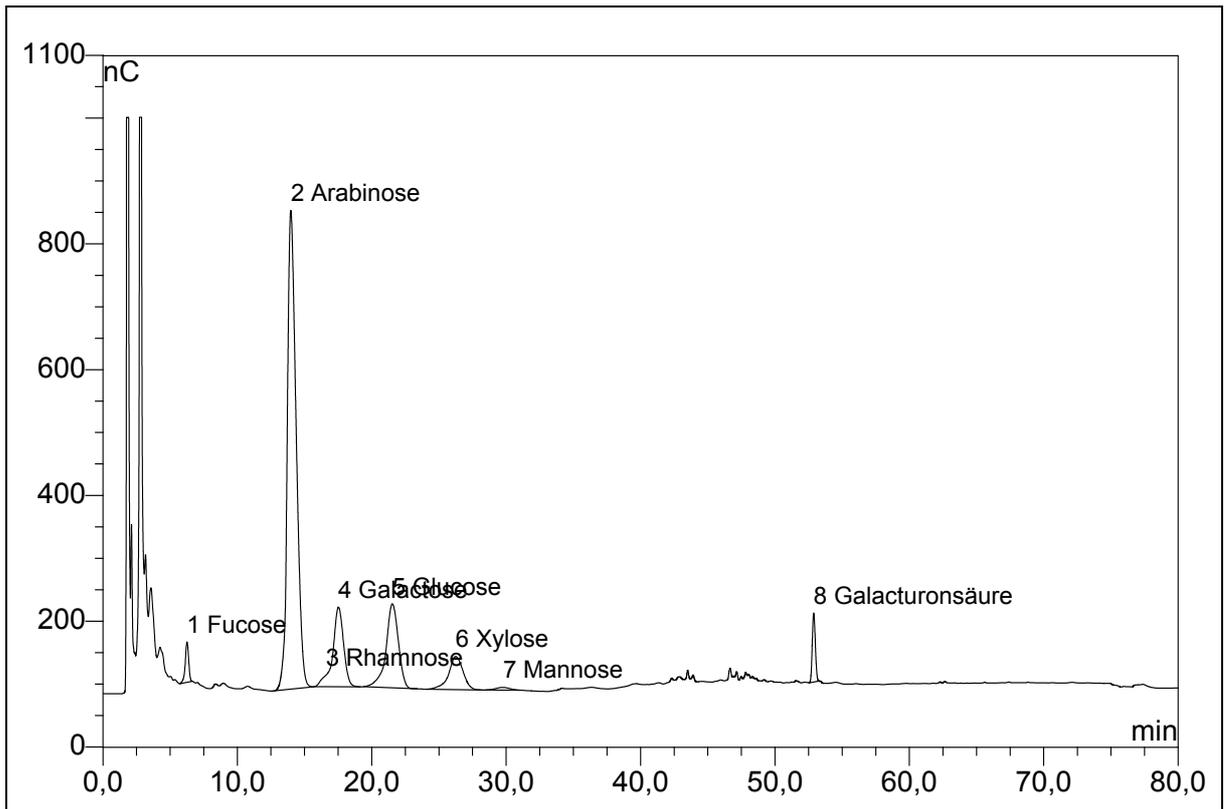


Abb. A31. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt CO** des Markana-Präparates.

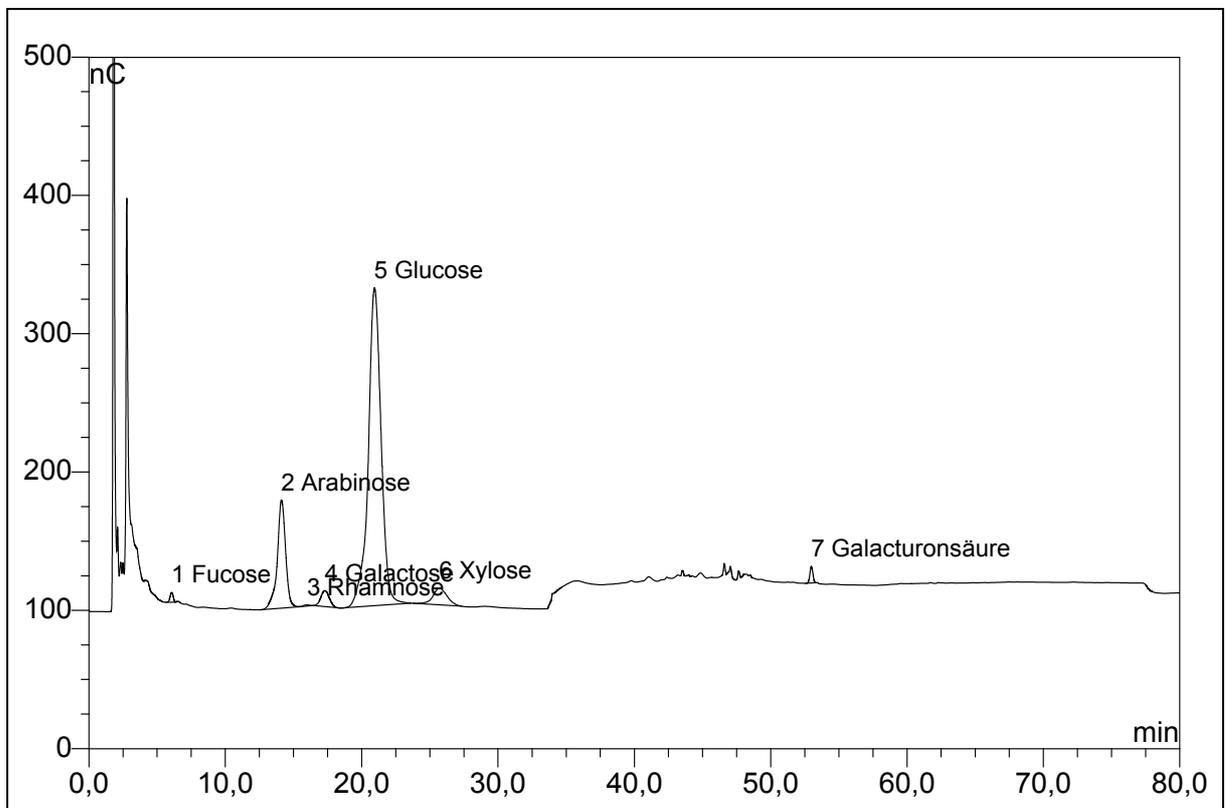


Abb. A32. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt COA(1)** des Markana-Präparates.

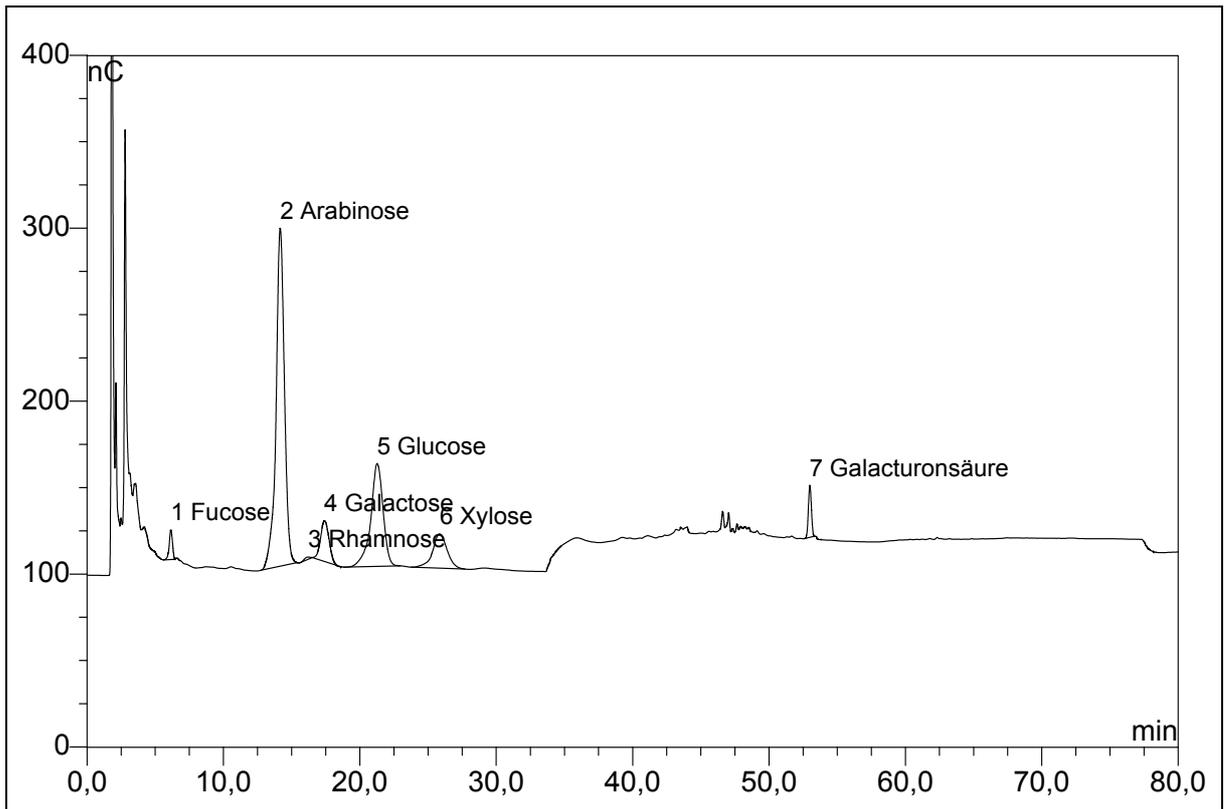


Abb. A33. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt COA(2)** des Markana-Präparates.

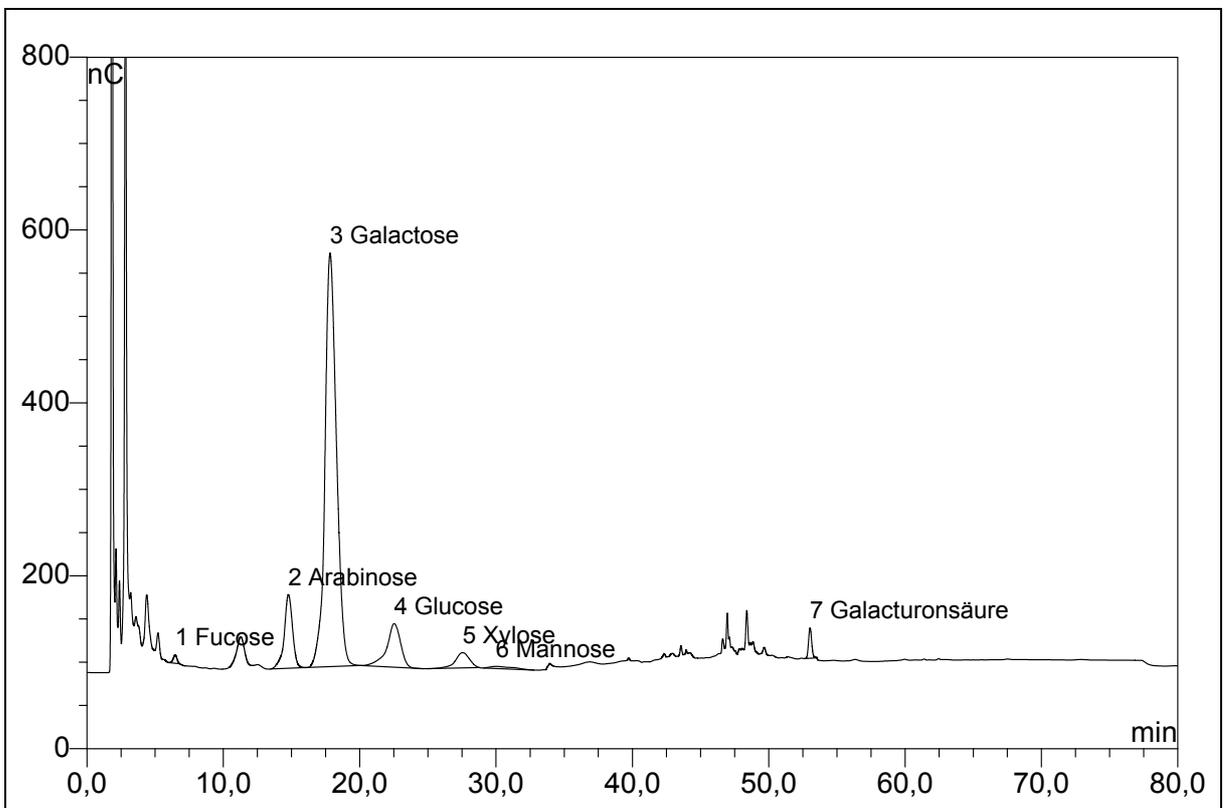


Abb. A34. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt BM** des Albus-Präparates.

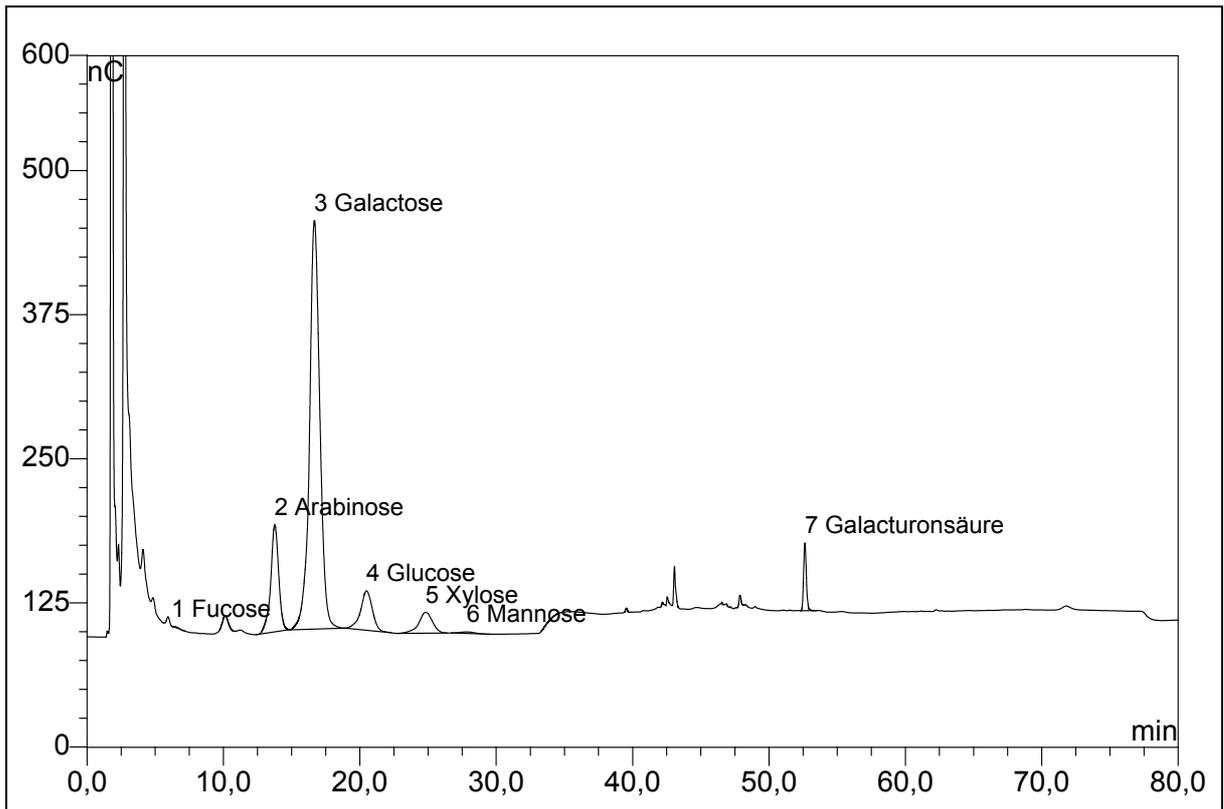


Abb. A35. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt CH** des Albus-Präparates.

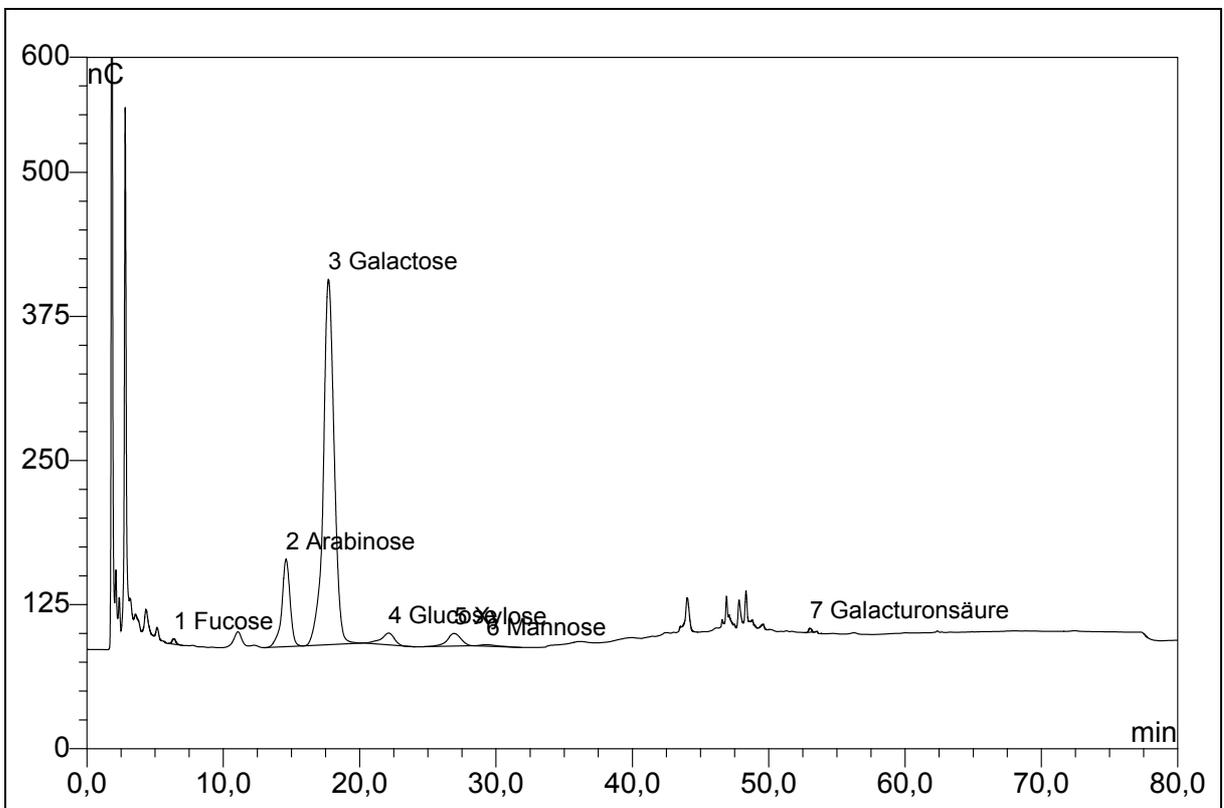


Abb. A36. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt CO** des Albus-Präparates.

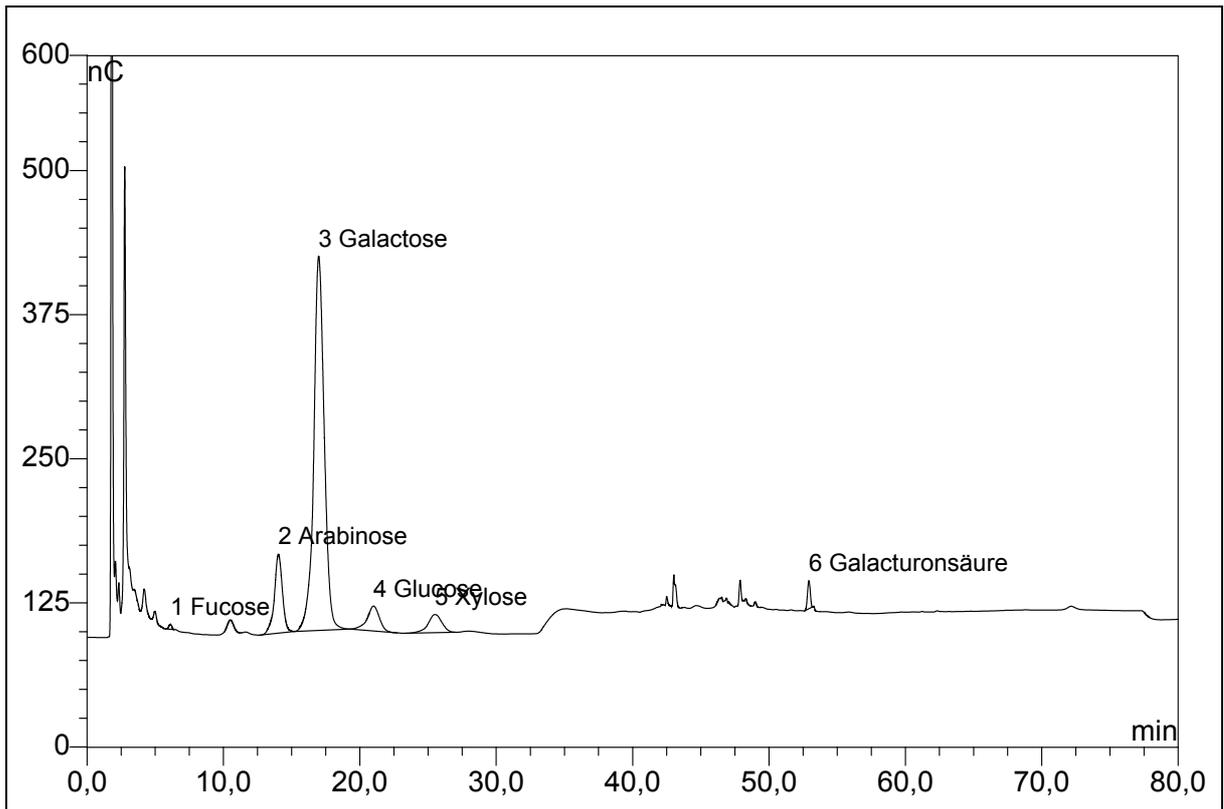


Abb. A37. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt COA(1)** des Albus-Präparates.

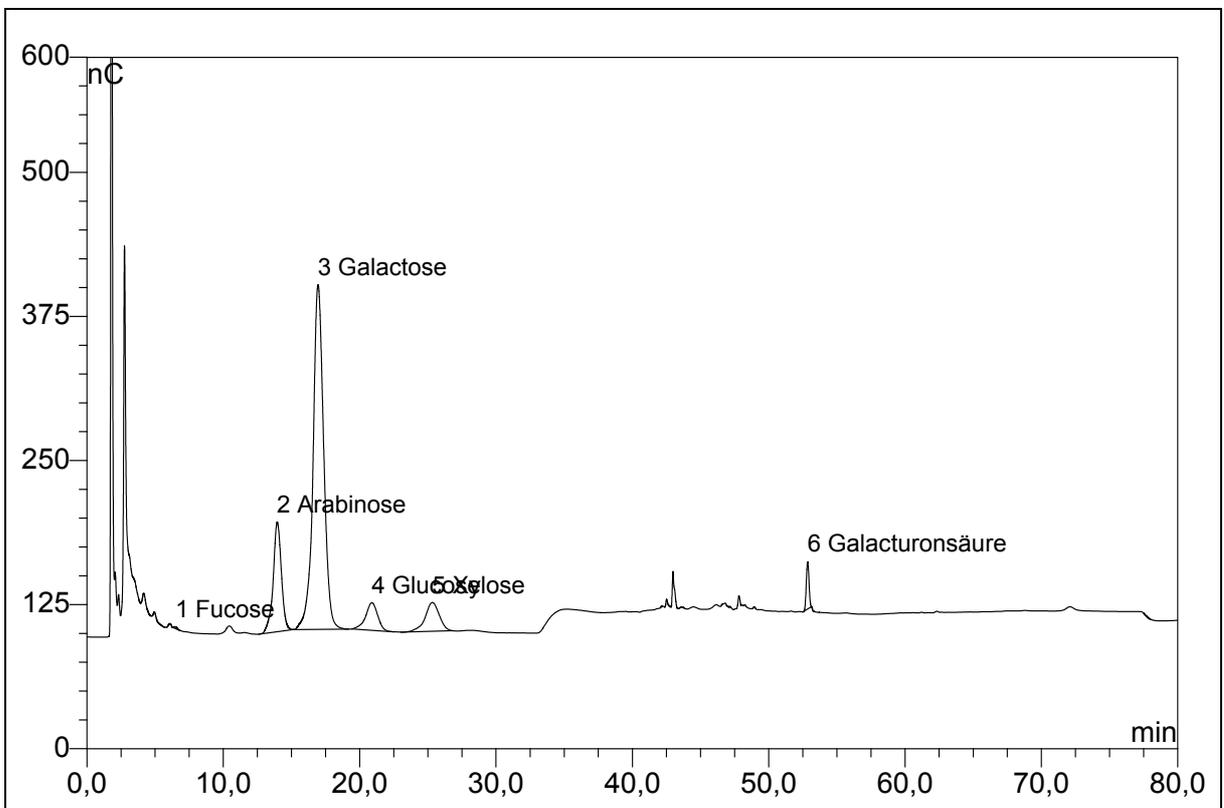


Abb. A38. HPAE-PED Chromatogramm des Monosaccharidgemisches aus dem mit TFE abgebauten **Pektinextrakt COA(2)** des Albus-Präparates.

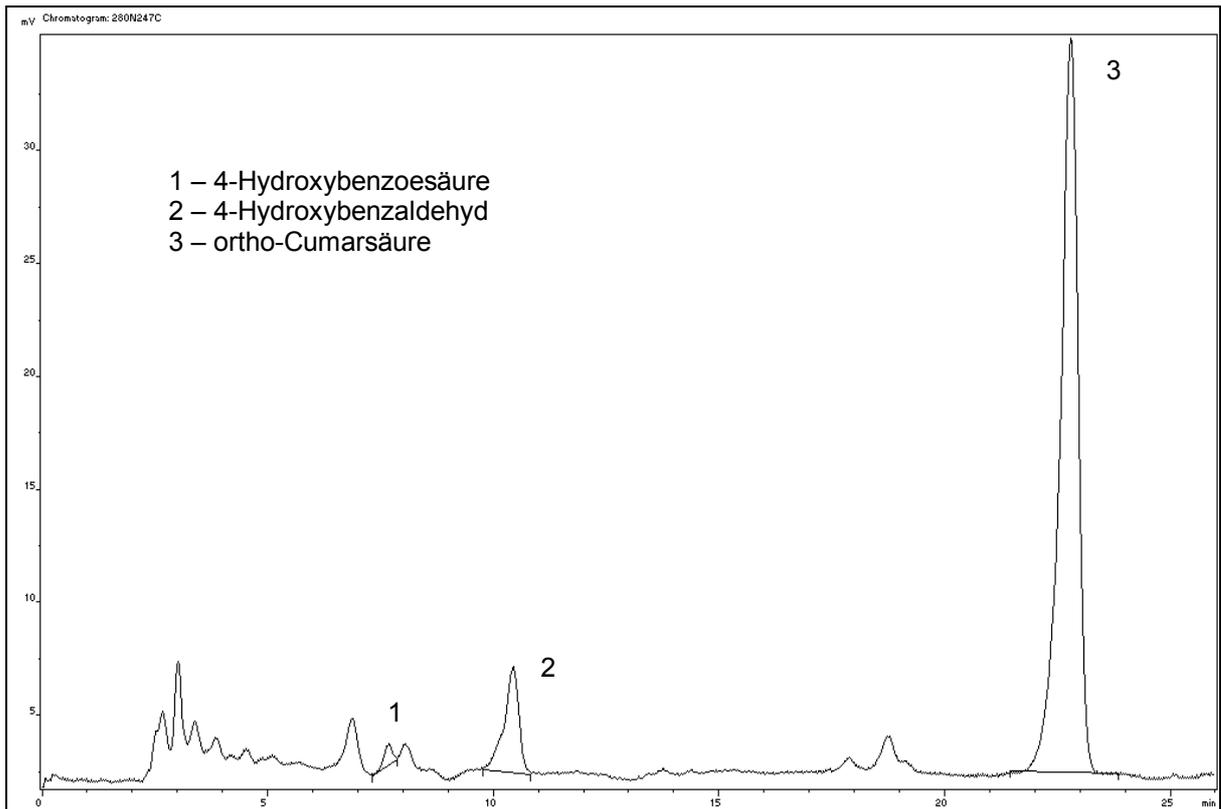


Abb. A39. HPLC Chromatogramm der alkalisch extrahierbaren monomeren phenolischen Substanzen aus den **uNSP** des Markana-Präparates.

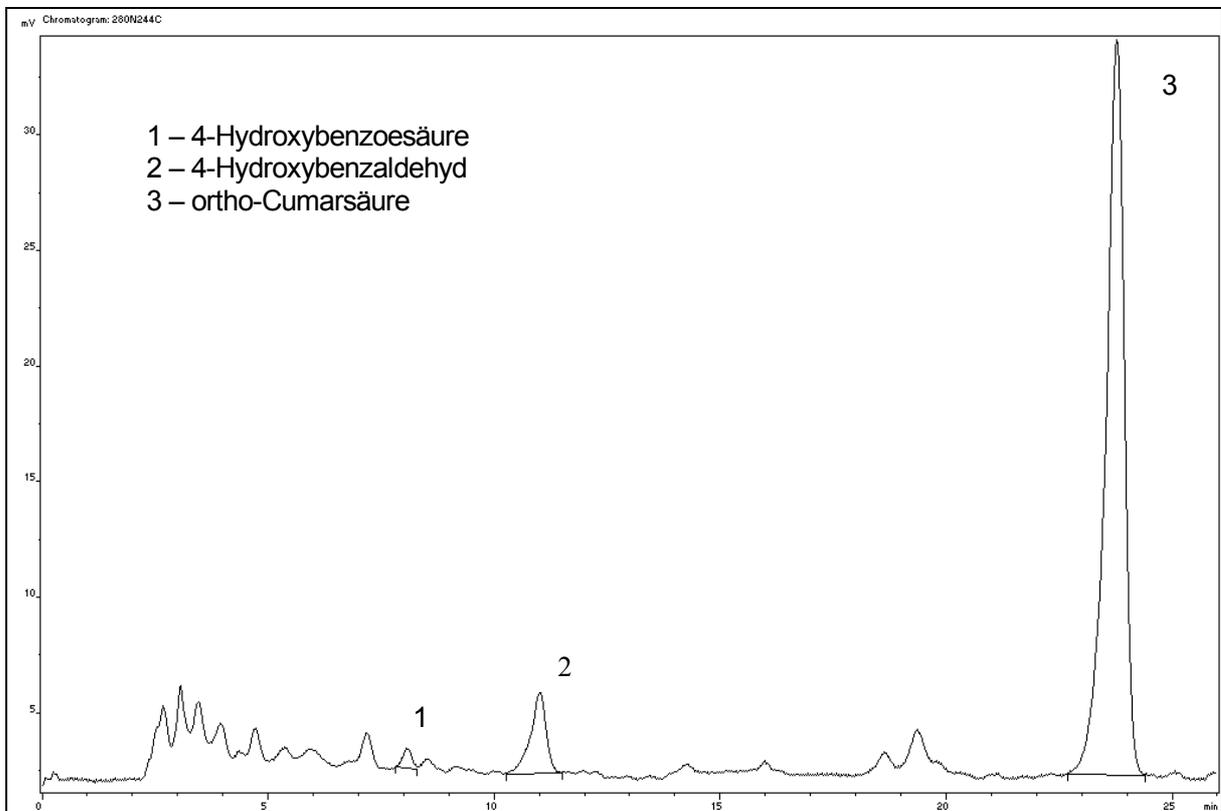


Abb. A40. HPLC Chromatogramm der alkalisch extrahierbaren monomeren phenolischen Substanzen aus den **uNSP** des Salout-Präparates.

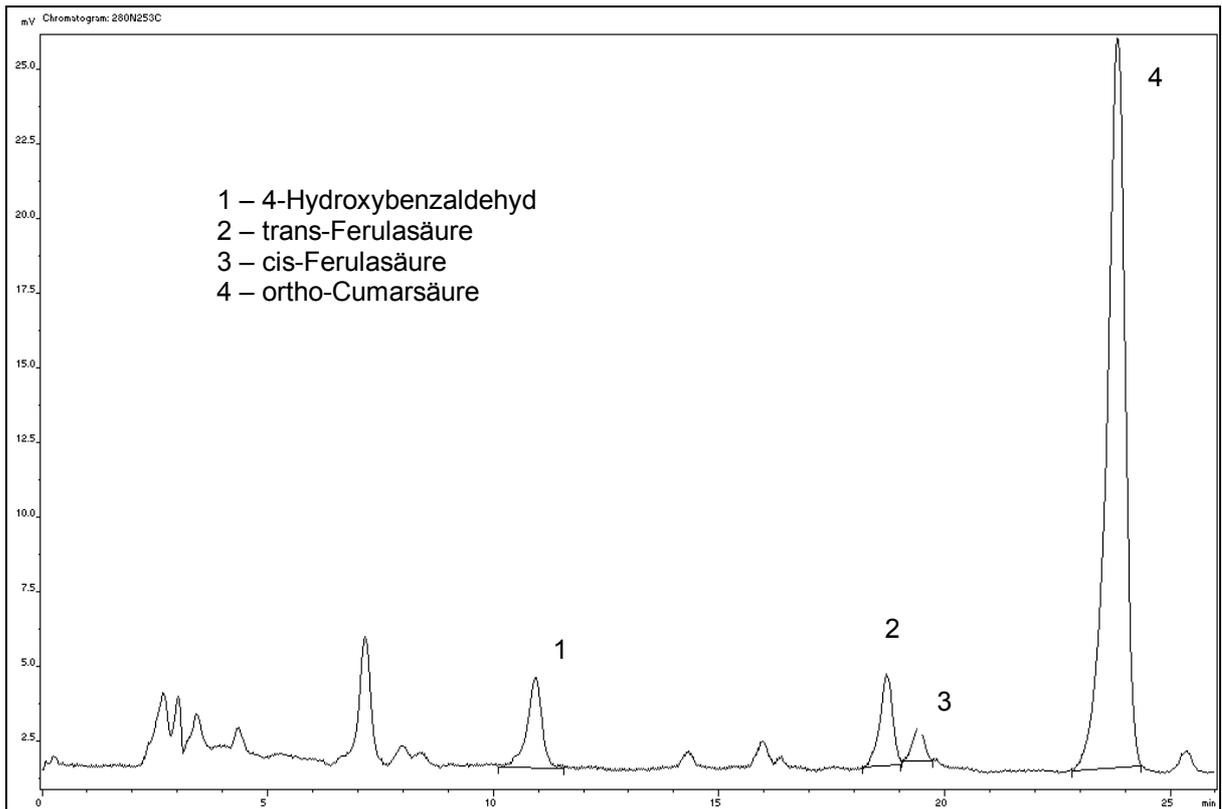


Abb. A41. HPLC Chromatogramm der alkalisch extrahierbaren monomeren phenolischen Substanzen aus den *uNSP* des Albus-Präparates.

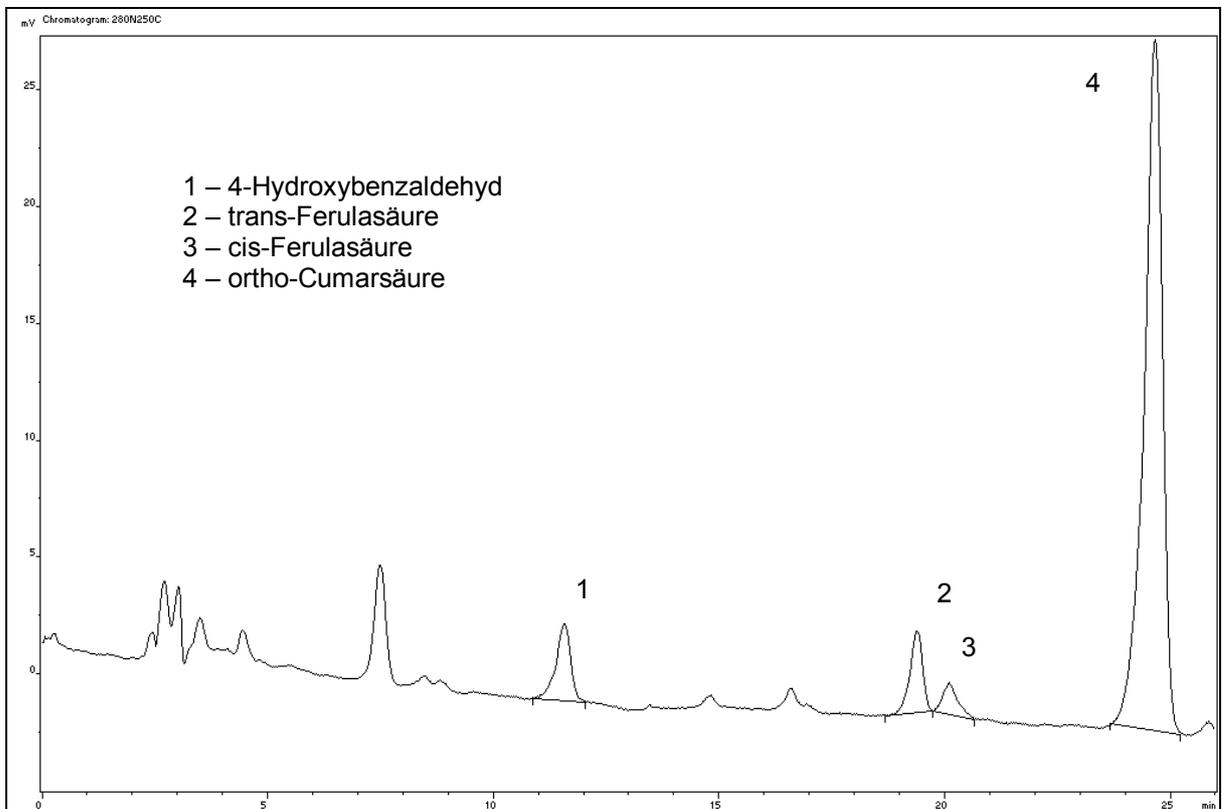


Abb. A42. HPLC Chromatogramm der alkalisch extrahierbaren monomeren phenolischen Substanzen aus den *uNSP* des Angustifolius-Präparates.

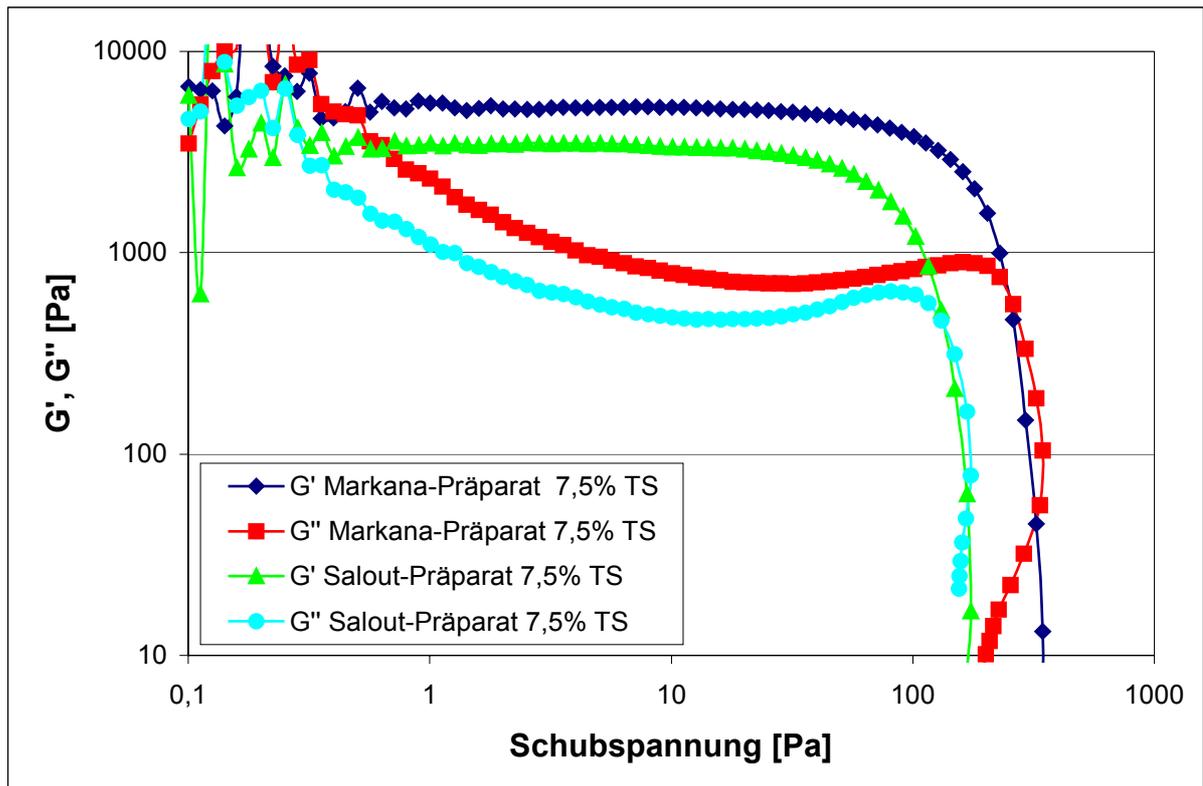


Abb. A43. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den Markerbbsenfaserpräparaten nach 30min Quellzeit.

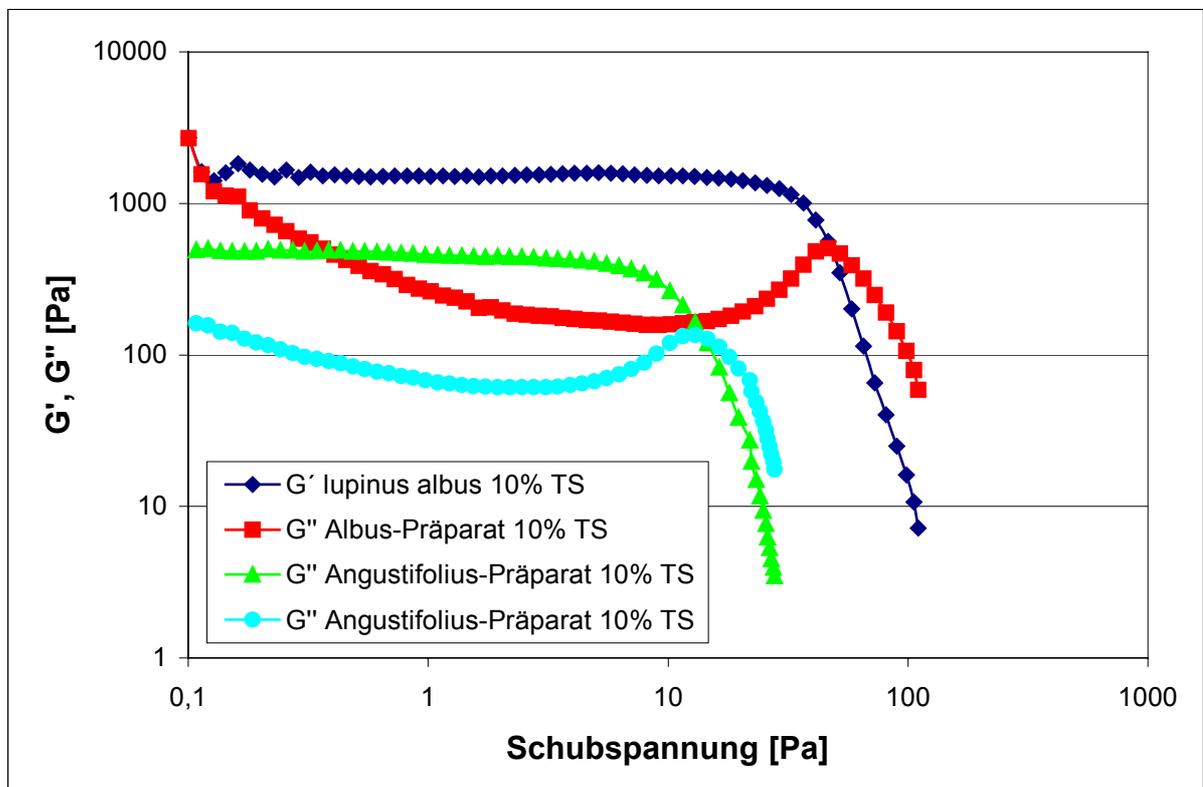


Abb. A44. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten nach 30min Quellzeit.

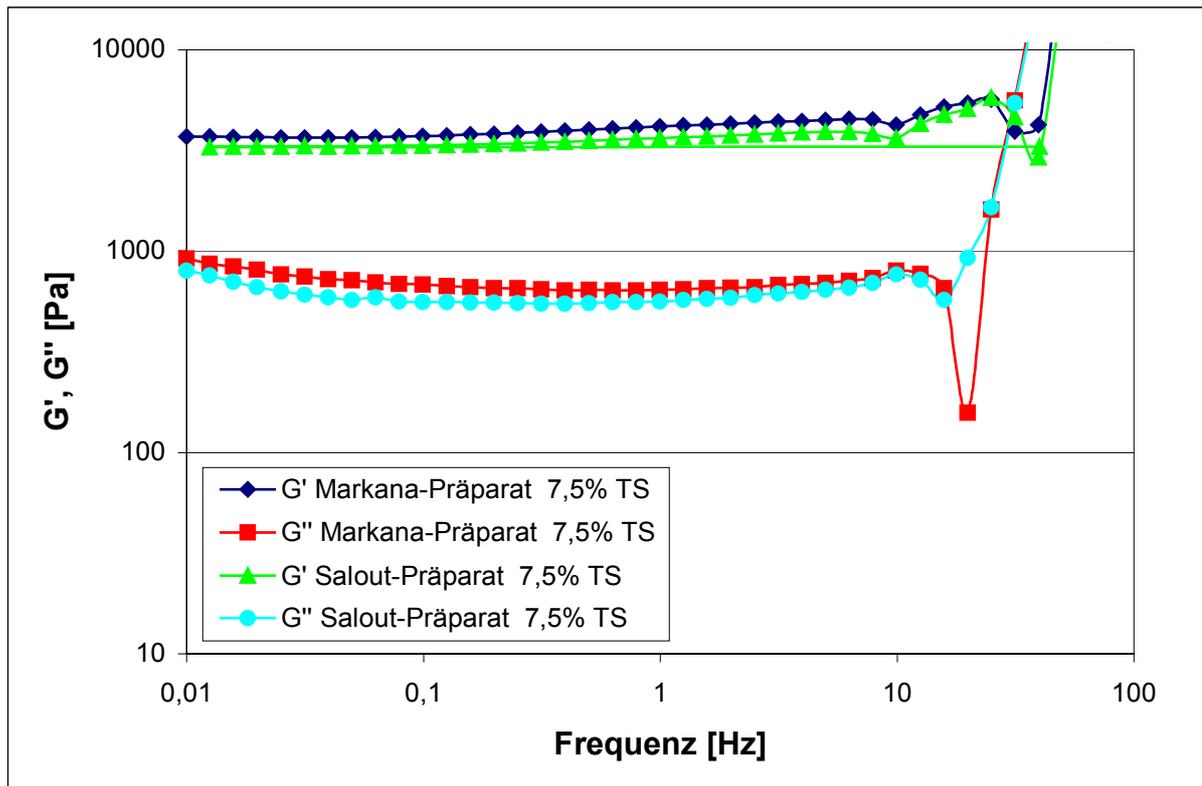


Abb. A45. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den Markerbnsenfaserpräparaten nach 30 min Quellzeit.

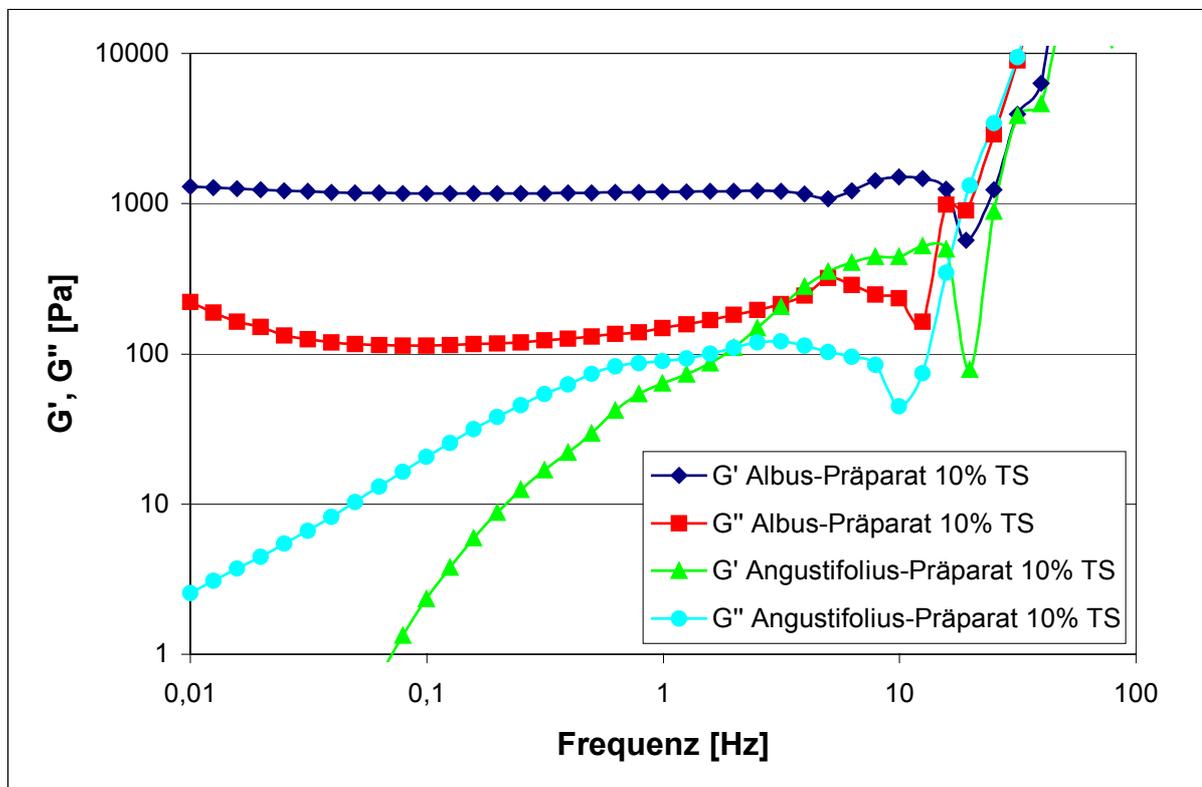


Abb. A46. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den Lupinenfaserpräparaten nach 30 min Quellzeit.

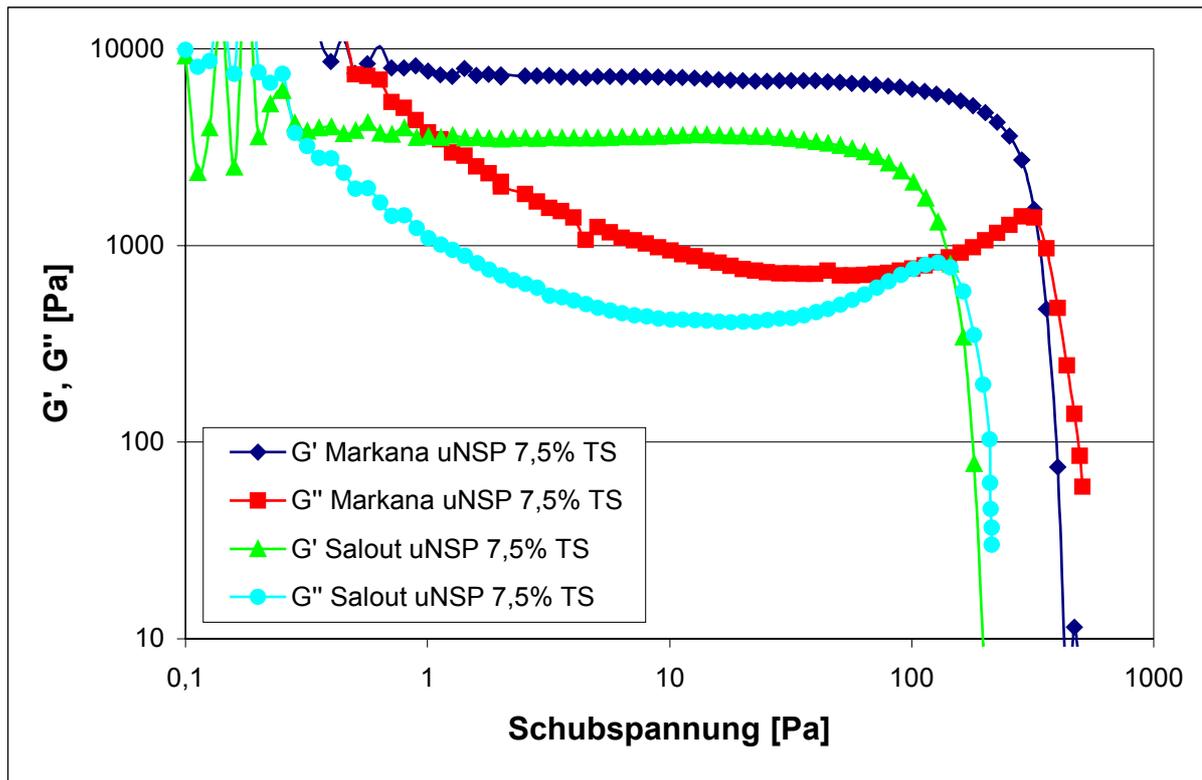


Abb. A47. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den **uNSP** der Markerbsefaserpräparate nach 30 min Quellzeit.

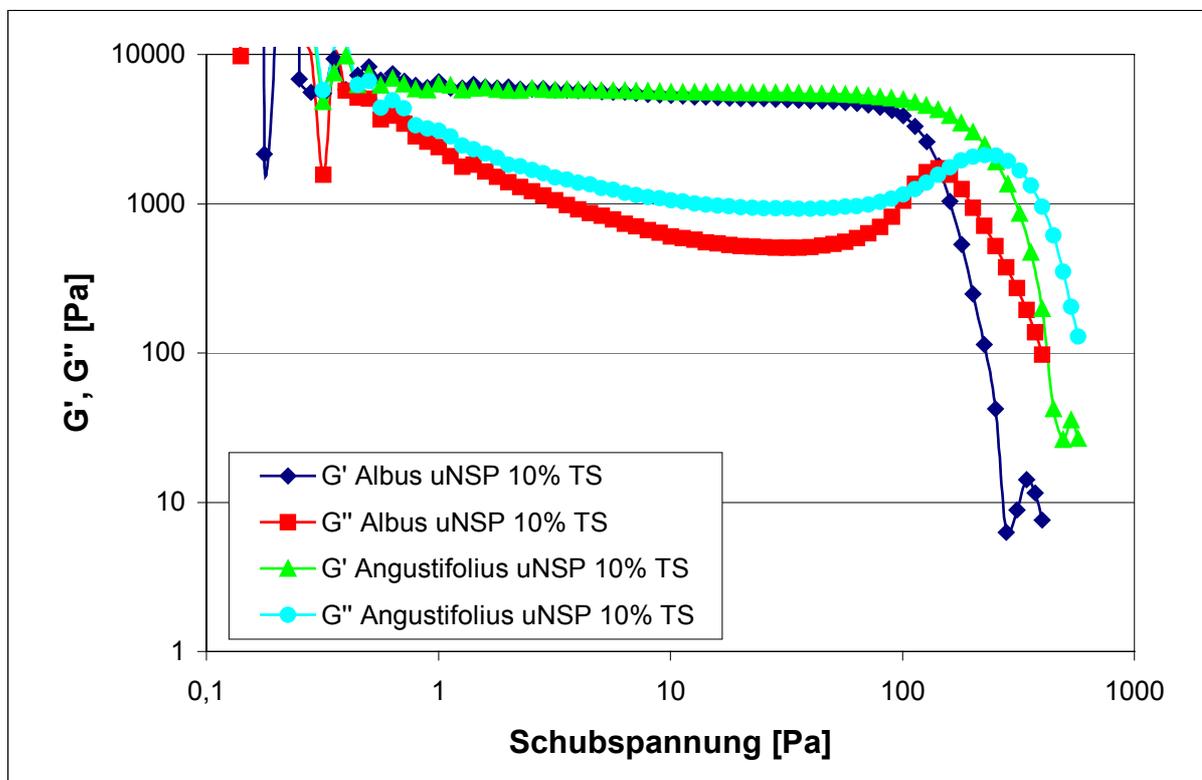


Abb. A48. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Amplitudensweeps der Dispersionen aus den **uNSP** der Lupinenfaserpräparate nach 30 min Quellzeit.

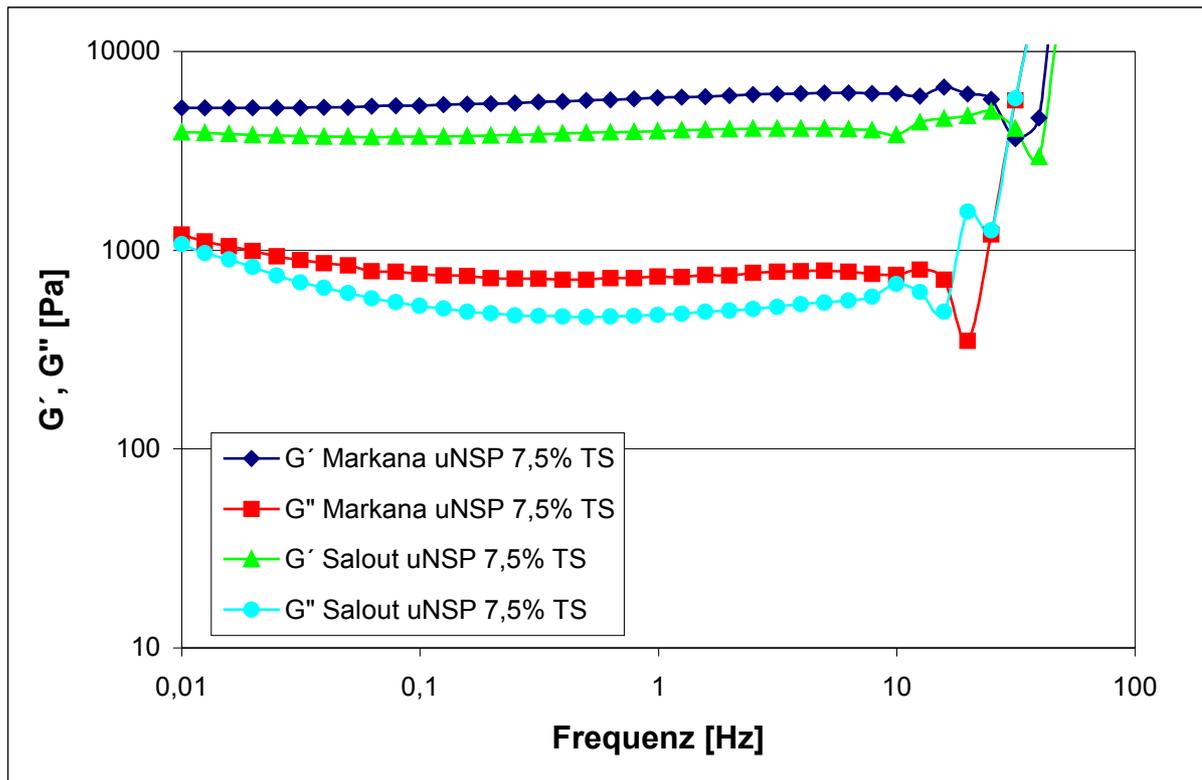


Abb. A49. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den **uNSP** der Markerbsefaserpräparate nach 30 min Quellzeit.

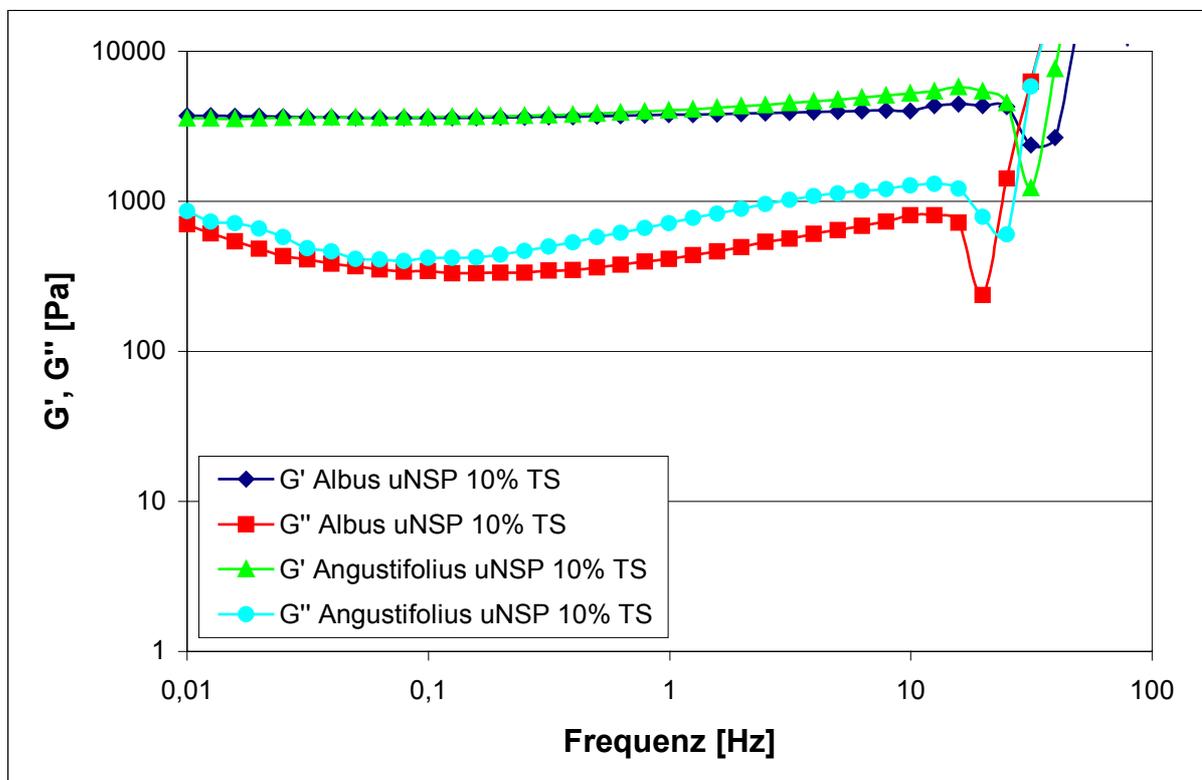


Abb. A50. Graphische Darstellung der Messergebnisse (G' und G'') der Frequenzsweeps der Dispersionen aus den **uNSP** der Lupinenfaserpräparate nach 30 min Quellzeit.