

Untersuchung der Herstellbarkeit von Rapsproteinprodukten auf der Grundlage verschiedener Entölungungsverfahren

vorgelegt von:
Dipl.-Ing. Axel Natsch

Von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
Der Technischen Universität Berlin
Zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Ingenieurwissenschaften
Dr.-Ing.

genehmigte Dissertation

Vorsitzender: Prof. Dr. Dipl.-Ing. D. Knorr
1. Bericht: Prof. Dr.-Ing. Dr. e.h. F. Meuser
2. Bericht: Dr.-Ing. W. Holley

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 03. August 2006

Berlin 2006
- D83 -

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen Menschen bedanken, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Inhaltsverzeichnis:

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	STAND DES WISSENS	6
2.1	Morphologie und chemische Zusammensetzung der Rapskörner	6
2.1.1	Speicherfett	7
2.1.2	Speicherprotein	9
2.2	Antinutritive Inhaltsstoffe	11
2.2.1	Glucosinolate	11
2.2.2	Phytinsäure	11
2.2.3	Phenolische Substanzen	12
2.3	Einflussfaktoren auf die funktionellen Eigenschaften pflanzlicher Proteine	13
2.4	Verfahren der Rapsverarbeitung	17
2.4.1	Gewinnung von Proteinprodukten	21
2.4.2	Verfahren der simultanen Öl- und Proteingewinnung	24
3	MATERIAL UND METHODEN	26
3.1	Versuchsmaterial und Materialbehandlung	26
3.1.1	Rapssorten	26
3.2	Analysemethoden	29
3.2.1	Wassergehalt und Gehalt verdampfbarer Substanzen	29
3.2.2	Rohproteingehalt	29
3.2.3	Fettgehalt	29
3.2.4	Gehalt freier Fettsäuren im Öl	29
3.2.5	Partikelgrößenverteilung der Produkte	29
3.2.6	Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung der löslichen Proteine	30
3.2.7	Bestimmung des Zellaufschlussgrades	30
3.2.8	Bestimmung der Myrosinaseaktivität	31
3.2.9	Fettsäurespektrum in den gewonnenen Ölen	31
3.2.10	Tocopherolgehalt	32
3.2.11	Sinapinsäuregehalt	32
3.2.12	Glucosinolatgehalt	32
3.2.13	Phosphorgehalt	32

3.3	Charakterisierung der funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte	33
3.3.1	Bestimmung der Wasserbindekapazität	33
3.3.2	Bestimmung der Fettbindekapazität	33
3.3.3	Bestimmung Proteinlöslichkeit	34
3.3.4	Bestimmung der Emulgiereigenschaften	35
3.4	Versuchsdurchführung	37
3.4.1	Durchführung der Versuche zur Entfettung von geschältem Raps durch wässrig-alkoholische Extraktion	37
3.4.2	Durchführung der Versuche zur Herstellung von Proteinprodukten aus geschältem, Hexan entöltem Rapsmehl durch wässrig-alkoholische Extraktion und Modifizierung ihrer funktionellen Eigenschaften	40
3.4.3	Durchführung der Versuche zur Herstellung von Proteinprodukten durch wässrig-alkoholische Extraktion von Rapsmehl (Versuche im halbtechnischen Maßstab)	41
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	43
4.1	Versuche zur Entfettung von geschältem Raps durch wässrig-alkoholische Extraktion	43
4.1.1	Einfluss der Alkoholkonzentration	46
4.1.2	Einfluss des Schalengehaltes im Rapsmehl	49
4.1.3	Einfluss der Extraktionszeit	52
4.1.4	Einfluss des Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnisses	54
4.1.5	Einfluss der Temperatur	55
4.1.6	Einfluss eines nassen Zellaufschlusses	59
4.1.7	Einfluss des pH-Wertes	63
4.1.8	Einsatz vorentfetteter Rohstoffe	65
4.2	Herstellung von Proteinprodukten aus geschältem, Hexan entöltem Rapsmehl durch wässrig-alkoholische Extraktion und Modifizierung ihrer funktionellen Eigenschaften	67
4.2.1	Einfluss der Extraktionstemperatur	68
4.2.2	Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur	69
4.2.3	Einfluss mechanischer Energie	73
4.2.3.1	Einfluss des Homogenisierdrucks	74
4.2.3.2	Einfluss der Homogenisierpassagen	75
4.2.4	Einfluss einer Parameterkombination von pH-Wert, Temperatur und Homogenisation	77

4.2.5	Einfluss chemischer und physikalischer Verfahren auf die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten aus blanchiertem, entöltem Rapsmehl (var. Express)	80
4.2.6	Funktionelle Eigenschaften von Proteinprodukten aus entölte Mehlen anderer Rapssorten	82
4.3	Herstellung von Proteinprodukten durch wässrig-alkoholische Extraktion von Rapsmehl (Versuche im halbtechnischen Maßstab)	86
4.3.1	Qualitätsmindernde Bestandteile	86
4.3.2	Entölungsversuche im halbtechnischen Maßstab	89
4.3.3	Bewertung von funktionellen Eigenschaften von modifizierten RPPs	91
5	ZUSAMMENFASSUNG	96
6	LITERATURVERZEICHNIS	103

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 2-1: Darstellung der möglichen Faltung des Proteins Oleosin auf der Oberfläche der Oleosomen [Murphy 1993a/b].	7
Abbildung 2-2: Abhängigkeit der Milieubedingungen auf die Dissoziation von 12 S Rapsproteinen [Schwenke et al. 1983].	10
Abbildung 2-3: Denaturierung von entfetteten Sojabohnenmehlproteinen mit wassermischbaren Alkoholen (60 min, 50 °C) [nach Fukushima 1969].	15
Abbildung 2-4: Mögliche Verfahrenswege zur Verarbeitung von Raps (vereinfachtes Verfahrensfliessbild).	17
Abbildung 3-1: Herstellung von schalenreduzierten Rapsmehlen.	27
Abbildung 3-2: Fließbild zum Verfahrensablauf der vereinfachten Versuche zur Optimierung der Entölung im Labormaßstab.	39
Abbildung 4-1: Perkolationsextraktion von Rapsmehl mit Hexan zur Ermittlung des Zellaufschlussgrades nach Schneider u. Rütte (1991): Darstellung des Restölgehaltes in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.	45
Abbildung 4-2: Einfluss der 2-Propanol-Konzentration auf den separierten Ölanteil.	47
Abbildung 4-3: Schalenanteil verschieden hergestellter Rapsmehle.	50
Abbildung 4-4: Einfluss der Schälung der Rapsmehle auf die Separierbarkeit des Öles.	51
Abbildung 4-5: Einfluss einer hydrothermischen Vorbehandlung (Blanchierung) des geschälten Rapsbruches und der Extraktionstemperatur auf den separierten Ölanteil des eingesetzten Rapsmehls.	56
Abbildung 4-6: Einfluss des Zellaufschlussgrades auf den separierten Ölanteil von blanchiertem und unblanchiertem Mehl bei einer Extraktionstemperatur von 20 °C und 50 °C.	60
Abbildung 4-7: Einfluss einer nassen Zerkleinerung von Rapsmehl in einem wässrig-alkoholischen Extraktionsmittel auf die Öltröpfchengröße und deren Bindung an andere Zellbestandteile im Extraktionsrückstand (Vergrößerung x 500).	61
Abbildung 4-8: Einfluss des pH-Wertes auf den separierten Ölanteil sowie den Proteinanteil und -gehalt im Extraktionsrückstand.	64
Abbildung 4-9: Proteinlöslichkeit und Verteilung der Hauptproteinfraktionen in der löslichen Proteinfraktion der RPCs im Anschluss an eine wässrige Nachbehandlung bei unterschiedlichen Temperaturen und pH-Wert-Einstellungen.	70
Abbildung 4-10: Proteinlöslichkeit und Verteilung der Hauptproteinfraktionen in der löslichen Proteinfraktion der eingesetzten Hexan entölten Mehle geschälter Rapsorten.	83
Abbildung 4-11: Restaktivität der Myrosinase in geschältem, trocken vermahlenem Rapsmehl nach unterschiedlichen Blanchierzeiten mit Wasserdampf und im Extraktionsrückstand.	87
Abbildung 4-12: Analytische Charakterisierung der Extraktionsrückstände sowie der separierten Ölanteile nach einer wässrig-alkoholischen Extraktion von Mehlen (geschält, blanchiert) verschiedener Rapsorten.	93

Tabellenverzeichnis:

Tabelle 2-1: Chemische Zusammensetzung von Rapskörnern, Rapsschalen und Rapskotyledonen.....	6
Tabelle 2-2: Gehalt an phenolischen Substanzen in Ölsaaten	13
Tabelle 2-3: Eigenschaften von entölten Rapsmehlen [Nacz et al. 1985]	22
Tabelle 3-1: Inhaltsstoffzusammensetzung der eingesetzten Rapssorten	26
Tabelle 3-2: Inhaltsstoffzusammensetzung der geschälten, entfetteten Rapsmehle	28
Tabelle 4-1: Berechnung der offenen Zellen in einem Rapsmehl zur Abschätzung des frei vorliegenden Öles.	44
Tabelle 4-2: Bilanzierung von Trockenmasse, Protein und Fett in den Fraktionen	49
Tabelle 4-3: Einfluss der Extraktionszeit auf den separierten Ölanteil des Rapsmehles, den verbleibenden Masseanteil an Trockensubstanz im Extraktionsrückstand sowie dessen Inhaltsstoffzusammensetzung	53
Tabelle 4-4: Einfluss des Feststoff-Extraktionsmittel-Verhältnisses auf den separierten Ölanteil des Rapsmehles, den verbleibenden Masseanteil an Trockensubstanz im Extraktionsrückstand sowie dessen Inhaltsstoffzusammensetzung	55
Tabelle 4-5: Einfluss der Methode zur Bestimmung des frei vorliegenden Öles im eingesetzten Rapsmehl auf den theoretisch separierbaren Ölanteil im Vergleich mit den in den Versuchen erhaltenen separierten Ölanteilen.....	58
Tabelle 4-6: Anteil offener Zellen von unterschiedlich zerkleinerten Rapsmehlen zur Ermittlung des max. auswaschbaren Anteils an Öl mit einem 2-Propanol-Wasser Gemisch.....	60
Tabelle 4-7: Fettgehalte von verschiedenen Rapsmehlen und von den durch wässrig-alkoholische Extraktion gewonnenen Extraktionsrückständen	65
Tabelle 4-8: Proteingehalt des Extraktionsrückstandes nach ein bis drei Extraktionsstufen.....	67
Tabelle 4-9: Einfluss der Extraktionstemperatur auf die funktionellen Eigenschaften der Rapsproteinkonzentrate	69
Tabelle 4-10: Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs	71
Tabelle 4-11: Einfluss des Homogenisierdrucks während einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs	74
Tabelle 4-12: Einfluss der HDH-Passagen bei 180 bar bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholischen hergestellten RPCs	76
Tabelle 4-13: Einfluss der Temperatur, des pH-Wertes und der HDH-Behandlung bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs	78
Tabelle 4-14: Einfluss von pH-Wert, Temperatur und HDH-Behandlung bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs aus blanchiertem, entöltem Raps (var. Express)	80
Tabelle 4-15: Einfluss der Rapssorte des eingesetzten Mehles (geschält, Hexan entölt) auf die funktionellen Eigenschaften der wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs	84
Tabelle 4-16: Gehalte verschiedener Inhaltsstoffe im eingesetzten Rapsmehl (var. Express) und den mit wässrig-alkoholischer Extraktion hergestellten Proteinprodukten.....	88
Tabelle 4-17: Vergleich der funktionellen Eigenschaften des im halbtechnischen Maßstab hergestellten RPP mit verschiedenen RPCs.....	91
Tabelle 4-18: Einfluss der Rapssorte des eingesetzten Mehles (geschält und blanchiert) auf die funktionellen Eigenschaften der teilentölten RPPs	95

Verzeichnis der verwendeten Einheiten und Abkürzungen

Einheiten

bar	Bar [10^5 Pa]
°C	Grad Celsius = T [K] - 273,16 [K] T : thermodynamische Temperatur
g	Erdbeschleunigung [$9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$]
l	Liter [10^{-3} m^3]

Alle übrigen verwendeten Einheiten entsprechen dem Système International d'Unités (SI).

Abkürzungen

AACC	American Association of Cereal Chemists
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
C	Konzentration [g/l]
DGF	Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft (Einheitsmethoden)
DSV	Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen
EA	Emulgieraktivität
EC	Emulgierkapazität
EM	Extraktionsmittelphase
ES	Emulsionsstabilität
FBC	Fettbindekazität
FDS	Flash-Desolventizer-System
FS	Extraktionsrückstand
Gew.-%	Gewichtsprozent
GSL	Glucosinolate
HCl	Salzsäure
HD	Hochdruckhomogenisation
HPLC	high performance liquid chromatography
IP	Isoelektrischer Punkt
IPA	2-propanol (Isopropanol)
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz
N	Normalität
N	Stickstoff
NaOH	Natronlauge
NSI	Nitrogen Solubility Index
NPZ	Norddeutsche Pflanzenzucht
PA	Phytic acid (Phytinsäure)
PDI	Protein Dispersibility Index
R	mittlerer Partikelradius, D_{50} [μm]
RT	Raumtemperatur (ca. 20 °C)
RPP	Rapsproteinprodukt (Proteingehalt < 60 %)
RPC	Rapsproteinkonzentrat (Proteingehalt > 60 %)
RPI	Rapsproteinisolat (Proteingehalt >90 %)
s:l-Verhältnis	Solid to Liquid Ratio (Feststoff : Flüssigkeits-Verhältnis)
SPC	Sojaproteinkonzentrat (Proteingehalt > 60 %)
SPI	Sojaproteinisolat (Proteingehalt >90 %)
TS	Trockensubstanz
WBC	Wasserbindekazität
Z_{ov}	Anteil verschlossener Zellen

1 Einleitung und Problemstellung

In den letzten Jahrzehnten ist das wissenschaftliche und wirtschaftliche Interesse am Anbau und an der Verarbeitung von Raps stark angestiegen [Mielke 1999, Wäsche 2001]. Im Jahre 2000 war Raps mit 38 Mio. Tonnen, davon 9 Mio. Tonnen in der EU, die weltweit produktionsstärkste Ölsaart nach Soja (160 Mio. t) [Bundesamt 2001, Mielke u. Gay 2001, FAO 2002]. Aufgrund der hohen Verfügbarkeit und des niedrigen Rohstoffpreises für Raps auf dem Weltmarkt ist das Bestreben, aus Raps, neben hochwertigen Ölprodukten auch Proteinprodukte für den Einsatz in Lebensmitteln herzustellen von großem Interesse, weil ein steigender Bedarf an Proteinprodukten prognostiziert wird [Chajuss 1998].

Zur Zeit dominieren Sojaproteinprodukte, nämlich Sojaproteinkonzentrate (SPC) und –isolate (SPI), zusammen mit Weizenkleber bei weitem den Markt an pflanzlichen Proteinprodukten. Sojaproteinprodukte zeichnen sich durch variable funktionelle Eigenschaften, hohe Proteinreinheit und Fettgehalte unter 1 % in der Trockenmasse aus. Sie sind fast geschmacksneutral und besitzen eine weiße bis gelbliche Farbe. Diese Eigenschaften bilden den Vergleichsstandard, an dem sich alle Proteinprodukte aus pflanzlichen Rohstoffen messen lassen müssen. Hinzu kommt, dass die Rohstoffbasis für SPC und SPI praktisch unerschöpflich und preiswert ist, weil in der Sojabohne das Protein und nicht das Öl der wertgebende Inhaltsstoff ist, aus dem Öl aber die Wertschöpfung des Verfahrens der Verarbeitung der Sojabohnen zu Sojaöl und Sojamehl entsteht. Demgegenüber ist in Raps das Öl der wertgebende Inhaltsstoff und die Wertschöpfung aus der Verarbeitung des Rapses entsteht aus der Extraktion des Öls. Der Entölungsrückstand wird praktisch ausschließlich als Futtermittel verwertet.

Auf diesem Hintergrund wurde das Leitprojekt Napus2000 – „Gesunde Lebensmittel aus transgener Rapssaart“ vom BMBF gefördert. Ziel dieses Vorhabens war die grundlegende Erforschung von Raps als wichtigster heimischer Öl- und Proteinpflanze, darunter die Verbesserung ihrer ernährungsphysiologischen und technologischen Eigenschaften. Konzentriert auf die Schwerpunkte Öl, Antioxidantien, Protein und Lecithin standen die Optimierung und Erweiterung der ernährungsphysiologischen Qualität des Rapses auf transgenem und klassischem Züchtungsweg im Mittelpunkt einer interdisziplinär angelegten Forschungs- und Entwicklungsarbeit. Im Rahmen dieses Projektes ist die vorgelegte Dissertation entstanden, die sich mit der Entwicklung eines Verfahrens zur Herstellung von Rapsproteinen mittels eines neuartigen, simultanen Verfahrens zur Ölextraktion und Proteinproduktherstellung beschäftigt.

Das Interesse, aus Raps hochwertige Öl- und Proteinprodukte für den Einsatz in Lebensmitteln herzustellen, ist auf die Entwicklung von 00-Rapssorten in den 70er Jahren zurückzuführen. 00-Rapssorten zeichnen sich durch niedrige Gehalte an Erucasäure und Glucosinolaten aus. Das ist der Ausgangspunkt dafür, um aus Raps neben Öl gegebenenfalls auch Proteinprodukte auf wirtschaftliche Weise für den Einsatz in Lebensmitteln herstellen zu können sowie die Extraktionsrückstände zu Futtermittel aufarbeiten zu können.

Rapsöl ist besonders wegen seiner essentiellen Fettsäuren und deren Verteilung für die menschliche Ernährung geeignet. Der entölte und entbenzinierte Rückstand wird bisher als Tierfutter verwertet, obgleich er wegen seines hohen Proteingehaltes von rund 1/3 seiner Gesamtmasse auch als Rohstoff für die Herstellung von Proteinprodukten für die menschliche Ernährung anzusehen ist [Behlau 1990], weil die Aminosäuren Cystein und Methionin in ausgewogenen Anteilen im Verhältnis zu Lysin und anderen essentiellen Aminosäuren vorhanden sind [Jones 1979, Shahidi u. Naczki 1990].

Rapsproteine besitzen über ihre ernährungsphysiologische Wertigkeit hinaus funktionelle Eigenschaften, die dazu genutzt werden könnten, Proteinprodukte herzustellen, mit denen Lebensmitteln bestimmte Eigenschaftsprofile verliehen werden könnten. Diese können sich auf Struktur, Aussehen, Textur, Viskosität, Mundgefühl oder Aromaerhaltung der Lebensmittel erstrecken.

Neben dem ernährungsphysiologisch positiv zu bewertenden Öl und Protein enthalten auch die 00-Rapssorten immer noch negativ zu bewertende Bestandteile. Das sind im wesentlichen die Schalen (Fasern), phenolische Substanzen, Glucosinolate (GSL) und Phytinsäure (PA). Diese wirken sich auf die ernährungsphysiologische und sensorische Qualität von Raps und Rapsprodukten nachteilig aus oder sind antinutritiv [Jones 1979, Mieth et al. 1983, Sörensen et al. 2000].

Das Interesse an einem Verfahren zur quasi simultanen Gewinnung von Öl und Herstellung von Proteinprodukten ergab sich aus der Struktur der Ölmühlen in Deutschland, unter denen es viele kleine Ölmühlen gibt, die Ölextraktion aber grundsätzlich in großen Ölmühlen wirtschaftlicher als in kleinen ist. Deshalb könnte durch eine Proteinproduktherstellung mit einem solchen Verfahren die wirtschaftliche Grundlage kleinerer Ölmühlen erhöht werden. Demgegenüber spielt diese Überlegung für größere Ölmühlen, einmal abgesehen von der Konkurrenzsituation zu Sojaproteinprodukten, keine Rolle, weil der Proteinproduktmarkt ohnehin nur ein beschränktes Volumen, einschließlich des prognostizierten Volumenzuwachses, aufweist.

Die bisherigen Überlegungen zur Herstellung von Rapsproteinprodukten lehnen sich an die aus der Sojaproteinproduktherstellung bekannten Verfahren an. In diesen Verfahren wird die Öl- und die Proteingewinnung aus Raps getrennt voneinander betrachtet [Anjou 1978, van Mengen 1981, Elstner u. Stein 1982]. Das gilt auch für das von Kozłowska et al. beschriebene Verfahren, bei dem zuerst die toxischen Begleitstoffe wässrig extrahiert werden, darauf der verbleibende Rückstand getrocknet und dann konventionell mit einem Lösungsmittel entölt wird, so dass ein Proteinkonzentrat erhalten wird [Kozłowska 1979]. Darüber hinaus ist, ähnlich wie bei anderen Ölsaaten, von Wäsche versucht worden, eine simultane Öl- und Proteingewinnung durch wässrige Verdrängungsextraktion zu realisieren. Das ist aber an der dabei erfolgten Emulsionsbildung gescheitert [Wäsche 2001].

In diesem Zusammenhang ist das Verfahren von Frische et al. interessant, das die Gewinnung von Ölen aus nativen Stoffgemengen im Zentrifugalfeld beschreibt, wobei durch Zusatz eines wasserlöslichen, organischen Lösemittels das Stoffgemenge in einem einzigen zentrifugalen Trennschritt in eine wässrige, feste Bestandteile enthaltende Phase und eine flüssige, organische Phase (Öl) getrennt wird, ohne dass es dabei zu einer Emulsionsbildung kommen soll [Frische et al. 1996]. Das Verfahren von Frische ist grundsätzlich nur auf die Ölgewinnung aus verschiedenen Rohstoffen ausgerichtet und beschreibt keine Proteingewinnung aus diesen Rohstoffen. Es kann aber in abgewandelter Form, wie Meuser et al. gezeigt haben [Meuser et al. 2002], wegen der Verwendung wässriger Alkohole als Verdrängungsmittel für das Öl als Ansatz für die Entwicklung eines simultanen Verfahrens zur Protein- und Ölproduktgewinnung aus proteinreichen Rohstoffen herangezogen werden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, ein Verfahren zur wässrig-alkoholischen Entölung von Raps mit simultaner Proteingewinnung zu entwickeln. Dazu war es erforderlich, den dabei entstehenden Extraktionsrückstand nach seiner Aufarbeitung zum Proteinprodukt hinsichtlich seiner Eignung für den Einsatz in Lebensmitteln zu bewerten. Dazu waren die Parameter zur Erzielung hoher Produktausbeuten zu ermitteln und die Qualitätsparameter für Proteinprodukte an den herstellbaren Rapsproteinprodukten festzustellen.

Die Aufgabenstellung wurde in drei Teile untergliedert. Im ersten Teil der Arbeit wurden Versuche zur Entfettung (Entölung) von Raps durch eine wässrig-alkoholische Extraktion durchgeführt. Ein besonderer Schwerpunkt wurde auf Untersuchungen gelegt, die mögliche Einflussfaktoren zur Zerstörung der Oleosomenmembran sowie zur Verringerung von Wechselwirkungen zwischen Öl und anderen Saatinhaltsstoffen aufzeigen. Als Einflussfaktoren wurden die

Alkoholkonzentration im wässrig-alkoholischen Extraktionsmittel, der Schalenanteil des eingesetzten Rapsmehles, das Feststoff-Extraktionsmittel-Verhältnis, die Extraktionszeit und die Extraktionstemperatur betrachtet. Darüber hinaus wurden der Einfluss des pH-Wertes, der Einfluss der Vermahlung sowie der Einfluss vorentfetteter Rohstoffe und einer hydrothermischen Vorkonditionierung geschälten Rapsbruches untersucht.

Da der Einsatz von Alkohol die funktionellen Eigenschaften von Proteinen beeinflusst [Fukushima 1969, Howard 1980, Behlau 1990, Belitz et al. 1992, Cheftel et al. 1992, Wäsche 2001], bestand die zweite Aufgabe darin, die Rapsproteine zu refunktionalisieren. Aus der Sojaverarbeitung sind verschiedene Methoden zur Refunktionalisierung von Proteinprodukten bekannt [Howard 1980, Cabral et al. 1997]. Allerdings konnten diese Verfahren nicht unmittelbar zur Modifizierung von Rapsproteinprodukten eingesetzt werden, da die Zusammensetzung der Hauptproteinfraktionen bei Soja deutlich anders ist als bei Raps. Eine mögliche Modifizierung von Proteinprodukten aus Raps durch angepasste Verfahrensbedingungen oder eine wässrige Nachbehandlung des Extraktionsrückstandes zur Verbesserung der funktionellen Eigenschaften ist bisher noch nicht aufgezeigt worden.

Deshalb wurde versucht, die Proteinprodukte aus Raps durch angepasste Verfahrensbedingungen und eine wässrige Nachbehandlung des Extraktionsrückstandes im Sinne einer Refunktionalisierung zu modifizieren. Für die Versuche wurde geschältes, Hexan entöltes Rapsmehl eingesetzt. Das Rapsmehl wurde wässrig-alkoholisch extrahiert und anschließend wässrig nachbehandelt. Die funktionellen Eigenschaften der hergestellten Proteinprodukte wurden in Abhängigkeit von den Verfahrensbedingungen bestimmt. Darüber hinaus wurde der Einfluss der Hauptproteinfraktionen Cruziferin (12 S) und Napin (2 S) im löslichen Proteinanteil bestimmt.

Im dritten Teil der Arbeit wurden wässrig-alkoholische Entölungsversuche in Hinblick auf die Bewertung des Extraktionsrückstandes als Proteinprodukt durchgeführt. Hierfür wurden die Ergebnisse aus dem ersten Teil bezüglich der bestmöglichen Ölseparation sowie die Ergebnisse des zweiten Teils bezüglich einer Refunktionalisierung der Proteinprodukte umgesetzt. Die Versuche wurden im Pilotmaßstab durchgeführt.

Die im halbtechnischen Maßstab hergestellten Proteinprodukte wurden hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften und antinutritiver Inhaltsstoffe untersucht und bewertet. Ziel dieser Versuche war es, eine Aussage hinsichtlich der Verfahrensumsetzung und der Applikationsmöglichkeiten der Proteinprodukte

geben zu können. Schließlich wurde das entwickelte Verfahren in orientierenden Versuchen auf geschälte, blanchierte Rapsmehle anderer Rapsorten angewandt, um zu prüfen, in wie weit das Verfahren allgemein auf die Verarbeitung von Raps übertragen werden kann.

2 Stand des Wissens

2.1 Morphologie und chemische Zusammensetzung der Rapskörner

Raps gehört zu den zweikeimblättrigen Pflanzen. In der reifen Rapssaat, den Rapskörnern liegen die beiden Keimblätter als Kotyledonen ausgebildet vor und machen ca. 80 % der Masse der Körner aus [Yiu et al. 1983]. Der Schalenanteil der Körner wird in Abhängigkeit von der Sorte zwischen 15 % und 20 % angegeben [Cramer 1989, Shahidi 1990, Wäsche 2001]. Die schwarz gefärbten Schalen enthalten den überwiegenden Teil der im Raps vorkommenden unlöslichen Kohlenhydrate als strukturelle Polysaccharide

Hauptinhaltsstoffe der Rapskörner sind mit 40 % bis 50 % Fette (Öl) und mit 18 % bis 25 % Proteine [Olsen u. Anjou 1979, Ericson et al. 1986, Cramer 1989, Rosenthal et al. 1996]. Der Öl- und Proteingehalt in den Schalen ist mit 14 % Öl bzw. 13 % Protein gering im Vergleich zu den Fett- und Proteinreserven in den Kotyledonen mit 50 % bzw. 28 %. Tabelle 2-1 gibt einen Überblick über die mittlere chemische Zusammensetzung von Rapskörnern, Schalen und Kotyledonen. In der Literatur wird das gespeicherte Fett oft auch als Oil-bodies oder Oleosomen und das gespeicherte Protein als Protein-bodies oder Aleuron bezeichnet [Yiu et al. 1982, Rosenthal et al. 1996].

Tabelle 2-1: Chemische Zusammensetzung von Rapskörnern, Rapsschalen und Rapskotyledonen

Inhaltsstoff	Rapskörner [% TS]	Schalen [% TS]	Kotyledonen [% TS]
Öl	40-50 ¹⁾²⁾	14 ²⁾	50 ²⁾
Protein (N*6,25)	18-25 ¹⁾²⁾	13 ¹⁾²⁾	28 ²⁾
Polysaccharide	8-15 ¹⁾²⁾	22-24 ¹⁾²⁾	3-6 ¹⁾²⁾
Zucker / Oligosaccharide	⁵⁾	1-3 ¹⁾	5-6 ¹⁾
Lignin	4-6 ¹⁾	29-35 ¹⁾	⁵⁾
Phenolische Substanzen	0,5-2 ⁴⁾	6 ³⁾	⁵⁾
Phytinsäure	3-4 ⁴⁾	⁵⁾	⁵⁾
Glucosinolate	< 0,03 ⁴⁾	⁵⁾	⁵⁾

1) Anjou et al. 1977

2) Kozłowska et al. 1988

3) Naczek et al. 2001

4) Wäsche 2001

5) Keine Angaben

reichen (b) [Murphy 1993 a/b, Huang et al. 1993]. Der C-Terminus besteht aus 33 bis 40 Aminosäuren und besitzt eine α -Helix-Struktur. Dieser Teil steht in Wechselwirkung mit der Phospholipidschicht [Tzen et al. 1992, Murphy 1993a/b, Huang et al. 1994, Rosenthal et al. 1996]. Die Proteine in der Membran verhindern aufgrund ihrer Struktur unmittelbar das Koaleszieren der Öltröpfchen. Das Oleosin ist im Zusammenspiel mit Phospholipiden ideal dazu geeignet, Emulsionen zu stabilisieren. Das Oleosin ist in wässrigen Medien, soweit bekannt, erst durch Zugabe von ionischen Detergenzien löslich. Bisher ist es nicht gelungen, dieses Membranprotein aus seinem natürlichen Milieu zu entfernen, ohne es dabei zu denaturieren [Wäsche 2001].

Vom verfahrenstechnischen Standpunkt der Ölgewinnung aus, ist eine Zerstörung bzw. Schädigung der Membran von großem Vorteil. Das koaleszierte Öl kann dadurch einfacher aus den Zellen herausgewaschen bzw. herausgelöst werden [Ponne et al. 1996]. Eine Zerstörung der Oleosomen kann beispielsweise durch Wärmeeinwirkung [Ponne et al. 1996], enzymatische Behandlung [Rosenthal et al. 1996] oder den Einsatz organischer Lösungsmittel erfolgen.

Ponne [Ponne et al. 1996] hat Versuche zur Zerstörung der Oleosomen durch Einwirkung von Wasserdampf sowie von Mikrowellenenergie durchgeführt. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass die Koaleszens der Oleosomen mit Dampf- oder Mikrowellenbehandlung über die Zeit zunimmt. Durch Behandlung mit Wasserdampf (bei Atmosphärendruck) wurde vollständige Koaleszens der Öltröpfchen nach 90 Sekunden beobachtet, während vollständige Koaleszens der Öltröpfchen bereits nach 50 Sekunden unter Einsatz von Mikrowellen eintrat.

Einige Arbeiten berichten auch von Versuchen, die Oleosomenmembran durch enzymatische Hydrolyse der Proteine zu zerstören [McGlone et al. 1986, Yoon et al. 1991, Rosenthal et al. 1996]. Durch die Hydrolyse mit proteolytischen Enzymen kann das Öl leichter mit wässrigen oder organischen Lösungsmitteln aus den Zellen herausgelöst werden. Die Untersuchungen haben jedoch nicht gezeigt, ob die gesteigerten Ölausbeuten durch eine proteolytische Zerstörung der Oleosomenmembran bedingt waren.

Untersuchungen mit organischen Lösungsmitteln zur Zerstörung der Oleosomenmembran wurden bisher noch nicht mit der Zielstellung einer gesteigerten Ölausbeute durchgeführt. Aus der Literatur ist jedoch bekannt, dass organische Lösungsmittel denaturierend auf Proteine wirken [Fukushima 1969, Karnofsky 1980, Karnofsky 1985] und somit auch die Struktur des Oleosins in der Membran schädigen können.

2.1.2 Speicherprotein

Die Aleuronkörper (Protein-bodies) bilden mit ca. 80 % den größten Anteil der Gesamtmasse des Rapsproteins. Der Gesamtproteingehalt in Rapskörnern beträgt 18 % bis 25 %, welcher sich nach der Entölung von Raps auf 38 % bis 48 % im Rapsmehl erhöht. Die Aleuronkörper haben einen Durchmesser von 1 µm bis 10 µm [Yiu et al. 1982]. Eine Fraktionierung der Rapsproteine aufgrund ihrer Löslichkeit mit dem von T.B. Osborne [Osborne 1924] angewandten Verfahren ergibt zwei Hauptfraktionen: Napin (Albumin, wasserlöslich) und Cruziferin (Globulin, 0,4 mol/l NaCl-löslich). Das Verhältnis der Proteinfractionen Cruziferin zu Napin schwankt im Rapskorn je nach Varietät zwischen 0,7 bis 2,0 [Gueguen et al. 2001]. Für 00-Rapssorten liegt das Cruziferin/Napin-Verhältnis bei 1,1 bis 1,3 [Malabat et al. 2003]. Damit ist die Zusammensetzung der Speicherproteine bei Raps deutlich anders als bei Soja, wo ca. 90 % der Speicherproteine 12 S Proteine ausmachen. Im Folgenden soll kurz auf die wesentlichen Charakteristika der beiden Hauptproteinfractionen eingegangen werden.

Napin ist ein 2 S-Albumin mit einer Molmasse von 12 kDa bis 17 kDa [Schwenke et al. 1973, Mieth et al. 1983, Schwenke 1994]. Der isoelektrische Punkt liegt je nach untersuchter Spezies zwischen einem pH-Wert von 9 und pH 11 [Schwenke et al. 1973, Mieth et al. 1983, Olsen u. Sepp 1983]. In der Sekundärstruktur sind die Peptidketten des Napins zu 40 % bis 46 % als α -Helix gefaltet, nur ein geringer Anteil ist in β -Faltblattstruktur (12 %) aufgebaut. Napin ist aus zwei Polypeptidketten aufgebaut, welche über Disulfid-Bindungen miteinander verbunden sind [Mieth et al. 1983, Schwenke 1994].

Es wird vermutet, dass durch die Disulfid-Bindungen die Proteinketten des Napins relativ unbeweglich sind. Molekulare Beweglichkeit ist jedoch ein wichtiger Parameter bei der Beeinflussung der funktionellen Eigenschaften von Proteinen [Schwenke 1994]. Allerdings lässt sich Napin in einen hydrophilen und einen hydrophoben Bereich aufteilen. Hierdurch ist das Proteinmolekül in der Lage sich schnell an Grenzflächen zwischen hydrophoben und hydrophilen Phasen auszurichten und Emulsionen auszubilden.

Cruziferin ist ein oligomeres 12 S-Globulin mit einer Molmasse von ~300 kDa. Entsprechend seiner Quartärstruktur dissoziiert das Cruziferin milieuhabhängig von 12 S zu 7 S oder 2-3 S oder assoziiert in umgekehrter Richtung von 7 S zu 12 S (Abbildung 2-2). Der isoelektrische Punkt des Cruziferins liegt bei einem pH-Wert von 7,2. Die Sekundärstruktur des Proteins ist durch einen 10 %igen α -Helix-Gehalt und durch einen ca. 50 %igen Gehalt an β -Konformation charakterisiert [Mieth et al. 1983, Schwenke et al. 1983, Schwenke 1994].



Abbildung 2-2: Abhängigkeit der Milieubedingungen auf die Dissoziierung von 12 S Rapsproteinen [Schwenke et al. 1983].

Cruziferin ist aus sechs Untereinheiten zusammengesetzt. Jede Untereinheit ist aus kleineren Komponenten mit sauren α -Polypeptiden sowie basischen β -Polypeptiden aufgebaut. Unter reduzierenden Bedingungen können mit SDS-PAGE vier Banden charakterisiert werden. Die Molmassen liegen bei ca. 18.500 Da (β_2), 21.000 Da (β_1), 27.000 Da (α_2) und 31.000 Da (α_1) [Mieth et al. 1983, Raab u. Schwenke 1986, Schwenke et al. 1986a,b, Schwenke 1994]. Im Gegensatz zu den meisten 11/12 S Globulinen anderer Pflanzen, welche ein Dimer aus α - und β - Polypeptid mit einer Disulfid-Bindung ausbilden, zeigt Cruziferin zusätzlich zu diesen erwarteten Verbindungen eine weitere ungewöhnliche Disulfid-Verknüpfung, welche aus einem kleinen Anteil an β -/ β -Polypeptiden aufgebaut ist [Schwenke et al. 1986a]. Eine weitere Besonderheit des Cruziferins zeigt sich darin, dass nicht nur die typischen basischen β -Polypeptide, sondern ungewöhnlicherweise auch saure β -Polypeptide ausgebildet werden [Raab u. Schwenke 1986].

Ein in der Literatur allgemein angegebenes Strukturmodell für 11/12 S-Globuline lokalisiert die hydrophoben β -Peptidketten im Inneren des Gesamtmoleküls, während die stark hydrophilen C-terminalen Regionen der α -Peptidketten an der Oberfläche des Moleküls ausgerichtet sind [Plietz et al. 1986, Plietz et al. 1987, Schwenke 1994]. In der Mitte der α -Peptidketten des Cruziferins wurde eine Aminosäuresequenz aus 38 Aminosäuren entdeckt, überwiegend bestehend aus Glycin und Glutamin, welche in anderen Pflanzen (Leguminosen) nicht in dieser α -Kette nachgewiesen werden konnte [Schwenke 1994]. Es wird vermutet, dass diese Sequenz sich auf der Oberfläche des Makromoleküls ausrichtet und dass dieses C-terminale Ende der α -Kette eine besondere Bedeutung hinsichtlich der funktionellen Eigenschaften von Cruziferin hat [Schwenke 1994].

2.2 Antinutritive Inhaltsstoffe

In den Rapskörnern sind Glucosinolate (GSL), Phytinsäure (PA) und phenolische Substanzen als antinutritive Inhaltsstoffe anzusehen [Mieth et al. 1983, Shahidi u. Naczk 1990, Harland et al. 1995, Pietsch et al. 1995, Pippig et al. 1995, Porres et al. 2001].

2.2.1 Glucosinolate

Der Glucosinolatgehalt ist in 00-Rapssorten mit kleiner 30 µmol/g entöltem Schrot sehr gering [Bell 1984, Shahidi u. Naczk 1990, Shahidi et al. 1997]. In wässrigen Lösungen werden GSL durch das saateigene Enzym Myrosinase hydrolysiert. In der nativen Rapszelle liegen die Glucosinolate und das Enzym getrennt voneinander vor. Durch Zerstörung der Zellstruktur werden die Glucosinolate für die Myrosinase zugänglich. Die Abbauprodukte (z.B. Isothiocyanate, Nitrile, Thiocyanate) der Glucosinolate reduzieren den ernährungsphysiologischen Wert von Rapsproteinprodukten [Mieth et al. 1983, Bell 1984, Huang et al. 1994]. Verschiedene Abbauprodukte hemmen die Aufnahme von Jod in die Schilddrüse. Daher kann eine verstärkte Aufnahme von Rapsmehlprodukten bei gleichzeitig geringer Jodzufuhr zur Kropfbildung führen [Belitz et al. 1992]. In Tierversuchen führte der über die Abbauprodukte der GSL verursachte Jodmangel zu Wachstumsstörungen [Shahidi u. Naczk 1990]. Daher ist aus verfahrenstechnischer Sicht bezüglich der Herstellung von ernährungsphysiologisch hochwertigen Proteinprodukten aus Raps der Einsatz von Glucosinolat-reduzierten sowie Myrosinase-inaktivierten Sorten empfehlenswert [Jones 1979, Sörensen 1990, Shahidi et al. 1997]. Dies ist durch eine hydrothermische Konditionierung der Saat vor der eigentlichen Verarbeitung zu realisieren [Behlau 1990].

2.2.2 Phytinsäure

Phytinsäure (Myo-Inosithexaphosphat) ist ein pflanzlicher Phosphatspeicher, der teilweise mehr als zwei Drittel des pflanzlichen Phosphats enthält [Erdmann 1979, Rickard u. Thompson 1997, Lickfett et al. 1999]. Phytinsäure ist vor allem als Calcium-, Magnesium- oder Kalium-Salz vorhanden. Phytinsäure liegt in Mengen von 1 % bis 6 % in den verschiedenen Pflanzenorganen, vor allem den Samen, vor. Phytinsäure wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Zum einen wird Phytinsäure als antinutritiver Faktor betrachtet, da sie die Ca-, Fe-, Mg- und Zn-Resorption aus der Nahrung beeinträchtigt und außerdem Proteine an sich bindet [Harland u. Morris 1995, Pietsch et al. 1995, Pippig et al. 1995, Porres et al. 2001]. Zum anderen wird Phytinsäure als krebsvorbeugend diskutiert. In Tier-

versuchen konnte gezeigt werden, dass Phytinsäure der Bildung und Entstehung von Darm-, Lungen- und Brustkrebs vorbeugt [Shamsuddin 2002].

Aus verfahrenstechnischer Sicht ist Phytinsäure für die Gewinnung von hochwertigen Proteinprodukten aus Raps hinderlich. Phytinsäure bildet mit den Erdalkaliionen Metallsalze aus und bindet Protein entweder direkt über gegensätzliche Ladung von Phytinsäure und Protein oder indirekt über Erdalkali-ionen, wenn sowohl Protein und Phytinsäure negativ geladen sind [Cheryan 1980, Mieth et al. 1983, Serraino u. Thompson 1984, Thompson 1987, Graf u. Eaton 1990]. Aufgrund der Reaktion von Phytinsäure mit Proteinen zu unlöslichen Komplexen kann Phytinsäure auch als Fällungsmittel für Proteinlösungen eingesetzt werden [Schwenke 1994]. Rapsproteinprodukte (RPP) mit geringen Phytinsäuregehalten haben bessere Emulgiereigenschaften als RPP mit hohen Phytinsäuregehalten. Allerdings ist eine Korrelation von Phytinsäuregehalt und funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte bisher nicht möglich, da von den untersuchten Proteinprodukten keine genauen Angaben über die Zusammensetzung und die Konformation der Proteine verfügbar sind [Schwenke 1994].

2.2.3 Phenolische Substanzen

Phenolische Substanzen sind ein wichtiger Faktor bei der Bewertung von Proteinprodukten aus Raps. Der Gehalt an phenolischen Substanzen in Rapskörnern ist im Vergleich mit anderen Ölsaaten deutlich höher (Tabelle 2-2) [Naczki 1986, Schwenke 1994, Naczki 1998]. Die gemessenen Gehalte der phenolischen Verbindungen in den Rapskörnern sind zwar nicht toxisch [Graf 1983], jedoch tragen phenolische Substanzen zum bitteren, adstringierenden Geschmack und zur dunklen Farbe von Rapsmehlprodukten bei [Synge 1975, Sosulski 1979, Naczki 1986, Naczki 1989]. Sinapinsäure (SA) ist mit über 73 % im Raps die vorherrschende phenolische Verbindung. Der überwiegende Anteil der Sinapinsäure liegt in veresterter Form vor [Naczki 1989]. Betrachtet man die ernährungsphysiologische Qualität von Rapsproteinprodukten ist der Tanningehalt ebenfalls zu berücksichtigen. Tannine sind vorwiegend in der Schale, Sinapine und phenolische Säuren überwiegend im Cotyledon gespeichert [Fenton 1980].

Phenolische Substanzen sind ebenso wie Phytinsäure in der Lage, mit Proteinen zu reagieren und Komplexe zu bilden. Hierdurch können die funktionellen Eigenschaften sowie die Farbe der Proteinprodukte negativ beeinflusst werden [Mieth 1983, Naczki 1989].

Tabelle 2-2: Gehalt an phenolischen Substanzen in Ölsaaten

Ölsaart		Gehalt [g/kg] ⁴⁾
Soja ¹⁾	Geschält, entölt	0,23
Baumwollsaat ¹⁾	Geschält, entölt	0,57
Erdnuss ¹⁾	Geschält, entölt	0,63
Raps / Canola ^{1,3)}	Geschält, entölt	6,4-12,8
Canola ^{2,3)}	Ungeschält, entölt	15,4-18,4
Soja ²⁾	Ungeschält, entölt	4,6

1) Kozłowska 1990

2) Nacz 1986

3) Canola ist die Bezeichnung für kanadische Rapsorten

4) Berechnet auf Trockensubstanz

2.3 Einflussfaktoren auf die funktionellen Eigenschaften pflanzlicher Proteine

Pflanzliche Proteine besitzen eine räumliche Konformation, die ihnen eine optimale Wechselwirkung mit Lösungsmittelmolekülen, z.B. Wasser, gestattet: Die hydrophilen Gruppen der Proteine sind bezogen auf die räumliche Struktur ihrer Moleküle nach außen gerichtet, die hydrophoben nach innen. Dies führt zur Orientierung der Peptidketten [Fukushima 1969, Mieth et al. 1983, Belitz et al. 1992, Schwenke 1994, Ternes 1994]. Die Löslichkeit eines Proteins in Wasser stellt für eine ganze Reihe seiner funktionellen Eigenschaften eine Grundvoraussetzung dar. Zum Beispiel bilden in Wasser gelöste Proteine bei der Stabilisierung von Emulsionen Grenzflächenfilme zwischen Öl und Wasser aus, die das Zusammenfließen der dispersen Phase verhindern [Belitz et al. 1992]. Die Fähigkeit der Proteine, sich an Phasengrenzflächen auszurichten und diese zu stabilisieren, ist bei geringer Löslichkeit stark eingeschränkt [Westphal 2003]. Die Löslichkeit eines denaturierten Proteins ist meist geringer als die eines nativen Proteins [Cheftel et al. 1992, Ternes 1994]. Die Proteinlöslichkeit wird in der Literatur meistens als Nitrogen Solubility Index (NSI) oder als Protein Dispersibility Index (PDI) charakterisiert.

Wesentlichen Einfluss auf die Löslichkeit eines Proteins haben die Parameter Temperatur, Feuchte (Wasser) und Zeit, die unmittelbar miteinander verknüpft sind [Becker 1971, Westphal et al. 2003]. Steigt die Temperatur einer Proteinlösung, kann die kinetische Energie der Proteinmoleküle so groß werden, dass die Bindungen, die zur Stabilisierung ihrer Sekundär- und Tertiärstruktur notwendig sind, gelöst werden. Es kann zu einer Denaturierung der Proteine kommen [Cheftel et al. 1992]. Der Einfluss der thermischen Energie auf die Protein-denaturierung kann bei Proteinprodukten über die Einstellung ihres Wasser-

gehalts beeinflusst werden. Dabei nimmt der thermische Einfluss auf die Denaturierung bei a_w -Werten unter 0,5 ab. Je länger jedoch die Temperatureinwirkung dauert, umso mehr werden die Proteinstrukturen aufgefaltet. Die globulären Proteine sind von Strukturveränderungen durch thermische Denaturierung besonders betroffen. Grundsätzlich folgt die thermische Protein-denaturierung einem Temperatur-Zeit-Regime. Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Speicherproteine bei Soja und bei Raps lassen sich Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Denaturierung der Speicherproteine bei Soja allerdings nicht auf Rapsproteine übertragen. Bekannte Verfahren aus der Sojaverarbeitung zur Modifizierung bzw. Steigerung der Proteinlöslichkeit von Proteinprodukten, welche zum Beispiel von Howard et al. und Cabral et al. entwickelt wurden [Howard 1980, Cabral et al. 1997], sind für Proteinprodukte aus Raps bisher kaum entwickelt.

Radwan [Radwan u. Lu 1976] untersuchte den Einfluss von Temperatur und pH-Wert auf die Löslichkeit von Rapsproteinen. Für seine Versuche verwendete er geschältes, Hexan entöltes und vakuumdesolventiertes Rapsmehl mit einem Proteingehalt von 51 % bezogen auf Trockensubstanz. Das Rapsmehl wurde in Wasser bei unterschiedlichem pH-Wert und unterschiedlicher Temperatur eine Stunde suspendiert. Anschließend wurde die Suspension zentrifugiert und der Proteingehalt in der Extraktphase bestimmt. Die Untersuchungen zeigten, dass die Löslichkeit von Rapsproteinen beim Anstieg der Temperatur von 25 °C bis 55 °C zunimmt. Außerdem erfolgt eine Verschiebung des Löslichkeitsminimums bei ansteigender Temperatur von pH 4,5 nach pH 7,2. Dies ist auf die Abhängigkeit des Dissoziationsgrades der Proteine von der Temperatur und vom pH-Wert zurückzuführen. Die veränderte Konformation der Proteinmoleküle bewirkt eine Veränderung des Löslichkeitsverhaltens der Proteine.

Ein weiteres Ergebnis der Untersuchungen von Radwan war es, dass die Proteinlösung in Abhängigkeit vom pH-Wert die Farbe veränderte. Diese Farbveränderungen können auf Wechselwirkungen mit anderen Inhaltsstoffen der Rapskörner, insbesondere den oben diskutierten antinutritiven Inhaltsstoffen, zurückgeführt werden (vgl. Kapitel 2.2). Für den Einsatz in Lebensmitteln sollen die Proteinprodukte eine neutrale Farbe aufweisen. Eine neutrale Farbe der Proteinlösung, also keine farblichen Veränderungen, wurde bei den Untersuchungen am Löslichkeitsminimum ermittelt. Mit fallendem pH-Wert wechselte die Farbe jedoch von gelb nach grau-braun. Bei einer pH-Wert-Verschiebung in den alkalischen Bereich wechselte die Farbe von gelb nach dunkelgrün [Radwan u. Lu 1976, Westphal et al. 2003].

Die Löslichkeit pflanzlicher Proteine wird auch von organischen Lösungsmitteln beeinflusst [Fukushima 1969, Howard 1980, Mieth et al. 1983, Behlau 1990, Belitz et al. 1992, Wäsche 2001, Meuser et al. 2002]. Fukushima [Fukushima 1969] hat gezeigt, dass die Fähigkeit von organischen Lösungsmitteln Proteine zu denaturieren von der Hydrophobizität der Lösungsmittel und dem Grad ihrer Verdünnung mit Wasser abhängen. Aus der Abbildung 2-3 geht hervor, dass es für hydrophobe Lösungsmittel, die beliebig mit Wasser mischbar sind, ein charakteristisches Verhältnis von Lösungsmittel zu Wasser gibt, bei dem die höchste Denaturierung für Sojaproteine vorkommt. Isopropanol (2-Propanol) und t-Butanol haben im Vergleich zu Methanol, Ethanol, und n-Propanol einen geringeren Einfluss auf die Denaturierung der Sojaproteine.

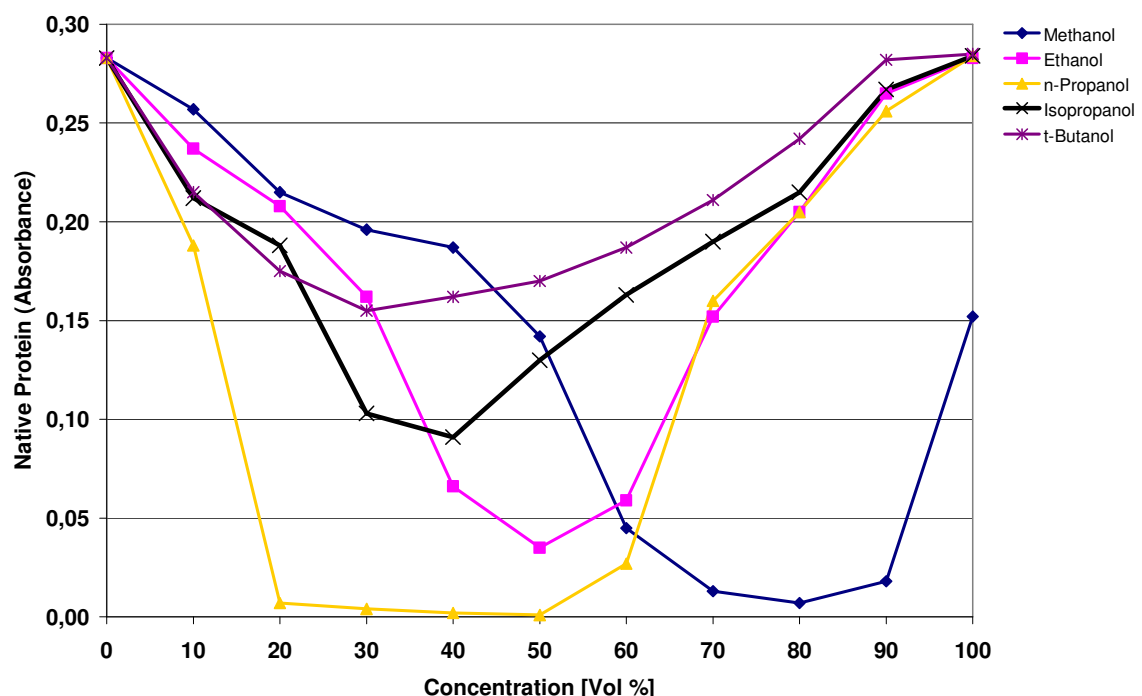


Abbildung 2-3: Denaturierung von entfetteten Sojabohnenmehlproteinen mit wassermischbaren Alkoholen (60 min, 50 °C) [nach Fukushima 1969].

Fukushima hat außerdem gezeigt, dass es einen Einfluss von Zeit, Temperatur und Lösungsmittelkonzentration auf die Denaturierung von entfetteten Sojabohnenmehlproteinen mit Alkohol gibt, wobei die Geschwindigkeit der Denaturierung durch wässrigen Alkohol sehr hoch ist und die Denaturierung in wenigen Minuten beendet ist.

Fukushima begründet seine Ergebnisse damit, dass die nach außen gerichteten hydrophilen Proteinketten eine Schutzschicht in organischen Lösungsmitteln bilden. Mögliche Wechselwirkungen zwischen organischem Lösungsmittel und

Proteinen führen zu keiner Änderung der Struktur der Proteine, da die organischen Lösungsmittel nicht mit den hydrophoben, nach innen gerichteten Proteinketten in Wechselwirkung treten können.

In Gemischen von Wasser und organischen Lösungsmitteln kann Wasser, infolge seiner starken Fähigkeit Wasserstoffbrücken auszubilden, in diese Schutzhülle der hydrophilen Proteinketten eindringen. Durch das Wasser verändert sich die äußere hydrophile Struktur der Proteine. Die hydrophoben, nach innen gerichteten Proteinketten und deren gegenseitige Wechselwirkungen werden durch die Wechselwirkungen von Wasser mit den äußeren hydrophoben Proteinketten verstärkt. Diese hydrophoben Proteinketten können mit wassermischbaren Lösungsmitteln (z.B. Alkoholen), welche sowohl hydrophile als auch hydrophobe Bereiche haben, in Wechselwirkung treten, so dass die Proteine denaturiert werden [Fukushima 1969]. Mit abnehmendem Wasseranteil wird der hydrophile Anteil im Wasser-Ethanol-Gemisch geringer, so dass eine Änderung der hydrophilen äußeren Struktur sowie eine temperaturabhängige Strukturänderung der hydrophoben Proteinteile nicht vollständig erfolgt [Fukushima 1969]. Der Anteil an denaturierten Proteinen verringert sich demzufolge.

Entsprechende Untersuchungen zum Einfluss von Alkoholen auf die Löslichkeit von Rapsproteinen sind bisher nicht durchgeführt worden, sie sind aber für die Entwicklung eines alternativen Verfahrens zur Gewinnung von Öl- und Proteinprodukten aus Rapskörnern auf Basis wässrig-alkoholischer Extraktionsmittel unabdingbar, weil daraus Rückschlüsse auf funktionelle Eigenschaften auf damit hergestellte Proteinprodukte gezogen, beziehungsweise Maßnahmen zur Modifikation der Proteinprodukte erarbeitet werden können.

2.4 Verfahren der Rapsverarbeitung

In diesem Unterkapitel werden die Verfahrensschritte bei der Rapsverarbeitung dargestellt. Einen Überblick über mögliche Verarbeitungsverfahren von Rapskörnern gibt Abbildung 2-4 wieder. Die Technologie der Rapsverarbeitung ist auf die Ölausbeute und Ölqualität ausgerichtet. Die Vorgehensweise zur konventionellen Ölgewinnung aus Raps ist in der Fachliteratur eingehend beschrieben [Garcia-Serrato 1981, Behlau 1990, Unger 1990, Bockisch 1993, Woerfel 1995, Wäsche 2001].

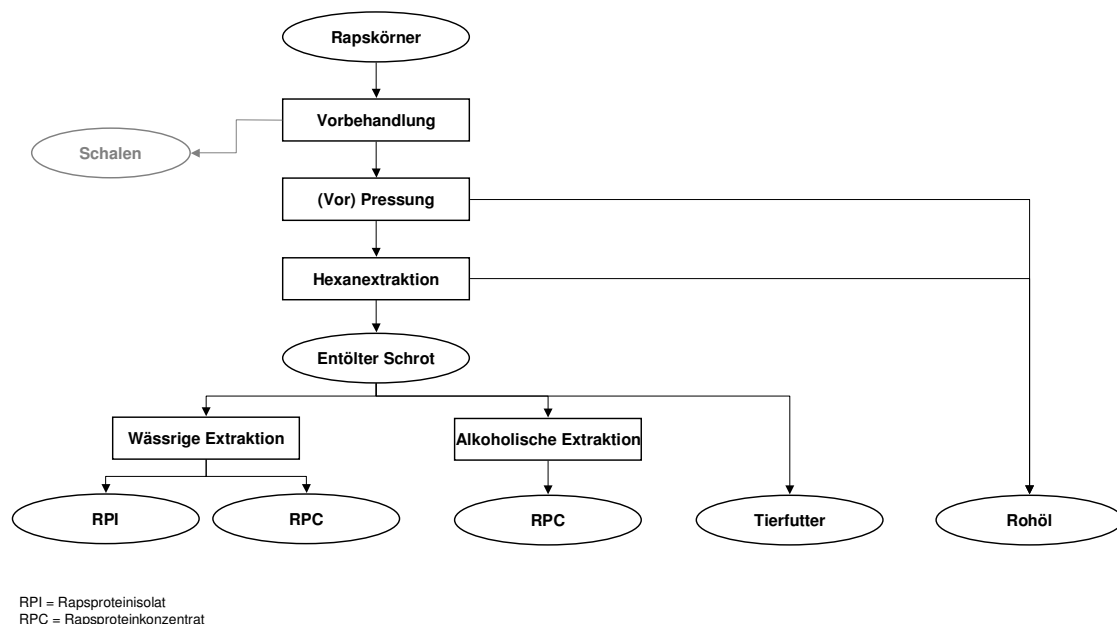


Abbildung 2-4: Mögliche Verfahrenswege zur Verarbeitung von Raps (vereinfachtes Verfahrensfliessbild).

Rapskörner werden zuerst mit geeigneten Verfahren konditioniert [Kozłowska 1979, Unger 1990, Sadowska et al. 1996, Murray 2001]. Im ersten Verarbeitungsschritt wird eine Reinigung der Körner mit Sieb- und Sichtmaschinen durchgeführt. Steine, Fremdsaaten und sonstiger Besatz werden hierdurch abgetrennt. Der Gehalt an Besatz im gereinigten Raps beträgt maximal 2,5 %. Zur weiteren Rohstoffkonditionierung wird der Raps auf 30 °C bis 40 °C erwärmt und mit Walzwerken flockiert. Hierdurch werden ca. 80 % der Zellen in den Kotyledonen geöffnet [Wäsche 2001].

Die Ölgewinnung aus (vorbehandelten) Rapskörnern erfolgt entweder in Pressverfahren, Extraktionsverfahren oder in kombinierten Press- und Extraktionsverfahren. Dabei ist je nach Verfahren die Ölausbeute und Ölqualität unter-

schiedlich. Aus wirtschaftlichen Gründen werden bevorzugt kombinierte Press- und Extraktionsverfahren angewendet [Unger 1990, Wäsche 2001].

Zur Ölabpressung werden kontinuierlich arbeitende Schneckenpressen eingesetzt. Hierdurch werden ca. 60 % bis 70 % des Öles gewonnen. Der Rückstand aus dieser Verarbeitungsstufe wird Presskuchen oder Ölschilfer genannt und weist einen Restölgehalt von 11 % bis 25 % auf. Nach der Vorpressung kann eine nochmalige Verarbeitung des Presskuchens in einer sogenannten Fertigpresse erfolgen. Der Presskuchen weist anschließend einen Restfettgehalt von 4 % bis 12 % auf.

An die Vorpressung kann auch eine weitere Entölung mit einem Lösungsmittel (Hexan) angeschlossen werden. Hierzu werden überwiegend kontinuierlich arbeitende, gegenläufige Extraktoren (Perkolatoren) eingesetzt [Unger 1990, Woerfel 1995, Liu 1997]. Die so extrahierten Flocken haben in der Regel einen Restfettgehalt von 1 % bis 2 % (TS) [Unger 1990, Belitz et al. 1992, Schneider u. Rass 1997] und enthalten zusätzlich ca. 30 Gew.% Lösungsmittel, wenn sie den Extraktor verlassen [Unger 1990, Woerfel 1995]. In der industriellen Praxis sind Desolventizer-Toaster-Systeme zur Entbenzinierung von Hexan entölten Raps-Flakes etabliert [Newkirk 2003]. Das im Extraktionsrückstand verbleibende Lösungsmittel wird mit Wasserdampf ausgetrieben. Hierzu wird Wasserdampf in den oberen Teil eines mit lösungsmittelnassen Flakes gefüllten Gefäßes eingeleitet. Der Dampf kondensiert in den Flocken und das Lösungsmittel wird aufgrund der damit einhergehenden Erwärmung der Flocken sowie seines niedrigen Verdampfungspunktes gasförmig und entweicht. Der Wassergehalt der Flocken steigt hierdurch auf ca. 20 % an und wird im unteren Teil des Gefäßes durch eine Kontakt Trocknung der Flocken bei ca. 124 °C wieder auf wenige Prozent reduziert. Der in der konventionellen Rapsverarbeitung anfallende entölte Rapsschrot wird bisher überwiegend zu Tierfutter weiterverarbeitet.

Damit aus (entöltem) Raps zusätzlich zum Öl auch Proteinprodukte für den Einsatz in Lebensmitteln hergestellt werden können, muss die gängige Technologie in einigen Verfahrensabschnitten verändert werden. In vielen Publikationen sind verschiedene Vorschläge und Forderungen bezüglich einer Technologieänderung beschrieben und aufgestellt worden [Rutkowski 1975, Schneider 1978, Anjou 1978, Kozłowska 1979, Baudel 1980, Sosulski 1981, Bille et al. 1983, Thomas u. Bruck 1985, Behlau 1990, Unger 1990, Schneider u. Rass 1997, Newkirk 2003]. Im Folgenden sollen die Verfahrensschritte, welche besonders großen Einfluss auf die Qualität von Proteinprodukten aus Raps haben, näher dargestellt werden.

Als wichtiger Schritt am Anfang der Verarbeitung ist oft das Schälen der Rapskörner vorgeschlagen worden [Rac 1967, Anjou 1978, Schneider 1978, Kozłowska 1979, Sosulski 1981, Bille et al. 1983, Thomas u. Bruck 1985, Schneider u. Rass 1997]. Die schwarzen Rapsschalen sowie deren relativ hoher Gehalt an phenolischen Substanzen und Tanninen beeinträchtigen das Aussehen und den Geschmack von Proteinprodukten (vgl. Kapitel 2.2). Ein weiterer Vorteil der Schälung von Rapskörnern besteht darin, dass der Öl- und Proteingehalt im zu verarbeitenden Produkt deutlich erhöht wird, da die Schalen im Vergleich zum Rapskotyledon nur geringe Mengen an Öl und Protein enthalten (vgl. Tabelle 2-1). Dadurch wird der apparative Aufwand für die Verarbeitung von geschältem Schrot deutlich geringer als bei ungeschältem Schrot. Allerdings vermindert eine Schälung der Rapskörner die Ölausbeute in Pressverfahren [Rass u. Schneider 1997]. Von der Ölmühlen-Praxis wird ein natürlicher Hüllengehalt im Pressgut als unverzichtbar angesehen, weil das Funktionieren einer Schneckenpresse eine ausreichend hohe elastische Rückstellkraft des Komprimates zur Sicherstellung der tangentialen Reibung und eine gute Drainage für den Ölabfluss voraussetzt [Rass u. Schneider 1997, Schneider u. Rass 1997].

Hinsichtlich einer sich anschließenden Lösungsmittlextraktion des Öles mit Hexan ist eine Schälung der Saat jedoch von Vorteil, um die Retention von Hexan im Schrot an die Rapsschalen zu vermeiden. In schalenhaltigen Schroten verbleiben erhebliche Mengen an Restlipiden in den Schalen, die im retentierten Hexan gelöst sind. Bei der Planung einer Anlage ist der apparative und energetische Aufwand für eine intensive Desolventierung gegen die Kosten für eine Schälung zu rechnen [Schneider u. Rass 1997].

Verfahren zum Schälen von Rapskörnern haben Schneider und Baudel [Schneider 1978, Baudel 1980] ausführlich beschrieben. Danach sind die mechanischen Methoden der Trennung von Schale und Fruchtfleisch noch unzureichend. Deswegen wird in der konventionellen Rapsverarbeitung ungeschälter Raps verwendet [Naczki et al. 1998].

Eine weitere Voraussetzung zur Herstellung hochwertiger Proteinprodukte ist das Blanchieren der Rapskörner oder des geschälten Rapsbruchs. Durch eine thermische Inaktivierung des saateigenen Enzyms Myrosinase kann eine Hydrolyse der Glucosinolate verhindert werden [Behlau 1990, Unger 1990]. Die intakten Glucosinolate können so in den weiteren Verfahrensschritten nach der Ölgewinnung bei der Proteinproduktherstellung mit wässrigen oder wässrig-alkoholischen Verfahren extrahiert werden.

Besonders kritisch im Hinblick auf die Gewinnung von Proteinprodukten für den Einsatz in Lebensmitteln ist die Entbenzinierung der entölten Flakes im Anschluss an die Lösungsmittlextraktion. Wegen der hohen Temperaturbelastung und gleichzeitiger hoher Feuchtigkeit des Gutes in den Desolventizer-Toaster-Systemen wird die Löslichkeit der Proteine deutlich reduziert. Die Löslichkeit stellt eine Grundvoraussetzung für den Einsatz von Proteinprodukten in Lebensmitteln dar (vgl. Kapitel 2.3). Deshalb muss diese Art der Entbenzinierung auf die Gewinnung von Proteinprodukten aus Raps eingestellt werden. Dazu dienen Flash-Desolventizer-Systeme (FDS) oder Vapor-Desolventizer-Systeme (VDS) [Becker 1971, Unger 1990]. Mit diesen Verfahren können Hexanasse Flakes, unter Einschränkung der Denaturierung der Proteine, entbenziniert werden. Beim Flash-Desolventizer-System wie auch beim Vapor-Desolventizer-System wird das Lösungsmittel aus dem entfetteten Rapsschrot entfernt, indem es mit überhitztem Hexandampf (120 °C, 5 bar) beaufschlagt wird. Hierbei geht das Hexan der Flocken in Hexandampf über. Durch die Abwesenheit von Feuchte bzw. Wasser kann eine Denaturierung der Proteine im System auf ein Minimum beschränkt werden. Es werden PDI-Werte von 70 % bis 90 % erreicht.

2.4.1 Gewinnung von Proteinprodukten

Die Aufarbeitung von (teil)entöltem Rapsschrot zu Proteinprodukten ist in der Literatur eingehend beschrieben worden. Danach sind sowohl die Herstellungsverfahren von Proteinprodukten aus entölte Schroten als auch deren Proteinlöslichkeiten und funktionellen Eigenschaften bekannt [Anjou 1978, Naczk et al. 1986, Naczk u. Shahidi 1989, Behlau 1990, Rubin et al. 1990, Shahidi u. Naczk 1990, Gueguen et al. 2000, Sörensen et al. 2000, Wäsche 2001].

Viele dieser Proteinprodukte wurden aus konventionell entölte Flakes hergestellt und können wegen sensorischer Mängel nicht in Lebensmitteln eingesetzt werden. Als Zutat in Lebensmitteln verändern diese Produkte die Farbe des Lebensmittels nach grünlich-braun und der Geschmack wird als bitter und adstringierend beschrieben [Fraunhofer 2002]. Diese sensorischen Mängel sind überwiegend auf Reaktionen von Glucosinolaten und phenolischen Substanzen während des Herstellungsverfahrens zurückzuführen (vgl. Kapitel 2.2).

Bezüglich der Herstellung von Proteinprodukten mit reduziertem Gehalt an Glucosinolaten und phenolischen Substanzen sind in den 70er und 80er Jahren Untersuchungen durchgeführt worden [Anjou 1978, Naczk et al. 1986, Naczk u. Shahidi 1989, Rubin et al. 1990, Shahidi u. Naczk 1990]. Es wurde gezeigt, dass durch eine wässrige Extraktion von Raps vor der Ölgewinnung der Gehalt an Glucosinolaten (GSL) deutlich gesenkt werden kann [Anjou et al. 1978]. Die GSL-gehalte konnten in dem von Anjou entwickelten Verfahren auf Werte kleiner 0,1 % reduziert werden. Es ist darauf hinzuweisen, dass das Verfahren auf Grundlage der früher angebauten hoch-Glucosinolat-Rapssorten mit GSLgehalten von 3 % bis 3,7 % entwickelt wurde. Da inzwischen durch züchterische Maßnahmen die GSL-Gehalte in den heutigen 00-Rapssorten schon auf Gehalte kleiner 0,1 % reduziert worden sind, wurde dieses Verfahren industriell nicht umgesetzt.

Naczk et al. [Naczk et al. 1985, Naczk et al. 1986] entwickelten ein Verfahren zur Reduzierung von Glucosinolaten und phenolischen Substanzen auf Basis von 00-Rapssorten im Labormaßstab. Zum Verständnis der Ergebnisse des Verfahrens seien hier kurz die Arbeitsbedingungen für 3 verschiedene Verfahrensvarianten beschrieben. In einem Verfahren wurden 60 g gemahlener Raps mit Hexan durch Soxhlet-Extraktion entölt (Verfahren A). In einem weiteren Verfahren wurden aus Vergleichsgründen 60 g gemahlener Raps für zwei Minuten mit 400 ml Lösung aus 10 % Ammoniak in Methanol gemischt (Verfahren B). Im dritten Verfahren wurden 60 g Raps in einem Lösungsmittel in Methanol mit einem Wasseranteil von 5 Vol.% und 10 % Ammoniak gemischt (Verfahren C). Nach 15 Minuten

wurden den Gemischen aus Verfahren B und C 400 ml Hexan zugegeben und für 2 Minuten gemischt. Anschließend wurde durch Vakuumfiltration das Mehl vom Lösungsmittel getrennt und vier Stunden bei 40 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Das getrocknete Mehl wurde mit Hexan in einem Soxhlet weiter entölt und anschließend bei 40 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Durch den Einsatz des Methanol-Ammoniak-Gemisches (Verfahren C) konnten die GSL-gehalte ausgehend von 20 µmol/g bis 30 µmol/g in Hexan entöltem Rapsschrot (Verfahren A) auf weniger als 1,6 µmol/g [Rubin et al. 1990] gesenkt werden. Die phenolischen Substanzen wurden um ein Drittel auf ca. 500 mg/100g [Naczki et al. 1986] reduziert. Das entölte Mehl hatte einen Proteingehalt von ca. 45 % bis 50 % und die unerwünschten Begleitsubstanzen waren im Wesentlichen entfernt. Da für eine Anwendung von Rapsproteinprodukten in Lebensmitteln neben einer Reduzierung von antinutritiven Substanzen die techno-funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte wichtig sind, wurde zusätzlich deren Löslichkeit bestimmt.

Es zeigte sich, dass die Proteinprodukte aus Hexan entölten Rapsschroten um den Faktor 3 bis 4 löslicher als die aus mit Methanol-Ammoniak-Hexan entölten Rapsschroten hergestellten waren (Tabelle 2-3) [Naczki et al. 1985]. Die Rapsproteinprodukte aus den Verfahren B und C hatten eine deutlich hellere Farbe als die nur mit Hexan entölten Produkte (Verfahren A). Diese Produkte waren auch gegenüber den nur Hexan entölten neutraler im Geschmack [Naczki et al. 1985, Naczki u. Shahidi 1989, Rubin et al. 1990].

Tabelle 2-3: Eigenschaften von entölten Rapsmehlen [Naczki et al. 1985]

Raps-sorte	Verfahren	Farbe ¹⁾	pH-Wert	PDI [%]	NSI [%]
Tower	A	Light, tan, sandy	6,0	43,1	25,3
	B	Light, sandy, speckled	7,1	10,0	9,5
	C	Light, greyish, sandy	7,5	8,4	7,1
Regent	A	Light, tan	6,0	36,2	23,5
	B	Light, cream	7,2	8,4	10,0
	C	Light, greyish, sandy	7,3	7,7	8,3
Candle	A	Yellowish	6,0	24,8	17,5
	B	Off-white	7,5	8,6	7,8
	C	Off-white	7,3	6,8	5,3
Altex	A	Leight-beige	5,9	44,0	27,6
	B	Light, sandy	7,3	11,4	10,4
	C	Light, sandy	7,3	9,2	8,4

A= Entölung mit Hexan durch Soxhlet-Extraktion

B= Extraktionsmittel: 10% Ammoniak in Methanol und anschließend Hexanzugabe; nach Zwischentrocknung des Rapsmehls weitere Entölung mit Hexan durch Soxhlet-Extraktion

C= Extraktionsmittel: 10% Ammoniak in Methanol-Wasser (5 Vol.-%) und anschließend Hexanzugabe; nach Zwischentrocknung des Rapsmehls weitere Entölung mit Hexan durch Soxhlet-Extraktion

1) Um Mißverständnissen vorzubeugen, sind die englischen Original-Farbbeschreibungen angegeben.

Das Methanol-Ammoniak-Hexan-Verfahren ist aus verfahrenstechnischer Sicht sehr aufwändig durchzuführen, zumal die Rückführung der Lösungsmittelfractionen mit erheblichem Aufwand verbunden ist. Es kommt hinzu, dass die Proteinlöslichkeit durch das Verfahren stark reduziert wird. Wohl deshalb ist das Verfahren bisher nicht über den Labormaßstab hinaus erprobt worden.

Am Fraunhofer IVV wurde ebenfalls ein Verfahren zur Isolierung von Rapsproteinen im halbtechnischen Maßstab entwickelt [Fraunhofer 1998]. Die Entölung war mit einer schonenden Entbenzinierung durch VDS des entölten Schrotes verbunden. Die Proteine wurden aus dem entölten Schrot mit Wasser extrahiert. Die Proteinprodukte wurden anschließend aus den Extrakten entweder durch Fällen und Trocknen der Präzipitate oder durch Membranfiltration der Extrakte mit nachfolgender Trocknung der Retentate hergestellt. Es wurden auf diese Weise sowohl RPC als auch RPI erhalten. Diese Proteinprodukte eignen sich jedoch wegen sensorischer Mängel kaum für den Einsatz in Lebensmitteln. Sie veränderten als Zutaten in ausgewählten Lebensmitteln deren Farbe nach grünlich-braun und der Geschmack wird als bitter und adstringierend beschrieben [Fraunhofer 2002]. Diese sensorischen Mängel waren überwiegend auf Reaktionen von Glucosinolaten und phenolischen Substanzen mit Proteinen bzw. Abbaureaktionen dieser Inhaltsstoffe während des Herstellungsverfahrens zurückzuführen (vgl. Kapitel 2.2).

2.4.2 Verfahren der simultanen Öl- und Proteingewinnung

Aufgrund der Struktur des Ölmühlengewerbes, die in vielen Ländern der Welt durch viele kleine neben einigen großen Ölmühlen gekennzeichnet ist, woraus sich die bereits eingangs geschilderten Interessenlagen im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit der Anlagen ergeben, hat es schon viele Versuche gegeben, Verfahren zur simultanen Gewinnung von Öl- und Proteinprodukten auf der Basis von Extraktionen mit Wasser zu entwickeln [Rhee et al. 1972, Carter et al. 1974, Karnofsky 1979, Karnofsky 1980, Lawhon et al. 1981a, Lusas et al. 1982, Wäsche 2001, Meuser et al. 2002, Dazert 2004]. Diese Verfahren werden wegen der aufeinander bezogenen und über die Verwendung des Verdrängungsmittels verbundenen Phase der Ölextraktion und der Phase der Proteingewinnung als simultan bezeichnet. Es sind sowohl Verdrängungsextraktionen mit Wasser als auch Wasser-Alkohol-Gemischen als auch Lösungsmittelextraktionen mit Alkohol untersucht worden. Die erzielten Ergebnisse sind bisher in noch keinem Fall in industrielle Verfahren umgesetzt worden.

Von Wäsche [Wäsche 2001] wurden Untersuchungen zur simultanen wässrigen Öl- und Proteingewinnung bei Raps durchgeführt. Ziel dieser Arbeit war es, verfahrenstechnische Ursache-Wirkungsbeziehungen bei der simultanen Öl- und Proteingewinnung durch wässrige Extraktion aus Raps zu modellieren. Die Ölgewinnung mit Wasser beruht im Wesentlichen auf der Verdrängung des Öls aus den offenen Zellverbänden. Die Ergebnisse der Versuche zeigten, dass eine hohe Ausbeute an Öl einen vollständigen Aufschluss der Rapszellen voraussetzt. Zwar wurde durch Einsatz hoher Scherkräfte mittels Ultra-Turrax oder Hochdruckhomogenisator ein vollständiger Zellaufschluss erreicht, doch kam es dabei gleichzeitig zu einer Emulsionsbildung, so dass nur 63 % des Rapsöls mit dem wässrigen Extrakt abgetrennt wurden und etwa ein Viertel im feinen Feststoff gebunden blieb. Im günstigsten Fall wurde eine Ölausbeute von nur 72 % erreicht. Dem gegenüber beträgt die Ölausbeute durch mechanisches Pressen von Raps ca. 80 % bis 85 %. Aufgrund der geringen Ölausbeute mit dem wässrigen Verfahren und der Tatsache, dass sich die Proteine auf alle dabei anfallenden Fraktionen verteilen, wurde dieses Verfahren nicht weiter umgesetzt. Versuche, aus der proteinhaltigen, teilentölten Rapsmehlfraktion mit ca. 35 % Rohproteinanteil, Proteinpräparate (Konzentrate oder Isolate) herzustellen, sind wohl deshalb in der Arbeit nicht weiter beschrieben. Das Ergebnis dieser Arbeit war es, dass eine simultane Gewinnung von Öl und Proteinprodukten aus voll-fettem Raps mit einem so gestalteten wässrigen Verfahren nicht umgesetzt werden kann, weil aufgrund der Emulsionsbildung für die Wirtschaftlichkeit eines solchen Verfahrens weder eine ausreichende Öl- noch Proteinausbeute erreicht werden kann.

Der Nachteil der Emulsionsbildung bei dem geschilderten Verfahren kann bei dem Friolex-Verfahren [Frische et al. 1996], das ausschließlich auf die Gewinnung von Öl aus verschiedenen Rohstoffen ausgelegt ist, durch den Einsatz eines wässrigen Alkohols als Verdrängungsmittel für das Öl aus der Matrix des Rohstoffes, vermieden werden.

Im Gegensatz zur konventionellen Extraktion des Öls mit organischen Lösungsmitteln wie Hexan und Alkoholen, wird bei dem Verfahren nach Frische et al. das Öl aus dem Rohstoff nicht im Extraktionsmittel gelöst, sondern aus der Zellmatrix verdrängt und durch Zentrifugation von den anderen Rohstoffbestandteilen separiert. Ein Teil des im Rohstoff enthaltenen Öles fällt dabei in einem einzigen zentrifugalen Trennschritt als klare Ölphase an. In einem in der Patentschrift beschriebenen Versuch mit Raps wurde eine Ölausbeute 9 g bei einem Einsatz von 50 g Rapsmehl erzielt. In der Patentschrift ist allgemein die Rede von Raps bzw. von gemahlenem Produkt, wobei mögliche Vorbehandlungen oder der Fettgehalt des eingesetzten Rapsmehles nicht näher beschrieben werden, so dass die Ölausbeute sowie der Restfettgehalt im Extraktionsrückstand nur geschätzt werden können. Laut Patentschrift wurden in dem beschriebenen Versuch 50 g Rapsmehl mit 25 g Ethanol versetzt und in einem verschlossenen Gefäß für 30 Minuten im Wasserbad auf 80 °C erhitzt. Anschließend wurden 50 g Wasser zugesetzt, das Gefäß wiederum verschlossen und für 30 Minuten auf 80 °C erhitzt. Schließlich wurde die Mischung scharf zentrifugiert. Unter der Annahme, dass Raps einen minimalen Fettgehalt von 40 % in der Trockenmasse enthält, ergibt sich für den Extraktionsrückstand ein Restfettgehalt von ca. 25 %.

Meuser et al. haben aus der Erkenntnis in dem zitierten Patent, dass durch die Verwendung von wässrigen Alkoholen zur Verdrängung des Öles aus Ölsaaten eine Emulsionsbildung vermieden werden kann, ein Verfahren entwickelt, mit dem in einem mehrstufigen Verfahrensablauf jeweils aufeinanderfolgend in einem ersten Verfahrensschritt der Entölungsrückstand und danach in einem zweiten Verfahrensschritt das Öl separiert wird, so dass simultan aus Sojabohnen Öl gewonnen und Proteinprodukte hergestellt werden können. Das Verfahren ist sowohl im Labor- als auch im Pilotmaßstab erfolgreich getestet worden. Die hergestellten Proteinprodukte entsprachen in allen ihren Eigenschaften konventionell hergestellten SPC und SPI [Meuser et al. 2002, Dazert 2004].

Aus dem geschilderten Stand des Wissens wurde die Aufgabenstellung für die eigene Arbeit abgeleitet, wie sie bereits eingangs beschrieben ist.

3 Material und Methoden

In den nachfolgenden Unterkapiteln werden die verwendeten Materialien und Methoden beschrieben. Die Durchführung aller Versuche erfolgte mindestens in Doppelbestimmung. Die Versuchsergebnisse wurden soweit erforderlich bilanziert und statistisch ausgewertet. Die Durchführung des experimentellen Teiles erfolgte soweit wie möglich nach Standardmethoden.

3.1 Versuchsmaterial und Materialbehandlung

3.1.1 Rapssorten

Als Untersuchungsmaterial für die Versuche wurden 00-Rapskörner der Sorte Express und Agat von der Norddeutschen Pflanzenzucht (NPZ) eingesetzt. Weiterhin wurden 00-Rapskörner der Sorten Lisek, Lion und Licapo der Deutschen Saatveredelung Lippstadt-Bremen (DSV) eingesetzt. Des Weiteren wurden 00-Rapskörner aus Züchtungen mit der Kennung S-NAP3500 der Universität Gießen, Arbeitsgruppe Prof. Fried, eingesetzt. Die Inhaltsstoffzusammensetzung der Rapssorten ist in Tabelle 3-1 dargestellt.

Tabelle 3-1: Inhaltsstoffzusammensetzung der eingesetzten Rapssorten

Sorte	Inhaltsstoffgehalt						Schalenfarbe
	Trocken-substanz [%]	Protein (N*6,25) [% TS]	Fett [% TS]	Asche [% TS]	Glucosinolat [μ mol/g TS]	Sinapinsäure (Äquivalent) [mg/g TS]	
Express, S-NAP0001	92,5	19,9	52,2	3,7	n.b.	n.b.	schwarz
Express, S-NAP800	92,7	20,8	49,4	3,9	13,1	7,9	schwarz
Lisek, S-NAP1373	93,5	21,2	40,5	3,9	n.b.	n.b.	schwarz
Lion, S-NAP1372	93,6	22,8	40,5	3,3	n.b.	n.b.	schwarz
Licapo, S-NAP1371	93,6	24,1	36,9	3,7	n.b.	n.b.	schwarz
Ramsch, S-NAP3500	94,3	23,1	39,2	4,5	11,6	5,9	gelb
Agat	92,6	23,6	34,6	n.b.	n.b.	n.b.	braun

n.b. = nicht bestimmt

Die Rapskörner der verschiedenen Sorten wurden für die Versuche unterschiedlich vorbehandelt.

- Herstellung von schalenreduziertem Rapsbruch

Zur Herstellung von schalenreduziertem Rapsbruch wurden die Rapskörner gebrochen. Hierzu wurde zum einen ein Laborwalzwerk (Typ LRC 250, Bauermeister) [Schneider 1978], zum anderen eine Prallmühle (Labor-

Universalmühle, Typ 100 UPZ-II mit Plattenschlägermahlwerk, Alpine) [De Man u. Stanley 1974] eingesetzt. Die Schalen wurden mit einem Wind-Sichter (Typ 1-4011ZM, Alpine) vom Kernbruch (Schälrap) separiert. Der Schälgehalt in der Schälrapfraktion betrug, soweit nicht anders angegeben, 5 % bis 7 %. Ein vereinfachter Verfahrensablauf ist in Abbildung 3-1 dargestellt.

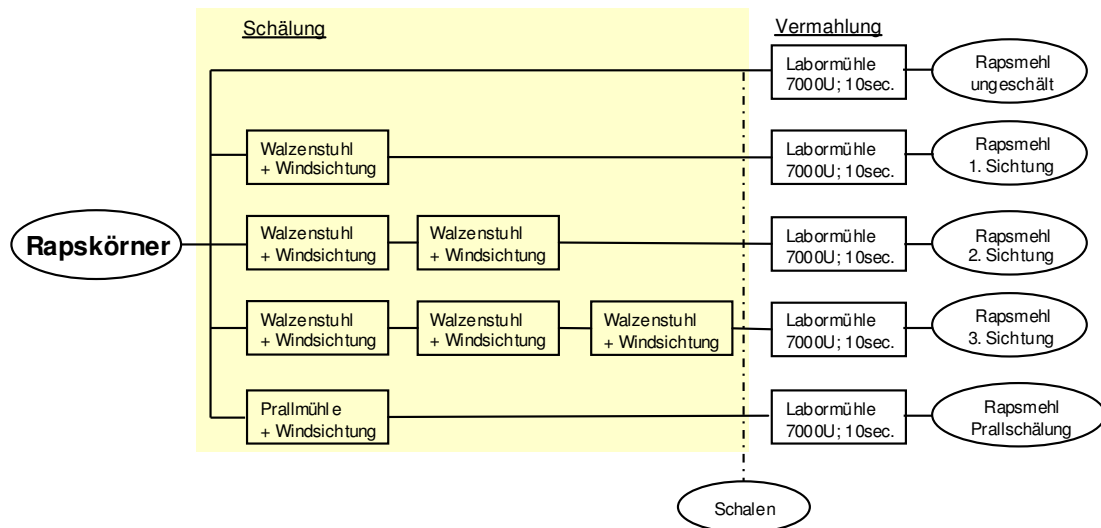


Abbildung 3-1: Herstellung von schalenreduzierten Rapsmehlen.

- **Hydrothermische Behandlung von schalenreduziertem Rapsbruch**
Die hydrothermische Behandlung des Rapsbruches erfolgte in einem Labor-Pflugscharmischer (Typ L5, Lödige Maschinenbau GmbH, Paderborn). Pro Charge wurden 1,5 kg Rapsbruch über eine Verweilzeit von 2 Minuten im Mischer mit Dampf (1,6 bar) beaufschlagt. Im Anschluss wurde der nasse Schrot bei 60 °C über Nacht auf einen Trockensubstanzgehalt größer 95 % in einem Hordentrockner (Typ A840/98/0010.00, Heindl GmbH, Mainburg) getrocknet.
- **Herstellung von geschältem, entfettetem Rapsschrot**
Entfetteter, geschälter Rapsschrot (Rapsbruch) wurde von der Firma CREOL, 33600 Pessac Frankreich, bezogen. Um aus dem geschälten Rapsbruch entfettete Rapsmehle herzustellen wurde in einem ersten Arbeitsschritt der Rapsbruch mit einem Flockierwalzwerk auf eine Flockendicke von 0,2 mm bis 0,3 mm gepresst. Die gewonnenen Flocken wurden mit Hexan in einer Immersionsextraktion entölt. Im Anschluss wurde das in den Flocken verbliebene Hexan in einem Vakuumdesolventizer bei 45 °C bis 55 °C ausgetrieben (Angaben CREOL). Die Inhaltsstoffzusammensetzung der geschälten, entölten Rapsorten ist in Tabelle 3-2 dargestellt.

Tabelle 3-2: Inhaltsstoffzusammensetzung der geschälten, entfetteten Rapsmehle

Sorte	Inhaltsstoffgehalt				Protein- löslichkeit ¹⁾ [%]
	Trocken- substanz [%]	Protein (N*6,25) [% TS]	Fett [% TS]	Asche [% TS]	
Express, S-NAP800	94,5	50,1	3,6	8,2	67
Express, S-NAP800 blanchiert	93,3	50,5	3,3	8,5	50
Ramsch, S-NAP3500	92,6	43,6	5,6	2)	65
Ramsch, S-NAP3500 blanchiert	92,2	42,6	3,0	2)	39
Agat	94,1	47,6	1,9	9,0	62
Agat blanchiert	94,0	48,4	1,8	9,2	51
Pollen	91,9	46,2	4,7	7,8	65

1) Proteinlöslichkeit bei pH 7,0 bestimmt, vgl. Kapitel 5.3.3

2) Nicht analysiert

- Herstellung der Rapsmehle für die Versuche

Der vollfette, geschälte (und blanchierte) Rapsbruch wurde in Chargen von ca. 100 g für 10 Sekunden bei 7000 min⁻¹ vermahlen (Typ Grindomix GM 200 Labormühle, Retsch, Haan).

Die entölten Flocken wurden in einer Prallmühle (Labor-Universalmühle, Typ 100 UPZ-II mit Plattenschlägermahlwerk und Siebeinsatz 0,5 mm, Alpine) vermahlen.

3.2 Analysemethoden

Der Rohstoff und die produzierten Zwischenprodukte und Produkte wurden hinsichtlich ihrer inhaltsstofflichen Zusammensetzung charakterisiert. Nachfolgend sind die Methoden aufgeführt.

3.2.1 Wassergehalt und Gehalt verdampfbarer Substanzen

Wasser und flüchtige Bestandteile wurden nach der DGF-Einheitsmethode B-II 3 (87) bestimmt. Die Trocknung wurde bei 103 ± 2 °C durchgeführt. Als Bestimmungsgerät diente das Analysensystem TGA 601 der Firma Leco.

3.2.2 Rohproteingehalt

Der Rohproteingehalt der Proben wurde gemäß LMBG §35 L 03.00-27, (Ausgabe: 1997-01) über die Stickstoffbestimmung nach dem Dumas-Verfahren bestimmt. Zur Umrechnung des Stickstoffgehaltes in den Rohproteingehalt der Proben wurde der Faktor 6,25 verwendet. Die Stickstoffbestimmung wurde mit dem Leco-System FP-528 durchgeführt.

3.2.3 Fettgehalt

Der Fettgehalt der Proben wurde nach Caviezel® mit der DGF-Einheitsmethode K-I 2c (00) bestimmt. Der Fettgehalt wurde mit einer Büchi Extraktionseinheit B-815 sowie einem Büchi Fettbestimmungsgerät B-820 durchgeführt.

3.2.4 Gehalt freier Fettsäuren im Öl

Der Gehalt an freien Fettsäuren in den gewonnenen Ölen wurde nach der DGF-Einheitsmethode C-III 4 (97) bestimmt.

3.2.5 Partikelgrößenverteilung der Produkte

Die Partikelgrößen der Proben wurden mit einem MasterSizer S (Malvern Instruments GmbH, Herrenberg) in 1-Butanol bestimmt. Das Messprinzip beruht auf der Beugung monochromatischen Lichtes an Partikeln. Die zu messende Substanz wird in 1-Butanol suspendiert und als Suspension durch die Messzelle geleitet. Die Bestimmung der Partikelgröße erfolgte durch Malvern-Software, Version 2.15 über die Mie-Theorie (ohne Formfaktoren, Streumodell: Standard wet, Optik: 300 RF).

3.2.6 Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung der löslichen Proteine

20 mg Probe wurden in 2 ml Eluent (0,05 mol/l NaH_2PO_4 , 0,05 mol/l Na_2HPO_4 , 0,15 mol/l NaCl, ergibt pH 6,65 konstant) gelöst und anschließend durch ein 0,45 μm Einmalfilter (Schleicher & Schuell) filtriert. 20 μl des Filtrates wurden in die HPLC eingespritzt. Als Trennsäule wurde eine Bio-Rad Bio-Sil SEC 250 (Best.Nr. 125-0062) eingesetzt. Die Proben wurden bei 220 nm detektiert (Gynotek UVD 160). Zur Auswertung der Molekulargewichte wurden die Retentionszeiten im GPC-Modus der Chromstar Software zugeordnet. Für die Zuordnung der Molekulargewichte wurde ein 12 S und ein 2 S Rapsprotein als Standard vermessen. Die Retentionszeit von 8 Minuten bis 12,5 Minuten wurde dem 12 S Protein, die Retentionszeit von 12,5 Minuten bis 16 Minuten dem 2 S Protein zugeordnet. Im Vergleich mit einem Bio-Rad-Standard (Best-nr.: 151-1901) entspricht die Retentionszeit von 8 Minuten bis 12,5 Minuten einem Molekulargewicht zwischen 32 kDa und 700 kDa. Eine Retentionszeit von 12,5 Minuten bis 16 Minuten entspricht einem Molekulargewicht zwischen 0,3 kDa und 32 kDa.

3.2.7 Bestimmung des Zellaufschlussgrades

Zur Bestimmung des Zellaufschlussgrades wurde nach Schneider [Schneider 1980] zuerst der gesamte Fettgehalt des Extraktionsrückstandes (FS) bestimmt. Hierzu wurden von der zu untersuchenden Feststoffphase 5 g bis 10 g auf 0,01 g genau in Filterhülsen eingewogen. In tarierte Gläser (Soxthermgläser, Fa. Gerhardt) wurden ca. 70 ml Hexan eingefüllt. Die Filterhülse wurde mit Hilfe eines Metallrings in die Gläser eingesetzt. Diese wurden in die Extraktionsapparatur (Soxtherm 2000, Fa. Gerhardt) eingeführt. Bei einer Extraktionstemperatur von 85 °C und einer Extraktionszeit von 28 Stunden wurde das Restöl aus der Feststoffphase herausgelöst.

Diese Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes wurde nach 70 min, 100 min, 130 min und 170 min abgebrochen. Über die extrahierte Ölmenge wurde der Restfettgehalt im FS berechnet. Es wurde das Verhältnis ($Z_{(t)}$) aus Restfettgehalt des FS nach der Zeit t zum Gesamtfettgehalt der FS-Probe ($C_{(t)}/C_A$) gebildet. Das Verhältnis $Z_{(t)}$ wurde logarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Eine Tangente, die an die resultierende Kurve angelegt wurde, und die bis zur logarithmischen $Z_{(t)}$ -Achse verlängert wurde, gibt am Schnittpunkt den Anteil verschlossener Zellen Z_{ov} (= Aufschlussgrad) wieder. Den Anteil geöffneter Zellen erhält man durch Subtraktion des Z_{ov} von 1. Die Anzahl der geöffneten Zellschichten wird durch den Faktor β wiedergegeben und durch die Gleichung 3-1 aus Zellendurchmesser, mittlerem Partikelradius R (= $0,5 \cdot D_{50}$) und Z_{ov} berechnet. Der D_{50} wurde, wie oben beschrieben, mit dem MasterSizer S (Malvern Instruments

GmbH, Herrenberg) gemessen. Der Zellendurchmesser d beträgt nach Rac 36,8 μm [Rac 1967].

Gleichung 3-1:

$$\beta = \frac{R}{d} \cdot \left(1 - \sqrt[3]{Z_{OV}}\right)$$

- β = Anzahl geöffneter Zellschichten
 R = mittlerer Partikelradius, D_{50} [μm]
 d = Zellendurchmesser [μm]
 Z_{OV} = Anteil verschlossener Zellen

3.2.8 Bestimmung der Myrosinaseaktivität

Die Myrosinaseaktivität in den Rapskörnern wird aus der Konzentrationsänderung an D-Glucose in feinem Rapsmehl ($< 200 \mu\text{m}$) ermittelt. Die Myrosinaseaktivität Myro-U berechnet sich nach Gleichung 3-2:

Gleichung 3-2:

$$\text{Myro-U} = \frac{m_W \cdot 10^6 \cdot (c_1 - c_0)}{\rho_{Ex} \cdot \tilde{M}_{Glu} \cdot t \cdot m_{Raps}}$$

Myro-U = Myrosinaseaktivität im Rapsmehl [$\mu\text{mol/g min}$]

m_W = Einwaage Wasser [g]

m_{Raps} = Einwaage feines Rapsmehl [g]

ρ_{Ex} = Dichte Extrakt bei Raumtemperatur [kg/m^3] (Wert: 1020 [kg/m^3])

c_1 = Konzentration an D-Glucose nach 10 Minuten [g/l]

c_0 = Konzentration an D-Glucose im feinen Rapsmehl [g/l]

t = Hydrolysedauer [min] (Wert: 10 [min])

Dazu wurden 5 g Rapsmehl in Wasser (1:10) bei pH 6,0 suspendiert. Die Änderung der Konzentration an D-Glucose wurde nach Zugabe von Sinigrin (Sigma 7508) und einer Hydrolysedauer von 10 Minuten ermittelt. Die Hydrolyse-reaktion wurde durch Zugabe von Carrez-Lösung I und Carrez-Lösung II gestoppt und die Glukosekonzentration enzymatisch bestimmt [Boehringer 1989]. Der Gehalt an nativer D-Glucose im Rapsmehl (c_0) wurde nach spontaner Inaktivierung der Myrosinase im Rapsmehl in siedendem Ethanol (reinst) enzymatisch mit obiger Methode bestimmt.

3.2.9 Fettsäurespektrum in den gewonnenen Ölen

Das Fettsäurespektrum wurde durch die Universität Gießen, Arbeitsgruppe Prof. Fried, bestimmt. Die Ergebnisse wurden mittels HPLC-Analytik ermittelt.

3.2.10 Tocopherolgehalt

Der Tocopherolgehalt wurde vom Napus-Projektpartner, der Arbeitsgruppe von Prof. Fried, Universität Gießen bestimmt. Die Bestimmung der freien Tocopherole in Öl erfolgte nach LMBG §35, L 13.03/04-1 (1987).

3.2.11 Sinapinsäuregehalt

Der Sinapinsäuregehalt wurde vom Napus-Projektpartner, der Arbeitsgruppe von Prof. Strack am IPB-Halle bestimmt.

Die Proben wurden mit Methanol extrahiert, das Extrakt durch HPLC aufgetrennt und bei 330 nm detektiert.

3.2.12 Glucosinolatgehalt

Der Glucosinolatgehalt wurde an der KVL-Kopenhagen durch die Arbeitsgruppe von Prof. Sörensen, ermittelt.

Die Methode ist von Sörensen in „Chromatography and Capillary Electrophoresis in Food Analysis“ beschrieben worden [Sörensen 1999].

3.2.13 Phosphorgehalt

Der Phosphorgehalt im Öl wurde im Analytiklabor der HaGe-Kiel, die Napus-Projektpartner war, bestimmt. Der Phosphorgehalt wurde im gewonnenen Öl nach der DGF-Einheitmethode C-III-16 (97) ermittelt.

3.3 Charakterisierung der funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte

Die hergestellten Proteinprodukte wurden hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften mit den nachfolgend beschriebenen Methoden charakterisiert.

3.3.1 Bestimmung der Wasserbindekapazität

Die Wasserbindekapazität (WBC) der Proteinprodukte wurde bei Raumtemperatur ermittelt. Die Durchführung der Methode orientierte sich in wesentlichen Punkten an der AACC-Methode 56-20. 2 g Probe wurden auf 0,01 g genau in ein Zentrifugenglas eingewogen und mit 40 ml demineralisiertem Wasser für eine Minute mit einem Reagenzglasrüttler vermischt. Nach 5 min und nach 10 min wurde jeweils 30 sec kräftig mit dem Reagenzglasrüttler gemischt. Anschließend wurde bei 1000*g und 20 °C 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert. Das Zentrifugenglas wurde zurückgewogen. Das Gewicht der mit Wasser gesättigten Probe wurde bestimmt. Die Berechnung des Wasserbindevermögens erfolgte nach Gleichung 3-3.

Gleichung 3-3:

$$\text{WBC} = \frac{m_1 - m_2}{m_2 \cdot \text{TS}_{\text{Probe}}} \cdot 100\%$$

WBC = Wasserbindekapazität [ml/g]

m_1 = Masse der Probe mit gebundenem Wasser [g]

m_2 = Einwaage Probe [g]

TS_{Prob} = Trockensubstanzgehalt der Probe [%]

3.3.2 Bestimmung der Fettbindekapazität

Die Fettbindekapazität der Proteinprodukte wurde bei Raumtemperatur ermittelt. 3 g Probe ($\pm 0,01$ g) wurden in einem graduierten 25 ml Zentrifugenglas in 20 ml Öl (kommerzielles Mazola Maiskeimöl) dispergiert. Anschließend wurde 15 min bei 700*g zentrifugiert. Das Volumen des nicht gebundenen Öls wurde ermittelt. Daraus ergab sich nach Gleichung 3-4 die Ölbindekapazität in ml Öl / g Protein.

Gleichung 3-4:

$$FBC = \frac{V_1 - V_2}{m_1}$$

FBC = Fettbindekazität

V_1 = eingesetzte Ölmenge [ml]

V_2 = Ölmenge Überstand nach Zentrifugation [ml]

m_1 = Einwaage Probe [g]

3.3.3 Bestimmung Proteinlöslichkeit

Zur Bestimmung der Löslichkeit bei definiertem pH-Wert wurde die Methode nach C.V. Morr [Morr 1985] in modifizierter Form angewandt. Diese Methode ist am Fraunhofer IVV eine etablierte Methode zur Bestimmung der Proteinlöslichkeit.

Es wurde 1 g Probe auf 0,001 g genau in ein 100 ml Becherglas eingewogen. Unter Rühren wurden 40 ml einer 0,1 mol/l Natriumchloridlösung mit Entschäumer zugegeben. Der pH-Wert wurde auf den gewünschten Wert mit 0,1 mol/l Salzsäure oder 0,1 mol/l Natronlauge eingestellt. Der Ansatz wurde in einen 50 ml Messkolben überführt und mit 0,1 mol/l Natriumchloridlösung auf das definierte Volumen aufgefüllt. Aus der Lösung wurden 20 ml in ein Zentrifugenglas pipettiert und für 15 min bei 20000*g zentrifugiert. Der resultierende Überstand wurde über ein Whatman No.1 Filter filtriert. Im filtrierten Überstand wurde der Stickstoff nach Dumas (System Leco FP 521) bestimmt. Die Berechnung der Proteinlöslichkeit erfolgte nach Gleichung 3-5:

Gleichung 3-5:

$$P_{\text{löslich}} = \frac{V_1 \cdot P_{\text{Überstand}}}{m_1 \cdot P_{\text{Probe}} \cdot TS_{\text{Probe}}} \cdot 100$$

$P_{\text{löslich}}$ = Proteinlöslichkeit der Probe [%]

V_1 = NaCl-Lösung Probe [ml]

$P_{\text{Überstand}}$ = Proteingehalt im filtrierten Überstand [mg/ml]

m_1 = Einwaage Probe [mg]

P_{Probe} = Proteingehalt der Probe, berechnet auf Trockensubstanz [%]

TS_{Probe} = Trockensubstanzgehalt der Probe [%]

3.3.4 Bestimmung der Emulgiereigenschaften

- Emulsionsstabilität

Die Emulsionsstabilität wurde durch Zugabe einer definierten Menge Öl und Wasser zu einer definierten Menge an Proteinprodukt bestimmt. Nach einem festgelegten Mischvorgang wurde ein Teil der gebildeten Emulsion thermisch belastet, anschließend gekühlt und zentrifugiert. Der Anteil der nach dem Zentrifugieren noch emulgierten Schicht am Gesamtvolumen wurde als Emulsionsstabilität in Prozent festgelegt.

Nach einem festgelegten Mischvorgang wurden aus Protein, Öl und demineralisiertem Wasser in einem Konzentrationsverhältnis von 1:10:10 Emulsionen hergestellt. 10 g Probe wurde mit einer Genauigkeit von 0,001 g abgewogen. 100 ml Öl wurde in einen Laborreaktor (Typ LR-A 1000, IKA) gegeben, das Rührwerk eingeschaltet und die Probe in den Reaktor überführt. Sofort danach erfolgte die Zugabe von 100 ml demineralisiertem Wasser. Das Gemisch wurde 5 min mit einem Ultra Turrax (T25 mit Dispergierwerkzeug S 25 KV - 25 F, IKA) bei 11.000 min^{-1} sowie mit dem Rührwerk bei 200 min^{-1} intensiv vermischt. Anschließend wurden vier graduierte 35 ml Zentrifugengläser (Fa. Nalge Nunc) bis zur 30 ml Marke mit der Emulsion befüllt. Zwei der Gläser wurden in einem 80°C Wasserbad 30 min thermisch belastet und anschließend im Eisbad auf 5°C abgekühlt. Alle Proben wurden für 12 Stunden bei 5°C im Kühlschrank gelagert. Die Proben wurden bei 20°C und $4500 \times g$ für 10 min zentrifugiert (Tischkühlzentrifuge Model 6K 15, Sigma Laborzentrifugen). Die nach der Zentrifugation noch emulgierte Schicht wurde als Messgröße für die Emulsionsstabilität notiert. Die Emulsionsstabilität wurde nach Gleichung 3-6 berechnet.

Gleichung 3-6

$$ES = \frac{V_1}{V_2} \cdot 100$$

ES = Emulsionsstabilität

V_1 = emulgierte Schicht nach Zentrifugation [ml]

V_2 = Gesamtvolumen nach Zentrifugation [ml]

- Emulgierkapazität

Die Emulgierkapazität wurde durch kontinuierliche Zugabe von Öl zu einer O/W-Emulsion bis zur Phaseninversion der Emulsion bestimmt. Die Phaseninversion wurde detektiert durch einen abrupten Zusammenbruch der elektrischen Leitfähigkeit [Morr et al. 1973; Kühler u. Stine 1974].

Eine Probe (1,0 g) wurde mit 99 g Leitungswasser vermischt. Anschließend wurde die Suspension in ein Reaktor-System (Temperierbares Laborreaktor-system, Typ LR-A 1000 mit Rührwerk, IKA) überführt und bei 100 min^{-1} gerührt. Nach Zugabe von 125 ml Öl (kommerzielles Mazola Maiskeimöl) wurde ein Ultraturrax (T25 mit Dispergierwerkzeug S 25 KV - 25 F, IKA) mit 11.000 min^{-1} eingeschaltet. Über einen Titrino (Typ 702M, Metrohm) wurde Öl weiter zudosiert. Die Leitfähigkeit der Emulsion wurde über ein Leitfähigkeitsmessgerät (Typ LF 521, WTW) in μS gemessen. Mit Absinken der Leitfähigkeit kleiner $10 \mu\text{S}$ wurde die Öltitration gestoppt. Die Emulgierkapazität wurde nach Gleichung 3-7 berechnet.

Gleichung 3-7

$$EC = \frac{V_{\text{Öl}}}{m_1}$$

EC = Emulgierkapazität [ml/g]

$V_{\text{Öl}}$ = Zugabe Öl [ml]

m_1 = Einwaage Probe [g]

3.4 Versuchsdurchführung

3.4.1 Durchführung der Versuche zur Entfettung von geschältem Raps durch wässrig-alkoholische Extraktion

Die hier beschriebenen Versuche wurden im Labormaßstab (Abbildung 3-2) mit einem doppelwandigen 2 l Glasreaktor und einer Becherzentrifuge durchgeführt.

Der doppelwandige 2 l Glasreaktor wurde auf die gewünschte Temperatur vorgeheizt. Ebenfalls wurde das 2-Propanol-Wasser-Gemisch auf die entsprechende Temperatur eingestellt. Für die Versuche wurden 200 g Rapsmehl in dem 2 l Glasreaktor unter Rühren mit einer bestimmten Menge an 2-Propanol-Wasser-Gemisch versetzt. Die Zusammensetzung des 2-Propanol-Wasser-Gemisches sowie die Menge wurden dabei variiert und sind dem Kapitel „Ergebnisse und Diskussion“ zu entnehmen. Für eine zusätzliche Nassvermahlung wurde das Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis (s:l) auf 1:2 eingestellt und anschließend die noch fehlende Flüssigkeitsmenge für die eigentliche Extraktion zugegeben. Die Nassvermahlung wurde mit einem Ultra-Turrax (Typ T25 mit Dispergierwerkzeug S 25 KV - 25 F, IKA) für 6 Minuten bei 20.500 min^{-1} durchgeführt. In einigen Versuchen wurde der pH-Wert der Suspension auf einen definierten Wert eingestellt. Dazu wurde entweder eine 10 %ige Salzsäure (HCl) oder eine 10 %ige Natronlauge (NaOH) verwendet. Die geringe Verschiebung des Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnisses wurde dabei vernachlässigt. Der pH-Wert wurde in den folgenden Schritten nicht weiter (nach)reguliert. Zum Start der Extraktionszeit wurde der Rührbehälter verschlossen und das Gemisch bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 250 min^{-1} gerührt. Die Rührzeit betrug dabei, sofern nicht anders spezifiziert, 15 Minuten. Danach wurde das Gemisch unter Spülen mit einer definierten Menge (maximal 50 ml) frischen 2-Propanol-Wasser-Gemisches in 600 ml Zentrifugenbecher überführt und bei einer Zentrifugalbeschleunigung von $5285 \cdot g$ acht Minuten zentrifugiert (Tischkühlzentrifuge Model 6K 15, Sigma Laborzentrifugen). Hierbei bildeten sich zumeist drei Phasen. Die beiden oberen Phasen, die Ölphase und das Lösungsmittel-Wasser-Gemisch mit den darin gelösten Substanzen (nachfolgend Extrakt genannt), wurden durch Dekantieren in 600 ml Zentrifugenbecher von der untersten Phase, dem Extraktionsrückstand, getrennt. Hierbei bildeten die beiden Flüssigkeiten eine Emulsion, welche durch erneute Zentrifugation unter den oben angeführten Bedingungen getrennt wurde. Anschließend wurde das Extrakt mit einer Pipette abgezogen und die Masse ermittelt. Der Extraktionsrückstand wurde mit der Menge der ermittelten Masse Extrakt mit frischem 2-Propanol-Wasser-Gemisch in einem 2 l Glasreaktor resuspendiert. Anschließend wurde wie nach der ersten Extraktionsstufe weiterverfahren. Nach dem Abziehen der Lösungsmittelphase wurde die in der zweiten

Stufe abgetrennte Ölphase gemeinsam mit derjenigen aus der ersten Stufe in ein 100 ml Zentrifugenglas überführt und acht Minuten bei 4700 · g zentrifugiert. Die untere Phase wurde anschließend mit einer Pipette abgezogen und dem zweiten Extrakt zugegeben. Es folgte die Ermittlung der feuchten Massen der Extrakte, der Ölphase sowie des Extraktionsrückstandes. Der Extraktionsrückstand wurde anschließend gefriergetrocknet. Die Extraktphasen sowie die Ölphase wurden in verschraubbare Glasgefäße überführt. Die Ölphase wurde unter Lichtausschluss bei 5 °C gelagert.

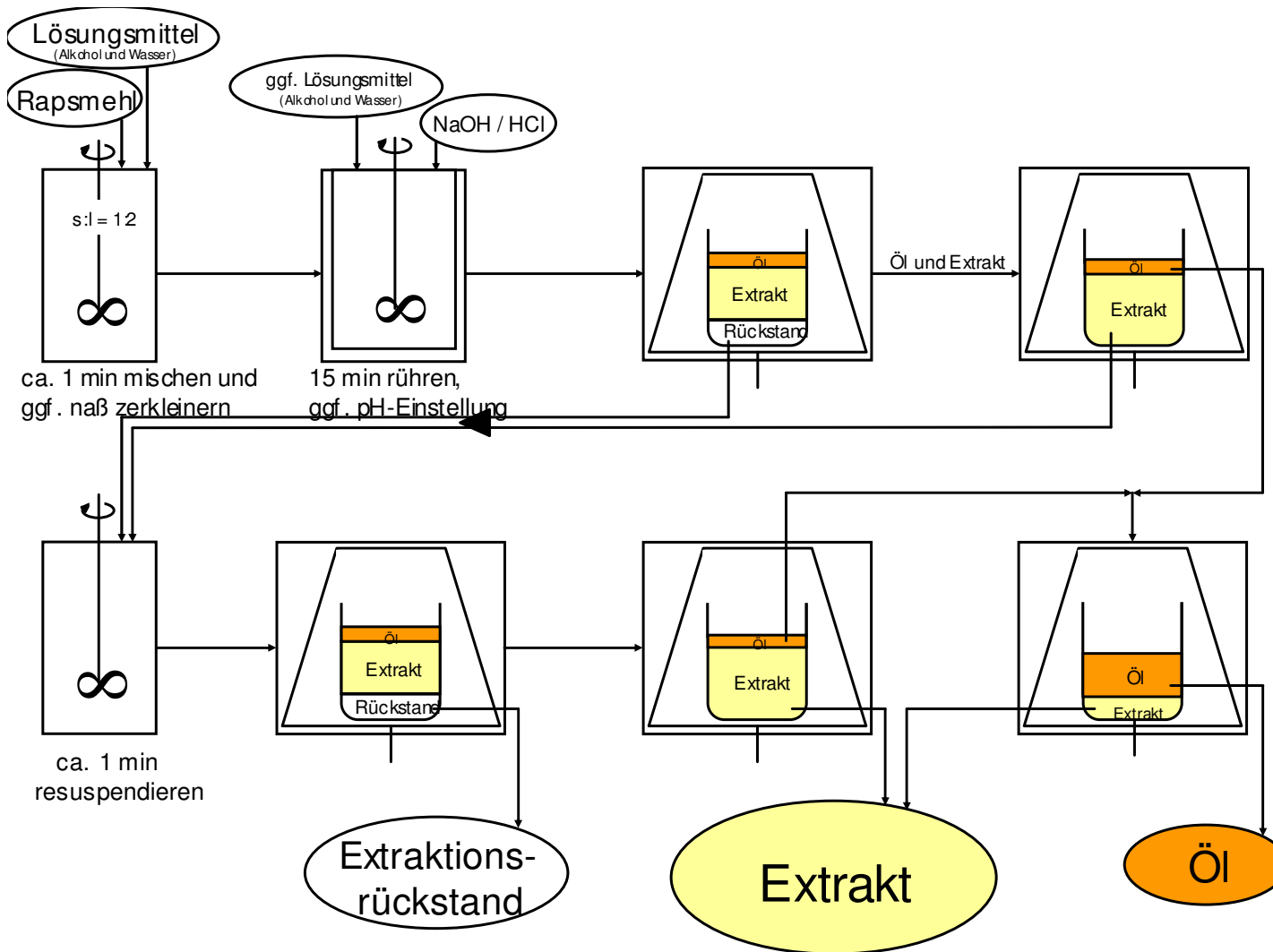


Abbildung 3-2: Fließbild zum Verfahrensablauf der vereinfachten Versuche zur Optimierung der Entölung im Labormaßstab.

3.4.2 Durchführung der Versuche zur Herstellung von Proteinprodukten aus geschältem, Hexan entöltem Rapsmehl durch wässrig-alkoholische Extraktion und Modifizierung ihrer funktionellen Eigenschaften

Entöltes Rapsmehl wurde mit einem 2-Propanol-Wasser-Gemisch (45 Gew.%) im Verhältnis 1:5 in einem doppelwandigen 2 l Glasreaktor gemischt und anschließend mit einem Ankerrührer bei 250 min^{-1} 15 Minuten gerührt. Danach wurde die Suspension in 600 ml Zentrifugenbecher überführt und bei einer Zentrifugalbeschleunigung von $5285 \cdot g$ acht Minuten zentrifugiert (Tischkühlzentrifuge Model 6K 15, Sigma Laborzentrifugen). Der Überstand wurde dekantiert. Das Gewicht der Extraktphase (EM-Phase) sowie das Gewicht des Extraktionsrückstandes (FS) wurden ermittelt. Der Extraktionsrückstand wurde mit frischem 2-Propanol-Wasser-Gemisch resuspendiert. Die Menge an 2-Propanol-Wasser-Gemisch ergab sich aus der ermittelten Menge an Extraktphase. Der beschriebene Extraktionsschritt wurde insgesamt dreimal durchgeführt. Die Extraktphasen wurden in verschraubbare Glasgefäße überführt. Der Extraktionsrückstand wurde mit demineralisiertem Wasser auf ein Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis von 1:9 verdünnt. Hierfür wurde vom Extraktionsrückstand der Trockensubstanzgehalt mit einer Trocknungswaage (Typ MA 40, Satorius) bestimmt. Die Suspension wurde 30 Minuten gerührt. In einigen Versuchen wurde der pH-Wert der Suspension während dieser 30 Minuten auf einen definierten Wert mit einer 1 mol/l Salzsäure (HCl) oder einer 1 mol/l Natronlauge (NaOH) eingestellt (Typ Titrino 718, Metrom). Die geringe Verschiebung des Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnisses wurde dabei vernachlässigt. Der pH-Wert wurde in den folgenden Schritten nicht weiter (nach)reguliert. Bis hierher wurden alle Rapssuspensionen gleich behandelt.

In verschiedenen Versuchen wurde die Suspension für 10 Minuten bei einer bestimmten Temperatur gerührt. Hierfür wurde die Suspension mit Hilfe einer Schlauchpumpe (Typ 313, Watson-Marlow) durch eine Heizschlange mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Länge von 290 cm in einen temperierten doppelwandigen 2 l Glasreaktor gepumpt. Die Zeitmessung begann, nachdem die Suspension vollständig in den 2 l Glasreaktor überführt war.

In einigen Versuchen wurden die Rapssuspensionen homogenisiert. Hierfür wurde die Suspension in den Einfülltrichter eines Homogenisators (LAB 100, APV Gaulin) gegeben und für 5, 10, 20, 30 Minuten bei 100, 150, 180 und 300 bar im Kreislaufbetrieb behandelt. Eine Homogenisierzeit von 5 Minuten entspricht ca. 3,5 theoretischen Durchgängen durch die HD-Düse. Für die weiteren Zeiten ergeben sich somit folgende theoretische Durchgänge: 7, 14, 21.

Nach der jeweiligen Behandlung der Rapssuspensionen wurden diese in verschließbare Glasflaschen abgefüllt und über Nacht bei 5 °C gelagert. Die Trocknung der Rapssuspension wurde mit einem Sprühtrockner (Typ Mobile Minor Unit, Niro, Dänemark) durchgeführt. Es wurde eine außenmischende Düse mit einem Durchmesser von 1,0 mm verwendet. Die Eintrittstemperatur der Heißluft lag zwischen 170 °C und 180 °C und die Austrittstemperatur der Abluft zwischen 70 °C und 75 °C.

3.4.3 Durchführung der Versuche zur Herstellung von Proteinprodukten durch wässrig-alkoholische Extraktion von Rapsmehl (Versuche im halbtechnischen Maßstab)

Für die Versuche zur simultanen Öl- und Proteingewinnung wurde geschältes und blanchiertes vollfettes Rapsmehl eingesetzt.

Das Rapsmehl wurde mit 45 %igem 2-Propanol in einem Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis 1:3 versetzt und 35 Minuten (10 Passagen) mit einer Zahnkolloidmühle (Typ MZ-50, Fryma Koruma) vermahlen. Anschließend wurde die Suspension durch eine Heizschlange mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Länge von 290 cm in einen auf 50 °C temperierten doppelwandigen 2 l Glasreaktor gepumpt. Die Zuführung der Suspension in den Glasreaktor und die anschließende Zuführung in einen Minidekanter (MZD 003 Lemitec) wurden so eingestellt, dass sich für die Suspension eine Extraktionszeit von 15 Minuten ergab. Die Trennbedingungen im Dekanter wurden so eingestellt, dass der Oberlauf (Extraktphase und Ölphase) maximal 5 % unlösliche Feststoffe (Extraktionsrückstand) enthielt. Entsprechend wurde die Drehzahl der Trommel auf 10945 min^{-1} , die Differenzdrehzahl auf 22 min^{-1} festgelegt; bei gleichzeitig kleinem Massestrom (9 l/h) sowie der Verwendung eines Überlaufwehrs mit kleinem Innendurchmesser (36 mm). Die Extraktion und Phasentrennung wurde dreimal mit den beschriebenen Bedingungen wiederholt.

Der Extraktionsrückstand nach der dritten Extraktion wurde mit demineralisiertem Wasser auf ein Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis von 1:9 verdünnt. Hierfür wurde vom Extraktionsrückstand der Trockensubstanzgehalt mit einer Trocknungswaage (Typ MA 40, Satorius) bestimmt. Die Suspension wurde 30 Minuten gerührt.

Bei einigen Versuchen wurde der pH-Wert der Suspension während dieser 30 Minuten mit 1 mol/l Natronlauge (NaOH) auf pH 8,0 eingestellt (Titrimo Typ 718, Metrom,). Die geringe Verschiebung des Feststoff-Flüssigkeits-

Verhältnisses wurde dabei vernachlässigt. Danach wurde die Suspension mit einem Homogenisator bei 180 bar fünf Minuten lang, das entspricht ca. 3,5 theoretischen Durchgängen durch die HD-Düse, homogenisiert.

Nach der jeweiligen Behandlung der Rapssuspensionen wurden diese in verschließbare Glasflaschen abgefüllt und über Nacht bei 5 °C gelagert. Die Trocknung der Rapssuspension wurde mit einem Sprühtrockner (Typ: Mobile Minor Unit, Niro, Dänemark) durchgeführt. Es wurde eine außenmischende Düse mit einem Durchmesser von 1,0 mm verwendet. Die Eintrittstemperatur der Heißluft lag zwischen 170 °C und 180 °C und die Austrittstemperatur der Abluft zwischen 70 °C und 75 °C.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Versuche zur Entfettung von geschältem Raps durch wässrig-alkoholische Extraktion

In der vorliegenden Arbeit wurde mit 2-Propanol als alkoholische Komponente des Extraktionsmittels der Einfluss der Extraktionsparameter auf die Entfettung vollfetten Rapsmehles untersucht. 2-Propanol wurde gewählt, weil es im Gegensatz zu Ethanol nicht dem Branntweinsteuergesetz unterliegt und im Vergleich zu n-Propanol oder längerkettigen Alkoholen einen niedrigeren Verdampfungspunkt besitzt und damit mittels Destillation vergleichsweise kostengünstig aufgearbeitet werden kann.

Bei der Entölung mit Wasser-Alkohol-Gemischen handelt es sich nicht um eine Lösungsmittlextraktion im eigentlichen Sinne, weil das Öl sich nicht in Wasser-Alkohol-Gemischen löst. Die Separation des Öles aus dem Rapsmehl ist vielmehr eine Verdrängungsextraktion aus offenen Zellen des Rapsmehles. Daher ist der möglichst vollständige Zellaufschluss eine wichtige Grundvoraussetzung für eine vollständige Extraktion des Öles aus dem Rapsmehl, sie begünstigt zugleich das in Lösung gehen unerwünschter Begleitstoffe.

Methoden zur Ermittlung des Anteils offener Zellen sind in Arbeiten von Wäsche und Schneider beschrieben [Schneider u. Rütte 1991, Wäsche 2001]. Schneider ermittelte für Rapsmehle der Partikelfraktion 0,80 mm bis 1,25 mm 2,7 offene Zellschichten pro Partikel [Schneider u. Rütte 1991]. Das Verhältnis geöffneter Zellen zur Gesamtzellenzahl ist somit gleich dem Verhältnis des Randzonen-volumens offener Zellen zum Volumen des Partikels. Der Anteil offener Zellen (Z_{OG}) korreliert mit dem Anteil freien Öles, der in einer Verdrängungsextraktion separiert werden kann. Unter Einbeziehung der Partikelgrößenverteilung ergibt sich nach Gleichung 4-1 für die von Schneider untersuchten Rapsmehle ein Anteil offener Zellen von 33 %. Da im Rahmen der eigenen Arbeit prallgeschälte Rapsmehle mit einem mittleren Partikeldurchmesser von 250 μm eingesetzt wurden, konnte der Anteil an geöffneten Zellen nach Gleichung 4-1 unter Berücksichtigung des Zelldurchmessers für Rapszellen (24 μm) berechnet werden (Tabelle 4-1). Er betrug 76 %.

Gleichung 4-1:

$$Z_{OG} = \sum Z_{OG,i} = \frac{\left(1 - \left(1 - \frac{\beta \cdot d_{gl}}{R_i}\right)^3\right) \cdot D(d_i)}{100} \%$$

Z_{OG} = Anteil geöffneter Zellen in Prozent

β = Offene Zellschichten (hier 2,7) [Schneider 1991]

d_{gl} = Gleichwertiger Zellendurchmesser für Rapszellen (hier 24µm) [Wäsche 2001]

R_i = Mittlerer Partikelradius der Kornklasse

$D(d_i)$ = Anteil der Kornklasse bezogen auf die Gesamtmasse an Rapsmehl

$Z_{OG,i}$ = Anteil geöffneter Zellen in Prozent in der Kornklasse

Tabelle 4-1: Berechnung der offenen Zellen in einem Rapsmehl zur Abschätzung des frei vorliegenden Öles

Partikelgröße [µm]	Rapsmehl: Trocken vermahlen ¹⁾	
	Vol.-anteil ²⁾ [%]	Offene Zellen ³⁾ (Z_{OG}) [%]
90	37	37
200	8	8
300	10	8
470	20	12
650	18	9
900	7	3
Summe offene Zellen ⁴⁾		76

1) 10 s, 7000 min⁻¹ (Fa. Retsch, Typ Grindomix GM200)

2) Partikelgrößenverteilung über Volumenvverteilung mit Masersizer S ermittelt.

3) Berechnet mit $\beta = 2,7$ [Schneider 1991], $d_{gl} = 24\mu\text{m}$ [Wäsche 2002]

4) Max. auswaschbarer Anteil an Öl mit 2-Propanol-Wasser-Gemisch. Berechnung der offenen Zellen in einem Rapsmehl nach Gleichung 5-1 zur Bestimmung des frei vorliegenden Öles, welches in einer wässrig-alkoholischen Verdrängungsextraktion separiert werden kann (theoretische Ölausbeute).

Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Rapsmehle waren in der Partikelgrößenverteilung deutlich kleiner als das von Schneider untersuchte Mehl. Man konnte daher nicht davon ausgehen, dass die von Schneider ermittelten 2,7 offenen Zellschichten pro Partikel auch in Mehlen mit kleineren Partikeln zutreffen. Daher wurde der Zellaufschlussgrad Z_{OG} auch mit einer anderen Methode durch Extrapolation aus dem Restfettgehalt als Funktion der Extraktionszeit in Anlehnung an Schneider [Schneider u. Rütte 1991] ermittelt.

In Abbildung 4-1 ist auf der Ordinate der Anteil der Beladung an Öl in Gramm pro Gramm Schrot zum Zeitpunkt t für ein prallgeschältes Rapsmehl dargestellt. Zu Beginn der Extraktion wird insbesondere das Öl aus offenen Zellen aus den Randzonen der Rapsmehlpartikel extrahiert. Dann folgt der Abschnitt, in dem sich die Extraktion des Öles aus den offenen Zellen der Randzonen und die Diffusion aus intakten Zellen überlagert. Nach knapp drei Stunden bestimmt ausschließlich die Diffusion den Stoffübergangsprozess. Die Verlängerung der Tangente an den Abschnitt der Diffusion bis zur Zeit $t = 0$ liefert den Wert der verschlossenen Zellen Z_{ov} [Schneider u. Rütte 1991].

Für das hier dargestellte Rapsmehl ergibt sich nach Abbildung 4-1 ein Anteil von 27 % verschlossenen Zellen bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,93. Daraus ergibt sich ein Anteil offener Zellen und damit der maximal separierbare Ölanteil nach dieser Methode von 73 %. Dieser Wert stimmt relativ gut mit dem rechnerischen Wert aus Tabelle 4-1 von 76 % überein.

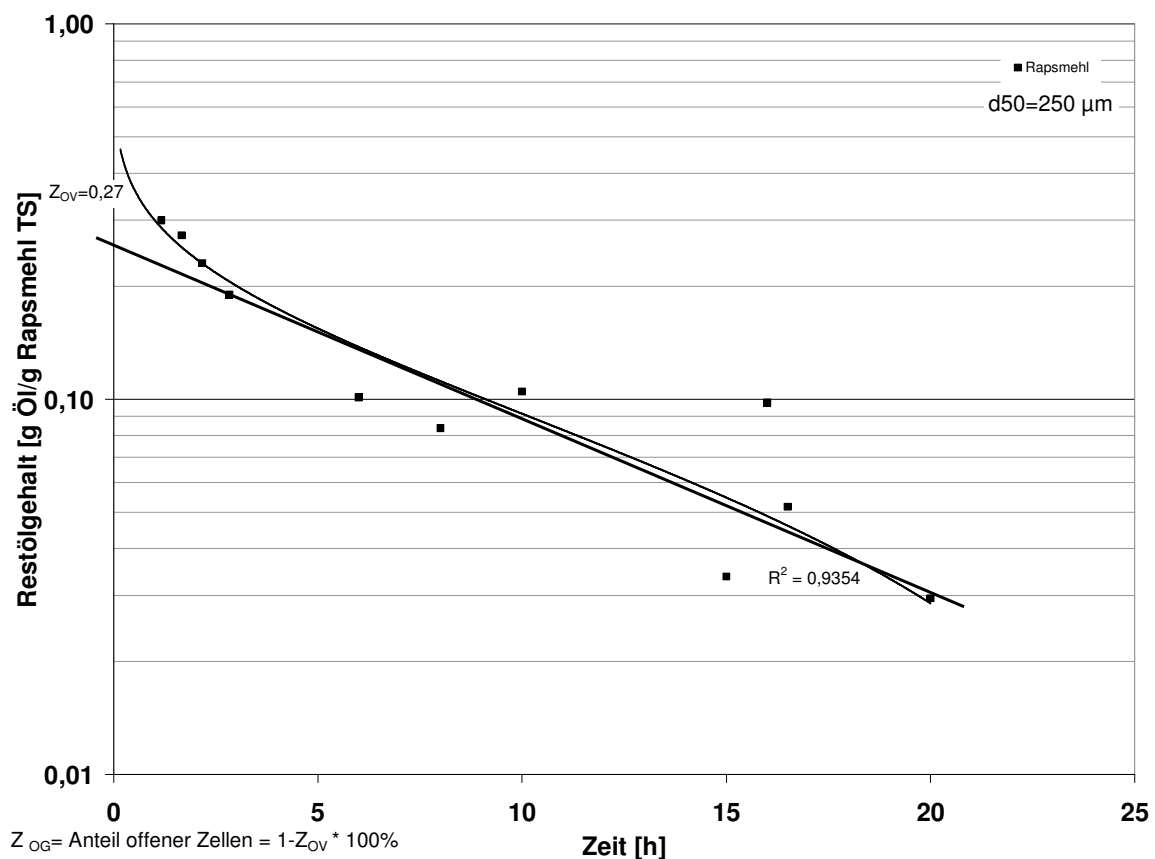


Abbildung 4-1: Perkolationsextraktion von Rapsmehl mit Hexan zur Ermittlung des Zellaufschlussgrades nach Schneider u. Rütte (1991): Darstellung des Restölgehaltes in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.

Es wurde angenommen, dass dieser Anteil offener Zellen ein homogenes Aliquot der geschälten Rapskörner darstellt. Um den Einfluss verschiedener Parameter auf die Ölseparierung aufzeigen zu können, war es daher nicht notwendig, einen vollständigen Zellaufschluss herbeizuführen. Um den Versuchsumfang zu begrenzen, wurden mit diesem unvollständig aufgeschlossenen Mehl verschiedene Einflussfaktoren untersucht, welche die Separation des Öles beeinflussen. In den folgenden durchgeführten Versuchen konnten somit max. 76 % Öl als klare Ölphase separiert werden.

4.1.1 Einfluss der Alkoholkonzentration

In den intakten Zellen der Rapskörner ist das Speicheröl als kleine Öltröpfchen eingelagert, welche jeweils durch eine Oleosinmembran vom Zellplasma getrennt sind (vgl. Kapitel 2.1.1) [Ponne et al. 1996; Murphy 1993a]. Mit Wasser-Alkohol-Gemischen wird dieser Zellinhalt aus den offenen Zellen des Rapsmehles verdrängt. Zusätzlich soll durch die alkoholische Komponente im Extraktionsmittel die Oleosinmembran der Öltröpfchen aufgebrochen werden. Mögliche Wechselwirkungen des frei gewordenen Öles mit anderen Inhaltsstoffen, die das Öl binden und dadurch eine Separation als klare Ölphase verhindern, sollen vermieden werden.

Aus Untersuchungen von Meuser et al. war bekannt, dass bei der Entölung von Soja mit wässrig-alkoholischen Extraktionsmitteln klare Ölphasen ohne Emulsion zwischen Öl und Extraktionsmittel mit 2-Propanolkonzentrationen zwischen 25 % und 45 % separiert werden konnten. Durch Eingrenzung der Versuchspunkte konnte ein Optimum für die Ölseparierung in einem Konzentrationsbereich zwischen 31 bis 38 % ermittelt werden [Meuser et al. 2002].

In einer ersten Versuchsreihe wurde daher der Einfluss der 2-Propanolkonzentration auf die Entfettung eines Rapsmehles untersucht. Dabei sollte der Konzentrationsbereich ermittelt werden, in welchem keine Emulsion zwischen klarer Ölphase und Extraktionsmittelphease ausgebildet wird. Weiterhin sollte die 2-Propanol-Konzentration ermittelt werden, bei welcher unter den hier verwendeten Versuchseinstellungen der größte Anteil an klarer Ölphase separiert werden konnte. Dazu wurde ein prallgeschältes Rapsmehl in einem Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnis (s:l-Verhältnis) von 1:3 mit 2-Propanol-Wasser-Gemischen, deren 2-Propanol-Konzentration zwischen 35% und 55% betrug, verarbeitet.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Meuser et al. mit Sojamehl wurde in den hier dargestellten Versuchen mit Rapsmehl festgestellt, dass mit Konzentrationen

von 35 % bis 42,5 % 2-Propanol zwischen der Ölschicht und der Extraktphase eine Emulsionsschicht erhalten wurde. Bei einer Konzentration von 45 % 2-Propanol konnte eine klare Ölphase separiert werden (Abbildung 4-2). Bei einer Konzentration von 55 % 2-Propanol war die Dichte des Alkohol-Wasser-Gemisches mit $0,90 \text{ g/cm}^3$ mit der Dichte von Rapsöl ($\sim 0,90 \text{ g/cm}^3$) gleich, so dass das Öl durch Zentrifugation nicht mehr vom Extraktionsmittel getrennt werden konnte.

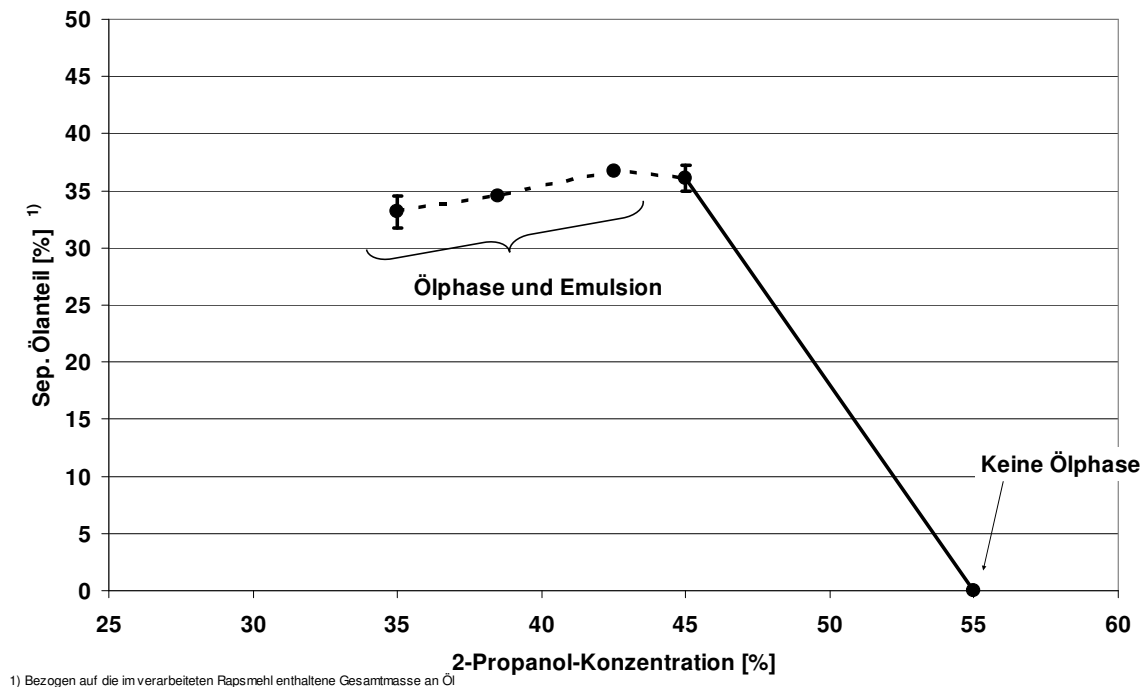


Abbildung 4-2: Einfluss der 2-Propanol-Konzentration auf den separierten Ölanteil.

Die Ausbildung von Emulsionsphasen zwischen Öl- und Extraktphase bei Alkoholkonzentrationen von 35 % bis 42,5 % ließ vermuten, dass diese Alkoholkonzentrationen die Wechselwirkungen der Saatinhaltsstoffe, welche eine Emulsion stabilisieren, nicht unterbinden konnten. Vielmehr wurde angenommen, dass ein möglicher Grund für das Ausbleiben einer Emulsionsschicht zwischen Öl- und Extraktphase bei einer 45 %igen 2-Propanolkonzentration die Dichte der Phasen war. Da sich die Emulsion bei geringeren Alkoholkonzentrationen zwischen Ölphase und Extraktionsmittel ausbildete, lag die Dichte der Emulsion zwischen der Dichte des Öles ($\sim 0,90 \text{ g/cm}^3$) und der Extraktionsmittelfase. Mit steigendem Alkoholgehalt von 35 % auf 45 % im Extraktionsmittel sank die Dichte von $0,94 \text{ g/cm}^3$ auf $0,92 \text{ g/cm}^3$. Mit abnehmender Dichte der Extraktionsmittelfase sank die Emulsion unter die Extraktionsmittelfase und wurde mit dem Extraktionsrückstand zusammen abgetrennt. Zur Bestätigung dieser Vermutung wurde der Extraktionsrückstand einer wässrig-alkoholischen Extraktion

mit 45 %igem 2-Propanol genauer untersucht. Der Extraktionsrückstand wurde in Zentrifugenbechern durch Dekantieren des Extraktionsmittels und der Ölphase gewonnen. Eine Probe aus der oberen Schicht sowie aus der Mitte des Extraktionsrückstandes wurde gefriergetrocknet und hinsichtlich ihres Fettgehaltes analysiert. Die obere Extraktionsmittelschicht, welche aus der Emulsionsschicht bestehen sollte, hatte einen Fettgehalt von 70 % berechnet auf Trockensubstanz. Die Probe aus der Mitte des Extraktionsrückstandes hatte hingegen nur einen Fettgehalt von 40 % berechnet auf Trockensubstanz. Diese Werte bestätigen die Vermutung, dass die Emulsion, aufgrund der geringer werdenden Dichte des Extraktionsmittels durch steigende Alkoholkonzentrationen, mit dem Extraktionsrückstand zusammen abgetrennt wurde.

Für vollfettes Rapsmehl konnte eine Optimierung der Alkoholkonzentration, wie sie von Meuser et al. [Meuser et al. 2002] für vollfettes Sojamehl beschrieben wurde, nicht durchgeführt werden. Eine mögliche Ursache für die unzureichende Unterdrückung einer Emulsion könnte eine, im Vergleich zu Soja, andere Proteinzusammensetzung sein. Im Gegensatz zu Soja, wo 90 % des Speicherproteins Globuline (12 S) sind [Belitz et al. 1992], hat Raps zwei Hauptproteinfraktionen. Das Speicherprotein besteht bei Raps aus ca. 50 % Albumin (2 S, Napin) und 50 % Globulin (12 S, Cruziferin) [Malabat et al. 2003]. Aufgrund der Struktur des Rapsalbumins ist dieses Protein anders als das 12 S-Globulin gegenüber strukturellen Veränderungen, wie zum Beispiel der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und der damit veränderten räumlichen Struktur der Proteine, relativ stabil [Schwenke et al. 1989, Wäsche 2001]. Durch Disulfidbrücken ist das 12 kDa bis 17kDa große 2 S Protein relativ starr und aufgrund eines ausgeprägten hydrophilen und hydrophoben Bereichs ist Rapsalbumin schnell in der Lage sich an Grenzflächen zwischen Öl und Extraktionsmittel auszurichten und Emulsionen auszubilden. Als isoliertes Protein zeigt das 2 S-Protein nur geringe Emulgiereigenschaften [Schwenke 1994]. In den folgenden Versuchen wurde daher untersucht, welche Einflussfaktoren die Separation des Öles und damit den Fettanteil im Extraktionsrückstand beeinflussen.

Der Versuch mit einer klaren Ölphase wurde hinsichtlich der Stoffströme Trockensubstanz, Fett und Protein bilanziert, da mit der wässrig-alkoholischen Extraktion simultan ein Öl- und Proteinprodukt gewonnen werden sollte. Hierdurch sollte ermittelt werden, ob der überwiegende Masseanteil an Protein im Extraktionsrückstand verbleibt. Dazu wurde ein prallgeschältes Rapsmehl in einem Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnis (s:l-Verhältnis) von 1:3 mit einer 45 %igen 2-Propanol-Konzentration verarbeitet. Insgesamt wurden mit diesen Einstellungen fünf Extraktionsversuche durchgeführt, wobei sich die Einzelbestimmungen über acht Monate verteilten. Hierdurch war es möglich, Anhalts-

punkte bezüglich der Reproduzierbarkeit zu erhalten, und eine durch die Lagerung der Mehle bedingte Veränderung hinsichtlich der Entfettbarkeit erkennen zu können.

Die Messergebnisse der Einzelversuche zeigten keinen Einfluss durch die Lagerung oder Herstellung der Mehle auf. Annähernd 100 % der mit dem Rohstoff in den Prozess eingegangenen Trockensubstanz und Fett wurden in den Fraktionen wiedergefunden (Tabelle 4-2). Für die Proteinbilanz ergab sich eine Wiederfindung von durchschnittlich 91 % im Extraktionsrückstand. Allerdings verblieb mit 62 % auch der überwiegende Teil an Fett im Extraktionsrückstand. Durch den hohen Fettanteil im Extraktionsrückstand ergab sich mit 27 % ein sehr geringer Proteingehalt. Für den Einsatz des Extraktionsrückstandes als Proteinprodukt in Lebensmitteln wird aber mindestens ein Proteingehalt von 50 % angestrebt. Dies entspricht dem Proteingehalt von entölen Sojamehlen, welche als Proteinprodukt in Lebensmitteln eingesetzt werden.

Ausgehend von einem Proteingehalt von ca. 20 % im eingesetzten Rapsmehl ergibt sich im Extraktionsrückstand unter der Voraussetzung einer vollständigen Ölabtrennung ein Proteingehalt oberhalb 50 %. Dieser theoretische Wert berechnet sich aus einem durchschnittlichen Fettgehalt im hier eingesetzten geschälten Rapsmehl von 53 %. Mit dem Extraktionsmittel wurden ca. 12 % Trockensubstanz aus dem Extraktionsrückstand gewaschen. Bei einer vollständigen Entölung verbleiben demnach (100 % Rapsmehl - 53 % Fett - 12 % TS =) 35 % Trockensubstanz im Extraktionsrückstand. Dieser Extraktionsrückstand enthält 90 % der eingesetzten Gesamtmasse an Protein.

Tabelle 4-2: Bilanzierung von Trockenmasse, Protein und Fett in den Fraktionen

Fraktion	Masseverteilung [%] ¹⁾		
	TS	Protein	Fett
Extraktionsrückstand	67 ± 1,1 ²⁾	91 ± 1,9 ²⁾	62 ± 2,0 ²⁾
Extraktphase	12 ± 1,2 ³⁾	Nicht ermittelt	Nicht ermittelt
Ölphase	20 ± 0,6 ²⁾	Nicht ermittelt	36 ± 1,2 ²⁾
Summe	99 ± 0,5	91 ± 1,4	98 ± 2,1

1) Bezogen auf die im eingesetzten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an TS, Protein bzw. Fett

2) Fünffachbestimmung

3) Doppelbestimmung

4.1.2 Einfluss des Schalengehaltes im Rapsmehl

Die Rapssamenschale macht ca. einsechstel des Samengewichtes aus [Cramer 1989, Shahidi u. Naczki 1990, Wäsche 2001]. Sie sollte vor der Konzentrierung der Samenproteine beseitigt werden, da die Schalen sehr reich an Rohfaser sind

und die hohen Gehalte an phenolischen Substanzen die Farbe der Proteinprodukte ungünstig beeinflussen (vgl. Kapitel 2.4).

Der Fettgehalt in den Schalen ist mit ca. 14 % im Vergleich mit dem des im Kern-Fruchtfleisch (50 %) enthaltenen gering. Aufgrund des niedrigen Fettgehaltes bestand die Möglichkeit, dass ein Anteil des extrahierten Fettes nicht als klare Ölphase separiert wird, sondern von den Schalen gebunden wird. Um zu prüfen, ob das Fett als klare Ölphase separiert werden kann oder an die Schalen gebunden im Extraktionsrückstand verbleibt, wurden Versuche mit Rapsmehlen unterschiedlicher Schalengehalte durchgeführt.

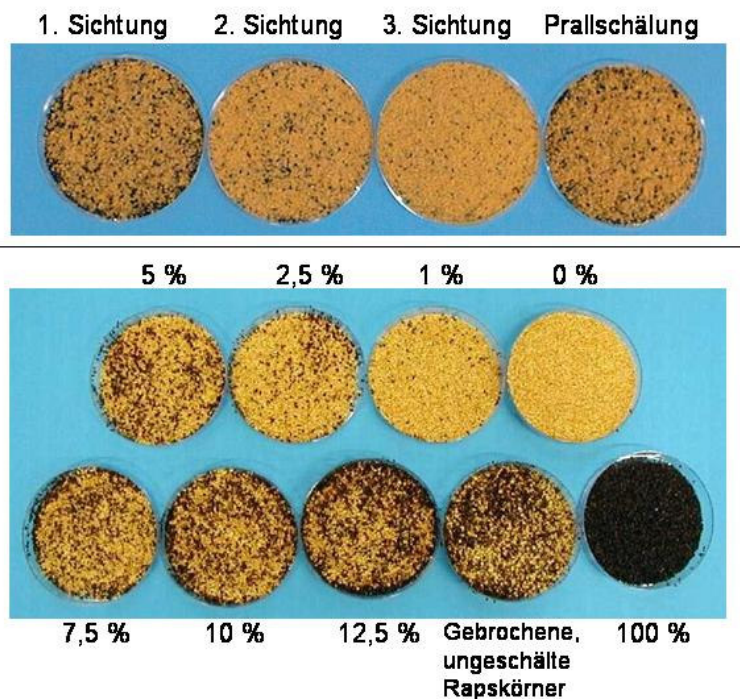


Abbildung 4-3: Schalenanteil verschieden hergestellter Rapsmehle.

In Abbildung 4-3 ist Rapsbruch nach verschiedenen Schälstufen im Vergleich mit definiert gemischten Schalenanteilen im Rapsbruch gegenübergestellt. Der Schalenanteil im Rapsmehl wurde im optischen Vergleich ermittelt. Für gebrochene, ungeschälte Rapskörner wurde einen Schalenanteil von 12 % bis 15 % ermittelt. Alle Schälungen haben eine deutliche Reduzierung des Schalenanteils bewirkt. Durch optische Beurteilung wurde für Schälrap, hergestellt nach dem Schneider-Verfahren [Schneider 1978], nach der ersten Sichtung ein Schalenanteil von ca. 7,5 % ermittelt. Mit weiteren Sichtungsstufen nahm der Schalenanteil nach der zweiten Sichtung auf ca. 2 % bis 3 % ab, beziehungsweise auf ca. 1 % nach der dritten Sichtungsstufe. Durch eine Prallschälung [De Man u. Stanley 1974] stellte sich ein Schallengehalt im Rapsbruch von ca. 6 % ein. Mit diesen Rapsmehlen wurde in der folgenden Versuchsreihe der Einfluss des Schallengehaltes im Rapsmehl auf die Separierbarkeit des Öles mit

einer wässrig-alkoholischen Verdrängungsextraktion untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-4 dargestellt.

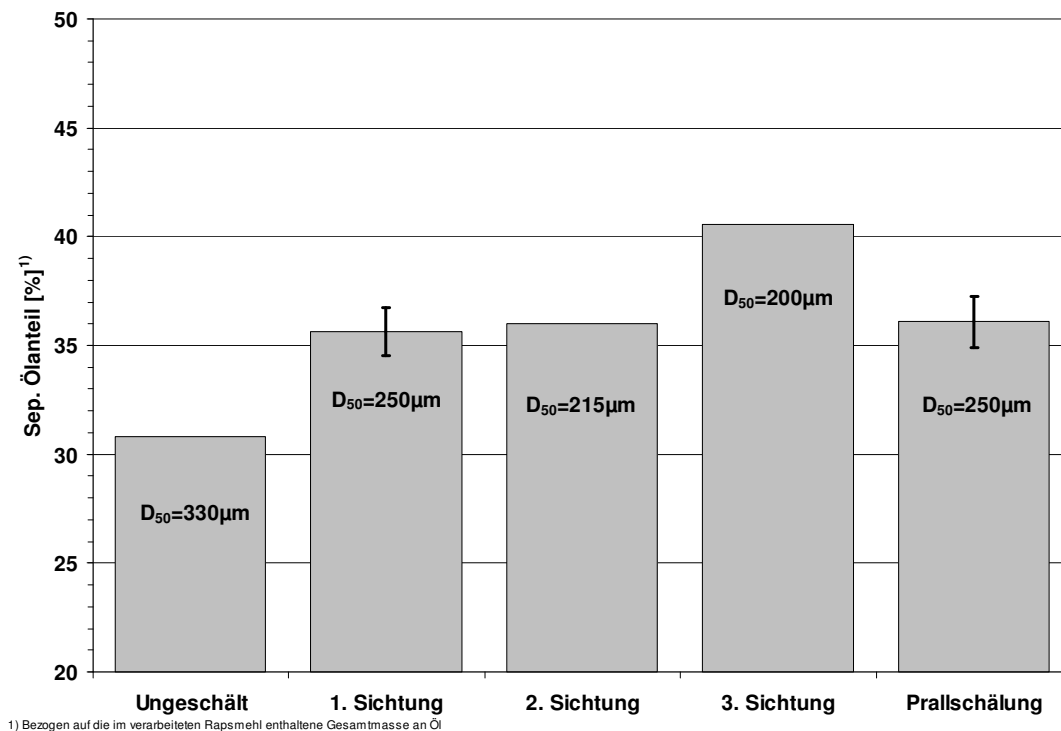


Abbildung 4-4: Einfluss der Schälung der Rapsmehle auf die Separierbarkeit des Öles.

Aus Abbildung 4-4 geht hervor, dass mit abnehmendem Schalenanteil im Rapsmehl der separierbare Ölanteil von 30,0 % im ungeschälten Rapsmehl auf 40,5 % im Rapsmehl dritter Sichtung ansteigt. Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass die Schalen freies Öl binden. Allerdings waren die Partikelgrößenverteilungen der hergestellten Mehle trotz gleicher Herstellungsparameter unterschiedlich. Die ermittelten D_{50} -Werte der eingesetzten Mehle nahmen mit abnehmendem Schalenanteil im Mehl von 330 µm auf 200 µm ab. Vergleicht man allerdings das Rapsmehl erster Sichtung mit dem Rapsmehl zweiter Sichtung, die mit 250 µm und 215 µm unterschiedliche Partikelgrößen aufweisen, kann festgestellt werden, dass die Partikelgröße keinen Einfluss auf die Ölausbeute hat. Aus beiden Rapsmehlen konnte trotz unterschiedlicher Partikelgrößen gleich viel Öl separiert werden. Um den Einfluss der Schalen genauer bewerten zu können, wurde der Anteil offener Zellen der Rapsmehle und damit der maximal separierbare Ölanteil nach Gleichung 6-1 berechnet. Die theoretischen maximal separierbaren Ölanteile betrugen für das ungeschälte Rapsmehl 72 % und für das Rapsmehl aus dritter Sichtung 82 %. Die in den Versuchen erhaltenen separierten Ölmassen wurden in einer neuen Rechnung nicht auf den Gesamtfettanteil im eingesetzten Mehl bezogen, sondern auf den Anteil offener Zellen und somit auf den tatsächlich maximal separierbaren Ölanteil. Hierdurch

erhöhte sich der separierte Ölteil bei ungeschältem Rapsmehl von den in Abbildung 4-4 dargestellten knapp 31 % auf 43 %. Aus dem Rapsmehl der dritten Sichtung ergab sich nach dieser Berechnung ein separierter Ölteil von 49 %. Die Differenz des separierten Ölteiles zwischen dem ungeschälten Mehl und dem Mehl aus dritter Sichtung beträgt also lediglich 6 %-Punkte bezogen auf frei separierbares Öl. Ohne Berücksichtigung des Anteils offener Zellen betrug die Differenz ca. 10 %-Punkte. Die Schälung der Rapskörner vor der wässrig-alkoholischen Extraktion reduzierte die Bindung freien Fettes an Zellbestandteile und es konnte ein um bis zu 6 %-Punkte erhöhter Anteil Öl in Abhängigkeit des Schalenreduktion separiert werden. Die folgenden Versuche wurden mit prallgeschälten Rapsmehlen durchgeführt.

4.1.3 Einfluss der Extraktionszeit

Die Abhängigkeit der Parameter Zeit, Temperatur und Feuchte (Wasser) auf die Proteinstrukturen ist von verschiedenen Autoren beschrieben worden [Becker 1971, Cheftel et al. 1992, Wäsche 2001, Westphal et al. 2003]. In Abhängigkeit dieser Parameter kann es zu einer Destabilisierung der Sekundär- und Tertiärstruktur kommen, so dass die Proteine denaturieren. Pflanzliche Proteine werden auch von organischen Lösungsmitteln in Abhängigkeit der oben genannten Parameter denaturiert.

Im Hinblick auf die Gewinnung funktioneller Proteinprodukte aus Raps sollte die Proteindenaturierung so gering wie möglich gehalten werden. Allerdings ist eine Denaturierung der Proteine nicht zu vermeiden, da das Wasser-Alkohol-Gemisch die Proteinstrukturen der Oleosomenmembran aufbrechen soll, um das Öl als klare Ölphase abtrennen zu können. Weiterhin soll eine erneute Emulsionsbildung, welche durch Speicherproteine verursacht werden kann, vermieden werden. Eine zeitliche Abfolge dieser Mechanismen unter Verwendung wässrig-alkoholischer Gemische war nicht bekannt. Rosenthal et al. [Rosenthal et al. 1998] untersuchten den Einfluss der Zeit bei einer wässrigen Extraktion von Fett aus Soja. Dabei wurde unter anderem die Extraktionszeit von 5 bis 20 Minuten variiert. Bereits nach 10 Minuten konnte der extrahierte Ölteil durch verlängerte Extraktionszeiten nicht weiter gesteigert werden.

Aufgrund eines mit ca. 50 % deutlich höheren Fettgehaltes von Rapskörnern gegenüber Soja konnte davon ausgegangen werden, dass bei der trockenen Vermahlung nicht nur die Rapszellen aufgebrochen werden, sondern auch ein Teil der Oleosomen. Das freigesetzte Öl der zerstörten Oleosomen haftet an den Zellwandbestandteilen. Es wurde vermutet, dass dieses freie Öl durch das Wasser-Alkohol-Gemisch in Abhängigkeit von der Extraktionszeit gelöst wird und

abgetrennt werden kann. Die verbliebenen intakten Oleosomen sollten durch das Wasser-Alkohol-Gemisch aufgebrochen werden. Hierbei ergab sich die Schwierigkeit, dass der Zustand der Oleosomen zu einem beliebigen Zeitpunkt nur über den separierbaren Ölanteil indirekt bestimmt werden konnte. Mit diesen Versuchen sollte ein grobes Screening der Extraktionszeiten klären, ob die Extraktionszeit einen signifikanten Einfluss auf die Ölausbeute hat.

Für die Versuche wurde die Extraktionszeit von 15 Minuten auf 60 Minuten bzw. 21,5 Stunden verlängert. Die Ergebnisse sind Tabelle 4-3 zu entnehmen. Es stellte sich heraus, dass der separierbare Ölanteil bei 15-minütiger sowie 60-minütiger Extraktionszeit mit 36 % und 35 %, unter Einbeziehung der Schwankungsbereite des Fehlers, gleich war. Diese Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von Rosenthal et al. [Rosenthal et al. 1998]. Durch eine verlängerte Extraktionszeit auf 21,5 Stunden wurde der separierbare Ölanteil auf 32 % reduziert. Gleichzeitig nahm der Anteil verdampfbarer Masse im Extraktionsrückstand zu. Der reduzierte separierte Ölanteil kann mit einer Quellung von Proteinen und Fasern erklärt werden. Die Struktur der Inhaltsstoffe ändert sich und freies Fett sowie Extraktionsmittel können in die aufgequollene Matrix der Proteine und Fasern eindringen und zum Beispiel über hydrophile oder hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert werden. Dieses gebundene Extraktionsmittel oder Fett kann durch Zentrifugation nicht mehr separiert werden. Für die folgenden Versuche wurde die Extraktionszeit auf 15 Minuten beschränkt.

Tabelle 4-3: Einfluss der Extraktionszeit auf den separierten Ölanteil des Rapsmehles, den verbleibenden Masseanteil an Trockensubstanz im Extraktionsrückstand sowie dessen Inhaltsstoffzusammensetzung

Extraktionszeit	Inhaltsstoffgehalt Extraktionsrückstand [%]			Separierter Ölanteil [%] ³⁾	Anteil Extr.-Rückst. an Gesamt-TS [%] ³⁾
	VA ¹⁾	Fett ²⁾	Protein ²⁾		
15 min ⁴⁾	45 ± 0,8	52 ± 0,9	27 ± 0,6	36 ± 1,2	67 ± 0,9
60 min ⁵⁾	46 ± 0,3	53 ± 0,2	27 ± 0,0	35 ± 0,1	67 ± 0,6
21,5 h ⁵⁾	47 ± 0,3	53 ± 0,4	27 ± 0,1	32 ± 1,1	69 ± 0,5

1) Verdampfbarer Masseanteil im feuchten Extraktionsrückstand

2) Bezogen auf die Trockensubstanz

3) Bezogen auf die im verarbeiteten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl/Trockensubstanz

4) Fünffachbestimmung

5) Doppelbestimmung

4.1.4 Einfluss des Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnisses

Rosenthal et al. [Rosenthal et al. 1998] haben Versuche zur wässrigen Entölung von Sojabohnen durchgeführt. Hinsichtlich der Ölseparation durch die wässrige Verdrängungsextraktion mit unterschiedlichen Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnissen (s-l-Verhältnis) von 1:6 bis 1:25 wurde von Rosenthal et al. keine gesteigerte Ölseparation festgestellt. Im Gegensatz dazu nahm der Anteil an im Extraktionsmittel löslichen Substanzen mit geringeren Verhältnissen zu. Dieses Ergebnis entspricht der Kinetik für lösungsmittelselektive Extraktionsverfahren. Die Stagnation der Ölseparation zeigt, dass die Kinetik einer Lösungsmittel-extraktion nicht auf wässrige Verdrängungsextraktionen übertragen werden kann.

Die Ergebnisse in Kapitel 4.1 zeigen, dass die Separation einer klaren Ölphase nur durch eine durch Dichteveränderung verursachte Verschiebung der Emulsion auf den Extraktionsrückstand zustande gekommen ist. Es war zu vermuten, dass sich mit anderen s-l-Verhältnissen als 1:3 andere Wechselwirkungen zwischen Öl und Saatinhaltsstoffen ausbilden würden, so dass möglicherweise mehr Öl als klare Ölphase separiert werden kann. Denkbar wäre, dass die Ausbildung einer neuen Emulsion durch die Speicherproteine aufgrund größerer Extraktionsmittelmengen eine geringere Stabilität haben könnte. Diese Emulsion könnte im Zentrifugalfeld leichter brechen und die Ölseparation steigern.

In Tabelle 4-4 ist eine Versuchsreihe dargestellt, in der das Verhältnis zwischen Rapsmehl und Extraktionsmittel im Bereich zwischen 1:2 bis 1:5 variiert wurde. Aus dieser kann entnommen werden, dass eine Erhöhung des s:l-Verhältnisses von 1:3 auf 1:2 zu einer Verringerung des separierten Ölanteiles um 6 %-Punkten auf 30 % separierbaren Ölanteil führt. Das Versuchsergebnis kann auf die hohe Viskosität aufgrund des geringen Flüssigkeitsanteiles zurückgeführt werden. Aufgrund des geringen Flüssigkeitsanteiles liegt das freie Öl nicht als frei suspendiertes Öl in der Flüssigkeit vor, sondern haftet vermehrt als Film auf Zellwandbestandteilen. Weiterhin könnte eine Ursache für diese deutlich geringere Ölausbeute eine mangelnde Freisetzung der Oleosomen aus den offenen Zellen sein. Aufgrund des geringen Flüssigkeitsanteiles bei einem s:l-Verhältnis von 1:2 stellte sich keine leicht fließende Suspension ein, sondern ein viskoser Brei aus Rapsmehl und etwas Flüssigkeit. Während der Extraktion konnte die Flüssigkeit nur begrenzt in die offenen Zellen eindringen und die Zellinhaltsstoffe herauswaschen, so dass das Öl nicht als Ölphase separiert werden konnte.

Tabelle 4-4: Einfluss des Feststoff-Extraktionsmittel-Verhältnisses auf den separierten Ölanteil des Rapsmehles, den verbleibenden Masseanteil an Trockensubstanz im Extraktionsrückstand sowie dessen Inhaltsstoffzusammensetzung

Mischungsverhältnis ¹⁾ (s:l)	Inhaltsstoffgehalt Extraktionsrückstand [%]			Separierter Ölanteil [%] ⁴⁾	Anteil Extr.-Rückst. an Gesamt-TS [%] ⁴⁾
	VA ²⁾	Fett ³⁾	Protein ³⁾		
1:2 ⁵⁾	44 ± 0,1	53 ± 0,0	26 ± 0,5	30 ± 0,0	70 ± 0,9
1:3 ⁶⁾	45 ± 0,8	52 ± 1,0	27 ± 0,8	36 ± 1,2	67 ± 0,9
1:5 ⁵⁾	47 ± 1,4	54 ± 1,5	27 ± 0,3	34 ± 0,4	70 ± 1,8

1) Anteile Feststoff zu Anteilen Alkohol-Wasser-Gemisch (s:l)

2) Verdampfbarer Masseanteil im feuchten Extraktionsrückstand

3) Bezogen auf die Trockensubstanz

4) Bezogen auf die im verarbeiteten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl/Trockensubstanz

5) Doppelbestimmung

6) Fünffachbestimmung

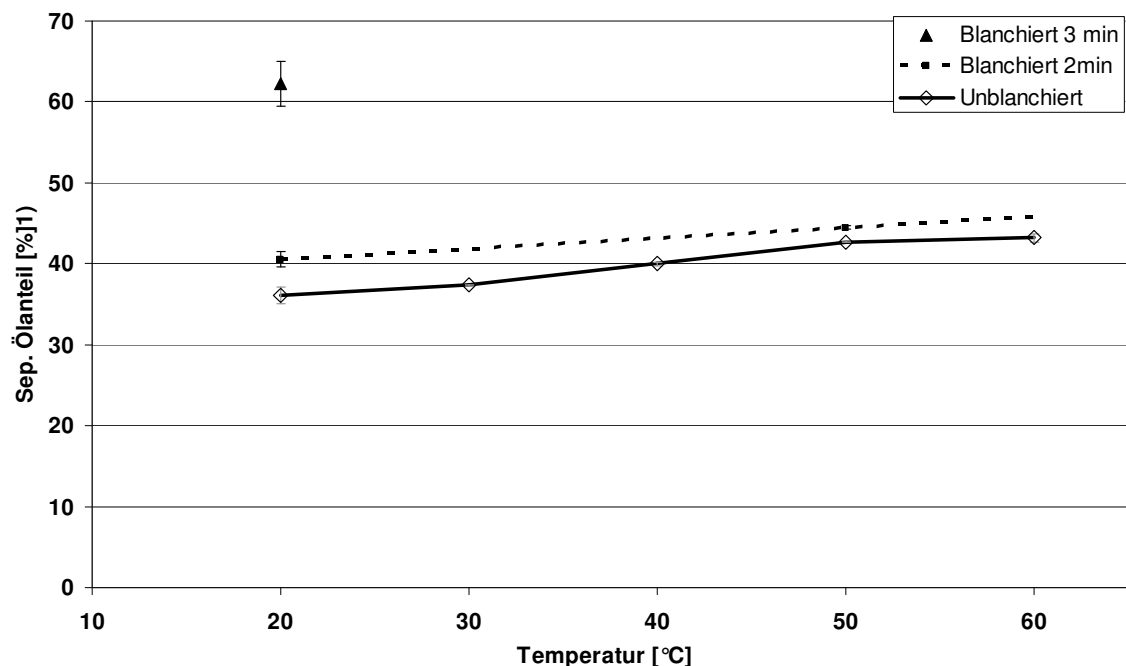
Eine Verminderung des s:l-Verhältnisses von 1:3 auf 1:5 reduzierte den separierten Ölanteil von 36 % auf 34 % nur gering. Eine gesteigerte Ölausbeute, wie eingangs vermutet, wurde nicht erreicht. Eine mögliche Ursache hierfür kann der erhöhte Anteil löslicher Substanzen im Extraktionsmittel sein. Durch einen erhöhten Anteil an gelösten Erdalkali könnten die Wechselwirkungen zwischen Phytinsäure und Protein verstärkt werden, sodass eine gesteigerte Emulsionsstabilisierung eintritt. Hierdurch wird der separierbare Ölanteil verringert.

4.1.5 Einfluss der Temperatur

In dieser Versuchsreihe wurde geprüft, in wie weit eine Erhöhung der Extraktions-temperatur einen Einfluss auf die Separierbarkeit des Öles hat. Hierzu wurden Versuche mit einer 2-Propanol-Konzentration von 45 % bei Raumtemperatur, 30 °C, 40 °C, 50 °C und 60 °C mit blanchierten und unblanchierten Rapsmehlen durchgeführt. Das Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis (s:l) zwischen Rapsmehl und Extraktionsmittel betrug 1:3. In Abbildung 4-5 ist der separierte Ölanteil bei unterschiedlichen Extraktionstemperaturen dargestellt.

Im Gegensatz zu den Versuchen, in denen die Extraktionszeit oder das s-l-Verhältnis variiert wurden, wodurch keine Erhöhung des separierten Ölantails erzielt werden konnte, konnte der separierte Ölanteil durch eine Erhöhung der Temperatur deutlich von 36 auf 43 % gesteigert werden. Dies kann durch die Abnahme der Viskosität des Öles erklärt werden. Durch eine Temperaturerhöhung von 30 °C auf 50 °C verringert sich die Viskosität von 46,5 Pas auf 22,5 Pas [Rass u. Schneider 1997]. Das Öl kann aufgrund der geringeren Viskosität leichter koaleszieren und als klare Ölphase abgetrennt werden. Die Sedimentationsgeschwindigkeit der koaleszierten Öltröpfchen steigt durch eine Verdopplung der Tröpfchengröße von nativ vorliegenden 0,5 µm bis 1,5 µm

großen Öltröpfchen auf 5 µm bis 10 µm großen Öltröpfchen um ca. 2 bis 3 Zehnerpotenzen [Belitz et al. 1992]. Die Masse an separiertem Öl nimmt zu. Zusätzlich steigt durch die erhöhte Temperatur während der Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol die Proteindenaturierung. Dieses Ergebnis bestätigen Untersuchungen von Fukushima (vgl. Kapitel 2.3) [Fukushima 1969]. Proteine, welche sich schnell an Grenzflächen zwischen hydrophoben und hydrophilen Phasen ausrichten und Emulsionen ausbilden können, verändern ihre Struktur, denaturieren, und zusammen mit einer geringeren Ölviskosität bei höheren Temperaturen kann das Öl leichter koaleszieren und anschließend als klare Ölphase abgetrennt werden.



1) bezogen auf die im verarbeiteten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl

Abbildung 4-5: Einfluss einer hydrothermischen Vorbehandlung (Blanchierung) des geschälten Rapsbruches und der Extraktionstemperatur auf den separierten Ölanteil des eingesetzten Rapsmehls.

Ob durch die erhöhte Extraktionstemperatur die native Emulsion der Öltröpfchen, die Olesomenmembran, in verstärktem Maße aufgebrochen wurde oder die Speicherproteine durch eine Denaturierung an einer neuen Emulsionsbildung gehindert wurden, konnte mit diesen Ergebnissen nicht abschließend geklärt werden.

Durch eine hydrothermische Konditionierung (Blanchierung) des Rapsmehles vor der Extraktion kann die nativ in der Zelle vorliegende Emulsion destabilisiert werden und das Öl koaleszieren (vgl. Kapitel 2.1.1) [Ponne et al. 1996]. Hierdurch besteht die Möglichkeit zu untersuchen, ob die nativ in den Rapszellen vorliegende Emulsion einen Einfluss auf die wässrig-alkoholische Entölung hat,

oder ob die geringe Ölseparation nur durch eine Emulsionsbildung durch die Speicherproteine verursacht wird. In einer weiteren Versuchsreihe wurde daher untersucht, ob die Ölseparation von blanchiertem Rapsmehl höher ist als von unblanchiertem Rapsmehl. Die wässrig-alkoholische Extraktion wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Auch diese Ergebnisse sind in Abbildung 4-5 dargestellt. Durch eine Blanchierzeit von zwei Minuten konnte der separierte Ölanteil um 5 %-Punkte auf 41 % gesteigert werden. Durch eine Blanchierzeit von 3 Minuten konnte der separierte Ölanteil sogar um 26 %-Punkte auf 62 % gesteigert werden. Die Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass die nativ in den Rapszellen vorliegende Emulsion einen deutlichen Einfluss auf die Ölseparation hat. Durch die Blanchierung wird die nativ in den Rapszellen vorliegende Emulsion, die Oleosomen, aufgebrochen. Darüber hinaus musste geprüft werden, ob durch die Blanchierung nicht auch andere Effekte einen Einfluss auf die Ölseparation haben. So konnte zum einen vermutet werden, dass durch die Blanchierung nicht nur die Oleosomenmembran aufgebrochen wird, sondern auch der Zellaufschluss zunimmt. Hierdurch würde die Ölseparation ebenfalls gesteigert, da das Öl als Oleosomen oder als freies Öl aus mehr Zellen extrahiert und anschließend separiert werden kann. Deshalb wurde der Anteil offener Zellen und damit der in einer Verdrängungsextraktion maximal separierbare Ölanteil der Rapsmehle ermittelt.

Zur Bestimmung des Zellaufschlussgrades können, wie in Kapitel 4.1 dargestellt wurde, verschiedene Methoden angewendet werden. Der rechnerisch ermittelte Zellaufschlussgrad nach Gleichung 4-1 der unblanchierten sowie der blanchierten Mehle betrug aufgrund ähnlicher Partikelgrößenverteilungen bei allen Mehlen 76 %. Über die Ermittlung des Zellaufschlussgrades durch einfache Entölungskurven ergab sich für das unblanchierte Mehl ein Zellaufschlussgrad von 73 %, für die blanchierten Mehle von 96 %. Anhand der Ergebnisse der einfachen Entölungskurven kann nicht unmittelbar auf einen erhöhten Zellaufschluss durch die Blanchierung geschlossen werden. Vielmehr ist hier die veränderte Extraktionsgeschwindigkeit des Öles während der Lösungsmittlextraktion aus den Rapszellen des blanchierten Mehles zu berücksichtigen. Durch die Zerstörung der Oleosomenmembran während der Blanchierung ist das Öl nur noch von den Zellmembranen und nicht mehr durch die zusätzlichen Oleosomenmembranen umgeben. Das Lösungsmittel muss nur die Zellwand als Barriere überwinden, damit das in den Zellen koaleszierte Öl im Lösungsmittel gelöst werden kann. Das Ölrückhaltevermögen des Rapsmehles ist durch die Blanchierung reduziert, so dass die durch einfache Entölungskurven ermittelten Zellaufschlussgrade der unblanchierten und blanchierten Mehle nicht miteinander verglichen werden können.

Ein möglicher zusätzlicher Zellaufschluss durch die Blanchierung wurde in den folgenden Modellrechnungen berücksichtigt. In Tabelle 4-5 sind die theoretischen Ölausbeuten der 3 Mehle sowie die daraus resultierenden separierten Ölanteile dargestellt. Unter der bereits oben diskutierten Annahme, dass nur 76 % Öl aus den Zellen separiert werden kann und durch die Blanchierung kein weiterer Zellaufschluss eintritt, ergeben sich zwar rechnerisch höhere Ölausbeuten, allerdings konnte mit diesem Ergebnis keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, ob die gesteigerte Ölausbeute durch einen erhöhten Anteil offener Zellen oder durch die Koaleszenz und die damit verbundene verbesserte Separation der größeren Öltröpfchen verursacht wurde. Mit der Annahme, dass durch eine Blanchierung der Anteil offener Zellen von 76 % auf 85 % ansteigt ergibt sich für das 2 Minuten blanchierte Mehl mit 48 % eine ähnliche Ölausbeute wie für das unblanchierte Mehl mit 47 % während sich für das 3 Minuten blanchierte Mehl ein separierter Ölanteil von 73 % ergibt.

Tabelle 4-5: Einfluss der Methode zur Bestimmung des frei vorliegenden Öles im eingesetzten Rapsmehl auf den theoretisch separierbaren Ölanteil im Vergleich mit den in den Versuchen erhaltenen separierten Ölanteilen

	Rapsmehl			
		Gesamtfettanteil ¹⁾	Rechnerisch ²⁾	Entölungskurve ³⁾
theoretische Ölausbeute [%] ⁴⁾	unblanchiert	100	76	73
	2 min blanchiert	100	76	96 ⁶⁾
	3 min blanchiert	100	76	nicht ermittelt
in Versuchen sep. Ölanteil [%] ⁵⁾	unblanchiert	36	47	49
	2 min blanchiert	41	53	42
	3 min blanchiert	62	82	nicht ermittelt

1) Bezogen auf die im eingesetzten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Fett in % TS

2) Nach Gleichung 4-1 ermittelt. Anteil offener Zellen entspricht Anteil freien Öles = theor. extrahierbarer Ölanteil

3) Einfache Entölungskurven (vgl. Abb. 4-1): Anteil freies Öl = theor. extrahierbarer Ölanteil [Schneider u. Rütte 1991]

4) Theoretisch auswaschbarer Anteil an Öl in wässrig-alkoholischer Verdrängungsextraktion

5) Bezogen auf die theoretische Ölausbeute und den in den Versuchen sep. Ölanteil vom Gesamtfett

6) Wert mittels Entölungskurve ermittelt (nicht in Abb. 4-1 dargestellt)

Die erhöhte Ölausbeute des 3 Minuten blanchierten Mehls lässt vermuten, dass beide Faktoren, Zellaufschluss und Koaleszenz der Oleosomen, einen Einfluss auf die Separation des Öles haben. Anhand dieser Ergebnisse zeigt sich, dass die erhöhte Ölausbeute nicht unmittelbar nur mit einem erhöhten Zellaufschluss oder nur der Koaleszenz der Oleosomen begründet werden kann. Eine eindeutige Aussage, welcher der beiden Einflussfaktoren den separierbaren Ölanteil stärker beeinflusst, kann nur durch einen 100 %igen Zellaufschlussgrad eines unblanchierten und eines blanchierten Mehles vor der wässrig-alkoholischen Extraktion erhalten werden.

4.1.6 Einfluss eines nassen Zellaufschlusses

Der Zellaufschluss hat einen erheblichen Einfluss auf die Entfettung des Rapsmehles. Aufgrund seines hohen Fettgehaltes wurde Raps bisher mit trockenen Vermahlungs- bzw. Zerkleinerungsvarianten bis zu einer mittleren Partikelgröße von 250 µm vermahlen. Dies entsprach bei einer wässrig-alkoholischen Verdrängungsextraktion einem Anteil von 76 % offenen Zellen. Der maximal separierbare Ölteil entsprach demnach 76 % der im eingesetzten Rapsmehl enthaltenen Gesamtmasse an Öl. Mit den zur Verfügung stehenden Mahl-aggregaten konnte keine höhere Feinheit mehr erzielt werden, ohne dass das Mahlgut zu einem öligen Brei wurde. Deshalb wurde für einen verbesserten Zellaufschluss eine Nassvermahlung gewählt. Hierzu wurde ein Ultra-Turrax eingesetzt. Allerdings wird durch die Vermahlungsart die Entfettung unter Umständen beeinträchtigt. So können in Gegenwart von wässrigen Aufschlussmedien durch tribochemischen Umsatz zwischen Fetten, Proteinen und Fasern stabile Emulsionen gebildet werden [Mieth et al. 1975] und die Separation einer klaren Ölphase wird beeinträchtigt. Untersuchungen von Meuser et al. [Meuser et al. 2002] ergaben, dass während des vollständigen Zellaufschlusses von Sojamehlen in wässrig-alkoholischen Aufschlussmedien keine Emulsion gebildet wurde. Deshalb war davon auszugehen, dass mit einer Nasszerkleinerung von Rapsmehlen in wässrig-alkoholischen Aufschlussmedien ebenfalls keine Emulsionen gebildet werden.

Für die Versuche wurde unblanchiertes und blanchiertes (2 min) Rapsmehl eingesetzt. Das Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnis betrug 1:3. In Vorversuchen wurde der rechnerische Zellaufschlussgrad (Gleichung 4-1) nach verschiedenen Vermahlungszeiten bestimmt. Nach 6 Minuten wurde ein Zellaufschlussgrad von 98 % ermittelt (Tabelle 4-6). Zur Herstellung von feinzerkleinertem Rapsmehl für die Versuche wurde das grobe, trocken zerkleinerte Rapsmehl mit dem Extraktionsmittel versetzt und mit einem Ultra-Turrax 6 Minuten zerkleinert. Im Anschluss wurde die Extraktion bei 20 °C und 50 °C durchgeführt.

In Abbildung 4-6 sind die Ergebnisse gegenübergestellt, welche bei fast 100 %igem Zellaufschlussgrad im Vergleich mit dem bisherigen Zellaufschlussgrad von 76 % erhalten wurden. Bei den Versuchen mit unblanchiertem Mehl bei Raumtemperatur verringerte sich der separierte Ölteil von 36 % im groben Mehl auf 33 % im feinen Mehl. Durch eine Extraktionstemperatur von 50 °C erhöhte sich der separierte Ölteil im fein zerkleinerten Mehl auf 48 %. Die Abnahme des separierten Ölteils im unblanchierten Mehl bei 20 °C Extraktionstemperatur und einer zusätzlichen Feinzerkleinerung lässt sich auf mögliche tribochemischen Umsätze und die Ausbildung von hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Fetten, Proteinen, Fasern und

anderen Inhaltsstoffen erklären [Mieth et al. 1975, Serraino u. Thompson 1984, Thompson 1987, Wäsche 2001].

Tabelle 4-6: Anteil offener Zellen von unterschiedlich zerkleinerten Rapsmehlen zur Ermittlung des max. auswaschbaren Anteils an Öl mit einem 2-Propanol-Wasser Gemisch

Partikelgröße	Rapsmehl: trocken zerkleinert ¹⁾		fein zerkleinert ²⁾	
	Vol.-anteil ³⁾	offene Zellen ⁴⁾	Vol.-anteil ³⁾	offene Zellen ⁴⁾
[µm]	[%]	[%]	[%]	[%]
90	37	37	83	83
200	8	8	10	9
300	10	8	7	6
470	20	12	1	1
650	18	9	0	0
900	7	3	0	0
theor. Ölausbeute ⁵⁾		76		98

1) Rapsbruch aus geschälten Raps, trocken zu Rapsmehl zerkleinert

2) Rapsmehl in Extraktionsmittel naß zerkleinert: 6 min, 20.500 min⁻¹ (Ultra-Turrax T25, IKA)

3) Partikelgrößenverteilung über Volumenverteilung mit Masersizer S ermittelt.

4) Berechnet nach Schneider u. Rütte 1991, Wäsche 2002: mittlerer Zelldurchmesser= 24 µm; 2,7 offene Zellschichten

5) Max. auswaschbarer Anteil an Öl mit 2-Propanol-Wasser-Gemisch

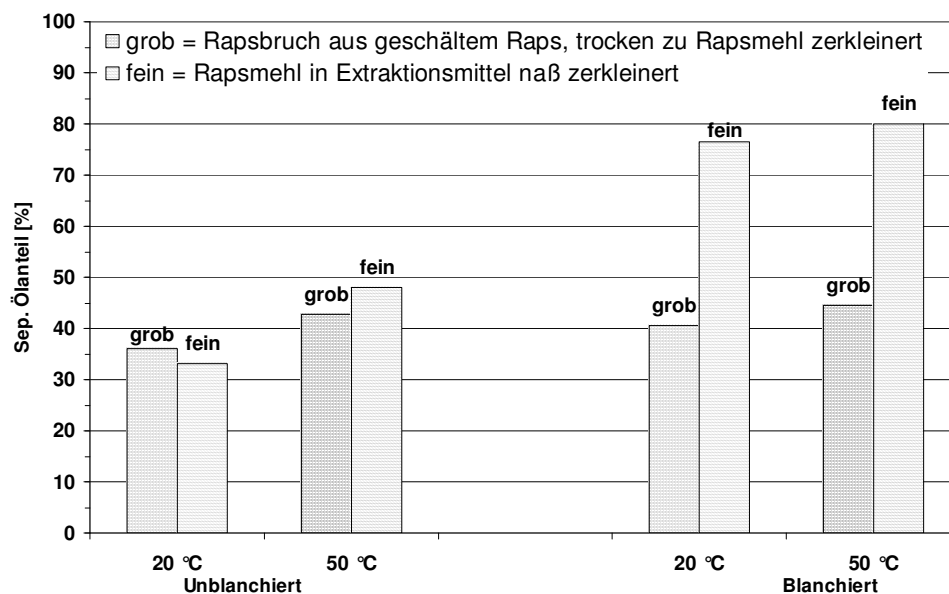


Abbildung 4-6: Einfluss des Zellaufschlussgrades auf den separierten Ölanteil von blanchiertem und unblanchiertem Mehl bei einer Extraktionstemperatur von 20 °C und 50 °C.

Die mechanisch nicht aufgeschlossenen Oleosomen bildeten Aggregate über elektrostatische Wechselwirkungen von basischen Proteinseitenketten mit sauren Lecithinresten (PI, PS) und freien Fettsäuren [Wäsche 2001]. Die Ausbildung

solcher Aggregate ist in Abbildung 4-7 auf dem mittleren Photo gut zu erkennen. An freien Öltröpfchen, welche aus zerstörten Oleosomenmembranen freigesetzt wurden, wurde durch die Anlagerung hydrophober Bereiche der Proteine ein Grenzflächenfilm ausgebildet, welcher eine Koaleszens der Öltröpfchen verhinderte. Über basische und saure Seitenketten der Proteine bildeten sich mit Phytinsäure Komplexe aus [Serraino u. Thompson 1984, Thompson 1987] und über weitere reaktive saure Phosphatgruppen der Phytinsäure wurden die Proteine verknüpft, welche sich an verschiedenen Öltröpfchen ausrichteten. Diese Wechselwirkungen können auch über Erdalkali-Ionen ausgebildet werden. Dabei üben die Erdalkali-Ionen eine Brückenfunktion zwischen Phytinsäure und negativ geladenen Proteingruppen aus. Die Öltröpfchen werden in diese Matrix eingebunden und können nicht als freie Ölphase separiert werden. Die fein zerkleinerten Fasern stabilisieren die kontinuierliche Phase. Zusätzlich werden von diesen Faserstückchen kleine Öltröpfchen gebunden. Eine solche Emulsion ist in Abbildung 4-7 auf dem rechten Bild zu erkennen.

Durch Anheben der Extraktionstemperatur des Wasser-Alkohol-Gemisches auf 50 °C wurden die Proteinstrukturen verändert und teilweise denaturiert. Hierdurch wurde die Stabilität der Emulsion negativ beeinflusst [Belitz et al. 1992] und der separierte Ölanteil konnte auf 48 % gesteigert werden.

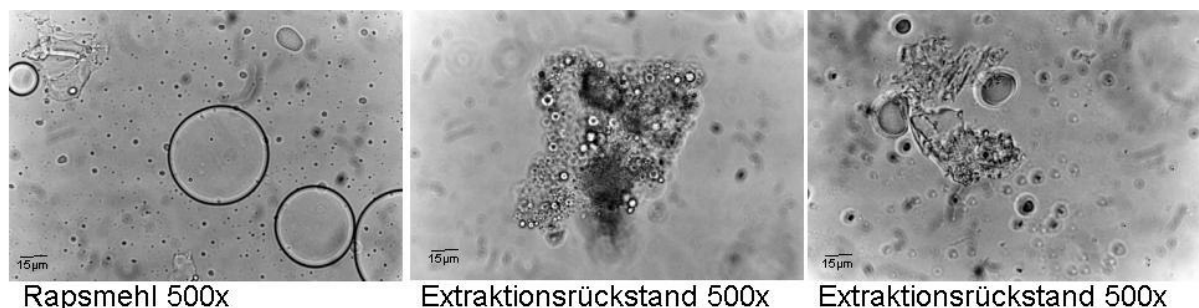


Abbildung 4-7: Einfluss einer nassen Zerkleinerung von Rapsmehl in einem wässrig-alkoholischen Extraktionsmittel auf die Öltröpfchengröße und deren Bindung an andere Zellbestandteile im Extraktionsrückstand (Vergrößerung x 500).

Unter Verwendung von blanchiertem Rapsmehl stieg der separierte Ölanteil bei 20 °C Extraktionstemperatur durch eine zusätzliche Nassvermahlung von 40 % auf 76 % und bei 50 °C Extraktionstemperatur von 44 % auf 80%. Mit diesen Ergebnissen konnte eindeutig geklärt werden, dass eine Blanchierung des Rapsmehles die Separation des Öles verbessert (vgl. Kapitel 4.1.5). Diese verbesserte Ölseparierung wurde hauptsächlich durch zwei Einflussfaktoren hervorgerufen: die Koaleszens der Öltröpfchen in den Zellen und die verminderte Proteinlöslichkeit. Der Zellinhalt wurde nicht als feine Emulsion mit kleinen Öltröpfchen, umgeben von einer Proteinmembran (Oleosin), aus der Zelle

gewaschen, sondern als Suspension von Öl, Protein (Oleosin und Speicherproteine) und Zellplasma, welche durch die Nassvermahlung mit dem Ultra-Turrax zu einer stabilen Emulsion mit zermahlenen Zellpartikeln vermischt wurde. Die Proteinlöslichkeit war gegenüber einem unblanchierten Mehl bei einer Blanchierzeit von zwei Minuten von 68 % auf 26 % reduziert. Aufgrund der verringerten Proteinlöslichkeit durch die Blanchierung ist die Fähigkeit, besonders des 2 S Proteins, sich schnell an die Grenzflächen zwischen hydrophoben und hydrophilen Phasen auszurichten und Emulsionen auszubilden, vermindert. Mit einer Erhöhung der Extraktionstemperatur von 20 °C auf 50 °C wurde die Viskosität des Öles vermindert und der separierte Ölteil stieg im Vergleich zur Extraktion bei 20 °C um 4 %-Punkte auf 80 % an.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch eine zusätzliche Nassvermahlung zwar ein vollständiger Zellaufschluss erreicht wird, doch durch die intensive Vermischung bildet sich eine stabile Emulsion, die eine vollständige Freisetzung des Öles behindert. Anders als bei den Untersuchungen von Meuser et al. [Meuser et al. 2002] mit vollfetten Sojamehlen konnte während der Extraktion von vollfetttem Rapsmehl eine Emulsionsbildung nicht verhindert werden. Dieses Ergebnis kann auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Inhaltsstoffe von Raps und Soja zurückgeführt werden. Im Vergleich mit Soja hat Raps eine andere Osborne-Verteilung der Speicherproteine (vgl. Kapitel 4.1). Der Phytinsäuregehalt ist mit 3 % bis 4 % doppelt so hoch, der Gehalt an Phospholipiden ist relativ übereinstimmend im Vergleich zu Soja. Bezogen auf die fettfreie Trockenmasse von Raps- bzw. Sojamehl vergrößert sich die Differenz dieser Inhaltsstoffe weiter, da der Fettgehalt im Rapsmehl mit 50 % gegenüber 20 % in Sojamehl zweieinhalb Mal größer ist. Unter der Annahme, dass nur lösliche 2 S-Proteine und Phospholipide als grenzflächenaktive Substanzen im wässrig-alkoholischen Extraktionsgemisch wirken können, ist der Gehalt an grenzflächenaktiven Stoffen bei blanchierten Rapsmehlen mit einer Proteinlöslichkeit von 26 % um das achtfache gegenüber Soja erhöht.

Während der wässrig-alkoholischen Extraktion wird aufgrund der Polarität des Extraktionsmittels die räumliche Struktur der 12 S-Proteine verändert. In Abhängigkeit der Polarität werden Wechselwirkungen zwischen 12 S-Protein und Öl verhindert. Die Struktur des gelösten 2 S-Proteins bleibt stabil [Schwenke et al. 1989, Wäsche 2001] und 2 S-Protein kann sich an der Grenzfläche zwischen den beiden Phasen anlagern und die Grenzflächenspannung verringern. Zusammen mit den Phospholipiden wird die Grenzflächenspannung während der wässrig-alkoholischen Extraktion von Rapsmehl stärker reduziert als bei Soja. Durch den erhöhten Gehalt an Phytinsäure im Rapsmehl können über direkte oder indirekte Wechselwirkungen die an den Grenzflächen angelagerten

Substanzen stärker stabilisiert werden. Eine Koaleszens der Öltröpfchen und damit eine Abtrennung als klare Ölphase wird verhindert. Um dieses Öl als klare Ölphase separieren zu können, wurde in einer folgenden Versuchsreihe untersucht, ob durch eine Regulierung des pH-Wertes bei der Extraktion die Wechselwirkungen, welche die Emulsion stabilisieren, vermindert werden können.

4.1.7 Einfluss des pH-Wertes

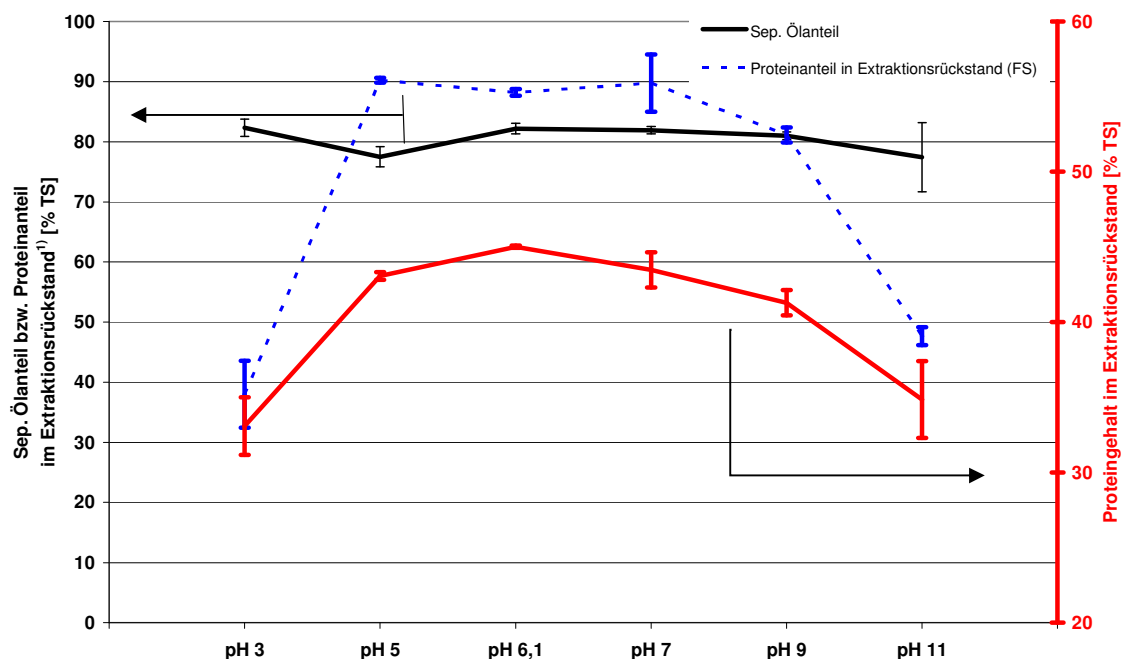
Aus Untersuchungen von Rosenthal et al. [Rosenthal et al. 1998] war bekannt, dass in wässrigen Verdrängungsextraktionen von Sojamehl der separierbare Ölanteil stark von der Proteinausbeute abhängt. Je mehr Proteine sich durch eine pH-Wert-Veränderung im wässrigen Extraktionsmittel lösen, desto mehr Öl konnte separiert werden. Es bilden sich Wechselwirkungen zwischen Protein und Öl aus, welche die Ölseparation beeinflussen.

Mit den folgenden Versuchen sollte geprüft werden, ob diese Wechselwirkungen auch bei einer wässrig-alkoholischen Extraktion des Öles aus Rapsmehl beobachtet werden können. Für die Versuche wurde blanchiertes Rapsmehl eingesetzt. Das Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis betrug 1:3. Die Suspension wurde 6 Minuten mit einem Ultra-Turrax behandelt, um einen vollständigen Zellaufschluss zu erhalten, und anschließend bei 50 °C extrahiert.

Aus Abbildung 4-8 kann entnommen werden, dass in einem pH-Wert-Bereich von pH 3,0 bis pH 11,0 der separierte Ölanteil immer ca. 80 % beträgt. Der Anteil an Protein im Extraktionsrückstand (FS) wurde von 88 % $\pm$ 5 % im neutralen pH-Wert-Bereich durch eine Verschiebung des pH-Wertes in stark saure oder alkalische Bereiche auf 40 % bis 50 % reduziert. Bei pH 3,0 und pH 11,0 bildete sich eine Emulsion oder quarkähnliche Phase zwischen Feststoff und Extraktionsmittelphe aus. Diese „Quarkphase“ wurde zusammen mit dem Extraktionsmittel vom Extraktionsrückstand abgetrennt.

Mit einer Verschiebung des Extraktions-pH-Wertes in den stark alkalischen Bereich ergibt sich eine erhöhte Proteinlöslichkeit der 12 S-Proteine. Im Extraktionsmittel gelöste Proteine und Phospholipide bilden Grenzflächenfilme aus. Über indirekte Wechselwirkungen von negativ geladenen 12 S-Proteinen oder Phospholipiden und Phytinsäure [Serraino u. Thompson 1984, Thompson 1987, Pardun 1988] werden die einzelnen Öltröpfchen in einer Emulsion gebunden. Zusätzlich stabilisieren feine Faserstücke die disperse Phase. Die Ausbildung einer quarkähnlichen Phase mit steigendem pH-Wert war auf eine Präzipitation der 2 S-Proteine zurückzuführen, welche bei pH 11 ein Löslichkeitsminimum aufweisen (IEP) [Schwenke et al. 1973, Mieth et al. 1983,

Olsen u. Sepp 1983]. Die koagulierten 2 S-Proteine binden mehr Extraktionsmittel als im gelösten Zustand und durch eine Vermischung mit der Emulsion entsteht eine quarkähnliche Phase. Eine Regulierung des Extraktions-pH-Wertes auf pH 3,0 ließ ebenfalls eine quarkähnliche Phase zwischen Extraktionsrückstand und Extraktionsmittel entstehen. Lösliche 2 S-Proteine und Phospholipide reduzieren die Grenzflächenspannung zwischen Öl und Extraktionsmittel. Positiv geladene Proteine werden direkt über elektrostatische Wechselwirkungen an negativ geladene Phytinsäure gebunden, negativ geladene Phospholipide indirekt über Erdalkali-Ionen, so dass die einzelnen Öltröpfchen auch im sauren pH-Bereich in eine Emulsion gebunden werden. Durch feine Faserstückchen wurde die Emulsion stabilisiert. Die Löslichkeit der 12 S-Proteine wurde bei saurem pH-Wert verringert. Aufgrund der veränderten Proteinstruktur verstärkte sich die Flüssigkeitsbindung. Während der Extraktion mischten sich diese Phasen und es entstand eine quarkähnliche Phase. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, dass die Masse an separierbarem Öl nicht wie bei Soja vom pH-Wert abhängt.



1) Bezogen auf die im verarbeiteten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl bzw. Protein

Abbildung 4-8: Einfluss des pH-Wertes auf den separierten Ölanteil sowie den Proteinanteil und -gehalt im Extraktionsrückstand.

4.1.8 Einsatz vorentfetteter Rohstoffe

Bisher wurden die Extraktionsparameter bei der wässrig-alkoholischen Entölung mit vollfetten Rapsmehlen untersucht. Hierbei wurde ein separierter Ölanteil von maximal 80 % erreicht. Durch die Separation des Öles und durch im Extraktionsmittel gelöste Bestandteile konnte der Fettgehalt im proteinreichen Extraktionsrückstand auf 20 % gesenkt werden.

Zur Entwicklung eines simultanen Verfahrens zur gleichzeitigen Gewinnung von Öl und Protein aus Raps muss nicht unbedingt vollfetter Raps eingesetzt werden. Es könnte auch ein Presskuchen aus einer vorgeschalteten Ölpressung eingesetzt werden. Dieser hat einen deutlich geringeren Fettgehalt. Durch den geringeren Fettgehalt im Extraktionsgut erhöht sich der Anteil an allen anderen Saatinhaltsstoffen. Hierdurch bilden sich möglicherweise andere Wechselwirkungen aus und der Fettgehalt im entölten Extraktionsrückstand kann auf Werte kleiner 20 % verringert werden. Um den Einfluss der eingesetzten Gesamtölmasse auf die Ölseparation zu untersuchen, wurden Rapsmehle mit unterschiedlichen Fettgehalten hergestellt. Hierfür wurde geschälter Raps auf unterschiedliche Restfettgehalte gepresst und anschließend zu einem Mehl vermahlen. Das Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis betrug 1:3. Die Suspension wurde 6 Minuten mit einem Ultra-Turrax behandelt um einen vollständigen Zellaufschluss zu erhalten und anschließend bei 50 °C mit 45 %igem 2-Propanol extrahiert. Die Fettgehalte der eingesetzten Mehle sowie der Extraktionsrückstände sind in Tabelle 4-7 dargestellt.

Tabelle 4-7: Fettgehalte von verschiedenen Rapsmehlen und von den durch wässrig-alkoholische Extraktion gewonnenen Extraktionsrückständen

Mehl aus	Fettgehalt [% TS]		Proteingehalt [% TS]	
	Rohstoff	Extraktionsrückstand	Rohstoff	Extraktionsrückstand
vollfettetem Raps	48	19	21	52
Presskuchen	30	20	33	48
Presskuchen ¹⁾	27	23	33	46
Presskuchen ²⁾	13	11	37	43

1) Presskuchen aus geschälten Rapskörnern bezogen von der Teutoburger Olmühle

2) Presskuchen aus ungeschälten Rapskörnern bezogen von der HaGe-Kiel

Bei allen eingesetzten teilentfetteten Mehlen konnte eine Ölphase separiert werden. Die Mehle der Presskuchen mit Fettgehalten von 27 % und 30 % konnten durch die wässrig-alkoholische Extraktion auf einen Restfettgehalt im Extraktionsrückstand, wie bei einer wässrig-alkoholischen Extraktion von vollfettetem Rapsmehl, von ca. 20 % verringert werden. Dieses Ergebnis zeigt,

dass sich die Wechselwirkungen, welche das Öl an der Separation hindern, nicht beeinflusst werden konnten. Aufgrund der schon bei der Extraktion von vollfetten Rapsmehlen diskutierten Wechselwirkungen wurde im Extraktionsrückstand ein minimaler Fettgehalt von ca. 20 % erhalten.

Bei der Extraktion von Pressmehlen mit Fettgehalten kleiner 20 % konnte der Fettgehalt im Extraktionsrückstand um 2 %-Punkte reduziert werden. Der Restfettgehalt im Extraktionsrückstand betrug 11 %. Zur Gewinnung von sensorisch akzeptablen Proteinprodukten mit ausreichender Haltbarkeit wird jedoch ein Restfettgehalt kleiner 2 % angestrebt [Belitz et al. 1992, Meuser et al. 2002]. Es erscheint somit nicht zielführend, vorentfettete Rapsmehle mittels wässrig-alkoholischer Verdrängungsextraktion zu fettarmen Rapsproteinprodukten zu verarbeiten.

4.2 Herstellung von Proteinprodukten aus geschältem, Hexan entöltem Rapsmehl durch wässrig-alkoholische Extraktion und Modifizierung ihrer funktionellen Eigenschaften

Proteinprodukte aus Raps werden wegen sensorischer und antinutritiver Eigenschaften bisher nicht in Lebensmitteln eingesetzt. In den 70 er und 80 er Jahren sind Untersuchungen durchgeführt worden, diese negativen Eigenschaften aus Rapsmehlen zu entfernen. Hierfür wurden komplizierte Verfahren im Labormaßstab entwickelt [Anjou 1978, Naczk et al. 1986, Naczk u. Shahidi 1989, Rubin et al. 1990, Shahidi u. Naczk 1990]. In allen diesen Verfahren wurden unerwünschte Substanzen unter anderem durch alkoholische Extraktion deutlich reduziert. Allerdings wurde die Proteinlöslichkeit aufgrund der Verfahrensweise deutlich verringert (vgl. Kapitel 4.1).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ebenfalls Alkohol zur Gewinnung von Öl- und Proteinprodukten eingesetzt. Die verminderte Proteinlöslichkeit und damit die verschlechterten funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte gaben Anlass dazu bekannte Methoden der Refunktionalisierung [Schwenke et al. 1988, Howard 1980, Belitz et al. 1992, Cheftel et al. 1992, Cabral et al. 1997, Damodaran 1997] auf Rapsproteinprodukte zu übertragen und deren Wirksamkeit zu untersuchen.

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass erst mit einer dreistufigen Extraktion von geschältem, entöltem Rapsmehl mit wässrig-alkoholischen Gemischen der Extraktionsrückstand einen Proteingehalt oberhalb 60 % erreicht (Tabelle 4-8). Ab einem Proteingehalt von 60 % können pflanzliche Proteinprodukte als Konzentrat gehandelt werden. Unterhalb von 60 % spricht man von Proteinsmehlen. Ein Kilogramm entöltes Sojamehl kostet ca. 0,5 € bis 0,8 € und ein Kilogramm Sojaproteinkonzentrat 1,2 € bis 3,0 € [Chajuss 1998, Wäsche 2002].

Tabelle 4-8: Proteingehalt des Extraktionsrückstandes nach ein bis drei Extraktionsstufen

	Proteingehalt ¹⁾ [% TS]	Fehler Δx
Rapsmehl ²⁾	50,1	–
1. Extraktion (Extraktionsrückstand)	56,9	0,4
2. Extraktion (Extraktionsrückstand)	59,7	0,7
3. Extraktion (Extraktionsrückstand)	61,5	1,0

Berechnet aus 7x Bestimmung; s:l=1:5

1) N*6,25

2) Geschält und hexanentölt

Die Proteinprodukte bzw. –konzentrate (RPC) der hier dargestellten Ergebnisse wurden durch eine dreistufige wässrig-alkoholische Extraktion aus geschältem, Hexan entöltem Rapsschrot (var. Express) hergestellt. Als Alkohol wurde 2-Propanol mit einem Anteil von 45 Gew.% am Extraktionsmittel eingesetzt. Die Verfahrensbedingungen wurden in Anlehnung an die wässrig-alkoholischen Entölungsversuche aus Kapitel 4.1 gewählt. Die hier durchgeführten Untersuchungen bezüglich der Refunktionalisierung der Proteinprodukte können so aufgrund ähnlicher Verfahrensbedingungen mit den Versuchen der Entölung aus Kapitel 4.1 verknüpft werden. Hierdurch war es möglich, einen Versuchsaufbau für die Versuche im dritten Teil der Arbeit, die Bewertung der simultanen Gewinnung von Öl- und Proteinprodukten, zielgerichtet umzusetzen.

Für Versuche zur Refunktionalisierung wurde ein Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis von 1:10 zwischen Extraktionsschrot und demineralisiertem Wasser eingestellt. Dieses Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis wurde zur Modifikation von Proteinen als geeignet eingestuft [Howard 1980, Cabral et al. 1997]. Ein zu hoher Feststoffanteil in der Suspension erhöht die Viskosität und hierdurch können sich Probleme bei der Versuchsdurchführung und der Kontrolle der Versuchsparameter ergeben. Durch zu geringe Feststoffanteile wird der erwünschte Grad an Veränderung langsamer erreicht [Howard 1980]. Ein zu geringer Feststoffanteil ist aus verfahrenstechnischer und energetischer Sicht ungünstig [Wäsche 2001].

4.2.1 Einfluss der Extraktionstemperatur

Für die Entölung von vollfettem, geschältem Raps mit wässrig-alkoholischen Gemischen stellte sich heraus, dass mit einer erhöhten Extraktionstemperatur sowie einer hydrothermischen Vorbehandlung des Rapsbruches (Blanchierung) der separierte Ölanteil gesteigert werden kann. In Kapitel 4.1.6 wurden Untersuchungen von Fukushima [Fukushima 1969] bestätigt, dass bei Alkoholkonzentrationen zwischen 40 % und 60 % mit steigender Temperatur die Proteinlöslichkeit abnimmt. Die Proteinlöslichkeit stellt für eine ganze Reihe funktioneller Eigenschaften jedoch eine wichtige Grundvoraussetzung dar [Belitz et al. 1992, Cheftel et al. 1992, Westphal et al. 2003]. In einer ersten Untersuchungsreihe wurde daher der Einfluss der Extraktionstemperatur auf die funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte ermittelt. Hierfür wurde geschältes, entöltes Rapsmehl mit einem 45 %igen 2-Propanol-Wasser-Gemisch bei einem Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis von 1:5 in drei Extraktionsstufen bei Raumtemperatur und 50 °C extrahiert. Der Extraktionsrückstand wurde anschließend sprühgetrocknet. Durch eine Erhöhung der Extraktionstemperatur von 20 °C auf 50 °C wurde die Proteinlöslichkeit der Rapsproteinkonzentrate (RPC) von 54 % auf 25 %

verringert. Aufgrund des erhöhten Anteils an denaturiertem Protein im RPC wurden die adsorbierenden Eigenschaften, Wasserbindekapazität und Fettbindekapazität erhöht. Die ermittelten Werte der emulgierenden Eigenschaften sind stark vermindert (Tabelle 4-9). Diese Ergebnisse stimmen mit den oft in der Literatur dokumentierten Eigenschaften von denaturierten Proteinen gegenüber löslichen Proteinen überein [Belitz et al. 1992, Cheftel et al. 1992, Westphal et al. 2003]. In Hinblick auf die Herstellung von Proteinprodukten mit guten emulgierenden Eigenschaften ist daher eine Denaturierung der Proteine zu vermeiden und die Extraktion sollte bei Raumtemperatur durchgeführt werden.

Tabelle 4-9: Einfluss der Extraktionstemperatur auf die funktionellen Eigenschaften der Rapsproteinkonzentrate

		20 °C ³⁾	50 °C ⁴⁾
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	54	25
WBC	[ml/g]	4,7	6,4
FBC	[ml/g]	2,1	2,3
EC ²⁾	[ml/g]	243	176
ES (80 °C)	[%]	84	22

1) Bei pH 7,0

2) Bei pH 5,0

3) Wässrig-alkoholische Extraktion bei 20 °C

4) Wässrig-alkoholische Extraktion bei 50 °C

4.2.2 Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur

Die Ausbildung veränderter funktioneller Eigenschaften wird in heterogenen Gemischen überwiegend durch nicht-kovalente, nicht spezifische Wechselwirkungen der Einzelbestandteile des Gemisches verursacht [Tolstoguzov 2001].

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde der Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur der Suspension während der Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften der RPCs untersucht. Durch eine zusätzliche Veränderung des pH-Wertes kann es zu einer Strukturänderung der Proteine kommen, die durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen ionisierten Gruppen entsteht [Belitz et al. 1992, Cheftel et al. 1992]. Eine höhere Temperatur ermöglicht es den hydrophoben, nach innen gerichteten Proteinketten sich nach außen zu richten.

Um zu untersuchen, ob durch Temperatur- und pH-Wert-Veränderung neue Wechselwirkungen ausgebildet werden können und sich die funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte ändern, wurde der pH-Wert der Suspension

auf 3,0; 5,0 und 8,0 eingestellt. Ohne Regulierung stellte sich ein pH-Wert von 6,1 ein. Durch eine pH-Wert-Verschiebung in höhere alkalische Bereiche wechselt die Farbe der Proteinprodukte nach dunkelgrün [Radwan u. Lu 1976, Serraino u. Thompson 1984, Westphal et al. 2003]. Proteinprodukte für den Einsatz in Lebensmitteln sollten jedoch sensorisch neutral sein. Daher wurde der Einfluss des pH-Wertes nur unter leicht alkalischen Bedingungen bei pH 8,0 untersucht. Mit steigenden Temperaturen steigt die Löslichkeit der Proteine [Radwan u. Lu 1976]. Die Temperatur wurde für 10 Minuten auf zwei Stufen variiert: 20 °C und 60 °C.

In Abbildung 4-9 ist die Proteinlöslichkeit der wärmebehandelten und pH-Wert-regulierten Rapsproteinkonzentrate (RPCs) dargestellt. Es ist zu sehen, dass eine Erhöhung der Temperatur auf 60 °C nicht zu einer verbesserten Proteinlöslichkeit führt, jedoch über den gesamten untersuchten pH-Bereich die Löslichkeit der Proteine reduziert wird. Mittels HPLC wurde vom löslichen Proteinanteil die Verteilung der Hauptproteinfraktionen Napin (2 S-Protein) und Cruziferin (12 S-Protein) ermittelt. Diese Ergebnisse zeigen, dass die verminderte Proteinlöslichkeit durch eine Denaturierung des 12 S-Proteins verursacht wird. Die Löslichkeit von 2 S-Protein wird durch eine Wärmebehandlung oder pH-Wert-Regulierung nicht beeinflusst [Schwenke et al. 1989, Wäsche 2001]. Eine Erklärung hierfür ist die durch Disulfid-Brücken verursachte Starrheit des mit ca. 15 kDa relativ kleinen Proteinmoleküls.

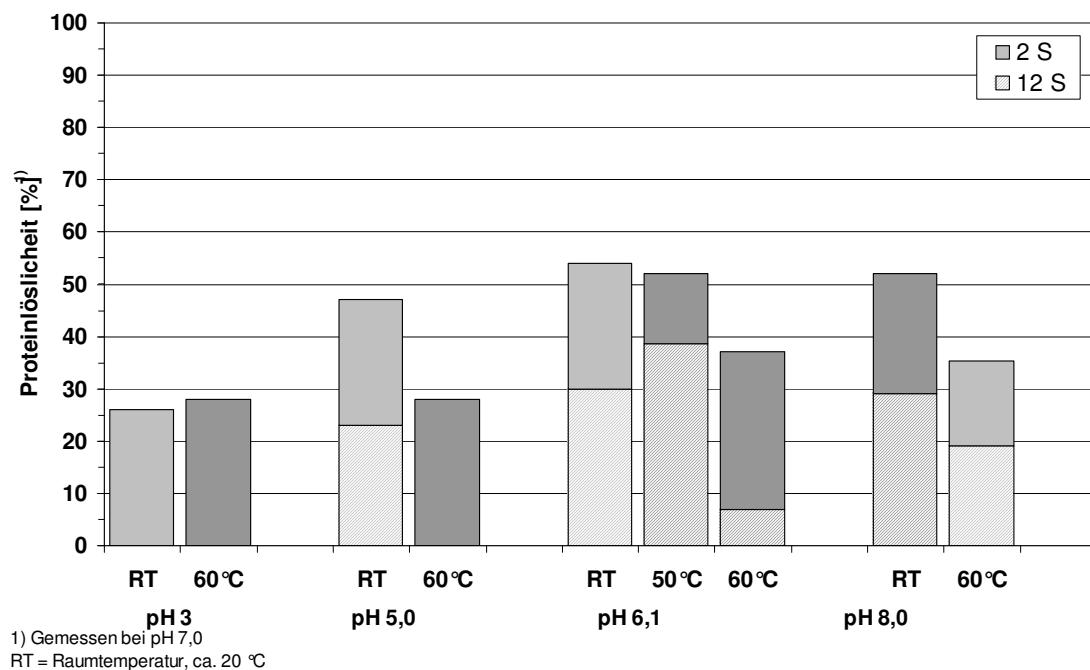


Abbildung 4-9: Proteinlöslichkeit und Verteilung der Hauptproteinfraktionen in der löslichen Proteinfraktion der RPCs im Anschluss an eine wässrige Nachbehandlung bei unterschiedlichen Temperaturen und pH-Wert-Einstellungen.

Beim 12 S-Protein verändert sich aufgrund der pH-Wert-Regulierung sowie der Wärmebehandlung die Proteinstruktur und Ladungsverteilung an der Moleküloberfläche. Über ionische oder hydrophile Wechselwirkungen können irreversible wasserunlösliche Komplexe zwischen Proteinen und anionischen Elektrolyten (Phytinsäure) gebildet werden, die die Löslichkeit der Proteine reduzieren [Schwenke et al. 1988, Wäsche 2001]. Cruziferin wird durch eine pH-Wert-Verschiebung in den sauren pH-Bereich unlöslich.

Die reduzierte Löslichkeit der Proteine sowie die veränderte Zusammensetzung der löslichen Proteine führt zu veränderten funktionellen Eigenschaften der RPCs. Zur Charakterisierung der Konzentrate hinsichtlich der funktionellen Eigenschaften wurden die Wasserbindekapazität (WBC), Fettbindekapazität (FBC), Emulgierkapazität (EC) und die Emulsionsstabilität (ES) ermittelt (Tabelle 4-10).

Tabelle 4-10: Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs

		pH 3,0		pH 5,0		pH 6,1			pH 8,0	
		RT	60 °C	RT	60 °C	RT	50 °C	60 °C	RT	60 °C
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	26	28	47	28	54	52	37	52	36
Partikelgröße ³⁾	[µm]	23	-	30	-	32	-	-	25	-
WBC	[ml/g]	4,5	4,7	4,2	5,0	4,7	5,2	5,2	3,9	6,0
FBC	[ml/g]	1,8	2,0	2,0	1,7	2,1	2,2	2,0	2,0	2,2
EC ²⁾	[ml/g]	197	189	267	189	243	213	211	267	205
ES (80 °C)	[%]	64	-	75	-	84	69	48	88	69

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5, t = 15 min

1) Bei pH 7,0

2) Bei pH 5,0

3) Partikelgrößenverteilung als D50 angegeben.

Die Wasserbindekapazität (WBC) der Proteinprodukte, welche bei Raumtemperatur behandelt wurden, steigt mit sinkendem pH-Wert von 3,9 ml/g bei pH 8,0 auf 4,5 ml/g bei pH 3,0 an. Durch eine zusätzliche Behandlung der RPCs für 10 Minuten bei 60 °C steigt die WBC aufgrund der geringeren Proteinlöslichkeit auf bis zu 6,0 ml/g an. Allerdings steigt die WBC bei höheren Temperaturen (50 °C/60 °C) mit steigendem pH-Wert an. Während die Proteine bei Raumtemperatur mit sinkendem pH-Wert überwiegend aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Phytinsäure und Protein ausgefällt werden, tritt durch die Temperaturbehandlung bei 60 °C ein unerwarteter Effekt auf. Es war zu vermuten, dass mit sinkender Proteinlöslichkeit die WBC steigt. Stattdessen zeigen die Ergebnisse, dass die WBC mit steigender Löslichkeit der Proteine ansteigt und trotz einer höheren Löslichkeit von 36 % bei pH 8,0 mit einer WBC von 6,0 ml/g deutlich mehr Wasser binden als das Proteinprodukt, welches bei

60 °C und pH 3,0 hergestellt wurde (4,5 mg/g). Durch die Temperaturbehandlung bei 60 °C kommt es mit steigendem pH-Wert zu einer stärkeren Auffaltung der Proteine als bei den Versuchen bei Raumtemperatur, wodurch mehr hydrophile Gruppen freigelegt werden und die Wasserbindekazität ansteigt. Die Auffaltung der Proteinstrukturen wird durch die Temperaturbehandlung so stark beeinflusst, dass die WBC bei pH 8,0 trotz einer um 7 %-Punkte höheren Proteinlöslichkeit um 1,3 ml/g höher ist als bei pH 3,0. Zusätzlich zu der Auffaltung der Proteinstrukturen zeigt sich ein Einfluss des 12 S/ 2 S -Verhältnisses auf die WBC der temperaturbehandelten Proteinprodukte. Der Anstieg des 12 S Cruziferins in der unlöslichen Proteinfraction bzw. eine deutliche Abweichung von dem natürlich vorliegenden Cruziferin/Napin-Verhältnis von ca. 1,1 bis 1,3 führt zu veränderten Wasserbindungseigenschaften. Diese These konnte durch die Ergebnisse der Temperaturversuche bei pH 6,1 und pH 8,0 bestätigt werden.

Die ermittelten Fettbindekazitäten (FBC) der hergestellten RPCs variierten mit Werten zwischen 1,7 ml/g und 2,2 ml/g in einem relativ kleinen Bereich. Der mit 2,2 ml/g ermittelte Wert bei dem pH 8,0 und 60 °C behandelten RPC lässt vermuten, dass die Auffaltung der Proteine im basischen Bereich und bei höheren Temperaturen eine verbesserte Fettbindung ermöglicht.

Betrachtet man die ermittelten Werte der Emulgierkapazität (EC) der bei Raumtemperatur im pH-Wert veränderten RPCs, so kann man erkennen, dass durch eine pH-Regulierung von pH 3,0 bzw. von 8,0 die EC von 197 ml/g auf 267ml/g gesteigert werden kann. Die Zunahme der EC wird zum einen durch eine erhöhte Proteinlöslichkeit, zum anderen durch eine Auffaltung der Proteine bei pH 8,0 verursacht. Hierdurch adsorbieren die Proteine an der Grenzfläche bzw. richten sich die Proteine an der Grenzfläche aus. Die bei pH 8,0 behandelten Proteine können stabilere Grenzflächenphasen ausbilden. Damit einhergehend kann mehr Öl in der Dispersion gehalten werden. Durch eine Wärmebehandlung sank die Proteinlöslichkeit und weniger Proteine konnten die Grenzfläche zwischen Öl und Wasser besetzen. Die Emulgierkapazität sank in Abhängigkeit des pH-Wertes auf 189 ml/g bis 211 ml/g.

Die Emulsionsstabilität (ES) wird von der pH-Behandlung stark beeinflusst. Aus Tabelle 4-10 ist zu entnehmen, dass die ES der RPCs durch saure pH-Behandlung sowie Wärmebehandlung bei 60 °C abnimmt. Mit 88 % bzw. 84 % zeigen die Produkte ohne Wärmebehandlung bei pH 8,0 bzw. 6,1 die höchsten Werte der ES. Aus Abbildung 4-9 wird ersichtlich, dass die ES auch von den Anteilen der Hauptproteinfractionen Napin (2 S) und Cruziferin (12 S) im löslichen Proteinanteil abhängt. Durch die pH-Behandlung verändert sich das Verhältnis Cruziferin zu Napin. Dieses Ergebnis wird von Untersuchungen von Schwenke

und Wäsche bestätigt [Schwenke et al. 1989, Wäsche 2001]. Ohne ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Cruziferin und Napin oder einen leicht erhöhten Masseanteil Cruziferin in der löslichen Proteinfraction können die Emulsionen offenbar nur unzureichend stabilisiert werden.

Durch die Wärmebehandlung bei 60 °C wird die Löslichkeit der Proteine reduziert. Um zu prüfen, ab welcher Temperatur die Denaturierung der Proteine verstärkt wird, wurde ein Versuch ohne pH-Einstellung (pH 6,1) bei 50 °C durchgeführt. Die Proteinlöslichkeit verminderte sich um 2 %-Punkte gegenüber dem Versuch bei Raumtemperatur auf 52 %. Besonders hervorzuheben ist, dass es durch die Wärmebehandlung zu einem veränderten 12 S/ 2 S -Verhältnis von 2,9 kommt. In den anderen Versuchen stellt sich im löslichen Proteinanteil ein Verhältnis von 0 bis 1,6 ein. Durch eine Wärmebehandlung bei 60 °C ergab sich ein Quotient von 0,2. Die 12 S-Proteine werden bei niedrigeren Temperaturen als die 2 S-Proteine denaturiert. Dies wird auch durch Ergebnisse von Wäsche bestätigt [Wäsche 2001]. Durch die Wärmebehandlung bei 50 °C kam es zu keiner Ausfällung, sondern zu einer Auffaltung der Proteine und zur Ausbildung neuer Bindungen zwischen Napin und Cruziferin oder Napin und Napin. Das Molekulargewicht der Proteine steigt. Es wurde ein größerer Anteil an großen Proteinmolekülen (12 S) in der löslichen Proteinfraction detektiert. Da die Proteinlöslichkeit gleich bleibt, ergibt sich ein verändertes Verhältnis an 12 S/ 2S. Trotz des gesteigerten Anteils an großen, löslichen Proteinmolekülen konnten keine veränderten funktionellen Eigenschaften gegenüber den bei 60 °C behandelten Produkten ermittelt werden. Daraus kann geschlossen werden, dass die großen Proteinmoleküle, welche bei 50 °C entstehen, in ihrer Struktur den denaturierten Proteinen bei 60 °C ähneln, so dass die adsorptiven Eigenschaften dieser Produkte bezüglich der Wasser- und Fettbindung sowie der Grenzflächeneigenschaften im Vergleich zu dem bei 60 °C behandelten Produkt nicht verbessert werden konnten.

4.2.3 Einfluss mechanischer Energie

Durch Einwirkung mechanischer Energie können die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten verändert werden [Howard 1980, Kroll 1991, Cabral et al. 1997]. Die mechanische Energie bewirkt, dass sich die Struktur der Proteinmoleküle verändert. Hierdurch können sonst nicht erkennbare strukturelle Einheiten (funktionelle Aminosäure-Seitenketten) freigelegt werden. Darüber hinaus können in den kohärenten Bereichen Änderungen in der natürlichen Anordnung der Makromoleküle (Teilchenzerkleinerung, Oberflächenvergrößerung) entstehen [Kroll 1991]. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass die Protein-

löslichkeit bei Sojaproteinprodukten durch Homogenisation gesteigert werden kann [Howard 1980, Cabral et al. 1997].

4.2.3.1 Einfluss des Homogenisierdrucks

Den Einfluss des Homogenisierdruckes auf die funktionellen Eigenschaften von Rapsproteinprodukten zu untersuchen war das Ziel der nachfolgend beschriebenen Untersuchungen, in denen die dreistufig alkoholisch extrahierten Extraktionsrückstände mit demineralisiertem Wasser auf einen Trockensubstanzgehalt von 10 % verdünnt wurden und bei Druckstufen von 100 bar, 150 bar, 180 bar und 300 bar homogenisiert wurden. Die Homogenisierzeit betrug fünf Minuten. Dies entsprach im Mittel 3,5 Passagen der Suspension durch die Homogenisierdüse.

Tabelle 4-11: Einfluss des Homogenisierdrucks während einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs

		Homogenisierdruck [bar]				
		0 ⁴⁾	100	150	180	300
Temperatur nach Homogenisation	[°C]	22	32	33	47	47
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	54	57	58	54	57
12 S/ 2S Verhältnis ⁵⁾	[-]	1,3	1,5	1,4	1,6	1,9
Partikelgröße ³⁾	[µm]	32	19	19	14	17
WBC	[ml/g]	4,7	4,5	3,9	3,5	4,3
FBC	[ml/g]	2,1	1,7	1,6	1,7	1,6
EC ²⁾	[ml/g]	243	334	345	358	302
ES (80 °C)	[%]	84	93	-	96	73

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5; t=15 min

1) Bei pH 7,0

2) Bei pH 5,0

3) Partikelgrößenverteilung als D50 angegeben.

4) Nicht homogenisiert

Aus Tabelle 4-11 ist zu entnehmen, dass mit steigendem Homogenisierdruck die Temperatur der Suspension nach der Behandlung von 22 °C auf 47 °C anstieg. Die erhöhte Endtemperatur führte jedoch noch nicht zu einer verminderten Proteinlöslichkeit, wie sie in Kapitel 4.2.2 für 60 °C dargestellt wurde. Die Proteinlöslichkeit der RPCs lag nach allen Versuchen mit 54 % bis 58 % in einem relativ engen Bereich.

Die Wasserbindekapazität (WBC) fiel mit steigendem Druck bis 180 bar von 4,7 ml/g auf 3,5 ml/g ab. Wurde der Druck auf 300 bar erhöht, stieg die WBC wieder an. Diese Ergebnisse können mit der durchschnittlichen Partikelgröße

(D_{50}) der RPCs erklärt werden. Mit steigendem Homogenisierdruck sank die Partikelgröße. Durch eine weitere Erhöhung des Homogenisierdruckes auf 300 bar stieg der D_{50} wieder auf 17 μm an. Die Proteinmoleküle ändern ihre Struktur und es kommt zu einer Neuordnung der natürlichen Makromoleküle. Diese Vermutung bestätigte sich durch das stark veränderte 12 S / 2 S-Verhältnis im löslichen Proteinanteil. Während bei den geringeren Druckstufen das Verhältnis bei durchschnittlich 1,4 lag, stieg das Verhältnis durch die Druckbehandlung bei 300 bar auf 1,9.

Die Fettbindekazapazität (FBC) der druckbehandelten Produkte lag unabhängig von Partikelgröße und 12 S/ 2 S-Verhältnis bei 1,6 ml/g bis 1,7 ml/g. Die durchschnittlichen Partikelgrößen der homogenisierten Produkte waren deutlich kleiner als die der Produkte ohne Druckbehandlung. Daher waren die FBC der unbehandelten Produkte um 0,4 ml/g bis 0,5 ml/g höher.

Die ermittelten Emulgierkapazitäten (EC) der Proteinprodukte erhöhten sich von 243 ml/g auf 302 ml/g bis 358 ml/g durch die Hochdruckbehandlung. Die EC nahm mit steigendem Homogenisierdruck bis 180 bar zu und fiel durch eine Druckbehandlung bei 300 bar auf 302 ml/g ab. Durch die Druckbehandlung wird die Grenzflächenspannung der Proteine in wässrigen Systemen reduziert [Cabral 1997] und die strukturmodifizierten Proteine können mehr Öl in ihre innere Struktur aufnehmen und die Emulsion stabilisieren. Dies bestätigte sich durch die, gegenüber unbehandelten RPCs, gesteigerten Emulsionsstabilitäten.

4.2.3.2 Einfluss der Homogenisierpassagen

In der vorangegangenen Versuchsreihe wurde gezeigt, dass die funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte durch unterschiedliche Homogenisierdrücke verändert wurden. Der Einfluss der mechanischen Energieeinleitung auf die funktionellen Eigenschaften kann auch über die Homogenisierpassagen bzw. die Homogenisierzeit verändert werden. Durch unterschiedliche Homogenisierdrücke wurde die spezifische Energieeinleitung in die Rapssuspension variiert. Der spezifische Energieeinsatz bei Hochdruckverfahren wird als Funktion von Homogenisierdruck, Passagenzahl und Dichte der Suspension beschrieben [Wäsche 2001].

Die Dichte wurde in den hier durchgeführten Versuchen bei keiner der Suspensionen verändert. Daher wurde im Folgenden nur das Produkt aus Homogenisierdruck und Passagenzahl (Homogenisierzeit) berechnet und vergleichend in Tabelle 4-12 als spezifischer Energieeinsatz dargestellt. Die Passagenzahl durch den Homogenisierspalt wurde bei einem Homogenisierdruck

von 180 bar mit 3,5 Passagen (5 min); 7 Passagen (10 min); 14 Passagen (20 min) und 21 Passagen (30 min) variiert.

Die Temperatur der Suspensionen erhöhte sich mit steigenden Passagen durch die Homogenisierdüse von 22 °C auf 64 °C. Die Proteinlöslichkeit konnte durch den Einsatz eines Homogenisators bei keinem Versuch erhöht werden. Im Gegenteil hatten die RPCs, welche mindestens 14 Passagen homogenisiert wurden, mit 34 % um 20 %-Punkte verringerte Proteinlöslichkeiten. Aus dem 12 S / 2 S -Verhältnis des löslichen Proteinanteils von 0,4 bzw. 0,2 ist ersichtlich, dass durch die erhöhten HDH-Passagen große Proteinmoleküle (12 S) denaturiert wurden. Die mittlere Partikelgrößenverteilung (D_{50}) wurde durch eine Homogenisation von 32 µm auf 13 µm bzw. 14 µm reduziert. Vermehrte HDH-Passagen beeinflussten die Partikelgrößenverteilung nicht.

Tabelle 4-12: Einfluss der HDH-Passagen bei 180 bar bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholischen hergestellten RPCs

		HDH-Passagen				
		0 ⁶⁾	3,5	7	14	21
Spez. Energieeinsatz ¹⁾	[N/m ²]	0	630	1260	2520	3780
Temperatur nach Homogenisation	[°C]	22	47	47	61	64
Proteinlöslichkeit ²⁾	[%]	54	54	53	34	34
12 S/ 2S Verhältnis ³⁾	[-]	1,3	1,6	1,5	0,4	0,2
Partikelgröße ⁴⁾	[µm]	32	14	-	13	13
WBC	[ml/g]	4,7	3,5	3,1	4,8	4,9
FBC	[ml/g]	2,1	1,7	1,5	1,8	1,8
EC ⁵⁾	[ml/g]	243	358	373	245	250
ES (RT)	[%]	59	68	65	60	-
ES (80°C)	[%]	84	96	96	76	-

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5; t = 15 min

1) Vereinfacht berechnet aus dem Produkt von Homogenisierdruck und Passagenzahl

2) Bei pH 7,0

3) Ermittelt aus löslichem Proteinanteil bei pH 7,0

4) Partikelgrößenverteilung als D50 angegeben.

5) Bei pH 5,0

Da die Proteinlöslichkeit bei 3,5 bzw. 7 HDH-Passagen nicht beeinflusst wurde, sich jedoch die Partikelgröße um ca. 50 % reduzierte, sowie ein erhöhtes 12 S/ 2 S -Verhältnis gemessen wurde, konnte vermutet werden, dass durch die Hochdruckbehandlung eine Neuordnung der natürlichen Makromoleküle stattgefunden hat. Durch die Hochdruckbehandlung bilden sich Wechselwirkungen zwischen Napin-Molekülen sowie zwischen Napin- und Cruziferin-Molekülen. Diese

Vermutung konnte unter anderem durch die mit 3,5 ml/g bzw. 3,1 ml/g WBC der mit 3,5 bzw. 7 HDH-Passagen gegenüber der nicht homogenisierten Probe mit 4,7 ml/g bestätigt werden.

Die emulgierenden Eigenschaften hingegen verbesserten sich, was ebenfalls auf das veränderte 12 S/ 2 S -Verhältnis zurückzuführen ist. Da die Proteinlöslichkeit gegenüber dem unbehandelten Proteinprodukt unverändert bleibt, muss eine Neuordnung der Makromoleküle, aufgezeigt durch die veränderten 12 S/ 2 S -Verhältnisse, stattgefunden haben. Die molekulare Grenzflächenadsorption wird verbessert und die EC bzw. ES steigen. Durch die verringerten Proteinlöslichkeiten um ca. 20 % Punkte nach mehr als 7 HDH-Passagen stiegen die adsorptiven Eigenschaften wieder an und die emulgierenden Eigenschaften verringern sich. Das reduzierte 12 S/ 2 S-Verhältnis von 0,4 und 0,2 nach 14 und 21 HDH-Passagen zeigte, dass Cruziferin schneller als Napin denaturiert wurde. Ob die Denaturierung von 12 S-Protein durch die höheren Endtemperaturen von 61 °C und 64 °C der Suspensionen verursacht wurde, oder durch den mechanischen Energieeintrag, konnte nicht gezeigt werden. Hierdurch und durch die verminderte Proteinlöslichkeit ergaben sich erhöhte Werte der adsorptiven Eigenschaften der Proteinprodukte (WBC, FBC). Die Emulgiereigenschaften verringerten sich aufgrund der starken Proteindenaturierung.

4.2.4 Einfluss einer Parameterkombination von pH-Wert, Temperatur und Homogenisation

Eine Kombination der Einflussfaktoren (pH-Wert, Temperatur, Homogenisation) auf die funktionellen Eigenschaften wurde bisher für Proteinprodukte aus Raps nicht untersucht. Für Sojaproteinprodukte wurde der Einfluss verschiedener Parameterkonfigurationen auf die funktionellen Eigenschaften von Howard und Cabral [Howard 1980, Cabral et al. 1997] untersucht. Beide ermittelten für verbesserte funktionelle Eigenschaften der Sojaproteinprodukte eine Kombination aus Homogenisation in einem Temperaturbereich von 50 °C bis 150 °C in leicht alkalischem pH-Bereich.

In Tabelle 4-13 sind Versuche mit mechanischem Energieeintrag durch 3,5 HDH-Passagen bei pH 8,0 dargestellt. Die Temperatur der Proteinsuspensionen wurde auf 20 °C, 50 °C und 90 °C eingestellt. Um einen besseren Vergleich dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen der einzelnen Einflussfaktoren zu ermöglichen, wurden einige in den vorangegangenen Kapiteln gezeigten Versuchsergebnisse in die Tabelle mit aufgenommen. Eine pH-Regulierung von pH 6,1 auf 8,0 mit anschließender Homogenisierung erhöhte die Löslichkeit der Rapsproteine gering von 54 % auf 58 %. Eine erhöhte Homogenisationstemperatur von 50 °C

zeigte keinen Denaturierungseffekt. Wurde die Homogenisationstemperatur jedoch auf 90 °C erhöht, verringerte sich die Proteinlöslichkeit auf 22 %. Damit sind die von Howard ermittelten Parametereinstellungen (Versuch 6) für Sojaproteine zur Verbesserung der Proteinlöslichkeit nicht auf Rapsproteine übertragbar. Die von Howard ermittelten Parametereinstellungen für Sojaproteinkonzentrate führten zu einer Denaturierung der Proteine. Hierdurch ergab sich eine erhöhte Wasserbindekapazität (WBC) und eine verschlechterte Emulgierkapazität der bei pH 9,0 und 90 °C homogenisierten RPCs.

Tabelle 4-13: Einfluss der Temperatur, des pH-Wertes und der HDH-Behandlung bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs

Versuchsnr.	1	2	3	4	5	6
Extraktionstemp. [°C]	RT					
pH-Wert	6,1	6,1	6,1	8,0	8,0	9,0
Temperatur [°C]	RT	50	RT	RT	50	90
Druck [bar]	-	-	180	180	180	180
Proteinlöslichkeit ¹⁾ [%]	54	52	54	58	56	22
12 S/ 2S Verhältnis ⁴⁾ [-]	1,3	2,9	1,6	3,1	3,0	0,2
Partikelgröße ³⁾ [µm]	32	-	14	14	14	-
WBC [ml/g]	4,7	5,2	3,5	3,9	3,5	5,2
FBC [ml/g]	2,1	2,2	1,7	2,0	1,6	1,9
EC ²⁾ [ml/g]	243	213	358	383	319	219
ES (80 °C) [%]	84	69	96	97	88	96

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45%igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5; t=15 min

1) Bei pH 7,0

2) Bei pH 5,0

3) Partikelgrößenverteilung als D50 angegeben

4) Ermittelt aus löslichem Proteinanteil bei pH 7,0

In den vorangegangenen Versuchen stellte sich im löslichen Proteinanteil ein Verhältnis von 12 S zu 2 S von 0,2 bis 1,6 ein. Durch eine Wärmebehandlung wurde der Quotient kleiner. Durch eine Homogenisation der Suspension bei dem sich natürlich einstellenden pH-Wert von 6,1 wurde dieses Verhältnis nicht beeinflusst und schwankte um 0,3 Punkte um das natürliche Verhältnis von 1,1 bis 1,3 bei 00-Raps (vgl. Kapitel 1.2) [Malabat et al. 2003].

Durch eine pH-Regulierung der Raps suspension auf pH 8,0 mit anschließender Homogenisation verändert sich das Verhältnis von Cruziferin zu Napin auf durchschnittlich 3,0 (Versuche 4 und 5). Allerdings sind bei gleichen 12 S/ 2S - Verhältnissen und gleichen Löslichkeitsanteilen der Proteine nicht die gleichen

Ergebnisse bei den adsorptiven Eigenschaften ermittelt worden. Ein Grund hierfür könnten die unterschiedlichen Bindungen zwischen den neu gebildeten großen Proteinmolekülen sein. Bei 50 °C bilden sich neue Verbindungen zwischen Aminosäure-Seitenketten, welche durch die Auffaltung der Proteinketten freigelegt werden. Es werden vorwiegend hydrophobe intermolekulare Bindungen gebildet [Belitz et al. 1992]. Diese können durch die anschließende Homogenisation nicht mehr aufgebrochen werden. Möglicherweise werden diese Proteinketten durch die Homogenisation gestreckt und es entstehen entfaltete, lösliche Proteinketten. Bei aufgefalteten, löslichen Proteinketten kann die Flüssigkeit nur von einer Seite fixiert werden. Die adsorptiven Eigenschaften sind verringert. Ohne vorherige Wärmebehandlung werden erst durch die Homogenisation reaktionsfähige Seitenketten freigelegt. Hierdurch ergeben sich bessere Möglichkeiten zur Adsorption von Wasser oder Fett an der Moleküloberfläche. Wasser oder Fett können in das globuläre Protein eindringen und werden von mehreren Seitenketten der Makromoleküle über hydrophobe oder hydrophile Wechselwirkungen fixiert.

Die emulgierenden Eigenschaften der homogenisierten Produkte stiegen aufgrund erhöhter Anteile an großen Proteinmolekülen (12 S) bei gleichen Proteinlöslichkeiten mit 54 % bis 58 % gegenüber einem unbehandelten RPC an. Dieser Effekt wurde schon bei den pH-Versuchen (Kapitel 4.2.2) diskutiert und durch Untersuchungen von Schwenke und Wäsche bestätigt [Schwenke et al. 1989, Wäsche 2001]. Wird die Proteinlöslichkeit der homogenisierten RPCs allerdings durch Wärmebehandlung reduziert, oder das 12 S/ 2 S-Verhältnis erhöht, ergeben sich schlechtere emulgierende Eigenschaften (vgl. Kapitel 4.1.7).

4.2.5 Einfluss chemischer und physikalischer Verfahren auf die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten aus blanchiertem, entöltem Rapsmehl (var. Express)

Die Versuche zur wässrig-alkoholischen Entölung von vollfettem Raps zeigten, dass die Masse des separierten Öles durch eine Blanchierung um ca. 50 % gesteigert werden kann. Durch die Blanchierung wird die Löslichkeit der Proteine reduziert. Um zu prüfen, inwieweit die funktionellen Eigenschaften möglicher Proteinprodukte aus blanchierten Rohstoffen verändert werden können, wurden entsprechend zu den Versuchen mit unblanchierten, entölte Rapsmehlen Versuche mit blanchierten, entölte Rapsmehlen durchgeführt (Tabelle 4-14). Im Gegensatz zu den blanchierten Rapsmehlen, welche für die Versuche der wässrig-alkoholischen Entölung im Labormaßstab hergestellt wurden, wurden die blanchierten und Hexan entölte Mehle im halbtechnischen Maßstab bei einem Projektpartner (Cereol, Frankreich) hergestellt. Hierdurch ergab sich für die im Labormaßstab hergestellten Mehle eine Proteinlöslichkeit von 26 %, während sich für die im halbtechnischen Maßstab hergestellten Mehle eine Proteinlöslichkeit von 50 % ergab. Die Proteinlöslichkeit der blanchierten, entölte Mehle wurde durch die wässrig-alkoholische Extraktion bei Raumtemperatur auf 47 % reduziert.

Tabelle 4-14: Einfluss von pH-Wert, Temperatur und HDH-Behandlung bei einer wässrigen Nachbehandlung auf die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs aus blanchiertem, entöltem Raps (var. Express)

Versuchsnr.		1 ⁴⁾	2	3	4	5
Extraktionstemp.	[°C]	RT	RT	RT	50	50
pH-Wert		6,1	6,1	8,0	6,1	8,0
Temperatur	[°C]	RT	RT	RT	RT	RT
Druck	[bar]	-	-	180	-	180
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	54	47	46	18	25
12 S/ 2S Verhältnis ²⁾	[-]	1,3	1,5	1,2	0,1	0,2
WBC	[ml/g]	4,7	4,6	3,6	5,5	4,5
FBC	[ml/g]	2,1	2,2	1,7	2,1	1,9
EC ³⁾	[ml/g]	243	213	303	195	219
ES (80°C)	[%]	84	78	94	61	77

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5, t=15min

1) Bei pH 7,0

2) Ermittelt aus löslichem Proteinanteil bei pH 7,0

3) Bei pH 5,0

Durch eine anschließende Homogenisation bei pH 8,0 konnte die Proteinlöslichkeit nicht gesteigert werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den oben gezeigten Ergebnissen aus unblanchiertem Rapsmehl überein. Da bei Soja aus Proteinprodukten mit geringer Proteinlöslichkeit durch Homogenisation Proteinprodukte mit erhöhten Proteinlöslichkeiten hergestellt werden können [Howard 1980, Cabral et al. 1997], war zu untersuchen, ob stärker denaturierte Rapsproteinprodukte durch Homogenisation in ihrer Löslichkeit verbessert werden könnten.

Bei der simultanen Extraktion von Öl- und Proteinprodukt aus vollfettem Rapsmehl wurde der höchste separierte Ölanteil aus blanchiertem Mehl bei einer Extraktionstemperatur von 50 °C erreicht (vgl. Abbildung 4-6). Aus diesem Grunde wurde die Extraktionstemperatur auf 50 °C erhöht. Der Vergleich dieses Versuchs mit einem Versuch, bei dem anschließend bei pH 8,0 homogenisiert wurde, zeigte, dass die Proteinlöslichkeit bei stark denaturierten Rapsproteinprodukten durch die Nachbehandlung von 18 % auf 25 % gesteigert werden kann. Trotz der verbesserten Proteinlöslichkeit konnten die emulgierenden Eigenschaften nur in geringem Maße verbessert werden.

Die geringeren adsorbierenden Eigenschaften der homogenisierten RPCs gegenüber den nicht homogenisierten RPCs bestätigen die Versuchsergebnisse aus Kapitel 4.2.4 mit wärmebehandelten und homogenisierten RPCs. Offensichtlich wirkt sich eine Blanchierung ähnlich wie eine vorherige Wärmebehandlung bei 50 °C aus. Durch die Blanchierung oder Wärmebehandlung wurde die Proteinlöslichkeit reduziert. Die Proteinmoleküle werden aufgefaltet und es bilden sich neue, vorwiegend hydrophobe intermolekulare Bindungen aus [Belitz et al. 1992]. Die Einlagerung von Wasser in diese Struktur wird durch Wechselwirkungen von allen Seiten stabilisiert. Durch die Homogenisation wird ein Teil dieser Proteine gestreckt und es entstehen entfaltete, teilweise lösliche Proteinketten. Dies wird durch die gesteigerte Proteinlöslichkeit von 18 % auf 25 % bestätigt (vgl. Versuch 4 und Versuch 5). Durch die Streckung bzw. Auffaltung der dreidimensionalen Struktur kann die Flüssigkeit (Wasser) nicht mehr von allen Seiten über Wechselwirkungen vom Protein fixiert werden. Die WBC sinkt.

Bei dem bei Raumtemperatur extrahierten und bei pH 8,0 homogenisierten RPC konnten die emulgierenden Eigenschaften deutlich verbessert werden. Allerdings ist die ermittelte Emulgierkapazität mit 303 ml/g noch 80 ml/g geringer als die EC eines unblanchierten RPCs, welches unter gleichen Bedingungen hergestellt wurde. Dieses Ergebnis kann auf das unveränderte 12 S/ 2 S -Verhältnis von 1,2 des blanchierten RPCs im Gegensatz zu einem deutlich veränderten Verhältnis von 3,0 bei einem unblanchierten RPC, zurückgeführt werden. Offensichtlich sind

die Proteine, welche durch die Homogenisation aufgefaltet werden, durch die vorherige Blanchierung in ihrer Struktur verändert bzw. denaturiert, so dass keine neuen Bindungen zwischen Napin und Cruziferin oder Napin und Napin durch Homogenisation ausgebildet werden können. Da die EC aufgrund der Homogenisation deutlich gegenüber der nicht homogenisierten RPC angestiegen ist, kann vermutet werden, dass durch die Auffaltung und Streckung der Proteine während der Homogenisation die Ausrichtung und Stabilisierung der Grenzflächenphasen auch begünstigt wird, ohne dass sich neue Bindungen zwischen den Proteinen ausbilden. Durch eine Homogenisation bei pH 8,0 und Raumtemperatur konnten wie bei Einsatz von unblanchiertem Rapsmehl die emulgierenden Eigenschaften am stärksten erhöht werden.

4.2.6 Funktionelle Eigenschaften von Proteinprodukten aus entölten Mehlen anderer Rapssorten

Bei den auf pH 8,0 eingestellten und anschließend bei 180 bar für 3,5 HDH-Passagen (5 Minuten) homogenisierten Produkten konnten hinsichtlich der emulgierenden Eigenschaften deutliche Verbesserungen gegenüber unbehandelten wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs ermittelt werden. Mit dieser Parameterkonfiguration wurden in dieser Versuchsreihe RPCs aus anderen Raps-Rohstoffen hergestellt. Ziel dieser Versuche war es zu prüfen, ob die Rapsorte einen Einfluss auf die funktionellen Eigenschaften hat. Bei den ausgewählten Rapsmehlen für diese Versuche handelte es sich um geschälte, (blanchierte) Hexan entölte 00-Rapsmehle der Sorten Express, Agat und Pollen. Weiterhin wurde eine Zuchtlinie der Universität Gießen mit der Nr. NAP 3500 eingesetzt. Das Verhältnis von Cruziferin zu Napin im löslichen Proteinanteil betrug bei den Sorten Express und Agat und der Zuchtlinie NAP 3500 im unblanchierten und blanchierten Mehl 0,9 bis 1,2. Damit ist der lösliche Anteil an Cruziferin im Vergleich mit dem natürlichen Verhältnis der Speicherproteine von 1,1 bis 1,3 bei 00-Raps [Malabat et al. 2003] unerheblich geringer (Abbildung 4-10). In der Sorte Pollen hingegen war das Verhältnis im löslichen Proteinanteil auf 0,7 reduziert. In den vorangegangenen Versuchen hatte sich herausgestellt, dass mit einem reduzierten Anteil an Cruziferin im löslichen Proteinanteil die emulgierenden Eigenschaften verringert wurden. Daher wurde beim Rohstoff Pollen eine verminderte emulgierende Wirkung der RPCs erwartet.

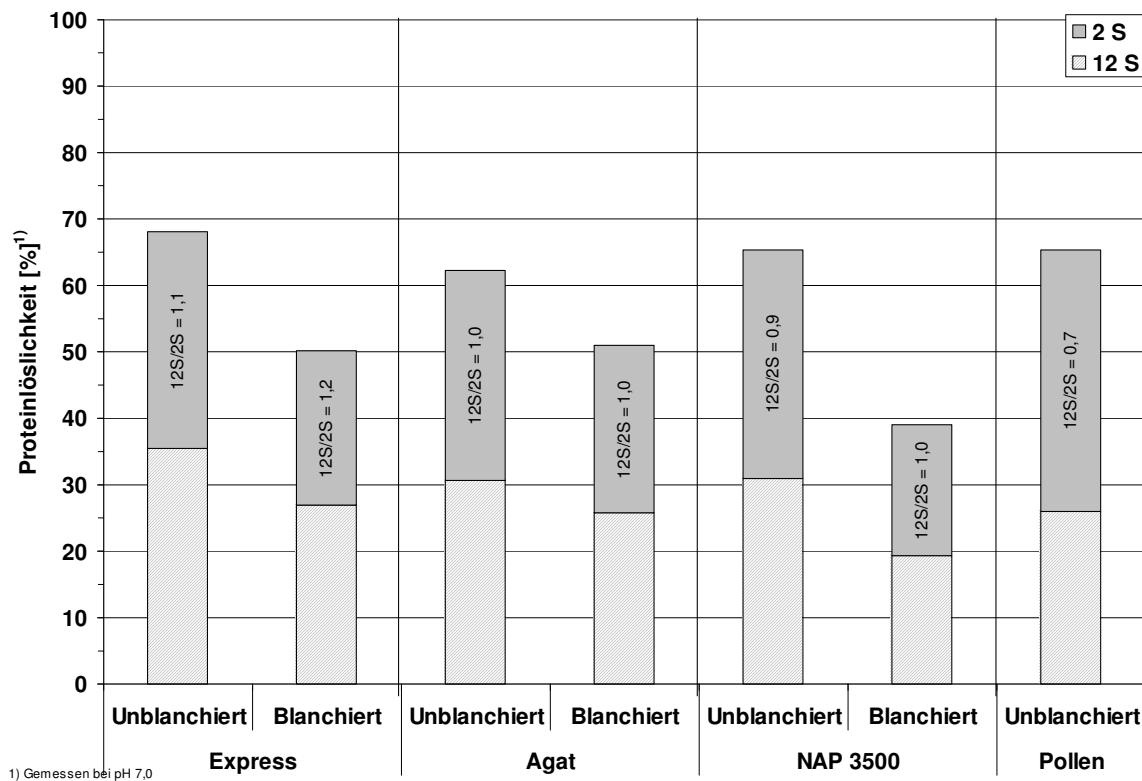


Abbildung 4-10: Proteinlöslichkeit und Verteilung der Hauptproteinfraktionen in der löslichen Proteinfraction der eingesetzten Hexan entölten Mehle geschälter Rapssorten.

Die Proteinlöslichkeiten der unblanchierten Rohstoffe Express, Agat, Pollen und der Zuchtlinie NAP 3500 lagen durchschnittlich bei 65 %. Durch die alkoholische Extraktion mit anschließender Homogenisation bei pH 8,0 verringerte sich die Proteinlöslichkeit auf 54 %, 53 %, 49 % und 48 % (Tabelle 4-15). Die Proteinlöslichkeit der RPCs wurde unter Verwendung der Rohstoffe Express und Agat um ca. 10 % vermindert. Wurden die Zuchtlinie NAP 3500 oder die Sorte Pollen eingesetzt, verringerte sich die Proteinlöslichkeit um 15 %.

Das 12 S/ 2 S-Verhältnis variierte in den hergestellten RPCs. Bei Express änderte sich das 12 S/ 2 S-Verhältnis von 1,1 im Rohstoff auf 3,0. Bei den RPCs der anderen Sorten veränderte sich das 12 S/ 2 S-Verhältnis nur um 0,1 bis 0,2 Punkte.

Die adsorbierenden Eigenschaften (WBC, FBC) der RPCs aus (un)blanchierten Mehlen der Sorte Agat sowie der Zuchtlinie NAP 3500 stimmten mit den Ergebnissen des unblanchierten Mehles der Sorte Express gut überein. Bei der Sorte Pollen stiegen die ermittelten Werte erwartungsgemäß für die WBC auf 4,7 ml/g und für die FBC auf 2,2 ml/g an. Ursache für diese höheren Werte ist die mit 48 % geringere Proteinlöslichkeit sowie das geringe 12 S/ 2 S-Verhältnis gegenüber den anderen RPCs. Denaturierte Proteine haben ein besseres

Wasserbindevermögen als lösliche Proteine [Westphal 2003] und größere Proteine (12 S) können besser das Wasser in den Zwischenräumen der Proteinketten über Wasserstoffbrückenbindungen fixieren als kleine 2 S-Proteinketten.

Tabelle 4-15: Einfluss der Rapssorte des eingesetzten Mehles (geschält, Hexan entölt) auf die funktionellen Eigenschaften der wässrig-alkoholisch hergestellten RPCs

		RPC aus Rohstoff						
		Express ⁴⁾	Express ⁵⁾	Agat ⁴⁾	Agat ⁵⁾	NAP 3500 ⁴⁾	NAP 3500 ⁵⁾	
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	58	45	53	49	49	29	48
12 S/ 2S Verhältnis ²⁾		3,0	1,2	1,2	1,1	1,0	1,1	0,6
Partikelgröße	[µm]	14	14	15	12	13	17	19
WBC	[ml/g]	3,9	3,4	3,9	3,8	4,0	3,9	4,7
FBC	[ml/g]	2,0	1,7	1,8	1,7	1,9	1,7	2,2
EC ³⁾	[ml/g]	383	303	283	277	278	225	254
ES (80 °C)	[%]	97	94	88	91	96	89	92

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5; t=15min

1) Bei pH 7,0

2) Ermittelt aus löslichem Proteinanteil bei pH 7,0

3) Bei pH 5,0

4) Geschältes, unblanchiertes, hexanentöltes Rapsmehl

5) Geschältes, blanchiertes, Hexanentöltes Rapsmehl

Bei der Sorte Express wurde festgestellt, dass mit abnehmender Proteinlöslichkeit sowie geringeren 12 S/ 2 S-Verhältnissen die Emulgierkapazität abnahm (vgl Kapitel 4.2.2). Da sich das 12 S/ 2 S-Verhältnis der RPCs sowohl aus den unblanchierten als auch aus den blanchierten Mehlen der Sorten Agat und Pollen sowie der Zuchtlinie NAP 3500 durch die Versuchseinstellungen nicht in dem Maße verändern ließ wie beim unblanchierten Mehl der Sorte Express, konnte davon ausgegangen werden, dass die Emulgierkapazitäten dieser RPCs niedriger sind. Bei der Sorte Pollen und der Zuchtlinie NAP 3500 konnte zusätzlich aufgrund der geringeren Proteinlöslichkeit eine geringere Emulgierkapazität erwartet werden. Dies bestätigte sich mit den ermittelten Emulgierkapazitäten von maximal 278 ml/g der RPCs (unblanchiert/blanchiert) gegenüber 383 ml/g bei dem RPC aus unblanchiertem Mehl der Sorte Express.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass ein hinsichtlich der funktionellen Eigenschaften auf die Applikation abgestimmtes RPC nur auf Basis der ermittelten Abhängigkeiten der jeweiligen Sorte erfolgen kann. Grundsätzlich können die mit Raps var. Express gezeigten Abhängigkeiten der funktionellen Eigenschaften von der Proteinlöslichkeit und dem 12 S/ 2 S -Verhältnis auch auf

die anderen hier dargestellten Sorten übertragen werden, allerdings können die Versuchseinstellungen für ein optimiertes RPC aus Raps var. Express nicht auf andere Sorten übertragen werden. Eine mögliche Ursache für dieses Ergebnis kann die sortenabhängige, veränderte Zusammensetzung der Saatinhaltsstoffe sein. Wie in Kapitel 4.1 bei den Versuchen zur Entölung schon aufgezeigt, werden die Wechselwirkungen zwischen Öl und Proteinen durch andere Inhaltsstoffe (Phytinsäure, Fasern,...) stark beeinflusst.

4.3 Herstellung von Proteinprodukten durch wässrig-alkoholische Extraktion von Rapsmehl (Versuche im halbtechnischen Maßstab)

Auf der Grundlage der in den Kapiteln 6.1 und 6.2 durchgeführten Untersuchungen wurden Entölungsversuche in Hinblick auf die Bewertung des Extraktionsrückstandes als Proteinprodukt (RPP) durchgeführt. Hierfür wurde in einem ersten Schritt untersucht, welchen Einfluss Maßnahmen zur Reduzierung qualitätsmindernder Bestandteile auf die Proteinprodukte haben, beziehungsweise ob durch die Verfahrensführung qualitätsmindernde Bestandteile reduziert werden.

Die bisher durchgeführten Versuche wurden in Hinblick auf die maximale Ölseparation durchgeführt. Ziel weiterer Versuche war es, auf Grundlage dieser Versuchsergebnisse das Verfahren aus dem Labormaßstab in den halbtechnischen Maßstab zu übertragen. Darüber hinaus wurden von den erhaltenen Proteinprodukten die funktionellen Eigenschaften analysiert und bewertet.

4.3.1 Qualitätsmindernde Bestandteile

Um die Extraktionsrückstände eines wässrig-alkoholischen Verfahrens als Proteinprodukt für Lebensmittel einsetzen zu können, muss die Qualität einwandfrei sein. Qualitätsmindernde Bestandteile wie Schalen (Fasern), phenolische Substanzen und Glucosinolate (GSL) müssen im Zuge des Verfahrens entfernt werden.

Die Schalen wurden durch bekannte Verfahren [Schneider 1978, Baudel 1980] vor der Extraktion entfernt. Hierbei wurde bewusst auf ein industriell übliches Verfahren zurückgegriffen und dieses auf den halbtechnischen Maßstab übertragen um ein späteres Up-scaling zu erleichtern. Die hier durchgeführte Schälung wurde durch Aufbrechen der Rapskörner mittels einer Prallmühle sowie anschließende Sichtung der Schalen im Luftstrom realisiert.

Durch das Aufbrechen der Rapskörner wird die Zellstruktur teilweise zerstört und die Glucosinolate für die Myrosinase zugänglich. Um eine Hydrolyse der Glucosinolate während der Extraktion zu vermeiden, musste das saateigene Enzym Myrosinase inaktiviert werden. Mit alkoholischen Lösungsmitteln können Enzyme inaktiviert werden. Ob die Alkoholkonzentration des Alkohol-Wasser-Gemisches in dem hier untersuchten Verfahren ausreicht die Myrosinase zu inaktivieren, wurde noch nicht untersucht. Deshalb wurde die Restaktivität der Myrosinase im Extraktionsrückstand eines wässrig-alkoholisch behandelten Rapsmehles bestimmt (Abbildung 4-11). Eine signifikante Inaktivierung der

Myrosinase durch wässrigen Alkohol konnte nicht erreicht werden. Die Myrosinase-Restaktivität im teilentölten Extraktionsrückstand lag über 50 %. Daher mussten die eingesetzten Rapsmehle unmittelbar nach der Schälung für eine signifikante Reduktion der Myrosinaseaktivität blanchiert werden. Eine Denaturierung der Speicherproteine sollte durch die Blanchierung vermieden werden. Im Labormaßstab wurden von Wäsche [Wäsche 2001] Untersuchungen zur Kinetik der Myrosinaseinaktivierung und der Speicherproteindenaturierung mittels einer Blanchierung von Rapsmehlen durchgeführt. Für die Herstellung größerer Mengen an blanchiertem Rapsmehl von gleicher Qualität war es von Vorteil, geschälten Rapsbruch an Stelle von Rapsmehl zu blanchieren. Eine Blanchierung geschälter Rapskörner ist großtechnisch bisher noch nicht umgesetzt bzw. optimiert. Unter Verwendung gebrochenen Rapsbruches mussten die Bedingungen zur Inaktivierung der Myrosinase aufgrund der deutlich größeren Partikelgrößen des Rapsbruches angepasst werden. In den hier dargestellten Versuchen wurde der Schälbruch mit Wasserdampf für zwei und drei Minuten blanchiert (vgl. Kapitel 3.1.1). Nach einer Rücktrocknung des feuchten Bruches auf ca. 5 % Restwassergehalt wurde der Bruch, wie schon oben beschrieben, vermahlen und die Restaktivität der Myrosinase sowie die Proteinlöslichkeit bestimmt.

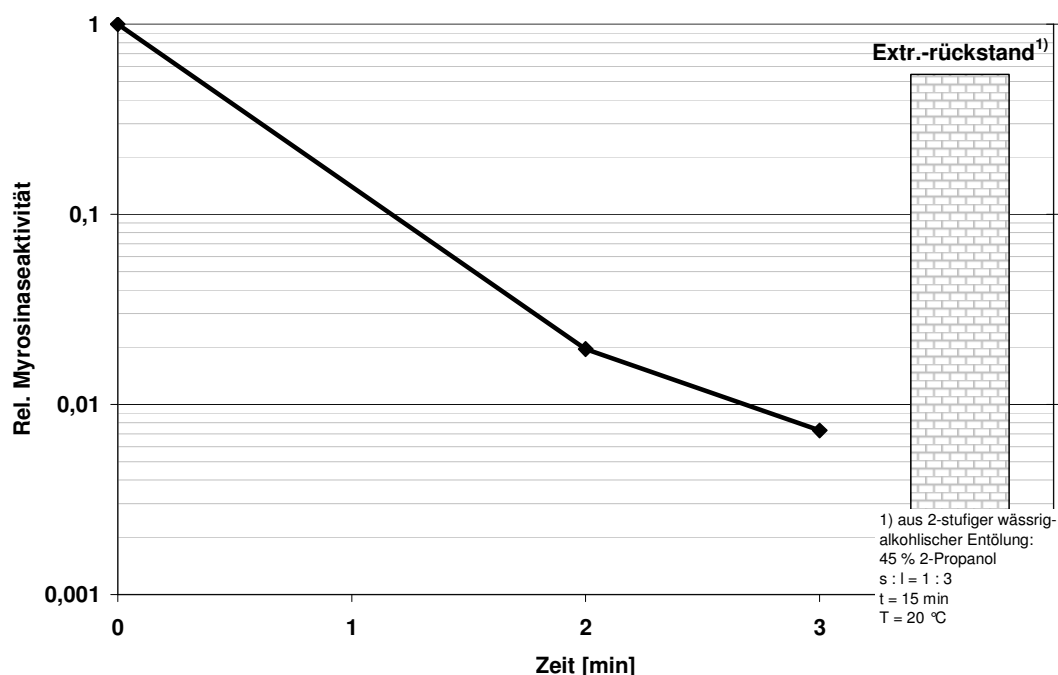


Abbildung 4-11: Restaktivität der Myrosinase in geschältem, trocken vermahlenem Rapsmehl nach unterschiedlichen Blanchierzeiten mit Wasserdampf und im Extraktionsrückstand.

Im geschälten Rapsbruch wurde die Restaktivität der Myrosinase durch Blanchierung mit Wasserdampf während zwei Minuten auf 0,02 % reduziert. Durch eine Verlängerung der Blanchierzeit auf 3 Minuten wurde die Myrosinase zu 99,9 % inaktiviert (Abbildung 4-11). Die Proteindenaturierung nahm mit steigender Inaktivierung zu. Während durch die alkoholische Behandlung die Proteinlöslichkeit von 68 % im unblanchierten Schrot auf 47 % abnahm, wurde sie durch eine Blanchierung von 2 Minuten auf 26 % reduziert. Für die 3 Minuten blanchierten Rapsmehle konnte die Proteinlöslichkeit nicht mehr bestimmt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem hier angewandten Verfahren die Myrosinaseaktivität zwar reduziert werden konnte, allerdings konnte eine Denaturierung der Speicherproteine nicht vermieden werden. Hinsichtlich der Gewinnung von Proteinprodukten aus blanchierten Raps-Rohstoffen konnte schon in Kapitel 4.2.5 gezeigt werden, dass diese Proteinprodukte aufgrund der verfahrensbedingten verminderten Proteinlöslichkeit in ihren funktionellen Eigenschaften eingeschränkt sind. Für die Gewinnung ernährungsphysiologisch hochwertiger Proteinprodukte aus Raps ist eine Blanchierung zur Inaktivierung der Myrosinase jedoch unbedingt erforderlich (vgl. Kapitel 2.2.1). Um das Enzym in ausreichendem Maße zu inaktivieren und eine Basisfunktionalität des Extraktionsrückstandes als Proteinprodukt zu sichern, wurde eine Blanchierzeit von 2 Minuten festgelegt.

Während der Extraktion mussten die intakten Glucosinolate, die phenolischen Substanzen und die Zucker mit dem wässrig-alkoholischen Extraktionsmittel aus dem Rapsmehl entfernt werden. Hierdurch wurden die ernährungsphysiologischen und sensorischen Eigenschaften des Extraktionsrückstandes verbessert. In Tabelle 4-16 sind die Gehalte dieser Inhaltsstoffe im Rohstoff und in den hergestellten Proteinprodukten vergleichend gegenübergestellt.

Tabelle 4-16: Gehalte verschiedener Inhaltsstoffe im eingesetzten Rapsmehl (var. Express) und den mit wässrig-alkoholischer Extraktion hergestellten Proteinprodukten

Produkt	Glucosinolate [μmol/g]	Phenolische Substanzen [μmol/g]	Zucker / Oligosaccharide ³⁾ [μmol/g]
vollfettes Mehl	14,3	32	117
entöltes, geschältes Mehl	26,7	53,1	-
RPC ¹⁾	<0,3	13,0	38
RPP ²⁾	8,0	18,0	45

1) Hergestellt aus Hexanentöltem, blanchiertem Mehl (3x Extraktion)

2) Hergestellt aus vollfetttem, blanchiertem Mehl (2x Extraktion)

3) Saccharose, Raffinose, Stachyose

Die wässrig-alkoholische Extraktion von entöltem, blanchiertem Rapsmehl reduzierte den Glucosinolatgehalt im RPC auf Werte kleiner $0,3 \mu\text{mol/g}$. Aufgrund der deutlich reduzierten Gehalte an Glucosinolaten ist der Einsatz von RPCs als Zutat in Lebensmitteln aus ernährungsphysiologischer Sicht möglich, da Proteinprodukte als Zutat nur in geringen Konzentrationen zur Veränderung der funktionellen Eigenschaften eingesetzt werden.

Die phenolischen Substanzen wurden auf einen Gehalt von $13 \mu\text{mol/g}$, die Zucker und Oligosaccharide auf einen Gehalt von $38 \mu\text{mol/g}$ reduziert. Die signifikante Reduzierung von Glucosinolaten und phenolischen Substanzen durch wässrig-alkoholische Extraktionsmittel wurde schon von Naczki et al. [Naczki et al. 1986] beschrieben. Die Ergebnisse von Naczki bestätigen die hier durchgeführten Untersuchungen.

Die Gehalte an Glucosinolaten und phenolischen Substanzen in einem Proteinprodukt (RPP), welches aus vollfetttem Rapsmehl erhalten wurde, sind mit $8 \mu\text{mol/g}$ sowie $18 \mu\text{mol/g}$ höher als die Gehalte des Proteinproduktes aus entöltem Rapsmehl. Diese Ergebnisse können auf die verschiedenen Extraktionsstufen zurückgeführt werden. Bei den Versuchen zur Entfettung vollfetter Rapsmehle wurde auf eine dritte Extraktionsstufe verzichtet, da bereits in der zweiten Extraktionsstufe nur geringe Mengen an Öl separiert wurden. Die in Tabelle 4-16 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass durch eine dreistufige Extraktion die unerwünschten Begleitsubstanzen deutlich reduziert werden konnten. Aufgrund der reduzierten Gehalte an phenolischen Substanzen konnten Farbreaktionen mit Proteinen vermindert werden. Die hergestellten Mehle sind hellgrau mit kleinen, schwarzen Schalenstückchen. Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die in wässrig-alkoholischen Verfahren hergestellten Proteinprodukte als Zutat in Lebensmitteln eingesetzt werden können.

4.3.2 Entölungsversuche im halbtechnischen Maßstab

Für die Übertragung der Versuchsergebnisse der wässrig-alkoholischen Entölungsversuche im Labormaßstab in den halbtechnischen Maßstab wurde der Verfahrensablauf in die folgenden Teilschritte gegliedert: Zellaufschluss, Extraktion, Separation und Trocknung. Ziel der Versuche war es, das im Labormaßstab entwickelte Verfahren im halbtechnischen Maßstab mit industriell üblichen Geräten zu realisieren.

Im Labormaßstab wurde für einen möglichst vollständigen Zellaufschluss des Rapsmehles ein Ultra-Turrax eingesetzt. Das Zerkleinerungsprinzip eines Ultra-Turrax und einer Zahnkolloidmühle sind ähnlich. Daher wurde der vollständige

Zellaufschluss für die Versuche im halbtechnischen Maßstab mit einer Zahnkolloidmühle durchgeführt. In Vorversuchen stellte sich heraus, dass sich nach 10 Passagen der Suspension durch die Mühle ein 98 %iger und damit identischer Zellaufschluss wie in den Labor-Versuchen ergab. Entsprechend der Laborversuche wurde ein s:l-Verhältnis von 1:3 eingestellt. Der 2-Propanolanteil im Extraktionsmittel betrug 45 Gew.%.

Während im Labormaßstab die Suspension nach 15 Minuten Extraktionszeit bei 50 °C anschließend als Batch zentrifugiert wurde, wurde für die Übertragung der Trenntechnik in den halbtechnischen Maßstab eine kontinuierliche Zentrifuge, ein Dekanter (MZD 003 Lemitec), ausgewählt. Um vergleichbare Extraktionsbedingungen einzustellen, wurde die Suspension durch eine Heizschlange in einen auf 50 °C temperierten doppelwandigen 2 l Glasreaktor gepumpt. Die Zuführung der Suspension in den Glasreaktor und die Zuführung in den Minidekanter wurden so eingestellt, dass sich für die Suspension eine Extraktionszeit von 15 Minuten ergab. Der sich natürlich einstellende pH-Wert von ca. 6,1 wurde nicht verändert.

Die Trennbedingungen im Dekanter wurden so eingestellt, dass der Oberlauf (Extraktphase und Ölphase) maximal 5 % unlösliche Feststoffe (Extraktionsrückstand) enthielt. Hierfür hatte sich in Vorversuchen herausgestellt, dass eine hohe Drehzahl der Trommel (10945 min^{-1} , Differenzdrehzahl 22 min^{-1}) bei gleichzeitig kleinem Massestrom (9 l/h) sowie die Verwendung eines Überlaufwehrs mit kleinem Innendurchmesser (36 mm) das Sediment im Oberlauf sogar auf ca. 2 % reduziert. Entsprechend der Zielsetzung dieser Arbeit wurde nur der Extraktionsrückstand weiter verarbeitet.

Aufgrund der anfallenden Massen der zu trocknenden Proteinprodukte bei diesen Versuchen im halbtechnischen Maßstab wurde die bisherige Gefriertrocknung durch eine industriell übliche Sprühtrocknung ersetzt. Der Extraktionsrückstand wurde auf ca. 10 % Trockensubstanzgehalt mit demineralisiertem Wasser verdünnt und sprühgetrocknet.

Der getrocknete Extraktionsrückstand wurde hinsichtlich Trockensubstanz-, Protein- und Fettgehalt untersucht. Es zeigte sich, dass der Einsatz der halbtechnischen Geräte zu gleichen Ergebnissen führte wie im Labormaßstab. Der Ölgehalt konnte im Extraktionsrückstand nach zwei Extraktionsstufen auf 19 % reduziert werden. Der Proteingehalt erhöhte sich von 21,5 % im eingesetzten Rapsmehl auf 49 % im Extraktionsrückstand, so dass dieser als Rapsproteinmehl eingestuft werden konnte. Die funktionellen Eigenschaften dieses Proteinmehles,

im Folgenden als RPP bezeichnet, wurden ermittelt und mit den funktionellen Eigenschaften verschiedener RPCs verglichen (Tabelle 4-17).

Tabelle 4-17: Vergleich der funktionellen Eigenschaften des im halbtechnischen Maßstab hergestellten RPP mit verschiedenen RPCs

Proteinprodukt		RPC			RPP
Vorbehandlung		Unblanchiert		Blanchiert	Blanchiert
Extraktionstemp.	[°C]	RT	50	50	50
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	54	25	18	17
WBC	[ml/g]	4,7	6,4	5,5	3,2
FBC	[ml/g]	2,1	2,3	2,1	1,3
EC ²⁾	[ml/g]	243	176	195	135
ES (80°C)	[%]	84	22	61	32

RPC-Herstellung: 3x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:5, t=15 min

RPP-Herstellung: 2x Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch, s:l=1:3, t=15min

1) Bei pH 7,0

2) Bei pH 5,0

Aus den Ergebnissen in Tabelle 4-17 ist ersichtlich, dass das RPP bei allen ermittelten funktionellen Eigenschaften am schlechtesten abschneidet. Aufgrund dieser Ergebnisse kann festgestellt werden, dass trotz gleicher Versuchsbedingungen von entöltem, blanchiertem und vollfettem, blanchiertem Rapsmehl der Restfettgehalt sowie der Proteingehalt im Proteinprodukt einen entscheidenden Einfluss auf die funktionellen Eigenschaften haben. Aufgrund des mit 20 % sehr hohen Restfettgehaltes im RPP ergibt sich ein um ca. 10 % geringerer Proteingehalt gegenüber den RPCs.

Die Übertragung des Laborverfahrens in den halbtechnischen Maßstab konnte erfolgreich umgesetzt werden. Allerdings konnte der mit 20 % sehr hohe Restfettgehalt im Extraktionsrückstand auch mit den Geräten im halbtechnischen Maßstab nicht weiter reduziert werden. Die funktionellen Eigenschaften des hergestellten Proteinproduktes sind im Vergleich mit den hergestellten RPCs stark eingeschränkt. Ziel weiterer Versuche war es daher zu untersuchen, ob eine Nachbehandlung, welche bei den RPCs zu verbesserten modifizierten funktionellen Eigenschaften führte, auch bei den Proteinprodukten der wässrig-alkoholischen Entölung eine Verbesserung der funktionellen Eigenschaften erreicht werden kann.

4.3.3 Bewertung von funktionellen Eigenschaften von modifizierten RPPs

Auf der Grundlage der Ergebnisse zur Modifizierung der funktionellen Eigenschaften von Rapsproteinprodukten (vgl. Kapitel 4.2) wurden die wässrig-alkoholisch entölten Proteinprodukte nachbehandelt. Darüber hinaus wurden in weiteren Versuchen die bisherigen Ergebnisse auf andere Rapssorten über-

tragen. Ziel dieser Versuche war es zum einen zu untersuchen, ob durch eine Nachbehandlung der wässrig-alkoholisch entölten Proteinprodukte die funktionellen Eigenschaften modifiziert werden können und zum anderen, ob sich die Versuchsergebnisse hinsichtlich Entölungsgrad sowie funktioneller Eigenschaften auf andere Rapsorten übertragen lassen.

Die Zusammensetzung des Extraktionsrückstandes war bei den up-scale-Versuchen in den halbtechnischen Maßstab identisch mit den Ergebnissen im Laborverfahren. Um in den weiteren Versuchen eine vollständige Bilanzierung hinsichtlich aller Fraktionen durchzuführen, wurde die Trennung in die Fraktionen mit einer Becherzentrifuge statt mit einem Dekanter durchgeführt. Entsprechend des Versuchs im halbtechnischen Maßstab wurde das Rapsmehl mit 45 Gew.% 2-Propanol in einem s:l-Verhältnis von 1:3 gemischt und anschließend in einer Kolloidmühle vermahlen.

Um eine direkte Vergleichbarkeit der funktionellen Eigenschaften dieser Proteinprodukte mit den Proteinprodukten aus Hexan entölten Rapsmehlen zu gewährleisten, wurde in den folgenden Versuchen eine dreistufige Extraktion durchgeführt. Die Extraktionen wurden entsprechend der Ergebnisse zur Entölung aus Kapitel 4.1 bei 50 °C durchgeführt.

Für die Nachbehandlung des Extraktionsrückstandes wurde auf Grundlage der Ergebnisse aus Kapitel 4.2 folgende Versuchseinstellungen vorgenommen: Verdünnung des Extraktionsrückstandes mit demineralisiertem Wasser auf 10 % Trockensubstanz, keine pH-Einstellung und keine Temperaturbehandlung, 3,5 HDH-Passagen bei 180 bar. Im Anschluss wurden die Proben sprühgetrocknet. In Abbildung 4-12 sind die separierten Ölanteile, die Proteinausbeute sowie der Protein- und Fettgehalt des Extraktionsrückstandes dargestellt, die bei Versuchen mit geschälten und blanchierten Rapsmehlen verschiedener Sorten erzielt wurden.

Aus Abbildung 4-12 geht hervor, dass der separierte Ölanteil von 78 % bei dem Versuch mit Rapsmehl der Sorte Express bei den Versuchen mit Rapsmehlen anderer Sorten nicht erreicht werden konnte. Bei den anderen untersuchten Sorten wurden nur 77 % (Licapo) bzw. 73 % (Lion, Lisek) Öl separiert. Diese geringe Differenz des separierten Ölanteils kann auf unterschiedliche Gehalte an Protein, Phospholipiden, Phytinsäure, Fasern und anderen Inhaltsstoffen zurückgeführt werden. Hierdurch werden in Abhängigkeit der eingesetzten Rapsorte bzw. dessen Zusammensetzung unterschiedliche Anteile freien Öles im Extraktionsrückstand gebunden (vgl. Kapitel 4.1.6).

Darüber hinaus konnte mit den Versuchen aus entöhlten Rapsmehlen verschiedener Sorten gezeigt werden, dass die aufgezeigten Abhängigkeiten für eine gezielte Verfahrensoptimierung zwar auch auf andere Sorten übertragen werden können, die optimierten Bedingungen aber unter anderem von der Zusammensetzung der Inhaltsstoffe abhängen (vgl. Kapitel 4.2.6). Anhand der Ergebnisse dieser Versuchsreihe kann diese These bestätigt werden.

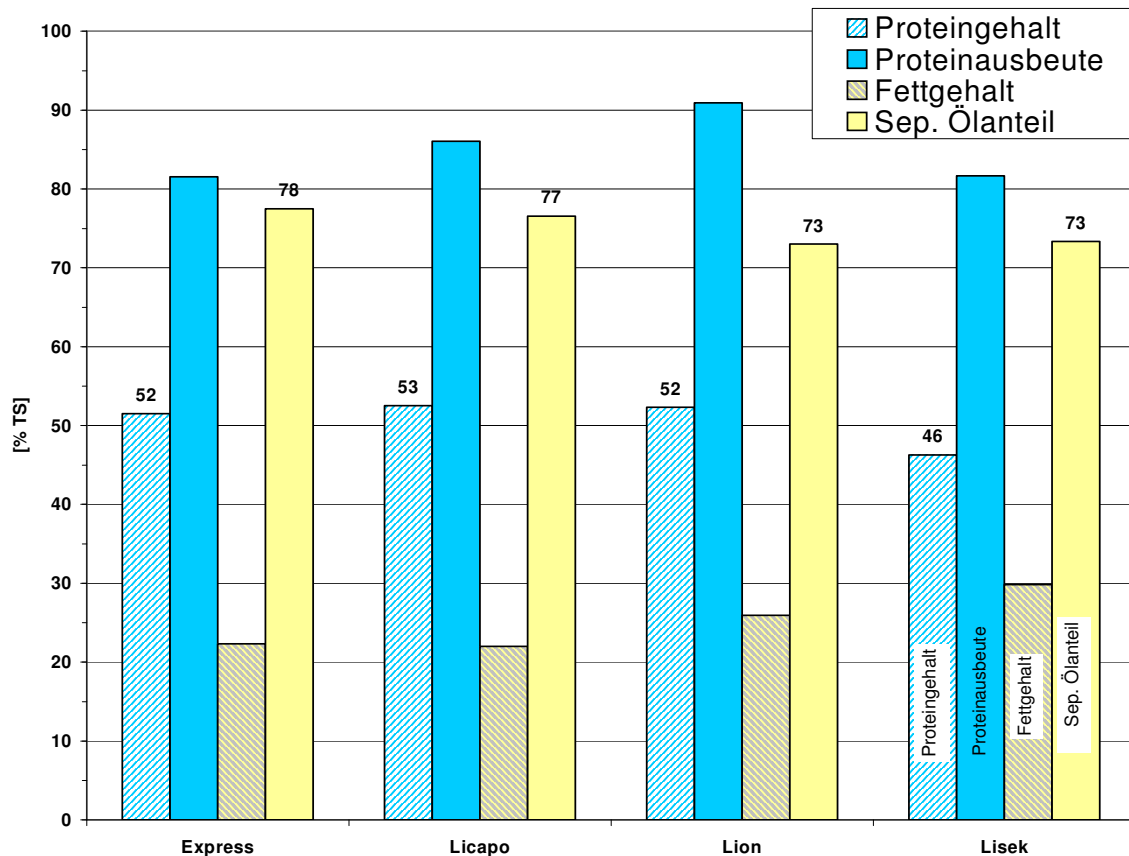


Abbildung 4-12: Analytische Charakterisierung der Extraktionsrückstände sowie der separierten Ölanteile nach einer wässrig-alkoholischen Extraktion von Mehlen (geschält, blanchiert) verschiedener Rapsorten.

Mit 82 % bis 91 % verblieb der Hauptmasseanteil an Protein im Extraktionsrückstand. Durch die wässrig-alkoholische Extraktion von löslichen Substanzen und Öl ergab sich ein Proteingehalt von durchschnittlich 52 %. Der Extraktionsrückstand der Sorte Lisek hatte einen Proteingehalt unter 50 %. Dieses Ergebnis ergab sich aus dem um ca. 8 %-Punkte erhöhten Fettgehalt im Extraktionsrückstand der Sorte Lisek gegenüber den anderen Extraktionsrückständen.

In Hinblick auf die Zielstellung der Arbeit, einen möglichst hohen Ölanteil als freie Ölphase zu separieren, kann festgestellt werden, dass auch durch den Einsatz anderer Rapsorten dieses Ziel nicht erreicht wurde. Im Extraktionsrückstand war

zwar der überwiegende Masseanteil an Protein enthalten, durch den hohen Restfettgehalt von ca. 20 % stellte sich jedoch nur ein Proteingehalt von ca. 50 % ein. Somit können die Extraktionsrückstände der simultanen wässrig-alkoholischen Extraktion nicht als Proteinkonzentrate sondern nur als Mehle vermarktet werden.

Für den Einsatz von Proteinprodukten in Lebensmitteln ist jedoch nicht nur der Protein- und Fettgehalt von Bedeutung. Darüber hinaus ist die Kenntnis der verschiedenen funktionellen Eigenschaften entscheidend. Die funktionellen Eigenschaften des Proteinproduktes aus dem halbtechnischen Maßstab waren im Vergleich mit den Proteinprodukten aus Hexan entölten Produkten (Labormaßstab) stark eingeschränkt. Unter Verwendung von Hexan entöltem Rapsmehl konnten die funktionellen Eigenschaften durch eine Nachbehandlung wieder verbessert werden. Ziel dieser Versuche war es zu untersuchen, in wie weit sich die funktionellen Eigenschaften der wässrig-alkoholisch entölten Proteinprodukte verändern lassen.

In Tabelle 4-18 sind die ermittelten funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte dargestellt. Die geringe Proteinlöslichkeit der hergestellten Produkte ist mit der für eine maximale Entölung abgestimmten Versuchskonfiguration zu erklären. Vergleichende Untersuchungen mit entöltem, blanchiertem Rapsmehl (vgl. Kapitel 4.2.5) zeigten ebenfalls verringerte Proteinlöslichkeiten (18 %), die auf das Blanchieren sowie auf die erhöhte Extraktionstemperatur von 50 °C zurückzuführen sind. Eine Steigerung dieser geringen Proteinlöslichkeit durch anschließende Homogenisation konnte im Gegensatz zu einer leichten Steigerung von 18 % auf 25 % bei blanchierten RPCs (vgl. Kapitel 4.2.5) bei den RPP nicht erreicht werden.

Ein hinsichtlich der funktionellen Eigenschaften auf die Applikation abgestimmtes RPP kann auf Grundlage der hier dargestellten Ergebnisse nicht gewonnen werden. Aufgrund des hohen Restfettgehaltes, des niedrigen Proteingehaltes sowie der geringen Proteinlöslichkeit sind die funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte unabhängig von der Sorte sehr schwach ausgeprägt.

Vergleicht man die Proteinmehle mit den Proteinkonzentraten aus Raps, wird die geringe Funktionalität noch deutlicher. Die Wasserbindekapazität (WBC) der Produkte war trotz starker Denaturierung mit 3,6 ml/g bis 4,2 ml/g geringer als die WBC eines RPC aus blanchiertem, entöltem Rapsmehl. Eine Ursache könnte hierfür der mit 20 % bis 30 % hohe Restfettgehalt der RPM sein. Die hydrophoben Fettpartikel verhindern die Adsorption von Wasser. Die gemessenen Emulgierkapazitäten (EC) waren mit 128 ml/g bis 153 ml/g

gegenüber den EC von RPCs aus unblanchiertem, entöltem Rapsmehl mit 383 ml/g stark reduziert. Dies ist auf die stark verminderte Proteinlöslichkeit der RPM sowie die verringerten 12 S/ 2 S-Verhältnisse in den RPM zurückzuführen (vgl. Kapitel 4.2.2).

Tabelle 4-18: Einfluss der Rapssorte des eingesetzten Mehles (geschält und blanchiert) auf die funktionellen Eigenschaften der teilentölkten RPPs

		RPC	RPP aus Rohstoff (geschält und blanchiert)							
		Express + mod (geschält, blanchiert, hexanenölt)	Express ⁴⁾	Express + mod ⁵⁾	Licapo ⁴⁾	Licapo + mod ⁵⁾	Lion ⁴⁾	Lion + mod ⁵⁾	Lisek ⁴⁾	Lisek + mod ⁵⁾
Proteinlöslichkeit ¹⁾	[%]	25	13	12	15	17	12	9	9	11
12 S/ 2S Verhältnis ²⁾		0,2	0,7	1,5	1,0	1,4	1,0	0,9	0,4	0,6
WBC	[ml/g]	4,5	4,2	3,8	4,3	3,6	4,1	4,2	3,8	4,3
FBC	[ml/g]	1,9	1,6	1,3	2,0	1,8	1,6	1,7	1,6	1,6
EC ³⁾	[ml/g]	219	143	127	153	153	137	128	128	129

1) Bei pH 7,0

2) Ermittelt aus löslichem Proteinanteil bei pH 7,0

3) Bei pH 5,0

4) 3-stufige alkoholische Extraktion (s:l=1:3; t=15min; T=50 °C), ohne Modifizierung

5) Extraktion wie 4) und Modifizierung: T= RT, 180 bar, 3,5 HDH-Passagen, keine pH Regulierung

5 Zusammenfassung

Die Gewinnung von Proteinprodukten aus Raps war in den letzten Jahrzehnten aufgrund der schon eingangs geschilderten Struktur des Ölmühlengewerbes und der sich daraus ergebenden Interessenlage im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit der vielen kleinen Ölmühlen Gegenstand vieler wissenschaftlicher Arbeiten [Rutkowski 1975, Jones 1979, Kozłowska 1979, Olsen u. Anjou 1979, van Mengen 1981, Elstner u. Stein 1982, Mieth et al. 1983, Olsen u. Sepp 1983, Naczki et al. 1985, Naczki et al. 1986, Behlau 1990, Rubin et al. 1990, Shahidi u. Naczki 1990, Thomas u. Bruck 1995, Gueguen et al. 2000, Gueguen et al. 2001, Wäsche 2001].

Für die Ölmühlen in Deutschland, insbesondere die vielen kleinen Ölmühlen, ist die konventionelle Ölextraktion mit erst anschließender Gewinnung von Proteinprodukten keine Alternative, um ihre wirtschaftliche Grundlage zu erhöhen. Eine simultane Gewinnung von Öl- und Proteinprodukten für den Einsatz in Lebensmitteln ist, aus ökonomischer Sicht der vielen kleinen Ölmühlen in Deutschland, einer aufeinander folgenden Gewinnung von Öl und Proteinprodukt zu bevorzugen. Durch eine Abtrennung des Öls als klare Ölphase kann aus dem entölten Rückstand möglicherweise nach weiteren Verarbeitungsschritten ein Proteinprodukt gewonnen werden. Vorteilhaft ist dabei insbesondere die direkte Weiterverarbeitung des (teil)entölten, proteinreichen Rückstandes ohne einen Trocknungsschritt. Da in diesen Verfahren sowohl während der Ölgewinnung als auch während der Proteingewinnung mit der wässrigen bzw. wässrig-alkoholischen Fraktion unerwünschte Inhaltsstoffe abgetrennt werden, werden diese Verfahren auch als simultane Verfahren zur Öl- und Proteingewinnung bezeichnet.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein wässrig-alkoholisches Verfahren zur simultanen Protein- und Ölproduktgewinnung aus Rapskörnern entwickelt, wobei das von Meuser et al. Für die Sojaproteingewinnung entwickelte Verfahren [Meuser et al. 2002] als Ansatz für die Versuchsplanung herangezogen wurde. Das von Meuser et al. Entwickelte Verfahren macht sich die von Frische et al. Bei der wässrig-alkoholischen Extraktion von Öl aus pflanzlichen Matrices gemachte Beobachtung zunutze, dass dabei keine Emulsionsbildung entsteht.

Im ersten Teil der Arbeit wurden verschiedene Einflussfaktoren auf die Separation des Öls untersucht. Da sich das Öl nicht im Wasser-Alkohol-Gemisch löst, sondern nur durch das Extraktionsmittel aus den offenen Zellen verdrängt werden kann, wurde zunächst der Anteil offener Zellen des eingesetzten Rapsmehls ermittelt. In Abhängigkeit von der verwendeten Methode wurde ein Zell-

aufschluss von 73 % bzw. 76 % ermittelt. Dadurch ergab sich für die folgenden Versuche ein maximal separierbarer Ölanteil von 76 %.

Es wurde festgestellt, dass eine klare Ölphase ohne Emulsionsschicht zwischen Extraktphase und Ölphase nur bei einer 45 %igen 2-Propanolkonzentration abgetrennt werden konnte. Die Emulsionsbildung wurde jedoch durch die Alkoholkonzentration nicht verhindert, sondern aufgrund der Dichte der Extraktionsmittelpphase wurde die Emulsion zusammen mit den Extraktionsrückstand abgetrennt. Unter Verwendung von Extraktionsmitteln mit höheren 2-Propanolkonzentrationen konnte keine klare Ölphase separiert werden.

Eine Schälung der Rapskörner wirkte sich hinsichtlich der Ölseparation als positiv aus. Der separierbare Ölanteil, bezogen auf die im eingesetzten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl, konnte durch Schälung um ca. 10 %-Punkte auf 40,5 % gesteigert werden. Daher ist eine Schälung der Rapskörner vor der weiteren Verarbeitung für Proteinprodukte mit geringen Restfettgehalten und höheren Proteingehalten vorteilhaft. Allerdings ist hierbei zu berücksichtigen, dass unabhängig vom Schälverfahren für eine Reduzierung des Schalenanteiles auf 7 % auch eine Reduzierung des Fruchtfleisches um ca. 12 % einkalkuliert werden muss. Hinsichtlich der Untersuchung der Einflussparameter auf die Entölung im Labormaßstab ist diese Reduzierung an Fruchtfleisch zu vernachlässigen, während dieser Verlust für eine technische Umsetzung aus Kostengründen durchaus berücksichtigt werden muss.

Durch eine verlängerte Extraktionszeit auf bis zu 21,5 Stunden konnte der separierbare Ölanteil von 36 % nach 15 Minuten Extraktionszeit, bezogen auf die im eingesetzten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl, nicht gesteigert werden. Durch die lange Extraktionszeit konnte freies Fett in die aufgequollenen Strukturen, unter anderem von Protein und Fasern, eindringen und stabilisiert werden. Der separierte Ölanteil sank auf 32 %.

Darüber hinaus wirkte sich auf die Entölung des Rapsmehles das Verhältnis von Feststoff (Rapsmehl=s) und Flüssigkeit (Extraktionsmittel=l) aus. Mit der Variation des s:l-Verhältnisses konnte gezeigt werden, dass der größte Ölanteil mit 36 %, bezogen auf die im eingesetzten Rapsmehl enthaltene Gesamtmasse an Öl, bei einem s:l-Verhältnis von 1:3 separiert werden konnte.

Hinsichtlich des Einflusses der Extraktionstemperatur zeigte sich, dass mit steigender Temperatur von 20 °C auf 60 °C der separierte Ölanteil von 36 % auf 43 % zunahm. Durch eine vorherige Blanchierung des Rohstoffes konnte der separierbare Ölanteil weiter gesteigert werden. Aus den Versuchsergebnissen

konnte abgeleitet werden, dass für eine gesteigerte Ölabtrennung sowohl die Koaleszenz der nativen Öltröpfchen als auch eine Denaturierung der Speicherproteine erforderlich ist.

Durch eine zusätzliche Nassvermahlung konnte der Zellaufschluss und damit der theoretisch separierbare Ölanteil auf 98 % gesteigert werden. Es zeigte sich jedoch in allen Fällen, dass trotz eines fast vollständigen Zellaufschlusses nur maximal 80 % Öl als freie Ölphase abgetrennt werden konnten und rund 20 % im Extraktionsrückstand, dem Proteinprodukt, verblieben.

Versuche unter Einsatz von Rapsmehlen mit reduzierten Fettgehalten (Presskuchen) führten ebenfalls zu keiner Verringerung des Restfettgehaltes im Extraktionsschrot. Im Extraktionsschrot verblieb, wie auch unter Einsatz vollfetter Rapsmehle, ein Restfettgehalt von ca. 20 %, der trotz vollständigem Zellaufschluss nicht separiert werden konnte. Diese Ergebnisse konnten sowohl aufgrund der unzureichenden Emulsionsunterdrückung durch das Extraktionsmittel als auch durch tribochemische Umsätze und die Ausbildung von hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen zwischen freiem Fett, Fasern und löslichen Proteinen sowie anderen Inhaltsstoffen (Phytinsäure) erklärt werden.

Bezüglich des Einflusses des Extraktions-pH-Wertes auf den separierbaren Ölanteil wurde keine gesteigerte Ölseparation festgestellt. Die bisher ermittelten Wechselwirkungen zwischen Öl, Proteinen, Fasern und anderen Inhaltsstoffen bestätigten, dass aufgrund der unterschiedlichen Wechselwirkungen über den gesamten pH-Bereich kein Minimum der Wechselwirkungen detektiert werden konnte.

Maximal 80 % Öl konnten aus dem Rapsmehl als klare Ölphase separiert werden. Damit entspricht die Ölausbeute in dem hier untersuchten Verfahren derjenigen, welche in konventionellen Verfahren durch Vor- und Fertigpressen der Rapssaat erreicht wird.

Die funktionellen Eigenschaften der Proteinprodukte werden durch den Einsatz von Alkohol-Wasser-Gemischen negativ beeinflusst. **Im zweiten Teil der Arbeit** wurde daher untersucht, inwieweit die funktionellen Eigenschaften von wässrig-alkoholisch hergestellten Proteinprodukten aus geschältem, Hexan entöltem Rapsmehl durch anschließende wässrige Nachbehandlungsverfahren, mit Variation von Temperatur, pH-Wert und mechanischer Energieeinleitung, modifiziert werden können. Bezüglich der Bewertung der Modifizierungsmaßnahmen standen zusätzlich zur Charakterisierung der funktionellen

Eigenschaften die Proteinlöslichkeit sowie die Zusammensetzung der löslichen Proteinfraktion hinsichtlich der Hauptproteinfractionen Cruziferin (12 S) und Napin (2S) im Vordergrund.

Die Versuche zeigten, dass durch eine 3-stufige Extraktion von geschältem, Hexan entöltem Raps mit einem 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch bei einem s:l-Verhältnis von 1:5 der Proteingehalt im getrockneten Extraktionsrückstand auf über 60 % gesteigert werden konnte. Somit konnten diese hergestellten Proteinprodukte als Rapsproteinkonzentrate (RPC) bezeichnet werden.

Versuche zum Einfluss der Temperatur auf die funktionellen Eigenschaften der RPCs zeigten, dass bei erhöhten Extraktionstemperaturen von 50 °C und bei einer Temperatur von 60 °C während der wässrigen Nachbehandlung die Proteinlöslichkeit reduziert wurde. Aufgrund der reduzierten Proteinlöslichkeit wurden gesteigerte WBC und verringerte EC ermittelt. Die Auswertung der Verteilung der Hauptproteinfractionen ergab, dass durch die Temperaturbehandlung während der Nachbehandlung insbesondere große Proteine (12 S) denaturiert wurden. Dieser Effekt wurde mit abfallendem pH-Wert von pH 8,0 auf pH 3,0 verstärkt.

Im Gegensatz zu einer deutlichen Proteindenaturierung bei einer Temperatur von 60 °C während der wässrigen Nachbehandlung konnte gezeigt werden, dass eine wässrige Nachbehandlung bei 50 °C die Proteinlöslichkeit im Vergleich zu einem RPC ohne wässrige Nachbehandlung nicht beeinflusste. Trotz gleicher Proteinlöslichkeit waren die ermittelten funktionellen Eigenschaften unterschiedlich. Die funktionellen Eigenschaften der bei 50 °C und 60 °C nachbehandelten RPCs waren jedoch trotz unterschiedlicher Proteinlöslichkeiten ähnlich. Bei dem mit 50 °C nachbehandelten RPC wurde ein erhöhter 12 S-Proteinanteil im löslichen Proteinanteil gegenüber dem nicht nachbehandelten RPC ermittelt. Da die ermittelten funktionellen Eigenschaften mit denen des bei 60 °C behandelten RPCs vergleichbar waren, wurde vermutet, dass der erhöhte Anteil großer, löslicher Proteine eine ähnliche Struktur hat wie die denaturierten Proteine bei 60 °C.

Durch die Einleitung mechanischer Energie mittels eines Hochdruckhomogenisators wurde das Produkt ebenfalls erwärmt. Hierdurch ergab sich sowohl eine mechanische als auch eine thermische Nachbehandlung der RPCs. In Abhängigkeit der untersuchten Druckstufen von 100 bar bis 300 bar und der untersuchten Homogenisierpassagen von 3,5 bis 21 Passagen veränderte sich das 12 S/ 2S-Verhältnis von 1,3 bei RPCs ohne Nachbehandlung durch

gesteigerte Anteile von 12 S-Proteinen auf 1,4 bis 1,9 ohne die Proteinlöslichkeit zu beeinflussen. Aufgrund dieser Nachbehandlung konnten die emulgierenden Eigenschaften deutlich verbessert werden. Wurden allerdings durch die mechanische Energieeinleitung Produkttemperaturen größer 60 °C erreicht, kam es zu einer Proteindenaturierung und dementsprechend eingeschränkten funktionellen Eigenschaften. Wie schon bei den Versuchen mit erhöhten Nachbehandlungstemperaturen gezeigt, wurden vor allem große 12 S Proteine denaturiert und das 12 S/ 2S-Verhältnis bis auf 0,2 reduziert.

Durch die Kombination der Einflussfaktoren pH-Wert, Temperatur und mechanischer Energie konnten die funktionellen Eigenschaften der wässrig nachbehandelten RPCs gegenüber RPCs ohne Nachbehandlung noch deutlicher verändert werden. Durch Homogenisation bei 180 bar für 3,5 Passagen bei Raumtemperatur und pH 8,0 konnte die Proteinlöslichkeit gering auf 58 % gesteigert werden und mit 383 ml/g wurde die höchste EC gemessen. Die Auswertung des 12 S/ 2S-Verhältnisses der unterschiedlich nachbehandelten RPCs ergab, dass durch einen erhöhten Anteil von 12 S Proteinen im löslichen Proteinanteil die emulgierenden Eigenschaften verbessert werden.

Versuche mit Hexan entöltem, geschältem und blanchiertem Rapsmehl der Sorte Express bestätigten die Ergebnisse mit unblanchiertem Rapsmehl. Anhand der Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass die funktionellen Eigenschaften in erster Linie von der Proteinlöslichkeit und darüber hinaus von der 12S/ 2S-Verteilung im löslichen Proteinanteil abhängen.

Eine Übertragung dieser Versuchseinstellungen auf Hexan entölte, geschälte Mehle anderer Rapsorten zeigte, dass die Ergebnisse bezüglich der funktionellen Eigenschaften nicht erreicht werden konnten. Ein hinsichtlich der funktionellen Eigenschaften auf die Applikation abgestimmtes RPC kann nur auf Basis neu zu ermittelnder Ergebnisse der jeweiligen Sorte auf die wässrige Nachbehandlung erfolgen. Die für Hexan entöltes, geschältes Rapsmehl der Sorte Express ermittelten Zusammenhänge zwischen den untersuchten Einflussfaktoren der wässrigen Nachbehandlung und den funktionellen Eigenschaften der RPCs können aber als Basis für die Übertragung von Modifizierungsmaßnahmen auf RPCs anderer Sorten dienen.

Im dritten Teil der Arbeit wurden wässrig-alkoholischen Entölungsversuche in Hinblick auf die Bewertung des Extraktionsrückstandes als Proteinprodukt durchgeführt. Um Proteinprodukte für die Verwendung in Lebensmitteln herzustellen, müssen zusätzlich zu einem möglichst hohen Proteingehalt qualitätsmindernde Bestandteile im Proteinprodukt vermieden werden.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Oligosaccharide, phenolische Verbindungen und Glucosinolate im Extraktionsrückstand (Proteinprodukt) durch das eingesetzte Verfahren ausreichend reduziert werden. Durch eine zusätzliche Rapsschälung konnte nicht nur der Anteil unerwünschter schwarzer Schalenstücke im Proteinprodukt reduziert werden, sondern darüber hinaus der separierbare Ölanteil gesteigert werden.

Die Bildung von z.B. Isothiocyanaten, Nitrilen oder Thiocyanaten durch den Abbau der Glucosinolate mittels des saateigenen Enzyms Myrosinase mindert den ernährungsphysiologischen Wert der Proteinprodukte. Untersuchungen der Myrosinaseaktivität in unblanchiertem und blanchiertem Rapsmehl sowie Extraktionsrückständen von wässrig-alkoholisch behandelten Rapsmehlen zeigten, dass die Enzymtätigkeit durch eine Extraktion mit 45 %igem 2-Propanol-Wasser-Gemisch nur unzureichend um ca. 50 % reduziert wird. Durch eine zweiminütige Dampfblanchierung des Rapsbruches kann die Enzymaktivität ausreichend unterdrückt werden (2 %). Als unerwünschter Nebeneffekt wird die Proteinlöslichkeit durch das Blanchieren jedoch von 68 % im unblanchierten Rapsbruch auf 26 % reduziert. In Hinblick auf die sich anschließende wässrig-alkoholische Entölung wirkt sich eine reduzierte Proteinlöslichkeit vorteilhaft aus (s.o.), während diese reduzierte Proteinlöslichkeit für die Gewinnung funktioneller Proteinprodukte einen deutlichen Nachteil darstellt. Eine hohe Proteinlöslichkeit ist Grundvoraussetzung für eine ganze Reihe funktioneller Eigenschaften, welche durch den Einsatz der hergestellten Proteinprodukte in Lebensmitteln verändert werden sollen.

Die Übertragung des Laborverfahrens in den halbtechnischen Maßstab konnte für folgende Verfahrensschritte erfolgreich umgesetzt werden:

Blanchierung von geschältem Rapsbruch in einem Pflugschermischer,
Nassvermahlung in einer Zahnkolloidmühle,
Extraktion in einem Rührbehälter,
Phasentrennung mit einem kontinuierlich austragenden 2-Phasen-Dekanter,
Trocknung der Feststoffphase nach Verdünnung auf ca. 10 % Trockensubstanz mit einem Sprühtrockner.

Der Restfettgehalt von ca. 20 % im Extraktionsrückstand konnte auch im halbtechnischen Maßstab erreicht werden. Im Extraktionsrückstand verblieben 82 % bis 90 % der Proteintrockenmasse. Mit einem durchschnittlichen Proteingehalt von ca. 50 % konnte dieser Extraktionsrückstand als Proteinmehl (RPP) eingestuft werden.

Die Proteinlöslichkeit der hergestellten RPPs war mit 10 % bis 15 % sehr gering, aber für eine möglichst hohe Ölseparation und Inaktivierung von Myrosinase war eine Blanchierung notwendig, damit die RPPs diese Qualitätskriterien bestmöglich erfüllen.

Die wässrig-alkoholisch entölten RPPs wurden auf Grundlage der Ergebnisse zur erfolgreichen Modifizierung der funktionellen Eigenschaften von Hexan entölten Rapsproteinprodukten behandelt. Die Versuchsergebnisse zeigten, dass die funktionellen Eigenschaften der RPPs durch eine wässrige Nachbehandlung nicht verändert bzw. verbessert werden konnten.

Die hergestellten Proteinprodukte sind aufgrund der mit ca. 20 % hohen Restfettgehalte, der mit ca. 50 % geringen Proteingehalte und mäßigen Proteinlöslichkeiten sowie der geringen funktionellen Eigenschaften bisher nicht für den Einsatz in Lebensmitteln geeignet. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen, in einem simultanen wässrig-alkoholischen Verfahren Proteinprodukte aus Rapskörnern herzustellen, führten zu nicht zu Produkteigenschaften, welche vergleichbar mit den zur Zeit dominierenden Proteinprodukten aus Sojabohnen sind.

6 Literaturverzeichnis

- Anjou et al. 1977 Anjou, K; Lönnerdal, B; Uppstöm, B; Aman, P:
Composition of Seeds from Some Brassica Cultivars.
Swedish Journal of Agricultural Research 7 (1977), 169-
178.
- Anjou 1978 Anjou, K: Production of Rapeseed Protein Concentrate
for Human Consumption. US-Patent 4,083,836 (1978).
- Baudel 1980 Baudel, M: Le depelliculage des graines de colza.
Conference of the International Society for Fat
Research, AOCS Press, New York, USA (1980).
- Becker 1971 Becker, K W: Processing of Oilseeds to meal and
Protein Flakes. Journal of the American Oil Chemists'
Society 48 (1971), 299-304.
- Behlau 1990 Behlau, L: Verfahrenstechnische Optimierung der
Proteingewinnung aus Rapssaaten. Dissertation,
Technische Universität München, München (1990).
- Belitz et al. 1992 Belitz, H D; Grosch, W; Schieberle, H: Lehrbuch der
Lebensmittelchemie. 4. Auflage, Springer Verlag, Berlin
(1992).
- Bell 1984 Bell, J M: Nutrients and Toxicants in Rapeseed Meal: A
Review. Journal of Animal Science 58 (1984), 996-1010.
- Bille et al. 1983 Bille, N; Eggum, B O; Jacobsen, I; Olsen, O; Sorensen,
H: The Effects of Processing on Antinutritional
Constituents and Nutritive Value of Double Low
Rapeseed Meal. Zeitschrift für Tierphysiologie,
Tierernährung und Futtermittelkunde 49 (1983), 148-
163.
- Bockisch 1993 Bockisch, M: Nahrungsfette und -öle. Ulmer Verlag,
Stuttgart (1993).
- Böhringer 1989 Bestimmung der Glucosinolate in Rapssamen (Glucose-
Methode) Boehringer Mannheim GmbH, Kontroll-Labor
Biochemie, 1. Ausgabe Mannheim (1989).
- Boye et al. 1997 Boye, J I; Ma, C Y; Harwalkar, V R: Thermal
Denaturation and Coagulation of Proteins. In: Food
Proteins And Their Applications. Damodaran, S; Paraf,
A (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York (1997).
- Bundesamt 2001 Statistisches Bundesamt: Statistisches Jahrbuch 2001.
Statistisches Bundesamt (Herausgeber), Bestell-Nr.10
10 130-01700, Wiesbaden (2001).

- Cabral et al. 1997 Cabral, L C; Wang, S H; Araujo, F B; Luciana, H: Efeito da Pressao de homogeneizacao nas propriedades funcionais do leite de Soja Em Po. Cienc. Tecnol. Aliment. 17 (1997), 286-290.
- Carter et al. 1974 Carter, C M; Rhee, K C; Hagenmaier, D; Mattil, K F: Aqueous Extraction - an Alternative Oilseed Milling Process. Journal of the American Oil Chemists' Society 51 (1974), 137-141.
- Chajuss 1998 Chajuss, D: Soya Protein Concentrate Current Status. Oils & Fats International 14 (1998), 35-36.
- Cheftel et al. 1992 Cheftel, J C; Cug, J L; Lorient, D: Lebensmittelproteine: Biochemie - Funktionelle Eigenschaften - Ernährungsphysiologie - chemische Modifizierung. Dt. Bearbeitung Reimerdes, E H; Müller, G; Auflage 1992, Behr's Verlag, Hamburg (1992).
- Cheryan 1980 Cheryan, M: Phytic Acid Interactions in Food Systems. Critical Reviews in Food Science and Nutrition (1980) 297-335.
- Cramer 1989 Cramer, N: Raps - Züchtung, Anbau und Vermarktung von Körnerraps. Verlag Ulmer (1989).
- Damodaran 1997 Damodaran, S: Food Proteins: An Overview. In: Food Proteins And Their Applications. Damodaran, S; Paraf, A (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York (1997).
- Dazert 2004 Dazert, D: Untersuchung der Entölbarkeit von Sojamehl zur Herstellung von Sojaproteinprodukten. Dissertation, Technische Universität Berlin, Berlin (2004).
- De Man u. Stanley 1974 De Man, J M; Stanley, D W.: IV. International Rapeseed Congress, Gießen (1974).
- Elstner u. Stein 1982 Elstner, F; Stein, W: Entwicklung eines technischen Verfahrens zur Gewinnung von Protein-Isolaten aus Rapssaat. Fette - Seifen - Anstrichmittel 84 (1982), 396-399.
- Erdmann 1979 Erdmann, Jr. J W: Oilseed Phytates: Nutritional Implications. Journal of the American Oil Chemists' Society 56 (1979), 736- 741.
- Ericson et al. 1986 Ericson, M L; Rådin, J; Lenman, M; Gilmelius, K; Jusefsson, L-G; Rask, L: Structure of the Rapeseed 1,7S Storage Protein, Napin, and Its Precursor. The Journal of Biological Chemistry 261 (1986), 14576-14581.

- FAO 2002 Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); FAOSTAT, URL: <http://apps.fao.org> (2002).
- Fenton et al. 1980 Fenton, T W; Leung, J; Claudinin, D R: Phenolic Components of Rapeseed Meal. *Journal of Food Science* 45 (1980), 1702-1705.
- Finlayson et al. 1973 Finlayson, A J; Krzymanski, J; Downey, R K: Comparison of Chemical and Agronomic Characteristics of Two *Brassica napus* L. Cultivars, Bronowski and Target. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 50 (1973), 407-410.
- Fraunhofer 1998 Leistungen und Ergebnisse, Jahresbericht 1998: Einsatzpotential pflanzlicher Proteine aus Raps für technische Nutzungen. BMLEF, Förder-Nr.: FKZ 95 NR 101-F
- Fraunhofer 2002 Fraunhofer IVV, Abteilung Verfahrenstechnik, unveröffentlichte Ergebnisse (2002).
- Frische et al. 1996 Frische, R; Best, B; Hegwein, K; Seemann, J; Olbrich-Deussner, D: Verfahren zur Gewinnung von nicht wasserlöslichen, nativen Produkten aus Stoffgemengen mit Hilfe der Zentrifugalkraft. DE-Patent 195 29 795 A1 (1996).
- Fukushima 1969 Fukushima, D: Denaturation of Soybean Proteins by Organic Solvents. *Cereal Chemistry* 46 (1969), 156-163.
- Garcia-Serrato 1981 Garcia-Serrato, A: Extraction of Oil from Soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 58 (1981), 157-159.
- Graf 1983 Graf, E: Applications of Phytic Acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 60 (1983), 1861-1867.
- Graf u. Eaton 1990 Graf, E; Eaton, J W: Antioxidant Functions of Phytic Acid. *Free Radical Biology & Medicine* 8 (1990), 61-69.
- Gueguen et al. 2000 Gueguen, J; Rabiller, C; Schönweitz, C; Mulder, W; Entwistle, G; Chaudhry, Q; Sörensen, H; Evrard, J; de Greyt, W; Bagger, C; Dupic, C; Schmidt, F; Doignie, J C; Closs, B: Green Chemicals and Biopolymers from Rapessed Meal with Enhanced End-uses Performance.
- Gueguen et al. 2001 Gueguen, J; Malabat, C; Sanchez-Vioque, R; Larré, C: Interfacial Behaviours and Emulsifying Properties of Native Rapeseed Proteins. Influence of the Cruciferin/Napin Ratio. In: *Proteins go ahead! Innovative Produkte aus pflanzlichen Proteinen*. 18/19 June 2002, Fraunhofer IVV, Germany (2002).

- Harland u. Morris 1995 Harland, B F; Morris, E R: Phytate: a Good or a Bad Food Component? Nutrition Research 15 (1995), 733-754.
- Howard 1980 Howard, P A: Water-soluble Vegetable Protein Aggregates. US-Patent 4,234,620 (1980).
- Huang et al. 1993 Huang, A H C; Tzen, J; Cao, Y; Laurent, S; Ratnayake, C: Lipids, Proteins and Structure of Seed Oil Bodies from Diverse Species. Planta Physiol. 101 (1993), 267-276.
- Huang 1994 Huang, A H C: Structure of Plant Seed Oil Bodies. Current Opinion in Structural Biology 4 (1994), 493-498.
- Jones 1979 Jones, J D: Rapeseed Protein Concentrate Preparation and Evaluation. Journal of the American Oil Chemists' Society 56 (1979), 716-721.
- Karnofsky 1979 Karnofsky, G: Process for Preparing a Flour and the Product Obtained Thereby. US-Patent 4,144,229 (1979).
- Karnofsky 1980 Karnofsky, G: Process for Preparing a Protein Concentrate and the Product Obtained Thereby. US-Patent 4,219,470 (1980).
- Karnofsky 1985 Karnofsky, G: Recovery of Water-Soluble Solvents from Oilseeds. Journal of the American Oil Chemists' Society 62 (1985), 697- 699.
- Kozłowska 1979 Kozłowska, H: Method for Obtaining Concentrated Proteins from the Rape Seeds, and the Set of Equipment for Embodying this Method. US-Patent 4,148,789 (1979).
- Kozłowska et al. 1988 Kozłowska, H; Nowak, H; Zadernowski, R: Rapeseed Hulls Fat Characteristics. Fat Science Technology 90 (1988), 216-219.
- Kozłowska et al. 1990 Kozłowska, H; Naczek, M; Shahidi, F; Zadernowski, R: Phenolic Acids and Tannins in Rapeseed and Canola. In: Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Kroll 1991 Kroll, J: Die Mechanolyse - ein Weg zur Modifizierung von Proteinen. ZFL 42 (1991), 45-47.
- Kühler u. Stine 1974 Kühler, C A; Stine, C M: Effect of Enzymatic Hydrolysis on some Functional Properties of Whey Protein. Journal of Food Science 39 (1974), 379-382.

- Lawhon et al. 1981 Lawhon, J T; Manak, L J; Rhee, K C; Rhee, K S; Lusas, E W: Combining Aqueous Extraction and Membrane Isolation Techniques to Recover Protein and Oil from Soybeans. *Journal of Food Science* 46 (1981), 912-919.
- Lawhon et al. 1981a Lawhon, J T; Rhee, K C; Lusas, E W: Soy Protein Ingredients Prepared by New Processes - Aqueous Processing and Industrial Membrane Isolation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 58 (1981), 377-384.
- Lickfett et al. 1999 Lickfett, T; Matthäus, B; Velasco, L; Möllers, C: Seed Yield, Oil and Phytate Concentration in the Seeds of Two Oilseed Rape Cultivars as Affected by Different Phosphorus Supply. *European Journal of Agronomy* 11 (1999), 293-299.
- Liu 1997 Liu, K S: Soybeans Chemistry, Technology, and Utilization. Chapman & Hall, New York, USA (1997).
- Luck et al. 1994 Luck, T; Wäsche, A; Kremer, M; Jurisch, C: Evaluierung der Perspektiven der Ölmühlenverfahrenstechnik mit den Schwerpunkten Energiebedarf und Emissionsvermeidung. *Fat Science Technology* 96 (1994), 518-526.
- Lusas et al. 1982 Lusas, E W; Lawhon, J T; Rhee, K C: Producing Edible Oil and Protein from Oilseeds by Aqueous Processing. *Oil Mill Gazetteer* 86 (1982), 28-34.
- Malabat et al. 2003 Malabat, C; Atterby, H; Chaudhry, Q; Renard, M; Gueguen, J: Genetic Variability of Rapeseed Protein Composition. In: *Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress, Volume 1*. Sörensen, H (Ed), 1. Edition, Chemistry Department, The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark (2003).
- McGlone et al. 1986 McGlone, O C, Lopez-Munguia, C A, Carter, J V: Coconut Oil Extraction by a New Enzymatic Process. *Journal of Food Science* 51 (1986), 695-697.
- Meuser et al. 2002 Meuser, F; Fuhrmeister, H; Dazert, D; Natsch, A: Hexanfrei zum Protein. *Lebensmitteltechnik* 12 (2002), 54-56.
- Mielke 1999 Mielke, T: Oil World. ISTA Mielke GmbH, Hamburg (1999).
- Mielke u. Gay 2001 Mielke, T; Gay, H: Kann sich Raps in Zukunft auf dem Weltmarkt behaupten? *Raps* 19 (2001), 94-96.

- Mieth et al. 1975 Mieth, G; Kroll, J; Pohl, J; Linow, F; Prahl, L:
Untersuchungen zur gleichzeitigen Gewinnung von
Proteinen und Fetten aus Ölsamen. 1. Mitt.
Verfahrensprinzip. Die Nahrung 19 (1975), 955-960.
- Mieth et al. 1983 Mieth, G; Schwenke, K D; Raab, B; Brückner, J: Review
Article: Rapeseed: Constituents and Protein Products
Part I. Composition and Properties of Proteins and
Glucosinolates. Die Nahrung 27 (1983), 675-697.
- Morr et al. 1973 Morr, C V; Swenson, P E; Richter, R L: Functional
Characteristics of Whey Protein Concentrates. Journal
of Food Science 38 (1973), 324-328.
- Morr 1985 Morr, C V: A Collaborative Study to Develop a
Standardized Food Protein Solubility Procedure. Journal
of Food Science 50 (1985), 1715-1716.
- Murphy 1993a Murphy, D J: Structure and Functions of Oleosins in Oil
Plants. INFORM 4 (1993), 922-932.
- Murphy 1993b Murphy, D J: Structure, Function and Biogenesis of
Storage Lipid Bodies and Oleosins in Plants. Prog. Lipid
Res. 32 (1993), 247-280.
- Murray 2001 Murray, E D: The New Potential of Rapeseed.
International Food Ingredients 3 (2001), 34-36.
- Naczek et al. 1985 Naczek, M; Diosady, L L; Rubin, L J: Functional
Properties of Canola Meals Produced by a Two-phase
Solvent Extraction System. Journal of Food Science 50
(1985), 1685-1692.
- Naczek et al. 1986 Naczek, M; Diosady, L L; Rubin, L J: The Phytate and
Complex Content of Meals Produced by Alkanol-
Ammonia/Hexane Extraction of Canola. Lebensmittel-
Wissenschaft und Technologie 19 (1986), 13-16.
- Naczek u. Shahidi 1989 Naczek, M; Shahidi, F: The Effect of Methanol-Ammonia-
Water Treatment on the Content of Phenolic Acids of
Canola. Food Chemistry 31 (1989), 159-164.
- Naczek et al. 1998 Naczek, M; Amarowicz, R; Sullivan, A; Shahidi, F:
Current Research Developments on Polyphenolics of
Rapeseed/Canola: a Review. Food Chemistry 62
(1998), 489-502.
- Newkirk 2003 Newkirk, R W: The Quality of Rapeseed for Feed as
Influence by Processing Conditions. In: Proceedings of
the 11th International Rapeseed Congress, Volume 2.
Sørensen, H (Ed), 1. Edition, Chemistry Department,

- The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark (2003).
- Olsen u. Anjou 1979 Olsen, R; Anjou, K: Rapeseed Protein Products. Journal of the American Oil Chemists' Society, 56 (1979), 431-437.
- Olsen u. Sepp 1983 Olson, R; Sepp, R: Rapeseed and Other Crucifers in Food Protein. Cambridge University Press, Rothamsted Exp. Sta., Harpenden, Hertfordshire, UK (1983).
- Osborne 1924 Osborne, T B: The Vegetable Proteins. Monographs in Biochemistry, Longmans, Breen & Co, London (1924).
- Pardun 1988 Pardun, H: Die Pflanzenlecithine. Gewinnung, Eigenschaften, Verarbeitung und Anwendungen pflanzlicher Phosphatidpräparate. Verlag für die chemische Industrie, H. Ziolkowsky KG, Augsburg (1988).
- Pietsch et al. 1995 Pietsch, M; Rimbach, G; Pallauf, J: Zur Auswirkung einer abgestuften Phytinsäurezufuhr auf den Magnesiumstatus wachsender Ratten. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 4 (1995), 93-96.
- Pippig et al. 1995 Pippig, S; Brandt, K; Most, E; Pallauf, J: Einfluß von Phytinsäure und Phytase auf die Bioverfügbarkeit von Eisen bei der wachsenden Ratte. Proc.Soc. Nutr. Physiol. 4 (1995), 89-92.
- Plietz u. Damaschun 1986 Plietz P; Damaschun G: The Structure of the 11 S Seed Globulins from Various Plant Species: Comparative Investigations by Physical Methods. Stud. Biophys. 116 (1986), 153-173.
- Plietz et al. 1987 Plietz P; Drescher, B; Damaschun, G: Relationship Between the Amino Acid Sequence and the Domain Structure of the Subunits of the 11 S Seed Globulins. Int. J. Biol. Macromol. 9 (1987), 161-165.
- Ponne et al. 1996 Ponne, C T; Möller, A C; Tijssens, L M; Bartels, P V; Meijer, M T: Influence of Microwave and Steam Heating on Lipase Activity and Microstructure of Rapeseed (*Brassica Napus*). Journal of Agriculture and Food Chemistry 44 (1996), 2818-2824.
- Porres et al. 2001 Porres, J M; Etcheverry, P; Miller, D D; Lei, X G: Phytase and Citric Acid Supplementation in Whole-Wheat Bread Improves Phytate-Phosphorus Release and Iron Dialyzability. Journal of Food Science 66 (2001), 614-619.

- Raab u. Schwenke 1996 Raab, B; Schwenke, K D: Contribution to the Subunit Composition of the 11S Globulin from Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Die Nahrung* 30 (1986), 395-396.
- Rac 1967 Rac, M: Influence de la structure cellulaire sur quelques proprietes technologiques de certaines matieres premieres oleagineuses. *Revue Francaise des Corps Gras* 14 (1967), 233-228.
- Radwan u. Lu 1976 Radwan, M N; Lu, B C-Y: Solubility of Rapeseed Protein in Aqueous Solutions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 53 (1976), 142-144.
- Rass u. Schneider 1997 Rass, M; Schneider, F H: Trennpresen geschälter Rapssaat - Rheologische Eigenschaften des linear gepressten Feststoffbettes. *Fett/Lipid* 99 (1997), 174-185.
- Rhee et al. 1972 Rhee, K C; Cater, C M; Mattil, K F: Simultaneous Recovery of Protein and Oil from Raw Peanuts in an Aqueous System. *Journal of Food Science* 37 (1972), 90-93.
- Rickard u. Thompson 1997 Rickard, S E; Thompson, L U: Interactions and Biological Effects of Phytic Acid. In: *Antinutrients and Phytochemicals in Food*. Shahidi F (Ed), American Chemical Society Symposium series, no.662 (1997), 294-312, Washington, D.C..
- Rosenthal et al. 1996 Rosenthal, A; Pyle, D L; Niranjana, K: Aqueous and Enzymatic Processes for Edible Oil Extraction. *Enzyme and Microbial Technology* 19 (1996), 402-420.
- Rosenthal et al. 1998 Rosenthal, A; Pyle, D L; Niranjana, K: Simultaneous Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybean: Mechanisms for Process Design. *Food and Bioproducts Processing* 76 (1998), 224-230.
- Rubin et al. 1990 Rubin, L J; Diosady, L L; Tzeng, Y-M: Ultrafiltration in Rapeseed Processing. In: *Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Rutkowski 1975 Rutkowski, A: Technologische Richtlinien bei der Verarbeitung von Rapsproteinen zu Eiweißkonzentraten und -isolaten. *Die Nahrung* 19 (1975), 941-954.
- Sadowska et al. 1996 Sadowska, J; Fornal, J; Ostaszyk, A; Szmatołowicz, B: Drying Conditions and Processability of Dried

- Rapeseed. Journal of the Science of Food and Agriculture 72 (1996), 257-262.
- Schneider 1978 Schneider, F H: Verfahren zur Enthüllung von öl- und proteinhaltigen Saatkörnern. DE-Patent 2635169 A1 (1978).
- Schneider 1980 Schneider, F H: Extraktive Trennung Fest/Flüssig: Untersuchungen über die Feinstruktur vegetabiler Feststoffe und ihren Einfluss auf das Extraktionsverhalten. Forschungsberichte des Landes Nordrhein-Westfalen, Rep. Nr. 2976, Essen (1980).
- Schneider u. Rütte 1991 Schneider, F H; Rütte, U: Resthexan in Raps-Schroten I: Zur Entstehung einer intrazellularen Miszella. Fat Science Technology 9 (1991), 319-328.
- Schneider u. Rass 1997 Schneider, F H; Rass, M: Trennpresen geschälter Rapssaat - Zielsetzung und verfahrenstechnische Probleme. Fett/Lipid 99 (1997), 91-98.
- Schwenke et al. 1973 Schwenke, K D; Raab, J; Uhlig, J; Tkocz, H; Behlke, J; Böttger, M; Freimuth, U: Über Samenproteine III. Isolierung und Charakterisierung der Albumine aus Sonnenblumen und Rapssaaten. Die Nahrung 17 (1973), 791.
- Schwenke et al. 1983 Schwenke, K D; Raab, B; Plietz, P; Damaschun, G: The Structure of the 12 S Globulin from Rapeseed. Die Nahrung 27 (1983), 165-175.
- Schwenke et al. 1986a Schwenke, K D; Gwiazda, S; Raab, B: Thermal Stability of the Subunit Pattern of the 11 S Globulin from Rapeseed (*Brassica napus* L.). Die Nahrung 30 (1986), 396-397.
- Schwenke et al. 1986b Schwenke, K D; Raab, B; Gwiazda, S: Influence of N-Ethylmaleimide (NEM) on the Stability of the Subunit structure of the 12 S Globulin from Rapeseed (*Brassica napus* L.). Die Nahrung 30 (1986), 857-858.
- Schwenke et al. 1988 Schwenke, K D; Augustat, D; Wagenknecht, W: Binding of Cellulose Sulphates to the 12 S Globulin and the Low Molecular Mass Basic Protein Fraction from Rape Seed in Insoluble Complexes. Die Nahrung 32 (1988), 393-407.
- Schwenke et al. 1989 Schwenke, K D; Mothes, R; Gast, K; Zirwer, D: Rapeseed Protein-Polyanion Interactions. In: Proceedings of the 3rd Symposium on Food Proteins. Sonderdruck: Interactions in Protein Systems.

- Schwenke, K D; Raab, B (Eds), Central Institute of Nutrition, Potsdam-Rehbrücke, of the Academy of Science of the GDR (1989).
- Schwenke et al. 1991 Schwenke K D; Kim, Y H; Kroll, J; Lange, E; Mieth, G: Modification of the Low-Molecular Weight Basic Albumin Fraction from Rapeseed (*Brassica napus* L.) by Acetylation. Part 2 Selected Functional Properties. *Die Nahrung* 35 (1991), 293-301.
- Schwenke 1994 Schwenke, K D: Rapeseed proteins. In: *New and Developing Sources of Food Proteins*. Hudson, B J F (Ed), Chapman & Hall, London (1994).
- Serraino u. Thompson 1984 Serraino, M R.; Thompson, L U.: Removal of Phytic Acid and Protein-Phytic Acid Interactions in Rapeseed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 32 (1984), 38-40.
- Shahidi 1990 Shahidi, F: Rapeseed and Canola: Global Production and Distribution. In: *Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Shahidi u. Naczki 1990 Shahidi, F; Naczki, M: Removal of Glucosinolates and Other Antinutrients from Canola and Rapeseed by Methanol/Ammonia Processing. In: *Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Shahidi et al. 1997 Shahidi, F; Daun, J K; DeClercq, D R: Glucosinolates in Brassica Oilseeds: Processing Effects and Extraction. In: *Antinutrients and Phytochemicals in Food*. Shahidi, F (Ed), AOCS Press, Champaign, Illinois, USA (1997).
- Shamsuddin 2002 Shamsuddin, A M: Anti-Cancer Function of Phytic Acid. *International Journal of Food Science and Technology* 37 (2002), 769-782.
- Sörensen 1990 Sörensen, H: Glucosinolates: Structure - Properties - Function. In: *Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Sörensen 1999 Sörensen, H: *Chromatography and Capillary Electrophoresis in Food Analysis*. ISBN 0-85404-561-9, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1999).

- Sörensen et al. 2000 Sörensen, H; Palmieri, S; Gueguen, J; Walker, K; Brinck, K; Luck, T; Kjoller, C: High Quality Oils, Proteins and Bioactive Products for Food and Non-Food Purposes Based on Biorefining of Cruciferous Oilseed Crops. Final Report. Freising: Fraunhofer IVV, FAIR CT95-0260 (2000).
- Sosulski 1979 Sosulski, F W: Organoleptic and Nutritional Effects of Phenolic Compounds on Oilseed Protein Products - a Review. Journal of the American Oil Chemists' Society 56 (1979), 711-715.
- Sosulski 1981 Sosulski, F W: Fractionation of Rapeseed Meal into Flour and Hull Components. Journal of the American Oil Chemists' Society 58 (1981), 96-98.
- Synge 1975 Synge, R L M: Interaction of Polyphenols with Proteins in Plants and Plant Products. Qual. Plant.-Pl.Fds.hum. Nutr. XXIV (3/4) (1975), 337-350.
- Ternes 1994 Ternes, W: Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung. 2. Auflage, Behr's Verlag, Hamburg (1994).
- Thomas u. Bruck 1995 Thomas, A; vom Bruck, C G: Forderungen der Lebensmittelindustrie an neue Rapssorten. Fette - Seifen - Anstrichmittel 87 (1985), 460-463.
- Thompson 1987 Thompson, L U.: Reduction of Phytic Acid Concentration in Protein Isolates by Acylation Techniques. Journal of the American Oil Chemists' Society 64 (1987), 1712-1717.
- Tolstoguzov 2001 Tolstoguzov, V B: Some Thermodynamic Considerations in Food Formulation. Food Hydrocolloids 17 (2001), 1-23.
- Tzen et al. 1992 Tzen J T C; Lie, G C; Huang, A H C: Characterization of the Charged Components and Their Topology on the Surface of Plant Seed Oil Bodies. The Journal of Biological Chemistry 22 (1992), 15626-15634.
- Unger 1990 Unger, E H: Commercial Processing of Canola and Rapeseed: Crushing and Oil Extraction. In: Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology. Shahidi, F (Ed), Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York (1990).
- Ursumi et al. 1997 Ursumi, S; Matsumura, Y; Mori, T: Structure-Function Relationships of Soy Proteins. In: Food Proteins and

- their Applications. Damodaran, S; Paraf, A (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York (1997).
- van Mengen 1981 Van Mengen, W H: Process for Producing a Detoxified Rapeseed Protein Concentrate. US- Patent 4,244,973 (1981).
- Wäsche u. Luck 1994 Wäsche, A; Luck, T: Großtechnische Ölgewinnung und Entwicklungsperspektiven der Ölmühlentechnik. VDI Berichte Nr. 1126, 53-76 (1994).
- Wäsche 2001 Wäsche, A: Simultane Öl- und Proteingewinnung bei Raps. Dissertation, Technische Universität Berlin, Berlin (2001).
- Wäsche 2002 Wäsche, A: Einschätzung der Marktlage und technologischer Prozesse zur Konfektionierung von Sojaproteinen. Fraunhofer IVV, interner Bericht (2002).
- Westphal et al. 2003 Westphal, G; Gerber, G; Lipke, B: Proteine - nutritive und funktionelle Eigenschaften. Springer-Verlag, Berlin (2003).
- Woerfel 1995 Woerfel, J B: Extraction. In: Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization. Erickson, D.R. (Ed), AOCS Press, Champaign, Illinois, USA (1995).
- Yoon et al. 1991 Yoon, S-H; Kim, I-H; Kim, S-H; Kwon, T-W: Effects of Enzyme Treatments and Ultrasonification on Extraction Yields of Lipids and Protein from Soybean by Aqueous Process. Korean Journal of Food Science Technology 23 (1991), 673-676.
- Yasumatsu et al. 1972 Yasumatsu, K, Sawada, K, Moritaka, S, Misaki, M, Toda, J, Wada, T, Ishii, K: Whipping and Emulsifying Properties of Soybean Products. Agricultural and Biological Chemistry 36 (1972), 719-727.
- Yiu et al. 1982 Yiu, S H; Poon, H; Fulcher, R G; Altosaar, I: The Microscopic Structure and Chemistry of Rapeseed and its Products. Food Microstructure 1 (1982), 135-142.

Lebenslauf

von Axel Natsch

Persönliche Daten:	Familienstand: ledig Staatsangehörigkeit: deutsch Geboren am 02. Juli 1973 in Georgsmarienhütte
Schulbildung:	1980-1984 Grundschule in 49170 Hagen a.T.W. 1984-1986 Orientierungsstufe in 49170 Hagen a.T.W. 1986-1993 Gymnasium in 49124 Georgsmarienhütte
Ersatzdienst:	1993-1994 Rettungsdienst und Krankentransport beim DRK im Landkreis Osnabrück
Hochschulausbildung:	1994-1997 Technische Universität Berlin, Fachrichtung Lebensmitteltechnologie 1997-1998 Universität für Bodenkultur, Wien Fachrichtung: Lebensmittel- und Biotechnologie 1998-2000 Technische Universität Berlin, Fachrichtung Lebensmitteltechnologie
Berufstätigkeit:	200-2003 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, 85354 Freising 2003-2005 Leiter des Technikums am Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V., 49610 Quakenbrück. Seit 2005 Lehrkraft im Angestelltenverhältnis am Reckenberg Berufskolleg, 33378 Rheda-Wiedenbrück