GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Projektträger Jülich
Forschungszentrum Jülich

Zentrum für
Ernährung &
Lebensmitteltechnologie gGmbH
ZELT

Wissen
Innovation
Wandel
Plant3

Schlussbericht

FKZ 03WIR2215A

Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2022 – 31.03.2025

„Verbesserung der Rentabilität des Lupinen-Anbaus und der Verarbeitungsverfahren in der Region nordöstliches Mecklenburg-Vorpommern“

TP 1: Lupinen-Selektion und Erforschung von Verfahren zur Aufreinigung des Proteins und zur Extraktion von Alkaloiden und Bitterstoffen aus Lupinenkernen

Projektpartner:

Bauernkäserei Wolters GmbH

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Jörg Reichert M.Sc.; Nino Beisler M.Sc.; Prof. Dr. rer. nat. habil. Leif-Alexander Garbe

Zentrum für Ernährung und Lebens-
mitteltechnologie (ZELT) gGmbH
Seestraße 7a
17033 Neubrandenburg

Kontakt:
info@zelt-nb.de
0395 5693 2800

Teil I

Kurzbericht

Das Erforschen neuer, innovativer Eiweißquellen hat einen sehr hohen Stellenwert in unserer heutigen Zeit. Eiweiße oder auch Proteine gehören zu den wichtigsten Nährstoffen für alle Lebewesen. Demnach sollte die Versorgung mit hochwertigen Eiweißen auch in Zukunft gewährleistet sein. Die Weiße Lupine ist mit fast 40 % Eiweiß je Trockenmasse ein Spitzenkandidat für eine proteinreiche Ernährung. Aufgrund neuer Sorten und Verbesserungen der Anbaubedingungen der Landwirte bekommt vor allem die Weiße Lupinemehr und mehr Aufmerksamkeit.

Über einen Unterauftrag mit der CERAVIS AG wurden verschiedene Sorten, Standorte, Witterungsverhältnisse und andere Anbaubedingungen erforscht. Ziel der Untersuchung war es, eine geeignete Lupinen-Sorte zu finden und den Einfluss der äußerlichen Begebenheiten auf den Rohstoff festzustellen.

Der Befall mit Anthraknose und die Eigenschaft, bei Tierfraß Bitterstoffe zu produzieren, standen der Lupine in der Vergangenheit im Zuge einer hochwertigen Verwertung im Wege. Das Hauptziel der Projektarbeit war es, die Wertschöpfung der Weißen Lupine zu steigern, die Proteine nachhaltig zu gewinnen und die negativen Reizstoffe von den Proteinen zu trennen. Allen voran den Bitterstoffen, den sogenannten Chinolizidin-Alkaloiden, wurde in dieser Forschung besondere Beachtung geschenkt. Diese Alkaloide sind nicht nur sensorisch negativ auffällig, sondern auch toxisch für uns Menschen. Laut Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist ein Grenzwert von 500 mg/kg für Futtermittel und 200 mg/kg für Lebensmittel bekannt. Da die Bitterstoffe ein natürlicher Schutzmechanismus der Pflanze sind, steigert ein höherer Wert die Erträge für die Landwirtschaft. Wenn es demzufolge möglich ist, dass die Alkaloide im Nachhinein extrahierbar sind, ist die Rentabilität für die Landwirte hoch und der Lebensmittelproduzent kann die Lupine dennoch für die Produktion verwenden. Ein höherer Ertrag bzw. weniger Aufwand verbessert auch das Angebot bzw. den Preis des Rohstoffes.

Zur Grundlage der Forschung dienten bereits verwendete Methoden zur Alkaloid-Reduzierung, wie zum Beispiel das Wässern bzw. Einweichen. Aufgrund der Wasserlöslichkeit der meisten Alkaloide lassen sie sich durchaus ausschwemmen. Allerdings ist dieses ein sehr zeitaufwändiger, kosten- und platzintensiver Prozess. So war ein Ziel des Projektes, über ein mehrstufiges Membranverfahren die Proteine zu gewinnen und gleichzeitig die Alkaloide nachhaltig zu entfernen. Aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit der verschiedenen Inhaltsstoffe wurde ein Extraktionsverfahren mit verschiedenen pH-Werten erstellt. Dadurch konnte die Extraktion der Proteine und auch der Alkaloide aus der Ausgangslösung gewährleistet werden und im Anschluss über eine Ultrafiltration sogar die Trennung dieser beiden Stoffe. Das Einweichen konnte über 3 Tage Weichzeit eine Reduzierung der Alkaloide von ca. 1400 mg/kg auf nicht mal 600 mg/kg erzielen, wobei die entwickelte Methode im Projekt die Bitterstoffe bis auf 140 mg/kg senken konnte und damit nun wieder die Verwendung in der Lebensmittelproduktion ermöglicht. Alle Analysedaten sind über validierte Untersuchungsmethoden bestätigt und permanent überwacht worden.

Nach der Erforschung der Machbarkeit bzw. der Effektivität der Behandlung wurden sowohl für die Analysen als auch für alle Verfahrensabschnitte Arbeitsanweisungen angefertigt, um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen. Aufgrund der Anweisungshilfen ist ebenfalls ein adäquates Aufskalieren möglich. Alle Untersuchungen sind im Labormaßstab bzw. kleintechnischen Maßstab erforscht, müssen für die industrielle Produktion jedoch noch angepasst werden.

Ein weiteres Ziel war es, das entstandene Isolat zu verwenden und das Isolat wie auch die Produkte (Demonstratoren) hinsichtlich ihrer Lagerfähigkeit, technologischen Eigenschaften und der sensorischen Qualität zu testen. Das getrocknete Pulver wies eine sehr gute Lagerfähigkeit auf und hatte keine sensorischen bzw. technologischen Einbußen durch die Behandlungsmethoden. In der ZELT gGmbH wurden lediglich das Isolat und ein Ciabatta mit Lupinenisolat-Anteil erprobt. Eine vegane Käsealternative wurde von der Bauernkäserei Wolters erstellt.

Teil II

1 Selektion potenziell geeigneter Lupine

1.1 Auswahl geeigneter Lupinen

Die Auswahl der geeigneten Sorten der Lupine erfolgte zunächst aus Literaturrecherchen und Erfahrungswerten von landwirtschaftlichen Betrieben. Für die Weiße Lupine (*Lupinus albus*) zum Beispiel empfiehlt der Deutsche Saatenverband (DSV) die CELINA oder FRIEDA und für die Blaue Lupine die BOREGINE und PROBOR. Aufgrund ihres sehr hohen Ernte- bzw. Rohproteinertrages gehören sie zu den am häufigsten verwendeten Lupinen. Des Weiteren standen die weißen Sorten Feodora und Sulimo zur Wahl. Die Auswahl der richtigen Lupine hängt von mehreren Faktoren ab und muss aus verschiedenen Blickwinkeln betrachtet werden. Auf der einen Seite steht die Sicht der Landwirte. Der Landwirt achtet in erster Linie auf einen hohen Ertrag und einen hohen Proteinwert. Um die Wertschöpfungskette bzw. die Anerkennung der Lupine zu erhöhen, muss sich der Anbau für die Landwirte rentieren. Demzufolge sind auch Faktoren wie Kornertrag, Reifezeit, Standfestigkeit und die Anfälligkeit gegenüber Pflanzenkrankheiten zu beachten. Eine der wesentlichsten Erkrankungen der Lupine ist die Anthraknose oder auch „Weißstängeligkeit“, die insbesondere bei weißen Süßlupinen auftritt. Was auch ein Grund ist, dass die weißen Sorten bislang noch nicht so häufig wie die blauen angebaut wurden. Das Wort „Süßlupine“ impliziert schon einen weiteren wichtigen Einfluss bei der Wahl der Sorte. Der Bitterstoffgehalt bezieht sich ausschließlich auf den Anteil an Chinolizidin-Alkaloiden in der Pflanze. Es wird zwischen Bitterlupine und Süßlupine unterschieden. Als Süßlupine wird nur die Lupine bezeichnet, die einen Grenzwert von 200 mg/kg Gesamtalkaloid-Gehalt nicht überschreitet. Dieser Wert wurde vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) empirisch ermittelt und wird als Eingrenzung für den Einsatz in der Lebensmittelproduktion genutzt. Der maximale Gehalt an Chinolizidin-Alkaloiden von 500 mg/kg wurde für die Verwendung als Futtermittel definiert. Außerdem empfiehlt das BfR, den Verzehr von Lupinen bei Schwangeren, Kindern und immungeschwächten Personen zu vermeiden.

Für das Ertragspotenzial wurden die Attribute Tausendkornmasse, Kornertrag, Rohproteinertrag und die Anfälligkeit gegenüber Krankheiten in Betracht gezogen. Die Tabelle 1 beschreibt die ersten drei Punkte genau. Sowohl CELINA als auch FRIEDA wiesen eine ähnliche Anfälligkeit gegen Anthraknose auf. Die Sorte SULIMO hingegen war weniger und Feodora mehr anfällig. Diese Ergebnisse beruhen auf Erfahrungswerten der CERAVIS AG und aus den gelaufenen Versuchen. Während der Ernte der einzelnen Feldversuche bestimmte die CERAVIS AG über eine Schnell-Methode die Feuchtigkeit und den Rohproteingehalt. Für die Versuche wurde lediglich Süßlupine angebaut, um vorab eine Weiterverarbeitung zu Lebensmitteln gewährleisten zu können. Laut Deklaration sollen alle Sorten unter 0,02 % bzw. 200 mg/kg Alkaloide enthalten. Zum Abschluss und für den wissenschaftlichen Vergleich untersuchte die ZELT gGmbH alle Proben noch einmal mittels professioneller chemischer Analysemethoden.

Tabelle 1: Recherche für Lupinensorten hinsichtlich Ertragspotenzial und Inhaltsstoffe

	CELINA	**FRIEDA**	**SULIMO**	**FEODORA**
Kornertrag	2,8 t/ha	2,4 t/ha	2,2 t/ha	1,68 t/ha
Rohproteinertrag	0,98 t/ha	0,84 t/ha	0,83 t/ha	0,59 t/ha
Rohproteingehalt	33 - 40 %	33 - 40 %	35 - 40 %	30 - 38 %
Bitterstoffgehalt	< 0,02 %	< 0,02 %	< 0,02 %	< 0,02 %

In den nächsten Abschnitten wird auf diese Untersuchungen genauer eingegangen. Außerdem sind alle Ertragsdaten für drei Jahre Feldversuche erfasst und im Anhang dargestellt.

1.2 Untersuchung Makrozusammensetzung und Bitterstoffanteile

Außer dem bereits erwähnten Proteingehalt zählen zu den Inhaltsstoffen auch der Fett- bzw. Kohlenhydratgehalt, die Eiweißwertigkeit sowie Vitamine, Mineralstoffe und das Aminosäureprofil. Um den Rohstoff und das weiterverarbeitete Produkt beurteilen zu können, sind diese Daten für den Lebensmittelproduzenten obligatorisch. Die Matrix der Inhaltsstoffe der angebauten Weißen Lupinen ist zumeist bekannt, da die Sorten schon seit längerem als Futtermittel vorkommen. Es reicht nicht aus, lediglich den Gehalt der einzelnen Inhaltsstoffe zu betrachten. Im Folgenden wird separat auf jeden Makro- bzw. Mikrorohstoff eingegangen und erklärt, warum die Zusammensetzung der Stoffe so wichtig ist.

Die Fette bzw. Lipide setzen sich aus Glycerin und drei Fettsäuren zu einem sogenannten Ester zusammen. Der Gesamtfettgehalt von Lupinen kann zwischen 3 und 10 % schwanken. Analyseergebnisse haben einen freien Fettgehalt für CELINA von 8,34 ±0,23 %, für FRIEDA von 8,42 ±0,17 % und für Sulimo von 9,13 ±0,25 % ergeben. Freie Fette sind lediglich die Lipide, die ohne weiteren Aufschluss erfasst werden. Demzufolge auch leichter für den Menschen zu metabolosieren. Im Vordergrund für den Fettnachweis sollten die Art und der Anteil an Fettsäuren stehen. Lupine enthalten ca. 30 % ungesättigte Ölsäuren, ca. 46 % ungesättigte Omega-6- und ca. 5 % Omega-3-Fettsäuren. Insbesondere ein gutes Verhältnis zwischen Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren ist essenziell. Ein Verhältnis von 3:1 (Omega-3: Omega-6) ist erstrebenswert, ist in der Praxis allerdings selten umsetzbar. Generell ist es vorteilhaft, vermehrt Omega-3-Fettsäuren zu sich zu nehmen.

Bis zu 40 g Kohlenhydrate können in 100 g unverarbeiteten Lupinensamen enthalten sein. Weizenmehl hingegen kann über 70 g Kohlenhydrate besitzen. Dadurch kann Lupinenmehl als sehr praktischer Austausch für Weizenmehl in der Backtechnologie verwendet werden. Es erhöht nicht nur den Eiweißanteil in den Backwaren, sondern kann in der ketogenen Ernährung Einsatz finden. Derartige Backwaren werden auch als Keto-Backwaren bezeichnet und sind Bestandteil von Low-Carb- bzw. Low-Carb-High-Fat-Diäten (LCHF). Für die qualitative Beurteilung von Kohlenhydraten helfen der sogenannte glykämische Index bzw. die glykämische Last. Der glykämische Index ist ein Maß für den Anstieg des Blutzuckerspiegels nach dem Verzehr eines bestimmten Lebensmittels mit Kohlenhydraten und wird auf einer Skala von 0 bis 100 angegeben. Hierbei steht Traubenzucker (reine Glukose) für den Wert 100 und Lupine für ca. 15. Bezieht man sich auf den Bedarf an Insulin für die besagte Lebensmittelportion, beschreibt man die glykämische Last (GL). Bei Werten bis 10 spricht man von einer niedrigen GL. Für Lupine liegt dieser Wert bei 6,1. Daraus folgt, dass die Kohlenhydrate der Lupine langsam verfügbar sind und der Blutzuckerspiegel auch langsamer ansteigt.

Der wohl entscheidendste Faktor der Forschungsarbeit ist der Proteingehalt der Lupine. Bei dem Vergleich der Proteinwerte aus der Schnell-Methode auf den Versuchsfeldern und den Analysen im Labor des ZELT´s kamen Abweichungen von fast 10 % heraus. Ähnlich wie Soja zählt die Lupine zu den eiweißreichsten Pflanzen und spielt daher eine große Rolle in der menschlichen Ernährung. Wie im Vorfeld schon erwähnt, ist nicht nur der hohe Gehalt von ca. 35 % hervorzuheben, sondern auch die gute biologische Wertigkeit. Sie gibt an, wie gut Eiweiß aus den jeweiligen Nahrungsmitteln vom Körper aufgenommen werden kann bzw. wie viel Eiweiß in körpereigenes Protein umgewandelt wird. Aufgrund der leicht zugänglichen und

essenziellen Aminosäuren hat die Lupine eine hohe biologische Wertigkeit, welche sich aber auch durch Kombination mit anderen Lebensmitteln noch erhöhen lässt. Aufgrund der hohen Abweichung der Proteinwerte wurden lediglich die Labormessdaten zur Beurteilung verwendet. Über die Kjeldahl'sche Stickstoffbestimmung kann der gesamte Anteil an Stickstoff ermittelt und somit der Proteinwert errechnet werden. Einige Vitamine enthalten allerdings ebenfalls Stickstoffverbindungen. Außerdem kann die Lupine durchaus auch freien Stickstoff enthalten. Über die Symbiose mit den Rhizobien wird der Stickstoff fixiert und reichert sich in der Pflanze an. Um dennoch den tatsächlichen Proteinwert zu ermitteln, existieren empirisch ermittelte Faktoren, die in die Berechnung mit einzubeziehen sind. Für Lebensmittel im Allgemeinen gibt es den Faktor 6,25 und für Soja 5,71. Da die Sojapflanze sowohl von den Inhaltsstoffen als auch vom Wachstumsverhalten der Lupine sehr stark ähnelt, ist der Faktor 5,71 zu verwenden. Im Jahr 2022 wurde ein Proteingehalt von 25,73 ± 1,21 %, im Jahr 2023 schon 27,94 ± 1,19 % und im Jahr 2024 sogar 31,27 ± 1,23 % nachgewiesen. Der Gehalt entspricht zwar noch nicht dem laut Literatur erreichbaren Wert, konnte allerdings von Jahr zu Jahr gesteigert werden. Grund dafür waren bessere Witterungsbedingungen und eine Verbesserung der Bodenqualität. Die Vorjahre konnten durch die Stickstofffixierung der Rhizobien-Bakterien zum einen den Boden mit dem für die Pflanze wichtigen Stickstoff anreichern und zum anderen durch tiefe Wurzeln aus der Vorfruchtfolge den Boden auflockern. Durch geminderten Stress bzw. erleichterte Wachstumsbedingungen kann die Pflanze mehr Proteine aufbauen und produziert weniger Alkaloide. Es bietet sich demzufolge an, Lupine mehrjährig anzubauen, allerdings kann auch eine Überversorgung mit Stickstoff erfolgen. Um dieser Problematik entgegenzuwirken, bauen einige Landwirte zusätzlich bestimmte Gräser an, die den Stickstoff ebenfalls benötigen, oder tauschen alle drei Jahre den Standort mit anderen Getreidearten.

Vitamine sind ebenfalls essenziell für den Menschen, da sie an sehr vielen Stoffwechselprozessen beteiligt sind. Sie unterstützen den Aufbau bzw. Schutz von Zellen, Knochen und Zähnen und stärken das Immunsystem. Die Lupine ist reich an den Vitaminen B, E und A. Vor allem die Vitamine B1, B5 und A sind sehr hitzeempfindlich und könnten bei den weiteren Verarbeitungsprozessen zerstört werden. Zu den wichtigen Mineralstoffen der Lupine gehören Eisen, Kalzium, Magnesium und Kalium. Die Mineralstoffe haben eine ähnliche Funktion im menschlichen Körper wie die Vitamine. Sie regeln zusätzlich das Elektrolytgleichgewicht, halten die Schilddrüsenfunktion aufrecht und helfen bei der Umwandlung der Nahrung zu Energie.

Im Allgemeinen nutzt man das Aminosäureprofil, um die biologische Wertigkeit beurteilen zu können. Es existieren 20 proteinogene Aminosäuren, wobei nur 8 essenzielle für den Menschen sind. Histidin ist lediglich für Säuglinge und Valin für Erwachsene essenziell. Enthält ein Lebensmittel demzufolge viele essenzielle und freie Aminosäuren, verbessert das die biologische Wertigkeit. Über ein Ionenaustauschverfahren sind die Aminosäuren voneinander zu trennen und im Nachgang über eine Nachsäulenderivatisierung sichtbar zu machen. Diese entstandenen Derivate sind fluoreszierend und können über ein Photometer bestimmt werden. Auch hier können wir die freien und, über verschiedene Hydrolysen, auch die gebundenen Aminosäuren analysieren. Hierbei ist zu beachten, dass die einzelnen Hydrolysen separat durchzuführen sind, da die Aminosäuren zerstört werden können und dadurch nicht erfassbar sind. Im ZELT ist eine Versuchsmethode für das gesamte Aminosäureprofil etabliert. Damit valide bzw. repräsentative Ergebnisse entstehen, wurden in Abbildung 1 die Analyseergebnisse mit Literaturwerten verglichen und dargestellt.

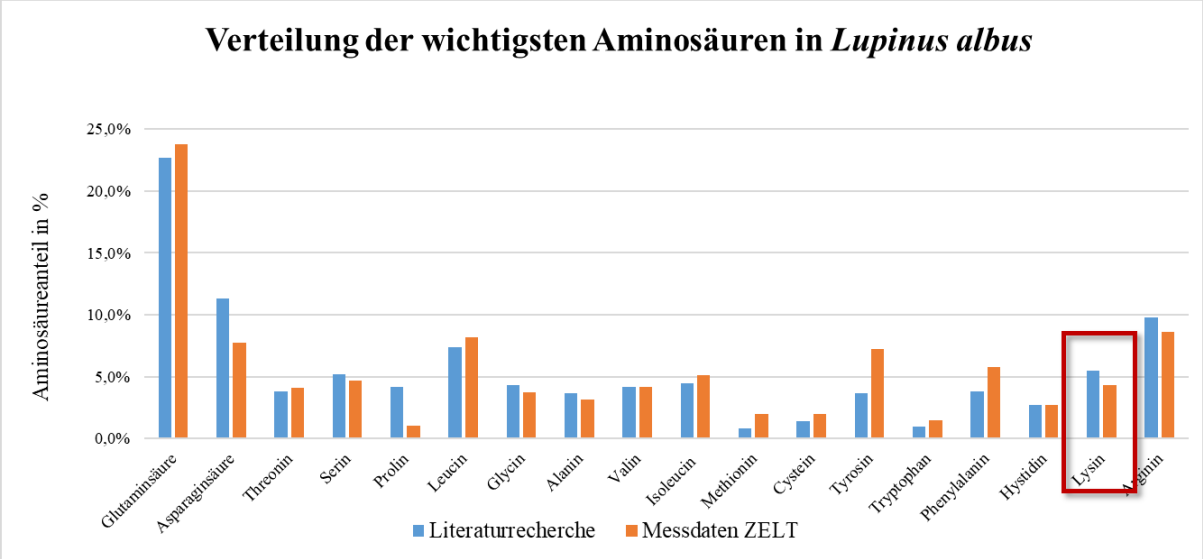

Abbildung 1: Vergleich des gemessenen Aminosäureprofils mit Literaturwerten (ZELT, 2024)

Je nach Sorte, Art bzw. Wachstumsbedingungen können die Gehalte an Aminosäuren schwanken, sodass die Messwerte nicht immer hundertprozentig reproduzierbar sind. Die Abbildung zeigt auf, dass sich die Werte stark annähern. Es ist ein hoher Wert an Glutaminsäure enthalten. Glutaminsäure gehört nicht zu den essenziellen Aminosäuren, allerdings enthält die Lupine ebenfalls viel Leucin, Isoleucin und Lysin, welche essenziell sind. Das Lysin wurde hier noch mal hervorgehoben, da es nicht nur essenziell ist, sondern auch ausschließlich an der Produktion der Chinolizidin-Alkaloide beteiligt ist. Aus L-Lysin wird über eine Decarboxylierung Cadaverin, woraus sich unter Umsetzung von Pyruvat zu Alanin die Alkaloide entwickeln können.

1.3 Anbauversuche zum Anbau der Weißen Lupine

1.3.1 Variation von Bodenbeschaffenheit und Witterungsbedingungen

Während der Pedogenese bzw. Bodenbildung entstehen verschiedene Profile, mit denen die vier Hauptbodenarten unterschieden werden. Je nach den Haupt-Korngrößenklassen nach DIN 4022 lassen sich die Böden den Arten zuordnen. Zu den gehören Sand mit 0,063 mm bis 2 mm, Schluff mit 0,002 mm bis 0,063 mm und Ton mit Partikeln unter 0,002 mm. Vermischt man alle drei, zu gleichen Teilen, ist die Bezeichnung „Lehm“ zu verwenden. Die Art der Böden gibt Auskunft über viele Eigenschaften, wie zum Beispiel die Nährstoffspeicherung bzw. -nachlieferung, die Wasserkapazität bzw. -nachlieferung und die Filtereigenschaften. Zu den Faktoren der Bodenbeschaffenheit zählen außerdem der Feuchtegehalt, die Menge an organischen Substanzen, der pH-Wert und wichtige Nährstoffe. Man unterscheidet hierbei zwischen Makro- und Mikronährstoffen. Zu den Makronährstoffen zählen Stickstoff, Phosphor, Kalium, Schwefel, Kalzium und Magnesium, die sich mit diversen Düngemitteln anreichern lassen (P_2O_5, K_2O und MgO).

Schwefel, Kupfer, Eisen, Mangan, Zink und Bor gehören u. a. zu den Mikronährstoffen und sind neben den Nährelementen Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff überlebenswichtig für die Pflanzen. Die Nährstoffzusammensetzung hat einen entscheidenden Einfluss auf den chemisch-physikalischen Zustand der Böden und der pH-Wert auf die Nährstoffverfügbarkeit. Je nach pH-Wert liegen die Nährstoffe mehr oder weniger in gelöster Form vor und sind dadurch besser verfügbar. Der optimale pH-Wert für die meisten Pflanzen liegt zwischen 5,2 und 7. Auf der Grundlage eines Vorversuches und der Erfahrungswerte der CERAVIS AG wurde ein Standort mit den besten Eigenschaften ausgewählt. Während des Vorversuchs in 19386 Lübz, 17153 Ivenack und in 19395 Barkow bei Plau am See ist festgestellt worden, dass Barkow und Lübz lehmig-sandige Böden besitzen. Barkow erzielte nicht nur gute Erträge und Ergebnisse aus den Protein- bzw. Alkaloidmessungen, sondern bietet sich auch logistisch für die weiteren Versuche an. Im Anschluss sind die Anbauversuche über drei Jahre in Barkow durchgeführt worden. Die Daten der Wetterstation wurden für alle drei Jahre lückenlos vom Aussaattermin bis hin zur Ernte aufgenommen und verglichen. Die Feldversuche sind in Parzellen mit unterschiedlichen Saatgut- bzw. Pflanzengutbehandlungen veranschlagt. Die genaue Parzellenplanung ist dem Anhang zu entnehmen. Eine Wetterstation ist direkt an den Parzellen installiert und erfasst zweimal täglich die Daten. Zu den Daten gehören zum Beispiel die Bodentemperatur, die Luftfeuchtigkeit, die Lufttemperatur, die Niederschlagsmenge, der

Luftdruck, die Tautemperatur, die Sonnenstrahlung, die Windrichtung und die Wolkendecke. Die komplette Datenerfassung ist im Anhang dargestellt. Alle Messungen sind seit dem Tag der Saatguteinbringung bis hin zum Tag der Ernte zu erfassen. In Abbildung wurden die Niederschlagsmenge (NS) und die Luftfeuchtigkeit (LF) über die drei Jahre dargestellt. Im Jahr 2023 konnte die Saat aufgrund schlechter Bedingungen erst im April ausgebracht werden. Ein Grund dafür war eine zu hohe Menge an Bodenwasser im März. Das Bodenwasser ist das gesamte im Boden aufkommende Wasser und wurde von der Wetterstation vor der Saat ermittelt. Im Jahr 2022 waren es 50 l/m^2, 2023 90 l/m^2 und 2024 70 l/m^2. Die Menge des verfügbaren Wassers im Boden ist zwar ein wichtiger Faktor für das Wachstum der Feldfrüchte, kann sich aber auch negativ auswirken. Bei zu viel Bodenwasser könnten sich eventuell Schimmelpilze zu stark vermehren, wodurch eine Keimung bzw. ein Wachstum unmöglich wird.

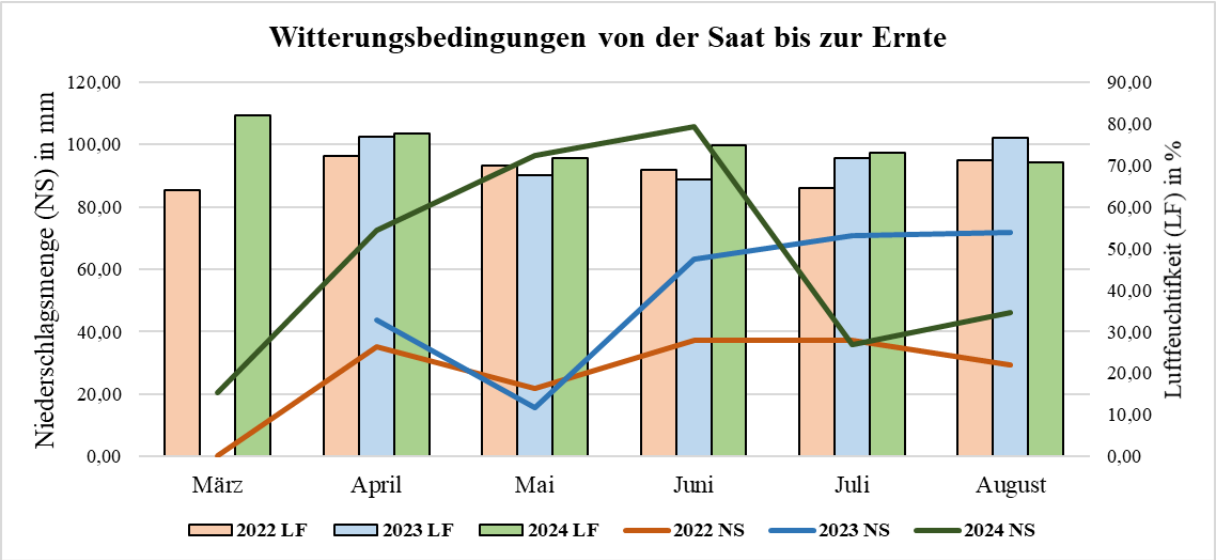

Abbildung 2: Daten der Wetterstation über drei Jahre in Barkow (CERAVIS AG, 2024)

Die Luftfeuchtigkeit ist als Säulendiagramm und die Niederschläge als Linien visualisiert. Die durchschnittliche Niederschlagsmenge in Deutschland liegt zwischen 450 und 1500 mm im Jahr. In der Versuchsregion ist ein Niederschlag von ca. 800 mm, was aber sehr variiert und nicht planbar ist. Demzufolge kann man aus der Abbildung 2 entnehmen, dass es in Barkow verhältnismäßig wenig Niederschlag gab. Grundsätzlich ist festzustellen, dass die Weiße Lupine mit sehr wenig Niederschlag auskommt. In unserem Fall kam die Lupine auch mit 200 bis 300 mm aus. Für die wissenschaftliche Betrachtung der Witterungsbedingungen ist es entscheidend, die einzelnen Wachstumsphasen der Pflanze separat zu betrachten.

Vom Aussaattermin über die Entstehung der Blüten bzw. Schoten bis hin zur Ernte bedarf es unterschiedlicher Temperaturen bzw. Feuchtigkeit.

Tabelle 2: Ergebnisse der Wetterstation aus den Feldversuchen 2022, 2023 und 2024 (CERAVIS AG, 2024)

	Jahr 2022	**Jahr 2023**	**Jahr 2024**	**Bemerkungen**
Ertrag in dt/ha	22,15 ± 1,63	30,73 ± 1,86	26,25 ± 1,82	ermittelt je Parzelle
Niederschlag in mm	161,01	265,5	377,25	unter dem Durchschnitt
ø Luftfeuchtigkeit in %	68,37 ± 3,42	71,92 ± 4,86	74,97 ± 4,22	Luftfeuchtigkeit in der Keim- und Blütephase wichtig
ø Lufttemperatur in °C	14,10 ± 6,26	15,24 ± 4,75	15,03 ± 4,84	optimal zwischen 15 und 25 °C
ø Bodentemperatur in °C	13,56 ± 6,07	14,46 ± 4,63	14,26 ± 4,69	bei der Aussaat mind. 6 °C optimal
Proteinertrag in %	25,73 ± 1,21	27,94 ± 1,19	31,27 ± 1,23	abhängig von Bodenwasser, Temperatur und Stickstoffwert

Ein kleiner Auszug aus dem gesamten Datensatz der Wetterstation ist der Tabelle 2 zu entnehmen. Es ist dargestellt, welche Faktoren zu betrachten sind, um den Gesamt- bzw. Proteinertrag zu optimieren. Wie im Vorfeld schon erwähnt, betrachtet man während der Aussaat die Menge an Bodenwasser, aber auch die Bodentemperatur. Im Jahr 2022 erfolgte das Aussäen im März bei einer Bodentemperatur von 4,89 °C, wodurch sehr geringe Erträge erzielt wurden. Daraufhin erfolgte 2023 die Aussaat erst im April. Bei einer Temperatur von 7,69 °C wurde ein deutlich höherer Ertrag erzielt. Da im März 2024 bereits eine Bodentemperatur von 7,02 °C herrschte, startete der Versuch auch schon im März. Der Ertrag war etwas geringer als im Vorjahr. Außerdem ist es nicht nur entscheidend, wie gut eine Pflanze wächst, sondern auch, wie viele Früchte sie trägt. Demzufolge ist die Witterung während der Blütephase und der Ausbildung der Schoten zu betrachten. Der Proteinertrag steigerte sich von Jahr zu Jahr auf 31,27 °C ± 1,23 im Jahr 2024. Dadurch, dass die Stickstofffixierung der Pflanze und der Rhizobien jedes Jahr erfolgte, wurden die Bedingungen für den Proteinaufbau der Pflanze stark begünstigt. Jedes Jahr wurden die Parzellen neu angeordnet, sodass die Lupinen immer mit Rhizobien geimpft werden mussten. Die Nachfrucht ist für weitere Versuche interessant, eventuell gab es bessere Bedingungen. Die Lupine selbst war demzufolge nicht Teil einer Fruchtfolge.

1.3.2 **Variation der Bodenbearbeitung**

Bei der Bodenbearbeitung beschäftigt man sich mit allen mechanischen Maßnahmen, die dazu dienen, den Bodenzustand für das Wachstum der Pflanzen zu verbessern. Darunter sind Arbeitsschritte wie Lockern, Wenden und auch ein Durchmischen der Böden zu verstehen. Es werden mehrere Ziele bei den Bearbeitungen verfolgt, wie zum Beispiel die Schaffung eines optimalen Bodengefüges, die Nährstoffbereitstellung, die Unkrautkontrolle, die Vorbereitung für die Aussaat und die Erhaltung der Bodenstruktur bzw. des -lebens. Es werden außerdem mehrere Arten und Verfahren zur Bodenbearbeitung unterschieden. Die Verfahren sind das Pflügen, Grubbern, Eggen, die Mulchsaat und die Streifenbearbeitung. Beim Pflügen wird der Boden sehr tief (20–30 cm) gewendet, während des Grubberns hingegen wird lediglich die oberste Bodenschicht gelockert. Werden die Erdschollen aufgelockert bzw. zerkleinert, spricht man von Eggen, was insbesondere zur Unkrautbekämpfung einzusetzen ist. Bei der sogenannten Streifenbearbeitung oder auch Strip-Till werden nur schmale Streifen des Bodens bearbeitet. Das reduziert die Bodenerosion, also das Abtragen einiger Bodenpartikel durch Wasser bzw. Wind. Zu guter Letzt werden bei der Mulchsaat die Samen zusammen mit dem Mulch bzw. Ernteresten aus einer Vorfruchtfolge in den Boden gebracht, ohne ihn weiter zu wenden. Die Feldversuche starteten alle im Herbst und wurden mit einem Pflug bis zu 25 cm tief vorbereitet. Nach der Ernte erfolgt die Stoppelbearbeitung. Das dient dazu, den Boden für den nächsten Anbau vorzubereiten. Hierbei werden Stroh- und Stoppelreste zerkleinert und in den Boden eingebaut. Dadurch kann erneut Einfluss auf die Bodenstruktur genommen werden. Die Stoppelbearbeitung sollte nicht tiefer als 5 cm erfolgen, um Ausfallsamen nicht zu vergraben, sondern zu entfernen. Eine derartige Nachbehandlung ist wichtig, um den Wuchs der nächsten Generation der Saat zu vermeiden. Diese Methode der Bodenvorbereitung und Nachbehandlung beruht ebenfalls auf Vorversuchen bzw. den Erfahrungen der CERAVIS AG und wurde standardisiert für eine bessere Vergleichbarkeit.

1.3.3 **Variation von Unkrautregulation und Aussaatbedingungen**

Aus den vorangegangenen Kapiteln ging bereits hervor, dass ein wichtiger Faktor für die Aussaatbedingung die Saatzeit bzw. die Bodentemperatur ist. Für die Weiße Lupine nutzt man Saatstärken von 45 bis 60 keimfähigen Körnern/m^2 bei Reihenabständen von 12 bis 25 cm. Bei höherer Aussaatstärke erhält man keine Mehrerträge und das Lagerrisiko wird erhöht. Aufgrund des Verzweigens der Pflanze während des Wachstums bilden sich auch bei größeren Abständen sehr dichte Bestände. Um möglichst viel Ertrag zu erzielen, ist eine Saattiefe von drei bis vier cm zu verwenden. Je nach Art des Bodens bzw. der auszubringenden Pflanze wird das Saatbett vorbereitet. Hierfür wird der Boden zunächst mit einer Fräse bearbeitet und anschließend eingekreiselt. Beim Einfräsen wird die Bodenoberfläche erst aufgelockert, verfeinert und Unkraut sowie Steine werden entfernt. Durch eine Kreisegge wird das Saatbett erneut bearbeitet, um ein noch feineres und gleichmäßigeres Substrat zu erzeugen. Ein weiterer Prozess zur Unkrautbekämpfung war das Striegeln, welches ein und zwei Monate nach der Aussaat erfolgte. Dabei wird der Striegel, ein Gerät mit Zinken, über das Feld gezogen, wodurch das Unkraut entwurzelt oder verschüttet wird. Zu der mechanischen Unkrautregulierung verwendet man in der Landwirtschaft außerdem Herbizide. Grundsätzlich unterscheidet man selektive und Totalherbizide. Vom Namen ableitbar sind selektive Herbizide gezielt einsetzbar, sodass die Kulturpflanzen nicht angegriffen werden. Demzufolge wurden auch nur selektive Herbizide für die Feldversuche verwendet. Im Jahr 2022 wurde Bandur eingesetzt und in den Folgejahren eine Mischung aus Boxer und Spektrum+. Der Zeitpunkt für die Aufbringung der Herbizide ist abhängig vom Unkrautdeckungsgrad und erfolgt meistens einen Tag bis eine Woche nach der Aussaat. Im Lupinenanbau ist die Unkrautregulierung essenziell, da die Unkräuter mit den Lupinen in Konkurrenz um Wasser, Licht und Nährstoffe stehen. 2024 war der Ertrag geringer als im Vorjahr bei gleichem Unkrautdeckungsgrad. Deshalb ist der schwächere Ertrag auf die Witterungsbedingungen zurückzuführen.

1.3.4 Variation der Ernte- und Lagerungsbedingungen

Nach dem Durchsetzen der optimalen Bedingungen zur Steigerung des Ertrages bzw. Proteinertrages sind die Erträge auch mit bestmöglichen Ernte- bzw. Lagerbedingungen zu schützen. Die Weiße Sommerlupine wird im Normalfall im August bis September geerntet. In unseren Feldversuchen erfolgte die Ernte immer Ende August. Der Zeitpunkt hängt ebenfalls von den Witterungsbedingungen ab. Da man eine zu hohe Kornfeuchte vermeiden möchte, sollte es kurz vor und während der Ernte trocken sein. Bei Kornfeuchten über 16 % ist die Lupine sehr anfällig für den Verderb und die Entwicklung schädlicher Mykotoxine. Unmittelbar nach der Ernte ist die Lupine zu trocknen, um bestmöglich eine Restfeuchte von unter 12 % zu erreichen. Um unnötige Maillard-Reaktionen zu vermeiden, wird schonend bei maximal 35 °C getrocknet. Eine Maillard-Reaktion entsteht bei höheren Temperatureinflüssen und ist eine chemische Reaktion aus Kohlenhydraten und Aminosäuren. Dabei entstehen Reaktionsprodukte, die zum Teil schädlich für den Menschen sind. Alle entscheidenden Parameter sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Erntebedingungen und gemessene Kornfeuchten im August für die Feldversuche (CERAVIS AG)

	Luftfeuchtigkeit in %	**Lufttemperatur in °C**	**Bodentemperatur in °C**	**Sonnenstrahlung in W/m^2*s**	**Kornfeuchte in %**
Jahr 2022	71,34	20,52	19,61	198,01	**11,18**
Jahr 2023	76,68	18,31	17,33	188,88	**13,72**
Jahr 2024	70,66	19,89	18,49	205,38	**12,01**

Die Kornfeuchte aus der Tabelle 3 sind die gemessenen Daten direkt nach dem Trocknungsprozess, der standardisiert immer gleich lang und bei gleichbleibender Temperatur durchgeführt wurde. Es wird sehr deutlich, wie stark die Witterung die Kornfeuchtigkeit beeinflusst. Vor allem 2022 wurde eine sehr trockene Ernte erzielt. Allerdings ist auch zu erwähnen, dass in diesem Jahr im Juni und Juli durchschnittlich eine Temperatur von 18,60 °C und 265 $\frac{W}{m^2 * s}$ Sonnenstrahlung gemessen wurde. Dadurch erreichte man eine ideale Kornfeuchte von 11,18 %. Je nach Art der Kulturpflanzen ist das Erntegerät zu wählen. Die Feldversuche wurden in Parzellen angeordnet und mussten separat geerntet werden, um etwaige Probenvermischungen zu vermeiden. Eine typische Landmaschine für Parzellen ist der Wintersteiger Delta Gen.2, der auch für die Versuche genutzt wurde (siehe Abbildung).

Abbildung 3: Wintersteiger Delta Gen.2 (www.wintersteiger.com/upload/files, 2025)

Nach dem Einbringen der Lupine muss eine adäquate Lagerung geschaffen sein. Das Saatgut ist trocken und dunkel zu lagern und vorteilsmäßig in luftdichten Behältern, da die CO_2-Bildung die Keimung beeinflussen kann. Verarbeitet man die Lupine zu Lebensmitteln weiter, muss die Lagerung kühl bei 10 bis 15 °C erfolgen. Wichtig hierbei ist es, die Lupine regelmäßig auf Schimmel zu überprüfen und gegebenenfalls auszusortieren. Außerdem ist darauf zu achten, dass die Restfeuchtigkeit nicht über 14 % steigt. Es wurde im Zentrum für Ernährung und Lebensmitteltechnologie gGmbH ein Lagertest über ein Jahr durchgeführt.
Die Lagerung erfolgte im Trockenlager bei maximal 15 °C in zunächst verschlossenen Papierbeuteln auf Paletten. Dadurch kam kaum UV-Licht an den Rohstoff und die Keimfähigkeit war reduziert. Nach der Probenentnahme wurden die Beutel stets mit einer Sacknähmaschine verschlossen.

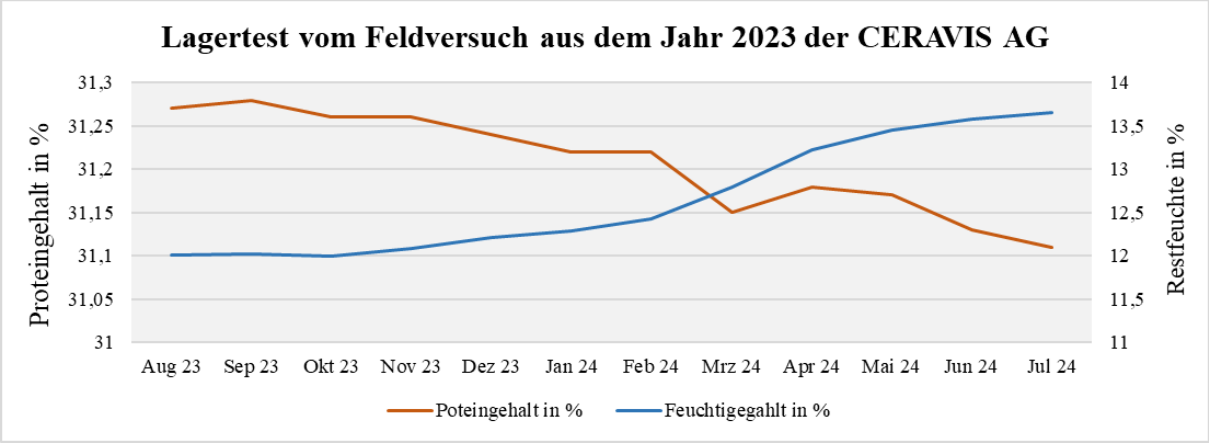

Abbildung 4: einjähriger Lagertest und Erfassung der Veränderung von Feuchtigkeit und Proteingehalt (ZELT, 2024)

Aus der Abbildung 4 geht hervor, dass die Lupine während der Lagerung an Feuchtigkeit zunimmt. Das ist typisch für die Lagerung von Getreide bzw. Leguminosen. Ein Einfluss könnte auch die Probennahme sein, da die Lupinen in regelmäßigen Abständen geöffnet werden

mussten. Außerdem fand die Lagerung im Trockenlager ohne separate Regelung der Luftfeuchtigkeit statt. Des Weiteren ist zu erkennen, dass Proteine sich während der Lagerung verändern bzw. abbauen können. Die Messungen der Proteine beziehen sich stets auf die Trockenmasse der Lupine. Dadurch nimmt die Steigerung der Restfeuchte aus der Lagerung keinen Einfluss auf die Messergebnisse.

1.4 Untersuchung der Wirtschaftlichkeit

In den vorangegangenen Kapiteln ist bereits erwähnt, warum der Anbau der Weißen Lupine rentabel sein muss. Grundsätzlich gibt es mehrere Einflussfaktoren, die zu berücksichtigen sind. Einige Faktoren kann man beeinflussen und andere nur bedingt. Zunächst ist die Sortenwahl äußerst wichtig. Hierfür ist eine Lupine zu wählen, die zum einen ein hohes Ertragspotenzial, einen hohen vorhersehbaren Proteingehalt und eine geringe Krankheitsanfälligkeit aufweist. Die Bodenqualität und auch die Witterungsbedingungen während der Aussaat sollten optimal sein, weshalb der Termin zum Aussähen variieren kann. Während des Wachstums der Lupine spielt die Witterung eine entscheidende Rolle. Falls wenig Niederschlag fällt, kann mit Bewässerung gegengesteuert bzw. bei zu viel mit Drainagen abgeleitet werden. Allerdings sind derartige Maßnahmen kein Garant für eine Über- bzw. Unterversorgung mit Wasser. Mit Düngemitteln oder Pflanzenstärkungsmitteln lässt sich ebenfalls positiv auf den Ertrag Einfluss nehmen. Aus den Auswertungen aller Untersuchungen ergibt sich, dass die CELINA sich sehr gut für den Anbau in trockenen Regionen anbietet. Nicht nur der Gesamtertrag, sondern auch der Rohproteinertrag ist sehr hoch bei CELINA. Auch die Anthraknose konnte kaum bis gar nicht nachgewiesen werden. Es ist äußerst wichtig, dass der Boden regelmäßig untersucht wird, damit gewährleistet werden kann, dass die Pflanzen mit ausreichend Nährstoffen versorgt werden.

2 Extraktion von Alkaloid-Bitterstoffen

2.1 Etablierung und Durchführung einer funktionalen, verfahrensbegleitenden Alkaloid-Analytik

2.1.1 Etablierung einer funktionalen Alkaloid-Analytik und Probenvorbereitung

Eine valide Alkaloid-Analytik ist nur dann möglich, wenn vorab klar ist, welche Alkaloide zu untersuchen sind und welcher Messbereich erwartet wird. Die Alkaloide der Lupine werden als Chinolizidin-Alkaloide bezeichnet und je nach Sorte und Art der Lupine von 0,1 bis 5 % enthalten. Bei der Süßlupine sollte der Wert 200 mg/kg nicht übersteigen und bei bitteren Lupinensorten erwartet man 1000 bis 3000 mg/kg. Außerdem unterscheiden sich auch die Alkaloide je nach Art. Im Lebensmittelbereich sind die Blaue und die Weiße Lupine die gängigsten Arten, die Verwendung finden. Eine Liste der in den Lupinen enthaltenen Alkaloide ist in Abbildung dargestellt.

Tabelle 4: Liste aller Chinolizidin-Alkaloide in Weißer und Blauer Lupine prozentual bezogen auf den Gesamtgehalt an Alkaloiden je Pflanze (Reichert, 2022)

Weiße Lupine *Lupinus albus*		**Blaue Lupine *Lupinus angustifolius***	
Lupanin	55 - 75 %	Lupanin	65 - 75 %
Albin	6 - 15 %	Angustifolin	10 - 15 %
Multiflorin	3 - 14 %	13-Hydroxylupanin	10 - 15 %
13-Hydroxylupanin	4- 12 %		
13-Angeloyloxylupanin	1 - 3 %		
Ammodendrin		Isoangustifolin	
Angustifolin		Isolupanin	
5,6-Dehydrolupanin		17-Oxolupanin	
Isoangustifolin		Spartein	
17-Oxolupanin		Tetrahydrorhombifolin	
11,12-Seco-12,13-didehydromultiflorin			
Spartein			
Tetrahydrocytisin			
Tetrahydrorhombifolin			
5,6 Dehydromultiflorin			
Ester des 13-Hydroxylupanins			
Ester des 13-Hydroxymultiflorins			
Lupanin-N-oxid			
α-Isolupanin			
13α -Hydrxy-5-dehydromultflorin			

Die Weiße Lupine enthält eine deutlich höhere Anzahl verschiedener Alkaloide als die Blaue. Unterscheiden sich aber vom Gesamtgehalt kaum. Alle hellgrau hinterlegten Nebenalkaloide wurden ohne Prozentangabe angegeben, da hier die Summe all dieser Alkaloide unter ein Prozent liegt. Zu den Hauptalkaloiden sind demzufolge die Prozentangaben angegeben. Der wichtigste Vertreter ist hierbei das Lupanin.

Für die Analyse von Alkaloiden bietet sich die Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) nicht an, da sie nur für Analyten geeignet ist, die bei höheren Temperaturen verdampfen, aber nicht zerfallen. Um einen Zerfall der Substanzen zu vermeiden, wurde für die Untersuchungen die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) verwendet. Hierbei wird eine flüssige mobile Phase über eine stationäre Phase unter Druck geführt. Durch das Ausbleiben der Verdampfung sind die Analyten geschützt und können mit der stationären Phase Wechselwirkungen eingehen. Dadurch werden die Alkaloide separiert und können über einen UV-Detektor erfasst und quantifiziert werden. Eine noch sensitivere und präzisere Methode wäre die Flüssigchromatographie mit anschließender Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Bei der LC-MS/MS hat man, in Abhängigkeit des verwendeten Detektors, eine deutlich kleinere Nachweisgrenze als bei der HPLC. Es wurde sowohl für die Probenvorbereitung als auch für die instrumentelle Analytik an der HPLC jeweils eine SOP erstellt.

Bei der Probenvorbereitung bzw. für die Reagenzien wird Reinstwasser benötigt, mit einer Leitfähigkeit ≤ 0,1 µS/cm, welches vor der Verwendung fünf Minuten lang im Ultraschallbad zu entgasen ist. Für die Untersuchung von Chinolizidin-Alkaloiden sind zwei mobile Phasen herzustellen. Die mobile Phase A besteht aus Reinstwasser, welches mit Orthophosphorsäure auf einen pH-Wert von 2,3 gebracht wurde, und die Phase B aus Acetonitril, welches ebenfalls fünf Minuten zu entgasen ist. Anschließend werden 95 % der mobilen Phase A und 5 % mobile Phase B miteinander vermischt. Außerdem werden eine 0,5-molare Salzsäure und eine 3-molare Natronlauge angefertigt. Es werden repräsentative 0,5 g, auf 0,01 g genau, der vermahlenen Probe (≤ 500 µm) zur Trockne verdampft, in einen 50-ml-Falcontube eingewogen und mit 20 ml 0,5 M HCl versetzt. Danach wird sie kräftig geschüttelt und mit einem Vortex-Mixer homogenisiert. Dann wird dies über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dadurch gehen die Alkaloide in Form ihrer Hydrochloride in die wässrige Phase über. Nach ca. 17 bis 19 Stunden wird die Probe erneut aufgeschüttelt und mit 1200 rpm bei 15 °C für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird mittels Faltenfilter filtriert und 10 ml davon werden mit 3 ml der Natronlauge gemischt. Falls sich diese Lösung nicht gelb färbt, enthält die Probe keine Alkaloide und es muss nicht weiter untersucht werden. Hierbei werden die Alkaloidchloride deprotoniert und liegen als lipophile freie Basen vor. Diese freien Basen sind

mit einem lipophilen organischen Lösungsmittel (Dichlormethan) über eine Solid-Phase-Extraction (SPE) zu extrahieren. Bei der SPE handelt es sich um eine Festphasenextraktion und sie besteht aus der Konditionierung, der Adsorption, einem Waschvorgang und der Elution. Für die Phasentrennung sind 3 ml Probelösung auf die Säulen aufzutragen und 8 Minuten zu warten. Danach wird 15 ml Dichlormethan aufgetragen, bei zehnminütiger Wartezeit. In Abbildung 5 ist der Aufbau der SPE-Anlage mit den Säulen dargestellt. Das so entstandene Alkaloid-Extrakt ist mit einem Rotationsverdampfer in einem Wasserbad bei 50 °C bis zur Trockenheit einzudampfen. In den Rundkolben des Rotationsverdampfers werden nun 1,5 ml Methanol gegeben und geschwenkt. Anschließend ist die komplette Flüssigkeit in eine Laborspritze zu füllen und über einen 0,45-µl-Spritzenfilter zu filtrieren. Für die HPLC verwendet man speziell angefertigte Vials. In diesen Vials sind 500 µl der Lösung und 500 µl der mobilen Phase zu vermengen. Diese Vials werden in den Auto-Sampler der HPLC gestellt und über die Software wird die Analyse-Sequenz gestartet.

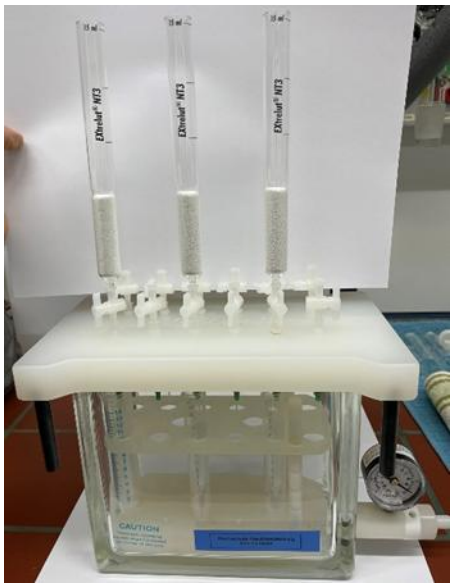

Abbildung 5: Aufbau einer SPE-Anlage (ZELT, 2022)

Wie im Vorfeld bereits erwähnt, besteht die HPLC aus dem Auto-Sampler, der Trennsäule, einem UV-Detektor und einem Analog-Digital-Wandler, um die Daten zu erfassen bzw. auszuwerten. Über den Auto-Sampler werden die Proben oder Standards in das System injiziert. Die Flüssigkeiten laufen über die Säule, um eine chromatographische Auftrennung der Analyten zu erreichen, welche dann über den Detektor erkennbar sind.

2.1.2 Durchführung verfahrensbegleitender Alkaloid-Analytik

Chinolizidin-Alkaloide können neurologische, kardiovaskuläre, gastrointestinale und respiratorische Symptome hervorrufen. Aufgrund des bitteren Geschmackes sind sie für die Weiterverarbeitung zu Lebensmitteln hinderlich und sollten möglichst ergiebig reduziert werden. In der Vergangenheit erreichte man dieses durch langwieriges und energieintensives Einweichen der Lupinensamen. Außerdem wurde eine thermische Behandlung der Lupine getestet. Dieser Theorie liegt die Wasserlöslichkeit der meisten Alkaloide zugrunde. Der Hauptbestandteil der Alkaloide ist Lupanin, deshalb wurde die Veränderung des Lupanin-Anteils im Labor untersucht. Um die Ergiebigkeit der Einweichzeit (EWZ) und der Hitzebehandlung zu vergleichen, wurden die Lupinensamen gründlich gewaschen und für 12 Stunden und 24 Stunden in Leitungswasser bei 8 °C gelagert. Hierbei galt es, das Wasser dreimal während der Laufzeit des Versuches zu wechseln. Außerdem eruierten wir den Einfluss einer 30-minütigen und 60-minütigen Kochzeit und die Kombination von Kochen und Einweichen. Als Referenz diente Lupinenmehl aus der gleichen Lupinen-Charge.

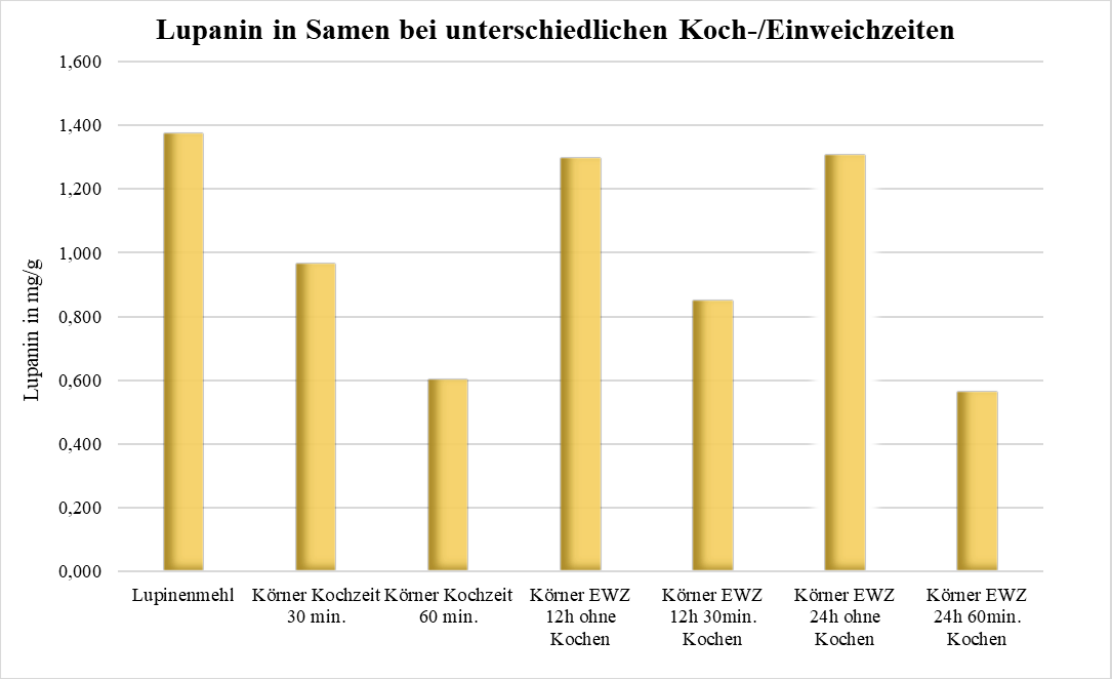

Abbildung 6: Lupanin-Gehalt in Samen der Weißen Lupine bei unterschiedlichen Einweich- und Kochzeiten (ZELT, 2024)

Die Abbildung zeigt die Untersuchungsergebnisse der Entbitterung vor der Verarbeitung der Lupine. Als Startzeit für die Kochdauer wurde der Moment des ersten Aufwallens gewählt. Sowohl 30 Minuten als auch 60 Minuten konnten die Alkaloide deutlich reduzieren. Betrachtet man die Daten der Einweichversuche, ist deutlich erkennbar, dass nach 24 Stunden nur eine sehr geringe Reduzierung möglich war. Zwar konnten wir die Alkaloide durch 60 Minuten Kochen und 24 Stunden Weichen um die Hälfte senken, allerdings konnte nicht einmal der Grenzwert für Futtermittel von unter 500 mg/kg erreicht werden.

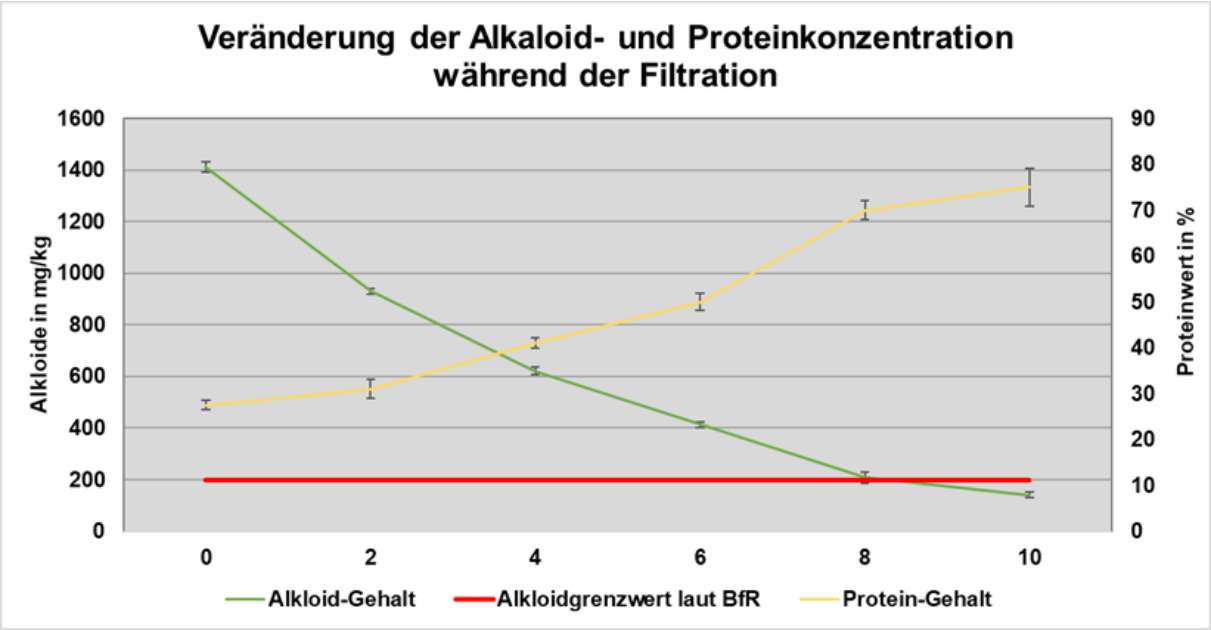

Abbildung 7: Alkaloid-Reduzierung und Konzentrieren der Proteine mittels mehrstufigen Membranverfahrens (ZELT, 2023)

Um dennoch eine ausreichende Minderung der Alkaloide zu erzielen, konnten wir ein mehrstufiges Membranverfahren etablieren. Die Präsentation der Ergebnisse ist der Abbildung zu entnehmen. Auch wurden wieder bittere Lupinen für die Experimente gewählt, um die Ergiebigkeit des Verfahrens zu bestätigen. Dieses Verfahren diente dem Konzentrieren der Proteine mit gleichzeitiger Alkaloid-Reduzierung. Es war uns möglich, ein einwandfreies Proteinkonzentrat herzustellen und die Bitterstoffe von 1431 ± 135 mg/kg auf 142 ± 23 mg/kg zu senken. Demzufolge ist es umsetzbar, eine selbstbittere Lupine der Lebensmittelproduktion bereitzustellen, da sich alle Daten auf die Trockensubstanz beziehen. Für die Weiterverarbeitung wird der Rohstoff verdünnt, sodass sich der Gesamtwert der Alkaloide im fertigen Lebensmittel noch weiter reduziert. Jede einzelne Messung war eine Doppelbestimmung und die Versuche wurden mehrfach wiederholt, sodass wir eine statistisch gute Aussage erzielten. Die angegebenen Messwerte sind Mittelwerte mit den dazugehörigen

Standardabweichungen. Aufgrund der kleinen Abweichung bzw. Spannweite sind die Ergebnisse valide.

2.3 Verfahren-FuE zur vollständigen Extraktion von Alkaloiden aus Lupinen

Im vorangegangenen Kapitel sind die Ergebnisse zur Extraktion der Alkaloide und auch der Proteine dargestellt. Die Vorversuche zur Abtrennung von Alkaloiden ergaben, dass wir eine Reduzierung erzielen konnten. Das erfolgreichste Verfahren ist eine Kombination aus einem Extraktionsvorgang und einer Ultrafiltration (Abbildung). In einem Vorratsbehälter, bei kontinuierlicher Durchmischung, ist zunächst mit 1 M Essigsäure (CH_3COOH), ein pH-Wert von 5,5 einzustellen. Danach ist das Lupinenmehl-Wasser-Gemisch auf 55 °C zu temperieren und mit 1 M Natronlauge (NaOH) ist ein pH-Wert von 8 zu erreichen. Hierbei werden sowohl die Alkaloide extrahiert als auch aufgrund des Erreichens des isoelektrischen Punktes die Proteine.

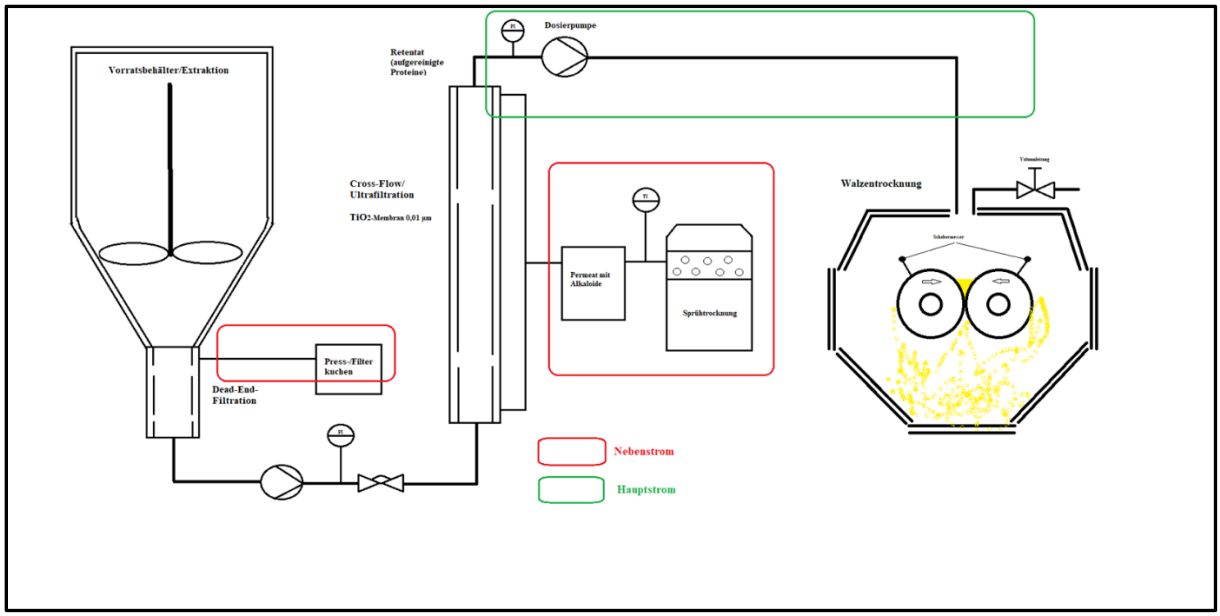

Abbildung 8: Verfahrensfließbild zur Extraktion und Filtration von Weißer Lupine (Reichert, 2024)

Der nächste Schritt ist ein Vorfiltern zur Entfernung des Lupinenmehles, um späteres Zusetzen der Membran zu vermeiden. Der entstandene Filterrückstand bildet den ersten Nebenstrom des Verfahrens. In der Abbildung sind die Nebenströme rot und der Hauptstrom grün dargestellt. Über eine Membranpumpe wird der Überstand mit den gelösten Proteinen und Alkaloiden über eine Membran mit 0,01 µm Porengröße geführt. Alkaloide sind Abbauprodukte der Aminosäure L-Lysin und sind demzufolge zumeist kleiner als die Proteine bzw. Aminosäuren. Dadurch war es möglich, über einen zweiten Nebenstrom die Alkaloide in das Permeat zu überführen und

gleichzeitig die Proteine zu reinigen bzw. zu konzentrieren. Das gereinigte Proteinextrakt kann so in den Hauptstrom über eine Walzen- bzw. Sprühtrocknung getrocknet werden. Für die Herstellung des Extrakts bzw. Isolats wurde eine SOP angefertigt, um dieses Verfahren zu standardisieren und die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Da wir eine deutliche Reduzierung von ca. 90 % der Alkaloide erzielt haben, konnten wir von der Entwicklung eines fermentativen Verfahrens absehen.

3 Verfahrenstechnik Proteinaufreinigung

3.1 Anforderungsdefinition

3.1.1 Ermittlung von Analytik-Kriterien

Es existiert eine Vielzahl an Methoden zur Feststellung von Proteinkonzentrationen, die sich auf die Bestimmung der Proteine im Allgemeinen bezieht. Die Art und strukturelle Zusammensetzung sind dabei nicht berücksichtigt. Je nach Probenmatrix bzw. Analyseziel ist eine adäquate Methode zu wählen. Bei festem Material ist es zunächst wichtig, alle Proben fein zu vermahlen, um die Extraktionsausbeute zu erhöhen. Im Anschluss bietet sich die Kjeldahl´sche Stickstoffbestimmung an. Hierbei wird der gesamte Anteil an Stickstoff in der Probe ermittelt. Da auch Stickstoffverbindungen außerhalb der Proteine vorliegen, gibt es empirisch ermittelte Faktoren zur Berechnung der tatsächlichen Proteinwerte. Für Lebensmittel im Allgemeinen ist der Wert 6,25 zu verwenden. Weiße Lupinen sind anatomisch und morphologisch ähnlich wie die Sojapflanze, weshalb wir den Wert 5,71 für Soja verwenden. Bei flüssigem Analyserohstoff ist diese Untersuchung ungeeignet, da diese Analyse sich immer auf die Trockensubstanz bezieht. Liquide Proben können mittels Reagenzien, wie zum Beispiel Bradford-Reagenz, photometrisch bestimmt werden. Wichtig hierbei ist, dass keine Nachweismethoden zu wählen sind, sondern quantitative Bestimmungen.

Über einen Aminosäureanalysator wurde das Aminosäureprofil bestimmt. Es ist entscheidend, dass die Gesamtheit aller Aminosäuren erfasst wird und nicht nur die freien. Dazu werden die vermahlenen Proben einer basischen, sauren und oxidativen Hydrolyse unterzogen. Dadurch sind auch die gebundenen Aminosäuren ermittelbar. Die Trockensubstanz ist durch einen Feuchtebestimmer der Marke Sartorius ermittelt und ist essenziell zur Berechnung der Analyseergebnisse. Sowohl die Löslichkeit, Emulgierbarkeit, Wasser- und Fettbindefähigkeit wurden untersucht und kein signifikanter Unterschied nach den einzelnen Verarbeitungsschritten festgestellt.

Der Fettgehalt hat einen entscheidenden technologischen Einfluss auf die Weiterverarbeitung der Lupine. Die Bestimmung des Gesamtfettgehaltes erfolgte über eine Soxhlet-Extraktion und ergab nach zehn Wiederholungen einen Wert von 8,91 ± 0,38 %, was sich mit den Literaturergebnissen deckt.

Als Richtwert für die Kohlenhydrate dient der Nachweis von Reduktionsmitteln (Aldehyden und reduzierenden Zuckern) über die sogenannte Fehling-Probe. Auch konnten die Literaturwerte von unter 9 % bestätigt werden.

3.1.2 Proteinkonzentrate

Als Proteinkonzentrate bzw. -isolate sind die gereinigten und konzentrierten Proteine bezeichnet, die in getrockneter Form der Verarbeitung dienen. Entscheidend bei der Herstellung derartiger Konzentrate ist der Verwendungszweck. Wie im Vorfeld angemerkt, ist die Minimierung der Alkaloide obligatorisch. Als Reinigung der Proteine kann demzufolge das Abtrennen der Bitterstoffe von den Proteinen angesehen werden. Des Weiteren enthalten Lupinen Phasin. Phasin ist eine Gruppe von Lektinen (Proteinen), die die roten Blutkörperchen im Körper binden und den Sauerstofftransport beeinträchtigen. Dieses Proteinkomplex ist sehr hitzeempfindlich, kann durch einfaches Pasteurisieren denaturieren und wird dadurch leichter verdaulich. Außerdem sind Proteinkonzentrate bzw. -isolate hochkonzentriert (70-80 % bezogen auf die Trockenmasse). Die Produktion erfolgte demnach in einem technologisch und hygienisch geschützten Verfahren. Es ist nicht nur wichtig, die gesundheitsfördernden Nährstoffe zu schützen, sondern auch zu gewährleisten, dass die technologischen Eigenschaften des Lupinenmehles erhalten bleiben. Hierfür wurden die Löslichkeit, die Schaumbildungs- bzw. die Gelbindungsfähigkeit und die Emulgierbarkeit für den Vergleich genutzt.

3.1.3 Verfahren zur Auftrennung

Ein detaillierter Aufbau des Trennverfahrens ist in Abbildung 8 dargestellt. Die Trennung besteht aus der Extraktion und der Ultrafiltration. Im Vorfeld ist bereits die Extraktion genau beschrieben. Für die Ultrafiltration wurde eine TiO_2-Membran verwendet und das Material zunächst im Kreislauf für zehn Stunden gefiltert. Die Membran steht während des Prozesses unter 8 bar technischem und ca. 1 bar atmosphärischem Druck. Dadurch ist ein wichtiger Kontrollpunkt der Filtrierung der Temperaturanstieg. Durch Reibungskräfte und den herrschenden Druck steigt die Temperatur an. Dieser darf nicht über 60 °C steigen, um die Membran zu schützen und mögliche Wechselwirkungen zu vermeiden.

3.2 Prozessbegleitende Analytik und Sensorik

3.2.1 Entwicklung des Analytik-Setups für alle Qualitätsparameter

Die Analyse der Makro- bzw. Mikronährstoffe der Proteinkonzentrate soll ebenfalls valide und reproduzierbare Ergebnisse erzielen. Dafür wurden die gleichen Methoden mit denselben Standardanweisungen durchgeführt. Eine standardisierte Probenvor- und -aufbereitung ist ebenso wesentlich wie die Methodenvalidierung, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Demzufolge sind die SOP´s (Standard Operating Procedures) für alle Prozessschritte und Analysenmethoden erstellt und überwacht.

3.2.2 Adaption der Analytik an Proteinkonzentrate des FuE-Projekts

Aufgrund des hohen Probenaufkommens ist das gesamte Analyse-Setup erprobt und die statistische Aussagekraft ist bestätigt. Für eine optimale Beurteilung der Rohstoffe und auch der erzeugten Produkte bzw. Nebenströme wurden viele Faktoren in der Versuchsplanung berücksichtigt. So zum Beispiel wollten wir lokalisieren, ob die Alkaloide ausschließlich im Samen der Lupine nachweisbar sind und ob die Schale der Samen einen Einfluss auf den Extraktions- bzw. Filtrationsprozess hat. Die Untersuchungen der Alkaloide ergaben, dass die Schale wie auch die Samen gleich viele Alkaloide enthalten. Demzufolge war die Überlegung, dass die Abtrennung der Schale eventuell nicht notwendig ist. Es wäre ein technologischer Mehraufwand, den man sich sparen könnte, um somit die Produktionskosten zu senken. Es wurden zwei Ansätze für die Ultrafiltration hergestellt. Jeweils mit fünf Teilen Wasser und einem Teil Lupinenmehl. Bei dem ersten Ansatz wurde die Schale mitvermahlen und bei dem zweiten mittels Schrotung und Windsichter von den Samen getrennt. Anschließend wurden beide Mischungen drei Stunden filtriert und die Entwicklung der Proteingehalte überwacht. In Abbildung sind diese Ergebnisse dargestellt.

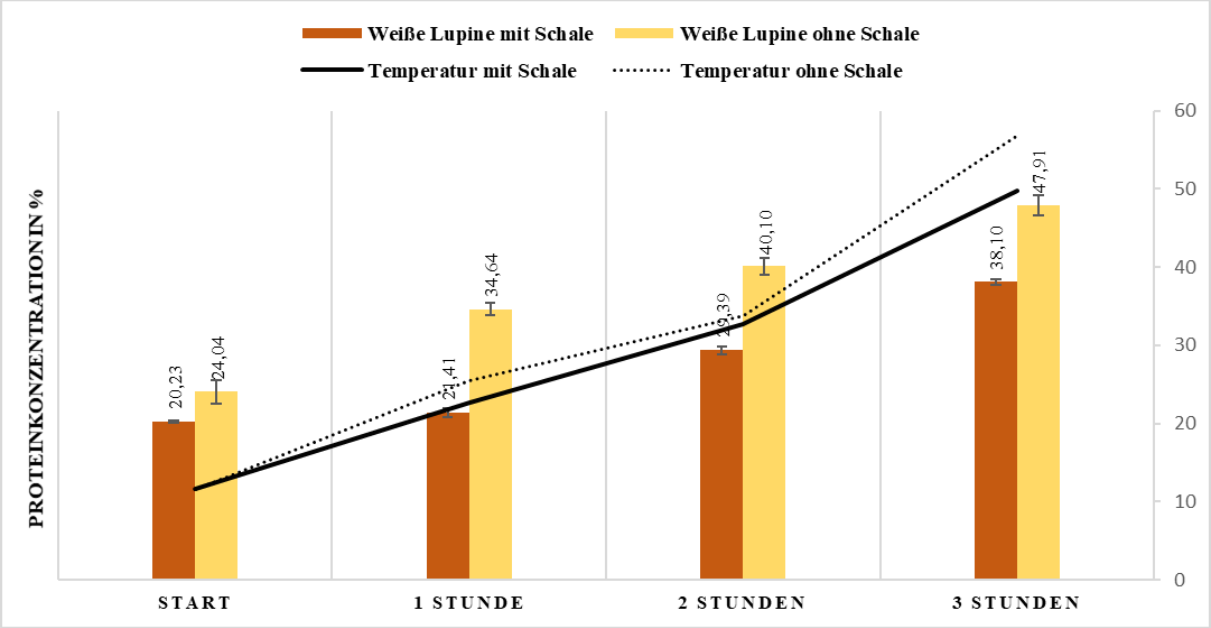

Abbildung 9: Entwicklung des Proteingehaltes während der Herstellung der Proteinkonzentrate (Reichert, 2023)

Die Tendenz ist deutlich erkennbar. Da die Schale lediglich aus Ballaststoffen, Flavonoiden, Polyphenolen und ein paar Mineralstoffen besteht, ist der Grundwert der Proteine bereits am Start unterschiedlich. Betrachtet man den Anstieg der Proteine, erkennt man, dass der Versuch mit Schale einen Anstieg von 88,33 % und der ohne Schale einen Anstieg von 99,29 % hatte. Allerdings wies die Filtration ohne Schale einen höheren Temperaturanstieg auf, was eine Kühlung des Prozesses erzwingt. Grund dafür ist, dass die Schale aufgrund ihrer höheren Festigkeit die Poren der Membran bereinigt und somit die Reibungskräfte reduziert. Des Weiteren wurde der gesamte Prozessverlauf von der Extraktion bis zur Ultrafiltration überwacht und die Parameter protokolliert. Um zu verhindern, dass die Proteine nicht zu stark denaturieren und sich ihre technologischen und ernährungsphysiologischen Eigenschaften verändern, ist die Kontrolle der Temperatur und des pH-Wertes obligatorisch. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** zeigt den Temperaturverlauf aus drei Versuchstagen. Das Lupinenmehl-Wasser-Gemisch wurde nach jedem Versuchstag bei 8 °C für 14 Stunden gekühlt.

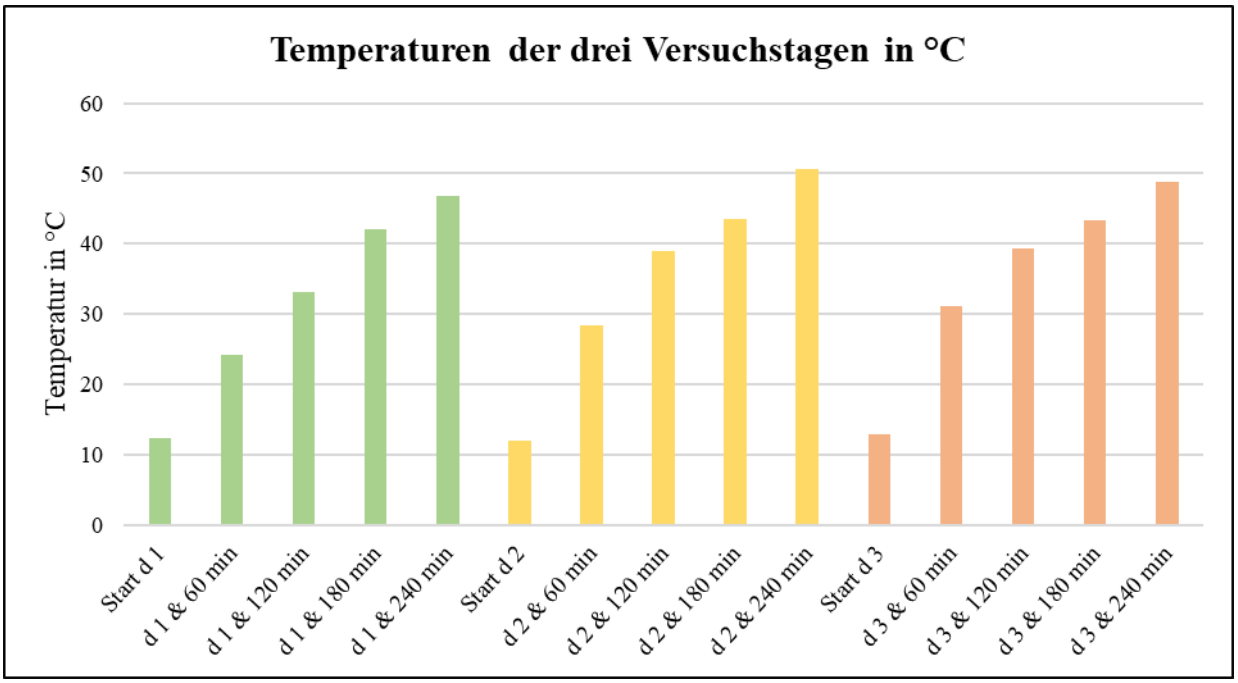

Abbildung 10: Temperaturprotokoll des Retentats aus drei Versuchstagen während der UF, mit demselben Proteinextrakt (ZELT, 2024)

Der Anfangswert aller Versuchstage betrug 12–13 °C und die Säulen geben demzufolge den prozentualen Anstieg bzw. Abstieg der Temperatur an. Nach 60 Minuten stieg die Temperatur stets um ca. 80 % an, was durch den größeren Temperaturunterschied am Anfang leicht erklärbar ist. Danach stieg sie weiterhin an, aber über vier Stunden Ultrafiltrationsdauer konnte die Temperatur unter 50 °C ohne zusätzliche Kühlung gehalten werden. Das Permeat hat kontinuierlich eine Temperatur von ca. 20 °C.

Außerdem war der pH-Wert vom Permeat und Retentat von Interesse. Die Messergebnisse sind in Abbildung visualisiert.

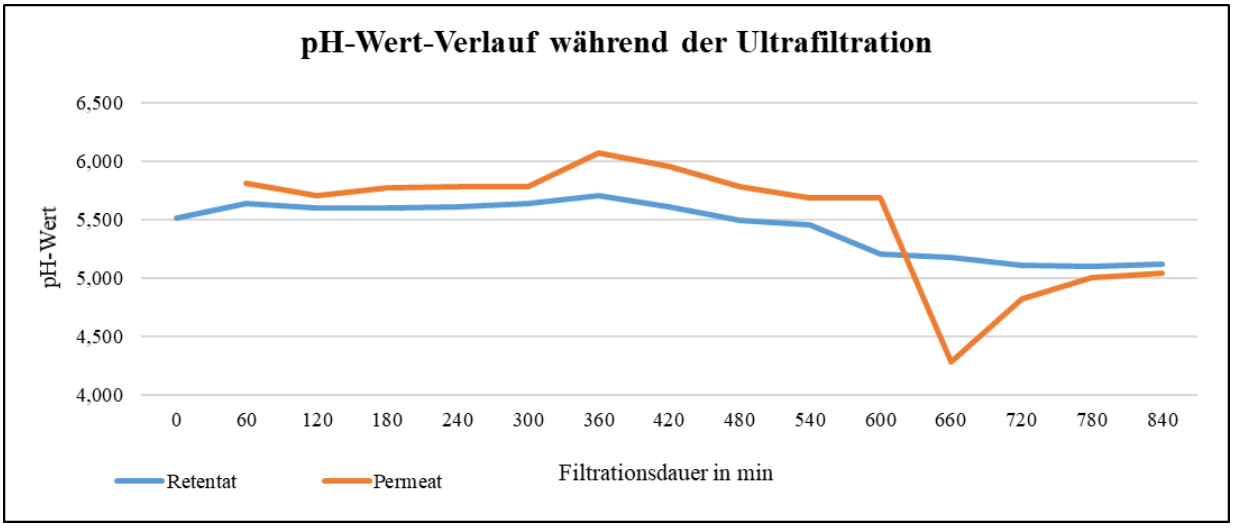

Abbildung 11: gemessene pH-Werte aus den Versuchstagen (ZELT, 2024)

Die Messung des pH-Werts vom Retentat konnte am Start ermittelt werden. Allerdings nicht vom Permeat, weil dieses erst während des Prozesses entsteht und demnach noch kein messbares Material zur Verfügung stand. Für die Startwerte der Folgetage wurde jeweils der Endwert am vorherigen Tag gewählt. Es ist sichtbar, dass der pH-Wert im Retentat relativ konstant bleibt. Lediglich eine leichte Senkung ist erkennbar. Grund dafür ist, dass sich die Proteine leicht verändern. Sie bestehen aus Aminosäuren und können den pH-Wert beeinflussen. Außerdem entstehen eventuell Abbauprodukte, die einen Einfluss haben. Ebenfalls beeinflusst die Art der Lösung, in der sich die Proteine befinden, den pH-Wert. Die chemische Umgebung der Proteine verändert sich während des Prozesses und hat eine pH-Wert-Senkung zur Folge.

3.2.3 Durchführung Routineanalytik für Rohstoffe, Proteinkonzentrat und Produktprototypen

Die wichtigsten Parameter während der Verarbeitungsschritte wurden in den vorangegangenen Kapiteln bereits detailliert erklärt und ausgewertet. Es sind wichtige Kontrollfaktoren für den Prozess und die Qualität der Haupt- und Nebenströme. Zur routinierten Analyse gehören im Wesentlichen die Temperatur- und pH-Wert-Messung. Die Bestimmung der Alkaloide und des Proteingehaltes dient zur Beurteilung der Produkte bzw. für die mögliche Vermarktung dieser. Auch die Untersuchungen des Rohstoffes und der fertigen Isolate wurden durchgeführt und bereits dargestellt. Die Werte für die Produktprototypen wurden sowohl rechnerisch als auch analytisch bestimmt und entsprachen den Erwartungen. Die Prototypen Lupinen-Ciabatta und auch die vegane Käsealternative wiesen vergleichbare Lebensmittelinhaltsstoffe wie die konventionell hergestellten auf.

3.2.4 Verkostungsexperimente des Proteinkonzentrats

Vor der Verkostung der Konzentrate, der Isolate bzw. der Demonstratoren sind alle Produkte einer analytischen Beurteilung zu unterziehen. Es ist obligatorisch, dass die Alkaloidwerte unterhalb der vorgeschriebenen Grenzwerte liegen. Erst nach Erreichen des Grenzwertes von 200 mg/kg für Lebensmittel konnten die Proben verkostet werden. Auch die stark reduzierten Konzentrate wurden immer noch als stark bitter eingestuft. Die Produkte, die ausschließlich aus den Lupinen hergestellt wurden, sind sensorisch durchgefallen. Deshalb war es wichtig, eine Rezeptanpassung durchzuführen. In der Käserei Wolters sind folglich Demonstratoren entstanden, die einer professionellen Sensorik mit einem geschulten Panel standhalten konnten.

3.2.5 Verkostung von Lebensmittelprototypen

Für die bessere Beurteilung der entstandenen Produkte wurden mit dem Projektpartner, der Bauernkäserei Wolters, zwei Demonstratoren konstruiert. Die Käserei erstellte ein Rezept für eine vegane Käsealternative und die ZELT gGmbH ein Ciabatta-Brot mit einem Lupinenmehlanteil. Für eine gute Vergleichbarkeit mit industriell hergestelltem Ciabatta ist eine konkrete Rezeptentwicklung notwendig. Hierfür wurde zunächst ein entsprechender Sauerteig produziert, der für ein adäquates Ergebnis erforderlich ist. Dazu wurden Wasser, Hefe, Weizenmehl TYPE 405 und das Lupinenisolat in verschiedenen Verhältnissen zugegeben, um zum einen die sensorische Nachweisbarkeit der Lupine als auch die Akzeptanz der Probanden für das Produkt zu ermitteln. Nach der Optimierung der Herstellung der Brote haben wir eine wissenschaftlich relevante Sensorik geplant. Die ZELT gGmbH verfügt über ein geschultes Sensorik-Panel mit über 20 Personen. Das Alter des Panels variiert zwischen 20 und 50 Jahren und es besteht aus 50 % Frauen und 50 % Männern. Das Panel wurde zuvor einer speziellen Bitterkeit-Schulung unterzogen, jedoch nicht über die verwendete Proteinalternative Lupine informiert. Dadurch wird die gesamte Untersuchung repräsentativ. Bei einem Unterschiedstest von drei Proben (2 Ciabatta mit Lupine und 1 ohne Lupine sowie 1 Ciabatta mit Lupine und 2 ohne) konnten 75 % des Panels einen Unterschied feststellen. Anschließend folgte ein Unterschiedstest über die 9-Punkte-Hedonik-Skala für die Beurteilung der Akzeptanz. Bei einem derartigen Bewertungssystem steht 1 für „Mag ich überhaupt nicht“ und 9 für „Mag ich besonders gern“.

Für die Rezeptanpassung stellten wir drei Verhältnisse mit je 15, 20 und 25 % Lupinenmehl her. Die Brote mit jeweils 15 und 20 % erzielten eine Bewertung von 7,5 ± 2,3 und die 25 % ige nur 5,3 ± 1,9. Aus der einfach beschreibenden Prüfung ging auch hervor, dass die 25%ige Probe als deutlich bitterer empfunden wurde als die anderen, weshalb auch die schlechtere Beliebtheit folgte. Ebenfalls sind vier Variationen aus dem Ciabatta hergestellt worden, wovon drei für eine einfach beschreibende Prüfung benötigt wurden. Die Protokolle der einzelnen Sensorik-Termine können nachgereicht werden. Die Variationen waren Ciabatta mit Röstzwiebeln, mit Kräutern (v. a. Oregano), mit getrockneten Tomaten sowie Oliven und eine Variante mit Chili und Käse (Gouda). Alle wiesen eine leicht bittere Note auf, wobei hier zu berücksichtigen ist, dass die Zusätze ebenfalls Bitterstoffe enthalten. Des Weiteren sind alle als arttypisch und aromatisch empfunden worden. Das Lupinenmehl verleiht dem Ciabatta laut dem Panel einen „mediterranen Touch“ und wurde sogar dem Ciabatta ohne Lupine bevorzugt.

3.3 Lagertests und mikrobiologische Stabilisierung

3.3.1 Proteinkonzentrate

Vorab haben wir festgelegt, dass das Proteinkonzentrat mindestens vier Wochen und die getrockneten Isolate mindestens sechs Wochen haltbar sein sollten. Die Lagerungsversuche erfolgten in kontrollierter Umgebung bei 8 °C Raumtemperatur und ca. 50–55 % Luftfeuchtigkeit sowie im Trockenlager bei 18 °C bei 45–50 % Luftfeuchtigkeit. Dadurch konnten wir eine gute Vergleichbarkeit mit handelsüblichen Kühlschränken gewährleisten. Über einen Datenlogger für Temperatur, mit integriertem Hygrometer, wurden die Parameter überwacht und in regelmäßigen Abständen der pH-Wert, die Gesamtkeimzahl bzw. das Pilzwachstum kontrolliert. Der pH-Wert ist mit einer geeichten Elektrode gemessen worden und diente zur Beurteilung möglicher Säuerungsprozesse, wie zum Beispiel der Milchsäuregärung. Zu einem wissenschaftlichen und fachgerechten Lagertest gehören ebenfalls die sensorischen, physikalischen, chemischen und mikrobiologischen Eigenschaften. Bei der Beurteilung der Sensorik ist zu beachten, dass zuvor die mikrobiologische Auswertung erfolgt ist. Als Erstes ist demzufolge über ein Oberflächenausstrichverfahren, mittels eines automatisierten Spiralplaters, die Gesamtkeimzahl bestimmt worden. Hierfür wurden die Proben in einer Natriumchlorid-Lösung in einem Verhältnis von 1:10 gelöst und homogenisiert. Daraus können je nach erwarteter Keimzahl weitere Verdünnungsstufen folgen. Anschließend

sind die Petrischalen zu beschriften und die Proben aufzutragen. Die Inkubation ist bei 36 °C für genau einen Tag durchzuführen. Nach drei Tagen sind dann auch mögliche Schimmelpilze sichtbar. Für die optimale Beurteilung der Proben sind die aerobe Gesamtkeimzahl, Hefen bzw. Schimmelpilze, *Salmonella spp*. bzw. *E. Coli*, *Enterobacteriaceae spp.* und *Bacillus cereus* zu ermitteln. In Abbildung sind die ermittelten Wachstumskurven der Gesamtkeimzahl dargestellt.

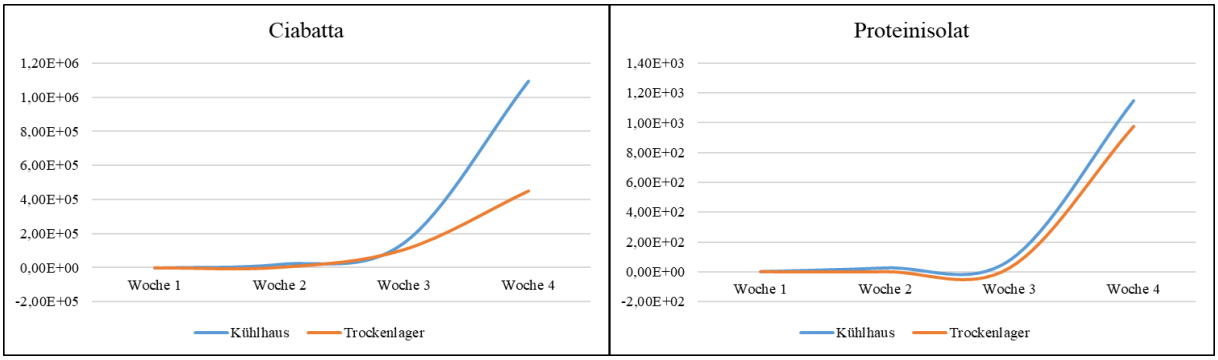

Abbildung 12: Gesamtkeimzahlbestimmung (GKZ) in KBE/ml über vier Wochen von Lupinen-Ciabatta und Lupinenproteinisolat im Vergleich bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen (ZELT, 2025)

Das Ciabatta wies insgesamt eine deutlich höhere GKZ auf als das Proteinisolat, da das Brot ein weiterverarbeitetes Produkt ist mit weiteren Zutaten, die das mikrobielle Wachstum begünstigen. Alle Produkte wurden abgedeckt gelagert. Es ist allerdings festzustellen, dass eine trockene Lagerung die Haltbarkeit steigern konnte. Über den gesamten Versuchsverlauf konnten keine *E. Coli*, Hefen bzw. Schimmelpilze festgestellt werden. Außerdem blieb der pH-Wert nahezu neutral über die vier Wochen. Ebenso blieben die technologischen sowie sensorischen Eigenschaften stabil bei dem Proteinisolat. Das Ciabatta hingegen wurde schnell trocken und hart und war nicht mehr verzehrfähig. Für die industrielle Verwendung empfiehlt es sich, die Ciabatta-Brote vorher kurz anzubacken und dann einzufrieren.

3.3.2 Lebensmittelprototypen aus Proteinkonzentraten

In dem vorangegangenen Kapitel ist bereits erwähnt worden, dass die Entwicklung der Demonstratoren aufgeteilt wurde. Die ZELT gGmbH konzentrierte sich ausschließlich auf die Optimierung der Lupinen-Ciabatta-Brote und die Bauernkäserei Wolters auf die vegane Käsealternative. Die Ergebnisse zum Lagertest sind ebenfalls in der Abbildung dargestellt. Es geht hervor, dass die Brote mikrobiell stabil sind. Allerdings werden gegarte Brote altbacken. Das „Altbackenwerden“ beschreibt den Prozess der Rekristallisierung von verkleisterter Stärke. Dabei wird das Wasser im Brot frei und verdunstet mit der Zeit an der Oberfläche. Dadurch wird das Brot hart und ungenießbar. Demzufolge ist es für die Bevorratung unökonomisch, die Brote durchzubacken. Eine Lösung wäre ein Vorbacken und Einfrieren bzw. das Schockfrosten der Teiglinge. Dadurch erhöht sich die Haltbarkeit maßgeblich und gewährleistet langfristig die sensorische Qualität.

3.4 Verfahrensentwicklung Protein-Extraktion im Labormaßstab

Mithilfe der Food Production NB GmbH konnte erfolgreich eine standardisierte Arbeitsanweisung (SOP) erstellt werden. Die SOP´s beinhalten die Extraktion der Proteine und auch der Alkaloide und umfassen alle prozessbezogenen Parameter. Außerdem beschreiben sie die Einrichtung der Pilotanlage sowie die schrittweise Aufskalierung von 1 kg bis 20 kg des Extraktionsprozesses. Der Bericht der Food Production NB GmbH liegt vor.

3.5 Ausbeuteoptimierte Aufreinigung von Proteinkonzentraten für die Lebensmittelindustrie

Ebenfalls wie schon im Kapitel 3.4 beschrieben wurde für den gesamten Prozess der Proteingewinnung und Aufreinigung eine SOP erstellt. Als Gewinnung ist der Extraktionsvorgang zu betrachten, die Aufreinigung, die Konzentrierung bzw. das Trennen der Proteine von den Alkaloiden. Des Weiteren erstellte die Food Production NB GmbH eine SOP zur validen Alkaloid-Bestimmung und zur adäquaten Probennahme für alle Proben.