

Hochschule Merseburg
Fachbereich Ingenieur- und
Naturwissenschaften



in Zusammenarbeit mit:

Universität für Bodenkultur Wien
Institut für Lebensmitteltechnologie



Masterarbeit zum Thema

**„Extraktion und Fällung von Proteinen
aus Maiskeim- und Sojapresskuchen“**

Eingereicht von:

Anne Stekly,
geboren am 21.03.1991 in Magdeburg

unter Betreuung von:

Prof. Dr. nat. techn. Ulf Schubert
Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Senad Novalin

Merseburg, den 12. November 2018

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit an des Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Merseburg, den 12.11.2018

Unterschrift:

Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungsverzeichnis.....	5
II. Symbolverzeichnis	6
1. Einleitung	7
2. Grundlagen	8
2.1. Mais	8
2.1.1. Herkunft.....	8
2.1.2. Anbau.....	8
2.1.3. Nutzung.....	9
2.1.4. Aufbau.....	12
2.2. Soja	14
2.2.1. Herkunft.....	14
2.2.2. Anbau.....	14
2.2.3. Nutzung.....	16
2.2.4. Aufbau.....	16
2.3. Proteine	17
2.3.1. Struktur.....	17
2.3.2. Einteilung	19
2.3.3. Techniken und Parameter zur Charakterisierung.....	20
2.3.4. Bewertung der Proteinqualität.....	22
2.4. Restströme	26
2.5. Kjeldahl - Stickstoff	27
2.5.1. Reaktion	27
2.5.2. Destillation.....	27
2.5.3. Titration	28
2.6. Extraktion.....	29
2.7. Fällung.....	30
2.8. Trockensubstanzbestimmung	32
2.9. Aschebestimmung	32
2.10. Ausbeute.....	33
3. Aufgabenstellung.....	34
4. Material und Methoden.....	35
4.1. Kjeldahl - Stickstoff	37
4.2. Extraktion.....	38
4.3. Fällung.....	38
4.4. Trockensubstanzbestimmung	39

4.5. Aschebestimmung	39
4.6. Fehlerbetrachtung.....	40
5. Ergebnisse und Diskussion	41
5.1. Rohproben.....	41
5.2. Extraktion.....	42
5.2.1. Maiskeim PK	42
5.2.2. Soja PK	47
5.2.3. Mischung Soja und Maiskeim PK	50
5.3. Fällung.....	51
5.3.1. Maiskeim PK	51
5.3.2. Soja PK	52
6. Zusammenfassung.....	54
7. Ausblick.....	55
8. Literaturverzeichnis	56
9. Abbildungsverzeichnis.....	59
10. Tabellenverzeichnis.....	59
11. Formelverzeichnis	60
12. Anhangsverzeichnis	60

I. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
BW	Biologische Wertigkeit
bzw.	beziehungsweise
CCM	Corn – Cob – Mix
CD	circular diochoism
dt.	Deutsch
DIAAS	Digestible Indispensable Amino Acid Score
eng.	Englisch
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FNB	Food and Nutrition Board
IOM	Institute of Medicine
lat.	Lateinisch
LKS	Lieschkolbenschrot
NPU	Net Protein Utilization
PDCAAS	Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score
PER	Protein Efficiency Ration
PK	Presskuchen
USA	United States of America
WHO	World Health Organization

II. Symbolverzeichnis

Symbol	Bedeutung	Einheit
A	Asche bzw. Aschegehalt	g, %
CHCL	Konzentration der Maßlösung	mol/l
CV	Genauigkeit der Bürette bezogen auf Nennvolumen	%
d	Genauigkeit der Waage	g
f_{Kjeldahl}	Kjeldahl - Faktor	
m_{gesamt}	Startgewicht bzw. Gesamtgewicht	g
M_{N}	Molare Masse Stickstoff	g/mol
m_{Probe}	Eingewogene Masse der Probe	g
$m_{\text{Protein(extrahiert/ausgefällt)}}$	Masse extrahiertes/ausgefälltes Protein in Gesamtprobe	g
$m_{\text{Protein(Probe)}}$	Masse Gesamtprotein in Ausgangsprobe	g
m_{trocken}	Restgewicht bzw. Trockengewicht	g
oR	Organischer Rest	g, %
oTS	Organische Trockenmasse, -substanz	g, %
P	Proteinmasse bzw. Proteingehalt der Probe	%, g
R	Volumengenauigkeit der Bürette	%
TS	Trockenmasse bzw. Trockensubstanzgehalt	g, %
V_{HCl}	Verbrauch an Maßlösung	ml
Y_{Protein}	Ausbeute Protein	%
Y_{TS}	Ausbeute TS	%
ω	Reinheit bzw. Massenanteil	%

1. Einleitung

Da durch die verbesserte medizinische Versorgung die Lebenserwartung allgemein deutlich verlängert werden konnte, vergrößert sich die Weltbevölkerung immer weiter. Während in Industrieländern die Zahl durch sinkende Geburtsraten größtenteils stagniert, steigen die Bevölkerungszahlen vor allem in Schwellen- bzw. Entwicklungsländern deutlich an. Während 1950 noch knapp 2 Mrd. Menschen auf der Welt lebten, waren es 50 Jahre später schon dreimal so viel. 2018 haben wir bereits eine Weltbevölkerung von 7,6 Mrd. Menschen erreicht, die sich nach Prognosen der Vereinten Nationen bis 2050 auf 9,8 und bis 2100 auf 11,2 Mrd. vergrößern soll. [1]

Aufgrund dieses starken Wachstums sind eine effiziente und möglichst vollständige Verwendung und Verwertung der zu Verfügung stehenden Ressourcen notwendig. Dies gilt zwar vor allem für fossile, aber auch für erneuerbare Rohstoffe. Dabei soll Energie gespart und gleichzeitig die Umwelt geschont werden. Die Idee der Nachhaltigkeit, die Welt in einem guten Zustand für zukünftige Generationen zu hinterlassen, rückt daher vor allem im letzten Jahrhundert immer weiter in den Vordergrund.

Die Nutzung von sogenannten Restströmen in der Industrie aber auch in der Lebensmittelherstellung ist daher ein wichtiger Schritt in die richtige Richtung. Bei der Gewinnung von Öl aus Maiskeim und Soja bestehen diese Restströme vor allem aus sogenannten Presskuchen. Diese werden aktuell meist als Tierfutter verwendet, allerdings ist eine mögliche Verwendung für die Humanernährung anzustreben, da vorhandene Proteine ein wertvolles Nahrungsmittel sind.

Die rein vegetarische und vegane Ernährung setzt sich immer mehr durch, weshalb auch in diesem Sinne eine direkte Verwertung der benannten Restströme von Interesse ist. Durch die Verwendung der Presskuchen als Tierfutter geht Energie „verloren“, die direkt genutzt werden könnte. Die pflanzlichen Anbauflächen vor allem für eine fleischlose vegetarische Ernährung sind deutlich geringer, als wenn die Pflanzen erst als Tierfutter verwendet werden, da so eine effizientere Nutzung der vorhandenen Proteine möglich ist. Zusätzlich belastet vor allem auch der Methanausstoß von Masttieren die Umwelt, der durch eine Verringerung der gehaltenen Tiere deutlich reduziert werden könnte.

2. Grundlagen

2.1. Mais

2.1.1. Herkunft

Die Maispflanze (lat. *Zea maiz*) gehört wie auch andere Getreidearten zur Familie der Gräser bzw. Süßgräser (lat. *Poaceae*). Ursprünglich stammt sie von einem süd_mexikanischen Wildgras ab. Schon vor rund 6000 Jahren wurde Mais dort von Inkas und Mayas kultiviert und als Wunderpflanze verehrt. Als Kolumbus vor Ende des 15. Jahrhunderts nach Amerika und in die Karibik reiste, entdeckte er dort riesige Felder, auf denen ein Getreide namens „Mahiz“ angebaut wurde. Seefahrer brachten den Mais nach Europa, wo er schnell im Mittelmeerraum verbreitet wurde. Über Italien kam die Maispflanze dann im 16. Jahrhundert nach Süddeutschland, wo sie als Futterpflanze angebaut wurde.

Im 19. Jahrhundert führten die großen Ausfälle bei der Kartoffelernte dazu, die Maispflanze als alternativen Stärkelieferant interessanter zu machen. Daraufhin wurde mit der Züchtung robusterer Sorten für weniger sonnige Klimazonen begonnen.

Im Jahre 1910 entdeckten Pflanzenzüchter eine spezielle Kreuzungstechnik, die Hybridzüchtung, die bis zum heutigen Tage angewandt wird. Für diese Art der Kreuzung werden die Tochterpflanzen selbstbestäubter Mutterpflanzen gekreuzt. Die daraus gewonnenen Früchte werden als Hybridsaatgut bezeichnet, welches besonders ertragreiche Pflanzen hervorbringt. Auch heute noch wird dieses Hybridsaatgut jedes Jahr neu von Landwirten bei den Züchtern eingekauft, um einen sicheren Ertrag zu gewährleisten.

Aktuell ist Mais mit rund 5000 Kultursorten weltweit verbreitet. Die Anbauschwerpunkte konzentrieren sich vor allem auf Nord- und Mittelamerika sowie Asien. Innerhalb Europas wird Mais zum Großteil in Frankreich, Deutschland und Rumänien angebaut.[2]

2.1.2. Anbau

Kulturmais erreicht eine Wuchshöhe von 1,5 bis 2 Metern. Verschiedene andere Maissorten können allerdings auch nur 0,6 Meter hoch werden, oder aber Wuchshöhen bis 6 Meter erreichen. Mais bildet an einer Pflanze männliche und weibliche Blüten. Dies wird als sogenannte getrenntgeschlechtliche Einhäusigkeit bezeichnet. Die männlichen Blüten, auch Rispen genannt, entwickeln sich am Ende der Sprossachse, während die weiblichen Blüten

sich an den Ansatzstellen der Blätter entlang des Stängels ausbilden. Letztere besitzen lange Fäden, welche die vom Wind herangetragenen Pollen einfangen können. Wird eine Blüte befruchtet bildet sie einen Kolben, der von Hüllblättern umhüllt wird. An jedem Kolben sitzen mehrere hundert Körner, die die eigentliche Frucht bilden und Samen enthalten.

Die Aussaat beginnt in Deutschland meist Ende April bis Anfang Mai, sobald keine Gefahr für einen späten Frost mehr besteht. Bei beständigen Temperaturen über 8 °C beginnt dann die Keimung. Der Keimling durchstößt die Erdoberfläche und bildet schon als junge Pflanze Blätter und Blütenstände aus. Erst im Anschluss beginnt das Wachstum in die Höhe. Auf einem Quadratmeter können zwischen 6 und 12 Pflanzen wachsen, die meist einen Kolben, bei optimalen Lichtbedingungen bis zu zwei Kolben, pro Pflanze ausbilden. Die Ansprüche der Maispflanze an den Boden sind dabei besonders gering, da das Wasser- und Nährstoffangebot besonders effizient genutzt werden kann.

Die Zeit und Art der Ernte richten sich nach der gewünschten Nutzung. Wird die gesamte Maispflanze benötigt, wird Ende September bis Anfang Oktober mittels Maishäcksler geerntet. Dieser schneidet die gesamte Pflanze in gewünschter Höhe über dem Boden ab und häckselt sie in kleine Stücke. Liegt das Hauptinteresse jedoch auf den Körnern, wird mit der Ernte bis zur Vollreife im Oktober bzw. November gewartet und ein spezieller Mähdrescher verwendet. Je nach Erntemethode können so durchschnittlich ca. 430 dt Biomasse bzw. 90 dt Körnermais gewonnen werden. Bei den Erträgen treten selbstverständlich je nach Jahr und Anbauregion gewisse Schwankungen auf.

Die hohe Flächenproduktivität der Maispflanze ist der besonders effizienten Fotosynthese geschuldet. Als sogenannte C4-Pflanze kann Mais mehr Energie, vor allem Sonnenenergie, aufnehmen sowie Kohlenstoffdioxid (CO₂) aus der Luft binden als beispielsweise Weizen und kann somit eine größere Menge Biomasse auf gleicher Fläche produzieren.[2]

2.1.3. Nutzung

Lange Zeit wurde Mais lediglich zur Ernährung von Mensch und Tier eingesetzt. Im Laufe der Jahre erhöhte sich jedoch die Zahl der Nutzungsfelder. Diese Entwicklung wurde auch durch gesellschaftspolitische Forderungen nach Ressourcenschonung und Umweltverträglichkeit gefördert. Mais ist die bedeutsamste stärke liefernde Pflanze der Welt. Da es sich bei der aus Mais gewonnenen Stärke um einen nachwachsenden und biologisch abbaubaren Rohstoff handelt, besitzt diese dynamische Branche auch in Zukunft großes Innovationspotential.

In Deutschland und Europa wird vor allem Silomais als Quelle für Biomasse und als Futtergetreide genutzt, während Körnermais zur menschlichen Ernährung hauptsächlich in Südeuropa angebaut wird. In Deutschland selbst macht der Körnermais nur ein Drittel des Gesamtmaises aus.

2.1.3.1. Futterpflanze

Unterschiedliche Nutztiere benötigen unterschiedliches Futter. Da alle Teile der Maispflanze als Futter nutzbar sind, können jeweils passende Futtermittel mit der benötigten Mischung an Nährstoffen hergestellt werden. Die Palette der Futtermittel reicht dabei von Maissilage aus der ganzen Pflanze, über Korn – Spindel – Gemische (LKS) und dem Korn – Cob – Mix (CCM) aus den Kolben, bis hin zur Verwertung der reinen Körner. Bei der Gewinnung von Stärke und Keimöl fallen zudem nahrhafte Nebenprodukte wie Kleie, Klebereiweiß und Keimschrot an. Maissilage wird vor allem in der Bullenmast oder Milchviehfütterung als ballaststoffreiche Futterbasis verwendet. Die reinen Maiskörner dienen als Kraftfutterkomponente in Milchvieh-, Schweine- und Geflügelfütterung. Der sogenannte Corn-Cob-Mix (CCM) wird aufgrund des hohen Stärke- und Eiweißgehalts typischerweise als Schweinefutter genutzt.

2.1.3.2. Lebensmittel

Im Bereich der Humanernährung gehört Mais in vielen Ländern zu einem der wichtigsten Energie- und Proteinlieferanten. Zusätzlich liefert Mais zahlreiche Vitamine und Mineralien. Nur bei einer sehr einseitigen Ernährung können Probleme durch den geringen Gehalt an den essenziellen Aminosäuren Lysin und Typtophan auftreten. Der Großteil des deutschen Körnermaises wird jedoch nicht als Gemüse verzehrt, sondern in der Gewinnung von Maismehl, Grieß, Speisestärke und Maiskeimöl verwendet. Aus diesen Produkten können dann zahlreiche Lebensmittel, wie zum Beispiel Soßen, Puddings, Gebäck, Cornflakes, etc., hergestellt werden. Maismehl ist außerdem besonders für Menschen mit Glutenunverträglichkeit eine wichtige Zutat. Aus den Spindeln der Maiskolben wird zudem der Zuckerersatzstoff Xylit gewonnen und in Diät-Lebensmitteln sowie zahnfreundlichen Kaugummis eingesetzt.

2.1.3.3. Wertstoff

Wird Mais als Wertstoff verwendet, kann die gewonnene Stärke beispielsweise in der Papier- und Pappeherstellung, zum Fermenten, in der Textilproduktion sowie in der chemischen und pharmazeutischen Industrie genutzt werden.

Die aus der Stärke gewonnenen Zuckermoleküle dienen als Baustein in der Entstehung neuer Werkstoffe. Sie dienen beispielsweise als Ausgangsstoff für kompostierbare Verpackungsmaterialien wie Garne und Stoffe, die mit Nylon und Polyester zu vergleichen sind. Neben der Müllvermeidung kann so auch die Verwendung von Kunststoffen auf Erdölbasis gesenkt und Ressourcen geschont werden. Fossile Rohstoffe werden ebenfalls durch den Einsatz von Maiskeimöl in Reinigungsmitteln, Farben und Linoleum eingespart. Zusätzlich finden die Fasern der Spindeln im Leichtbau- und Dämmbereich, als Ölbinde- und Poliermittel sowie als Brandschutzbeschichtungen Verwendung.

2.1.3.4. Energiepflanze

Nachwachsende Rohstoffe spielen neben der Industrie auch in der Energiegewinnung eine große Rolle und die Nachfrage nach biogenen Energiequellen wächst. Neben Holz und Raps nimmt Mais beim Einsatz energiereicher Biomasse eine hohe Stellung ein. In den rund 6000 deutschen Biogasanlagen werden durchschnittlich 80 % Maissilage eingesetzt. Grund dafür sind die hohen Ernteerträge von Silomais, die gute Lagerfähigkeit und die hohe Methanausbeute bei der Vergärung der Maissilage. Das gewonnene Methan kann dann entweder in Blockheizkraftwerken zur Erzeugung von Strom und Wärme verbrannt oder zum Antreiben von Gasmotoren verwendet werden. Zudem ist das dabei ausgestoßene Kohlenstoffdioxid klimaneutral, da es zuvor in der Maispflanze gebunden wurde und damit dem Naturkreislauf entstammt. Auch der Biokraftstoff Ethanol kann aus Mais gewonnen werden. Hierzu werden Cellulose und Stärke der Pflanze zu Zucker abgebaut, der anschließend unter dem Einsatz von Hefen zu Bioethanol vergoren und aufbereitet wird. [2]

2.1.4. Aufbau

2.1.4.1 Mais

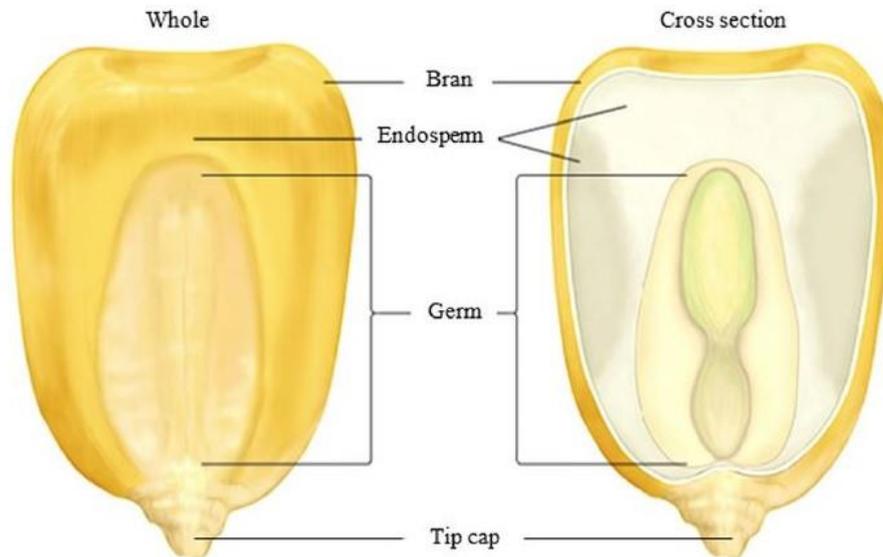


Abbildung 1: Aufbau eines Maiskorns [3]

Das Maiskorn ist von einer Fruchtwand (Perikarp) umgeben, die den Keimling schützt. Diese äußere Hülle ist wasserdicht und bewahrt so die Nährstoffe im Inneren des Korns. Außerdem ist sie nicht attraktiv für Schädlinge, wie Insekten und Mikroorganismen, was eine zusätzliche Schutzfunktion ausmacht. Innerhalb der Fruchtwand befindet sich das sogenannte Endosperm, welches ca. 60 bis 70 % des Trockengewichts eines Maiskorns ausmacht. Außerdem dient die im Endosperm enthaltene Stärke als Energielieferant und wird gemeinsam mit dem enthaltenen Protein vom Keimling genutzt. Beim Keimling handelt es sich um den einzigen lebenden Teil des Maiskorns. Er enthält die grundlegenden genetischen Informationen, Enzyme, Vitamine und Mineralien für das Wachstum. Der wertvollste Teil des Keims bzw. Keimlings ist mit ca. 25 % das sogenannte Maiskeimöl, da es einen hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthält. In der Abbildung unten dargestellt befindet sich die Spitze, die die Verbindung zum Maiskolben darstellt und durch die Wasser und Nährstoffe zum Keimling gelangen.[4]

2.1.4.2. Maiskeim

In folgender Tabelle ist die ungefähre Zusammensetzung von entfettetem Maiskeimmehl dargestellt. Alle Werte beziehen sich auf die Trockenmasse des Mehls.

Tabelle 1: Zusammensetzung von entfettetem Maiskeimmehl [5]

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Protein	25,3
Ballaststoffe	4,2
Stärke	24,7
Zucker	13,8
Fett	0,5
Asche	10,3

Der Maiskeim oder Keimling macht rund 12 % des Gesamtgewichts eines durchschnittlichen Maiskorns aus. Ungefähr 29 % der im Maiskorn enthaltenen Proteine befinden sich im Maiskeim und machen dort zwischen 18 und 22 % aus. Die Angaben der Tabelle beziehen sich auf bereits getrocknetes und entfettetes Maiskeimmehl, weshalb Proteine prozentual stärker vertreten sind. Dieser Proteinanteil wird dabei hauptsächlich von Albuminen und Globulinen ausgemacht, die mit rund 75 % im Maiskeim vorkommen. Die Proteine besitzen eine ausgewogene Mischung aus Aminosäuren sowie eine hohe Nährstoffqualität. [6] Während Albumine in Wasser löslich sind, lösen sich Globuline erst in verdünnten Salzlösungen. Gluteline sind als drittgrößte Proteinfraction in Maiskeim vertreten und lösen sich erst in basischen Medien. Zeine, eine für Maiskerne typische Proteinart, sind im Gegensatz zum Gesamtmaiskern kaum im Maiskeim vertreten. Dies führt zu der sehr hohen Proteinqualität von Maiskeimen im Vergleich zum gesamten Maiskern, da Zeine aufgrund ihrer Aminosäurekomposition keinen besonders hohen Nährwert besitzen. [5, 7] Diese hohe Qualität der Proteine in Bezug auf Aminosäuren und Nährstoffgehalt übersteigen dabei die von Proteinen, die aus dem Endosperm des Maises gewonnen werden können und besitzen zusätzlich bessere funktionale Eigenschaften.

Maiskeim wird hauptsächlich zur Gewinnung von Maiskeimöl verwendet. Die bei der Herstellung des Öls oft auftretenden hohen Temperaturen haben jedoch häufig eine starke Denaturierung der Proteine zur Folge, wodurch sie einen Großteil ihrer funktionalen Eigenschaften verlieren. Daher kommen die entölten Maiskeime meist nur in Tierfutter zum Einsatz und werden selten für die Humanernährung aufgearbeitet. [8] Maiskeimmehl kann jedoch als Streckmittel, Emulgator und Stabilisator beispielsweise in Hackfleisch verwendet werden. Durch die hohe Qualität der enthaltenen Proteine wäre jedoch eine höherwertige Verwendung anzustreben. [6]

2.2. Soja

2.2.1. Herkunft

Die Sojabohne (lat. *Glycine max*) ist eine einjährige Leguminose (lat. Fabaceae oder Leguminosae) aus der Familie der Schmetterlingsblütler (lat. Faboideae) und ist ökonomisch gesehen die wichtigste Bohne. Weltweit versorgt sie Millionen von Menschen mit pflanzlichem Protein und ist zusätzlich Bestandteil hunderter chemischer Produkte. Die eindeutige Herkunft der Sojabohne ist nicht sicher geklärt. Viele Botaniker glauben jedoch, dass die Domestizierung der Pflanze schon ca. 7000 v. Chr. in Zentralchina stattgefunden hat. In Ländern wie China, Korea und Japan kommt sie bereits seit tausenden Jahren als Nahrungsmittel zum Einsatz und findet außerdem als Bestandteil von zahlreichen Medikamenten Verwendung. Im Jahre 1804 wurde die Sojabohne in die USA gebracht und erlangte vor allem Mitte des 20. Jahrhunderts im Süden und mittleren Westen immer mehr an Bedeutung. In Südamerika ist die Sojabohne vor allem in Brasilien und Argentinien verbreitet. [9]

2.2.2. Anbau

Sojapflanzen können eine Höhe von bis zu zwei Metern erreichen. Je nach Sorte enthalten die Schoten zwischen ein und vier Samen, die gelb, grün, braun, schwarz oder auch zweifarbig gesprenkelt sein können. Die meisten Samen sind jedoch braun bzw. beige gefärbt. Soja bevorzugt fruchtbaren, gut drainierten, sandigen Lehmboden, kann aber auf vielen verschiedenen Bodenarten wachsen. [9]

Sobald das Risiko auf Frost vorüber ist, kann Soja angepflanzt werden. Dies geschieht meist im späten Frühling bzw. zum Sommerbeginn. Als sogenannte Kurztagpflanze beginnt sie dann zu blühen, wenn die Tageslängen unter 14 Stunden sinken. Bevorzugt wächst Soja in gemäßigten Klimazonen, neuere Sorten können jedoch auch in tropischen und subtropischen Zonen angebaut werden. [10]

In den meisten Fällen beginnt die Ernte sobald die Blätter der Sojapflanze abgefallen sind und die Feuchtigkeit in den Samen auf ca. 13 % gesunken ist, um eine sichere Lagerung zu ermöglichen. Wie auch andere Leguminosen reichert die Sojapflanze den Boden mit Stickstoff an, wodurch dessen Qualität verbessert werden kann. Stickstofffixierende Knöllchenbakterien, sogenannte Rhizobien, die im Boden vorkommen gehen mit der Pflanze eine Symbiose ein. Die Knöllchenbakterien binden durch Enzyme elementaren Stickstoff, der dann von der

Pflanze genutzt werden kann. Während in den meisten industriellen Agrarsystemen ohnehin zusätzlich stickstoffhaltige Dünger verwendet werden, spielt diese Stickstoffanreicherung stattdessen eher im traditionellen Anbau eine größere Rolle.

Da Soja eine der ergiebigsten und günstigsten Quellen für pflanzliches Protein darstellt, ist es in vielen Bereichen eines der wichtigsten Basisnahrungsmittel für Mensch und Tier. [9]

Weltweit wird Soja auf einer Fläche von über 80 Millionen Hektar mit einem jährlichen Ertrag von rund 190 Millionen Tonnen angebaut. Platz eins der größten, sojaproduzierenden Länder sind die USA. Den zweiten und dritten Platz im Anbau von Soja belegen Brasilien und Argentinien, die gemeinsam rund dreiviertel des globalen Sojabedarfs decken. Aufgrund der immer größeren Nachfrage nach Soja werden auch die Anbauflächen stetig vergrößert. In Brasilien allein wurde die Anbaufläche innerhalb des letzten Jahrzehnts sogar verdoppelt. Andere wichtige Pflanzen, die als Nahrung eingesetzt werden, wie zum Beispiel Reis, Weizen oder Mais, zeigen wesentlich geringere Wachstumsraten. [11]

Heutzutage wird vor allem gentechnisch modifiziertes Soja angebaut, welches rund 80 % der globalen Produktion ausmacht. Somit spielt der konventionelle Sojaanbau heutzutage nur noch eine untergeordnete Rolle.

Bei der konventionellen Methode werden die Pflanzen mit Düngemitteln und Pestiziden behandelt, um ein robustes und ertragreiches Wachstum zu ermöglichen. Neben dem hohen Aufwand und den hohen Kosten entsteht dabei jedoch auch eine nicht zu vernachlässigende Umweltverschmutzung. Daher setzen die meisten Länder auf gentechnisch veränderte Sorten. In Argentinien zum Beispiel sind bereits 99 % des angebauten Sojas gentechnisch modifiziert, während es in den USA 90 % sind. In Brasilien wurde anfangs noch auf den konventionellen Anbau von Soja gesetzt, da dadurch entscheidende Wettbewerbsvorteile zum Verkauf auf dem europäischen Markt entstanden. Inzwischen wird jedoch China immer interessanter für die Produzenten von Soja, da dort der Einsatz von genetisch modifiziertem Soja in Nahrungs- und Futtermitteln erlaubt ist. Durch neue Konsumgewohnheiten in China hat sich so der Sojaimport des Landes in kürzester Zeit von fast null auf über 50 Millionen Tonnen erhöht. Dies hatte auch den Anbau von gentechnisch verändertem Soja in Brasilien zur Folge. [12]

Ein großes Problem stellt auch häufig die Art des Anbaus dar. Vor allem in Südamerika werden durch den Anbau der Pflanzen in riesigen Monokulturen schützenswerte Regenwaldgebiete immer weiter verdrängt. Da jedoch Soja die ergiebigste, proteinproduzierende Pflanze in Bezug auf die Anbaufläche darstellt, wird die Ausbreitung und Entwicklung der Sojabohne auch weiter voranschreiten. [13]

2.2.3. Nutzung

Eine Sojabohne enthält ca. 17 % Öl, die restlichen 63 % sind das sogenannte Sojamehl. Proteine machen rund 50 % dieses Mehls aus. Da im Sojamehl keine Stärke enthalten ist, eignet es sich ausgezeichnet als Proteinquelle beispielsweise für Diabetiker. In Ostasien wird Soja größtenteils in Form von Sojamilch oder Tofu verzehrt. Durch eine Hefegärung mit Weizen in Salzwasser kann Sojasoße hergestellt werden. Durch Fermentierung können Produkte wie Miso, Natto, Yuba und Tempeh hergestellt werden. Vor allem für vegetarische oder vegane Ernährung kommt Soja in vielen Formen als Fleischersatz vor.

Auch Sojaöl ist mittlerweile in vielen Produkten, wie Margarine, Backfetten und vegetarischem Käse, zu finden. Industriell findet es beispielsweise in Farben, Düngern und Klebstoffen Verwendung. [9]

2.2.4. Aufbau

Im Folgenden ist die ungefähre Zusammensetzung von entfettetem Sojamehl dargestellt, wobei sie alle Anteile auf die entsprechende Trockenmasse beziehen.

Tabelle 2: Zusammensetzung von entfettetem Sojamehl [14]

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Protein	54,20
Ballaststoffe	16,30
Stärke	0,09
Zucker	14,30
Fett	1,14
Asche	6,60

Durchschnittlich enthält eine Sojabohne ca. 36 % Protein. Da die Angaben der Tabelle sich wie zuvor auf die Trockensubstanz von entfettetem Mehl beziehen, ist der Proteinanteil natürlich wesentlich höher. Zusätzlich schwanken die Werte auch je nach Sorte und Anbaugebiet. Ähnlich wie bei Maiskeim besteht dieses Protein zum Großteil aus Albuminen und Globulinen, die gemeinsam rund 68 % des Sojaproteins ausmachen. [15] Da bei Soja im Gegensatz zu Maiskeim das Augenmerk meist auf den Proteinen und nicht der Gewinnung von Öl liegt, gibt es auch wesentlich größere Einsatzgebiete. Dies ist natürlich auch dem allgemein höheren Proteingehalt von Soja zuzusprechen. Auch die enthaltenen Aminosäuren

haben eine durchaus hohe Wertigkeit und sind bis auf den Mangel an Methionin sehr gut für die Humanernährung geeignet.

2.3. Proteine

Als Proteine werden Biopolymere bezeichnet, die primär linear aufgebaut sind. Sie bestehen vorwiegend aus den 20 proteinogenen α – L – Aminosäuren, die über Peptidbindungen verbunden sind. Aufgrund kovalenter, ionischer, polarer und hydrophober Wechselwirkungen sind sie außerdem in der Lage verschiedene räumliche Strukturen aufzubauen, die spezifisch an die jeweilige Funktion des Proteins angepasst sind. Die ersten Proteine wurden aus dem Eiweiß des Hühnereis isoliert, weshalb sie historisch bedingt auch als Eiweiße bezeichnet werden. Da sich jedoch später zeigte, dass es sich um Bestandteile praktisch aller lebenden Zellen handelte, sind Eiweiße heute allgemein unter einem anderen Namen bekannt. Der schwedische Chemiker und Mediziner Jöns Jakob Berzelius prägte den Begriff „Protein“, den er vom griechischen Wort „proteios“ (deut. erstrangig) bzw. „protos“ (deut. der Erste) ableitete.

Die 20 proteinogenen Aminosäuren bestehen hauptsächlich aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff. In den Aminosäuren Cystein und Methionin ist außerdem Schwefel enthalten. Bestimmte Proteine können zusätzlich noch einen geringen Anteil an modifizierten Aminosäuren, Metallen, prosthetischen Gruppen und Phosphatresten enthalten. Zudem können in verschieden starken Anteilen Lipide, Nucleinsäuren, Zuckerreste und Polysaccharide in Proteinen vorkommen. Diese Anteile haben Einfluss auf beispielsweise die Löslichkeit, Hydrophobizität und Aktivität der entsprechenden Proteine.

2.3.1. Struktur

Wird die Struktur von Proteinen beschrieben unterscheidet man zwischen Primär-, Sekundär-, Tertiär-, und Quartärstruktur. Die Primärstruktur bezeichnet die charakteristische Aminosäuresequenz, eine lineare, schriftartige Reihenfolge der Aminosäurereste des Proteins. Die Kettenlänge ist ebenfalls für jedes Protein charakteristisch und kann zwischen wenigen (z.B. 21 in der A – Kette des Insulins) bis über 1000 Aminosäurereste beinhalten. Dies entspricht ungefähr 2000 bis über 100.000 an relativen Molekülmassen. Die Verbindungen zwischen den Aminosäuren sind sogenannte Peptidbindungen, die die eigentliche Proteinkette, das sogenannte Rückgrat, und die Seitenketten verknüpfen.

Unter der Sekundärstruktur wird die jeweilige, durch Wasserstoffbrückenbindungen bedingte, periodisch wiederkehrende Überstruktur zusammengefasst. Bei Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Sequenz – nahen Aminosäureresten bilden sich

Schrauben- oder Helixstrukturen aus. Wasserstoffbrücken zwischen Sequenz – fernen parallel oder antiparallel liegenden Peptidketten bilden Faltblattstrukturen. Faltblattstrukturen können außerdem zwischen verschiedenen Peptidketten entstehen.

Die Tertiärstruktur beschreibt die Faltung einzelner Peptidketten zu einer dreidimensionalen Struktur. Die Sekundärstrukturen bleiben dabei erhalten. Die Form der Proteine, die durch die Ausbildung der Tertiärstruktur entsteht, ist charakteristisch für ihre jeweilige Funktion, was als Struktur – Funktion – Beziehung bezeichnet wird. Ein Beispiel dafür sind die spezifischen Vertiefungen der Oberflächen in den aktiven Zentren der Enzyme, die für die Bindung und Umsetzung der Substratmoleküle benötigt werden.

Viele Proteine, die aus zwei oder mehreren gleichen oder ungleichen Peptidketten aufgebaut sind und sich zu multimeren Proteinen aneinanderlagern, bilden zudem eine Quartärstruktur aus. Die Sekundär- und Tertiärstruktur bleiben bei dieser Aneinanderlagerung erhalten. Meist erfolgt diese durch nicht – kovalente Bindungen, wie ionische Bindungen, hydrophobe Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen, bei denen die entsprechenden Oberflächenstrukturen der interagierenden Peptidketten nach dem Schlüssel – Schloss – Prinzip ineinanderpassen. In wenigen Fällen passiert dies jedoch auch durch die Ausbildung von intermolekularen Disulfidbrücken.

Proteine werden aufgrund ihrer Molekülgröße, 2 – 100 nm, und -gestalt zu den Kolloiden gezählt. Sie besitzen eine relativ hohe Viskosität und bilden keine echten Lösungen. Wegen ihrer freien sauren und basischen Gruppen sind sie außerdem Ampholyte. Das heißt sie können sowohl als Protonenakzeptoren als auch -donatoren fungieren, was für ihre Pufferwirkung in biologischen Systemen entscheidend ist. Der pH – Wert des umgebenden Mediums beeinflusst den Ladungszustand des jeweiligen Gesamtmoleküls. Während Proteine in stark sauren Medien als Poly – Kationen vorliegen, kommen sie in stark basischen Medien als Poly – Anionen vor. Ihre entsprechende Überschussladung ist für die Hydratation sowie die Löslichkeit der Moleküle verantwortlich. Am sogenannten isoelektrischen Punkt besitzen Proteine keine Nettoladung, wodurch ihre Hydratation und Löslichkeit ein Minimum erreicht. Dies wird vor allem zur Reinigung von Proteinen, wie zum Beispiel der Proteinfällung, verwendet.

Verschiedene nicht – physiologische Einwirkungen, wie hohe Temperaturen und zu starke pH – Wertveränderungen sowie bestimmte Agenzien und Detergentien, können die Überstrukturen, unter denen die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstrukturen zusammengefasst sind, auflösen. Es bleibt lediglich die Primärstruktur in Form eines sogenannten Zufallsknäuels zurück. Die betroffenen Proteine werden als denaturiert bezeichnet und zeigen im Vergleich zu den ursprünglichen, nativen Proteinen völlig veränderte chemische und physikalische

Eigenschaften auf. Dies führt auch dazu, dass die meisten denaturierten Proteine wasserunlöslich sind und ausfallen. Zudem geht auch die biologische Aktivität, wie beispielsweise die katalytische Aktivität von Enzymproteinen, verloren. Eine Renaturierung, das Rückgängigmachen der Denaturierung, ist nur in einigen Fällen bei einfachen Proteinen möglich.

2.3.2. Einteilung

Eine Einteilung von Proteinen ist nach mehreren Charakteristiken möglich. Zu diesen Kriterien zählen Zusammensetzung, Form, Vorkommen und Funktion. Nach der Zusammensetzung kann man einfache Proteine, die nur aus proteinogenen Aminosäuren aufgebaut sind und zusammengesetzte bzw. konjugierte Proteine, die neben dem Proteinanteil noch eine meist chemisch gebundene Nichtproteinkomponente enthalten, unterscheiden.

Der Form nach unterscheidet man zwischen globulären und fibrillären Proteinen. Im Gegensatz zu fibrillären Proteinen sind globuläre Proteine kugelförmig und in Wasser sowie verdünnten Salzlösungen unlöslich. An der Moleküloberfläche der globulären Proteine, auch Sphäroproteine genannt, sind geladene, hydrophile Aminosäurereste lokalisiert, die, wenn sie von einer Hydrathülle umgeben sind, einen engen Kontakt mit dem jeweiligen Lösungsmittel ermöglichen. Fibrilläre Proteine, auch Faser- bzw. Strukturproteine genannt, bestehen aus parallel zueinander geordneten Polypeptidketten, die lange Fasern ausbilden.

Nach dem Vorkommen wird unterschieden in welchen Organismengruppen die Proteine zu finden sind. Hier wird nach menschlichen, tierischen, pflanzlichen und mikrobiellen Proteinen unterschieden. Außerdem werden noch weitere Unterteilungen nach dem Vorkommen in bestimmten Organen, Zellfraktionen oder Viren gemacht.

Anhand der Funktion werden Proteine in Enzymproteine, Transportproteine, Speicherproteine, kontraktile Proteine, Struktur- bzw. Gerüstproteine, Abwehrproteine, Rezeptorproteine, Regulatorproteine, Zelloberflächenproteine und Faktoren der Blutgerinnung und Fibrinolyse unterschieden. [16]

Tierische Proteine, die zum Teil auch im Menschen vorkommen, werden je nach Art meist noch einmal unterteilt. Fibröse Skleroproteine, die in Stütz- bzw. Schutzgeweben, wie zum Beispiel Haut, Haaren und Sehnen, vorkommen, sind lange oder gefaltete Aminosäureketten, die in Wasser unlöslich und zum Großteil unverdaulich sind. Sie stellen die sogenannten tierischen Ballaststoffe dar. Beispiele hierfür sind Keratin (Haare, Nägel, Federn), Kollagen (Haut, Leder, Bindegewebe), Fibrin (Seide) und Myosin (Muskeln). Globuläre Proteine tierischen Ursprungs kommen hingegen in den Flüssigkeiten von Geweben vor und sind

verdaulich. Beispiele sind Caseinogen (Milch), Albumin (Eiklar, Milch, Blutplasma) und Globuline (Blutplasma).

Pflanzliche Proteine sind meist Gluteline und Prolamine, die als Speicher- bzw. Reserveproteine in Getreidearten vorkommen. Gluteline sind in schwach sauren bzw. schwach basischen Lösungsmitteln löslich, während Prolamine sich nicht in Wasser, jedoch in Alkohol, lösen. Beispiele für Gluteline sind Glutenin (Weizen), Hordenin (Gerste) und Oryzenin (Reis). Prolamine sind zum Beispiel Gliadin (Weizen) und Zein (Mais). Die immer häufiger auftretenden Zöliakie ist eine chronische Darmerkrankung, bei der eine Mischung aus Gliadin und Glutenin, die als Gluten (Klebereiweiß) bezeichnet wird, nicht vertragen wird. Daher ist ein immer steigender Bedarf an sogenannten glutenfreien Lebensmitteln vorhanden. [17]

2.3.3. Techniken und Parameter zur Charakterisierung

Allgemeine Nachweisverfahren und quantitative Bestimmungen von Proteinen basieren auf zwei bzw. drei verschiedenen Techniken, der Farbreaktion und der Absorption. Die Absorption wird noch einmal in die Absorption bei einer Wellenlänge von 280 nm und die von sichtbarem Licht aufgeteilt. Obwohl diese Verfahren für die meisten Proteine anwendbar sind, erlauben sie keine Unterscheidung zwischen einzelnen Proteinen bzw. Proteingemischen. Für spezifische Arten von Proteinen und deren Aktivität sind daher ebenso spezifische und empfindliche Nachweismethoden zur Unterscheidung erforderlich. Dazu zählen beispielsweise die Immunpräzipitation, Autoradiographie und der optische Test.

Die Reinigung und Isolierung von Proteinen werden anhand ihrer Größe, Löslichkeit, Ladung, spezifischen Bindungseigenschaften und biologischer Aktivität durchgeführt. Je nach gewünschtem Reinheitsgrad können verschiedene Trennungsmethoden außerdem kombiniert werden. So wird oft eine Vortrennung mittels Zentrifugation oder Fällung durchgeführt. Je nach Ausgangsstoff ist außerdem eine Extraktion verschiedener Proteine möglich. Anschließend können chromatographische bzw. elektrophoretische Trennmethode, wie beispielsweise Ionenaustauschchromatographie, Gelfiltration und Adsorptionschromatographie, als weitere Reinigungsschritte angewandt werden. Allgemein basieren diese Techniken entweder darauf, unerwünschte Komponenten zu entfernen oder die jeweilige Zielkomponente anzureichern. Die Verwendung von Dialyse, Ultrafiltration oder Gelfiltration zwischen den Reinigungsschritten dient meist der Anpassung der Ionenstärke oder Pufferzusammensetzung der Lösung. Dialyse und Ultrafiltration können neben der Fällung außerdem zur Aufkonzentrierung der Lösung angewandt werden.

Reinheitskriterien für Proteine sind beispielsweise einheitliche Sedimentationsgeschwindigkeit, Ganzzahligkeit der Aminosäurezusammensetzung, Sequenzierbarkeit, linearer Verlauf bis zum Sättigungspunkt im Löslichkeitsdiagramm und Kristallisierbarkeit. Oft wird der Reinheitsgrad von Proteinen bzw. die Zusammensetzung von Proteingemischen mittels Gelelektrophorese ermittelt, wobei „reine“ Proteine noch anorganische Salze, andere kleine Moleküle und Wasser enthalten können. Bei Enzymen wird zusätzlich noch auf Aktivitätskriterien, wie pH- und Temperatur – Optimum, Substratspezifität und kinetisches Verhalten, getestet.

Die relativen Molekülmassen und Kettenlängen der Proteine können beispielsweise mittels SDS – Polyacrylamid – Gelelektrophorese im Vergleich mit Markerproteinen mit bekannten Molekülmassen untersucht werden. Für native Proteine können außerdem die Sedimentationsgeschwindigkeiten in der Ultrazentrifugation und das Elutionsvolumen bei der Gelfiltration Auskunft über die Molekülmasse geben. Die Kettenlängen der Proteine, die der Anzahl der Aminosäurereste pro Peptidkette entspricht, kann dann anhand der Molekülmasse errechnet werden. Kleinste Mengen und Proteinen mit hoher Massenauflösung können außerdem mittels Massenspektrometrie bestimmt werden, bei der ein hoher Probendurchsatz möglich ist. Neben der Anzahl der Peptidketten sind auch die Zusammensetzung der Aminosäuren und deren Sequenz mit verschiedensten Verfahren bestimmbar.

Die Untersuchung der Sekundär-, Tertiär- und Quartärstrukturen ist ebenfalls ein wichtiger Bestandteil der Charakterisierung von Proteinen. Mittels CD – Spektroskopie und Infrarotspektroskopie lassen sich beispielsweise Sekundärstrukturen untersuchen, während für Tertiärstrukturen, oft eingehend mit Sekundär- und Quartärstrukturen, häufig die Röntgenstrukturanalyse zum Einsatz kommt. Für Quartärstrukturen können außerdem elektronenmikroskopische Verfahren und verschiedene bildgebende Verfahren verwendet werden. Neben den spektroskopischen Verfahren werden mit dem Hinblick auf die Struktur – Funktions – Analyse außerdem Methoden, wie die chemische Modifikation funktioneller Gruppen oder die Einführung von Reportergruppen, genutzt. [16]

2.3.4. Bewertung der Proteinqualität

Da Nahrungsproteine nicht als solche vom Menschen verwertet werden, sondern als Lieferanten von Aminosäuren dienen, aus denen körpereigene Substanzen und Proteine gebildet werden, ist nicht nur der Proteingehalt dieser Nahrungsmittel entscheidend, sondern ebenso deren Aminosäureprofil. Dieses Profil wird von den Anteilen der einzelnen Aminosäuren am Gesamtprotein ausgemacht. Zur Bewertung der Proteine und der darin vorkommenden Aminosäuren im Hinblick auf die Ernährung gibt es verschiedene Methoden. Grundsätzlich werden Aminosäuren in essenzielle und nicht – essenzielle Aminosäuren unterteilt. Essenzielle Aminosäuren können nicht vom Körper selbst synthetisiert werden und müssen daher extern, vor allem durch die Nahrungsaufnahme, zugeführt werden. Nicht – essenzielle Aminosäuren kann der Körper hingegen selbst herstellen. Zusätzlich kann noch die Gruppe der semi – essenziellen bzw. bedingt – essenziellen Aminosäuren abgegrenzt werden. Obwohl der Körper diese Aminosäuren selbst synthetisieren kann, müssen sie unter manchen Umständen mit der Nahrung aufgenommen werden. Dazu zählen zum Beispiel Arginin, Cystein und Tyrosin. Tyrosin ist außerdem für Kinder eine essenzielle, für Erwachsene jedoch eine nicht - essenzielle Aminosäure. [18] [19]

Letzten Endes hängt der Wert eines Nahrungsproteins davon ab, wie gut es den Bedarf des Organismus an essenziellen Aminosäuren decken kann. Ein Beispiel zur Bewertung der Proteinqualität ist die biologische Wertigkeit. Hier wird von einer sogenannten limitierenden Aminosäure ausgegangen, die essenzielle Aminosäure, die die Verwertbarkeit des jeweiligen Proteins für den Menschen begrenzt. Bei Weizen und Roggen ist dies beispielsweise Lysin, bei Mais Tryptophan und bei Leguminosen Methionin. Tierische Proteine weisen meist eine höhere biologische Wertigkeit auf, da ihre Aminosäurerelation näher am menschlichen Organismus ist. Vollei wird daher als Referenz benutzt, womit die limitierende Aminosäure die ist, die am weitesten von der entsprechenden Aminosäuremenge im Vollei abweicht. Heutzutage hat in der Ernährungspraxis jedoch die biologische Wertigkeit kaum noch Bedeutung, da es durch die Mischung verschiedener Proteine mit verschiedenen limitierenden Aminosäuren zu Aufwertungseffekten kommt. [18]

Da die biologische Wertigkeit außerdem die Verdaulichkeit bzw. Verwertung der Aminosäuren nicht berücksichtigt, wurde die „Net Protein Utilization“ (NPU) entwickelt. Diese wird vor allem für Untersuchungen des Wachstums bei Tieren verwendet. Eine andere Möglichkeit zur Bewertung von Proteinen ist die „Protein Efficiency Ratio“ (PER), die sich auf die Gewichtszunahme von Testsubjekten (meist Ratten) durch die Aufnahme eines bestimmten Nahrungsmittels während einer festgelegten Zeitperiode stützt. In Kanada wird diese Methode heute noch angewandt. [20]

Inzwischen wird jedoch meist auf den „Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score“ (PDCAAS, dt. Aminosäureindex) zurückgegriffen, der 1985 aus einer Zusammenarbeit der FAO (eng. Food and Agriculture Organization of the United Nations, dt. Welternährungsorganisation) und WHO (eng. World Health Organization, dt. Weltgesundheitsorganisation) hervorging. Diese Kennzahl beschreibt die Proteinqualität basierend auf den menschlichen Proteinanforderungen für verschiedene Altersklassen. Die Verdaulichkeit der Proteine wird hierbei ebenfalls berücksichtigt. Problematisch ist jedoch der Aspekt, dass auf die Frage, wo die entsprechenden Proteine verdaut bzw. die entsprechenden Aminosäuren vom Körper aufgenommen werden, nicht eingegangen wird. Zusätzlich werden sogenannte antinutritive Stoffe, die die Aufnahme bestimmter Aminosäuren behindern können, nicht berücksichtigt. [21]

Diese Gründe führten dazu, dass die FAO 2013 eine neue Methode zur Bestimmung der Proteinqualität, den „Digestible Indispensable Amino Acid Score“ (DIAAS), vorschlug. Diese Methode soll vor allem auf die Menge der vom Körper aufgenommenen Aminosäuren Rückschluss geben. Die Verdaulichkeit wird am Ende des Dünndarms bestimmt, welche vom PDCAAS nicht berücksichtigt wurde. Im Gegensatz zur PDCAAS – Methode sind außerdem Werte über dem bisherigen Höchstwert 1 möglich. Vor allem Proteine aus tierischen Quellen, wie beispielsweise Vollmilchpulver (DIAAS = 1,22), werden so höher eingestuft. Aktuell wird jedoch meist noch auf die PDCAAS – Methode zurückgegriffen. [22]

Tabelle 3: Vergleich der verschiedenen Bewertungsmethoden der Proteinqualität bei Vollei, Milch und Soja

Nahrungsmittel	Bewertungsmethode der Proteinqualität			
	BW ^[18]	NPU ^[18]	PER ^[20]	PDCAAS ^[23]
Vollei	0,94	94	3,1	1,00
Milch	0,85	86	2,5	1,00
Soja	0,73	72	2,3	0,90

Im Folgenden sind nun die Anteile der essenziellen und nicht – essenziellen bzw. semi – essenziellen Aminosäuren in Maiskeim, Soja und Vollei vergleichend dargestellt.

Tabelle 4: Anteile der essenziellen und nicht - essenziellen Aminosäuren in Maiskeim PK, Soja und Vollei

Nahrungsmittel	Maiskeim PK ^[24]	Soja ^[25]	Vollei ^[26]
essenzielle Aminosäuren	% der Gesamtaminosäuren		
Isoleucin	3,5	4,4	5,3
Leucin	8,3	7,2	8,6
Lysin	5,3	6,0	7,3
Methionin	2,1	1,2	3,0
Phenylalanin	4,0	4,5	5,4
Threonin	4,5	4,0	4,4
Tryptophan	2,0	1,2	1,3
Valin	6,1	4,5	6,8
Histidin	2,9	2,7	2,5
nicht-essenzielle Aminosäuren			
Arginin	7,2	8,1	6,5
Asparaginsäure	9,6	11,7	10,6
Glutaminsäure	16,7	18,8	13,3
Alanin	7,2	4,5	5,8
Glycin	7,0	4,2	3,4
Prolin	8,9	4,7	4,1
Serin	4,7	5,6	7,7
Cystein	1,0	0,9	2,2
Tyrosin	3,2	3,6	4,0

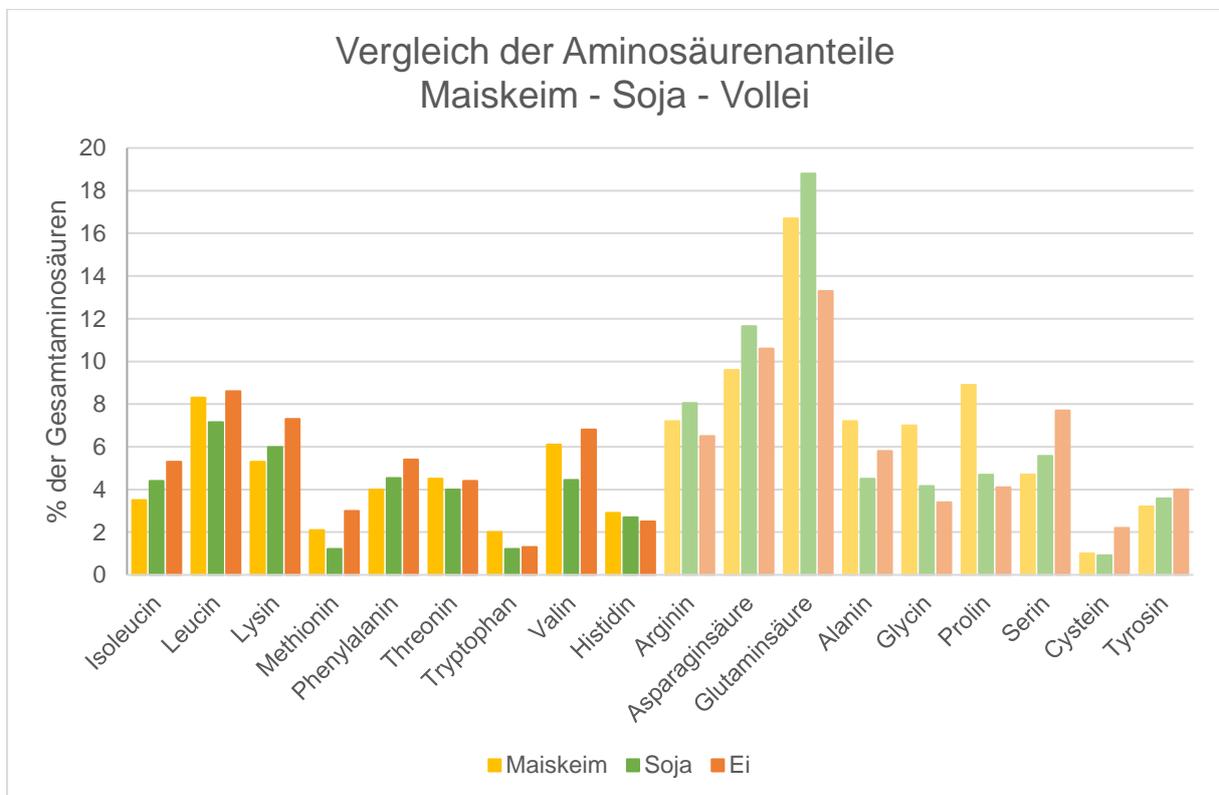


Abbildung 2: Vergleich der Aminosäurenanteile von Maiskeim, Soja und Vollei

Während bei Mais allgemein der niedrige Anteil an Tryptophan limitierend ist, ist in den Maiskeimproteinen ein im Vergleich sehr hoher Anteil vorhanden. Insgesamt liegen vor allem die essenziellen Aminosäuren sehr nah an den Referenzwerten des Volleis. Bei Soja ist vor allem der niedrige Methionin – Anteil ein Problem. Um ein besseres Aminosäureprofil zu erreichen werden daher Proteine und Proteinisolate aus verschiedenen Quellen oft vermischt.

Tabelle 5: Essenzielle Aminosäuren in Maiskeim+Pericarp, Soja und Vollei im Vergleich mit dem empfohlenen Aminosäurebedarf

essenzielle Aminosäure	Maiskeim + Pericarp ^[27]	Soja ^[25]	Vollei ^[26]	FNB/IOM (2002) ^[28]	WHO (2007) ^[21]
	mg/g Protein				
Histidin	34	27	25	18	15
Isoleucin	36	44	53	25	30
Leucin	75	72	87	55	59
Lysin	57	60	72	51	45
Methionin + Cystein	31	21	52	25	22
Phenylalanin + Tyrosin	70	81	94	47	30
Threonin	47	40	44	27	23
Tryptophan	19	12	13	7	6
Valin	57	44	68	32	39
Gesamt:	427	401	508	287	269

In der Auflistung zeigen die letzten beiden Spalten den Aminosäurebedarf für Erwachsene, wie er vom Institute of Medicine's (IOM) Food and Nutrition Board (FNB) der USA bzw. von der WHO (eng. World Health Organization, WHO) empfohlen wird. Angegeben ist die als optimal eingeschätzte Zusammensetzung der essenziellen Aminosäuren in Milligramm, die in einem Gramm Protein enthalten sein sollten. Vergleichend dazu sind die Aminosäurezusammensetzungen von Maiskeim inklusive Pericarp (Fruchtwand bzw. Außenhülle des Maiskorns), Soja und Vollei dargestellt. Bis auf die Kombination von Methionin und Cystein bei Soja, sind alle essenziellen Aminosäuren ausreichend enthalten. Vollei dient, wie zuvor, als optimaler Vergleich. Während bei Maiskeim + Pericarp keine Zusätze mehr benötigt werden, müsste nach dieser Darstellung also nur das Sojaprotein durch eine starke Quelle an Methionin und Cystein aufgewertet werden, um für die Versorgung des Menschen mit essenziellen Aminosäuren ausreichend zu sein. Da allerdings, wie bereits erwähnt, auch die Verdaulichkeit der Proteine eine große Rolle spielt und sich die empfohlenen Werte anhand des geschätzten Aminosäurebedarfs durch die Organisationen mit der Zeit verändert, sollten immer die aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnisse mit einbezogen werden. Dies gilt vor allem für sehr strenge Diäten bzw. eine vegane Ernährung.

2.4. Restströme

Bei der Gewinnung von Öl aus Pflanzen bleiben unterschiedliche Arten von Stoffen als Restströme zurück. Je nach Verfahren für die Gewinnung von Öl und abhängig vom pflanzlichen Rohstoff unterscheiden sich auch die Rückstände, die es zu verwerten gilt.

Bei der Gewinnung von Sojaöl aus Sojabohnen wird meist eine Lösungsmittelextraktion mit Hexan durchgeführt, da diese eine große Vielfalt an möglichen Endprodukten liefert. Neben dem Öl und dessen Produkten können verschiedene Soja – Mehle, Proteinkonzentrate und -isolate und Isoflavone hergestellt werden. Die Verfahrenskosten sind zudem wesentlich niedriger als bei der Ölgewinnung durch Auspressen. Für die Gewinnung von Sojaprotein und die Weiterverarbeitung in Konzentrate und Isolate ist außerdem ein niedriger Restölgehalt von Vorteil. Da durch die Extraktion dieser Gehalt bis auf weniger als ein Prozent abgesenkt werden kann, ist die anschließende Proteingewinnung leichter, als bei einem höheren Ölgehalt, der durch das Auspressen meist vorhanden ist. Die durch das Auspressen verbleibenden Rückstände werden meist nur als Tierfutter verwertet, was zum Großteil den hohen Temperaturen während des Pressvorgangs (bis zu 120 °C) geschuldet ist. [29]

Maiskeimöl kann, wie Sojaöl auch, durch eine Lösungsmittelextraktion oder ein Auspressen des Öls gewonnen werden. Während bei Soja der Lipidanteil bei ca. 17 % liegt und meist das verbleibende Sojamehl bzw. Sojaprotein von größerer Bedeutung ist, liegt der Fokus beim Maiskeim auf dem enthaltenden Öl. Dieses besitzt mit ca. 35 % nicht nur einen wesentlich größeren Anteil, sondern enthält außerdem besonders wertvolle Inhaltsstoffe. Neben den enthaltenen Aminosäuren, enthält Maiskeimöl einen hohen Anteil an Vitamin B, A und K. Vor allem Vitamin B ist als Antioxidans sehr wertvoll, weshalb das Öl nicht nur in Speisen, sondern auch zur Hautpflege sehr gut geeignet ist. [30] Da der Proteingehalt im Vergleich zu Soja geringer ist, wird der bei der Ölgewinnung zurückbleibende Presskuchen, trotz seiner hochwertigen Aminosäurezusammensetzung, meist ebenfalls nur zu Futtermitteln weiterverarbeitet.

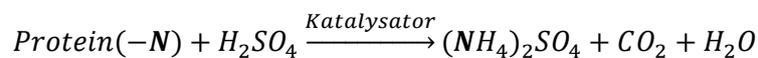
2.5. Kjeldahl - Stickstoff

Das Kjeldahl – Verfahren ist die am meisten verwendete Methode zur Bestimmung des Stickstoff- bzw. Proteingehalts in beispielsweise Nahrungs- und Futtermitteln. Der Grund dafür sind die hohe Genauigkeit, Reproduzierbarkeit und dabei einfache Vorgehensweise. Bei der modernen Kjeldahl – Methode handelt es sich um eine katalytisch gestützte Mineralisierung von organischem Material unter Einsatz von Schwefelsäure und Sulfatsalz bei Reaktionstemperaturen von über 400 °C. [34]

2.5.1. Reaktion

Ziel des ersten Schrittes ist es die Stickstoffverbindungen aufzubrechen und den organisch gebundenen Stickstoff in Ammoniumionen umzuwandeln, die dann in Form von Ammoniumsulfaten vorliegen. Der in der Probe enthaltene organische Kohlenstoff und Wasserstoff reagieren dabei zu Kohlenstoffdioxid und Wasser. Das organische Material wird anfangs karbonisiert, was durch die Entstehung von schwarzem Schaum zu sehen ist. Später zerfällt der Schaum wieder und eine klare Flüssigkeit bleibt zurück, die eine vollständige Reaktion indiziert.

Durchgeführt wird der Schritt mittels Zugabe von Schwefelsäure in hoher Konzentration, die dann gemeinsam mit der Probe bei Temperaturen von über 400 °C gekocht wird. Die Geschwindigkeit der Reaktion kann durch die Zugabe von Sulfatsalzen und Katalysatoren erhöht werden. Kaliumsulfat führt beispielsweise zur Siedepunktserniedrigung der Schwefelsäure, während der Katalysator die Geschwindigkeit und Effektivität erhöht. Verschiedene Oxidationsmittel können ebenfalls zur Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit hinzugegeben werden.



Formel 1: Allgemeine Reaktionsgleichung des Kjeldahl – Aufschlusses [35]

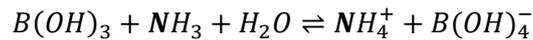
2.5.2. Destillation

Im zweiten Schritt werden die Ammoniumionen durch Zugabe von Natronlauge zu Ammoniak umgewandelt. Der Ammoniak wird dann mittels Dampfdestillation in ein zweites Gefäß überführt.



Formel 2: Allgemeine Reaktionsgleichung der Dampfdestillation [35]

Das Aufnahmegefäß ist mit einer Absorptionslösung gefüllt, die den verdünnten Ammoniakdampf auffängt. Als Absorptionslösung wird meist wässrige Borsäure mit einer Konzentration von 2 – 4 % verwendet, die den Ammoniak quantitativ auffängt, so dass sich solvatisierte Ammoniumionen bilden.



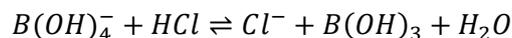
Formel 3: Reaktionsgleichung zur Absorption von Ammoniak in Borsäure [35]

Auch andere Säuren, wie zum Beispiel Schwefelsäure- oder Salzsäure - Standardlösung, können als Absorptionslösung verwendet werden.

2.5.3. Titration

Im dritten und letzten Schritt können nun, je nach verwendeter Absorptionslösung, verschiedene Titrations in Frage kommen. Wurde Borsäure genutzt, wird eine klassische Säure – Base – Titration durchgeführt, während beispielsweise bei Schwefelsäure – Standardlösung die Rücktitration angewendet wird.

Bei Borsäure als Absorptionslösung wird für die Titration entweder Salzsäure oder Schwefelsäure sowie eine Indikatormischung verwendet. Je nach Menge der Ammoniumionen werden Konzentrationen zwischen 0,01 und 0,5 N ausgewählt. Alternativ zur Indikatormischung kann der Endpunkt der Titration auch potentiometrisch mittels pH – Elektrode bestimmt werden. Es wird eine direkte Titration durchgeführt.



Formel 4: Reaktionsgleichung der Titration mit Salzsäure als Maßlösung [35]

Bei Schwefelsäure als Absorptionslösung wird eine indirekte Titration, die Rücktitration, angewendet. Die nach der Einleitung des Ammoniakdampfes verbleibende Schwefelsäure, die nicht mit Ammoniak reagiert hat, wird mit Natronlauge titriert. Durch die Differenz kann nun die Menge an Ammoniak berechnet werden. [35]

Ist die Menge an Ammoniak berechnet, kann nun die Stickstoffmenge bestimmt und mithilfe des sogenannten Kjeldahl – Faktors in den Proteingehalt der untersuchten Probe umgerechnet werden. Für die Berechnungen wurde der Faktor 6 verwendet, während auch 6,25 ein gängiger Wert zur Umrechnung von Stickstoff- auf Proteingehalt ist.

$$P = \frac{c_{HCl} \cdot V_{HCl} \cdot M_N}{m_{Probe} \cdot 1000} \cdot f_{Kjeldahl} \cdot 100 \%$$

Formel 5: Berechnung des Proteingehalts

P	Proteingehalt der Probe [%]
V_{HCl}	Verbrauch an Maßlösung [ml]
C_{HCl}	Konzentration der Maßlösung [$\frac{\text{mol}}{\text{l}}$]
M_N	Molare Masse Stickstoff [$\frac{\text{g}}{\text{mol}}$]
m_{Probe}	Eingewogene Masse Probe [g]
$f_{Kjeldahl}$	Kjeldahl - Faktor

2.6. Extraktion

Als Extraktion wird die Abtrennung bzw. das Herauslösen von Inhaltsstoffen aus Flüssig- bzw. Feststoffgemischen mit Hilfe eines flüssigen oder gasförmigen Lösungsmittels definiert. Hierbei wird zwischen Flüssig/Flüssig-, Fest/Flüssig-, Gas/Fest- und Gas/Flüssig – Extraktion unterschieden, wobei meist nur die ersten beiden Formen direkt unter dem Begriff der Extraktion zusammengefasst werden. [31, 32]

Die herauszulösende Substanz bzw. herauszulösenden Substanzen werden als Übergangskomponenten bezeichnet. Der Trägerstoff wird auch Abgeberphase genannt, das Extraktionsmittel Aufnehmerphase. Nach durchgeführter Extraktion wird die Trägerstoffphase zur Raffinatphase, die Extraktionsmittelphase zur Extraktphase. Wird die Extraktion als Produktionsprozess eingesetzt, handelt es sich bei dem zu extrahierenden Stoff meist um einen Wertstoff, während man bei Reinigungsverfahren Schadstoffe entfernen will.

Bei der Extraktion handelt es sich um ein physikalisch – chemisches Trennverfahren. Der Prozess führt nicht direkt zu reinen Komponenten, da das Extrakt aus Extraktionsmittel und molekular gelöster Übergangskomponente besteht. In einem weiteren Trennprozess wird eine Reindarstellung der Stoffe und eine Rückgewinnung des Extraktionsmittels angestrebt. Nach dieser sogenannten Extraktionsmittelaufbereitung kann das nun von der Übergangskomponente befreite Extraktionsmittel wieder dem Extraktionsprozess zugeführt werden.

Die Fest/Flüssig – Extraktion, bei der die Übergangskomponente aus einer festen Trägerphase mittels flüssigem Extraktionsmittel herausgelöst wird, wird auch als Auslaugen oder „leaching“ bezeichnet. Um eine große Ober- bzw. Kontaktfläche zu schaffen, wird das feste Rohgut, die Trägerphase, zuvor meist zerkleinert. Danach wird es in einem Extraktor mit dem

Extraktionsmittel vermischt, um die Übergangskomponente herauszulösen. Anschließend können das feste Raffinat und das flüssige Extrakt voneinander getrennt werden. Durch Aufbereitung wird dann das Extraktionsmittel von der Übergangskomponente getrennt. Je nach Prozess kann das gereinigte Extraktionsmittel wieder dem Extraktionsschritt zugeführt werden. [33]

2.7. Fällung

Proteine zählen zur Gruppe der Poly – Elektrolyte, bei denen es sich um Ionen handelt, die mittels vieler positiv und negativ geladener Gruppen untereinander salzartig wechselwirken. Zu diesen Gruppen zählen beispielsweise Amino- ($-\text{NH}_3^+$) und Carboxylreste ($-\text{COO}^-$), sowie andere stickstoffhaltige und teilweise auch schwefelhaltige Reste. Zudem zeigen die polaren Reste der Proteine nach außen und können so in wässrigen Lösungen Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden, während die unpolaren Gruppen nach innen gewandt sind und sich durch van der Waals – Kräfte verbinden. Wie bereits zuvor erwähnt liegen die Proteine außerdem in definierten Formen und räumlichen Anordnungen des Peptidkettengerüsts und der Aminosäurereste vor. Dadurch ergibt sich für jedes Protein ein typisches Oberflächenmuster. Zudem wird die Molekülstruktur und –form von Disulfid – Brücken stabilisiert.

Diese Effekte wirken alle untereinander so, dass das Protein seine Form behält und damit in Lösung bleibt. Störungen von außerhalb können eine Formveränderung des Proteinmoleküls auslösen, durch welche es aufgrund der nun veränderten Löslichkeit zur Ausflockung, dem Koagulieren, kommen kann. Dabei können beispielsweise das Ladungsmuster, die Oberflächen – Polaritäten oder das Peptidgerüst für die Fällung der Proteine verändert werden. Aufgrund der verschiedenen Formen, Strukturen und Oberflächenmuster der Proteinarten wirken sich die Fällungsmethoden jedoch unterschiedlich aus. Allgemein lässt sich die Fällung mittels chemischer Fällungsreagenzien und physikalischer Fällungsmechanismen unterscheiden.

Chemische Fällungsreagenzien können mit den angesprochenen Gruppen reagieren oder sie in ihrer Bindungsfähigkeit beeinflussen. Dies kann beispielsweise durch die Änderung des pH – Wertes mittels Basen oder Säuren, die Zugabe von Schwermetallen, organische Lösungsmittel, Detergentien, inerte Salze, Schwefelverbindungen oder Harnstoff passieren. Durch Säuren, wie zum Beispiel Salzsäure, kommt es aufgrund der vorhandenen Protonen zur Ladungsänderung der Proteine, wodurch die Wasserstoffbrückenbindungen gelöst

werden. Das führt meist zu einer irreversiblen Ausflockung bzw. Denaturierung der Proteine. Auch Basen können Proteine durch die Spaltung der Peptidbindung ausfällen.

Physikalisch lassen sich Proteine beispielsweise durch die Erhöhung der Temperatur, langsames Einfrieren, Aufschlagen (Beispiel: Eischnee), Schütteln oder Rühren, dem Einsatz von Ultraschall oder Bestrahlung, zum Beispiel mit IR- oder UV – Strahlung, ausfällen. [36]

Bei der Fällung mittels Änderung des pH – Wertes ist vor allem der sogenannte isoelektrische Punkt von großer Bedeutung. Ist der pH – Wert der umgebenden Lösung niedriger als der isoelektrische Punkt, hat das Protein als Poly – Elektrolyt oder Zwitterion eine positive Nettoladung. Ist der pH – Wert höher besitzt es hingegen eine negative Nettoladung. Beim Neutralpunkt, also pH – Wert gleich isoelektrischer Punkt, liegt ein Gleichgewicht aus Zwitterion und undissoziierter Aminosäure vor. Die Nettoladung des Proteins ist gleich Null, wodurch die Löslichkeit auf ein Minimum sinkt. [37]

2.8. Trockensubstanzbestimmung

Als Trockensubstanz wird der Bestandteil eines Stoffes oder einer Substanz beschrieben, der nach Abzug des enthaltenen Wassers übrig bleibt. Die Trockensubstanz kann als Trockenmasse in [g] oder Trockensubstanzgehalt in [%] angegeben werden. Da die verwendete Trockenwaage den Trockensubstanzgehalt in [%] ausgab, ist die entsprechende Formel im Folgenden angegeben:

$$TS = \frac{m_{trocken}}{m_{gesamt}} \cdot 100 \%$$

Formel 6: Allgemeine Berechnung der Trockensubstanz (Waage)

<i>TS</i>	Trockensubstanzgehalt [%]
<i>m_{trocken}</i>	Restgewicht bzw. Trockengewicht [g]
<i>m_{gesamt}</i>	Startgewicht bzw. Gesamtgewicht [g]

2.9. Aschebestimmung

Bei der Aschebestimmung oder Veraschung wird der mineralische Anteil eines Stoffes oder einer Substanz bestimmt. Hierzu werden die organischen Bestandteile bei hoher Temperatur oder unter zusätzlichem Einsatz von starken Oxidationsmitteln, wie beispielsweise Wasserstoffperoxid, oxidiert. Zurück bleiben lediglich die anorganischen Bestandteile. Im gleichen Verfahren wird zuvor oft die Trockensubstanz bestimmt, mit der sich dann die organische Trockensubstanz berechnen lässt. Im Fall der Proteinbestimmung kann außerdem der organische Rest bestimmt werden. Die genannten Werte berechnen sich wie folgt:

$$A = TS - oTS$$

Formel 7: Berechnung des Aschegehalts

<i>A</i>	Asche [g] bzw. Aschegehalt [%]
<i>TS</i>	Trockenmasse [g] bzw. Trockensubstanzgehalt in [%]
<i>oTS</i>	Organische Trockenmasse [g] bzw. organischer Trockensubstanzgehalt [%]

$$oR = oTS - P$$

Formel 8: Berechnung der organischen Trockensubstanz

oR	Organischer Rest [g] bzw. organischer Restgehalt [%]
oTS	Organische Trockenmasse [g] bzw. organischer Trockensubstanzgehalt [%]
P	Protein [g] oder Proteingehalt [%]

2.10. Ausbeute

Ein wichtiger Faktor zur Bewertung der Extraktion bzw. Fällung von Proteinen ist die Ausbeute. Diese lässt sich mit der Beziehung zwischen dem extrahierten bzw. ausgefällten Protein zum zu Beginn in der Probe enthaltenen Protein wie folgt berechnen:

$$Y_{\text{Protein}} = \frac{m_{\text{Protein(extrahiert/ausgefällt)}}}{m_{\text{Protein(Probe)}}} \cdot 100 \%$$

Formel 9: Berechnung der Proteinausbeute

Y_{Protein}	Proteinausbeute [%]
$m_{\text{Protein(extrahiert/ausgefällt)}}$	Masse extrahiertes/ausgefälltes Protein in Gesamtprobe [g]
$m_{\text{Protein(Probe)}}$	Masse Gesamtprotein in Ausgangsprobe [g]

Zudem kann bei der Fällung die Ausbeute auch auf das zuvor extrahierte Protein bezogen werden. Dadurch lässt sich ein besserer Vergleich zwischen den einzelnen Fällungen unabhängig der Extraktionsausbeute herstellen.

Die Reinheit der bei der Fällung gewonnenen Proteine lässt sich wie folgt berechnen:

$$\omega = \frac{P}{TS} \cdot 100 \%$$

Formel 10: Berechnung der Reinheit

ω	Reinheit bzw. Massenanteil [%]
P	Proteingehalt [%]
TS	Trockensubstanzgehalt [%]

3. Aufgabenstellung

In der folgenden Masterarbeit sollen Untersuchungen zur Gewinnung von Proteinen aus den Restströmen Maiskeim- und Sojapresskuchen angestellt werden. Dabei sind vor allem die Extraktion der Proteine und eine anschließende Fällung als Hauptziel zu betrachten. Die zu untersuchenden Parameter der Extraktion sind dabei der pH – Wert, die Extraktionstemperatur sowie -dauer. Die Extrakte sind auf Basis der Trockensubstanz sowie der Proteinausbeute zu vergleichen. Eine optimierte Extraktion soll so ermittelt werden. Anschließend soll eine Fällung der Proteine aus dem Extrakt erfolgen und ein geeigneter pH – Wert gefunden werden. Auch hier sollen Trockensubstanz, Proteinausbeute und zusätzlich die Reinheit der gewonnenen Proteine als Vergleichsbasis wirken. Für ausgewählte Proben ist außerdem eine Aschebestimmung durchzuführen.

4. Material und Methoden

Tabelle 6: Auflistung der verwendeten Geräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller	Spezifikation
Zentrifuge	Centrifuge 5804 R	Eppendorf	
Zentrifuge	Rotana 460	Hettich	
Zentrifuge	Centrifuge 5415 D	Eppendorf	
Präzisionswaage	AW - 4202	Sartorius	d = 0,01 g
Analysenwaage	AW – 224	Sartorius	d = 0,1 mg
Feuchtebestimmer	DBS	Kern	d = 0,001 g
Magnetrührer mit Heizplatte	RCT classic – Safety Control	IKA	
pH - Meter	Orion 4 – Star Plus	Thermo Fisher Scientific	pH/ISE Benchtop Multiparameter Meter
Digitalbürette	solarus® - 50 ml	Hirschmann Laborgeräte	R = 0,2 %, CV = 0,1 %
Verascher	Schnellverascher SVD 95 P	LHG - Laborgeräte	
Trockenschrank	Heraeus® Oven – Function Line	Thermo Fisher Scientific	
Kjeldahl - Aufschlusseinheit	behrotest® Standard Kjeldahl Blockaufschluss	Behr Labortechnik	System K 12
Prozessabsaugsystem	behrosog 3 Prozessabsaugsystem	Behr Labortechnik	Mit Kondensations und Neutralisationsstufe
Destillationseinheit	Wasserdampfdestillierer S4	Behr Labortechnik	vollautomatisch
Mixer	HR2096/00 Standmixer	Philips	
Pipette	Research	Eppendorf	20 – 200 µl
Pipette	Research	Eppendorf	100 – 1000 µl
Pipette	Research plus	Eppendorf	100 – 1000 µl
Pipette	Research plus	Eppendorf	1 – 10 ml

Tabelle 7: Auflistung der verwendeten Materialien

Material	Spezifikation	Hersteller	Artikelnummer
Maiskeim PK	Donaupresswerk Ennersdorf	VFI GmbH	-
Soja PK	Donaupresswerk Ennersdorf	VFI GmbH	-
Sonnenblumen PK	Donaupresswerk Ennersdorf	VFI GmbH	-
Raps PK	Donaupresswerk Ennersdorf	VFI GmbH	-
Sojamehl	Bio Sojamehl - fettreduziert	Hensel	-
Maismehl	Bio Maismehl - glutenfrei	Alnatura	-
Schwefelsäure 96 %	95 – 98 % Ph. Eur.	Carl Roth	2609.2
Wasserstoffperoxid 30 %	ROTIPURAN® p.a., ISO, stabilisiert	Carl Roth	8070.3
Salzsäure 37 %	37 %, reinst	Carl Roth	9277.2
Salzsäure 0,1 N	0,1 mol/l – 0,1 N Maßlösung	Carl Roth	K024.2
Natronlauge 50 %	50 %, reinst	Carl Roth	8665.4
Borsäure	≥99,8 %	Carl Roth	5935.1
Pufferlösung pH 3	pH 3,00 ± 0,02 (20 °C) ROTI®CALIPURE	Carl Roth	T181.2
Pufferlösung pH 4	pH 4,00 ± 0,02 (20 °C)	Carl Roth	A517.2
Pufferlösung pH 6	pH 6,00 ± 0,02 (20 °C) ROTI®CALIPURE	Carl Roth	T184.2
Pufferlösung pH 7	pH 7,00 ± 0,02 (20 °C) ROTI®CALIPURE	Carl Roth	P713.2
Pufferlösung pH 9	pH 9,00 ± 0,02 (20 °C)	Carl Roth	P714.2
Pufferlösung pH 12	pH 12,00 ± 0,05 (20 °C) ROTI®CALIPURE	Carl Roth	T189.2
Pufferlösung pH 10	pH 10.00 ± 0,01 (25 °C)	Lab Logistics Group	9.040 926
Siedesteine	Behrotest® Siedesteine SIST 100	Behr Labortechnik	B00217914
Kjeldahl - Tabletten	quecksilber- und selenfrei Zusammensetzung: TiO ₂ , CuSO ₄ , K ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₄	Carl Roth	HN20.1
Indikator	Mischindikator 5	Carl Roth	T125.1

4.1. Kjeldahl - Stickstoff

Zur Bestimmung des Kjeldahl – Stickstoffs wurden die Proben zunächst in jeweils einem Aufschlussgefäß abgewogen. Flüssige Proben wurden mittels 10 ml Pipette dosiert, das genaue Gewicht jedoch ebenfalls notiert. Bei festen Proben wurde etwas destilliertes Wasser hinzugegeben und eventuell am Glasrand haftende Rückstände nach unten gespült. Anschließend wurden in jedes Gefäß drei Siedesteinchen sowie eine Kjeldahl – Tablette gegeben, bevor die Zugabe von ca. 30 ml 96 %iger Schwefelsäure erfolgte. Die Aufschlussgefäße wurden dann samt Haltegestell in das Blockaufschluss – System gegeben und mit dem entsprechenden Deckel verschlossen. Nachdem das Absaugsystem eingeschaltet wurde, konnte mit dem Aufschluss begonnen werden. Dafür wurde folgendes Aufschlussprogramm verwendet:

- Aufheizen auf 140 °C in 20 min
- Aufheizen auf 400 °C in 600 min
- Halten der Temperatur von 400 °C für 50 min
- Beendigung des Programms und Abkühlen auf 30 °C

Durch das sehr langsame Aufheizen auf 400 °C sollte die Schaumbildung und dadurch der unvollständige Aufschluss der Probe verhindert werden. Sollte die Probenlösung nach Beendigung des Programms noch nicht vollständig aufgeschlossen sein, wurden bei Bedarf noch einmal 10 ml 96 %ige Schwefelsäure hinzugegeben. Anschließend wurden die Proben noch einmal im Blockaufschluss – System auf 400 °C erhitzt und die Temperatur für ca. eine Stunde gehalten, bis die Probenlösung klar und farblos geworden war.

Nach Abkühlen der Proben auf Raumtemperatur wurden sie einzeln in der Destillationseinheit mittels Wasserdampf dampfdestilliert und die destillierte Lösung in einem Erlenmeyer – Kolben mit Borsäure (0,1 N) aufgefangen. Anschließend konnte die Lösung nach Zugabe des Mischindikators (Methylrot und Bromkresolgrün) mit Salzsäure (0,1 N) bis zum Umschlagspunkt titriert und das Volumen der verbrauchten Säure notiert werden. Nach Berechnung der enthaltenen Stickstoffmenge konnte dann unter Verwendung des Kjeldahl – Faktors der Proteingehalt bestimmt werden.

4.2. Extraktion

Für die Proteinextraktion wurden jeweils 100 g der Probe in ein 3 l Becherglas eingewogen. Die Probe wurde zuvor mit Hilfe eines Küchenmixers zerkleinert. Anschließend wurden 1800 ml destilliertes Wasser hinzugegeben und auf einem Magnetrührer durchmischt. Über ein an die Heizplatte des Magnetrührers angeschlossenes Thermometer wurde nun das Gemisch auf die gewünschte Temperatur (50, 60, 70 bzw. 65 °C) gebracht. Um Zeit zu sparen wurde das verwendete Wasser zuvor in einem Wasserkocher auf die ungefähre, gewünschte Temperatur aufgeheizt.

Je nach pH – Wert für den Versuch wurde nun Natronlauge bzw. Salzsäure hinzugegeben. Der pH – Wert wurde mittels eines pH – Meters mit eingebauter Temperaturkorrektur gemessen. Zu Beginn wurde das pH – Meter mit entsprechenden Kalibrationslösungen kalibriert. Wenn der gewünschte pH – Wert erreicht wurde, konnte die Extraktionszeit gestartet werden. Je nach Versuch entsprach diese 2, 3 oder 4 Stunden. Durch die stattfindende Extraktion kam es bei basischen Lösungen zum Absinken, bei sauren Lösungen zum Ansteigen des pH – Wertes, weshalb während des Versuchs entsprechend Natronlauge bzw. Salzsäure hinzugegeben werden musste, um den Wert konstant zu halten. Um eine Abweichung des pH – Meters zu vermeiden, wurde dieses auch zwischendurch mehrmals kalibriert.

Sobald die gewünschte Extraktionszeit vorüber war wurde die Lösung in mehrere, meist vier, Zentrifugengefäße aufgeteilt und für eine Stunde bei 4600 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Anschließend konnte der Überstand dekantiert werden. Ein Teil des Rückstands wurde zur Bestimmung der Trockensubstanz entnommen und der Rest entsorgt.

4.3. Fällung

Die Fällung der Proteine wurde anhand des im Schritt der Extraktion gewonnenen Überstands bzw. Extrakts durchgeführt. Der Überstand wurde in einem 2 l Becherglas mittels Magnetrührer auf 50 °C erhitzt und der pH – Wert gemessen. Anschließend wurde Salzsäure zum Senken des pH – Wertes hinzugegeben. Ungefähr einen vollständigen pH – Schritt vor Erreichen des gewünschten pH – Wertes wurde das pH – Meter noch einmal entsprechend kalibriert. War der pH – Wert erreicht, wurde die Lösung noch für 15 Minuten auf dem Magnetrührer weitergerührt, um eine vollständige Reaktion zu gewährleisten.

Anschließend wurde die Lösung auf zwei Zentrifugenbehälter aufgeteilt und eine Stunde bei 4600 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Daraufhin wurde der Überstand dekantiert und entweder einer weiteren Fällung bei niedrigerem pH – Wert unterzogen oder, nach Entnahme für entsprechende Trockensubstanz– und Proteinbestimmungen, verworfen. Der Rückstand wurde mit destilliertem, auf den pH – Wert der Fällung angesäuertem Wasser gewaschen. Dafür wurden 50 ml Zentrifugenbehälter verwendet und der gewaschene Rückstand anschließend erneut zentrifugiert.

4.4. Trockensubstanzbestimmung

Zur Bestimmung der Trockensubstanz von Flüssigkeiten, wie zum Beispiel des Extrakts, wurden 10 ml auf eine entsprechend tarierte Trockensubstanzschale aus Aluminium gegeben. Die Schale mit der Probe wurde daraufhin in der Trockensubstanzwaage auf 105 °C erwärmt und getrocknet. Für feste Proben wurde meist ein Gewicht von ca. drei Gramm verwendet. Wenn die Menge der Probe, beispielsweise bei Fällungsrückständen, zu gering war, wurde entsprechend weniger Probe abgewogen. Diese Fälle sind in den Daten zur Trockensubstanz mit der jeweiligen Masse angegeben.

4.5. Aschebestimmung

Das Ziel dieser Methode ist es, den Anteil der Trockensubstanz, den Anteil der organischen Trockensubstanz und den Aschegehalt zu bestimmen.

Die für die Aschebestimmung geeigneten Porzellantiegel wurden zu Beginn so gut wie möglich mit Wasser und Seife gereinigt. Anschließend wurden sie im Verascher bei 800 °C für ca. drei Stunden ausgeglüht und dann 30 Minuten lang bei ausgeschaltetem Verascher abkühlen gelassen. Im Folgenden war darauf zu achten, die Tiegel ausschließlich mit der Tiegelzange zu berühren, um den Fehler durch mögliche Verunreinigungen zu minimieren. Die Tiegel mussten nun noch einmal für eine Stunde im Exsikkator auf Zimmertemperatur abkühlen, bevor das Gewicht mittels Analysenwaage bestimmt werden konnte. Anschließend wurde die Probe eingewogen und dann für mindestens 24 Stunden im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Dies wäre im Grunde nicht normgerecht, da es durch Hautbildung der Probe zur Verschleierung des Trocknungsprozesses kommen kann. Da die entsprechenden Trockensubstanzen allerdings bereits im Voraus mittels angegebener Trockensubstanzwaage bestimmt wurden, dienten die Werte aus der Aschebestimmung lediglich der groben

Orientierung. War die Probe getrocknet, wurden die Tiegel erneut für ca. 30 min im Exsikkator auf Zimmertemperatur abgekühlt und im Anschluss die Trockensubstanz bestimmt.

Anschließend wurden die Tiegel in den kalten Verascher gestellt und langsam aufgeheizt um einen möglichen Probenaustrag durch ein Brennen der Probe zu verhindern. Der Verascher wurde langsam auf 400°C, 600 °C und zum Schluss 800 °C eingestellt. Wenn keine oder nur noch schwache Rauchbildung erkennbar war, konnte auf die nächst höhere Temperaturstufe aufgeheizt werden. Je nach Probe wurde die Temperatur von 800 °C für mindestens 24 – 48 Stunden gehalten. Anschließend wurden die Tiegel bei ausgeschaltetem Verascher wieder für eine Stunde abgekühlt und dann für 30 min im Exsikkator auf Zimmertemperatur gebracht. War die Veraschung vollständig, konnte dies anhand des weißen Ascherückstands festgestellt und der Aschegehalt mittels Analysenwaage bestimmt werden.

Sollte die Veraschung noch nicht vollständig gewesen sein, wurden die Tiegel, wie zuvor beschrieben, abgekühlt und anschließend die Probe mit 30 %iger Wasserstoffperoxid – Lösung benetzt, um die organische Trockensubstanz zu oxidieren. Die Tiegel mit der benetzten Probe wurden nun bei maximal 45 °C im Trockenschrank getrocknet. Anschließend wurden die Tiegel, wie bereits angegeben, noch einmal bei 800 °C ausgeglüht und der Aschegehalt bestimmt.

4.6. Fehlerbetrachtung

Während menschliche Fehler, wie zum Beispiel fehlerhaftes Ablesen, durch digitale Anzeigen größtenteils vermieden werden können, spielen sie im Vergleich zu den systematischen Fehlern der Messgeräte eine eher untergeordnete Rolle. Möglich sind jedoch beispielsweise eine nicht eindeutige Bestimmung des Umschlagpunktes bei der Titration der Stickstoffbestimmung. Der Umschlagpunkt erfolgt von grün auf grau, während bei einer rosa/pinken Färbung der Lösung übertitriert wurde. Teilweise können bei der Stickstoffbestimmung daher Fehler durch ein Nichterreichen des Umschlagpunktes oder ein Überschreiten dessen entstehen. Dieser Fehler kann jedoch durch einen einheitlichen Operator der Titration minimiert werden.

Der systematische Fehler ist vor allem für die Temperaturüberwachung bzw. -einhaltung des Magnetrührers mit Heizplatte bei Extraktion und Fällung nennen. Zusätzlich können auch durch die Temperatursensorik und die damit zusammenhängende pH – Wert Bestimmung des pH – Meters Fehler entstehen.

Die größte auftretende Fehlerquelle ist jedoch durch den Masseverlust an Probe durch Umfüllen dieser von Bechergläsern in Zentrifugengefäße und Lagerbehälter. Auch durch ein Gutes Auskratzen und eventuelles Ausspülen der entsprechenden Gefäße kann dieses nicht vollständig vermieden, der Fehler jedoch verringert werden.

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1. Rohproben

Es wurden vier verschiedene Arten von Presskuchen, Soja-, Mais-, Sonnenblumen- und Rapspresskuchen, auf den Stickstoff- bzw. Proteingehalt untersucht. Da jedoch nur Soja- und Maispresskuchen für Extraktion und Fällung genutzt wurden, werden die ermittelten Proteingehalte für Sonnenblumen- und Rapspresskuchen lediglich zum Vergleich mit angegeben. Zusätzlich wurden Mais- und Sojamehl (Alnatura, Hensel) untersucht.

Zu Beginn wurde anhand von Literaturwerten die benötigte Probenmenge für die Kjeldahl – Stickstoffbestimmung berechnet. Für die beiden verwendeten Mehle wurden die Packungsangaben genutzt. Beim Rapspresskuchen wurde auf Werte von vorangegangenen Arbeiten zurückgegriffen. Um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, sollte der Verbrauch an Salzsäure für den letzten Schritt der Stickstoffbestimmung, der Titration, möglichst zwischen 10 und 20 ml liegen. Dadurch wird der Fehler, in Bezug auf die Genauigkeit der Methode, aufgrund von nur geringem Titrationsvolumen minimiert und gleichzeitig nicht unnötig viel Chemikalie verbraucht. Es wurde jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Tabelle 8: Proteingehalte der untersuchten Rohproben

Probe	Proteingehalt	
	Literaturwert [%]	gemessener Wert [%]
Sojamehl, fettreduziert	40	39,55
Maismehl	7,7	7,49
Soja PK	43 ^[38]	43,58
Mais PK	23 ^[24]	23,25
Sonnenblumen PK	29 ^[39]	29,75
Raps PK	27	27,17

Es zeigt sich, dass die gemessenen Werte ungefähr mit den Literaturwerten übereinstimmen. Die Ergebnisse für Soja- und Maispresskuchen wurden im weiteren Verlauf zur Berechnung der Ausbeute für Extraktion und Fällung verwendet.

Tabelle 9: TS, Protein, Asche, oTS und oR von Maiskeim und Soja PK

Probe	TS [%]	Protein [%]	Asche [%]	oTS [%]	oR [%]
Mais PK	91,04	25,54	3,33	87,70	62,16
Soja PK	94,32	46,21	6,16	88,16	41,95

Die angegebenen Werte sind prozentual auf den Trockensubstanzgehalt gerechnet, während sich in

Anhang 1 die absoluten Werte in Gramm befinden und die Tabelle zuvor den Proteingehalt der Gesamtprobe darstellte. Während Soja PK wesentlich mehr Protein enthält, ist auch der Aschegehalt deutlich höher als beim Maiskeim PK. Die organische Trockensubstanz ist bei beiden Presskuchen vergleichbar.

5.2. Extraktion

5.2.1. Maiskeim PK

Für die Extraktion des Maiskeimpresskuchens wurden mehrere Parameter untersucht. Analysiert wurde dabei die Abhängigkeit von pH – Wert, Temperatur und Zeit auf die Proteinausbeute der Extraktion. Parameter, wie zum Beispiel das Mischungsverhältnis von Probe zu Wasser, wurden auf der Basis der Ergebnisse vorangegangener Arbeiten auf 1 : 18 festgelegt. Die Rührgeschwindigkeit wurde annähernd konstant gehalten und auf eine vollständige Durchmischung während der Extraktion geachtet. Die Dauer von 2 Stunden sowie die Temperatur von 50 °C wurden ebenfalls aus vorangegangenen Versuchen für den Parameter pH – Wert übernommen. Da der pH – Wert jeweils innerhalb weniger Minuten eingestellt und die eigentliche Extraktionszeit erst nach Erreichen des pH – Wertes gestartet wurde, konnte auch hier eine hohe Reproduzierbarkeit der Versuche erzielt werden.

5.2.1.1. pH - Wert Abhängigkeit

Zu Beginn wurde die Löslichkeitskurve der Proteine aus Maiskeim PK durch die Extraktion bei verschiedenen pH – Werten erstellt.

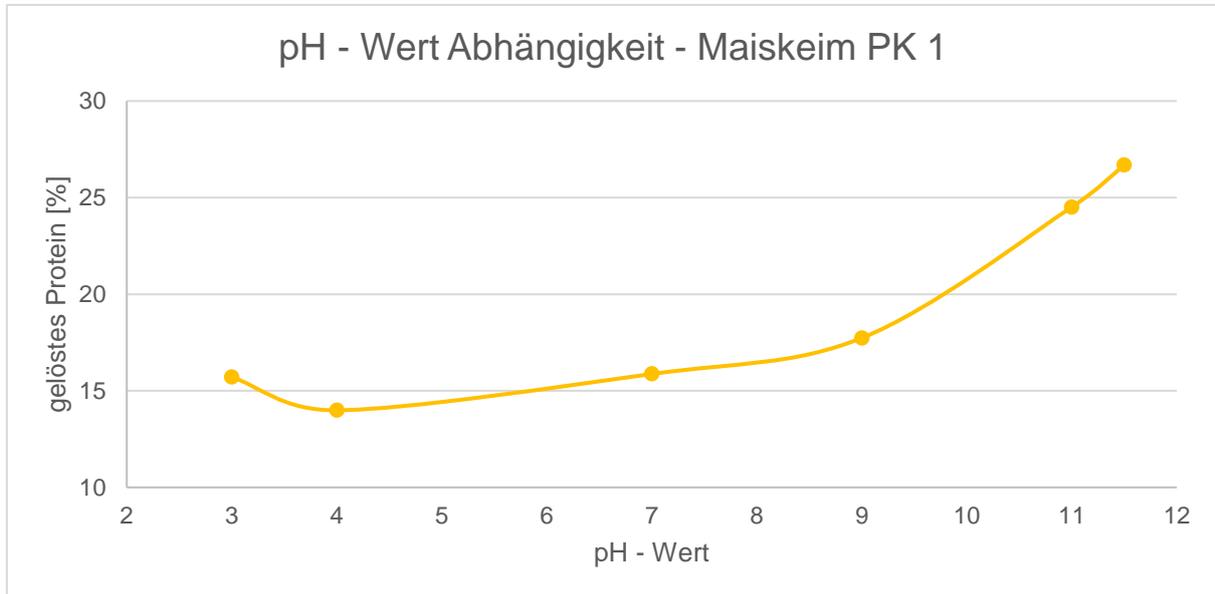


Abbildung 3: Löslichkeitsabhängigkeit von Proteinen aus Maiskeim PK im Bezug auf den pH - Wert

Zur Überprüfung des pH – Werts und zur Vergleichbarkeit der Versuche wurde der Verbrauch an Base bzw. Säure zum Einstellen des pH – Wertes mit aufgenommen. Die entsprechenden tabellarischen Werte befinden sich in Anhang 2.

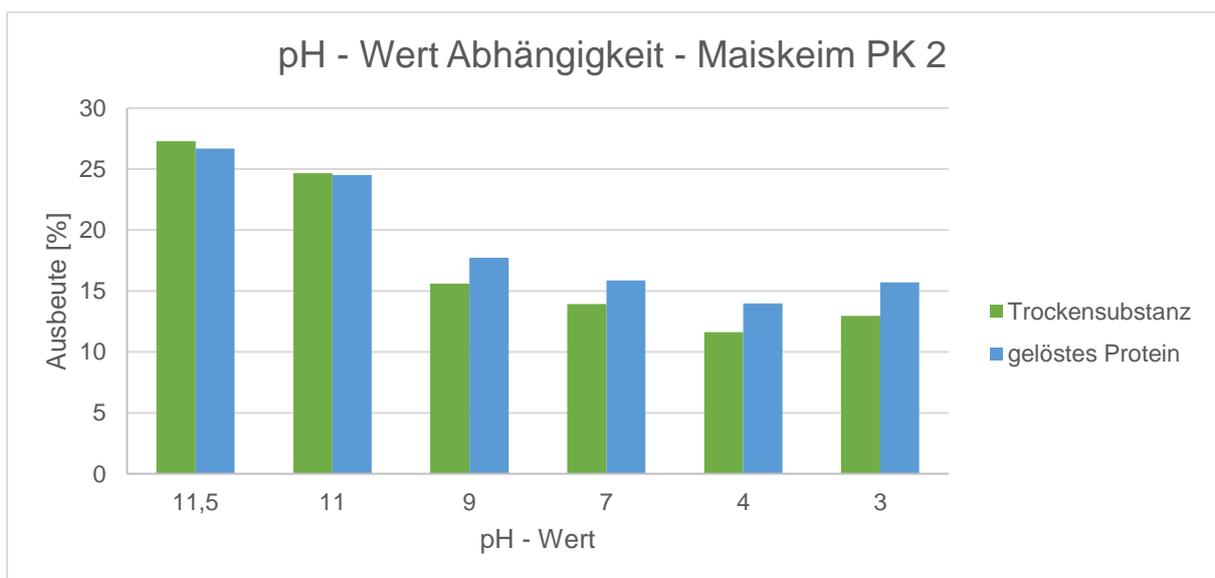


Abbildung 4: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Maiskeim PK bei verschiedenen pH - Werten

Da kaum Quellen zur Extraktion von Maiskeimmehl bzw. Maiskeimpreschkuchen vorhanden waren, wurden verschiedene realistisch umsetzbare pH – Werte getestet. Bei sehr extremen pH – Werten, wie zum Beispiel $\text{pH} \leq 2$ sowie $\text{pH} \geq 12$, kann es zu einer starken Denaturierung der Proteine kommen, weshalb die Extraktionsversuche nur bis minimal pH 3 bzw. maximal pH 11,5 durchgeführt wurden. Bei niedrigen pH – Werten werden kaum Proteine aus dem Presskuchen gelöst. Erkennbar ist auch, dass bei einem pH – Wert von 11,5 die größte Menge an Proteinen, rund 27 %, gelöst und somit extrahiert werden kann. Alle weiteren Extraktionsversuche wurden daher bei $\text{pH} = 11,5$ durchgeführt.

5.2.1.2. Temperatur- und Zeitabhängigkeit

Im Anschluss an die Versuche zur Löslichkeit und Extrahierbarkeit der Proteine bei verschiedenen pH – Werten, wurde auf die Temperatur bzw. auf die Zeit eingegangen. Zuerst wurde die Abhängigkeit der Löslichkeit in Bezug auf die Temperatur untersucht. Der pH – Wert wurde, wie zuvor erwähnt, bei 11,5 gehalten, um eine Vergleichbarkeit herzustellen. Da die Versuche zum pH – Wert bereits bei 50 °C durchgeführt wurden, wurde nun die Extraktion bei 60 bzw. 70 °C getestet und ist im Folgenden dargestellt.

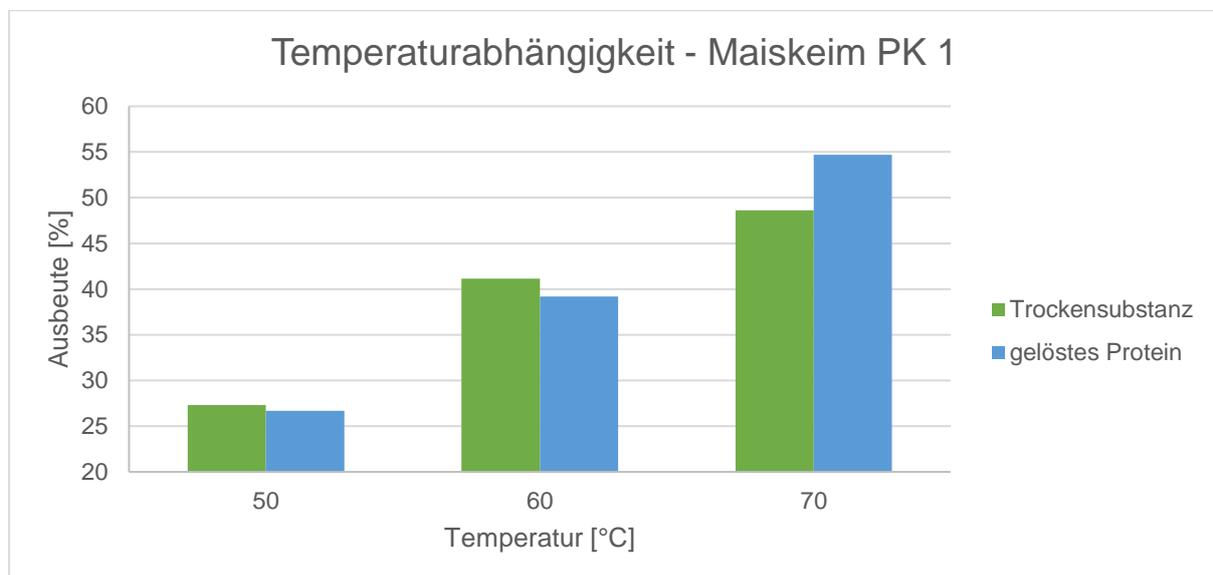


Abbildung 5: Einfluss der Temperatur auf die Protein- und TS Ausbeute bei Maiskeim PK

Im Vergleich kann eine starke Abhängigkeit der extrahierten Proteine zur Temperatur festgestellt werden. Bei 70 °C als Extraktionstemperatur kann die Ausbeute von rund 27 % auf rund 55 % verdoppelt werden, aber auch schon bei 60 °C zeigt sich eine deutlich höhere Ausbeute von ca. 39 %. Bei 70 °C sinkt zudem die Ausbeute der Trockensubstanz ab, was auf eine niedrigere Ausbeute an organischem Rest schließen lässt.

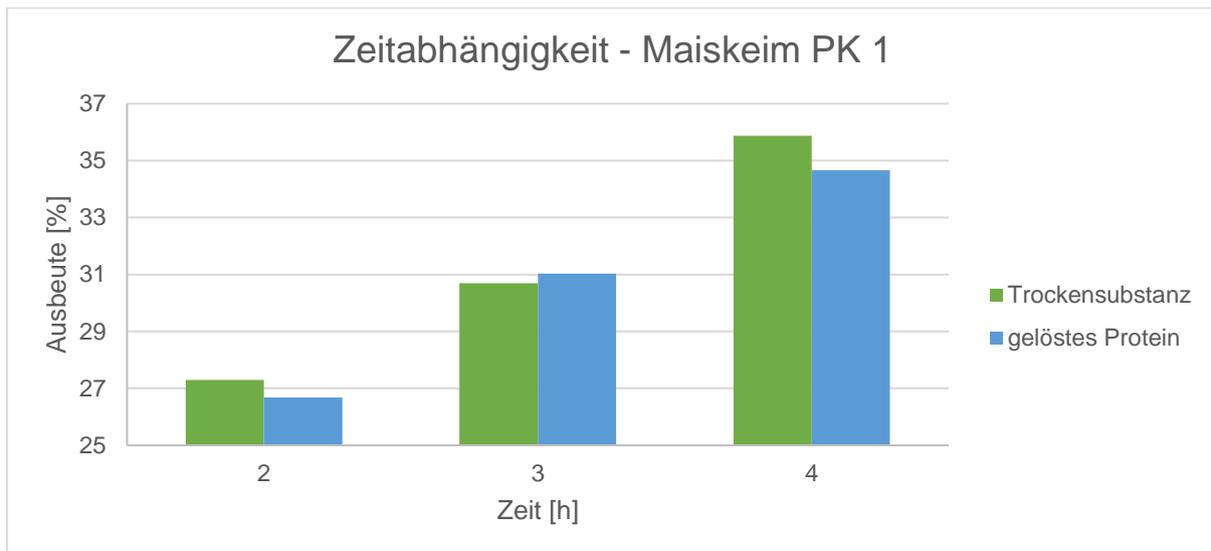


Abbildung 6: Einfluss der Zeit auf die Protein- und TS Ausbeute bei Maiskeim PK

Wie zu erwarten hat die Extraktionsdauer einen geringeren Einfluss auf die Ausbeute als die Extraktionstemperatur. Bei der Verdopplung der Extraktionsdauer kann die Ausbeute jedoch von ca. 27 % auf fast 35 % erhöht werden.

Da sowohl die Erhöhung der Dauer sowie auch der Temperatur einen positiven Einfluss auf die Ausbeute zeigten, wurde eine Kombination aus beiden Faktoren für folgende Extraktionen verwendet. Eine durchgängige Temperatur von 70 °C ist industriell, aber auch im Labor, schwierig zu erreichen. Daher wurde eine Extraktionstemperatur von 65 °C als Kompromiss genutzt. Um zwei Extraktionen pro Arbeitstag zu ermöglichen wurde auch die Extraktionsdauer von 4 Stunden auf 3 Stunden herabgesetzt. Die Kombination der untersuchten Parameter beinhaltet somit eine Extraktion bei einem pH – Wert von 11,5 bei einer Extraktionsdauer von 3 Stunden und einer Temperatur von 65 °C.

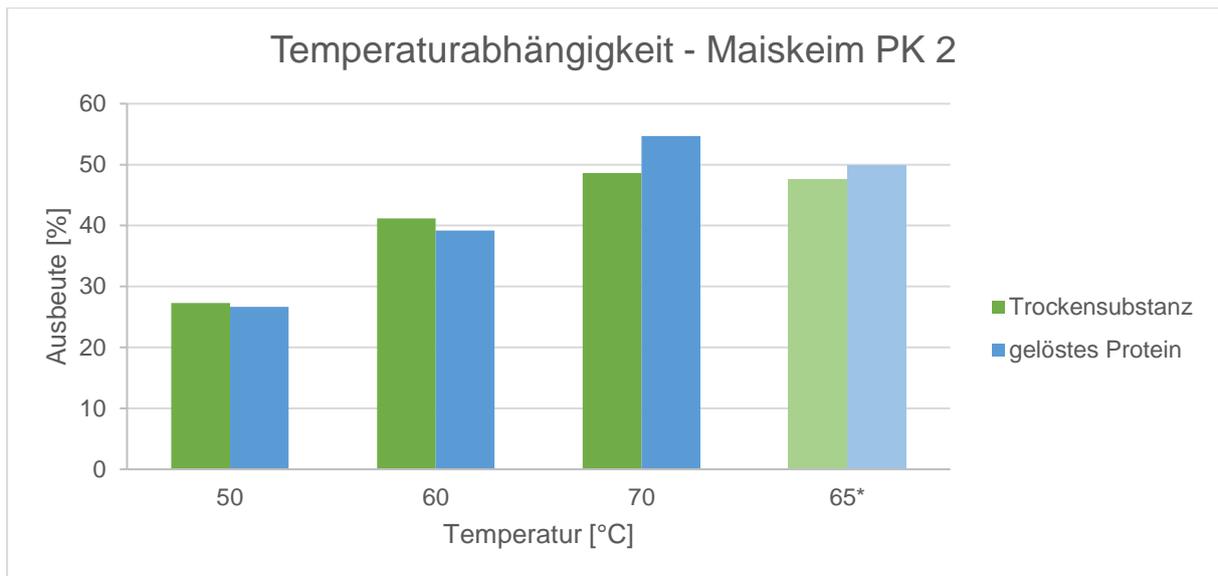


Abbildung 7: Temperaturabhängigkeit bei Maiskeim PK inklusive Extraktion bei 3 h/65 °C

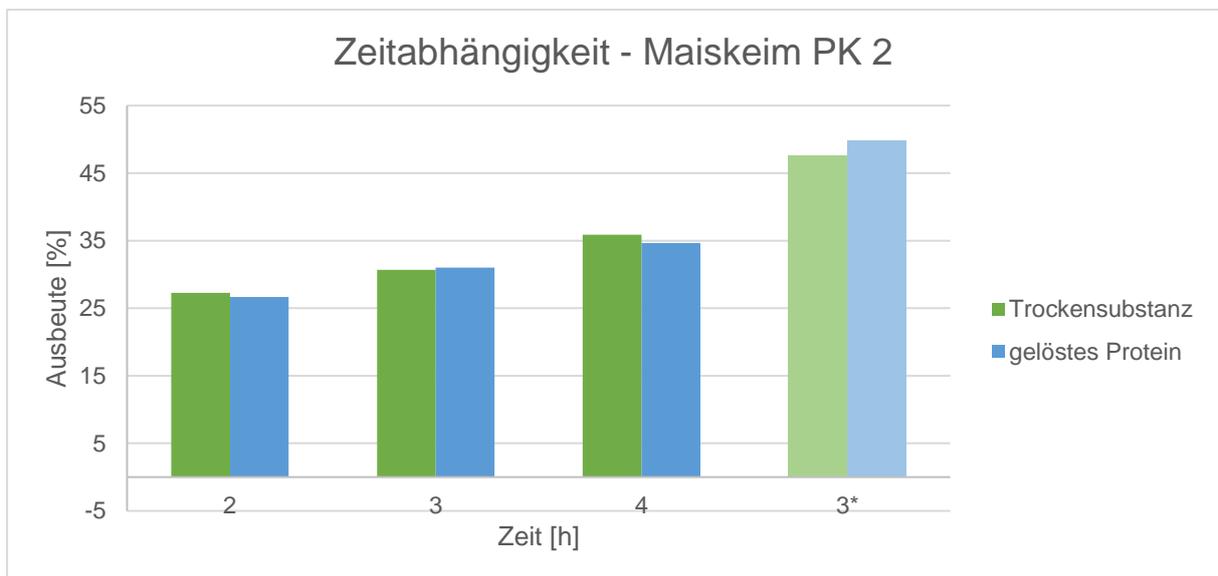


Abbildung 8: Zeitabhängigkeit bei Maiskeim PK inklusive Extraktion bei 3 h/65 °C

Dargestellt sind noch einmal die beiden Parameter inklusive der Extraktion bei 65 °C mit einer Dauer von drei Stunden. Bei der Erhöhung der Extraktionsdauer von zwei auf drei Stunden kann auch mit einer Temperatur von 5 °C weniger eine ähnlich hohe Proteinausbeute erreicht werden. Dass die Temperatur einen wesentlich größeren Einfluss auf die Proteinausbeute hat, wird auch noch einmal im Diagramm zur Zeitabhängigkeit gezeigt. Durch die Erhöhung von 50 °C auf 65 °C kann hier auch bei einer Dauer von drei statt vier Stunden wesentlich mehr Protein extrahiert werden. Tabellarisch dargestellt befinden sich die aufgeführten Werte für die Extraktion in Anhang 3.

5.2.2. Soja PK

5.2.2.1. pH - Wert – Abhängigkeit

Im Vergleich zu Quellen, die sich mit der Extraktion von Proteinen aus Maiskeimmehl bzw. Maiskeimpresskuchen beschäftigen, gibt es zahlreiche Artikel und Untersuchung zur Proteinextraktion aus Restströmen der Sojaölproduktion.

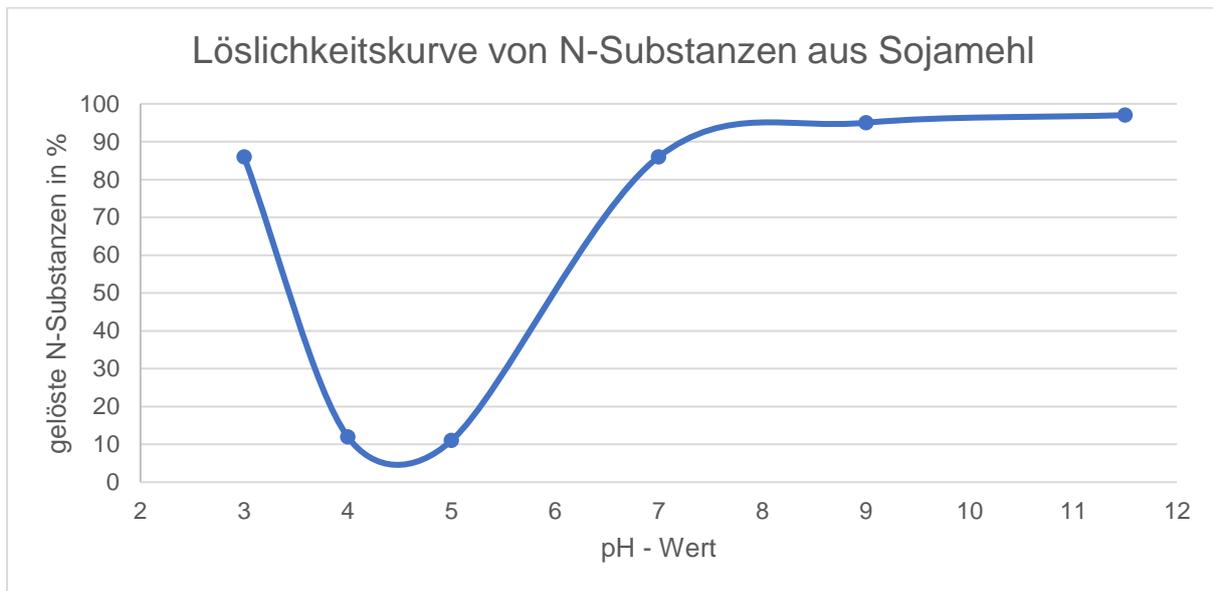


Abbildung 9: Einfluss des pH - Wertes auf die Löslichkeit von Sojaprotein aus entfettetem Sojamehl [29]

Das dargestellte Diagramm zeigt, dass eine fast 100 %ige Ausbeute an löslichen N – Substanzen bzw. Proteinen aus Soja möglich ist. Allerdings beziehen sich die Daten des Diagramms lediglich auf entfettetes Sojamehl, weshalb diese hohen Ausbeuten mit Sojapresskuchen nicht erreichbar sind. Durch das Herauspressen des Sojaöls bei Temperaturen um 120 °C werden die Proteine strukturell verändert und die Löslichkeit, vor allem im neutralen pH – Bereich, wird deutlich verringert. Konventionell wird Sojaöl meist mittels einer Fest/Flüssig – Extraktion mit dem Lösungsmittel Hexan gewonnen. Das Löslichkeitsverhalten wird auch dort verändert, jedoch nicht im gleichen Ausmaß. Aufgrund des wesentlich höheren Proteingehalts von Sojapresskuchen im Vergleich zu Maiskeimpresskuchen war jedoch mit einer deutlich besseren Ausbeute zu rechnen.

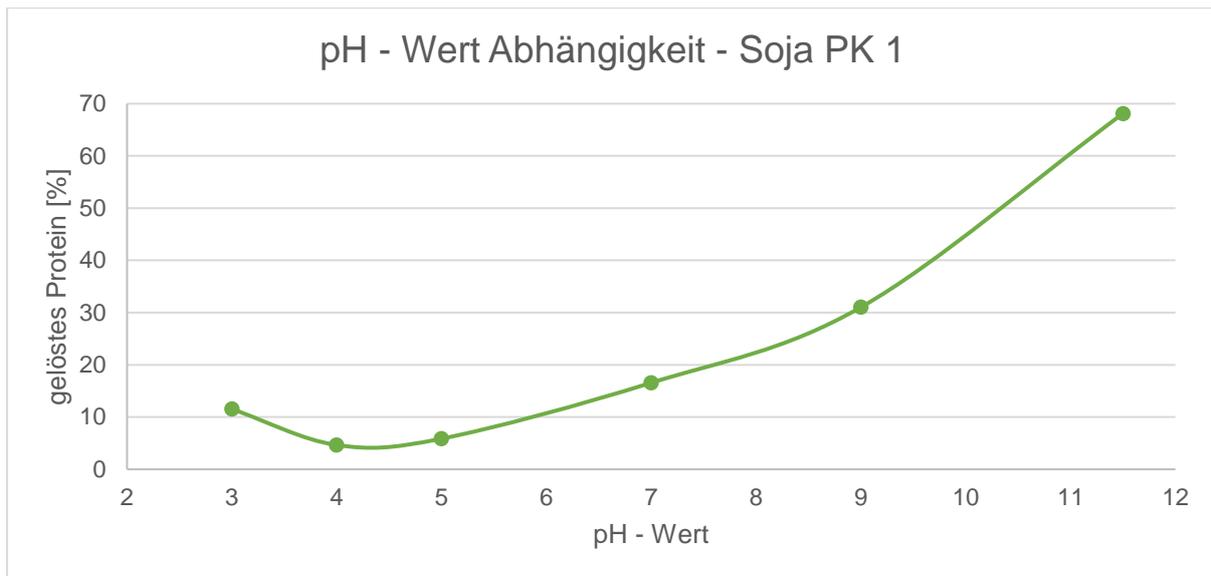


Abbildung 10: Löslichkeitsabhängigkeit von Proteinen aus Soja PK im Bezug auf den pH - Wert

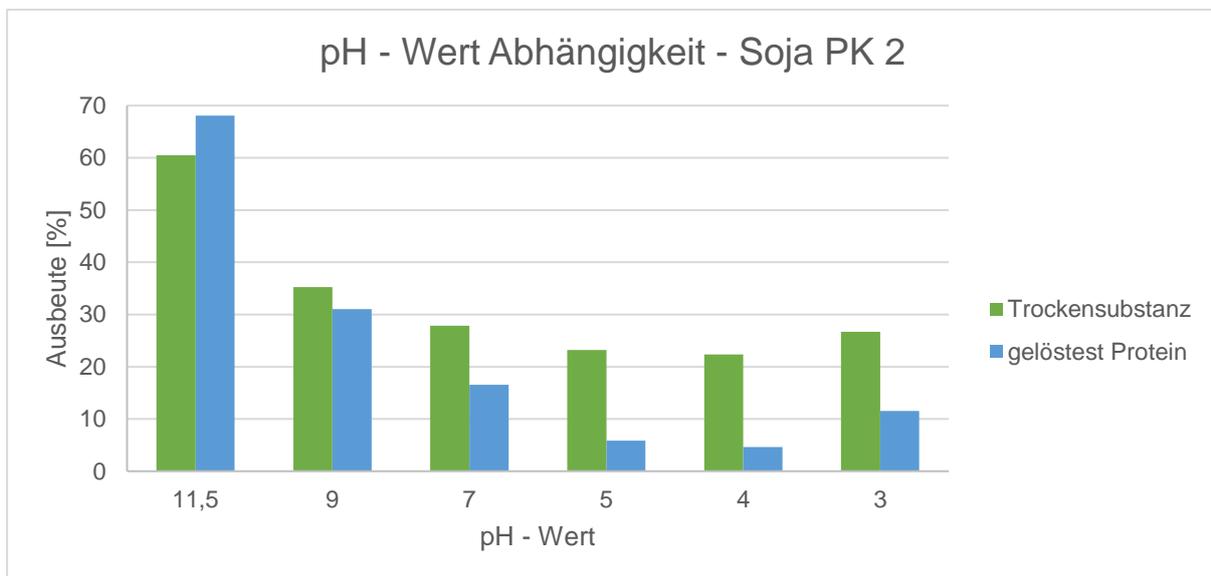


Abbildung 11: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Soja PK bei verschiedenen pH - Werten

Während die Ausbeuten bei niedrigen pH – Werten sehr von den meisten Quellen, wie auch vom zuvor dargestellten Diagramm zur Löslichkeit von Sojaproteinen, abweichen, können bei hohen pH – Werten ebenfalls sehr hohe Ausbeuten erreicht werden. Bei einer Extraktionsdauer von zwei Stunden und einer Temperatur von 50 °C können ca. 68 % der im Sojapresskuchen enthaltenen Proteine extrahiert werden. Basierend auf diesen Werten könnte außerdem eine umgekehrte Extraktion untersucht werden. Da vor allem bei den pH – Werten 5 und 4 die extrahierte Trockensubstanz im Vergleich zur Proteinausbeute sehr hoch ist, könnte man versuchen den bei der Zentrifugation erhaltenen Rückstand aufzureinigen, da dort noch ein Großteil der Proteine, jedoch wesentlich weniger andere organische Substanzen enthalten sind.

5.2.2.2. Temperatur- und Zeitabhängigkeit

Aufgrund von Zeitmangel wurde bei Soja auf die ausführlichen Versuche zur Zeit- und Temperaturabhängigkeit auf die Löslichkeit der Proteine bei Soja PK verzichtet. Jedoch lieferte eine Extraktion bei den am Ende gewählten Parametern zur Proteinextraktion aus Maiskeimpresskuchen, einer Dauer von drei Stunden und einer Temperatur von 65 °C, durchaus vielversprechende Ergebnisse.

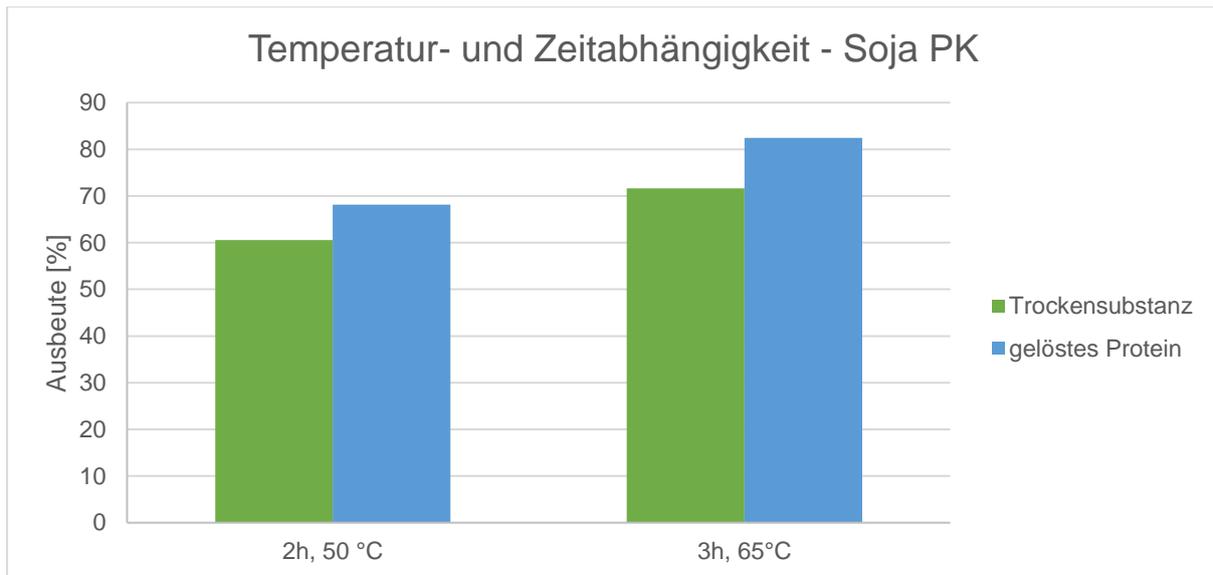


Abbildung 12: Einfluss der Temperatur und der Zeit auf die Protein- und TS Ausbeute bei Soja PK

Die Ausbeute konnte bei gleichem pH – Wert von 11,5 von rund 68 % auf rund 82 % gesteigert werden. Wie zuvor bei der Extraktion des Maiskeim PK ist also auch bei Soja PK eine höhere Temperatur sowie eine höhere Extraktionsdauer vorzuziehen. Die gemessenen Werte sind noch einmal tabellarisch in Anhang 4 dargestellt.

5.2.3. Mischung Soja und Maiskeim PK

Zusätzlich zu den einzelnen Presskuchen, wurde auch eine Mischung aus Maiskeim und Soja PK mit jeweils 50 g bei verschiedenen pH – Werten extrahiert.

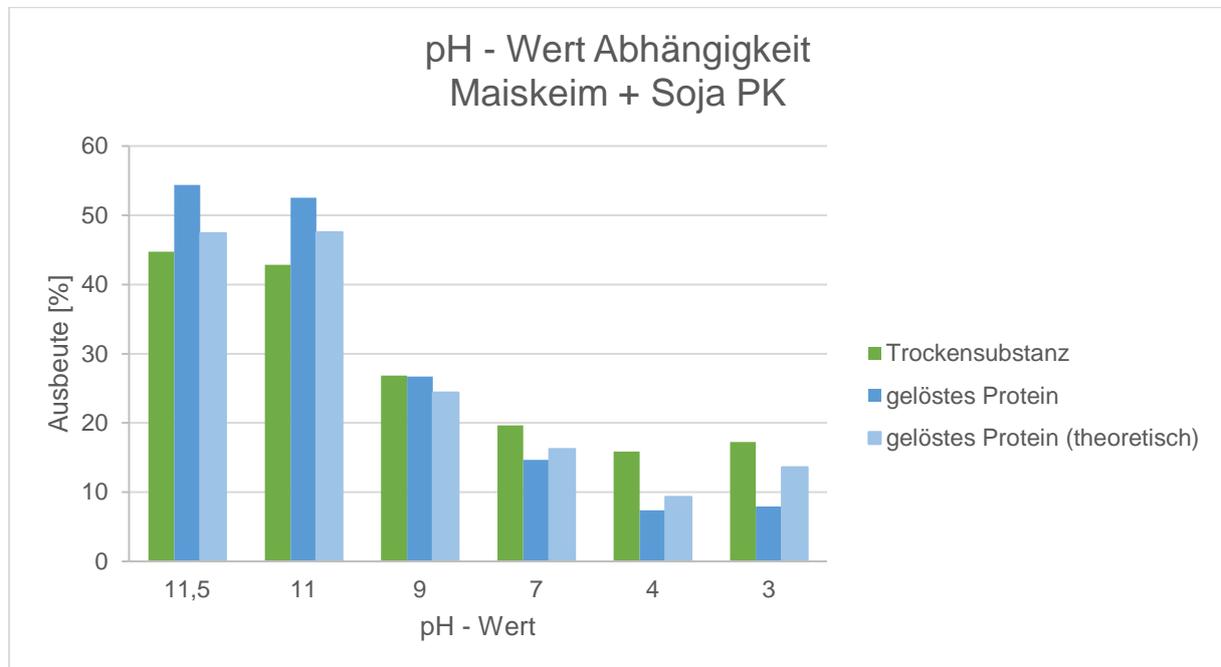


Abbildung 13: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Maiskeim und Soja PK Gemischen im Bezug auf den pH - Wert

Im Diagramm dargestellt sind die gemessenen Werte für die Trockensubstanz und die Proteinausbeute sowie die theoretische Proteinausbeute, die aus den, zuvor für die einzelnen Presskuchen, gemessenen Werten berechnet wurde. Für die pH – Werte 11,5 – 7 – 3 basieren die theoretischen Werte auf noch einmal mittels Kalibration überprüften Einzelwerten für die jeweiligen Presskuchen. Da die Mischungen aufgrund des Zeitmangels nicht noch einmal überprüft werden konnten, lassen sich leider keine exakten Vergleiche herstellen. Die höhere Proteinausbeute bei der Extraktion im basischen Milieu sind möglicherweise auf die fehlende Kalibration und damit den abweichenden pH – Wert zurückzuführen. Ähnlich im sauren Milieu, wo allerdings die gemessenen Ausbeuten vor allem bei pH = 3 weit unter den errechneten Werten liegen. In Tabellenform finden sich die dargestellten Werte in Anhang 5.

5.3. Fällung

5.3.1. Maiskeim PK

Für die Proteinfällung wurde zuerst der isoelektrische Punkt, der das Löslichkeitsminimum der Proteine beschreibt, bestimmt. Da es sich um viele verschiedene Proteine handelt, ist jedoch kein eindeutiger Punkt bestimmbar. Es handelt sich eher um mehrere Punkte bzw. einen Bereich, in dem die Löslichkeit gering ist und ein Großteil der Proteine ausfallen. Wie im Fall der Extraktion waren nur wenige Quellen zu den Maiskeimproteinen bzw. ihrem isoelektrischen Punkt zu finden. Aus diesem Grund wurde zu Beginn ein Probedurchgang zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes vorgenommen. Dazu wurde der zuvor extrahierte Überstand auf 50 °C erwärmt und Salzsäure tropfenweise bis zu einem pH – Wert von 7 hinzugegeben. Danach wurde, unter zwischenzeitlicher Kalibrierung, der pH – Wert in 0,5er Schritten bis pH = 2 abgesenkt und bei jedem Schritt ca. 1 ml Probe entnommen. Diese Proben wurden zentrifugiert und das Volumen des ausgefällten Rückstands verglichen. Bei einem pH – Wert von 5,19 wurden die ersten Proteine ausgefällt. Bis pH = 4,5 blieb die Menge ungefähr konstant, während bei pH = 4 etwas mehr Volumen erkennbar war. Danach blieb die Menge an ausgefällten Proteinen bis pH = 2 ungefähr gleich. Anschließend wurde ein weiterer Extraktionsüberstand verwendet und bis pH = 4 angesäuert. Schlussendlich wurde ein dritter Extraktionsüberstand zuerst bei pH = 5,19 ausgefällt, zentrifugiert und der Überstand noch einmal bei pH = 4 ausgefällt. Die drei Produkte wurden auf Ausbeute und ihre Reinheit untersucht. Da von jedem Überstand Proben zur Bestimmung der Trockensubstanz und Proteinausbeute entnommen wurden, sind die dargestellten Werte auf den gesamten Überstand hochgerechnet. Die gemessenen Werte befinden sich im Anhang 6.

Tabelle 10: Proteinausbeute, TS, Reinheit und Aschegehalt der Proteinfällung aus Maiskeim PK

Versuch	pH - Wert	Ausbeute (Probe) [%]	Ausbeute (Extraktion) [%]	Ausbeute (Extrakt) [%]	Proteingehalt [%]	TS [%]	Reinheit [%]	Asche [%]
1.	4	15,13	49,81	30,38	19,98	37,45	53,34	0,61
2.1.	5,19	9,09	53,53	16,98	8,97	20,99	42,76	0,76
2.2.	4	3,68	53,53	6,87	20,57	57,45	35,81	-
Gesamt 2.	-	12,76	-	23,84	-	-	-	-

Bei der Einzelfällung bei pH = 4 ist eine maximale Proteinausbeute von rund 30 % im Bezug auf das zuvor extrahierte Protein erreichbar. Somit ergibt sich insgesamt nur eine Ausbeute von knapp 15 % bezogen auf die in der Probe enthaltene Proteinmenge. Dabei kann eine

Reinheit von ca. 53 % erreicht werden. Der Versuch, durch die Abtrennung der bei pH = 5,19 ausgefällten Proteine und die anschließende Fällung bei pH = 4 eine bessere Ausbeute oder Reinheit zu erreichen, zeigt keine positiven Ergebnisse. Für die Trockensubstanzbestimmung der pH = 4 ausgefällten Proteine konnte nur eine geringe Menge verwendet werden, da nur eine geringe Menge an Probe zur Verfügung stand. Das Ergebnis könnte somit verfälscht sein. Auch für die Bestimmung des Aschegehalts war nicht ausreichend Probe verfügbar. Da zudem die Gesamtausbeute aus den bei beiden pH – Werten ausgefällten Proteinen geringer ausfällt und ein zusätzlicher Schritt der Trennung und erneuten Fällung nötig ist, ist die eine Einzelfällung bei pH = 4 vorzuziehen.

5.3.2. Soja PK

Im Gegensatz zu der Proteinfällung aus Maiskeimextrakten oder ähnlichem, gibt es in Bezug auf Soja zahlreiche Quellen. Der isoelektrische Punkt wird für mit Hexan entfettetes Sojamehl bei einem pH – Wert von 4,5 angegeben. [10] Da jedoch bei der Extraktion bereits gezeigt wurde, dass sich entfettetes Sojamehl nicht exakt wie der verwendete Sojapresskuchen verhält, wurde zunächst wie bei der Proteinfällung aus Maiskeimpresskuchen der pH – Wert Schritt für Schritt abgesenkt und die jeweiligen Proben zentrifugiert. Bei pH = 5,5 zeigte sich der erste Fällungsniederschlag. Bei pH = 5 und pH = 4,5 wurden größere Mengen ausgefällt. Die Menge veränderte sich bei weiterer Absenkung des pH – Wertes kaum, aber die Farbe des Niederschlags veränderte sich von weiß auf gelb – weiß und er wurde deutlich dunkler. Ab einem pH – Wert von 2,5 zeigte sich außerdem eine deutlich schlechtere Trennung des Niederschlags vom Überstand in der Zentrifuge. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Fällung bei den pH – Werten 5, 4,5 und 4 untersucht. Im ersten Versuch wurde zuerst bei pH = 5 gefällt, der Rückstand zentrifugiert und der Überstand noch einmal bei pH = 4 gefällt. Beim zweiten und dritten Versuch wurde der Extraktionsüberstand in zwei kleinere Bechergläser aufgeteilt. Ein Teil wurde bei pH = 5, der andere Teil bei pH = 4,5 ausgefällt. Dies sollte zu einer besseren Vergleichbarkeit der verschiedenen pH – Werte und deren Fällungsergebnissen beitragen. Wie zuvor sind die dargestellten Werte auf den bei der Extraktion erhaltenen Überstand hochgerechnet.

Tabelle 11: Proteinausbeute, TS, Reinheit und Aschegehalt der Proteinfällung aus Soja PK

Versuch	pH - Wert	Ausbeute (Probe) [%]	Ausbeute (Extraktion) [%]	Ausbeute (Extrakt) [%]	Proteingehalt [%]	TS [%]	Reinheit [%]	Asche [%]
1.1.	5	40,01	61,25	65,33	25,95	34,43	75,37	0,19
1.2.	4	2,69	61,25	4,39	20,56	45,85	32,89	-
Gesamt 1.	-	42,70	-	69,72	-	-	-	-
2.1.	5	33,83	82,41	41,05	28,91	40,27	71,81	0,20
2.2.	4,5	50,12	82,41	60,82	33,64	49,65	67,76	0,19
3.1.	5	52,18	68,45	76,23	27,74	33,12	83,76	0,17
3.2.	4,5	53,18	68,45	77,68	28,04	37,41	74,94	0,16

Bei der Fällung von Proteinen aus Sojapresskuchen können Ausbeuten von rund 77 % bezogen auf das extrahierte Protein und Gesamtausbeuten von rund 53 % bezogen auf die Proteinmenge der Ausgangsprobe erreicht werden. Die Reinheit von ca. 84 % ist nur noch knapp von der Reinheit von sogenannten Sojaproteinisolaten entfernt, die ab einer Reinheit von mindestens 85 % [10] als solche bezeichnet werden. Der Vergleich der Fällung zeigt, wie zuvor bei der Fällung der Maiskeimproteine, dass eine Einzelfällung bei einem gewählten pH – Wert einer Zweifachfällung bei zwei pH – Werten mit zusätzlicher Abtrennung der gefällten Proteine vorzuziehen ist. Die Reinheit und Proteinausbeute der Produkte sind im Vergleich besser. Die Ausbeute der Fällung bei pH = 5 in Versuch 3. ist nur wenig geringer als die der Fällung bei pH = 4,5. Zusätzlich ist die Reinheit bei pH = 5 deutlich höher. Aufgrund des geringeren Verbrauchs an Salzsäure bei der pH = 5 Fällung ist diese auch ökonomisch vorzuziehen. Im zweiten Versuch wurde der erste Teil des Überstands zuerst auf pH = 5,5 angesäuert und zentrifugiert. Da jedoch kein Rückstand erkennbar war, wurde der Überstand erneut erwärmt und dann bei pH = 5 ausgefällt. Die wesentlich niedrigere Ausbeute im Vergleich zum Rückstand des Versuchs 3.1. ist also möglicherweise durch die zweifache Verwendung bzw. die Verluste der Probe in Zentrifugenbehältern und Bechergläsern zurückzuführen. Die vollständigen Werte für die Aschebestimmung, die organische Trockensubstanz sowie der organische Rest befinden sich im Anhang 7. In Anhang 8 sind außerdem die Werte für die komplette Aschebestimmung zu finden.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen der Arbeit wurden Maiskeim- und Sojapresskuchen als Restströme der Ölgewinnung durch Auspressen untersucht. Begonnen wurde mit einer Bestimmung des Proteingehalts der Rohproben mittels Kjeldahl – Stickstoffbestimmung. Zusätzlich wurden noch eine Aschebestimmung sowie eine Messung der Trockensubstanz der unbehandelten Presskuchen durchgeführt. Die Werte für die organische Trockensubstanz sowie den organischen Rest konnten daraufhin aus den gemessenen Werten ermittelt werden.

Die Proteinextraktionen wurden unter verschiedenen Bedingungen ausgeführt und miteinander verglichen. Für die Extraktion von Proteinen aus Maiskeimpresskuchen wurden der pH – Wert, die Zeit und die Temperatur als Extraktionsparameter untersucht, während beim Sojapresskuchen hauptsächlich der pH – Wert als Parameter variiert wurde. Von den gewonnenen Extrakten wurden die Trockensubstanz sowie die Proteinausbeute verglichen und die für weitere Versuche optimalen Parameter festgelegt. Die Durchführung der anschließenden Extraktionen fand daher bei einem pH – Wert von 11,5 sowie einer Temperatur von 65 °C und einer Extraktionsdauer von drei Stunden statt. Außerdem wurde eine Aschebestimmung für einzelne Proben durchgeführt und die entsprechenden oTS- und oR – Werte ermittelt.

Zur Fällung der Proteine wurden die zuvor hergestellten Extrakte auf 50 °C erwärmt und dann bis zu verschiedenen niedrigen pH – Werten angesäuert. Dabei galt es den isoelektrischen Punkt der jeweils enthaltenen Proteine zu finden. Die Fällungsrückstände wurden auf Proteinausbeute und Reinheit untersucht, um einen für die Fällung optimalen pH – Wert bei gegebener Temperatur zu ermitteln. Für die Fällung von Proteinen aus Maiskeimpresskuchen lag dieser pH – Wert bei 4, für Sojaproteine bei 5. Außerdem wurde eine Aschebestimmung für verschiedene Produkte der Proteinfällung durchgeführt und wie zuvor die Werte für oTS und oR berechnet.

7. Ausblick

Während bei der Extraktion von Proteinen aus Sojapresskuchen relativ hohe Ausbeuten erreicht werden konnten, war dies bei Maiskeimpresskuchen als Ausgangsstoff leider nicht der Fall. Dies ist wahrscheinlich auf den niedrigeren Proteingehalt aber auch auf den höheren Ballaststoffgehalt zurückzuführen, der die Proteinextraktion erschwert. Insgesamt konnten bei der Kombination von Extraktion und Fällung rund 53 % der Sojaproteine mit einer Reinheit von fast 84 % gewonnen werden. Für Proteine aus Maiskeimpresskuchen war die Ausbeute auf gerade mal 15 % und einer Reinheit von ca. 53 % beschränkt. Ob eine Mischung der beiden Presskuchen eventuell wirklich eine Verbesserung der Extraktion der Proteine und vielleicht ergiebiger Fällung ermöglichen könnte, müsste noch weiter untersucht werden. Die gemeinsame Fällung wäre dort eventuell bei einem pH – Wert von 4,5 möglich.

Als Alternative zur Proteinfällung ist außerdem eine Extraktion mit anschließender Ultrafiltration in Betracht zu ziehen. Vor allem bei Maiskeimproteinen wäre so die Abtrennung störender Ballaststoffe möglich. Bei einer folgenden Ultrafiltration (Diafiltration) könnte so eventuell ein verwertbares Proteinkonzentrat gewonnen werden.

Im Anschluss sollte außerdem eine Untersuchung durchgeführt werden, wie sich die optimierte Gewinnung der Proteine mittels Extraktion und Fällung im Vergleich zur aktuellen Nutzung der Presskuchen als Tierfutter rentiert. Dabei sollte jedoch nicht nur der aktuelle Stand, sondern bis zu einem gewissen Grad auch Prognosen für die zukünftige Nachfrage nach pflanzlichem Protein, berücksichtigt werden.

8. Literaturverzeichnis

- [1] Deutsche Stiftung Weltbevölkerung: Weltbevölkerung, 2018; <https://www.dsw.org/weltbevoelkerung/>; abgerufen am: 11.11.2018
- [2] Die Maispflanze - Großes Getreide mit vielerlei Nutzen, information.medien.agrar e.V. u. Deutsches Maiskomitee e.V., 2012
- [3] Ai, Y. u. Jane, J.-I.: Macronutrients in Corn and Human Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15 (2016) 3, S. 581–598
- [4] Tribune Content Agency: Ethanol aus Mais, 2006; http://www.mctdirect.com/preview.php?id=200610250840MCT_____GRPHC_DE_20061025_Ethanol_Mais; abgerufen am: 20.10.2018
- [5] Inglett, G. E. u. Blessin, C. W.: Food applications of corn germ protein products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 56 (1979) 3Part3, S. 479–481
- [6] Characterization and Functionality of Corn Germ Proteins, Mila P. Hojilla-Evangelista; https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/2542/Posters/M%20HojillaEvangelista_2010%20CUTC%20Poster_Corn%20Germ%20Protein%20Functionality.pdf
- [7] Shukla, R. u. Cheryan, M.: Zein - The industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products* 13 (2001) 3, S. 171–192
- [8] Sun, X. D., Lan, Y., Shi, D., Lu, S. W., Liao, H., Zhang, R. Y., Yao, X. M., Zhang, Y. L., Su, P. u. Shan, H.: Determination of molecular driving forces involved in heat-induced corn germ proteins gelation. *Journal of Cereal Science* 66 (2015), S. 24–30
- [9] *Encyclopædia Britannica*, i.: Soybean, 2018; <https://www.britannica.com/plant/soybean>; abgerufen am: 10.10.2018
- [10] DE2832843C2: Verfahren zur Herstellung eines Sojaprotein-Extrakts in fester Form; Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, CH; Rham, Oliver de, La Tour-de-Peilz, CH; 1978
- [11] [www.soja-wissen.de: Soja Anbau & Anbauländer](https://www.soja-wissen.de/soja-anbau.php); <https://www.soja-wissen.de/soja-anbau.php>; abgerufen am: 05.10.2018
- [12] [www.soja-wissen.de: Gentechnisch veränderte Sojabohnen?](https://www.soja-wissen.de/soja-konventioneller-anbau.php), 2018; <https://www.soja-wissen.de/soja-konventioneller-anbau.php>; abgerufen am: 05.10.2018
- [13] [www.soja-wissen.de: Woher kommt die Sojabohne?](https://www.soja-wissen.de/soja-ursprung-geschichte.php); <https://www.soja-wissen.de/soja-ursprung-geschichte.php>; abgerufen am: 05.10.2018
- [14] The effect of dietary faba bean and non-starch polysaccharide degrading enzymes on the growth performance and gut physiology of young turkeys Nr. 12, Mikulski, D., Juskiewicz, J., Przybylska-Gornowicz, B., Sosnowska, E., Slominski, B. A., Jankowski, J. u. Zdunczyk, Z.; https://www.researchgate.net/publication/317041298_The_effect_of_dietary_faba_bean_and_non-starch_polysaccharide_degrading_enzymes_on_the_growth_performance_and_gut_physiology_of_young_turkeys
- [15] Makeri, M. U., Mohamed, S. A., Karim, R., Ramakrishnan, Y. u. Muhammad, K.: Fractionation, physicochemical, and structural characterization of winged bean seed protein fractions with reference to soybean. *International Journal of Food Properties* 7 (2017), S. 1–17
- [16] Spektrum Akademischer Verlag: *Lexikon der Biologie - Proteine*, Heidelberg 1999; <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/proteine/54137>

- [17] CentroSan: Proteine - wichtige Bausteine für den Körper, 2018; <https://www.centrosan.com/Wissen/Funktion-und-Nutzen-von-Mikro-Naehrstoffen/Stoffwechsel/Proteine-wichtige-Bausteine-fuer-den-Koerper.php>; abgerufen am: 06.11.2018
- [18] Matissek, R. u. Baltes, W. (Hrsg.): Lebensmittelchemie; Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum 2016
- [19] DocCheck Medical Services GmbH: Aminosäure, 2018; <https://flexikon.doccheck.com/de/Aminos%C3%A4ure>; abgerufen am: 11.11.2018
- [20] Canadian Food Inspection Agency: Elements within the Nutrition Facts Table - Protein, 2018; <http://inspection.gc.ca/food/labelling/food-labelling-for-industry/nutrition-labelling/elements-within-the-nutrition-facts-table/eng/1389206763218/1389206811747?chap=7>; abgerufen am: 07.11.2018
- [21] WHO, FAO, UNU: Protein and amino acid requirements in human nutrition - Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation ; [Geneva, 9 - 16 April 2002]; WHO technical report series; Bd. 935; Geneva: WHO 2007; 2007
- [22] Leser, S.: The 2013 FAO report on dietary protein quality evaluation in human nutrition - Recommendations and implications. Nutrition Bulletin 38 (2013) 4, S. 421–428
- [23] FAO u. WHO: Protein quality evaluation - Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bethesda, Md., USA, 4-8 December 1989; FAO food and nutrition paper; Bd. 51; Rome: FAO 1991; 1991
- [24] Nutritive Value of Protein in Hominy Feed Fractions, Walls, J. S., James, C. u. Cavins, J. F., 1971
- [25] National Nutrient Database for Standard Reference: Full Report (All Nutrients): - 11450, Soybeans, green, raw, 2018; <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3162?man=&facet=&count=&max=50&qlookup=11450&offset=&sort=default&format=Full&reportfmt=other&rptfrm=&ndbno=&nutrient1=&nutrient2=&nutrient3=&subset=&totCount=&measureby=&Qv=7.725&Q327963=1&Qv=7.73&Q327963=1>; abgerufen am: 06.11.2018
- [26] National Nutrient Database for Standard Reference: Full Report (All Nutrients): - 01123, Egg, whole, raw, fresh, 2018; <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/01123?man=&facet=&count=&max=&qlookup=&offset=&sort=&format=Full&reportfmt=other&rptfrm=&ndbno=&nutrient1=&nutrient2=&nutrient3=&subset=&totCount=&measureby=&Qv=79.7&Q322711=1&Q322712=1&Q322713=1&Q322714=1&Q322715=1&Q322716=1&Qv=7.97&Q322711=1&Q322712=1&Q322713=1&Q322714=1&Q322715=1&Q322716=1>; abgerufen am: 07.11.2018
- [27] Naves, M. M. V., Castro, M. V. L. d., Mendonça, A. L. d., Santos, G. G. u. Silva, M. S.: Corn germ with pericarp in relation to whole corn: - Nutrient contents, food and protein efficiency, and protein digestibility-corrected amino acid score. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31 (2011) 1, S. 264–269
- [28] National Academy of Sciences: Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients); Washington, D.C.: National Academies Press 2005; 2005
- [29] Seiler, M.: Evaluierung der technischen und wirtschaftlichen Umsetzbarkeit eines neuartigen Verfahrenskonzepts zur Herstellung von Proteinprodukten aus Sojabohnen; 2006
- [30] Ölerini: Maiskeimöl, 2018; <https://oelerini.com/maiskeimoel>; abgerufen am: 10.11.2018

- [31] Extraktion. In: Mersmann, A., Kind, M. u. Stichlmair, J. (Hrsg.): Thermische Verfahrenstechnik. Grundlagen und Methoden. Chemische Technik Verfahrenstechnik. Berlin: Springer 2005, S. 345–384
- [32] Kirchhoff, A.: Modelle zum Fließverhalten nicht mischbarer Phasen in der Chromatomembran- Zelle und Möglichkeiten ihrer Anwendung bei der Automation von Analyseverfahren; Freie Universität Berlin Dissertation 2004
- [33] Lohrengel, B.: Einführung in die thermischen Trennverfahren - Trennung von Gas-, Dampf- und Flüssigkeitsgemischen; München: Oldenbourg 2012; 2012
- [34] Russo, T. V.: N/Protein Determination in Cereals according to the Kjeldahl method, 2013
- [35] PanReac, AppliChem, ITW Reagents: Nitrogen Determination by Kjeldahl Method
- [36] Blume, R.: Zu den Mechanismen der Proteinfällung, 2010;
<http://www.chemieunterricht.de/dc2/milch/proteinfraellung.htm>
- [37] Biochemische Übungen, Weiss, R.
- [38] Heuzé, V., Tran, G. u. Kaushik, S.: Soybean Meal, 2017;
<https://www.feedipedia.org/node/674>; abgerufen am: 11.11.2018
- [39] Heuzé, V., Tran, G., H., P., L., M., L. u. F.: Sunflower Meal, 2016;
<https://www.feedipedia.org/node/732>; abgerufen am: 11.11.2018

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau eines Maiskorns [3].....	12
Abbildung 2: Vergleich der Aminosäurenanteile von Maiskeim, Soja und Vollei	24
Abbildung 3: Löslichkeitsabhängigkeit von Proteinen aus Maiskeim PK im Bezug auf den pH - Wert.....	43
Abbildung 4: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Maiskeim PK bei verschiedenen pH - Werten.....	43
Abbildung 5: Einfluss der Temperatur auf die Protein- und TS Ausbeute bei Maiskeim PK ..	44
Abbildung 6: Einfluss der Zeit auf die Protein- und TS Ausbeute bei Maiskeim PK.....	45
Abbildung 7: Temperaturabhängigkeit bei Maiskeim PK inklusive Extraktion bei 3 h/65 °C ..	46
Abbildung 8: Zeitabhängigkeit bei Maiskeim PK inklusive Extraktion bei 3 h/65 °C.....	46
Abbildung 9: Einfluss des pH - Wertes auf die Löslichkeit von Sojaprotein aus entfettetem Sojamehl [29]	47
Abbildung 10: Löslichkeitsabhängigkeit von Proteinen aus Soja PK im Bezug auf den pH - Wert	48
Abbildung 11: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Soja PK bei verschiedenen pH - Werten	48
Abbildung 12: Einfluss der Temperatur und der Zeit auf die Protein- und TS Ausbeute bei Soja PK.....	49
Abbildung 13: Trockensubstanz- und Proteinausbeute von Maiskeim und Soja PK Gemischen im Bezug auf den pH - Wert	50

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung von entfettetem Maiskeimmehl [5].....	13
Tabelle 2: Zusammensetzung von entfettetem Sojamehl [14].....	16
Tabelle 3: Vergleich der verschiedenen Bewertungsmethoden der Proteinqualität bei Vollei, Milch und Soja.....	23
Tabelle 4: Anteile der essenziellen und nicht - essenziellen Aminosäuren in Maiskeim PK, Soja und Vollei	24
Tabelle 5: Essenzielle Aminosäuren in Maiskeim+Pericarp, Soja und Vollei im Vergleich mit dem empfohlenen Aminosäurebedarf.....	25
Tabelle 6: Auflistung der verwendeten Geräte.....	35
Tabelle 7: Auflistung der verwendeten Materialien	36
Tabelle 8: Proteingehalte der untersuchten Rohproben.....	41
Tabelle 9: TS, Protein, Asche, oTS und oR von Maiskeim und Soja PK.....	42
Tabelle 10: Proteinausbeute, TS, Reinheit und Aschegehalt der Proteinfällung aus Maiskeim PK.....	51
Tabelle 11: Proteinausbeute, TS, Reinheit und Aschegehalt der Proteinfällung aus Soja PK	53

11. Formelverzeichnis

Formel 1: Allgemeine Reaktionsgleichung des Kjeldahl – Aufschlusses [35]	Fehler!
Textmarke nicht definiert.	
Formel 2: Allgemeine Reaktionsgleichung der Dampfdestillation [35].....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Formel 3: Reaktionsgleichung zur Absorption von Ammoniak in Borsäure [35]	Fehler!
Textmarke nicht definiert.	
Formel 4: Reaktionsgleichung der Titration mit Salzsäure als Maßlösung [35]	Fehler!
Textmarke nicht definiert.	
Formel 5: Berechnung des Proteingehalts.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Formel 6: Allgemeine Berechnung der Trockensubstanz (Waage)	32
Formel 7: Berechnung des Aschegehalts	32
Formel 8: Berechnung der organischen Trockensubstanz.....	33
Formel 9: Berechnung der Proteinausbeute	33
Formel 10: Berechnung der Reinheit	33

12. Anhangsverzeichnis

Anhang 1:	Werte für die Rohproben auf bezogen auf 100g
Anhang 2:	Extraktion von Maiskeim PK bei verschiedenen pH – Werten
Anhang 3:	Extraktion von Soja PK bei verschiedenen pH – Werten
Anhang 4:	Extraktion von Maiskeim PK bei verschiedenen Extraktionstemperaturen und -zeiten
Anhang 5:	Extraktion von Maiskeim und Soja PK Gemischen bei verschiedenen pH – Werten
Anhang 6:	Fällung von Proteinen aus Maiskeim PK
Anhang 7:	Fällung von Proteinen aus Soja PK
Anhang 8:	Werte der Aschebestimmung von Extraktionsüberständen und Fällungsrückständen von Maiskeim und Soja PK

Anhang 1: Werte für die Rohproben auf bezogen auf 100g

Probe	TS [g] (aus AB)	TS [g] (aus TS Waage)	Protein [g]	Asche [g]	oTS [g]	oR [g]
Mais PK	90,63	91,04	23,25	3,03	88,00	64,75
Soja PK	94,20	94,32	43,58	5,81	88,51	44,93

Anhang 2: Extraktion von Maiskeim PK bei verschiedenen pH – Werten

Datum Versuch	pH - Wert	Verbrauch [g]	TS [%]	Protein [%]	m(Überstand) [g]	Y(Protein) [%]	Y(TS)[%]	Überprüfung
03. Jul	11,5	6,05	2,15	0,49	1257,38	26,68	27,30	ja
02. Jul	11	5,40	2,02	0,47	1225,04	24,51	24,68	ja
09. Mai	9	2,59	1,29	0,34	1209,92	17,73	15,61	nein
07. Sep	7	1,68	1,11	0,29	1255,63	15,87	13,94	ja
11. Mai	4	0,21	0,86	0,24	1349,43	13,99	11,61	nein
10. Sep	3	1,33	0,93	0,26	1400,97	15,71	12,96	ja

Anhang 3: Extraktion von Soja PK bei verschiedenen pH – Werten

Datum Versuch	pH - Wert	Verbrauch [g]	TS [%]	Protein [%]	m(Überstand) [g]	Y(Protein) [%]	Y(TS)[%]	Überprüfung
22. Aug	11,5	4,69	3,85	1,90	1574,30	68,11	60,53	ja
15. Mai	9	1,20	2,59	1,00	1363,49	31,02	35,25	nein
05. Sep	7	0,43	2,00	0,52	1394,38	16,56	27,89	ja
07. Mai	5	0,91	1,61	0,18	1443,31	5,86	23,24	nein
07. Mai	4	2,46	1,50	0,14	1489,90	4,65	22,35	nein
05. Sep	3	3,53	1,80	0,34	1482,42	11,53	26,68	ja

Anhang 4: Extraktion von Maiskeim PK bei verschiedenen Extraktionstemperaturen und -zeiten

Datum Versuch	Temperatur [°C]	Zeit [h]	Verbrauch [g]	TS [%]	Protein [%]	m(Überstand) [g]	Y(Protein) [%]	Y(TS)[%]	Überprüfung
03. Jul	50	2	6,05	2,15	0,49	1257,38	26,68	27,30	ja
09. Jul	60	2	9,26	3,16	0,70	1304,37	39,20	41,15	ja
10. Jul	70	2	10,09	3,48	0,91	1397,28	54,69	48,63	ja
11. Jul	50	3	6,42	2,38	0,56	1292,6	31,03	30,70	ja
12. Jul	50	4	7,28	2,72	0,61	1321,29	34,66	35,87	ja
30. Jul	65	3	8,95	3,59	0,88	1326,54	49,81	47,62	ja

Anhang 5: Extraktion von Maiskeim und Soja PK Gemischen bei verschiedenen pH – Werten

Datum Versuch	pH - Wert	Verbrauch [g]	Verbrauch(theo.) [g]	TS [%]	Protein [%]	m(Überstand) [g]	Y(Protein) [%]	Y(Protein, theo.) [%]	Y(TS)[%]	Überprüfung
04. Jun	11,5	5,68	5,37	3,15	1,29	1413,68	54,36	47,40	44,74	nein
17. Mai	11	5,88	5,75	3,21	1,31	1336,22	52,53	47,56	42,83	nein
18. Mai	9	2,14	1,90	2,06	0,68	1303,57	26,68	24,38	26,85	nein
22. Mai	7	1,12	1,06	1,52	0,38	1292,48	14,66	16,22	19,65	nein
25. Mai	4	0,72	1,34	1,24	0,06	1283,76	7,40	9,32	15,85	nein
28. Mai	3	2,05	2,43	1,23	0,19	1407,91	7,94	13,62	17,25	nein

Anhang 6: Fällung von Proteinen aus Maiskeim PK

Versuch	pH - Wert	Ausbeute (Probe) [%]	Ausbeute (Extraktion) [%]	Ausbeute (Extrakt) [%]	Proteingehalt [%]	TS [%]	Reinheit [%]	Asche [%]
1.	4	13,44	49,81	26,98	19,98	37,45	53,34	0,61
2.1.	5,19	8,47	53,53	15,82	8,97	20,99	42,76	0,76
2.2.	4	3,42	53,53	6,40	20,57	57,45	35,81	-
Gesamt 2.	-	11,89	-	22,22	-	-	-	-

Anhang 7: Fällung von Proteinen aus Soja PK

Versuch	pH - Wert	Ausbeute (Probe) [%]	Ausbeute (Extraktion) [%]	Ausbeute (Extrakt) [%]	Proteingehalt [%]	TS [%]	Reinheit [%]	Asche [%]
1.1.	5	39,07	61,25	63,79	25,95	34,43	75,37	0,19
1.2.	4	2,63	61,25	4,29	20,56	45,85	32,89	-
Gesamt 1.	-	41,70	-	68,08	-	-	-	-
2.1.	5	29,80	82,41	24,56	28,91	40,26	71,81	0,20
2.2.	4,5	44,18	82,41	36,41	33,64	49,64	67,76	0,19
3.1.	5	46,58	68,45	68,04	27,74	33,11	83,76	0,17
3.2.	4,5	47,46	68,45	69,34	28,04	37,41	74,94	0,16

Anhang 8: Werte der Aschebestimmung von Extraktionsüberständen und Fällungsrückständen von Maiskeim und Soja PK

Extraktionsüberstände:

Probe	Datum(Probe)	pH - Wert	TS [%]	TS(Waage) [%]	Asche [%]	Protein [%]	m(Probe) [g]	m(Protein) [g]	m(oTS) [g]	m(oR) [g]	Y(TS) [%]	Y(Protein) [%]
Soja PK	22.08.	11,5	3,82	3,85	0,44	1,90	1574,30	29,83	60,40	30,56	60,53	68,45
	08.05.	11	4,02	3,98	0,43	2,12	1459,45	30,87	57,88	27,01	58,01	70,96
	15.05.	9	2,56	2,59	0,27	1,00	1363,49	13,57	35,17	21,60	35,25	31,17
Maiskeim PK	03.07.	11,5	2,14	2,15	0,42	0,49	1257,38	6,16	26,90	20,74	27,03	26,68
	02.07.	11	1,98	2,02	0,37	0,14	1225,04	1,75	24,57	22,82	24,68	24,51
	09.05.	9	1,31	1,29	0,22	0,34	1261,98	4,30	15,54	11,25	15,61	17,73
	30.07.	11,5*	3,47	3,59	0,59	0,88	1326,54	11,61	47,45	35,84	47,62	49,81

Fällungsrückstände:

Probe	Datum(Probe)	pH - Wert	TS [%]	TS(Waage) [%]	Asche [%]	Protein [%]	m(Probe) [g]	m(Protein) [g]	m(oTS) [g]	m(oR) [g]	Y(Protein) [%]	Reinheit [%]
Maiskeim PK	31.07.	pH4	30,43	37,45	0,61	19,98	17,61	3,52	6,58	3,06	13,44	53,35
	09.08.	pH 5,19	21,69	20,99	0,76	8,98	21,94	1,97	4,58	2,61	8,47	42,76
Soja PK	20.08.	pH5	34,42	34,43	0,19	25,95	65,61	17,03	22,58	5,56	39,07	75,37
	28.08.	pH4,5	51,48	49,65	0,19	33,64	28,62	9,63	14,20	4,58	44,18	67,75
	29.08.	pH5	36,35	40,27	0,20	28,92	22,46	6,49	9,04	2,54	29,80	71,80
	04.09.	pH4,5	35,63	37,41	0,16	28,04	36,89	10,34	13,80	3,45	47,46	74,94
	04.09.	pH5	34,70	33,12	0,17	27,74	36,59	10,15	12,11	1,96	46,58	83,75