

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Forschung, Technologie  
und Raumfahrt

**Fraunhofer IVV**

**ProColor - Entwicklung eines neuartigen proteinbasierten  
Farbstoffübertragungsinhibitors aus nachwachsenden  
Rohstoffen zur Anwendung in öko-zertifizierten  
pulverförmigen Color-Waschmitteln**

**FKZ:031B1286C**

**Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit den Mitteln des Bundesministeriums für Forschung, Technologie und Raumfahrt unter dem Förderkennzeichen 031B1286C gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei der Autorin / Autor.**

## Teil I: Kurzbericht

Das im Rahmen der Fördermaßnahme „KMU innovativ“ (Technologiefeld: Bioökonomie) durch das BMBF geförderte Projekt „ProColor - “ Entwicklung eines neuartigen proteinbasierten Farbstoffübertragungsinhibitors aus nachwachsenden Rohstoffen zur Anwendung in öko-zertifizierten pulverförmigen Color-Waschmitteln“ (FKZ:031B1286C) startete am 01.09.22 und wurde am 31.08.25 abgeschlossen.

### 1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Gesamtziel des Vorhabens „ProColor“ war die Entwicklung eines neuartigen, proteinbasierten Farbübertragungsinhibitors für öko-zertifizierte pulverförmige Colorwaschmittel. Hierfür sollten kommerziell verfügbare pflanzliche Proteine eingesetzt werden, um eine wirtschaftlich realisierbare und zeitnahe Umsetzung der Ergebnisse zu ermöglichen.

Vor dem Hintergrund der stark gestiegenen Nachfrage nach umweltverträglichen Waschmitteln in Industrie und Verbrauchermarkt wurden nachhaltige Alternativen zu erdölbasierten Farbübertragungsinhibitoren untersucht. Dabei galt es, die Leistungsfähigkeit und Produkteigenschaften konventioneller Formulierungen beizubehalten. Pflanzliche Proteine bieten in diesem Zusammenhang ein vielversprechendes Potenzial, als funktionelle Additive umweltschädliche Komponenten zu ersetzen.

### 2. Ablauf des Vorhabens

ProColor war ein dreijähriges und in vier Arbeitspakete (AP) aufgeteiltes Vorhaben, wie in der folgenden Tabelle 1 dargestellt. Neben dem Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV (IVV) wurde das Projekt von den beiden Projektpartner Remsgold Chemie GmbH & Co. KG (RG) und Naturstoff-Technik GmbH (NST) bearbeitet. Die beschriebenen Arbeitspakete wurden innerhalb der geplanten Zeiträume abgeschlossen, sodass keine Änderungen des Arbeitsplanes, des Finanz- oder Zeitplanes notwendig waren.

Tabelle 1: Gliederung des Vorhabens nach Arbeitspaketen.

Arbeitspaket		Leitung
1	Auswahl und Modifikation potenziell geeigneter (kommerziell erhältlicher) pflanzlicher Proteinpräparate.	IVV
1.1	Auswahl und Bewertung geeigneter pflanzlicher Proteinpräparate	IVV
1.2	Modifikation der Proteinpräparate	IVV
2	Optimierung der Eigenschaften der ausgewählten Proteinpräparate	NST
3	Untersuchung der Funktionalität im Waschmittelsystem	RG
3.1	Untersuchung der Funktionalität als Farbübertragungsinhibitor	RG
3.2	Untersuchung der Funktionalität als Faserschutz	RG
3.3	Untersuchung der Funktionalität als Vergrauungsinhibitor	RG
4	Scale-Up & Formulierung eines pulverförmigen Color-Waschmittels	RG, NST, IVV

Im Verlauf des Vorhabens wurden drei Meilensteine definiert. Der dem Fraunhofer IVV zugeordnete Meilenstein sowie dessen Bearbeitungsstand sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Meilensteine des Projekts, die dem Fraunhofer IVV zugeordnet waren.

Meilenstein (M)	Erreichungsstand
M 1 (IVV - Monat 14) Die Proteinpräparate sind vollständig hinsichtlich chemischer Zusammensetzung und funktioneller Eigenschaften charakterisiert und mind. 2 Präparate wurden für die Folgearbeitspakete ausgewählt.	Den Projektpartner Remsgold und Naturstofftechnik wurden drei verschiedene Proteinmuster für weitere Untersuchungen zugeschickt.

Im ersten Arbeitspaket wurden zwölf unterschiedliche Proteinpräparate hinsichtlich ihrer funktionellen Eigenschaften sowie ihrer Eignung zur Farbübertragungsinhibierung untersucht. Am Fraunhofer IVV erfolgte zunächst die Analyse relevanter Parameter für den Einsatz in Waschmitteln. Dazu zählten die chemische Zusammensetzung (Trockensubstanz, Protein, Asche) sowie die Charakterisierung bezüglich Molekulargewicht, Löslichkeit, Partikelgröße, Schaumverhalten, Viskosität und Farbe. Zur Bewertung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen zwischen Protein und Textilfarbstoff wurde ein spektralphotometrischer Assay zur Quantifizierung der Farbstoffbindung entwickelt. Dabei wurde die Absorption verschiedener Farbstoff-Protein-Lösungen gemessen. Zusätzlich konnte der Einfluss zentraler Parameter wie pH-Wert, Salzgehalt und Tensidzugabe auf die Farbstoffbindung untersucht werden.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurden geeignete Proteinpräparate für weiterführende Untersuchungen an die Projektpartner übergeben. Die gezielte Modifikation der Proteine eröffnete die Möglichkeit, ihre technofunktionellen Eigenschaften an die Anforderungen eines Farbübertragungsinhibitors anzupassen. Untersucht wurden sowohl chemische (saure und alkalische) als auch enzymatische Hydrolyseverfahren. Durch Variation des Hydrolysegrades konnten unterschiedliche Molekulargewichte erzeugt werden, was sich auf funktionelle Eigenschaften sowie auf die Wechselwirkungen mit Farbstoff und Faser auswirkte. Es zeigte sich, dass Veränderungen der an der Proteinoberfläche verfügbaren funktionellen Gruppen die Farbstoffbindung maßgeblich beeinflussen. Für beide Modifikationstypen (chemisch und enzymatisch) wurden jeweils zwei Hydrolysegrade hergestellt. Vielversprechende modifizierte Proteinprodukte wurden der Firma Remsgold für weiterführende Untersuchungen bereitgestellt. Nachdem die wirksamsten und wirtschaftlichsten Kombinationen ermittelt waren, wurde im Arbeitspakete 4 das Scale-Up Verfahren untersucht. Die Erkenntnisse der Versuche stellen eine erste Grundlage für eine weitere Optimierung dar.

### **3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggfs. Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen**

Zwei der untersuchten Proteine wurden aufgrund unzureichender Zusammensetzung nicht weiterverfolgt. Die verbleibenden Präparate wiesen für die Anwendung relevante Proteingehalte auf. Die Analyse der Molekulargewichtsverteilung zeigte, dass die untersuchten Proteine überwiegend im niedermolekularen Bereich liegen.

Die Partikelgrößenanalyse lieferte Informationen zur Größenverteilung und Dispergierbarkeit der Proteinpartikel und bildete die Grundlage für eine spätere Agglomeratoptimierung. Die Löslichkeit nahm bei allen untersuchten Proteinen mit steigendem pH-Wert zu. In Schaumbildungstests zeigte ein Präparat unter den gewählten Bedingungen eine gelartige Struktur, die das Aufschäumen deutlich reduzierte und damit für Waschmittelanwendungen nachteilig war. Für ausgewählte Proteine wurde daher ergänzend die Viskosität im alkalischen pH-Bereich bestimmt.

Die enzymatische Hydrolyse erwies sich als geeigneter Ansatz zur Verbesserung der Farbstoffbindung. Durch eine angepasste enzymatische Modifikation konnte die Bindungsleistung gegenüber allen getesteten Farbstoffen gesteigert werden. Untersuchungen mit einem bildanalytischen System bestätigten, dass ausgewählte Proteinpräparate sowohl in nativer als auch in modifizierter Form vergleichbare bzw. verbesserte Farbbindeeigenschaften aufweisen.

Die saure Hydrolyse führte unter bestimmten Bedingungen zu moderaten Verbesserungen, während andere Modifikationsansätze keine positiven Effekte zeigten oder die Farbstoffbindung reduzierten und daher nicht weiterverfolgt wurden. Auf Grundlage der Ergebnisse wurde eine geeignete Proteinmodifikation für das Upscaling ausgewählt und im Technikumsmaßstab umgesetzt. Das hergestellte Modifikat wurde zum Projektabschluss an den Projektpartner übergeben.

## Teil II: Eingehende Darstellung

### 1. Darstellung der Verwendung der Zuwendung sowie der erzielten Ergebnisse

Die folgende Tabelle 1 zeigt die am Fraunhofer IVV durchgeführten Arbeitspakete (AP) und deren Ziele sowie den im Rahmen der Entwicklungen erreichten Stand des Vorhabens.

Tabelle 3: Gliederung der Arbeitspakete, deren Ziele und des erreichten Entwicklungsstandes.

Arbeitspakete (AP)	Erreichter Entwicklungsstand
<p>AP 1</p> <p>Auswahl und Modifikation potenziell geeigneter pflanzlicher Proteinpräparate</p> <p>AP 1.1 Auswahl und Bewertung geeigneter pflanzlicher Proteinpräparate</p> <p>AP 1.2 Modifikation der Proteinpräparate</p>	<p>AP 1.1: Erledigt</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Entwicklung und Optimierung des Assays zur Quantifizierung der Farbstoffbindung ist erfüllt.</li> <li>Vergleich der Proteine bezüglich Farbstoffbindung am Photometer</li> <li>Einfluss des pH-Werts, Salzzugabe, Tensidzugabe und Erhöhung des Proteingehalts wurde untersucht.</li> </ul> <p>AP 1.2: Erledigt</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Versuche zur enzymatischen / chemische (sauren und alkalischen) Modifikation der Proteine wurden durchgeführt</li> <li>physikalischen Modifikation der Proteine wurde beim Projekttreffen am 15.10.24 einstimmig gestrichen, da es als zu kostenintensiv eingeschätzt wird.</li> </ul>
<p>AP 2</p> <p>Optimierung der Eigenschaften der ausgewählten Proteinpräparate</p>	<p>AP 2: Erledigt</p> <p>Siehe Zwischenbericht der Firma Naturstoff Technik GmbH</p>
<p>AP 3</p> <p>Untersuchung der Funktionalität im Waschmittelsystem</p> <p>AP 3.1 Untersuchung der Funktionalität als Farbübertragungsinhibitor</p> <p>AP 3.2 Untersuchung der Funktionalität als Faserschutz</p> <p>AP 3.3 Untersuchung der Funktionalität als Vergrauungsinhibitor</p>	<p>AP 3: Erledigt</p> <p>Siehe Zwischenbericht der Firma Remsgold</p>
<p>AP 4</p> <p>Scale-Up &amp; Formulierung eines pulverförmigen Color-Waschmittels</p>	<p>AP 4: Erledigt</p> <p>Siehe Abschlussberichte (Untersuchung diverser granulierter Muster.)</p>

Meilenstein (M)	Erreichungsstand
<p>M 1 (Monat 14)</p> <p>Die Proteinpräparate sind vollständig hinsichtlich chemischer Zusammensetzung und funktioneller Eigenschaften charakterisiert und min. 2 Präparate wurden für die Folgearbeitspakete ausgewählt.</p>	Erreicht
<p>M 2 (Monat 20)</p> <p>Für die vielversprechendsten Proteinpräparate sind mindestens zwei für das Color-Waschmittel einsetzbare Verfahren zur Herstellung eines einsatzfähigen Waschmittelzusatzes entwickelt worden.</p>	Erreicht
<p>M 3 (Monat 25)</p> <p>Es stehen min. 2 Formulierungen mit modifizierten oder stabilisierten Proteinpräparaten im pulverförmigen Color-Waschmittel zur Verfügung.</p>	Erreicht

Die ausführliche Beschreibung der durchgeführten Forschungsarbeiten und der daraus resultierenden Ergebnisse wird im Folgendem für jedes Arbeitspaket dargestellt.

## AP 1: Auswahl und Modifikation potenziell geeigneter (kommerziell erhältlicher) pflanzlicher Proteinpräparate

### AP 1.1: Auswahl und Bewertung geeigneter pflanzlicher Proteinpräparate

Zur Prüfung der Eignung pflanzlicher Proteine als Farbübertragungsinhibitoren in Waschmittelformulierungen wurden im Rahmen des Kick-off-Meetings durch die Projektpartner geeignete, kommerziell verfügbare Rohstoffe für ein initiales Screening definiert. Die ausgewählten Proteinpräparate wurden zunächst analytisch charakterisiert. Hierzu erfolgte die Bestimmung der Trockensubstanz, des Aschegehalts sowie des Gesamtproteingehalts. Zur Untersuchung der Molekulargewichtsverteilung wurde eine nicht-reduzierende SDS-PAGE durchgeführt. Die Auswertung der Bandenintensitäten erlaubte eine prozentuale Zuordnung der Proteinanteile zu definierten Molekulargewichtsbereichen (vgl. Tabelle 1). Es zeigte sich, dass der überwiegende Anteil der untersuchten Proteine im Bereich  $\leq 40$  kDa liegt. Besonders hervorzuheben ist das Erbsenprotein, das mit rund 92 % einen sehr hohen Anteil im Bereich von 10–20 kDa aufweist. Auch das Lupinenprotein zeigt mit etwa 78 % einen ausgeprägten Anteil in diesem Molekulargewichtsbereich.

Tabelle 1: Prozentuale Angabe [%] der Molekulargewichtsverteilung der pflanzlichen Proteinpräparate

Protein	10 – 20	20 - 30	30 - 40	40 - 50	50 - 60	60 - 70	>70 [kDa]
Ackerbohnenprotein	38,96	0,00	59,88	0,00	0,00	0,00	1,16
Erbsenprotein	91,87	7,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,71
Lupinenprotein	77,79	2,66	15,50	0,00	0,00	0,00	4,06
Reisprotein	56,28	4,72	17,61	8,73	6,88	0,00	5,78
Weizengluten	56,32	37,71	0,00	0,00	2,63	0,00	3,35
Hanfprotein	10,56	4,40	52,43	0,00	3,97	1,19	27,45
Rapsp. (IVV002)	37,00	59,10	3,90	0,00	0,00	0,00	0,00
Rapsp. (IVV007)	62,90	32,10	2,80	2,20	0,00	0,00	0,00
Rapsp. (IVV031)	31,13	9,67	28,37	7,09	0,00	8,12	15,61
Rapsp. (IVV032)	32,88	13,38	28,57	3,66	6,81	4,94	9,76

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung sowie des Durchlasses der untersuchten Proteinpräparate wurde ein Laserbeugungs-Partikelmesssystem (Mastersizer 3000) mit zugehöriger Dispergiereinheit eingesetzt. Der Durchlasswert beschreibt den prozentualen Anteil der Partikel, die eine definierte Partikelgröße unterschreiten, und stellt damit die kumulative Feinfraktion der jeweiligen Probe dar. Abbildung 1 und Abbildung 2 zeigen die ermittelten Größenklassen der Proteinpartikel mit ihrer jeweiligen relativen Häufigkeit (%) sowie die zugehörigen Durchlasskurven (%).

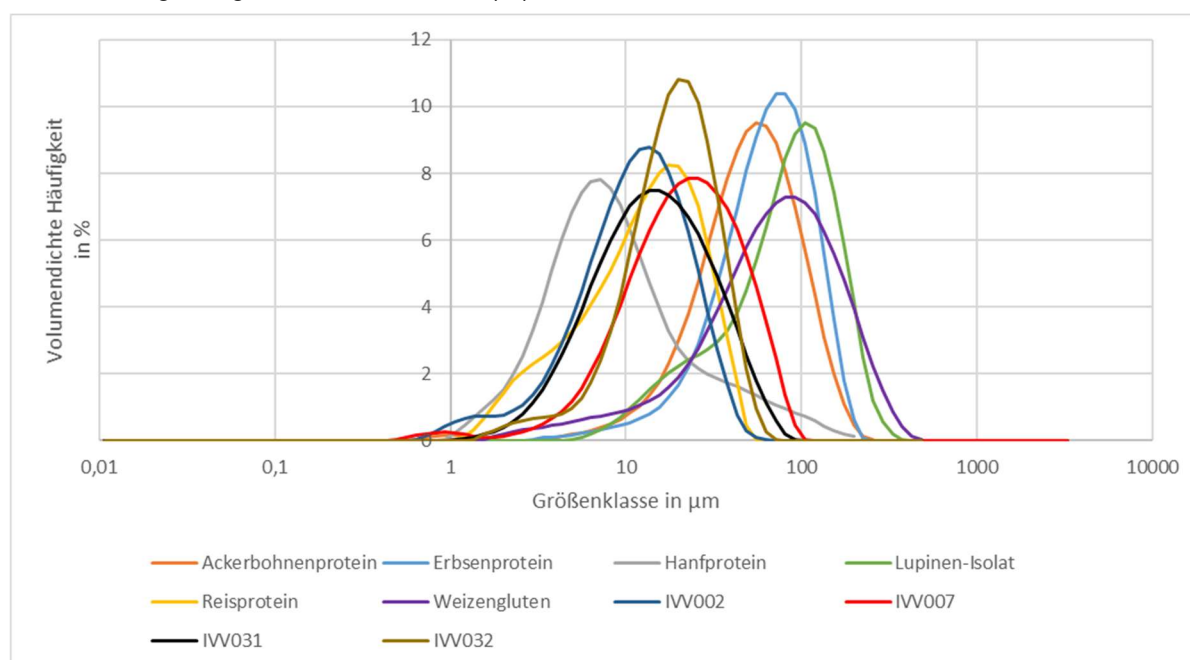
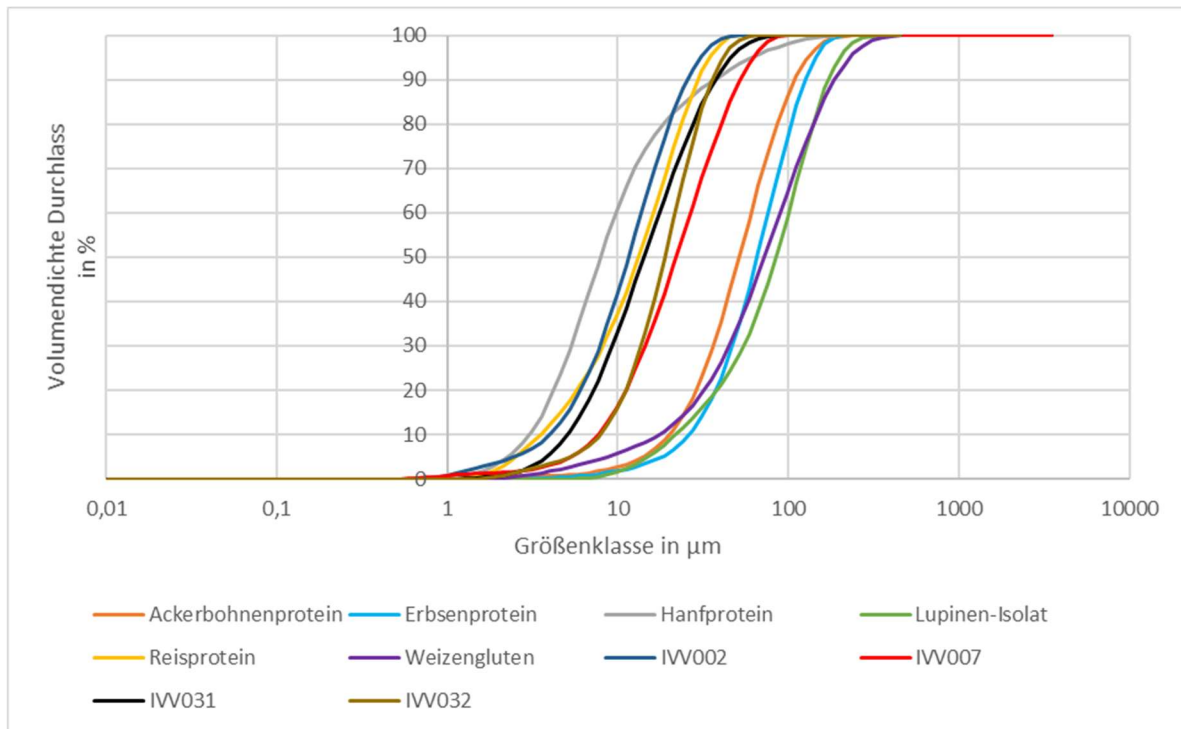


Abbildung 1: Darstellung der Größenklasse in  $\mu\text{m}$  und deren Häufigkeit in %



**Abbildung 2:** Darstellung der Größenklasse in  $\mu\text{m}$  und Durchlass in %

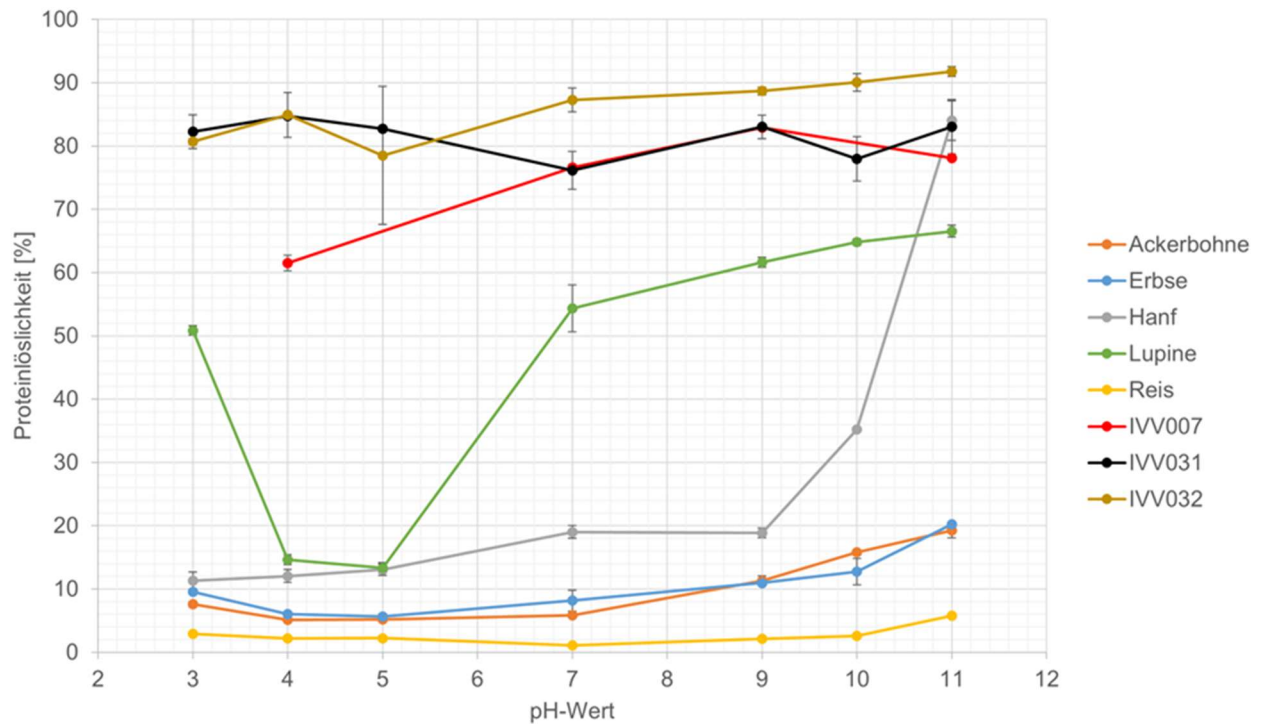
Abbildung 2 verdeutlicht die Homogenität der Partikelgrößenverteilung der untersuchten Proteinpulver. Ein steiler Anstieg der kumulativen Durchlasskurve von 0 % auf 100 % weist auf eine enge und damit homogene Partikelgrößenverteilung hin, wie sie beispielsweise beim Reisprotein beobachtet wurde. Ein flacherer Kurvenverlauf hingegen indiziert eine breitere Partikelgrößenverteilung. Ausgeprägte Unterschiede in den Partikelgrößen können die Fließeigenschaften beeinflussen und bei pulverförmigen Waschmittelformulierungen zu Entmischung oder Agglomeration führen. Die in Abbildung 2 dargestellten Ergebnisse belegen insgesamt eine hohe und für die Anwendung geeignete Partikelhomogenität der untersuchten Proteinpräparate. Auf Basis der Partikelcharakterisierung wurde daher kein Protein vom weiteren Screening ausgeschlossen.

Die farbmimetrische Charakterisierung erfolgte mittels DigiEye-System auf Grundlage des Lab\*-Farbraums. Bewertet wurde primär der  $L^*$ -Wert als Maß für die Helligkeit. Das Kürbisprotein wies mit einem  $L^*$ -Wert von 58,91 die geringste Helligkeit auf und stellte somit das dunkelste Muster dar. Die höchsten  $L^*$ -Werte zeigten Hanf (93,21) und Reis (93,90), welche entsprechend die hellsten Proben darstellten. Die Farbmessung dient der vergleichenden Einordnung der Proteinpräparate im Hinblick auf ihre Eignung für pulverförmige Waschmittel. Für diese Anwendung wird ein möglichst helles Proteinpulver bevorzugt, da dunklere Komponenten die visuelle Produktanmutung beeinträchtigen und potenziell negativ durch Verbraucher bewertet werden könnten. Vor diesem Hintergrund erzielten insbesondere Reis-, Hanf- und Mandelprotein günstige Ergebnisse. Ungeachtet dessen wurde auch auf Basis der farbmimetrischen Bewertung kein Protein vom weiteren Screening ausgeschlossen.

### **Technofunktionelle Eigenschaften der Proteinpräparate**

Zur Bewertung der Löslichkeit der untersuchten Proteinpräparate im wässrigen Milieu wurde die Proteinlöslichkeit nach Morr bestimmt. Hierbei wird die Proteinmenge quantifiziert, die sich nach Dispergierung in einer 0,1 mol/L Natriumchlorid-Lösung bei definiertem pH-Wert in Lösung befindet. Die Löslichkeitsbestimmung erfolgte im pH-Bereich von 3 bis 11, um sowohl saure als auch alkalische Bedingungen abzudecken, wie sie im Anwendungsumfeld relevant sein können. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt.

Die Proteinlöslichkeit der untersuchten Proben zeigte eine deutliche pH-Abhängigkeit sowie signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Proteinquellen und Aufbereitungsverfahren. Ziel der Untersuchung war die Bewertung der Eignung der Proteinpräparate für den Einsatz in Waschmitteln. Vor diesem Hintergrund wurde insbesondere der alkalische Bereich oberhalb von pH 10 betrachtet, da dieser den anwendungsrelevanten Bedingungen entspricht.



**Abbildung 3:** Darstellung der Proteinlöslichkeit [%] der einzelnen Proteinpräparate bei variierendem pH-Werten

Die nativen pflanzlichen Proteine wiesen überwiegend geringe Löslichkeiten auf. Reisprotein zeigte über den gesamten untersuchten pH-Bereich sehr niedrige Löslichkeiten, die selbst im stark alkalischen Milieu nur geringfügig zunahm und bei pH 11 unter 10 % blieben. Auch Erbsen- und Ackerbohnenprotein erreichten selbst bei hohen pH-Werten lediglich Löslichkeiten von etwa 20 %. Lupinenprotein zeigte ein ausgeprägtes Löslichkeitsminimum im sauren Bereich in Nähe des isoelektrischen Punktes sowie eine deutliche Zunahme im alkalischen Bereich auf bis zu ca. 65 % bei pH 11. Hanfprotein war im sauren und neutralen Bereich nur gering löslich, wies jedoch im stark alkalischen Milieu einen deutlichen Anstieg auf und erreichte bei pH 11 Löslichkeiten von über 80 %. Die am IVV hergestellten Proteinproben zeigten insgesamt höhere und stabilere Löslichkeiten als die nativen pflanzlichen Ausgangsproteine. Im alkalischen Bereich wurden Werte von über 80–90 % erreicht. Dies weist darauf hin, dass sowohl die Prozessführung als auch eine Reduktion der Molekülgröße einen maßgeblichen Einfluss auf die Löslichkeit unter alkalischen Bedingungen haben.

Die Bestimmung der Schaumaktivität und -stabilität erfolgte mittels eines Milchaufschäumers (WMF Lono Milk & Choc) als standardisiertem Prüfsystem. Untersucht wurde eine 5%ige Proteinlösung bei pH 10.

Zwischen den Rohstoffen zeigten sich deutliche Unterschiede. Die Rapsproteinproben (IVV002, IVV007, IVV031, IVV032) sowie Hanf- und Reisprotein wiesen eine hohe Schaumaktivität auf. Insbesondere die IVV-Proben bildeten große Schaumvolumina. Die Schaumstabilität lag bei diesen Mustern im mittleren Bereich und zeigte keine eindeutige Korrelation zur initialen Schaumaktivität. Lupinen-, Weizen- und Erbsenprotein zeigten geringere Schaumaktivitäten, jedoch ohne auffällige strukturelle Veränderungen während des Aufschäumprozesses. Eine Sonderstellung nahm das Ackerbohnenprotein ein. Unter den gewählten Bedingungen kam es nicht zu einer ausgeprägten Schaumbildung. Stattdessen wurde während des Aufschäumens eine gelartige Struktur ausgebildet. Die Viskosität der Lösung stieg so stark an, dass die Rotation des Quirls und damit eine effektive Lufteintragung deutlich eingeschränkt war. Dieses Verhalten ist im Hinblick auf den Einsatz in pulverförmigen Waschmitteln kritisch zu bewerten, da erhöhte Viskositäten die Dispergierbarkeit im Waschbad sowie die Funktion schaumaktiver Komponenten beeinträchtigen können. Gleichzeitig deutet das Ergebnis darauf hin, dass Gelbildungsneigung und Viskositätsentwicklung systematisch weiter untersucht werden sollten. Insbesondere im alkalischen Milieu und bei erhöhten Temperaturen könnten viskositätserhöhende Effekte – etwa im Zusammenhang mit einer potenziellen Farbübertragungsinhibition – funktional relevant sein.

Zur weiterführenden Bewertung wurde die Viskosität ausgewählter Proben rheologisch untersucht. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Firma Remsgold bereits erste Waschversuche durchgeführt, in denen Erbsen- und Reisprotein positiv bewertet wurden. Neben dem Ackerbohnenprotein wurden daher auch diese beiden favorisierten Proteinpräparate für rheologische Messungen ausgewählt. Da von den präferierten Proteinen bereits erste, von der Naturstoff Technik GmbH hergestellte gecoatete Muster vorlagen, wurden zusätzlich xanthanbeschichtete Varianten von Ackerbohnen-, Erbsen- und Molkenprotein hinsichtlich ihrer Viskosität untersucht.

Für die Probenvorbereitung wurden 5 % (w/w) Proteinlösungen bei pH 10,5 hergestellt, 30 Minuten bei 600 rpm und Raumtemperatur gerührt und anschließend am Rheometer vermessen.

### **Assay zur Quantifizierung der Farbstoffbindung**

Auf Grundlage der chemischen und technofunktionellen Charakterisierung wurden ausgewählte Proteinpräparate hinsichtlich ihrer Eignung als Farbübertragungsinhibitoren (DTI) untersucht. In die spektrophotometrische Prüfung einbezogen wurden Ackerbohnen-, Erbsen-, Reis-, Hanf-, Lupinen-, Weizen- sowie Rapsprotein. Die Einstellung der Proteinkonzentrationen und des pH-Werts erfolgte in Anlehnung an die Methode zur Bestimmung der Proteinlöslichkeit nach Morr. Zur Simulation der anwendungsrelevanten Bedingungen wurde ein pH-Wert von 10,5 gewählt. Die Versuche wurden zunächst in demineralisiertem Wasser durchgeführt, um störende Einflüsse durch Wasserhärte auf Bindungseigenschaften und Absorptionsspektren auszuschließen. Als Modellsbstanz wurden gemäß den Kriterien des EU Ecolabel die Farbstoffe Direct Red 83:1 (DR 83:1), Direct Orange 39 (DO 39), Direct Black 22 (DB 22) und Acid Blue 113 (AB 113) eingesetzt. Die Quantifizierung erfolgte primär über die Absorptionsmessung bei der jeweiligen Wellenlänge des Absorptionsmaximums ( $\lambda_{\max}$ ). Für DB 22, DO 39 und AB 113 wurde ergänzend das gesamte sichtbare Spektrum erfasst, um mögliche Peakverschiebungen und damit verbundene Wechselwirkungen zu detektieren. Die eingesetzten Farbstoffkonzentrationen lagen bei 0,03 g/L (DR 83:1) bzw. 0,025 g/L (DB 22, DO 39, AB 113). Für die Kalibrierung wurden pH-angepasste Standardkurven erstellt, da der pH-Wert das Absorptionsverhalten der Farbstoffe beeinflusst. In Anlehnung an typische Waschbedingungen wurde eine Reaktionszeit von 60 Minuten gewählt. Die Probenahme erfolgte in Intervallen von 10 Minuten.

### **Spektrophotometrische Messung der Farbbindung der verschiedenen Proteine**

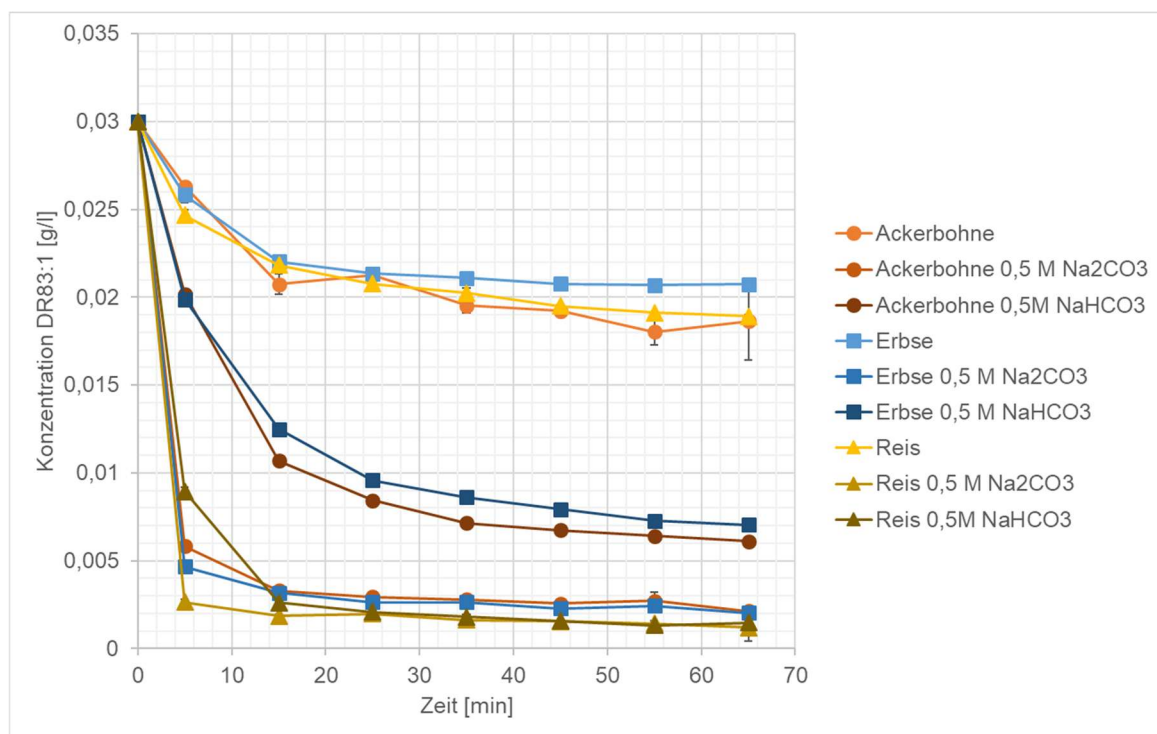
Die Bindung der Modellfarbstoffe Direct Red 83:1, Direct Orange 39, Direct Black 22 und Acid Blue 113 durch Reis-, Erbsen-, Lupinen-, Ackerbohnen-, Hanf- sowie unterschiedlich extrahierte Rapsproteine wurde gemäß der zuvor beschriebenen Methode spektrophotometrisch quantifiziert. Die Farbbindungsreaktionen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt; der jeweilige Nullwert basierte auf einer Einzelmessung. Für Ackerbohnen-, Erbsen-, Lupinen-, Hanf- und Reisproteinisolat wurde eine zeitabhängige Abnahme der Farbstoffkonzentration beobachtet. Im weiteren Verlauf näherte sich die Farbstoffkonzentration einem Plateau an, was auf ein Erreichen des Bindungsgleichgewichts hinweist. Hanf-, Lupinen- und Reisproteinisolat zeigten insgesamt eine geringe Farbbindungs Kapazität. Nach 65 Minuten betrug die gebundene Farbstoffmenge bei Reisproteinisolat etwa 10 %, bei Hanf- und Lupinenproteinisolat jeweils rund 18 %. Die vergleichbare Bindungseffizienz von Hanf- und Lupinenprotein korrespondiert mit deren ähnlichem Löslichkeitsverhalten im alkalischen Bereich. Deutlich höhere Bindungsleistungen wurden für Erbsen- und Ackerbohnenproteinisolat ermittelt. Erbsenproteinisolat band nach 65 Minuten etwa 41 % des eingesetzten Farbstoffs, Ackerbohnenproteinisolat erreichte mit 57 % die höchste Bindungskapazität unter den untersuchten nativen pflanzlichen Proteinen.

Die Untersuchung der Farbstoffbindung zeigte deutliche Unterschiede zwischen den getesteten Proteinquellen sowie in Abhängigkeit von der Farbstoffstruktur. Direct Orange 39 wies insgesamt geringere Bindungsraten auf als die übrigen untersuchten Farbstoffe. Dies ist plausibel, da das Molekül eine geringere Molmasse sowie weniger ionisierbare Gruppen (u. a. nur eine Sulfonsäuregruppe) besitzt und somit weniger potenzielle Wechselwirkungsstellen für Proteinbindungen bietet. Entsprechend zeigte insbesondere das Reisproteinisolat hier eine sehr geringe Bindung. Bei Direct Black 22 stellten sich die Bindungsgleichgewichte bei den gut löslichen Proteinen (Rapsproteinisolate, Hanf, Lupine) sehr schnell ein. Die maximale Bindung wurde bereits innerhalb der ersten Minuten erreicht, anschließend blieb die Konzentration konstant. Die insgesamt gebundene Farbstoffmenge war jedoch moderat. Demgegenüber zeigten Ackerbohnen- und Erbsenproteinisolat eine kontinuierliche Farbstoffadsorption über den gesamten Versuchszeitraum. Sie erreichten mit 42–51 % deutlich höhere Endbindungsraten. Dabei zeigte sich: Je höher die Gesamtabnahme der Farbstoffkonzentration, desto länger dauerte die Einstellung des Gleichgewichts. Ein Vergleich der unterschiedlich gewonnenen Rapsproteinisolate deutet darauf hin, dass isoelektrisch gefällte Proben eine höhere Bindungskapazität besitzen als ultrafiltrierte Isolate. Trotz geringeren Proteingehalts zeigte IVV032 die stärkste Farbstoffabnahme, was vermutlich auf einen erhöhten Globulinanteil (insbesondere 11S-Globulin/Cruciferin mit basischen Untereinheiten) zurückzuführen ist. Bei Acid Blue 113 wurden insgesamt höhere Bindungsraten beobachtet als bei den Direktfarbstoffen. Dies spricht dafür, dass strukturelle Eigenschaften des Säurefarbstoffs – insbesondere saure funktionelle Gruppen – elektrostatische Wechselwirkungen mit den Proteinpräparaten begünstigen.

## Einfluss von Salzen, Tensiden und Erhöhung des Proteingehalts auf die Farbbindung

### Einfluss von Salzen auf die Farbstoffbindung der Proteinisolate

Zur Untersuchung des Salzeinflusses auf die Farbstoffbindung wurden in Abstimmung mit dem Projektpartner Remsgold Natriumcarbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) und Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) ausgewählt. Silikate wurden aufgrund unzureichender Löslichkeit im Vorfeld ausgeschlossen. Die Salze wurden in einer Konzentration von 0,5 mol/L in demineralisiertem Wasser gelöst. Anschließend wurde das jeweilige Proteinpräparat zugesetzt. Die Farbstoffe wurden separat in demineralisiertem Wasser gelöst und zur Salz-Protein-Lösung gegeben, sodass ein Endvolumen von 50 mL erreicht wurde. Bereits in diesem Stadium zeigte sich ein deutlicher Einfluss der Salze auf das Löslichkeitsverhalten der Farbstoffe. Bei allen untersuchten Farbstoffen trat eine ausgeprägte Agglomeration auf, sodass keine homogenen Lösungen hergestellt werden konnten. Dies weist darauf hin, dass hohe Elektrolytkonzentrationen die Stabilität der Farbstoffe signifikant beeinträchtigen und damit die Aussagekraft der Bindungsuntersuchung einschränken. In einem angepassten Versuchsansatz wurden die Salz-Farbstofflösungen für eine Stunde bei 97 °C erhitzt, um eine vollständige Lösung zu erreichen. Unter diesen Bedingungen konnten Direct Red 83:1 und Acid Blue 113 in Lösung gebracht und anschließend hinsichtlich ihrer Bindung an die Proteinpräparate untersucht werden (vgl. Abbildungen 11 und 12). Für Direct Orange 39 und Direct Black 22 war aufgrund persistierender Löslichkeitsprobleme keine valide Versuchsdurchführung möglich.



**Abbildung 4:** Konzentrationsabnahme der freien Direct Red 83:1 Farbstoffmoleküle durch die Farbbindung der pflanzlichen Proteinisolate bei 30°C und Zugabe der Salze  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ .

Abbildung 4 zeigt deutlich, dass die Zugabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bzw.  $\text{NaHCO}_3$  zu einer signifikanten Reduktion der in Lösung befindlichen DR 83:1-Konzentration führte. Dieser Effekt wurde für Ackerbohnen-, Erbsen- und Reisprotein nachgewiesen. Im direkten Vergleich zeigte  $\text{NaHCO}_3$  bei Erbsen- und Ackerbohnenprotein eine etwas geringere Wirkung.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hingegen führte bei allen drei Rohstoffen zu einer ausgeprägten Abnahme der Farbstoffkonzentration. Bereits nach 15 Minuten wurde ein Wert von ca. 0,002 g/L erreicht. Unter den gewählten Versuchsbedingungen konnte durch Zugabe von 0,5 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  somit ein Großteil des Farbstoffs aus der Waschflotte entfernt werden. Auch für Acid Blue 113 zeigte sich eine deutliche Verstärkung der Farbstoffbindung durch Zugabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bzw.  $\text{NaHCO}_3$ . In Kombination mit Ackerbohnen-, Erbsen- und Reisprotein wurde der Farbstoff nahezu vollständig aus der Lösung entfernt. Nach 65 Minuten lag die Restkonzentration annähernd bei 0 g/L.

### Einfluss von Tensiden auf die Farbstoffbindung der Proteinisolate

Zur Untersuchung des Tensideinflusses stellte die Firma Remsgold verschiedene Muster zur Verfügung. In Vorversuchen wurde die Einsatzmenge so gewählt, dass eine Beeinflussung der Farbstoffbindung messbar bleibt und störende Effekte minimiert werden. Während die Schaumbildung kein relevantes Problem darstellte, führte die durch mehrere Tenside verursachte Trübung zu einer erheblichen Beeinträchtigung der spektrophotometrischen Messung.

Reproduzierbare Untersuchungen waren ausschließlich mit Laurylglucosid in einer Konzentration von 5 % (0,25 g) möglich, da hier eine ausreichend klare Lösung erzielt werden konnte. Andere Tenside wurden aufgrund fehlender Messbarkeit nicht weiter betrachtet.

Direct Red 83:1: Die Zugabe von Laurylglucosid führte bei allen drei untersuchten Proteinisolaten (Ackerbohne, Erbse, Reis) zu einer tendenziellen Verbesserung der Farbstoffbindung. Die Unterschiede waren jedoch moderat; eine vollständige Inhibierung der Farbstofffreisetzung wurde nicht erreicht.

Direct Orange 39: Bei Reisproteinisolat, das ohne Tensid nur geringe Bindung zeigte, konnte durch Laurylglucosid eine deutliche Verbesserung erzielt werden. Bei Erbsen- und Ackerbohnenproteinisolat hingegen, die bereits ohne Tensid eine relevante Bindung aufwiesen, zeigte die Tensidzugabe keinen nennenswerten zusätzlichen Effekt. Ein technologischer Mehrwert ist hier somit nicht erkennbar.

Direct Black 22: Für diesen Farbstoff konnten keine eindeutigen Unterschiede zwischen Ansätzen mit und ohne Laurylglucosid festgestellt werden. Die Endkonzentrationen lagen nach 65 Minuten jeweils auf vergleichbarem Niveau.

Acid Blue 113: Im Gegensatz zu den anderen Farbstoffen führte Laurylglucosid hier zu einer Verringerung der Farbstoffbindung. Die Restkonzentrationen lagen mit Tensid signifikant höher als in den tensidfreien Ansätzen. Dies deutet auf eine kompetitive Wechselwirkung oder veränderte Löslichkeitseffekte hin.

Da Tenside im Waschmittel primär andere Funktionen erfüllen (insbesondere Reinigungsleistung), ist entscheidend, dass keine signifikante Beeinträchtigung der Farbinhibierung auftritt. Insgesamt kann Laurylglucosid unter diesem Gesichtspunkt als kompatibel bewertet werden.

#### Einfluss der Proteinkonzentration

Eine Verdoppelung der Proteinkonzentration von 1 % auf 2 % führte bei keinem der vier Farbstoffe zu einer klaren und reproduzierbaren Steigerung der Farbstoffbindung. Nach 65 Minuten waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Konzentrationen erkennbar.

Unter Berücksichtigung der Rohstoffkosten ist eine Erhöhung der Proteineinsatzmenge daher weder technologisch noch wirtschaftlich gerechtfertigt.

In späteren Versuchen wurde die Konzentration des neu entwickelten Reisproteins gezielt reduziert (1 %, 0,5%, 0,25 %). Dabei zeigte sich:

- Bei Direct Orange 39 und Direct Black 22 führte eine Reduktion auf 0,5 % bereits zu einer messbar geringeren Inhibierung.
- Bei Direct Red 83:1 und Acid Blue 113 erscheint eine Reduktion auf 0,5 % möglich.
- Für Acid Blue 113 zeigte sich sogar bei 0,25 % noch eine nahezu vergleichbare farbinhibierende Wirkung.

Eine Erhöhung der Proteinkonzentration ist insgesamt betrachtet damit nicht zielführend. Eine differenzierte Anpassung der Einsatzmenge in Abhängigkeit vom Farbstofftyp erscheint hingegen sinnvoll und bietet wirtschaftliches Optimierungspotenzial.