

Herstellung von Proteinprodukten auf der Grundlage eines Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Markerbsen

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Heiko Fuhrmeister
aus Wolfenbüttel

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

Doktor der Ingenieurwissenschaften
- Dr.-Ing. -

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuß:

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. H. Kunzek

1. Bericht: Prof. Dr. Dr. e.h. F. Meuser

2. Bericht: Prof. Dr.-Ing. D. Knorr

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 09.10.2000

Berlin 2001

D83

Danksagung

Am Zustandekommen dieser Arbeit waren viele Menschen direkt und indirekt beteiligt, denen ich an dieser Stelle ganz herzlich danken möchte.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. Dr. e. h. F. Meuser, der diese Arbeit initiiert und gefördert hat und mich von seinem reichen Kenntnis- und Erfahrungsschatz profitieren ließ.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. H. Kunzek und Herrn Prof. Dr. D. Knorr danke ich für ihre Mitwirkung im Promotionsausschuß und das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Fachgebiets Getreidetechnologie der TU Berlin sei an dieser Stelle für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der praktischen Arbeiten gedankt. Besonders erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang Frau Dipl.-Ing. V. Beck, Herrn Dipl.-Ing. U. Castillo, Frau H. Malitz, Herrn L. Schröter sowie Frau Dipl.-Ing. Ch. Webering.

Schließlich möchte ich mich ganz besonders herzlich bei meiner Familie, insbesondere meiner Frau und meinen Kindern, für die mir entgegengebrachte Rücksicht und Geduld während der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Heiko Fuhrmeister

Berlin, Januar 2001

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	STAND DES WISSENS	5
2.1	Verfahren zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen	5
2.1.1	Vergleichende Betrachtung der naßtechnischen Verfahren im Hinblick auf die Gewinnung des Proteins	7
2.2	Kenntnisstand zu ernährungsphysiologischen und funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten aus Erbsen und anderen Leguminosen	8
2.2.1	Ernährungsphysiologische Eigenschaften	8
2.2.2	Funktionelle Eigenschaften	11
3	MATERIAL UND METHODEN	15
3.1	Versuchsmaterial	15
3.2	Durchführung von Versuchen zur Quellung des Rohstoffs	16
3.3	Durchführung von Versuchen zur Herstellung von Proteinprodukten aus Markerbsen auf der Grundlage des TUB-Verfahrens	17
3.3.1	Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlöslichen Proteins	17
3.3.2	Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens löslichen Proteins	18
3.3.2.1	Fällung	19
3.3.2.2	Ultrafiltration	20
3.3.2.2.1	Versuche unter Verwendung von Rührzellenmodulen (Vorversuche)	21
3.3.2.2.2	Versuche unter Verwendung von Miniatur-Plattenmodulen bzw. Hohlfasermodulen	22
3.3.2.3	Trocknung der Koagulate und Retentate	24

3.4	Herstellung eines Proteinprodukts aus Markerbsen in Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren	25
3.5	Analysenmethoden	26
3.5.1	Bestimmung des Wassergehalts	26
3.5.2	Bestimmung des Rohproteingehalts	26
3.5.3	Bestimmung des Stärkegehalts	26
3.5.4	Bestimmung des Gesamtballaststoffgehalts	27
3.5.5	Bestimmung des Fettgehalts	27
3.5.6	Bestimmung des Mineralstoffgehalts	27
3.5.7	Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität	27
3.5.8	Bestimmung des Phytinsäuregehalts	27
3.5.9	Bestimmung des Gehalts an flatusfördernden Oligosacchariden (α -Galactosiden)	27
3.5.10	Bestimmung des Tanningehalts	28
3.5.11	Bestimmung der <i>in vitro</i> Protein-Verdaulichkeit	28
3.6	Materialien und Methoden zur Charakterisierung der Proteinprodukte bezüglich ihrer funktionellen Eigenschaften	28
3.6.1	Bestimmung der Proteinlöslichkeit	29
3.6.2	Bestimmung der Emulgiereigenschaften	30
3.6.3	Bestimmung der Wasserbindekapazität	31
3.6.4	Bestimmung der Fettbindekapazität	31
3.6.5	Bestimmung der Schaumbildungseigenschaften	32
3.7	Statistische Auswertung der Versuche	33
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	35
4.1	Untersuchungen zur Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens löslichen Proteinanteils	35
4.1.1	Fällung	35
4.1.1.1	Thermische Fällung	36
4.1.1.2	Saure Fällung	42
4.1.1.3	Thermisch-saure Fällung	45
4.1.2	Ultrafiltration	47

4.1.2.1	Voruntersuchungen zur Eignung unterschiedlicher Membranmaterialien im Hinblick auf die Filtration von Markerbsenextrakten	47
4.1.2.2	Einfluß der nominalen Trenngrenze der Ultrafiltrationsmembran auf den Permeatfluß und das Rückhaltevermögen	51
4.1.2.3	Einfluß der Filtrationsparameter auf den Permeatfluß sowie die Trenncharakteristik der Membranen	54
4.2	Untersuchungen zur Verminderung von antinutritiven Substanzen in den herstellbaren Proteinprodukten	62
4.2.1	Einfluß der Quellung	62
4.2.2	Einfluß der Fällung	71
4.2.2.1	Thermische Fällung	71
4.2.2.2	Saure bzw. thermisch-saure Fällung	75
4.2.3	Einfluß der Ultrafiltration	80
4.3	Untersuchung der Proteinprodukte hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften	84
4.3.1	Inhaltsstoffzusammensetzung der Proteinprodukte	85
4.3.2	Proteinlöslichkeit	86
4.3.3	Emulgiereigenschaften	90
4.3.4	Schaumbildungseigenschaften	95
4.3.5	Wasser- und Fettbindungseigenschaften	100
5	ZUSAMMENFASSUNG	101
6	LITERATURVERZEICHNIS	111
7	ANHANG	123

Verzeichnis der verwendeten Einheiten und Abkürzungen

Einheiten

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

Alle übrigen verwendeten Einheiten entsprechen dem **S**ystème **I**nternational d'**U**nités (SI).

Abkürzungen

Φ	Ölanteil im Emulsionsansatz
A	Absorption
AACC	American Association of Cereal Chemists
Abb.	Abbildung
ANS	Antinutritive Substanzen
AOCS	American Oil Chemists Society
C	Konzentration
Ca	Calcium
ca.	zirka
d.h.	das heißt
dest.	destilliert
DIN	Deutsches Institut für Normung
DR	Drainage
E	Emulgatoranteil in der Emulsion
EAI	Emulsifying Activity Index
EC	Emulsifying Capacity
EN	Euro Norm
EPI	Erbsenproteinisolat aus Palerbsen
ES	Emulsionsstabilität
FBK	Fettbindekapazität
FC	Foaming Capacity
Fe	Eisen
ggf.	gegebenenfalls
HCl	Salzsäure
ICC	International Association for Cereal Science and Technology
ISO	International Organization for Standardization

IVP	<i>in vitro</i> Proteinverdaulichkeit
J	Permeatfluß
KPP-S	Proteinprodukt aus Markerbsen, mittels saurer Fällung bei Raumtemperatur hergestellt
KPP-T ₆₀	Proteinprodukt aus Markerbsen, mittels thermisch-saurer Fällung bei 60 °C hergestellt
KPP-T ₈₀	Proteinprodukt aus Markerbsen, mittels thermisch-saurer Fällung bei 80 °C hergestellt
l	Länge
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
M	Molare Masse
m	Masse
MPP	Proteinprodukt aus Markerbsen, mittels Membranfiltration hergestellt
N	Normalität
N	Stickstoff
NaOH	Natriumhydroxyd bzw. Natronlauge
N-Substanzen	stickstoffhaltige Substanzen
NSI	Nitrogen Solubility Index
PDI	Protein Dispersibility Index
pI	isoelektrischer Punkt
r ²	Bestimmtheitsmaß
reg.	regeneriert
rel.	relativ
RFR	Relative Flußreduzierung
SBK	Schaumbildungskapazität
SPI	Sojaproteinisolat
SS	Schaumstabilität
T	Trübung
Tab.	Tabelle
TI	Trypsininhibitor
TIU	Trypsininhibitor-Units
TS	Trockensubstanz
TUB-Verfahren	Verfahren zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen nach MEUSER et al.
U	Umdrehungszahl
u.a	unter anderem
UF	Ultrafiltration
UPP	Proteinprodukt aus Markerbsen, unter den Verfahrensbedingungen des TUB-Verfahrens unlöslich
V	Volumen
VCR	Volumenkonzentrierungsverhältnis
VF	Verdünnungsfaktor
vgl.	vergleiche
WBK	Wasserbindekazität
WSN	Water Soluble Nitrogen
z.T.	zum Teil

1 Einleitung und Problemstellung

In den letzten Jahren ist in Mitteleuropa die Verwendung von Markerbsen zur Stärkegewinnung verstärkt in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Interesses gerückt. Dies resultiert daraus, daß die Stärke der Markerbsen einen hohen Amylosegehalt von ca. 65 % besitzt, aus dem sich besondere physikalische Eigenschaften ergeben, die für vielfältige Einsatzmöglichkeiten interessant sind (1-4). Als Beispiele seien hier die Verwendung als Trägermaterial für Aromen, Vitamine oder pharmazeutische Wirkstoffe oder als Bildner selbsttragender und nicht selbsttragender Filme, wie z.B. Folien, Laminaten und Überzügen, genannt. Darüber hinaus sind Markerbsen, im Gegensatz zu anderen Rohstoffen mit amylosereichen Stärken, wie z.B. Amylomais, an die klimatischen Bedingungen in Mitteleuropa angepaßt.

Es hat daher verschiedene verfahrenstechnische Ansätze zur Stärkegewinnung aus Markerbsen gegeben (5-11). Eines der diesbezüglich am weitesten entwickelten Verfahren ist das an der Technischen Universität Berlin entwickelte TUB-Verfahren (9,10). Obwohl die wesentlichen Probleme, die sich bei der Gewinnung von Stärke aus Markerbsen ergeben, mit diesem Verfahren gelöst werden konnten, ist seine industrielle Umsetzung aus ökonomischer Sicht noch problematisch. Der Grund hierfür besteht darin, daß der Stärkegehalt der Markerbsen wesentlich kleiner ist als der konventioneller Rohstoffe, wie insbesondere Mais und Weizenmehl. Aus der Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß Markerbsen zu jeweils etwa einem Drittel aus Stärke, Protein und Faserstoffen bestehen. Daraus ergibt sich, daß im Hinblick auf die Realisierung des Einsatzes von Markerbsen zur Stärkegewinnung der Herstellung von Protein- und Faserprodukten ein hoher Stellenwert für die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens zukommt.

Für die im TUB-Verfahren anfallende Faserfraktion, die überwiegend aus den Zellwänden der Kotyledonen besteht, konnten NIEMANN et al. bereits zeigen, daß diese durch intensives Auswaschen der Reststärke und des Proteins zu einem hochwertigen Ballaststoffkonzentrat aufgearbeitet werden kann. Das Produkt hat einen Ballaststoffgehalt von 73-80 %. Es besitzt ein hohes Wasserbinde- und Quellvermögen und bildet in kaltem und warmem Wasser Partikelgele mit einer hohen Scherstabilität (12,13). Aufgrund dieser Eigenschaften und der sich daraus ergebenden potentiellen Anwendungsmöglichkeiten bei der Lebensmittelherstellung kann für dieses Produkt ein hohes Wertschöpfungspotential angenommen werden.

Tab.1: Hauptinhaltsstoffzusammensetzung verschiedener Markersensorten

Erbsensorte	Inhaltsstoffgehalt [%TS]			
	Stärke	Protein	Ballaststoffe	Total
Markana	31,0	27,1	28,2	86,4
Salout	28,9	30,5	24,9	84,3
Sprinter	34,1	29,3	27,3	90,7

1) Angegeben als Gesamtballaststoffe

Quelle: MEUSER et al. (1996)

Dagegen sind die Herstellung von Proteinprodukten sowie deren Eigenschaften bisher erst in Teilen untersucht worden. Das Protein wird unter den auf die Stärkegewinnung abgestimmten Verfahrensbedingungen in einen löslichen und unlöslichen Anteil fraktioniert. Der unlösliche Anteil ist nach der Auswaschung der Stärke aus dem naßvermahlenden Rohstoff größtenteils im Prozeßwasser dispergiert und kann aus diesem mittels Zentrifugation als Proteinprodukt mit einem auf die Trockenmasse bezogenen Proteingehalt von ca. 70 % abgetrennt werden. Während die Gewinnung des unlöslichen Proteins somit als geklärt angesehen werden kann, trifft dies für die Gewinnung des löslichen Anteils nicht zu. Prinzipiell kann dieser Proteinanteil mittels Fällungs- oder Ultrafiltrationsverfahren gewonnen werden. Bisher liegen jedoch noch keine ausreichenden Kenntnisse bezüglich der im Hinblick auf die Erzielung einer hohen Produktausbeute anzuwendenden Verfahrensparameter vor. Das gleiche gilt weitestgehend auch für die Qualitätsparameter der herstellbaren Proteinprodukte, welche im wesentlichen in deren ernährungsphysiologischen und funktionellen Eigenschaften bestehen. Die Aufgabenstellung für die vorliegende Arbeit bestand daher darin, diese Kenntnislücken zu schließen.

Die Aufgabenstellung wurde in drei Teile untergliedert. Im ersten Abschnitt wurde mit geeigneten Modellversuchen der Einfluß der Verfahrensparameter von Fällungs- und Ultrafiltrationsverfahren auf die Gewinnbarkeit des löslichen Proteinanteils festgestellt. Bezüglich der Fällungsverfahren wurde sowohl die Fällung am isoelektrischen Punkt als auch die Koagulation des Proteins mittels thermischer Energie berücksichtigt. Im Zusammenhang mit der Ultrafiltration wurde der erzielbare Perme -

atfluß in die Untersuchungen einbezogen, da dieser neben der Produktausbeute die Wirtschaftlichkeit von Ultrafiltrationsverfahren wesentlich mitbestimmt.

Im zweiten Teil wurde die Qualität der herstellbaren Produkte im Hinblick auf ernährungsphysiologische Aspekte untersucht. Diesbezüglich ist bei Leguminosenproteinen insbesondere deren Aminosäurezusammensetzung sowie der Gehalt an Substanzen mit antinutritiver Wirkung (ANS) von Bedeutung. Die Aminosäurezusammensetzung von Markerbseprotein sowie seinen Fraktionen ist von KRÖNER (14) bereits eingehend beschrieben worden, so daß im Rahmen der vorliegenden Arbeit die antinutritiven Substanzen schwerpunktmäßig untersucht wurden. Ziel der Untersuchungen war es festzustellen, inwieweit durch die Wahl geeigneter Verfahrensparameter Proteinprodukte mit einem kleinen Gehalt an Substanzen mit antinutritiver Wirkung hergestellt werden können. Diesbezüglich war neben dem Einfluß von Fällungs- und Ultrafiltrationsverfahren auch der Einfluß der Rohstoffquellung zu untersuchen, da diese einen vielversprechenden Verfahrensschritt zur Verminderung der ANS im Quellgut darstellt. Zudem ist dieser Verfahrensschritt ein fester Bestandteil des TUB-Verfahrens, welcher der Vorbereitung des Rohstoffs auf den Naßschälprozeß dient. Er stellt somit im Hinblick auf die Zielsetzung der Verminderung der ANS keinen zusätzlichen verfahrenstechnischen Aufwand dar.

Im dritten Teil wurden die im Verfahren herstellbaren Proteinprodukte hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften charakterisiert. Dazu wurden Proteinprodukte unter ausgewählten Bedingungen hergestellt und mit kommerziellen Referenzprodukten aus Soja und Pelerbsen verglichen.

2 Stand des Wissens

2.1 Verfahren zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen

Aufgrund des angenommenen besonderen Werts der hochamylosehaltigen Markerbsenstärke hat es viele Versuche gegeben, für deren Gewinnung technische Verfahren zu entwickeln (5-10). Die meisten Entwicklungen erfolgten im Labormaßstab. Nur in zwei Fällen ist die Entwicklung bis in den Pilot- bzw. Industriemaßstab fortgeführt worden (10,11). Bei letztgenannten handelt es sich ausschließlich um naßtechnische Verfahren. Zwar ist auch der Versuch unternommen worden, den Rohstoff auf trockentechnischem Wege mittels Feinmahlung und Windsichtung in eine stärke- und eine proteinreiche Fraktion zu trennen. Dieser Weg führte jedoch, anders als beispielsweise bei Palerbsen, zu keinem befriedigenden Ergebnis (6). Der Grund hierfür bestand darin, daß im Falle von Markerbsen die Proteinpartikel offenbar fester an die Oberfläche der Stärke gebunden sind, als dies bei Palerbsen der Fall ist (5). So wurden von COLONNA et al. in der stärkereichen Fraktion, die ca. 42 % des Ausgangsmaterials der eingesetzten Markerbsen ausmachte, lediglich 45,7 % der in der Ausgangsmasse des Sichtguts enthaltenen Gesamtmasse an Stärke erhalten. Entsprechend war der Proteingehalt in der proteinreichen Fraktion mit 36 % gegenüber dem des Rohstoffs (27 %) nur geringfügig angehoben.

Bei der Entwicklung der naßtechnischen Verfahren sind zwei Lösungsansätze verfolgt worden. Diese unterscheiden sich im wesentlichen in der Abtrennung der Samenschale, der Vermahlung des Rohstoffs sowie der Gewinnung des Proteins.

Nach dem von GABRIEL-BLANKE et al. (8) entwickelten und von KRIKKEN (11) in den Industriemaßstab übertragenden FLOTTWEG-Verfahren wird der Rohstoff, ähnlich wie bei der Herstellung von Getreidemehlen, mittels Walzenstühlen trocken vermahlen und die dabei anfallenden Schalenbruchstücke mittels Siebung und Sichtung aus dem Mehl entfernt. Die dabei als Schalenfraktion abgetrennte Trockenmasse macht ca. 12 % der Gesamtmasse des Rohstoffs aus. Anschließend wird das im Erbsenmehl enthaltene Protein gelöst. Hierzu wird das Mehl in einem Rührtank mit Wasser suspendiert. Nach einer Verweilzeit von maximal einer Stunde wird die Suspension über einen Dekanter geleitet, um das in Lösung gegangene Protein im Oberlauf abzutrennen. Der im Unterlauf des Dekanters anfallende Feststoff wird anschließend noch zweimal mit Wasser suspendiert und dekantiert, wobei vor der letzten Dekanterstufe zur Lösung restlichen Proteins der pH mit NaOH auf einen

Wert von 9-10 eingestellt wird. Der Oberlauf der dritten Dekanterstufe wird in die zweite und diese in die erste zurückgeführt. Hierdurch ist eine Art Gegenstromextraktion und damit eine hohe Konzentration an gelösten Substanzen im Oberlauf der ersten Dekanterstufe gewährleistet. Nach dem Inlösungbringen der Proteine erfolgt die eigentliche Trennung der Stärke von der Faser mittels einer mehrstufigen Naßsiegung. Die dabei als Unterlauf anfallende Suspension wird über eine Dekantierzentrifuge entwässert und anschließend in einem Stromtrockner getrocknet. Das gelöste Protein wird durch Einstellen des pH mit Schwefelsäure auf einen Wert von 4,0-4,3 und Erwärmen der Lösung auf 70-80 °C koaguliert. Auf diese Weise können ca. 79 % der im Rohstoff enthaltenen Proteintrockenmasse als Proteinprodukt gewonnen werden. Das koagulierte Protein wird mittels Dekantierzentrifugen entwässert und in einem nicht näher spezifizierten Trockner getrocknet. Der Oberlauf des Proteindekanters wird gemäß der Patentschrift eingedampft. Die Faserfraktion wird auf einem ebenfalls nicht näher spezifizierten Trockner getrocknet und kann als Viehfutter verwendet werden.

In dem von MEUSER et al. entwickelten TUB-Verfahren wird die Abtrennung der Samenschale auf naßtechnischem Wege vorgenommen (9,10). Hierzu wird der Rohstoff zu dessen Vorbereitung zunächst in Wasser gequollen. Dadurch wird infolge der intensiven Wasseraufnahme die runzlige Oberfläche der Erbsen geglättet und die Zellstruktur der Erbsen aufgeweicht, so daß in dem sich anschließenden Naßschälprozeß die Samenschale zwischen rotierenden Gummivalzen von den Kotyledonen abgestreift werden kann. Die Schalen können aufgrund ihres Dichteunterschieds mittels Flotation oder durch zentrifugale Trenntechnik von den Kotyledonen getrennt werden. Die Kotyledonen werden anschließend in einer Zahnringmühle naßzerkleinert. In der nachfolgenden Verfahrensstufe wird die Stärke mittels Naßsiegung aus der Kotyledonenmasse ausgewaschen. Da die Kotyledonenmasse anders als im FLOTTWEG-Verfahren ohne eine vorherige Extraktion des Proteins zur Naßsiegung eingesetzt wird, ergibt es sich, daß in den als Siebunterlauf anfallenden Mühlenstärkestrom auch der Großteil des Proteins des Rohstoffs übergeht. Dieses liegt unter dem sich im Prozeß einstellenden pH von ca. 6,5 zum Teil in gelöster und zum Teil in ungelöster Form vor. Der ungelöste Anteil ist zum Teil fest an die Oberfläche der Stärkekörner gebunden. Die Stärke kann daher nicht ohne weiteres mittels Zentrifugalkraftabscheidung vom Protein getrennt werden. Aus diesem Grunde ist der zentrifugalen Trennstufe ein Hochdruckhomogenisator vorgeschaltet, der infolge der im Homogenisierventil wirkenden großen Scherkräfte die Protein-Stärke-Partikel desintegriert. Die eigentliche Trennung von ungelöstem

Protein und Stärke erfolgt in einer Hydrozyklonanlage, wobei das Protein in den Oberlauf und die Stärke in den Unterlauf gelangt. Die Stärke wird anschließend unter Verwendung von Frischwasser und z.T. auch von Alkalien raffiniert und getrocknet. Das unlösliche Protein wird aus dem Oberlauf der Hydrozyklonanlage mittels einer Dekantierzentrifuge abgeschieden und danach ebenfalls getrocknet. Der unter den Verfahrensbedingungen im Prozeßwasser gelöste Proteinanteil wird entweder mittels Fällungs- oder mittels Ultrafiltrationsverfahren als Proteinprodukt gewonnen.

2.1.1 Vergleichende Betrachtung der naßtechnischen Verfahren im Hinblick auf die Gewinnung des Proteins

Im Hinblick auf die Gewinnung des Proteins besteht der wesentliche Unterschied zwischen dem TUB- und dem FLOTTWEG-Verfahren darin, daß bei ersterem das Protein nicht in einer, sondern in zwei getrennten Fraktionen anfällt. Hieraus ergibt sich für das FLOTTWEG-Verfahren gegenüber dem TUB-Verfahren der Vorteil eines geringeren verfahrenstechnischen Aufwands zur Gewinnung des Proteins. Ein möglicher Vorteil des TUB-Verfahrens gegenüber dem FLOTTWEG-Verfahren besteht hingegen ggf. darin, daß durch die Fraktionierung des Proteins hinsichtlich seiner Löslichkeit Proteinprodukte mit unterschiedlichen funktionellen Eigenschaften hergestellt werden können. Hiervon ist insbesondere deshalb auszugehen, weil die wesentlichen funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten eng mit deren Löslichkeit verbunden sind (15,16) .

Ein Vorteil des FLOTTWEG-Verfahrens besteht außerdem darin, daß mit diesem höhere Proteinausbeuten als mit dem TUB-Verfahren erzielt werden können. Dies ergibt sich insbesondere daraus, daß das Protein unter den alkalischen Bedingungen des angewendeten Extraktionsverfahrens weitreichender aus dem zerkleinerten Rohstoff herausgelöst werden kann, als dies mit dem beim TUB-Verfahren eingesetzten Auswaschprozeß bei annähernd neutralem pH möglich ist. Auf die Erzielung einer hohen Proteinausbeute sind im FLOTTWEG-Verfahren auch die Parameter zur Fällung des gelösten Proteins gerichtet. Es wird eine vergleichsweise hohe Erwärmungstemperatur von 70-80 °C und eine lange Erwärmungszeit von ca. 2 h gewählt. Dabei wird in Kauf genommen, daß unter derart extremen Fällungsbedingungen Proteine zumeist stark denaturiert werden. Dies geht im allgemeinen mit einer drastischen Verminderung ihrer Löslichkeit sowie einer Veränderung der damit in Verbindung stehenden funktionellen Eigenschaften einher. Es ist daher

davon auszugehen, daß die im FLOTTWEG-Verfahren anfallenden Proteinprodukte bezüglich ihrer Anwendbarkeit als funktionelle Lebensmittelkomponenten deutlich eingeschränkt sind.

Anders als das Verfahrenskonzept des FLOTTWEG-Verfahrens ist das des TUB-Verfahrens nicht allein auf die Erzielung einer hohen Ausbeute gerichtet. Eine weitere wichtige Zielsetzung besteht darin, Proteinprodukte mit einer hohen Funktionalität herzustellen. Damit soll ein großes Wertschöpfungspotential erhalten werden, weil dies im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit eines Verfahrens zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen eine grundlegende Voraussetzung darstellt. Zur Ausschöpfung des gesamten funktionellen Potentials des Proteins ist es daher vorgesehen, die Proteinprodukte unter solchen Bedingungen herzustellen, die den weitestgehenden Erhalt der nativen Eigenschaften des Proteins ermöglichen. Dies wird unter anderem dadurch erreicht, daß bei der Fällung vergleichsweise milde Temperaturen (≤ 60 °C) gewählt werden bzw. auf eine Koagulation des Proteins vollständig verzichtet wird, indem dessen Rückgewinnung aus dem Prozeßwasser mittels Ultrafiltration vorgenommen wird. Inwieweit diese Vorgehensweise tatsächlich vorteilhaft im Hinblick auf die Eigenschaften der Proteinprodukte ist, ist bisher noch nicht untersucht worden. Eine der Zielsetzungen der vorliegenden Arbeit war es daher, diese Lücke zu schließen.

2.2 Kenntnisstand zu ernährungsphysiologischen und funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten aus Erbsen und anderen Leguminosen

Das Wertschöpfungspotential von Proteinprodukten wird im wesentlichen von deren ernährungsphysiologischen und funktionellen Eigenschaften determiniert. Diese Eigenschaften stellen somit wichtige Zielgrößen zur Beschreibung der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Proteinprodukte dar. Sie werden daher nachfolgend im einzelnen beleuchtet.

2.2.1 Ernährungsphysiologische Eigenschaften

Die mit der Nahrung aufgenommenen Proteine werden vom menschlichen und tierischen Organismus insbesondere zum Aufbau körpereigenen Proteins verwendet. Inwieweit die Proteine in dieser Weise vom Organismus genutzt werden können, hängt vor allem von deren Aminosäurezusammensetzung sowie deren

Verdaulichkeit und Verfügbarkeit ab. Hinsichtlich der Aminosäurezusammensetzung ist hauptsächlich der Gehalt an essentiellen Aminosäuren entscheidend, da diese vom menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden können. Die Aminosäurezusammensetzung von Erbsenprotein ist weitgehend bekannt. Erbsenprotein ist im Hinblick auf seine Aminosäurezusammensetzung mit Sojaprotein vergleichbar. Nach Untersuchungen von KRÖNER besteht zwischen Pal- und Markerbsenprotein kein signifikanter Unterschied in der Aminosäurezusammensetzung (14).

Im Hinblick auf ihre ernährungsphysiologische Wertigkeit sind sowohl Erbsen- als auch Sojaprotein durch einen kleinen Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren (Cystein und Methionin) limitiert (14,17-19). Als herausragendes positives Merkmal ist hingegen ihr ausgesprochen hoher Lysingehalt zu nennen. Dies legt unter ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten eine Kombination dieser Proteine z.B. mit Weizenproteinen nahe, da in diesen Lysin die limitierende Komponente ist, und sie zudem einen hohen Anteil an schwefelhaltigen Aminosäuren besitzen.

Neben der Aminosäurezusammensetzung des Gesamtproteins von Erbsen sind von einigen Autoren auch diejenige der Albumin-, Globulin- und Glutelinfraktion untersucht worden (14,20-22). Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind jedoch z.T. sehr widersprüchlich. Während nach Untersuchungen von GWIAZDA et al. (22) sowie LASZTITY et al. (20) in der Albuminfraktion gegenüber dem Gesamtprotein ein erhöhter Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren vorliegt und damit eine erhöhte ernährungsphysiologische Wertigkeit besteht, konnte KRÖNER (14) diese Ergebnisse mit seinen Untersuchungen nicht bestätigen. Der Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte gegebenenfalls daran liegen, daß die Autoren z.T. sehr unterschiedliche Techniken zur Fraktionierung der Proteine verwendeten. Ein weiterer Grund für die Abweichungen könnte darin bestehen, daß KRÖNER im Gegensatz zu den zitierten Autoren zur Lösung des Albumins Leitungswasser anstelle von destilliertem Wasser verwendete, um den Bedingungen eines naßtechnischen Verfahrens zur Gewinnung von Stärke und Protein aus Erbsen möglichst nahe zu kommen.

Neben der Aminosäurezusammensetzung ist im Hinblick auf die ernährungsphysiologische Wertigkeit von Proteinprodukten auch deren Gehalt an Begleitstoffen mit antinutritiver Wirkung (ANS) von Bedeutung. Im Zusammenhang mit Leguminosenproteinen sind diesbezüglich insbesondere Trypsininhibitoren, Hämagglutinine, Phytinsäure sowie Tannine zu nennen (23).

Trypsininhibitoren setzen durch die Blockierung des körpereigenen Trypsins die Proteinverwertung im menschlichen und tierischen Verdauungssystem herab. Zudem wurde festgestellt, daß im Falle von Ratten und Hühnern die Aufnahme großer Mengen an Trypsininhibitoren zu einem abnormen Wachstum der Bauchspeicheldrüse sowie einer abnormen Sekretion derselben führt (24,25). Erbsen enthalten gemäß GATEL & GROSJEAN (26) Trypsininhibitorgehalte, die 5-20 mal kleiner sind als diejenigen von Sojabohnen. Es wird jedoch trotzdem davon ausgegangen, daß zumindest die Konzentrationen im oberen Bereich dieser Variationsbreite ernährungsphysiologisch signifikant sind (27).

Hämagglutinine, auch Lectine genannt, sind Proteine bzw. Glucoproteine mit einer Affinität für bestimmte Zuckermoleküle. Da die Zellmembranen häufig Kohlenhydratbestandteile besitzen, können sich Lectine an diese Rezeptorstellen anhaften und zur Agglutination von Zellen führen. Die antinutritive Wirkung bei der oralen Aufnahme scheint damit zusammenzuhängen, daß die Hämagglutinine sich an Rezeptorstellen von Darmepithelzellen binden und somit den Durchtritt von Nährstoffen durch die Darmwand unspezifisch hemmen (28). Hämagglutinierende Wirkung und Toxizität gehen jedoch nicht immer parallel. In Erbsen sind Lectine aufgrund ihres kleinen Gehalts sowie ihrer geringen Toxizität im Vergleich zu anderen Leguminosen nur wenig signifikant (28-30). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Hämagglutinine daher nicht berücksichtigt.

Phytinsäure ist der Hexaphosphatester des Myoinositols. Sie kann aufgrund der im Molekül vorhandenen reaktiven Phosphatgruppen intramolekular mit mehrwertigen Kationen komplexieren. Es können auch Phosphatgruppen verschiedener Phytinsäuremoleküle an der Komplexbildung mit einem Kation beteiligt sein (31). Deshalb wird Phytinsäure für eine verminderte Verfügbarkeit der in der Nahrung enthaltenen Mineralstoffe verantwortlich gemacht. Darüber hinaus wird z.T. kontrovers diskutiert, daß Phytinsäure als Proteaseinhibitor wirkt (23,31-33). Der Phytinsäuregehalt von Erbsen wird in der Literatur mit 0,6-1 % angegeben (32,34).

Polyphenole (Tannine) wirken insbesondere in kondensierter Form antinutritiv (35). Durch Bildung von komplexen Verbindungen mit Proteinen wird die Löslichkeit der gebundenen Proteine herabgesetzt und damit deren enzymatische Suszeptibilität vermindert. Werden durch sie Enzyme komplexiert, so können diese inaktiviert werden (35). Des Weiteren wird davon berichtet, daß Polyphenole die Bioverfüg-

barkeit von Vitaminen und Mineralstoffen herabsetzen können (36,37). Der größte Anteil der Polyphenole kommt bei Hülsenfrüchten in der Schale vor. Die von den Schalen befreiten Kotyledonen besitzen daher gegenüber den ungeschälten Samen einen deutlich verminderten Polyphenolgehalt

Neben diesen antinutritiven Faktoren enthalten Proteinprodukte aus Leguminosen zudem häufig sog. antiphysiologische Faktoren. Diese vermindern zwar nicht die Verfügbarkeit wertgebender Inhaltsstoffe, ihre Aufnahme wirkt sich jedoch in anderer Weise nachteilig auf den Organismus aus. Hierzu zählen insbesondere flatulenzfördernde α -Galactoside, wie Raffinose, Stachyose und Verbascose. Die flatulenzfördernde Wirkung der α -Galactoside beruht darauf, daß sie vom menschlichen bzw. tierischen Organismus nicht metabolisiert werden können. Sie gelangen somit unverdaut in den hinteren Intestinaltrakt. Dort werden sie durch Mikroorganismen unter Bildung von Gasen fermentativ abgebaut (38). Nach SOUCI et al. beträgt der Gesamtmasseanteil an Raffinose, Stachyose und Verbascose in Erbsen durchschnittlich 2,9 % (39).

2.2.2 Funktionelle Eigenschaften

Für die Anwendung von Proteinprodukten im Lebensmittelbereich sind neben deren ernährungsphysiologischen insbesondere deren funktionelle Eigenschaften von Bedeutung. Hierunter sollen hier gemäß der Definition von MORR und HA (40) alle diejenigen physikochemischen Eigenschaften verstanden werden, welche die Struktur, das Aussehen, die Textur, die Viskosität, das Mundgefühl und die Bindung von Aromastoffen beeinflussen. Zu den bedeutendsten funktionellen Eigenschaften von Proteinen gehören die Löslichkeit, das Wasser- und Fettbindevermögen sowie die Schaum-, Gelbildungs- und Emulgierereigenschaften.

Die Löslichkeit nimmt unter den funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten eine herausragende Stellung ein. Dies hängt damit zusammen, daß von ihr wesentliche andere funktionelle Eigenschaften direkt abhängen. So korrespondieren beispielsweise häufig die Emulgier- und die Schaumbildungseigenschaften mit der Löslichkeit (15,41,42). Darüber hinaus kann aus der Löslichkeit der Proteine zum Teil deren Denaturierungsgrad abgeleitet werden (43-45).

Die Löslichkeit von Proteinen hängt von verschiedenen äußeren Faktoren ab. Hierzu zählen insbesondere der pH, die Temperatur sowie die Ionen- bzw. Salzkonzen-

tration. Zumeist wird die Proteinlöslichkeit über den Protein Dispersibility Index (PDI) oder den Nitrogen Solubility Index (NSI) quantifiziert. Für beide Kennwerte gibt es standardisierte Verfahren (46,47). Sie geben jeweils den prozentualen Masseanteil des Proteins einer Probe an, der unter Anwendung eines standardisierten Extraktionsverfahrens in Lösung geht. Im allgemeinen werden mit der Methode zur Bestimmung des PDI höhere Werte als mit der Methode zur Bestimmung des NSI erzielt. Der Grund hierfür besteht darin, daß bei der Extraktion des Probenmaterials im erstgenannten Fall deutlich größere Scherkräfte auf die Probe wirken als im zweiten. Dies ergibt sich aus den Unterschieden, die in der Bauart und Umdrehungsgeschwindigkeit der einzusetzenden Rührorgane bestehen. Zur Extraktion wird für die Bestimmung des PDI ein Haushaltsmixer mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von $8500 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ und für die Bestimmung des NSI ein Blattrührer mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von $120 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ verwendet.

Das Wasserbindevermögen von Proteinen kann u.a. zur Beeinflussung der Körperbildung, der Adhäsion und der Viskosität von Lebensmittelsystemen genutzt werden. Von besonderer Bedeutung ist diese Eigenschaft bei der Herstellung von Pasteten, Fleischanalogen, Füllmassen und Backwaren (15,48). Das Wasserbindevermögen hängt ebenfalls von äußeren Faktoren, wie dem pH, der Ionenstärke und der Temperatur ab. Ein weiterer wichtiger Einflußfaktor ist der Aggregationsgrad der Proteine, der die zur Wasserbindung zur Verfügung stehende Oberfläche bestimmt (49).

Eine wichtige Kenngröße für das Wasserbindevermögen ist die Wasserbindekapazität (WBK). Sie gibt die Masse an Wasser an, die von einem Gramm des Produkts gebunden werden kann. Zur Bestimmung dieser Kenngröße wird eine definierte Masse des Probenmaterials mit Wasser gesättigt, wobei das Wasser entweder im Überschuß oder schrittweise bis zum Erreichen des Sättigungspunkts erfolgt (50-52). Im ersten Fall wird das überschüssige Wasser mittels Filtration bzw. Zentrifugation vom Probenmaterial getrennt. Im zweiten Fall wird gerade so viel Wasser zugegeben, daß sich bei der Zentrifugation des Probenmaterials noch kein wässriger Überstand bildet. Der Vorteil der Zugabe eines Wasserüberschusses gegenüber der schrittweisen Zugabe besteht dabei in einem verminderten Arbeitsaufwand. Diesem steht allerdings der Nachteil gegenüber, daß mit dem überschüssigen Wasser auch lösliche Bestandteile des Probenmaterials abgetrennt werden. Dadurch kann es zu einer signifikanten Verfälschung des Meßergebnisses kommen.

Die Fähigkeit von Proteinen Fett zu binden wird insbesondere bei der Herstellung von Fleischprodukten und Fleischanalogen genutzt. Sie wird u.a. von der Oberfläche der Proteinmoleküle und deren Hydrophobizität bestimmt (16). Zur Bestimmung der Fettbindekapazität wird die zu untersuchende Probe zumeist mit einem Überschuß an flüssigem Fett oder Öl versetzt. Analog zur Bestimmung der Wasserbindekapazität wird die relative Massezunahme der Probe ermittelt.

Eine weitere wichtige Funktion erfüllen Proteine im Zusammenhang mit der Herstellung und Stabilisierung von Emulsionen und Schäumen, wie z.B. bei der Herstellung von Desserts, Eiscremes, Mayonnaisen und Dressings. Ihre Wirkung beruht dabei zu einem wesentlichen Teil auf ihrer Grenzflächenaktivität, die sich aus dem Verhältnis und der Verteilung polarer und apolarer Gruppen im Molekül ergibt. Durch diese wird die Grenzflächenspannung zwischen der hydrophilen und der hydrophoben Phase herabgesetzt, so daß die Bildung einer großen und stabilen Phasengrenzfläche begünstigt wird. Darüber hinaus können Proteine über einen weiteren Wirkungsmechanismus stabilisierend auf Schäume und Emulsionen wirken. Dieser besteht darin, daß sie aufgrund von intermolekularen Wechselwirkungen z.T membranartige Filme zwischen den Phasen bilden, die aufgrund ihrer physikalischen und rheologischen Eigenschaften als Barriere gegen eine Trennung der Phasen wirken (16,53,54). Im Hinblick auf die Emulgier- und Schaumbildungseigenschaften wirkt es sich zumeist positiv aus, wenn die Proteine ein kleines Molekulargewicht, eine hohe Löslichkeit in Wasser, eine große Oberflächenhydrophobizität sowie eine ausgewogene Aminosäurezusammensetzung hinsichtlich polarer und apolarer Gruppen besitzen (55).

Häufig verwendete Meßgrößen zur Charakterisierung der Emulgiereigenschaften von Proteinen sind der Emulsifying Activity Index (EAI) und die Emulsifying Capacity (EC) (56,57). Erstere gibt die Größe der Phasengrenzfläche an, die von einem Gramm Protein belegt wird. Sie wird auf der Grundlage der von Mie entwickelten Theorie über die Lichtstreuung kugelförmiger Körper (Mie-Streuung) turbidimetrisch bestimmt. Die EC ist das Volumen an Öl, das von einem Gramm Protein in Wasser emulgiert werden kann. Sie wird dadurch ermittelt, daß einem definierten Wasservolumen unter intensivem Mixen kontinuierlich Öl zugesetzt wird, bis eine Phasenumkehr von Öl/Wasser nach Wasser/Öl erfolgt. Die Detektion der Phasenumkehr erfolgt dabei elektrisch, akustisch oder visuell.

Eine weitere bedeutende Meßgröße ist die Stabilität der unter Verwendung von Proteinprodukten hergestellten Emulsionen. Die Stabilität kann als prozentualer Anteil des Ausgangsvolumens der Emulsion angegeben werden, der unter definierten Versuchsbedingungen stabil ist. Sie wird zumeist nach einer bestimmten Lagerzeit der Emulsion bzw. einer Beanspruchung derselben in einem Zentrifugalfeld ermittelt, wobei der Messung eine Erhitzung der Emulsion vorausgehen kann (56, 58,59).

Die Fähigkeit der Proteine Schäume zu bilden, kann über die sog. Schaumbildungskapazität quantifiziert werden. Diese Kennzahl gibt die prozentuale Volumenzunahme an, die sich beim Aufschäumen der Probe unter definierten Bedingungen bezogen auf das eingesetzte Flüssigkeitsvolumen einstellt. Es wird eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung der Schaumbildungskapazität eingesetzt (41,49,60). Die Unterschiede bestehen dabei insbesondere in der Art und Weise, wie die Probe aufgeschäumt wird. Dies erfolgt entweder durch Aufschlagen (Rühren mit hoher Umdrehungsgeschwindigkeit), Schütteln oder Gaseintrag. In der industriellen und handwerklichen Praxis erfolgt die Herstellung von geschäumten Produkten überwiegend in speziellen Aufschlagmaschinen. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß die für die praktische Anwendung relevanten Schaumbildungseigenschaften mit der Aufschlagmethode am besten erfaßt werden können. Dieser Aspekt war ausschlaggebend für die Entscheidung im Rahmen dieser Arbeit die Aufschäumung in Anlehnung an die von GABMANN, KROLL und CIFUENTES (61) vorgeschlagene Aufschlagmethode durchzuführen.

Die Stabilität von Proteinschäumen wird gewöhnlich über das interlamellare Flüssigkeitsvolumen bestimmt, das während einer bestimmten Zeit bei Raumtemperatur aus dem Schaum austritt (62-64). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, das nach einer bestimmten Zeit verbleibende Schaumvolumen als Meßgröße heranzuziehen (56,61,65).

3 Material und Methoden

In den nachfolgenden 6 Unterkapiteln werden die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Materialien und Methoden beschrieben. Das erste Unterkapitel hat die Beschreibung des verwendeten Versuchsmaterials, das zweite bis vierte die Quellung des Rohstoffs und dessen Verarbeitung zu Proteinprodukten und das fünfte und sechste die verwendeten Methoden zur Charakterisierung der Produkte hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffzusammensetzung sowie ihrer funktionellen Eigenschaften zum Inhalt.

3.1 Versuchsmaterial

Als Untersuchungsmaterial dienten Markerbsen (*Pisum sativum convar. medullare*) der Sorten Markana, Sprinter und Tristar. Die Inhaltsstoffzusammensetzung des Materials ist in der Tab. 2 angegeben.

Tab. 2 : Inhaltsstoffzusammensetzung von Markerbsen der Sorten Markana, Tristar und Sprinter

Inhaltsstoff	Inhaltsstoffgehalt [%] ³⁾		
	Markana	Tristar	Sprinter
Rohprotein (N· 6,25)	27,2	26,8	29,3
Stärke	31,0	31,0	34,1
Rohfett	2,1	1,6	1,8
Fasern ¹⁾	28,2	30,2	27,3
Asche	3,6	3,6	3,2
Trypsininhibitoren [TIU·mg ⁻¹]	5,4	2,6	4,8
Phytinsäure	1,6	1,3	1,2
α-Galactoside ⁴⁾	3,7	3,9	3,7
Tannine	n.n. ²⁾	n.n. ²⁾	n.n. ²⁾

¹⁾ Angegeben als Gesamtballaststoffe (66)

²⁾ Nicht nachweisbar mit der Methode von Price et al. (67)

³⁾ Bezogen auf die Trockenmasse

⁴⁾ Berechnet als % Raffinose

3.2 Durchführung von Versuchen zur Quellung des Rohstoffs

Die Quellversuche wurden mit jeweils 100 g Rohstoff durchgeführt. Diese wurden in 300 ml eines 0,2 N Na-Acetat/Essigsäurepuffers gequollen, der durch Wahl geeigneter Mischungsverhältnisse von Na-Acetat und Essigsäure auf den gewünschten pH eingestellt worden war. Als Quellbehältnisse dienten 500 ml-Bechergläser die mit Paraffinfolie verschlossen und in einem Wasserbad temperiert wurden. Nach Ablauf der Quellzeit wurde das Quellgut über ein Sieb abtropfen gelassen und anschließend gefriergetrocknet.

Die Versuche wurden nach einem fraktionierten 3^3 -Faktorenversuchsplan (Central composite design) durchgeführt (Abb. 1) (68). Die drei Variablen Quellzeit, Quelltemperatur und pH des Quellmediums wurden dabei jeweils auf drei äquidistanten Niveaus variiert (Tab. 3). Die Quellzeit betrug zwischen 3 und 11 h, die Quelltemperatur zwischen 25 und 55 °C und der pH des Quellmediums zwischen pH 4,5 und 5,9. Die erhaltenen Ergebnisse wurden anschließend mit Hilfe eines Statistikprogramms (Systat 6.01, SPSS) (69) ausgewertet. Die mathematische Formulierung des Zusammenhangs zwischen den Quellparametern und der Verminderung der antinutritiven Substanzen sowie seine Prüfung erfolgte mit Hilfe dieses Programms durch Aufstellen von Regressionsgleichungen, die aus einem Polynom zweiten Grades gebildet wurden. Hierbei fanden nur solche Terme Berücksichtigung, welche die Signifikanzgrenze von $\text{Prob} > F = 0,05$ unterschritten. Die mit diesen Regressionsgleichungen im Versuchsfeld erhaltenen Ergebnisse sind zur Veranschaulichung im Kapitel Ergebnisse und Diskussion mit Hilfe dreidimensionaler Graphiken dargestellt.

		x1			0			+1		
		-1	0	+1	-1	0	+1	-1	0	+1
x3	x2	-1	0	+1	-1	0	+1	-1	0	+1
	-1	×		×		×		×		×
	0		×		×	×	×		×	
	+1	×		×		×		×		×

Abb. 1: Fraktionierter 3^3 -Faktorenversuchsplan nach Box und Wilson

Tab. 3: Wertzuordnung für variierte Quellparameter bei Versuchen zur Verminderung von antinutritiven Substanzen in Markerbsen mittels Quellung

Quellparameter	Niveau		
	-1	0	+1
X1= Quellzeit	3	7	11
X2= Quelltemperatur [°C]	25	40	55
X3= pH des Quellmediums	4,5	5,2	5,9

3.3 Durchführung von Versuchen zur Herstellung von Proteinprodukten aus Markerbsen auf der Grundlage des TUB-Verfahrens

Die Herstellung der Proteinprodukte erfolgte auf der Grundlage des TUB-Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Markerbsen (vgl. 2.1). Gemäß diesem Verfahren wurde zunächst eine Fraktionierung des Proteins entsprechend seiner Löslichkeit vorgenommen. Hierzu wurde ein vereinfachtes Verfahren eingesetzt, um den experimentellen Aufwand bei der Vielzahl der durchzuführenden Versuche zu begrenzen. Die Vereinfachung bestand dabei darin, daß jeweils nur die im Hinblick auf die Fraktionierung des Proteins wesentlichen Prozeßstufen des TUB-Verfahrens berücksichtigt wurden.

3.3.1 Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlöslichen Proteins

Im Fall der Gewinnung des unlöslichen Proteins wurde das TUB-Verfahren insoweit vereinfacht, daß keine Trennung von innerer und äußerer Faser erfolgte und auf eine Aufarbeitung der Rohstärke verzichtet wurde.

2000 g Markerbsen wurden 13 h bei 20 °C in 4 l Wasser gequollen und nach der Dekantierung des überschüssigen Quellwassers in zwei Arbeitsgängen mit einer Zahnkolloidmühle (MZ-100/A, Fryma) zerkleinert. Im ersten Zerkleinerungsschritt betrug der Ringspalt 1,0 mm und im zweiten Zerkleinerungsschritt 0,6 mm. Insgesamt wurden zur Zerkleinerung 16 l Wasser eingesetzt.

Die dabei angefallene breiartige Masse wurde zur Abtrennung von Schalen und Fasern über ein Vibrationssieb (450 LS 18S, Sweco) mit einem Siebboden der Maschenweite 63 μm gegeben. Der Siebunterlauf wurde zur Abtrennung von Stärke und unlöslichem Protein einem Dekanter (CA 150-01-33, Westfalia Separator) zugeführt. Die Trommeldrehzahl des Dekanters betrug dabei 5400 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}$ die Differenzgeschwindigkeit 30 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}$ und die Einstellung des Wehres 14,5 Skalenteile. Der Siebüberschlag, die Schalen und die inneren Fasern, wurde zur weiteren Auswaschung von Stärke und Protein im Masseverhältnis von 2:1 mit dem Dekanteroberlauf gemischt, erneut abgesiebt und dekantiert. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt.

Nach Beendigung der Faserauswaschung wurde der komplette Dekanteroberlauf zur Abscheidung darin enthaltenen restlichen unlöslichen Proteins einem Tellerseparator (NA 7-06-076, Westfalia Separator, Umdrehungsgeschwindigkeit: 6900 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}$) zugeführt. Der Separatorunterlauf wurde mit dem Dekanterunterlauf vereinigt und satzweise jeweils 10 min in einer Becherzentrifuge (Varifuge 3.2RS, Heraeus) bei 3000-g zentrifugiert. Dabei setzte sich die Stärke als feste, weiße Schicht am Boden des Bechers ab. Das Protein lag deutlich davon abgesetzt als dickflüssige, beige-grüne Schicht darüber. Anschließend wurde das Protein mittels eines Spatels manuell von der Stärke getrennt, im Verhältnis von 1:3 (w/w) mit Dekantat gemischt und sprühgetrocknet (Mini Spray Dryer Büchi 190, Büchi). Die Eingangstemperatur wurde dabei auf 180 °C eingestellt, und die Trocknung so geführt, daß sich eine Ablufttemperatur von 90 °C ergab.

3.3.2 Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens löslichen Proteins

Zur Gewinnung des löslichen Proteins wurde der naßvermahlene Rohstoff wässrig extrahiert und das in Lösung gebrachte Protein anschließend mittels Fällungsverfahren koaguliert bzw. mittels Ultrafiltration konzentriert.

Zur Vorbereitung auf die Naßvermahlung wurde der Rohstoff zunächst entsprechend dem TUB-Verfahren für mindestens 13 h bei 20 °C gequollen. Hierzu wurde bezogen auf die Masse der Erbsen die dreifache Masse an Leitungswasser eingesetzt. Danach wurden die gequollenen Markerbsen mittels eines Haushaltssiebs abgetropft und unter Zugabe von Leitungswasser mit einer Zahnkolloidmühle (MZ-100/A, Fryma) naßvermahlen. Die Frischwassermenge war hierbei bezogen auf die Masse

der Erbsen auf die achtfache Masse festgelegt. Die Mühle wurde mit einem normalverzahnten Mahlkopf und einem Mahlpalt von 0,6 Skalenteilen (700 μm) betrieben. Die bei der Vermahlung anfallende Masse wurde anschließend 1 h bei einer Rührergeschwindigkeit von $80 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ mit einem Blattrührer (H = 30 mm, D = 300 mm) gerührt. Anschließend wurde die Suspension zur Abscheidung unlöslicher Bestandteile in einer Becherzentrifuge (Varifuge 3.2 RS, Heraeus) 20 min bei 3000-g zentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und zur Entfernung restlicher Feinfaser über einem Sieb mit einer Maschenweite von $63 \mu\text{m}$ abgesiebt. Zur mikrobiologischen Stabilisierung des Extrakts wurde dieser mit einem Masseanteil von 0,1 % Natriumazid versetzt.

Die zur Gewinnung des in Lösung gebrachten Proteins eingesetzten Fällungs- und Ultrafiltrationsverfahren werden nachfolgend beschrieben.

3.3.2.1 Fällung

Zur Fällung des Proteins wurden im wesentlichen drei unterschiedliche Verfahrensweisen eingesetzt, die nachfolgend als thermische, saure und thermisch-saure Fällung bezeichnet werden.

In Abhängigkeit von der benötigten Produktmenge, die sich aus den durchzuführenden analytischen Untersuchungen ergab, wurden dabei unterschiedlich große Versuchsansätze gewählt. In den unter 4.1 beschriebenen Versuchen wurden jeweils 650 bzw. 700 ml und in den unter 4.3 beschriebenen Versuchen jeweils 3000 ml Extrakt zur Fällung eingesetzt. Im ersten Fall wurde als Koagulationsreaktor ein Becherglas (Nennvolumen 800 ml hohe Form) mit einem Blattrührer und im zweiten Fall ein zylindrischer Edelstahlbehälter (Durchmesser = 24 cm) mit einem Ankerrührer verwendet. Die Rührergeschwindigkeit wurde in beiden Fällen so gewählt, daß eine homogene Durchmischung des Extrakts bei geringer Scherbeanspruchung der Flocken erfolgte. Sie betrug im ersten Fall 80 und im zweiten Fall $60 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$. Nachfolgend werden die eingesetzten Verfahrensweisen zur Fällung des Proteins im einzelnen beschrieben.

Thermische Fällung: Bei der thermischen Fällung des Proteins wurde der Extrakt zunächst mit 1 N NaOH auf einen pH von 7 eingestellt und danach in einem Wasserbad unter Rühren auf die vorgesehene Temperatur erwärmt. Anschließend wurde der Extrakt unter fortgeführtem Rühren für eine definierte Zeit auf dem

entsprechenden Temperaturniveau gehalten. Die Temperierungszeit war dabei von der Versuchsreihe abhängig und ist im Kapitel Ergebnisse und Diskussion spezifiziert.

Für die Erwärmung des Extrakts auf Temperaturen oberhalb von 100 °C wurde anstelle des Wasserbads ein Dampfdrucktopf (105 °C) bzw. ein Autoklav (120 °C) verwendet. Als Koagulationsbehältnis diente in diesem Fall ein Becherglas. Aus konstruktiven Gründen konnte abweichend von den anderen Fällungsversuchen während des Koagulationsprozesses der Extrakt nicht gerührt werden.

Im Anschluß an den Koagulationsprozeß wurde das Koagulat mittels Zentrifugation oder Filtration mechanisch von der Molke getrennt. Im ersten Fall wurde die Koagulatsuspension in einer Becherzentrifuge (Varifuge 3.2RS, Heraeus) 5 min bei 3000·g zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Im zweiten Fall wurde die Koagulatsuspension unter Anlegen eines Vakuums mit Hilfe eines Büchner-Trichters über ein Papierfilter (Rundfilter ø 595, Ref-Nr. 311620, Schleicher & Schuell) filtriert. Das Vakuum wurde dabei so lange aufrecht erhalten, bis kein Filtrat mehr anfiel.

Saure Fällung: Zur sauren Fällung des Proteins wurde der Extrakt mit 1 N HCl auf den gewünschten pH eingestellt und insgesamt 30 min bei dem entsprechenden pH gehalten. Zur Abscheidung des Koagulats wurde wie bei der thermischen Fällung weiterverfahren. Zur Herstellung pH-neutraler Produkte wurde das Koagulat im Anschluß daran mit einer der Masse des feuchten Koagulats entsprechenden Wassermenge verdünnt und mit Hilfe von 1 N NaOH auf pH 7 eingestellt .

Thermisch-saure Fällung: Die thermisch-saure Fällung des Proteins erfolgte in der Weise, daß zunächst analog zur sauren Fällung der gewünschte pH eingestellt und danach analog zur thermischen Fällung erwärmt bzw. temperiert wurde. Die Erwärmungszeit war in diesem Fall auf 30 min festgelegt.

3.3.2.2 Ultrafiltration

Eine mögliche Verfahrensalternative zur Gewinnung des Proteins mittels Fällung besteht darin, dieses im Prozeßwasser mittels Ultrafiltration aufzukonzentrieren. Die diesbezüglich durchgeführten Versuche werden nachfolgend beschrieben.

3.3.2.2.1 Versuche unter Verwendung von Rührzellenmodulen (Vorversuche)

Die Versuche wurden mit einer Niederdruckrührzelle (GN-10-250, Berghoff) durchgeführt, die mit den in der Tabelle 4 aufgeführten Membranen betrieben wurde.

Tab. 4: Zusammenstellung der verwendeten Membrantypen

Membranmaterial	Nominale Trenngrenze [kD]	Bezugsquelle	Bezeichnung
Polysulfon	10	Millipore	PT GC 07610
	30	Millipore	PT TK 07610
	100	Millipore	PT HK 07610
Polyethersulfon	10	Pall Filtron	Omega 010 076
	30	Pall Filtron	Omega 030 076
	100	Pall Filtron	Omega 100 076
Regenerierte Cellulose	10	Millipore	PL GC 07610
	30	Millipore	PL TK 07610

Jeweils 250 ml eines entsprechend 3.3.2 gewonnenen Markerbsenbextrakts wurden bei einer Temperatur von 25° C, einem Transmembrandruck von 1 bar und einer Rührgeschwindigkeit von 400 U·min⁻¹ auf ein Endvolumen von 50 ml aufkonzentriert. Das Retentat wurde gefriergetrocknet und hinsichtlich seines Trockenmasse- und Proteingehalts analysiert. Unter Zugrundelegung der im eingesetzten Extraktvolumen enthaltenen Ausgangsmassen wurde dann die Verteilung des Proteins und der Trockenmasse bilanziert.

Zur Ermittlung des mittleren Permeatflusses wurde das Gesamtvolumen der permeierten Flüssigkeit (200 ml) durch die zur Filtration benötigte Zeit sowie die Fläche des Filters dividiert.

Die Adsorption von Inhaltsstoffen an der Membranoberfläche wurde über die relative Flußreduzierung ermittelt. Hierzu wurde in einem ersten Schritt der Permeatfluß aufgenommen, der sich unter Verwendung einer fabrikneuen Membran bei der Filtration von Leitungswasser unter definierten Bedingungen einstellte. Die Tempe-

ratur des Leitungswassers war dabei auf 25 °C, der Transmembrandruck auf 1 bar und die Umdrehungsgeschwindigkeit des Magnetrührers auf 400 U·min⁻¹ festgelegt. Anschließend wurden wie oben beschrieben 250 ml Erbsenextrakt filtriert, um die für die Filtration von Markerbsenextrakten typische Adsorption von Inhaltsstoffen auf der Membran hervorzurufen. Danach wurde das Produkt entnommen und die Membran 1 h mit 250 ml destilliertem Wasser drucklos gespült, um die während der Filtration gebildete Deckschicht zu entfernen. Die Temperatur des Wassers und die Umdrehungsgeschwindigkeit des Rührers betragen hierbei 25 °C bzw. 400 U·min⁻¹. Das Spülwasser wurde verworfen und durch die Membran frisches Leitungswasser filtriert (25 °C, 1 bar, 400 U·min⁻¹). Nachdem ca. 20 ml durch die Membran permeiert waren, wurde der Permeatfluß der gereinigten Membran ermittelt und die relative Flußreduzierung mit folgender Gleichung berechnet:

$$\text{RFR} = 100\% - \frac{J_{w,n}}{J_{w,v}} \cdot 100\% \quad (\text{Gl. 1})$$

RFR = Relative Flußreduzierung [%]

$J_{w,v}$ = Wasserfluß vor Gebrauch der neuen Membran [$\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]

$J_{w,n}$ = Wasserfluß nach Gebrauch und Spülen der Membran mit Wasser
[$\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]

3.3.2.2 Versuche unter Verwendung von Miniatur-Plattenmodulen bzw. Hohlfasermodulen

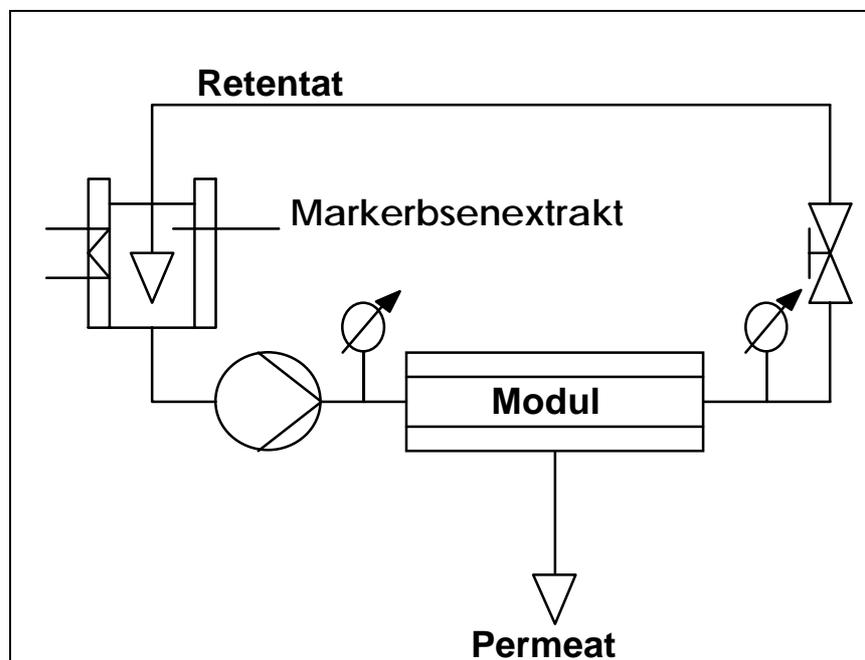
Die Hauptversuche zur Ultrafiltration wurden mit Miniatur-Plattenmodulen sowie Hohlfasermodulen durchgeführt. Die Kenndaten der Module sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Die UF-Anlagen wurden entsprechend der Abbildung 2 als Rezirkulationssystem betrieben. Dabei wurde die Membran von der zu filtrierenden Flüssigkeit tangential angeströmt (cross-flow) und das anfallende Retentat so lange durch das Modul rezirkuliert, bis die gewünschte Reduktion des Ausgangsvolumens (Volumenkonzentrierung) erreicht war. Die Volumenkonzentrierung wurde dabei nach der Gleichung 2 berechnet.

Tab. 5: Kenndaten der verwendeten Ultrafiltrationsmodule

Hersteller- bezeichnung	Her- steller	Membran- material	Modul- bauform	Membran- fläche [m ²]	Trenn- grenze [kD]
SM 15609-00-1	Sart.	Polyethersulfon	Platte	0,005	5
SM 15639-00-1	Sart.	Polyethersulfon	Platte	0,005	10
SM 15640-00-1	Sart.	Polyethersulfon	Platte	0,005	30
SM 15650-00-1	Sart.	Polyethersulfon	Platte	0,005	50
SM 15669-00-1	Sart.	Polyethersulfon	Platte	0,005	100
ACP-1050	Pall	Polyacrylnitril	Hohlfaser	0,1	13
AHP-1010	Pall	Polyacrylnitril	Hohlfaser	0,2	50

Sart. = Sartorius
Pall = Pall Filtron

**Abb. 2:** Schematische Darstellung des Aufbaus der verwendeten Ultrafiltrationsanlagen

$$\boxed{VCR = \frac{V_0}{V_R} = \frac{V_0}{V_0 - V_P}} \quad (\text{Gl. 2})$$

VCR = Volumenkonzentrierung [$\text{ml} \cdot \text{ml}^{-1}$]
 V_0 = Ausgangsvolumen [ml]
 V_R = Retentatvolumen [ml]
 V_P = Permeatvolumen [ml]

Im Falle der Verwendung der Plattenmodule wurden Versuchsansätze von 250, 350 bzw. 500 ml gewählt, die auf eine Volumenkonzentrierung von 5-10 aufkonzentriert wurden. Als Fördermittel wurde eine Schlauchpumpe (302/SA mit Kopf 501 R1, Watson Marlow) verwendet. Die Temperierung des Extrakts erfolgte über das Vorlaufgefäß, welches sich in einem Wasserbad befand.

Im Falle der Verwendung der Hohlfasermodule wurden Versuchsansätze von 5 bzw. 25 l filtriert. Im Fall des Moduls AHP-1010 wurde eine Wälzkolbenpumpe (Typ 200, Uniblock, Pall Filtron) und im Fall des Moduls ACP-1052 eine Exzentrerschneckenpumpe (2NE 20 A, Netsch) verwendet¹⁾. Die Regulierung der Retentattemperatur erfolgte in beiden Fällen mittels temperierter Doppelmantelbehälter.

Die exakten Versuchsparameter zu den jeweiligen Versuchen sind aus Gründen der Übersichtlichkeit im Kapitel Ergebnisse und Diskussion angegeben.

3.3.2.3 Trocknung der Koagulate und Retentate

Die Koagulate und Retentate wurden mittels Gefriertrocknung aufgearbeitet. Abweichend davon wurden diejenigen Proben, die hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften charakterisiert wurden, sprühgetrocknet. Dies erfolgte deshalb, weil die Trocknungstechnik die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten zumeist wesentlich mitbestimmt (70-72) und die Sprühtrocknung das am weitesten verbreitete Verfahren zur Trocknung von vergleichbaren Produkten aus der Sojabohne ist (73). Es wurde ein Laborsprühtrockner (Mini Spray Dryer Büchi 190, Büchi) eingesetzt. Die Temperaturparameter wurden auf eine Eingangstemperatur von 180 °C und eine Endtemperatur von 90 °C eingestellt. Die Koagulate wurden vor der Trocknung im Verhältnis 2:1 mit Leitungswasser suspendiert.

¹ Die Versuche mit dem Modul ACP-1050 wurden bei der Fa. Pall Filtron durchgeführt

3.4 Herstellung eines Proteinprodukts aus Markerbsen in Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren

Die auf der Grundlage des TUB-Verfahrens hergestellten Proteinprodukte wurden im Rahmen dieser Arbeit vergleichend zu einem in Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren hergestellten Proteinprodukt untersucht. Die detaillierte Vorgehensweise zur Herstellung dieses Produkts wird nachfolgend beschrieben.

Zunächst wurde der Rohstoff zu einem Mehl verarbeitet. Markerbsen der Sorte Tristar wurden dazu mit einer Schlagkreuzmühle, in die kein Sieb eingesetzt war, (Type 200, Kamas) grob vorzerkleinert und anschließend mit einem Mahlautomaten (MLU 202, Bühler) in einem 6-stufigen Walzenmahlverfahren vermahlen. Hierbei fiel eine Schalenfraktion sowie eine Schrot- und Grießmehlfraktion an. Die Schalenfraktion, die ca. 20 % der eingesetzten Gesamtmasse ausmachte, wurde verworfen. Die Mehlfraktionen wurden vereinigt und anschließend zur Extraktion der Proteine weiterverarbeitet.

In Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren wurde die Extraktion in einem dreistufigen Extraktionsverfahren durchgeführt. Abweichend davon konnte in dem gewählten experimentellen Maßstab eine kontinuierliche Gegenstromextraktion, wie sie das FLOTTWEG-Verfahren vorsieht, nicht realisiert werden. Statt dessen wurde die Extraktion satzweise und unter einer stufenweisen Verwendung von Frischwasser durchgeführt. Als Extraktionsbehälter dienten 2,5 l-Bechergläser, in denen das Extraktionsgut und die Extraktionsflüssigkeit mit Hilfe eines Magnetrührers bei einer Temperatur von 25 °C suspendiert wurden. In der ersten Extraktionsstufe wurden 300 g Mehl und 1 l Leitungswasser eingesetzt und die Extraktionszeit betrug 20 min. Eine Regulierung des pH wurde dabei nicht vorgenommen. Nach Ablauf der Extraktionszeit wurde die Suspension zur Trennung des Extrakts von den ungelösten Bestandteilen 5 min bei 3000 g zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Das dabei anfallende Sediment wurde in einer zweiten Extraktionsstufe unter Zugabe von 1 l Leitungswasser unter den zuvor beschriebenen Bedingungen erneut extrahiert. In der dritten Extraktionsstufe wurde dann sinngemäß wie in der zweiten verfahren. Abweichend davon wurde nach der Zugabe des Wassers die Suspension jedoch mit 10 %-iger NaOH auf pH 9,5 eingestellt und insgesamt 20 min extrahiert. Der Extrakt der letzten Stufe wurde mit den anderen vereinigt und anschließend zur Abtrennung von Feinfaserpartikeln über ein 63 µm-Sieb abgesiebt.

Zur Fällung des extrahierten Proteins wurden die vereinigten Extrakte mit 1 N Salzsäure auf einen pH von 4,35 eingestellt und unter langsamem Rühren ($60 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$; IKA-Rührwerk mit Ankerrührer, Jahnke & Kunckel) in einem Wasserbad 2 h auf $80 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert. Die dabei gebildeten Proteinflocken wurden mittels Zentrifugation in einer Becherzentrifuge (5 min bei $3000\cdot\text{g}$) aus dem Extrakt abgeschieden. Das Koagulat wurde im Verhältnis 2:1 mit Wasser gemischt und sprühgetrocknet (Mini Spray Dryer Büchi 190, Büchi). Die Temperaturparameter wurden hierzu auf eine Eingangstemperatur von $180 \text{ }^\circ\text{C}$ und eine Endtemperatur von $90 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Das auf diese Weise hergestellte Produkt wird nachfolgend als KPP-T₈₀ (Koaguliertes Protein Produkt, Koagulationstemperatur 80 °C) bezeichnet.

3.5 Analysenmethoden

Der Rohstoff sowie die Proteinprodukte wurden hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffzusammensetzung charakterisiert. Nachfolgend sind die diesbezüglich verwendeten Methoden aufgeführt.

3.5.1 Bestimmung des Wassergehalts

Der Wassergehalt wurde im Falle der gefriergetrockneten Proben nach der Methode von Karl-Fischer durch amperometrische Jodtitration (74) und im Fall der restlichen Proben mittels der Wärmeschrankmethode (75) bestimmt.

3.5.2 Bestimmung des Rohproteingehalts

Der Rohproteingehalt der Proben wurde über die Stickstoffbestimmung nach dem Kjeldahl-Verfahren gemäß DIN EN ISO 3188 bestimmt. Zur Umrechnung des Stickstoffgehalts in den Rohproteingehalt wurde der Faktor 6,25 verwendet (76).

3.5.3 Bestimmung des Stärkegehalts

Der Stärkegehalt wurde gemäß ICC-Standardmethode 128 auf enzymatischem Wege ermittelt (77).

3.5.4 Bestimmung des Gesamtballaststoffgehalts

Der Gesamtballaststoffgehalt wurde enzymatisch-gravimetrisch bestimmt (66).

3.5.5 Bestimmung des Fettgehalts

Die Bestimmung des Gesamtfettgehalts erfolgte mittels Extraktion mit Petrolether (78).

3.5.6 Bestimmung des Mineralstoffgehalts

Die Bestimmung des Mineralstoffgehalts erfolgte gemäß DIN EN ISO 3593 durch Veraschen des Probenmaterials bei 900 °C (79).

3.5.7 Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität

Die Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität erfolgte gemäß AACC Standard 71-10 mit Benzoyl-DL-Arginin-p-Nitroanilid als Substrat (80,81). Abweichend dazu wurde zur Klärung der Meßansätze ein Glasfaser-Rundfilter (GF 6, Schleicher & Schüll) verwendet.

3.5.8 Bestimmung des Phytinsäuregehalts

Der Phytinsäuregehalt wurde entsprechend der Methode von LATTI und ESKIN über die Farbreaktion freier Eisenionen mit Sulfosalicylsäure photometrisch bestimmt (82). Abweichend davon wurde zur Extraktion der Phytinsäure 3 %-ige Trichlor-essigsäure verwendet. Für das Probenmaterial aus den Quellversuchen wurde die Methode nach HOLT verwendet, in welcher die Phytinsäure indirekt über deren Komplexbildung von Fe^{3+} -Ionen bestimmt wird (83).

3.5.9 Bestimmung des Gehalts an flatusfördernden Oligosacchariden (α -Galactosiden)

Die Bestimmung des Gehalts an flatusfördernden Oligosacchariden erfolgte analog zu der von Boehringer entwickelten enzymatisch-photometrischen Methode zur Bestimmung des Raffinosegehalts in Soja- und Getreidemehlen (84). Das Prinzip

dieser Methode beruht darauf, daß der für die flatusfördernden Oligosaccharide charakteristische Baustein α -Galactose von den Oligosaccharidmolekülen mittels α -Galactosidase abgespalten und anschließend quantitativ erfaßt wird. Eine Differenzierung der unterschiedlichen flatusfördernden Oligosaccharide ist mit dieser Methode nicht möglich. Sie werden statt dessen, unter der fiktiven Annahme, daß es sich hierbei ausschließlich um Raffinose handelt, in einer Kennzahl als % Raffinose zusammengefaßt.

3.5.10 Bestimmung des Tanningehalts

Der Tanningehalt wurde nach der Methode von PRICE et al. (67) ermittelt. Das Tannin wurde dazu mit Vanillin zu einem roten Farbkomplex umgesetzt, dessen Konzentration photometrisch erfaßt wurde. Als Referenzsubstanz für die Erstellung der Kalibrierfunktion wurde Catechin verwendet.

3.5.11 Bestimmung der *in vitro* Protein-Verdaulichkeit

Die Bestimmung der *in vitro* Protein-Verdaulichkeit erfolgte gemäß der Methode von HSU et al. (85) über den pH-Abfall, der sich bei einer Proteolyse des Probenmaterials mit einem Multienzymsystem aus Trypsin, Chymotrypsin und Peptidase einstellt.

3.5 Materialien und Methoden zur Charakterisierung der Proteinprodukte bezüglich ihrer funktionellen Eigenschaften

Die aus den Markerbsen hergestellten Proteinprodukte wurden vergleichend zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja und Palerbsen sowie Eiklar untersucht, um die Interpretation der im Zusammenhang mit der Bestimmung der funktionellen Eigenschaften erhaltenen Meßergebnisse zu erleichtern. Bei dem Sojaproteinisolat handelte es sich um das Produkt Soyamin 90 (Lucas Meyer) und bei dem Erbsenproteinisolat um das Produkt Pisane HD (Cosucra). Das Eiklar wurde manuell aus frisch aufgeschlagenen handelsüblichen Eiern abgetrennt. Darüber hinaus wurden die Proteinprodukte im Vergleich zu einem Proteinkonzentrat aus Markerbsen untersucht, welches in Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren hergestellt worden war. Die detaillierte Vorgehensweise zur Herstellung dieses Produkts ist unter 3.4 beschrieben. Nachfolgend werden die verwendeten Methoden zur Bestimmung der funktionellen Eigenschaften vorgestellt.

3.6.1 Bestimmung der Proteinlöslichkeit

Die Proteinlöslichkeit wurde in Anlehnung an die AOCS -Standardmethode (46) sowie die Methode von KROLL (86) als "Nitrogen Solubility Index" (NSI) bestimmt. Die Probe wurde dazu unter definierten Bedingungen extrahiert und der dabei in Lösung gegangene Stickstoffanteil mit Hilfe des Kjeldahlverfahrens analytisch erfaßt.

In ein 150 ml-Becherglas (hohe Form) wurde 1 g der Probe analytisch genau eingewogen und nach Zugabe von 75 ml bidestilliertem Wasser unter Rühren mit einem Magnetrührer ($500 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$) insgesamt eine Stunde extrahiert. Nach einer Extraktionszeit von 15 min wurde der gewünschte pH mit 1 N Salzsäure bzw. 1 N Natronlauge eingestellt und über die restliche Extraktionszeit konstant gehalten. Nach Ablauf der Extraktionszeit wurde die Suspension in einen 100 ml-Meßkolben überführt und mit bidestilliertem Wasser bis zum Eichstrich aufgefüllt. Anschließend wurde die Suspension in einen Zentrifugenbecher überführt und 10 min bei 3000-g zentrifugiert. Der dabei erhaltene Überstand wurde über ein Papierfilter (615 $\frac{1}{4}$, Machery & Nagel) filtriert. Der im Filtrat enthaltene Stickstoff wurde nach der Kjeldahlmethode bestimmt. Dazu wurden zweimal 3 ml Filtrat eingesetzt

Zur Berechnung des NSI wurde folgende Gleichungen verwendet:

$$\text{WSN [\%]} = \frac{(V_{\text{HCl}} - V_{\text{Bl}}) \cdot (n/1000) \cdot M(\text{N}) \cdot V_{\text{Pr}}}{m_{\text{Pr}} \cdot \text{TS} \cdot V_{\text{Ex}}} \cdot 100\% \quad (\text{Gl. 3})$$

$$[\%] = \frac{\text{ml} \cdot (\text{mol/ ml}) \cdot (\text{g/ mol}) \cdot \text{ml}}{\text{g} \cdot \text{ml}} \cdot \%$$

$$\text{NSI [\%]} = \frac{\text{WSN}}{N_{\text{ges}}} \cdot 100\% \quad (\text{Gl. 4})$$

WSN	=	Water soluble nitrogen [%]
NSI	=	Nitrogen solubility index [%]
V_{HCl}	=	Verbrauch an Salzsäure-Maßlösung unter Verwendung der Probe [ml]
V_{Bl}	=	Verbrauch an Salzsäure-Maßlösung im Blindversuch [ml]
n	=	Normalität der eingesetzten Salzsäure-Maßlösung [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]
$n/1000$	=	Normalität der eingesetzten Salzsäure-Maßlösung [$\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}$]
$M(\text{N})$	=	Molare Masse des Stickstoffs = 14,008 [$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$]
V_{Pr}	=	Gesamtvolumen des Extrakts [ml]
m_{Pr}	=	(zur Extraktion) eingesetzte Probenmenge [g TS]
TS	=	Trockensubstanzgehalt der Probe [%]
V_{ex}	=	Volumen des zur Stickstoffbestimmung eingesetzten Extrakts [ml]
N_{ges}	=	Gesamtstickstoffgehalt der Probe [% TS]

3.6.2 Bestimmung der Emulgierereigenschaften

-Emulgieraktivitätsindex

Der Emulgieraktivitätsindex (EAI) wurde in Anlehnung an die Methode von PEARCE und KINSELLA (57) ermittelt. Es handelt sich dabei um eine turbidimetrische Methode, mit der die von einer definierten Probenmenge stabilisierte Grenzfläche einer Öl-Wasser-Emulsion auf der Grundlage der Lichtstreuung kugelförmiger Körper quantitativ erfaßt wird. Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

Zunächst wurde ein wäßriger, geklärter Probenextrakt hergestellt. Hierbei wurde die gleiche Vorgehensweise wie unter 3.6.1 (NSI) gewählt. Anschließend wurde aus 30 ml des Extrakts sowie 20 ml eines handelsüblichen Sonnenblumenöls (THOMY, Deutsche Thomy) eine Emulsion hergestellt. Hierzu wurden die beiden Flüssigkeiten in einem 100 ml-Becherglas (hohe Form) mit einem Ultra-Turrax (IKA-T25, Dispergierwerkzeug S25N-25F, Jahnke & Kunckel) exakt eine min dispergiert. Die Umdrehungsgeschwindigkeit des Dispergierwerkzeugs betrug dabei $15.000 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$. 100 μl der Emulsion wurden anschließend mit 1000 μl einer 0,1 %-igen Natriumdodecyl-sulfat-Lösung versetzt und im Verhältnis 1:40 (v/v) mit bidestilliertem Wasser verdünnt. Von der resultierenden verdünnten Emulsion wurde dann in einem Photometer die Absorption bei einer Wellenlänge von 500 nm ermittelt. Der EAI wurde dann wie bei PEARCE und KINSELLA beschrieben wie folgt berechnet:

$$T = \frac{2,303 \cdot A \cdot VF}{l} \quad (\text{Gl. 5})$$

$$\text{EAI} [\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}] = \frac{2 \cdot T}{E \cdot 1000 \cdot \phi} \quad (\text{Gl. 6})$$

- T = Trübung
- E = tatsächlicher Emulgatoranteil in der Emulsion [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]
- 1000 = Umrechnungsfaktor (mg in g)
- Φ = Ölanteil im Emulsionsansatz [$\text{ml} \cdot \text{ml}^{-1}$]
- 2,303 = Faktor nach PEARCE und KINSELLA
- A = Absorption
- VF = Verdünnungsfaktor
- l = Küvettenlänge (0,01 m)

Abweichend von der Methode von PEARCE und KINSELLA wurde für den Emulgatoranteil in der Emulsion (E) anstelle der Proteintrockenmasse die Gesamttrockenmasse des in einem ml der Emulsion enthaltenen Probenmaterials eingesetzt. Dies hatte den Vorteil, daß die EAI-Werte der Proben losgelöst von deren Proteingehalt direkt miteinander verglichen werden konnten.

- Emulsionsstabilität

Zur Bestimmung der Emulsionsstabilität wurden 10 ml einer wie oben beschrieben hergestellten, unverdünnten Emulsion in einen 10 ml-Meßzylinder überführt und über einen Zeitraum von 1-7 Tagen bei einer konstanten Temperatur von 30 °C gelagert. In Abhängigkeit von den emulsionsstabilisierenden Eigenschaften der Proteinprodukte trat dabei eine mehr oder weniger ausgeprägte Phasentrennung ein. Diese wurde über den Volumenanteil der Emulsion am Gesamtvolumen quantifiziert und wie folgt berechnet:

$$\boxed{\text{ES [\%]} = \frac{V_e}{V_g} \cdot 100\%} \quad (\text{Gl. 7})$$

ES = Emulsionsstabilität [%]
V_e = Volumen der Emulsion nach der Lagerung [ml]
V_g = Gesamtvolumen [ml]

3.6.3 Bestimmung der Wasserbindekapazität

Die Bestimmung der Wasserbindekapazität erfolgte nach der AACC-Standardmethode 88-04 (52). Hierzu wurde die Probe bis zu deren Sättigung schrittweise mit Wasser versetzt und durch Differenzwägung die im Sättigungspunkt von dem Probenmaterial gebundene Wassermenge ermittelt.

3.6.4 Bestimmung der Fettbindekapazität

Zur Bestimmung der Fettbindekapazität wurde 1 g Probe in ein tariertes 10 ml-Zentrifugenglas eingewogen und mit 5 ml Sonnenblumenöl (THOMY, Deutsche Thomy) intensiv durchmischt. Danach wurde das Zentrifugenglas in einem Wasserbad 30 min auf 30 °C temperiert und nach einer erneuten Durchmischung 15 min bei 3800.g zentrifugiert. Anschließend wurde das ungebundene Öl entfernt indem

der Überstand zunächst abdekantiert und das Zentrifugenglas anschließend 10 min in einem Neigungswinkel von 30 ° mit der Öffnung nach unten aufgestellt wurde.

Anschließend wurde das Zentrifugenröhrchen mitsamt dem Inhalt zurückgewogen. Die Fettbindekapazität wurde anhand folgender Gleichung berechnet:

$$\boxed{\text{FBK} [\%] = \frac{m_f - m_u}{m_u} \cdot 100\%} \quad (\text{Gl. 8})$$

FBK = Fettbindekapazität[%]
 m_f = Masse der Probe mit gebundenem Fett [g]
 m_u = ursprüngliche Masse der Probe [g]

3.6.5 Bestimmung der Schaumbildungseigenschaften

Die Bestimmung der Schaumbildungseigenschaften erfolgte in Anlehnung an die Methode von GABMANN, KROLL und CIFUENTES (61). Dazu wurde wie nachfolgend beschrieben vorgegangen:

-Schaumbildungskapazität

7 g Probe wurden in 100 ml destilliertem Wasser suspendiert und mit 1 N HCl bzw. 1 N NaOH auf den gewünschten pH eingestellt. Anschließend wurde die Suspension unter Nachregulieren des pH für 30 min mit einem Magnetrührer gerührt. Danach wurden 20 ml der Suspension in ein 250 ml-Becherglas überführt und mit einem Haushaltsquirl, der mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 1700 U·min⁻¹ betrieben wurde, 5 min aufgeschlagen. Im Anschluß daran wurde über den Füllstand das Gesamtvolumen sowie das Volumen der nicht aufgeschlagenen Flüssigkeit bestimmt. Die Schaumbildungskapazität wurde mit folgender Gleichung berechnet.

$$\boxed{\text{SBK} [\%] = \frac{V_g}{V_a} \cdot 100\%} \quad (\text{Gl. 9})$$

SBK = Schaumbildungskapazität [%]
 V_g = Gesamtvolumen direkt nach dem Aufschlagen [ml]
 V_a = Volumen der Flüssigkeit vor dem Aufschlagen [ml]

- Schaumstabilität und Drainage

Zur Bestimmung der Schaumstabilität sowie der Drainage wurden die entsprechend dem vorigen Absatz hergestellten Schäume 60 min bei Raumtemperatur stehen gelassen und danach nochmals das Gesamtvolumen sowie das Volumen der Flüssigkeit ermittelt.

Die Schaumstabilität wurde daraus wie folgt berechnet:

$$\boxed{SS [\%] = \frac{V_{60}}{V_g} \cdot 100\%} \quad (\text{Gl. 10})$$

Die Drainage wurde durch Übergießen der drainierten Flüssigkeit in einen Standzylinder ermittelt.

SS	=	Schaumstabilität [%]
DR	=	Drainage [ml]
V_a	=	Volumen der Flüssigkeit vor dem Aufschlagen [ml]
V_g	=	Gesamtvolumen des Schaums und der Flüssigkeit direkt nach dem Aufschlagen [ml]
V_{g60}	=	Gesamtvolumen 60 min nach dem Aufschlagen [ml]

-Schaumfestigkeit

Die Festigkeit des Schaums wurde mit Hilfe eines Penetrometers (Sommer & Runge) ermittelt. Der Penetrationskörper bestand aus einer 1 mm starken Lochscheibe mit einem Durchmesser von 5,5 cm. Der Lochdurchmesser betrug 3 und der Lochabstand 1,5 mm. Die Gesamtmasse des Penetrationskörpers betrug 25 bzw. 75 g. Die Penetrationszeit betrug 2 sec. In den Fällen, in denen die Penetration unterhalb Detektionsgrenze lag, wurde die Penetrationszeit auf 10 sec erhöht. Jede Probe wurde insgesamt mindestens fünfmal vermessen. Das Ergebnis wurde aus dem arithmetischen Mittel der Einzelergebnisse berechnet.

3.7 Statistische Auswertung der Versuche

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms Systat 6.01 (69). In den Fällen, in denen keine Fraktionierung

der Versuchspläne erfolgte, wurde die Standardabweichung berechnet. Diese Kenngröße genügte, um eine klare Interpretation des Ergebnisses herbeizuführen. Für die Durchführung von Analysen wurde so weit wie möglich auf Standardmethoden zurückgegriffen. Für diese Ergebnisse wurde keine Berechnung der Standardabweichung durchgeführt, da diese bekannt sind.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Untersuchungen zur Gewinnung des unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens löslichen Proteinanteils

Aus dem im Kapitel 2.1 beschriebenen Stand der Kenntnis geht hervor, daß im TUB-Verfahren eine Fraktionierung des Proteins in einen unter den Prozeßbedingungen löslichen sowie einen unlöslichen Anteil erfolgt. Anders als die Vorgehensweise zur Gewinnung des unlöslichen Anteils ist die Vorgehensweise zur Gewinnung des löslichen Anteils bisher nicht eindeutig festgelegt worden. Statt dessen werden verschiedene Verfahrensalternativen diskutiert, die in einer Fällung des Proteins bzw. in einer Konzentrierung desselben mittels Ultrafiltration bestehen. Die Frage, welche dieser Verfahrensalternativen die geeignetste ist, konnte bisher noch nicht geklärt werden. Der Grund hierfür besteht darin, daß keine ausreichenden Kenntnisse über den Einfluß der Verfahren sowie ihrer Parameter auf die Ausbeute und Qualitätsmerkmale der Proteinprodukte vorlagen. Eines der Hauptziele dieser Arbeit war es daher, diese Lücke zu schließen. Die Versuche wurden mit Markerbsen der Sorte Markana durchgeführt.

4.1.1 Fällung

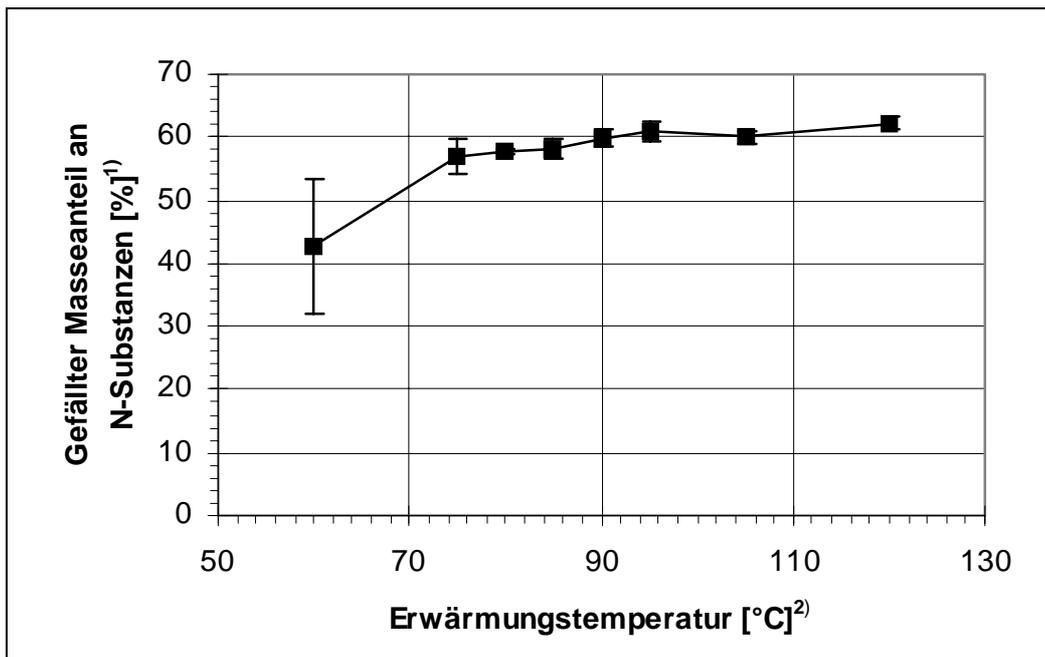
Zur Fällung von wässrig gelösten Proteinen ist es erforderlich, deren Löslichkeit in dem sie umgebenden Milieu herabzusetzen. Hierzu sind aus dem chemisch-analytischen und präparativen Bereich eine Vielzahl von Möglichkeiten bekannt (87). Zur Herstellung von Proteinprodukten für lebensmitteltechnologische Anwendungen sind dahingegen aus ökonomischen Gründen bzw. aus Gründen, welche die Produktqualität betreffen, nur einige wenige Verfahren geeignet. Im Falle der Gewinnung von Proteinen aus pflanzlichen Rohstoffen haben im wesentlichen solche Verfahren Verbreitung erlangt, in denen die Proteine mittels Einwirkung thermischer Energie sowie durch Einstellen des pH auf den isoelektrischen Punkt gefällt werden. Es lag daher nahe zu untersuchen, inwieweit diese Verfahren auch im Hinblick auf die Gewinnung des gelösten Markerbsenproteins geeignet sind. Die Versuche wurden mit wässrigen Markerbsenextrakten durchgeführt, die wie unter 3.3.2 beschrieben gewonnen worden waren.

4.1.1.1 Thermische Fällung

Im Zusammenhang mit der thermischen Fällung sollte zunächst die Frage beantwortet werden, inwieweit es möglich ist, das Markerbsenprotein bereits mit Hilfe eines vergleichsweise einfachen Verfahrens zu koagulieren, das lediglich eine Erwärmung des Prozeßwassers vorsieht. In Vorversuchen war dazu zunächst die zur Fällung erforderliche minimale Erwärmungstemperatur zu ermitteln. Dazu wurden die Extrakte bis zu 3 h auf Temperaturen zwischen 40 und 90 °C erwärmt und die Bildung von Koagulatflocken visuell beurteilt. Dabei wurde festgestellt, daß bereits bei einer Erwärmungstemperatur von 60 °C eine deutliche Bildung sedimentierbarer Flocken eintrat, wenn der Extrakt für mindestens 20 min erwärmt wurde. Zwar wurde bei entsprechend langer Erwärmungszeit (>170 min) auch bereits bei 40 °C die Bildung von feinen Koagulatflocken festgestellt, die zu einer milchigen Eintrübung des Extrakts führten, im Gegensatz zu den bei 60 °C gebildeten, verblieben diese jedoch aufgrund ihrer geringen Größe in Schwebelage und konnten selbst mittels Zentrifugation nicht aus dem Extrakt abgeschieden werden.

Aufbauend auf den Ergebnissen der Vorversuche wurde in einem nächsten Schritt der Einfluß der Erwärmungstemperatur auf den Anteil koagulierbaren Proteins untersucht. Dazu wurden die Extrakte 30 min auf Temperaturen zwischen 60 und 120 °C erwärmt und der mittels Zentrifugation in einer Becherzentrifuge als Koagulat abscheidbare Proteinanteil ermittelt. Es wurden jeweils Doppel- bzw. Dreifachbestimmungen durchgeführt.

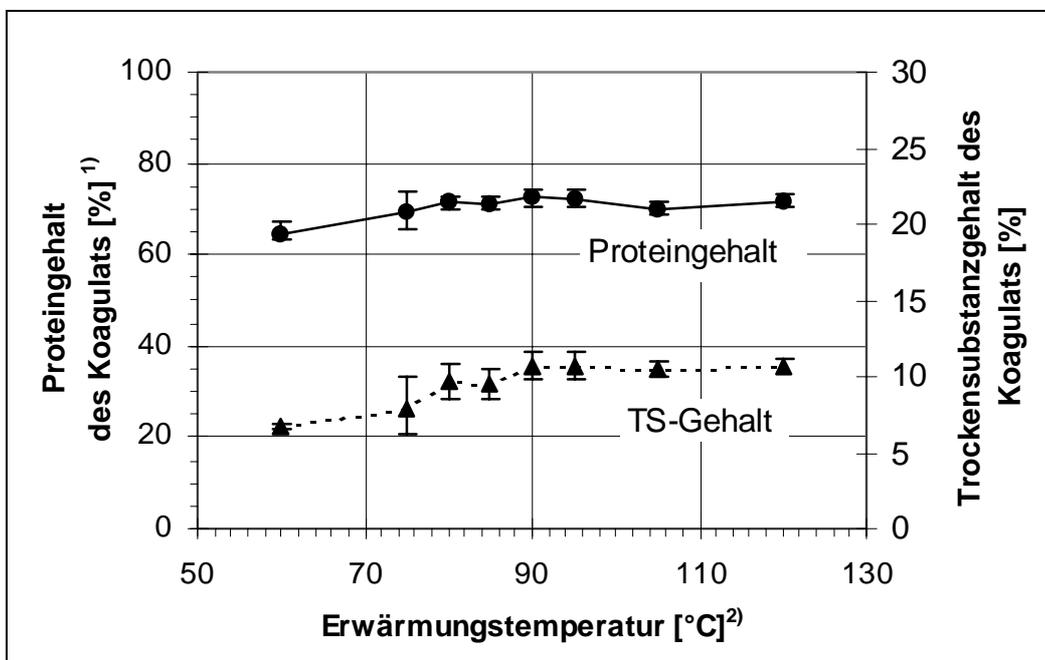
In der Abbildung 3 ist zu sehen, daß unter diesen Versuchsbedingungen bis zu 60 % der im Extrakt enthaltenen Masse an Stickstoff-Substanzen (N-Substanzen) als Koagulat gewonnen wurden. Bis zu einer Erwärmungstemperatur von ca. 90 °C nahm ihr Anteil mit der Temperatur zu. Im Temperaturbereich oberhalb von 90 °C war er dahingegen weitestgehend von der Erwärmungstemperatur unabhängig. Zwar wurde bei einer Erwärmung auf 120 °C der insgesamt höchste Anteil an N-Substanzen gefällt. Die Steigerung um ca. einen Prozentpunkt gegenüber dem bei 90 °C ermittelten Wert lag jedoch im Bereich der Standardabweichung der Mehrfachbestimmung und war somit nicht signifikant. Die Standardabweichung war im Temperaturbereich von 60 und 75 °C besonders groß. Dies ergab sich daraus, daß bei diesen vergleichsweise niedrigen Temperaturen sehr feine Koagulatflocken gebildet wurden, die sich zum Teil in einer Schicht auf der Flüssigkeitsoberfläche ablagerten, und damit nicht reproduzierbar abgeschieden werden konnten.



¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Ausgangsmasse

²⁾ Erwärmungszeit 30 min

Abb. 3: Einfluß der Erwärmungstemperatur auf den gefällten Masseanteil an N-Substanzen



¹⁾ Bezogen auf die Trockenmasse des Koagulats

²⁾ Erwärmungszeit 30 min

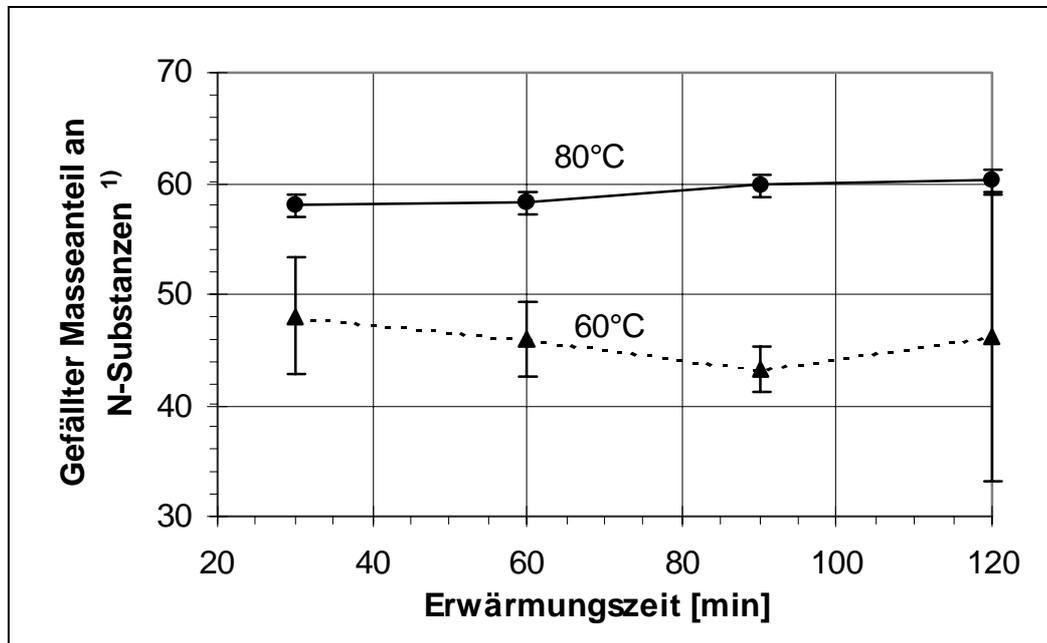
Abb. 4: Einfluß der Erwärmungstemperatur auf den Proteingehalt und den Trockensubstanzgehalt des Koagulats

Der Proteingehalt der Koagulate war oberhalb von 80 °C weitestgehend von der Koagulationstemperatur unabhängig. Er betrug ca. 72 % (Abb. 4). Die bei entsprechenden Temperaturen erhaltenen Produkte können somit unter Zugrundelegung der für Sojaproteinprodukte geltenden Verkehrsauffassung als Proteinkonzentrate bezeichnet werden (88). Der Proteingehalt der bei niedrigeren Temperaturen koagulierten Produkte war demgegenüber z.T. deutlich kleiner. Im Falle des bei 60 °C gefällten betrug er 65 %. Die Abweichung kann im wesentlichen damit erklärt werden, daß die unterhalb von 80 °C gefällten Koagulate im Vergleich zu den anderen z.T. deutlich weniger entwässert werden konnten. Dies geht aus der Abbildung 4 hervor, in welcher der Trockensubstanzgehalt der feuchten Koagulate über der Fällungstemperatur aufgetragen ist. Der damit verbundene höhere Wasseranteil im Koagulat hatte zur Folge, daß bei der Trocknung des Koagulats vermehrt im Wasser gelöste andere Inhaltsstoffe aus den Erbsen auf das Proteinprodukt aufgetrocknet wurden. Da es sich hierbei vorwiegend um N-freie Substanzen handelt, ergab sich daraus, daß der Proteingehalt der Trockenmasse des Proteinprodukts gegenüber den stärker entwässerten Proteinprodukten kleiner ausfiel.

Aufgrund der oben diskutierten Zusammenhänge kann festgestellt werden, daß zum Erreichen eines optimalen Fällungsergebnisses eine Temperatur von mindestens 90 °C erforderlich war. Hierbei ist jedoch zunächst unberücksichtigt geblieben, inwieweit auch die Erwärmungszeit einen Einfluß auf die Koagulation des Proteins hat. Ziel einer weiteren Versuchsreihe war es daher, diesen Einfluß näher zu untersuchen. Dabei war es von besonderem Interesse zu klären, ob eine optimale Koagulation des Proteins ggf. auch bei Temperaturen unterhalb von 90 °C erzielt werden kann, wenn die Erwärmungszeit gegenüber der vorangehend angewendeten deutlich verlängert wird.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in der Abbildung 5 dargestellt. In dieser ist zu sehen, daß bei einer Erwärmungstemperatur von 80 °C eine Erwärmungszeit von mindestens 90 min erforderlich war, um einen vergleichbaren Anteil an N-Substanzen fällen zu können, wie dies bei Erwärmungstemperaturen $\geq 90^\circ\text{C}$ bereits nach 30 min der Fall war. Dies entspricht einer Verdreifachung der erforderlichen Erwärmungszeit, was hinsichtlich einer Umsetzung in den Industriemaßstab aus ökonomischen Gesichtspunkten nicht sinnvoll ist, weil damit eine

Verdreifachung des erforderlichen Gesamtvolumens der Koagulationsbehälter verbunden wäre.



¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Ausgangsmasse

Abb.5: Einfluß der Erwärmungszeit und der Erwärmungstemperatur auf den gefällten Masseanteil an N-Substanzen

Im Falle einer Erwärmungstemperatur von 60 °C wurde dahingegen selbst nach einer Vervierfachung der Erwärmungszeit von 30 auf 120 min keine signifikante Zunahme des koagulierbaren Anteils an N-Substanzen festgestellt. Darüber hinaus wurde auch das bereits im Zusammenhang mit der vorangegangenen Versuchsreihe beschriebene Problem der Schichtbildung auf der Flüssigkeitsoberfläche und der damit verbundenen Abnahme der Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse durch die Verlängerung der Erwärmungszeit nicht behoben. Insgesamt hat sich somit eine Absenkung der Koagulationstemperatur auf Werte unter 90 °C bei einer gleichzeitigen Erhöhung der Erwärmungszeit im Hinblick auf eine Erzielung einer hohen Koagulatausbeute als nicht geeignet erwiesen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die Erwärmung des Extrakts maximal ca. 60 % der darin enthaltenen N-Substanzen fällbar waren und dieses Maximum ab einer Erwärmungstemperatur von ca. 90 °C erreicht wurde. Inwieweit diese Temperatur ausreicht um auch unter produktionstechnischen Bedingungen eine maximale Ausbeute an Protein zu erhalten, wäre allerdings im Einzelfall zu

prüfen. Dies gilt insbesondere deshalb, weil sich kontinuierlich arbeitende Zentrifugen, wie Tellerseparatoren und Dekanter, bezüglich ihrer Abscheidecharakteristik z.T. deutlich von der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Becherzentrifuge unterscheiden können.

In den vorangegangenen Untersuchungen waren die Koagulate so wie sie anfielen, d.h. ohne eine weitere Aufarbeitung derselben vorzunehmen, getrocknet worden. Dies führte dazu, daß die im Wasseranteil des feuchten Koagulats gelösten Bestandteile auf das Produkt aufgetrocknet und somit als gefällte Substanz miterfaßt wurden. Mit dem Ziel eine höhere Proteinreinheit des Koagulats zu erreichen, könnte es jedoch ggf. sinnvoll sein, den Anteil an gelösten Substanzen in einem der Koagulation nachgeschalteten Raffinationsprozeß aus dem Koagulat zu verdrängen. In der Tabelle 6 sind daher die Ergebnisse gegenübergestellt, die sich für eine Fällung des Proteins mit und ohne Raffination des Koagulats einstellten. Die Raffination wurde in den dazugehörigen Versuchen in der Weise vorgenommen, daß das feuchte Koagulat zweimal in einer seiner feuchten Masse entsprechenden Frischwassermenge aufgenommen, gerührt und anschließend mittels Zentrifugation abgetrennt wurde.

Tab. 6: Einfluß der Auswaschung des Koagulats auf die Masse- und Proteinausbeute sowie dessen Proteingehalt

Auswaschung des Koagulats	Masseausbeute [%] ¹⁾	Proteinnausbeute [%] ²⁾	Proteingehalt [%]
nein	41,6 ± 0,9	64,0 ± 1,5	74,6 ± 0,3
ja	36,4 ± 0,7	61,4 ± 0,2	81,6 ± 1,1

¹⁾Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Gesamttrockenmasse

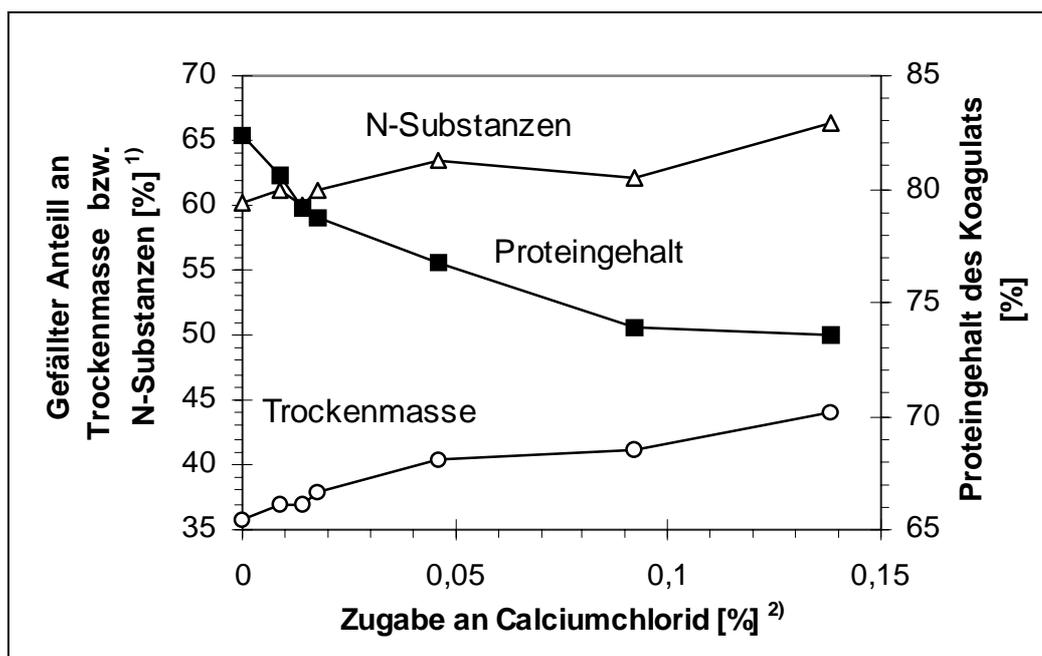
²⁾Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Proteintrockenmasse

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß der Proteingehalt durch die Raffination entsprechend der Zielsetzung deutlich angehoben wurde. Er stieg gegenüber dem Prozeß ohne Raffination um 7 % auf 81,6 % an. Allerdings reichte der Anstieg nicht aus, um einen den Kriterien für Proteinisolate entsprechenden Proteingehalt von mindestens 90 % zu erreichen. Das Produkt kann daher ebenso wie das ohne Raffination hergestellte lediglich als Proteinkonzentrat bezeichnet werden. Der Anteil der als Koagulat gewonnenen Gesamt- bzw. Proteintrockenmasse wurde

durch die Raffination des Koagulats erwartungsgemäß vermindert. Er fiel um 5,2 bzw. 2,6 %. Inwieweit der damit verbundene ökonomische Nachteil einer verminderten Produktausbeute durch die Anhebung des Proteingehalts ausgeglichen werden kann, wäre im Einzelfall zu prüfen.

Von der Fällung von Sojaprotein zur Tofuherstellung ist bekannt, daß die Ca-Ionenkonzentration einen entscheidenden Einfluß auf die Ausbeute an gefälltter Proteintrockenmasse hat (89). Da entsprechendes auch für die thermische Fällung des Markerbsenproteins angenommen werden konnte und in einem industriellen Verfahren die Ca-Ionenkonzentration in Abhängigkeit von der Qualität des verwendeten Wassers sehr unterschiedlich sein kann, ergab sich die Notwendigkeit, den Einfluß der Ca-Ionenkonzentration auf die Fällung des Markerbsenproteins näher zu betrachten. Die dazu durchgeführten Versuche wurden analog zu den vorangehend beschriebenen durchgeführt. Abweichend davon wurde zur Quellung, Extraktion und Raffination anstelle von Leitungswasser destilliertes Wasser verwendet und den Extrakten vor deren Erwärmung zwischen 0,009 und 0,138 % ihrer Masse an Calciumchlorid zugesetzt. Letzteres entsprach unter Zugrundelegung der im Extrakt enthaltenen Proteintrockenmasse einer Calciumionenzugabe von 0,25-3,75 g/100g Protein. Der pH wurde bei allen Versuchen konstant auf 6,4 eingestellt.

In der Abbildung 6 ist der Einfluß der Calciumchloridkonzentration auf die Fällung der im Extrakt enthaltenen Gesamt- und Proteintrockenmasse sowie den Proteingehalt des Koagulats dargestellt. Es ist zu erkennen, daß mit zunehmender Calciumchloridkonzentration der gefällte Anteil an Gesamt- und Proteintrockenmasse zunahm. Im Falle der Gesamttrockenmasse betrug die Zunahme bis zu 9 und im Falle der Proteintrockenmasse bis zu 6 %. Der Proteingehalt der Koagulate nahm dahingegen mit zunehmender Calciumchloridkonzentration deutlich ab. Gegenüber der Nullprobe, welche einen Proteingehalt von 82 % aufwies, sank der Proteingehalt um bis zu 8 % ab. Daraus kann geschlossen werden, daß durch die Zugabe des Calciumchlorids vorwiegend N-freie Substanzen gefällt wurden. Dieses zunächst unerwartete Ergebnis kann damit erklärt werden, daß die Calciumionen aufgrund ihrer Bivalenz eine Brückenfunktion zwischen den Proteinen und der Phytinsäure erfüllen können. Dies führte dazu, daß ein großer Anteil der Calciumionen und der Phytinsäure gemeinsam mit dem Protein ausfielen. Eine eingehende Diskussion des Einflusses der Fällungsparameter auf den Phytinsäuregehalt im Koagulat erfolgt im Kapitel 4.2, welches schwerpunktmäßig den als antinutritive Substanzen bezeichneten Erbseninhaltsstoffen gewidmet ist.



¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Trockenmasse bzw. die Masse an N-Substanzen

²⁾ Bezogen auf die Masse des Extrakts

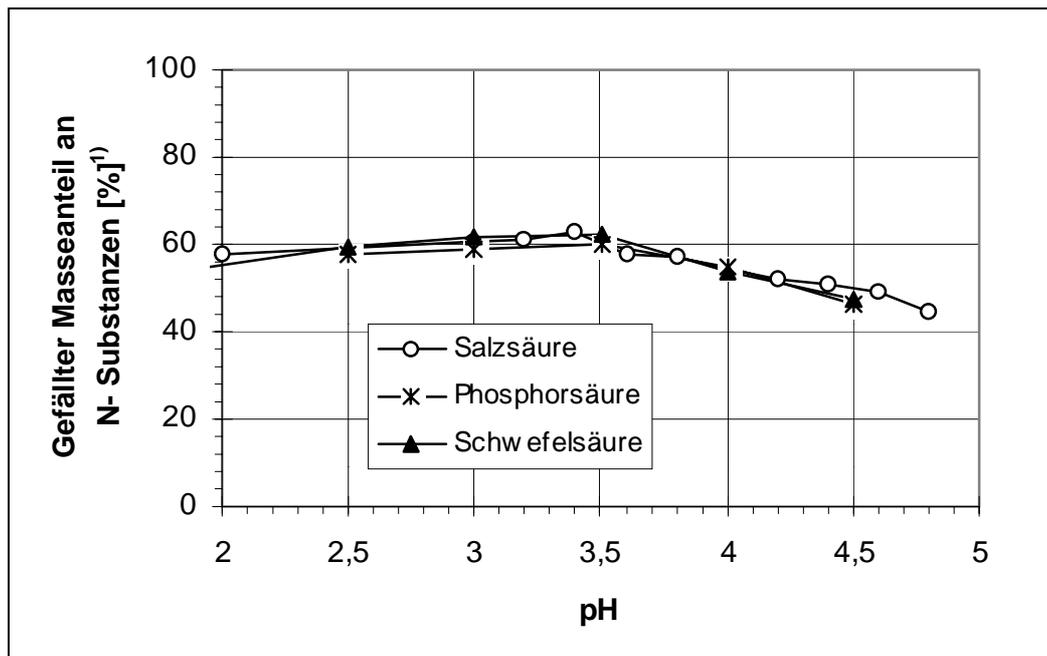
Abb. 6: Einfluß der Calciumchloridkonzentration auf die Fällung von Trockenmasse und N-Substanzen sowie auf den Proteingehalt des Koagulats

4.1.1.2 Saure Fällung

Eine mögliche Verfahrensalternative zur Fällung des Proteins auf thermischem Wege besteht in dessen Fällung am isoelektrischen Punkt. Diese Vorgehensweise, die hier als saure Fällung bezeichnet werden soll, bietet gegenüber der thermischen Fällung den Vorteil, einen weitreichenderen Erhalt der nativen Eigenschaften des Proteins zu ermöglichen. Analog zu den im Zusammenhang mit der thermischen Fällung durchgeführten Untersuchungen wurde auch im Zusammenhang mit der sauren Fällung der koagulierbare Masseanteil an Protein ermittelt. Dabei stand insbesondere der Einfluß des pH sowie der verwendeten Säure im Mittelpunkt des Interesses.

Prinzipiell ist zur Fällung von Proteinen ein breites Spektrum an Säuren geeignet. Die industrielle Praxis beschränkt sich jedoch auf einige wenige, die leicht verfügbar und zudem kostengünstig sind. Diesbezüglich sind abgesehen von der Milchsäure, welche vor allem bei der Herstellung von Milchprodukten eingesetzt wird, insbesondere Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure zu nennen. Ziel der nachfol-

genden Untersuchungen war es, letztere Säuren im Hinblick auf ihre Eignung zur Fällung des Markerbsenproteins zu prüfen und vergleichend gegenüberzustellen. Jeweils 100 ml Erbsenextrakt wurden mit einer der drei genannten Säuren (jeweils 6-molar) auf einen pH zwischen 5,2 und 1,0 eingestellt. Die während einer Inkubationszeit von 30 min gebildeten Flocken wurden mit einer Becherzentrifuge abgetrennt (vgl. 3.3.2.1).



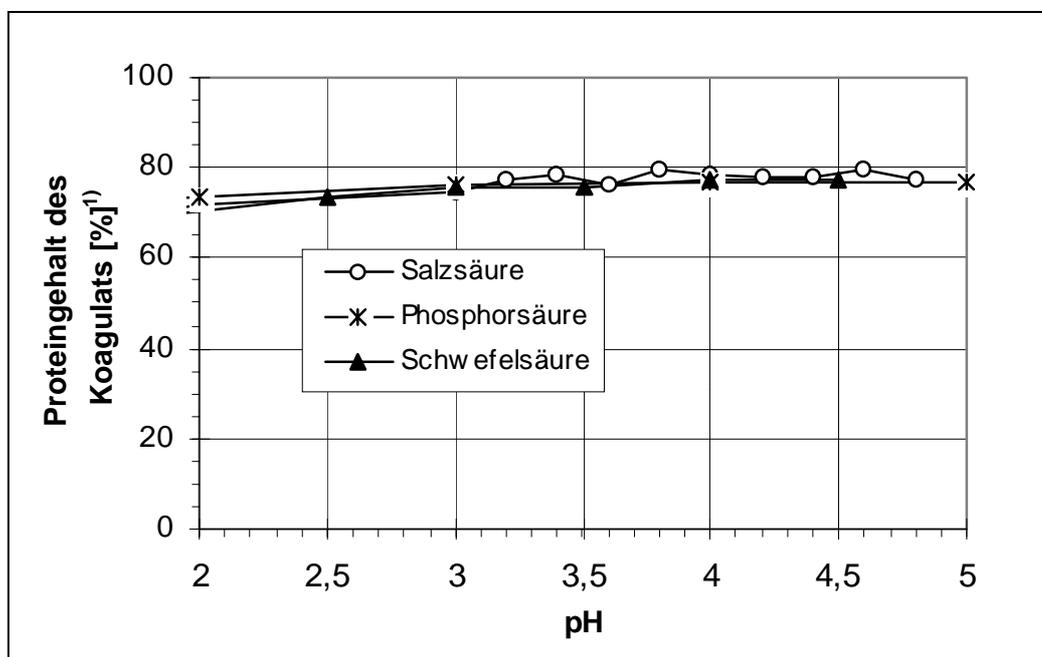
¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Ausgangsmasse

Abb.7: Einfluß der verwendeten Säure sowie des pH der Koagulation auf den gefällten Masseanteil an N-Substanzen

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Abbildungen 7 und 8 graphisch dargestellt. Aus der Abbildung 7 kann entnommen werden, daß der gefällte Masseanteil an N-Substanzen weitestgehend unabhängig von der Art der verwendeten Säure war. Das Optimum wurde jeweils bei pH 3,4 festgestellt. Bei diesem pH wurden 60 % der N-Substanzen gefällt. Dieser Wert entspricht somit etwa demjenigen, der für das Optimum der thermischen Fällung festgestellt worden war.

Der Proteingehalt der Koagulate war weitestgehend von der verwendeten Säure unabhängig (Abb. 8). Dahingegen bestand eine Abhängigkeit desselben vom pH. Im pH-Bereich zwischen 2 und 3,5 stieg der Proteingehalt mit steigendem pH von 71 auf ca. 76 %, blieb bei einer weiteren Erhöhung bis auf pH 5 dann jedoch weitestgehend konstant. Unter Zugrundelegung der für Sojaproteinprodukte gelten-

den Kriterien können die erhaltenen Produkte als Proteinkonzentrate bezeichnet werden.

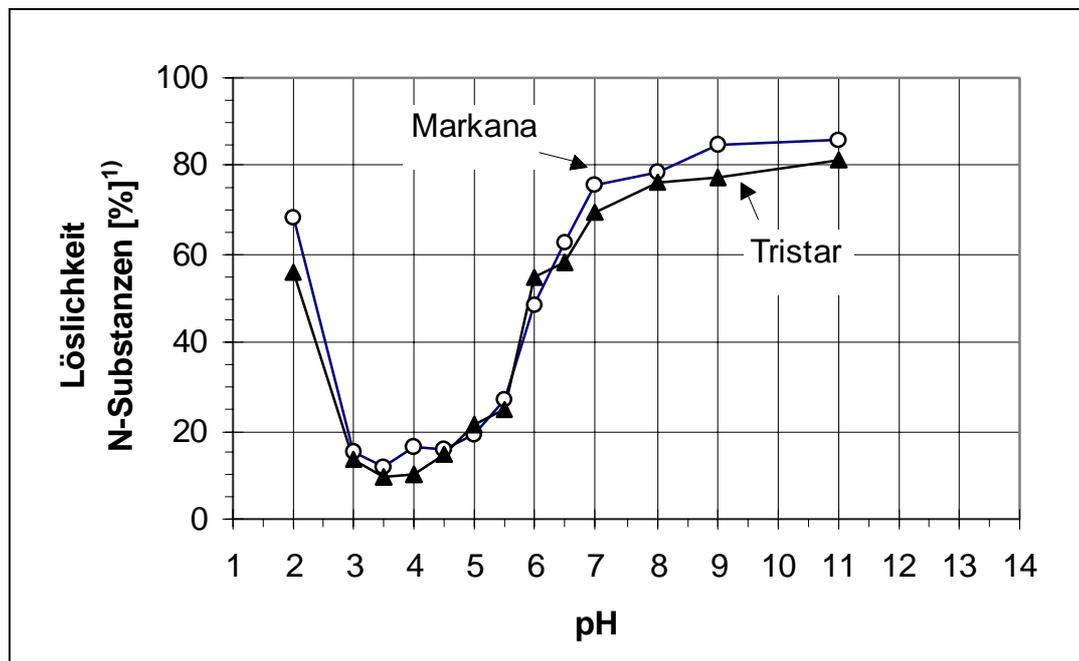


¹⁾ Bezogen auf die Trockenmasse

Abb. 8: Einfluß der verwendeten Säure sowie des pH der Koagulation auf den Proteingehalt in der Trockenmasse des Koagulats

Aus der Lage des pH-Optimums kann in erster Näherung abgeleitet werden, daß der isoelektrische Punkt (pI) der gelösten Proteinfraction etwa 3,4 betrug. Dieser Wert ist im Vergleich zum pI des Proteins anderer Erbsensorten sehr klein. Die diesbezüglich der Literatur zu entnehmenden Werte liegen im Bereich zwischen 4 und 5. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß ein direkter Vergleich des Meßwerts mit den Literaturangaben nur eingeschränkt möglich ist. Dies ergibt sich daraus, daß der im Rahmen der vorangehend beschriebenen Versuche ermittelte Wert im Gegensatz zu der Mehrzahl der Literaturwerte nicht für das Gesamtprotein des Rohstoffs, sondern nur für eine Fraktion desselben ermittelt wurde. Die Frage, inwieweit das festgestellte Löslichkeitsminimum auch auf das Gesamtprotein des Rohstoffs zutrifft, mußte daher in einer gesonderten Versuchsreihe geklärt werden. Hierzu wurden Erbsenmehle unter Variation des pH extrahiert und die Löslichkeit des Markerbsenproteins in Abhängigkeit vom pH ermittelt (vgl. 3.6.1). In der Abbildung 9 sind die für die Markerbsensorten Markana und Tristar ermittelten Löslichkeitskurven graphisch dargestellt. Es ist zu sehen, daß das Löslichkeitsminimum bei beiden Markerbsensorten etwa bei pH 3,5 lag und damit weitestgehend

dem der löslichen Proteinfraction entsprach. Somit wurde für das Löslichkeitsminimum des Markerbsenproteins ein signifikanter kleinerer Wert erhalten, als aufgrund der Literaturwerte bezüglich des pI von Erbsenproteinen zu erwarten gewesen war. Als Grund für diese Abweichung kann der Vergleichsweise hohe Phytinsäuregehalt der untersuchten Markerbsensorten angenommen werden. So haben Untersuchungen von SMITH und RACKIS (90) und CHEN und MORR (91) ergeben, daß im Falle von Sojaprotein das Löslichkeitsminimum mit steigendem Phytinsäuregehalt in Richtung eines kleineren pH verschoben wird.



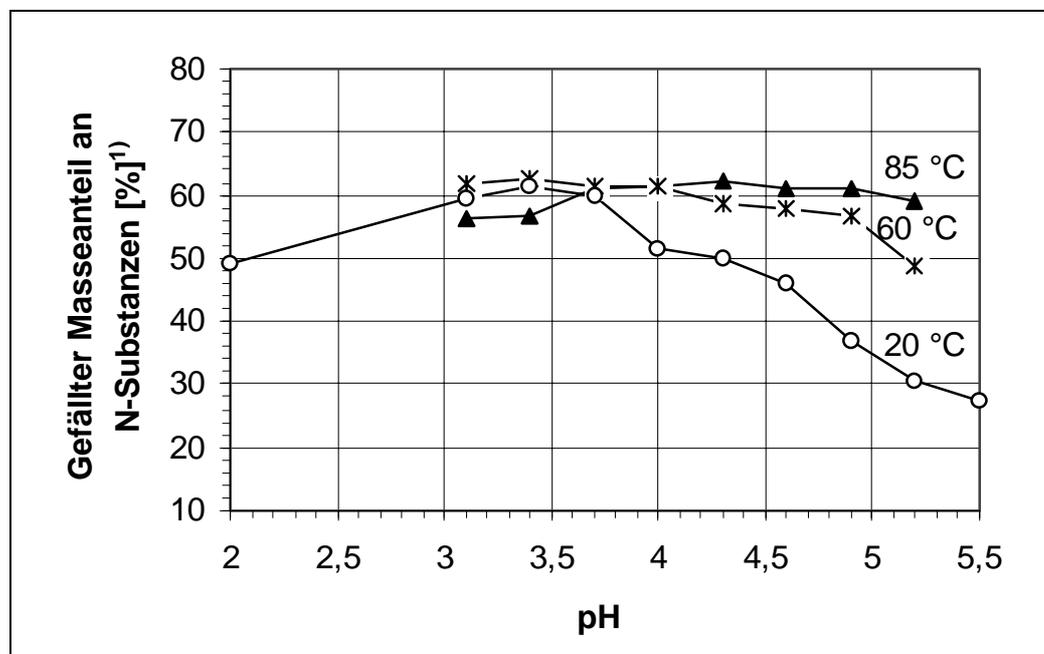
¹⁾ Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Gesamtmasse an N-Substanzen

Abb. 9: Einfluß des pH auf die Löslichkeit des Proteins von Markerbsen der Sorten Markana und Tristar

4.1.1.3 Thermisch-saure Fällung

In den beiden vorangegangenen Kapiteln konnte gezeigt werden, daß bezüglich des fällbaren Proteinanteils zwischen der sauren und thermischen Fällung des Erbsenproteins kein wesentlicher Unterschied bestand. Der maximal gefällte Masseanteil an Protein betrug, bezogen auf die Gesamtmasse an gelöstem Protein, jeweils ca. 60 %. Da beide Verfahrensalternativen jeweils isoliert voneinander betrachtet worden sind, ist jedoch die Frage offengeblieben, inwieweit dieses Ergebnis durch ein kombiniertes Fällungsverfahren, in dem beide Fällungsprinzipien verwirklicht sind, noch verbessert werden kann. Dies zu untersuchen war das Ziel der

nachfolgend beschriebenen Untersuchungen, in denen die Extrakte nach dem Einstellen des pH für 30 min auf Temperaturen von 20, 60 und 85 °C temperiert wurden. Abweichend von den vorangehend beschriebenen Untersuchungen wurden Versuchsansätze von jeweils 650-700 ml verwendet.



¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Ausgangsmasse

Abb. 10: Einfluß des pH sowie der Temperatur der Koagulation auf den gefällten Masseanteil an N- Substanzen

Aus der Abbildung 10 ist zu entnehmen, daß unabhängig von der gewählten Fällungstemperatur im Fällungsoptimum ca. 60 % der im Extrakt enthaltenen N-Substanzen gefällt wurden. Eine Erhöhung der Koagulatausbeute gegenüber der sauren Fällung bei Raumtemperatur bzw. der thermischen Fällung bei neutralem pH wurde somit durch die thermisch-saure Fällung nicht erreicht. Auch bezüglich des Proteingehalts der Koagulate konnten keine signifikanten Unterschiede zu den oben genannten Fällungsmethoden festgestellt werden. Der Trockensubstanzgehalt der feuchten Koagulate war bei konstanter Erwärmungstemperatur weitestgehend vom pH unabhängig, stieg jedoch mit der Erwärmungstemperatur von ca. 12 % bei 20 °C auf ca. 14 % bei 85 °C geringfügig an.

Der wesentliche Effekt der thermisch-sauren Fällung bestand jedoch darin, daß der für die Koagulatausbeute optimale pH mit zunehmender Erwärmungstemperatur in Richtung eines höheren Wertes verschoben wurde. Ein entsprechender Effekt ist von MEISTER und THOMPSON im Zusammenhang mit der Koagulation von

Kartoffelprotein festgestellt worden (92). Bei der Erwärmung des Erbsenextrakts auf 60 °C wurde die maximale Koagulatausbeute bei einem pH von 4 erhalten. Diese Parameter entsprechen in etwa denjenigen, die üblicherweise bei der kommerziellen Herstellung von Sojaproteinisolaten zur Anwendung kommen. Eine besonders interessante Fragestellung bestand daher darin, inwieweit die unter diesen Parametern erhaltenen Produkte bezüglich ihrer funktionellen Eigenschaften mit Sojaproteinisolaten vergleichbar sind. Dies zu prüfen, war Gegenstand von Untersuchungen, die an anderer Stelle dieser Arbeit beschrieben sind (vgl. Kapitel 4.3).

4.1.2 Ultrafiltration

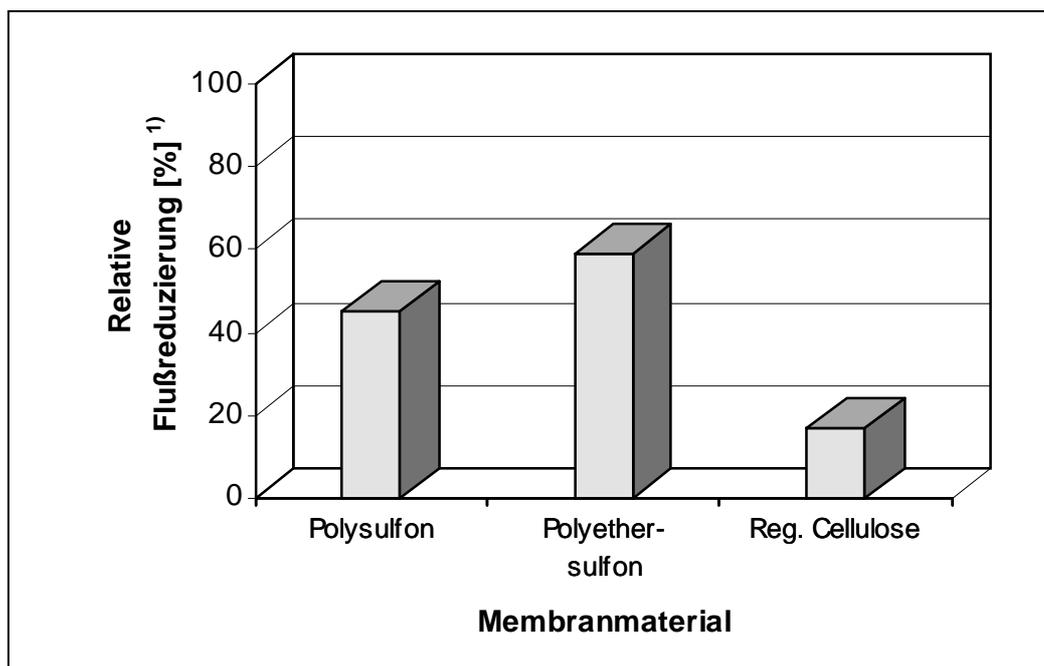
Ein alternatives Verfahren zur Gewinnung von Proteinen durch Fällung besteht in deren Konzentrierung durch Ultrafiltration (UF). Da die Ultrafiltration die Möglichkeit bietet, Inhaltsstoffe in Lösungen nach ihrer Molekülgröße zu trennen, ist sie potentiell auch dazu geeignet, Produkte mit einem hohen Proteingehalt herzustellen, weil die Molekülgröße der Proteine deutlich größer ist, als diejenige der meisten anderen gelösten Inhaltsstoffe. Insbesondere in der Molkereitechnologie werden Ultrafiltrationsverfahren mit ähnlicher Zielsetzung seit langem erfolgreich eingesetzt (93,94). Die Haupteinsatzgebiete liegen dabei in der Fraktionierung von Käsemolke sowie der Vorkonzentrierung von Milch für die Käseherstellung.

Die Eignung eines UF-Verfahrens zur Herstellung von Proteinprodukten aus Markerbse wird insbesondere davon abhängen, ob und bei welcher Filtrationsleistung das gewünschte Trennergebnis erzielt werden kann. Die Bedeutung der Filtrationsleistung ergibt sich dabei daraus, daß von dieser die erforderliche Filterfläche und damit die Investitionskosten und Betriebskosten für eine entsprechende Produktionsanlage direkt abhängen. Sowohl die Trenncharakteristik als auch die Filtrationsleistung werden von der Art der Membran sowie den angewendeten Filtrationsparametern beeinflusst. Diese Einflüsse sind für die Filtration des im TUB-Verfahren anfallenden Prozeßwassers bisher noch nicht bekannt. Es ergab sich daher die Notwendigkeit, diese zu untersuchen. Die Ergebnisse der hierzu durchgeführten Untersuchungen sind in den nachfolgenden Kapiteln dargestellt.

4.1.2.1 Voruntersuchungen zur Eignung unterschiedlicher Membranmaterialien im Hinblick auf die Filtration von Markerbseextrakten

Bei der Auswahl eines geeigneten Membranmaterials für das vorliegende Trennproblem war zu beachten, daß es bei der Filtration proteinhaltiger Lösungen in Abhängigkeit vom Membranmaterial häufig zu einer starken Adsorption von Protei-

nen an der Membranoberfläche kommt, welche die Trenncharakteristik sowie den Permeatfluß der Membranen beeinflussen kann (95-97). Häufig korreliert die Neigung zur Proteinadsorption mit der Hydrophobizität des Membranmaterials. So weisen hydrophobe Materialien wie Polysulfon eine deutlich stärkere Adsorptionsneigung auf als hydrophile Materialien, wie z.B. solchen auf Cellulosebasis. Dies konnte im Rahmen von Vorversuchen für die Filtration von Markerbsenextrakten prinzipiell bestätigt werden. In diesen wurde die Stärke des an das Membranmaterial adsorbierten Belags indirekt über die Verminderung des Permeatflusses von Leitungswasser ermittelt, der sich infolge der Adsorption des Proteins und der damit verbundenen Erhöhung des Filtrationswiderstands gegenüber einer fabrikneuen Membran einstellte. Die Versuche wurden mit Rührzellen durchgeführt, in die Membranen mit einer Trenngrenze von 30 kD eingelegt waren. Aus der Abbildung 11 ist zu entnehmen, daß die Verminderung des Permeatflusses im Falle der Verwendung von Membranen aus Polysulfon bzw. Polyethersulfon deutlich stärker ausfiel als im Falle einer Membran aus regenerierter Cellulose.



1) Bezogen auf den Wasserfluß einer Fabrikneuen Membran

Abb. 11: Einfluß des zur Ultrafiltration eines Markerbsenextrakts eingesetzten Membranmaterials auf die relative Flußreduzierung

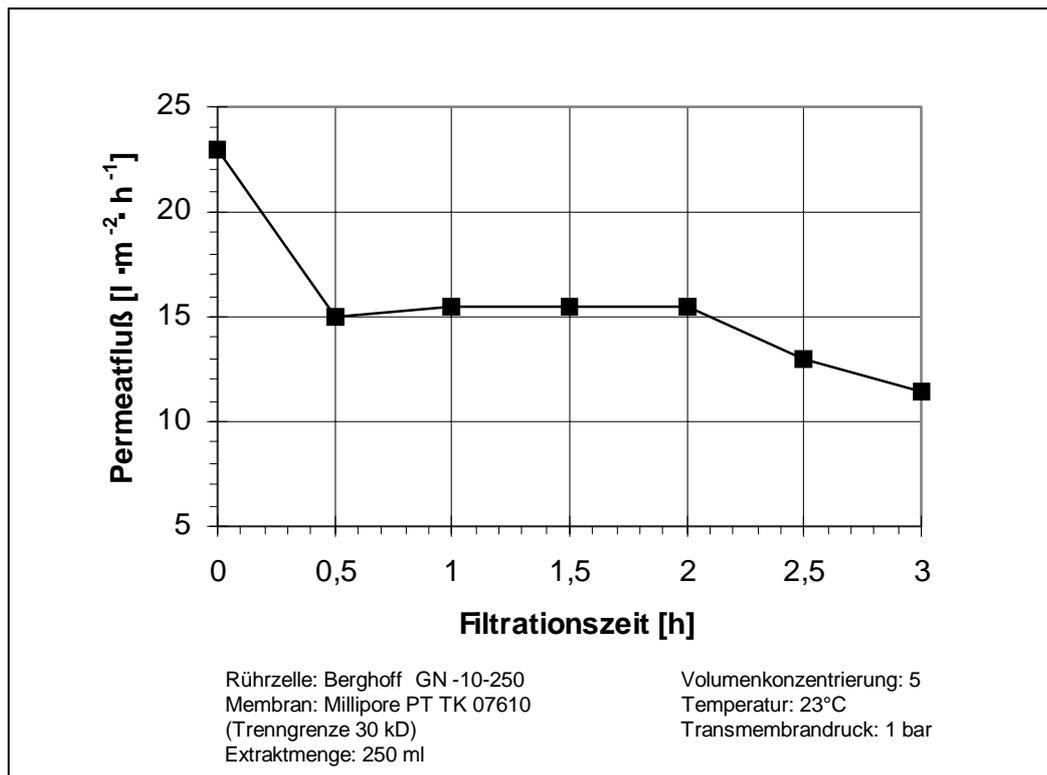


Abb.12: Einfluß der Filtrationszeit auf den Permeatfluß bei der Filtration eines wässrigen Erbsenextrakts mit einer Polysulfonmembran

Ziel weiterführender Untersuchungen war es daher zu testen, inwieweit sich daraus für die genannten Membranmaterialien Unterschiede bezüglich der Trenncharakteristik und des Permeatflusses ergeben. Hierzu wurden mit den drei Membranmaterialien Filtrationsversuche mit Niederdruckfiltrationszellen durchgeführt. Es wurden jeweils 250 ml Erbsenextrakt auf 50 ml aufkonzentriert (Volumenkonzentrierungsverhältnis = 5). Die sich unter den Filtrationsbedingungen ergebende Verteilung der Trockenmasse und des Proteins sowie der Permeatfluß wurden ermittelt. Der Permeatfluß war infolge der Bildung einer Deckschicht auf der Membranoberfläche nicht konstant (Abb. 12). Um einen Vergleichswert zu erhalten, wurde daher der mittlere Permeatfluß berechnet. Dies erfolgte in der Weise, daß das filtrierte Flüssigkeitsvolumen durch die für seine Filtration benötigte Zeit sowie die Fläche der Membran dividiert wurde. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tabellen 7 und 8 zusammengefaßt.

Aus der Tabelle 7 kann entnommen werden, daß kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Adsorptionsneigung des Membranmaterials und dem Permeatfluß bestand. Dem Zusammenhang zwischen der Hydrophobizität des Membranmaterials

und dessen Neigung zur Adsorption von Proteinen folgend, wäre für die Cellulosemembran der höchste und für die Polysulfonmembran der niedrigste Permeatfluß zu erwarten gewesen. Dies konnte aufgrund der Versuchsergebnisse jedoch nicht bestätigt werden. Ein Ansatz zur Erklärung dieses Ergebnisses konnte im weiteren Verlauf der Arbeit gefunden werden. Es wurde festgestellt, daß sich bei der Filtration des Markerbsenextrakts eine Deckschicht auf der Membran bildete, welche einen großen Einfluß auf das Filtrationsergebnis ausübte. Es kann davon ausgegangen werden, daß dieser Einfluß deutlich größer war als der von der Adsorption ausgehende, und damit der Einfluß der Adsorption überdeckt wurde.

Tab. 7: Einfluß des Membranmaterials und der -trenngrenze auf den Permeatfluß von Wasser und Markerbsenextrakt

Membranmaterial	nominale Trenngrenze (kD)	Permeatfluß ($\text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)		
		$J_{\text{Wasser (W)}}$	$J_{\text{Extrakt } t=0 \text{ (Et0)}}$	$J_{\text{E Mittel (EØ)}}$
Polysulfon	10	148,77	19,8	10,5
	30	320,68	23,1	14,9
	100	499,20	23,1	13,8
Polyethersulfon	10	239,69	21,5	11,4
	30	376,88	23,1	13,8
	100	537,23	23,1	13,9
Reg.Cellulose	10	66,12	23,1	11,2
	30	190,10	23,1	12,7

$J_{\text{Extrakt } t=0 \text{ (Et0)}}$ = Permeatfluß von Erbsenextrakt zu Beginn der Filtration

$J_{\text{E Mittel (EØ)}}$ = mittlerer Permeatfluß bei Konzentrierung eines Erbsenextrakts von 250 auf 50 ml

Zusammenfassend dazu kann somit festgestellt werden, daß das Membranmaterial trotz der Unterschiede bezüglich der Adsorption von Proteinen keinen signifikanten Einfluß auf den Permeatfluß sowie die Trenncharakteristik der Membranen hatte. Als Hauptkriterium für die Auswahl des Membranmaterials für die nachfolgenden Versuche konnte deshalb dessen Handhabbarkeit und Beständigkeit herangezogen

werden. Diesbezüglich besitzen synthetische Membranen gegenüber solchen auf Cellulosebasis deutliche Vorteile, so daß für die weiterführenden Versuche ausschließlich synthetische Membranmaterialien eingesetzt wurden.

Tab. 8: Einfluß des Membranmaterials und der -trenngrenze auf die relative Rückhaltung von Trockenmasse und N-Substanzen

Membranmaterial	nominale Trenngrenze (kD)	Relative Rückhaltung durch die Membran [%] ¹⁾	
		Trockenmasse	N-Substanzen
Polysulfon	10	53,13	82,12
	30	50,61	78,73
	100	47,82	74,18
Polyethersulfon	10	52,93	80,82
	30	51,22	79,08
	100	47,69	72,40
Reg. Cellulose	10	53,54	82,61
	30	50,34	77,08

1) Bezogen auf die im eingesetzten Extrakt enthaltene Gesamtmasse an Trockensubstanz bzw. N-Substanzen bei einem Volumenkonzentrationsverhältnis von 5

4.1.2.2 Einfluß der nominalen Trenngrenze der Ultrafiltrationsmembran auf den Permeatfluß und das Rückhaltevermögen

Im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit des Einsatzes eines Ultrafiltrationsverfahrens wurde die Abhängigkeit des Permeatflusses von der Trenngrenze ermittelt. Für die hierzu durchgeführten Versuche wurden Platten- und Hohlfasermodule mit Polyethersulfon bzw. Polyacrylnitrilmembranen eingesetzt. Der Vorteil dieser Module gegenüber Rührzellen besteht darin, daß die Filtration entsprechend den meisten industriellen Anwendungen im sogenannten Cross-Flow-Verfahren und damit unter praxisnäheren Bedingungen als mit den Rührzellen durchgeführt werden konnte. Nach diesem Verfahren wird die Membran durch das zu filtrierende Medium tangential angeströmt, wodurch einer unerwünschten Deckschichtbildung auf der Membran z.T. entgegengewirkt werden kann (95,97,98). Die Filtration wurde

satzweise vorgenommen, d.h. ein bestimmtes Ausgangsvolumen des Extrakts wurde so lange im System rezirkuliert, bis die gewünschte Volumenkonzentrierung erreicht war. Diese Vorgehensweise hatte gegenüber der in der Industrie üblichen kontinuierlichen Vorgehensweise den Vorteil, daß die wesentlichen Einflüsse der Verfahrensparameter auf das Filtrationsergebnis mit einem deutlich verminderten apparativen und experimentellen Aufwand festgestellt werden konnten. Für ein Scale-up in den Produktionsmaßstab wären, aufbauend auf den im Rahmen dieser Arbeit erzielten Versuchsergebnissen, allerdings ergänzende Versuche im Pilotmaßstab durchzuführen. Dies wurde in diesem Rahmen nicht untersucht.

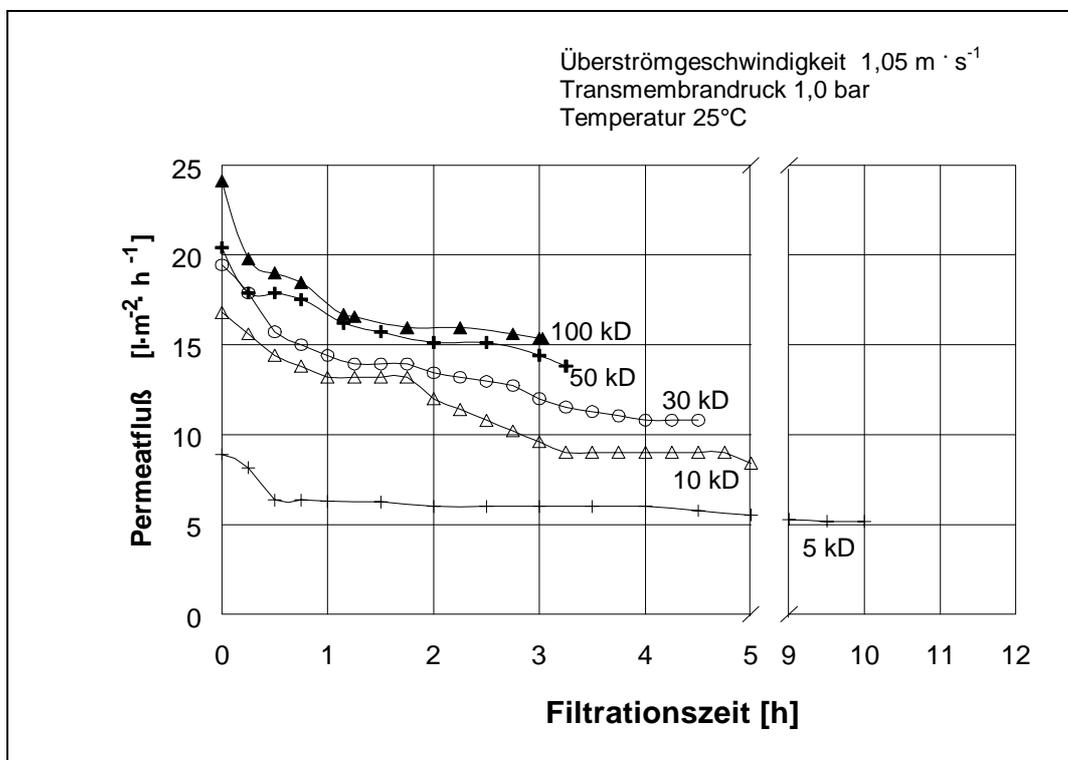


Abb. 14: Einfluß der nominalen Trenngrenze und der Filtrationszeit auf den Permeatfluß bei der Filtration von wäßrigen Erbsenextrakten

In einer ersten Versuchsreihe wurden Plattenmodule mit einer Filterfläche von 50 cm^2 und einer nominalen Trenngrenze zwischen 5 und 100 kD verwendet. Die Membran bestand aus Polysulfon. Die mit Membranen unterschiedlicher Trenngrenze in Abhängigkeit von der Filtrationszeit erzielten Permeatflüsse gehen aus der Abbildung 14 hervor. Es ist zu sehen, daß der Permeatfluß für die Membranen mit Trenngrenzen zwischen 5 und 100 kD von anfänglich ca. $10\text{-}25 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ in nur 3 h

auf ca. $6-15 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ zurückging. Dies war, wie an anderer Stelle noch gezeigt wird, in erster Linie auf die Bildung einer Sekundärmembran (Deckschicht) auf der Oberfläche der Membranen zurückzuführen, die insbesondere bei der Membranfiltration proteinreicher Lösungen häufig zu beobachten ist (95,98,99).

Der mittlere Permeatfluß, der bis zu einer Konzentrierung des Retentats auf ein Fünftel des Ausgangsvolumens ($\text{VCR} = 5$) aufgenommen wurde, stieg erwartungsgemäß mit zunehmender Trenngrenze an (Abb. 15). Bei einer Erhöhung der Trenngrenze von 5 auf 50 kD wurde er von 5,5 auf $17,1 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ mehr als verdreifacht. Im gleichen Bereich nahm der relative Anteil der durch die Membran zurückgehaltenen Trockenmasse an N-Substanzen von 80 auf 75 % nur vergleichsweise geringfügig ab. Bei einer Erhöhung der Trenngrenze um weitere 50 kD wurde der Permeatfluß dagegen lediglich um $1,5 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ angehoben, während die Rückhaltung des Proteins mit 3 %-Punkten ähnlich stark wie im Bereich zwischen 5 und 50 kD zurückging. Eine entsprechende Maßnahme wäre durch die damit verbundene Verminderung der Proteinausbeute daher nicht sinnvoll.

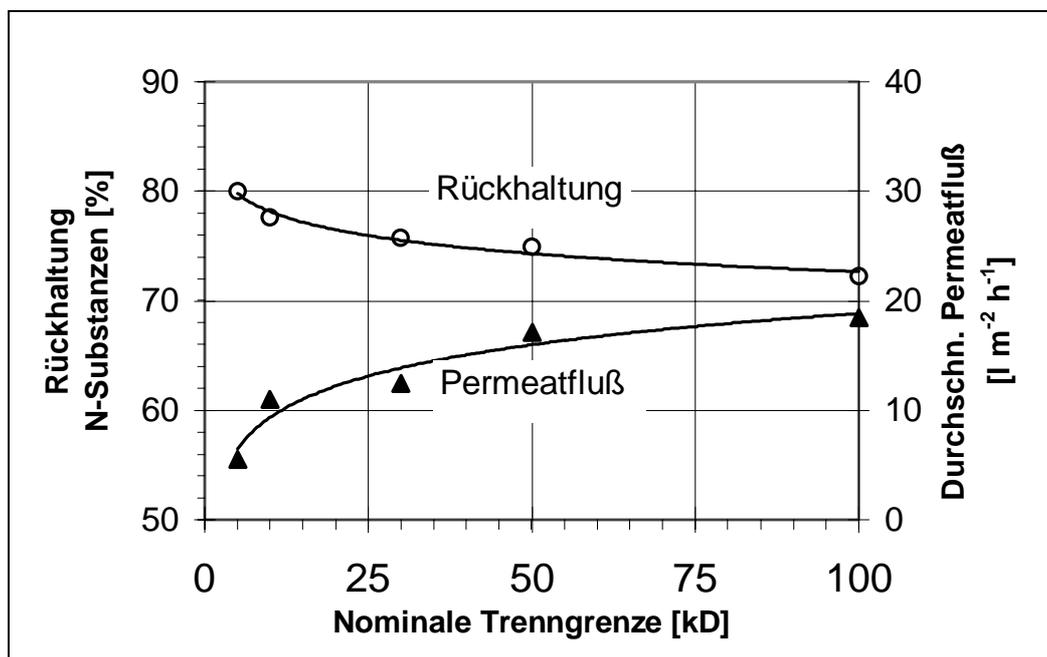


Abb. 15: Einfluß der nominalen Trenngrenze auf die Rückhaltung von N-Substanzen und den durchschnittlichen Permeatfluß bei einer Volumenkonzentrierung von 5

Der Proteingehalt in der Trockenmasse der Retentate war weitestgehend von der Trenngrenze unabhängig. Er betrug ähnlich wie in den Rührzellenversuchen 67-68 %. Eine Ausnahme bildete diesbezüglich das Retentat, welches unter Verwen-

dung der Membran mit einer Trenngrenze von 5 kD erhalten worden war. Hier betrug der Proteingehalt lediglich 60 %. Der Grund für diesen kleineren Proteingehalt besteht ggf. darin, daß bei der geringeren Porenweite der Membran neben den Proteinen verstärkt auch N-freie Substanzen mit einem im Vergleich zu den Proteinen kleineren Molgewicht, durch die Membran zurückgehalten wurden.

4.1.2.3 Einfluß der Filtrationsparameter auf den Permeatfluß sowie die Trenncharakteristik der Membranen

Im vorangegangenen Kapitel ist im Zusammenhang mit der Verminderung des Permeatflusses bereits darauf hingewiesen worden, daß die Ursache dafür in der Bildung einer Deckschicht auf der Membranoberfläche liegen kann. Diese auch als Sekundärmembran bezeichnete Schicht bewirkt einen zusätzlichen hydraulischen Widerstand, welcher den Permeatfluß herabsetzt. Ihre Entstehung ist auf eine Konzentrationsüberhöhung gelöster Stoffe an der Grenzfläche zur Membran zurückzuführen (100,101,102). Da die zurückgehaltenen Stoffe sich durch die Permeation des Lösungsmittels an der Membranoberfläche anreichern, erreicht die Konzentrationsdifferenz zwischen Membranoberfläche und Strömungskern einen konstanten Maximalwert, so daß auch die Rückdiffusion der Moleküle in den Strömungskern konstant ist. Steigern des Permeatflusses durch Erhöhen des hydrostatischen Drucks bewirkt zwar einen entsprechend größeren konvektiven Stofftransport der gelösten Substanzen zur Membran, da aber wegen der Sättigung der Lösung die Rückdiffusion konstant bleibt, müssen diese durch die damit verbundene Konzentrationsüberhöhung ausfallen. Davon sind insbesondere höhermolekulare und kolloidale Stoffe betroffen weil ihr Löslichkeitsgleichgewicht bei einer niedrigeren Stoffkonzentration als bei niedermolekularen Stoffen erreicht wird. Die ausfallenden Stoffe können die Membran in Form einer Deckschicht belegen. Die Belagbildung schreitet so lange voran, bis der zunehmende hydraulische Widerstand der Deckschicht den Permeatfluß wieder auf den ursprünglichen Wert reduziert hat. Eine Erhöhung des hydrostatischen Drucks bewirkt somit keine Steigerung des Permeatflusses mehr. In diesem Fall gilt entsprechend der Filmtheorie der in der Gleichung 11 dargestellte Zusammenhang zwischen den Filtrationsparametern und dem Permeatfluß (97,103). Entsprechend der Gleichung ist der Permeatfluß umgekehrt proportional zum Logarithmus der Konzentration des Retentats. Auch im Falle der Filtration von Markerbsenextrakten konnte eine starke Abhängigkeit des Permeatflusses von der Retentatkonzentration festgestellt werden. In der Abbildung 16 ist der Verlauf des Permeatflusses in Abhängigkeit von der

Filtrationszeit dargestellt, der sich einstellte, wenn ein Markerbsenextrakt mit einer von 50 kD-Membran von 3 auf 7 % TS aufkonzentriert wurde. Dieser Kurve ist eine entsprechende gegenübergestellt, die erhalten wurde, wenn ein Markerbsenextrakt mit einem TS-Gehalt von 6 % unter Konstanthaltung des TS-Gehalts (Permeatrückführung) über die gleiche Zeit filtriert wurde.

$$J = K \cdot \ln \frac{C_{is} - C_{ip}}{C_{iL} - C_{ip}} \quad (\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$$

(Gl. 11)

- J = Permeatfluß ($\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)
 K = Stoffübergangskoeffizient ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)
 C_{is} = Sättigungskonzentration von „i“
 C_{ip} = Konzentration von „i“ im Permeat
 C_{iL} = Konzentration von „i“ im Strömungskern

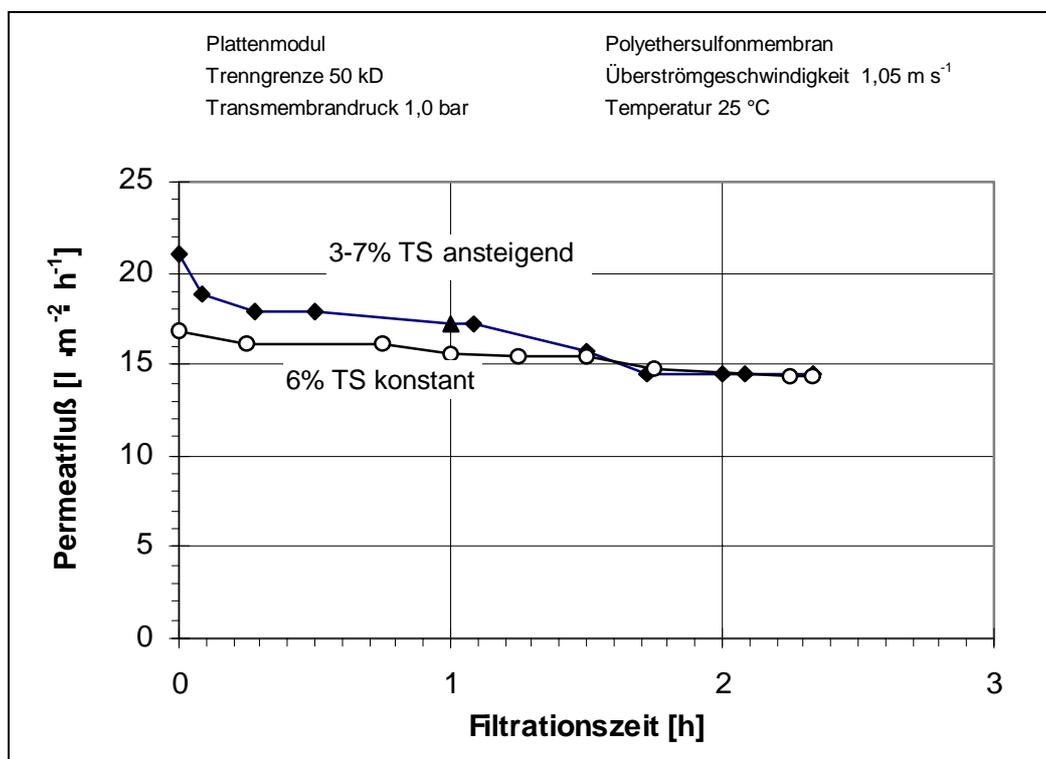


Abb. 16: Einfluß des Trockensubstanzgehalts des Retentats sowie der Filtrationszeit auf den bei der Filtration von Erbsenextrakten erzielten Permeatfluß

Es ist zu erkennen, daß der Permeatfluß bei der Aufkonzentrierung des Extrakts über die Zeit deutlich vermindert wurde, während im Vergleich dazu die Verminderung unter Konstanthaltung des TS-Gehalts nur klein war. Somit konnte gezeigt werden, daß die bei der Filtration der Markerbsenextrakte festzustellende Verminderung des Permeatflusses über die Filtrationszeit primär vom TS-Gehalt des Retentats abhängt. Da der Einfluß der Filtrationszeit somit weitestgehend vernachlässigt werden konnte war es möglich, für die Konzentrierung des Markerbsenextrakts den Einfluß der Retentatkonzentration näherungsweise zu ermitteln. In Abbildung 17 ist zu sehen, daß entsprechend der Filmtheorie ein annähernd logarithmischer Zusammenhang zwischen den beiden Größen bestand. Deshalb kann davon ausgegangen werden, daß die erreichten Permeatflüsse durch die Bildung einer Sekundärmembran (Deckschicht) limitiert wurden.

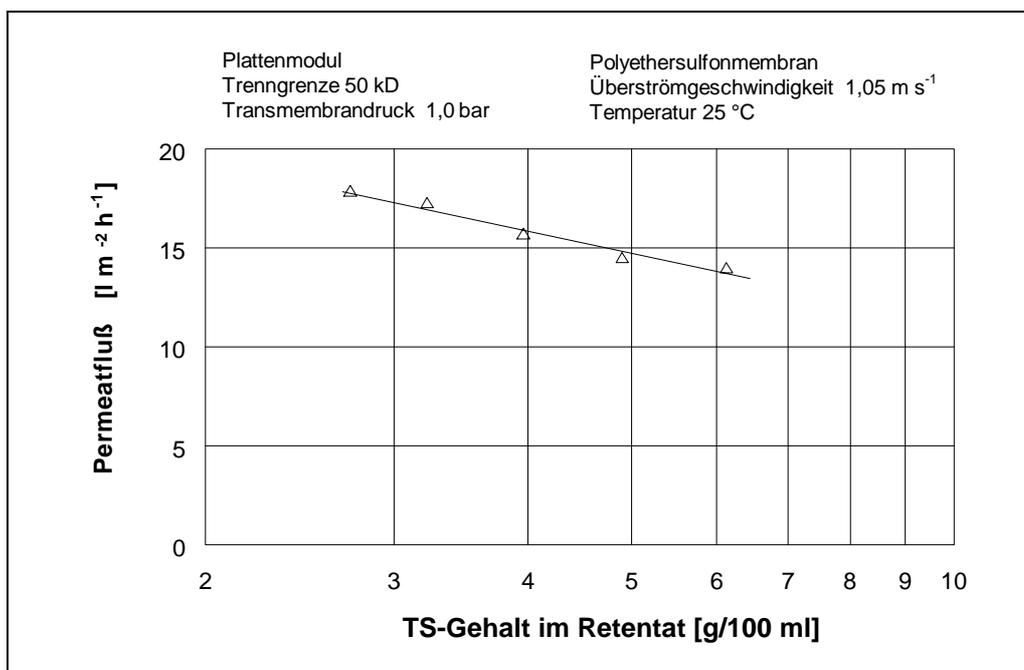


Abb. 17: Einfluß des Trockensubstanzgehalts des Retentats auf den bei der Filtration von Erbsenextrakten erzielten Permeatfluß

Im Hinblick auf die Erzielung eines hohen Permeatflusses sowie des gewünschten Trennergebnisses wird angestrebt, die Dicke der Deckschicht klein zu halten. Dies erfolgt zumeist dadurch, daß die Rückdiffusion der gelösten Substanzen von der Membranoberfläche in den Strömungskern durch Wahl geeigneter Filtrationsparameter begünstigt wird. Zu den in diesem Zusammenhang wesentlichen Parametern zählen die Temperatur des zu filtrierenden Mediums, der Transmembrandruck sowie die Strömungsbedingungen. Bezüglich der Strömungsbedingungen sind

insbesondere die Strömungsgeometrie sowie die tangentielle Anströmgeschwindigkeit von Bedeutung. Ziel der nachfolgenden Untersuchungen war es daher, für den konkreten Anwendungsfall der Filtration von Markerbsenextrakten den Einfluß dieser Parameter auf den Permeatfluß sowie die Trenncharakteristik der Membranen aufzuzeigen. Die Untersuchungen wurden exemplarisch an zwei Membranen durchgeführt, deren Trenngrenze 10 bzw. 50 kD betrug. Da die Strömungsgeometrie bei der verwendeten Modulbauform nicht beeinflusst werden konnte, wurde bezüglich der Strömungsbedingungen lediglich die Überströmgeschwindigkeit variiert. Es wurden jeweils 250 ml Erbsenextrakt auf 50 ml filtriert (VCR 5). Die unter Variation der Filtrationsparameter erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen 9 und 10 zusammengefaßt.

Tab. 9: Einfluß der Filtrationsparameter auf die relative Rückhaltung an N-Substanzen und Trockenmasse sowie den mittleren Permeatfluß unter Verwendung einer Membran mit einer Trenngrenze von 10 kD und einer Volumenkonzentrierung von 5

Filtrationsparameter			Filtrationsergebnis		
Transmembrandruck [bar]	Überströmgeschwindigkeit [m·s ⁻¹]	Temperatur [°C]	Relative Rückhaltung Protein [%]	Relative Rückhaltung TS [%]	Mittlerer Permeatfluß [l·m ⁻² ·h ⁻¹]
1,0	1,05	25	77,4	54,3	9,6
0,75	1,05	25	75,3	52,6	9,2
1,25	1,05	25	78,0	54,5	10,6
1,0	0,53	25	78,4	51,3	7,1
1,0	0,79	25	80,5	55,6	7,1
1,0	1,05	35	78,2	54,9	13,7
1,0	1,05	45	80,1	56,3	11,9

Aus den Tabellen ist zu entnehmen, daß der Permeatfluß gemäß der Filmttheorie weitestgehend unabhängig vom Transmembrandruck war. Dies wird auch aus der Abbildung 18 deutlich in der exemplarisch für die Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD der Permeatfluß in Abhängigkeit vom Transmembrandruck sowie der Filtrationszeit graphisch dargestellt ist. Dagegen bestand zur Überströmgeschwindigkeit und zur Temperatur eine deutliche Abhängigkeit. Im Falle der Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD wurde durch eine Verdopplung der Überströmgeschwindigkeit von 0,53 auf 1,05 m·s⁻¹ unter ansonsten identischen Bedingungen der Permeatfluß von

11,7 auf $17,1 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ erhöht. Der Permeatfluß stieg bei einer zusätzlichen Erhöhung der Temperatur von 25 auf 45 °C um weitere $2,4 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ an. Letztere Maßnahme ist aufgrund der bei dieser Temperatur zu erwartenden Koagulation des Proteins (vgl. 4.1.1.1) im Hinblick auf den Erhalt der nativen Eigenschaften des Proteins jedoch weniger geeignet, um Proteinprodukte mit einer hohen Löslichkeit und Funktionalität zu erhalten. Die Rückhaltung des Proteins durch die Membran stieg tendenziell mit zunehmendem Transmembrandruck und abnehmender Überströmgeschwindigkeit an. Dies entspricht den Erwartungen, da mit diesen Maßnahmen eine Zunahme der Dicke der Deckschicht und damit eine größere Barrierewirkung derselben verbunden war.

Tab.10: Einfluß der Filtrationsparameter auf die relative Rückhaltung an N-Substanzen und Trockenmasse sowie den mittleren Permeatfluß unter Verwendung einer Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD und einer Volumenkonzentrierung von 5

Filtrationsparameter			Filtrationsergebnis		
Transmembrandruck [bar]	Überströmgeschwindigkeit [m · s ⁻¹]	Temperatur [°C]	Relative Rückhaltung Protein [%]	Relative Rückhaltung TS [%]	Mittlerer Permeatfluß [l · m ⁻² · h ⁻¹]
1,0	1,05	25	74,9	52,9	17,1
0,75	1,05	25	75,3	51,5	16,5
1,25	1,05	25	76,5	52,9	16,5
1,0	0,53	25	77,1	51,6	11,7
1,0	0,79	25	75,6	51,6	13,7
1,0	1,05	35	74,3	52,6	17,2
1,0	1,05	45	76,3	52,6	20,0

Insgesamt kann festgestellt werden, daß das Rückhaltevermögen und der Permeatfluß der Membranen in Abhängigkeit von den Filtrationsparametern in einem weiten Bereich variierten. Dabei ergaben sich zwischen den Ergebnissen, die mit der 10- und mit der 50-kD-Membran erzielt wurden, z.T. Überschneidungen. So wurde beispielsweise mit der 50-kD-Membran bei einer Überströmgeschwindigkeit von $0,53 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ vergleichbare Ergebnisse wie mit der 10-kD-Membran bei einer Überströmgeschwindigkeit von $1,05 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ erhalten. Hierdurch wird deutlich, daß die Deckschichtbildung neben der Trenngrenze der Membran einen entscheidenden Einfluß auf das Rückhaltevermögen und den Permeatfluß der Membranen hat.

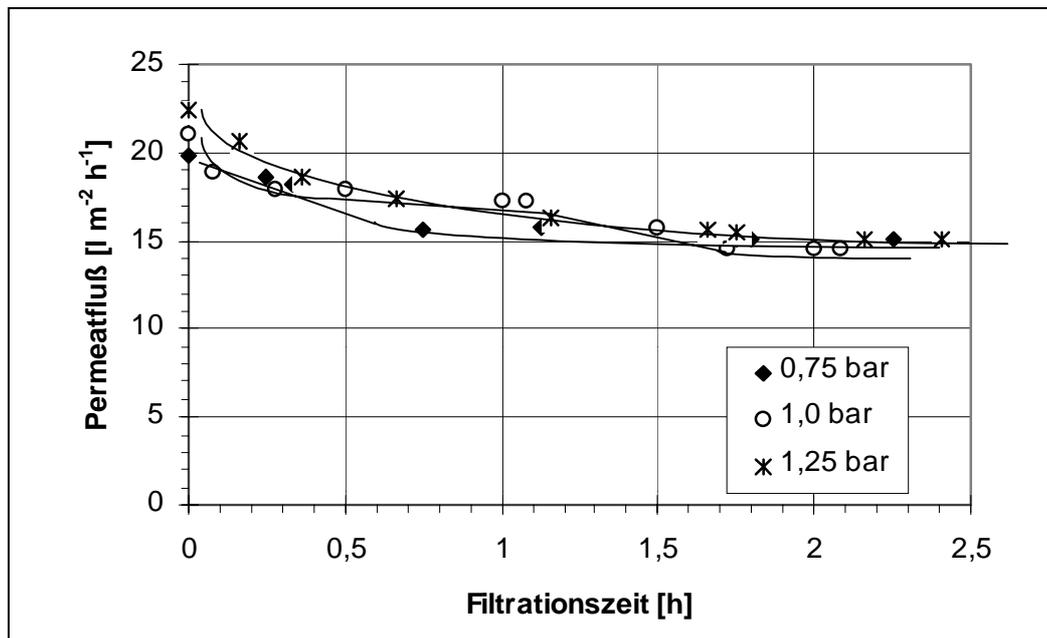
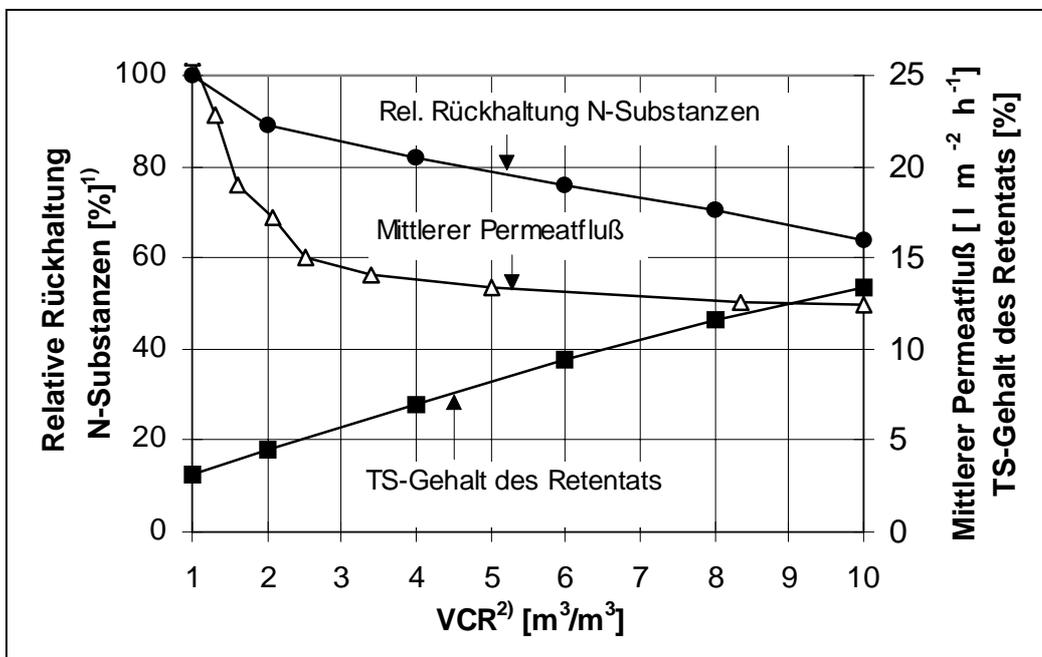


Abb. 18: Einfluß des Transmembrandrucks und der Filtrationszeit auf den Permeatfluß einer Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD

In den vorangehend beschriebenen Untersuchungen sind die Erbsenerextrakte überwiegend bis zu einer Volumenkonzentrierung von $VCR = 5$ aufkonzentriert worden. Unter Verwendung einer Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD wurden dabei ca. 52 % der Gesamttrockenmasse im Retentat zurückgehalten, so daß der TS-Gehalt des Extrakts von ca. 3 auf rund 8 % im Retentat angehoben wurde. Bei einer Umsetzung eines entsprechenden Verfahrens in den Industriemaßstab könnte es jedoch von Vorteil sein, eine weitreichendere Volumenkonzentrierung vorzunehmen. Hierdurch könnte ggf. der Proteingehalt in der Trockenmasse des Retentats und damit die Reinheit des daraus durch Trocknung hergestellten Proteinproduktes weiter angehoben werden. Ein weiterer Vorteil gegenüber einer geringeren Konzentrierung könnte darin bestehen, daß durch die Erhöhung des TS-Gehalts im Retentat der thermische Energieaufwand für dessen Trocknung vermindert würde. Inwieweit sich durch eine entsprechende Maßnahme ein ökonomischer Vorteil ergibt, hängt unter anderem davon ab, wie sich diese auf den Permeatfluß sowie die Rückhaltung an Protein und Trockenmasse auswirkt. Ziel der nachfolgenden Untersuchungen war es daher, diese Zusammenhänge aufzuzeigen. Die Versuche wurden mit einem Hohlfasermodule mit einer Trenngrenze von 50 kD durchgeführt. Die weiteren Filtrationsparameter sind in der Tabelle 11 angegeben.

Tab.11: Übersicht über die angewendeten Filtrationsparameter

Parameter	Zahlenwert
Trenngrenze [kD]	50
Temperatur [°C]	25
Überströmgeschwindigkeit [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$]	0,8
Transmembrandruck [bar]	1,0
Membranfläche [m^2]	0,2
Filtriertes Volumen [l]	20



- 1) Bezogen auf die im eingesetzten Extrakt enthaltene Gesamtmasse an N-Substanzen
 2) Volumenkonzentrierung

Abb.19: Einfluß der Volumenkonzentrierung auf den Trockensubstanzgehalt des Retentats, die Rückhaltung von N-Substanzen sowie den mittleren Permeatfluß

Aus der Abbildung 19 ist zu entnehmen, daß sich unter den Filtrationsparametern bis zu einer Volumenkonzentrierung von 5 ein mittlerer Permeatfluß von $13,3 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ einstellte. Dies entspricht in etwa dem Wert, der unter Anwendung vergleichbarer Filtrationsparameter unter Verwendung des Plattenmoduls erhalten worden war (Tab. 10). Der TS-Gehalt des Retentats stieg mit der Volumenkonzentrierung linear an. Bei einer Steigerung der Volumenkonzentrierung von VCR 5

auf VCR 10 nahm sie von 8,2 auf 13,4 % zu. Die Rückhaltung der N-Substanzen nahm dahingegen im gleichen Bereich von 78,5 auf 63,7 % deutlich ab. Dies bedeutet, daß mit dieser Maßnahme eine relative Verminderung der Proteinausbeute um ca. 19 % verbunden wäre. Der mittlere Permeatfluß wurde dahingegen im Bereich zwischen VCR 5 und VCR 10 nur geringfügig vermindert. Er fiel von 13,3 auf 12,5 $\text{l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ab. Im Falle einer Umsetzung eines UF-Verfahrens in den Produktionsmaßstab ergäbe sich somit eine Optimierungsaufgabe, die darin bestünde, die von der Volumenkonzentrierung abhängigen Produktionskosten gegenüber den von der Produktausbeute abhängigen Erlöse für die Proteinprodukte abzuwägen. Hierbei wäre unter anderem auch zu berücksichtigen, inwieweit sich die Maßnahme auf die Investitions- und Betriebskosten zur weiteren Aufarbeitung des Permeats, z.B. durch Umkehrosmose, auswirkt.

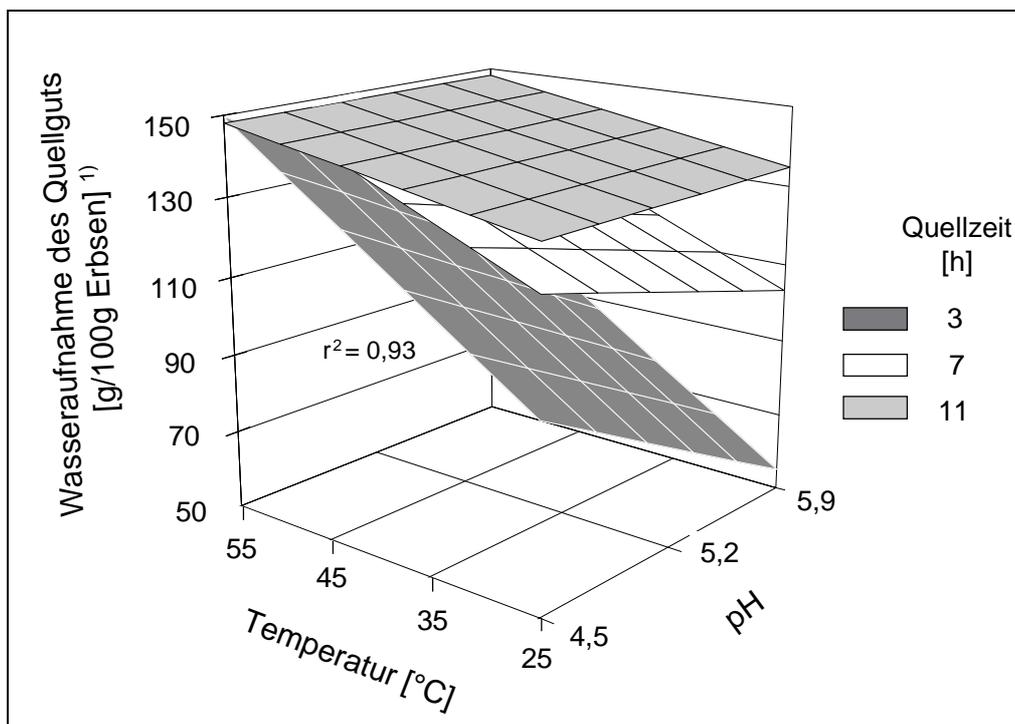
4.2 Untersuchungen zur Verminderung von antinutritiven Substanzen in den herstellbaren Proteinprodukten

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung von Proteinprodukten aus Markerbsen im Bereich der tierischen und menschlichen Ernährung erweist es sich als nachteilig, daß Markerbsen verschiedene antinutritive bzw. antiphysiologische Substanzen (ANS) enthalten, welche die ernährungsphysiologische Wertigkeit der aus ihnen herstellbaren Produkte limitieren können. Ziel der nachfolgenden Versuche war es daher zu untersuchen, inwieweit diese Substanzen in die auf der Grundlage des TUB-Verfahrens herstellbaren Proteinprodukte gelangen bzw. inwieweit durch geeignete verfahrenstechnische Maßnahmen deren Übergang in die Proteinprodukte beschränkt werden kann. Bezüglich der Maßnahmen zur Verminderung der ANS stand insbesondere die Quellung der Markerbsen sowie die Fällung und Ultrafiltration in Lösung gebrachter Proteine im Vordergrund. Diese Verfahrensschritte sind sowohl Bestandteil des TUB-Verfahrens wie auch anderer Verfahren. Sie stellen somit im Hinblick auf die Zielsetzung der Verminderung der ANS keinen zusätzlichen verfahrenstechnischen Aufwand dar. Bei den berücksichtigten ANS handelte es sich um Phytinsäure, flatusfördernde Oligosaccharide (α -Galactoside) sowie Trypsininhibitoren. Lectine und Tannine, denen in anderen Leguminosen ebenfalls eine bedeutende antinutritive Wirkung zukommt, wurden hingegen nicht berücksichtigt. Der Grund hierfür bestand darin, daß Erbsenhämagglutinine nur eine niedrige Toxizität besitzen (26,104) und in Vorversuchen gezeigt werden konnte, daß die untersuchten Markerbsensorten Markana, Tristar und Sprinter nur einen sehr kleinen Tanningehalt aufweisen. Ergänzend zu den ANS wurde auch die *in vitro* Proteinverdaulichkeit der Produkte untersucht. Die einzige Ausnahme hiervon bildeten die Quellversuche, da davon ausgegangen werden mußte, daß die zur Quellung eingesetzten Puffergemische das Analyseergebnis beeinflussen hätten.

4.2.1 Einfluß der Quellung

Bevor der Einfluß der Quellbedingungen auf die Verminderung der ANS untersucht werden konnte, war es zunächst erforderlich, einen geeigneten Wertebereich für die Variation der einzelnen Quellparameter festzulegen. Dabei mußten einige Vorgaben berücksichtigt werden, die sich u. a. aus den Anforderungen ergeben, die an die Quellung zur Vorbereitung des Rohstoffs für die anschließende Extraktion der Stärke zu stellen sind. Im Hinblick auf die Quellzeit bedeutet dies, daß der Rohstoff über mindestens 3 h gequollen werden muß, um die zur Schälung notwendige

Glättung der runzeligen Erbsenoberfläche zu erzielen. Als längste Quellzeit wurden 11 h gewählt. Längere Quellzeiten schienen nicht sinnvoll zu sein, da sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß in diesem Fall insbesondere im Temperaturbereich um ca. 30 °C unerwünschte proteolytische Prozesse im Quellgut auftraten.



¹⁾ Bezogen auf die lufttrockene Masse der Erbsen

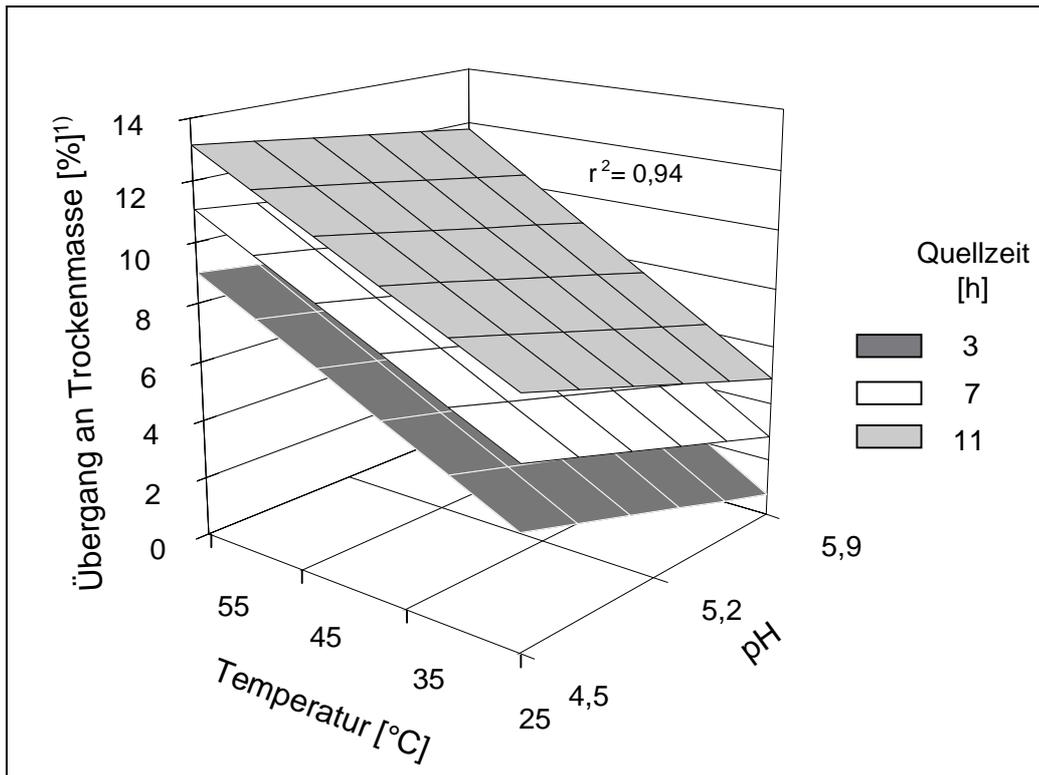
Abb.20: Einfluß der Quellparameter auf die Wasseraufnahme des Quellguts

Bei der Festlegung des zu untersuchenden Temperaturbereichs war zu berücksichtigen, daß im Verlauf der Quellung keine Schädigung der wertgebenden Inhaltsstoffe des Rohstoffs auftritt. Da aber ein Abbau der ANS, wie der Phytinsäure, durch rohstoffeigene Enzyme sehr erwünscht ist, der durch die Temperierung des Quellguts auf das Temperaturoptimum der Phytasen im Bereich von 50 °C gefördert werden kann, wurde als oberes Temperaturniveau für die Quellversuche eine Temperatur von 55 °C gewählt. Die untere Temperatur wurde auf 25 °C festgelegt, weil festgestellt werden sollte, inwieweit bei der Quellung auch ohne eine Erhöhung der Quelltemperatur eine Verminderung der ANS eintritt. Zur Prüfung auf eine mögliche Denaturierung des Proteins wurde parallel zum Einfluß der Quellparameter auf die ANS auch deren Einfluß auf die Löslichkeit des Proteins untersucht. Der Aufgabenstellung entsprechend, wurde für die Quellversuche der pH zwischen 4,5 und 5,9

eingestellt. Dadurch erfolgte die Quellung im Bereich des erwarteten pH-Optimums der Erbsenphytasen welcher von BEAL und MEHTA für Erbsen der Sorte GARFIELD mit 5,2 ermittelt wurde (105). Die Ergebnisse der Quellversuche, sowie die auf deren Grundlage ermittelten Regressionsgleichungen sind gemeinsam mit deren statistischen Kennwerten in den Tabellen A1 und A2 im Anhang dargestellt. Aus diesen geht hervor, daß der funktionale Zusammenhang zwischen den Einfluß- und Zielgrößen mit Hilfe der Regressionsgleichungen mit hinreichender Genauigkeit beschrieben werden können. Es wurden hohe Signifikanzen und Bestimmtheitsmaße ermittelt. Bei der die Verminderung der Phytinsäure beschreibenden Gleichung fiel das Bestimmtheitsmaß mit $r^2 = 0,82$ am kleinsten aus. In Anbetracht der methodisch bedingten Standardabweichung bei der Bestimmung des Phytinsäuregehalts in den Proben, deren Phytinsäuregehalt sich zudem um maximal 25 % unterschied, wäre ein deutlich höheres Bestimmtheitsmaß allerdings auch nicht zu erwarten gewesen. Nachstehend sind die funktionalen Zusammenhänge, die mit den ermittelten Regressionsgleichungen beschrieben werden, zur besseren Veranschaulichung in dreidimensionalen Diagrammen dargestellt.

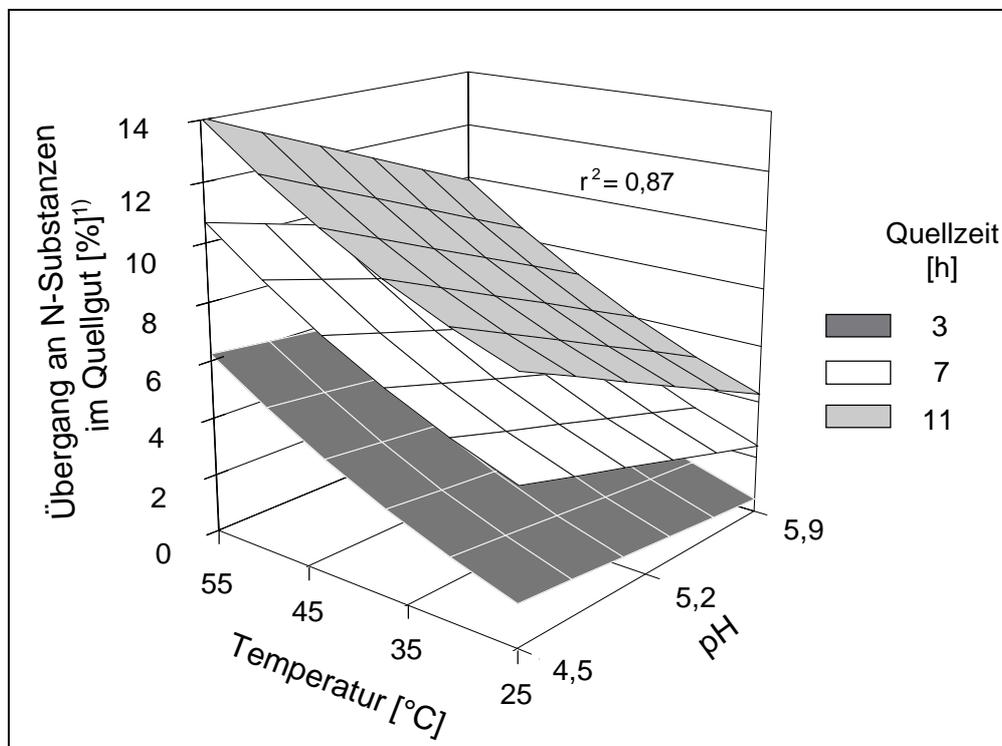
In der Abbildung 20 ist der Einfluß der Quellparameter auf die Wasseraufnahme des Quellguts dargestellt. Die Wasseraufnahme ist für den sich anschließenden Naßschälprozess von entscheidender Bedeutung, weil dadurch die erforderliche Glättung der zuvor runzeligen Oberfläche der Erbsen erreicht wird. Bei der für die Quellversuche eingesetzten Markerbsensorte Sprinter lag der Endpunkt der Wasseraufnahme in etwa bei 150 g/100 g Erbsen (106). Der Endpunkt der Wasseraufnahme wurde um so schneller erreicht, je höher die Temperatur und um so niedriger der pH gewählt wurde. So war die maximale Wasseraufnahme bei einer Temperatur von 55 °C und einem pH von 4,5 bereits nach 3 h erreicht, während bei einer Temperatur von 25 °C und einem pH von 5,9 die Wasseraufnahme selbst nach 11 h noch nicht beendet war.

Aus den Abbildungen 21 und 22 ist zu entnehmen, daß die Extraktion an Trockenmasse und N-Substanzen aus dem Quellgut durch die gleichen Parameter wie die Wasseraufnahme begünstigt wurde. Sie nahm mit zunehmender Quellzeit und -temperatur sowie mit abnehmendem pH zu. Dabei bestand jeweils ein linearer bzw. annähernd linearer Zusammenhang zu den genannten Parametern. Der maximale Übergang an Trockenmasse und N-Substanzen betrug innerhalb des untersuchten Parameterbereichs 13 % bzw. 14 % von der jeweiligen Gesamtmasse in den Erbsen. Bei den N-Substanzen handelte es sich vorwiegend um solche, die für die Herstel-



1) Bezogen auf die Gesamttrockenmasse des eingesetzten Quellguts

Abb.21: Einfluß der Quellparameter auf den Übergang an Trockenmasse aus dem Quellgut in das Quellwasser

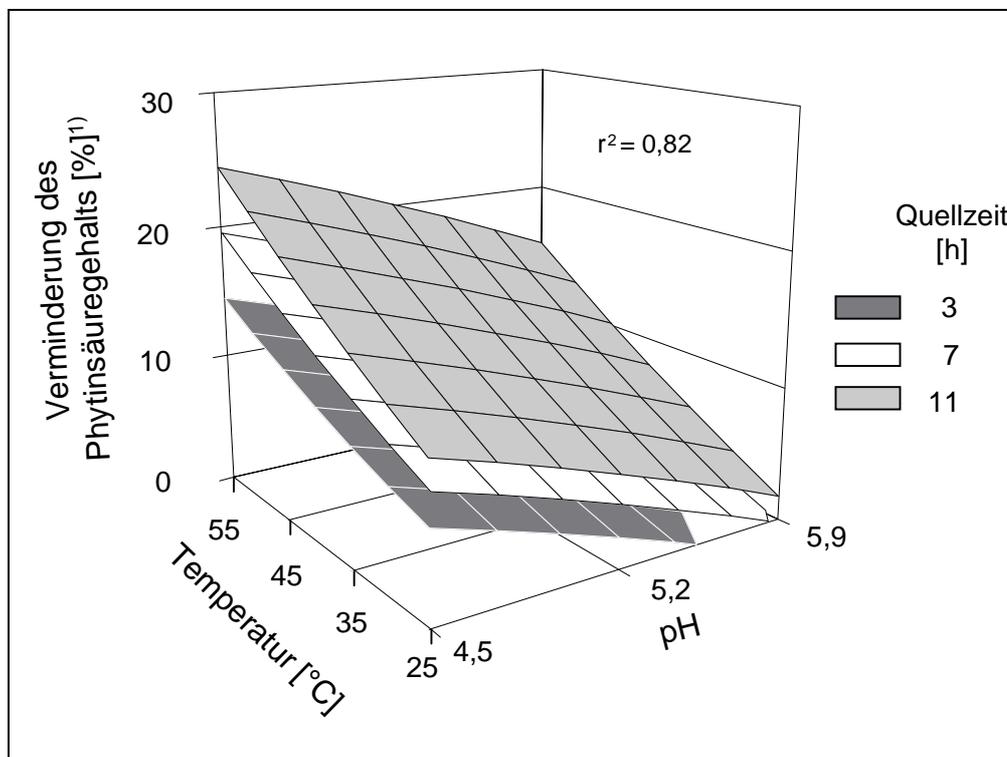


1) Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Gesamtmasse an N-Substanzen

Abb.22: Einfluß der Quellparameter auf den Übergang an N-Substanzen aus dem Quellgut in das Quellwasser

lung von Proteinprodukten von untergeordneter Bedeutung sind. Dies wurde daraus abgeleitet, daß in dem Versuch, in dem der höchste Anteil an N-Substanzen ins Quellwasser überging, weniger als 3% der gelösten N-Substanzen fällbar war.

Die Verminderung des Phytinsäuregehalts im Quellgut verlief weitestgehend parallel zu dem Substanzübergang in das Quellwasser. Aus der Abbildung 23 ist zu entnehmen, daß bei einer Quellzeit von 11 h, einer Temperatur von 55 °C und einem pH von 4,5 die Reduktion gegenüber dem Ausgangsgehalt 25 % entsprach. Bezogen auf die Ausgangskonzentration, war damit die höchste Reduktion eingetreten. Im gleichen Zeitraum ging der Phytinsäuregehalt bei einem pH von 5,9 und bei Raumtemperatur des Quellansatzes nur um weniger als 5 % zurück. Unter diesen Bedingungen war nach 7 h überhaupt noch keine Veränderung des Phytinsäuregehalts festzustellen. Aus der Neigung der Flächen geht zudem hervor, daß der Einfluß der Temperatur und des pH in etwa gleich groß waren. Eine weitere Erhöhung der Temperatur über den untersuchten Wertebereich hinaus würde ggf. zu einer noch weitergehenden Verminderung des Phytinsäuregehalts im Quellgut führen. Diese Vorgehensweise ist jedoch wegen der möglichst weitgehenden Erhaltung der Stärke- und Proteineigenschaften der Markerbsen nicht durchführbar.



¹⁾ Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Gesamtmasse an Phytinsäure

Abb.23: Einfluß der Quellparameter auf die Verminderung des Phytinsäuregehalts in Markerbsen der Sorte Sprinter

Damit verglichen war die Dauer des Quellprozesses von untergeordneter Bedeutung. Im optimalen Temperatur- und pH-Bereich konnte durch eine Verlängerung der Quellzeit von 3 auf 11 h der Phytinsäuregehalt im Quellgut nur um weitere 10 % reduziert werden. Es wurde unter diesen Versuchsbedingungen im berücksichtigten Wertebereich zwar die höchste Abnahme des Phytinsäuregehalts um 25 % erreicht, doch ist im Hinblick auf eine industrielle Umsetzung zu berücksichtigen, daß eine solche Ausdehnung der Quellzeit bei entsprechend angehobener Temperatur zusätzliche Betriebs- und Investitionskosten verursachen würde. Trotz der beachtlichen Verminderung des Phytinsäuregehalts bliebe deshalb abzuwägen, ob der zu treibende Aufwand gerechtfertigt wäre, wenn mit derart geänderten Quellbedingungen kein weiterer Vorteil verbunden werden könnte.

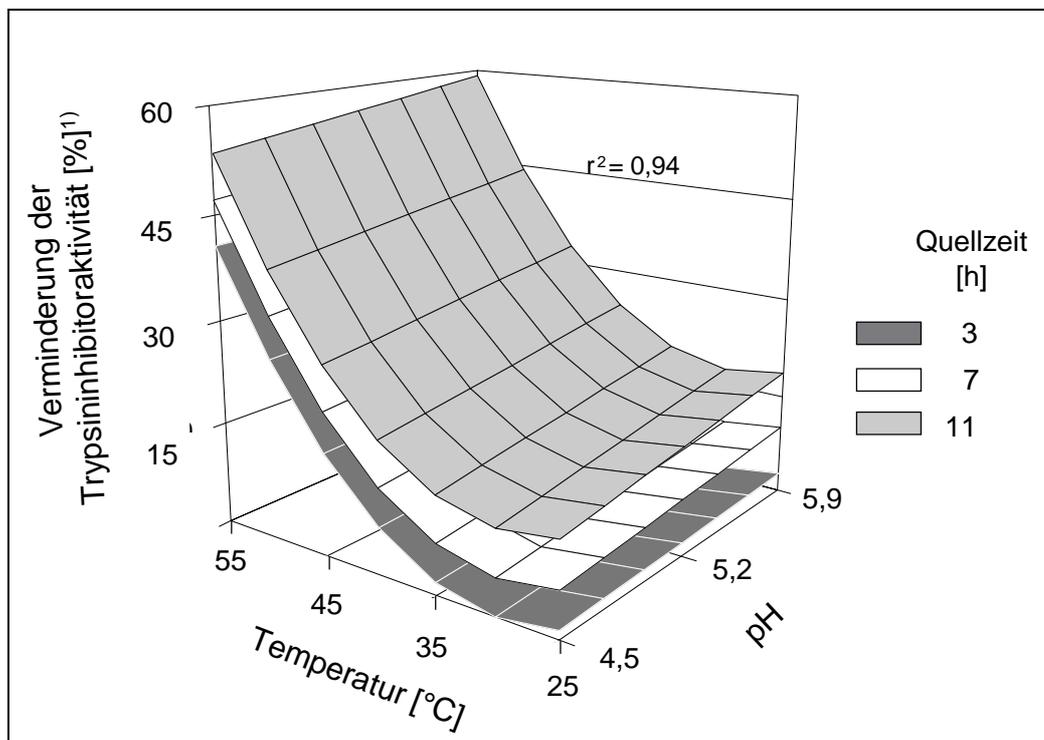
Insgesamt entspricht der beschriebene funktionale Zusammenhang annähernd einer linearen Funktion, obgleich in Abhängigkeit von den Parametern Temperatur und pH im Hinblick auf den Ablauf eines enzymatischen Phytinsäureabbaus eine exponentielle Funktion mit Wendepunkt erwartet worden war. Es lag daher die Vermutung nahe, daß die Verminderung des Phytinsäuregehalts nicht durch einen enzymatischen Abbau, sondern durch einen extraktiven Übergang in das Quellwasser hervorgerufen worden war. Diese Vermutung wurde durch Bilanzierung der Phytinsäure im Quellgut und Quellmedium bestätigt. Dabei zeigte sich, daß die Summe der im Quellgut und Quellwasser bestimmten Phytinsäure in etwa ihrer Gesamtmenge im Rohstoff entsprachen. Die Frage danach, ob dieses Ergebnis darauf zurückzuführen war, daß die verwendeten Markerbsen keine ausreichende Phytaseaktivität besaßen, wurde im Rahmen der Untersuchungen zunächst nicht geklärt. Das Ergebnis wurde jedoch durch Einsatz einer anderen Markerbsensorte (Markana) bestätigt.-

Ähnlich wie bei der Phytinsäure hing auch die Verminderung der Trypsininhibitoraktivität (TI-Aktivität) stark von den Quellbedingungen ab. Aus der Abbildung 24 ist zu entnehmen, daß die TI-Aktivität mit steigender Quelltemperatur in Form einer exponentiellen Funktion steil abnahm. So konnte bei einem pH von 5,9 allein durch Erhöhung der Temperatur von 25 auf 55 °C die TI-Aktivität in 11 h von 18 auf 60 % vermindert werden.

Anders als bei der Verminderung des Phytinsäuregehalts spielte der pH bei der Verminderung der TI-Aktivität eine untergeordnete Rolle. Durch eine Erhöhung des pH konnte die TI-Aktivität innerhalb des untersuchten Bereichs nur geringfügig vermindert werden. Beispielsweise ergab sich bei einer Temperatur von 55 °C und

einem pH von 4,5 nach 11 h eine Verminderung der TI-Aktivität um 54 %, während bei gleicher Temperatur und Zeit bei einem pH von 5,9 eine Verminderung von ca. 60 % erreicht wurde.

Im Vergleich zum pH übte die Quellzeit einen stärkeren Einfluß auf die Verminderung der TI-Aktivität aus, sie trat in ihrer Bedeutung gegenüber der Quelltemperatur jedoch deutlich zurück. So trat beispielsweise bei einer Temperatur von 55 °C durch Erhöhung der Quellzeit von 3 auf 11 h eine Verminderung der TI-Aktivität von 42 auf 60 % ein. Bei der Betrachtung der Abbildung 24 wird zudem deutlich, daß bei kurzer Quellzeit, beispielsweise von 3 h, nur dann eine nennenswerte Verminderung der TI-Aktivität erzielt werden konnte, wenn dabei Temperaturen oberhalb von 40 °C angewendet wurden.

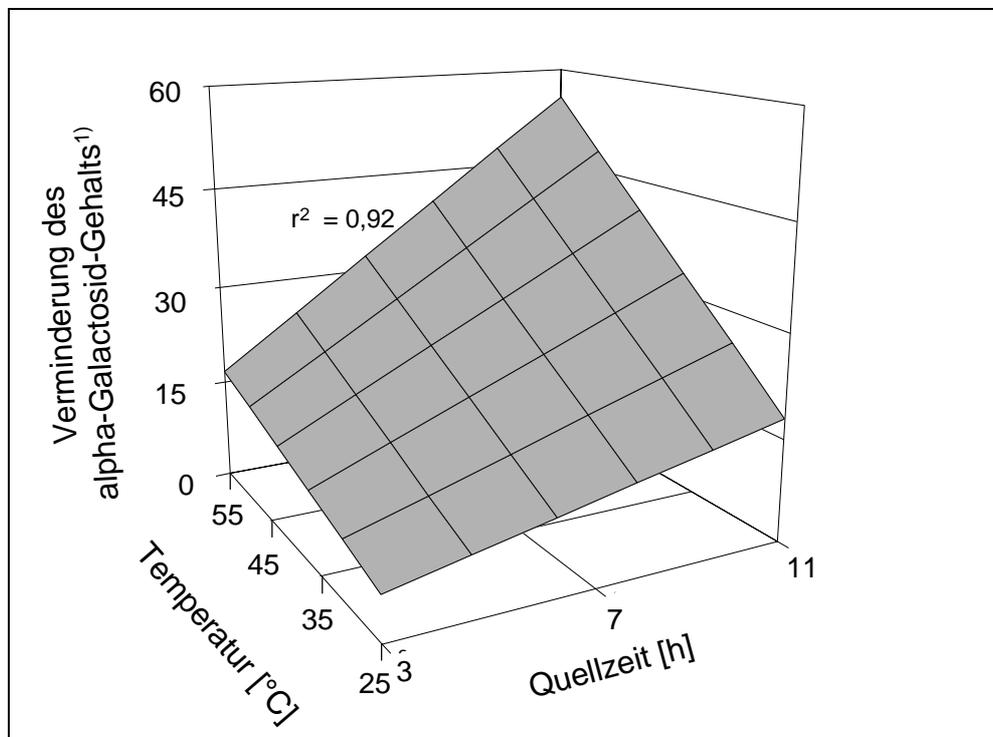


¹⁾ Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Ausgangsaktivität

Abb.24: Einfluß der Quellparameter auf die Verminderung der Trypsininhibitoraktivität in Markerbsen der Sorte Sprinter

In einem Zusatzversuch wurde untersucht, ob die starke Verminderung der TI-Aktivität im Quellgut bei 55 °C primär auf eine Extraktion und/oder auf eine Inaktivierung der TI zurückzuführen war. Dazu wurde exemplarisch der Anteil an TI-Aktivität bestimmt, der unter ausgewählten Prozeßbedingungen (55 °C, pH 5,9, 11 h Quell-

zeit) in das Quellwasser übergegangen war. Dabei wurden nur 0,5 % der insgesamt mit dem Rohstoff in den Quellprozeß eingebrachten TI-Aktivität im Quellmedium wiedergefunden. Da jedoch auch im Quellgut nur noch ein Anteil von 38 % der mit dem Rohstoff eingebrachten Gesamtmenge an TI bestimmt werden konnte, mußte demzufolge der größte Anteil der TI-Aktivität unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen inaktiviert worden sein. Der Einfluß der Temperatur auf die Verminderung der TI-Aktivität, der in der Abbildung 24 anhand des steilen Kurvenverlaufs deutlich wird, war folglich darauf zurückzuführen, daß mit zunehmender Temperatur neben der Extraktion eine Inaktivierung der TI bereits unter vergleichsweise milden Bedingungen erfolgte.



¹⁾ Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Gesamtmasse an α -Galactosiden

Abb. 25: Einfluß der Quellparameter auf die Verminderung des Gehalts an α -Galactosiden in Markerbsen der Sorte Sprinter

Im Gegensatz zu der Verminderung der vorangehend diskutierten Substanzen war die Verminderung des Gehalts an α -Galactosiden vom pH des Quellmediums unabhängig. Ähnlich wie die Verminderung der Phytinsäure stieg die Verminderung der α -Galactoside mit steigender Quellzeit und Quelltemperatur in Form einer linearen Funktion an (Abb. 25). Dabei war festzustellen, daß beide Parameter im Hinblick auf die Verminderung des α -Galactosidgehalts synergistisch wirkten. Mit zunehmender

Quelltemperatur nahm der Einfluß der Quellzeit deutlich zu, was sich in einer Erhöhung der Kurvensteilheit bemerkbar machte. So konnte durch eine Verlängerung der Quellzeit bei einer Quelltemperatur von 25 °C die Verminderung des α -Galactosidgehalts von 7 auf 17,5 % und bei einer Quelltemperatur von 55 °C von 16,5 auf 55 % gesteigert werden. Ein etwa gleichgroßer Effekt war bei Steigerung der Quellzeit von 3 auf 11 h im Hinblick auf den Einfluß der Quelltemperatur festzustellen.

Zusammenfassend kann somit festgestellt werden, daß durch die Quellung die ANS im Quellgut deutlich vermindert werden können und damit ein einfaches Verfahren zur Verfügung steht, um die ernährungsphysiologischen Eigenschaften der im Prozeß anfallenden Produkte positiv zu beeinflussen. Die Festlegung der Quellparameter kann jedoch nicht allein auf die Verminderung der ANS ausgerichtet werden, da diese potentiell auch die nativen Eigenschaften der Erbsenproteine beeinflussen, und letztere gemäß der Zielsetzung des TUB-Verfahrens weitestgehend erhalten bleiben sollen. Daher war in einem nächsten Schritt zu prüfen, inwieweit die Quellparameter einen entsprechenden Einfluß haben. Die in diesem Zusammenhang maßgebende Kenngröße ist dabei die Löslichkeit des Proteins (vgl.2.2.2).

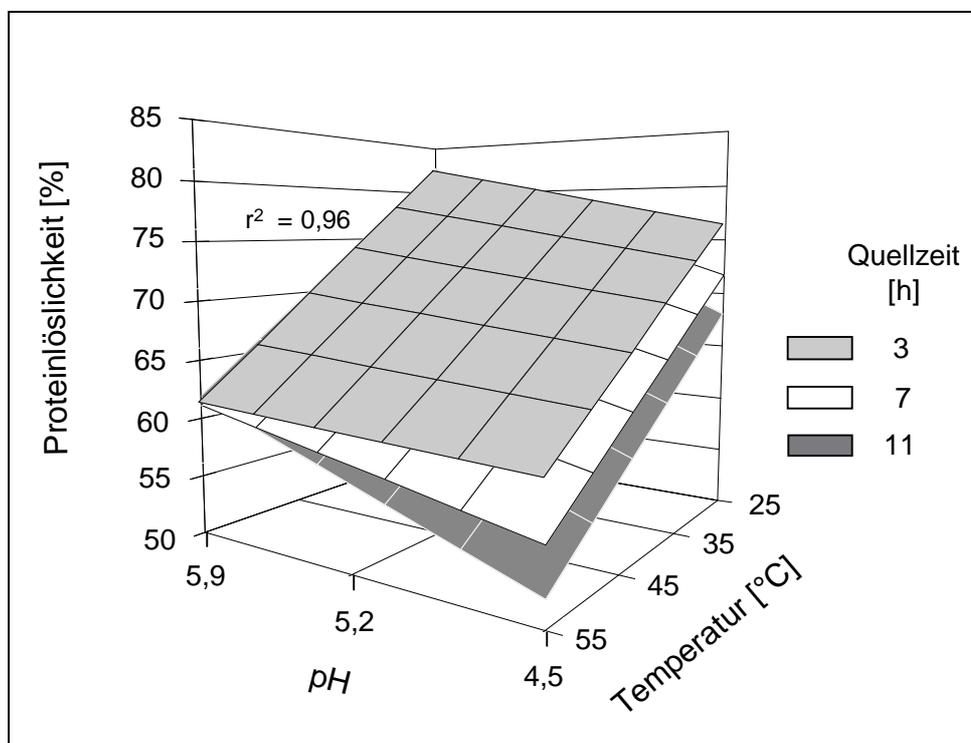


Abb. 26: Einfluß der Quellparameter auf die Proteinlöslichkeit des Quellguts

In der Abbildung 26 ist zu sehen, daß die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit von den Quellparametern mit Werten zwischen 52 und 82 % über einen vergleichsweise weiten Bereich variierte und die Quellparameter damit einen signifikanten Einfluß auf die Proteinlöslichkeit ausübten. Auffällig ist, daß genau diejenigen Parameter einen negativen Einfluß auf die Proteinlöslichkeit hatten, die sich zuvor als positiv für die Verminderung der ANS erwiesen hatten. Interessant ist aber auch, daß der Einfluß der Quellzeit um so kleiner war, je höher der pH gewählt wurde. Dies bedeutet, daß es im Hinblick auf die Erzielung eines bestimmten Effekts bezüglich der Verminderung der ANS zur Erhaltung der nativen Eigenschaften des Proteins von Vorteil sein kann, wenn bei der selben Temperatur über einen langen Zeitraum bei hohem pH anstelle über einen kurzen Zeitraum bei niedrigem pH gequollen wird. Bezüglich des Einflusses der Temperatur ist festzustellen, daß unabhängig davon, welche Quellzeit und welcher pH gewählt wurden, eine Anhebung der Temperatur von 25 auf 40 bzw. 55 °C zu einer Verminderung der Proteinlöslichkeit um mindestens 10 bzw. 20 % führte. Dadurch ist die Anwendbarkeit der Temperaturerhöhung zur Verminderung der ANS deutlich eingeschränkt.

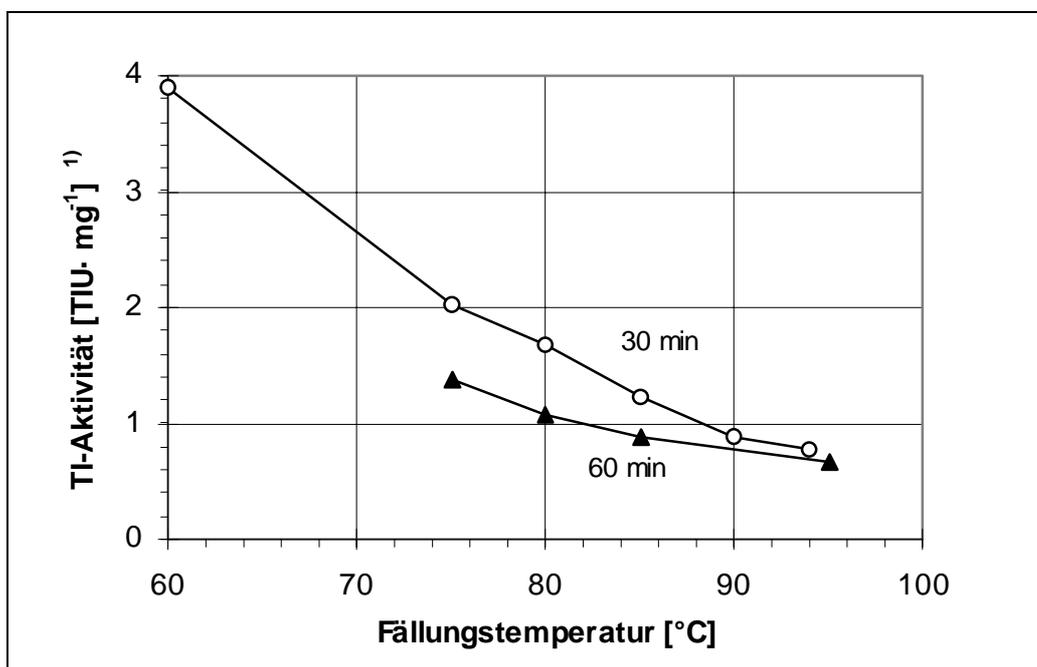
4.2.2 Einfluß der Fällung

In den nachfolgenden Kapiteln wird für die drei bereits im Abschnitt 4.1.1 betrachteten Fällungsverfahren, thermische, saure und thermisch-saure Fällung, der Einfluß der Verfahrensparameter auf den ANS-Gehalt der Koagulate aufgezeigt und vergleichend gegenübergestellt.

4.2.2.1 Thermische Fällung

Im Zusammenhang mit der thermischen Fällung des Proteins konnte insbesondere ein Effekt auf die TI-Aktivität der Koagulate erwartet werden, da bereits im Rahmen der Quellversuche gezeigt werden konnte, daß diese auf thermischem Wege leicht zu inaktivieren sind. Dies wurde durch die Versuchsergebnisse bestätigt. In der Abbildung 27 ist der Inhibitorgehalt des Koagulats in Abhängigkeit von der zur Fällung angewendeten Temperatur für eine Erwärmungszeit von 30 bzw. 60 min graphisch dargestellt. Es ist zu sehen, daß die TI-Aktivität der Koagulate mit zunehmender Erwärmungstemperatur und -zeit abnahm. In Abhängigkeit von der Erwärmungstemperatur nahm sie dabei einen asymptotischen Verlauf. Im Versuchsfeld, welches einen Temperatur von 60 bis 95 °C abdeckte, lag sie zwischen 4 und

0,7 TIU·mg⁻¹. Bei der im Hinblick auf eine optimale Koagulierbarkeit des Proteins erforderlichen minimalen Erwärmungstemperatur von 90 °C betrug sie 0,9 TIU·mg⁻¹. Bezogen auf die ursprünglich im Extrakt vorhandene Gesamtaktivität wurden bei dieser Temperatur lediglich ca. 3 % der Inhibitoraktivität im Koagulat nachgewiesen. Insgesamt kann davon ausgegangen werden, daß die ermittelte Inhibitoraktivität aus ernährungsphysiologischer Sicht nicht mehr signifikant ist. So wurde von RACKIS et al. in Fütterungsversuchen mit Ratten festgestellt, daß eine TI-Aktivität unterhalb von 4,5 TIU·mg⁻¹ das Wachstum von Ratten und deren Pankreasaktivität nicht mehr beeinflussten (107,108).



1) Bezogen auf die Trockenmasse

Abb. 27: Einfluß der zur Fällung gewählten Temperatur und Erwärmungszeit auf die Trypsininhibitoraktivität im Koagulat

Im Gegensatz zu der TI-Aktivität konnte bezüglich des Gehalts an Phytinsäure und α -Galactosiden kein Effekt der Erwärmungstemperatur bzw. -zeit erwartet werden, weil es sich bei beiden Inhaltsstoffen um thermostabile Substanzen handelt. Aus diesem Grunde wurde der Phytinsäure- und Raffinosegehalt exemplarisch für Koagulate untersucht, welche bei einer Erwärmungstemperatur von 95 °C und einer Erwärmungszeit von 30 min erhalten worden waren. Der Phytinsäure- bzw. α -Galactosidgehalt für dieses Produkt betragen 3,9 bzw. 2,3 % (Tab. 12). Durch zweimaliges Waschen des Koagulats mit einer seiner feuchten Masse entsprechenden Frischwassermenge wurde der α -Galactosidgehalt auf 0,2 % vermindert. Im Gegen-

satz dazu wurde der Phytinsäuregehalt in der Trockenmasse des Koagulats durch den Waschprozeß angehoben. Die Bilanzierung der Phytinsäure ergab, daß bei beiden Vorgehensweisen jeweils ca. 56 % der vormals im Extrakt enthaltenen Gesamtmasse an Phytinsäure in das Koagulat übergegangen war.

Tab. 12: Charakterierung von Koagulationsprodukten hinsichtlich ihres Gehalts an Phytinsäure und α -Galactosiden

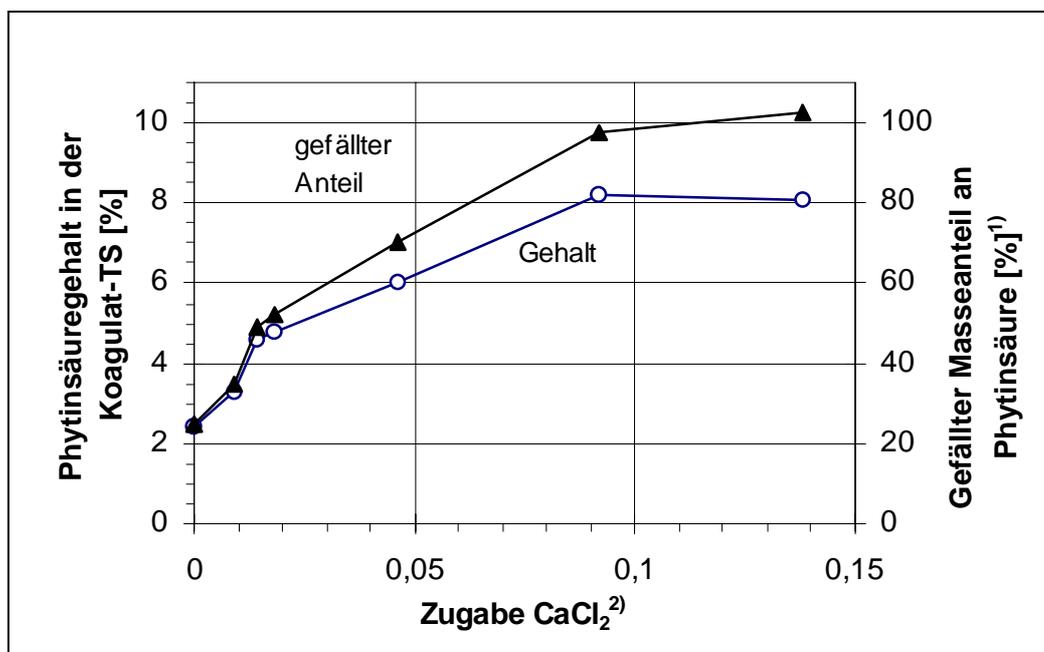
Fraktion	Phytins. [%TS]	α -Galactoside ¹⁾ [% TS]
Koagulat	3,9 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1
gew. Koagulat	4,4 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0

1) Berechnet als Raffinose

Die starke Affinität zwischen der Phytinsäure und dem Protein scheint zunächst ungewöhnlich, weil sowohl die Proteine als auch die Phytinsäure bei dem gewählten Fällungs-pH von 6,5 eine negative Nettoladung besitzen und sich folglich eher elektrostatisch abstoßen müßten (31). GRYNSPAN und CHERYAN, die Versuche mit Sojaextrakten durchgeführt haben, konnten jedoch zeigen, daß es um einen pH von 7 in Gegenwart von Calciumionen zur Bildung eines unlöslichen Dreierkomplexes aus Protein, Calcium und Phytinsäure kommen kann, in dem das positiv geladene, bivalente Calciumion eine Brückenfunktion zwischen den anderen beiden Komponenten ausübt (109). Dies kann ggf. auch für diese Versuchsreihe angenommen werden, da entsprechend dem Verfahren zur Stärkegewinnung aus Markerböen sowohl für die Quellung des Rohstoffs als auch für die Extraktion des Proteins nicht-entionisiertes Leitungswasser (18° d) verwendet wurde. Zur Klärung dieses Sachverhalts wurden daher Proteinkoagulate in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen an Calciumionen hergestellt und hinsichtlich ihres Phytinsäuregehalts untersucht. Abweichend zu den vorangehenden Untersuchungen wurde zur Quellung und Extraktion der Erbsen entionisiertes Wasser verwendet und der Extrakt vor der Fällung des Proteins mit Calciumchlorid auf die gewünschte Calciumkonzentration eingestellt (vgl. 4.1.1.1).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Abbildung 28 in Form einer Graphik dargestellt. Aus dieser ist zu entnehmen, daß der Phytinsäuregehalt des

Koagulats ausgehend von einem Wert von 2,2 % mit zunehmender Calciumchloridgabe auf bis zu 8 % anstieg. Der Maximalwert wurde dabei ab einer auf die Masse des Extrakts bezogenen Calciumchloridkonzentration von ca. 0,1 % erreicht. Ab dieser Konzentration gelangte praktisch die gesamte im Extrakt enthaltene Phytinsäure in das Koagulat. Aus den Ergebnissen kann abgeleitet werden, daß sich Calciumionen bei einer thermischen Fällung des Proteins im Bereich um pH 7 negativ auf die ernährungsphysiologische Qualität des Koagulats auswirken. Dies bedeutet, daß die Verwendung von Calciumionen als Flockungshilfsmittel trotz ihrer positiven Wirkung auf die Koagulatausbeute nicht zu empfehlen ist. Desweiteren wäre abzuwägen, ob zur Verbesserung der ernährungsphysiologischen Qualität der Koagulate enthärtetes Leitungswasser anstelle von unbehandeltem verwendet werden sollte.



1) Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Masse an Phytinsäure

2) Bezogen auf die Masse des Extrakts

Abb. 28: Einfluß der Calciumchloridkonzentration auf die Fällung von Phytinsäure sowie den Phytinsäuregehalt des Koagulats

Die *in vitro* Proteinverdaulichkeit (IVP) der Koagulate war innerhalb des Versuchsfeldes, welches einen Temperaturbereich von 75 bis 95 °C und eine Erwärmungszeit von 30 bzw. 60 min abdeckte, um bis zu 7 % gegenüber derjenigen des Extrakts erhöht. Aus der Tabelle 13 kann entnommen werden, daß die höchste IVP erwartungsgemäß bei der maximalen Erwärmungstemperatur erhalten wurde. Im Vergleich

zum Einfluß auf die TI-Aktivität war der Einfluß der Temperatur auf die IVP jedoch nur klein. Anders als bei der TI-Aktivität wurde zudem kein signifikanter Einfluß der Erwärmungszeit festgestellt. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, daß die maßgebliche Limitierung der IVP nicht von den Trypsininhibitoren ausging, sondern eine andere Ursache haben muß. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß neben Trypsininhibitoren auch weitere Inhaltsstoffe eine inhibierende Wirkung auf proteolytische Enzyme haben können, die im Gegensatz zu Trypsininhibitoren hitzestabil sind. In der Literatur werden diesbezüglich u.a. Phytinsäure, Polyphenole und freie Fettsäuren genannt (110,111,32).

Tab. 13: Einfluß der zur Fällung angewendeten Erwärmungstemperatur und -zeit auf die *in vitro* Proteinverdaulichkeit des Koagulats

Erwärmungs- temperatur [°C]	IVP [%] ¹⁾	
	Ez = 30 min ²⁾	Ez = 60 min ²⁾
75	83,9	83,9
80	86,1	84,7
85	86,1	85,2
90	86,3	n.b.
95	86,6	85,7
Extrakt	79,8	78,9
Rohstoff ³⁾	80,7	80,7

¹⁾ IVP = *in vitro* Proteinverdaulichkeit

²⁾ Ez = Erwärmungszeit

³⁾ Markana

4.2.2.2 Saure bzw. thermisch-saure Fällung

Aus der Literatur ist bekannt, daß die Löslichkeit von Trypsininhibitoren und Phytinsäure in Sojaextrakten vom pH abhängt (112,113,114). Ziel der nachfolgenden Untersuchungen war es zu prüfen, inwieweit dies auch auf die in Erbsenextrakten gelösten Trypsininhibitoren und Phytinsäure zutrifft und ob die Abhängigkeiten ggf. dazu genutzt werden können, die TI-Aktivität sowie den Phytinsäuregehalt im Koagulat zu minimieren.

Aus der Abbildung 29 ist zu entnehmen, daß in Abhängigkeit vom pH der gefällte Masseanteil an Trypsininhibitoren weitestgehend parallel zum gefällten Masseanteil an N-Substanzen verlief. Wie bei den N-Substanzen wurde der größte Anteil an Trypsininhibitoren bei einem pH von 3,4 gefällt. Bei diesem pH gelangten insgesamt 30 % der Gesamtaktivität des Extrakts in das Koagulat. Die Inhibitoraktivität in der Trockenmasse des Koagulats betrug bei diesem pH $9,9 \text{ TIU}\cdot\text{mg}^{-1}$ (Abb. 30), in dem untersuchten pH-Bereich von 2 bis 5,2 lag sie zwischen $6,4$ und $10,3 \text{ TIU}\cdot\text{mg}^{-1}$ und war somit gegenüber derjenigen des Extrakts ($13,5 \text{ TIU}\cdot\text{mg}^{-1}$) vermindert.

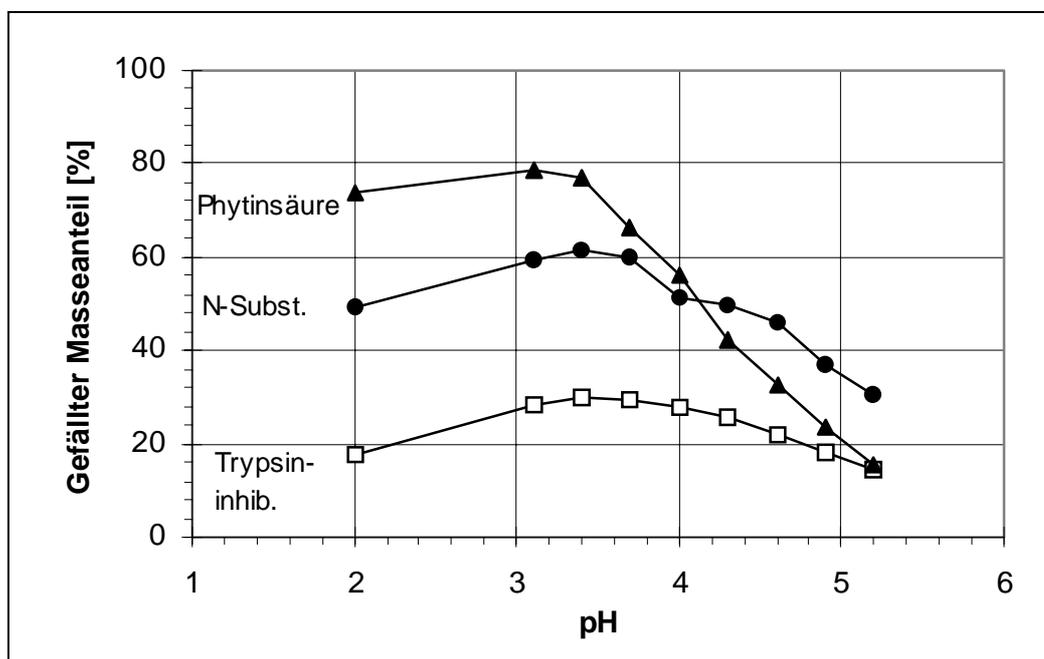


Abb.29: Einfluß des pH der Koagulation auf die Fällung von N-Substanzen, Phytinsäure und Trypsininhibitoren

Der Phytinsäuregehalt der Koagulate betrug in Abhängigkeit vom pH bis zu 5 % und war damit z.T. mehr als doppelt so groß wie der Phytinsäuregehalt von Proteinprodukten aus gelben Erbsen und anderen Leguminosen (32,115). Im Bereich zwischen pH 5,2 und 2,0 stieg der Phytinsäuregehalt mit fallendem pH von 1,4 auf 4,9 um mehr als das Dreifache an. Entsprechend nahm auch der Anteil an gefällter Phytinsäure mit fallendem pH zu. Bei einem pH von 3,4 erreichte er mit ca. 80 % sein Maximum. Dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung zu Untersuchungen von CARNOVALE et al. (32), die bei der wässrigen Extraktion von Fababohnen festgestellt haben, daß bei einem pH von 3,5 85 % der Phytinsäure des Rohstoffs unlöslich sind.

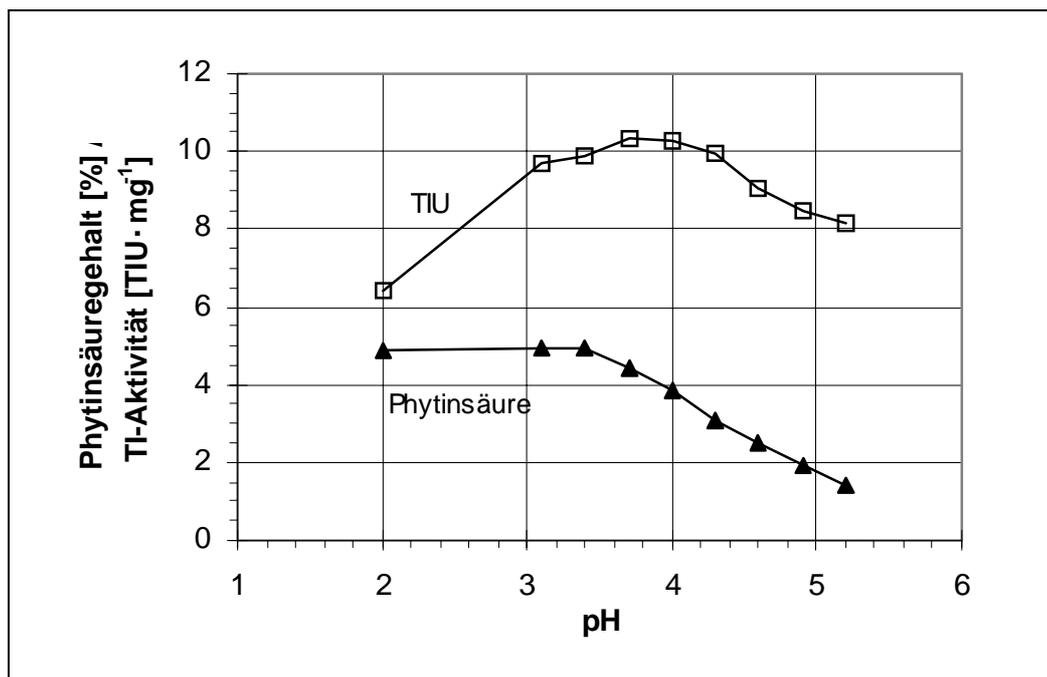


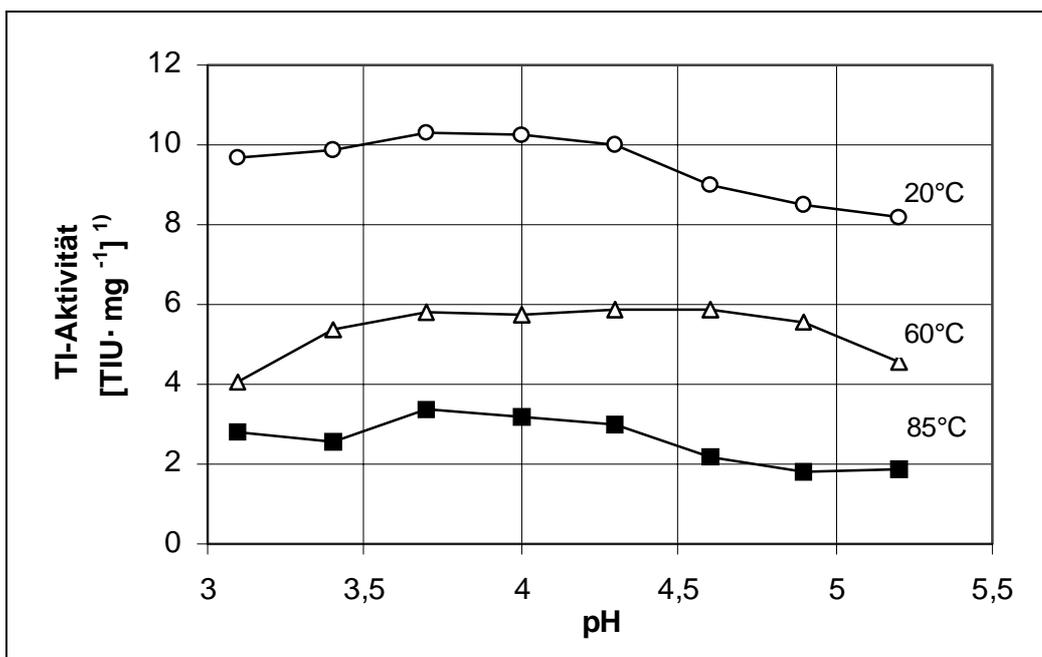
Abb. 30: Einfluß des pH der Koagulation auf den Phytinsäuregehalt und die Trypsininhibitoraktivität in der Trockenmasse des Koagulats

Die Anreicherung der Phytinsäure in den Koagulaten kann darauf zurückgeführt werden, daß die elektrostatische Anziehung zwischen den Proteinen und der Phytinsäure mit fallendem pH zunimmt, da Phytinsäure oberhalb von pH 1,8 negativ und Proteine mit abnehmendem pH zunehmend positiv geladen sind (31). Im Hinblick auf die für das Verfahren und seine Wirtschaftlichkeit erstrebte hohe Proteinausbeute ist die Bindung der Phytinsäure an das Protein nachteilig, weil damit der ernährungsphysiologische Wert der Koagulate negativ beeinflusst wird. Diesbezüglich ist es bemerkenswert, daß bereits die Steigerungen der Proteinausbeute um 10 % im pH-Bereich von 4,3 - 3,4 eine Erhöhung des Phytinsäuregehalts im Koagulat um ca. 67 % zur Folge hatten.

Die *in vitro* Proteinverdaulichkeit der Koagulate war von dem gewählten Fällungs-pH unabhängig (Abb. A1, Anhang). Sie betrug ca. 86 % und war damit mit derjenigen der thermisch gefällten Koagulate vergleichbar. Die gute Übereinstimmung der Meßergebnisse zu denjenigen der thermischen Fällung bei gleichzeitig deutlich unterschiedlicher TI-Aktivität läßt den Schluß zu, daß wie bereits im Kapitel 4.2.2.1 vermutet wurde, die TI-Aktivität der Koagulate im Hinblick auf deren Proteinverdaulichkeit eine untergeordnete Rolle spielte. Gleiches kann auch für die Phytinsäure

angenommen werden, da deren Masseanteil im Koagulat in Abhängigkeit vom pH in einem weiten Bereich variierte, wohingegen die IVP des Koagulats weitestgehend konstant war.

Im Kapitel 4.1.1.3 ist gezeigt worden, daß bei angehobenen Temperaturen eine maximale Koagulation des Proteins unter milderen pH-Bedingungen realisiert werden kann als bei Raumtemperatur. Ziel weiterführender Untersuchungen war es daher zu prüfen, inwieweit dieser Zusammenhang dazu genutzt werden kann, um gegenüber der Fällung bei Raumtemperatur bei vergleichbar großer Proteinausbeute eine Verminderung des ANS-Gehalts zu erzielen. In der Abbildung 31 sind die bei Fällungstemperaturen von 60 und 85 °C erhaltenen Ergebnisse denjenigen gegenübergestellt, die bei Raumtemperatur erhalten wurden .



1) Bezogen auf die Trockenmasse

Abb. 31 Einfluß der Temperatur und des pH der Koagulation auf die Trypsininhibitoraktivität in der Trockenmasse des Koagulats

Aus der kann entnommen werden, daß analog zur thermischen Fällung bei neutralem pH die TI-Aktivität mit steigender Fällungstemperatur abnahm. Der pH hatte im Vergleich dazu nur einen kleinen Einfluß. Im untersuchten pH-Bereich wurden im Fall einer Erwärmung auf 60 °C eine TI-Aktivität von 4 bis 6 und im Fall einer Erwärmung auf 85 °C eine solche von 2 bis 3,2 TIU pro mg Koagulat-TS festgestellt.

Bezüglich des Phytinsäuregehalts der Koagulate wurden bei angehobener Temperatur in Abhängigkeit vom pH vergleichbare Ergebnisse erzielt wie bei der Fällung bei Raumtemperatur (Abb. 32). Da sich das Optimum bezüglich der Koagulatausbeute mit steigender Temperatur gleichzeitig über einen weiteren pH-Bereich erstreckte, und dieses gleichgroß wie bei der Fällung bei Raumtemperatur ausfiel, ist somit ein Weg aufgezeigt, bei hoher Trockensubstanz- und Proteinausbeute in den Koagulaten einen vergleichsweise niedrigen Phytinsäuregehalt einzustellen. Diese Möglichkeit ist durch die in der Abbildung 33 gezeigten Versuchsergebnisse belegt. Ein weiterer Vorteil dieser Vorgehensweise bestand darin, daß die Temperaturerhöhung über den gesamten untersuchten pH-Bereich eine starke Verminderung der TI-Aktivität zur Folge hatte.

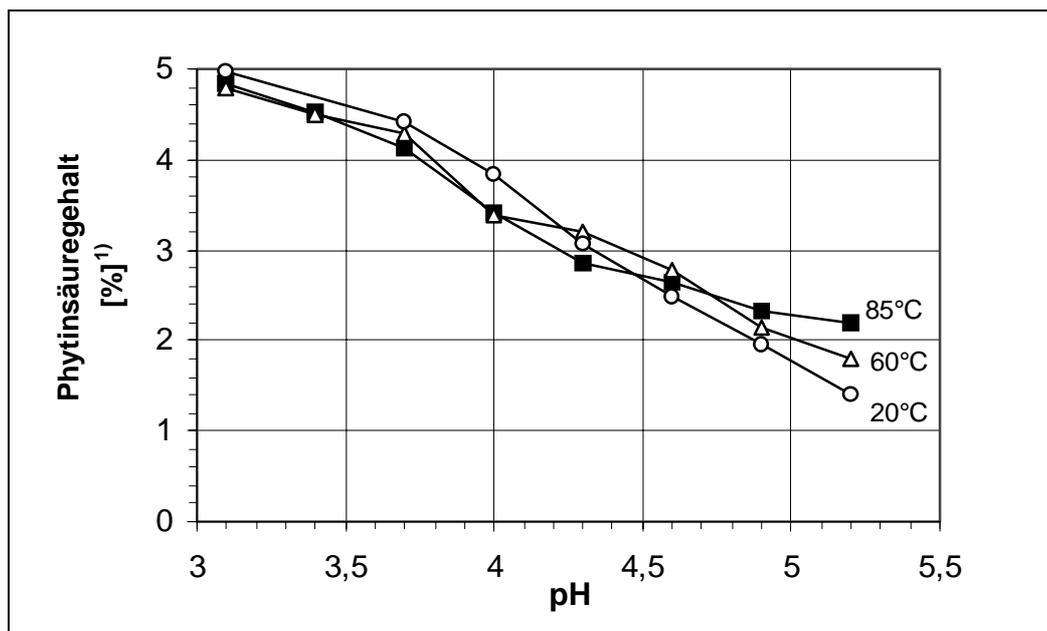
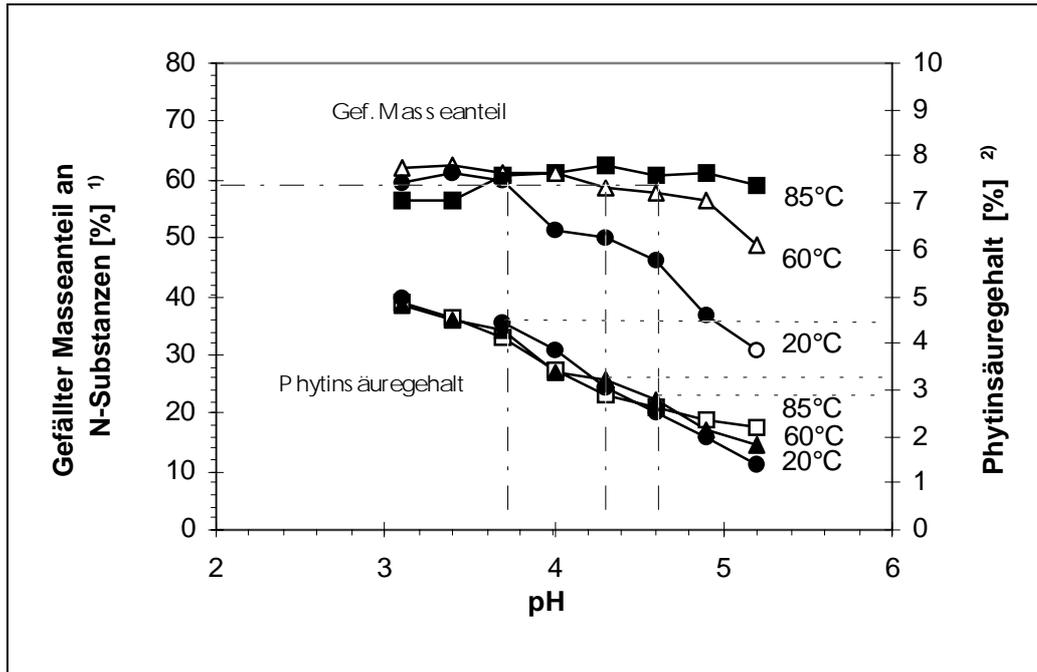


Abb. 32: Einfluß der Temperatur und des pH der Koagulation auf den Phytinsäuregehalt in der Trockenmasse des Koagulats

Die Proteinverdaulichkeit betrug für alle Koagulate in etwa 86 %. Sie unterschied sich somit nicht signifikant von denjenigen Koagulaten, die bei Raumtemperatur gefällt worden waren.



¹⁾ Bezogen auf die im Extrakt enthaltene Gesamtmasse an N-Substanzen

²⁾ Bezogen auf die Trockenmasse

Abb. 33: Einfluß der Temperatur und des pH der Koagulation auf den Phytinsäuregehalt in der Trockenmasse des Koagulats sowie den Masseanteil an gefällten N-Substanzen

4.2.3 Einfluß der Ultrafiltration

Da die Ultrafiltration die Möglichkeit bietet, Inhaltsstoffe in Lösungen nach ihrer Molekülgröße zu trennen, und die Molekülgröße der Proteine z.T. deutlich größer ist als die der ANS, ist die Ultrafiltration potentiell dazu geeignet, Proteinprodukte mit kleinem ANS-Gehalt herzustellen. Mit der Zielsetzung dies für die Ultrafiltration von Markerbsenextrakten zu prüfen, wurden die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen durchgeführt.

Es wurden jeweils 500 ml Erbsenextrakt unter Verwendung von Membranen mit einer Trenngrenze von 10,50 und 100 kD auf ein Endvolumen von 100 ml konzentriert (VCR = 5) und der Einfluß der Membrantrenngrenze auf die Permeation bzw. Rückhaltung der ANS untersucht.

Aus den in der Tabelle 14 zusammengefaßten Ergebnissen kann entnommen werden, daß eine starke Rückhaltung der TI durch die Membran erfolgte. Diese war

bis zu einer Membrantrenngrenze von 50 kD deutlich größer als die der Gesamttrockenmasse, so daß eine Anreicherung der Inhibitoren im Retentat eintrat. Insgesamt entspricht die starke Rückhaltung der Inhibitoren nicht den Erwartungen. Nach Untersuchungen von FERRASSON et al. beträgt die Molekülgröße von Erbsen-TI zwischen 7000 und 8000 (116). Sie ist somit z.T. deutlich kleiner als die Trenngrenze der verwendeten Membranen, so daß sich die Frage stellt, warum diese nicht weitreichender durch die Membran permeierten. Ggf. ist dies auf die Deckschichtbildung auf der Membran und die damit verbundene Beeinflussung der Trenncharakteristik zurückzuführen (Vgl. Kapitel 4.1.2.3). Ein weiterer möglicher Grund für die geringe Permeation der TI könnte aber darin bestehen, daß die TI ggf. Assoziate bildeten oder mit anderen hochmolekularen Proteinen assoziiert sind oder wurden. Einen Hinweis auf Bildung entsprechender Verbindungen haben auch ARENTOFT et al. (117) erhalten. Die Autoren ermittelten bei der Untersuchung von Erbsenrohextrakten für die Erbsen-TI z.T. zwei bzw. viermal höhere Molekulargewichte, als bei einer entsprechenden Untersuchung von weitestgehend isolierten TI. Die Autoren werteten dies als Hinweis darauf, daß die Erbsen-TI aus mehreren Subeinheiten zusammengesetzt sind.

Tab. 14: Einfluß der Trenngrenze der Ultrafiltrationsmembran auf die relative Rückhaltung von Trockenmasse, N-Substanzen und ausgewählten antinutritiven Substanzen

Trenngrenze der Membran	Relative Rückhaltung durch die Membran [%] ¹⁾				
	Trockenmasse	N-Substanzen	Phytinsäure	Trypsin-inhibitoren	α -Galactoside
[D]					
10.000	56.6	80.7	59,6	96.3	20,7
50.000	54.1	77.1	52.9	87.0	18,3
100.000	53.3	73.4	39.1	56.8	18,0

¹⁾ Berechnet als relativer Anteil bezogen auf die Gesamtmenge im Extrakt

Die Phytinsäure wurde bis zu einer Trenngrenze von 10 kD ebenfalls relativ stärker zurückgehalten als die Gesamttrockenmasse. Auch sie permeierte somit in deutlich geringerem Maße, als aufgrund ihrer Molekülgröße zu erwarten war. Es kann davon

ausgegangen werden, daß die Ursache hierfür in der bereits im Zusammenhang mit der Fällung diskutierten Bindung der Phytinsäure an das Protein besteht (vgl. 4.2.2).

Die α -Galactoside permeierten durch die Membranen entsprechend ihres verhältnismäßig kleinen Moleküls relativ weitreichend, so daß im Retentat die Trockenmasse an α -Galactosiden nur noch ein Viertel bis ein Drittel der im Ausgangsvolumen vorkommenden entsprach. Diese Abnahme stand im engen Zusammenhang zum Konzentrierungsverhältnis.

Aus der vorangehend diskutierten Rückhaltung des ANS und der Gesamttrockenmasse ergab sich der ANS-Gehalt der Produkte (Tab. 15). Im Fall der Verwendung der Membran mit einer Trenngrenze von 10 kD trat eine relative Anreicherung der Phytinsäure von 2,2 % in der Trockenmasse des Extrakts auf 2,8 % in der Trockenmasse des Retentats ein. Dieser Phytinsäuregehalt lag in einem Bereich, welchen die Koagulate aufwiesen, die bei mildem pH (4,0 - 4,5) erzeugt worden waren. Unter Verwendung der Membran mit einer Trenngrenze von 50 bzw. 100 kD wurde dahingegen eine Retentattrockenmasse erhalten, deren Phytinsäuregehalt mit 2,2 bzw. 1,6 %, deutlich kleiner war als derjenige der Koagulate.

Tab. 15: Einfluß der Trenngrenze der Ultrafiltrationsmembran auf den Gehalt an Protein und antinutritiven Substanzen in der Trockenmasse des Retentats sowie dessen *in vitro* Proteinverdaulichkeit im Vergleich zu den entsprechenden Werten des Extrakts

Trenngrenze der Membran [D]	Protein [%] (N·6,25)	Phytinsäure [%]	TI-Aktivität [TIU·mg ⁻¹] ¹⁾	α -Galactoside [%] ²⁾	IVP [%] ³⁾
10.000	70,8	2,3	20,7	5,4	83,8
50.000	70,8	2,2	19,3	5,0	84,5
100.000	68,5	1,6	12,8	5,0	84,7
Extrakt	49,7	2,2	12,0	14,8	79,8

1) Trypsininhibitor-Aktivität 2) Berechnet als Raffinose 3) *in vitro* Proteinverdaulichkeit

Der α -Galactosidgehalt der Retentattrockenmasse variierte zwischen 5,0 und 5,4 %; er war damit um etwa zwei Drittel kleiner als der in der Trockenmasse der Extrakte vorhandene. Dagegen erfolgte durch die hohe Rückhaltung der TI durch die Membranen eine relative Anreicherung derselben in der Retentattrockenmasse.

Dies führte zu TI-Aktivitäten, die mit 12,8- 20,7 TIU·mg⁻¹ um das zwei- bis dreifache größer waren als in den Koagulaten. Der Diskussion unter 4.2.2.1 folgend, sind diese Werte ggf. als noch ernährungsphysiologisch signifikant einzustufen.

Die Proteinverdaulichkeit stieg mit zunehmender Trenngrenze innerhalb der Schwankungsbreite des Meßfehlers geringfügig an. Sie lag bei dieser Volumenkonzentrierung mit Werten von 84-85 % geringfügig unter denjenigen die für die Koagulate ermittelt worden war.

4.3 Untersuchung der Proteinprodukte hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften

Über den rein ernährungsphysiologischen Wert hinaus, haben Proteinprodukte durch ihre funktionellen Eigenschaften eine besondere Bedeutung für die Herstellung von Lebensmitteln. Teils ermöglichen die Anwendung von Proteinprodukten mit bestimmten funktionellen Eigenschaften erst die Herstellung bestimmter Produkte, teils verleihen sie den Lebensmitteln bestimmte Eigenschaftsprofile. Die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten können in Abhängigkeit vom angewendeten Verfahren zu deren Isolierung in weiten Grenzen variieren (118-121). Daher war es erforderlich, die mit den in unterschiedlichen Verfahrensalternativen aus Markerbsen herstellbaren Proteinprodukte bezüglich ihrer funktionellen Eigenschaften vergleichend gegenüberzustellen.

Hierzu wurden mit den bereits in den vorangegangenen Kapiteln eingesetzten Verfahren Proteinprodukte hergestellt und hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften untersucht. Es handelte sich dabei um insgesamt fünf unterschiedliche Produkte. Drei wurden mittels saurer bzw. thermisch-saurer Fällung und eins mittels Membranfiltration hergestellt. Bei dem fünften Produkt handelte es sich um die im TUB-Verfahren als ungelöstes Protein anfallende Proteinfraction.

Die Fällungsprodukte wurden jeweils unter Bedingungen hergestellt, die sich in den vorangegangenen Untersuchungen (Vgl. Kapitel 4.1) im Hinblick auf die Fällbarkeit des Proteins als optimal erwiesen hatten. Entsprechend wurde die saure Fällung bei einem pH von 3,4 und die thermisch-saure Fällung bei einer Temperatur von 60 °C und einem pH von 4,0 durchgeführt. Die Produkte werden nachfolgend als KPP-S (koaguliertes Proteinprodukt der sauren Fällung) und KPP-T₆₀ (koaguliertes Proteinprodukt der thermischen Fällung bei 60 °C) bezeichnet. Ein weiteres als KPP-T₈₀ bezeichnetes Fällungsprodukt wurde in Anlehnung an das FLOTTWEG-Verfahren hergestellt. Hierdurch ergab sich die Möglichkeit, das in diesem Verfahren anfallende Proteinprodukt mit demjenigen des TUB-Verfahrens vergleichen zu können. Die Fällung des Proteins erfolgte in diesem Fall bei einer Temperatur von 80 °C und einem pH von 4,35 (vgl. 3.4).

Das membranfiltrierte Proteinprodukt (MPP) wurde durch Membranfiltration des wässrigen Erbsenextrakts auf ein Zehntel des Ausgangsvolumens erhalten. Die eingesetzte Membrantrenngrenze betrug 50 kD.

Die unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlösliche Proteinfraction wird nachfolgend als UPP bezeichnet.

Die Produkte wurden im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen untersucht. Diese werden nachfolgend als SPI bzw. EPI bezeichnet.

4.3.1 Inhaltsstoffzusammensetzung der Proteinprodukte

Für eine umfassende Interpretation der funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten ist die Kenntnis über deren Inhaltsstoffzusammensetzung unerlässlich. Dies gilt insbesondere deshalb, weil die in dem Produkt enthaltenen Begleitstoffe, wie z. B. Polysaccharide und Fett, einen entscheidenden Einfluß auf die funktionellen Eigenschaften der Produkte haben können. Aus diesem Grunde wurden die Proteinprodukte zunächst im Hinblick auf ihre Inhaltsstoffzusammensetzung untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 16 zusammengefaßt.

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß die hergestellten Proteinprodukte aus Markerbsen einen Rohproteingehalt zwischen 68 und 80 % hatten. Sie können daher als Proteinkonzentrate bezeichnet werden. Das MPP sowie das KPP-S, das KPP-T₆₀ und das KPP-T₈₀ hatten mit 75 bis 80 % den höchsten Proteingehalt. Im Vergleich dazu war derjenige des UPP mit 68 % signifikant kleiner. Insgesamt war der Proteingehalt der Proteinprodukte aus Markerbsen deutlich kleiner als derjenige der kommerziellen Referenzproteine. Dies war insbesondere auf ihren erhöhten Ballaststoff- und Fettgehalt zurückzuführen. Der Ballaststoffgehalt betrug zwischen 4 und 13 % und der Fettgehalt zwischen 2 und 5 %. Demgegenüber betragen die entsprechenden Werte der Referenzproteine maximal 2 % bzw. 1 %. Der erhöhte Fettgehalt kann damit erklärt werden, daß zwischen dem TUB-Verfahren und dem konventionellen Verfahren zur Herstellung von SPI ein entscheidender Unterschied hinsichtlich des Fettgehalts des verarbeiteten Rohstoffs besteht. Bei der Herstellung von SPI dienen als Rohstoff Sojamehle bzw. -flocken mit einem Fettgehalt < 1%. Diese fallen bei der Gewinnung von Sojaöl in großen Quantitäten als Nebenprodukt an und stehen daher in praktisch beliebiger Menge als Rohstoffbasis zur Verfügung. Im TUB-Verfahren wird dahingegen ein nicht entfetteter Rohstoff verarbeitet, weil die Entfettung der Markerbsen aufgrund ihres vergleichsweise kleinen Fettgehalts von ca. 2% nicht wirtschaftlich wäre. Palerbsen können dahingegen einen ähnlich niedrigen Fettgehalt wie entfettete Sojaflocken aufweisen. KRÖNER (14) hat bei der Charakterisierung von insgesamt 13 unterschiedlichen Palerbsensorten Fettgehalte von 0,4-1% ermittelt.

Tab. 16: Inhaltsstoffzusammensetzung der Proteinprodukte aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Produkte	Massenanteile [%TS]				
	Rohprotein (N-6,25)	α -Glucose- Polymere	Rohfett	Gesamt- ballaststoffe	Asche
SPI	89,0	0,5	0,8	2,1	4,3
EPI	89,9	0,7	0,3	n.n.	5,0
KPP-T ₈₀	79,5	1,1	4,7	4,3	4,5
KPP-T ₆₀	77,3	0,9	5,2	10,9	4,4
KPP-S	75,4	1,4	3,4	9,6	5,3
UPP	68,0	9,8	3,8	5,3	5,2
MPP	78,4	0,4	2,3	13,3	5,5

Es fällt auf, daß die durch Fällung hergestellten Proteinprodukte mit 3,4 bis 5,2 % deutlich höhere Fettgehalte hatten, als das durch Membranfiltration hergestellte. Der Unterschied betrug teilweise über 100 %. Desweiteren ist festzustellen, daß die Fettgehalte der mittels thermisch-saurer Fällungsverfahren hergestellten Proteinprodukte deutlich über demjenigen des mittels saurer Fällung hergestellten lag. Möglicherweise kann dies mit der bei der thermischen Koagulation auftretenden Auffaltung der Proteinmoleküle erklärt werden. Es ist bekannt, daß diese zumeist mit einer Freilegung hydrophober Bereiche des Proteinmoleküls verbunden ist (122, 123, 43). Ggf. wurde dadurch die Oberflächenhydrophobizität der Moleküle derart verändert, daß es zu einer verstärkten Bindung von Lipiden an die Proteinmoleküle kam.

4.3.2 Proteinlöslichkeit

Die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten hängen vor allem davon ab, in welchem Maße die enthaltenen Proteine gelöst bzw. dispergiert werden können. Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln dargestellt, kann dies entsprechend den Standardmethoden der AOCS bzw. AACC über die Ermittlung des Nitrogen

Solubility Index (NSI) oder den Protein Dispersibility Index (PDI) analytisch bestimmt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Proteinlöslichkeit in Anlehnung an die erstgenannten Methode ermittelt.

Tab. 17: Proteinlöslichkeit der Proteinprodukte aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziell hergestellten Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Produkt	NSI [%] pH 7
SPI	38,4 ± 2,0
EPI	27,8 ± 0,7
KPP-T ₈₀	6,7 ± 1,3
KPP-T ₆₀	34,5 ± 0,6
KPP-S	48,6 ± 0,4
UPP	56,6 ± 2,3
MPP	96,7 ± 1,4

Der Tabelle 17 ist zu entnehmen, daß die Löslichkeit der untersuchten Proteinkonzentrate bei pH 7 sehr unterschiedlich war. Die Löslichkeit der gefällten Proteinprodukte betrug zwischen 6,7 und 48,6 %. Während die Löslichkeit des KPP-S und das KPP-T₆₀ mit derjenigen der Referenzprodukte vergleichbar war bzw. diese übertraf, war die Löslichkeit des KPP-T₈₀ mit 6,7 % gegenüber diesen vermindert. Die Ursache hierfür dürfte in einer starken Denaturierung dieses Produkts unter der vergleichsweise hohen Fällungstemperatur bestehen. Dies wird insbesondere vor dem Hintergrund wahrscheinlich, daß eine Koagulation des Proteins bereits bei Temperaturen um 60 °C eintritt (Vgl. 4.1.1.1) und oberhalb der Denaturierungstemperatur eine Anhebung der Erwärmungstemperatur um 10 °C bei vielen Proteinen zu einer Erhöhung des Denaturierungsgrads um das 600-fache führt (49,123). Das UPP und das MPP wiesen gegenüber allen anderen Produkten eine erhöhte Löslichkeit auf. Dies läßt darauf schließen, daß diese Proteinprodukte gegenüber den anderen in einem nativeren Zustand vorlagen.

In Abhängigkeit vom pH ergab sich für die gefällten Produkte ein Löslichkeitsprofil, welches für entsprechend hergestellte Proteinprodukte aus Leguminosen charakte-

ristisch ist (Abb. 34 b) (118). Das Löslichkeitsminimum bzw. der isoelektrische Punkt des Proteins befand sich erwartungsgemäß im pH-Bereich zwischen 3 und 5. Oberhalb von pH 5 war ein deutlicher Anstieg der Löslichkeit zu verzeichnen. Dieser war um so flacher, je höher die Fällungstemperatur gewählt worden war. Ein ähnlicher Zusammenhang wurden von SCHWENKE ET AL. (118) bei der Herstellung von Proteinisolaten aus Ackerbohnen festgestellt.

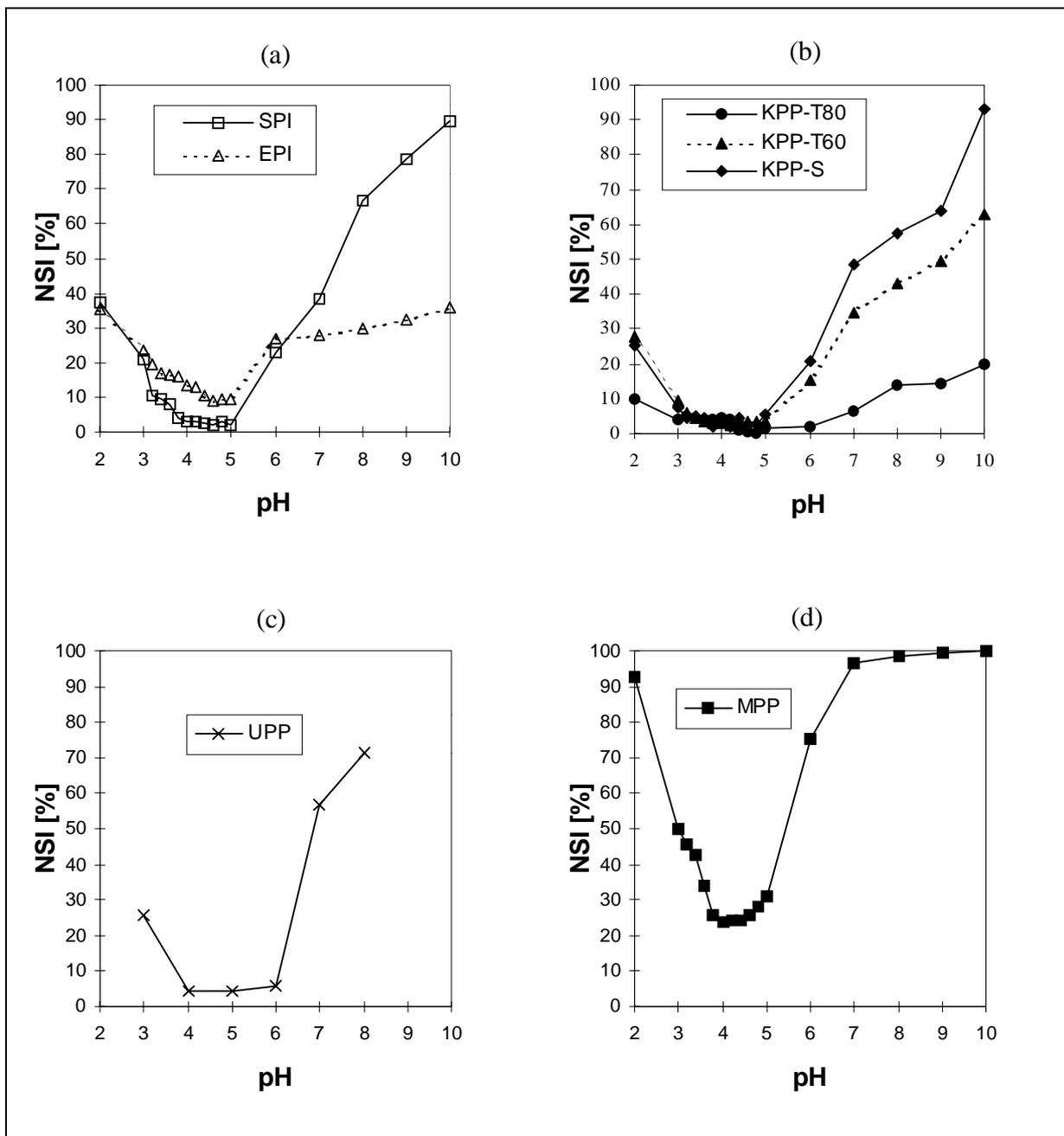


Abb. 34: Einfluß des pH auf die Proteinlöslichkeit der Proteinprodukte aus Markerbbsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Ähnlich wie die Löslichkeitskurve der gefällten Proteinprodukte wies auch diejenige des unter Prozeßbedingungen unlöslichen Proteinprodukts (UPP) ein deutliches Minimum auf (Abb. 34 c). Während das Löslichkeitsminimum der erstgenannten Produkte jedoch zwischen pH 3 und pH 5 vorkam, trat dasjenige des UPP zwischen pH 4 und pH 6 ein. Die kleine Löslichkeit bei pH 6 erscheint zunächst ungewöhnlich. Sie ist jedoch damit zu erklären, daß sich unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens ein pH einstellte, der in etwa pH 6 entsprach. Da das UPP die unter diesen Bedingungen unlösliche Proteinfraction repräsentiert, muß dieses daher bei einem entsprechenden pH zwangsläufig eine kleine Löslichkeit besitzen. Oberhalb von pH 6 war mit steigendem pH ein starker Anstieg der Proteinlöslichkeit festzustellen. Zwischen pH 6 und pH 7 stieg sie von 6 auf 57 % um fast das 10-fache an. Dies bedeutet im Hinblick auf die Prozeßführung des TUB-Verfahrens, daß eine leichte Anhebung des pH deutliche Verschiebungen der gewinnbaren Massenanteile der unter den Prozeßbedingungen unlöslichen und löslichen Proteinfraction zur Folge hätte. Im Zusammenhang mit dem steilen Anstieg der Kurve ist des weiteren anzumerken, daß ein entsprechender Kurvenverlauf insbesondere für schonend hergestellte Proteinprodukte charakteristisch ist (43,118). Es kann daher davon ausgegangen werden, daß unter den Prozeßbedingungen des Verfahrens die nativen Eigenschaften des Proteins des UPP weitestgehend erhalten geblieben waren.

Letzteres gilt sinngemäß auch für das mittels Membranfiltration hergestellte Proteinprodukt (MPP). Auch bei diesem war in einem kleinen pH-Bereich eine starke Zunahme der Löslichkeit festzustellen (Abb. 34 d). Sie stieg zwischen pH 5 und pH 6 von ca. 30 auf ca. 75 % an. Weitere Hinweise auf eine besonders schonende Behandlung dieses Produkts bestehen darin, daß das MPP im alkalischen Bereich nahezu vollständig löslich war. Außerdem erstreckte sich dessen Löslichkeitsminimum über einen vergleichsweise kleinen pH-Bereich. Es reichte in etwa von pH 3,8 bis pH 5,0. Die niedrigste Löslichkeit wurde bei pH 4,0 ermittelt. Sie betrug bei diesem pH rund 24 % und war damit deutlich größer als die entsprechende Löslichkeit der anderen aus Markerbsen hergestellten Produkte. Auch für das kommerzielle Proteinisolat aus Palerbsen (EPI), das nach Angaben des Herstellers ebenfalls mittels Membranfiltration hergestellt wird (124), wurde im Bereich des pI eine vergleichsweise hohe Löslichkeit festgestellt (Abb. 34a). Sie betrug in etwa 10 %. Anders als die Löslichkeitskurve des MPP stieg diejenige des EPI jedoch links und rechts des Minimums vergleichsweise flach an. Dieser Kurvenverlauf ist bei Proteinprodukten aus Leguminosen für denaturierte Produkte charakteristisch. Es ist daher davon auszugehen, daß das EPI im Vergleich zum

MPP stärker denaturiert war. Ursache hierfür könnte die Pasteurisierung des Prozeßwassers vor der Membranfiltration sein. Im Falle einer industriellen Umsetzung des TUB-Verfahrens wäre dies im Hinblick auf die Einhaltung der mikrobiologischen Grenzwerte ggf. auch erforderlich.

4.3.3 Emulgiereigenschaften

Im Rahmen der Bestimmung der Emulgiereigenschaften von Proteinprodukten wurde zunächst der Emulgieraktivitätsindex nach PEARCE und KINSELLA (57) ermittelt.

Tab. 18: Emulgieraktivitätsindex (EAI) von Proteinprodukten aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziell hergestellten Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Produkt	EAI ¹⁾ [m ² ·g ⁻¹]
SPI	18,5 ± 2,5
EPI	12,1 ± 1,1
KPP-T ₈₀	7,2 ± 1,2
KPP-T ₆₀	14,0 ± 1,5
KPP-S	10,1 ± 1,3
UPP	11,2 ± 1,4
MPP	27,4 ± 1,3

¹⁾ Ergebnisse aus Vierfachbestimmung bei pH 7

Aus Tabelle 18 ist zu ersehen, daß der EAI aller untersuchten Proteinprodukte zwischen 7,2 und 27,4 m²·g⁻¹ betrug. Dabei waren sowohl die gefällten Proteinprodukte als auch das unter Prozeßbedingungen unlösliche Proteinprodukt mit Werten zwischen 10 und 14 m²·g⁻¹ mit denjenigen des kommerziellen Referenzprodukts aus Palerbsen vergleichbar.

Der EAI der gefällten Produkte war in Abhängigkeit von deren thermischer Denaturierung sehr unterschiedlich. So wies das KPP-T₆₀ bei pH 7 mit 14 m²·g⁻¹ EAI einen signifikant höheren Wert auf, als das KPP-S, das einen EAI von 10 m²·g⁻¹ hatte.

Damit werden die Ergebnisse von SCHWENKE et al. (118) bestätigt, wonach sich eine begrenzte thermische Denaturierung positiv auf die funktionellen Eigenschaften von Proteinprodukten auswirken kann. Für das am stärksten denaturierte Produkt (KPP-T₈₀) wurde mit $7,4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ dahingegen der kleinste EAI ermittelt.

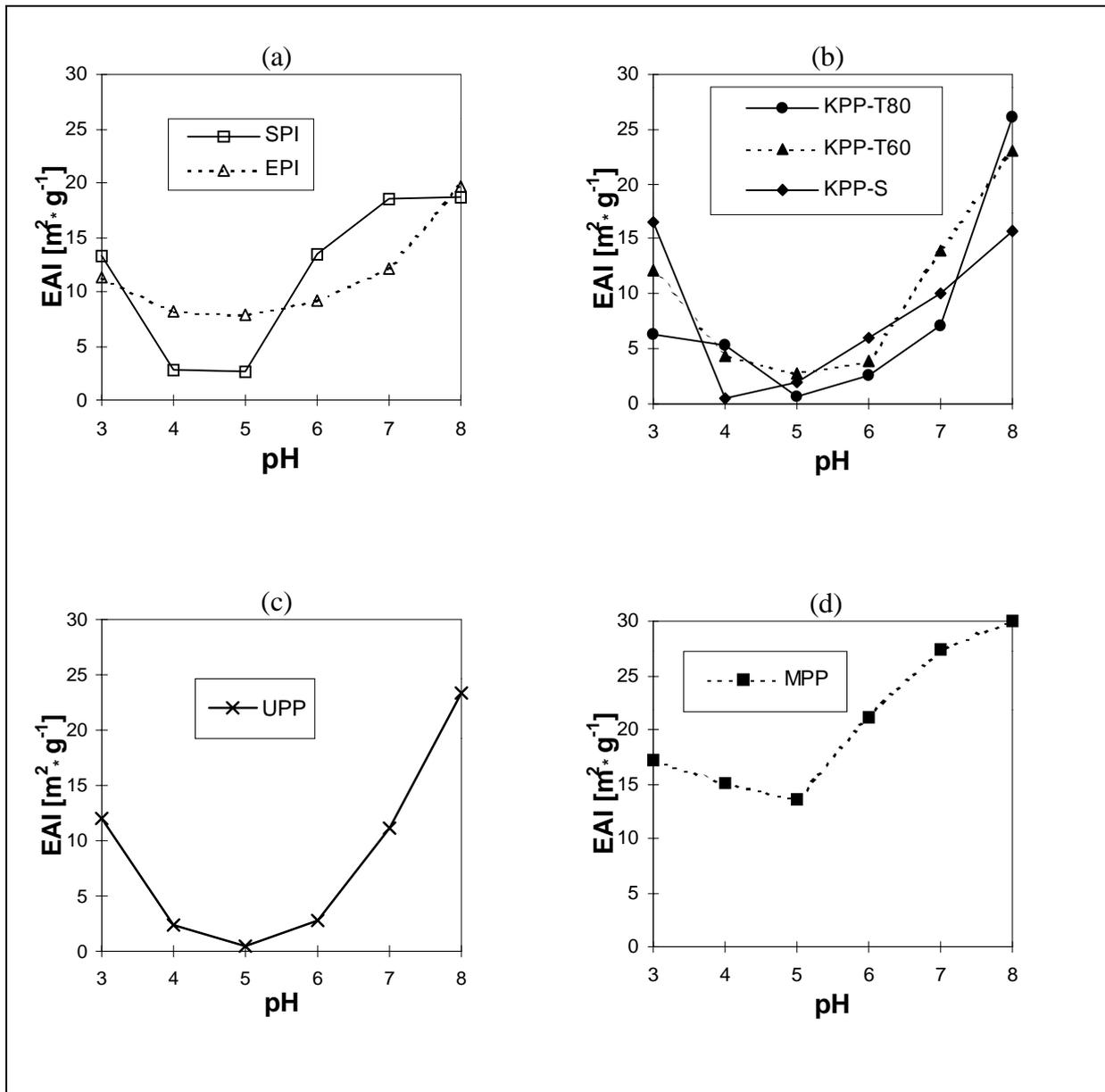


Abb. 35: Einfluß des pH auf den Emulgieraktivitätsindex (EAI) von Proteinprodukten aus Markerbinsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Der höchste EAI wurde bei dem mittels Membranfiltration hergestellten MPP festgestellt. Er war mit $27,4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ etwa doppelt so hoch wie derjenige der gefällten Proteinprodukte und auch deutlich höher als derjenige der beiden Referenzprodukte.

Dieses Ergebnis veranschaulicht, daß eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Löslichkeit der Produkte und deren EAI bestand. Letzteres läßt sich auch aus der Abbildung 35 ableiten, in welcher der EAI der Proteinprodukte in Abhängigkeit vom pH graphisch dargestellt ist. Es ist zu sehen daß sich für den EAI der einzelnen Proteinprodukte in Abhängigkeit vom pH ein ähnlicher Kurvenverlauf wie für deren Löslichkeit ergab. So wurden für die einzelnen Produkte in der Nähe des pI der kleinste und im Bereich der größten Löslichkeit der größte EAI ermittelt. Im Bereich zwischen pH 4 und 5 wurde hinsichtlich des EAI zwischen dem MPP und den mittels Fällung hergestellten Produkten ein besonders deutlicher Unterschied festgestellt. In diesem Bereich lag der EAI der mittels Fällung hergestellten Produkte um 70-90% unterhalb des für das MPP ermittelten.

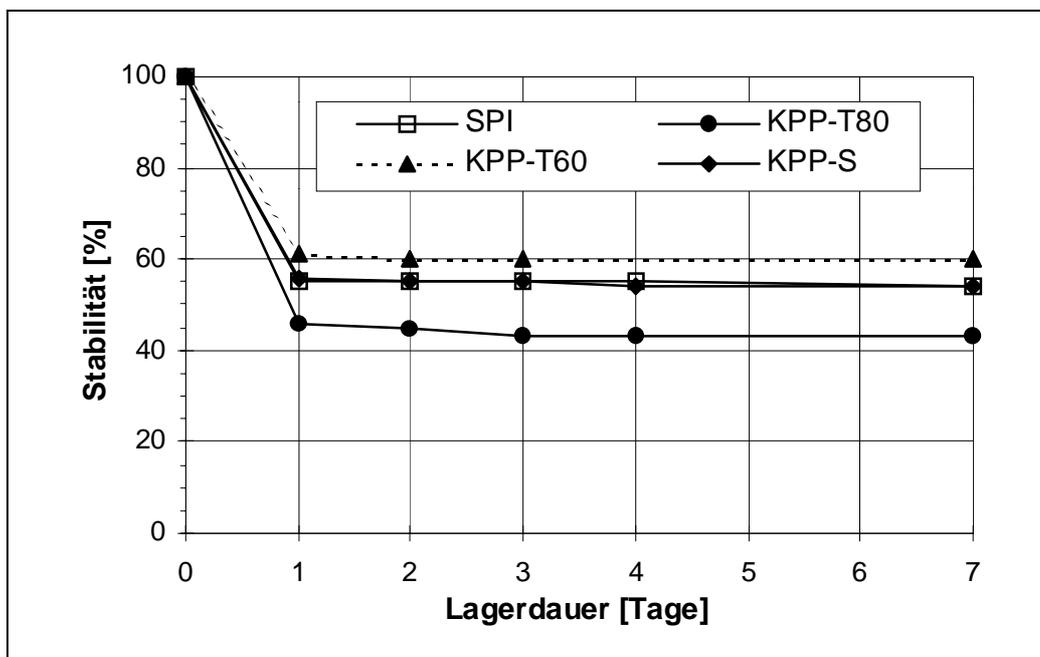


Abb.36: Einfluß der Lagerdauer auf die Stabilität der unter Verwendung der Proteinprodukte aus Markerbsen hergestellten Emulsionen im Vergleich zu einer unter Verwendung eines kommerziellen Sojaproteinisolats hergestellten Emulsion

Ein weiteres wichtiges Kriterium, welches im Zusammenhang mit dem Einsatz von Proteinprodukten als Emulgatoren von Bedeutung ist, ist deren Fähigkeit die gebildete Emulsion gegenüber verschiedenen Einflüssen zu stabilisieren. Aus diesem Grunde wurden die Produkte in einem nächsten Schritt bezüglich ihrer emulsionsstabilisierenden Eigenschaften untersucht. In Vorversuchen, in denen die Stabilität

der Emulsionen über einen Zeitraum von sieben Tagen beobachtet worden war, wurde festgestellt, daß die wesentlichen Veränderungen bezüglich der Stabilität der Emulsionen innerhalb der ersten vier Tage auftraten. Dies kann auch der Abbildung 36 entnommen werden, in der exemplarisch für alle untersuchten Proteinprodukte die Emulsionsstabilität (ES) des KPP-T₈₀, des KPP-T₆₀ und des KPP-S, sowie des SPI bei einem pH von 7 in Abhängigkeit von der Lagerdauer graphisch dargestellt ist.

Tab. 19: Stabilität der unter Verwendung der Proteinprodukte aus Markerbsen hergestellten Emulsionen im Vergleich zu zwei unter Verwendung von kommerziellen Proteinisolaten hergestellten Emulsionen ¹⁾

Produkt	ES [%] pH 7
SPI	55,0 ± 1,0
EPI	55,5 ± 2,5
KPP-T ₈₀	43,0 ± 0,6
KPP-T ₆₀	60,3 ± 0,2
KPP-S	53,7 ± 0,8
UPP	69,4 ± 2,8
MPP	68,4 ± 0,8

¹⁾ Lagerdauer 4 Tage ²⁾ Koaleszenz

Wie aus der Tabelle 19 zu entnehmen ist, betrug nach einer entsprechenden Lagerdauer bei 30 °C, die mit den Proteinprodukten erzielte ES zwischen 43 und 69 %. Die stabilsten Emulsionen wurden unter Verwendung des UPP und des MPP erhalten. Die unter Verwendung der gefällten Produkte hergestellten Emulsionen hatten demgegenüber ES die etwas kleiner waren. Sie waren jedoch mit Ausnahme des KPP-T₈₀ noch immer mit denjenigen Werten vergleichbar, die unter Verwendung der kommerziellen Produkte erzielt wurden. Ähnlich wie im Fall des EAI wurde auch im Fall der ES festgestellt, daß das bei 60 °C gefällte Proteinprodukt (KPP-T₆₀) höher zu bewertende Eigenschaften besaß, als das bei Raumtemperatur gefällte KPP-S und das entsprechend dem FLOTTWEG-Verfahren bei 80 °C gefällte Produkt. Letzteres schnitt mit einer ES von lediglich 43% deutlich am schlechtesten ab.

Tab. 20: Stabilität der unter Verwendung der Proteinprodukte aus Markerbsen hergestellten Emulsionen im Vergleich zu zwei unter Verwendung von kommerziellen Proteinisolaten hergestellten Emulsionen

Produkt	Emulsionsstabilität					
	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
SPI	h	3	2	h	h	h
EPI	h	h	3	3	h	h
KPP-T ₈₀	i	0	0	0	0	i
KPP-T ₆₀	i	0	0	i	h	h
KPP-S	0	0	1	h	h	h
UPP	h	i	0	i	h	h
MPP	h	h	h	h	h	h

h = Emulsion über den gesamten Versuchszeitraum homogen

i = Emulsion ab Lagerbeginn inhomogen

0 = Koaleszenz kurz nach Lagerbeginn

1 = Auftreten von Koaleszenz nach dem 1. Lagertag

2 = Auftreten von Koaleszenz nach dem 2. Lagertag

3 = Auftreten von Koaleszenz nach dem 3. Lagertag

Ähnlich wie der EAI hing auch die ES vom gewählten pH der wässrigen Phase ab. Aus der Tabelle 20 ist zu entnehmen, daß mit Ausnahme der Emulsion, die unter Verwendung des MPP hergestellt worden war, alle anderen Emulsionen in der Nähe des pI der Proteine inhomogen waren bzw. Koaleszenz zeigten. Der Begriff „inhomogen“ bezieht sich dabei auf die Zusammenballung der Öltröpfchen zu traubenartigen Gebilden. Ein solcher Effekt ist zumeist auf den pH-abhängigen Ladungszustand der Proteine zurückzuführen (54). Während die Inhomogenität der Emulsionen nur unter dem Mikroskop erkennbar war, konnte die Koaleszenz bereits mit bloßem Auge erkannt werden. Infolge der mit der Vergrößerung der Öltröpfchen verbundenen Änderung des Brechungsindexes änderte sich das Aussehen der Emulsion von milchig-weiß nach ölig-gelb.

Aus der Tabelle 20 geht ebenfalls hervor, daß einzig das MPP in der Lage war, Emulsionen innerhalb des gesamten untersuchten pH-Bereichs zu stabilisieren. Wie in Abbildung 37 zu sehen ist, hatten die bei pH 5 und 6 gebildeten Emulsionen die größte ES. Damit zeigten die mit dem MPP hergestellten Emulsionen in genau dem pH-Bereich, in dem keines der anderen Proteinprodukte die Emulsion stabilisieren konnte, besonders gute stabilisierende Eigenschaften.

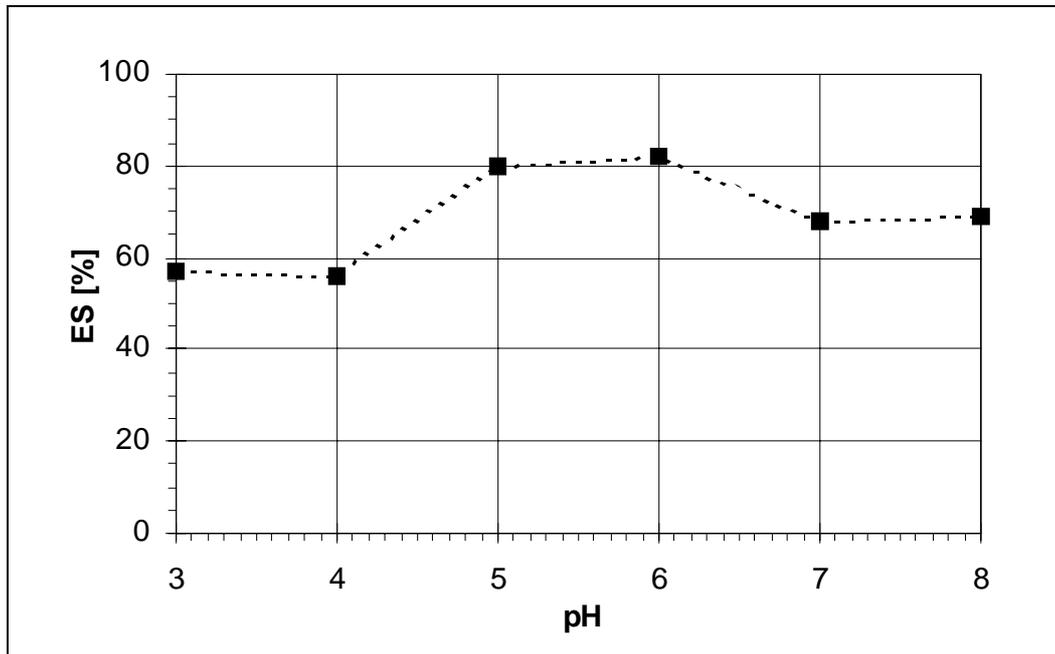


Abb. 37: Einfluß des pH auf die Stabilität von mit MPP hergestellten Emulsionen (nach dem 4. Lagertag)

Dies ist möglicherweise auf zwei sich überlagernde Effekte zurückzuführen. Der erste bestand offensichtlich darin, daß im Gegensatz zu den anderen Produkten im Falle des MPP auch in der Nähe des pI noch ein genügend großer Anteil des Proteins löslich war, um die Grenzfläche zwischen der Wasser- und Ölphase zu besetzen. Der zweite Effekt bestand ggf. darin, daß die Festigkeit der an der Grenzfläche lokalisierten Proteinfilme vom pH abhängt. Im allgemeinen ist sie im pI maximal, weil dort die geringsten Abstoßungskräfte zwischen den Proteinmolekülen auftreten (41). Durch eine hohe Festigkeit der Proteinfilme kann in diesem Zusammenhang einer Koaleszens der Öltröpfchen entgegengewirkt werden, was sich positiv auf die Stabilität der Emulsion auswirkt.

4.3.4 Schaumbildungseigenschaften

Zur Charakterisierung der Schaumbildungseigenschaften der Proteinprodukte wurde deren Schaumbildungskapazität ermittelt sowie die Beständigkeit und Festigkeit der gebildeten Schäume untersucht. Die Schaumbildungskapazität gibt das auf das Ausgangsvolumen (20 ml) der eingesetzten Probensuspension bezogene relative

Volumen der aufgeschlagenen Masse an. Die Beständigkeit der Schäume wurde mittels zweier Kenngrößen charakterisiert, der Schaumstabilität und der Drainage. Die Schaumstabilität gibt den prozentualen Anteil des Ausgangsvolumens des Schaums an, der nach einer Standzeit von 60 min noch vorhanden war. Die Drainage entspricht dem Volumen an Flüssigkeit, das innerhalb einer Standzeit von 60 min aus dem Schaum abtropfte. Die Festigkeit der Schäume wurde über die Penetrationsgeschwindigkeit ermittelt, die sich beim Durchdringen des Schaums mit einem definierten Meßkörper ergab.

Ähnlich wie für die Proteinlöslichkeit und die Emulgierereigenschaften wurden auch für die Meßwerte der Schaumbildungseigenschaften deren Abhängigkeit vom pH untersucht. Eine vollständige Darstellung der dabei erhaltenen Meßergebnisse ist dem Anhang zu entnehmen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird hier zunächst nur eine Gegenüberstellung der bei pH 7 und pH 4 erhaltenen Ergebnisse vorgenommen. Dies ist insbesondere deshalb sinnvoll, weil die wesentlichen Unterschiede der Schaumbildungseigenschaften der Proteinprodukte bereits durch diese komprimierte Betrachtung verdeutlicht werden können. Abweichend zu der Bestimmung der anderen funktionellen Eigenschaften wurde neben dem EPI Eiklar als zweites Referenzprotein verwendet. Dies ergab sich daraus, daß Eiklar bekanntermaßen besonders stark ausgeprägte Schaumbildungseigenschaften besitzt. Auf die Verwendung des SPI als Referenzprotein wurde dagegen in diesem Fall verzichtet, da es offensichtlich nur sehr unzureichende Schaumbildungseigenschaften hatte (vgl. Tab. A11, Anhang).

In den Tabellen 21 und 22 sind die bei pH 7 und 4 erhaltenen Ergebnisse zusammengefaßt. Aus der Tabelle 21 ist zu entnehmen, daß die Proteinprodukte aus Markerbsen bei einem neutralen pH zwar ähnlich hohe Schaumbildungskapazitäten hatten wie die Referenzproteine, dagegen war die Beständigkeit der aus den Markerbsenprodukten hergestellten Schäume jedoch gegenüber den aus den Referenzprodukten hergestellten deutlich vermindert. Die Schaumstabilität betrug maximal 84% und die Drainage betrug mindestens 11,5 ml während die entsprechenden Werte für die aus den Referenzprodukten hergestellten Schäume 100% bzw. 5,5 ml betragen. Als möglicher Grund für die unzureichende Beständigkeit der Schäume kann der hohe Fettgehalt der Produkte angenommen werden (125). Zur Erzielung einer besseren Schaumbeständigkeit wird es daher ggf. erforderlich sein, die Produkte zu entfetten. Hierbei wäre allerdings zu prüfen, inwieweit ein solch aufwendiger zusätzlicher Verfahrensschritt aus ökonomischer Sicht vertretbar ist. Unter

den Produkten aus Markerbsen wurde für das membranfiltrierte Produkt (MPP) die höchste Schaumbeständigkeit festgestellt. Die Stabilität des Schaums betrug 82 %, und die über die Penetrationsgeschwindigkeit ermittelte Festigkeit entsprach derjenigen des mit dem EPI hergestellten Schaums.

Tab. 21: Schaumbildungseigenschaften von Proteinprodukten aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Pelerbsen bei einem pH von 7

Produkt	Schaumbildungs- kapazität [%]	Schaum- stabilität [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm·s ⁻¹]
Eiklar ¹⁾	472 ± 25	100 ± 0	5,5 ± 0,0	<0,1
EPI	351 ± 0	100 ± 0	5,5 ± 0,7	1 ± 0
KPP- S	351 ± 0	51 ± 0	14,5 ± 0,4	60 ± 6
KPP-T ₆₀	385 ± 0	69 ± 0	11,5 ± 0,0	23 ± 12
KPP-T ₈₀	212 ± 0	84 ± 0	15,0 ± 0,0	>300
MPP	377 ± 12	82 ± 1	11,3 ± 0,4	1 ± 0
UPP	429 ± 12	52 ± 4	15,5 ± 0,7	55 ± 15

1) Mit destilliertem Wasser aus Gründen der Vergleichbarkeit der Meßergebnisse auf ca. 7%TS eingestellt

Tendenziell wurden bei pH 4 bessere Schaumbildungseigenschaften als bei pH 7 ermittelt. Aus dem Anhang ist zu entnehmen, daß sie bei diesem pH zumeist ihr Optimum erreichten. Hiermit werden die Ergebnisse anderer Autoren bestätigt, wonach die Schaumbildungseigenschaften vieler Proteinpräparate in der Nähe des pI optimal sind (16,41,63,126).

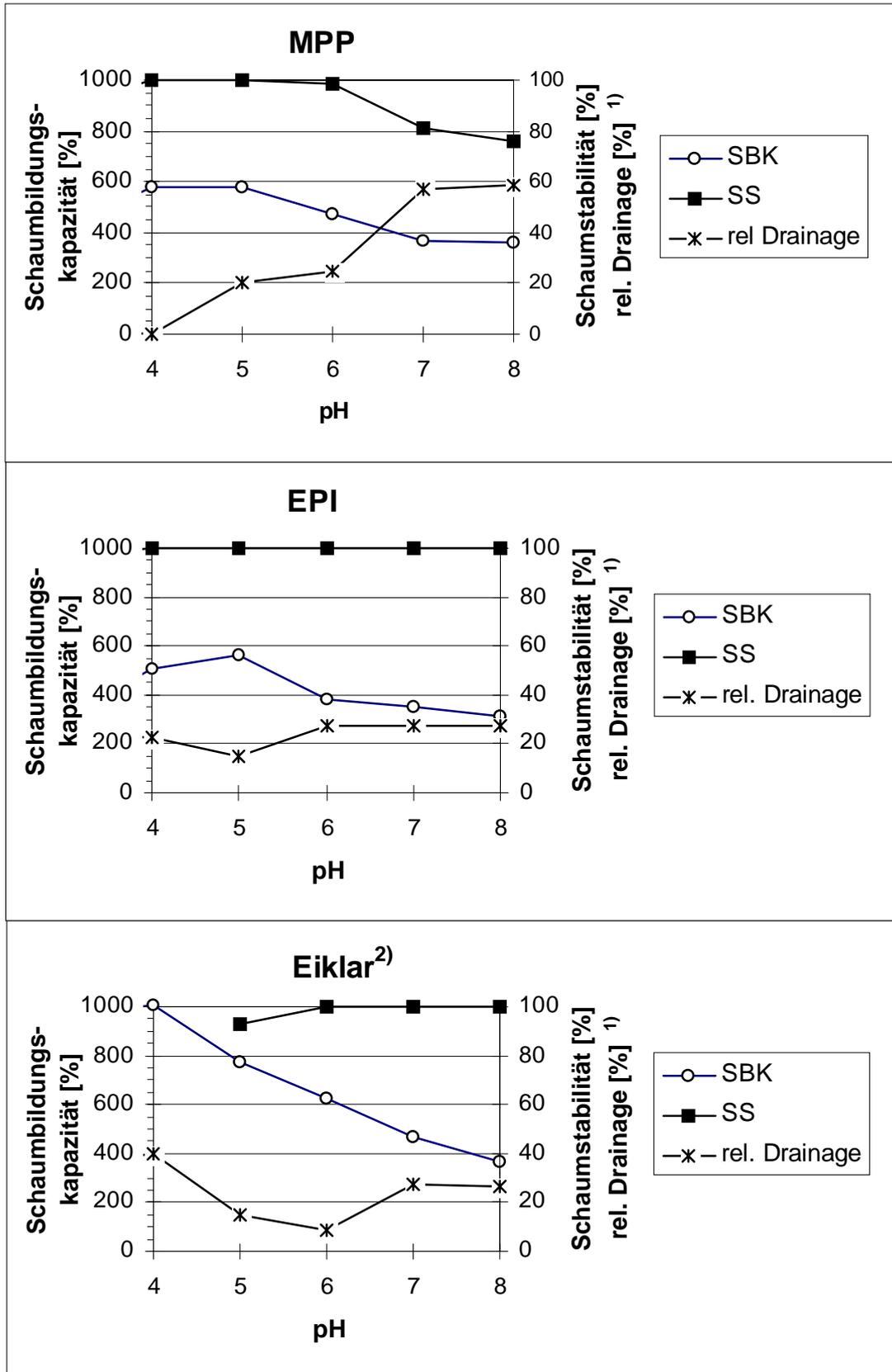
Mit Ausnahme des mit dem MPP hergestellten Schaums war die Stabilität und Festigkeit der mit den Markerbsenprodukten hergestellten Schäume gegenüber dem mit dem EPI hergestellten Schaum jedoch auch bei diesem pH deutlich vermindert. In der Abbildung 38 sind die Schaumbildungseigenschaften des MPP und der Referenzprodukte in Abhängigkeit vom pH gegenübergestellt. Daraus geht hervor, daß im pH-Bereich zwischen 4 und 8 die Schaumbildungskapazität sowie die Schaumstabilität des MPP zu- und die Drainage abnahm. Unterhalb von pH 7 wies das MPP gleichgute oder bessere Eigenschaften wie das kommerzielle Proteinisolat aus

Palerbsen auf. Bezüglich der Stabilität und der Drainage wurden unterhalb von pH 6 für das MPP sogar besser zu bewertende Eigenschaften als für Eiklar festgestellt. Allerdings war die Schaumbildungskapazität des MPP in diesem Bereich gegenüber dem Eiklar deutlich vermindert.

Tab. 22: Schaumbildungseigenschaften von Proteinprodukten aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen bei einem pH von 4

Produkt	Schaumbildungskapazität [%]	Schaumstabilität [%]	Drainage [ml]	Penetrationsgeschwindigkeit [0.1 mm·s ⁻¹]
Eiklar ¹⁾	1010 ± 25	68 ± 2	8,0 ± 0,0	<0,1
EPI	507 ± 0	100 ± 0	4,5 ± 0,7	<0,1
KPP- S	455 ± 25	66 ± 4	18,5 ± 0,7	240 ± 50
KPP-T ₆₀	472 ± 0	23 ± 0	18,8 ± 0,4	180 ± 25
KPP-T ₈₀	429 ± 12	29 ± 1	15,0 ± 0,0	60 ± 18
MPP	576 ± 0	100 ± 0	0 ± 0,0	<0,1
UPP	368 ± 25	95 ± 0	10,5 ± 0,0	<0,1

1) Mit destilliertem Wasser aus Gründen der Vergleichbarkeit der Meßergebnisse auf ca. 7% TS eingestellt



1) Zur Gewährleistung vergleichbarer Versuchsbedingungen mit destilliertem Wasser auf einen TS-Gehalt von ca. 7 % eingestellt

2) Bezogen auf das Volumen der aufgeschlagenen Flüssigkeit (20 ml)

Abb. 38: Schaumbildungseigenschaften des MPP sowie der Referenzprodukte in Abhängigkeit vom pH

4.3.5 Wasser- und Fettbindungseigenschaften

Die Wasserbindekapazität (WBK) der untersuchten Proteinprodukte betrug zwischen 1,5 und 4,6 g·g⁻¹ (Tab. 23). Mit Werten zwischen 1,5 bis 2,7 g·g⁻¹ war die WBK der aus Markerbsen hergestellten Proteinprodukte dabei deutlich kleiner als die der kommerziellen Referenzprodukte. Am geringsten fiel die WBK bei den beiden am wenigsten denaturierten Produkte aus. Im Fall des UPP betrug sie 1,5 g·g⁻¹ und im Fall des MPP war sie aufgrund der hohen Löslichkeit des Produkts nicht mehr meßbar.

Tab. 23: Wasser- und Fettbindekapazität von Proteinprodukten aus Markerbsen im Vergleich zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja bzw. Palerbsen

Produkt	WBK [g·g ⁻¹]	FBK [%]
SPI	4,6 ± 0,2	123,3 ± 3,2
EPI	4,0 ± 0,2	159,0 ± 4,5
KPP-T ₈₀	2,6 ± 0,1	87,1 ± 1,1
KPP-S	2,7 ± 0,1	80,0 ± 1,4
KPP-T ₆₀	2,2 ± 0,1	70,0 ± 2,8
UPP	1,5 ± 0,1	152,3 ± 3,1
MPP	n.n.	131,7 ± 9,8

n.n.: nicht nachweisbar da praktisch volls tändig löslich

Auch bezüglich der Fettbindekapazität (FBK) unterschieden sich das MPP und UPP deutlich von den gefällten Produkten. Allerdings waren in diesem Fall deutlich höhere Werte als bei den gefällten Proteinprodukten festzustellen. Während die FBK des MPP und des UPP 132 bzw. 152 % betrug waren es im Fall der gefällten Produkte maximal 87 %. Die FBK der Vergleichsprodukte betrug 123 bzw. 159 %. Zusammenfassend kann somit festgestellt werden, daß lediglich das MPP und das UPP Fettbindekapazitäten besaßen, die mit denjenigen der kommerziellen Produkte vergleichbar waren.

5 Zusammenfassung

Die Gewinnung von Stärke aus Markerbsen ist aufgrund des hohen Amylosegehalts und der damit verbundenen speziellen Eigenschaften dieser Stärke in den letzten Jahren Gegenstand verschiedener wissenschaftlicher Arbeiten gewesen (5-10). Als ein Ergebnis dieser Forschungsaktivitäten wurde an der TU-Berlin ein Verfahren (TUB-Verfahren) entwickelt, mit dem es gelungen ist, die wesentlichen verfahrenstechnischen Probleme zu lösen, die sich bei der Verarbeitung dieses Rohstoffs ergeben (9,10). Die industrielle Umsetzung dieses Verfahrens ist jedoch aus ökonomischer Sicht nach wie vor problematisch. Der Grund hierfür besteht darin, daß der Stärkegehalt von Markerbsen mit ca. 30 % recht klein ist. Daraus ergibt sich, daß im Hinblick auf die Realisierung des Einsatzes von Markerbsen zur Stärkegewinnung der Gewinnung des Proteins und der Faser, die ebenfalls jeweils ca. 30% der Trockenmasse der Markerbse ausmachen, ein hoher Stellenwert für die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens zukommt.

Anders als die Gewinnung der Faserfraktion ist die Gewinnung des Proteins und die Qualität der daraus herstellbaren Proteinprodukte noch nicht eingehend untersucht worden. Dies trifft insbesondere auf den Anteil des Proteins zu, der unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens im Prozeßwasser gelöst wird. Das wesentliche Ziel dieser Arbeit bestand daher darin, verschiedene Verfahrensalternativen im Hinblick auf die Gewinnbarkeit des Proteins sowie die Qualität der dabei anfallenden Proteinprodukte vergleichend gegenüberzustellen.

Im ersten Abschnitt der Arbeit wurde der Einfluß von Fällungs- und Ultrafiltrationsparametern auf die Gewinnung des unter den Verfahrensbedingungen des TUB-Verfahrens löslichen Proteinanteils untersucht. Hierzu wurden wässrige Markerbsenextrakte eingesetzt. Um den experimentellen Aufwand bei der Vielzahl der durchzuführenden Versuche zu begrenzen, wurde zur Herstellung des Extrakts ein gegenüber dem TUB-Verfahren vereinfachtes Verfahren angewendet. Die Vereinfachung bestand dabei darin, daß die Herstellung der Extrakte im Labormaßstab erfolgte und nur diejenigen Verfahrensschritte berücksichtigt wurden, die im Hinblick auf die Fraktionierung des Proteins in den löslichen und unlöslichen Anteil von Bedeutung sind.

Im Zusammenhang mit der Fällung des Proteins wurde zunächst geprüft, inwieweit es möglich ist, das Markerbsenprotein bereits mit Hilfe eines vergleichsweise einfachen Verfahrens zu koagulieren, welches lediglich eine Erwärmung des Extrakts vorsieht. Es wurde festgestellt, daß bei einer entsprechenden Vorgehensweise ca.

60 % der im Extrakt enthaltenen Gesamtmasse an Stickstoff-Substanzen (N-Substanzen) als Koagulat gewonnen werden konnten. Im Falle einer halbstündigen Erwärmung des Extrakts wurde die maximale Fällbarkeit der N-Substanzen ab einer Temperatur von 90 °C erreicht. Eine Erhöhung der Temperatur über diesen Wert hinaus war mit keiner signifikanten Erhöhung der Fällbarkeit verbunden. Desweiteren konnte gezeigt werden, daß im Falle von Erwärmungstemperaturen von 60 bzw. 80°C selbst durch eine Vervierfachung der Erwärmungszeit von 30 auf 120 °C kaum signifikante Erhöhungen der Fällbarkeit der N-Substanzen eintraten. Der Proteingehalt in der Trockenmasse des Koagulats betrug ab einer Erwärmungstemperatur von 75 °C mindestens 70 %. Die durch Trocknung der Koagulate herstellbaren Proteinprodukte können somit unter Anlegung der für Sojaproteinprodukte verwendeten Kriterien als Proteinkonzentrate bezeichnet werden.

Durch eine Waschung des Koagulats mit Frischwasser wurde der Proteingehalt um weitere 7 %-Punkte angehoben und der im Koagulat verbleibende Masseanteil an N-Substanzen gegenüber dem ungewaschenen Koagulat um 1,5%-Punkte vermindert.

Die Verwendung von Calciumchlorid als Flockungsmittel wirkte sich hinsichtlich der Fällung der N-Substanzen positiv aus. In Versuchen, in denen dem Extrakt bis zu 0,14 % Calciumchlorid zugesetzt worden war, wurde gegenüber dem Nullversuch eine Steigerung des fällbaren Anteils um bis zu 6 %-Punkte festgestellt. Gleichzeitig fiel jedoch der Proteingehalt in der Trockenmasse der Koagulate um bis zu 8 % ab. Dies konnte im weiteren Verlauf der Arbeit darauf zurückgeführt werden, daß mit steigender Ca-Ionenkonzentration gemeinsam mit dem Protein zunehmend Phytinsäure gefällt wurde.

Im Falle der sauren Fällung ohne Erwärmung des Extrakts war der Anteil der fällbaren N-Substanzen weitestgehend davon unabhängig, ob zur Einstellung des pH Salzsäure, Schwefelsäure oder Phosphorsäure verwendet wurden. Das Maximum stellte sich jeweils bei einem pH von ca. 3,4 ein. Bei diesem pH wurden ca. 60 % der im Extrakt enthaltenen Trockenmasse an N-Substanzen gefällt und der Proteingehalt in der Trockenmasse des Koagulats betrug 76 %. Diesbezüglich wurde somit ein ähnliches Ergebnis wie bei der thermischen Fällung erhalten. Ähnliches traf auch dann zu, wenn ein kombiniertes thermisch-saures Fällungsverfahren angewendet wurde. Auch hier wurden maximal 60 % der im Extrakt enthaltenen Trockenmasse an N-Substanzen gefällt. Ein wesentlicher Effekt des kombinierten Fällungsverfahrens bestand jedoch darin, daß der für die Fällung der N-Substanzen optimale pH-Bereich mit zunehmender Erwärmungstemperatur in Richtung eines höheren pH

verschoben wurde. So wurde beispielsweise bei einer Erwärmungstemperatur von 60 °C das Fällungsmaximum bei pH 4,0 festgestellt. Diese Parameter entsprechen in etwa denjenigen, die üblicherweise bei der kommerziellen Herstellung von Sojaproteinisolaten zur Anwendung kommen.

Im Vergleich zu Sojaproteinisolaten (SPI) wiesen die Produkte aller angewendeten Fällungsverfahren einen deutlich verminderten Proteingehalt auf. Während erstere üblicherweise einen Proteingehalt von $\geq 90\%$ haben, betrug derjenige der Koagulationsprodukte aus Markerbsen maximal um ca. 80 %. Dies war im wesentlichen auf deren im Vergleich zu SPI erhöhten Kohlenhydrat- und Fettgehalt zurückzuführen. Der erhöhte Fettgehalt kann damit erklärt werden, daß zwischen dem TUB-Verfahren und dem konventionellen Verfahren zur Herstellung von SPI ein entscheidender Unterschied hinsichtlich des Fettgehalts des verarbeiteten Rohstoffs besteht. Bei der Herstellung von SPI dienen als Rohstoff Sojamehle bzw. -flocken mit einem Fettgehalt $< 1\%$. Diese fallen bei der Gewinnung von Sojaöl in großen Quantitäten als Nebenprodukt an und stehen daher in praktisch beliebiger Menge als Rohstoffbasis zur Verfügung. Im TUB-Verfahren wird dahingegen ein nicht entfetteter Rohstoff verarbeitet, weil die Entfettung der Markerbsen aufgrund ihres vergleichsweise kleinen Fettgehalts von ca. 2 % nicht wirtschaftlich wäre. Das Fällen führte zu einer starken Anreicherung des Fetts im Koagulat.

Eine potentielle Verfahrensalternative zur Fällung des Proteins bestand in dessen Konzentrierung durch Ultrafiltration. Die Eignung eines UF-Verfahrens zur Herstellung von Proteinprodukten aus Markerbsen wird insbesondere davon abhängen, ob und bei welcher Filtrationsleistung das gewünschte Filtrationsergebnis erzielt werden kann. Es wurde daher der Einfluß der Filtrationsparameter auf den Permeatfluß sowie die Rückhaltung der N-Substanzen untersucht. Hierzu wurden Miniatur-Plattenmodule (Membranmaterial Polysulfon) eingesetzt.

Hinsichtlich des Einflusses der Membrantrenngrenze ergab sich erwartungsgemäß, daß mit steigender Trenngrenze der Permeatfluß zu und die Rückhaltung der N-Substanzen abnahm. Unter Berücksichtigung des funktionellen Zusammenhangs zwischen der Membrantrenngrenze und diesen beiden Zielgrößen wurde festgestellt, daß unter den Versuchsbedingungen, (Überströmgeschwindigkeit $1,05 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, Extrakttemperatur 25 °C, Transmembrandruck 1 bar, Volumenkonzentrierung = 5) aus ökonomischen Gesichtspunkten eine Trenngrenze von 50 kD optimal war. Bei einer Standzeit von 3 h wurde unter Verwendung einer entsprechenden Membran unter den oben genannten Filtrationsbedingungen ein mittlerer Permeatfluß von

17,2 l m² h⁻¹ eine 75 %-ige Rückhaltung der Trockenmasse an N-Substanzen ermittelt.

Die Untersuchung des Einflusses des Transmembrandrucks sowie der Überströmgeschwindigkeit auf das Filtrationsergebnis ergab, daß der Permeatfluß sowie die Rückhaltung der Membranen wesentlich durch die Bildung einer Deckschicht auf der Membran determiniert wurde. Dies wurde unter anderem daraus abgeleitet, daß der Permeatfluß mit der Überströmgeschwindigkeit anstieg, während er vom Transmembrandruck weitestgehend unabhängig war. Darüber hinaus wurde die Hypothese dadurch gestützt, daß diejenigen Maßnahmen, welche die Bildung bzw. das Wachstum einer Deckschicht begünstigen (Erhöhung des Transmembrandrucks, Verminderung der Überströmgeschwindigkeit) tendenziell zu einer Erhöhung der Rückhaltung der N-Substanzen führte.

Bezüglich des Einflusses der Extrakttemperatur auf das Filtrationsergebnis wurde erwartungsgemäß ein Anstieg des Permeatflusses mit der Temperatur festgestellt.

Der Einfluß der Volumenkonzentrierung auf das Filtrationsergebnis wurde unter Verwendung eines Hohlfasermoduls mit einer Trenngrenze von 50 kD und einem Kapillarinne Durchmesser von 0,8 mm durchgeführt. Dieses hatte gegenüber den Miniatur-Plattenmodulen den Vorteil, aufgrund seiner größeren Filterfläche ein ausreichend großes Extraktvolumen filtrieren zu können, welches über den Verlauf der Filtration die Entnahme ausreichender Probenmengen zur Charakterisierung des Retentats zuließ. Der TS-Gehalt des Retentats sowie der Proteingehalt in dessen Trockenmasse stiegen mit zunehmender Konzentrierung an. Der für Proteinkonzentrate geforderte Proteingehalt von mindestens 70 % wurde ab einer Volumenkonzentrierung von 5 erreicht. Bei dieser Volumenkonzentrierung wurde der TS-Gehalt des Retentats von 3,2 % auf 8,2 % angehoben und knapp 79 % der Trockenmasse der N-Substanzen durch die Membran zurückgehalten. Durch eine nochmalige Halbierung des Retentatvolumens auf ein Zehntel des ursprünglich eingesetzten Extraktvolumens wurde der TS-Gehalt um weitere 5,2 % angehoben, gleichzeitig ging jedoch der Anteil der zurückgehaltenen Trockenmasse um 15 % und der mittlere Permeatfluß um ca. 1 l m² h⁻¹ zurück. Der Proteingehalt des entsprechend hergestellten Proteinprodukts war mit 78 % denjenigen der mittels Koagulation hergestellten Produkte vergleichbar. Dahingegen war der Fettgehalt mit 2,3 % gegenüber den mittels Koagulation hergestellten Produkten um die Hälfte vermindert.

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung von Proteinprodukten aus Markerbsen im Bereich der tierischen und menschlichen Ernährung erweist es sich als nachteilig, daß Markerbsen verschiedene antinutritive bzw. antiphysiologische Substanzen (ANS) enthalten, welche die ernährungsphysiologische Wertigkeit der aus ihnen herstellbaren Produkte limitieren können. Im zweiten Teil der Arbeit wurde daher untersucht, inwieweit diese Substanzen in die im TUB-Verfahren herstellbaren Proteinprodukte gelangen bzw. deren Übergang in die Proteinprodukte durch geeignete verfahrenstechnische Maßnahmen beschränkt werden kann.

Bezüglich der Maßnahmen zur Verminderung der ANS stand insbesondere die Quellung der Markerbsen sowie die Fällung und Ultrafiltration in Lösung gebrachter Proteine im Vordergrund. Diese Verfahrensschritte sind sowohl Bestandteil des TUB-Verfahrens wie auch anderer Verfahren. Sie stellen somit im Hinblick auf die Zielsetzung der Verminderung der ANS keinen zusätzlichen verfahrenstechnischen Aufwand dar. Bei den zu berücksichtigenden ANS handelte es sich um Phytinsäure, Trypsininhibitoren und flatusfördernde Oligosaccharide (α -Galactoside). Lectine und Tannine, denen in anderen Leguminosen ebenfalls eine bedeutende antinutritive Wirkung zukommt, wurden hingegen nicht berücksichtigt. Der Grund hierfür bestand darin, daß Erbsenhämagglutinine nur eine niedrige Toxizität besitzen und in Vorversuchen gezeigt werden konnte, daß die untersuchten Markerbsensorten Markana, Tristar und Sprinter einen nur sehr kleinen Tanningehalt aufweisen. Ergänzend zu den ANS wurde auch die *in vitro* Proteinverdaulichkeit der Produkte untersucht.

Im Zusammenhang mit der Quellung konnte gezeigt werden, daß durch geeignete Wahl der Parameter der Gehalt an antinutritiven Substanzen in Markerbsen bereits deutlich vermindert werden kann. In den diesbezüglich durchgeführten Untersuchungen wurde die Quellzeit von 3 bis 11 h, sowie die Temperatur und der pH des Quellwassers von 25 - 55 °C bzw. pH 4,5-5,9 variiert. In diesem Parameterbereich wurde der Phytinsäure- und α -Galactosidgehalt im Quellgut gegenüber den entsprechenden Werten im Rohstoff um bis zu 25 bzw. 55 % und die Trypsininhibitoraktivität um bis zu 60 % reduziert. Die Verminderung des Phytinsäure- und α -Galactosidgehalts konnte dabei im wesentlichen auf den Übergang der Substanzen ins Quellwasser und die Verminderung der Trypsininhibitoraktivität auf die Inaktivierung der Inhibitoren zurückgeführt werden.

Dabei war der Effekt um so größer, je länger die Quellzeit und die Temperatur gewählt wurden. Der größte Einfluß ging diesbezüglich jeweils von der Quelltemperatur aus. Der Einfluß des pH war in diesem Zusammenhang in Abhängigkeit von

der jeweiligen antinutritiven Substanz uneinheitlich. Während für die Verminderung des Trypsininhibitorgehalts ein hoher pH von Vorteil war, war es für die Verminderung des Phytinsäuregehalts ein niedriger. Für die Verminderung des α -Galactosidgehalts wurde keine Abhängigkeit vom pH festgestellt.

Trotz der zum Teil beachtlichen Effekte, die bezüglich der Verminderung des ANS im Quellgut durch die angehobenen Quelltemperaturen erreicht wurden, war die Anwendbarkeit entsprechender Verfahrensparameter im Hinblick auf den Erhalt der nativen Eigenschaften des Erbsenproteins jedoch eingeschränkt. Dies ergibt sich daraus, daß die Löslichkeit des Erbsenproteins mit steigender Quelltemperatur deutlich abnahm.

Im Zusammenhang mit der thermischen Fällung ohne pH-Absenkung konnte insbesondere ein Einfluß auf die TI-Aktivität des Proteinprodukts festgestellt werden. Erwartungsgemäß nahm diese mit zunehmender Erwärmungstemperatur und -zeit ab. In dem Parameterbereich, der sich im ersten Abschnitt dieser Arbeit im Hinblick auf die Koagulierbarkeit des Proteins als geeignet erwiesen hatte, wurde in der Trockenmasse des Koagulats eine Restaktivität von maximal $0,9 \text{ TIU}\cdot\text{mg}^{-1}$ nachgewiesen. Entsprechend geringe Aktivitäten sind nach dem derzeitigen Stand der Kenntnis aus ernährungsphysiologischer Sicht nicht mehr signifikant.

Der Gehalt an α -Galactosiden konnte durch die thermische Fällung ebenfalls auf ein zu vernachlässigendes Maß abgesenkt werden. Im Falle einer Waschung des Koagulats mit Frischwasser betrug der Gehalt 0,2 %. Anders verhielt es sich diesbezüglich hingegen mit dem Phytinsäuregehalt. Es wurde festgestellt, daß sich die Phytinsäure im Koagulat anreicherte. Die Anreicherung korrelierte dabei stark mit der Ca-Ionenkonzentration im Extrakt. Unter Verwendung von Leitungswasser mit einer Härte von 18°d betrug der Phytinsäuregehalt in der Trockenmasse des Koagulats 4,4 %. Unter Verwendung von deionisiertem Wasser war er hingegen nur halb so groß.

Bezüglich der sauren Fällung wurde festgestellt, daß sich für die Fällung der Trypsininhibitoren eine ähnliche Abhängigkeit vom pH wie für das Gesamtprotein ergab. Die maximale Fällbarkeit der TI wurde wie beim Gesamtprotein bei einem pH von 3,4 ermittelt. Bei diesem pH gelangten ca. 30 % der Inhibitoren in das Koagulat. Das bei entsprechendem pH erhaltene Koagulat besaß, bezogen auf seine Trockenmasse, eine TI-Aktivität von ca. $10 \text{ TIU}\cdot\text{mg}^{-1}$.

Bezüglich des Gehalts an α -Galactosiden wurden vergleichbare Ergebnisse wie bei der thermischen Fällung erhalten.

Die Phytinsäure wurde ähnlich wie bei der thermischen Fällung im Koagulat angereichert. Der Phytinsäuregehalt in der Koagulatrockenmasse war dabei um so größer, je niedriger der Fällungs-pH gewählt worden war. Dies wurde darauf zurückgeführt, daß die Proteine mit abnehmendem pH einen zunehmenden Anteil an positiven Ladungen besaßen und sich für diese somit eine zunehmende elektrostatische Anziehung zur unter den Versuchsbedingungen negativ geladenen Phytinsäure ergab. Bei dem im Hinblick auf die Fällung des Proteins optimalen pH von 3,4 wurde mit einem Phytinsäuregehalt von 4,9 % das Maximum erreicht. Dieser Wert war somit z.T. mehr als doppelt so groß wie der Phytinsäuregehalt von Referenzprodukten aus anderen Leguminosen.

Eine Möglichkeit zur Herstellung von Proteinprodukten mit einem im Vergleich dazu verminderten Phytinsäuregehalt bestand in der Anwendung eines kombinierten thermisch-sauren Fällungsverfahrens. Dies ergab sich daraus, daß mit diesem bereits bei relativ hohem pH eine maximale Fällung des Proteins eintrat und bezüglich der Abhängigkeit des Phytinsäuregehalts vom Fällungs-pH keine wesentlichen Unterschiede zur sauren Fällung bei Raumtemperatur bestanden. Unter Bedingungen, in denen eine dem Fällungsoptimum der sauren Fällung entsprechende Fällbarkeit des Proteins bestand, wurden im Falle einer Anhebung der Temperatur auf 60 bzw. 85 °C Phytinsäuregehalte von 3,1 bzw. 2,3 % erhalten.

Da die Ultrafiltration die Möglichkeit bietet, die Inhaltsstoffe von Lösungen nach ihrer Molekülgröße zu trennen, und die Molekülgröße der Erbsenproteine z.T. deutlich größer ist als die der ANS, war auch die Ultrafiltration potentiell dazu geeignet, Proteinprodukte mit kleinem ANS-Gehalt herzustellen. In diesem Zusammenhang wurde der Einfluß der Membrantrenngrenze auf die Rückhaltung der ANS und deren Gehalt im Produkt untersucht. Hierzu wurden Erbsenextrakte unter Verwendung von Miniatur-Plattenmodulen mit Trenngrenzen zwischen 10 und 100 kD auf ein Fünftel ihres Ausgangsvolumens konzentriert. Um eine maximale Permeierung der Substanzen zu ermöglichen, wurde aufbauend auf den im ersten Abschnitt gewonnenen Erkenntnissen bezüglich des Einflusses der Deckschicht auf die Rückhaltung der Inhaltsstoffe die mit dem System maximal realisierbare Überströmgeschwindigkeit ($1,05 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) und ein kleiner Transmembrandruck (1bar) gewählt. Dabei wurde festgestellt, daß die TI bis zu einer Trenngrenze von 50 kD im Retentat angereichert wurden, da diese stärker als die Gesamttrockenmasse durch die Membran zurückgehalten wurden. Die Inhibitoraktivität in der Trockenmasse des Retentats war dabei

mit Werten von ca. $20 \text{ TIU} \cdot \text{mg}^{-1}$ um ca. 80% gegenüber der Aktivität in der Trockenmasse des Extrakts angehoben. Unter Verwendung einer Membran mit einer Trenngrenze von 100 kD permeierten die TI zu einem etwa gleichen Anteil wie die Gesamttrockenmasse, so daß die TI-Aktivität in der Retentattrockenmasse in etwa derjenigen der Extraktrockenmasse entsprach. Insgesamt wiesen die mittels Ultrafiltration erhaltenen Produkte somit eine höhere TI-Aktivität auf als die mittels Fällung erhaltenen.

Die Phytinsäure wurde bis zu einer Trenngrenze von 10 kD ebenfalls relativ stärker zurückgehalten als die Gesamttrockenmasse. Auch sie permeierte somit in deutlich geringerem Maße, als aufgrund ihrer Molekülgröße zu erwarten war. Als Ursache hierfür kann die bereits im Zusammenhang mit der Fällung diskutierte Bindung der Phytinsäure an das Protein angenommen werden. Insgesamt war die Anreicherung in der Trockenmasse des Retentats jedoch sehr gering, da die Rückhaltung der Phytinsäure selbst unter Verwendung dieser kleinen Trenngrenze die Rückhaltung der Gesamttrockenmasse nur unwesentlich übertraf. Der Phytinsäuregehalt in der Retentattrockenmasse betrug in diesem Falle 2,3 %. Entsprechend niedrige Phytinsäuregehalte wurden unter Einsatz der Fällungsverfahren nur dann erhalten, wenn der Fällungs-pH $\geq 4,7$ gewählt wurde. Dies war im Hinblick auf die Erzielung einer hohen Proteinfällbarkeit nur mit den thermisch-sauren Fällungsverfahren möglich.

Die α -Galactoside permeierten durch die Membranen entsprechend ihres verhältnismäßig kleinen Moleküls relativ weitreichend, so daß im Retentat die Trockenmasse der α -Galactoside nur noch ein Viertel bis ein Drittel der im Ausgangsvolumen enthaltenen entsprach. Bezogen auf die Retentattrockenmasse betrug der α -Galactosidgehalt zwischen 5,0 und 5,4 %. Er war damit deutlich größer als der für die Fällungsprodukte ermittelte.

Im dritten Teil der Arbeit wurden unterschiedliche im TUB-Verfahren herstellbare Proteinprodukte im Hinblick auf ihre funktionellen Eigenschaften untersucht. Es wurden insgesamt 5 Produkte untersucht, wovon drei mittels saurer bzw. thermisch-saurer Fällung und eins mittels Membranfiltration hergestellt wurden. Bei dem fünften Produkt handelte es sich um die unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlösliche Proteinfraction.

Die Produkte wurden jeweils unter Bedingungen hergestellt, die sich in den ersten beiden Abschnitten der Arbeit im Hinblick auf die Gewinnung des Proteins als besonders geeignet erwiesen hatten. Entsprechend wurde die saure Fällung bei einem pH von 3,4 und die thermisch-saure Fällung bei einer Temperatur von 60 °C

und einem pH von 4,0 durchgeführt. Die Produkte werden nachfolgend als KPP-S (koaguliertes Proteinprodukt der sauren Fällung) und KPP-T₆₀ (koaguliertes Proteinprodukt der thermischen Fällung bei 60 °C) bezeichnet. Ein weiteres Fällungsprodukt wurde in Anlehnung an ein Alternativverfahren zur Gewinnung von Stärke und Nebenprodukten aus Markerbsen hergestellt, welches eine Fällung des Proteins bei einem pH von 4,35 und einer Temperatur von 80 °C (KPP-T₈₀) vorsieht. Das mittels Membranfiltration hergestellte Proteinprodukt (MPP) wurde unter Anwendung einer Membran mit einer Trenngrenze von 50 kD erhalten. Mit dem Ziel den Proteingehalt des Produkts auf ein den Fällungsprodukten vergleichbares Niveau einzustellen, wurde eine Volumenkonzentrierung von 10 gewählt. Die unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlösliche Proteinfraction (UPP) wurde im Technikums- bzw. Labormaßstab mit einem verkürzten Verfahren hergestellt, wobei die für die Fraktionierung des Proteins wesentlichen Parameter des TUB-Verfahrens berücksichtigt wurden. Mit dem Ziel, die Interpretierbarkeit der Versuchsergebnisse zu erleichtern, wurden die Produkte vergleichend zu zwei kommerziellen Proteinisolaten aus Soja und Palerbsen untersucht. Für das Schaumbildungsvermögen wurde neben dem kommerziell hergestellten Proteinisolat aus Palerbsen Eiklar als weiteres Referenzprodukt herangezogen, da dieses bekanntermaßen besonders stark ausgeprägte Schaumbildungseigenschaften besitzt.

Es wurde festgestellt, daß die Proteinprodukte aus Markerbsen in Abhängigkeit von dem Verfahren zu ihrer Herstellung sehr unterschiedliche Eigenschaften besaßen. Dies spiegelte sich bereits deutlich in deren unterschiedlicher Löslichkeit wider. So wurden für das unter den Prozeßbedingungen des TUB-Verfahrens unlösliche Proteinprodukt (UPP) und das mit Hilfe der Membranfiltration hergestellte Proteinprodukt (MPP) bei pH 7 Löslichkeiten von rund 57 bzw. 97 % ermittelt. Die Löslichkeit der mittels Fällung hergestellten Proteinprodukte variierte zwischen 7 und 49 %, und nahm mit steigender Fällungstemperatur ab. Auch die in Abhängigkeit vom pH aufgenommenen Löslichkeitskurven waren für die einzelnen Produkte sehr unterschiedlich. Aus dem Verlauf der Kurven konnte abgeleitet werden, daß im UPP und MPP die nativen Eigenschaften des Proteins weitestgehend erhalten geblieben waren und der Denaturierungsgrad bei der Fällung erwartungsgemäß mit der Fällungstemperatur zunahm.

Die hohe Löslichkeit des MPP wirkte sich insbesondere positiv auf dessen Emulgiereigenschaften aus. So war dessen Emulgieraktivitätsindex, der ein Maß für die von einem g Produkt belegbare Phasengrenzfläche ist, bei pH 7 mit 27 m²·g⁻¹ ca. doppelt so groß wie derjenige der anderen Produkte. Er war zudem auch deutlich größer als derjenige der kommerziellen Produkte. Darüber hinaus war das MPP das

einziges der Produkte, daß in der Lage war, die gebildeten Emulsionen auch im pH-Bereich zwischen 4 und 5, was in etwa dem isoelektrischen Punkt der Produkte entspricht, über mehrere Tage zu stabilisieren. Im Falle der gefällten Produkte wurden Emulgieraktivitätsindizes von 7 bis $14 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ festgestellt. Der höchste Wert wurde in diesem Zusammenhang für das bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$ gefällte und der niedrigste Wert für das bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ gefällte Produkt erhalten. Die Ergebnisse zeigen, daß eine partielle Denaturierung des Markerbsenproteins im Hinblick auf die funktionellen Eigenschaften durchaus förderlich sein kann.

Die Untersuchung der Schaumbildungseigenschaften ergab, daß die Proteinprodukte aus Markerbsen z.T. eine ähnlich hohe Schaumbildungskapazität hatten wie das kommerzielle Proteinisolat aus Palerbsen. Die Stabilität der aus den Markerbsenprodukten hergestellten Schäume war jedoch gegenüber den aus den Referenzprodukten hergestellten deutlich vermindert. Lediglich das mittels Membranfiltration hergestellte wies diesbezüglich in Abhängigkeit vom pH zu den Referenzproteinen vergleichbare Eigenschaften auf. Als möglicher Grund für die unzureichende Stabilität der Schäume kann der hohe Fettgehalt der Produkte angenommen werden. Zur Erzielung einer besseren Schaumbeständigkeit wird es daher ggf. erforderlich sein, die Produkte zu entfetten. Hierbei wäre allerdings zu prüfen, inwieweit ein solch aufwendiger zusätzlicher Verfahrensschritt aus ökonomischer Sicht vertretbar ist.

Die Wasserbindekapazität der Produkte aus Markerbsen lag z. T. um mehr als 50 % unterhalb der für die kommerziellen Produkte ermittelten Werte. Im Fall der gefällten Produkte sowie des UPP betrug sie zwischen $1,5$ und $2,7 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. Dabei bestand offensichtlich eine positive Korrelation zwischen der Wasserbindung und dem Denaturierungsgrad der Produkte. Aufgrund der sehr hohen Löslichkeit des MPP war für dieses Proteinprodukt mit der gewählten Methode keine Wasserbindung festzustellen.

Bezüglich der Fettbindekapazität wurden für das MPP und das UPP mit 132 bzw. 152 % ähnlich hohe Werte wie für die Referenzprodukte ermittelt. Die mittels Fällung hergestellten Produkte wiesen dagegen deutlich kleinere Fettbindekapazitäten von 70-88% auf.

6 Literaturverzeichnis

1. WHISTLER, R. L., BEMILLER, J. N., and PASCHALL, E. F.: Starch Chemistry and Technology, 2nd Edition. Academic Press, New York, (1984).
2. ZOBEL, M.: Die Anwendung der Stärke in der Lebensmittelindustrie. In: ULMANN, M., (Hrsg.). Handbuch der Stärke in Einzeldarstellungen. (Monographiereihe). Pary Verlag, Berlin und Hamburg, (1975).
- 3 HULLINGER, C. H., VAN PATTEN, E., and FRECK, J. A.: Food applications of high amylose starches. Food Technol. 27 (1973), 3., 22-23.
4. STUTE, R.: Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten von Erbsenstärken, Teil 2: Anwendungsmöglichkeiten. Starch/Stärke 42 (1990), 207-212.
5. REICHERT, R. D., and YOUNGS, C. G.: Nature of residual protein associated with starch fractions from air-classified field peas. Cereal Chem. 55 (1978), 469-480.
6. COLONNA, P., GALLANT, D., and MERCIER, C.: *Pisum sativum* and *Vicia faba* carbohydrates: Studies of fractions obtained after dry and wet protein extraction processes. J. Food Sci. 45 (1980), 1629-1639.
7. BILIADERIS, C. G., GRANT, D. R., and VOSE, J. R.: Molecular weight distribution of legume starches by gel chromatographie. Cereal Chem. 58 (1979), 475-480.
8. GABRIEL-BLANKE, E., WIEGE, B. und KEMPF, W.: Gewinnung von Erbsenstärke im Technikumsmaßstab. In: Bundesamt für Ernährung und Forstwirtschaft, (Hrsg.). Schriftenreihe des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A, Heft 380, Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup, (1990), 239-247.
9. MEUSER, F., PAHNE, N., and MÖLLER, M.: Extraction of high amylose starches from wrinkled peas. Starch/Stärke 47 (1995), 56-61.
10. MEUSER, F., PAHNE, N., and MÖLLER, M.: Yield of starch and by-products in the processing of different varieties of wrinkled peas on a pilot scale. Cereal Chem. 74 (1997), 364-370.
11. KRIKKEN, J.: Process and system for obtaining starch and proteins from the flour of legumes, in particular peas. U.S. Patent 5972119, (1999).

12. NIEMANN, C., LÄMMICHE S. und MEUSER, F.: Ballaststoff statt Stärke - Einsatzmöglichkeiten von Ballaststoffpräparaten aus Markerbsen, Lupinen und Weizenhalmen. *Lebensmitteltechnik* 31 (1999), 9., 16-19.
13. MEUSER, F. und NIEMANN, C.: Isolierung von Fasern aus Markerbsen und Charakterisierung ihrer strukturellen und physiko-chemischen Eigenschaften im Vergleich zu Fasern aus Palerbsen, Lupinen und Weizen im Hinblick auf ihre Verwendung als qualitätsverbessernde Lebensmittelzutaten. Abschlußbericht zum AIF-Forschungsprojekt 10500 N, (1998).
14. KRÖNER, G.: Vergleichende Untersuchung der Zusammensetzung und Eigenschaften von Pal- und Markerbsenprotein. Dissertation, TU-Berlin D83 FB 15/Nr. 074, (1996).
15. MUSCHIOLIK, G.: Proteinprodukte als funktionelle Lebensmittelkomponente. *Lebensmitteltechnik* 23 (1991), 630-636.
16. KINSELLA, J. E.: Functional properties of proteins in foods: A survey. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7 (1976), 219-280.
17. DEL VALLE, F. R.: Nutritional qualities of soy protein as affected by processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58 (1981), 419-429.
18. LETERME, P.: Amino acid composition of pea (*Pisum sativum*) proteins. *J. Sci. Fd Agric.* 53 (1990), 107-110.
19. KLEI, B. P., and RAIDL, M. A.: Use of field-pea flours as protein supplements in foods. *ACS Symposium Series Vol. 312* (1986), 19-31.
20. LASZTITY, R., EL MORSI, E. A., ABD-EL SAMEI, M. B., EL SAYED, A. H., and ISMAEIL, H. A.: Fractionation and characterization of *Pisum sativum* albumins. *Acta Aliment.* 15 (1986), 84-90.
21. LASZTITY, R., EL MORSI, E. A., ABD-EL SAMEI, M. B., EL SAYED, A. H., and ISMAEIL, H. A.: Fractionation and characterization of *Pisum sativum* globulins. *Acta Aliment.* 15 (1986), 165-174.
22. GWIAZDA, S., SCHWENKE, K. D., and RUTKOWSKI, A.: Isolation and partial characterization of proteins from pea. *Nahrung* 24 (1980), 939-950.

23. NIELSEN, S. S.: Digestibility of legume proteins. *Food Technol.* 45 (1991), 112-118.
24. LIENER, I. E.: Significance for humans of biologically active factors in soybeans and other food legumes. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56 (1979), 121-129.
25. BIRK, Y.: Protein protease inhibitors from legume seeds and their significance in nutrition, pest control and medicine. 1^{er} Conference Europeenne sur les Proteagineux, Angers, France, (1992), 391-392.
26. GATEL, F., and GROSJEAN, F.: Composition and nutritive value of peas for pigs: A review of european results. *Livest. Prod. Sci.* 26 (1990), 155-175.
27. BACON, J. R., LAMBERT, N., MATTHEWS, P., ARTHUR, A. E., et DUCHENE, C.: Influences on trypsin inhibitor activities in peas. 1^{er} Conference Europeenne sur les Proteagineux, Angers, France, (1992), 415-416.
28. CHAVAN, J. K., KADAM, S. S., and SALUNKHE, D. K.: Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum L.*) seeds. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 25 (1986), 107-158.
29. LETERME, P., et BECKERS, V.: Utilisation du pois protéagineux dans l'alimentation des porcs. *Reveu bibliographique. 1 Composition chimique et répercussions nutritionnelles. Rev. Agric.* 42 (1989), 469-480.
30. BERTRAND, D., SEVE, B., GALLANT, D. J., et TOME, R.: Absence d'effets antinutritionnels des lectines de pois sous forme native ou purifiée, chez le porcelet. Comparaison avec les lectines natives de soja. *Sci. Aliments* 8 (1988), 187-212.
31. CHERYAN, M.: Phytic acid interactions in food systems. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 13 (1980), 297-335.
32. CARNOVALE, E., LUGARO, E., and LOMBARDI-BOCCIA, G.: Phytic acid in faba bean and pea. Effect on protein availability. *Cereal Chem.* 65 (1988), 114-117.
33. KRIKONAN, A. D., and SINGH, M.: Inhibition of trypsin activity by phytate. *J. Agric. Food Chem.* 30 (1982), 799-800.

34. MANAN, F., HUSSAIN, T., ALLI, I., and IQBAL, P.: Effect of cooking on phytic acid content and nutritive value of pakistani peas and lentils. *Food Chem.* 23 (1987), 81-87.
35. MACHOLZ, R.: *Lebensmitteltoxikologie*. Springer-Verlag, Berlin (1989).
36. SALUNKHE, D. K., JADHAV, S. J., KADAM, S. S., and CHAVAN, J. K.: Chemical, biochemical and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 17 (1982), 277-305.
37. REDDY, N. R., PIERSON, M. D., SATHE, S. K., and SALUNKHE, D. K.: Dry bean tannins: A review of nutritional implications. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62 (1985), 541-549.
38. MYHARA, R. M., NILSSON, K., SKURA, B.J., BOWMER, E.J., and CRUICKSHANK, P.K.: Gas production from melibiose, raffinose and white bean extracts by bacteria of human fecal origin. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 21 (1988), 245-250.
39. SOUCI, S. W., FACHMANN, W. und KRAUT, H.: *Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen*. 4. Revidierte Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1989).
40. MORR, C. V., and HA, E. Y. W.: Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33 (1993), 431-476.
41. HALLING, P. J.: Protein-stabilized foams and emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 15 (1981), 155-203.
42. GAßMANN, B.: Lebensmittelbestandteile mit funktionellen Eigenschaften als Voraussetzung der Entwicklung neuer und gesundheitsfördernder Lebensmittel (1. Teil). *Ernährungsforschung* 23 (1978), 3-6.
43. SCHWENKE, K. D., PRAHL, L., RAUSCHAL, E., GWIAZDA, S., DABROWSKI, K., and RUTKOWSKI, A.: Functional properties of plant proteins. Part 2. Selected physicochemical properties of native and denatured protein isolates from faba beans, soybeans and sunflower seed. *Nahrung* 25 (1981), 59-69.
44. SAIO, K., KOBAYAKAWA, K., and KITO, M.: Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. *Cereal Chem.* 59 (1982), 408-412.

45. NASH, A. M., KWOLEK, W. F., and WOLF, W. J.: Denaturation of soybean proteins by isoelectric precipitation. *Cereal Chem.* 48 (1971), 361-368.
46. American Oil Chemists' Society: Official and Tentative Methods. Method Ba 11-65, Nitrogen solubility index (NSI), (1989).
47. American Oil Chemists' Society: Official and Tentative Methods. Method Ba 10-65, Protein dispersibility index (PDI), (1989).
48. KINSELLA, J. E.: Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56 (1979), 242-258.
49. CHEFTEL, J. C., CUQ, J. L. und LORIENT, D.: Lebensmittelproteine, Biochemie, funktionelle Eigenschaften, Ernährungsphysiologie, chemische Modifizierung. Behr's Verlag, Hamburg, (1992), 177-200.
50. HUTTON, C. W., and CAMPBELL, A. M.: Water and fat absorption. In: CHERRY, J. P., (Ed.). *Protein Functionality in Foods*. Am. Chem. Soc., Washington, D.C., USA, (1981).
51. WANG, C. R., and ZAYAS, J. F.: Water retention and solubility of soy proteins and corn germ proteins in a model system. *J. Food Sci.* 56 (1991), 455-458.
52. American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Method 88-04, Water hydration capacity, (1995).
53. DAMODARAN, S.: Protein-stabilized foams and emulsions. In: DAMODARAN, S., and PARAF, A., (Edts). *Food Proteins and their Applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, (1997), 57-110.
54. MUSCHIOLIK, G.: Proteine als mehrfunktionelle Zusatzstoffe in diätischen Lebensmitteln. *Ernährungsforschung* 36 (1991), 147-152.
55. BELITZ, H.-D. UND GROSCH, W.: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 4. überarbeitete Auflage. Springer-Verlag, Berlin, (1992).
56. YASUMATSU, K. K., SAWADA, K., MORITAKA, S., MISAKA, M., TODA, J., WADA, T., and JSHII, K.: Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem.* 36 (1972), 719-727.

57. PEARCE, K. N., and KINSELLA, J. E.: Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* 26 (1978), 716-723.
58. ACTON, J. C., and SAFFLE, R. L.: Stability of oil-in-water emulsions. I. Effect of surface tension, level of oil, viscosity and type of meat protein. *J. Food Sci.* 35 (1970), 852- 855.
59. ACTON, J. C., and SAFFLE, R. L.: Stability of oil-in-water emulsions. II. Effects of oil phase volume, stability test, viscosity, type of oil and protein additive. *J. Food Sci.* 36 (1971), 1118-1120.
60. GERMAN, J.B., and PHILLIPS, L.: Protein interactions in foams: protein-gas phase interactions. In: HETTIARACHCHY, N. S., and ZIEGLER, G. R., (Eds). *Protein Functionality in Food Systems*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, (1994), 181-208.
61. GAßMANN, B., KROLL, J., and CIFUENTES, S.: Determination of foaming properties of proteins. *Nahrung* 31 (1987), 321-330.
62. HSU, D. L., LEUNG, H. K., MORADD, M. M., FINNEY, P. L., and LEUNG, C. T.: Effect of germination on electrophoretic, functional, and bread-baking properties of yellow pea, lentil and faba bean protein isolates. *Cer. Chem.* 59 (1982), 344-350.
63. WANISKA, R. D., and KINSELLA, J. E.: Foaming properties of proteins: Evaluation of a column aeration apparatus using ovalbumin. *J. Fd. Sci.* 44 (1979), 1398-1411.
64. SATTERLEE, L. D., and BEMBERS, M.: Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) protein isolate. *J. Fd. Sci.* 40 (1975), 81-84.
65. LIN, M. J. Y., HUMBERT, E. S., and SOSULSKI, F.W.: Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Fd. Sci.* 39 (1974), 368-370.
66. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, (Hrsg.). *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 00.00-18, Bestimmung der Ballaststoffe in Lebensmitteln*, (1988).

67. PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S., and BUTLER, L. G.: A critical evaluation of the vanillin-reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 26 (1978), 1214-1218.
68. PETERSEN, H.: Grundlagen der Statistik und der statistischen Versuchsplanung. Ecomed Verlagsgesellschaft mbH, Landsberg/Lech, (1991).
69. SYSTAT® 6.01, SPSS, Inc., Chicago, USA, (1996).
70. CEPEDA, E., VILLARAN, M. C., and ARANGUIZ, N.: Functional properties of faba bean (*Vicia faba*) protein flour dried by spray drying and freeze drying. *Journal Food Eng.* 36 (1998), 303-310.
71. KALAPATHY, U., HETTIARACHCHY, N. S., and RHEE, K. C.: Effect of drying methods on molecular properties and functionalities of disulfide bond-cleaved soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74 (1997), 195-199.
72. KNORR, D., and BETSCHART, A. A.: Effect of Dehydration methods on the functionality of plant protein concentrates. *Starch/Stärke* 35 (1983), 23-28.
73. LIU, K.: Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization. Chapman & Hall, New York, USA, (1997).
74. Deutsches Institut für Normung: EN ISO 760, Bestimmung des Wassergehaltes - Karl-Fischer-Verfahren, (1983).
75. Deutsches Institut für Normung: EN ISO 1666, Bestimmung des Feuchtegehalts - Wärmeschrankverfahren, (1973).
76. Deutsches Institut für Normung: EN ISO 3188, Bestimmung des Stickstoffgehalts nach dem Kjeldahl-Verfahren, (1978).
77. Internationale Gesellschaft für Getreidechemie und -technologie (ICC): ICC-Standard Nr. 128, Verfahren zur Bestimmung der Stärke nach enzymatischem Aufschluß, (1980).
78. American Oil Chemists´Society: Official and Tentative Methods. Method Ac 3-44, Oil, (1989).

79. Deutsches Institut für Normung: EN ISO 3593, Bestimmung der Asche, (1981).
80. American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Method 71-10, Determination of trypsin inhibitor activity of soy products, (1983).
81. KAKADE, M. L., SIMONS , N., and LIENER, I. E.: An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 51 (1969), 518-526.
82. LATTA, M., and ESKIN, M.: A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J. Agric. Food Chem.* 28 (1980), 1313-1315.
83. HOLT, R.: Studies on dried peas. 1.- The determination of phytate phosphorous. *J. Sci. Food Agric.* 6 (1955), 136-142.
84. Boehringer Mannheim GmbH: Methoden der enzymatischen Bioanalytik und Lebensmittelanalytik - Raffinose. Firmenschrift Boehringer Mannheim GmbH, Biochemicals, Mannheim, (1995).
85. HSU, H. W., VAVAK, D. L., SATTERLEE, L. D., and MILLER, G. A.: A Multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.* 42 (1977), 1269-1273.
86. KROLL, J.: Methode zur Bestimmung des Stickstofflöslichkeitsprofils von Proteinpräparaten in Abhängigkeit vom pH-Wert. *Nahrung* 29 (1985), 1029-1030.
87. LEHNINGER, A. L.: Biochemie. 2. überarbeitete Auflage. Verlag Chemie, Weinheim, (1979).
88. LUSAS, E. W., and RHEE, K. C.: Soybean protein processing and utilization. In: ERICKSON, D. R., (Ed.). *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. AOCS Press, Champaign, USA, (1995), 117-160.
89. SUN, N., and BREENE, W. M.: Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *J. Food Sci.* 65 (1991), 1604-1607.

90. SMITH, A. K., and RACKIS, J. J.: Phytin elimination in soybean protein isolation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60 (1957), 633-637.
91. CHEN, B. H. Y., and MORR, C. V.: Solubility and foaming properties of phytate-reduced soy protein isolate. *J. Food Sci.* 50 (1985), 1139-1142.
92. MEISTER, E., and THOMPSON, N. R.: Physical-chemical methods for the recovery of protein from waste effluent of potato chip processing. *J. Agric. Food Chem.* 24 (1976), 919-923.
93. EL-GAZZAR, F. E., and MARTH, E. H.: Ultrafiltration and reverse osmosis in dairy technology: A review. *J. Food Prot.* 54 (1991), 801-809.
94. KESSLER, H. G. und BÄURLE, H. W.: Der Einsatz der Ultrafiltration in der Käseertechnologie. *Dtsch. Molk.-ztg.* 103 (1982), 494-499.
95. NAKATSUKA, S., and MICHAELS, A. S.: Transport and separation of proteins by ultrafiltration through sorptive and non-sorptive membranes. *J. Membrane Sci.* 69 (1992), 189-211.
96. CHERYAN, M.: Handbuch Ultrafiltration. Behr's Verlag, Hamburg, (1990).
97. HEYDE, M.: Membrantechnische Abtrennung von Proteinen aus Kartoffel-fruchtwasser. Dissertation. VDI Verlag GmbH, Düsseldorf, (1998).
98. MEUSER, F., KÖHLER, K., KNOBLOCH, G. und GRAHN, H.: Gewinnung von Kartoffelinhaltsstoffen mit Hilfe der Membranfiltration. Schriftenreihe aus dem Fachgebiet Getreidetechnologie der Technischen Universität Berlin, Heft 5, Berlin, (1982).
99. OBERMEYER, H. D., KULOZIK, U., and KESSLER, H. G.: Controlled deposit formation to influence the retention of solutes in reverse osmosis and ultrafiltration. *Desalinat.* 90 (1993), 161-172.
100. BLATT, W., DRAVID, A., MICHAELS, A., and NELSEN, L.: Solute polarisation and cake formation in membrane ultrafiltration: Causes, consequences and control techniques. In: FLINN, J. E., (Ed.). *Membrane Science and Technology*. Plenum Press, New York, USA, (1970), 47-97.

101. MATTHIASSEN, E., and SIVIK, B.: Concentration polarization and fouling. *Desalination*. 35 (1980), 59-103.
102. NAKAO, S., and KIMURA, S.: Effect of gel layer on rejection and fractionation of different molecular weight solutes by ultrafiltration. In: TURBAK, A. K., (Ed.). *Synthetic Membranes: Hyper- and Ultrafiltration Uses*. American Chem. Soc. Washington, D.C., USA (1981), 119-132.
103. GOLDSMITH, R. L., FILIPPI, R. P., HOSSAIN, S., and TIMMINS, R. S.: Industrial ultrafiltration. In: BIER, M., (Ed.). *Membrane Processes in Industry and Biomedicine*. Plenum Press, New York, USA, (1971), 267-288.
104. CASEY, R., and DOMONEY, C.: The protein composition of legume seeds- its variability and potential. 1^{er} Conference Europeenne sur les Proteagineux, Angers, France, (1992), 381-386.
105. BEAL, L., and MEHTA, T.: Zinc and phytate distribution in peas. Influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorus on pea phytate and phytase. *J. Food Sci.* 50 (1985), 96-100,115.
106. MEUSER, F., MÖLLER, M., PAHNE, N., FUHRMEISTER, H. und RUBACH, K.: Entwicklung eines Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Erbsen mit hohem Amylosegehalt und Aufarbeitung der anfallenden Nebenprodukte. Abschlußbericht zum BMFT- Forschungsvorhaben Nr. 0319496A, (1996).
107. RACKIS, J. J., MCGHEE, J. E., and BOOTH, A. N.: Biological threshold levels of soybean trypsin inhibitors by rat bioassay. *Cereal Chem.* 52 (1975), 85-92.
108. RACKIS, J. J., MCGHEE, J. E., and BOOTH, A. N.: Effects of soy proteins containing trypsin inhibitors in long term feeding studies in rats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56 (1979),162-168.
109. GRYNSPAN, F., and CHERYAN, M.: Phytate-calcium interaction with soy protein. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66 (1989),93-97.
110. DESHPANDE, S. S.: Food legumes in human nutrition. A personal perspective. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32 (1992), 333-363.

111. DOELL, B. H., EBDEN, C. J., and SMITH, C. A.: Trypsin inhibitor activity of conventional foods which are part of the british diet and some soya products. *Qual. Plant. Plant Foods Hum. Nutr.* 31 (1981), 139-150.
112. HONIG, D., RACKIS, J., and WOLF, W.: Effects of pH and salt on yields, inhibitor content, and mineral levels of soybean protein isolates and wheys. *J. Agric. Food Chem.* 35 (1987), 967-971.
113. GOODNIGHT, K., HARTMAN, G., and MARQUARDT, R.: Low-phytate iso-electric precipitated soybean protein isolate. U.S. Patent 4072670, (1978).
114. DE RHAM, O., and JOST, T.: Phytate-protein interactions in soybean extracts and manufacture of low-phytate soy protein products, *J. Food. Sci.* 44 (1979), 596-600.
115. NACZYK, M., RUBIN, L. J., and SHAHIDI, F.: Functional properties and phytate content of pea protein preparations. *J. Food Sci.* 51 (1986), 1245-1247.
116. FERRASSON, E., QUILLIEN, L., and GUEGUEN, J.: Proteinase inhibitors from pea seeds: Purification and characterization. *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 127-131.
117. ARENTOFT, A. M., FROKIAER, H., SORENSEN, H., and SORENSEN, S.: Trypsin and chymotrypsin inhibitors in pea. 1^{er} Conference Europeenne sur les Proteagineux, Angers, France, (1992).
118. SCHWENKE, K. D., PRAHL, L., RAAB, B., ROBOWSKY, K.-D., DABROWSKI, K., KOCON, J. und RUTKOWSKI, A.: Funktionelle Eigenschaften von Pflanzenproteinen. 3. Mitt. Einfluß denaturierender Verfahrensbedingungen auf die Eigenschaften von Proteinisolaten aus Ackerbohnen (*Vicia faba L.*). *Nahrung* 27 (1983), 79-93.
119. KNORR, D.: Effects of recovery methods on the functionality of protein concentrates from food processing wastes. *J. Food Process Eng.* 5 (1982), 215-230.
120. LANGE, E., and MIETH, G.: Vergleichende Untersuchungen zur Qualität nach traditionellen und neuartigen Verfahren gewonnener Rohöle und Proteinisolate. III. Über prozeßspezifische Einflüsse auf chemische, physikochemische und funktionelle Eigenschaften der Proteinisolate aus Sonnenblumensamen. *Nahrung* 36 (1992), 559-568.

121. SCHNEIDER, C., MUSCHIOLIK, G., SCHULTZ, M., and SCHMANDKE, H.: The influence of process conditions and acetylation on functional properties of protein isolates from broad beans (*Vicia faba L. minor*). *Nahrung* 30 (1986), 429-431.
122. WAGNER, J. R., and ANON, M. C.: Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates. *J. Food Sci.* 55 (1990), 765-770.
123. BOYE, J. I., MA, C.-Y., and HARWALKAR, V. R.: Thermal denaturation and coagulation of proteins. In: DAMODARAN, S., and PARAF, A., (Eds). *Food Proteins and their Applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, (1997), 25-56.
124. TIMMERMANN, Y. und BREUER, G.: Technofunktionelle Eigenschaften und Anwendungsbeispiele von Erbsenproteinen. KIN-Seminar: Technofunktionelle Eigenschaften von Eiweißstoffen und Hydrokolloiden in der Lebensmittelherstellung, 18.-19. März 1993.
125. HUSBAND, F. A., WILDE, P. J., CLARK, D. C., RAWEL, H. M., and MUSCHIOLIK, G.: Foaming properties of modified faba bean protein isolates. *Food Hydrocolloids* 5 (1994), 455-468.
126. MITA, T., NIKAI, K., HIRAOKA, T., MATSUO, S., and MATSUMOTO, H.: Physicochemical studies on wheat protein foams. *J. Colloid Interface Sci.* 59 (1977), 172- 178.

7 Anhang

Tab. A1: Regressionsgleichung zur Beschreibung des Einflusses der Quellparameter auf die Wasseraufnahme des Quellguts, den Übergang von Trockenmasse und Protein ins Quellwasser sowie die Proteinlöslichkeit

Parameter ¹⁾	NSI	Übergang TS	Übergang Protein	Wasseraufn.
Konstante	69,954	11,849	-1,997	186,284
Temp				2,303
Temp ²			0,002	
pH	4,761	-3,122		-40,002
pH ²				
Zeit	-4,483	0,518	1,781	
Zeit · Zeit				-0,522
Zeit · Temp				-0,169
Zeit · pH	0,793		-0,234	3,648
Temp · pH	-0,118	0,039		
	r^2 Prob>F	r^2 Prob>F	r^2 Prob>F	r^2 Prob>F
gesamte Glg.	0,96 <0,001	0,94 <0,001	0,93 <0,001	0,94 <0,001

Tab. A2: Regressionsgleichungen zur Beschreibung der Verminderung antinutritiver Substanzen in Markerbsen in Abhängigkeit von den Quellbedingungen

Parameter	Verminderung [%]		
	Phytin-säure	Trypsin-inhibitoren	Raffinose-Oligosacch.
Konstante	16,587	49,460	2,146
Temp		-3,784	
Temp ²	0,002	0,064	
pH ²	-0,647		
Zeit			-1,414
Zeit · Temp	0,023		0,114
Zeit · pH		0,366	
	r^2 Prob>F	r^2 Prob>F	r^2 Prob>F
gesamte Glg	0,82 <0,001	0,94 <0,001	0,92 <0,001

Tab. A3: Ergebnisübersicht der Quellversuche

Versuchs- Nr.	Quellzeit [h]	Temperatur [°C]	pH soll	pH ist	Verminderung Phytinsäureg. [%] ¹⁾	Verminderung TIU [%] ¹⁾	Verminderung alpha-Galact.[%] ¹⁾	Wasseraufn. [%] ²⁾	Übergang TS ²⁾	Übergang Prot. ²⁾	Proteinlöslichkeit [%]
1	3	25	4,5	4,4	6	3,1	11,3	87,6	3,1	1,3	76,2
2	3	55	4,5	4,6	15	31,9	9,2	152,1	8,3	5,7	58,1
3	3	40	5,2	5,1	3	4,2	15,2	92,6	4,1	1,5	71,3
4	3	25	5,9	5,9	1	5,6	5,25	58,4	1,9	2,8	80,1
5	3	55	5,9	5,8	4	38,9	19,8	110,7	8,0	6,5	60,5
6	7	40	4,5	4,4	19	19,2	20,6	141,8	9,7	7,1	60,5
7	7	25	5,2	5,2	2	5,6	10,7	112,5	3,6	2,9	77,4
8	7	40	5,2	5,4	11	13,3	24,1	135,8	8,3	6,7	67,5
9	7	55	5,2	5,2	22	53,9	44,3	138,1	10,9	9,2	59,2
10	7	40	5,9	5,8	1	19,4	15,8	129,0	5,2	3,0	71,4
11	11	25	4,5	4,7	12	9,7	16,8	135,5	8,1	7,1	68,2
12	11	55	4,5	4,5	19	56,7	65,4	142,3	12,4	11,9	53,4
13	11	40	5,2	5,2	15	13,3	33,5	146,0	10,1	9,6	69,9
14	11	25	5,9	5,8	3	16,9	24,1	120,8	4,2	2,2	81,8
15	11	55	5,9	5,8	18	61,9	55,8	139,2	11,3	9,5	59,3

¹⁾ Bezogen auf die im Rohstoff enthaltene Ausgangsmasse bzw. -aktivität.

²⁾ Bezogen auf die lufttrockene Masse des eingesetzten Quellguts

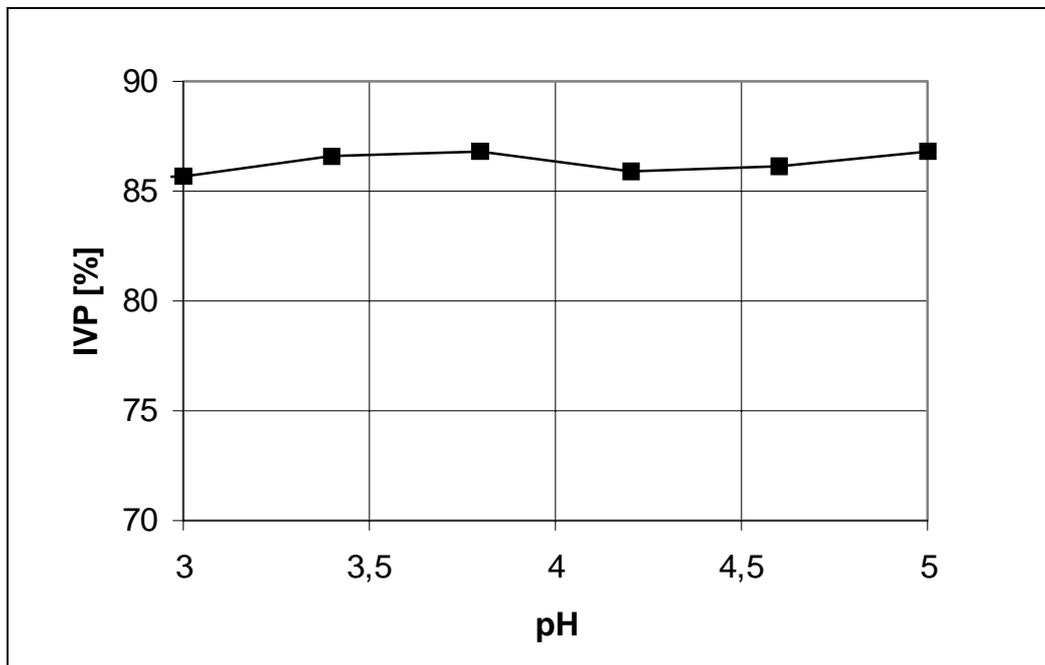


Abb. A1: Einfluß des pH der Koagulation auf die *in vitro* Proteinverdaulichkeit des Koagulats

Tab A4: Schaumbildungseigenschaften des UPP

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
				3,0	594
4,0	368	95	10,5	<0,1	40
5,0	359	40	17,0	n.b	n.b
6,0	351	60	14,0	n.b	n.b
7,0	429	52	15,5	55	>300
8,0	463	79	13,5	n.b	n.b

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A5: Schaumbildungseigenschaften des MPP

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
3,0	411	90	0,5	≈0,2	53
4,0	576	100	0,0	<0,1	5
5,0	559	100	4,0	<0,1	1
6,0	472	98	5,0	<0,1	10
7,0	377	82	11,3	1	42
8,0	359	76	11,8	2	100

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A6: Schaumbildungseigenschaften des KPP-S

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
3,0	437	29	20,0	78	>300
4,0	455	66	18,5	240	>300
5,0	446	63	13,0	38	>300
6,0	385	45	15,0	39	>300
7,0	351	51	14,5	60	>300
8,0	325	55	14,0	140	>300

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A7: Schaumbildungseigenschaften des KPP-T₆₀

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
3,0	472	30	17,5	25	n.b.
4,0	472	23	18,8	n.b.	n.b.
5,0	432	53	13,1	43	n.b.
6,0	403	59	11,8	26	240
7,0	385	68	11,5	23	170
8,0	385	68	11,0	100	n.b.

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A8: Schaumbildungseigenschaften des KPP-T₈₀

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
3,0	403	44	14,0	61	n.b.
4,0	429	29	15,0	60	n.b.
5,0	342	61	14,0	167	n.b.
6,0	212	84	14,5	>300	n.b.
7,0	212	84	15,0	>300	n.b.
8,0	212	84	14,5	>300	n.b.

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A9: Schaumbildungseigenschaften des EPI

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
				3,0	316
4,0	507	100	4,5	<0,1	1
5,0	559	100	3,0	<0,1	1
6,0	385	100	5,5	≈0,2	6
7,0	351	100	5,5	1	30
8,0	316	100	5,5	3	43

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Tab A10: Schaumbildungseigenschaften des Eiklars³⁾

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
				3,0	975
4,0	1010	68	8,0	<0,1	<0,1
5,0	776	99	3,0	<0,1	<0,1
6,0	620	100	1,8	<0,1	<0,1
7,0	472	100	5,5	<0,1	≈0,1
8,0	368	100	5,3	<0,1	≈0,2

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

³⁾ Aus Gründen der Vergleichbarkeit mit destilliertem Wasser auf einen TS von ca. 7% eingestellt

Tab A11: Schaumbildungseigenschaften des SPI

pH	SBK [%]	SS [%]	Drainage [ml]	Penetrations- geschwindigkeit [0.1 mm/s]	
				A ¹⁾	B ²⁾
3,0	160	100	11,8	>300	>300
4,0	169	95	11,5	40	>300
5,0	164	92	10,0	11	>300
6,0	151	100	9,0	90	>300
7,0	125	100	16,0	>300	>300
8,0	125	100	n.b	>300	>300

¹⁾ Masse des Penetrationskörpers: 25g

²⁾ Masse des Penetrationskörpers: 75g

Lebenslauf

Heiko Fuhrmeister

Bibliografische Daten	26.04.1967	Geboren als Sohn von Karlheinz und Irma Fuhrmeister in Wolfenbüttel
	10.08.1992	Eheschließung mit Marina Piccinini
	15.08.1995	Geburt des Sohnes Yannik
	21.05.1998	Geburt der Tochter Alina
Schulbildung:	1973-1977	Grundschule Cranachstraße, Wolfenbüttel
	1977-1979	Orientierungsstufe Cranachstraße, Wolfenbüttel
	1979-1983	Realschule Cranachstraße, Wolfenbüttel
	1983-1986	Gymnasium „Große Schule“, Wolfenbüttel
Wehrdienst:	07/86-10/87	Grundwehrdienst
Berufsausbildung:	10/87-08/93	Studium der Lebensmitteltechnologie an der Technischen Universität Berlin
Berufstätigkeit:	01/92-11/93	Studienbegleitende Tätigkeit im Bereich der Produktion der Teigwarenfirma Novetta Berlin KG
	12/93-11/98	Wissenschaftlicher Mitarbeiter mit Lehraufgaben im Fachgebiet Getreidetechnologie der TU-Berlin
	12/98-01/99	Wissenschaftlicher Mitarbeiter beim Verband der Deutschen Backmittel- und Backgrundstoffhersteller, Bonn im Rahmen eines Werkvertrages
	02/99-04/99	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Fachgebiet Getreidetechnologie der TU-Berlin, Durchführung von Auftragsforschung
	05/99-07/99	Fertigstellung des experimentellen Teils der Dissertation, Betreuung von Diplomanden
	seit 08/99	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Fachgebiet Getreidetechnologie der TU-Berlin im Rahmen eines durch die "Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen" finanzierten Forschungsprojektes