

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Entwicklung eines Verfahrens zur simultanen Extraktion von Proteinen und Arabinoxylanen aus glutenfreiem Getreide für die Verwendung in Backwaren

verfasst von | submitted by

Tanja Kastenhofer BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Science (MSc)

Wien | Vienna, 2024

Studienkennzahl lt. Studienblatt |
Degree programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree pro-
gramme as it appears on the student record
sheet:

Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreut von | Supervisor:

Mag. Dr. Regine Schönlechner

Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei Professor Dr. Regine Schönlechner bedanken, dass ich die Gelegenheit hatte, diese Masterarbeit am Institut für Lebensmitteltechnologie an der Universität für Bodenkultur zu schreiben.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinen Co-Betreuern, Dr. Denisse Bender, M.Sc. und Dipl.-Ing. Ulrich Sukop, für ihr aufschlussreiches Feedback und ihre Fachkenntnisse bedanken.

Letztendlich schätze ich die finanzielle Unterstützung des österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF) für dieses Projekt (Projekt I 5891-N), welches diese Forschung ermöglicht hat, sehr.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abstract.....	3
Zusammenfassung	4
1 Aufgabenstellung und Zielsetzung	5
2 Einleitender, theoretischer Hintergrund	6
2.1 Übersicht der Getreidearten	8
2.1.1 Zusammensetzung des Getreidekorns	9
2.1.2 Eigenschaften spezifischer Getreidearten	10
2.2 Glutenfreie Backwaren	13
2.2.1 Herausforderung bei glutenfreien Teigen	14
2.3 Bedeutung von Hemicellulosen in glutenfreien Backwaren	15
2.3.1 Charakterisierung von Arabinoxylan (AX).....	17
2.3.2 Bedeutung von Arabinoxylanen (AX) in Backwaren	20
2.3.3 Isolierung von Arabinoxylanen	23
2.4 Bedeutung von Proteinen in glutenfreien Backwaren	27
2.4.1 Getreideproteine.....	28
2.4.2 Isolierung von Getreideproteine	29
2.5 Membrantrennverfahren zur Polymerseparierung	31
3 Material und Methoden.....	34
3.1 Rohstoffe	34
3.2 Angewandte, simultane Extraktionsmethoden von Proteinen und Arabinoxylanen.....	36
3.2.1 Methodenprinzip Extraktion und Membranfiltration.....	36
3.2.2 Versuchsaufbau im Labormaßstab.....	36
3.2.3 Versuchsaufbau zur Optimierung der Extraktionseffizienz (Labormaßstab).....	37
3.2.4 Durchführung der Extraktion im Labormaßstab.....	38
3.2.5 Durchführung im Pilotmaßstab und Trennung durch Ultra-/Diafiltration	40
3.3 Probenvorbereitung	45
3.4 Analytische Methoden	45
3.4.1 Bestimmung der Trockenmasse	45
3.4.2 Bestimmung des Proteingehaltes nach Dumas	47
3.4.3 Bestimmung der Monosaccharide mittels HPAEC.....	48
3.4.4 Bestimmung der L-Arabinose & D-Galactose mittels Megazyme	50
3.4.5 Bestimmung der D-Xylose mittels Megazyme	52
3.4.6 Bestimmung der Phenolsäuren (TPC).....	54
3.4.7 Bestimmung der Gesamtballaststoffe (TDF/IDF/SDF).....	57
3.4.8 Bestimmung des Stärkegehaltes	60

3.4.9	Bestimmung der Proteinlöslichkeit und des Gesamtstickstoffgehalt mittels Kjeldahl	63
3.4.10	Ausbeute/Yield	67
3.4.11	Statistische Methoden	67
4	Versuchsergebnisse und Diskussion.....	68
4.1	Vorversuche Proteinlöslichkeit.....	68
4.2	Vorversuche Stärkeabbau	69
4.3	Proteingehalt und AX-Gehalt (Labormaßstab)	70
4.4	Ergebnisse des Pilotmaßstabs	77
4.4.1	Stärkeabbau-effizienz (Pilotmaßstab).....	77
4.4.2	Ballaststoffgehalt (Pilotmaßstab).....	78
4.4.3	Protein- und Arabinoxylangehalt (Pilotmaßstab)	80
4.4.4	Gehalt an Phenolsäuren (Pilotmaßstab)	82
5	Schlussfolgerung und Ausblick	85
6	Literaturverzeichnis	87
7	Tabellen- bzw. Abbildungsverzeichnis	92

Abstract

The demand for gluten-free (GF) products is steadily increasing, but despite substitutes like hydrocolloids, fats, emulsifiers, or alternative protein sources, their quality remains technologically and nutritionally inadequate. Proteins and arabinoxylans (AX) have already been used as structure-forming ingredients, as they form a polymer network whose properties strongly depend on the polymer structure and extraction conditions. Therefore, the aim of this master's thesis was the implementation of a simultaneous extraction process to mildly extract the target components protein and AX from GF cereals (maize, oat), with focus on recovery yield maintaining the functionality of the produced extracts. Among GF cereals maize offers the highest arabinoxylan content and oat is rich in proteins. First, preliminary tests were carried out at a laboratory scale under various extraction conditions using maize wholemeal flour in order to achieve high yields in protein and AX. The concentration of starch-depolymerizing enzymes, the pH value (9, 11) of the AX extraction as well as the pH of the previously determined isoelectric point (IEP) of proteins played a crucial role. After determining the most efficient processing conditions (pH 11, 300-fold enzyme concentration acc. to the manufacturer's instructions), AX of maize and oat fiber-rich fraction were extracted using calcium hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) solution (pH 11) and proteins via precipitation at the isoelectric point (maize at pH 8, oat at pH 5), followed by protein (DUMAS) and AX (HPAEC) quantification and evaluation of the most suitable raw material for a subsequent pilot-scale extraction process. Compared to the lab-scale process, pilot-scale separation of both extracted target compounds was based on molecular size using ultra-/diafiltration, recovering $7,05 \pm 0,04$ g/100 g protein (Yield 0,324 %) and $16,62 \pm 0,42$ g/100 g AX (Yield 15,08 %) from maize. In order to increase AX recovery, bran residues were further treated/extracted using fiber-degrading xylanases, followed again by ultra-/diafiltration, in which further $28,38 \pm 1,53$ g/100 g AX (Yield 8,83 %) were recovered. This study developed an optimized AX-extraction process for GF flours, highlighting the challenges of a simultaneous protein extraction.

Zusammenfassung

Die Nachfrage nach glutenfreien (GF) Produkten steigt stetig, doch trotz Ersatzstoffen wie Hydrokolloide, Fett, Emulgatoren oder alternative Proteinquellen bleibt die Qualität technologisch und ernährungswissenschaftlich unzureichend. Proteinen und Arabinoxylanen (AX) wurden bereits als strukturgebende Zutaten genutzt, da sie ein Polymernetzwerk bilden, dessen Eigenschaften stark von der Polymerstruktur und den Extraktionsbedingungen abhängen. Ziel dieser Masterarbeit war daher die Implementierung eines simultanen Extraktionsverfahrens zur schonenden Extraktion der Zielkomponenten Protein und AX aus GF-Getreide (Mais, Hafer), wobei der Schwerpunkt auf der Ausbeute bei gleichzeitiger Erhaltung der Funktionalität der hergestellten Extrakte lag. Unter den GF-Getreiden bietet Mais den höchsten AX-Gehalt und Hafer ist reich an Proteinen. Zunächst wurden Vorversuche im Labormaßstab unter verschiedenen Extraktionsbedingungen mit Maisvollkornmehl durchgeführt, um hohe Ausbeuten an Protein und AX zu erzielen. Dabei spielten die Konzentration der Stärke-depolymerisierenden Enzyme, der pH-Wert (9, 11) der AX-Extraktion sowie der pH-Wert des zuvor bestimmten isoelektrischen Punktes (IEP) der Proteine eine entscheidende Rolle. Nach der Ermittlung der effizientesten Verarbeitungsbedingungen (pH 11, 300-fache Enzymkonzentration nach Herstellerangaben) wurden AX aus Mais und Hafer mit Calciumhydroxid ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)-Lösung (pH 11) und Proteine durch Fällung am isoelektrischen Punkt (Mais bei pH 8, Hafer bei pH 5) extrahiert, anschließend Protein- (DUMAS) und AX-Quantifizierung (HPAEC) durchgeführt und das am besten geeignete Rohmaterial für einen nachfolgenden Extraktionsprozess im Pilotmaßstab ermittelt. Im Vergleich zum Verfahren im Labormaßstab erfolgte die Trennung der beiden extrahierten Zielverbindungen im Pilotmaßstab auf der Grundlage der Molekulargröße durch Ultra-/Diafiltration, wobei $7,05 \pm 0,04$ g/100 g Protein (Ausbeute 0,324 %) und $16,62 \pm 0,42$ g/100 g AX (Ausbeute 15,08 %) aus Mais zurückgewonnen wurden. Um die AX-Gewinnung zu erhöhen, wurden die Kleie-Rückstände mit faserabbauenden Xylanasen weiter behandelt/extrahiert, gefolgt von einer weiteren Ultra-/Diafiltration, bei der weitere $28,38 \pm 1,53$ g/100 g AX (Ausbeute 8,83 %) gewonnen wurden. In dieser Studie wurde ein optimiertes AX-Extraktionsverfahren für GF-Mehle entwickelt, wobei die Herausforderungen einer gleichzeitigen Proteinextraktion hervorgehoben wurden.

1 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Das Hauptziel dieser Masterarbeit ist die Entwicklung eines simultanen Extraktionsprozesses, um sowohl Proteine als auch Arabinoxylane aus Mais und Hafer zu extrahieren und somit potenzielle, teigstabilisierende Komponenten für glutenfreie Backwaren zu gewinnen. Der Schwerpunkt der Forschung liegt auf der Entwicklung einer optimalen und schonenden Extraktionsmethode, sowohl im Labor als auch im Pilotmaßstab, mit der eine maximale Ausbeute an möglichst reinen Protein- und AX-Isolaten erreicht werden soll. Dabei wurden verschiedene Faktoren berücksichtigt, darunter der Stärkeabbau mittels Enzyme, verschiedene pH-Werte für die AX-Extraktion (9, 11) und der IEP der Proteine sowie das Extraktionsmaterial (Maisvollkornmehl, Mais-, Haferkleie) mit unterschiedlichen Gehalten an Proteinen und AX. Nach der Ermittlung geeigneter Extraktionsbedingungen (pH 11, 300-fache Enzymkonzentration) im Labormaßstab wurden diese für den Extraktionsprozess im Pilotmaßstab angepasst. Hierbei wurde die Abtrennung beider Zielsubstanzen unter Verwendung von Membranen unterschiedlicher Porengrößen (100 kDa, 5 kDa) im Ultrafiltrationsverfahren angestrebt. Zusätzlich erfolgte die Aufreinigung sowie Aufkonzentrierung der gewonnenen Retentate durch Diafiltration. Die im Rahmen der praktischen Arbeiten erhaltenen Extrakte (und Rückstände) wurden anhand ihrer Nährstoffzusammensetzung und funktionellen Eigenschaften (Phenolsäuregehalte) statistisch ausgewertet und bewertet.

2 Einleitender, theoretischer Hintergrund

Mais, Reis, Weizen, Gerste und Sorghum bilden die fünf wichtigsten Getreidearten in der weltweiten Produktion. Vor allem Mais ist der führende Produzent mit einer hohen Wachstumsrate aufgrund der vielfältigen Verwendungsmöglichkeiten, insbesondere in den Bereichen Biokraftstoff und Tierfutter (FAO, 2021). Die Verwendung von Getreidepflanzen für Lebensmittel in den Industrieländern nimmt stetig zu, insbesondere als Bestandteil von Frühstückprodukten, Snacks und diätetischen Produkten (Nuss & Tanumihardjo, 2010). Zu den gängigsten Lebensmitteln und Nutrazeutika aus Getreide zählen Weizen, Hafer, Gerste, Buchweizen, Leinsamen, Flohsamen und brauner Reis (Chandran et al., 2023). Besonders die weltweite Nachfrage nach glutenfreien Produkten steigt, aufgrund der Prävalenz von Zöliakie, Allergien, Gluten-Ataxie und Gluten-Sensitivität, die durch den Verzehr bestimmter Prolaminfraktionen aus Weizen (Gliadin), Roggen (Secalin) oder Gerste (Hordein) ausgelöst werden (Nuss & Tanumihardjo, 2010)(Ayala-Soto et al., 2017). Die einzige wirksame Behandlung für glutenbedingte Erkrankungen besteht darin, eine glutenfreie (GF) Diät einzuhalten (Ayala-Soto et al., 2017). Eine Reihe von Getreidesorten wie Mais, Hafer, Reis, Hirse, Sorghum, aber auch Hülsenfrüchte, Wurzelgemüse, Bananen, Kochbananen und Kastanien können als Rohstoffe für glutenfreie Produkte dienen. Trotz der Verfügbarkeit verschiedener Getreidesorten wird für etwa drei Viertel aller glutenfreien Produkte überwiegend Mais- oder Reisstärke verwendet. Die Verwendung dieser glutenfreier Getreidearten wirken sich auf die ernährungsphysiologische Qualität der Produkte aus und führt zu einer hohen Energiedichte, aber einer niedrigen Nährstoffdichte, gekennzeichnet durch einen niedrigen Gehalt an Vitaminen, Mineralstoffen, Spurenelementen, Ballaststoffen und sekundären Pflanzenstoffen. Zusätzlich wirkt sich die Verwendung von glutenfreier Getreidearten auch auf die sensorische Qualität aus, vor allem im Brotbereich (Berghofer et al., 2016). Das Fehlen von Glutennetzwerken führt bei glutenfreien Teigen zu einer geringen Viskosität, Kohäsion und Elastizität. Diese Eigenschaften führen zu einem suboptimalen Volumen, unzureichender Farbe und krümeliger Textur, in Summe zu einer Reduktion der Gesamtqualität glutenfreier Backwaren (Waziroh et al., 2022). Um die Teigstruktur und das Gashaltvermögen zu verbessern, sowie die generelle Abwesenheit von Proteinen auszugleichen, werden häufig alternative Proteinquellen verwendet (Bean et al., 2021). Pflanzenproteine

wurden in den letzten Jahren aufgrund ihrer nachwachsenden und biologisch abbaubaren Eigenschaften und ihren funktionellen Aspekten, wie Emulgierfähigkeit, fibrogene Fähigkeiten und wasserlösliche Wirkung intensiv wissenschaftlich verfolgt (Chandran et al., 2023). Zein, ein Speicherprotein aus Mais, besitzt einzigartige Eigenschaften, die für die Lebensmittelindustrie von Vorteil sein könnten, wie zum Beispiel seine Fähigkeit Nanomaterialien, Proteinnetzwerke und viskoelastische Teige zu bilden. Dies ist besonders interessant für die Herstellung von glutenfreien Backwaren (Bean et al., 2021). Ebenso wichtig für die glutenfreie Produktion sind Hemicellulosen wie Arabinoxylane (AXs), die in den Zellwänden von Getreidekörnern vorkommen. AXs sind für ihre löslichen Fraktionen bekannt. Im Vergleich zu den unlöslichen Fraktionen können diese bis zu 20-mal mehr Wasser binden und dienen somit als wertvolle Hilfe bei der Brotherstellung, indem es die Teigviskosität verbessert und die Teigstruktur nach dem Kneten stabilisiert. Dies trägt zur Herstellung weicherer Brote mit erhöhtem spezifischen Volumen und verbesserter Krumeneigenschaften bei (Belitz, Hans-Dieter & Grosch, Werner & Schieberle, 2008; Espinosa-Ramírez et al., 2020). Im Bereich der Backwaren hat die Kombination von Proteinen und Arabinoxylanen ein großes Potenzial zur Verbesserung der Qualität und des Nährwertes der Produkte gezeigt. In glutenfreien Produkten, bei denen das glutenhaltige Netzwerk fehlt, können Arabinoxylane und Proteine durch enzymatische und chemische Reaktionen ein alternatives Netzwerk bilden. Arabinoxylane haben sehr gute Geliereigenschaften, die es ihnen ermöglichen, sich mit anderen AX-Molekülen und Polymeren wie Proteinen und Lignin zu vernetzen. Diese Vernetzungen entstehen durch kovalente Bindungen, vor allem mit Di- oder Tri-Ferulasäurebindungen. Solche kovalenten Bindungen zwischen Molekülen verbessern die strukturellen Eigenschaften von Backwaren (Bender et al., 2018). Nichtsdestotrotz gibt es aktuell nur wenig Information darüber, inwieweit diese Polymere spezifisch miteinander interagieren und so zur Teilstabilisierung beitragen. Die Verwendung von Arabinoxylanen bietet nicht nur technologische Vorteile, sondern auch mehrere bedeutende gesundheitliche Vorteile, darunter die Regulierung der Darmmikrobiota, die zu einer Veränderung der Produktion von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) im Dickdarm führt, die Verbesserung der antioxidativen Kapazität und die Kontrolle der postprandialen Blutzuckerreaktion, wodurch eine hypoglykämische Wirkung erzielt wird. Diese Vorteile tragen zur Verbesserung der Verdauungsgesundheit und der allgemeinen Stoffwechselreaktion bei (Zannini et al., 2022).

Auch der Zusatz von Proteinen, beeinflusst nicht nur die Qualität der Backwaren, sondern auch die Nährwerte, denn glutenfreie Produkte enthalten einen niedrigen Proteingehalt im Vergleich zu glutenhaltige Produkte. Eine Studie zeigte, dass glutenfreie Brote im Durchschnitt nur 4,4 g Protein pro 100 g enthalten, verglichen mit 10 g pro 100 g in herkömmlichen Broten. Somit steigert der Zusatz von Proteinen auch den Proteingehalt der Backwaren (Stantiall & Serventi, 2018).

2.1 Übersicht der Getreidearten

Der Begriff „Getreide“ bezieht sich auf die Körner von Gräsern und umfasst eine Vielzahl von landwirtschaftlichen Nutzpflanzen, die aus verschiedenen Arten von Gräsern gezüchtet wurden. Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Reis, Mais und verschiedene Hirsesorten gehören zu den sieben Grundgetreidearten. Abbildung 1 zeigt die evolutionäre Entwicklung der Getreidearten und ihre botanische Einordnung. Getreidepflanzen sind einjährige Kulturpflanzen, die zur Familie der Süßgräser (*Poaceae*) gehören und spielen seit Jahrtausenden eine zentrale Rolle in der menschlichen Ernährung (Rimbach, G. et al., 2010).

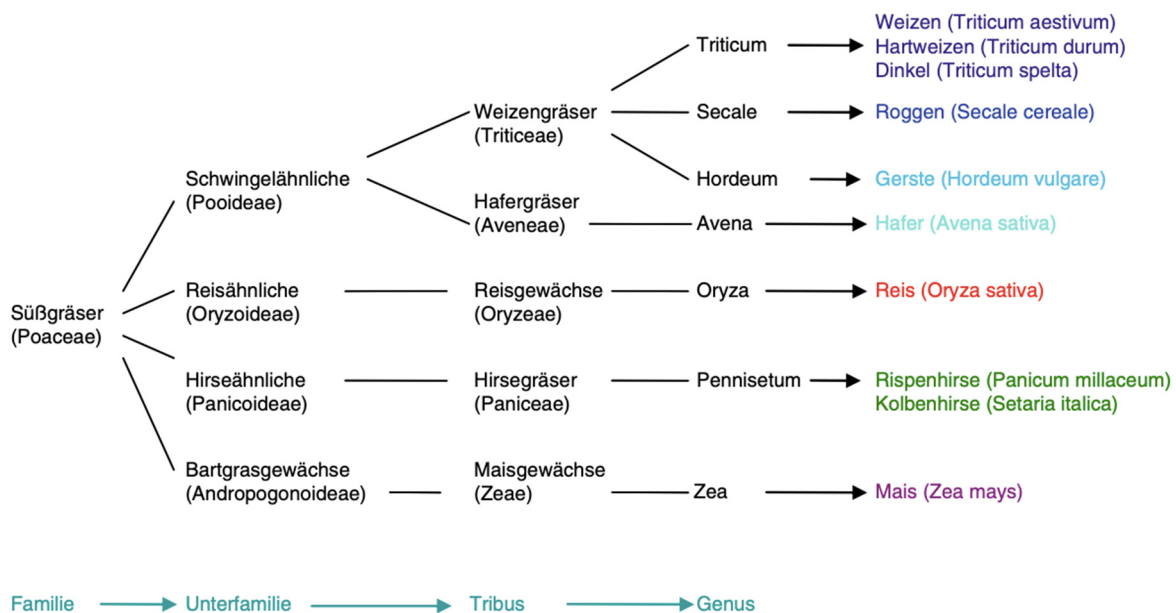


Abbildung 1: Evolutionäre Entwicklung der Getreidearten und ihre botanische Klassifizierung (Rimbach, G. et al., 2010)

Für die Herstellung von Hefeteigprodukten wie Brot und Gebäck ist Weizen, aufgrund der enthaltenen Glutenproteine, ein hervorragender Rohstoff. Einige Menschen leiden jedoch an Erkrankungen wie Zöliakie, Weizenallergie, Glutenataxie und nicht-zöliakalische Glutensensitivität. Diese Erkrankungen werden durch Prolaminfraktionen, die zum Beispiel in Weizen, Roggen und Gerste enthalten sind, verursacht. Die einzige Möglichkeit diese Erkrankung zu umgehen, besteht darin, dauerhaft auf glutenhaltige Lebensmittel zu verzichten. Diese Lebensmittel müssen weniger als 20 ppm (Teile pro Million) Gesamtgluten enthalten (Ayala-Soto et al., 2017).

2.1.1 Zusammensetzung des Getreidekorns

Das Tausendkorngewicht, d. h. das Gewicht von 1000 Körnern, variiert je nach Getreideart, deren chemischen Zusammensetzung (z.B. Feuchtegehalt), Anbaubedingungen und Lagerbedingungen. Mais hat das höchste Gewicht (200–450 g), gefolgt von Weizen, Gerste, Hafer, Roggen, Reis (25–55 g) und Hirse (ca. 48 g). Äußerlich wird zwischen geschälten und ungeschälten Sorten unterschieden. Obwohl die Struktur von Getreidekörnern unterschiedlich ist, gibt es grundlegende Ähnlichkeiten zwischen den einsamigen Getreidekörnern. Abbildung 2 zeigt den Aufbau und die Bestandteile eines Getreidekorns. Die verschiedenen Kompartimente des Getreidekorns haben unterschiedliche Zusammensetzungen, die in Tabelle 1 dargestellt sind. Mais enthält zum Beispiel weniger Wasser und Proteine, aber mehr Lipide und Kohlenhydrate zu Weizen und Roggen. Hafer hat vergleichsweise hohe Lipidgehalte und einen etwas geringeren Kohlenhydratgehalt als andere Getreidearten (Rimbach, G. et al., 2010).

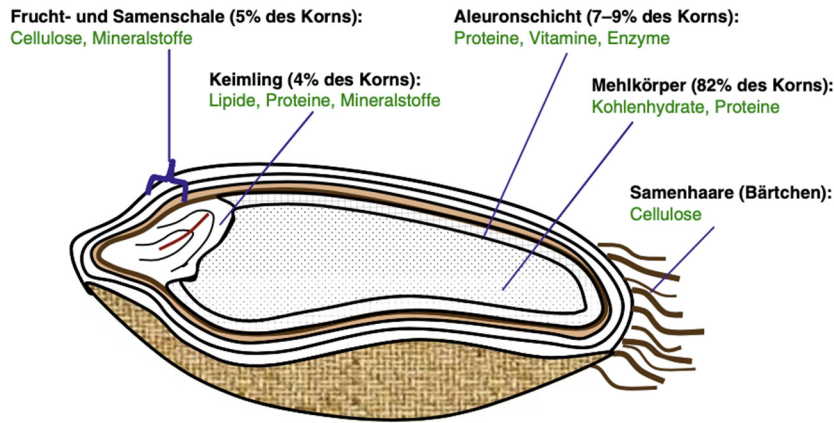


Abbildung 2: Aufbau und Bestandteile eines Getreidekorns (Rimbach, G. et al., 2010)

Tabelle 1: Nährstoffzusammensetzung der Getreidearten (g) bezogen auf 100 g ganzes Korn, Quelle nach Belitz, Hans-Dieter & Grosch, Werner & Schieberle (2008), eigene Darstellung 2024

	Weizen	Roggen	Mais	Gerste ¹	Hafer ¹	Reis ²	Hirse ³
Wasser	12,7	13,7	11,2	12,2	13,0	13,1	12,1
Proteine	11,4	9,5	8,7	11,2	10,7	7,8	10,6
Lipide	1,8	1,7	3,8	2,1	7,1	2,2	3,9
Kohlenhydrate	59,6	60,7	64,2	63,3	55,7	74,1	68,8
Ballaststoffe	13,3	13,2	9,7	9,8	9,7	2,2	3,8
Mineralstoffe	1,7	1,9	1,3	2,3	2,9	1,2	1,6

¹entspelzt, ²unpoliert, ³geschält

2.1.2 Eigenschaften spezifischer Getreidearten

1. Mais (*Zea mays* L.)

Mais gehört zur Gattung *Zea Mays* und zählt zu den bedeutendsten Getreidearten weltweit (Rimbach, G. et al., 2010). Ursprünglich vor etwa 7000 bis 10.000 Jahren in Mittelamerika domestiziert, verwandelten die Ureinwohner Nordamerikas Mais in eine Pflanze mit größeren Kolben und mehr Kornreihen. Dies führte zu einer Steigerung der Nährstoffdichte und machte Mais zu einer bedeutenden Nahrungsquelle (Ranum et al., 2014).

Mais wird derzeit in nahezu jedem Teil der Welt angebaut. Laut Kaushal et al. (2023) sind die USA der weltweit führende Anbieter von Mais, gefolgt von China und Brasilien. Die Maisproduktion lag im Jahr 2021 bei 1,2 Milliarden Tonnen und

verzeichnete damit das schnellste Wachstum im Vergleich zu den anderen bedeutenden Getreidearten, wie Reis, Weizen, Gerste und Sorghum (FAO, 2021). Mais findet nicht nur Verwendung beim Menschen, sondern auch in großen Mengen als Tierfutter und als Hauptrohstoff für verschiedene Industriebereiche wie die Biokraftstoffproduktion verwendet (Kaushal et al., 2023).

Das Getreide zählt zu den einjährigen Pflanzen, was bedeutet, dass er in einer Anbauperiode ausgesät und geerntet wird (Kaushal et al., 2023). Die Pflanze wächst hoch und erreicht Höhen von bis zu 2,5 m (Rimbach, G. et al., 2010). Sie bevorzugt wärmere Temperaturen als andere Getreidesorten (Shukla & Cheryan, 2001). Jede Pflanze trägt etwa zwei Kolben mit jeweils 816 Längsreihen von Körnern. Rund 50.000 verschiedene Maissorten sind bekannt, die sich in Farbe, Form und Größe sowie in der Beschaffenheit des Endosperms unterscheiden (Rimbach, G. et al., 2010). Bekannte Sorten umfassen *Zea mays* var. *indentata* (dent), *indurate* (flint), *amylacea* (flour), *saccharata* (sweet), *everta* (popcorn) (Nuss & Tanumihardjo, 2010).

Mais findet Verwendung in Produkten wie Maisgrieß (Polenta), Cornflakes, Popcorn, Maisstärke und anderen Erzeugnissen. Aufgrund des fehlenden Glutens ist Mais besonders für Menschen mit Glutenunverträglichkeit geeignet, kann aber selbst nur bedingt zum Backen verwendet werden (Rimbach, G. et al., 2010).

Ein wichtiger Teil des Mais ist die Maiskleie, die oft nicht vollständig genutzt wird. Beim Mahlprozesses der Maiskleie wird der Keim, Aleuronschicht, Testa, Perikarp und ein geringer Teil des Endosperms mitverarbeitet. Maiskleie ist durch ihren hohen Nährwert mit funktionellen Inhaltsstoffen gekennzeichnet und bietet zahlreiche gesundheitliche Vorteile (Saeed et al., 2021).

Nährstoffzusammensetzung

Maiskörner bestehen zu etwa 42 % aus essbaren Bestandteilen, darunter das Endosperm (82–83 %), der Keim (10–12 %), die Kleie (5–6 %) und die Spitzenkappe (1 %) (Nuss & Tanumihardjo, 2010; Ai & Jane, 2016).

Der Hauptbestandteil der Körner ist Stärke, die etwa 72 % des Trockengewichts ausmacht. Die Stärke besteht aus zwei Glukosepolymeren, aus Amylose und Amylopektin im Verhältnis von 25:75. Der Gehalt an Zucker beträgt zwischen 1 %

und 3 %, hauptsächlich Saccharose, sowie geringen Mengen an Maltose, Glukose, Fruktose und Raffinose. Der Keim enthält den größten Teil dieser freien Zucker, während Stärke überwiegend im Endosperm liegt (Nuss & Tanumihardjo, 2010).

Der Proteingehalt des Maiskorns beträgt etwa 10 % (Nuss & Tanumihardjo, 2010). Die Hauptproteine sind Zeine, eine Gruppe aus Prolaminen, die in α -, β -, γ - und δ -Zein unterteilt sind (Shewry & Halford, 2002). Diese Proteine sind reich an Glutaminsäure, Asparaginsäure und Arginin, jedoch arm an essenziellen Aminosäuren wie Lysin und Tryptophan (Culetu et al., 2021).

Die drittgrößte ernährungsphysiologische Komponente im Maiskorn nach Stärke und Protein ist Fett, hauptsächlich in Form von Öl. Der Fettgehalt liegt zwischen 3,5 % und 6 % des Gesamtgewichts des Korns, wobei etwa 85 % des Öls im Keim gespeichert sind. Dieses Öl besteht hauptsächlich aus ungesättigten Fettsäuren wie Linolsäure (60 %), Ölsäure (24 %) und Palmitinsäure (11 %) (Nuss & Tanumihardjo, 2010).

Mais bietet zudem wichtige Vitamine, darunter Provitamin A (Carotinoide), Vitamin E (Tocopherole). Im Vergleich zu Weizenkörnern enthält Mais geringfügig weniger Thiamin und etwa die Hälfte an Pantothersäure, Folsäure und Cholin. Es mangelt an bestimmten Nährstoffen wie den Vitaminen B12 und C. Bei den Mineralstoffen enthält Mais hauptsächlich Phosphor (in Form von Phytat), Kalium und Magnesium, diese machen fast 85 % des gesamten Mineralstoffgehalts der Körner aus (Nuss & Tanumihardjo, 2010).

2. Hafer (*Avena Sativa*)

Hafer gehört zur Gattung *Avena* und zählt zu den Rispengräsern, die sich in ihrer Klassifizierung etwas von den anderen Getreidearten unterscheidet. Die hexaploide Art *Avena sativa*, die auch als Saathafer bezeichnet wird, ist eine von rund 30 Arten. Die ersten Hinweise auf die landwirtschaftliche Nutzung von Hafer stammen etwa aus dem 5. Jahrtausend vor Christus. Aus dem Gebiet des heutigen Polens und der Schwarzmeerregionen (Rimbach, G. et al., 2010).

Im Jahr 2021 belegte Hafer den sechsten Platz in der globalen Getreideproduktion, nach Mais, Weizen, Reis, Gerste und Sorghum, mit den Hauptanbaugebie-

Einleitender theoretischer Hintergrund
ten in Europa, Kanada, Russland, Australien. 2020 wurden weltweit 25,33 Millionen Tonnen Hafer produziert, was im Vergleich zu 2019 einem Zuwachs von 10,65 % entspricht (K. Zhang et al., 2021).

Die Haferpflanzen sind krautig, erreichen eine Höhe von 0,6 bis 1,5 m, und haben charakteristisch hohle, rundliche Stängel sowie Rispenfruchtstände, die von anderen Getreidearten zu unterscheiden sind (Rimbach, G. et al., 2010). Die weltweit am häufigsten angebaute Haferart ist *Avena sativa*, die ihre Samen in einer Schale trägt, während in China vorwiegend *Avena nuda*, der schalenlose Nackthafer, kultiviert wird (K. Zhang et al., 2021).

Aufgrund seiner ernährungsphysiologischen Vorteile, die auf seine Ballaststoffe, funktionelle Proteine, Lipide, Stärkekomponenten und Phytochemikalien zurückzuführen sind, wird er vermehrt in einer Vielzahl von Lebensmitteln eingesetzt, darunter Babynahrung, Brot, Hafermilch, Getränke, Frühstückszerealien und Kekse (Rasane et al., 2013). In Industrieländern wird Hafer hauptsächlich als Futtergetreide verwendet (Rimbach, G. et al., 2010).

Hafer ist von Natur aus glutenfrei, wird jedoch aufgrund von Anbaumethoden und Verarbeitungsschritten häufig als glutenhaltig klassifiziert (Houben et al., 2012).

Nährstoffzusammensetzung

Hafer besteht zu etwa 60 % aus Stärke, diese ist hauptsächlich im Endosperm zu finden. Zu 14 % aus Protein, 7 % aus Lipiden und 4 % aus β -Glucan und weist im Vergleich zu anderen Getreidearten höhere Anteile an Proteinen und Lipiden auf. Er enthält hohe Konzentration an löslichen Ballaststoffen, vor allem β -Glucanen. Zudem bietet Hafer hohe Gehalte an Kalium und Phenole (K. Zhang et al., 2021).

2.2 Glutenfreie Backwaren

Die Zunahme von Zöliakie und Glutenunverträglichkeit führt zu einer steigenden Nachfrage nach qualitativ hochwertigen glutenfreien Produkten. Verschiedene glutenfreie Getreidearten wie Mais, Hafer, Reis, Hirse und Sorghum, sowie Pseudogetreiden wie Buchweizen, Quinoa und Amaranth werden in Rezepten ohne Gluten als zusätzliche Bestandteile eingesetzt (Y. Zhang et al., 2022). Gluten, ist

ein zentraler Bestandteil vieler Backwaren und beeinflusst entscheidend die Qualität des Teiges. Da Nicht-Weizenproteine nur schwer ein stabiles Proteinnetzwerk bilden können, bleibt es trotz der Getreidealternativen eine Herausforderung, hochwertiges Sauerteigbrot ohne Weizenmehl zu produzieren (Y. Zhang et al., 2022)

2.2.1 Herausforderung bei glutenfreien Teigen

Gluten ist ein komplexes Protein, dass sich während der Hydratation aus verschiedenen Proteinen bildet, die durch Disulfidbrücken verbunden sind. Diese Proteine umfassen Prolamine, die in Alkohol löslich sind und zur Viskosität und Dehnbarkeit des Teiges beitragen, sowie Gluteline, die in sauren und alkalischen Lösungen löslich sind und für die Zähigkeit und Elastizität sorgen. In Weizenbackwaren spielt Gluten eine entscheidende Rolle, da es ein elastisches Netzwerk bildet, das dem Teig seine Struktur verleiht und eine effektive Gasspeicherung während der Gärung ermöglicht. Für Teige ist es besonders wichtig, dass Glutenproteine bei Hydratation mit Wasser quellen und interagieren, was die Bildung eines stabilen, viskoelastischen Netzwerks ermöglicht (Rai et al., 2018).

Glutenfreie Produkte, stellen eine technologische Herausforderung dar. Das Fehlen von Gluten wirkt sich auf die Teig rheologie, den Produktionsprozess und die Qualität des Endproduktes aus (Houben et al., 2012). Glutenfreie Teige enthalten kein stabilisierendes Glutenetzwerk und wirkt sich so auf die Gashaltekapazität aus. Dies führt zu Problemen, wie vermindertes Volumen und unregelmäßiger Krumenstruktur des fertigen Produkts (Espinosa-Ramírez et al., 2020). Aufgrund der geringen Kohlendioxidbindungsaktivität bindet die Krume das Wasser nicht optimal, so dass die Wassermoleküle schneller in die Kruste diffundieren. Dies führt zu einer festeren Krume und einer weicheren Kruste, was auch die Haltbarkeit verkürzt und ein trockenes Mundgefühl hinterlässt (Houben et al., 2012).

Zur Verbesserung der Struktur glutenfreier Teige wurden unterschiedliche Ansätze untersucht, um das Glutennetzwerk imitieren. Dazu gehören der Einsatz von nährstoffreichen Zutaten wie Pseudogetreide, Proteinen, Emulgatoren und Ballaststoffen sowie verschiedenen Hydrokolloiden. Diese Zutaten dienen als Ersatz des Glutennetzwerks, erleichtern die Teigverarbeitung und steigern die ernährungsphysiologische Qualität (Bender & Schönlechner, 2020).

Bender & Schönlechner (2020) fassten die neuesten Ansätze zum Einsatz von Gluten von unterschiedlichen Studien, die zur Verbesserung glutenfreier Backwaren verwendet werden, in drei Hauptgruppen zusammen. Erstens in wasserbindende und filmbindende Inhaltsstoffe. Dazu gehören Hydrokolloide und Verdickungsmittel wie Johannisbrotkernmehl, Guarkernmehl, Xanthan, vorgelatinierte native oder modifizierte Stärken, auch Cellulose-Derivat und zuletzt die Bildung eines Hemicellulose-Netzwerks mittels Arabinoxylane (AXs). AXs zählen zu den Hemicellulosen und haben ihre Funktion als hydrokolloides Backhilfsmittel. Sie sind in der Lage, netzwerkbildende Eigenschaften zu bilden und somit die Qualität des Endprodukts zu verbessern. In Kapitel 2.3.2 wird der Einsatz von AX in Backwaren im Detail dargestellt. Zweitens in strukturbildende, volumengebende und geschmacksgebende Zutaten. Dazu zählen Proteine wie Soja-, Milch-, oder Fischproteine, modifizierte Proteine, Fette und Kohlenhydrate mit niedrigem Molekulargewicht. Und zuletzt in oberflächenaktive Stoffe (Emulgatoren). Nach Mohammadi et al. (2022) haben zunehmend Enzyme wie Amylase, Transglutaminase, Laccase, Lipase und Proteasen zur Verbesserung der Qualität und Funktionalität von glutenfreiem Brot eingesetzt. Diese Enzyme verbessern die Teighandhabungseigenschaften und erhöhen die Proteinfunktionalität und verlängern die Haltbarkeit von glutenfreien Broten. So haben beispielsweise Amylase und Amyloglucosidase nachweislich das Volumen und die Festigkeit des Brotes erheblich verbessert. α -Amylase wirkt durch Hydrolyse von α -(1-4)-Bindungen in Stärke, wodurch α -Dextrine mit niedrigem Molekulargewicht entstehen, die den Teigwiderstand während der Gärung verringern, was zu einem weichen und besseren handhabbaren Teig führt. Die Transglutaminase erleichtert die Bildung kovalenter Vernetzungen zwischen Proteinmolekülen, indem sie Acyltransferreaktionen katalysiert. Diese Vernetzung verstärkt das Proteinnetzwerk in glutenfreien Teigen und trägt dazu bei, Gas zu binden und die Textur und Struktur der Backwaren zu verbessern (Mohammadi et al., 2022).

2.3 Bedeutung von Hemicellulosen in glutenfreien Backwaren

Ballaststoffe werden nach den Leitlinien der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit als nicht verdauliche Kohlenhydrate und Lignin definiert, zu denen auch nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) gehören ("Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Carbohydrates and Dietary Fibre," 2016). Zu den

bedeutendsten Arten von Ballaststoffen, oder auch Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) genannt, gehören resistente Stärke, Cellulose, Hemicellulosen sowie Oligosaccharide, wie in Abbildung 3 dargestellt.

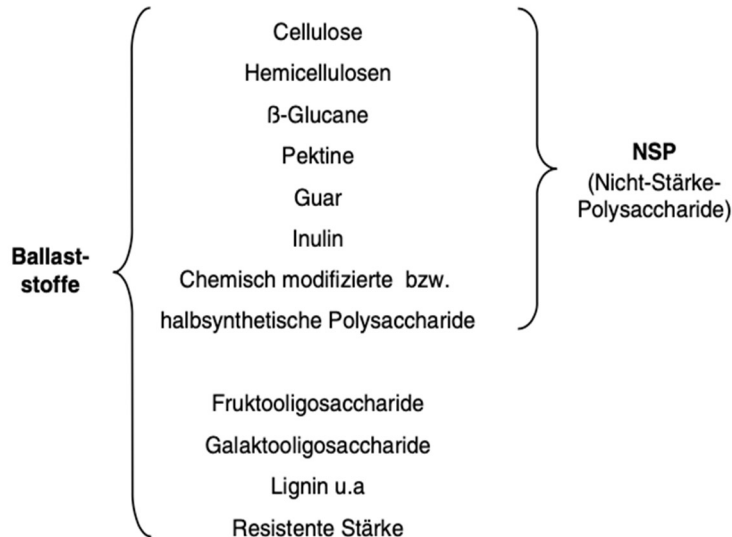


Abbildung 3: Darstellung der Ballaststoffe und Nicht-Stärke-Polysaccharide (Rimbach, G. et al., 2010)

Unter den Ballaststoffen sind Hemicellulosen besonders vielversprechend für hochwertige Anwendungen, da sie nach Cellulose die zweitgrößte Biomasse der Getreide darstellen (20–35 %). Im Vergleich zu Cellulose und Lignin sind Hemicellulosen stark verzweigt, stärker löslich und weisen einen niedrigeren Polymerisationsgrad auf sowie amorphe Regionen, was ihre Nutzung in polymeren Materialien, Lebensmitteln, Energie und Medizin erleichtert (Arzami et al., 2022). Bei den Hemicellulosen handelt es sich um heterogene Polysaccharide, die vorwiegend aus linearen und verzweigten Molekülen bestehen. Die verzweigten Moleküle bestehen vorwiegend aus Pentose- (Xylose und Arabinose) und Hexose-Einheiten (Glucose, Galactose, Mannose, Rhamnose, Glucuronsäure und Galactouronsäure). Ihre wichtigste Funktion besteht darin, die Zwischenräume zwischen der Cellulose- und Lignineinheiten auszufüllen, und interagieren somit eng mit anderen Zellwandbestandteilen. Der Hemicellulosegehalt von Getreidekleie ist im Vergleich zu Cellulose mehr als zweimal so hoch, was Getreidekleie zu einer ausgezeichneten Rohstoffquelle für die Extraktion und Isolierung von Hemicellulosen macht. Eine erhöhte Konzentration an Hemicellulosen ist ebenfalls in Roggenstroh, Gerstenhülsen, Gerstenstroh, Maiskolben und Maisstreu zu finden (Arzami et al., 2022). Anhand des aktuellen Wissens und der strukturellen

Variationen lassen sich Hemicellulosen grob in vier Hauptklassen unterteilen: Xylanglykane (Xylane), Mannoglykane (Mannane), gemischte β -Glucane und Xyloglucane. Dennoch stehen in Getreiderückständen und -nebenprodukten hauptsächlich Arabinoxylane (AXs) und Glucane (β -Glucan) im Fokus der Forschung (Arzami et al., 2022). Die Zusammensetzung dieser Hemicellulosen variiert stark, wie zum Beispiel zwischen Mais, der hauptsächlich Arabinoxylane enthält, und Hafer, der vorwiegend β -Glucane aufweist (Belitz, Hans-Dieter & Grosch, Werner & Schieberle, 2008).

2.3.1 Charakterisierung von Arabinoxylan (AX)

Arabinoxylane sind komplexe Polysaccharide, diese setzen sich strukturell aus Pentosen wie Xylose und Arabinose zusammen. Sie bestehen aus einer Abfolge von D-Xylopyranose-Einheiten (Xylp), die glykosidisch mit L-Arabinofuranose (Araf) in den Kohlenstoffpositionen C-2 und C-3 verbunden sind (Lin et al., 2021). Diese Moleküle bilden ein lineares Rückgrat aus $\beta(1,4)$ -verknüpften D-Xylopyranose-Einheiten, an die die α -L-Arabinofuranose-Einheiten entweder einzeln an den Positionen O-2 oder O-3 oder doppelt an beiden Positionen O-2 und O-3 der Seitenketten angehängt sind. Darüber hinaus können Xylp durch Acetylgruppen, D-Glucopyranosyluronsäure und deren 4-O-Methyläther substituiert sein. Abbildung 4 (a) zeigt die allgemeine chemische Struktur von Arabinoxylanen. Jedoch variiert die Struktur von AXs je nach Getreidegewebe und -art. Aus diesem Grund ist eine Festlegung einer einheitlichen Struktur der AX schwierig (Izydorczyk & Biliaderis, 2007).

(a): Arabinoxylan

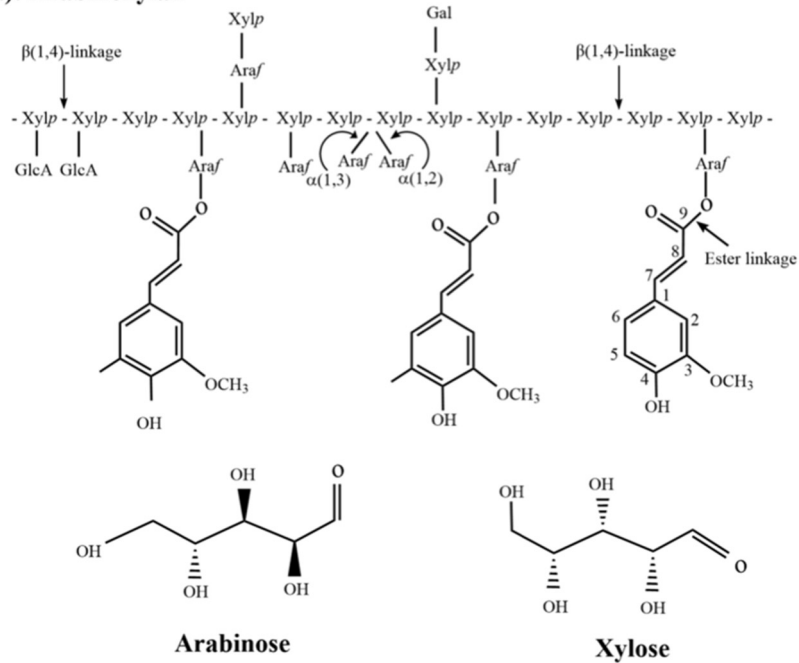


Abbildung 4: Allgemeine chemische Struktur von Arabinoxylan (oben), bestehend aus einer linearen Gerüstkette aus $\beta(1,4)$ -verknüpften D-Xylopyranosyl-Resten (Xylp) an die α -L-Arabinofuranose-Einheiten (Araf) gebunden sind; Substitutionsmöglichkeit durch Glucopyranosyluronsäure (GlcA) und Bildung von Esterbindungen mit anderen Molekülen; sowie unten die Struktur von Arabinose und Xylose (Arzami et al., 2022)

Die Klassifizierung von AX erfolgt nach ihrer Wasserlöslichkeit in wasserextrahierbare (WE-AX) und wasserunlösliche (WU-AX) Arabinoxylane. WE-AX sind locker an der Zelloberfläche befestigt. Im Gegensatz dazu sind WU-AX durch kovalente und nicht-kovalente Bindungen mit anderen AX und Zellwandbestandteilen wie Proteine, Lignin und Zellulose verknüpft (Courtin & Delcour, 2002). Die Funktionalität der AXs wird durch strukturelle Eigenschaften wie Substitutionsmuster, Ferulasäurevernetzung und Polymerkettenlänge bestimmt. Der Substitutionsgrad des Arabinoxylan (AX)-Rückgrats schwankt zwischen den verschiedenen Getreidesorten und Gewebetypen. AX mit stark unsubstituierten Xyloseresten und stärkere Verbindungen mit Lignin neigen zur Aggregation und sind daher weniger wasserlöslich, während stärker substituierte AX bzw. mit einem höheren Gehalt an Arabinoseresten wasserlöslich sind (Tse & Schendel, 2023; Arzami et al., 2022). Das Verhältnis von Arabinose zu Xylose (A/X) in Arabinoxylanen variiert je nach Quelle des Getreidegewebes und dient als Indikator für den Verzweigungsgrad dieser Verbindungen. Zum Beispiel weisen Körner wie Weizen und Roggen tendenziell ein geringeres A/X-Verhältnis auf (Weizenendosperm: 0,50–0,71; Roggenendosperm: 0,48–0,55), während Weizenkleie ein

höheres Verhältnis (1,02–1,07) und Maiskleie ein breiteres Verhältnis (0,75–1,82) vorweist (Z. Zhang et al., 2014).

Eine besondere Eigenschaft der Arabinoxylane ist die Ferulasäure, die in Form eines Esters an der O-5 Position der Arabinosereste gebunden ist. Diese Ferulasäuremoleküle können mit anderen Molekülen wie β -Glucan, Lignin, Cellulose, Glucose oder Proteinen interagieren, was ihre funktionellen Eigenschaften beeinflusst (Arzami et al., 2022; Z. Zhang et al., 2014). Die 5-O-(trans-feruloyl)-L-Arabinofuranose Seitenkettenstruktur ist die häufigste und eine der einfacheren Strukturen. Die in Getreidekörnern vorhandenen Arabinoxylane können jedoch viel komplexere feruloylierte Seitenketten-Oligosaccharide aufweisen. Im Vergleich zu Weizen, Roggen und Gerste weist Mais deutlich höhere Mengen an Ferulat-Oligomeren auf. In Maisfasern können zwischen 1,5 und 3 % Ferulasäure bezogen auf das Trockengewicht, vorkommen (Valério et al., 2021). Feruloylierte Oligosaccharid-Seitenketten sind gegenüber dem enzymatischen Abbau resistent. Außerdem verringert ein hoher Ferulisierungsgrad die Wasserlöslichkeit des AX-Polymers. Dieser wird jedoch durch etwaige Beanspruchung des Rohstoffes wie Extraktionsprozesse reduziert, was wiederum die Löslichkeit der AX erhöht. In ihrem natürlichen, vernetzten Zustand haben die unlöslichen AX ein beträchtliches Wasserbindungsvermögen und können daher besser Wasser in Teigen und Backwaren halten als zum Beispiel Getreideproteine oder native Stärken (Tse & Schendel, 2023). Eine weitere Eigenschaft ist die Polymerkettenlänge. Der Polymerisationsgrad von Arabinoxylanen variiert zwischen Getreidearten und Wachstumsperioden. Die genaue Bestimmung der Kettenlänge erfolgt mittels Hydrolyse der Ferulasäureverlinkungen (Tse & Schendel, 2023).

Extraktionsbedingungen wie Lösungsmittel, pH-Wert und Temperatur wirken sich erheblich auf die chemischen und funktionellen Eigenschaften der isolierten Arabinoxylane und deren Wirkung auf glutenfreie Teige. Wasserextrahierbare AXs sorgen für eine Stabilisierung der Grenzfläche zwischen Gaszellen und Teig, was zu einer besseren Gasretention und damit zu einem höheren Brotvolumen und einer gleichmäßigen Krume führt. Im Kontrast dazu, beeinträchtigen nicht extrahierbare AXs die Teigstruktur, was das Volumen und die Textur des Brotes verschlechterten. Zudem hängen die rheologischen Effekte der AX von der Art des verwendeten Mehls, der AX-Konzentration und der Anwesenheit von Oxidations-

mittel ab. Diese Faktoren beeinflussen die Bildung verschiedener Hemicellulose-netzwerke, die wiederum die Brotqualität bestimmen (Bender & Schönlechner, 2020; Bender et al., 2018).

Tabelle 2 zeigt die Gehalte von Arabinoxylanen (AX) und Glucanen (β -Glucanen) in verschiedenen Getreidequellen wie Kleie, Schalen, Stroh und Maiskolben auf. Studien zeigen, dass die AX-Gehalte stark variieren, abhängig von der Quelle. Beispielweise enthält Maiskleie 27,2–29,9 % AX, während Reiskleie 4,8–5,1 % aufweist. Glucane wie β -Glucanen treten ebenfalls in unterschiedlicher Konzentration auf, mit höheren Gehalten in Haferkleie (5,4–8,5 %) und niedrigen in Mais (0,1 %). Diese Unterschiede in der Zusammensetzung und Funktionalität zeigen, dass die Extraktionsparameter genau eingestellt werden müssen, um die gewünschten Eigenschaften von AX und damit die Qualität der glutenfreien Backwaren zu optimieren (Arzami et al., 2022).

Tabelle 2: Mengen (%) von Arabinoxylanen und Glucanen in Getreiderückstände und Nebenprodukte (Arzami et al, 2020), eigene Darstellung 2024.

Quelle	Getreideart	Arabinoxylane	Glucane (β -Glucane)
Kleie	Gerste	19.0–21.4	6.15–7.58
	Hafer	3.0	5.4–8.5
	Reis	4.8–5.1	0.04–0.21
	Weizen	18–24	2.1
	Roggen	12–18	2.9
	Mais	27.2–29.9	0.1
Schalen	Gerste	19–20	37–40
	Hafer	3.5	37.10
	Reis	8.4–9.2	34.2
	Weizen	-	38.2
	Sojabohne	13.1	-
Stroh	Gerste	11–14	33.6
	Hafer	NR	32.1
	Reis	11.0–18.3	34.1
	Weizen	-	30.4
	Roggen	-	33.12
	Mais	27–30	40.9
Maiskolben	Mais	12.8	41.6

2.3.2 Bedeutung von Arabinoxylanen (AX) in Backwaren

Wie im Kapitel 2.3.1 erwähnt, werden Arabinoxylane je nach ihrer Löslichkeit in wasserlösliche (WE-AX) und wasserunlösliche AX (WE-UX) eingeteilt. Viele Untersuchungen haben ergeben, dass WE-AX die Mehqualität verbessern können,

wohingegen WU-AX einen negativen Effekt haben. In Weizenbackwaren haben Arabinoxylane durch ihre Wechselwirkung mit Wasser, Gluten und Stärke einen erheblichen Einfluss auf die Brotqualität, was sich in Eigenschaften wie Gasretention, spezifischem Volumen und Teig rheologie widerspiegelt (Zhu et al., 2023; Tse & Schendel, 2023).

WE-AX spielen eine Rolle bei der Teigbildung und beeinflussen die Bindungsfähigkeit von Makromolekülen wie Stärke und Proteinen. Studien zeigen, dass der Zusatz von WE-AX die Teigentwicklungszeit, Stabilitätszeit und die Dehnbarkeit erhöht. WE-AX bilden eine strukturierte Matrix im Teig und verbessern die Wasseraufnahme und -stabilität. Der Zusatz von WE-AX führt zu Veränderungen in der Proteinstruktur im Teig, der Anteil an α -Helix-Strukturen wird erhöht und der Anteil der β -Faltblatt- und ungeordneten Struktur verringert sich. Diese Veränderungen kommen durch Wasserstoffbrücken und elektrostatische Interaktionen zwischen WE-AX und den Proteinen zustande. Gleichzeitig ziehen WE-AX viel Wasser an, wodurch die Stärke im Teig weniger hydratisiert wird. Dies führt zu einem Anstieg der Verkleisterungstemperaturen und einem Rückgang der Viskosität des Teiges. Nach dem Backvorgang führen die im Teig vorhandenen WE-AX zu einem höheren spezifischen Volumen und einer weicheren Krume, die auch während der Lagerung beibehalten bleibt (Zhu et al., 2023).

WU-AX haben eine höhere Wasserbindungskapazität, sie können zwischen 6,7–9,9 g Wasser/g WU-AX binden im Vergleich zu WE-AX, die 3,5–6,3 g Wasser halten können. Dies behindert die Hydratation des Glutens und verringert die Dehnbarkeit des Teiges sowie die Gesamtqualität des Brotes. Die enzymatische Solubilisierung von WU-AX zu WE-AX verbessert das Brotvolumen, da WE-AX das Wasser umverteilt und die Hydratation des Glutens fördert. Während des Mischens und der Gärung steigt der WE-AX-Gehalt an, was auf die endogene Xylanaseaktivität zurückzuführen ist. Diese Enzyme lösen einen Teil der WU-AX in WE-AX auf, wobei die Xylanaseaktivität je nach Weizensorte variiert. WE-AX verbessert die Teigviskosität, was die Glasblasenwanderung verlangsamt und somit das Brotvolumen erhöht (Tse & Schendel, 2023).

Es gibt jedoch eine obere Konzentrationsgrenze, bei der zu viel WE-AX die Teigviskosität und das Brotvolumen negativ beeinflussen. Laut Zhu et al. (2023) treten bei Konzentrationen über 5 % WE-AX nicht kovalente Wechselwirkungen innerhalb des Netzwerkes auf, die die Teigstruktur stören und mechanische

Eigenschaften während des Backvorgangs beeinträchtigen. Konzentrationen über 10 % verhindern die Bildung eines kohärenten Netzwerks, da WE-AX physikalische Barrieren bilden und um Wasser konkurrieren, was die Gaszellen destabilisiert und zu einer gröberen, unregelmäßigen Zellstruktur führt (Zhu et al., 2023).

WE-AX interagieren auch mit Gluten, indem es die Konformation der Glutenproteine verändert und die Bildung von Disulfidbindungen stabilisiert. WU-AX hingegen behindern die Wechselwirkungen mit dem Gluten und vergrößern die Porengröße im Glutennetzwerk. WE-AX fördern die Aggregation von Glutenin und Gliadin, indem sie Wasserstoffbrückenbindungen mit Tyrosinresten aus Weizengluten bilden. Darüber hinaus können die Ferulasäurereste der WE-AX kovalente Bindungen mit Tyrosinresten eingehen, was das Glutennetzwerk weiter stärkt (Tse & Schendel, 2023).

In Bezug auf Stärke beeinflussen WE-AX die Retrogradation (Rekristallisation der Stärke) und wirken sich auf die Frische des Brotes aus, indem sie die Wasserverteilung im Teig ändern und die Stärkeverbindungen stören. WE-AX mit einem höheren Molekulargewicht haben eine stärkere Hemmwirkung auf die langfristige Retrogradation, insbesondere durch Wechselwirkungen mit Amylopektin. Sie verringern die Festigkeit der Krume, was die Haltbarkeit des Brotes verbessert. Darüber hinaus verringern WE-AX die Stärkeverdaulichkeit durch Amylasen, was sowohl für die Teigverbesserung als auch für die menschliche Ernährung wichtig ist (Tse & Schendel, 2023).

Die Zugabe von Arabinoxylanen hat auch einen Einfluss auf den Nährwert der Backwaren. Die Zugabe von AX in Backwaren führt zu einem erhöhten Ballaststoffgehalt und eine verbesserte Blutzuckerkontrolle. Produkte mit mehr als 6 g Ballaststoffen pro 100 g können als „ballaststoffreich“ angesehen werden, wobei 10 % AX diese Anforderung erfüllen, aber eine Anpassung der Rezeptur erfordern. Höhere Molekulargewichte von AX verringern die Verdaulichkeit der Stärke und erhöhen den Anteil an resistenter Stärke. AX bietet auch antioxidative Vorteile durch Ferulasäure. Der gesamte Brotzubereitungsprozess, wie das Mischen, die Fermentation, das Backen und die in Mehl enthaltenen Xylanasen, kann jedoch die gesundheitlichen Vorteile von AX beeinträchtigen, da die Aggregation und Solubilisierung von WE-AX beeinflusst wird (Pietiäinen et al., 2022)

2.3.3 Isolierung von Arabinoxylanen

Die Forschung hat trotz der komplexen Getreidekornmatrix verschiedene Methoden zur Hemicelluloseextraktion identifiziert. Die Struktur von Cellulosen, Hemicellulosen und Lignin sind sehr komplex, sie sind hauptsächlich über Ether-, Ester- und Wasserstoffbrückenbindungen eng miteinander verknüpft (Arzami et al., 2022). Diese Struktur in Verbindung mit ihrer begrenzten Wasserlöslichkeit erschwert die Extraktion von Hemicellulosen mit Wasser. Daher sind Chemikalien wie Laugen und Säuren, Enzyme und mechanische Verfahren erforderlich, um die Strukturen zu verändern und Bindungen aufzuheben (Z. Zhang et al., 2014). WE-AX sind nur schwach an der Zellwand der Pflanze gebunden und können mittels Wasser extrahiert werden. Alkalische Lösungen (NaOH , Ba(OH)_2 , Ca(OH)_2 , KOH) werden üblicherweise zur Extraktion von WU-AX verwendet. Enzymatische Behandlungen (mit Xylanasen und Esterasen) und mechanische unterstützte Extraktionsverfahren (Ultraschall-, Dampfstrahl-, Mikrowellen- und unterkritische Wasserextraktion) werden ebenfalls eingesetzt, um die Ausbeute zu erhöhen und Ferulasäure-gebundene AX zu erhalten. Die Extraktionsverfahren sollten entsprechend angepasst werden, um den Endospermgehalt in den verschiedenen Kleieproben zu minimieren, da Kleie aus verschiedenen Getreidesorten unterschiedlich zusammengesetzt ist. Weizenkleie enthält beispielsweise einige andere Schichten, Gerstenkleie weist einige Spelzenreste auf, und Kleie aus Hafer und Mais enthält einen erheblichen Anteil an stärkehaltigem Endosperm (He et al., 2021)

Abbildung 5 stellt das typische Verfahren zur Extraktion von WE-AX und WU-AX aus verschiedenen Getreidesorten und -fraktionen dar. Vor der eigentlichen Isolierung wird das Ausgangsmaterial häufig enzymatisch oder mechanischen Vorbehandlungen unterzogen, um die Effizienz der Extraktion zu verbessern. Nach der Trennung der festen und flüssigen Phasen mittels Zentrifuge, Membranfiltration oder Siebung erhält man wasserlösliche und wasserunlösliche Arabinoxylane im Überstand. Die wasserunlöslichen AX im Rückstand werden mit Hilfe eines chemischen oder enzymatischen Verfahrens weiter extrahiert. An die Extraktion schließen sich Schritte zur Reinigung und Filtration der AX an. Schließlich werden diese getrocknet, um das Arabinoxylan-Extrakt zu erhalten.

Einleitender theoretischer Hintergrund

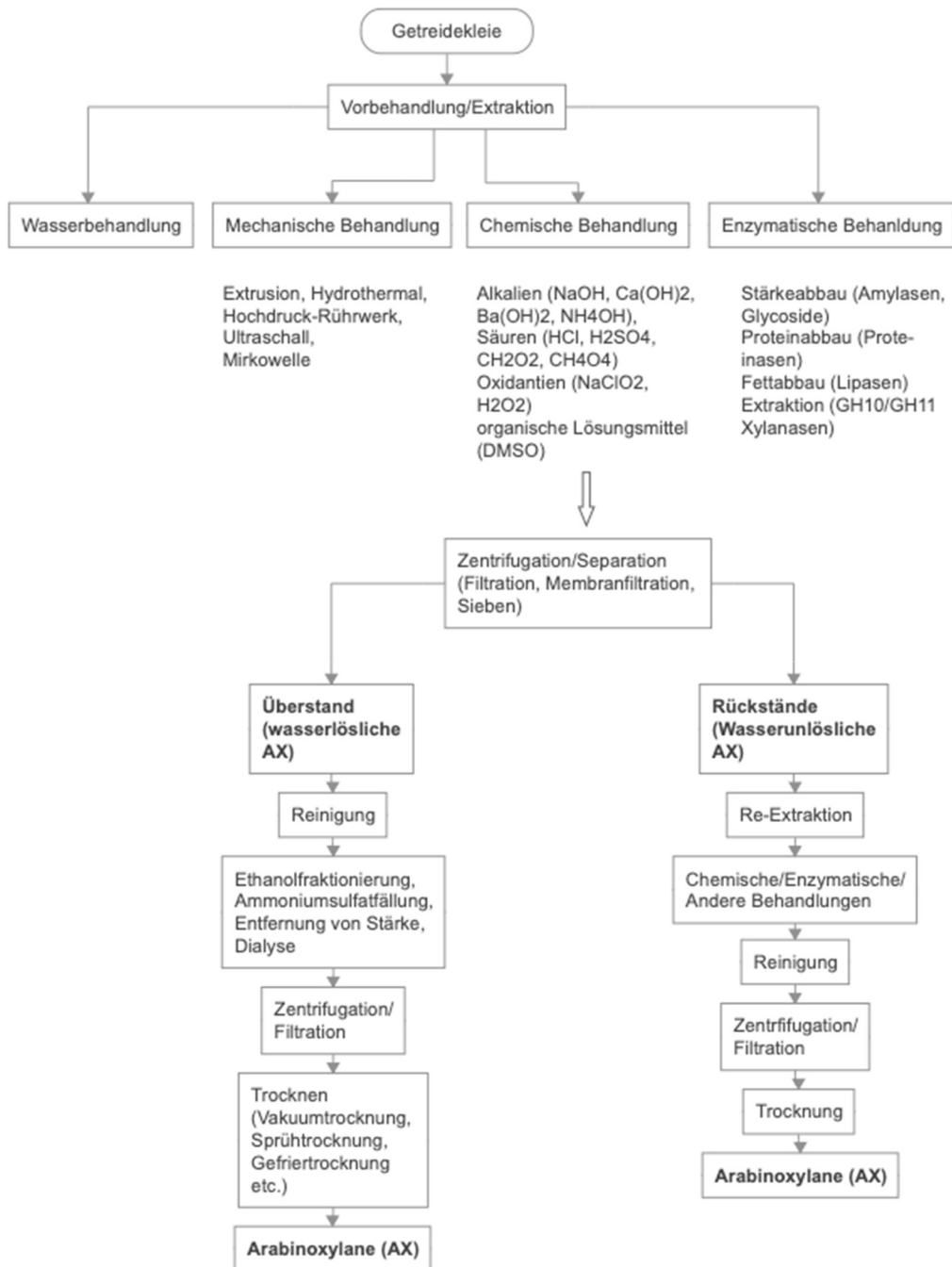


Abbildung 5: Flussdiagramm der Extraktionsmethoden für die Isolation von wasserlöslichen und wasserunlöslichen AXs aus Getreidekleie, nach Zhang et al. (2014), eigene Darstellung 2024

Wasserextraktion

Wasserextraktion kann zur Gewinnung von WE-AX verwendet werden, wenn die Temperaturen unter 100 °C liegen, oder bei hohen Temperaturen (über 100 °C) und unter hohem Druck. Allerdings ist die Ausbeute bei niedrigen Temperaturen gering und der Vorgang zeitaufwendig (Z. Zhang et al., 2014). Die Kombination von Wasserextraktion und mechanischer Behandlung, auch bekannt als hydrothermale Behandlung, erhöht die Ausbeute bei hohen Temperaturen (200-600 °C) und hohem Druck (540 MPa). Zhang et al. (2014) haben zusammengefasst, dass Hemicellulose bei einer Temperatur mehr als 180 °C problemlos aus Pflanzenmaterial isoliert werden kann, genauso wie bei einer Temperatur von 200-230 °C, bei der sie über 90 % löslich gemacht wurde. Die Struktur und die Funktionalität von AX kann jedoch durch hohe Temperaturen und einen hohen Druck massiv beeinträchtigt werden (Z. Zhang et al., 2014).

Alkaliextraktion

Bei der Alkaliextraktion werden Alkalilösungen wie Natriumhydroxid (NaOH), Bariumhydroxid ((Ba(OH)₂), Calciumhydroxid ((Ca(OH)₂)), Natriumcarbonat (Na₂CO₃) und Kaliumhydroxid (KOH) als Extraktionsmittel verwendet. Diese brechen Wasserstoff- und Esterbindungen und lösen die Zellwandmatrix auf, was die Löslichkeit der Arabinoxylane erhöht (Z. Zhang et al., 2014). Je nach Ausgangsmaterial variiert die Wahl der Lösungsmittel, Temperaturen und Zeiten.

Säureextraktion

Bei der Säureextraktion werden anorganische Säuren wie Salzsäure (HCl), Schwefelsäure (H₂SO₄) sowie organische Säuren wie Essig- und Ameisensäure eingesetzt. Optimale Bedingungen für eine hohe Ausbeute an Hemicellulosen und Zellwandkomponenten waren laut Zhang et al. (2014) eine Mischung aus Ameisen- und Essigsäure und Wasser. Dabei wurden 29,6 % Hemicellulosen gewonnen. Diese enthielten etwa 78,1 % AX mit einem geringen A/X-Verhältnis unter 0,1. Die starke Säurehydrolyse spaltete die Arabinoseseitenketten der Xylane vom Rückgrat ab. Im Vergleich dazu führte die Extraktion mit zwei organischen Extraktionsmittel (Methanol und Ethanol) zu einer geringeren Ausbeute (5,5 % bzw. 8,6 %) (Z. Zhang et al., 2014).

Organische Lösungsmittel

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Natriumchlorid (NaClO_2) sind organische Lösungsmittel, die Lignin oxidieren und die Vernetzungen spalten. Dies trägt zur Auflösung von Hemizellulosen und Ligninen bei (Z. Zhang et al., 2014).

Enzymatische Extraktion

Um WU-AX selektiv abzubauen und es sowohl löslich als auch extrahierbar zu machen (Umwandlung zu WE-AX), werden bei der enzymatischen Extraktion bestimmte Enzyme wie Xylanasen und Esterasen eingesetzt. Im Vergleich zu chemischen Verfahren kann die Ausbeute von Lignozellulosestoffen aufgrund ihrer komplexen Struktur und das Vorhandensein von Enzyminhibitoren geringer ausfallen. Eine Mischung aus mehreren Enzymen wird oft genutzt, um die Extraktionsausbeute zu verbessern (Z. Zhang et al., 2014).

Mechanische Extraktion

Zur Verbesserung der Extraktionseffizienz von Hemizellulosen werden Ultraschall, Mikrowelle und Extrusion als Vorbehandlungsmethoden verwendet. Diese werden oft in Verbindung mit Wasser- und chemischen Verfahren angewendet (Z. Zhang et al., 2014).

Alkalische Extraktion sind gängige Methoden zur Gewinnung von Arabinoxylanen, da sie zu AX mit hoher Molekülmasse und hohen Arabinose-Xylose-Verhältnis (Ara/Xyl) führen. Jedoch bleibt meistens wenig oder keine Ferulasäure (FA) gebunden (He et al., 2021).

Doner et al. (1998) zeigten, dass die Wahl des Alkalilösungsmittels die Molekülmasse beeinflusst. NaOH erzeugt höheres Molekulargewicht als $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Ein höherer pH-Wert begünstigt die Gewinnung verzweigter AX, wie Bender et al. (2017) feststellten. Im Vergleich zu anderen Lösungsmitteln führte $\text{Ca}(\text{OH})_2$ zu höherem A/X-Verhältnis und verringerte den Gehalt an Proteinen und β -Glucane, was die Reinheit der AX erhöht.

Die Extraktionsbedingungen wie pH-Wert, Reagenzien und Behandlungszeit beeinflussen die Molekülmasse der AX. Zhang et al. (2014) zeigten, dass längere Behandlungszeiten bei 1 % NaOH (190 °C) das Molekulargewicht durch Fragmentierung verringert. Yilmaz-Turna et al. (2020) erhöhten die AX-Ausbeute durch

Einleitender theoretischer Hintergrund
eine Kombination aus Milchsäuregärung, enzymatischem Stärkeabbau und subkritischer Wasserextraktion, wobei 69,9 % AX isoliert wurden.

2.4 Bedeutung von Proteinen in glutenfreien Backwaren

Das Ziel des Zusatzes von Proteinen in glutenfreien Teigen ist es, ein Proteinnetzwerk zu schaffen, das die Eigenschaften von Gluten nachahmt und dadurch Backqualität und den Nährwert des Brotes verbessert. Diese Proteine können tierischen oder pflanzlichen Ursprungs sein. Zu den pflanzlichen Proteinquellen gehören Reis-, Mais-, Hülsenfrucht- und Ölsaatenprotein (Skendi et al., 2021). Reisproteine, aus Reismehl gewonnen, wird unter den Getreidemehlarten als das am besten geeignete für die Herstellung von glutenfreiem Brot angesehen. Es ist hypoallergen, leicht verdaulich und geschmacksneutral, was bedeutet, dass es den Geschmack des Endproduktes nicht beeinträchtigt. Außerdem verbessert es den Proteingehalt des Brotes erheblich (Skendi et al., 2021). Ein weiteres wichtiges Protein ist Zein, das Hauptprotein im Mais. Zein entwickelt elastische Fasern in der Stärkematrix, wenn es über seine Glasübergangstemperatur von 40 °C erhitzt wird. Diese Fibrillen sorgen bei glutenfreien Teigen für eine Verbesserung der Dehnbarkeit von Stärketeigen und führt zu einer ähnlichen festen Brotkrume wie bei Weizenbroten. Zein wird in Konzentrationen von 2,5–5 % verwendet, um die Textur und Struktur von Brot zu optimieren (Berta et al., 2015; Skendi et al., 2021). Neben Getreideproteinen besteht ein großes Interesse an Proteinen aus Hülsenfrüchten wie Erbsen, Lupinen und Sojabohnen. Diese Proteine sind charakterisiert durch ein ausgewogenes Aminosäureprofil, vor allem durch ihren hohen Lysingehalt. Sie sorgen nicht nur für eine Verbesserung des Aminosäureprofils von glutenfreiem Brot, sondern stärken auch die Proteinmatrix in diesen Broten. Leguminosenproteine wirken sich positiv auf die Struktur und das Volumen des Brotes aus und machen die Krume poröser und die Kruste dunkler (Horstmann et al., 2017). Ölsaatenproteine, aus Raps und Sonnenblumen, sind Proteine die Textur und die Frische von glutenfreiem Brot aufgrund ihres hohen Wasserbindungsvermögen und hoher Emulsionsstabilität positiv beeinflussen können (Skendi et al., 2021). Zur Steigerung des Proteingehalts von glutenfreiem Brot und zur Verbesserung des Aminosäureprofils werden häufig tierische Proteine, vor allem aus Milch und Eiern, verwendet. Zu den Eigenschaften tierischer Proteine zählen eine gute Löslichkeit, eine hohe Stabilität, Emulgier- und Schaumbildungsfähigkeit. Studien zeigen jedoch, dass tierische Proteine die

Stärkekörner in glutenfreien Broten mit einem Film, vermutlich eine Mischung aus Hydrokolloiden und tierischem Protein, überziehen. Dies führt zu einer weniger knusprigen Kruste. Tierische Proteine beeinflussen auch die Farbe der Kruste, indem sie Maillard-Reaktionen mit Kohlenhydraten auslösen, was zu einer dunkleren und röteren Kruste führt (Skendi et al., 2021; Pico et al., 2019).

2.4.1 Getreideproteine

Wie schon im Kapitel 2.4 erwähnt, können Proteine aus verschiedenen Pflanzenquellen gewonnen werden. Die verschiedenen Pflanzenproteine unterscheiden sich aufgrund ihrer Löslichkeit und Extrahierbarkeit. Sie lassen sich einteilen in Albumine (wasserlöslich und hitzestabil), Globuline (salzlöslich), Prolamine (alkohollöslich und hitzestabil) und Gluteline (säure- oder alkalilöslich). Bei den Getreideproteinen handelt es sich überwiegend um Prolamine und Gluteline. Getreideproteine besitzen viele funktionellen Eigenschaften wie hohe Löslichkeit, Wasserbindungskapazität, Emulgierfähigkeit, Schaumbildungsfähigkeit und eine niedrige Gelierkonzentration. Die Löslichkeit eines Proteins ist der Prozentsatz, der unter bestimmten Bedingungen, wie Temperatur, Ionenstärke, pH-Wert, in einem spezifischen Lösungsmittel löslich ist. Dieses Merkmal hat einen großen Einfluss auf andere funktionelle Eigenschaften wie Bindungs-, Emulgier-, Schaum- und Gelfähigkeiten. Im Allgemeinen sind Proteine löslicher, wenn Wechselwirkungen zwischen Protein und Lösungsmittel vorherrschen. Außerdem hat die molekulare Struktur des Proteins einen großen Einfluss auf die Löslichkeit. Große Proteine haben in der Regel eine niedrigere Wasserlöslichkeit als kleine. Eine hohe Oberflächenhydrophobie führt daher zu einer Verringerung ihrer Wasserlöslichkeit, da hydrophobe Anziehungskräfte gestärkt sind. Zein oder Gliadin besitzen zum Beispiel einen hohen Anteil an unpolaren Oberflächengruppen und daher eine geringere Wasserlöslichkeit. Zusätzlich wird die Löslichkeit stark vom pH-Wert beeinflusst. Proteine präzipitieren um den isoelektrischen Punkt. Nahe an diesem Punkt ist die Ladung des Proteins neutral, was die elektrostatische Abstoßung zwischen den Proteinmolekülen verringert. Diese verringerte Abstoßung begünstigt die Bildung von Proteinaggregaten und führt zur Ausfällung der Proteine (Hadidi et al., 2023).

2.4.2 Isolierung von Getreideproteine

Um Pflanzenproteine, wie Getreideproteine zu isolieren, wurden verschiedene konventionelle und nicht-konventionelle Methoden entwickelt. Ziel ist es möglichst hohe, reine Ausbeuten an Proteinen aus Getreidequellen, für die Verwendung in Lebensmittel zu gewinnen, ohne ihre Funktionalität stark zu beeinträchtigen. Daher spielen Faktoren wie Extraktionszeit, Lösungsmittel, pH-Wert, Ionenstärke und Temperatur bei der Isolierung eine wichtige Rolle (Hadidi et al., 2023). Zu den konventionellen Isolierungsverfahren gehören zum Beispiel die wässrige Extraktion, Alkali- und Lösungsmittlextraktion und der Einsatz von Detergenzien. Nicht-konventionelle Extraktionstechniken beinhalten eher modernere Technologien wie den Einsatz von Mikrowellen, Ultraschall, hochintensive Impulsen und Behandlungen mit Enzymen (Chandran et al., 2023). Für die Isolierung von Proteinen aus pflanzlichen Quellen werden meist konventionelle Methoden wie die alkalische Extraktion mit isoelektrischer Fällung, mizellare Fällung und die Salzextraktion mit anschließender Dialyse angewandt (Hadidi et al., 2023).

Die Alkalische Extraktion, gefolgt von einer Isoelektrische Fällung ist die gängigste und kosteneffektivste Methode der Proteinisolierung. Bei dieser Methode werden zuerst die Proteine in einer stark alkalischen Lösung (pH 8–12) aus der Zellwandmatrix gelöst. Durch die Isolierung bei hohem pH-Wert lösen sich die Proteine besser, was die Proteinausbeute erhöht. Die übrig gebliebenen unlöslichen Stoffe können dann mittels Absetzens, Filtration oder Zentrifuge entfernt werden. Der flüssige Überstand, der die löslichen Proteine beinhaltet, wird dann auf den isoelektrischen Punkt (pH-Wert) der Proteine eingestellt, was zur Ausfällung der Proteine führt. Die Proteine können anschließend gesammelt und getrocknet werden. Auch wenn diese Methode zu den beliebtesten zählt, bringt sie einige Nachteile mit sich, wie zum Beispiel geringe Ausbeuten, eine geringe Reinheit, sowie Funktionsverlust und lange Extraktionszeiten (Hadidi et al., 2023). Die richtige Einstellung des pH-Wertes, der Temperatur und Extraktionszeit ist entscheidend. Durch einen zu hohen pH-Wert kann es dazu führen, dass die Proteine sich aggregieren und denaturieren, was sich negativ auf ihre Löslichkeit und Stabilität auswirken kann. Ebenfalls muss auf die Temperatur und die Dauer der Extraktion geachtet werden. Eine Extraktion kann zwar durch höhere Temperaturen und längere Zeiten erleichtert werden, aber ebenso auch die Denaturierung

begünstigen (Chandran et al., 2023). Ein weiterer Nachteil ist der Funktionsverlust, durch die alkalische Behandlung kann es zu einem Verlust der funktionellen Eigenschaften der Proteine kommen, ebenso zu Veränderungen der Proteinverdaulichkeit (Hadidi et al., 2023).

Die Isolierung der Proteine aus Pflanzenmaterialien kann zu geringen Ausbeuten führen, da einige pflanzliche Proteine starke komplexe Bindungen (physikalische oder kovalente) mit Kohlenhydraten (Cellulose, Hemicellulose und Pektin) eingehen und somit die Freisetzung der Proteine erschwert wird, da die Löslichkeit herabgesetzt wird (Hadidi et al., 2023). Proteine interagieren kovalent mit Arabinoxylanen und bilden eine komplexe Polysaccharid-Proteinmatrix, indem sie Brücken zwischen Ferulasäure und der Aminosäure Tyrosin bilden (Yilmaz-Turan et al., 2020).

Ein simultaner Extraktionsprozess von Arabinoxylan und Proteinen bietet viele Vorteile, stellt jedoch auch technische Herausforderungen dar. Durch die Gewinnung beider Komponenten in einem Prozess können Schritte eingespart werden und der Verbrauch von Chemikalien und Energie reduziert werden. Durch den unterschiedlichen Löslichkeitseigenschaften beider Zielkomponenten (AX und Proteine) können sich Schwierigkeiten bei der Extraktion ergeben. Proteine reagieren sehr empfindlich auf den pH-Wert, ihre Löslichkeit beruht auf dem isoelektrischen Punkt. Sie fallen meistens bei leicht sauren oder leicht alkalischen Bedingungen aus, außerdem können sie leicht denaturieren, während AXs oft eine alkalische Umgebung benötigen (meist über pH 10), um aus der Zellwand gelöst zu werden. Die optimale Einstellung des pH-Wertes und Temperatur stellt somit eine Herausforderung dar, da Bedingungen, die AXs lösen, Proteine schädigen können. Außerdem sind die Trennung und Reinigung beider Stoffe nach der Extraktion aufwendig. Um nach der Extraktion zwischen Proteinen und AXs zu unterscheiden und eine gute Reinheit zu erhalten, ist es am besten Techniken wie die Filtration oder Dia-/Ultrafiltration anzuwenden (siehe nachfolgendes Kapitel).

2.5 Membrantrennverfahren zur Polymerseparierung

Membrantrennverfahren nutzen eigens entwickelte Membranen, um bestimmte Bestandteile aus einem Gemisch zu trennen. Dabei lässt die flächige Membran nur spezifische Komponenten durch und hält nicht-spezifische zurück. Dieser Selektivitätseffekt erlaubt es, Gase oder Flüssigkeiten je nach den Eigenschaften der Moleküle zu trennen. Je nach Trennung und Anwendungsbereich existieren unterschiedliche Membranmaterialien, Strukturen und Betriebsweisen. Das Membrantrennverfahren beinhaltet unterschiedliche Methoden, wie Mikrofiltration, Ultrafiltration, Nanofiltration und Umkehrosmosetechniken (siehe Abbildung 6). Jede Technik umfasst bestimmte Größenbereiche von Molekülen oder Teilchen, die getrennt werden sollen. Eine Membrantrennanlage umfasst einen Eingang für das zu trennende Fluid und zwei Ausgänge. Einen für die durchgelassenen Komponenten (Permeat) und einen für die zurückgehaltenen Substanzen („Retentat“ oder „Konzentrat“) (Mersmann et al., 2005).

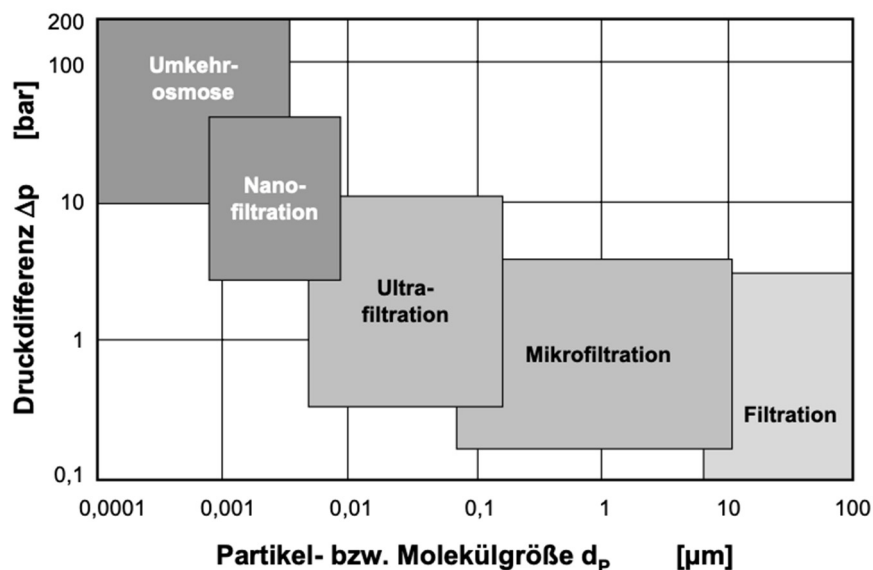


Abbildung 6: Methoden des Membrantrennverfahrens, Mersmann et al. (2015)

Die Ultrafiltration ist ein druckgetriebenes Verfahren, das zur Trennung von kleineren, gelösten Makromolekülen, wie Proteine und Arabinoxylane eingesetzt wird. Hier werden Porenmembranen unter Druck (0,5–10 bar transmembrane Druckdifferenz) zur Stofftrennung eingesetzt. Dabei werden niedermolekular gelöste Stoffe von Makromolekülen getrennt. Da die Stoffe verschiedene Größen aufweisen, ist es möglich, ein breites Spektrum von Partikeln effektiv zu trennen.

Jedoch ist es schwierig, die Verteilung der Porengrößen in der Ultrafiltrationsmembranen festzustellen. Daher wird für die Charakterisierung häufig das Molekulargewicht der zurückgehaltenen Bestandteile herangezogen. Dabei wird der Molecular Weight Cut-Off (MWCO) bestimmt. Dieser gibt das Molekulargewicht an, bei dem 90 % (bzw. 95 %) der Moleküle einer bestimmten Masse zurückgehalten werden. Der MWCO ist abhängig von Faktoren wie Molekülstruktur und Wechselwirkungen zwischen Membran und Molekül. Die Werte bei der Ultrafiltrationsmembran variieren von 1000 bis 100.000 Da (Dalton) (Mersmann et al., 2005).

Eine Ultrafiltration ist eine vielversprechende Methode, um Protein und Arabinoxylane zu trennen, da ihre Molekülmassen stark unterschiedlich sind. Proteine haben eine geringe Molekülmasse, Zein hat zum Beispiel ein Molekulargewicht von unter 30 kDa, während Arabinoxylane aus Maiskleie Massen zwischen 244 und 491 kDa aufweisen. Zur Trennung von Arabinoxylanen hat sich in der Studie von Valério et al. (2021) ein MWCO-Bereich von 50 bis 150 kDa (Kilodalton) als effektiv erwiesen (Valério et al., 2021; Y. Zhang et al., 2022).

Die Ultrafiltration hat den Nachteil, dass die zurückgehaltenen Stoffe sich auf der Membran ansammeln und eine Deckschicht bilden, was zu einer Verringerung des Permeatflusses führen kann (Mersmann et al., 2005). Eine Trennung von Proteinen und Arabinoxylanen aus Getreidequellen, kann aufgrund der hohen Viskosität der Extrakte den Permeatfluss beeinträchtigen. Die Viskosität wird hauptsächlich durch die Arabinoxylane verursacht und erschwert das Reinigungsverfahren und erhöht das Risiko einer Membranverschmutzung (Fouling) während der Ultrafiltration. Um das Problem der hohen Viskosität zu beheben, ist der Einsatz einer Dia-/Ultrafiltration hilfreich. Bei der Dia-/Ultrafiltration wird durch Zugabe von Lösungsmittel (z. B. Wasser) zum Retentat, das Permeat ausgespült. Damit bleibt eine konstante Viskosität im Retentatstrom aufrechterhalten (Valério et al., 2021).

Betriebsparameter wie die Temperatur ($^{\circ}\text{C}$), der Transmembrandruck (bar) und die Flussgeschwindigkeit ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) spielen eine wichtige Rolle, da sie die Membranleistung beeinflussen können. Durch eine hohe Betriebstemperatur kann während der Membranverteilung die Viskosität der AX-Ströme reduziert werden, was zu einer Steigerung der Permeabilität führt. Der Transmembrandruck ermöglicht

Einleitender theoretischer Hintergrund
den Transport von Flüssigkeit durch die Membran. Eine Erhöhung kann den Permeatfluss steigern, aber nur zu einem bestimmten Punkt, ein zu hoher Druck Membranverstopfungen begünstigen können. Genauso wie der Anstieg der Flussgeschwindigkeit. Hier kann es auch zu einem höheren Druck im Zulaufkanal führen, was wiederum einen negativen Einfluss auf die Membranverschmutzung und der Membranselektivität haben kann (Valério et al., 2021).

Laut der Studie von Valério et al. (2021) sind die besten Bedingungen für hohe Permeabilität und Viskosität liegen bei einer hohen Temperatur (66 °C), einer hohen Flussgeschwindigkeit (1,06 m/s) und einem niedrigen Druck (0,7 bar). Den größten Einfluss auf die Ergebnisse hatte der Transmembrandruck, dann die Flussgeschwindigkeit und anschließend die Temperatur.

3 Material und Methoden

3.1 Rohstoffe

Der Vollkornmais (Q-Probe) wurde vom Biohof Schmidt (Neudorf bei Staats, Österreich), die Maiskleie von der Agrana Beteiligungs-AG (Tulln, Österreich), sowie der Nackthafer von der Öko-Korn-Nord w.V. Zentrale (Betzendorf, Deutschland) zur Verfügung gestellt.

Material und Geräte

Labormaßstab

- Mais Q-Probe, Maiskleie, Haferkleie
(Herkunft der Rohstoffe siehe Kapitel 3.1)
- Ca(OH)_2 (Art. Nr. CN87.3, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Kaliumsorbat (W292155-Sample-K, Sigma-Aldrich, Deutschland)
- Natriumphosphatpuffer (pH 7)
 - Di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) (F1576286933, Merck, Darmstadt, Deutschland)
 - Natriumdihydrogenphosphatdihydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
(1.06342.0250 Merck, Darmstadt, Deutschland)
 - Wasser, dest.
- Wasser, dest.
- α -Amylase (für Getreide und Kartoffeln) (Oestreich GmbH, Appenweier, Deutschland)
- Glucoamylase (Getreide, Kartoffeln und Obst) (Oestreich GmbH, Appenweier, Deutschland)
- HCl
- NaOH
- pH-Meter (FiveEasy F20, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz)
- Analysenwaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit $\pm 0,1 \text{ mg}$; 37079 Göttingen, Germany)
- Magnetheizblock
- Thermometer/Temperatur Controller
- Bechergläser
- Messzylinder

- Magnetrührstäbchen

Pilotmaßstab und Ultra-/Diafiltration

- Extrakt aus Pilotmaßstab-Extraktion
- Natriumphosphatpuffer (pH 7)
 - Di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) (F1576286933, Merck, Darmstadt, Deutschland)
 - Natriumdihydrogenphosphatdihydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (1.06342.0250 Merck, Darmstadt, Deutschland)
 - Wasser, dest.
- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Art. Nr. CN87.3, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Kaliumsorbat (W292155-Sample-K, Sigma-Aldrich, Deutschland)
- α -Amylase (für Getreide und Kartoffeln) (Oestreich GmbH, Appenweier, Deutschland)
- Glucoamylase (Getreide, Kartoffeln und Obst) (Oestreich GmbH, Appenweier, Deutschland)
- Wasser, dest.
- pH-Meter (Testo-Typ 205, Testo AG, Deutschland)
- Analysewaage (Tanita BSW-300 KL, 300 kg/50g)
- Messermühle (Fuchs)
- Dekanter (horizontale Zentrifuge, Typ P 600 Nr. 2076, Fa. Sharples, Deutschland)
- Rührkessel mit Aufschlussanlage und Temperaturregler (Typ BK 100 E, Plevnik, Dobrova, Slovenien)
- Ultra-Diafiltrationsanlage (MMS) (MMSSW18 Pilot System, Urdorf, Schweiz)
- Filtrationsmembran (Cut-off-Level: 100 kDa, Membranfläche: 0,35 m²)
- Filtrationsmembran (Cut-off-Level: 5 kDa, Membranfläche: 0,35 m²)
- Präzisionswaage (Tanita BSW-300 KL, 300 kg/50g)
- Schockfroster (Sagi, Ascoli Picena, Italien)
- Gefriertrocknungsanlage (Freezedryer EKS 30-R, Zirbus, Bad Grund/Hartz, Deutschland)
- Plastikbehälter

3.2 Angewandte, simultane Extraktionsmethoden von Proteinen und Arabinoxylanen

3.2.1 Methodenprinzip Extraktion und Membranfiltration

Das Prinzip der simultanen Extraktion besteht in der spezifischen Lösung von Zielkomponenten wie AX oder Proteine aus den entsprechenden Getreiderohstoffen. Dieser Prozess beinhaltet im ersten Schritt die enzymatischen Behandlungen des Getreidemehls mittels α -Amylase und Glucoamylase. Diese Enzyme bauen Stärke ab und erleichtern die Freisetzung von Arabinoxylanen und Proteinen. Nach der enzymatischen Behandlung wird das Gemisch durch Zugabe von Lösungsmitteln wie Calciumhydroxid ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) auf einen hohen pH-Wert eingestellt, um die Zellwandbestandteile weiter aufzubrechen und die Arabinoxylane zu extrahieren.

Nach Abtrennung der Kleie-Rückstände können die Proteine durch Ausfällung am isoelektrischen Punkt isoliert werden. Anschließend werden AX mit Ethanol präzipitiert und die ausgefällten Substanzen (AX, Proteine) mittels Zentrifugation von der flüssigen Phase voneinander getrennt und bei 50°C im Trockenschrank getrocknet. Eine alternative Methode zur Fraktionierung von Proteinen und Arabinoxylanen auf Basis ihrer Molekülgröße ist die Ultrafiltration mit speziellen Cut-off-Membranen. Durch den zusätzlichen Einsatz von Endo- β -(1,4)-Xylanasen als Vorbehandlungsschritt können hochmolekulare, unlösliche Arabinoxylane in lösliche und kleinere Moleküle abgebaut werden und die Extraktionseffizienz erhöht werden (Z. Zhang et al., 2014).

3.2.2 Versuchsaufbau im Labormaßstab

Abbildung 7 veranschaulicht die im Rahmen der Masterarbeit durchgeführte generelle Extraktion und Isolierung von Arabinoxylanen und Proteinen im Labormaßstab. Dabei wurde das modifizierte Modell von Bender et al. (2017) zur AX-Extraktion angepasst, indem ein Proteinisolierungsschritt eingebaut wurde. Im Labormaßstab wurden mittels verschiedener Vorversuche die Extraktionseffizienz angepasst.

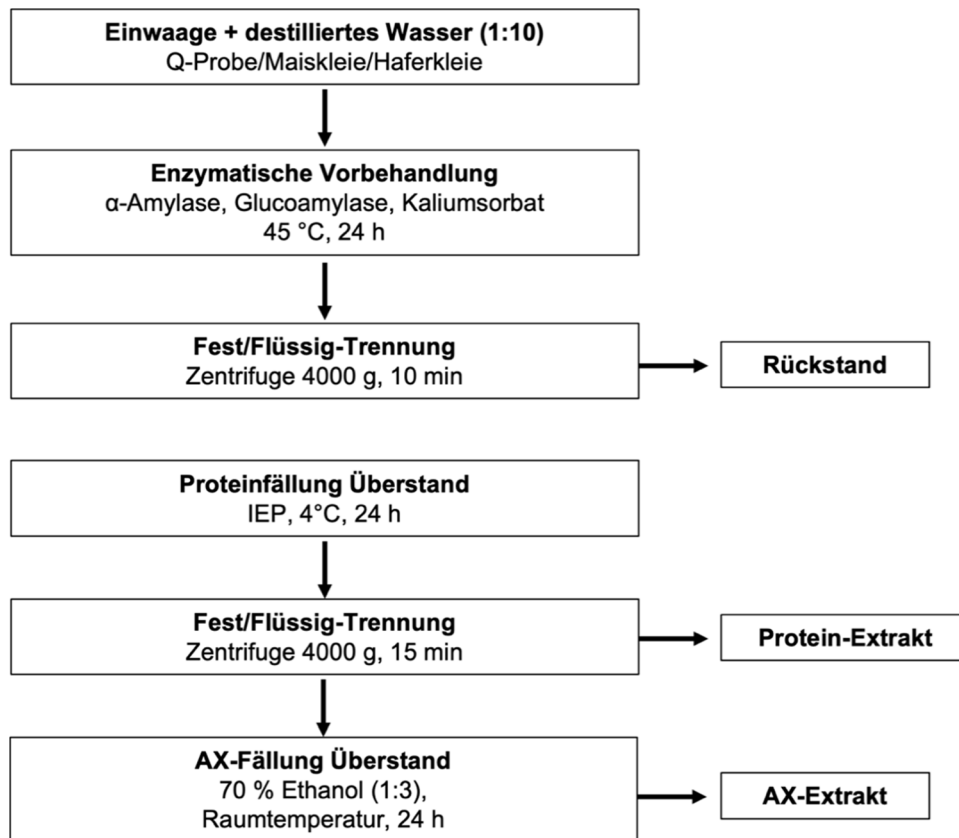


Abbildung 7: Flussdiagramm der simultanen Extraktion von Arabinoxylanen (AX) und Proteinen im Labormaßstab, eigene Darstellung 2024

3.2.3 Versuchsaufbau zur Optimierung der Extraktionseffizienz (Labormaßstab)

Die im ersten Schritt durchgeführten Vorversuche umfassten Stärkeabbau-schritte mit unterschiedlichen Enzymkonzentrationen. Für den Abbau von Stärke vor der Extraktion wurden industriell verwendete Alpha-Amylase und Glucoamylase verwendet. Nach den Empfehlungen für Getreide laut Hersteller wurde eine Dosierung von 20–30 g/kg Getreide Alpha-Amylase bzw. 70–100 g/100 kg Getreide Glucoamylase festgelegt. Dies entspricht 3 g Alpha-Amylase bzw. 10 g Glucoamylase pro 100 g Einwaage. Die für die Extraktion verwendete Q-Probe Mais enthielt $65,15 \pm 1,38$ g/100 g Stärke. Außerdem wurden Anpassung des pH-Wertes (pH 9, 11) der AX-Extraktion (AX) unter Verwendung des Maisvollkornmehls durchgeführt. Die Proteinisolierung erfolgte mittels pH-Wert-abhängiger Fällung beim pH-Wert 5 für Haferkleie (laut Patra et al. (2022)) und beim für Mais ermittelten pH-Wert 8. Diese Löslichkeit der Proteine wurde aus dem Ausgangsmaterial, dem Vollkorn (Q-Probe Mais), bei verschiedenen

pH-Werten ermittelt, um den optimalen isoelektrischen Punkt (IEP) für die Proteinfällung zu bestimmen. Hierzu wurde der Stickstoffgehalt der gelösten Proben im Rahmen der Proteinlöslichkeitsbestimmung mittels Kjeldahl-Methode ermittelt. Außerdem wurde die Extraktionseffizienz von ballaststoff- und proteinreichen Hafer- bzw. Maiskleien im Labormaßstab verglichen.

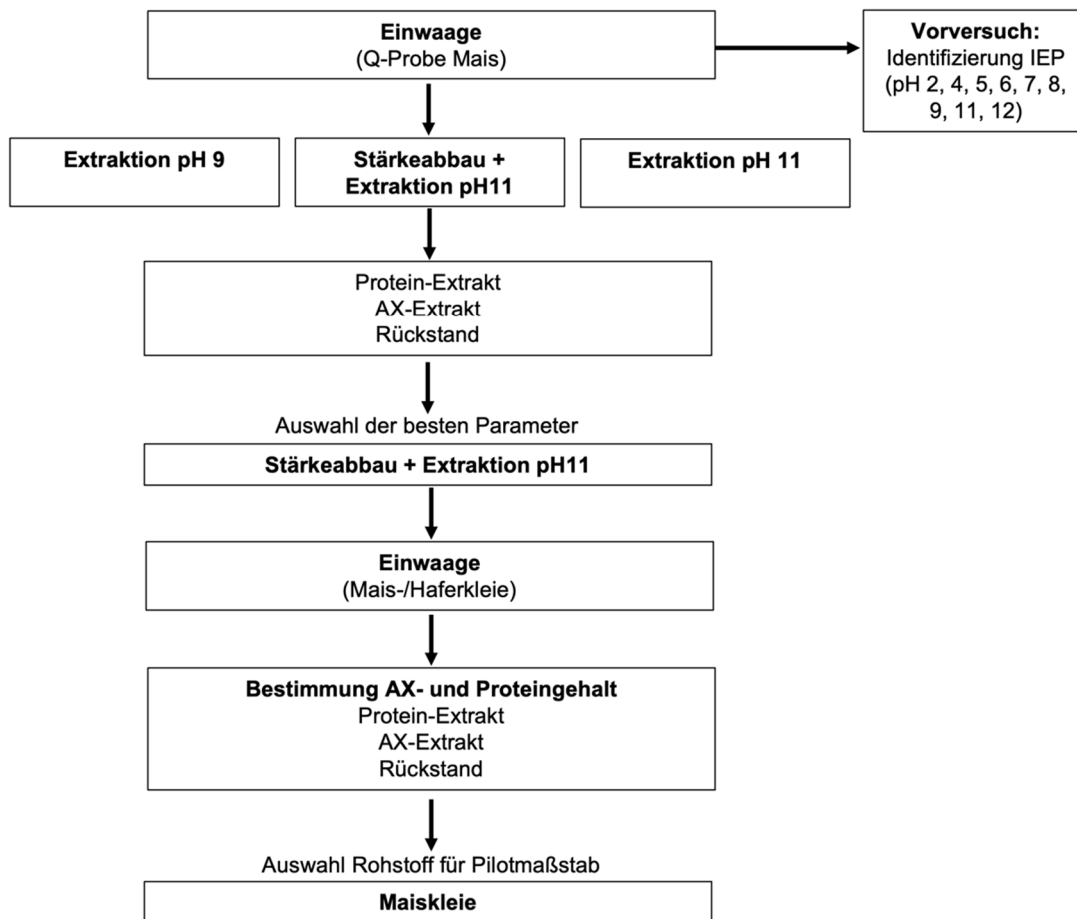


Abbildung 8: Überblick der Vorversuche im Labormaßstab zur Entscheidung welche Bedingungen für den Pilotmaßstab ausgewählt werden, eigene Darstellung 2024

3.2.4 Durchführung der Extraktion im Labormaßstab

Zur Herstellung des Arabinoxylan- und Proteinextrakt aus Mais- und Haferkleie wurden zunächst 200 g Mais- und Haferkleie mit 2 L Natriumphosphatpuffer (pH 7) im Verhältnis 1:10 gemischt und Kaliumsorbat (0,15 g/L) zugesetzt, um den pH-Wert stabil zu halten und mikrobielles Wachstum zu verhindern. Die Stärke wurde dann enzymatisch mit 12 g α -Amylase und 40 g Glucoamylase ab-

gebaut. Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu erhöhen und die maximale Ausbeute an Arabinoxylanen zu gewährleisten, wurde eine 300-fache Enzymmenge laut Herstellerangaben eingesetzt. Die Auswirkung unterschiedlicher Enzymdosierungen (1-fach = 100-fache Dosis und 3-fach = 300-fache Dosis laut Herstellerangaben) sowie die Behandlungsdauer auf den Gesamtstärkegehalt der Mais-Q-Probe bei zwei pH-Werten (4 und 7) wurden untersucht. In Vorversuchen wurde diese Enzymkonzentration getestet. Die Dosierung des Enzyms in 300-facher Menge erwies sich am effektivsten. Sie war notwendig, um die Extraktionseffizienz der schwer zugänglichen Substrate (Proteine und Arabinoxylane) zu erhöhen und eventuelle inhibierende Matrixeffekte (Stärke) zu kompensieren. Die Mischung wurde 24 Stunden lang bei 45 °C auf einem magnetischen Heizblock inkubiert. Nach dem Abbau der Stärke wurde eine Extraktion mit Ca(OH)_2 durchgeführt. Dazu wurde das Gemisch mit Calciumhydroxid-Pulver auf einen pH-Wert von 11 (der zuvor im Rahmen der Vorversuche definiert wurde) eingestellt und bei 50 °C 2 Stunden lang extrahiert (siehe Abbildung 9), wobei der pH-Wert gegebenenfalls nachjustiert wurde. Anschließend wurde die feste Phase durch Zentrifugation bei 4000 g für 10 Minuten von der flüssigen Phase getrennt. Der Feststoff (Rückstand) wurde für weitere Bestimmungen im Trockenschrank bei 50 °C getrocknet. Der Überstand wurde bei der Maiskleie mit HCl auf pH 8 eingestellt und bei der Haferkleie auf pH 5 (laut Patra et al. (2022) haben Haferproteine einen IEP zwischen pH 4.9–5.1), um die Proteine bei 4 °C 24 Stunden lang zu fällen. Die Proteine wurden durch Zentrifugation bei 4000 g für 15 Minuten abgetrennt und gesammelt. Der erneute Überstand wurde dann in Kanistern überführt und mit 70 %-igem Ethanol versetzt und weiter 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen, um die Arabinoxylane präzipitieren (siehe Abbildung 10). Nach erneuter Zentrifugation wurden die gesammelten Extrakte in einem Trockenschrank bei 50 °C getrocknet.



Abbildung 9: AX-Extraktionsprozess Mais- und Haferkleie bei pH 11, 50°C, 2 h



Abbildung 10: AX-Ausfällung mit Ethanol (70 %)

3.2.5 Durchführung im Pilotmaßstab und Trennung durch Ultra-/Diafiltration

Der Extraktionsprozess erfolgte mit den optimalen Bedingungen aus den Versuchen im Labormaßstab unter Verwendung der AX-reichen Maiskleie. Weiters fand im Pilotmaßstab mit dem gewonnenen Rückstand eine zweite Extraktion mit Xylanasen statt, die von Linda Xochitl Cadena im Zuge ihrer Bachelorarbeit durchgeführt wurde. Der Ablauf des Pilotmaßstabs inklusive Ultra-/Diafiltration ist in Abbildung 11 ersichtlich.

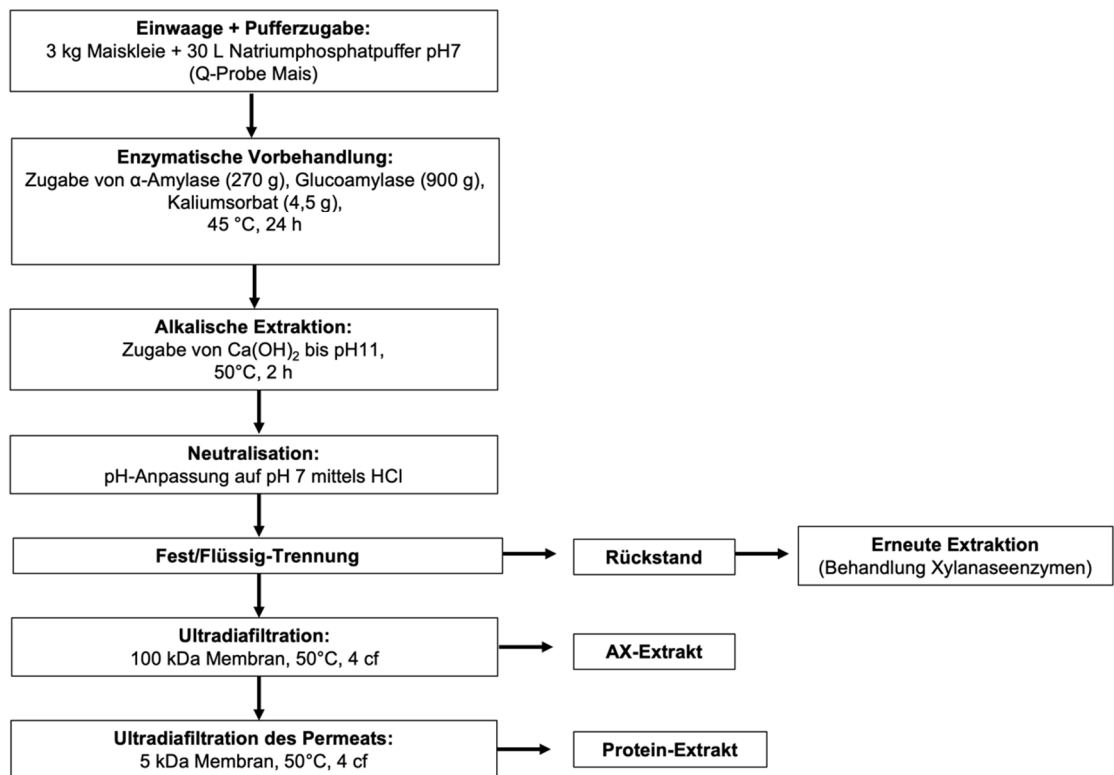


Abbildung 11: Flussdiagramm der Extraktion von Arabinoxylane (AX) und Proteine im Pilotmaßstab, cf= Konzentrierungsfaktor, eigene Darstellung 2024

Praktische Durchführung der Extraktion im Pilotmaßstab

Für die Extraktion im Pilotmaßstab wurden 3 kg Maiskleie verwendet. Diese wurde zunächst 3 Tage lang gefriergetrocknet und anschließend mittels Messermühle auf eine Korngröße von etwa 1 mm vermahlen. Die gemahlene Kleie wurde in einem Rührkessel mit 30 l Natriumphosphatlösung (1:10) aufgefüllt und auf 45 °C erhitzt. Um die Haltbarkeit zu verlängern, wurde 4,5 g Kaliumsorbat zugesetzt. Anschließend wurden 270 g α-Amylase und 900 g Glucoamylase in die Mischung eingerührt, um den enzymatischen Stärkeabbau bei 45 °C für 24 Stunden lang unter ständigem Rühren durchzuführen. Der pH-Wert wurde während des Prozesses kontrolliert und bei Bedarf mit 2 M NaOH eingestellt, um den neutralen/leicht sauren Bereich für die Enzyme zu erhalten. Im nächsten Schritt wurde das Mais-Wasser-Gemisch auf 50 °C erhitzt und der pH-Wert durch Zugabe von Ca(OH)₂-Pulver auf 11 eingestellt, wobei der pH-Wert kontinuierlich mit einem pH-Meter überwacht wurde. Die Extraktion dauerte 2 Stunden. Nach dem Extraktionsprozess wurde das Extrakt mit HCl wieder auf einen neutralen

pH-Wert (7) gebracht. Der feste Rückstand der Maiskleie wurde mit dem Dekanter vom flüssigen Extrakt getrennt. Ein Aliquot des Rückstandes wurde für weitere Analysen gefriergetrocknet, während der Rest des Rückstandes für eine zweite Extraktion mit Xylanase-Behandlung verwendet wurde. Das vorbereitete Kleienextrakt wurde dann einmal bei 50 °C mit einer 100 kDa-Membran ultrafiltriert und anschließend zweimal mit einer 100 kDa Membran diafiltriert. Dabei wurde ein Konzentrationsfaktor von 4 verwendet. Das nach der Ultra-/Diafiltration entstandene Permeat wurde zur Proteinisolierung erneut mit einer 5 kDa-Membran filtriert und diafiltriert. Die so gewonnen Isolate wurden anschließend für weitere analytische Verfahren gefriergetrocknet.



Abbildung 12: Vermahlung der Maiskleie mittels Messermühle (1 mm Korngröße)



Abbildung 13: Extraktion der Maiskleie im Rühr-kessel ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH11, 50 °C, 2 h)

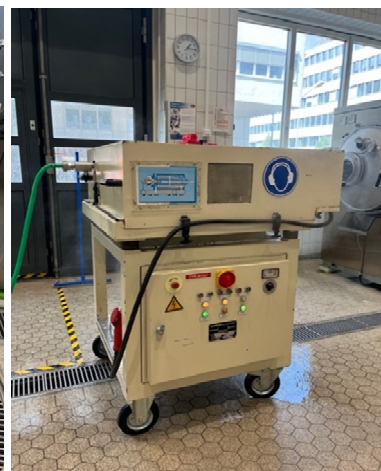


Abbildung 14: Trennung fest/flüssig Phase mittels Dekanter

Praktische Durchführung der Ultra-/Diafiltration im Pilotmaßstab

Zuerst wurde das Extrakt (23,40 kg) für die Ultrafiltration in einer Rührschüssel auf 50 °C vorgewärmt. Eine 100 kDa Membran wurde verwendet, um die AX unseres Extraktes zurückzuhalten. Aufgrund einer sehr kleinen Membran (5 kDa) war der Durchlauf langsam. Die Durchflussrate betrug im Schnitt ca. 2,3 L/h. Nach 2 Stunden wurde 4,50 kg/L Permeat gewonnen. Anschließend wurden das Retentat und das gewonnene Permeat bis zum nächsten Tag im Kühlraum bei 4 °C gelagert.

Am darauffolgenden Tag wurde der Ultradiafiltrationsvorgang fortgesetzt, dabei wurden etwa 18 kg Retentat anschließend erneut in die Ultra-Diafiltrationsmaschine gefüllt und für ca. 1 Stunde ultrafiltriert. Nach dem Stoppen der Maschine wurde insgesamt 6,65 kg/L Permeat erhalten. Dieses wurde für die nächste Ultra-Diafiltration mittels einer 5 kDa Membran, für die Proteintrennung, bei 4 °C im Kühlraum gelagert.

Die Diafiltration begann anschließend, indem das übrige Extrakt bis zum Startgewicht (ca. 23 kg) mit Wasser aufgefüllt wurde, um etwaige unerwünschte Kontaminationen zu entfernen. Mit einem Konzentrationsfaktor von 4 wurde die Wassermenge für die Diafiltration auf 5,85 kg berechnet. Am Ende der Diafiltration, die ungefähr 2 Stunden dauerte, wurde 8,20 kg/L Permeat erhalten. Dieses wurde dann zum Permeat vom Vortag hinzugefügt. Das Gesamtgewicht des Permeats betrug 14,85 kg/L und wurde wieder bei 4 °C gelagert bis zur Proteinultra-/diafiltration.

Das Retentat nach der Diafiltration wurde gewogen (23,5 kg), in große Plastiksäcke (je ca. 6 kg) abgefüllt, verschweißt und für 2 Stunden bei -30 °C schockgefroren. Nach dem Schockfrostvorgang wurden die Plastiksäcke aufgeschnitten und anschließend 4 Tage gefriergetrocknet. Das übrige Permeat (14,85 kg/L) wurde mit einer 5 kDa Membran erneut ultra-diafiltriert und ebenfalls in den Schockfroster gestellt.



Abbildung 15: Ultrafiltrationsanlage MMS (Urdorf, Schweiz) im Technikum am Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur Wien



Abbildung 16: Teil des getrockneten AX-Retentats

3.3 Probenvorbereitung

Die nach der Gefriertrocknung gewonnenen Extrakte wurden für die Analysen mit der Retsch-Zentrifugalmühle ZM 200 der Retsch GmbH (Haan, Deutschland) mittels einem 0,5 mm Sieb vermahlen und bis zur weiteren Verwendung bei 4 °C gelagert.

3.4 Analytische Methoden

3.4.1 Bestimmung der Trockenmasse

Prinzip der Methode

Die Trockenmasse eines Lebensmittels umfasst alle nichtflüchtigen Bestandteile wie Lipide, Kohlenhydrate, Proteine und Mineralstoffe. Sie wird durch Trocknen der Probe und Wiegen des verbleibenden Rückstandes bestimmt. Alternativ kann die Trockenmasse auch durch Messung der Lichtbrechung oder Dichte bestimmt werden (Matissek & Fischer, 2021)

Geräte und Material

- Trockenschrank (TIN-TF50, Phoenix Instrument GmbH, Garbsen, Deutschland)
- Analysewaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit $\pm 0,1$ mg; 37079 Göttingen, Germany)
- Exsikkator
- Aluminiumschale
- Silicagel

Durchführung

Die Bestimmung der Trockenmasse wurde gemäß dem Standardarbeitsverfahren (SOP) des Instituts für Lebensmitteltechnologie (Institut für Lebensmitteltechnologie, 2021) vorgenommen. Eine leere Aluminiumschale wurde 2 bis 3 Stunden lang im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet, dann in einem Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und das Leergewicht bestimmt. Anschließend wurden etwa 2 bis 3 Gramm Probe in die Schale gegeben und

genau gewogen. Die Probe wurde über Nacht in einem Ofen bei 105 °C getrocknet. Nach dem Trocken wurde die Schale erneut im Exsikkator abgekühlt.

$$\text{Trockenmasse [\%]} = \frac{(m_2 - m_1)}{E \text{ (g)}} \times 100 \quad (\text{Gl. 1})$$

m1	Leergewicht von Aluminiumschale in [g]
m2	Gewicht von Aluminiumschale und Probe nach Trocknung in [g]
E	Probeneinwaage [g]

3.4.2 Bestimmung des Proteingehaltes nach Dumas

Prinzip der Methode

Die Probe wird bei hohen Temperaturen von bis zu 1800 °C unter Zugabe von reinem Sauerstoff katalytisch verbrannt. Die entstehenden Stickoxide (NO_x) werden durch einen heißen Kupfer- oder Wolframkontakt (ca. 600900 °C) zu molekularem Stickstoff (N₂) reduziert. Anschließend erfolgt eine gaschromatographische Trennung und der Stickstoff wird mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor nachgewiesen und quantifiziert (Matissek & Fischer, 2021).

Geräte und Material

- DuMaster D-480 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz)
- Analysewaage (Analysewaage (Messgenauigkeit: $\pm 0,001$ g)
- Zinnfolie

Durchführung

Die Bestimmung des Rohproteingehalts erfolgt gemäß der Dumas-Verbrennungsmethode nach dem ICC-Standard Nr. 16634-1:2008. Dabei wurden 200 mg $\pm$ 10 mg der Proben wurden in Zinnfolien eingewickelt. Zur Kalibrierung des Geräts wurde zunächst ein Stickstoffstandard gemessen. Die Proben wurden dann (soweit möglich) in dreifacher Ausführung in das Analysegerät eingelegt, verbrannt, und der Gehalt an molekularem Stickstoff wurde automatisch bestimmt. Der prozentuale Proteingehalt, basierend auf der Trockenmasse, wurde durch Multiplikation des Stickstoffgehalt mit dem Umrechnungsfaktor 6,25 (allgemein für Lebensmittel) und unter Verwendung der entsprechenden Gleichung berechnet, siehe Gleichung:

$$\text{Protein [\%]} = \frac{F \cdot N \cdot 100}{TM} \quad (\text{Gl. 2})$$

N Stickstoffgehalt [%]

F Umrechnungsfaktor zur Errechnung des Proteingehalte (F=6,25)

TM Trockenmasse [%]

3.4.3 Bestimmung der Monosaccharide mittels HPAEC

Prinzip der Methode

HPAEC ist die Abkürzung für Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie (High Performance Anion Exchange Chromatography). HPAEC ist eine Methode zur Analyse von Kohlenhydraten. Dieses Verfahren basiert auf der Umwandlung der Kohlenhydrate in ihre anionische Form bei hohen pH-Werten. Unter alkalischen Bedingungen werden die Kohlenhydrate durch anionische Austauschersäulen mit quaternärer Ammoniumbindung getrennt. Die Retention der Kohlenhydrate korreliert mit ihrem Säuregrad und der Anzahl der Hydroxylgruppen. Monosaccharide und Disaccharide werden gleichmäßig mit Natronlauge eluiert, während Natriumacetat als Elutionsmittel in einem Gradienten für die Trennung von Oligosacchariden und Polysacchariden verwendet werden. Die Detektion erfolgt mit der gepulsten amperometrischen Detektion (PAD), die empfindlich und spezifisch für Kohlenhydrate ist (Corradini et al., 2012).

Geräte und Material

- UHQ-Wasser
- 1.9 M Trifluoressigsäure (TFA)
- Carrez-Lösung I (15 %ige Kaliumhexacyanoferratlösung)
- Carrez-Lösung II (30 %ige Zinksulfatlösung)
- Standard: ZH-9 40 ppm (points 0.1; 0.5; 1.5; 10; 20 ppm)
- DuroCell Eco Line Ofen (MMM Group, München Deutschland)
- Savant SpeedVac SPD1030 Vakuumkonzentrator (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA)
- Dionex™ ICS-6000 DC HPAEC-PAD-System (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA)
- CarboPac™ PA20-Fast (2 x 100 mm, 4 µm) IC Columns (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA)
- Chromatographie-Datensystem Chromeleon Version 7 (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA)
- Zentrifuge
- Feinwaage
- 50 ml Polypropylen-Zentrifugenröhrchen

- 2 ml Safe-Lock-Eppendorf-Röhrchen
- HPAEC-Vials
- 0,25-µm-Nylon-Filter

Durchführung

Zur Quantifizierung der Monosaccharide wurden 200 mg $\pm$ 10 mg der Probe in 50-ml-Röhrchen eingewogen und mit 5 ml 1,9 M Trifluoressigsäure (TFA) hydrolysiert und geschüttelt. Die Proben wurden 2 Stunden und 24 Minuten lang bei 103 °C im Durocell Eco Line Ofen erhitzt und alle 30 Minuten leicht geschüttelt. Anschließend wurde die Hydrolyse durch Zugabe von kaltem Milli-Q-Wasser unterbrochen und das Volumen auf 50 ml aufgefüllt. Nach Zugabe von je 50 µL Carrez I und Carrez II, um nicht hydrolysierte Makromoleküle auszufällen, wurden die Proben bei 10 Minuten lang bei 2000 g und 20 °C zentrifugiert. Danach wurden 0,5 ml des Überstandes in Eppendorf-Röhrchen aliquotiert und mit dem Speedvac bei 45 °C für 3h und <2000 Pa vollständig vakuumgetrocknet. Die getrockneten Proben wurden mit 1 ml UHQ-Wasser resuspendiert und gevortext, mittels 0,25-µm-Nylon-Filter filtriert und für die Hochdruck-Anionenaustausch-Chromatographie (HPAEC) verdünnt. Ein DionexTM ICS-6000 DC HPAEC-PAD-System wurde zur Analyse eingesetzt, ausgestattet mit einer CarboPacTM PA20-Fast Säule (2 x 100 mm, 4 µm) und einer dazugehörigen Guardsäule. Die Trennung erfolgte bei einer Säulentemperatur von 30 °C unter Verwendung einer Gradientenelution bei einer Flussrate von 0,2 ml/min. Die Quantifizierung der Analyten wurde mittels externer Kalibrierung im Bereich von 0,1 bis 20 mg/L durchgeführt, unter Verwendung von Multikomponenten-Standardlösungen, die Fucose, Arabinose, Galactose, Glucose, Xylose, Mannose und Fructose enthielten. Die Peakflächen wurden mit dem Chromatographie-Datensystem Chromeleon Version 7 ausgewertet. Der Gehalt an Arabinoxylan (AX) wurde als die Summe der gemessenen Arabinose- und Xylosewerte berechnet.

3.4.4 Bestimmung der L-Arabinose & D-Galactose mittels Megazyme

Prinzip der Methode

Das Verfahren nutzt die Umwandlung der α - und β -Anomere von L-Arabinose und D-Galactose, die durch das Enzym Galactose-Mutarotase (GalM) katalysiert wird. Bei diesem Prozess werden β -L-Arabinose und β -D-Galaktose in Gegenwart von β -Galaktose-Dehydrogenase (β -GalDH) bei einem pH-Wert von 8,6 zu L-Arabinonsäure und D-Galaktonsäure oxidiert. Dies geschieht unter Verwendung von Nicotinamidadenindinukleotid (NAD^+), das während der Reaktion zu NADH reduziert wird. Die Menge an produziertem NADH ist proportional zur Menge an L-Arabinose oder D-Galaktose, die oxidiert wird. Der Anstieg der NADH-Konzentration wird durch die Absorption bei 340 nm gemessen (Megazyme, 2020a).

Geräte und Material

- Enzymkit (L-Arabinose/D-Galaktose (K-ARGA 4/20), Co. Wicklow, Irland)
 - Bottle 1: Pufferlösung (25 ml, pH 8,6) mit 0,02 % w/v Natriumazid
 - Bottle 2: NAD^+ (lyophilisiertes Pulver)
 - Bottle 3: β -Galaktose-Dehydrogenase und Galaktose-Mutarotase-Suspension (2,4 ml)
 - Bottle 4: L-Arabinose Standardlösung (5 ml, 0,4 mg/ml in 0,02% w/v Natriumazid)
 - Bottle 5: D-Galaktose Standardlösung (5 mL, 0,4 mg/mL in 0,02% w/v Natriumazid)
- Einweg-Plastik-Küvetten
- Pipettenspitzen (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Pipette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Analysewaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit $\pm 0,1$ mg; 37079 Göttingen, Germany)
- Photometer (UV-1800 VIS, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)
- Vortex
- Stoppuhr

Durchführung

Die Bestimmung der L-Arabinose erfolgt gemäß des Standardverfahrens des L-Arabinose/D-Galaktose Assay Kits (K-ARGA 4/20) der Firma Megazyme (Megazyme, 2020a).

Hierfür wurden 1 ml destilliertes Wasser, 0,05 ml Probe, 0,1 ml Pufferlösung (Bottle 1) und 0,05 ml NAD⁺-Lösung (Bottle 2) in eine Küvette pipettiert. Ebenso wurde ein Blindwert vorbereitet. Die Lösung wurde durch vorsichtiges Umdrehen der Küvette gemischt und nach etwa 3 Minuten die Extinktion bei 340 nm gemessen. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von 0,01 ml der β -Galactose-Dehydrogenase- und Galactose-Mutarotase-Suspension (Bottle 3) gestartet. Die Lösung wurde erneut gemischt und die Extinktion nach etwa 12 Minuten für L-Arabinose gemessen. Die Messung wurde bei einer Wellenlänge von 340 nm durchgeführt.

Die Berechnung der Konzentration erfolgte nach der Anleitung von der Firma Megazyme, siehe Gleichung:

$$c \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right] = \frac{V \cdot \text{MW}}{\varepsilon \cdot d \cdot v} * \Delta A \quad (\text{Gl. 3})$$

V Endvolumen [ml]

MW Molekulargewicht von L-Arabinose oder D-Galactose [g/mol]

Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm

d Lichtweg [cm]

v Probenvolumen [ml]

ΔA Absorptionsdifferenz (A₂-A₁) – Blindprobe

3.4.5 Bestimmung der D-Xylose mittels Megazyme

Prinzip der Methode

Bei der Bestimmung der D-Xylose werden α - und β -Anomere von D-Xylose umgewandelt und durch das Enzym Xylose-Mutarotase (XMR) katalysiert. Bei dieser Reaktion wird β -D-Xylose in Gegenwart von β -Xylose-Dehydrogenase und NAD^+ bei pH 7,5 zu D-Xylonsäure oxidiert. Dabei wird NAD^+ zu NADH reduziert, und die Menge des gebildeten NADH ist stöchiometrisch zur Menge der D-Xylose. Die Bildung von NADH wird durch den Anstieg der Extinktion bei 340 nm durchgeführt (Megazyme, 2020b).

Geräte und Material

- Enzymkit (D-Xylose-Assays-Kits (K-Xylose), Co. Wicklow, Irland)
 - Bottle 1: Pufferlösung (45 ml, pH 7,5) mit 0,02 % w/v Natriumazid als Konservierungsmittel
 - Bottle 2: NAD^+ plus ATP (lyophilisiertes Pulver)
 - Bottle 3: Hexokinase-Suspension (2,2 ml)
 - Bottle 4: XDH/XMR-Lösung (5,6 ml)
 - Bottle 5: D-Xylose Standardlösung (5 ml, 0,25 mg/ml)
- Küvetten Macro, PS (#623201 Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Pipettenspitzen (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Pipette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Photometer (UV-1800 VIS, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)
- Vortex
- Stoppuhr

Durchführung

Die Bestimmung der D-Xylose erfolgt gemäß des Standardverfahren des D-Xylose-Assays-Kits (K-Xylose 10/20) der Firma Megazyme (Megazyme, 2020b).

Hierfür wurden 1 ml destilliertes Wasser, 0,05 ml Probe, 0,20 ml Pufferlösung (Bottle 1), 0,20 ml NAD^+ -Lösung (Bottle 2) und 0,01 ml Hexokinase (Bottle 3) in eine Küvette pipettiert. Ebenso wurde ein Blindwert vorbereitet. Die Lösung

wurde durch vorsichtiges Umdrehen der Küvette gemischt und nach etwa 5 Minuten die Extinktion bei 340 nm gemessen. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von 0,025 ml der der XDH/XMR-Lösung (Bottle 4) gestartet. Die Lösung wurde erneut gemischt und die Extinktion nach etwa 6 Minuten gemessen. Die Messung wurde bei einer Wellenlänge von 340 nm durchgeführt.

Die Berechnung der Konzentration erfolgte nach der Anleitung von der Firma Megazyme, siehe Gleichung:

$$c \text{ [g/L]} = \frac{V \cdot MW}{\epsilon \cdot d \cdot v} * \Delta AD - Xylose \quad (\text{Gl. 4})$$

- V Endvolumen [ml]
- MW Molekulargewicht von D-Xylose [g/mol]
 Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm
 ($\epsilon=6300 \text{ [L x mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$)
- d Lichtweg [cm]
- v Probenvolumen [ml]
- ΔA Absorptionsdifferenz (A2-A1) – Blindprobe

3.4.6 Bestimmung der Phenolsäuren (TPC)

Prinzip der Methode

Die Mehrheit der Phenolsäuren ist fest an Zellwandbestandteile gebunden, und kann daher mit einfachen wässrigen Lösungsmitteln nicht vollständig extrahiert werden. Um alle Phenole (gebunden, konjugiert) aus der komplexen Zellwandmatrix zu lösen, sind zusätzliche Schritte mit Alkalien oder Säuren erforderlich, um die Bindung aufzubrechen und die Verbindungen freizusetzen (Speranza et al., 2021).

Geräte und Material

- Natriumcarbonat (#8563.2, CAS: 497-19-8, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Natriumhydroxid 32 % (#T194.3, CAS: 1310-73-2, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Salzsäure 37 % (#4625.2, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Ethanol 96 % + 1 % Petrolether (#P20802, Australco, Österreich)
- Methanol (VWR #10864.320, CAS: 67-56-1)
- Ethylacetat (#34858, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Folin-Ciocalteu-Reagenz (#1.09001.0500, Merck, Darmstadt, Deutschland)
- trans-Ferulasäure (#128708-100G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Deionisiertes Wasser = H₂O(RO) (Umkehrosmose)
- Analysewaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit ± 0,1 mg; 37079 Göttingen, Germany)
- Mikroplattenlesegerät Plate Reader
- Laborflaschen, 50250 ml
- Pipetten (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Pipettenspitzen (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Probenröhrchen 2 ml, PP (#623201 Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Vortex
- Messkolben

- Rührspatel
- 96-Well-Platte
- Schüttler
- Ultraschallbad (#RK 106 Sonorex Bandelin, Berlin, Deutschland)
- Konzentrator (#5301 Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Zentrifuge (#5430 Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Zentrifuge (#5810 Eppendorf, Hamburg, Deutschland)

Durchführung

Das Extraktionsverfahren durchgeführt nach Speranza et al. (2021). Dieses Verfahren wurde in Bezug auf die Probenmenge und die Reagenzien Mengen angepasst, um der Verwendung des Rohstoffes Mais zu entsprechend.

Nach der Probenvorbereitung und Extraktion der gebundenen, konjugierten und freien Phenolsäuren wurden für die photometrische Bestimmung in einer 96-Well-Platte 75 µl Wasser, 25 µl der (verdünnten) Probe sowie 25 µl des Folin-Ciocalteu-Reagenzes mit Wasser vermischt. Nach 6 Minuten im Dunkeln wurden 100 µl einer Na₂CO₃-Lösung (75 g/l) in jede Vertiefung gegeben. Die Bestimmung der Absorption erfolgt bei 765 nm nach 90 Minuten Ruhezeit im Dunkeln mit einem spektralphotometrischen Mikroplattenlesegerät (mit 60 s Schütteln vor der Messung). Zur Bestimmung des Gesamtphenolgehalts wurden Ferulasäurestandards (Konzentrationen zwischen 25 und 250 mg/l) für die lineare Funktion ($y = kx + d$) verwendet. Die Konzentrationen der unbekannten Proben wurden durch Einsetzen der Absorptionswerte in die lineare Gleichung zur Lösung von x ermittelt. Die Konzentrationen wurden entsprechend dem tatsächlichen Trockengewicht und der Verdünnung der Proben korrigiert.

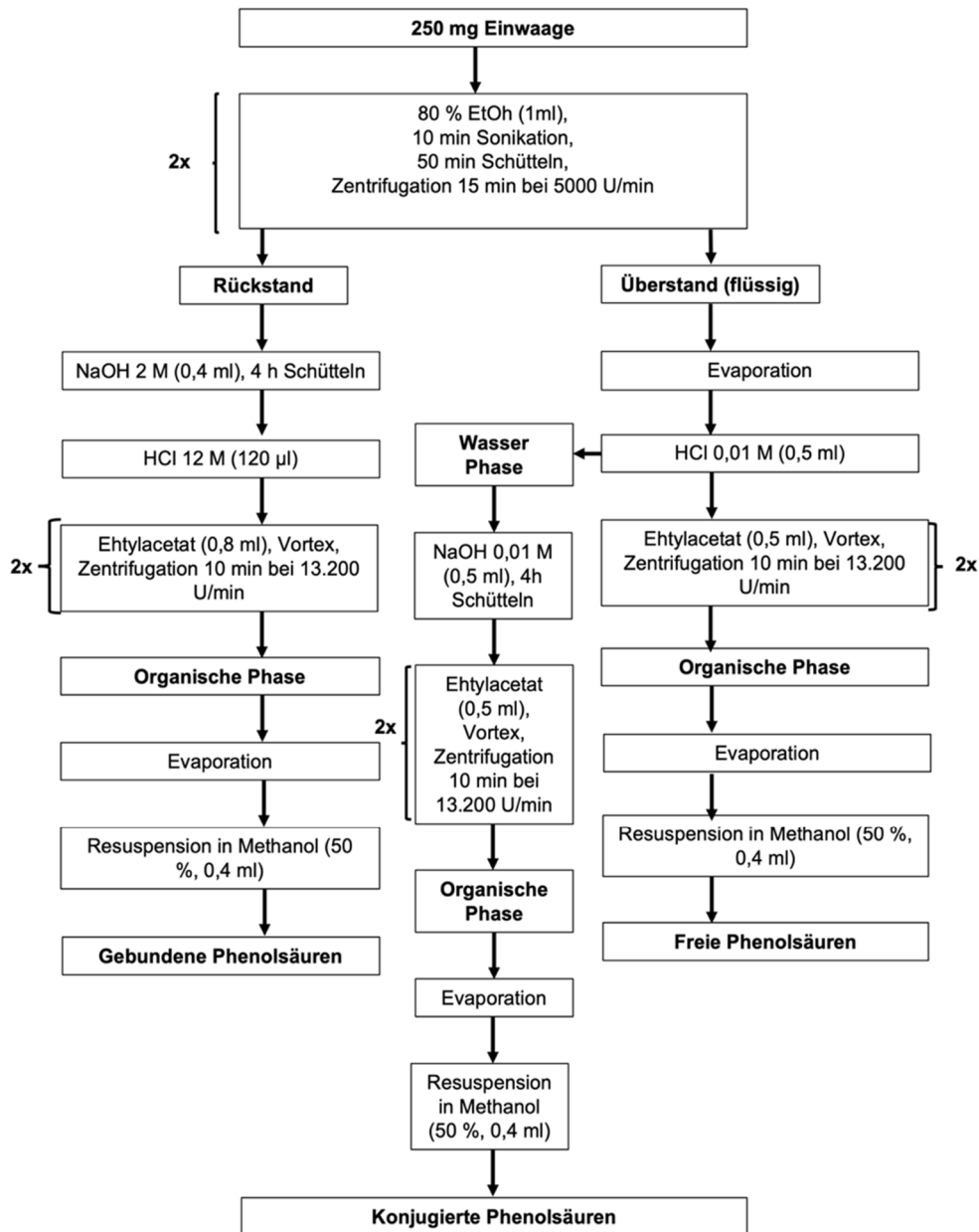


Abbildung 17: Angewandtes Protokoll zur Bestimmung der Phenolsäuren, nach Speranza et al. (2021), eigene Darstellung 2024

3.4.7 Bestimmung der Gesamtballaststoffe (TDF/IDF/SDF)

Prinzip der Methode

Die Bestimmung der gesamten Ballaststoffe (TDF/IDF/SDF) wird an getrockneten und entfetteten oder fettarmen Proben (weniger als 10 % Fett) durchgeführt. Der Prozess umfasst mehrere Schritte: Zunächst wird die Probe mit hitzestabiler α -Amylase gekocht, um die Stärke zu gelatinieren, zu hydrolysieren und zu depolymerisieren. Anschließend folgt eine Inkubation bei 60 °C mit Protease und Amyloglucosidase, um die Proteine zu lösen und zu depolymerisieren und die Stärkeabbauprodukte in Glukose umzuwandeln. Die Probe wird mit Ethanol behandelt, um lösliche Ballaststoffe auszufällen und depolymerisierte Proteine und Glukose zu entfernen. Der verbleibende Rückstand wird filtriert, mit Ethanol und Aceton gewaschen, getrocknet und gewogen. Ein Teil des Rückstandes wird auf den Proteingehalt analysiert, während der andere Teil bei 525 °C verbrannt wird, um den Aschegehalt zu bestimmen. Der TDF-Gehalt wird berechnet, indem das Gewicht des getrockneten Rückstands um das Gewicht von Eiweiß und Asche reduziert wird (Megazyme, 2017).

Geräte und Material

- Enzym-Kit (Megazyme #K-TDFR-200A, Co. Wicklow, Irland)
 - Bottle 1: α -Amylase, thermostabil, 3000 U/ml (Ceralpha)
 - Bottle 2: Protease, gereinigt, 350 U/ml
 - Bottle 3: Amyloglucosidase, gereinigt, 3300 U/ml
- Celite Hyflo Super Cel (#0005.2, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Ethanol 96 % + 1 % Petroleumether (#P20802, Australco, Österreich)
- Aceton (#32201, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- 2-(N-Morpholino)-ethansulfonsäure (MES, #4256.3, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS, VWR #28811.295)
- Natriumhydroxid 32 % (#T197.3, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Salzsäure 37 % (#4625.2, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Wasser, dest.

- Analysenwaage (Messgenauigkeit: $\pm 0,0001$ g)
- Laborflaschen, 250 ml
- Mehrstellen-Rührplatte
- Magnetrührer
- Wasserbad, 60 °C und 100 °C, schüttelnd (Lauda-GFL #1092, Burgwedel, Deutschland)
- Manueller Dispenser (HandyStep®S, Brand GmbH + Co KG, Wertheim, Deutschland)
- Pipetten 5 ml, 10 ml (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Pipettenspitzen 5 ml, 10 ml
- pH-Meter (FiveEasy F20, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz)
- pH-Standardpuffer (pH 4,0 und 7,0)
- Spatel
- Glasfritten-Tiegel (#20302 Robu Glasfilter-Geräte GmbH, Hattert, Deutschland)
- Tiegeladapter (#2803 Robu Glasfilter-Geräte GmbH, Hattert, Deutschland)
- Absaugflasche, > 500 ml
- Vakuumpumpen (Typ MZ 2Z, Vacuubrand GmbH + Co, Wertheim, Deutschland)
- Vakuumkolben
- Trockenschrank (TIN-TF50, Phoenix Instrument GmbH, Garbsen, Deutschland)
- Exsikkator
- Muffelofen (#11 Elf 11/6B Carbolite Gero GmbH & Co. KG, Neuhausen, Deutschland)
- Messzylinder 2 l
- Laborflasche 1 l, 2 l

Durchführung

Die Bestimmung der löslichen und unlöslichen Ballaststoffe erfolgt gemäß dem Megazyme Total Dietary Fibre Assay Procedure (K-TDFR-/200A), basierend auf der AOAC Methode 991.43 und AACC Methode 32-07.01 durchgeführt (Megazyme, 2017). Hierfür wurde 1 g Probe in Laborflaschen eingewogen und

mit 40 ml MES/TRIS-Puffer (0,05 M, pH 8,2, 24 °C) vermischt. Anschließend wurden 50 µl hitzestabile α-Amylase-Lösung zugegeben und die Proben 30 Minuten lang bei 99,5 +/- 0,5 °C inkubiert. Nach Abkühlung auf 60 °C und Spülen der Flaschenwände mit 10 ml destilliertem Wasser wurden 100 µl Proteaselösung zugegeben und 30 Minuten lang bei 60 °C inkubiert. Der pH-Wert wurde dann mit 5 ml 0,561 M HCl auf 4,1-4,8 eingestellt, und es wurden 200 µl Amyloglucosidase-Lösung zugegeben, gefolgt von einer weiteren 30-minütigen Inkubation bei 60 °C. Zur Ausfällung der löslichen Ballaststoffe wurde die Lösung mit 95 %igem Ethanol (60 °C) auf 300 ml aufgefüllt und anschließend mit einer Vakuumpumpe durch Glasfildertiegel mit Celite filtriert. Der Rückstand wurde zweimal mit 15 ml 78 %igem und 95 %igem Ethanol gewaschen, und die Tiegel wurden über Nacht bei 103°C getrocknet. Zur Bestimmung des Aschegehalts wurde ein Tiegel pro Probe 5 Stunden lang in einem Muffelofen bei 525 °C verbrannt, während die getrockneten Rückstände der übrigen Tiegel zur Bestimmung des Proteingehalts in Kjeldahl-Kolben überführt wurden. Der TDF-Gehalt wurde als Gewicht des gefilterten und getrockneten Rückstands abzüglich des Gewichts von Protein und Asche berechnet. Die Ballaststoffe entsprechen je nach Methode dem TDF oder IDF/SDF-Gehalt.

$$\text{Ballaststoffe [\%]} = \left(\frac{\frac{R1+R2}{2} * p * A * B}{\frac{m1+m2}{2}} \right) \times 100 \quad (\text{Gl. 5})$$

- R1 Gewicht des Rückstandes von Filtrat 1 [mg]
- R2 Gewicht des Rückstandes von Filtrat 2 [mg]
- A Aschegewicht von R1 [mg] P Proteingewicht von R2 [mg]
- m1 Einwaage von Probe 1 [mg]
- m2 Einwaage von Probe 2 [mg]
- B Blindwert [mg]

3.4.8 Bestimmung des Stärkegehaltes

Prinzip der Methode

Die Stärkebestimmung erfolgt mit Hilfe von enzymatischer Hydrolyse von Stärke zu Glucose. Zuerst wird die Stärke durch thermostabile α -Amylase in lösliche Maltodextrine gespalten. Anschließend werden die entstandene, verzweigte und unverzweigte Maltodextrin durch Amyloglucosidase vollständig zu D-Glucose hydrolysiert. Diese wird dann zu Gluconat oxidiert und Wasserstoffperoxid wird freigesetzt. Anschließend entsteht durch eine kolometrische Reaktion ein Farbstoff, der zur Bestimmung der Glucosekonzentration dient (Megazyme, 2024).

Geräte und Material

- Gesamtstärke-Kit (Megazyme #K-TSTA, Co. Wicklow, Irland)
 - Bottle 1: Thermostabile α -Amylase
 - Bottle 2: Amyloglucosidase
 - Bottle 3: GOPOD-Reagenzpuffer (50 ml, pH 7,4)
 - Bottle 4: GOPOD-Reagenzenzyme
 - Bottle 5: D-Glucose-Standardlösung (1,0 mg/ml)
 - Bottle 6: Maisstärke Kontrolle
- Ethanol 96% + 1% Petroleumether (#P20802, Australco, Österreich)
- Eisessig (#3738.5, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)
- Natriumhydroxid (#06203, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Calciumchlorid-Dihydrat (#102382, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Destilliertes Wasser
- Analysewaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit $\pm 0,1$ mg; 37079 Göttingen, Germany)
- Glasröhrchen ($\emptyset \times H = 16 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$) mit GL15-Schraubverschluss
- Dispenser, $20 \times 100 \mu\text{L}$ (HandyStep®S, Brand GmbH + Co KG, Wertheim, Deutschland)
- Vortex
- Magnetrührer und Rührstäbchen (5 - 10 mm)
- Thermoblock (Stuart SBH130D/3, Bibby Scientific Limited, Staffordshire, UK)

- Pipetten 10 - 200 μL , 100 - 1000 μL , 5 ml, 10 ml (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Pipettenspitzen 200 μL , 1000 μL , 5000 μL , 10000 μL (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Photometer (UV-1800 VIS, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)
- Eismaschine
- pH-Meter (FiveEasy F20, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz)
- pH-Standardpuffer (pH 4,0 und 7,0)
- Messkolben 1 l, 2 l
- Messzylinder 1 l, 200 ml, 100 ml
- Messpipette aus Glas 10 ml
- Probenröhrchen 2 ml, PP (#623201 Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)
- Küvetten Macro, PS (#614101 Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich)

Durchführung

Die Bestimmung des Stärkegehaltes wurde mit dem Enzymkit der Firma Megazyme „Total Starch, K-TSTA“ unter Verwendung der „Rapid Total Starch“ (RTS-NaOH-Methode) durchgeführt. Die Schritte der Durchführung sind in Abbildung 18 dargestellt.

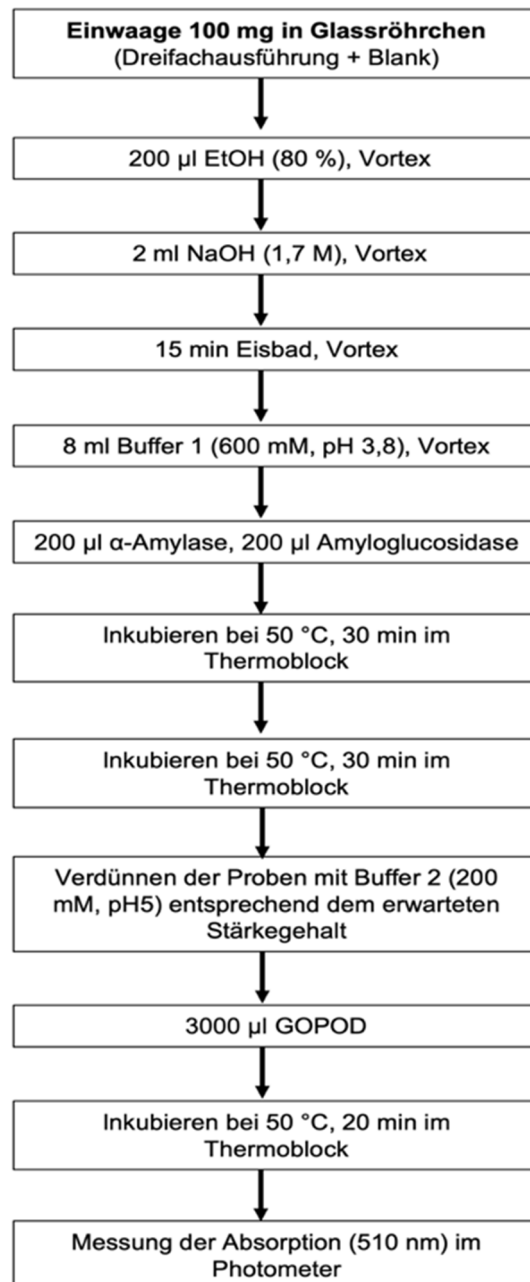


Abbildung 18: Protokoll zur Bestimmung des Stärkegehaltes, eigene Darstellung 2024

3.4.9 Bestimmung der Proteinlöslichkeit und des Gesamtstickstoffgehalt mittels Kjeldahl

Prinzip der Methode

Die Bestimmung der Proteinlöslichkeit wurde nach Methode der ISO 14244:2014 mit leichten Abänderungen durchgeführt. Dabei wird die Löslichkeit des Proteins in Abhängigkeit vom pH-Wert untersucht.

Für die Bestimmung des Gesamtproteingehalts wurde die Kjeldahl-Methode gemäß der ICC-Norm Nr. 105/2 (ICC 2023) verwendet. Mit der Kjeldahl-Methode wird der Gesamtstickstoffgehalt in einer Probe bestimmt, der zur Berechnung des Gesamtproteingehalts herangezogen wird. Das Verfahren umfasst die Schritte des Aufschlusses, der Destillation und Titration. Zunächst wird die Probe mit konzentrierter Schwefelsäure und einem Katalysatorgemische oxidativ aufgeschlossen, wobei Temperaturen von 360 °C bis 410 °C erreicht werden. Dabei bildet sich Schwefeltrioxid, dass sich an die NH-Gruppen der Peptidbindungen im Protein bindet, wodurch Amidosulfonsäure und schließlich Ammoniumsulfat entstehen. Nach Zugabe von Natriumhydroxidlösung wird Ammoniak freigesetzt, der durch Wasserdampfdestillation in Borsäure absorbiert wird und Ammoniumtriborat bildet. Der Ammoniak wird dann titrimetrisch durch Zugabe einer Salzsäurelösung bestimmt. Der Stickstoffgehalt wird quantifiziert und zur Berechnung des Rohproteingehalts der Probe mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors ($F=6,25$ als Standard für Getreide) verwendet (Matissek & Fischer, 2021)

Geräte und Material

Proteinlöslichkeitsbestimmung

- Dest. Wasser
- HCl
- NaOH
- Laborglasflaschen 100 ml
- Magnetrührer
- pH-Meter (FiveEasy F20, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz)
- Magnetrührstäbchen
- Wasserbad (Lauda-GFL #1092, Burgwedel, Deutschland)

- Kjeldahl-Aufschlusskolben (Probengläser, Fa. Büchi, Schweiz)

Kjeldahl-Methode

- Schwefelsäure, 95 % v/v (Art.-Nr. 20685.330, Fa. VWR, Frankreich)
- Natronlauge, 32 % v/v
- Borsäure, 2 % v/v
- Salzsäure (0,1 M, Maßlösung)
- Magnetrührstäbchen
- Analysewaage (BCE 224I-1S, Sartorius, Messgenauigkeit $\pm 0,1$ mg; 37079 Göttingen, Germany)
- Laborglasflaschen 100 ml
- Aufschlussanlage (Digestion System K-449, Fa. Büchi, Schweiz)
- Scrubber (B-415, Fa. Büchi, Schweiz)
- Kjeldahl-Aufschlusskolben (Probengläser, Fa. Büchi, Schweiz)
- Katalysator-Tabletten (Kjeldahl Tablets Missouri, Art.-Nr. 11057982, Fa. Büchi, Schweiz)
- Destillationsanlage (KjelFlex K-365, Fa. Büchi, Schweiz)
- Titrierautomat
- pH-Meter (FiveEasy F20, Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz)
- Farbindikator (Mixed Indicator according to Sher, Art.-Nr. 003512, Fa. Büchi, Schweiz)
- Erlenmeyerkolben, 250 ml

Durchführung

Proteinlöslichkeitsbestimmung

Etwa $1,5 \text{ g} \pm 0,0001$ Probe wurden etwa in 100 ml Laborglasflaschen eingewogen und mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 75 ml aufgefüllt. Anschließend wurden pH-Werte der Proben durch Zugabe von HCl oder NaOH auf die gewünschten Werte (4, 5, 7, 8, 9, 11) eingestellt, wobei dies für jeden pH-Wert in dreifacher Ausführung erfolgte. Während dieses Vorgangs wurden die Proben auf einer Magnetrührplatte mit einem Magnetrührstab kontinuierlich gerührt und der pH-Wert regelmäßig mit einem pH-Meter kontrolliert und gegebenenfalls

nachjustiert. Nach der pH-Einstellung wurden die Proben für 20 Minuten ins Wasserbad gestellt und anschließend 10 Minuten bei 800 g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden dann 7,5 ml in ein Kjeldahl-Röhrchen übertragen und über Nacht bei 50 °C in einem Trockenschrank zur Wasserverdampfung gelagert. Anschließend wurde nach der Kjeldahl-Methode gemäß der ICC-Norm Nr. 105/2 (ICC 2023) bestimmt. Das mit Hilfe der Kjeldahl-Methode bestimmte Gesamtprotein wurde zur Berechnung der Proteinlöslichkeit herangezogen und berechnet, siehe Gleichung:

$$\text{Proteinlöslichkeit [\%]} = \left(\frac{\text{lösliches Protein [\%]} \cdot 100 \cdot \text{aliquote}}{\text{Rohprotein [\%]}} \right) \quad (\text{Gl. 6})$$

Aliquot = 15 ml eines kombinierten Überstandes, der einem Faktor von 5 entspricht

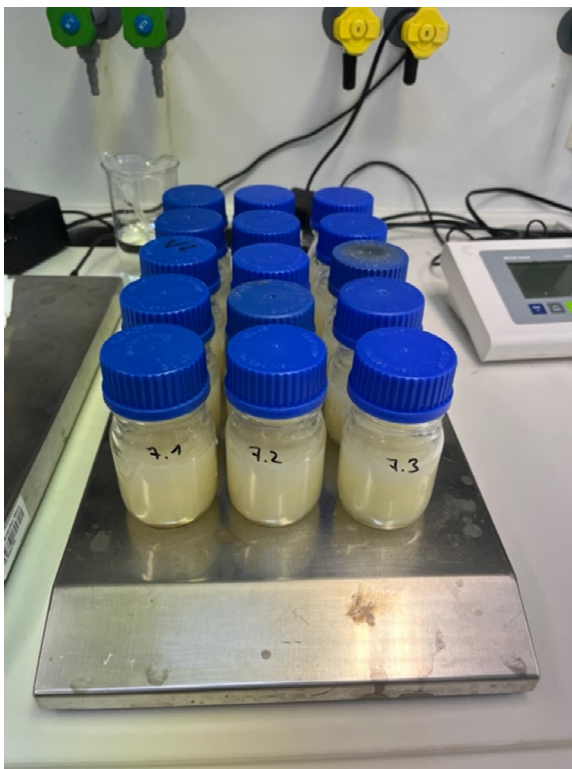


Abbildung 19: Probenvorbereitung zur Proteinlöslichkeitsbestimmung, hier bei pH 7

Bestimmung des Gesamtproteingehalts (Kjeldahl)

Aufschluss

Die quantitative Bestimmung des Gesamtproteingehalts wurde nach der Kjeldahl-Methode mit einem Büchi-System durchgeführt. Die Proben der Probenaufbereitung wurden in Dreifachbestimmung analysiert. Drei Blindproben und zwei Glycin-Bestimmungen (Referenz) wurden ebenso für jede Analyse durchgeführt. Jedem Kolben wurden zwei Katalysatortabletten (10 g) zugesetzt und unter dem Abzug wurden 22 ml 95%ige Schwefelsäure vorsichtig in jeden Kolben gegeben, der dann in die Aufschlusseinheit gestellt wurde. Nachdem das System ordnungsgemäß verschlossen war, wurde eine voreingespeicherte "Methode 1" gestartet. Der gesamte Aufschlussprozess dauerte 120 Minuten, wobei die maximale Temperatur von 420 °C 80 Minuten lang gehalten wurde.

Destillation

Nach der Kühlungsphase wurden die Proben destilliert. Zuerst wurde die Destillationseinheit vorgeheizt und ein Reinigungsprogramm gestartet. Nach dem Durchlauf der Reinigung wurden die Aufschlusskolben in die halbautomatische Destillationseinheit gestellt. Für jede Probe wurde ein Erlenmeyerkolben mit zwei bis drei Tropfen Farbindikator vorbereitet und in das System eingesetzt. Danach wurde die vor eingestellte "Methode 2" gestartet. Die Proben wurden unter Verwendung von Wasserdampf destilliert und die destillierte Lösung mit Borsäure (0,1 N) in dem Erlenmeyerkolben gesammelt. Das Wasserdampfdestillat war grünblau.

Titration

Das grünblaue Wasserdampfdestillat wurde anschließend mit Salzsäure (0,1 mol/l) titriert, bis der Indikator seinen Umschlagspunkt erreichte und seine Farbe in hellorange änderte. Der Verbrauch an Salzsäure wurde notiert und der prozentuale Proteingehalt der Probe berechnet, siehe Gleichung 7:

$$\text{Proteingehalt [\%]} = \left(\frac{(a-b) \cdot 1,4008 \cdot F}{E} \right) \quad (\text{Gl. 7})$$

a	Verbrauch Salzsäure (Maßlösung, 0.1 mol/L) im Hauptversuch [mL]
b	Verbrauch Salzsäure (Maßlösung, 0.1 mol/L) im Blindversuch [mL]
F	Umrechnungsfaktor zur Ermittlung des Proteingehaltes (6,25 für Lebensmittel allgemein)
E	Probeneinwaage [g]

1,4008 1 mL Salzsäure (Maßlösung, 0.1 mol/L) $\triangleq$ 1,4008 mg Stickstoff

3.4.10 Ausbeute/Yield

Die Ausbeute/Yield der Extrakte wurde anhand der Gleichung 8 berechnet.

$$\text{Yield [\%]} = \left(\frac{m(\text{Extrakt})}{\mu_{TM}} \right) * 100 \quad (\text{Gl. 8})$$

$m(\text{Extrakt})$ Gesamte Masse an getrockneten Extrakten [g]

μ_{TM} Rohstoffmenge vor der Extraktion in Trockenmasse [g]

3.4.11 Statistische Methoden

Die statistische Analyse der Daten wurde mit Statgraphics Centurion 19 - X64 (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA) durchgeführt. Um signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten (Signifikanzniveau von $\alpha = 0.05$) verschiedener Proben zu ermitteln, wurde eine Einfaktor-ANOVA (Analysis of Variance) und der Fischer-LSD-Test verwendet.

4 Versuchsergebnisse und Diskussion

Das nächste Kapitel behandelt die Ergebnisse der simultanen Extraktion von Proteinen und Arabinoxylanen, der Versuche im Labormaßstab, dem Pilotmaßstab sowie das Monitoring der Membranfiltration. Die inkludieren die Ausbeuten, die chemische Nährstoffcharakterisierung der gewonnenen Extrakte und Rückstände aus den zuvor beschriebenen Verfahren. Alle Analysen wurden (soweit möglich) in Dreifachbestimmung durchgeführt.

4.1 Vorversuche Proteinlöslichkeit

Die Ergebnisse zeigen (Abbildung 20), dass die Löslichkeit der Proteine im sauren und neutralen pH-Bereich (pH 2–7) tendenziell gering war, mit einem leichten Peak bei pH 4, während sie im alkalischen Bereich zunahm und bei pH11 ein Maximum von 30 % erreichte. Diese Feststellungen stimmen mit der Literatur überein, die besagt, dass Zein (= Hauptfraktion der Maisproteine) im pH-Wert zwischen 6 und 9 eine Vielzahl von isoelektrische Punkte aufweisen (Righetti & Gianazza, 1977). Die Untersuchungen von Wu et. al. (2023) zeigen, dass der pH-Wert in der Nähe des IEPs einen bedeutenden Effekt auf die Wechselwirkungen zwischen den Proteinmolekülen sowie deren Ladungseigenschaften hat, was zur Aggregation und Fällung führen kann. In ähnlicher Weise stellten Li et al. (2020) fest, dass Zein im pH-Bereich um den IEP eine starke Aggregation aufweist, was den minimalen Proteinertrag in den sauren und neutralen Bereichen erklärt.

Für die weiteren Versuche wurde daher ein pH-Wert von 8 für die Proteinfällung ausgewählt, da dieser Wert auf ein Löslichkeitsminimum hindeutete und saure Bedingungen, im Vergleich zur niedrigsten Proteinlöslichkeit bei pH 5 vermieden werden konnte. Außerdem verbessert der alkalische Bereich zusätzlich die Löslichkeit von Arabinoxylanen und ermöglicht somit eine effizientere Trennung, ohne übermäßig viele Chemikalien zu verbrauchen.

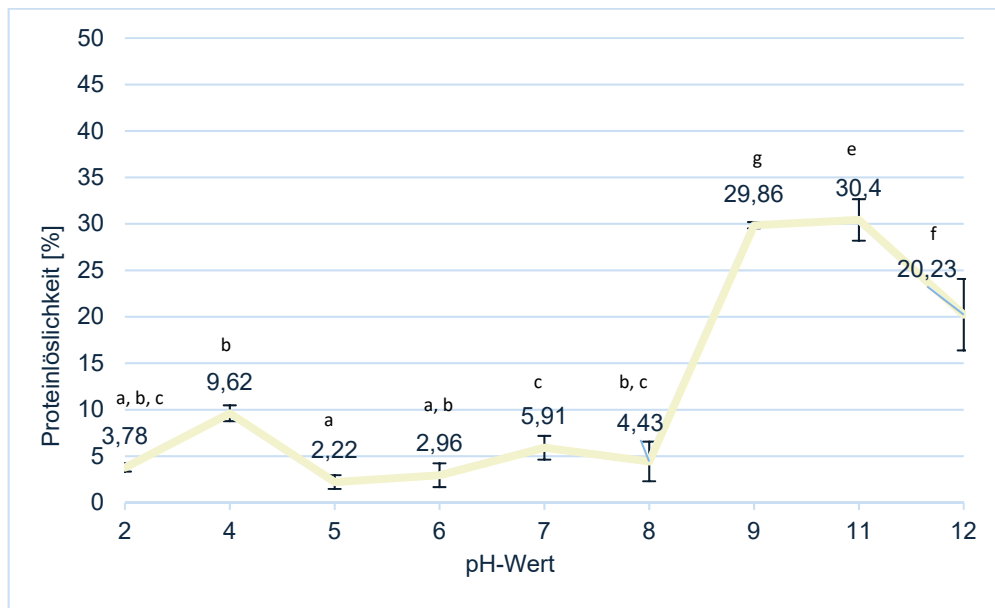


Abbildung 20: pH-Wert-abhängige Proteinlöslichkeitskurve der Q-Probe Mais (Vollkornmehl). Innerhalb jeder Fraktion wurden signifikante Unterschiede bewertet.

4.2 Vorversuche Stärkeabbau

Um den Stärkeabbau zu optimieren und somit die Extraktionseffizienz der Zielkomponenten zu erhöhen, wurden verschiedene Bedingungen (unterschiedliche Dosen der Enzyme und Dauer der Behandlung) bei den pH-Werten 4 und 7 (als Indiz für eine pH-abhängige Enzymaktivität) untersucht. Abbildung 21 stellt die Auswirkungen verschiedener Enzymdosierungen und Behandlungszeiten auf den Gesamtstärkegehalt der Q-Probe bei zwei pH-Werten (4 und 7) dar.

Der Gesamtstärkegehalt blieb bei beiden pH-Werten bei einer 100-fachen Enzymdosis (1 x Dosis) über 8 bzw. 24 Stunden unverändert. Geringe Schwankungen sind zu erkennen (pH4: ca. 53,4 g/100 g und pH7: 62,38 bzw. 53,18 g/100 g). Der pH-Wert und die Dauer der Behandlung haben in diesem Fall einen kleinen Einfluss im Vergleich zur Dosis. Eine 300-fache Erhöhung der Enzymdosis (3 x Dosis) bei pH7 über 8 und 24 Stunden zeigt, dass der Stärkegehalt deutlich sank. Bei pH 4 von 19,61 auf 16,50 g/100 g und bei pH 7 von 15,42 auf 15,23 g/100 g. Der Stärkeabbau war am wirksamsten mit der 300-fachen Enzymmenge in einem neutralen Milieu. Diese wurde dann für die weiteren Versuche im Labormaßstab und Pilotmaßstab verwendet.

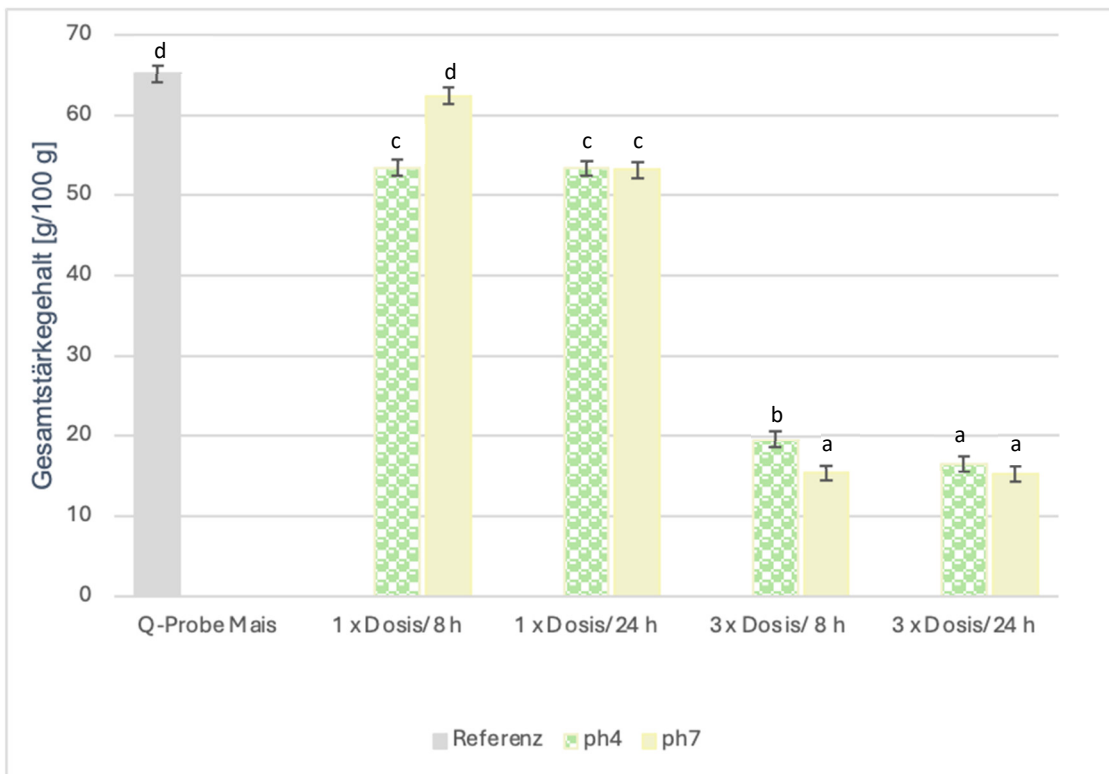


Abbildung 21: Auswirkung unterschiedlicher Enzymdosierungen (1x Dosis = 100-fache und 3x Dosis = 300-fache Dosis lt. Herstellerangaben) und Behandlungsdauer auf den Gesamtstärkegehalt der Mais-Q-Probe bei zwei verschiedenen pH-Werten (4, 7) und der der Gesamtstärkegehalt der Q-Probe Mais (Referenz). Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.

4.3 Proteingehalt und AX-Gehalt (Labormaßstab)

Im folgenden Kapitel wird die schrittweise Optimierung des Protein- und Arabinoxylangehalts durch Variation verschiedener Parameter (pH-Wert, Stärkeabbauschritt) in den Vorversuchen beschrieben. Abschließend werden die Ergebnisse der Extraktion mit unterschiedlichen Rohstoffen unter den festgelegten optimalen Bedingungen präsentiert.

Die Ergebnisse der Protein- und AX-Bestimmung sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 dargestellt. Sie zeigen die Auswirkung verschiedener Extraktionsbedingungen auf den Protein- und AX-Gehalt der Extrakte, die im Labormaßstab aus Mais, Maiskleie und Haferkleie gewonnen wurden.

Tabelle 3 fasst die Gesamtergebnisse der Vorversuche mit der Mais-Q-Probe zusammen. Diese Vorversuche unterscheiden sich in ihrem pH-Wert (pH 11 und pH 9) sowie eines optionalen Stärkeabbauschritts. Aufgrund der begrenzten Probenmengen konnten die Proteingehalte der Vorversuche 2 und 3 nur in Einfachbestimmung gemessen werden.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Extraktion aus Mais- und Haferkleie. Für diese Versuche wurden die Bedingungen verwendet, die zuvor in den Versuchen mit der Mais-Q-Probe ermittelt wurden.

Vorversuchsergebnisse

$\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH11 (ohne Stärkeabbau) ergab eine Proteinausbeute von 0,61 % mit einer Proteinreinheit von 38,37 g/100 g. Dieser Versuch ergab eine AX-Ausbeute von 0,69 % mit einem AX-Gehalt von $6,13 \pm 0,02$ g/100 g, was auf eine geringe Extraktionseffizienz hinweist. Der Proteingehalt des AX-Extrakts betrug $34,37 \pm 0,09$ g/100 g. Rückstand zeigt bei einem Yield von 36,19 % Protein- und AX-Gehalte von 0,62 g/100 g. und $5,7 \pm 0,02$ g/100 g.

Stärkeabbau + $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH11 führte zu einem viel geringerem Protein-Yield (0,05 %), und der Proteingehalt sank auf 13,49 g/100 g, was darauf hindeutet, dass der Einsatz von α -Amylase und Glucoamylase die Extraktion von Proteinen verringert. Stärkeabbau + $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH11 zeigte eine deutlich verbesserte AX-Ausbeute von 1,47 % mit einem hohen AX-Gehalt von $38,29 \pm 0,24$ g/100 g. Im Vergleich zum Versuch ohne Stärkeabbau bei dem der AX-Gehalt im AX-Extrakt $6,13 \pm 0,02$ g/100 g enthielt, verbesserte der enzymatische Stärkeabbau die Arabinoxylanextraktionseffizienz deutlich. Der Proteingehalt im AX-Extrakt sank auf $9,7 \pm 0,38$ g/100 g. Der Stärkeabbau hat die AX-Reinheit verbessert, indem er die Co-Extraktion von Proteinen verringert hat.

Bei Stärkeabbau + $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH9 war der Protein-Yield ähnlich wie beim Versuch bei pH 11 mit Stärkeabbau (0,05 %), jedoch mit einem leicht höheren Proteingehalt von 14,55 g/100 g. Bei Stärkeabbau + $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH9 war die AX-Ausbeute etwas gering (1,16 %), mit einem AX-Gehalt von $4,09 \pm 0,08$ g/100 g. Der Proteingehalt betrug in diesem Fall $34,06 \pm 0,21$ g/100 g und entsprach fast den Ergebnissen unter den Bedingungen von pH11 ohne Stärkeabbau. Der niedrigere pH-Wert ist bei der Verringerung das Protein im AX-Extrakt weniger wirksam, selbst wenn er mit Stärkeabbau kombiniert wird.

Tabelle 3: Protein-, AX-Gehalt und Ausbeute der gewonnenen Extrakte unter verschiedenen Bedingungen im Labormaßstab und die Referenz (Q-Probe Mais).

Bedingung	Extrakt	Yield [%] ⁴	Protein [g/100 g] ¹	AX [g/100 g] ¹
Ca(OH) ₂ _pH11	Protein - Fraktion	0,61	38,37 ± 0,39	0,62 ± 0
	AX - Fraktion	0,69	34,37 ± 0,09	6,13 ± 0,02
	Rückstand	36,19	7,39 ± 0,04	5,7 ± 0,02
Stärkeabbau + Ca(OH) ₂ _pH11	Protein-Fraktion	0,05	13,49 ²	-
	AX - Fraktion	1,47	9,7 ± 0,38	38,29 ± 0,24
	Rückstand	73,96	5,23 ± 0,06	3,81 ± 0,01
Stärkeabbau + Ca(OH) ₂ _pH9	Protein - Fraktion	0,05	14,55 ²	-
	AX - Fraktion	1,16	34,06 ± 0,21	4,09 ± 0,08
	Rückstand	61,36	8,61 ± 0,15	6,78 ± 0
Rohstoff	Q-Probe Mais ³	-	6,77 ± 0,09	4,07 ± 0,12

¹Mittelwerte Zweifachbestimmung ± Standardabweichung.²Einfachbestimmung³Unbehandeltes Vollkorn.⁴Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Der geringste Proteingehalt im AX-Extrakt war unter den Bedingungen pH11 mit Stärkeabbau zu beobachten, der Versuch zeigte, dass ein hoher pH-Wert mit vorherigem Stärkeabbau effektiver ist, um den AX-Gehalt im AX-Extrakt zu erhöhen. Die Unterschiede im Proteingehalt der AX-Extrakte können auch mit der Löslichkeit der Proteine unter verschiedenen pH-Bedingungen in Verbindung gebracht werden. Proteine weisen je nach pH-Wert unterschiedliche Eigenschaften von Löslichkeiten auf. Bei pH-Werten, die über dem isoelektrischen Punkt des Proteins liegen, haben sie eine negative Nettoladung, was ihre Wechselwirkung mit Wasser verstärkt und die Aggregation aufgrund elektrostatischer Abstoßung verhindert. Unter alkalischen Bedingungen führt dies zu einer größeren Löslichkeit der Proteine, da sie sich gegenseitig abstoßen, was die Extraktion erleichtert (Li & Xiong, 2021). Außerdem bricht der hohe pH-Wert die Zellwände auf, in denen die Proteine eingeschlossen sind. Dadurch wird die Zellstruktur destabilisiert, was die Freisetzung der Proteine erleichtert und deren Löslichkeit im Extraktionsmedium erhöht (Momen et al., 2021). Unter der Bedingung (Ca(OH)₂, pH11 (ohne Stärkeabbau)) führte zu 34,37 ± 0,09 g/100 g Protein im AX-Extrakt, was auf eine signifikante Co-Extraktion von Protein trotz hoher Löslichkeit hinweist. Durch die hohe Löslichkeit von Proteinen bei pH11 erhöht sich das Risiko der Co-Extraktion

in AX-Extrakten, insbesondere wenn kein vorheriger Stärkeabbau durchgeführt wird, um die Viskosität zu verringern und die AX freizusetzen. Die Viskosität stellt hier ein Hindernis dar, da sich Moleküle bei hohen Viskositäten während der Zentrifugation nur langsam trennen lassen. Mit dem Stärkeabbau sinkt die Viskosität, und die Extraktion wird effizienter, was zu einem geringeren Proteingehalt (9,7 g/100 g) im AX-Extrakt führt. Da Stärkekörner auch Protein und AX einschließen können und dies zu einem höheren Proteingehalt im AX-Extrakt führen kann. Bei Ca(OH)_2 , pH9 (mit Stärkeabbau) ist die Löslichkeit von Proteinen geringer als bei pH 11. Die Proteine liegen näher an ihrem IEP, wo sie weniger geladen sind und eher zur Aggregation neigen (Wu et al., 2023). Dies erklärt eventuell die $34,06 \pm 0,21$ g/100 g Protein im AX-Extrakt. Ein niedriger pH-Wert führt zu einer unvollständigen Solubilisierung der Proteine, was zur Co-Extraktion mit AX führt. Außerdem ist es möglich, dass die Proteinlöslichkeit bei pH 9 im Vergleich zu pH 11 etwas geringer ist, weil die Stärke bei pH 9 weniger verkleistert und dadurch schwerer enzymatisch abbaubar ist. Dies könnte eine höhere Reststärkemenge zur Folge haben, die zu einer höheren Viskosität führt. Die gesteigerte Viskosität könnte sich negativ auf die Effizienz der AX-Extraktion auswirken und zu einer reduzierten AX-Ausbeute führen. Um den AX-Gehalt zu maximieren und gleichzeitig die Proteine zu minimieren, ist Ca(OH)_2 bei pH11 mit vorherigen Stärkeabbau die optimalere Bedingung.

Vor Versuchsergebnisse: Maiskleie vs. Haferkleie

Das Protein-Extrakt aus Maiskleie (Tabelle 4) zeigt ein geringes Yield (0,31 %) mit einem Proteingehalt (12,38 g/100 g) und einem AX-Anteil von $15,22 \pm 0$ g/100 g. Im Vergleich zur Haferkleie, wurde ein höherer Yield (4,14 %) und Proteingehalt (16,54 g/100 g) erreicht. Die Extraktion aus Maiskleie zeigte ein AX-Yield von 13,95 % mit einem sehr hohen AX-Gehalt von $50,04 \pm 1,75$ g/100 g, was auf eine hohe Reinheit hinweist. Es wies einen geringen Proteingehalt (7,29 g/100 g) auf im Vergleich zum Proteingehalt im Hafer-Extrakt.

Die AX-Ausbeute aus Haferkleie war mit $29,1 \pm 4$ g/100 g AX geringer (6,30 % Ausbeute). Beim Hafer deutet der höhere Proteingehalt im AX-Extrakt ($17,81 \pm 0,1$), dass die Proteine in der Haferkleie eventuell stärker an AX gebunden sind, was den Trennungsprozess erschwert. In den Proteinextrakten beider Rohstoffe verblieb dennoch ein großer Anteil an AX

($15,22 \pm 0$ g/100 g bzw. $4,14 \pm 0,23$ g/100 g). Kann wiederum mit der Löslichkeit der Proteine erklärt werden, da in einer alkalischen Umgebung die Strukturen aufbrechen, wodurch sie löslicher werden und wahrscheinlich zu dem höheren Proteingehalt führen, der in den AX-Extrakten und Rückständen beobachtet wird. Das AX-Ratio im AX-Extrakt der Maiskleie beträgt 0,88, es zeigt eine mäßig verzweigte Struktur. Das A/X-Verhältnis im AX-Extrakt der Haferkleie betrug 0,78.

Tabelle 4: Protein- und AX-Gehalt, sowie das Yield und das A/X-Ratio der gewonnenen Extrakte von Maiskleie und Haferkleie im Labormaßstab

Rohstoff	Extrakt	Yield [%] ⁴	Protein [g/100 g] ¹	AX [g/100 g] ¹	A/X-Ratio
Maiskleie	Protein	0,31	$12,38^2$	$15,22 \pm 0$	0,96
	AX	13,95	$7,29 \pm 0,18$	$50,04 \pm 1,75$	0,88
	Rückstand	235,93	$8,97 \pm 0$	$14,75 \pm 0,2$	0,49
	Ausgangsmaterial ³	-	$13,67 \pm 0,09$	$22,45 \pm 0,22$	-
Haferkleie	Protein	4,14	$16,54 \pm 0,07$	$4,14 \pm 0,23$	0,77
	AX-Extrakt	6,30	$17,81 \pm 0,1$	$29,1 \pm 4$	0,78
	Rückstand	276,68	$10,49 \pm 0,13$	$1,71 \pm 0,01$	0,68
	Ausgangsmaterial ³	-	$22,20 \pm 0,06$	$5,05 \pm 0,23$	-

¹Mittelwerte der Zweifachbestimmung $\pm$ Standardabweichung.

²Einfachbestimmung

³Unbehandelte Maiskleie/Haferkleie.

⁴Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Maiskleie liefern insgesamt höhere AX-Gehalte im Vergleich zu Haferkleie bei besserem Yield, während Haferkleie höhere Proteingehalte im Extrakt bieten. Haferkleie (Ausgangsmaterial) enthalten generell mehr Proteine und weniger Arabinoxylane als Maiskleie.

Nach den Studien von Herrera-Balandrano et al. und Carvajal-Millán et al. zeigt die alkalische Extraktion von AX aus Maiskleie je nach Behandlungsbedingungen unterschiedliche Ergebnisse. Die Ergebnisse von Herrera-Balandrano ergaben AX-Yields zwischen 4,89 % und 8,23 %. Sie extrahierten Maiskleie bei 0.5 NaOH bei 37°C für 2, 4 und 6 Stunden. Die Studie von Carvajal-Millán zeigte Ausbeuten von 5,5 % bis 13 % bei verschiedenen Konditionen (0.5 NaOH bei 25 °C, Inkubationszeit 0–4 h). Die Studie von Hussain et al. extrahierten AX aus

nixtamalisierte und nicht-nixtamalisierte Maiskleie unter alkalischen Bedingungen (4,5 % KOH), dabei erreichten sie eine Reinheit von 57–60 %. Was ähnlich zu unseren Ergebnissen ist. Dieses Ergebnis ist auch ähnlich den Werten der Studie von Ayala-Soto et al., sie behandelten Maisfasern mit NaOH bei 25 °C 8 h lang und fällten die Arabinoxylane mit 65 % Ethanol bei 4°C über Nacht. Sie berichteten von einem AX-Gehalt von 55,69 % bis 62,15 %. Ebenso in der Studie von Herrera-Balandro et al. lag die Reinheit der alkali-extrahierten AX des Maiskleie-extrakts zwischen 55,58 % und 61,16 %, bei einem Proteingehalt von nur $1,00 \pm 0,06$ %. Die Co-Extraktion von Protein war viel geringer im Vergleich zu unseren Ergebnissen. Die Unterschiede können auch teilweise durch die unterschiedliche Laugenart und Konzentrationen erklärt werden. Ayala-Soto et al. und Carvajal-Millán et al. ermittelten ebenfalls Proteinwerte (über 2 %), was wieder mit der erhöhten Proteinlöslichkeit erklärt werden kann unter alkalischen Bedingungen in Zusammenhang steht. Ein hoher pH-Wert löst Wasserstoffbrückenbindungen und ionischen Wechselwirkungen in den Proteinen auf, was ihre Löslichkeit erhöht und möglicherweise den höheren Proteingehalt in unseren AX-Extrakten erklärt. Yilmaz-Turan et. al (2020) führten einen mehrstufigen Prozess (Fermentation, enzymatischer Stärkeabbau, kalte Alkaliextraktion) zur Isolierung von Proteinen und Arabinoxylane (F-AX) aus Weizenkleie durch. Der Proteingehalt von Weizenkleie sank auf 8,5 %. Sie extrahierten hauptsächlich lösliche Proteine, aus dem Endosperm und der Aleuronschicht der Kleie, da sie leichter zugänglich sind, aufgrund der dünneren Struktur. Während unlösliche Proteine in der Aleuronschicht schwerer zugänglich waren, speziell bei pH-Schwankungen. Durch die Schwankungen kann die Löslichkeit der Proteine beeinflusst werden und zu einer unvollständigen Extraktion führen. Dies könnte erklären, warum der Proteingehalt in unseren AX-Extrakten und Rückständen in einigen Extraktionen ziemlich hoch war. Das AX-Verhältnis der Ergebnisse von Herrera et al. lag bei 0,82 (Inkubation von 2 h) und 0,87 (Inkubation 4 und 6 h). Auch Carvajal-Millán et al. berichteten über ein AX-Verhältnis von 0,85. Diese Ergebnisse ähneln unseren, aber waren höher wie die ermittelten Ergebnissen von Ayala-Soto et al. (0,53–0,55). Das lässt darauf schließen, dass unsere AX bei der Extraktion nicht erheblich beschädigt oder abgebaut wurden. Ein niedriger A/X-Ratio weist auf eine größere Linearität der Moleküle hin, da bei harten Extraktionen die Seitenketten stärker abfallen als bei milden. Auf unseren milden

Bedingungen bleibt die Funktionalität der Polymere, vor allem die Vernetzungsfähigkeit, besser erhalten.

4.4 Ergebnisse des Pilotmaßstabs

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der simultanen Extraktion von Protein und Arabinoxylanen aus Maiskleie dargestellt.

4.4.1 Stärkeabbau-effizienz (Pilotmaßstab)

Der Gehalt an Stärke und freier Glucose der Extrakte aus Maiskleie werden in Tabelle 5 angeführt.

Bei der ersten Extraktion kam es zu einer Reduktion des Stärkegehalts im AX-Extrakt ($14,51 \pm 1,13$ g/100 g) und eine moderate Freisetzung von Glukose ($1,10 \pm 0,10$ g/100 g), im Vergleich zum nativen Rohstoff. Im Protein-Extrakt wurde keine Stärke nachgewiesen, aber ein hoher Gehalt an freier Glukose ($13,05 \pm 0,76$ g/100 g). Der Stärkegehalt des Rückstands war niedrig ($0,27 \pm 0,23$ g/100 g) und mäßig freie Glukose, was auch eine effektive Stärke-entfernung zeigte. Im Vergleich beträgt der Stärkegehalt der unbehandelten Maiskleie $17,47 \pm 0,25$ g/100 g.

Der Stärkegehalt des AX-Extrakts bei der zweiten Extraktion lag deutlich niedriger ($0,40 \pm 0,56$ g/100 g), aber viel weniger freie Glukose ($4,84 \pm 0,87$ g/100 g). Das Permeat enthielt minimale Stärke ($0,20 \pm 0,34$ g/100 g) und mäßige freie Glukose ($6,81 \pm 0,64$ g/100 g). Im Rückstand wurde ein Stärkegehalt von $0,69 \pm 0,05$ g/100 g festgestellt, aber keine freie Glukose nachgewiesen.

Tabelle 5: Gehalt an Stärke und freie Glucose und der Yield der gewonnenen Extrakte der Extraktion 1 und Extraktion 2, sowie die Referenz Maiskleie.

Bedingung	Extrakt	Yield [%] ³	Stärke [g/100 g] ¹	Freie Glucose [g/100 g] ¹
Extraktion 1 (Ca(OH) ₂)	Protein Permeat 1	0,324	-	$13,05 \pm 0,76^a$
	AX Retentat 1	15,08	$14,51 \pm 1,13^c$	$1,10 \pm 0,10^b$
	Rückstand 1	67,36	$0,27 \pm 0,23^a$	$8,60 \pm 1,79^c$
Extraktion 2 (Ca(OH) ₂ + Xylanasen)	Protein Permeat 2	4,39	$0,20 \pm 0,34^{ab}$	$6,81 \pm 0,64^d$
	AX Retentat 2	8,38	$0,40 \pm 0,56^b$	$4,84 \pm 0,87^e$
	Rückstand 2	48,42	$0,69 \pm 0,05^{ab}$	-
Rohstoff	Maiskleie ²	-	$17,47 \pm 0,25^d$	-

¹Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung.

²Unbehandelte Maiskleie.

³Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.

Die erste Extraktion ergab eine Abnahme des Stärkegehalts im AX-Extrakt, was darauf hinweist, dass der Stärkebestandteil nicht vollständig abgebaut wurde. Wahrscheinlich blieben die unbeschädigten Stärkekörner während der Filtration im AX-Retentat zurück, da Mais-Stärkekörner zeigen eine Größenverteilung von klein ($<2\ \mu\text{m}$), mittel ($2\text{--}15\ \mu\text{m}$) und groß ($>15\ \mu\text{m}$), wobei die großen Körner vorherrschend sind. Da sie strukturell größer als 100 kDa sind, konnten sie daher nicht in das Protein-Permeat gelangen (Cui et al., 2014).

Die Freisetzung der freien Glukose im Verlauf des Prozesses zeigt, dass ein erheblicher Abbau von Stärke erfolgte. Die Diafiltration war jedoch nicht ausreichend, um alle Stärkeabbauprodukte effektiv zu entfernen. Auch die Behandlung mit Amylasen und Amyloglucosidasen war im ersten Extraktionsschritt nicht ausreichend, um die Stärke vollständig abzubauen und die Filtration zu verbessern.

4.4.2 Ballaststoffgehalt (Pilotmaßstab)

Die Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse der Ballaststoffanalyse. Die Ergebnisse unterscheidet sich in löslichen (SDF) und unlöslichen Ballaststoffe (IDF) und den Gesamtballaststoffen (TDF).

Die Effizienz des Stärkeabbaus (siehe Kapitel 4.4.1) begünstigt die Extraktion und den Reinheitsgrad der Extrakte hinsichtlich Ballaststoffgehalt in den Versuchen. Dies bestätigt auch Bender et al. (2017), dass subkritische Wasserextraktion nach enzymatischen Stärkeabbau die Zellwand aufbrechen und AX freisetzen, wodurch der TDF-Gehalt des Extrakts erhöht wird.

In Extraktion 1 wurde eine Ausbeute von 15,08 % mit einem Gehalt an SDF im AX-Extrakt von $21,67 \pm 0,60\ \text{g}/100\ \text{g}$ erzielt. Der Gehalt an IDF lag bei nur $0,92 \pm 0,79\ \text{g}/100\ \text{g}$. Im Proteinextrakt, dessen Ausbeute nur 0,324 % betrug, war ein SDF-Anteil von $2,49 \pm 0,45\ \text{g}/100\ \text{g}$ nachweisbar, während IDF unter der detektierbaren Nachweisgrenze lag. Der Rückstand enthielt hingegen ein TDF von $47,62 \pm 0,37\ \text{g}/100\ \text{g}$.

Im Vergleich dazu führte Extraktion 2, die eine Xylanase-Behandlung beinhaltete, zu einer geringeren Ausbeute von 8,38 %, jedoch wie erwartet, zu einem signifikant höheren SDF-Gehalt im AX-Extrakt von $31,98 \pm 0,86\ \text{g}/100\ \text{g}$. Diese Ergebnisse zeigen, dass enzymatische Hydrolyse zu einer verbesserten Freisetzung löslicher Ballaststoffe führt, während unlösliche Fraktionen stärker in lösliche umgewandelt werden. Der Rückstand enthielt ein TDF von $58,42 \pm 3,49\ \text{g}/100\ \text{g}$.

Tabelle 6: Gehalt der löslichen und unlöslichen Ballaststoffe der Extrakte aus Extraktion 1 und 2, sowie das Yield und die Referenz.

Bedingung	Extrakt	Yield [%] ³	SDF [g/100 g] ¹	IDF [g/100 g] ¹	TDF [g/100 g] ¹
Extraktion 1 (Ca(OH) ₂)	Protein Permeat 1	0,324	2,94 ± 0,54 ^a	-	2,49 ± 0,64 ^a
	AX Retentat 1	15,08	21,67 ± 0,60 ^b	0,92 ± 0,79 ^a	22,51 ± 0,99 ^b
	Rückstand 1	67,36	-	-	47,62 ± 0,37 ^c
Extraktion 2 (Ca(OH) ₂ + Xylanasen)	Protein Permeat 2	4,39	-	-	1,11 ± 2,47 ^d
	AX Retentat 2	8,38	31,98 ± 0,86 ^c	1,12 ± 1,06 ^a	33,01 ± 1,37 ^e
	Rückstand 2	48,42	-	-	58,42 ± 3,49 ^f
Rohstoff	Maiskleie ²	-	-	-	58,80 ± 0,81 ^f

¹Mittelwerte ± Standardabweichung.²Unbehandelte Maiskleie.³Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.

Bei der Extraktion 1, ohne enzymatische Behandlung, enthielt das AX-Extrakt eine signifikante Menge an löslichen Ballaststoffen $21,67 \pm 0,60$ g/100 g. Dies stimmt mit der Literatur überein, da alkalische Extraktionen die Zellwände effektiv aufbrechen und hochmolekulare AX in lösliche Fraktionen umwandeln können. Der niedrige IDF ($0,92 \pm 0,79$ g/100 g) bestätigt, dass die alkalische Behandlung in erster Linie die unlöslichen Ballaststoffe in lösliche Formen umwandelte. Alkalische Bedingungen brechen komplexe Faserstrukturen auf, wodurch sie besser als SDF extrahierbar werden (Bender et al., 2017; He et al., 2021). Zusätzlich führte die alkalische Behandlung bei Protein Permeat 1 zu einer geringen Menge an löslichen Ballaststoffen (SDF). Dies weist auf einen geringen Abbau von Ballaststoffen hin, wobei kleine Moleküle unter 100 kDa, die während der ersten alkalischen Behandlung freigesetzt wurden, im Retentat verbleiben konnten. Bei der Extraktion 2, mit Xylanase-Zugabe, war der SDF-Gehalt im AX-Extrakt noch höher ($31,98 \pm 0,86$ g/100 g). Dies zeigt, dass die Zugabe von Xylanase bei der Hydrolyse von AX wirksam ist. Die enzymatische Behandlung verstärkt die Effizienz des Zellwandaufschlusses und erhöht den Anteil an löslichen Polysaccharide, wie auch in Studien von Herrera-Balandrano et al. bestätigt. Die Gesamtausbeute war an AX geringer (8,38 %). Durch die erste Extraktion wurden die meisten löslichen Komponenten schon gelöst. Außerdem können durch die Hydrolyse kleine Moleküle durch die Xylanase entstehen, die während der Filtration verloren gehen (siehe Protein Permeat 2 TDF $1,11 \pm 2,47$ g/100 g). Die

Rückstände beider Extraktionen zeigen hohe TDF-Gehalte nahe dem unbehandelten Wert der unbehandelten Maiskleie ($58,80 \pm 0,81$ g/100 g). Ein signifikanter Anteil der Ballaststoffe blieb unlöslich und wurde auch nicht während der Extraktion gelöst.

Ebenso bestätigen Courtin & Delcour et al., dass ein hoher Anteil löslicher Ballaststoffe maßgeblich von den Extraktionsbedingungen abhängt und somit unterschiedlich stark die Löslichkeit der Ballaststoffe in der Zellwand beeinflussen.

4.4.3 Protein- und Arabinoxylangehalt (Pilotmaßstab)

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse von den zwei Extraktionen im Pilotmaßstab zur Bestimmung des Protein- und Arabinoxylangehalts in verschiedenen Extrakten aus Maiskleie dargestellt. Tabelle 7 zeigt zusätzlich den Yield und das A/X-Verhältnis.

In Extraktion 1, wurde das Protein im Permeat durch Verwendung einer 5 kDa Cut-off-Membran vom Extrakt getrennt. Das Protein-Extrakt wies eine geringe Ausbeute von 0,324 % mit einem Proteingehalt von $7,05 \pm 0,04$ g/100 g und einem AX-Anteil von $1,92 \pm 0,08$ g/100 g auf. Bei der AX-Trennung mittels einer 100 kDa Cut-off-Membran wurde ein AX-Yield von 15,08 % mit einem AX-Gehalt von $16,62 \pm 0,76$ g/100 g gewonnen. Das Extrakt wies einen Proteingehalt von $9,15 \pm 0,05$ g/100 g auf. Das A/X-Verhältnis im AX-Extrakt betrug 0,92 weist auf einen leicht höheren Gehalt an Xylose im Vergleich zu Arabinose hin. Im Rückstand (67,36 %) verblieb ein großer Anteil an Arabinoxylan ($26,6 \pm 0,21$ g/100 g) und Proteine ($10,59 \pm 0,06$ g/100 g).

Bei der zweiten Extraktion wurde eine geringere AX-Ausbeute (8,38 %) erreicht, aber mit einem AX-Gehalt von $28,38 \pm 1,53$ g/100 g. Dies entspricht einer höheren Ausbeute von 2,99 g pro 100 g Kleie. Der Proteingehalt des Extrakts lag bei $5,1 \pm 0,09$ g/100 g. Diese Extraktion erfolgte ohne eine Proteinmembranfiltration. Das Permeat-Yield betrug 4,39 % mit einem Proteingehalt von $5,9 \pm 0,04$ g/100 g und AX-Gehalt von $2,26 \pm 0,18$ g/100 g. Der Rückstand (48,42 %) wies, ähnlich wie bei der ersten Extraktion, den höchsten Gehalt an Protein ($11,8 \pm 0,14$ g/100 g) und AX ($30,35 \pm 0,68$ g/100 g) auf. Trotz der verbesserten Extraktion mit Xylanase blieb noch eine große Menge an AX im Rückstand. Das A/X-Verhältnis lag bei 0,77, was niedriger war als bei der ersten Extraktion.

Tabelle 7: Protein- und AX-Gehalt, Yield und dem A/X-Ratio der Extrakte im Pilotmaßstab, sowie die Referenz.

Bedingung	Extrakt	Yield [%] ³	Protein [g/100 g] ¹	AX [g/100 g] ¹	A/X-Ratio
Extraktion 1 (Ca(OH) ²)	Protein Permeat 1	0,324	7,05 ± 0,04 ^a	1,92 ± 0,08 ^a	1,5
	AX Retentat 1	15,08	9,15 ± 0,05 ^b	16,62 ± 0,42 ^b	0,92
	Rückstand 1	67,36	10,59 ± 0,06 ^c	26,6 ± 0,21 ^{de}	0,78
Extraktion 2 (Ca(OH) ²) + Xylanasen	Protein Permeat 2	4,39	5,9 ± 0,04 ^d	2,26 ± 0,18 ^a	1,07
	AX Retentat 2	8,38	5,1 ± 0,09 ^e	28,38 ± 1,53 ^e	0,77
	Rückstand 2	48,42	11,8 ± 0,14 ^f	30,35 ± 0,68 ^d	0,78
Rohstoff	Maiskleie ²	-	13,67 ± 0,09 ^g	22,45 ± 0,22 ^{2c}	-

¹Mittelwerte Dreifachbestimmung ± Standardabweichung.²Unbehandelte Maiskleie.³Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.

Die Ergebnisse bestätigen, dass der AX- und Proteingehalt sowie das A/X-Verhältnis, stark von der Wahl der Extraktionsmethode abhängen. Extraktion 1, konnte eine höhere Gesamtausbeute (15,08 %) mit moderaten A/X-Verhältnis (0,92) erreichen, allerdings mit geringerem Reinheitsgrad (9,15 ± 0,05 g/100 g Protein Permeat). Die Verfahren zur Membranfiltration weisen eine effektive Trennung von AX auf. Dabei ist es wichtig, den Membrantyp und die Betriebsbedingungen zu wählen. Die Membrandurchlässigkeit wird von der AX-Konzentration, dem MWCO und der Porengröße der Membran stark beeinflusst (Tse & Schendel, 2023). Diese Ergebnisse sind auch im Einklang mit den Arbeiten von Valerio et al. (2021) die die Wahl von Membrantyp und Betriebsbedingungen (Betriebstemperatur, der transmembrane Druck und die Flussgeschwindigkeit) für eine optimale AX-Trennung betonen. In der Studie erwies sich eine Membran von 150 kDa als am besten geeignet für den Rohstoff Mais. Die idealen Bedingungen beinhalteten eine hohe Betriebstemperatur (66 °C), eine hohe Querstromgeschwindigkeit (1,06 m/s) und einen niedrigen transmembranen Druck (0,7 bar). Diese Prozessbedingungen verbesserten die Permeabilität und die Trennungseffizienz von AX und anderen Fraktionen. Die Ergebnisse der Proteintrennung mittels 5 kDa-Membran zeigen eine geringe Ausbeute (0,324 %) und einen Proteingehalt von 7,05 % ± 0,04 g/100 g. Eine MWCO-Membran mit geringerer Größe kann zwar eine wirksame Trennung von niedermolekularen Verbindungen ermöglichen, führt aber aufgrund von Fouling und Konzentrationspolarisation zu

einer höheren Membranbelastung, was unsere niedrige Ausbeute erklären könnte. Studien zeigen, dass eine enzymatische Vorbehandlung (z. B. Pektinasen oder Carbohydrasen) das Auftreten von Fouling verhindern kann (Alpiger et al., 2024). Das Permeat (4,39 %) mit einem Proteingehalt von $5,9 \pm 0,04$ g/100 g zeigt, dass kleine Moleküle, eventuell lösliche Proteine durch die Membran in das Permeat gelangt sind.

Die Unterschiede im A/X-Verhältnis könnte an der stärkeren Verzweigung der Mais-Arabinoxylane im Vergleich zu anderen Rohstoffen (wie Weizen oder Roggen) liegen (Liu et al., 2022), außerdem kann durch eine alkalische Behandlung die Arabinose-Substituenten in Mitleidenschaft ziehen, was zu einem Anstieg des A/X-Verhältnis führt (Huang et al., 2024). Vergleiche mit Literaturdaten zeigen, dass das erzielte AX-Verhältnis (0,92) ähnlich wie von Herrera-Balandrano et al. (0,82–0,87) und höher ist als in anderen Studien, z.B. Ayala-Soto et al. (0,53–0,55) oder Weng et al. 0,72–0,77. Die geringeren Werte aus Extraktion 2 (0,77) deuten auf weniger verzweigte AX-Strukturen hin, gleich wie bei Wenig et al., was auf eine effektivere Zellwandaufspaltung durch Xylanase hindeutet. Die Xylanase-Behandlung führte in einer geringeren Ausbeute (8,38 %), aber mit höherer AX-Konzentration ($28,38 \pm 1,53$ g/100 g), mit einem geringeren Proteingehalt ($5,1 \pm 0,09$ g/100 g). Dies deutet auf eine gezielte Freisetzung von AX durch enzymatische Hydrolyse der Zellwandmatrix hin. Studien wie von Courtin & Declour et al. bestätigen, dass enzymatische Behandlungsmethoden die Extraktionseffizienz von AX verbessern.

4.4.4 Gehalt an Phenolsäuren (Pilotmaßstab)

Die Tabelle 8 zeigt den Gehalt der Phenolsäuren in den AX-Extrakten. Die Ergebnisse werden als gebundene (FA-B), konjugierte (FA-C) und freier Form (FA-F) dargestellt.

Die Maiskleie (Ausgangsmaterial) zeigt einen hohen Gehalt an gebundener Phenolsäuren mit $23,08 \pm 2,21$ mg FA/ g. Nur in geringen Mengen beinhaltet die unbehandelte Maiskleie die Phenolsäuren in konjugierter ($4,21 \pm 0,40$ mg FA/ g) und freier Form ($0,18 \pm 0,04$ mg FA/ g).

In Extraktion 1 ist der Gehalt an gebundener Phenolsäuren im Vergleich zur Referenz signifikant geringer ($8,68 \pm 0,68$ mg FA/ g). Der Gehalt an konjugierter

Phenolsäuren nimmt mit $11,32 \pm 0,32$ mg FA/ g zu. Ebenso der Gehalt an freier Phenolsäuren ist auf $3,22 \pm 0$ mg FA/ g im Vergleich zur Maiskleie gestiegen.

Die weitere Behandlung des Rückstands mit Xylanase führt zu einem weiteren Rückgang der gebundenen Phenolsäuren ($5,18 \pm 0,25$ mg FA/ g). Auch der Anteil der konjugierten Phenolsäuren (FA-C) sinkt auf $4,65 \pm 0,06$ mg FA/ g, während der Anteil der freien Form auf $6,79 \pm 0,08$ mg FA/ g signifikant gestiegen ist.

Tabelle 8: Gehalt an Phenolsäuren (FA-B (gebunden), FA-C (konjugiert), FA-F (frei) extrahierten AX, sowie die Referenz und der Yield.

Bedingung	Extrakt	Yield [%] ³	FA-B [mg FA/g]	FA-C [mg FA/g]	FA-F [mg FA/g]
Extraktion 1 (Ca(OH) ²)	AX	15,08	$8,68 \pm 0,68^a$	$11,32 \pm 0,32^a$	$3,22 \pm 0^a$
Extraktion 2 (Ca(OH) ²) + Xylanasen	AX	8,38	$5,18 \pm 0,25^b$	$4,65 \pm 0,06^b$	$6,79 \pm 0,08^b$
Rohstoff	Maiskleie ²	-	$23,08 \pm 2,21^c$	$4,21 \pm 0,40^b$	$0,18 \pm 0,04^c$

¹Mittelwerte Dreifachbestimmung $\pm$ Standardabweichung.

²Unbehandelte Maiskleie.

³Ausbeute in g Extrakt pro 100 g Rohstoff.

Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.

Laut Courtin & Declour et al. sind hohe Werte gebundener FA-B vorteilhaft, um die rheologischen Eigenschaften und die Stabilität des AX-Netzwerks in Backwaren zu verbessern, da gebundene Ferulasäuren zur Vernetzung von AX-Molekülen beitragen. Extraktion 1 liefert mehr gebundene FA als Extraktion 2, was vermuten lässt, dass die enzymatische Behandlung in Extraktion 2 die Polymerstruktur stärker abbaut und somit den FA in freier Form (FA-F) umwandelt. Der Anstieg des FA-F in Extraktion 2 zeigt, dass die Xylanase Behandlung die AX-Matrix aufbricht und zuvor gebundene und konjugierte freisetzt. Studien von Faulds et al. und Carvajal-Millán et al. zeigen, dass enzymatische und alkalische Behandlungen zwar AX freisetzen und die AX-Ausbeute erhöhen, aber die Menge an FA-B verringern. Die Xylanase setzt auch die Ferulasäure frei, die an das AX gebunden ist. Diese Verringerung der gebundenen Ferulasäuren beeinträchtigt die Bildung von Netzwerken und es könnte die Funktionalität von AX verringern, wenn konjugierte und freie Phenolsäuren zunehmen. Ebenso wird berichtet, dass durch die Intensivität der Alkalibehandlung, sich die Strukturen von AX verändern und funktionellen Gruppen wie die Ferulasäure zerstören kann (Huang et al., 2024).

Genau das haben wir bei Extraktion 1 bei der Erhöhung von FA-F im Vergleich zum Rohstoff gesehen.

5 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die simultane Extraktion von Proteinen und Arabinoxylanen aus glutenfreien Rohstoffen wie Maiskleie und Haferkleie unter den untersuchten Bedingungen nur teilweise erfolgreich war. Während die AX-Isolierung effizienter verlief, war die Proteinextraktion begrenzt.

Die Effizienz der Extraktion ist stark von den Prozessbedingungen abhängig, insbesondere vom pH-Wert (pH11/pH9) und der Behandlung des Stärkeabbaus. Die besten Ergebnisse für die AX-Ausbeute, AX-Gehalte (Maiskleie: 50,04 g/100 g) und Proteingewinnung, wurden durch einen hohen pH-Wert (11) in Verbindung mit einem Stärkeabbau erzielt. Allerdings bleibt die Protein-Ausbeute gering (0,31 % Yield, 12,38 g/100 g Proteingehalt).

Im Pilotmaßstab wurde eine signifikante Abnahme der Extraktionseffizienz für AX und Proteinen beobachtet. Gründe für die niedrige Ausbeute sind Fouling und Konzentrationspolarisation, die die Membranleistung beeinträchtigen. Studien zeigen, dass eine Membran mit höherer MWCO, Steigerung der Betriebstemperaturen und Querstromgeschwindigkeiten zu einer Steigerung der Permeabilität und Trennleistung führen kann. Durch die enzymatische Nachbehandlung mit Xylanase kam es zu einer gesteigerten Freisetzung von AX. Allerdings führte dies zu einem Rückgang der gebundenen Phenolsäuren, die entscheidend für die Netzwerkbildung und Stabilität in Backwaren ist. Während Extraktion 1 (ohne Xylanase) höhere FA-B-Gehalte zeigte, sank dieser Anteil bei der enzymatischen Behandlung signifikant, was die strukturelle Funktionalität des AX beeinträchtigen könnte.

Die Rückstände wiesen zudem hohe Restgehalte an AX (26,6 g/100 g) und Protein (10,59 g/100 g), was auf eine unvollständige Extraktion hindeutet.

Die Bedingungen, die für die Extraktion von AX (hoher pH-Wert, enzymatische Behandlung) optimal sind, sind eventuell nicht ideal für die Proteinisolierung. Die Ergebnisse weisen auf eine starke Proteinbindung in der Zellwand oder eine schwache Löslichkeit aufgrund der gewählten Extraktionsbedingungen hin. Obwohl eine gewisse Menge an Proteinen extrahiert werden konnte, war die Ausbeute sowohl im Labor- als auch im Pilotmaßstab nicht zufriedenstellend, hier sind weitere Prozessoptimierungen notwendig.

Weiters sollte beim Vergleich der Ergebnisse die unterschiedliche Durchführung der Extraktionen im Labor- und Pilotmaßstab berücksichtigt werden.

Um ein Gleichgewicht zwischen hoher AX- und Proteinausbeute zu erreichen, während die funktionellen Eigenschaften beibehalten werden, sollten in zukünftige Arbeiten gezieltere Untersuchungen der Vorbehandlungsmethoden und Filtrationsparameter vorgenommen werden. Eventuell sollte mehr Wert auf die getrennte Isolierung von AX und Proteinen gelegt werden, um höhere, reinere und funktionellere Ausbeuten zu erlangen.

6 Literaturverzeichnis

- Ai, Y., & Jane, J. L. (2016). Macronutrients in Corn and Human Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 581–598. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192>
- Alpiger, S. B., Solet, C., Dang, T. T., & Corredig, M. (2024). Ultrafiltration of Rapeseed Protein Concentrate: Effect of Pectinase Treatment on Membrane Fouling. *Foods*, 13(15). <https://doi.org/10.3390/foods13152423>
- Arzami, A. N., Ho, T. M., & Mikkonen, K. S. (2022). Valorization of cereal by-product hemicelluloses: Fractionation and purity considerations. *Food Research International*, 151(November 2021), 110818. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110818>
- Ayala-Soto, F. E., Serna-Saldívar, S. O., García-Lara, S., & Pérez-Carrillo, E. (2014). Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food Hydrocolloids*, 35, 471–475. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.004>
- Ayala-Soto, F. E., Serna-Saldívar, S. O., & Welti-Chanes, J. (2017). Effect of arabinoxylans and laccase on batter rheology and quality of yeast-leavened gluten-free breads. *Journal of Cereal Science*, 73, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.11.003>
- Bean, S. R., Akin, P. A., & Aramouni, F. M. (2021). Zein functionality in viscoelastic dough for baked food products. *Journal of Cereal Science*, 100(May), 103270. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103270>
- Belitz, Hans-Dieter & Grosch, Werner & Schieberle, P. (2008). Lehrbuch der Lebensmittelchemie. In 10.1007/978-3-540-73202-0. (Vol. 6, Issue August).
- Bender, D., Nemeth, R., Wimmer, M., Götschhofer, S., Biolchi, M., Török, K., Tömösközi, S., D'Amico, S., & Schoenlechner, R. (2017). Optimization of Arabinoxylan Isolation from Rye Bran by Adapting Extraction Solvent and Use of Enzymes. *Journal of Food Science*, 82(11), 2562–2568. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13920>
- Bender, D., Regner, M., D'Amico, S., Jäger, H., Tömösközi, S., & Schoenlechner, R. (2018). Effect of Differently Extracted Arabinoxylan on Gluten-Free Sourdough-Bread Properties. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5719681>
- Bender, D., & Schönlechner, R. (2020). Innovative approaches towards improved gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science*, 91(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102904>
- Berghofer, E., Schönlechner, M. R., & Schmidt, J. (2016). Neue und neuartige Rohstoffe und Lebensmittel. *Neue Verfahren Und Techniken Bei Der Lebensmittelherstellung Und Lebensmittelversorgung*, 99. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjM2N6Mwv_pAhVOIHIEHb-mD3QQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.sozialministerium.at%2Fdam%2Fjcr%3A66c39c11-22a9-4984-a0a1-30e8d245f969%2FLebensmittel_verfahren_teil3.pdf&usg=AOvVaw0Tg
- Berta, M., Gmoser, R., Krona, A., & Stading, M. (2015). Effect of viscoelasticity on foam development in zein-starch dough. *Lwt*, 63(2), 1229–1235. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.096>
- Carvajal-Millan, E., Rascón-Chu, A., Márquez-Escalante, J. A., Micard, V., León, N. P. de, & Gardea, A. (2007). Maize bran gum: Extraction, characterization and functional properties. *Carbohydrate Polymers*, 69(2), 280–285.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.10.006>

- Chandran, A. S., Suri, S., & Choudhary, P. (2023). Sustainable plant protein: an up-to-date overview of sources, extraction techniques and utilization. *Sustainable Food Technology*, 1(4), 466–483. <https://doi.org/10.1039/d3fb00003f>
- Corradini, C., Cavazza, A., & Bignardi, C. (2012). High-Performance Anion-Exchange Chromatography Coupled with Pulsed Electrochemical Detection as a Powerful Tool to Evaluate Carbohydrates of Food Interest: Principles and Applications. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2012, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/487564>
- Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35(3), 225–243. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0433>
- Cui, L., Dong, S., Zhang, J., & Liu, P. (2014). Starch granule size distribution and morphogenesis in maize (*Zea mays* L.) grains with different endosperm types. *Australian Journal of Crop Science*, 8(11), 1560–1565.
- Culetu, A., Susman, I. E., Duta, D. E., & Belc, N. (2021). Nutritional and functional properties of gluten-free flours. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(14). <https://doi.org/10.3390/app11146283>
- Doner, L. W., Chau, H. K., Fishman, M. L., & Hicks, K. B. (1998). An improved process for isolation of corn fiber gum. *Cereal Chemistry*, 75(4), 408–411. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.4.408>
- Espinosa-Ramírez, J., Garzon, R., Serna-Saldivar, S. O., & Rosell, C. M. (2020). Exploring the potential of arabinoxylan as structuring agent in model systems for gluten-free yeast-leavened breads. *Journal of Cereal Science*, 95(February), 103080. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103080>
- FAO. (2021). FAOSTAT ANALYTICAL BRIEF 60 Agricultural production statistics 2000–2021 FAOSTAT Analytical Brief 60 FAOSTAT CROPS AND LIVESTOCK PRODUCTION INTRODUCTION. *Agricultural Production Statistics 2000–2021*, 60, 1–17.
- Faulds, C. B., Zanichelli, D., Crepin, V. F., Connerton, I. F., Juge, N., Bhat, M. K., & Waldron, K. W. (2003). Specificity of feruloyl esterases for water-extractable and water-unextractable feruloylated polysaccharides: Influence of xylanase. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 281–288. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00029-8](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00029-8)
- Hadidi, M., Aghababaei, F., & McClements, D. J. (2023). Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*, 145(July), 109132. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109132>
- He, H. J., Qiao, J., Liu, Y., Guo, Q., Ou, X., & Wang, X. (2021). Isolation, Structural, Functional, and Bioactive Properties of Cereal Arabinoxylan—A Critical Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(51), 15437–15457. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04506>
- Herrera-Balandrano, D. D., Báez-González, J. G., Carvajal-Millán, E., Muy-Rangel, D., Urías-Orona, V., Martínez-López, A. L., Márquez-Escalante, J. A., Heredia, J. B., Beta, T., & Niño-Medina, G. (2020). Alkali-Extracted Feruloylated Arabinoxylans from Nixtamalized Maize Bran Byproduct: A Synonymous with Soluble Antioxidant Dietary Fiber. *Waste and Biomass Valorization*, 11(2), 403–409. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0462-z>
- Horstmann, S. W., Foschia, M., & Arendt, E. K. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food and Function*, 8(7), 2465–2474. <https://doi.org/10.1039/c7fo00415j>
- Houben, A., Höchstötter, A., & Becker, T. (2012). Possibilities to increase the quality in

- gluten-free bread production: An overview. *European Food Research and Technology*, 235(2), 195–208. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1720-0>
- Huang, M., Bai, J., Buccato, D. G., Zhang, J., He, Y., Zhu, Y., Yang, Z., Xiao, X., & Daglia, M. (2024). Cereal-Derived Water-Unextractable Arabinoxylans: Structure Feature, Effects on Baking Products and Human Health. *Foods*, 13(15), 1–20. <https://doi.org/10.3390/foods13152369>
- Institut für Lebensmitteltechnologie, B. (2021). *BOKU, Institut für Lebensmitteltechnologie*.
- Izydorczyk, M., & Biliaderis, C. (2007). Arabinoxylans: Technologically and Nutritionally Functional Plant Polysaccharides. In *Functional Food Carbohydrates* (pp. 249–290).
- Kaushal, M., Sharma, R., Vaidya, D., Gupta, A., Saini, H. K., Anand, A., Thakur, C., Verma, A., Thakur, M., Priyanka, & Kc, D. (2023). Maize: an underexploited golden cereal crop. *Cereal Research Communications*, 51(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/s42976-022-00280-3>
- Li, R., & Xiong, Y. L. (2021). Sensitivity of oat protein solubility to changing ionic strength and pH. *Journal of Food Science*, 86(1), 78–85. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15544>
- Lin, S., Agger, J. W., Wilkens, C., & Meyer, A. S. (2021). Feruloylated Arabinoxylan and Oligosaccharides: Chemistry, Nutritional Functions, and Options for Enzymatic Modification. *Annual Review of Food Science and Technology*, 12, 331–354. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121443>
- Liu, W., Zhang, Y., Xu, Z., Pan, W., Shen, M., Han, J., Sun, X., Zhang, Y., Xie, J., Zhang, X., & Yu, L. (Lucy). (2022). Cross-linked corn bran arabinoxylan improves the pasting, rheological, gelling properties of corn starch and reduces its in vitro digestibility. *Food Hydrocolloids*, 126(November 2021), 107440. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107440>
- Mairinger, T., Loos, M., & Hollender, J. (2021). Characterization of water-soluble synthetic polymeric substances in wastewater using LC-HRMS/MS. *Water Research*, 190, 116745. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116745>
- Matissek, R., & Fischer, M. (2021). *Lebensmittelanalytik 7. Auflage*. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-63409-7>
- Megazyme. (2017). Total Dietary Fiber Assay Procedure. *Megazyme*, 17, 1–19.
- Megazyme. (2020a). D-GALACTOSE (Rapid). *Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, IRELAND*, 20.
- Megazyme. (2020b). D-Xylose Including. *Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, IRELAND*, 20. www.megazyme.com
- Megazyme. (2024). Total Starch (α -amilase / amiloglucosidase) Assay Protocol. *Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, IRELAND*, 01.
- Mersmann, A., Kind, M., & Stichlmair, J. (2005). Chemische Technik / Verfahrenstechnik. In *Springer* (Vol. 2).
- Mohammadi, M., Zoghi, A., & Mirmahdi, R. S. (2022). Impact of enzymes in development of gluten-free cereal-based products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15295>
- Momen, S., Alavi, F., & Aider, M. (2021). Alkali-mediated treatments for extraction and functional modification of proteins: Critical and application review. *Trends in Food Science and Technology*, 110(October 2020), 778–797. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.052>
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize: A paramount staple crop in the context

- of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 417–436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Patra, T., Axel, C., Rinnan, Å., & Olsen, K. (2022). The physicochemical stability of oat-based drinks. *Journal of Cereal Science*, 104(December 2021), 103422. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103422>
- Pico, J., Reguilón, M. P., Bernal, J., & Gómez, M. (2019). Effect of rice, pea, egg white and whey proteins on crust quality of rice flour-corn starch based gluten-free breads. *Journal of Cereal Science*, 86(August 2018), 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.01.014>
- Pietiäinen, S., Moldin, A., Ström, A., Malmberg, C., & Langton, M. (2022). Effect of physicochemical properties, pre-processing, and extraction on the functionality of wheat bran arabinoxylans in breadmaking – A review. *Food Chemistry*, 383(February). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132584>
- Rai, S., Kaur, A., & Chopra, C. S. (2018). Gluten-Free Products for Celiac Susceptible People. *Frontiers in Nutrition*, 5(December), 1–23. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00116>
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. P., & Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312(1), 105–112. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
- Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., & Unnikrishnan, V. S. (2013). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 662–675. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>
- Righetti, P. G., & Gianazza, E. (1977). *Heterogeneity of Storage Proteins in Maize*. 123, 115–123.
- Rimbach, G., Möhring, J., & Erbersdobler, H. F. (2010). *Einsteiger, Lebensmittel-warenkunde*. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-642-04486-1.pdf>
- Saeed, F., Hussain, M., Arshad, M. S., Afzaal, M., Munir, H., Imran, M., Tufail, T., & Anjum, F. M. (2021). Functional and nutraceutical properties of maize bran cell wall non-starch polysaccharides. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 233–248. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1858864>
- Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. (2016). *EFSA Journal*, 8(3), 1–77. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1462>
- Shewry, P. R., & Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947–958. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>
- Shukla, R., & Cheryan, M. (2001). Zein: The industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products*, 13(3), 171–192. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00064-9)
- Skendi, A., Papageorgiou, M., & Varzakas, T. (2021). High protein substitutes for gluten in gluten-free bread. *Foods*, 10(9), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10091997>
- Speranza, S., Knechtel, R., Witlaczil, R., & Schönlechner, R. (2021). Reversed-Phase HPLC Characterization and Quantification and Antioxidant Capacity of the Phenolic Acids and Flavonoids Extracted From Eight Varieties of Sorghum Grown in Austria. *Frontiers in Plant Science*, 12(November), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.769151>
- Stantiall, S. E., & Serventi, L. (2018). Nutritional and sensory challenges of gluten-free bakery products: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69(4), 427–436. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1378626>

- Tse, T., & Schendel, R. R. (2023). Cereal Grain Arabinoxylans: Processing Effects and Structural Changes during Food and Beverage Fermentations †. *Fermentation*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/fermentation9100914>
- Valério, R., Crespo, J. G., Galinha, C. F., & Brazinha, C. (2021). Effect of ultrafiltration operating conditions for separation of ferulic acid from arabinoxylans in corn fibre alkaline extract. *Sustainability (Switzerland)*, 13(9), 1–16. <https://doi.org/10.3390/su13094682>
- Waziirroh, E., Schoenlechner, R., Jaeger, H., Brusadelli, G., & Bender, D. (2022). Understanding gluten-free bread ingredients during ohmic heating: function, effect and potential application for breadmaking. *European Food Research and Technology*, 248(4), 1021–1034. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03942-4>
- Weng, V., Cardeira, M., Bento-Silva, A., Serra, A. T., Brazinha, C., & Bronze, M. R. (2023). Arabinoxylan from Corn Fiber Obtained through Alkaline Extraction and Membrane Purification: Relating Bioactivities with the Phenolic Compounds. *Molecules*, 28(15). <https://doi.org/10.3390/molecules28155621>
- Wu, Y., Du, J., Zhang, J., Li, Y., & Gao, Z. (2023). pH Effect on the Structure, Rheology, and Electrospinning of Maize Zein. *Foods*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/foods12071395>
- Yilmaz-Turan, S., Jiménez-Quero, A., Moriana, R., Arte, E., Katina, K., & Vilaplana, F. (2020). Cascade extraction of proteins and feruloylated arabinoxylans from wheat bran. *Food Chemistry*, 333(July), 127491. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127491>
- Zannini, E., Núñez, Á. B., Sahin, A. W., & Arendt, E. K. (2022). Arabinoxylans as Functional Food Ingredients: A Review. *Foods*, 11(7), 1–28. <https://doi.org/10.3390/foods11071026>
- Zhang, K., Dong, R., Hu, X., Ren, C., & Li, Y. (2021). Oat-based foods: Chemical constituents, glycemic index, and the effect of processing. *Foods*, 10(6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods10061304>
- Zhang, Y., Xu, M., Zhang, X., Hu, Y., & Luan, G. (2022). Application of zein in gluten-free foods: A comprehensive review. *Food Research International*, 160(May), 111722. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111722>
- Zhang, Z., Smith, C., & Li, W. (2014). Extraction and modification technology of arabinoxylans from cereal by-products: A critical review. *Food Research International*, 65(PC), 423–436. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.068>
- Zhu, X. F., Tao, H., Wang, H. L., & Xu, X. M. (2023). Impact of water soluble arabinoxylan on starch-gluten interactions in dough. *Lwt*, 173(June 2022), 114289. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114289>

7 Tabellen- bzw. Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nährstoffzusammensetzung der Getreidearten (g) bezogen auf 100 g ganzes Korn, Quelle nach Belitz, Hans-Dieter & Grosch, Werner & Schieberle (2008), eigene Darstellung 2024.....	10
Tabelle 2: Mengen (%) von Arabinoxylanen und Glucanen in Getreiderückstände und Nebenprodukte (Arzami et al, 2020), eigene Darstellung 2024.	20
Tabelle 3: Protein-, AX-Gehalt und Ausbeute der gewonnenen Extrakte unter verschiedenen Bedingungen im Labormaßstab und die Referenz (Q-Probe Mais).....	72
Tabelle 4: Protein- und AX-Gehalt, sowie das Yield und das A/X-Ratio der gewonnenen Extrakte von Maiskleie und Haferkleie im Labormaßstab.....	74
Tabelle 5: Gehalt an Stärke und freie Glucose und der Yield der gewonnenen Extrakte der Extraktion 1 und Extraktion 2, sowie die Referenz Maiskleie.....	77
Tabelle 6: Gehalt der löslichen und unlöslichen Ballaststoffe der Extrakte aus Extraktion 1 und 2, sowie das Yield und die Referenz.	79
Tabelle 7: Protein- und AX-Gehalt, Yield und dem A/X-Ratio der Extrakte im Pilotmaßstab, sowie die Referenz.	81
Tabelle 8: Gehalt an Phenolsäuren (FA-B (gebunden), FA-C (konjugiert), FA-F (frei) extrahierten AX, sowie die Referenz und der Yield.	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Evolutionäre Entwicklung der Getreidearten und ihre botanische Klassifizierung (Rimbach, G. et al., 2010).....	8
Abbildung 2: Aufbau und Bestandteile eines Getreidekorns (Rimbach, G. et al., 2010)	10
Abbildung 3: Darstellung der Ballaststoffe und Nicht-Stärke-Polysaccharide (Rimbach, G. et al., 2010).....	16
Abbildung 4: Allgemeine chemische Struktur von Arabinoxylan (oben), bestehend aus einer linearen Gerüstkette aus $\beta(1,4)$ -verknüpften D-Xylopyranosyl-Resten (Xylp) an die α -L-Arabinofuranose-Einheiten (Araf) gebunden sind; Substitutionsmöglichkeit durch Glucopyranosyluronsäure (GlcA) und Bildung von Esterbindungen mit anderen Molekülen; sowie unten die Struktur von Arabinose und Xylose (Arzami et al., 2022).....	18
Abbildung 5: Flussdiagramm der Extraktionsmethoden für die Isolation von wasserlöslichen und wasserunlöslichen AXs aus Getreidekleie, nach Zhang et al. (2014), eigene Darstellung 2024.....	24
Abbildung 6: Methoden des Membrantrennverfahrens, Mersmann et al. (2015)	31
Abbildung 7: Flussdiagramm der simultanen Extraktion von Arabinoxylanen (AX) und Proteinen im Labormaßstab, eigene Darstellung 2024	37
Abbildung 8: Überblick der Vorversuche im Labormaßstab zur Entscheidung welche Bedingungen für den Pilotmaßstab ausgewählt werden, eigene Darstellung 2024.....	38
Abbildung 9: AX-Extraktionsprozess Mais- und Haferkleie bei pH 11, 50°C, 2 h	40
Abbildung 10: AX-Ausfällung mit Ethanol (70 %).....	40

Abbildung 11: Flussdiagramm der Extraktion von Arabinoxylane (AX) und Proteine im Pilotmaßstab, cf= Konzentrierungsfaktor, eigene Darstellung 2024	41
Abbildung 12: Vermahlung der Maiskleie mittels Messermühle (1 mm Korngröße).....	42
Abbildung 13: Extraktion der Maiskleie im Rühr-kessel ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, pH11, 50 °C, 2 h).....	42
Abbildung 14: Trennung fest/flüssig Phase mittels Dekanter	42
Abbildung 15: Ultrafiltrationsanlage MMS (Urdorf, Schweiz) im Technikum am Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur Wien	44
Abbildung 16: Teil des getrockneten AX-Retentats.....	44
Abbildung 17: Angewandtes Protokoll zur Bestimmung der Phenolsäuren, nach Speranza et al. (2021), eigene Darstellung 2024.....	56
Abbildung 18: Protokoll zur Bestimmung des Stärkegehaltes, eigene Darstellung 2024.....	62
Abbildung 19: Probenvorbereitung zur Proteinlöslichkeitsbestimmung, hier bei pH 7	65
Abbildung 20: pH-Wert-abhängige Proteinlöslichkeitskurve der Q-Probe Mais (Vollkornmehl). Innerhalb jeder Fraktion wurden signifikante Unterschiede bewertet.	69
Abbildung 21: Auswirkung unterschiedlicher Enzymdosierungen (1x Dosis = 100-fache und 3x Dosis = 300-fache Dosis lt. Herstellerangaben) und Behandlungsdauer auf den Gesamtstärkegehalt der Mais-Q-Probe bei zwei verschiedenen pH-Werten (4, 7) und der der Gesamtstärkegehalt der Q-Probe Mais (Referenz). Innerhalb jeder Fraktion und jedes Nährstoffs wurden signifikante Unterschiede bewertet.	70