

**Einfluss thermomechanischer Behandlung auf die  
Zellwandzusammensetzung sowie niedermolekulare  
Inhaltsstoffe obst- und gemüsebasierter Nebenströme**

Zur Erlangung des akademischen Grades einer  
DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften  
des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)  
genehmigte

DISSERTATION

von

staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin  
Antje Trabert

1. Referent: Prof. Dr. Mirko Bunzel  
2. Referentin: Prof. Dr. Andrea Hartwig  
Tag der mündlichen Prüfung: 27.10.2022



**„I KNOW I CAN  
BE WHAT I WANNA BE  
IF I WORK HARD AT IT  
I'LL BE WHERE I WANNA BE“**

NAS



## EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Darüber hinaus erkläre ich, dass die Arbeit nicht anderweitig als Prüfungsarbeit oder als Dissertation bei einer anderen Fakultät verwendet wird oder wurde.

Karlsruhe, den 12.09.2022

---

Antje Trabert



---

# INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	OBST- UND GEMÜSEBASIERTE NEBENSTRÖME .....	2
1.1.1	APFELTRESTER .....	2
1.1.2	KARTOFFELPÜLPE.....	3
1.1.3	KAROTTENTRESTER.....	4
1.2	CHARAKTERISTISCHE INHALTSSTOFFE DER AUSGEWÄHLTEN NEBENSTRÖME.....	4
1.2.1	BALLASTSTOFFE .....	5
1.2.2	POLYPHENOLE.....	6
1.2.3	GLYKOALKALOIDE.....	7
1.2.4	CAROTINOIDE.....	8
1.3	DIE PFLANZLICHE ZELLWAND .....	9
1.3.1	ZELLWANDPOLYSACCHARIDE .....	10
1.3.1.1	CELLULOSE.....	11
1.3.1.2	HEMICELLULOSEN .....	13
1.3.1.3	PEKTIN.....	15
1.3.2	DAS ZELLWANDNETZWERK.....	17
1.3.3	PROANTHOCYANIDINE ALS CO-POLY-/OLIGOMERE .....	18
1.4	POTENTIELL ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN .....	20
1.4.1	BALLASTSTOFFE .....	20
1.4.2	ANTIOXIDANTIEN .....	21
1.5	THERMOMECHANISCHE BEHANDLUNG.....	22
2	ZIELSETZUNG.....	26
3	MATERIAL UND METHODEN.....	28

<b>3.1 BESCHREIBUNG DES PROBENMATERIALS SOWIE DER THERMOMECHANISCHEN BEHANDLUNG.....</b>	<b>28</b>
3.1.1 APFELTRESTER .....	28
3.1.1.1 EXTRUSIONSBEDINGUNGEN .....	28
3.1.1.2 BEDINGUNGEN IM <i>CLOSED CAVITY</i> RHEOMETER .....	29
3.1.2 APFELTRESTER ENZYMATISCH BEHANDELT .....	29
3.1.3 KARTOFFELPÜLPE.....	30
3.1.4 KAROTTENTRESTER.....	31
<b>3.2 GRUNDCHARAKTERISIERUNG .....</b>	<b>31</b>
3.2.1 GEHALT AN FREIEN MONO- & DISACCHARIDEN.....	31
3.2.2 BESTIMMUNG DES STÄRKEGEHALTS .....	33
<b>3.3 BALLASTSTOFFISOLIERUNG &amp; -BESTIMMUNG.....</b>	<b>34</b>
<b>3.4 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE.....</b>	<b>36</b>
3.4.1 ANALYSE DER MONOSACCHARIDZUSAMMENSETZUNG .....	37
3.4.2 ANALYSE DER BINDUNGSVERHÄLTNISSE .....	38
3.4.3 BESTIMMUNG DES VERESTERUNGSGRADS POLYMERGEBUNDENER GALACTURONSÄURE .....	40
3.4.4 MOLEKULARGEWICHTSVERTEILUNG DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFPOLYMERE .....	42
3.4.5 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT.....	43
<b>3.5 ANALYSE VON PFLANZLICHEN SEKUNDÄRMETABOLITEN .....</b>	<b>49</b>
3.5.1 NIEDERMOLEKULARE (POLY)PHENOLISCHE VERBINDUNGEN.....	49
3.5.2 GLYKOALKALOIDE.....	51
3.5.2.1 ENTWICKLUNG EINER UHPLC-ESI-MS-METHODE.....	53
3.5.2.1.1 ENTWICKLUNG DER CHROMATOGRAPHISCHEN UND MASSENSPEKTROMETRISCHEN PARAMETER.....	53
3.5.2.1.2 PROBENAUFARBEITUNG.....	53



3.5.2.1.3 OPTIMIERUNG UND VALIDIERUNG.....	54
3.5.3 CAROTINOIDE.....	56
3.6 CHARAKTERISIERUNG VON PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN .....	57
3.7 ANALYSE VON HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN .....	58
3.7.1 FURFURALDERIVATE.....	58
3.7.2 ACRYLAMID .....	59
3.8 ENZYMATISCHER ABBAU (FERMENTIERBARKEIT) VON BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDEN & -OLIGOSACCHARIDEN.....	60
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....	61
4.1 CHARAKTERISIERUNG DER ZUSAMMENSETZUNG DER NEBENSTRÖME UND DER EXTRUSIONSBEDINGTEN VERÄNDERUNGEN .....	61
4.1.1 APFELTRESTER .....	61
4.1.1.1 GRUNDCHARAKTERISIERUNG .....	61
4.1.1.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE.....	62
4.1.1.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE.....	64
4.1.1.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	64
4.1.1.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	69
4.1.1.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	71
4.1.1.3.4 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT .....	72
4.1.1.4 ANALYSE (POLY)PHENOLISCHER VERBINDUNGEN .....	73
4.1.1.4.1 BESTIMMUNG VON NIEDERMOLEKULAREN (POLY)PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN .....	73
4.1.1.4.2 CHARAKTERISIERUNG DER PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN.....	75
4.1.1.5 ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN .....	76
4.1.1.6 FERMENTIERBARKEIT .....	77
4.1.2 APFELTRESTER ENZYMATISCH BEHANDELT .....	78

4.1.2.1	GRUNDCHARAKTERISIERUNG .....	78
4.1.2.2	BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE.....	79
4.1.2.3	CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE	80
4.1.2.3.1	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	80
4.1.2.3.2	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	84
4.1.2.3.3	OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	86
4.1.2.3.4	BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT .....	87
4.1.2.4	ANALYSE (POLY)PHENOLISCHER VERBINDUNGEN .....	88
4.1.2.4.1	BESTIMMUNG VON NIEDERMOLEKULAREN (POLY)PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN .....	88
4.1.2.4.2	CHARAKTERISIERUNG DER PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN.....	89
4.1.2.5	ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN .....	90
4.1.2.6	FERMENTIERBARKEIT .....	92
4.1.3	KARTOFFELPÜLPE.....	93
4.1.3.1	GRUNDCHARAKTERISIERUNG .....	93
4.1.3.2	BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE.....	93
4.1.3.3	CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE	95
4.1.3.3.1	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	95
4.1.3.3.2	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	97
4.1.3.3.3	OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	99
4.1.3.3.4	BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT .....	100
4.1.3.4	BESTIMMUNG DER CHLOROGENSÄUREGEHALTE.....	101
4.1.3.5	BESTIMMUNG DER GLYKOALKALOIDGEHALTE .....	101
4.1.3.6	ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN .....	102

4.1.3.7	FERMENTIERBARKEIT .....	103
4.1.4	KAROTTENTRESTER.....	104
4.1.4.1	GRUNDCHARAKTERISIERUNG .....	104
4.1.4.2	BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE.....	104
4.1.4.3	CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE .....	106
4.1.4.3.1	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	106
4.1.4.3.2	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	108
4.1.4.3.3	OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE .....	110
4.1.4.3.4	BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT .....	110
4.1.4.4	BESTIMMUNG DER CAROTINOIDGEHALTE .....	111
4.1.4.5	ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN .....	112
4.1.4.6	FERMENTIERBARKEIT .....	113
4.2	VERÄNDERUNGEN DER ZUSAMMENSETZUNG VON APFELTRESTER UNTER DEFINIERTEN THERMISCHEN UND MECHANISCHEN BEDINGUNGEN .....	113
4.2.1	GRUNDANALYTIK.....	114
4.2.2	BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE .....	114
4.2.3	CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE....	116
4.2.3.1	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	116
4.2.3.2	POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	117
4.2.3.3	OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE.....	119
4.3	ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION .....	119
5	ZUSAMMENFASSUNG .....	127
6	LITERATURVERZEICHNIS .....	131
7	CHEMIKALIEN UND INSTRUMENTE .....	145

8	ARBEITSVORSCHRIFTEN .....	154
9	ANHANG.....	176
9.1	TABELLEN .....	176
9.2	ABBILDUNGEN .....	198
10	PUBLIKATIONSLISTE.....	207

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AOAC	<i>Association of Analytical Chemists</i>
Ara	Arabinose
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
CCR	<i>Closed Cavity Rheometer</i>
CP	Kreuzpolarisationsexperiment, <i>Cross Polarisation</i>
DAD	Diodenarraydetektor
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.
DMSO	Dimethylsulfoxid
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit, <i>European Food Safety Authority</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assays</i>
ESI	Elektrosprayionisation
<i>f</i>	Furanose
FID	Flammenionisationsdetektor
Fuc	Fucose
Gal	Galactose
GalA	Galacturonsäure
GC	Gaschromatographie
Glc	Glucose
GlcA	Glucuronsäure
HMF	5-Hydroxymethylfurfural
HPAEC-PAD	Hochleistungsanionenaustauschchromatographie mit gepulst amperometrischem Detektor, <i>High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection</i>
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPSEC	Hochleistungsgröbenausschlusschromatographie, <i>High Performance Size- Exclusion Chromatography</i>
LC	Flüssigkeitschromatographie, <i>Liquid Chromatography</i>

LBS	Lösliche Ballaststoffe
Man	Mannose
MAS	<i>Magic Angle Spinning</i>
mDP	Mittlerer Polymerisationsgrad
MS	Massenspektrometrie
n	Drehzahl
n.b.	Nicht bestimmbar
n.d.	Nicht detektiert
NLBS	Niedermolekularlösliche Ballaststoffe
NMR	Kernspinresonanz, <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
$\rho$	Pyranose
PMAA	Partiell methylierte Alditolacetate
Rha	Rhamnose
RI	Brechungsindex, <i>Refractive Index</i>
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i>
SME	Spezifisch mechanischer Energieeintrag
t	Terminal (endständig)
$t_{CCR}$	Behandlungsdauer im CCR
$T_{CCR}$	Temperatur des CCR
TFA	Trifluoressigsäure, <i>Trifluoroacetic acid</i>
TM	Trockenmasse
$T_M$	Materialtemperatur
TSP	Natriumsalz der 3-Trimethylsilylpropionsäure-2,2,3,3- $d_4$
UBS	Unlösliche Ballaststoffe
UHPLC	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie, <i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>
UV	Ultraviolett
$w_{H_2O}$	Gesamtwassergehalt
XR	Röntgenstrahlung, <i>X-Ray</i>
XRD	Röntgenbeugung, <i>X-Ray Diffraction</i>
Xyl	Xylose
$\dot{\gamma}$	Scherrate

# 1 EINLEITUNG

Das Johann Heinrich von Thünen-Institut führte im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) eine Studie zum Thema Lebensmittelabfälle durch. Demnach entstanden im Jahr 2015 in Deutschland 12 Millionen t Lebensmittelabfälle entlang der gesamten Wertschöpfungskette. Davon hatte mit ca. 2,2 Millionen t die Verarbeitung von Lebensmitteln einen Anteil von ca. 18 %, wovon ca. 50 % theoretisch vermeidbar wären (SCHMIDT *et al.*, 2019). Nebenströme der obst- und gemüseverarbeitenden Industrie, wie beispielsweise die Pressrückstände aus der Saftindustrie, fallen in großen Mengen als Abfallprodukte an. Im Zuge des Nachhaltigkeitsaspektes und der optimalen Nutzung von Ressourcen finden Lebensmittelnebenströme teilweise bereits Anwendung als Futtermittel bzw. Futtermittelzusätze. Durch ihre hohen Anteile an für die menschliche Ernährung nützlichen bioaktiven Inhaltsstoffen können diese Nebenprodukte beispielsweise als Grundlage zur Extraktion von Ballaststoffen und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen genutzt werden. Ballaststoffe entstammen dabei zum großen Teil der pflanzlichen Zellwand und gelten als ernährungsphysiologisch positive Bestandteile der menschlichen Ernährung (SCHWEIZER & WÜRSCH, 1991; DEVRIES *et al.*, 2001; O'SHEA *et al.*, 2012; SLAVIN, 2013). Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (*European Food Safety Authority* – EFSA) empfiehlt für Erwachsene eine Aufnahme von 25 g Ballaststoffen pro Tag (EFSA, 2010), während die Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) eine Menge von 30 g Ballaststoffen pro Tag vorschlägt (EFSA, 2010; DGE, ÖGE, SGE, 2021). Viele Zivilisationskrankheiten, wie Diabetes mellitus, werden mit einer ballaststoffarmen Ernährung in Verbindung gebracht (SCHWEIZER & WÜRSCH, 1991). Nach Auswertung der Daten der Nationalen Verzehrsstudie II erreichen 68 % der Männer und 75 % der Frauen den Richtwert der DGE nicht (Max-Rubner-Institut, 2008), wodurch ein gesteigertes Interesse besteht, die tägliche Aufnahmemenge von Ballaststoffen in der Bevölkerung durch eine Anreicherung von Lebensmitteln zu steigern. Neben den gesundheitlich positiven Aspekten weisen einige Ballaststoffe auch funktionelle Eigenschaften, wie Wasserbindung oder Gelbildung, auf und können dadurch als funktionelle Hilfsstoffe im Lebensmittel eingesetzt werden. So kann beispielsweise der Brennwert von Lebensmitteln reduziert werden, da Zutaten wie Fett oder Stärke teilweise ersetzt werden können (LARREA *et al.*, 2005; SUDHA *et al.*, 2007; ELLEUCH *et al.*, 2011). Jedoch können Ballaststoffe oftmals nur in begrenzten Mengen eingesetzt werden, da sonst unerwünschte sensorische Veränderungen, wie beispielsweise Veränderungen der Textur, auftreten können (LARREA *et al.*, 2005). Die funktionellen Eigenschaften von Ballaststoffen werden durch ihre chemische Struktur

bedingt, sodass unterschiedliche Strukturmerkmale mit unterschiedlichen funktionellen Eigenschaften einhergehen. Die Modifikation der Strukturen stellt eine vielversprechende Möglichkeit dar, gewünschte Funktionalitäten einzustellen. Ein Verfahren, um in vergleichsweise kurzen Prozesszeiten sowohl eine thermische als auch eine mechanische Behandlung durchzuführen, stellt die Extrusion dar (GUY, 2001; LARREA *et al.*, 2005). Damit können obst- und gemüsebasierte Nebenströme nach Funktionalisierung mittels Extrusion Lebensmitteln und somit dem Kreislauf der Wertschöpfungskette wieder zugeführt werden. Des Weiteren können Lebensmittel durch den erhöhten Ballaststoffgehalt sowie durch die enthaltenen sekundären Pflanzenmetaboliten ernährungsphysiologisch aufgewertet werden. Apfeltrester können hohe Gehalte an Polyphenolen, wie z.B. Anthocyane, enthalten, welche sich überwiegend in der Apfelschale befinden (AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012; O'SHEA *et al.*, 2012). In Karotten sind typischerweise Carotinoide vorhanden, welche auch im Karottentrester enthalten sein können (O'SHEA *et al.*, 2012). Diese Pflanzeninhaltsstoffe weisen u.a. eine antioxidative Kapazität auf und können sich damit positiv auf das Lebensmittel sowie die menschliche Gesundheit auswirken (BÖHM *et al.*, 1997; QUIDEAU *et al.*, 2011; FIEDOR & BURDA, 2014). Insgesamt ist jedoch nur wenig über die detaillierten Veränderungen der Strukturen durch thermomechanische Behandlung mittels Extrusion sowie die Auswirkungen auf sekundären Pflanzeninhaltsstoffen bekannt.

## 1.1 OBST- UND GEMÜSEBASIERTE NEBENSTRÖME

Nebenprodukte aus der Obst- und Gemüseverarbeitung fallen in vielen Bereichen der Industrie an, oft auch abhängig von der regionalen Herkunft. In Deutschland sind mengenmäßig vor allem Nebenprodukte aus Äpfeln und Karotten im Zuge der Saftgewinnung sowie Kartoffeln nach Stärkeextraktion von Bedeutung (LAUFENBERG *et al.*, 2003; O'SHEA *et al.*, 2012).

### 1.1.1 APFELTRESTER

Der Apfel, *Malus domestica*, ist ein Kernobstgewächs und entstammt der Familie der Rosengewächse (Rosaceae) und somit der Ordnung Rosenartige (Rosales). Er zählt zu den zweikeimblättrigen (dikotylen) Pflanzen. Die Apfelfrucht enthält im Inneren das Kerngehäuse, das Endokarp, welches von dem Mesokarp umgeben ist. Den größten Anteil nimmt das fleischige Blütengewebe (Mesokarp) ein, welches von dem Exokarp, der Schale, abschließend umhüllt wird. Weiter sind der Stiel und der Blütenrest ein Teil der Apfelfrucht.



Seit 2017 werden in Deutschland über 33.000 ha landwirtschaftliche Fläche für den Anbau von Äpfeln genutzt (BMEL, 2022). Neben dem direkten Verzehr als Obst werden Äpfel zur Herstellung von Apfelsaft angebaut. Deutschlandweit wurden im Jahr 2020 rund 664 Millionen L Apfelsaft produziert (BMEL, 2021a). Für die Safterstellung wird üblicherweise die gesamte Frucht in einer Kaltpresse gepresst und der Apfeltrester, auch als Pressrückstand bekannt, vom Saft getrennt. Der Trester enthält verbliebene Kerne, Schalenbestandteile und das restliche Fruchtfleisch der Äpfel und macht schätzungsweise 25 % des eingesetzten Gewichts aus (O'SHEA *et al.*, 2012). Nach dem Pressen ist der Saft noch trüb, da hier typischerweise u.a. noch unlösliche Zellwandbestandteile enthalten sind. Teilweise ist dies unerwünscht, da die sensorischen Eigenschaften, wie die optische Beschaffenheit (Trübung, Farbe) oder der Geschmack, negativ beeinflusst werden können. Üblich ist in der Saftindustrie daher der Einsatz von verschiedenen Enzymen zum Abbau der unlöslichen Zellwandkomponenten. Des Weiteren wird damit auch die Ausbeute insgesamt erhöht (RIBEIRO *et al.*, 2010).

Die Pressrückstände werden teilweise der Wertschöpfungskette wieder zu geführt und können in der Futtermittelindustrie oder als Rohmaterialien zur Gewinnung von Pektin eingesetzt werden. Pektine sind Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand und fallen, wie die meisten Zellwandkomponenten, unter die Definition der Ballaststoffe (siehe 1.2.1). Aufgrund ihrer gelbildenden Eigenschaften finden sie Anwendung als Gelier- sowie Verdickungsmittel (O'SHEA *et al.*, 2012).

### 1.1.2 KARTOFFELPÜLPE

Die Basis der Kartoffelpülpe stellt die Kartoffel, *Solanum tuberosum* L., dar. Sie gehört zu der Familie der Nachtschattengewächse, Solanaceae, und der Ordnung der Nachtschattenartigen (Solanales) und zählt somit zu den dikotylen Pflanzen. Die Kartoffelknollen wachsen unterirdisch als Ausläufer von der Mutterknolle und sind daher Sprossen. Im Inneren der Knolle befindet sich das Mark, welches vom Gefäßbündelring umschlossen wird. Die anfangs enthaltene Epidermis wird von einem Periderm ersetzt, welches nach und nach verkorkt. Ihren Ursprung hat die Kartoffelpflanze in Südamerika und erreichte Europa Mitte des 17. Jahrhunderts. Heutzutage ist sie ein wichtiges Grundnahrungsmittel in Deutschland mit einem Pro-Kopf-Konsum von 57,4 kg (BMEL, 2021b). Neben den üblichen Speisekartoffeln gibt es außerdem Industrie- und Futterkartoffeln. Industriekartoffeln werden speziell für die Stärkeindustrie angebaut und enthalten einen deutlich höheren Stärkegehalt. Kartoffelpülpe fällt hierbei in großen Mengen als Nebenprodukt an (O'SHEA *et al.*, 2012).

### 1.1.3 KAROTTENTRESTER

Zur Familie der Doldenblütler (Apiaceae) und somit zu der Ordnung Doldenblütlerartige (Apiales) gehört die Karotte (*Daucus carota* L.). Die Karotte entwickelt sich aus der Wurzel der Pflanze. In der Mitte der Wurzeln ist das Xylem, welches vom Phloem umgeben ist. Xylem und Phloem sind essentiell für den Wasser- und Nährstofftransport und werden von der Endodermis umgeben. Der größte Teil ist die Rinde (Cortex), welche hauptsächlich aus dem nährstoffleitenden Phloem besteht und von der Epidermis umschlossen wird.

Das Interesse an Gemüsesäften ist in den letzten Jahrzehnten stetig gestiegen. So hat sich der Pro-Kopf-Verbrauch seit 2002 nahezu verdoppelt (Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie, 2022). Karottentrester fällt wie Apfeltrester in großen Mengen als Pressrückstand bei der Gemüsesaftherstellung an (O'SHEA *et al.*, 2012).

## 1.2 CHARAKTERISTISCHE INHALTSSTOFFE DER AUSGEWÄHLTEN NEBENSTRÖME

Obst- und gemüsebasierte Nebenprodukte zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Ballaststoffen sowie sekundären Pflanzeninhaltsstoffen aus (vgl. Tabelle 1).

**Tabelle 1: Grundzusammensetzung von Apfeltrester, Kartoffelpülpe sowie Karottentrester.** TM: Trockenmasse; UBS: unlösliche Ballaststoffe; LBS: lösliche Ballaststoffe; NLBS: niedermolekularlösliche Ballaststoffe; HMF: 5-Hydroxymethylfurfural

		Apfeltrester	Kartoffelpülpe	Karottentrester
<b>Proteingehalt</b>	[g/100 g TM]	2,1-7,3 <sup>1-3,5</sup>	4,0-5,3 <sup>8-10</sup>	0,2-8,4 <sup>13-17</sup>
<b>Fettgehalt</b>	[g/100 g TM]	1,5-3,8 <sup>1-3,5,7</sup>	1,0-1,6 <sup>9,10</sup>	0,3-1,3 <sup>13,15,17</sup>
<b>Aschegehalt</b>	[g/100 g TM]	0,5-1,8 <sup>1-3,5</sup>	2,9-4,0 <sup>8-10</sup>	0,7-7,7 <sup>13-17</sup>
<b>Kohlenhydratgehalt</b>	[g/100 g TM]			19,3 <sup>13</sup>
<b>Stärkegehalt</b>	[g/100 g TM]		28,7-38,9 <sup>8,10,11</sup>	
<b>Freie Monosaccharide</b>	[g/100 g TM]	7,6-45,1 <sup>2,5-7</sup>	0,1 <sup>11</sup>	
<b>Gesamtballaststoffgehalt</b>	[g/100 g TM]	50,6-69,0 <sup>1-3,18,20</sup>	48,6-58,9 <sup>9-12</sup>	29,0-73,0 <sup>13-15,19,20</sup>
<b>UBS</b>	[g/100 g TM]	36,5-44,6 <sup>1,18,20</sup>	31,9 <sup>11</sup>	30,0-57,6 <sup>13,14,16,19,20</sup>
<b>LBS</b>	[g/100 g TM]	8,2-20,3 <sup>1,18,20</sup>	23,3 <sup>11</sup>	12,7-15,4 <sup>14,16,19,20</sup>
<b>NLBS</b>	[g/100 g TM]	0,04 <sup>2</sup>		
<b>Gesamtpolyphenolgehalt</b>	[mg/kg TM]	744,2-4034,0 <sup>2,4-7,21</sup>		
<b>Carotinoidgehalt</b>	[µg/100 g TM]			5,4-110,9 <sup>16,17,19</sup>
<b>Furfural</b>	[mg/kg TM]	20,7 <sup>2</sup>		
<b>HMF</b>	[mg/kg TM]	220,0-254,2 <sup>2,4</sup>		

<sup>1</sup>(SUDHA *et al.*, 2007); <sup>2</sup>(AGUEDO *et al.*, 2012); <sup>3</sup>(CHEN *et al.*, 1988); <sup>4</sup>(SCHIEBER *et al.*, 2001a); <sup>5</sup>(WANG *et al.*, 2019); <sup>6</sup>(QUEJI *et al.*, 2010); <sup>7</sup>(KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007); <sup>8</sup>(MAYER, 1997); <sup>9</sup>(KAACK & PEDERSEN, 2005); <sup>10</sup>(SAITO *et al.*, 2006); <sup>11</sup>(PANASEVICH *et al.*, 2013); <sup>12</sup>(KAACK *et al.*, 2006); <sup>13</sup>(CHAU *et al.*, 2004); <sup>14</sup>(TURKSOY & ÖZKAYA, 2011); <sup>15</sup>(AHMAD *et al.*, 2016); <sup>16</sup>(BELLUR NAGARAJAIAH & PRAKASH, 2015); <sup>17</sup>(ROVAI *et al.*, 2021); <sup>18</sup>(HWANG *et al.*, 1998b); <sup>19</sup>(HERNÁNDEZ-ORTEGA *et al.*, 2013); <sup>20</sup>(KIRBAS *et al.*, 2019); <sup>21</sup>(POLLINI *et al.*, 2022)

Polyphenole sind typische Sekundärmetaboliten in Äpfeln sowie Kartoffeln, während in Karotten hohe Gehalt an Carotinoiden enthalten sind (O'SHEA *et al.*, 2012). Den mengenmäßig bedeutendsten Inhaltsstoffen wird daher auch ein gesteigertes Interesse zuteil, da diese sich positiv auf die menschliche Ernährung auswirken können. Die ernährungsphysiologische Bedeutung dieser Inhaltsstoffe wird in Abschnitt 1.4 genauer beschrieben. Pflanzliche Lebensmittel können für die menschliche Ernährung jedoch auch unerwünschte Inhaltsstoffe enthalten, da diese in gewissen Konzentrationen toxisch sein können. Ein Beispiel hierfür sind Glykoalkaloide aus Kartoffeln (KNUTHSEN *et al.*, 2009).

Die Definition von Ballaststoffen, deren Strukturen sowie die Strukturen der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe werden in den nachfolgenden Abschnitten genauer beschrieben.

### 1.2.1 BALLASTSTOFFE

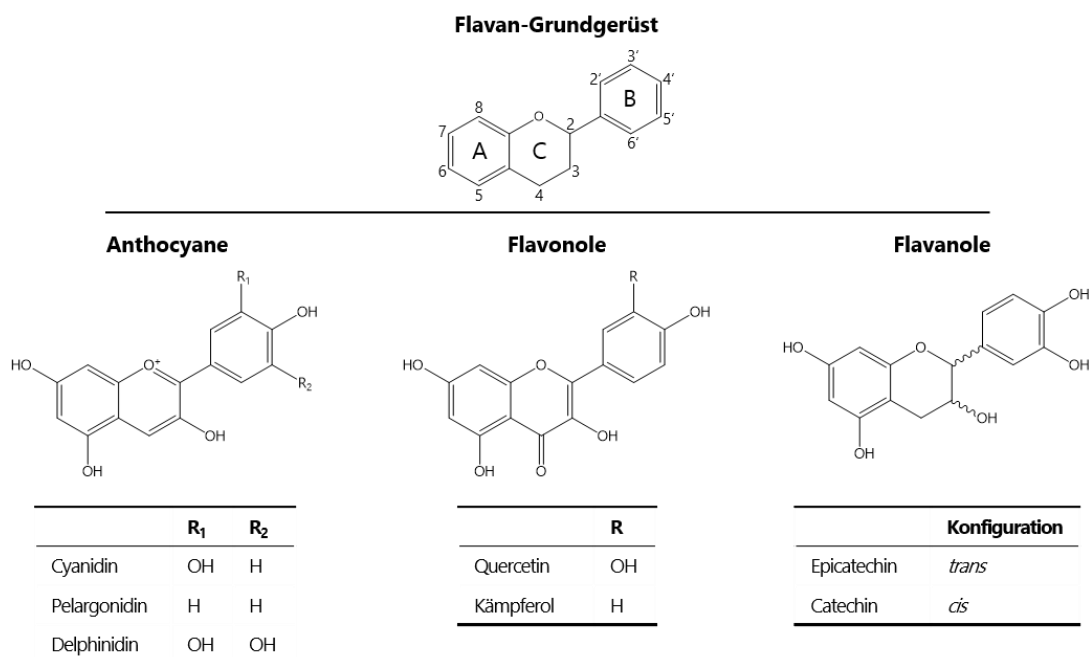
Die Gruppe der Ballaststoffe umfasst eine heterogene Gruppe von Zellwandbestandteilen, welche die Hauptballaststoffquelle der menschlichen Ernährung darstellen. Die Zusammensetzung dieser Komponenten variiert u.a. abhängig von ihrem pflanzlichen Ursprung. Der Aufbau der pflanzlichen Zellwand und die Zusammensetzung werden ausführlich in Abschnitt 1.3 beschrieben. Die für Lebensmittel gültige Definition von Ballaststoffen ist in der Europäischen Union in der Lebensmittelinformationsverordnung (VO (EU) 1169/2011) geregelt. Gemäß Artikel 2 Absatz 4 in Verbindung mit Anhang I Nummer 12 VO (EU) 1169/2011 sind Ballaststoffe Kohlenhydratpolymere mit drei oder mehr Monomereinheiten, die im Dünndarm des Menschen weder verdaut noch absorbiert werden. Weiter müssen sie zu folgenden Klassen zählen: „essbare Kohlenhydratpolymere, die in Lebensmitteln, wenn diese verzehrt werden, auf natürliche Weise vorkommen; essbare Kohlenhydratpolymere, die auf physikalische, enzymatische oder chemische Weise aus Lebensmittelrohstoffen gewonnen werden und laut allgemein anerkannten wissenschaftlichen Nachweisen eine positive physiologische Wirkung besitzen; essbare synthetische Kohlenhydratpolymere, die laut allgemein anerkannten wissenschaftlichen Nachweisen eine positive physiologische Wirkung besitzen“. Assoziierte Pflanzensubstanzen wie Proanthocyanidine oder Lignin sind in dieser Begriffsbestimmung nicht eingeschlossen. Diese werden im Codex Alimentarius von 2009, an welcher sich die Definition der Europäischen Union orientierte, mit aufgeführt und wurden bereits 2001 von der *Cereals & Grains Association* (früher *American Association of Cereal Chemists*) in ihrer Definition von Ballaststoffen integriert (DEVRIES *et al.*, 2001; Codex Alimentarius, 2015). Weiter wurden in die Definition der *Cereals & Grains Association* die ernährungsphysiologisch positiven Eigenschaften, wie beispielsweise die Senkung

des Cholesterinspiegels, aufgenommen. Diese integrierte in ihre Definition auch bestimmte Eigenschaften der Ballaststoffe wie die Fermentation im Kolon, welche abhängig von der Zusammensetzung der Zellwandpolysaccharide ist (siehe 1.4.1) (DEVRIES *et al.*, 2001).

Neben den Eigenschaften der Ballaststoffe lassen sich diese auch nach ihrer Wasserlöslichkeit in unlösliche Ballaststoffe (UBS), lösliche Ballaststoffe (LBS) und niedermolekulare lösliche Ballaststoffe (NLBS) einteilen. Cellulose beispielsweise gehört zu den UBS, während Pektine teilweise in den UBS oder LBS vorhanden sein können. In den NLBS können verschiedene oligomere Strukturen enthalten sein.

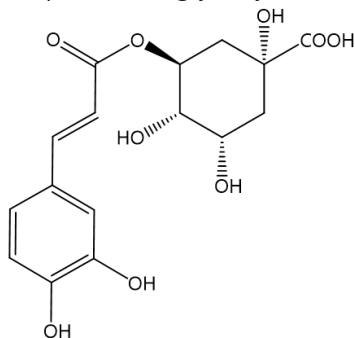
## 1.2.2 POLYPHENOLE

Polyphenolische Verbindungen sind üblicherweise pflanzliche Sekundärmetaboliten, die ausschließlich aus dem Shikimat-Phenylpropanoid und/oder dem Polyketid-Syntheseweg abgeleitet sind, mehr als einen phenolischen Ring enthalten und keine stickstoffbasierten funktionellen Gruppen in ihrer Grundstruktur tragen (QUIDEAU *et al.*, 2011). Im Apfeltrester finden sich Anthocyane aus der Schale des Apfels sowie Flavonole und Flavanole wieder (SCHIEBER *et al.*, 2001a; SADILOVA *et al.*, 2006; KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012). Die Grundstruktur dieser Polyphenole ist das Flavan-Grundgerüst, welches in Abbildung 1 oben dargestellt ist. Beispielhafte Strukturen von Anthocyanen, Flavonolen und Flavanolen können ebenfalls Abbildung 1 entnommen werden.



**Abbildung 1: Strukturen ausgewählter Polyphenole mit dem Flavan-Grundgerüst (oben) und einigen Anthocyanen, Flavonolen sowie Flavanolen (unten)**

Flavonole liegen im Apfel hauptsächlich glykosyliert vor und so kann Quercetin beispielsweise mit Galactose und Glucose, an Position C3 des C-Rings verknüpft vorliegen. Catechin und Epicatechin sind die Hauptvertreter der Flavonole, welche sich u.a. zu Oligo- bzw. Polymerstrukturen vereinigen können und die Gruppe der Proanthocyanidine bilden, worauf in Abschnitt 1.3.3 näher eingegangen wird (SCHIEBER *et al.*, 2001a; SADILOVA *et al.*, 2006; KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012). Des Weiteren können Flavonoide wie Phloretin oder die entsprechend glykosylierte Form das Phlorizin sowie Chlorogensäuren im Apfel enthalten sein.



**Abbildung 2: Struktur der 5-O-Caffeoyl-Chinasäure**

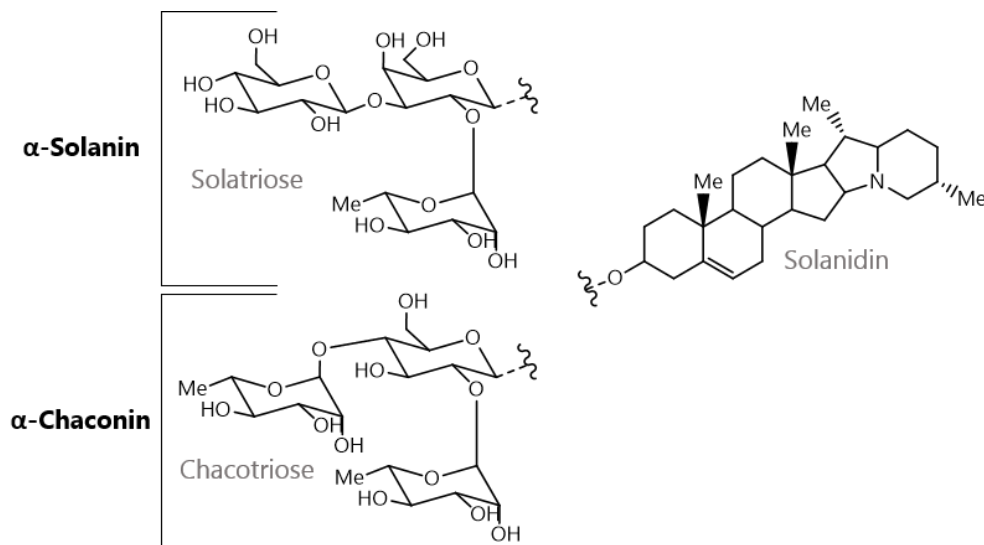
Hier ist besonders die 5-O-Caffeoyl-Chinasäure (Abbildung 2) als Vertreter zu erwähnen (SCHIEBER *et al.*, 2001b; AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012). Diese ist auch in Kartoffeln vertreten. Chlorogensäuren umfassen eine Gruppe von Estern der Hydroxyzimtsäuren wie Kaffeesäure, *p*-Cumarsäure oder Ferulasäure (LACHMAN & HAMOUZ, 2005). In großen Anteilen ist diese in der Schale der Kartoffel (37,1-168,8 mg/100 g

Trockenmasse (TM)) und in etwas geringeren Anteilen in der Knolle (6,8-43,6 mg/100 g TM) enthalten (WEIDEL *et al.*, 2014). Da Kartoffelpülpe hohe Anteile an Schalenbestandteilen enthält, ist ein hoher Chlorogensäureanteil wahrscheinlich.

### 1.2.3 GLYKOALKALOIDE

In der Kartoffelpflanze bzw. auch in der Kartoffelknolle können sekundäre Metaboliten wie Glykoalkaloide enthalten sein. Diese werden von der Pflanze aufgrund ihrer insektiziden, fungiziden und bakteriziden Wirkung zum Schutz vor dem Eindringen von Mikroorganismen oder Fraßfeinden, wie beispielsweise dem Kartoffelkäfer, gebildet (RODDICK *et al.*, 1990; MATSUDA *et al.*, 2004). In der Kartoffelknolle sind höhere Gehalte an Glykoalkaloiden in der Schale, direkt unterhalb der Schale oder an beschädigten Stellen enthalten (FRIEDMAN & DAO, 1992; KNUTHSEN *et al.*, 2009). Bislang konnten mehr als 80 verschiedene Glykoalkaloide in unterschiedlichen Kartoffelsorten identifiziert werden, wobei  $\alpha$ -Chaconin und  $\alpha$ -Solanin zusammen ca. 95 % die bedeutendsten Glykoalkaloide in der Kartoffel darstellen (MARIOT *et al.*, 2016). Glykoalkaloide weisen als Grundstruktur ein Steroidgerüst, das Aglykon, auf, welches mit einem Oligosaccharid, das aus meist drei oder vier Monomereinheiten aufgebaut ist, substituiert vorliegt. Bei  $\alpha$ -Chaconin und  $\alpha$ -Solanin ist das Aglykon jeweils Solanidin, welches bei  $\alpha$ -Chaconin mit Chacotriose, einem Trisaccharid aus zwei L-Rhamnose-Einheiten und D-Glucose, verknüpft ist und bei  $\alpha$ -Solanin mit

Solatriose, einem Trisaccharid aus L-Rhamnose, D-Glucose und D-Galactose (RODDICK *et al.*, 1990). Die Strukturen sind jeweils in Abbildung 3 dargestellt.

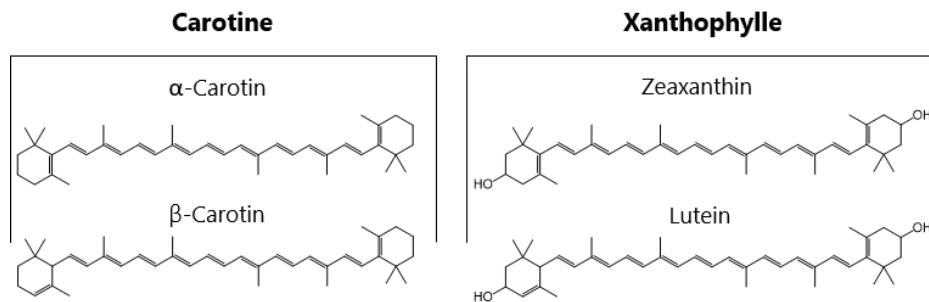


**Abbildung 3: Strukturen bedeutender Glykoalkaloide in der Kartoffel:  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin**

Beim Verzehr durch den Menschen können Glykoalkaloide in höheren Konzentrationen Vergiftungen hervorrufen, weshalb das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in einer Stellungnahme eine Maximalkonzentration von 100 mg Glykoalkaloide/kg Frischgewicht in Speisekartoffeln empfiehlt. Dadurch soll sichergestellt werden, dass die höchste Dosis, bei der keine unerwünschten gesundheitlichen Wirkungen beobachtet werden, das *No Observed Adverse Effect Level*, von 0,5 mg/kg Körpergewicht eingehalten wird (BfR, 2018).

## 1.2.4 CAROTINOIDE

Carotinoide sind pflanzenbasierte fettlösliche Substanzen, die eine gelbe bis rötliche Färbung verursachen und häufig in Lebensmitteln als Farbstoffe eingesetzt werden. Neben den Einzelsubstanzen werden auch Lebensmittel mit einem hohen Carotinoidgehalt als färbende Lebensmittel eingesetzt. In pflanzlichen Lebensmitteln sind Carotinoide nicht nur in gelb bis rot gefärbtem Obst und Gemüse vorhanden, sondern auch in grünem Blattgemüse. Hier wird die Farbe von dem vorhandenen Chlorophyll überdeckt. Neben den färbenden Eigenschaften weisen einige Carotinoide auch eine Provitamin A-Aktivität auf, sind an der Photosynthese beteiligt und weisen bedingt durch ihre chemische Struktur antioxidative Eigenschaften auf. Bislang wurden über 600 Carotinoide beschrieben, wovon bei 50 eine Provitamin A-Aktivität nachgewiesen werden konnte. Von diesen Provitamin A aktiven Carotinoiden finden sich 40 in der menschlichen Ernährung wieder, jedoch lediglich 14 im menschlichen Körper (BRITTON, 1995; KIOKIAS *et al.*, 2016).



**Abbildung 4: Strukturen relevanter Carotinoide mit den Carotinen  $\alpha$ -Carotin &  $\beta$ -Carotin sowie den Xanthophyllen Zeaxanthin & Lutein**

Das Grundgerüst der Carotinoide besteht üblicherweise aus 40 Kohlenstoffatomen mit einer Tetraterpen-Grundstruktur. Sie lassen sich in zwei Gruppen (Abbildung 4) einteilen. Zum einen in Carotine, welche ausschließlich aus Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen aufgebaut sind und zu deren wichtigsten Vertretern  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin zählen. Die zweite Gruppe stellen die Xanthophylle dar, die Sauerstoff und polare Endgruppen enthalten. Hauptvertreter dieser Gruppe sind Zeaxanthin und Lutein. Karotten sind eine wichtige Quelle für  $\alpha$ -Carotin, wohingegen  $\beta$ -Carotin häufiger in anderem Obst und Gemüse vertreten ist. Es können aufgrund des konjugierten Doppelbindungssystems unterschiedliche *cis* (*Z*)- und *trans* (*E*)-Isomere der Carotinoide auftreten. Jedoch gibt es wegen einer erhöhten sterischen Hinderung in der *cis*-Konfiguration üblicherweise natürlich vorkommende nur die *trans*-Konfigurationen (BRITTON, 1995; KIOKIAS *et al.*, 2016). Durch thermische Behandlung, beispielsweise durch Blanchieren von Karotten oder Pasteurisieren von Karottensaft, kann es zu einer *trans-cis*-Isomerisierung von  $\beta$ -Carotin kommen, sodass vermehrt *cis*-Isomere vorhanden sind (MARX *et al.*, 2003).

### 1.3 DIE PFLANZLICHE ZELLWAND

Die pflanzliche Zellwand umhüllt jede Zelle, verleiht ihr damit Stabilität und schützt sie vor äußeren Einflüssen und dem Austrocknen. Weiter ist sie u.a. für das Wachstum sowie die interzelluläre Kommunikation essentiell und muss dem Turgordruck standhalten. In ihrer Zusammensetzung stellt sie ein hoch komplexes System verschiedener Bestandteile dar, das sich je nach Art der Pflanze, Gewebe, Zelltyp sowie Reifegrad stark unterscheidet. Eine Kombination aus einer Vielzahl von Polysacchariden, Proteinen und phenolischen Komponenten macht jede pflanzliche Zellwand einzigartig (CARPITA & GIBEAUT, 1993; MCDOUGALL *et al.*, 1996; CAFFALL & MOHNEN, 2009; ZHANG *et al.*, 2021).

Die pflanzliche Zellwand setzt sich im Allgemeinen aus einer Mittellamelle, der Primärzellwand sowie der Sekundärzellwand zusammen (MCDOUGALL *et al.*, 1996). Die Mittellamelle befindet sich

im Interzellularraum und spielt eine wichtige Rolle in der Zell-Zell-Adhäsion. Auf struktureller Ebene ist sie hauptsächlich aus Pektinen aufgebaut (COSGROVE, 2005). Die Primärzellwand wird der Mittellamelle während des Zellwachstums aufgelagert und enthält ein Netzwerk aus Cellulosemikrofibrillen, Pektinen, Hemicellulosen sowie Proteinen. Die Zusammensetzung dieses Netzwerks variiert u.a. zwischen verschiedenen Pflanzen, wodurch zwischen Primärzellwänden des Typ I sowie des Typ II unterschieden wird. Typ I Primärzellwände sind im Allgemeinen bei dikotylen und einigen monokotylen (nicht-commeliniden) Pflanzen vorzufinden. Neben Cellulose sind hohe Anteile an Pektinen sowie Xyloglucanen und Xylanen als Vertreter der Hemicellulosen charakteristisch, wobei Pektine und Xyloglucane mengenmäßig überwiegen. Im Gegensatz dazu sind Typ II Primärzellwände typisch für commelinide Monokotyledonen. Hier überwiegen (Glucurono)Arabinoxylane, während Pektine lediglich in geringen Anteilen vorhanden sind. Nach Beendigung des Zellwachstums wird die Sekundärwand der Primärzellwand aufgelagert. Neben Cellulose sind Lignine vorhanden, welche die Zellwand zusätzlich verfestigen, sowie in manchen Zelltypen Suberine. Suberine kommen u.a. im Periderm der Schale von Kartoffelknollen vor und schützen Zellwandpolysaccharide vor Abbaureaktionen und führen zu einer Erhöhung der Hydrophobizität der Zellwand (HARRIS & SMITH, 2006).

Das Vorkommen einer Sekundärwand ist nicht für alle Zelltypen gegeben, da dieses vom Gewebetyp abhängig ist. So enthalten die meisten als Lebensmittel verzehrten Obst- und Gemüsesorten hauptsächlich parenchymatisches Gewebe, das aus Primärzellwänden besteht (MCDUGALL *et al.*, 1996). Beispiele für Zelltypen mit größeren Mengen an Sekundärwänden sind die Steinzellen des Fruchtfleisches von Birnen, welche aus sklerenchymatischen Zellen bestehen (HARRIS & SMITH, 2006).

Neben Polysacchariden sind auch Proteine in der Primärwand von dikotylen Pflanzen von Bedeutung. Zusammen mit den anderen Zellwandkomponenten bilden sie ein komplexes Netzwerk, welches genauer in Abschnitt 1.3.2 beschrieben wird. Proteine nehmen eine wichtige Rolle bei der Zellwandstabilität ein. Strukturell können hierbei hydroxyprolinreiche Glycoproteine (Extensin), glycinreiche Proteine und prolinreiche Proteine unterschieden werden (FRY, 1986).

### 1.3.1 ZELLWANDPOLYSACCHARIDE

Die Polysaccharide der pflanzlichen Zellwand sind hauptsächlich aus zehn verschiedenen Monosacchariden aufgebaut, die jeweils in Pyranose- oder Furanose-Form, in ihrer  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Konfiguration und als unterschiedliche Enantiomere (D oder L) vorliegen können. Des Weiteren können sie über eine Vielzahl von glykosidischen Bindungen miteinander verknüpft sein



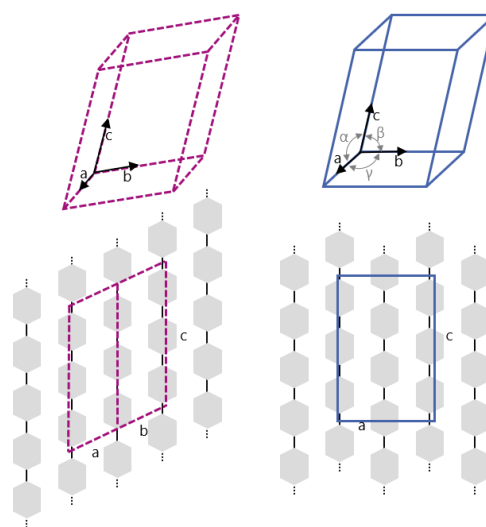
(MCDUGALL *et al.*, 1996). Diese Variabilität eröffnet eine Vielfalt von verschiedenen Strukturen und Interaktionen zwischen den Polymeren der pflanzlichen Zellwand.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden obst- und gemüsebasierte Nebenströme verwendet, deren Ursprung ausschließlich dikotyle Pflanzen waren. Hier sind Primärzellwände des Typ I und deren Polymere dominant, während Sekundärzellwände quantitativ nur eine untergeordnete Rolle spielen. Aus diesem Grund werden lediglich die Strukturen der Zellwandpolysaccharide der Primärzellwand des Typ I näher betrachtet.

### 1.3.1.1 CELLULOSE

Cellulose ist ein lineares, unverzweigtes Polymer, welches sich aus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Glucopyranoseeinheiten zusammensetzt (Abbildung 6A). Die kleinste Wiederholeinheit ist das Disaccharid Cellobiose. Jede zweite D-Glucopyranoseeinheit ist um 180° gedreht. Die Orientierung der Hydroxymethylgruppen am C5-Atom ist entscheidend für die Ausbildung von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Intramolekulare Bindungen sind zwischen den Ringsauerstoffatomen und den Hydroxygruppen benachbarter C3-Atome sowie zwischen den Hydroxygruppen der C6- und C2-Atome möglich. Sie verstärken die lineare Konfiguration der Celluloseketten und erhöhen dadurch deren Festigkeit. Intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Hydroxygruppen der C6- und C3-Atome benachbarter Moleküle führen zum Fixieren benachbarter Stränge unter Ausbildung fibrillärer Strukturen. Etwa 36 Celluloseketten lagern sich rosettenförmig zu einer Elementarfibrille zusammen, die wiederum zu Mikrofibrillen und diese weiter zu Makrofibrillen aggregieren, was schließlich zur Bildung von Cellulosefasern führt. Diskutiert werden verschiedene Modelle zur Anordnung der Cellulosemoleküle innerhalb einer Elementarzelle. Zum einen gibt es das Fransen-Fibrillen-Modell, bei dem Celluloseketten einen kristallinen Bereich formen, der in amorphe und parakristalline Bereiche eingebettet ist. Unter amorphen Bereichen werden weniger geordnete Abschnitte innerhalb der Celluloseketten verstanden, während „kristallin“ hochgeordnete Strukturen beschreibt. Weiterhin werden Strukturen vermutet, bei denen sich amorphe Bereiche periodisch anordnen (O'SULLIVAN, 1997). Neueste Modelle gehen von separaten amorphen und kristallinen Bereichen aus. Die äußere Schicht der Elementarfibrille ist amorph und grenzt nach innen an parakristalline Bereiche an, die sich nach innen wiederum vom kristallinen Kern abgrenzen (DING & HIMMEL, 2006). Damit einhergehend kann Cellulose in verschiedenen polymorphen Formen vorliegen. Native kristalline Cellulose wird als Cellulose I bezeichnet. Durch

Merzerisierung, der Behandlung mit Natronlauge, bildet sich Cellulose II. Im Gegensatz dazu kann Cellulose III aus Cellulose I oder Cellulose II durch Behandlung mit flüssigem Ammoniak entstehen und wiederum nach Hitzebehandlung Cellulose IV ausbilden. Cellulose I kann in zwei kristalline Phasen, Cellulose I<sub>α</sub> und Cellulose I<sub>β</sub>, unterteilt werden, wobei Cellulose I<sub>β</sub> die dominierende Kristallstruktur in pflanzlichen Zellwänden darstellt. Cellulose I<sub>α</sub> ist durch ein einkettiges triklines Kristallsystem gekennzeichnet, während Cellulose I<sub>β</sub> monoklin kristallisiert. Die Elementarzelle setzt sich aus zwei Ketten mit einem monoklinen System zusammen. Die relativen Orientierungen beider Formen, als Elementarzellen dargestellt, sind in Abbildung 5 zu sehen (VANDER HART & ATALLA, 1984; O'SULLIVAN, 1997).



**Abbildung 5: Relative Orientierung der einkettigen triklinen (gepunktete lila Linie,  $a \neq b \neq c$ ,  $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$ ), zur zweikettigen monoklinen (blaue Linie,  $a \neq b \neq c$ ,  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma \neq 90^\circ$ ) Elementarzelle, sowie die Verschiebungen der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Celluloseketten (schematisch als graue Hexagone dargestellt; modifiziert nach MOON *et al.*, 2011)**

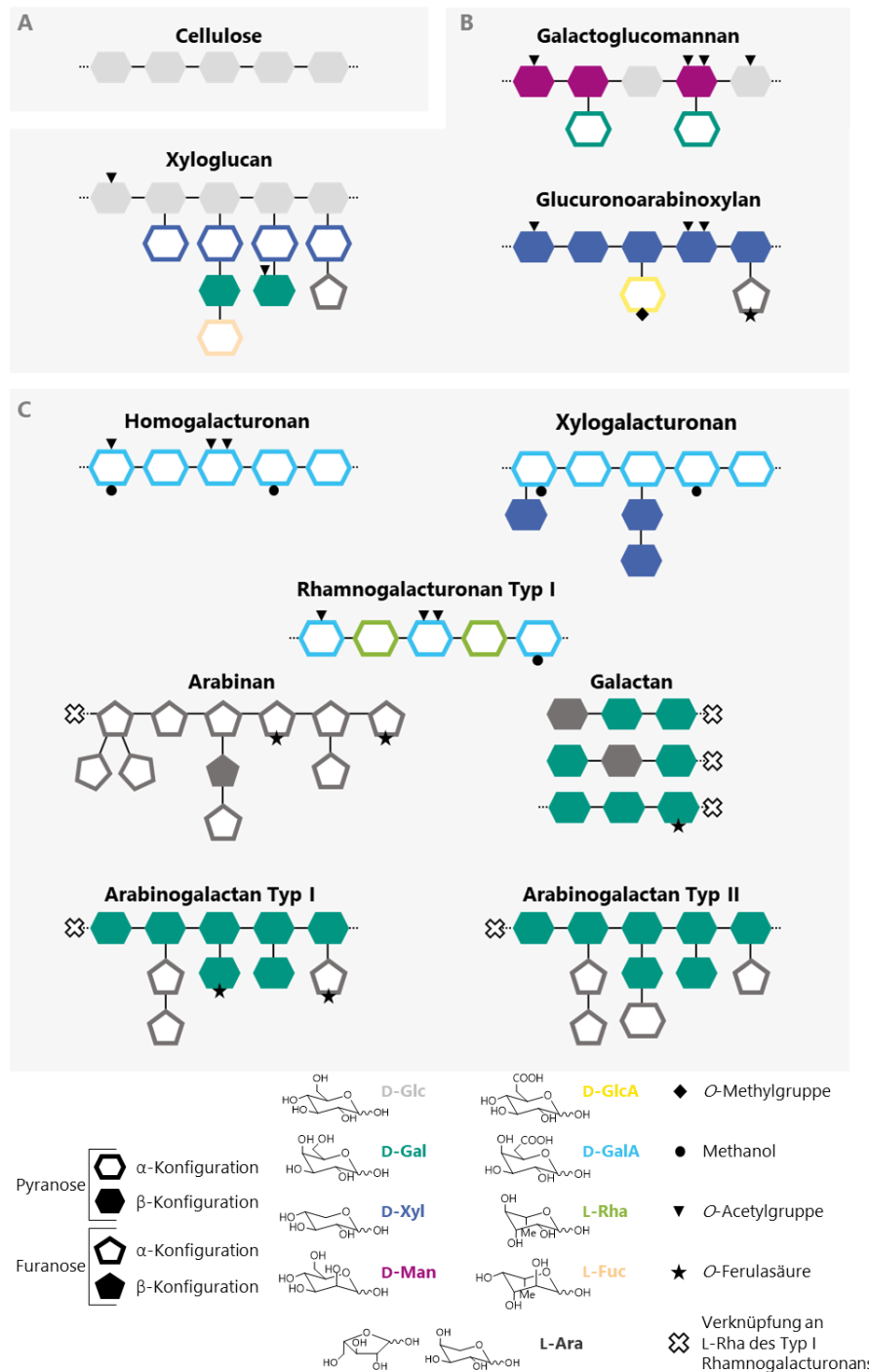
Cellulose verleiht aufgrund ihrer linearen Struktur der Zellwand Festigkeit. Die Verteilung und Ausrichtung der Mikrofibrillen tragen zur Steuerung beim Zellwachstum bei. So ist durch ihre Ausrichtung ein anisotropes Wachstum möglich, das eine Ausdehnung in eine bevorzugte Richtung ermöglicht (RONGPIPI *et al.*, 2019). Die unterschiedliche Anordnung der Celluloseketten ist vor allem in der Primär- und Sekundärwand von pflanzlichen Zellen erkennbar. In der Primärwand finden sich anteilig mehr amorphe Bereiche wieder und die Ausrichtung erfolgt in alle Richtungen der Zellebene. In der Sekundärwand sind die Moleküle in Richtung der Faserachse orientiert und insgesamt dichter gruppiert (O'SULLIVAN, 1997).

### 1.3.1.2 HEMICELLULOSEN

Die Hauptfunktion der Hemicellulosen ist es, zusammen mit den Cellulosemikrofibrillen die Primärzellwand zu stärken (SCHELLER & ULVSKOV, 2010). Ihre schematischen Strukturen sind in Abbildung 6B dargestellt.

Xyloglucane sind die am häufigsten vorkommenden Hemicellulosen in dikotylen Pflanzen. In der Primärzellwand sind sie oft mit Anteilen von bis zu 20-25 % vertreten. Das Rückgrat setzt sich aus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Glucopyranoseeinheiten zusammen, welche an Position O-6 mit  $\alpha$ -D-Xylopyranosen substituiert vorliegen kann (SCHELLER & ULVSKOV, 2010). Zur Beschreibung der Strukturen wurde für Xyloglucane eine Nomenklatur etabliert, die ausgehend vom Glucoserückgrat Hinweise auf das Substitutionsmuster liefert. So werden unsubstituierte  $\beta$ -D-Glucopyranoseeinheiten als G abgekürzt. Bei Substitution des Rückgrats mit  $\alpha$ -D-Xylopyranose wird dieser Abschnitt des Rückgrats als X bezeichnet. (FRY *et al.*, 1993; TUOMIVAARA *et al.*, 2015). Ein typisches Strukturelement ist eine Abfolge von drei  $\beta$ -D-Glucopyranoseeinheiten, die jeweils mit  $\alpha$ -D-Xylopyranose substituiert vorliegen (XXXG) (VINCKEN *et al.*, 1997). Eine zusätzliche Komplexität ergibt sich durch Substitution der Seitenketten an Position O-2 mit  $\beta$ -D-Galactopyranose- oder  $\alpha$ -L-Arabinofuranoseeinheiten, wobei die  $\beta$ -D-Galactopyranoseeinheit zusätzlich mit  $\alpha$ -L-Fucopyranose verknüpft vorliegen kann (SCHELLER & ULVSKOV, 2010). Neben glykosidisch verknüpften Seitenketten sind u.a. auch O-Acetylierungen an den Galactose- oder Glucoseeinheiten möglich (VINCKEN *et al.*, 1997). Darüber hinaus sind noch eine Vielzahl weiterer Verknüpfungen möglich (ZHANG *et al.*, 2021). Das Ausmaß der Substitutionen variiert abhängig von der Pflanze und beeinflusst vor allem die Löslichkeit und damit die funktionellen Eigenschaften der Xyloglucane. In der Zellwand haben Oligomere eine wichtige Rolle als Signalmoleküle (SCHELLER & ULVSKOV, 2010).

Im Vergleich dazu stellen Xylane in der primären Zellwand von dikotylen Pflanzen Minorkomponenten dar und können als Glucuronoarabinoxylane vorkommen, wohingegen sie als Glucuronoxyllane in der Sekundärzellwand in großen Mengen vorhanden sein können. Das Rückgrat setzt sich aus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Xylopyranoseeinheiten zusammen. Die Xyloseeinheiten können in Position O-2 oder O-3 mit  $\alpha$ -L-Arabinofuranose,  $\alpha$ -D-Glucopyranuronsäure (oder dem entsprechenden 4-O-Methylderivat) oder Acetylgruppen substituiert vorliegen. Weiter können die Arabinoseeinheiten mit Hydroxyzimtsäuren wie Ferulasäure verestert sein (SCHELLER & ULVSKOV, 2010).



**Abbildung 6: Schematische Darstellung der Strukturen von Zellwandpolysacchariden** (A: Cellulose, B: Hemicellulosen, C: Pektin ohne Rhamnogalacturonan Typ II). Glc: Glucose, GlcA: Glucuronsäure, Gal: Galactose, GalA: Galacturonsäure, Xyl: Xylose, Rha: Rhamnose, Man: Mannose, Fuc: Fucose, Ara: Arabinose

Mannane sind in der Primär- und Sekundärzellwand von dikotylen Pflanzen ebenfalls nur in geringen Mengen vorkommend. Sie bestehen aus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Mannopyranoseeinheiten. Zusätzlich können Galactomannane an Position O-6 der Mannoseeinheit mit einer  $\alpha$ -D-Galactopyranoseeinheit substituiert vorliegen. Glucomannane dagegen sind aus unregelmäßig  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-verknüpften D-Mannopyranosen und

D-Glucopyranosen aufgebaut, die an Position O-6 mit einer  $\alpha$ -D-Galactopyranoseeinheit verknüpft vorliegen können. Häufig können Mannane und Glucomannane auch acetyliert vorkommen (SCHELLER & ULVSKOV, 2010; ZHANG *et al.*, 2021).

### 1.3.1.3 PEKTIN

Pektine sind in der pflanzlichen Zellwand in der Mittellamelle und der Primärwand sowie in frühen Stadien des Zellwachstums in der Sekundärwand lokalisiert. Aufgrund ihres Ladungszustandes, bedingt durch vorhandene Uronsäuren, sind Pektine ein wichtiger Faktor bei der Regulierung des Ionentransportes und der Porosität der Zellwand, wodurch die Permeabilität der Zellwände kontrolliert und die Wasserhaltekapazität bestimmt wird (VORAGEN *et al.*, 2009). Außerdem sind Pektine wichtig für die Signalweiterleitung und die Zell-Zell-Adhäsion (COSGROVE, 2005).

Pektine setzen sich hauptsächlich aus Homogalacturonan und Rhamnogalacturonan Typ I zusammen. Weitere Strukturen, die den Pektinen zugeordnet werden, sind das Rhamnogalacturonan Typ II und Xylogalacturonan. Innerhalb der Strukturen gibt es eine große Diversität zwischen Pflanzen verschiedenen Ursprungs. Mögliche Strukturen sind schematisch in Abbildung 6C gezeigt (ohne Rhamnogalacturonan Typ II).

Das Homogalacturonanrückgrat ist ausschließlich aus  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Galactopyranuronsäureeinheiten aufgebaut, welche auch methylverestert und/oder acetyliert vorliegen können. Eine Methylveresterung liegt an der Carboxygruppe vor. Der Grad der Methylveresterung und die Verteilung der Methylester variieren abhängig von der Pflanze sowie dem Pflanzengewebe und dem Reifegrad. Unveresterte Carboxygruppen der Galacturonsäure können über  $\text{Ca}^{2+}$  mit weiteren Pektinmolekülen vernetzt sein. Dies führt zu einer Erhöhung der Viskosität. Acetylierungen sind an Position O-2 und O-3 der Galacturonsäure möglich (CAFFALL & MOHNEN, 2009; VORAGEN *et al.*, 2009). Eine Acetylierung der Galacturonsäure in Homogalacturonanen aus Karotten wurde erstmalig von BROXTERMAN und Kollegen nachgewiesen (BROXTERMAN *et al.*, 2017).

Galacturonanstrukturen können auch weiter substituiert vorliegen. Xylogalacturonan ist analog zu Homogalacturonan aus  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidisch verknüpften D-Galactopyranuronsäureeinheiten aufgebaut, welche an Position O-3 mit einer D-Xylopyranoseeinheit oder über Position O-2 mit einem Xylosedimer verzweigt sein können. Auch hier kann das Rückgrat der polymergebundenen Galacturonsäure mit Methylgruppen verestert sein. Identifiziert wurden diese Strukturen u.a. in Pektinen aus Wassermelonen oder aus Äpfeln (SCHOLS *et al.*, 1995; CAFFALL & MOHNEN, 2009;

VORAGEN *et al.*, 2009). Verzweigungen können an Position *O*-2 und *O*-3 der  $\alpha$ -(1→4)-glykosidisch verknüpften D-Galactopyranuronsäureeinheiten auch mit sehr komplexen Seitenketten auftreten. Hierbei handelt es sich um das hochkonservierte Rhamnogalacturonan Typ II. Spezifisch für Rhamnogalacturonan Typ II sind beispielsweise seltene Monosaccharide wie L-Fucose oder D-Apiose (CAFFALL & MOHNEN, 2009).

Das Rhamnogalacturonan Typ I Rückgrat besteht aus alternierenden  $\alpha$ -(1→4)-glykosidisch verknüpften D-Galactopyranuronsäureeinheiten und  $\alpha$ -(1→2)-verknüpften L-Rhamnopyranoseeinheiten. Die Carboxygruppen der Galacturonsäuren sind, mit Ausnahme von Pektinen aus Flachssamen, üblicherweise nicht methylverestert. Acetylierungen in Position *O*-2 und/oder *O*-3 treten hingegen häufiger auf (VORAGEN *et al.*, 2009). Rhamnopyranoseeinheiten können in Position *O*-4 substituiert sein. Es gibt eine große Variation im Substitutionsgrad, der Länge und der Zusammensetzung der Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans. Es handelt sich dabei um neutrale Seitenketten bestehend aus L-Arabinofuranose-, L-Arabinopyranose- sowie D-Galactopyranoseeinheiten. Es können einzelne Monomere oder lange oligomere Ketten verknüpft sein (CAFFALL & MOHNEN, 2009; VORAGEN *et al.*, 2009).

Das Rückgrat der Arabinane besteht aus  $\alpha$ -(1→5)-verknüpften L-Arabinofuranoseeinheiten, welche in Position *O*-2 und/oder *O*-3 substituiert sein können (CAFFALL & MOHNEN, 2009; VORAGEN *et al.*, 2009). Die Seitenketten der Arabinane können noch weiter verknüpft vorliegen, beispielsweise mit einem  $\beta$ -(1→3)-verknüpften Arabinofuranosedimer (WEFERS & BUNZEL, 2016a). Die teilweise komplexen Strukturen der Arabinane in Bezug auf den Verzweigungsgrad sind sehr variabel zwischen verschiedenen Pflanzen oder innerhalb einer Pflanze und verändern sich abhängig von der Lagerdauer. Diese Variation konnte besonders in arabinanreichen Pflanzenzellwänden von Äpfeln gezeigt werden (WEFERS & BUNZEL, 2016a; WEFERS *et al.*, 2018).

Galactane setzen sich aus  $\beta$ -(1→4)-verknüpften D-Galactopyranoseeinheiten zusammen, welche vereinzelt terminale oder  $\alpha$ -(1→4)-verknüpfte L-Arabinopyranoseeinheiten enthalten können (CAFFALL & MOHNEN, 2009; WEFERS & BUNZEL, 2016a). Kartoffeln beispielsweise enthalten überwiegend Galactane als neutrale Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans (RING & SELVENDRAN, 1978). In Karotten ist das Verhältnis von Arabinanen und Galactanen als Seitenketten in etwa gleich (HOUBEN *et al.*, 2011).

Arabinane und Galactane können zusätzlich über Position *O*-2 oder *O*-5 bzw. *O*-6 mit Ferulasäure verestert vorliegen (SAULNIER & THIBAUT, 1999; LEVIGNE *et al.*, 2004; WEFERS *et al.*, 2015).

Weiter sind auch Verzweigungen des Galactanrückgrates in Position *O*-3 mit  $\alpha$ -L-Arabinofuranosen oder in Position *O*-6 mit  $\beta$ -D-Galactopyranoseeinheiten möglich. Hierbei handelt es sich um Arabinogalactane des Typ I. Arabinogalactane des Typ II weisen ein  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-verknüpftes Rückgrat aus D-Galactopyranoseeinheiten auf, welches in Position *O*-6 u.a. kurze Ketten aus  $\alpha$ -L-Arabinofuranoseeinheiten aufweist. Arabinogalactan Typ II wird häufig in Verbindung mit Pektin gebracht, dieses ist jedoch auch stark mit Arabinogalactan-Proteinen assoziiert (VORAGEN *et al.*, 2009).

### 1.3.2 DAS ZELLWANDNETZWERK

Zum Aufbau der pflanzlichen Zellwand und den Interaktionen der Zellwandkomponenten, vor allem der Zellwandpolysaccharide, gibt es verschiedene Modelle, welche sich im Laufe der Jahre aufgrund neuer Erkenntnisse verändert haben. KEEGSTRA und Mitarbeiter erarbeiteten 1972 ein Modell, in dem die Zellwandpolysaccharide kovalent miteinander verbunden sind. Sie beschreiben, dass das Xyloglucanrückgrat eng an die Oberfläche der Cellulosemikrofibrillen und das reduzierende Ende der Xyloglucanketten an Pektine gebunden ist. Sie vermuten eine Verbindung zwischen Galactanen aus den neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans und Xyloglucanen. Pektine sollen dann weiter über Arabinogalactan-Proteine an Strukturproteine (Extensine) gebunden sein (KEEGSTRA *et al.*, 1973; CARPITA & GIBEAUT, 1993). Andere Modelle gehen von weniger starken Bindungen zwischen den Zellwandbestandteilen aus und postulieren ein Pektin-Netzwerk sowie ein Protein-Netzwerk, welche unabhängig von einem Cellulose-Xyloglucan-Netzwerk existieren. Kleinere Interaktionen zwischen Pektin und dem Cellulose-Xyloglucan-Netzwerk, welche nicht genauer spezifiziert wurden, werden von Carpita und Mitarbeiter zwar beschrieben, aber es wird nicht von kovalenten Bindungen wie bei KEEGSTRA und Kollegen ausgegangen (CARPITA & GIBEAUT, 1993). Xyloglucanen werden weiter eine dominierende Rolle in den Interaktionen mit Cellulose zugeschrieben. Im sogenannten *tethered network* Modell wird dargestellt, dass Xyloglucane auf den Mikrofibrillen lokalisiert und in den Mikrofibrillen interkaliert sind. Xyloglucane sollen dabei mehrere Mikrofibrillen miteinander verbinden und wirken als eine Art „Abstandshalter“ zwischen den Cellulosemikrofibrillen (HAYASHI, 1989; CARPITA & GIBEAUT, 1993; COSGROVE & JARVIS, 2012).

In moderneren Darstellungen werden Cellulosemikrofibrillen eingebettet in eine locker gebundene Polysaccharidmatrix dargestellt und die Betrachtung der starren Bindungen zwischen Xyloglucanen und Cellulose rückt in den Hintergrund. TALBOTT und Mitarbeiter postulieren einen Aufbau aus einer „Schicht“ Xyloglucanen, welche den Mikrofibrillen am nächsten sind, gefolgt von

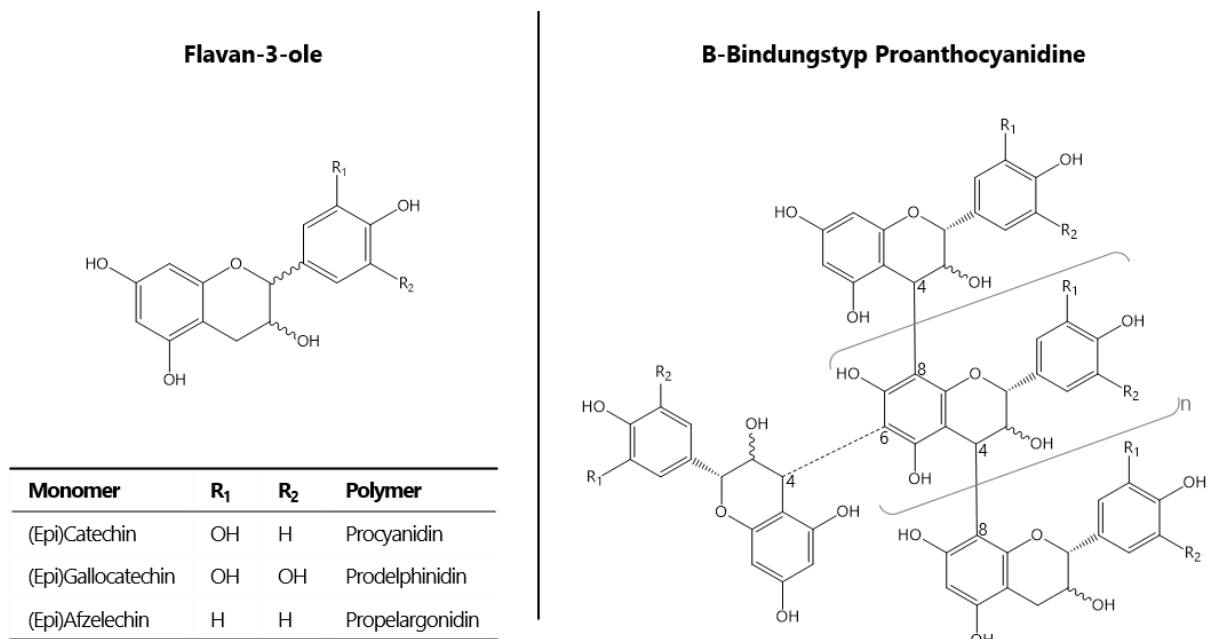
einer Schicht Pektinen oder Arabinogalactan-Proteinen, welche jeweils in getrennten Schichten vorliegen (TALBOTT & RAY, 1992). Weiter beschreiben HA und Kollegen, dass Pektine geschichtet zwischen dem Cellulose-Xyloglucan-Netzwerk vorliegen, vorzustellen als eine Art Sandwich (HA *et al.*, 1997). Die beschriebenen Modelle gehen immer von einer Cellulose-Xyloglucan-Interaktion aus, wobei keine Interaktionen von Cellulose mit Pektinen beschrieben werden. Allerdings deuten immer mehr Studien darauf hin, dass auch Pektine an Cellulose gebunden sein können. So konnten Pérez García und Mitarbeiter mittels Festkörper-Kernspinresonanz (*Nuclear Magnetic Resonance* - NMR) Spektroskopie zeigen, dass Pektine an Cellulosemikrofibrillen gebunden sein können und sie neben Xyloglucanen eine wichtige Rolle im Zellwachstum übernehmen. Die Autoren zeigten in *Arabidopsis thaliana* dreifach *Knockout* Mutanten, dass diese trotz einer gestörten Xyloglucansynthese wachsen konnten. Xyloglucane sind aber dennoch wichtig für die Festigkeit der Zellen (PÉREZ GARCÍA *et al.*, 2011). Weiter wurde *in vitro* gezeigt, dass Rhamnogalacturonan Typ I Regionen an Cellulose adsorbieren können (ZYKWINSKA *et al.*, 2005). Untersuchungen von BROXTERMAN & SCHOLS (2018) deuten genauer auf Interaktionen der neutralen Seitenketten des Rhamnogalacturonan Typ I mit Cellulose hin (BROXTERMAN & SCHOLS, 2018).

### 1.3.3 PROANTHOCYANIDINE ALS CO-POLY-/OLIGOMERE

Bei Proanthocyanidinen, auch als kondensierte Tannine bekannt, handelt es sich um polymere bzw. oligomere sekundäre Pflanzenstoffe aus Flavan-3-olen mit einem Flavan-Grundgerüst (siehe Abbildung 1). Der Name Proanthocyanidin leitet sich aus dem Verhalten während der Säurehydrolyse ab, bei der Anthocyanidine freigesetzt werden (JONKER & YU, 2017). Charakteristisch für Flavan-3-ole ist das Vorkommen zweier Stereozentren an Position C2 bzw. C3, deren *trans*-Isomere ohne Präfix und deren *cis*-Isomere mit dem Präfix (Epi) benannt werden. Beispielsweise ergeben sich dadurch Catechin und Epicatechin als Diastereomere. Eine zusätzliche Vielfalt ergibt sich durch das Hydroxylierungsmuster des A und B-Rings (QUIDEAU *et al.*, 2011; JONKER & YU, 2017). In Abbildung 7 links sind Beispiele für verschiedene Flavan-3-ol- und damit einhergehend Proanthocyanidin-Strukturen abgebildet. So sind u.a. folgende Polymere bekannt: Procyanidine (aus (Epi)Catechin) als homopolymere Ketten, Prodelphinidine (aus (Epi)Gallocatechin) und Propelargonidine (aus (Epi)Afzelechin), welche jeweils mindestens eine (Epi)Gallocatechin- oder (Epi)Afzelechin-Einheit aufweisen müssen. Des Weiteren kann auch an Position C3 eine Veresterung mit Gallussäure auftreten. Die entsprechend galloylierte Form kommt u.a. in großen Mengen in grünem Tee oder Weinbeersamen vor (SCHOFIELD *et al.*, 2001).



Die kovalente Verknüpfung von Monomereinheiten zu Oligomeren erfolgt meistens über eine C-C-Bindung an Position 4→6 bzw. 4→8. Hierbei handelt es sich um sogenannte B-Typ-Proanthocyanidine (Abbildung 7, rechts). Beim Vorliegen einer zusätzlichen Etherbindung zwischen C2 und C7 wird das Polymer als A-Typ bezeichnet (QUIDEAU *et al.*, 2011; JONKER & YU, 2017). Dieser wurde bislang in nur wenigen Pflanzen als Endgruppe des Polymers, z.B. in Cranberrys, nachgewiesen (KOERNER *et al.*, 2009).



**Abbildung 7: Strukturen ausgewählter Flavan-3-ole (links) und deren entsprechende Proanthocyanidinpolymere sowie die polymere Grundstruktur der Proanthocyanidine im Bindungstyp-B (rechts)**

Die unterschiedlichen Strukturen beeinflussen abhängig von ihrem Polymerisationsgrad die jeweiligen Interaktionen mit anderen Molekülen, wie z.B. Proteinen oder Polysacchariden. So können diese Proanthocyanidinstrukturen beispielsweise mit Speichelproteinen im Mundraum durch hydrophobe Wechselwirkungen und unter Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen das bei Rotwein typische adstringierende Mundgefühl auslösen (QUIDEAU *et al.*, 2011; JONKER & YU, 2017). Diese Wechselwirkungen wurden auch für Polysaccharide beschrieben, so dass hier von einer Assoziation zwischen Proanthocyanidinen und der pflanzlichen Zellwand ausgegangen wird (LE BOURVELLEC *et al.*, 2004). Weiter wird vermutet, dass es zwischen Proanthocyanidinen und Zellwandpolysacchariden, vor allem linearen Arabinanen, zu spontanen Reaktionen kommt, sodass sich diese miteinander vernetzen können (RENARD *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2020). Ursache für solche spontanen Reaktionen könnten während der Reifung auftreten, durch Verarbeitung des Lebensmittels, wie beispielsweise bei der Safterstellung durch Pressen, oder während der Verdauung von Lebensmitteln im menschlichen Darm. Hierbei wird bislang von

keinen kovalenten Bindungen ausgegangen, sondern von Wasserstoffbrückenbindungen oder hydrophoben Wechselwirkungen (RENARD *et al.*, 2017).

## 1.4 POTENTIELL ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

### 1.4.1 BALLASTSTOFFE

Ballaststoffen werden potentiell ernährungsphysiologisch positive Eigenschaften zugeschrieben, welche teilweise schon in der Definition des Begriffs „Ballaststoff“ der *Cereals & Grains Association* aufgenommen wurden. In der Europäischen Union sind solche Angaben in der Verordnung über Nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel (VO (EG) 1924/2006) bzw. in der entsprechenden Liste zulässiger gesundheitsbezogener Angaben über Lebensmittel (VO (EU) 432/2012) festgelegt.

Gemäß Artikel 13 Absatz 3 der VO (EG) 1924/2006 zusammen mit Artikel 1 Absatz 1 in Verbindung mit Anhang VO (EU) 432/2012 sind für einige Ballaststoffe bzw. -komponenten auch gesundheitsbezogene Angaben für Lebensmittel zulässig. Mit der gesundheitsbezogenen Aussage, dass ihr Verzehr zur Aufrechterhaltung eines normalen Cholesterinspiegels im Blut beiträgt, dürfen beispielsweise Lebensmittel beworben werden, welche eine tägliche Aufnahme von 6 g Pektinen gewährleisten. Weiter sind in der Verordnung als ernährungsphysiologische Eigenschaften von verschiedenen Ballaststoffen oder ballaststoffreichen Lebensmitteln u.a. beschrieben, dass diese das Stuhlvolumen erhöhen können, den Blutglucosespiegel im Rahmen einer Mahlzeit weniger stark ansteigen lassen oder bei einer kalorienarmen Ernährung zur Gewichtsreduktion beitragen können. Neben den zugelassenen gesundheitsbezogenen Angaben gibt es auch noch weitere anerkannte ernährungsphysiologische Eigenschaften von Ballaststoffen. Hierzu zählen u.a. die Fermentierbarkeit, welche auch die *Cereals & Grains Association* als Eigenschaft von Ballaststoffen in ihre Definition aufnahm (DEVRIES *et al.*, 2001). Zellwandpolysaccharide werden, abhängig von ihrer Zusammensetzung, im Kolon fermentiert. Cellulose beispielsweise wird nur mäßig von der Darmmikrobiota abgebaut, während Pektine deutlich besser metabolisiert werden. Auch der Fermentationsort variiert abhängig von der strukturellen Zusammensetzung. Lösliche Polymere wie Pektine werden im aufsteigenden Dickdarm, *Colon ascendens*, fermentiert, während weniger lösliche Polymere wie (amorphe) Cellulose im absteigenden Teil des Dickdarms, *Colon descendens*, fermentiert werden, wo die Bakteriendichte höher und die Transitzeit länger ist. Die Polysaccharide werden von Enzymen der Mikrobiota depolymerisiert und zu Oligosacchariden abgebaut. Diese werden weiter zu Gasen

(H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) und kurzkettigen Fettsäuren umgesetzt. Insbesondere sind hier Acetat, Propionat und Butyrat von Bedeutung. 90 – 99 % der kurzkettigen Fettsäuren werden entweder resorbiert oder von der Mikrobiota weiterverwendet. Die resorbierten kurzkettigen Fettsäuren beeinflussen u.a. die Glucose-Homöostase sowie den Lipidmetabolismus. Unterschiedliche Substrate, also z.B. unterschiedliche Zellwandpolysaccharide, fördern das Wachstum verschiedener Bakterien der Mikrobiota. Die qualitative und quantitative Zusammensetzung dieser variiert individuell stark. Als Hauptbestandteile finden sich u.a. Bakterien der Gattung *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium* oder *Lactobacillus* in der Mikrobiota wieder (SCHWEIZER & WÜRSCH, 1991; SLAVIN, 2013; HOLSCHER, 2017).

## 1.4.2 ANTIOXIDANTIEN

Einige sekundäre Pflanzenstoffe, wie Polyphenole oder Carotinoide, haben aufgrund ihrer chemischen Struktur eine antioxidative Kapazität. Sie sind in der Lage, reaktive Sauerstoffspezies wie das Superoxid-Anion sowie Singulett-Sauerstoff abzufangen. Reaktive Sauerstoffspezies sind hochreaktive Substanzen, welche die Fähigkeit besitzen, Proteine und Oligonukleinsäuren zu schädigen und somit die menschliche Gesundheit zu beeinträchtigen. Dies können Antioxidantien unterbinden, indem sie durch Abstraktion eines Wasserstoffatoms stabile Phenoxyradikale oder durch einen Ein-Elektron-Transfer entsprechend stabile Radikalkationen bilden. Zum anderen können sie auch als Metallchelatoren agieren und beispielsweise Fe<sup>2+</sup> chelatisieren, welches sonst in der sogenannten Fenton-Reaktion mit Wasserstoffperoxid dieses zu hochreaktiven Hydroxylradikalen umsetzen kann (KIOKIAS & GORDON, 2004; QUIDEAU *et al.*, 2011). Bei Carotinoiden beruht die antioxidative Wirkungsweise u.a. auf der Fähigkeit, Singulett-Sauerstoff zu quenchen. Des Weiteren werden synergistische Effekte mit Tocopherolen und Ascorbinsäure (als Reduktionsmittel) diskutiert (FIEDOR & BURDA, 2014). *In vitro* Studien zeigten, dass Tocopherol-Radikale von  $\beta$ -Carotin und gebildete Carotin-Radikalkationen wiederum von Ascorbinsäure regeneriert werden (BÖHM *et al.*, 1997).

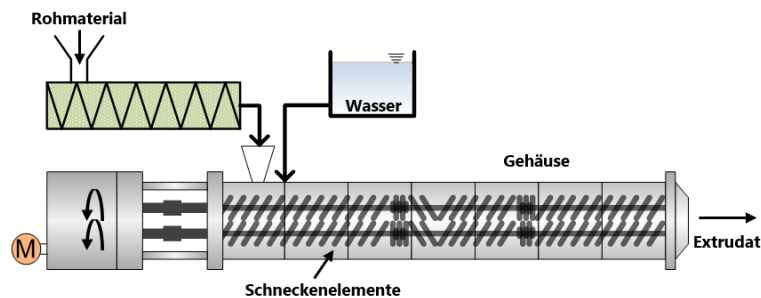
Die Problematik bei der Beschreibung der antioxidativen Kapazität von sekundären Pflanzenstoffen besteht darin, dass diese nur die Aktivität unter den spezifischen Bedingungen des jeweils angewandten Tests widerspiegelt. Eine Verallgemeinerung der antioxidativen Kapazität ist daher grundsätzlich nicht sinnvoll. Verschiedene Tests können nicht die gesamte antioxidative Kapazität abbilden, sondern nur einzelne „Fähigkeiten“ der Substanzen, wie z.B. die Fähigkeit der reduzierenden Kapazität oder der Abgabe von Wasserstoffatomen (HUANG *et al.*, 2005). Des Weiteren ist zu beachten, dass die Effekte meist nur *in vitro* nachgewiesen wurden.

Der entscheidende Faktor ist die Bioverfügbarkeit der verschiedenen Substanzen. Für Polyphenole wurde gezeigt, dass diese nur zu einem geringen Anteil im Dünndarm resorbiert werden. Die Polymere, welche nicht resorbiert wurden, werden von der Mikrobiota zu phenolischen Säuren fermentiert, welche im Darm absorbiert werden können. Es stellt sich schnell ein *steady-state*-Zustand ein, sodass durch eine erhöhte Aufnahme an Polyphenolen die Konzentration der phenolischen Säuren im Blut nicht weiter ansteigt. Weiter werden Polyphenole im Phase II Metabolismus u.a. glucuronidiert, wodurch diese hydrophiler werden. Diskutierte Mechanismen der Wirkungsweise von Polyphenolen im Körper sind u.a., dass diese die Zellmembranen vor Oxidation schützen sollen. Dies wird aber als unwahrscheinlich angesehen, da die Zellmembranen hydrophob sind und die Metaboliten hydrophil sind. Daher wird vermutet, dass die Substanzen als indirekte Antioxidantien wirken und die Zellen durch eine Hochregulierung endogener antioxidativer Enzyme wie der Superoxid-Dismutase schützen oder dass diese, analog zu Carotinoiden, synergistische Effekte haben (STEVENSON & HURST, 2007). Neben der beschriebenen antioxidativen Kapazität können diese Substanzen auch als Prooxidantien wirken. Beispielsweise kann das Carotinradikal bei hohen Sauerstoffkonzentrationen zu einem Peroxyradikal reagieren und so Lipidperoxidationen begünstigen (KIOKIAS & GORDON, 2004).

## 1.5 THERMOMECHANISCHE BEHANDLUNG

Extrusion ist ein kontinuierliches Verfahren, bei dem Materialien thermisch und mechanisch beansprucht werden können und spielt damit eine wichtige Rolle in der Lebensmittelindustrie als Prozessanlage. Beispiele für extrudierte Produkte sind Frühstückscerealien wie Flakes, Ringe oder Kissen in unterschiedlichen Formen. Ursprünglich wurde die Technologie zur Herstellung von thermoplastischen Kunststoffprodukten angewendet. Für den Extruder als Bauteil gibt es verschiedene Ausführungen. So hat sich in den letzten Jahrzehnten der Doppelschneckenextruder gegenüber dem Einschneckenextruder durchgesetzt, da hier Produkte besser kontrolliert werden können und dieser allgemein eine höhere Flexibilität bietet. In Abbildung 8 ist ein Doppelschneckenextruder schematisch dargestellt. Rohmaterialien können über einen Trichter dosiert und das Wasser separat hinzugefügt werden. Im Gehäuse werden die Schnecken über einen Motor betrieben, und so kann das Material durch den Extruder transportiert werden. Die Schnecken können gegen- oder gleichläufig angeordnet sein. Für die Schnecken sind darüber hinaus unterschiedliche Konfigurationen möglich. Es gibt Vorwärts-, Rückwärts- sowie

Knetelemente. Das Gehäuse kann gekühlt oder beheizt ( $>100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) werden. Das Material wird unter hohem Druck komprimiert und am Ausgang des Extruders kommt es zur Expansion, und das Extrudat wird erhalten (GUY, 2001; EMIN & SCHUCHMANN, 2017).



**Abbildung 8: Schematische Darstellung eines Doppelschneckenextruders**, modifiziert nach EMIN & SCHUCHMANN 2017

Als messbare Größen zur Beurteilung der thermomechanischen Belastung gibt es zum einen die Materialtemperatur, welche im letzten Abschnitt des Extruders gemessen wird, sowie den spezifisch mechanischen Energieeintrag (SME). Der SME ist die pro Massenelement durch die Schnecken in die Masse ( $\dot{m}$ ) übertragene Leistung ( $P$ ) und wird durch die in Formel (1) gezeigte Gleichung beschrieben. Die Leistung entspricht dem Produkt aus dem aufzubringenden Drehmoment ( $M$ ) und der Drehgeschwindigkeit ( $n$ ). Um das tatsächliche Drehmoment zu erhalten, das für die Extrusion aufgebracht werden muss, muss das Drehmoment ( $M_d$ ) vom Leerlaufdrehmoment ( $M_{d, \text{Leerlauf}}$ ) abgezogen werden, da die vom Motor aufgenommene Leistung zum Teil für den Antrieb des Extruders im Leerlauf gebraucht wird.  $P_{\text{max}}$  entspricht der maximalen Leistung des Antriebsmotors.

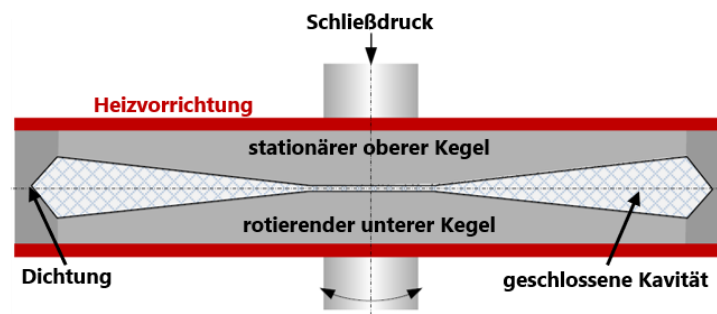
$$\text{SME (Wh/kg)} = \frac{P}{\dot{m}} = \frac{n \cdot M}{\dot{m}} = \frac{n \cdot (M_d - M_{d, \text{Leerlauf}})}{\dot{m}} \cdot P_{\text{max}} \quad (1)$$

Die messbaren Größen Materialtemperatur und SME können durch verschiedene Parameter beeinflusst werden. Sie variieren abhängig von der Drehzahl, Schneckengeometrie, Gehäusetemperatur und dem Wassergehalt (EMIN & SCHUCHMANN, 2017).

Die Extrusion bietet den Vorteil eines kontinuierlichen Prozesses, der viele Prozessschritte vereint. So erfolgen mischen, erhitzen, scheren und trocknen simultan unter definierten Bedingungen. Unter hohem Druck und bei kurzen Verweilzeiten (30-120 s) können somit *ready-to-eat* Produkte erzeugt werden (GUY, 2001; EMIN & SCHUCHMANN, 2017).

Im Extruder können thermische und mechanische Belastungen nicht getrennt voneinander betrachtet werden. Um die Veränderungen und den Einfluss der Prozessparameter besser zu verstehen, kann eine spezifische Scherzelle, ein sogenanntes *Closed Cavity Rheometer* (CCR), eingesetzt werden. Hier können thermische und/oder mechanische Beanspruchungen

unabhängig unter extrusionsähnlichen Bedingungen gemessen werden. Eine solche Scherzelle ist in Abbildung 9 dargestellt. Das Probenmaterial wird im CCR zwischen die beiden Kegel gegeben. Die Hohlraumgeometrie ist bikonisch und weist einen Winkel von  $3,35^\circ$  auf. Der untere Kegel wird durch einen Motor in eine oszillierende Bewegung versetzt und die Verformung über die Anregungsfrequenz und Scheramplitude bestimmt. Große Poren in der Kavität verhindern ein Abrutschen der Probe und ermöglichen eine gleichmäßige Scherung (WITTEK *et al.*, 2020).



**Abbildung 9: Schematische Darstellung eines *Closed Cavity Rheometers*, modifiziert nach WITTEK *et al.* 2020**

Durch die Prozessbedingungen im Extruder können strukturelle Veränderungen der Ausgangsmaterialien auf mikroskopischer und makroskopischer Ebene initiiert werden. In den letzten Jahrzehnten fand daher die Extrusion auch immer mehr Anwendung, um Nebenströme zu verarbeiten und so ggf. funktionelle Eigenschaften dieser Ausgangsmaterialien zu verändern (HWANG *et al.*, 1998a; LARREA *et al.*, 2005; GÓMEZ *et al.*, 2011; ALAM *et al.*, 2016; GARCIA-AMEZQUITA *et al.*, 2018; CIUDAD-MULERO *et al.*, 2022). Bekannt ist, dass durch Extrusion verschiedener pflanzlicher Lebensmittel der Anteil an LBS zunimmt und der Anteil an UBS abnimmt, sodass eine Veränderung der Polysaccharidstrukturen wahrscheinlich ist (HWANG *et al.*, 1998a; ALAM *et al.*, 2016; GARCIA-AMEZQUITA *et al.*, 2018; CIUDAD-MULERO *et al.*, 2022). Stärkemoleküle können ebenfalls verändert werden, durch Verkleisterung der Stärkekörner oder indem die Stärkopolymere depolymerisiert werden (LAI & KOKINI, 1991; ARORA *et al.*, 2020). Eine thermische Beanspruchung von pflanzlichen Lebensmitteln kann neben strukturellen Veränderungen der Inhaltsstoffe auch die Bildung neuer Moleküle zur Folge haben. So sind für kohlenhydrathaltige Lebensmittel in Anwesenheit von Aminosäuren oder Proteinen Reaktionen wie die Maillard-Reaktion möglich, bei der nicht nur aromaaktive oder gefärbte Endprodukte (Melanoidine) gebildet werden können, sondern auch teilweise unerwünschte intermediäre Verbindungen oder Endprodukte wie das 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). Beschleunigt werden diese Reaktionen unter dem Einfluss von Hitze, wobei Temperaturen  $>120^\circ\text{C}$  zur Bildung von Acrylamid führen können (MARTINS *et al.*, 2001; MOTTRAM *et al.*, 2002). Bei Acrylamid handelt es sich um eine

Substanz, die möglicherweise krebserregend für den Menschen ist (EFSA, 2015). Nach derzeitigem Kenntnisstand sind die HMF-Gehalte in Lebensmitteln als gesundheitlich unproblematisch anzusehen. Dennoch sollten hohe Gehalte vermieden werden, da es noch weiterer wissenschaftlicher Aufklärung bedarf, ob HMF oder seine Stoffwechselprodukte von toxikologischer Relevanz für den Menschen sind (BfR, 2011).

## 2 ZIELSETZUNG

Nebenströme aus der obst- und gemüseverarbeitenden Industrie erfahren aufgrund ihrer funktionellen Eigenschaften sowie ihrer chemischen Zusammensetzung stetig wachsendes Interesse als Lebensmittelzutat. Sie sind durch hohe Gehalte an Ballaststoffen und sekundären Pflanzenmetaboliten gekennzeichnet. Durch thermomechanische Behandlung mittels Extrusion können die funktionellen Eigenschaften der Nebenströme, wie Wasserbindung oder -löslichkeit sowie Gelbildungseigenschaften, verändert werden. Es ist davon auszugehen, dass derartige Veränderungen der Funktionalität zumindest teilweise in strukturellen Veränderungen auf molekularer Ebene begründet sind. Dies ist insbesondere für Polysaccharide zu vermuten. Daten zum Ausmaß der strukturellen Veränderungen sind jedoch lückenhaft bzw. nicht vorhanden und beschränken sich oftmals auf die Analyse der Ballaststoffgehalte. Weitgehend unbekannt sind jedoch der Einfluss der Extrusion auf die Struktur der Ballaststoffpolysaccharide sowie das Verhalten von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen unter thermomechanischer Belastung. Die Beschreibung der strukturellen Veränderungen kann dazu beitragen, Modifikationen der funktionellen Eigenschaften zu verstehen, Zusammenhänge zwischen verschiedenen Extrusionsprozessparametern und Strukturmodifikationen zu erkennen und die Extrusion zielgerichtet einzusetzen.

Daher sollte im Zuge dieser Arbeit die chemische Zusammensetzung ausgewählter Nebenströme (Apfeltrester, Apfeltrester enzymatisch behandelt, Kartoffelpülpe sowie Karottentrester) detailliert charakterisiert werden. Dazu zählt die Analyse grundlegender Parameter wie die Bestimmung der freien Mono- und Disaccharide und des Stärkegehalts. Der Fokus sollte jedoch auf den Strukturen der Ballaststoffpolysaccharide sowie der Kristallinität der Cellulose liegen. Die Gehalte ausgewählter Phytochemikalien, wie bestimmter phenolischer Inhaltsstoffe und von Carotinoiden, sollten bestimmt werden. Zur Bestimmung der Glykoalkaloide in Kartoffelpülpe sollte zunächst eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC)-Methode mit massenspektrometrischer (MS) Detektion etabliert werden. Diese umfassende Charakterisierung sollte als Ausgangspunkt dienen, um das Ausmaß der strukturellen Veränderungen der Nebenströme im Zuge der thermomechanischen Behandlung unter variierenden Bedingungen festzustellen. Um die Einflussparameter thermischer bzw. mechanischer Beanspruchung zu entkoppeln, wurden ebenfalls im CCR behandelte Proben strukturell analysiert. Da die Strukturen der Ballaststoffpolysaccharide potentiell deren



Fermentierbarkeit beeinflussen, sollte dieser Aspekt in einem vereinfachten *in vitro* Modell bestimmt werden.

Unter dem Einfluss von Hitze können Zuckermoleküle Reaktionen eingehen und dabei unerwünschte Prozesskontaminanten wie Acrylamid oder HMF bilden. Daher sollten abschließend auch mögliche Prozesskontaminanten in den Extrudaten analysiert werden.

## 3 MATERIAL UND METHODEN

Im folgenden Abschnitt werden die im Rahmen dieser Dissertation verwendeten Probenmaterialien und Methoden beschrieben. Eine Auflistung der eingesetzten Chemikalien, Puffer, Enzyme sowie Instrumente befindet sich in Abschnitt 7.

### 3.1 BESCHREIBUNG DES PROBENMATERIALS SOWIE DER THERMOMECHANISCHEN BEHANDLUNG

#### 3.1.1 APFELTRESTER

Der Apfeltrester wurde aus entsafteten und getrockneten Äpfeln hergestellt und von der Firma Herbafood Ingredients GmbH bezogen. Laut Hersteller hat der verwendete Apfeltrester einen Ballaststoffgehalt von 60 % und enthält 25 % Kohlenhydrate und 5 % Protein.

##### 3.1.1.1 EXTRUSIONSBEDINGUNGEN

Alle Extrusions- und CCR-Versuche in dieser Arbeit wurden von Dr. Vera Schmid am Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Teilinstitut I: Lebensmittelverfahrenstechnik, Karlsruher Institut für Technologie durchgeführt.

Für die Extrusionsversuche des Apfeltresters wurde ein gleichlaufender Doppelschneckenextruder (Coperion ZSK 26Mc) mit einem Längen-Durchmesser-Verhältnis von 29 und einem Schneckendurchmesser von 25,5 mm verwendet. Die Schneckenkonfiguration entspricht der von KOCH und Mitarbeitern verwendeten Konfiguration B aus Vorwärtselementen, Knetblöcken sowie Rückwärtselementen (KOCH *et al.*, 2017). Der Extruder war mit einer gravimetrisch gesteuerten Dosiereinrichtung (DDW-DDSR40, Brabender) und einer Kolbenmembranpumpe (Modell KM 251, Alldos) ausgestattet. Es wurde eine kreisförmige Düse von 3 mm Durchmesser und 10 mm Länge verwendet. Alle Versuche wurden mit einem konstanten Gesamtmassenstrom von 10 kg/h und einer Gehäusetemperatur, der letzten drei Abschnitte, von 100 °C durchgeführt. Die weiteren Zylinder wurden auf  $T_{\text{Gehäuse1}} = 40 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse2}} = 60 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse3}} = 80 \text{ °C}$  beheizt.

Weitere Parameter (Wassergehalt, Drehzahl) sind in Tabelle 2 dargestellt. Der Prozessparameter Materialtemperatur wurde am Ausgang des Extruders gemessen und der SME über die in Abschnitt 1.5 beschriebene Gleichung (1) mit einer maximalen Drehzahl ( $n_{\text{max}}$ ) von 1800 1/min und einer Motorleistung ( $P_{\text{max}}$ ) von 40 kW kalkuliert. Beide daraus resultierenden Extrusionsparameter

SME und Materialtemperatur sind ebenfalls in Tabelle 2 gezeigt. Die Versuche wurden in Doppelbestimmung durchgeführt.

**Tabelle 2: Extrusionsbedingungen für die Behandlung des Apfeltresters sowie die daraus resultierenden Größen Materialtemperatur und spezifisch mechanischer Energieeintrag (SME) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C**

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]	Drehzahl $n$ [1/min]	Materialtemperatur $T_M$ [°C]	SME [Wh/kg]
42	200	112,1	54,8
22	200	132,4	143,9
22	450	154,4	221,3
22	700	156,3	229,1

Das Rohmaterial und die Extrudate wurden in einer Kaffeemühle (M55, Petra Electric)  $<280 \mu\text{m}$  gemahlen und bei 25 °C und 8 mbar in einem Vakuumtrockenschrank bis zur Massenkonstanz getrocknet.

### 3.1.1.2 BEDINGUNGEN IM *CLOSED CAVITY* RHEOMETER

Der Apfeltrester wurde vor Verwendung bei 25 °C und 8 mbar im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Die Proben wurden mit den in Tabelle 3 genannten Wassergehalten in einem Thermomix (Vorwerk) für 30 s bei 500 1/min und 1 min bei 2000 1/min vermischt und für 72 h bei 8 °C hydriert. Die weitere Behandlung im CCR erfolgte unter den in Tabelle 3 genannten Bedingungen. Hierfür wurden ca. 5 g hydrierter Trester in das CCR gegeben und mit einem Druck von 450 kPa verschlossen.

**Tabelle 3: Behandlungsbedingungen für den Apfeltrester im *Closed Cavity* Rheometer (CCR)**

Temperatur CCR [°C]	Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]	Behandlungsdauer [s]	Scherrate [1/s]
120	10	1	150
120	10	6	150
120	10	1	0,001
160	10	1	0,001
160	10	1	150
160	40	1	0,001

Die behandelten Proben wurden vor weiteren Analysen bei 25 °C und 8 mbar in einem Vakuumtrockenschrank getrocknet und auf eine definierte Partikelgröße von  $140 <x> 280 \mu\text{m}$  in einer Kaffeemühle (M55, Petra Electric) gemahlen.

### 3.1.2 APFELTRESTER ENZYMATISCH BEHANDELT

Bei dem enzymatisch behandelten Apfeltrester handelt es sich um konventionellen Apfeltrester aus der Saftindustrie von der Firma J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co KG, welcher während der Saffherstellung enzymatisch behandelt wurde. Laut Hersteller weist dieser einen Ballaststoffgehalt von 57,2 % und einen Proteingehalt von 4,0 % bezogen auf die TM auf.

Die Extrusionsversuche wurden mit einem gleichlaufenden Doppelschneckenextruder (Thermo Fisher Scientific Process 11 hygenic) mit einem Längen-Durchmesser-Verhältnis von 40 durchgeführt. Der Zylinder des Extruders bestand aus acht Abschnitten, die separat beheizt und gekühlt werden konnten. Die Zylindertemperaturen wurden auf  $T_{\text{Gehäuse1}} = 40 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse2}} = 80 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse3}} = 100 \text{ °C}$  und  $T_{\text{Gehäuse5-8}} = 120 \text{ °C}$  eingestellt und die Düse (Durchmesser 2 mm) wurde ebenfalls auf  $120 \text{ °C}$  erhitzt. Der Gesamtmassenstrom wurde bei  $10 \text{ kg/h}$  konstant gehalten, und die Extrusion wurde bei einer Drehzahl von  $600 \text{ 1/min}$  und einem Zusatz von  $22 \text{ %}$  Wasser durchgeführt. Eine Veränderung der thermomechanischen Belastung der Proben wurde durch Variation der Schneckenkonfigurationen verursacht. Die jeweiligen Konfigurationen und die entsprechenden Materialtemperaturen sowie der jeweilige SME sind in Tabelle 4 gezeigt. Die maximale Drehzahl ( $n_{\text{max}}$ ) betrug  $1000 \text{ 1/min}$  und die maximale Motorleistung ( $P_{\text{max}}$ ) lag bei  $1,5 \text{ kW}$ .

**Tabelle 4: Schneckenkonfigurationen und Beschreibung der verwendeten Schneckenelemente im Extruder bei Extrusion von enzymatisch behandeltem Apfeltrester sowie die daraus resultierenden Größen Materialtemperatur und spezifisch mechanischer Energieeintrag (SME) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von  $120 \text{ °C}$ ,  $22 \text{ %}$  Wassergehalt und einer Drehzahl von  $600 \text{ 1/min}$**

Schneckenkonfiguration	Materialtemperatur $T_M$ [°C]	SME [Wh/kg]
S1 Vorwärtselemente	116,0	83,7
S2 Vorwärtselemente 2 Rückwärtselemente	118,5	126,2
S4 Vorwärtselemente 1 Knetelement 2 Rückwärtselemente	128,1	231,2

Das Rohmaterial und die Extrudate wurden gemahlen, auf eine Partikelgröße von  $140 <x> 280 \text{ }\mu\text{m}$  gesiebt und anschließend bei  $25 \text{ °C}$  und  $8 \text{ mbar}$  unter Vakuum getrocknet.

### 3.1.3 KARTOFFELPÜLPE

Die Kartoffelpülpe wurde von der Firma Emsland-Stärke GmbH bezogen und enthält  $40 \text{ %}$  Stärke,  $20 \text{ %}$  Rohfaser sowie jeweils max.  $7 \text{ %}$  Rohprotein,  $5 \text{ %}$  Rohasche und  $0,3 \text{ %}$  Rohfett.

Bei dem verwendeten Extruder handelte es sich um den in Abschnitt 3.1.2 genannten der Firma Thermo Fisher Scientific mit den dort beschriebenen Einstellungen. Lediglich die Zylindertemperaturen mit  $T_{\text{Gehäuse1}} = 40 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse2}} = 60 \text{ °C}$ ,  $T_{\text{Gehäuse3}} = 80 \text{ °C}$  und  $T_{\text{Gehäuse4-8}} = 100 \text{ °C}$  sowie die Extrusionsbedingungen hinsichtlich des Wassergehalts und der Drehzahl variierten (siehe Tabelle 5). Die verwendeten Schnecken entsprachen der Konfiguration S4 (vgl. Tabelle 4).

**Tabelle 5: Extrusionsbedingungen für die Behandlung der Kartoffelpülpe sowie die daraus resultierenden Größen Materialtemperatur und spezifisch mechanischer Energieeintrag (SME) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C**

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]	Drehzahl $n$ [1/min]	Materialtemperatur $T_M$ [°C]	SME [Wh/kg]
46	600	109,5	186,0
28	200	118,0	213,5
28	600	133,5	376,5

Die Proben und Extrudate wurden vor dem Mahlvorgang für 30 min bei 40 °C behandelt, in einer Kaffeemühle gemahlen und anschließend gesiebt (Partikelgröße  $140 <x> 280 \mu\text{m}$ ).

### 3.1.4 KAROTTENTRESTER

Der Karottentrester stammte von der Firma GNT Europe GmbH. Es sind herstellerseitig keine Daten zu der Zusammensetzung bekannt. Das Probenmaterial wurde mit dem gleichen Extruder und den gleichen Zylindertemperaturen wie die Kartoffelpülpe thermomechanisch behandelt (vgl. Abschnitt 3.1.3). Es fand neben einer Veränderung der Drehzahl auch eine Variation des Wassergehalts statt, um den Gesamtmassenstrom von 1 kg/h konstant zu halten. Die entsprechenden Daten und die daraus resultierenden messbaren Parameter, Materialtemperatur und SME sind in Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 6: Extrusionsbedingungen für die Behandlung des Karottentresters sowie die daraus resultierenden Größen Materialtemperatur und spezifisch mechanischer Energieeintrag (SME) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C**

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]	Drehzahl $n$ [1/min]	Materialtemperatur $T_M$ [°C]	SME [Wh/kg]
25	200	116,5	175,0
43	1000	116,5	253,8
25	1000	130,0	385,0

Das Rohmaterial und die extrudierten Proben wurden wie in Abschnitt 3.1.3 beschrieben weiter behandelt.

## 3.2 GRUNDCHARAKTERISIERUNG

### 3.2.1 GEHALT AN FREIEN MONO- & DISACCHARIDEN

Äpfel sind typischerweise durch hohe Konzentrationen an freien Mono- und Disacchariden gekennzeichnet, sodass auch im Trester noch hohe Gehalte freie Mono- und Disaccharide zu erwarten sind (vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2).

Unter dem Einfluss der thermomechanischen Behandlung können durch Reaktionen von Monosacchariden hitzeinduzierte Kontaminanten gebildet werden. Zur Einschätzung des

Ausmaßes der Bildung und zur Einordnung der Gehalte ist es von Interesse, freie Mono- und Disaccharide in den Nebenströmen sowie den entsprechenden Extrudaten zu bestimmen.

Klassische Methoden zur Quantifizierung von Mono- und Disacchariden beruhen auf enzymatischen Reaktionen. Hierbei wird das Substrat mit einem Enzym, welches als Biokatalysator agiert, und einem Coenzym umgesetzt. Als Coenzyme werden Nicotinamidadenindinukleotid oder Nicotinamidadenindinukleotidphosphat eingesetzt, welche während der Reaktion reduziert werden (Oxidation der Monosaccharide). Die dabei gebildete Menge der reduzierten Coenzyme ist der Substratmenge äquivalent.

Die reduzierten Coenzyme zeigen bei 340 nm eine charakteristische Absorptionsbande, welche photometrisch bestimmt werden kann. Die Bestimmung der Konzentration beruht auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz, wonach die Absorption unter Einbeziehung des Absorptionskoeffizienten proportional zur Konzentration einer Substanz und der Schichtdicke der Küvette ist. Durch eine geeignete Kombination an Enzymen können verschiedene Analyten nebeneinander quantifiziert werden, wobei Disaccharide enzymatisch in ihre monomeren Bestandteile gespalten werden (MATISSEK *et al.*, 2018).

Eine weitere Möglichkeit zur Quantifizierung von Mono- und Disacchariden stellt die Analyse mittels Gaschromatographie (GC) und Flammenionisationsdetektor (FID) dar. Hier ist eine Derivatisierung der Analyten zwingend erforderlich, da nur flüchtige Verbindungen analysiert werden können. Die Umsetzung der Moleküle kann u.a. zu ihren Alditolacetaten erfolgen wobei zunächst die Analyten in Alditole überführt und anschließend acetyliert werden. Die Analyse eignet sich zur Bestimmung des Gesamtgehalts an Monosacchariden. Die Quantifizierung bestimmter Analyten nebeneinander wie Glucose, Fructose und Mannose ist jedoch nicht möglich, da durch die Reduktion nicht mehr zwischen den Monosacchariden zu den Zuckeralkoholen Mannitol und/oder Sorbitol unterschieden werden kann (ALBERSHEIM *et al.*, 1967; RUIZ-MATUTE *et al.*, 2011). Disaccharide und höhere Oligomere können auch mittels GC-FID oder GC-MS nach vorheriger Reduzierung und anschließender Methylierung mit Methyljodid bestimmt werden (CARLSSON *et al.*, 1992). Eine geeignete Methode zur gleichzeitigen Bestimmung mehrerer Analyten stellt die Hochleistungsanionenaustauschchromatographie mit gepulst amperometrischem Detektor (*High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detector* – HPAEC-PAD) dar. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass keine Derivatisierung notwendig ist und dass eine sensitive und selektive Detektion aller Analyten ermöglicht wird. Das Trennprinzip der HPAEC beruht auf Ionenaustauschprozessen an einer

stationären Phase aus quervernetztem Polystyrol mit positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen. Unter stark basischen Bedingungen, durch Verwendung von Natriumhydroxid im Eluenten, liegen die Hydroxylgruppen der Mono- und Disaccharide teilweise deprotoniert vor, sodass sie mit der stationären Phase interagieren können. Detektiert wird amperometrisch durch Oxidation an einer Goldelektrode. Der dabei generierte Strom ist proportional zur Konzentration der Analyten. Bei der Detektion wird ein gepulstes Verfahren angewendet, um die Elektrode von Oxidationsprodukten zu reinigen und so die Empfindlichkeit der Messung konstant zu halten (LEE, 1990; DE RUITER *et al.*, 1992; CORRADINI *et al.*, 2012).

Im Rahmen dieser Dissertation wurden die freien Mono- und Disaccharide mittels HPAEC-PAD quantifiziert, die noch aus der jeweiligen Matrix extrahiert werden mussten, da feste Probenmatrices analysiert wurden (vgl. Abschnitt 8.1). Die Extraktion der freien Mono- und Disaccharide wurde von Daniela Schäfer im Rahmen ihrer Masterarbeit optimiert. Es zeigte sich, dass durch eine vierfache wässrige Extraktion im Ultraschallbad bei Raumtemperatur mit anschließender Ethanolfällung (99 % Ethanol) die freien Mono- und Disaccharide Glucose, Fructose, Saccharose sowie Maltose zuverlässig extrahiert und quantifiziert werden können. Die Ausfällung durch Ethanol trennt störende wasserlösliche Polysaccharide oder Matrixkomponenten ab. Die Quantifizierung erfolgte über eine externe Kalibrierung, wobei L-Fucose als interne Standardsubstanz verwendet wurde (SCHÄFER, 2019).

### 3.2.2 BESTIMMUNG DES STÄRKEGEGHALTS

Die Bestimmung des Stärkegehalts in verschiedenen Lebensmittelmatrices beruht im Allgemeinen auf der Verkleisterung der Stärkekörner und der anschließenden Depolymerisierung der Stärkepolymere zu Amylose und Amylopektin zu Glucose-Molekülen. Als §64-Methoden sind u.a. enzymatische Verfahren zur Bestimmung von Stärke in geriebenem Käse etabliert. Hierbei wird die in den Proben enthaltene Stärke nach einem Säureaufschluss mit dem Enzym Amyloglucosidase in Glucose überführt. Amyloglucosidase ist in der Lage, die  $\alpha$ -(1→4)- und  $\alpha$ -(1→6)-glykosidischen Bindungen der Stärkemoleküle zu spalten und diese zu Glucose umzusetzen. Glucose wird dann, wie in Abschnitt 3.2.1 beschrieben, mit einer Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase sowie Nicotinamidadenindinukleotidphosphat umgesetzt und spektrometrisch vermessen (ASU 03.00-39, 2010). Als eine Alternative zum Säureaufschluss wird in der Literatur der Einsatz einer Kombination von thermostabilen  $\alpha$ -Amylasen und Amyloglucosidasen beschrieben. Amylasen spalten in der Regel als kleinste Einheit Maltooligosaccharide ab, welche dann über Amyloglucosidasen weiter zu Glucose gespalten

werden (MCCLEARY *et al.*, 2019). Weitere analytische Methoden zur Bestimmung von Stärke sind polarimetrische Verfahren. Polarimetrische Bestimmungen beruhen auf der Drehung von linear polarisiertem Licht durch optisch aktive Substanzen. So beträgt der Drehwinkel von Stärke in einer essigsäuren Calciumchloridlösung 4,9°. Dieses Verfahren wird in Deutschland als §64-Methode zur Bestimmung von Stärke in Wurstwaren (ASU 08.00-67, 2021) und Fleischerzeugnissen (ASU 07.00-65, 2021) angewendet.

Die in dieser Arbeit angewendete Methode ist eine Kombination aus enzymatischen und chromatographischen Ansätzen. Stärkekörner wurden vorverkleistert und in Anlehnung an die Ballaststoffbestimmung nach PROSKY und Mitarbeiter, bei der nicht-resistente Stärke vollständig entfernt wird, enzymatisch verdaut (PROSKY *et al.*, 1985). Da Probenmaterialien, wie die Kartoffelpülpe noch hohe Gehalte an Stärke enthalten können (vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2), wurden alle Nebenströme vorverkleistert. Hierbei wurden Temperaturen von 90 °C und 60 °C sowie eine Behandlungsdauer von 15 min, 30 min sowie 40 min überprüft. Es wurde eine optimale Zeit von 15 min bei 60 °C bestimmt. Für den enzymatischen Verdau kamen eine thermostabile  $\alpha$ -Amylase und eine Amyloglucosidase zum Einsatz. Im Rückstand wurde durch einen klassischen Jod-Stärke-Nachweis überprüft, ob die Stärke vollständig depolymerisiert wurde, und ob die eingesetzten Enzymmengen für Proben mit einem hohen Stärkegehalt (>50 %) angemessen sind. Weiter wurde die Aufarbeitung optimiert und geeignete Methoden zum Abtrennen störender Matrixkomponenten getestet. Eine Matrix, hergestellt aus Kartoffelstärke, Cellulose und Pektin, wurde zum einen mit Carrez-Reagenzien geklärt und zum anderen in 80 % Ethanollösung ausgefällt. Die Verwendung von Carrez-Reagenzien war mit Wiederfindungen von 105 % für die Anwendung besser geeignet, während die Wiederfindungen bei der Ethanol-Fällung für den theoretischen Stärkegehalt >140 % betrug. Die freigesetzte Glucose wurde, aufgrund der schon in Abschnitt 3.2.1 genannten Vorteile, mittels HPAEC-PAD quantifiziert und der Stärkegehalt in den Proben berechnet. Die genaue Probenaufarbeitung und die entsprechenden Konzentrationen der Carrez-Lösungen sind in Abschnitt 8.2 beschrieben.

### 3.3 BALLASTSTOFFISOLIERUNG & -BESTIMMUNG

Ballaststoffe werden üblicherweise mit enzymatisch-gravimetrischen oder mit enzymatisch-chemischen Methoden gewonnen bzw. deren Gehalte bestimmt (PROSKY *et al.*, 1985; ENGLYST *et al.*, 1994; THEANDER *et al.*, 1995; MCCLEARY *et al.*, 2010; MCCLEARY *et al.*, 2013).



Die enzymatisch-chemischen Methoden beruhen auf dem enzymatischen Stärkeabbau mit Amylasen und Amyloglucosidasen und anschließenden chemischen Analysen zur Quantifizierung der Ballaststoffpolysaccharide. Dabei werden je nach Methode unterschiedliche Ballaststoffkomponenten gewonnen bzw. analysiert. Bei der Methode nach ENGLYST und Kollegen werden die Nicht-Stärke-Polysaccharide erhalten, welche daraufhin hinsichtlich ihrer Monosaccharidzusammensetzung nach Säurehydrolyse mit verschiedenen Methoden analysiert werden (ENGLYST *et al.*, 1994). Andere Methoden erweitern die Analysen beispielsweise um die Bestimmung der Uronsäuren und die gravimetrische Bestimmung von Lignin (THEANDER *et al.*, 1995). Diese Methoden umfassen aber nicht alle Substanzen, die in der Begriffsdefinition von Ballaststoffen enthalten sind (vgl. Abschnitt 1.2.1). Die *Association of Analytical Chemists* (AOAC) führte hierzu eine Reihe offizieller enzymatisch-gravimetrischer Methoden ein, welche alle gemäß der Definition als Ballaststoffe zu bezeichnenden Substanzen miteinschließen. Diese Methoden wurden im Laufe der letzten Jahrzehnte immer wieder modifiziert, da sich die Definition der Ballaststoffe änderte. So wurde beispielsweise die ursprüngliche AOAC Methode 985.29 u.a. um die Mitbestimmung von resistenter Stärke erweitert oder eine methodische Anpassung durchgeführt, um die Ballaststoffbestimmung besser an die Vorgänge der menschlichen Verdauung anzupassen (MCCLEARY *et al.*, 2013; MCCLEARY *et al.*, 2015).

Das Prinzip der Methoden beruht auf einem enzymatischen Abbau von Stärke mit  $\alpha$ -Amylase und Amyloglucosidase sowie von Proteinen durch den Einsatz von Protease (PROSKY *et al.*, 1985). Bei dem Einsatz einer thermostabilen  $\alpha$ -Amylase wird auch resistente Stärke hydrolysiert. Die Verwendung einer Pankreas  $\alpha$ -Amylase schließt hingegen resistente Stärke mit in die Bestimmung ein (MCCLEARY *et al.*, 2013). Nach dem Verdau werden die Ballaststoffe nach ihrer Löslichkeit getrennt. Der wasserunlösliche Rückstand nach enzymatischer Behandlung wird nach mehreren Waschschritten als UBS ausgewogen. Die LBS werden durch Ausfällen des Überstands in 80 % Ethanol erhalten und ebenfalls nach mehreren Waschschritten gravimetrisch bestimmt. Im Überstand sind nun noch NLBS enthalten, bei denen es sich um nicht-verdaubare Oligosaccharide mit einem Polymerisationsgrad von  $\geq 3$  handelt, die ebenfalls zu den Ballaststoffkomponenten zählen (MCCLEARY *et al.*, 2010). Diese werden nach Aufarbeitungsschritten, wie einer Entsalzung, mittels Flüssigkeitschromatographie (*Liquid Chromatography* - LC) und Brechungsindex (*Refractive Index* - RI)-Detektion quantifiziert. Die analytische Ballaststoffbestimmung der hier untersuchten Proben basierte auf der Methode nach PROSKY und Mitarbeiter aus dem Jahr 1985 sowie MCCLEARY und Kollegen aus dem Jahr 2010. Zur Hydrolyse der Stärke wurde eine

thermostabile  $\alpha$ -Amylase verwendet, da der Fokus der Analysen auf den Nicht-Stärke-Polysacchariden als Ballaststoffe lag und daher resistente Stärke nicht mit erfasst werden sollte. Dies kann weiter damit begründet werden, dass der Einfluss der Stärke als Ballaststoffkomponente in Lebensmitteln, in welchen die Extrudate beispielsweise eingesetzt werden können, von verschiedenen Parametern abhängt, welche hier nicht vollständig abgebildet werden können. Aufgrund einer unvollständigen Proteinhydrolyse sowie einer potentiellen Überbestimmung der Ballaststoffgehalte, insbesondere bei den LBS aufgrund mitgefällter Puffersalze, ist eine Korrektur der Ballaststoffgehalte um den Restprotein- und den Aschegehalt notwendig. Der Aschegehalt kann nach Behandlung bei hohen Temperaturen (500 °C) bestimmt werden, und für die Proteinkorrektur hat sich die Anwendung des Kjeldahlverfahrens etabliert (URBAT *et al.*, 2019). Die quantitative Analyse und die präparative Ballaststoffbestimmung wurden gleichermaßen, wie in Abschnitt 8.3 und 8.4 beschrieben, durchgeführt, lediglich die Enzymauswahl variierte. Die Restprotein- und Aschekorrektur des Ballaststoffgehalts wurde nur für die quantitative Bestimmung durchgeführt. Die präparativ gewonnenen Ballaststoffe wurden für weitere strukturcharakteristische Analysen verwendet. Im Fall der NLBS wurden präparative Mengen aus dem quantitativen Ansatz für weitere Analysen gewonnen. Hierfür mussten die NLBS von noch im Eluat enthaltenen niedermolekularen Verbindungen, wie Mono- und Disacchariden, abgetrennt werden. Hierzu wurde der Elutionsbereich der Oligomere mit einem Polymerisationsgrad von  $\geq 3$  aus der Quantifizierung übernommen und die Oligosaccharide präparativ mittels Hochleistungsgröbenausschlusschromatographie (*High Performance Size-Exclusion Chromatography* – HPSEC) und RI-Detektion gesammelt.

### 3.4 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE

Ballaststoffpolysaccharide stellen eine heterogene Gruppe an Lebensmittelinhaltsstoffen dar, welche sich auch innerhalb einer Pflanze, beispielsweise während der Reifung, verändern können (vgl. Abschnitt 1.3.1). Die Analyse der teilweise sehr komplexen Strukturen stellt eine große Herausforderung in der Analytik von pflanzlichen Zellwänden dar. Dem liegt u.a. zugrunde, dass das Vorkommen von monomeren Einheiten und deren Bindungstypen nicht auf ein Strukturelement der pflanzlichen Zellwand begrenzt ist. So tritt z.B. Glucose als Pyranose in einer  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidischen Bindung sowohl als Element von Cellulose als auch von Xyloglucanen auf. In einem *Glycomics* basierten Ansatz versuchten AMICUCCI und Mitarbeiter, Polysaccharide mit Hilfe einer Fenton-ähnlichen Reaktion in Oligosaccharide zu spalten. Für einzelne Polysaccharide

konnten spezifische Oligosaccharide zugeordnet werden. Bei der Anwendung auf Zellwandmaterialien zeigte sich jedoch die Limitierung dieser Analyse, da charakteristische Signale überlagert waren und eine sichere Zuordnung nicht immer möglich war (AMICUCCI *et al.*, 2020). Es empfiehlt sich daher, mehrere Analysen anzuwenden und deren Ergebnisse gemeinsam zu interpretieren, z.B. die Spaltung der Polysaccharide in Monosaccharide, die Analyse der Bindungstypen und enzymbasierte Screening-Methoden für spezielle Strukturelemente, wie z.B. die Arabinane im Pektin.

### 3.4.1 ANALYSE DER MONOSACCHARIDZUSAMMENSETZUNG

Durch Spaltung der Polysaccharide in monomere Einheiten ist es möglich, erste Informationen über die Zusammensetzung dieser zu erhalten. Die Spaltung der glykosidischen Bindungen erfolgt meist säurehydrolytisch bei erhöhten Temperaturen. Dabei werden verschiedene Hydrolysebedingungen für unterschiedliche Polysaccharide angewendet. Durch die von SAEMAN und Kollegen beschriebene Schwefelsäurehydrolyse kann die monomere Zusammensetzung aller neutralen Polysaccharide sowie der schwer zu hydrolysierenden Cellulose erfasst werden, jedoch kann es zu einer Unterbestimmung der Uronsäuren kommen (SAEMAN *et al.*, 1945; DE RUITER *et al.*, 1992; WILLFÖR *et al.*, 2009). Diese Hydrolyse eignet sich daher zur Analyse der unlöslichen Bestandteile oder schwer zugänglicher Polysaccharide wie beispielsweise Xyloglucanstrukturen, welche in den Cellulosefibrillen eingeschlossen sein können (vgl. Abschnitt 1.3.2). Bei anderen in der Literatur vorgeschlagenen Hydrolysebedingungen, wie beispielsweise der Methanolyse mit anschließender Zugabe von Trifluoressigsäure (*Trifluoroacetic acid* - TFA), wird Cellulose nicht erfasst. Hierbei erfolgt die Behandlung des Materials mit methanolischer Salzsäure gefolgt von einer TFA-Behandlung. Diese Methode eignet sich, um die Uronsäuren repräsentativ zu erfassen. Die nach der Methanolyse erhaltenen Methylglykoside werden durch den Einsatz der TFA demethyliert, und die Reagenzien können einfach durch Evaporation entfernt werden (DE RUITER *et al.*, 1992; WILLFÖR *et al.*, 2009). In der vorliegenden Arbeit wurde die Zusammensetzung der monomeren Bestandteile der UBS zur Miterfassung der Cellulose nach einer Schwefelsäurehydrolyse bestimmt, und für die LBS wurde eine Methanolyse durchgeführt. Die NLBS wurden mittels einer einfachen TFA-Hydrolyse gespalten. Eine vorherige Behandlung der NLBS mit methanolischer Salzsäure zeigte keine Vorteile, daher wurde auf diesen Schritt verzichtet. Die entsprechenden Durchführungen sind in Abschnitt 8.5 zu finden. Die Detektion der Monosaccharide erfolgte mittels HPAEC-PAD, deren Vorteile in der Anwendung gegenüber der Analyse mittels GC bereits in Abschnitt 3.2.1 erläutert wurden.

### 3.4.2 ANALYSE DER BINDUNGSVERHÄLTNISSE

Die in Polysacchariden vorhandenen glykosidischen Bindungen können mit Hilfe der Methylierungsanalyse bestimmt werden. Analysiert werden die Bindungsverhältnisse über die Identifizierung partiell methylierter Alditolacetate (PMAA) mittels GC-MS und GC-FID.

Startpunkt der Analyse ist die Methylierung der freien Hydroxylgruppen der Polysaccharide unter stark basischen Bedingungen im aprotischen Milieu (CIUCANU & KEREK, 1984). Für schlecht lösliches Probenmaterial, beispielsweise UBS, empfiehlt sich ein vorheriges Quellen in Dimethylsulfoxid (DMSO) sowie eine doppelte Methylierung, um eine Untermethylierung zu vermeiden bzw. zu reduzieren. Eine Untermethylierung ist erst nach gaschromatographischer Analyse erkennbar, da nicht methylierte Hydroxylgruppen in einem späteren Schritt acetyliert werden (PETTOLINO *et al.*, 2012). Hohe Anteile an vollacetylierten PMAA deuten dann mitunter auf eine Untermethylierung des Probenmaterials hin. Bei der Methylierungsanalyse können Uronsäuren nur erfasst werden, wenn die Carboxylgruppen vor der Methylierung reduziert werden (KIM & CARPITA, 1992). Im Rahmen dieser Arbeit lag der Fokus nicht auf der Bestimmung der Bindungstypen der Uronsäuren, daher wurde auf diesen Schritt verzichtet. Nach Methylierung werden die Polysaccharide durch die Verwendung von TFA säurehydrolytisch gespalten. Anschließend erfolgt die Ringöffnung und Reduktion der partiell methylierten Monosaccharide durch Natriumborodeuterid. Dadurch wird die anomere C1-Position markiert, aber gleichzeitig geht die Information über die anomere Konfiguration verloren. Die Markierung der C1-Position ist für die massenspektrometrische Unterscheidung mancher PMAA notwendig (BLAKENEY *et al.*, 1983). Ein Beispiel hierfür sind (1→2)- und (1→4)-gebundene Xylopyranose, welche typischerweise coeluierten, aber ein unterschiedliches Massenspektrum liefern und so unterschieden werden können (PETTOLINO *et al.*, 2012; STECK *et al.*, 2021). Nach Reduktion erfolgt die Acetylierung der freigesetzten Hydroxylgruppen, welche zuvor an den Bindungen und der Ringbildung beteiligt waren. Katalysiert wird die Reaktion durch 1-Methylimidazol und als Acetylierungsreagenz wird Essigsäureanhydrid eingesetzt (BLAKENEY *et al.*, 1983). Die so erhaltenen PMAA können aufgrund der erhöhten Flüchtigkeit mittels GC analysiert werden. Zum einen wurde bei der hier durchgeführten Methylierungsanalyse die GC-MS zur eindeutigen Zuordnung der PMAA über die Fragmentierungsmuster verwendet und zum anderen erfolgte die Quantifizierung mittels GC-FID unter gleichen Bedingungen, um die Elutionsreihenfolge nicht zu verändern. Die Bestimmung wurde semiquantitativ unter Verwendung der molaren Responsefaktoren von SWEET und Mitarbeitern durchgeführt (SWEET *et al.*, 1975). Die verwendete Arbeitsvorschrift zur Durchführung

der Methylierungsanalyse ist in Anlehnung an die von GNIECHWITZ und Mitarbeitern sowie von WEFERS und Kollegen und ist in Abschnitt 8.6 zu finden (GNIECHWITZ *et al.*, 2007; WEFERS *et al.*, 2015).

Anhand der Methylierungsanalyse können allerdings nur Informationen über die Position der Verknüpfungen im Polysaccharid erhalten werden. Über die enzymatische Freisetzung und Identifizierung von Oligosacchariden aus Polysacchariden können detailliertere Informationen über Verzweigungsart und -grad erhalten werden. Diese Methode kann speziell bei der Charakterisierung von Arabinanen aus den neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans von Pektin aufschlussreiche strukturelle Informationen erzielen. Besonders in Hinblick auf Veränderungen, die während oder durch die Prozessierung der Nebenströme entstehen können, erscheint der Einsatz dieser Methode hilfreich. In der Literatur konnte mit diesem Ansatz z.B. gezeigt werden, dass sich die Feinstruktur von Arabinanen sowie von Galactanen aus Äpfeln während der Lagerung verändern kann (WEFERS *et al.*, 2018). Hierzu wurde ein von WEFERS und BUNZEL entwickeltes Arabinan- und Galactan-Profilung angewendet. Durch den Einsatz von *endo*-Arabinanasen bzw. *endo*-Galactanasen werden die linearen Abschnitte der Arabinane bzw. Galactane gespalten. Die freigesetzten Oligosaccharide werden dann mittels HPAEC-PAD analysiert (WEFERS & BUNZEL, 2016a). Der Vergleich mit Standardsubstanzen entsprechender Oligosaccharide ermöglicht die Identifizierung dieser Strukturmerkmale. Die Freisetzung der Oligosaccharide kann auch nach Autoklavenextraktion der Polysaccharide erfolgen. Eine Autoklavenextraktion ist von Vorteil, wenn Strukturelemente für die enzymatische Hydrolyse nicht zugänglich sind, da durch diese Behandlung das Zellwandnetzwerk aufgelockert werden kann. Darüber hinaus können freigesetzte Oligosaccharide auch NMR-spektroskopisch anstatt mittels HPAEC-PAD analysiert werden (WEFERS & BUNZEL, 2016b). Autoklavieren mit anschließender NMR Analyse brachte bei den UBS des Apfeltresters in dieser Arbeit jedoch keine zusätzlichen strukturellen Informationen gegenüber der enzymatischen Behandlung ohne Autoklavieren und Analyse mittels HPAEC-PAD. Daher wurde auf diesen Schritt verzichtet und das Arabinan- und Galactan-Profilung für die Probenmaterialien (jeweils UBS und LBS) wie in Abschnitt 8.7 beschrieben durchgeführt, und die Oligosaccharide wurden mittels HPAEC-PAD semiquantitativ bestimmt.

### 3.4.3 BESTIMMUNG DES VERESTERUNGSGRADS POLYMERGEBUNDENER GALACTURONSÄURE

Die Carboxygruppen der polymergebundenen Galacturonsäuren können mit Methylgruppen verestert vorliegen. Der Veresterungsgrad beeinflusst direkt die technofunktionellen Eigenschaften von Pektin. Bei niedrigverestertem Pektin können über Calciumionen und bei einem pH-Wert von 2-6 Gele ausgebildet werden, wohingegen hochverestertes Pektin bei pH-Werten <3 in Gegenwart von hohen Zuckergehalten Gele ausbildet (HARRIS & SMITH, 2006). Ferner beeinflusst auch der Grad der Acetylierung der Galacturonsäuren die Eigenschaften des Pektins. Ein hoher Acetylierungsgrad kann die Ausbildung von Calciumbrücken bei niedrig methylveresterten Galacturonsäureeinheiten verhindern (CHRISTIAENS *et al.*, 2016). Daher ist die Bestimmung des Veresterungsgrads der polymergebundenen Galacturonsäure ein wichtiger analytischer Parameter zur Beurteilung möglicher technofunktioneller Eigenschaften der Materialien. Die in der Literatur beschriebenen Methoden beruhen auf der Quantifizierung des Galacturonsäuregehalts sowie auf der Bestimmung des Methanol- und Essigsäureanteils und der Berechnung des daraus resultierenden Methylierungs- und Acetylierungsgrads. Eine Methode, bei der es möglich ist, den Galacturonsäuregehalt und den Grad der Methylierung innerhalb einer Analyse zu bestimmen, ist eine titrimetrische Methode. Titriert wird mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator. In diesem ersten Schritt werden die freien nicht veresterten Carboxylgruppen erfasst. Weiter wird die Probe zur Verseifung mit Natronlauge von deutlich höherer Molarität versetzt und durch die äquivalente Menge Salzsäure neutralisiert. Es erfolgt ein weiterer Titrationsschritt mit Natronlauge, bei dem die methylveresterten Carboxylgruppen erfasst werden. Über das Verhältnis der verbrauchten Natronlauge wird der Methylierungsgrad bestimmt (FOOD CHEMICALS CODEX, 1972). Diese Methode stellt in der Industrie die Standardmethode zur Bestimmung des Methylierungsgrads dar. Nachteilig ist aber, dass eine hohe Probenmenge (mind. 5 g) benötigt wird und dass durch Hydrolyse unter alkalischen Bedingungen Acetylgruppen oder Matrixbestandteile ebenfalls freigesetzt werden können. Diese Verbindungen werden im zweiten Titrationsschritt miterfasst und folglich der Methylierungsgrad überbestimmt (MÜLLER-MAATSCH *et al.*, 2014).

Die Bestimmung des Galacturonsäuregehalts erfolgt meist photometrisch nach vorheriger Freisetzung der Monomereinheiten. Eine säurehydrolytische Behandlung mit Schwefelsäure ist vorteilhaft, um das Zellwandmaterial aufzulockern und so die Zugänglichkeit zu erhöhen (SCOTT, 1979). Anders können die Galacturonsäureeinheiten auch durch eine enzymatische Hydrolyse mit

pektinabbauenden Enzymen freigesetzt werden (RUMPUNEN *et al.*, 2002). Hierfür muss eine vollständige Zugänglichkeit der Pektine für die Enzyme gewährleistet sein. Die Detektion der Galacturonsäure kann durch Umsetzung mit Chromogenen wie dem 3-Phenylphenol erfolgen. Dafür werden die freigesetzten Galacturonsäuren unter sauren Bedingungen zu Furanen abgebaut und diese mit dem Farbreagenz 3-Phenylphenol zu einem farbigen Komplex umgesetzt (BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANSEN, 1973). Der Reaktionsmechanismus dahinter ist bislang nicht vollständig aufgeklärt. Nachteilig bei dieser Bestimmung ist u.a. die Anwesenheit von Neutralzuckern, da diese während des Erhitzens und in Abwesenheit des Farbreagenz ebenfalls zu farbigen Produkten umgesetzt werden können und so mit dem Komplex interferieren. Die Mitführung eines Blindwertes ohne Farbreagenz kann diesen Einfluss herausmitteln. Weiter kann anwesende Glucuronsäure miterfasst werden. In der Regel muss somit eine Überbestimmung des Galacturonsäuregehalts in Betracht gezogen werden (GARNA *et al.*, 2006). Die Freisetzung der Galacturonsäuren ist ein weiterer entscheidender Faktor für ihre Quantifizierung. Die Anwendung einer HPLC-bzw. HPAEC-Methode zur Bestimmung freigesetzter Galacturonsäure weist dadurch auch eben diese Limitierung auf (GARNA *et al.*, 2006). Daher wurde die Bestimmung des Galacturonsäuregehalts nach der in der Literatur beschriebenen Standardmethode von BLUMENKRANTZ und ASBOE-HANSEN sowie mit einer Vorhydrolyse mittels Schwefelsäure für alle Probenmaterialien durchgeführt (siehe Abschnitt 8.8).

In der Literatur gibt es verschiedene Ansätze zur Quantifizierung des Methanol- und Essigsäuregehalts. Die meisten Methoden basieren auf der alkalischen Hydrolyse der jeweiligen Esterbindungen. Die Konzentrationen an freigesetztem Methanol und Essigsäure können u.a. mittels HPLC (VORAGEN *et al.*, 1986), einer *Headspace*-GC-Analyse (HUISMAN *et al.*, 2004) oder  $^1\text{H}$ -NMR Spektroskopie (MÜLLER-MAATSCH *et al.*, 2014) bestimmt werden. Ein Vorteil der NMR-spektroskopischen Methoden ist die direkte Quantifizierung der Analyten nach Verseifung in deuteriertem Lösungsmittel ohne die Durchführung einer Kalibrierung, bei Verwendung einer internen Standardsubstanz. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Signale für Methanol ( $\delta=3,3$  ppm) und Essigsäure ( $\delta=1,8$  ppm) liegen gut aufgelöst im Hochfeld und können daher empfindlich detektiert werden (MÜLLER-MAATSCH *et al.*, 2014). Dies ist ein großer Vorteil gegenüber anderen Methoden. Die Bestimmung mit einer *Headspace*-GC-Analyse weist eine geringere Empfindlichkeit als die  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopische Methode, auf und die Reproduzierbarkeit der Messung hängt von verschiedenen Faktoren wie der Durchmischung der Proben oder der Temperatur ab. Des Weiteren wurde bei der Anwendung von HPLC-Methoden mit RI-Detektion von Koelutionen

anderer Komponenten berichtet (VORAGEN *et al.*, 1986; MESTER *et al.*, 2001; LEVIGNE *et al.*, 2002). Daher wurden die Methanol- und Essigsäureanteile mittels  $^1\text{H-NMR}$  Spektroskopie bestimmt (vgl. Abschnitt 8.8).

### 3.4.4 MOLEKULARGEWICHTSVERTEILUNG DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFPOLYMERE

Die Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung löslicher Polysaccharide findet in der Literatur beispielsweise auch Anwendung, um Veränderungen in den Strukturen nach Verarbeitungsschritten wie z.B. dem Blanchieren von Gemüse oder dem Gefrieren bzw. Auftauen zu erkennen (SVANBERG *et al.*, 1995). In dieser Arbeit wurde die Molekulargewichtsverteilung der LBS bestimmt, um Veränderungen der Polysaccharide obst- und gemüsebasierter Nebenströme durch die thermomechanische Behandlung aufzuzeigen.

Das Prinzip der Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung mittels HPSEC basiert auf der Trennung der Moleküle nach ihrem hydrodynamischen Volumen. Die poröse Struktur der eingesetzten stationären Phase erlaubt den Eintritt kleinerer Moleküle in die Poren und verlängert somit deren Retentionszeit. Für große Moleküle ist eine Diffusion in die Poren nicht möglich, weshalb diese früher eluieren.

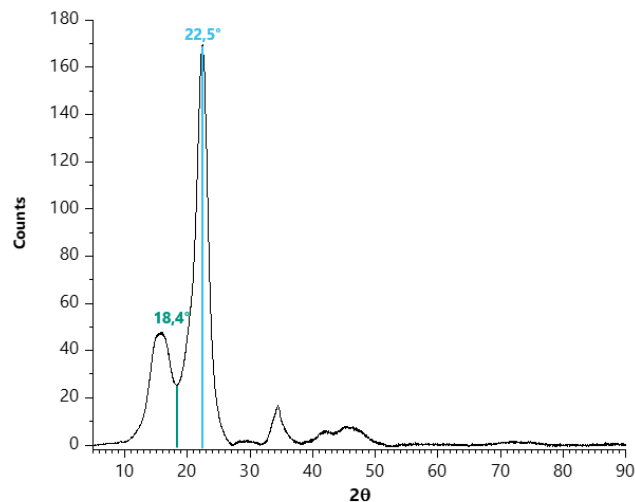
Als Eluent wird bei Polysacchariden mit geladenen funktionellen Gruppen, wie Pektin, u.a. Natriumnitrat verwendet, um elektrostatische Wechselwirkungen, welche die bestimmte Molekülgröße durch Aggregation beeinflussen können, zu unterdrücken. Zur Detektion können konzentrationsabhängige RI- oder Mehrwinkel-Lichtstreuungs-Detektoren zur absoluten Bestimmung eingesetzt werden. Bei konzentrationsabhängigen Detektoren werden Dextrane oder Pullulane oft als Marker zur Abschätzung des Molekulargewichtes verwendet (SVANBERG *et al.*, 1995; GÓMEZ-ORDÓÑEZ *et al.*, 2012; HE *et al.*, 2018). Es muss dabei beachtet werden, dass heterogene Polysaccharidstrukturen, wie beispielsweise in Ballaststoffen, nicht denen von Dextranen oder Pullulanen entsprechen und das Molekulargewicht daher nur abgeschätzt werden kann.

Die Durchführung der hier angewendeten Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung der LBS mittels HPSEC und RI-Detektion ist in Abschnitt 8.9 beschrieben. Zur Einschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane als Standardsubstanzen eingesetzt.



### 3.4.5 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

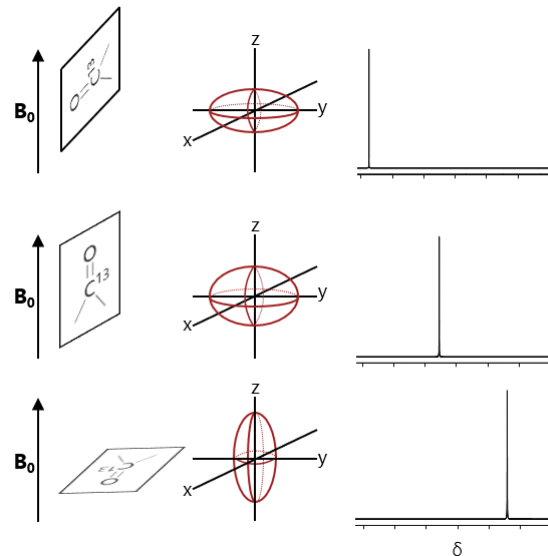
Der Grad der Kristallinität von Cellulose ist ein Parameter zur Einschätzung des Einflusses der thermomechanischen Behandlung auf die Strukturen der Zellwandpolysaccharide. Die Cellulosekristallinität kann über Röntgenbeugung (*X-Ray Diffraction* - XRD) oder mittels  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR Spektroskopie ermittelt werden. XRD-Messungen basieren auf der konstruktiven Interferenz reflektierter Röntgenstrahlung an Kristallgittern. Durch die regelmäßige Anordnung im Kristall kann die Strahlung an verschiedenen Ebenen im Gitter gebeugt werden. Hierzu werden in einer Röntgenröhre Elektronen von einer Kathode auf eine Anode, welche meist aus Kupfer besteht, beschleunigt. Die Röntgenstrahlung trifft dann als Bremsstrahlung auf die Probe. Durch Drehung der Proben werden unterschiedliche Einfallswinkel der Strahlung erzeugt und mit einem Detektor kann festgestellt werden, bei welchem Winkel die gebeugte Strahlung konstruktiv interferiert. Dies gilt nur, wenn der Gangunterschied zweier benachbarter Teilstrahlen ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge ist, da es sonst zur Auslöschung der Wellen kommt. Der Grad der Kristallinität kann daraufhin anhand des Röntgen (*X-Ray*–XR)-Diffraktogramms bestimmt werden. Ein Beispiel für ein XR-Diffraktogramm von Cellulose ist in Abbildung 10 dargestellt. Zur Auswertung wird meist die Methode nach SEGAL und Kollegen angewendet. Die Peakhöhen bei den Winkeln ( $2\theta$ )  $18,4^\circ$  und  $22,5^\circ$  werden dabei ins Verhältnis gesetzt. Es wird davon ausgegangen, dass der Scheitelpunkt bei  $18,4^\circ$  dem Maximum des Peaks der amorphen Cellulose entspricht (SEGAL *et al.*, 1959). Das Signal bei  $22,5^\circ$  wird stellvertretend für alle kristallinen Strukturen gewählt, und die Peakhöhe wird bestimmt. Ein Nachteil an dieser Methode ist somit, dass nicht alle Peaks kristalline Cellulose mit einbezogen werden, d.h. andere Peaks im Spektrum entsprechen auch kristallinen Strukturen. Weiter konnte in der Literatur gezeigt werden, dass das Maximum des amorphen Untergrundsignals abhängig vom Ursprung der Cellulose variiert (PARK *et al.*, 2010). Um das exakte Maximum und damit den Winkel  $2\theta$  der amorphen Cellulose für das zu analysierende Probenmaterial zu erhalten, könnten die Proben in einer Kugelmühle behandelt werden. Diese Behandlung führt zum Abbau der kristallinen Bereiche der Cellulose und durch Aufnahme von Spektren des nun amorphen Materials kann das spezifische Maximum bestimmt werden (LING *et al.*, 2019).



**Abbildung 10: Röntgenbeugungsdiffraktogramm von Cellulose mit den charakteristischen Winkeln ( $2\theta$ ) für amorphe Cellulose ( $18,4^\circ$ , grün gefärbte Linie) und kristalline Cellulose ( $22,5^\circ$ , hellblau gefärbte Linie)**

$^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR Spektroskopie wurde einst zur Charakterisierung der Feinstruktur bzw. zur Identifizierung der Kristallgittermodifikationen von Cellulose angewendet (ATALLA *et al.*, 1980). Eine große Herausforderung in der Festkörper-NMR Spektroskopie ist es, gut aufgelöste Spektren zu erhalten, da im Vergleich zur NMR Spektroskopie von Flüssigkeiten andere Wechselwirkungen zum Tragen kommen. So hängt das Resonanzsignal eines Atomkerns im Wesentlichen von seiner Stellung im Molekül, der Art und Anzahl seiner Nachbaratome, der Art und Beweglichkeit der chemischen Bindung sowie von den Bindungswinkeln ab. Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen den magnetischen Kernmomenten von  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Kernspins führen zu breiten Linien im Spektrum in Bereichen von mehreren Kilohertz. Das lokale Magnetfeld eines Kerns wird dabei in Abhängigkeit vom Kern-Kern-Abstand von den Magnetfeldern des Nachbarspins beeinflusst und damit auch seine Resonanzfrequenz. Die Stärke der dipolaren Kopplung hängt direkt vom Abstand der Kerne ab und wird als eine „durch den Raum“ wirkende Wechselwirkung bezeichnet. Weiter hängt diese von der Orientierung bzw. dem Winkel ( $\theta$ ) des Kern-Kern-Vektors relativ zum äußeren Magnetfeld ab. Dies hat auf die NMR Spektroskopie von Flüssigkeiten keinen Einfluss, da sich die Moleküle in Flüssigkeiten schneller umorientieren, sodass die mathematische Beziehung  $(3\cos^2\theta-1)$ , die diesen Zusammenhang beschreibt, herausgemittelt wird und der Term gegen Null geht. In Festkörpern bleibt der Vektor aber zeitlich unverändert, sodass die Resonanzfrequenz von der relativen Orientierung zum Magnetfeld bestimmt wird. Die aus dieser Wechselwirkung resultierende schlechte Auflösung lässt sich zum einen über eine heteronukleare dipolare Entkopplung eliminieren oder durch die Ausrichtung des Kern-Kern-Vektors im sogenannten

magischen Winkel zum äußeren Magnetfeld. Die heteronukleare dipolare Entkopplung basiert auf der kontinuierlichen Einstrahlung von Radiofrequenzpulsen. Die Spins der  $^1\text{H}$ -Kerne klappen permanent um, sodass die mittlere Orientierung der magnetischen Momente und somit auch die dipolare Kopplung gegen Null geht. Die Spektren werden darauf hin nur noch durch die Anisotropie der chemischen Verschiebung beschrieben (VOELKEL, 1988; LAWS *et al.*, 2002).



**Abbildung 11: Schematische Darstellung der Auswirkung der Anisotropie der chemischen Verschiebung auf die Resonanzfrequenz eines Carbonyl-C-Atoms abhängig von der Orientierung und der Elektronendichte relativ zum äußeren Magnetfeld ( $B_0$ ), modifiziert nach LAWS *et al.* 2002**

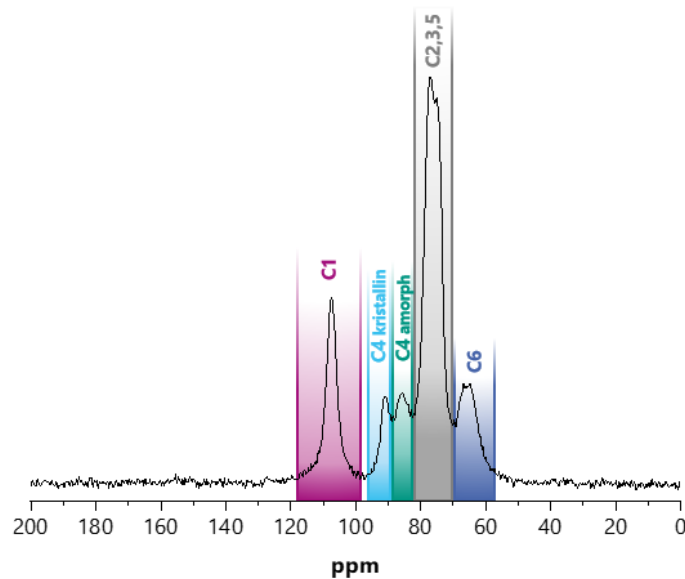
Bei der Anisotropie der chemischen Verschiebung handelt es sich um eine richtungsabhängige Größe. Ein äußeres Magnetfeld wirkt sich auch auf die Elektronenspins eines Atoms aus und induziert einen Kreisstrom von Elektronen, wodurch ein weiteres lokales Magnetfeld erzeugt wird. Dies beeinflusst wiederum das vom Atomkern wahrgenommene Magnetfeld und damit auch die Resonanzfrequenz. Das Ausmaß der Beeinflussung hängt von der Orientierung der Elektronenwolke und somit von der Orientierung des Moleküls zum äußeren Magnetfeld ab. Diese liegt selten sphärisch-symmetrisch vor, sondern oft ellipsoid (vgl. Abbildung 11). Somit ist die Abschirmung der Kerne, welche sich in nicht in einer symmetrischen Umgebung befinden, nicht in alle Richtungen gleich. Eine senkrechte Ausrichtung zum äußeren Magnetfeld führt zu einer Verschiebung der Resonanzsignale ins Hochfeld, während das Signal einer horizontalen Elektronenwolke ins Tieffeld verschoben ist (vgl. Abbildung 11). Auch dieser Parameter hat keinen Einfluss bei der Durchführung der NMR Spektroskopie in Flüssigkeiten, da die Brown'sche Molekularbewegung für eine weitgehende Ausmittelung des anisotropen Effektes sorgt. Die schnelle und zufällige Bewegung der Moleküle lässt eine symmetrische Ladungsverteilung erscheinen. Dieser Effekt kann bei der Festkörper-NMR Spektroskopie wie bei den Dipol-Dipol-

Wechselwirkungen durch die Ausrichtung des Kern-Kern-Vektors im magischen Winkel verringert werden. Beim sogenannten *Magic Angle Spinning* (MAS) wird die Probe in einem Winkel von  $54,74^\circ$  zum äußeren Magnetfeld rotiert. Eine schnelle Rotation der Probe um eine Achse simuliert die isotropierende molekulare Bewegung und reduziert damit die Linienbreite. Der Winkel von  $54,74^\circ$  lässt die mathematische Beziehung  $(3\cos^2\theta-1)$  der dipolaren Kopplung gegen Null gehen. Weiter folgt, dass bei hinreichend schneller Rotation im zeitlichen Mittel alle Vektoren in der Probe den Winkel  $54,74^\circ$  einnehmen, sodass anisotrope Wechselwirkungen sowohl der Kerne untereinander, als auch zwischen den Kernen und dem äußeren Magnetfeld unwirksam werden. Hierzu sind Rotationsfrequenzen im Bereich von 4 kHz bis 7 kHz notwendig (VOELKEL, 1988; LAWS *et al.*, 2002).

$^{13}\text{C}$ -Kerne sind aufgrund der geringen Häufigkeit von 1,1 % und ihres kleinen gyromagnetischen Verhältnis relativ unempfindliche Kerne. Die daraus resultierende geringere Signalintensität kann mit dem Kreuzpolarisationsexperiment (*Cross Polarisation* – CP) verbessert werden. Hierbei wird die Magnetisierung häufiger Kerne ( $^1\text{H}$ ) auf die der seltenen Kerne ( $^{13}\text{C}$ ) übertragen. Durch Einstrahlen eines  $90^\circ_x$ -Pulses wird die Magnetisierung der  $^1\text{H}$ -Spins in die x,y-Ebene gebracht. Anschließend erfolgt das gleichzeitige Einstrahlen zweier Hochfrequenzfelder mit der  $^1\text{H}$ -Spin- und  $^{13}\text{C}$ -Spin-Resonanzfrequenz für die Dauer einer Kontaktzeit  $\tau_{\text{CP}}$  in y-Richtung (*Spinlock*). Dies kommt einer Fixierung beider Magnetisierungen im rotierenden Koordinatensystem gleich. Typische Kontaktzeiten liegen zwischen 100  $\mu\text{s}$  und 10 ms. Die  $^{13}\text{C}$ -Spins werden nach Abschalten des *Spinlocks* bei entkoppelten  $^1\text{H}$ -Spins aufgenommen. Das verbesserte Signal-zu-Rausch-Verhältnis kommt durch das gyromagnetische Verhältnis des  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Spinpaares zustande, worüber eine vierfache Signalverstärkung erreicht werden kann. Weiter wird eine Verstärkung erzielt, da Protonen schneller relaxieren als andere Kerne und die Akquisitionszeit von der Relaxationszeit des Kerns abhängt, der die Magnetisierung überträgt. Damit können mehr Spektren pro Zeiteinheit akkumuliert werden. Erst die Kombination der Techniken MAS, CP sowie der heteronuklearen dipolaren Entkopplung ermöglichen es, hochaufgelöste Festkörper-NMR Spektren zu erhalten (VOELKEL, 1988; LAWS *et al.*, 2002).

Ein Beispiel für ein  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektrum von Cellulose ist in Abbildung 12 gezeigt. Die Umgebung eines  $^{13}\text{C}$ -Atomkerns der Cellulose wird nicht nur von der Art der chemischen Bindung und der benachbarten Atomkerne bestimmt, sondern auch von den Torsionswinkeln der glykosidischen Bindung, dem Rotationswinkel des C6-Atoms und den

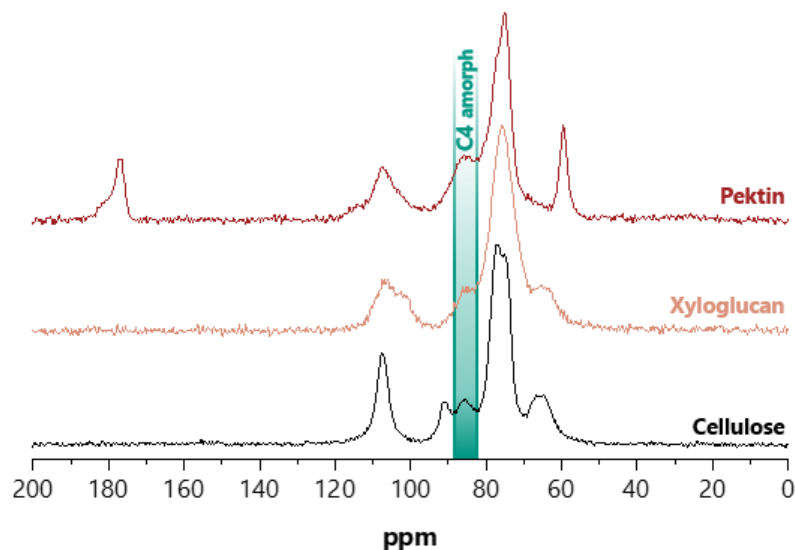
Wasserstoffbrückenbindungen. Somit sind die Signale von der lokalen Konformation und der übermolekularen Anordnung abhängig (KUNZE & FINK, 1999).



**Abbildung 12: Signalzuordnung der Anhydroglucosekohlenstoffatome in einem <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR Spektrum von Cellulose.** CP: Cross Polarisation, MAS: Magic Angle Spinning, NMR: Kernspinresonanz

In einem <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR Spektrum von Cellulose sind in der Regel fünf bzw. auch teilweise sechs Signale zu erkennen. Die Resonanzen der Kohlenstoffatome C2,3,5 der Anhydroglucose überlagern sich stark und liefern ein breites Signal im Bereich von 69-82 ppm. Das Signal des C1-Atoms liegt isoliert bei 107 ppm vor. Die zwei Signale bei 85 ppm und 91 ppm können den C4-Atomen zugeordnet werden. Das ins Tieffeld verschobene Signal entspricht den C4-Atomen aus kristalliner Cellulose. Kristalline und amorphe Cellulose befinden sich in magnetisch nicht äquivalenter Umgebung und somit kann die Resonanzfrequenz der Atome unterschiedlich sein. Die Signale des C1-Atoms sowie der C2,3,5-Atome sind überlagert und daher sind keine isolierten Signale für kristalline und amorphe Domänen zu erkennen. Auflösungsabhängig ist eine Unterscheidung des C6-Atoms (65 ppm) möglich, was jedoch in Abbildung 12 nicht zu erkennen ist. Zur Bestimmung der Cellulosekristallinität können die Integrale der beiden C4-Signale ins Verhältnis gesetzt werden und damit der Grad der Kristallinität bestimmt werden (ATALLA *et al.*, 1980; ATALLA & VANDERHART, 1984; WICKHOLM *et al.*, 1998). In der Literatur wurde diese Analyse überwiegend für Reinsubstanzen oder cellulosereiche Matrices wie beispielsweise Holz angewendet. Bei anderen pflanzlichen Proben können die Signale insbesondere das C4-Signal amorpher Cellulose, durch weitere Polysaccharide wie Xyloglucane oder Pektine überlagert sein (vgl. Abbildung 13). Die Spektren können somit nicht zur Auswertung und Interpretation der Feinstruktur herangezogen werden, da der Kristallinitätsgrad unterbestimmt werden würde. Es ist

daher notwendig, störende Matrixkomponenten zu entfernen, ohne dabei die Struktur der Cellulose zu verändern. Zum Abbau der Strukturen können prinzipiell verschiedene hemicellulosespaltende oder pektinolytische Enzyme verwendet werden. Hierbei muss jedoch sichergestellt werden, dass die Enzyme keine Nebenaktivitäten gegenüber Cellulose zeigen. Weiter müssten aufgrund der strukturellen Vielfalt der Polysaccharide in pflanzlichen Matrices verschiedene Enzyme zum Einsatz kommen, die jeweils bei unterschiedlichen Bedingungen aktiv sind. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass nicht alle Zellwandpolysaccharide vollständig enzymatisch abgebaut werden können. In der Literatur wird daher alternativ eine milde Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure und Natriumhydroxid unter Hitze vorgeschlagen oder ein Gemisch aus Essig- und Salpetersäure, um störende Komponenten abzubauen (UPDEGRAFF, 1969; REZENDE *et al.*, 2011).



**Abbildung 13:** <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR Spektren von Cellulose, Xyloglucan und Pektin mit Markierung des amorphen C4-Atoms der Anhydroglucose aus Cellulose. CP: Cross Polarisation, MAS: Magic Angle Spinning, NMR: Kernspinresonanz

Für die in dieser Dissertation durchgeführten <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR spektroskopischen Messungen wurden verschiedene Konzentrationen an Schwefelsäure und Natriumhydroxid sowie verschiedene Behandlungszeiten bei 120 °C an Apfeltrester getestet. Das Essig- und Salpetersäuregemisch wurde nicht getestet, da in der Literatur gezeigt wurde, dass hier der Polysaccharidabbau nicht vollständig erfolgt und weiter wurde auch nicht gezeigt, dass die Struktur der Cellulose nicht durch das Reagenz beeinflusst wird (GARTAULA *et al.*, 2018). Die Vollständigkeit des Nicht-Cellulose-Polysaccharidabbaus wurde nach Neutralisierung der Schwefelsäure und Natronlauge sowie Trocknung des Materials anhand der Monosaccharidzusammensetzung überprüft (Durchführung vgl. Abschnitt 8.5

Schwefelsäurehydrolyse). Die jeweiligen Bedingungen und die entsprechenden Ergebnisse der Monosaccharidzusammensetzung sind in Tabelle A1 (Anhang) gezeigt. Für die Proben wurde eine Behandlung mit 1,0 % Schwefelsäure und 4,0 % Natriumhydroxidlösung für jeweils 60 min bei 120 °C ausgewählt. Die genaue Aufarbeitung des Materials ist in Abschnitt 8.10 beschrieben. Da unter den gewählten Bedingungen noch bis zu 4,6 mol% Xylose enthalten war, sind vermutlich noch Xyloglucane vorhanden. Auch eine zusätzliche Inkubation mit einer Xyloglucanase brachte keine weitere Reduktion des Xyloseanteils. Xyloglucane können u.a. in den Cellulosefibrillen interkaliert vorliegen, sodass sie nur beim Abbau der Cellulosestrukturen freigesetzt werden. Es muss daher bei der Interpretation der Daten, insbesondere bei xyloglucanreichen Materialien wie Apfeltrester, berücksichtigt werden, dass das Signal des amorphen C4-Atoms überlagert sein kann und somit der Kristallinitätsgrad unterbestimmt wird.

Zur Überprüfung einer möglichen strukturellen Modifikation der Cellulose im Rahmen der Vorbehandlung wurde sie unter den oben genannten Bedingungen behandelt, ein  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektrum aufgenommen und mit dem Spektrum eines unbehandelten Standards verglichen. Dabei konnte kein Unterschied zwischen den Spektren gefunden werden. Somit ist davon auszugehen, dass unter den verwendeten Bedingungen der Aufarbeitung die Struktur der Cellulose nicht verändert wurde. Die Akquisitionsparameter für die  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektroskopie sowie die Prozessierungsparameter und die Berechnungsformel für die Cellulosekristallinität sind in Abschnitt 8.10 beschrieben. Zur Absicherung der Ergebnisse wurden zusätzlich XRD-Messungen von Cellulose, Karottentrester sowie einem extrudierten Karottentrester ( $w_{\text{H}_2\text{O}}$  25 %,  $n$  1000 1/min) am Institut für Funktionelle Grenzflächen in der Abteilung für Chemie oxydischer und organischer Grenzflächen des Karlsruher Instituts für Technologie durchgeführt.

## 3.5 ANALYSE VON PFLANZLICHEN SEKUNDÄRMETABOLITEN

### 3.5.1 NIEDERMOLEKULARE (POLY)PHENOLISCHE VERBINDUNGEN

Der Gesamtpolyphenolgehalt wird in der Literatur oftmals durch den Einsatz des Folin-Ciocalteu-Reagenz bestimmt, bei dem es sich u.a. um eine Mischung aus Natriummolybdat und Natriumwolframat handelt. Das Prinzip der Methode beruht auf der Reaktion des Reagenz mit phenolischen Verbindungen unter alkalischen Bedingungen zu gefärbten Komplexen, welche Licht einer Wellenlänge von 765 nm absorbieren (FOLIN & CIOALTEU, 1927). Die Methode wurde ursprünglich zur Bestimmung von Tyrosin entwickelt, wird aber heutzutage oft zur Bestimmung

des Gesamtpolyphenolgehalts in verschiedenen Lebensmitteln eingesetzt (FOLIN & CIOCALTEU, 1927; EVERETTE *et al.*, 2010). Nachteilig an dieser Methode ist, dass aufgrund der geringen Spezifität des Reagenz der Polyphenolgehalt oft überbestimmt wird. In einer Studie von EVERETTE und Kollegen wurden über 80 verschiedene Substanzen auf ihre Reaktivität gegenüber dem Folin-Ciocalteu-Reagenz analysiert, wozu u.a. Vitamine, Proteine, organische Säuren und ungesättigte Fettsäuren zählten. Ascorbinsäure sowie Vitamin A- und Vitamin E-Derivate zeigten dem Reagenz gegenüber eine erhöhte Reaktivität, sodass Korrekturfaktoren bei hohen Vitamin C-Gehalten vorgeschlagen werden (EVERETTE *et al.*, 2010). Weiter können auch andere reduzierende Komponenten, wie beispielsweise Produkte, welche aus der Maillard-Reaktion resultieren, die Spezifität des Folin-Ciocalteu-Reagenz beeinflussen (YILMAZ & TOLEDO, 2005; WHITE *et al.*, 2010). Trotz der geringen Spezifität wird die Folin-Ciocalteu-Methode bis heute oft als eine Standardmethode zur Bestimmung des Gesamtpolyphenolgehalts aufgeführt (KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; CEYMANN *et al.*, 2011; AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012). Neben dieser Methode gibt es flüssigchromatographische Methoden, um die Gesamtpolyphenole, aber auch einzelne Polyphenole getrennt voneinander, quantifizieren zu können. Die Extraktion erfolgt oft im wässrigen Medium, mit Ethylacetat, Methanol oder Aceton. Aufgrund des ausgeprägten  $\pi$ -Elektronen-Systems von Polyphenolen eignen sich zusätzlich zu MS-Detektoren auch Diodenarraydetektoren (DAD) zur Kopplung mit der LC (SCHIEBER *et al.*, 2001a; KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; CEYMANN *et al.*, 2011; AGUEDO *et al.*, 2012; CEYMANN *et al.*, 2012). Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Polyphenole nach der im Arbeitskreis etablierten Methode von Dr. Andreas Becker bestimmt. Nach Ultraschallbehandlung der Probenmaterialien in Methanol mit 5 % Ameisensäure (zur Stabilisierung der Extrakte) erfolgte die chromatographische Bestimmung der Analyten mittels Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie (*Ultra High Performance Liquid Chromatography* – UHPLC)-DAD bei den jeweils spezifischen Wellenlängen. Aufgrund von Matrixeinflüssen bei der Analyse von Apfelproben wird bei diesen die Kalibrierung in einer Leermatrix durchgeführt. Diese setzte sich aus den Hauptkomponenten eines Apfels, wie organischen Säuren und Zuckern, zusammen (BECKER, 2019). Da bei den Kartoffelproben kein Matrixeinfluss festgestellt wurden, erfolgte hier keine separate Bestimmung in einer Leermatrix. Die Durchführung sowie die Zusammensetzung der Leermatrix für die Apfelproben sind in Abschnitt 8.11 aufgeführt.



### 3.5.2 GLYKOALKALOIDE

Bei der Bestimmung von Glykoalkaloiden kann zwischen Methoden zur Erfassung des Gesamtglykoalkaloidgehalts oder zur Quantifizierung einzelner Analyten unterschieden werden. Die analytischen Methoden zur Einzelbestimmung begrenzen sich oft auf die mengenmäßig bedeutendsten Analyten in der Kartoffel,  $\alpha$ -Solanin und/oder  $\alpha$ -Chaconin.

Als Extraktionsmittel für Glykoalkaloide aus Kartoffelproben wird häufig verdünnte Essigsäure verwendet (BUSHWAY & PONNAMPALAM, 1981; FRIEDMAN *et al.*, 1998; LAURILA *et al.*, 1999; SOTELO & SERRANO, 2000; NIELSEN *et al.*, 2020).

Abhängig von der darauffolgenden Analysenmethode sind noch weitere Aufreinigungsschritte oder eine Derivatisierung notwendig. Die Analyse mittels GC erfordert die Derivatisierung der Analyten, da Glykoalkaloide nicht flüchtig sind. Nach Extraktion mit 5 % Essigsäure wird das Aglykon säurehydrolytisch abgespalten und mit Silylierungsreagenzien zur Erhöhung der Flüchtigkeit derivatisiert. Analysiert werden kann hierbei nur der Gesamtglykoalkaloidgehalt, da  $\alpha$ -Solanin oder  $\alpha$ -Chaconin beispielsweise mit Solanidin das gleiche Aglykon aufweisen und daher zwischen den beiden Analyten nicht mehr unterschieden werden kann. Die Zuordnung der GC-Signale kann mittels MS über fragmentspezifische Masse zu Ladungs-Verhältnisse ( $m/z$ ) erfolgen (LAURILA *et al.*, 1999). Für die Bestimmung des Gesamtglykoalkaloidgehalts können auch *Enzyme-linked Immunosorbent Assays* (ELISA) angewendet werden. Bei dieser Methode handelt es sich um ein enzymgekoppeltes, immunologisches Nachweisverfahren. Zur Bestimmung wird oft der kompetitive ELISA eingesetzt, bei dem verschiedene Antigene um einen Antikörper in Konkurrenz treten. Hierbei bindet der Analyt (Antigen) an einen geeigneten Antikörper. Durch Zugabe mit einem Meerrettichperoxidase-markiertem Solanidin-Konjugat konkurrieren nun der Analyt und das Konjugat um eine begrenzte Anzahl Antikörperbindungsstellen. Bindet das Konjugat an den Antikörper, kann durch Zugabe eines Substrates elektromagnetische Strahlung im sichtbaren Bereich freigesetzt werden. Je mehr Substrat an den Antikörper gebunden ist, desto stärker ist die Lichtintensität. Dies ist durch eine enzymatische Reaktion zwischen dem Konjugat und Substrat möglich. Der Gesamtglykoalkaloidgehalt ist somit umgekehrt proportional zur Intensität der Farbreaktion. Nachteilig bei der Anwendung dieses Verfahrens ist, dass es zu Kreuzreaktionen strukturähnlicher Analyten kommen kann. So berichten FRIEDMAN und Kollegen von einer doppelt so hohen Reaktivität der Hydrolyseprodukte von  $\alpha$ -Chaconin gegenüber dem Antikörper als von  $\alpha$ -Chaconin selbst. Es wird daher empfohlen, dass jegliche strukturähnliche Verbindung in Form von Blindwerten auf ihre Reaktivität getestet werden sollte (FRIEDMAN *et al.*, 1998). Zur

Quantifizierung einzelner Analyten, wie  $\alpha$ -Solanin oder  $\alpha$ -Chaconin, hat sich eine Trennung über eine HPLC mit einer Detektion im ultravioletten (UV) Bereich oder mittels MS etabliert. Die Verwendung von UV-Detektoren bedarf einer aufwändigen Extraktion bzw. Extraktreinigung, da Glykoalkaloide Licht in einem Wellenlängenbereich von 200-208 nm absorbieren, was einem Bereich entspricht, in dem viele andere Verbindungen ebenfalls Strahlung absorbieren. Zur Erhöhung der Selektivität werden die Glykoalkaloide nach Behandlung der Probe mit verdünnter Essigsäure mit einer Ammoniumhydroxid-Lösung bei pH 10-11 ausgefällt. Eine wiederholte Behandlung des Überstandes mit wassergesättigtem Butanol führt zum vollständigen Ausfällen aller Analyten. Besonders  $\alpha$ -Chaconin kann ohne diese Zugabe teilweise noch gelöst vorliegen. Nach Evaporation und Aufnahme in Lösungsmitteln wie Methanol, Acetonitril oder Tetrahydrofuran können die Analyten  $\alpha$ -Solanin oder  $\alpha$ -Chaconin selektiv quantifiziert werden (BUSHWAY & PONNAMPALAM, 1981; SOTELO & SERRANO, 2000). Neben dem zusätzlichen Ausfällungsschritt können die Analyten von störenden Matrixkomponenten mittels Festphasenextraktion an C18-Sorbentien abgetrennt (FRIEDMAN & DAO, 1992; KNUTHSEN *et al.*, 2009). Bei der Anwendung von LC-MS basierten Methoden bedarf es gegenüber den HPLC-Methoden mit UV-Detektion einer weniger aufwändigen Probenaufarbeitung, da die Analyten über Ionen spezifischer  $m/z$  identifiziert und selektiv quantifiziert werden können. Die Ionisierung erfolgt dabei mittels Elektrosprayionisation (ESI) im positiven Modus, und die Analyten werden als  $[M-H]^+$ -Addukte detektiert. Zur Protonierung sind dabei Additive wie Ameisensäure in niedrigen Konzentrationen (0,1-1 %) üblich (MATSUDA *et al.*, 2004; NIELSEN *et al.*, 2020). Des Weiteren können bei der MS verschiedene Modi verwendet werden. Hierbei gibt es zum einen den *Full Scan*, bei welchem ein bestimmter Massenbereich gescannt wird. Zum anderen kann ein *Selected Ion Monitoring* (SIM) eingesetzt werden, um Ionen ausgewählter  $m/z$  zu betrachten. Die Empfindlichkeit im SIM-Modus ist gegenüber dem *Full Scan* deutlich erhöht, da mehr Datenpunkte für ein  $m/z$  aufgenommen werden können, als wenn ein definierter Bereich innerhalb der gleichen Zeit gescannt wird. Im Rahmen der hier durchgeführten Arbeit wurde daher eine UHPLC-ESI-MS Methode in Anlehnung an MATSUDA und Kollegen sowie NIELSEN und Kollegen entwickelt (vgl. Abschnitt 8.12). Die Probenaufarbeitung wurde auf die Matrix der Kartoffelpülpe anpasst und validiert, was im Nachfolgenden genauer erläutert wird.

### 3.5.2.1 ENTWICKLUNG EINER UHPLC-ESI-MS-METHODE

#### 3.5.2.1.1 ENTWICKLUNG DER CHROMATOGRAPHISCHEN UND MASSENSPEKTROMETRISCHEN PARAMETER

Die Entwicklung der Parameter zur chromatographischen Trennung der Analyten  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin erfolgte in Anlehnung an NIELSEN und Kollegen (2020). Die Trennung wurde auf einer Umkehrphasen C18-Säule durchgeführt (Phenomenex Luna Omega Polar C18, 150 x 2,1 mm, 1,6  $\mu$ m). Die Trennleistung konnte durch eine Säule mit einer Partikelgröße von 1,6  $\mu$ m im Vergleich zu 2,6  $\mu$ m verbessert werden. Des Weiteren wurde die Retentionszeiten dadurch verkürzt. Als Eluenten wurden Wasser und Acetonitril mit Zusatz von jeweils 0,1 % Ameisensäure gewählt, was, im Vergleich zu einer Elution ohne Säurezusatz, zu schmalere Peaks führte und die Auflösung verbesserte. Die Anfangsbedingungen wurden auf 26 % Acetonitril mit 0,1 % Ameisensäure festgelegt (Flussrate 0,5 mL/min) für 7 min gehalten und daraufhin um 2 vol% für eine Minute erhöht, was zur getrennten Elution der beiden Analyten führte. Mit den hier angewendeten Bedingungen und der verwendeten Säule konnte im Vergleich zu NIELSEN und Kollegen (2020) eine verkürzte Analysenzeit erreicht werden.

Die Ionisierung der Analyten erfolgte mittels ESI im positiven Modus. Detektiert wurden die  $m/z$  der Analytionen als  $[M-H]^+$ -Addukte im SIM-Modus, zur Erhöhung der Empfindlichkeit der Methode. Weiter konnte diese durch Erhöhung der Temperaturen der Desolvationslinie von standardmäßig 250 °C auf 300 °C sowie der des Heizblocks von 200 °C auf 250 °C verbessert werden, da die Ionenintensität zunahm. Eine weitere Verbesserung konnte durch Erhöhung des Trocknungsgasfluss von 15 L/min auf 20 L/min erzielt werden.

#### 3.5.2.1.2 PROBENAUFARBEITUNG

Die Probenaufarbeitung wurde für Kartoffelpülpe an die von MATSUDA und Kollegen sowie NIELSEN und Kollegen beschriebenen Extraktionen angepasst (MATSUDA *et al.*, 2004; NIELSEN *et al.*, 2020). Als Extraktionsmittel wurde 5 % Essigsäure verwendet. Es wurden verschiedene Extraktionszeiten unter ständigem Schütteln sowie verschiedene Zentrifugationstemperaturen überprüft (vgl. Tabelle 7).

**Tabelle 7: Verschiedene Behandlungszeiten sowie Zentrifugationstemperaturen für die Extraktion von Glykoalkaloiden aus Kartoffelpülpe. Ermittelte Gehalte in mg/kg ± Standardabweichung (n=3).** <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Spalte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha=0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

	$\alpha$ -Solanin <sup>a</sup>	$\alpha$ -Chaconin <sup>a</sup>
<b>15 min   Raumtemperatur</b>	41,9 ± 6,0 <sup>A</sup>	97,7 ± 14,6 <sup>A</sup>
<b>15 min   4°C</b>	36,1 ± 5,3 <sup>A</sup>	84,5 ± 13,3 <sup>A</sup>
<b>30 min   Raumtemperatur</b>	41,4 ± 5,2 <sup>A</sup>	96,4 ± 13,3 <sup>A</sup>
<b>30 min   4 °C</b>	44,7 ± 6,0 <sup>A</sup>	107,5 ± 15,5 <sup>A</sup>
<b>60 min   Raumtemperatur</b>	38,9 ± 0,8 <sup>A</sup>	90,4 ± 2,5 <sup>A</sup>
<b>60 min   4 °C</b>	43,9 ± 3,4 <sup>A</sup>	105,5 ± 6,5 <sup>A</sup>

In der Literatur wurde berichtet, dass Extraktionen bei erhöhten Temperaturen die Spaltung der glykosidischen Bindungen im Analyten durch den Einfluss der Säure im Extraktionsmittel bedingen können (FRIEDMAN *et al.*, 1993). Daher wurde auf eine Extraktion bei erhöhten Temperaturen verzichtet. Da keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Aufarbeitungsmethoden vorlagen, wurde die Extraktion für 15 min mit anschließender Zentrifugation bei Raumtemperatur durchgeführt. Weiter wurde auch die Vollständigkeit der Extraktion überprüft, indem nach jedem Extraktions- bzw. Zentrifugationsschritt der Überstand mittels UHPLC-ESI-MS analysiert wurde. Die Extraktion war nach vier Wiederholungsschritten vollständig, da im darauffolgenden Überstand keiner der Analyten mehr nachweisbar war.

### 3.5.2.1.3 OPTIMIERUNG UND VALIDIERUNG

Die Methode zur Quantifizierung der Glykoalkaloide wurde entlang verschiedener Leitungsmerkmale optimiert und bewertet.

Zunächst wurde der Arbeitsbereich festgelegt. Da es für Kartoffelpülpe keine Literaturdaten bezüglich der Gehalte an Glykoalkaloiden gibt, wurde der Arbeitsbereich an die Gehalte in Kartoffelknollen angepasst. Laut BfR (2018) sollte der Gesamtgehalt an Glykoalkaloiden in Kartoffelknollen unter 100 mg/kg Frischgewicht liegen, welcher die Grundlage für die Entwicklung der Methode darstellte. Der Arbeitsbereich wurde auf 250-850 ng/mL festgelegt, da Konzentrationen >1000 ng/mL das Detektorlimit bei einem Injektionsvolumen von 5  $\mu$ L überschritten, und bei Konzentrationen über und unterhalb des Arbeitsbereiches die Varianzen inhomogen waren. Der Verfahrensvariationskoeffizient der Grundkalibrierung lag für  $\alpha$ -Solanin bei einer linearen Anpassung der Kalibrierdaten bei 2,4 % und bei einer polynomiellen Anpassung der Daten bei 0,5 %. Der Test nach Mandel ergab aber, dass die lineare Regression der polynominellen vorzuziehen ist. Gleiches zeigte sich für  $\alpha$ -Chaconin. Die Nachweisgrenze wurde über das Signal- zu Rausch-Verhältnis von 3/1 abgeschätzt. Als Nachweisgrenze von  $\alpha$ -Solanin

konnte 0,6 ng/mL ermittelt werden und für  $\alpha$ -Chaconin 0,4 ng/mL. Die Bestimmungsgrenze wurde auf 250 ng/mL festgelegt, da niedrigere Konzentrationen außerhalb des linearen Bereichs bzw. des Arbeitsbereichs lagen.

Das Verfahren wurde weiter auf eine Beeinflussung durch die Probenaufarbeitung und durch Matrixeffekte überprüft. Hierfür wurde eine Leermatrix aus Cellulose, Pektin und Stärke hergestellt. Kartoffelstärke eignete sich nicht als Komponente, da in dieser auch Glykoalkaloide bestimmbar waren. Daher wurde Maisstärke eingesetzt. Die Steigungen der Kalibriergeraden der Analyten der Grundkalibrierung gegenüber der Matrixkalibrierung unterschieden sich jeweils um maximal 6 %, sodass die Verwendung der Grundkalibrierung als akzeptabel bewertet wurde. Als Maß für die Streuung der Analysenergebnisse wurde die Mess-, Methoden- und Wiederholpräzision bestimmt. Für die Messpräzision wurden Standardlösungen der Analyten sechs Mal gemessen und der Variationskoeffizient bestimmt. Dieser lag für beide Analyten zwischen 2,3 % und 6,5 % und damit wurde die Messpräzision als ausreichend bewertet. Die Methodenpräzision wurde anhand der Schwankung der Analysenergebnisse durch sechs Messungen an einem Tag bestimmt und über den Variationskoeffizienten bewertet. Für  $\alpha$ -Solanin beträgt dieser 3,8 % und für  $\alpha$ -Chaconin 4,0 %, sodass auch dieser Parameter als ausreichend präzise anzusehen ist. Die Wiederholpräzision wird über die unabhängige Ergebnisermittlung in kurzen Zeitabständen bewertet. Hierzu wurden an fünf verschiedenen Tagen die Gehalte an  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin in der Kartoffelpülpe jeweils in Dreifachbestimmung ermittelt. Mit einem Variationskoeffizienten von 5,0 % für  $\alpha$ -Solanin und 4,8 % für  $\alpha$ -Chaconin wird auch dieser Parameter als präzise bewertet. Die Richtigkeit wurde in Wiederfindungsversuchen, als ein Maß für die Übereinstimmung zwischen den ermittelten Werten und einem als richtig angesehenen Wert, überprüft. Die schon beschriebene Leermatrix wurde mit den Analyten in einer Endkonzentration von 550 ng/mL versetzt und aufgearbeitet. Mit Wiederfindungen zwischen 96,7 % und 100,9 % war die Richtigkeit der Methode gegeben.

**Tabelle 8: Validierungsparameter zur Bestimmung der Glykoalkaloide  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin in Kartoffelpülpe.** Die Präzisionsparameter werden über den Variationskoeffizienten beschrieben.

	$\alpha$ -Solanin	$\alpha$ -Chaconin
<b>Nachweisgrenze [ng/mL]</b>	0,6	0,4
<b>Bestimmungsgrenze [ng/mL]</b>	250,0	250,0
<b>Messpräzision [%]</b>	2,3-5,8	2,7-6,5
<b>Methodenpräzision [%]</b>	3,8	4,0
<b>Wiederholpräzision [%]</b>	5,0	4,8
<b>Wiederfindung [%]</b>	100,9	96,7

### 3.5.3 CAROTINOIDE

Bei der Bestimmung von Carotinoiden in verschiedenen Lebensmitteln ist die Extraktion dieser von entscheidender Bedeutung. Daher gibt es viele Extraktionsmethoden für verschiedene Matrices und keine allgemeingültige Vorschrift. Grundsätzlich basieren die Extraktionsmittel auf einer Kombination aus wässrigen und organischen Lösungsmitteln. So werden Verfahren mit Methyl-*tert*-butylether, Ethanol, Methanol, n-Hexan, Dichlormethan, Tetrahydrofuran oder Aceton beschrieben (CRAFT & SOARES, 1992; ABDEL-AAL *et al.*, 2007; RIVERA & CANELA, 2012; AMORIM-CARRILHO *et al.*, 2014). Die Wahl des Extraktionsmittels hängt auch von den jeweiligen Analyten ab. In Karotten sind mengenmäßig die unpolaren Analyten  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin von Bedeutung und das polarere Lutein ist nur in geringen Mengen vorhanden (MAIANI *et al.*, 2009). Für die unpolaren Analyten empfiehlt es sich daher, ein unpolares Lösungsmittel wie n-Hexan zu verwenden, während für polare Analyten beispielsweise Ethanol oder Aceton eingesetzt werden können. Unter Umständen ist auch eine vorherige Verseifung zur Erfassung von Xanthophyllen notwendig, da diese nicht nur in ihrer freien Form vorkommen, sondern auch als Fettsäureester vorliegen. Gleichzeitig werden durch Verseifung weitere störende Substanzen wie Lipide oder Chlorophylle entfernt (AMORIM-CARRILHO *et al.*, 2014). Um die Zugänglichkeit der Carotinoide zu erhöhen, wurden in der Literatur auch Methoden beschrieben, bei denen das Ausgangsmaterial zuvor einem enzymatischen Verdau unterzogen wurde. Dabei wurden Zellwandbestandteile durch den Einsatz von Cellulasen oder pektinspaltenden Enzymen wie Pektinasen abgebaut und so die Ausbeute der Carotinoide nach der Extraktion erhöht (RANVEER *et al.*, 2013). Da es sich bei Carotinoiden um oxidationsanfällige Substanzen handelt, sollte der Lichteinfluss bei der Analyse minimiert werden, und die Extrakte sollten stabilisiert werden. Hierbei wird zum Stabilisieren häufig Butylhydroxytoluol eingesetzt (CRAFT & SOARES, 1992; AMORIM-CARRILHO *et al.*, 2014). Nach der Extraktion können Carotinoide chromatographisch aufgetrennt oder photometrisch erfasst werden. In der Regel werden bei flüssigkeitschromatographischen Methoden zur Bestimmung von Carotinoiden C30-Säulen verwendet, da damit  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin gut voneinander getrennt werden können. Zur Detektion eignet sich ein DAD, da Carotinoide Licht bei einer Wellenlängen von 450 nm absorbieren (ZECHMEISTER & POLGÁR, 1943; CRAFT & SOARES, 1992; ABDEL-AAL *et al.*, 2007; RIVERA & CANELA, 2012). In der hier durchgeführten Arbeit wurde die von Dr. Andreas Becker optimierte Carotinoideextraktion für Karotten angewendet und mittels HPLC-DAD quantifiziert (ZECHMEISTER & POLGÁR, 1943; CRAFT & SOARES, 1992; ABDEL-AAL *et al.*, 2007; BECKER, 2019). Die Extraktion erfolgte mit Ethylacetat nach vorherigem enzymatischem Abbau von

Zellwandbestandteilen durch das Enzymgemisch Driselase. Dabei handelt es sich um ein kohlenhydratabbauendes Enzympräparat, welches u.a. Cellulase- und Pektinaseaktivität aufweist. Die Durchführung ist in Abschnitt 8.13 beschrieben.

### 3.6 CHARAKTERISIERUNG VON PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN

Die Anwendung der Normalphasen-HPLC eignet sich, um Proanthocyanidine nach ihrem Polymerisationsgrad zu trennen. Dabei können lediglich Oligomere bis zu einem Polymerisationsgrad von zehn erfasst werden (Gu *et al.*, 2003). Zur weitergehenden Charakterisierung von Proanthocyanidinstrukturen eignen sich daher Methoden, welche auf der säurekatalytischen Spaltung der Interflavanbindung und somit auf der Depolymerisation von Proanthocyanidinen beruhen (KENNEDY & JONES, 2001; SCHOFIELD *et al.*, 2001). Durch Säurespaltung der Proanthocyanidine geht die terminale Einheit als freies Flavan-3-ol aus der Reaktion hervor, während die übrigen Kettenglieder (Extensionseinheiten) als elektrophile Carbokationen freigesetzt werden. Letztere können in Anwesenheit von Nukleophilen Addukte bilden. Die nukleophile Addition erfolgt jeweils an Position C4 des Flavan-3-ol-Intermediates. Als Nukleophile eignen sich Benzylmercaptan oder Phloroglucinol. Der Vorteil der Verwendung von Phloroglucinol gegenüber Benzylmercaptan ist, dass es nicht geruchsaktiv ist. Auch konnten bei Verwendung von Phloroglucinol reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden (KENNEDY & JONES, 2001). Dennoch sollte eine Quantifizierung unter Vorbehalt und die Ergebnisse als semiquantitativ betrachtet werden, da die säurekatalytische Spaltung unter vergleichsweise milden Bedingungen stattfindet und eine vollständige Erfassung der Analyten daher nicht gewährleistet ist. HIXSON und Kollegen konnten beispielsweise verbliebene Proanthocyanidine in den Analyserückständen nachweisen (HIXSON *et al.*, 2015). Das freie Flavan-3-ol sowie die entsprechenden Phloroglucin-Addukte können mittels Umkehrphasen-HPLC getrennt und anschließend massenspektrometrisch oder mittels DAD detektiert werden. Die Anwendung der MS bietet den Vorteil, Substanzen über ihr spezifisches Fragmentierungsmuster eindeutig identifizieren zu können, während bei der Detektion mittels DAD ein Vergleich der Retentionszeiten mit Standardsubstanzen notwendig ist (KENNEDY & JONES, 2001; LI & DEINZER, 2007; LIANG *et al.*, 2016). Die Charakterisierung von Proanthocyanidinstrukturen erfolgte nach der von Florian Junker im Rahmen einer Masterarbeit entwickelten Methode, deren Durchführung in Abschnitt 8.14 beschrieben ist (JUNKER, 2018). Die qualitative Bestimmung erfolgte mittels LC-MS und die semiquantitative Analyse mittels UHPLC-DAD bei 280 nm, jeweils an einer C18 Säule. Unter

Anwendung der molaren Responsefaktoren von KENNEDY & JONES und KOERNER und Mitarbeitern wurde der mittlere Polymerisationsgrad, die Zusammensetzung der terminalen Einheiten und der Extensionseinheiten sowie das *cis/trans*-Verhältnis bestimmt (KENNEDY & JONES, 2001; KOERNER *et al.*, 2009).

## 3.7 ANALYSE VON HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN

Unter dem Einfluss von Hitze können Monosaccharide Reaktionen eingehen und dabei unerwünschte Reaktionsprodukte, wie Furfuralderivate oder Acrylamid, bilden.

### 3.7.1 FURFURALDERIVATE

Zur Bestimmung von Furfuralderivaten wie HMF existieren zum einen spektralphotometrische Methoden und zum anderen Methoden zur Quantifizierung der Gehalte mittels HPLC-DAD (DUBOIS *et al.*, 1956; LEE *et al.*, 1986; BARROSO *et al.*, 1996; WIBOWO *et al.*, 2015; ADU *et al.*, 2019). Spektralphotometrisch können Furfuralderivate detektiert werden durch Umsetzung von HMF mit Phenol in Gegenwart von Säure zu gefärbten Reaktionsprodukten. Diese Methode wird üblicherweise zur Bestimmung des Gesamtkohlenhydratgehalts in Lebensmitteln verwendet. Hierbei werden aus Hexosen oder Pentosen in Gegenwart von Schwefelsäure HMF bzw. Furfuralderivate gebildet und diese dann, wie vorhergehend beschrieben, zu gefärbten Reaktionsprodukten umgesetzt. Die Absorptionsmaxima der entstandenen Farbstoffe liegen zwischen 480 bzw. 490 nm. (DUBOIS *et al.*, 1956). Nachteilig bei der photometrischen Bestimmung ist, dass bei gefärbten Lebensmitteln Interferenzen auftreten können, weshalb die Furfuralderivate von Matrixbestandteilen abgetrennt werden sollten.

Furfuralderivate, wie HMF, weisen bei 284 nm ein Absorptionsmaximum auf und können nach wässrig-organischer Extraktion mittels HPLC-DAD analysiert werden (LEE *et al.*, 1986; BARROSO *et al.*, 1996; AGUEDO *et al.*, 2012; WIBOWO *et al.*, 2015).

In der hier durchgeführten Arbeit wurden die Furfuralderivate HMF, Furfural sowie 5-Methylfurfural nach wässriger Extraktion mittels HPLC-DAD bei den spezifischen Wellenlängen 284 nm (HMF), 273 nm (Furfural) und 290 nm (5-Methylfurfural) detektiert (vgl. Abschnitt 8.15). Die Extraktion orientierte sich an den von LEE und Kollegen beschriebenen Bedingungen (LEE *et al.*, 1986). Entsprechend wurden die Proben nach der Extraktion mit Wasser mit Carrez-Reagenzien geklärt und über eine Festphasen-Extraktion gereinigt. Eine Festphasen-Extraktion lieferte jedoch aufgrund starker Retardation der Analyten keine reproduzierbaren Ergebnisse und wurde daher nicht eingesetzt. Die Richtigkeit der Analyse wurde durch eine Aufstockung des



Analyten HMF zum Probenmaterial überprüft. Die Wiederfindung lag bei 101 % und bestätigte die Richtigkeit der Analyse.

### 3.7.2 ACRYLAMID

Die meisten Methoden zur Bestimmung von Acrylamid beruhen auf etablierten Trennverfahren wie beispielsweise der HPLC und GC, welche auch in den in Deutschland anerkannten §64-Methoden für die Acrylamidbestimmung in Lebensmitteln aufgegriffen sind (JEZUSSEK & SCHIEBERLE, 2003; MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006; ASU 46.00-5, 2013; ASU 00.00-159, 2016). Die Herausforderungen der analytischen Methoden beruhen darauf, dass diese selektiv und sehr empfindlich sein müssen, da Acrylamid in geringen Konzentrationen im ppb Bereich vorkommt (TAEYMANS *et al.*, 2004; LINEBACK *et al.*, 2012). In der Regel wird eine Extraktion des Analyten durch Festphasenextraktion durchgeführt, um Matrixbestandteile abzutrennen. Generell ist bei der Aufarbeitung zu beachten, dass sich der Analyt dabei nicht zersetzt und kein Acrylamid während der Extraktion oder Detektion gebildet wird. Daher ist es wichtig, dass Ausgangssubstanzen für die Bildung von Acrylamid, wie Asparagin und reduzierende Zucker, vor der Extraktion entfernt werden (TAEYMANS *et al.*, 2004; MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006). Um Verluste während der Aufarbeitung auszugleichen, wird häufig stabilisotopen markiertes Acrylamid eingesetzt, welches deuteriert oder <sup>13</sup>C-markiert vorliegen kann (JEZUSSEK & SCHIEBERLE, 2003; MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006). Der Vorteil solcher Standardsubstanzen besteht darin, dass sich diese aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit vergleichbar zum Analyten verhalten. Während der Aufarbeitung und Analyse bleibt damit das Verhältnis von Analyt zur internen Standardsubstanz gleich und somit können Matrixeinflüsse ausgeglichen oder Ionensuppressionen reduziert werden. Ionensuppressionen kommen vor allem bei LC-MS-Methoden mit ESI vor. Matrixkomponenten können die Ionisierung des Analyten beeinflussen bzw. stören und somit eine Verringerung der Signalintensität hervorrufen (JEZUSSEK & SCHIEBERLE, 2003; MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006). Für die Analyse mittels GC muss aufgrund der geringen Flüchtigkeit in der Regel eine Derivatisierung durchgeführt werden. Hier werden Bromierungen sowie Silylierungen beschrieben (TAEYMANS *et al.*, 2004; LINEBACK *et al.*, 2012; EFSA, 2015). Bei der Analyse mittels LC bedarf es keiner Derivatisierung (MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006). Dennoch können auch Derivatisierungen mit Reagenzien wie Thiosalicylsäure durchgeführt werden. Diese ermöglichen eine sensitive Messung von Acrylamid mittels LC-MS, welche sonst nur durch die Verwendung von MS/MS-Experimenten wie beispielsweise durch einen Triple Quadrupol gegeben ist (JEZUSSEK & SCHIEBERLE, 2003). Daher werden unabhängig vom Trennverfahren zur Detektion üblicherweise Tandem-MS-Detektoren

eingesetzt (JEZUSSEK & SCHIEBERLE, 2003; MASTOVSKA & LEHOTAY, 2006; ASU 46.00-5, 2013; ASU 00.00-159, 2016).

Die Acrylamidgehalte der in dieser Dissertation analysierten Proben wurden in einem akkreditierten Labor in Auftrag gegeben und nach der Methode DIN EN 16618:2015-06 mittels LC-MS/MS bestimmt.

### 3.8 ENZYMATISCHER ABBAU (FERMENTIERBARKEIT) VON BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDEN & -OLIGOSACCHARIDEN

Die Fermentierbarkeit von Oligo- und Polysacchariden kann durch Verwendung vereinfachter *in vitro* Modelle abgeschätzt werden. Hierbei werden Polysaccharide mit Enzymen, welche vergleichbar auch von der menschlichen Mikrobiota gebildet werden, inkubiert und so eine Fermentation simuliert. Multienzympräparate wie Driselase oder Viscozyme L setzen sich aus kohlenhydratabbauenden Enzymen zusammen, welche auch bei Bakterienspezies wie *Bacteroides* bekannt sind. Hierzu zählen beispielsweise Glucanase- oder Arabinofuranosidaseaktivitäten (FERREIRA-LAZARTE *et al.*, 2018). Daneben weist Driselase laut Hersteller u.a. eine Xylanaseaktivität auf sowie Cellulase-, Laminarinaseaktivität. Des Weiteren wurde in verschiedenen Studien eine  $\alpha$ -L-Rhamnosidase-, *endo*-Rhamnogalacturonase- sowie eine Arabinofuranosidaseaktivität festgestellt (ISHII, 1997; WEFERS & BUNZEL, 2016a). Viscozyme L enthält laut Herstellerangaben Arabinasen, Cellulasen,  $\beta$ -Glucanase, Hemicellulasen sowie Xylanase. Weiter konnte gezeigt werden, dass das Gemisch zusätzlich eine *endo*- und *exo*-Galacturonaseaktivität aufweist (PRANDI *et al.*, 2018).

Die hier angewendeten Analysen zur Bestimmung der Fermentierbarkeit von Ballaststoffpolysacchariden bzw. -oligosacchariden wurden in einem vereinfachten *in vitro* System durchgeführt, wozu das Carbohydrolasegemisch Driselase eingesetzt wurde. Dazu wurde eine Suspension der Proben hergestellt, welche bei 35 °C mit  $\alpha$ -Amylase inkubiert wurden. Nach Zentrifugation wurde der wässrige Extrakt (Überstand) mittels Dialyse fraktioniert, um niedermolekulare Bestandteile wie Stärkeabbauprodukte abzutrennen. Zur Untersuchung der Fermentierbarkeit wurden der zu analysierende hochmolekulare wässrige Extrakt und der Rückstand der Suspension vereint und mit Driselase für 6 h bzw. 24 h inkubiert. Die nicht fermentierten Rückstände wurden nach erneuter Fraktionierung mittels Dialyse gravimetrisch bestimmt. Die freigesetzten Mono- bzw. Oligosaccharide wurden nach Methanolyse mittels HPAEC-PAD analysiert (vgl. Abschnitt 8.16).

## 4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Nachfolgend werden zunächst die Ergebnisse zur Zusammensetzung der ausgewählten Nebenströme und die Auswirkungen der thermomechanischen Behandlung durch Extrusion auf niedermolekulare Inhaltsstoffe und Ballaststoffpolysaccharide dargestellt. Im Anschluss wird anhand ausgewählter Analysen der Einfluss auf die Zusammensetzung unter definierten thermischen sowie mechanischen Bedingungen durch Behandlung im CCR beschrieben.

### 4.1 CHARAKTERISIERUNG DER ZUSAMMENSETZUNG DER NEBENSTRÖME UND DER EXTRUSIONSBEDINGTEN VERÄNDERUNGEN

Im Folgenden wird die chemische Zusammensetzung des Apfeltresters, des enzymatisch behandelten Apfeltresters, der Kartoffelpülpe und des Karottentresters sowie die Veränderungen der analysierten Komponenten unter den jeweiligen Extrusionsbedingungen beschrieben.

#### 4.1.1 APFELTRESTER

##### 4.1.1.1 GRUNDCHARAKTERISIERUNG

Für die Grundcharakterisierung des Apfeltresters und der entsprechenden Extrudate wurden die Gehalte an freien Mono- und Disacchariden und die Stärkegehalte bestimmt. Diese Parameter können die physikochemischen Eigenschaften des Tresters beeinflussen, und daher sind mögliche Veränderungen der Gehalte durch thermomechanische Behandlung im Extruder von Interesse. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Als freie Monosaccharide wurden Glucose und Fructose und als freie Disaccharide Saccharose sowie Maltose bestimmt. Der Gesamtzuckergehalt als Summe der quantifizierten Analyten beträgt  $15,3 \pm 1,3$  g/100 g TM und liegt damit in einem Bereich, der in der Literatur für Apfeltrester (7,6–45,1 g/100 g TM, vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2) beschrieben wurde (KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; QUEJI *et al.*, 2010; AGUEDO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2019). Im Rohmaterial ist der mengenmäßig bedeutendste Zucker mit 8,8 g/100 g TM Fructose. Dieser Anteil reduziert sich durch thermomechanische Behandlung in Abhängigkeit von den jeweiligen Bedingungen. Der Anteil an Glucose verändert sich auch bei starker thermomechanischer Behandlung nicht signifikant. Ein ähnliches Verhalten wie bei Fructose ist auch für Saccharose zu erkennen. Der Gehalt verringert

sich mit steigendem thermomechanischen Energieeintrag von 2,3 g/100 g TM für das Rohmaterial auf 0,7 g/100 g TM unter maximaler Beanspruchung ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  700 1/min). Auch der Anteil von Maltose reduziert sich bereits bei geringem Energieeintrag von 1,4 g/100 g TM für das Rohmaterial auf einen Gehalt unterhalb der Quantifizierungsgrenze.

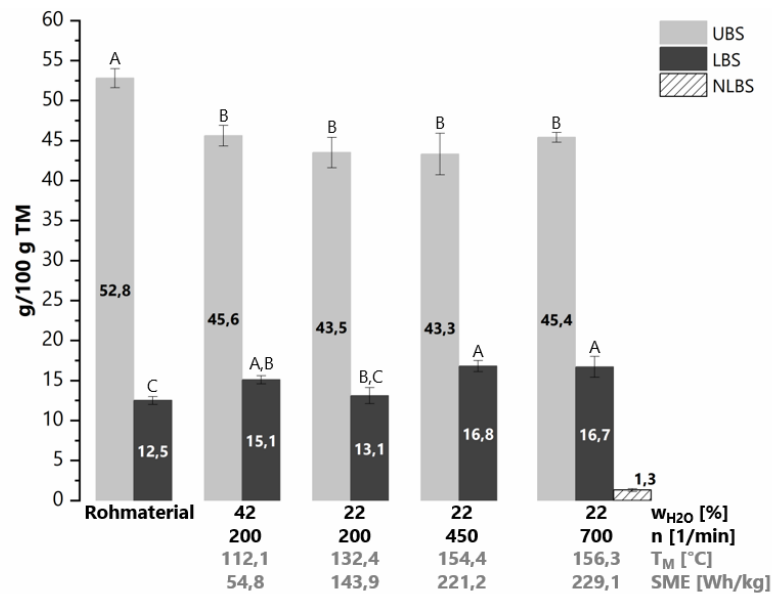
**Tabelle 9: Gehalte der freien Mono- und Disaccharide sowie Stärkegehalte (g/100 g Trockenmasse ± Standardabweichung, n=3) des Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), n.b.: nicht bestimmbar

<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>42</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>22</b>
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>200</b>	<b>200</b>	<b>450</b>	<b>700</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>		<b>112,1</b>	<b>132,4</b>	<b>154,4</b>	<b>156,3</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>54,8</b>	<b>143,9</b>	<b>221,2</b>	<b>229,1</b>
Freie Mono- und Disaccharide					
Glucose <sup>a</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>A</sup>	3,5 ± 0,3 <sup>A</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>A</sup>	3,1 ± 0,1 <sup>A</sup>	3,0 ± 0,5 <sup>A</sup>
Fructose <sup>a</sup>	8,8 ± 0,3 <sup>A</sup>	5,1 ± 0,5 <sup>B</sup>	4,1 ± 0,3 <sup>C,D</sup>	4,3 ± 0,1 <sup>B,C</sup>	3,4 ± 0,1 <sup>D</sup>
Saccharose <sup>a</sup>	2,3 ± 0,4 <sup>B,C</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>A</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>B</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>C</sup>	0,7 ± 0,5 <sup>D</sup>
Maltose	1,4 ± 0,3	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Stärke <sup>a</sup>	11,6 ± 0,7 <sup>A</sup>	9,2 ± 0,8 <sup>B</sup>	8,8 ± 0,6 <sup>B</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>B</sup>	8,5 ± 0,8 <sup>B</sup>

Abhängig von dem Reifegrad können in Äpfeln bzw. im Apfeltrester größere Mengen an Stärke enthalten sein. Der hier analysierte Apfeltrester enthält 11,6 g Stärke/100 g TM, welche unabhängig von den Extrusionsbedingungen auf 9,2-8,3 g/100 g TM abnimmt.

#### 4.1.1.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE

Die Ballaststoffgehalte wurden getrennt nach UBS, LBS und NLBS analysiert, wobei die Gehalte der UBS und LBS jeweils um den Anteil an Restprotein und Asche korrigiert wurden. Die Ergebnisse des Apfeltresters sowie der extrudierten Proben sind in Abbildung 14 veranschaulicht. Bezogen auf die TM weist der Apfeltrester mit 52,8 g/100 g einen hohen Anteil an UBS auf. Zusammen mit den LBS beläuft sich der Gesamtballaststoffgehalt im Apfeltrester auf 65,3 g/100 g TM. Die ermittelten Gehalte stimmen mit den Literaturdaten (vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2) für Apfeltrester überein, welche mit unterschiedlichen Methoden der AOAC bestimmt wurden (CHEN *et al.*, 1988; HWANG *et al.*, 1998a; SUDHA *et al.*, 2007; AGUEDO *et al.*, 2012; KIRBAS *et al.*, 2019).



**Abbildung 14: Gehalte der unlöslichen (UBS), löslichen (LBS) sowie niedermolekularlöslichen Ballaststoffe (NLBS; g/100 g TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) des Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. Mittelwerte je Ballaststofffraktion (UBS, LBS, NLBS) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), TM: Trockenmasse

Der UBS-Anteil verringert sich unabhängig von den Extrusionsbedingungen. Im Gegenzug nimmt der Anteil an LBS abhängig von den gewählten Bedingungen im Extruder zu. Eine Zunahme der LBS lässt sich zum einen mit dem Ablauf der Maillard-Reaktion und der Bildung von entsprechenden hochmolekularen, jedoch löslichen Produkten erklären. Die Produkte der Maillard-Reaktion können teilweise in der analytischen Ballaststoffbestimmung miterfasst werden. Zum anderen kann durch eine Erhöhung der Löslichkeit von polymeren Strukturen eine Verschiebung von der unlöslichen Fraktion in die lösliche Fraktion erfolgen. Eine Depolymerisierung der Ballaststoffkomponenten zeigt sich auch darin, dass NLBS erst bei einer hohen thermomechanischen Belastung ab einer Drehzahl von 700 1/min vorhanden sind. Ein ähnliches Verhalten der LBS von Apfeltrester durch Behandlung mittels Extrusion wurde auch schon von HWANG und Kollegen (1998) beobachtet, wobei der Anteil an LBS ebenfalls zunahm. Weiter konnte dies auch für Aroniatrester gezeigt werden, welcher zur gleichen Familie (Rosaceae) wie der Apfel gehört (SCHMID *et al.*, 2021).

### 4.1.1.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE

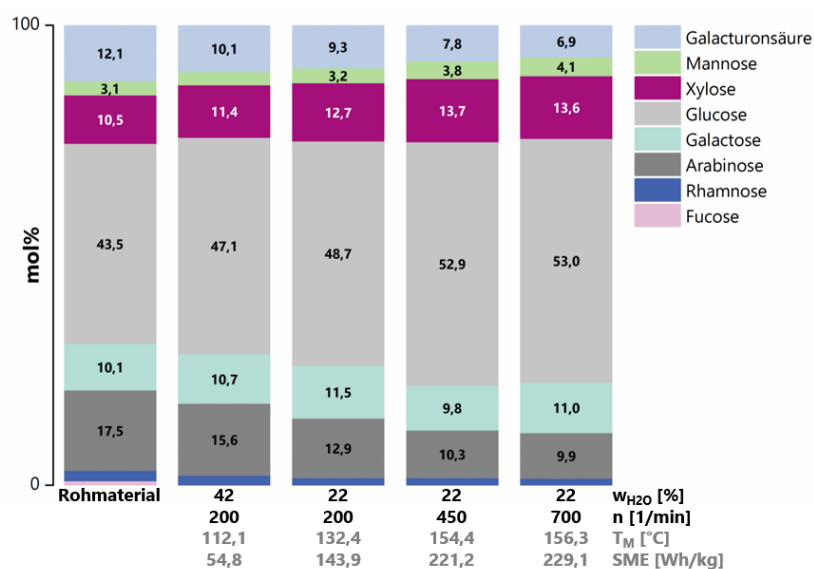
Die Strukturen der Ballaststoffe wurden getrennt nach UBS, LBS und NLBS analysiert mit Ausnahme der Cellulosekristallinität, für die jeweils das Rohmaterial bzw. die Extrudate wie in Abschnitt 3.4.5 bzw. 8.10 beschrieben aufgearbeitet und analysiert wurden.

#### 4.1.1.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Strukturen der Polysaccharide der UBS aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate werden anhand der Daten aus der Monosaccharidanalyse sowie mithilfe der Ergebnisse aus der Methylierungsanalyse beschrieben. Die Monosaccharidanalyse liefert Angaben zu der Zusammensetzung der Monomere der Polysaccharide, welche zusammen mit den Bindungsverhältnissen aus der Methylierungsanalyse Polysaccharidstrukturen zugeordnet werden können. Die Identifizierung von spezifisch enzymatisch freigesetzten Arabino- bzw. Galactooligosacchariden soll u.a. Hinweise über den Substitutionsgrad der Arabinane und Galactane als neutrale Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans aus Pektinen liefern. Damit kann beispielsweise das Vorkommen hochverzweigter Oligomere und somit hochverzweigte Abschnitte in den Arabinanen nachgewiesen werden. Der Veresterungsgrad der polymergebundenen Galacturonsäureeinheiten kann zu den physikochemischen Eigenschaften des Tresters beitragen und ist daher ebenfalls von Interesse.

Die Ergebnisse der Monosaccharidzusammensetzung der UBS nach Schwefelsäurehydrolyse sind in Abbildung 15 gezeigt. Demnach sind als Bestandteile von Zellwandpolysacchariden in den UBS des Apfeltresters überwiegend Glucose, Arabinose, Galacturonsäure, Xylose und Galactose enthalten. Die hohen Anteile an Glucose in den UBS (43,5 mol%), welche nach Schwefelsäurehydrolyse freigesetzt wurden, lassen sich größtenteils auf Cellulose zurückführen, da aus den Daten der Methylierungsanalyse hervorgeht, dass Glucose hauptsächlich 1,4-verknüpft (35,8 mol%) vorliegt (vgl. Tabelle 10). Des Weiteren kann Glucose auch aus Hemicellulosen wie Xyloglucanen freigesetzt werden. Xyloglucane setzen sich aus 1,4-verknüpften Glucopyranosen zusammen, die an Position *O*-6 mit Xyloseeinheiten als Seitenketten substituiert vorliegen können. Das Auftreten von 1,4,6-verknüpfter Glucopyranose mit 5,7 mol% zusammen mit der endständigen Xylopyranose und der 1,2-verknüpften Xylopyranose lässt auf das Vorhandensein von Xyloglucanen schließen. 1,2-verknüpfte Xylopyranosen sind typischerweise in den Seitenketten von Xyloglucanen vorzufinden. Aufgrund des geringen Anteils (1,9 mol%) 1,4-

verknüpfter Xylopyranose in den Polysacchariden der UBS aus Apfeltrester lässt sich folgern, dass Xylane als Sekundärzellwandbestandteile nur in geringen Anteilen vorhanden sind. Zusätzlich kann terminale Xylose auch in Pektinen, genauer den Xylogalacturonanen, enthalten sein. Xylogalacturonane setzen sich aus Galacturonsäureeinheiten zusammen, welche an Position O-2 oder O-3 mit Xylopyranosen substituiert vorliegen können. Es kann keine Aussage über die Bindungstypen vorhandener Uronsäuren getroffen werden, da wie in Abschnitt 3.4.2 beschrieben auf die Miterfassung dieser bei der Methylierungsanalyse verzichtet wurde. Das Vorkommen von Xylogalacturonanen in Äpfeln wurde ebenfalls schon in der Literatur beschrieben (SCHOLS *et al.*, 1995; PEÑA & CARPITA, 2004).



**Abbildung 15: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der unlöslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Rhamnose, Arabinose, Galactose sowie Galacturonsäure sind in Summe mit 41,5 mol% vertreten und deuten auf das Vorhandensein von unlöslichen Pektinen hin, wobei hier zu berücksichtigen ist, dass Galacturonsäure während der Schwefelsäurehydrolyse bereits beginnend abgebaut und somit unterbestimmt wird. Das Pektinrückgrat kann sich aus Homogalacturonan oder Rhamnogalacturonan Typ I zusammensetzen, welche Galacturonsäure und im Fall von Rhamnogalacturonan Typ I noch Rhamnose als monomere Bestandteile enthalten. Aus dem Verhältnis von Galacturonsäure zu Rhamnose (5:1) sowie dem geringen Anteil an 1,2,4- bzw. 1,2-verknüpfter Rhamnopyranose (1,2 mol%) kann geschlossen werden, dass, bezogen auf die Hauptkette, Homogalacturonane in den UBS des Apfeltresters überwiegen. Die Galacturonsäure kann teilweise verestert vorliegen. Zur Bestimmung des Veresterungsgrads wurde der

Methylierungsgrad der polymergebundenen Galacturonsäure und deren Acetylierungsgrad bestimmt (vgl. Tabelle A2, Anhang). Der Methylierungsgrad beträgt in den UBS des Apfeltrester 50 % und der Acetylierungsgrad 35 %. Beim Acetylierungsgrad ist zu berücksichtigen, dass ggf. auch andere Ballaststoffpolysaccharide wie Xyloglucane oder Mannane teilweise acetyliert vorliegen können (vgl. Abbildung 6) und dieser somit überbestimmt sein kann. Das PMAA der 1,2-Rhamnopyranose wurde beim Apfeltrester mit 0,8 mol% und das der 1,2,4-Rhamnopyranose mit 0,4 mol% bestimmt. Aus dem Verhältnis von 1,2-Rhamnopyranose zu 1,2,4-Rhamnopyranose (1:2) lässt sich erkennen, dass Typ I Rhamnogalacturonan zu ca. 66 % substituiert vorliegt.

**Tabelle 10: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der unlöslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, *t*: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentationenpeaks 1,2-Xyl*p*: *m/z* 117, 1,4-Xyl*p*: *m/z* 118

Wassergehalt w <sub>H<sub>2</sub>O</sub> [%]		42	22	22	22
Drehzahl <i>n</i> [1/min]		200	200	450	700
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]	Rohmaterial	112,1	132,4	154,4	156,3
SME [Wh/kg]		54,8	143,9	221,2	229,1
1,2-Rha <i>p</i>	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,2
1,2,4-Rha <i>p</i>	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,3
Σ Rha	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,4 ± 0,5
<i>t</i> -Ara <i>f</i>	13,5 ± 2,7	8,9 ± 1,0	8,6 ± 1,0	7,1 ± 0,1	8,4 ± 1,2
<i>t</i> -Ara <i>p</i>	n.d.	1,5 ± 1,1	1,5 ± 1,0	0,5 ± 0,1	1,2 ± 0,2
1,3-Ara <i>f</i>	n.d.	1,2 ± 0,03	1,2 ± 0,03	0,9 ± 0,2	1,6 ± 0,1
1,5-Ara <i>f</i> /1,4-Ara <i>p</i>	8,4 ± 0,04	8,9 ± 1,1	8,6 ± 1,0	9,0 ± 2,1	11,2 ± 2,7
1,2,5-Ara <i>f</i>	1,2 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,1
1,3,5-Ara <i>f</i>	4,3 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,7 ± 2,7	1,5 ± 0,2	1,2 ± 0,7
1,2,3,5-Ara <i>f</i>	6,6 ± 0,5	8,8 ± 1,1	8,5 ± 1,0	5,1 ± 1,6	4,1 ± 0,1
Σ Ara	34,0 ± 3,6	33,7 ± 4,9	32,6 ± 7,0	25,5 ± 4,5	28,6 ± 5,1
<i>t</i> -Gal <i>p</i>	2,9 ± 0,3	2,8 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,03	4,1 ± 0,3
1,4-Gal <i>p</i>	3,1 ± 0,1	2,6 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,1	3,9 ± 0,1
1,6-Gal <i>p</i>	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,03	0,6 ± 0,05	1,2 ± 0,01
Σ Gal	6,3 ± 0,5	5,7 ± 0,6	5,5 ± 0,6	5,7 ± 0,2	9,1 ± 0,4
<i>t</i> -Glc <i>p</i>	1,2 ± 0,04	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,4
1,4-Glc <i>p</i>	35,8 ± 4,2	33,8 ± 0,6	32,8 ± 0,4	36,8 ± 1,6	24,9 ± 1,7
1,4,6-Glc <i>p</i>	5,7 ± 1,4	8,2 ± 1,0	8,6 ± 1,0	9,9 ± 0,1	5,6 ± 2,4
Σ Glc	42,7 ± 5,6	43,3 ± 1,9	42,7 ± 1,7	48,4 ± 1,9	32,3 ± 4,5
1,4-Man <i>p</i>	2,9 ± 0,8	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,1	4,5 ± 0,1
1,4,6-Man <i>p</i>	0,5 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Σ Man	3,4 ± 1,0	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,1	4,5 ± 0,1
<i>t</i> -Xyl <i>p</i>	7,8 ± 0,6	9,2 ± 0,7	8,9 ± 0,7	8,7 ± 0,5	12,7 ± 0,3
1,2-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	2,7 ± 0,5	2,3 ± 0,2	3,0 ± 0,1	3,8 ± 0,4	6,0 ± 0,1
1,4-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,03	3,5 ± 0,4	4,0 ± 0,3	5,4 ± 0,7
Σ Xyl	12,4 ± 1,3	13,5 ± 0,9	15,4 ± 1,2	16,6 ± 1,2	24,0 ± 1,1

Arabinose und Galactose können als Komponenten der neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans auftreten oder in Arabinogalactanen des Typ I oder Typ II vorkommen.



Des Weiteren können sie auch als Minorkomponenten aus Hemicellulosen freigesetzt werden. Für Apfeltrester kann aber davon ausgegangen werden, dass Arabinose und Galactose überwiegend aus den neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans freigesetzt wurden, da diese Strukturen für Äpfel in der Literatur schon beschrieben wurden und Arabinose hauptsächlich 1,5-verknüpft (8,4 mol%) und Galactose 1,4-verknüpft (3,1 mol%) vorliegt (PEÑA & CARPITA, 2004; WEFERS *et al.*, 2018). Das Verhältnis von Arabinose zur Galactose, welches aus den Daten nach Schwefelsäurehydrolyse hervorgeht, beträgt ungefähr 2:1, sodass sich daraus schließen lässt, dass höhere Anteile an Arabinanen im Vergleich zu Galactanen vorhanden sind. In der Methylierungsanalyse werden Galactane im Allgemeinen nicht immer repräsentativ erfasst. Dies zeigt sich anhand eines Vergleichs der Summe aller PMAA aus Arabinose (34,0 mol%) mit der Summe aller PMAA aus Galactose (6,3 mol%). Aus den Daten der Methylierungsanalyse kann dennoch vermutet werden, dass die Galactane im Apfeltrester als kurze Seitenketten vorliegen, da das Verhältnis von 1,4-verknüpfter Galactopyranose zu terminaler Galactopyranose 1:1 beträgt. Kleinere Anteile an terminaler Galactopyranose können auch endständigen Einheiten von Hemicellulosen, wie Xyloglucanen oder Galactoglucomannanen, zugeordnet werden.

Aus dem Verhältnis der verzweigten PMAA der Arabinose (1,2,5-, 1,3,5- und 1,2,3,5-Arabinofuranose) zu den linearen (1,5-Arabinofuranose) kann der Verzweigungsgrad der Arabinane abgeschätzt werden. Ausgehend davon, dass Teile der 1,2,3,5-Arabinofuranose zum einen aus einer Untermethylierung stammen können und zum anderen Strukturelemente von Arabinanen sein können, sind verzweigte Strukturelemente in den UBS aus Apfeltrester in ähnlichen Anteilen wie lineare Abschnitte vorhanden. Die Verknüpfung in Position O-3 ist im Vergleich zur Substitution in Position O-2 dominierend, da das PMAA der 1,3,5-verknüpften Arabinofuranose in größeren Anteilen vorhanden ist. Dies stimmt auch mit bisher analysierten Arabinanstrukturen von Äpfeln in der Literatur überein (PEÑA & CARPITA, 2004; WEFERS *et al.*, 2018). Der hohe Anteil an 1,2,3,5-verknüpften Arabinofuranosen (6,6 mol%) kann wie bereits erwähnt zum einen aus einer Untermethylierung resultieren oder zum anderen auf hochverzweigte Arabinanstrukturen in den UBS des Apfeltresters hindeuten. Solche Strukturelemente könnten mitunter anhand einer detaillierten Betrachtung der Arabinan- bzw. Galactanstrukturen mithilfe des Arabinan-Galactan-Profilings bestätigt werden. Durch den Einsatz von *endo*-Arabinanasen und *endo*-Galactanasen werden die linearen  $\alpha$ -(1→5)-verknüpften L-Arabinofuranosen innerhalb des Arabinanrückgrats bzw. die  $\beta$ -(1→4)-verknüpften D-Galactopyranosen innerhalb des Galactanrückgrats gespalten, wodurch oligomere Einheiten freigesetzt werden. Ein Teil der

möglichen Strukturen ist in Abbildung A1 (Anhang) gezeigt. Die Ergebnisse des Arabinan- und Galactan-Profilings der UBS aus Apfeltrester sind in Tabelle A3 (Anhang) aufgeführt. Mit 7,2 mol% konnte das Tetramer A-4a nachgewiesen werden, welches eine Substitution des Arabinanrückgrats mit Arabinose in Position O-3 repräsentiert. Das Vorhandensein vollsubstituierter Arabinoseeinheiten wurde durch die Identifizierung des Pentamers A-5a nachgewiesen und damit das Ergebnis aus der Methylierungsanalyse bestätigt, da hier die mittlere Arabinose des Arabinanhauptstrangs sowohl in Position O-2 als auch in Position O-3 mit weiteren Arabinoseeinheiten substituiert ist. Des Weiteren konnten Oligosaccharide nachgewiesen werden, welche komplexe dimere Seitenketten enthalten. Diese Seitenketten sind an Position O-3 (A-5b) bzw. O-2 (A-5c) der mittleren Einheit eines  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 5)-verknüpften Arabinantrimers gebunden. Bei den dimeren Seitenketten handelt es sich jeweils um  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-verknüpfte Arabinofuranosen. Eine 1,3-verknüpfte Arabinofuranose wurde jedoch in der Methylierungsanalyse nicht identifiziert, vermutlich aufgrund der geringen Anteile. Zusätzlich konnten geringe Anteile an hochverzweigten Arabinanstrukturen (A-7a) bestimmt werden. Hierbei ist das Arabinanrückgrat an einer Monomereinheit in Position O-3 und an der benachbarten Monomereinheit in Position O-2 und O-3 verknüpft. Da vermehrt Strukturelemente mit Verknüpfungen in Position O-3 des Arabinanrückgrats nachgewiesen wurden, scheint diese Position bevorzugt substituiert zu sein. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Methylierungsanalyse, da auch dort die 1,3,5-verknüpfte Arabinofuranose im Vergleich zur 1,2,5-verknüpften Arabinofuranose dominiert. Das Galactan-Profilings bestätigt die Existenz von linearen Galactanstrukturen, liefert jedoch keine zusätzlichen Strukturdaten.

Unter dem Einfluss der thermomechanischen Behandlung durch Extrusion zeigt sich, dass die Strukturen der Pektinpolysaccharide unter den gewählten Bedingungen am labilsten sind (Abbildung 15). So nimmt der Anteil an Arabinose von 17,5 mol% auf 9,9 mol% für die am stärksten beanspruchte Probe ( $w_{\text{H}_2\text{O}}$  22 %,  $n$  700 1/min) ab. Auch verringert sich der Anteil der Galacturonsäure von 12,1 mol% auf 6,9 mol%. Bei beiden Monosacchariden nehmen die Anteile mit steigender thermomechanischer Belastung stetig ab. Die Veränderung der Arabinane zeigt sich zudem in den Daten der Methylierungsanalyse (Tabelle 10). Hier ist zu erkennen, dass die Anteile der 1,3,5-verknüpften Arabinofuranosen abnehmen. Auch die doppelt substituierte (1,2,3,5-) Arabinofuranose ist labil gegenüber Abbaureaktionen unter maximaler Belastung ( $w_{\text{H}_2\text{O}}$  22 %,  $n$  700 1/min). Ein Arabinanabbau ist außerdem an der abnehmenden Summe aller PMAA der Arabinose zu erkennen. Diese reduzierten sich von 34,0 mol% auf 28,6 mol%. Ein ähnliches

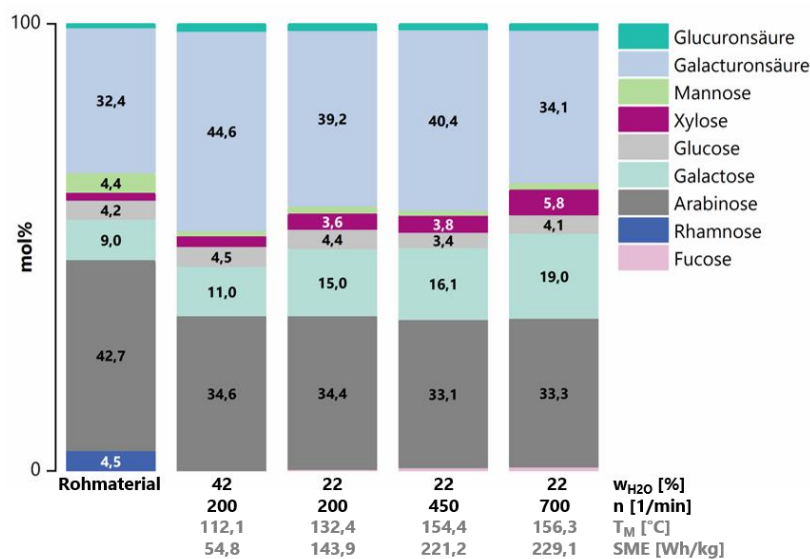
Verhalten der Pektine der UBS aus Aroniatrester unter dem Einfluss von Extrusion konnte von SCHMID und Kollegen (2021) sowie von HWANG und Mitarbeitern (1998) beobachtet werden.

Die Ergebnisse des Arabinan-Profilings für die Extrudate (Tabelle A3, Anhang) unterstützen nicht vollständig die Methylierungsanalyse in Bezug auf O-3-verknüpfte Struktureinheiten. In den Extrudaten nimmt der Anteil an A-4a zu, aber der Anteil an A-5a nimmt ab. Es zeigt sich somit, dass die Komplexität der Arabinanstrukturen unter der Einwirkung der thermomechanischen Behandlung reduziert wird.

Mit der Abnahme der Galacturonsäureanteile verringert sich auch der Veresterungsgrad durch die Behandlung im Extruder. Der Acetylierungsgrad nimmt unabhängig von den gewählten Bedingungen von 35 % auf bis zu 20 % ab, und der Methylierungsgrad verringert sich von 50 % auf 26-15 % für die stark beanspruchten Proben (Tabelle A2, Anhang).

#### 4.1.1.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Monosaccharidzusammensetzung der Polysaccharide aus den LBS des Apfeltresters, die nach Methanolyse bestimmt wurden, sind in Abbildung 16 dargestellt. Die entsprechenden Ergebnisse der Methylierungsanalyse sind in Tabelle A4 (Anhang) zusammengefasst.



**Abbildung 16: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Die Polysaccharide der LBS aus Apfeltrester basieren weitestgehend auf Pektinbausteinen, wobei Arabinose als Hauptmonosaccharid (42,7 mol%) gefolgt von Galacturonsäure (32,4 mol%) enthalten ist.

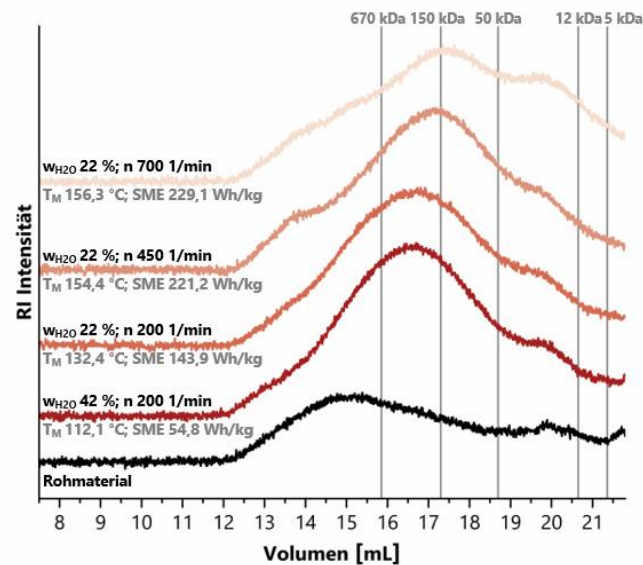
Wie auch schon bei den UBS besteht das Pektinrückgrat aus Homogalacturonan und Rhamnogalacturonan Typ I, wobei, bezogen auf die Hauptkette, Homogalacturonan überwiegt. Dies geht aus dem Verhältnis von Galacturonsäure zu Rhamnose von etwa 7:1 hervor. Der Methylierungsgrad der polymergebundenen Galacturonsäure beträgt für die LBS des Apfeltresters 66 % und der Acetylierungsgrad 5 % (vgl. Tabelle A2, Anhang).

Im Gegensatz zu den UBS sind anhand der Daten zur strukturellen Zusammensetzung der LBS kaum Unterschiede durch die Variation der Extrusionsparameter zu erkennen. Es zeigt sich lediglich, dass der Anteil an Arabinose schon unter vergleichsweise „milden“ Bedingungen von 42,7 mol% auf 34,6 mol% ( $w_{H_2O}$  42%,  $n$  200 1/min,  $T_M$  112,1 °C, SME: 54,8 Wh/kg) abnimmt (Abbildung 16), sich unter zunehmend stärkeren Bedingungen allerdings nur geringfügig ändert ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  700 1/min,  $T_M$  156,3 °C, SME 229,1 Wh/kg; 33,3 mol%). In der Methylierungsanalyse wird dies in der Abnahme des Anteils an endständigen Arabinoseeinheiten und in der Abnahme der Summe aller Arabinan PMAA bei dem Extrudat unter maximaler Belastung ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  700 1/min) ersichtlich. Galactose- und xylosehaltige Polysaccharide scheinen stabiler gegenüber thermomechanischer Belastung zu sein, was durch die wachsenden Anteile bei stärkerer Behandlung ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  700 1/min,  $T_M$  156,3 °C, SME 229,1 Wh/kg) verdeutlicht wird. Veränderungen der polymeren Galacturonsäure sind mit steigender Drehzahl in der Abnahme des Methylierungsgrads von 66 % (Rohmaterial) auf 26 % ( $n$  700 1/min) erkennbar (Tabelle A2, Anhang). Für die Acetyler in den LBS konnten keine Veränderungen durch Extrusion festgestellt werden.

Bei der Interpretation dieser und weiterer Strukturdaten müssen jedoch zwei mögliche Mechanismen zur Veränderung der Zusammensetzung der löslichen und unlöslichen Ballaststoffpräparate berücksichtigt werden: zum einen die „Verflüssigung“ unlöslicher Polysaccharide (Herauslösen aus dem Polymerverbund ohne weitgehende Strukturveränderungen), wodurch sie in die lösliche Ballaststofffraktion verschoben werden, und zum anderen die tatsächliche Zersetzung bestimmter Struktureinheiten in der unlöslichen oder löslichen Ballaststofffraktion. Außerdem können Kohlenhydrate vollständig abgebaut oder in Maillard-Produkte umgesetzt werden, welche in den Analysen teilweise miterfasst werden. Da diese Mechanismen gleichzeitig ablaufen, kann keine eindeutige Schlussfolgerung gezogen werden.

Dass Veränderungen in den LBS stattfinden, welche nicht oder nur unvollständig anhand der Daten der Monosaccharidanalyse, Methylierungsanalyse sowie dem Arabinan- und Galactan-

Profiling erkennbar sind, zeigt sich im Chromatogramm der Molekulargewichtsverteilung des Apfeltresters sowie der entsprechenden Extrudate (Abbildung 17).



**Abbildung 17: Molekulargewichtsverteilung der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Intensität des Detektorsignals (*Refractive Index* - RI) wurde gegen das Elutionsvolumen aufgetragen. Zur Abschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten als Standardsubstanzen gemessen (graue Linien). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Die Verteilung des Molekulargewichte wird mit zunehmender Belastungsstärke breiter. Dies deutet darauf hin, dass große Polymere (teilweise) abgebaut bzw. gespalten werden, was die bereits beschriebenen Daten zur Zusammensetzung der Ballaststofffraktionen bestätigt. Weiter ist bei den Extrudaten, welche bei einem Wassergehalt von 22 % und einer Drehzahl von 450 1/min bzw. 700 1/min extrudiert wurden, bei einem Volumen von 13,5 mL ein zusätzlicher Peak zu erkennen. Dies deutet auf die Bildung von hochmolekularen Melanoidinen im Zuge der Maillard-Reaktion unter diesen Bedingungen hin.

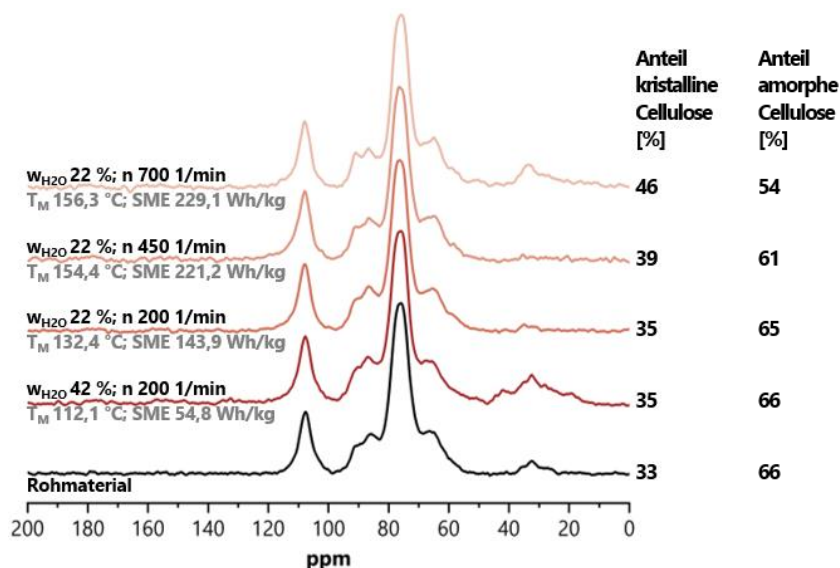
#### 4.1.1.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Da NLBS im Apfeltrester lediglich in dem Extrudat mit 22 % Wassergehalt bei einer Drehzahl von 700 1/min vorhanden waren, konnten nur hier die Strukturen charakterisiert werden. Diese zeichnen sich durch hohe Anteile an Arabinose (36,0 mol%) und hohe Anteile an Glucose (41,8 mol%) aus (vgl. Tabelle A5, Anhang). Glucose kann zum einen aus Abbauprodukten der Stärke freigesetzt worden sein oder aus Celluloseoligosacchariden stammen. Eine genauere Überprüfung der Herkunft der Glucose wurde für diese Probe nicht durchgeführt. Weiter finden

sich in den NLBS 18,2 mol% Galactose sowie 3,1 mol% Mannose. Xylose ist nur in sehr geringen Mengen (0,9 mol%) enthalten. Galacturonsäure war qualitativ nachweisbar. Die großen Standardabweichung in der Monosaccharidverteilung können damit begründet werden, dass die NLBS insgesamt nur in sehr geringen Konzentrationen vorlagen.

#### 4.1.1.3.4 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

Die Ergebnisse der Bestimmung der Cellulosekristallinität nach Behandlung der Materialien mit Schwefelsäure und Natronlauge sind in Abbildung 18 zusammengefasst. Die Vorbehandlung der Proben wurde durchgeführt, um störende Komponenten wie Hemicellulosen weitgehend zu entfernen. Die kristallinen Anteile wurden anhand der Integrale des C4-Atoms der Anhydroglucose der amorphen Cellulose (85 ppm) sowie des C4-Atoms Atoms der Anhydroglucose der kristallinen Cellulose (91 ppm) der Anhydroglucose aus Cellulose bestimmt. Die jeweiligen <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR Spektren sind in Abbildung 18 dargestellt.



**Abbildung 18:** <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR Spektren des Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate sowie die Anteile an kristalliner und amorpher Cellulose (%). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt (w<sub>H2O</sub>) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen (T<sub>M</sub>) führte. CP: *Cross Polarisation*, MAS: *Magic Angle Spinning*, NMR: Kernspinresonanz

Bei der Beurteilung der Ergebnisse ist jedoch zu beachten, dass neben Cellulose u.a. auch noch Xyloglucane enthalten sein können, was aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung des Materials zu erkennen ist (vgl. Tabelle A6). Das Signal der amorphen Cellulose könnte, trotz der Vorbehandlung der Proben, dadurch überlagert sein, da sich das Signal sowohl aus den C4-Atomen der amorphen Cellulose als auch den C4-Atomen der Glucose aus Xyloglucanen zusammensetzen kann. Dennoch können die Ergebnisse zur Beurteilung des Einflusses der

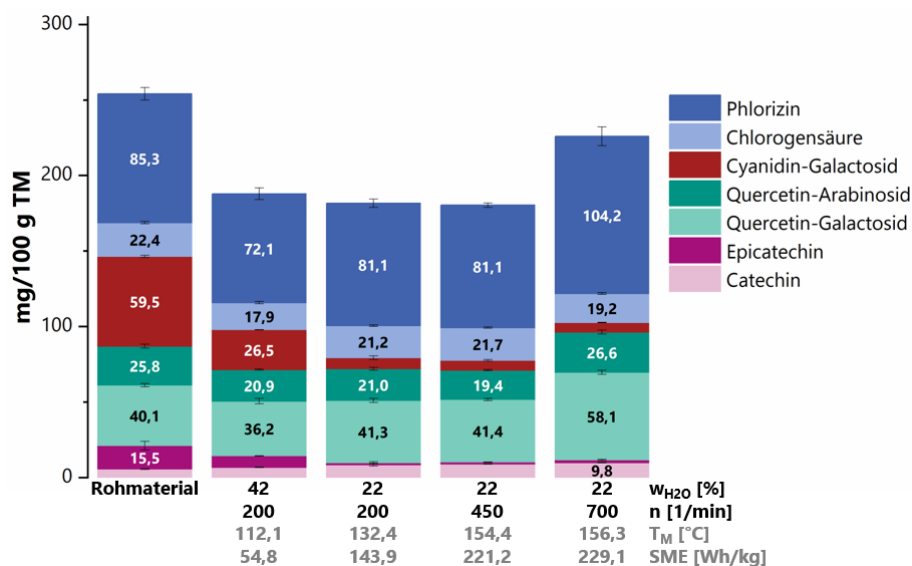
Extrusion auf die Cellulosekristallinität herangezogen werden, da sich die Strukturen der Hemicellulosen unter den angewendeten Bedingungen als stabil gezeigt haben.

Die qualitative Auswertung der Spektren zeigt, dass der kristalline Anteil durch Extrusion tendenziell zunimmt, da das Signal des C4-Atoms der Anhydroglucose der kristallinen Cellulose durch den Einfluss der Extrusion und der Behandlungsintensität größer wird. Dies wird auch in der semiquantitativen Auswertung der prozentualen Anteile der verschiedenen Modifikationen der Cellulose deutlich. Dennoch sind die Unterschiede zwischen dem Rohmaterial und den Extrudaten als gering zu beurteilen, sodass der Einfluss der thermomechanischen Behandlung auf die Struktur der Cellulose als gering eingeschätzt wird.

#### 4.1.1.4 ANALYSE (POLY)PHENOLISCHER VERBINDUNGEN

##### 4.1.1.4.1 BESTIMMUNG VON NIEDERMOLEKULAREN (POLY)PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN

Im Apfel bzw. im Apfeltrester können weitere ernährungsphysiologisch positiv bewertete Inhaltsstoffe wie (poly)phenolische Verbindungen enthalten sein. Besonders sind Vertreter der Anthocyane, Flavonole und Flavanole zu erwähnen. Die Ergebnisse der freien (Poly)Phenole des analysierten Apfeltresters sind in Abbildung 19 gezeigt.



**Abbildung 19: Niedermolekulare (poly)phenolische Verbindungen (mg/100 g TM ± Standardabweichung, n=3) aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt (w<sub>H2O</sub>) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen (T<sub>M</sub>) führte. TM: Trockenmasse

Der Gesamtgehalt der hier analysierten (poly)phenolischen Verbindungen für den Apfeltrester beträgt 254,0 mg/100 g TM und fügt sich damit in Literaturwerte (74-403 mg/100 g TM) ein (SCHIEBER *et al.*, 2001a; KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; QUEJI *et al.*, 2010; AGUEDO *et al.*, 2012; WANG *et*

*al.*, 2019; POLLINI *et al.*, 2022). Phlorizin dominiert mit 85,3 mg/100 g TM Fraktion die extrahierbarer (poly)phenolischen Verbindungen. Dies stimmt auch mit den Daten aus der Literatur überein (SCHIEBER *et al.*, 2001a; QUEJI *et al.*, 2010). POLLINI und Kollegen (2022) hingegen bestimmten im Apfeltrester Quercetin-Galactosid und Quercetin-Arabinosid als häufigste Verbindungen. Schwankungen in den Anteilen der analysierten Komponenten können abhängig von der Sorte der für den Trester verwendeten Äpfel auftreten (SCHIEBER *et al.*, 2001a). Daher sind Unterschiede zwischen verschiedenen Apfeltrestern üblich.

Unter thermomechanischer Belastung zeigt sich für den Apfeltrester, dass sich die Anteile des Flavan-3-ols Epicatechin reduzieren und auch die des Anthocyans Cyanidin-Galactosid scheinen unter den gewählten Bedingungen labil zu sein. Dahingegen ist die Chlorogensäure stabil. Ein solches Verhalten von Chlorogensäuren und Anthocyanen wurde auch bei extrudiertem Aronia- und Heidelbeertrester beobachtet. Hier war vor allem der Gehalt an Cyanidin-Galactosid reduziert (KHANAL *et al.*, 2009; SCHMID *et al.*, 2021). Außerdem wurde bei Aroniatrester festgestellt, dass die Extrusion bei höheren Wassergehalten den Abbau der Anthocyane im Vergleich zur Extrusion bei niedrigen Wassergehalten minimiert (SCHMID *et al.*, 2021). Dies kann auch für den hier untersuchten Apfeltrester bestätigt werden. Die Proben, deren SME 54,8 Wh/kg und 143,9 Wh/kg betragen, wurden mit der gleichen Drehzahl (200 1/min) extrudiert, nur der Wassergehalt war bei der Probe mit einem SME von 54,8 Wh/kg höher (42 %) als bei der Probe mit einem SME von 143,9 Wh/kg (22% Wassergehalt). Die Extrusion bei einem niedrigeren Wassergehalt führt zu einer deutlichen Abnahme des Cyanidin-Galactosids. Weiter zeigt sich auch, dass sich der Anteil an Epicatechin bei erhöhtem Wassergehalt (42 %) im Vergleich zu einem niedrigen Wassergehalt (22 %) nicht so stark reduziert. Eine Erhöhung der Drehzahl von 200 1/min auf 450 1/min bei gleichem Wassergehalt (22 %) hat trotz erhöhtem SME und erhöhter Materialtemperatur keinen zusätzlichen Einfluss auf die (poly)phenolischen Verbindungen.

Die anderen (Poly)Phenole sind unter den angewandten Extrusionsbedingungen weitgehend stabil. Bei maximaler Belastung bleiben die hier untersuchten Verbindungen zu mindestens 70 % erhalten (Summe aller untersuchten (poly)phenolischen Verbindungen). Auffällig ist, dass bei hohen Materialtemperaturen (156 °C) und einem hohen SME (229 Wh/kg) die Anteile des Quercetin-Galactosids und Phlorizins zunehmen. Eine mögliche Erklärung für diese unerwarteten Ergebnisse könnte sein, dass derartig drastische Behandlungsbedingungen die Extrahierbarkeit der Verbindungen durch die stärkere Zerstörung der Zellstrukturen verbessern.



#### 4.1.1.4.2 CHARAKTERISIERUNG DER PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN

Die Strukturen der Proanthocyanidine des Apfeltresters sowie des am stärksten thermomechanisch behandelten Apfeltresters ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  700 1/min) wurden mittels Phloroglucinolyse charakterisiert. Wie in Abschnitt 1.3.3 beschrieben wird die terminale Einheit der Proanthocyanidine als Monomer (Flavan-3-ol) freigesetzt und die Einheiten der restliche Kette (Extensionseinheiten) reagieren mit dem Phloroglucin zum Phloroglucinaddukten. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ unter Anwendung von molaren Responsefaktoren nach KENNEDY und Kollegen (2001). Aufgrund fehlender Responsefaktoren konnten das Monomer (Epi)Afzelechin und das entsprechende Addukt jedoch nicht quantifiziert werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Mittels LC-MS sind die Proanthocyanidinklassen Procyanidin und Propelargonidin identifizierbar, da (Epi)Catechin als Monomer sowie die jeweiligen Addukte des (Epi)Catechin und (Epi)Afzelechin vorhanden sind. Die Zuordnung erfolgte über das jeweils charakteristische Massenspektrum.

Epicatechin ist das einzige Flavan-3-ol, welches im Apfeltrester als endständige Einheit identifiziert werden konnte. Die Extensionseinheiten des Procyanidins bestehen hauptsächlich aus Epicatechin und zu 11 % aus Catechin. Die Proanthocyanidine weisen einen mittleren Polymerisationsgrad von 5 auf. Im Allgemeinen finden sich in Äpfeln verschiedener Sorten Proanthocyanidine mit einem Polymerisationsgrad  $>10$  wieder (Gu *et al.*, 2004). Zum Apfeltrester gibt es bisher keine Literaturdaten.

**Tabelle 11: Ergebnisse der Phloroglucinolyse des Apfeltresters sowie des am stärksten thermomechanisch behandelten Apfeltresters.** Die Bestimmung der Zusammensetzung der terminalen Einheiten, der Extensionseinheiten sowie die Berechnung des mittleren Polymerisationsgrads (mDP) erfolgte unter Verwendung von molaren Responsefaktoren von KENNEDY und Kollegen (2001). SME: spezifisch mechanischer Energieeintrag

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%] Drehzahl $n$ [1/min] Materialtemperatur $T_M$ [°C] SME [Wh/kg]	Rohmaterial	22 700 156,3 229,1
Terminale Einheit (Flavan-3-ol)	100 % Epicatechin	100 % Epicatechin
Extensionseinheiten (Phloroglucin-Addukt)	88,8 ± 0,6 % Epicatechin	88,6 ± 0,7 % Epicatechin
	11,2 ± 0,6 % Catechin	11,4 ± 0,7 % Catechin
mDP [%]	5,4 ± 0,3 %	4,2 ± 0,02 %

Wie auch schon bei den freien (poly)phenolischen Verbindungen nimmt der absolute Gehalt an terminalen Epicatechineinheiten mit thermomechanischer Behandlung ab. Dies könnte auch eine Erklärung für die leichte Abnahme des Polymerisationsgrads von 5 auf 4 unter den angewendeten Bindungen sein, was einen teilweisen Abbau der Proanthocyanidine während der Extrusion vermuten lässt. Die Verringerung des Polymerisationsgrads durch die Behandlung mittels

Extrusion konnte auch schon in der Vergangenheit an Materialien wie Heidelbeertrester gezeigt werden (KHANAL *et al.*, 2009).

#### 4.1.1.5 ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN

Zur Überprüfung, ob bei den angewendeten Prozessparametern untypisch hohe Gehalte an hitzeinduzierten Kontaminanten gebildet werden, wurden die Gehalte an Furfuralderivaten sowie Acrylamid analysiert und mit dem Rohmaterial verglichen (Tabelle 12). Furfural ist in keiner der hier untersuchten Proben nachweisbar und gemäß der Literatur im Apfeltrester auch in deutlich geringeren Mengen als HMF enthalten (AGUEDO *et al.*, 2012). HMF konnte in der Vergangenheit im Apfeltrester bereits mit Gehalten zwischen 220-242 mg/kg TM nachgewiesen werden (SCHIEBER *et al.*, 2001a; AGUEDO *et al.*, 2012). Der hier analysierte Trester enthält mit 10,3 mg/kg TM deutlich weniger HMF als in der Literatur beschrieben. Ein Grund hierfür könnten unterschiedliche Trocknungsverfahren der Trester sein. Da es sich bei HMF um ein Intermediat handelt, welches insbesondere bei hohen Temperaturen u.a. im Zuge der Maillard-Reaktion gebildet wird, kann der Trocknungsprozess einen Einfluss auf die Bildung haben.

**Tabelle 12: Bestimmung der hitzeinduzierten Kontaminanten Furfural, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF; mg/kg TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) und Acrylamid ( $\mu$ g/kg TM, n=1) in Apfeltrester und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. TM: Trockenmasse, n.d.: nicht detektiert, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), <sup>b</sup>: Analyse in einem akkreditierten Labor in Auftrag gegeben und nach der Methode DIN EN 16618:2015-06 bestimmt, n.b.: nicht bestimmbar

	Rohmaterial	42	22	22	22
<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>42</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>22</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>		<b>200</b>	<b>200</b>	<b>450</b>	<b>700</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>		<b>112,1</b>	<b>132,4</b>	<b>154,4</b>	<b>156,3</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>54,8</b>	<b>143,9</b>	<b>221,2</b>	<b>229,1</b>
Furfural [mg/kg TM]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HMF [mg/kg TM] <sup>a</sup>	10,3 $\pm$ 0,2 <sup>B</sup>	5,4 $\pm$ 0,2 <sup>E</sup>	13,9 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>	9,3 $\pm$ 0,1 <sup>C</sup>	7,0 $\pm$ 0,4 <sup>D</sup>
Acrylamid [ $\mu$ g/kg TM] <sup>b</sup>	53	25	n.b.	n.b.	n.b.

Die Gehalte an HMF variieren in den Extrudaten abhängig von den jeweiligen Prozessbedingungen. So führt ein erhöhter Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  42 %) und eine Drehzahl von 200 1/min zu einer Reduktion des Gehaltes um fast 50 % auf 5,4 mg/kg TM. Erstaunlicherweise steigt der Gehalt bei verringertem Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und gleicher Drehzahl (n 200 1/min) auf 13,9 mg/kg TM und sinkt dann wieder mit steigender Drehzahl (n 450 1/min, 700 1/min) und erhöhtem thermomechanischen Energieeintrag auf bis zu 7,0 mg/kg TM. Ein Zusammenhang zwischen den Gehalten der freien Mono- und Disaccharide und den Veränderungen der HMF-Gehalte ist nicht ersichtlich.

Apfelsaft weist beispielsweise einen durchschnittlichen Gehalt von 7,4 mg HMF/kg auf und dieser wird vom BfR unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Verzehrmenge als unproblematisch angesehen. Bei einem hohen Verzehr an Apfelsaft und mittleren HMF-Gehalten werden 92,5 µg HMF/kg Körpergewicht/Tag und bei hohen HMF-Gehalten bis zu 468,5 µg HMF/kg Körpergewicht/Tag aufgenommen (BfR, 2011). Somit kann die Bildung von HMF im Rahmen der Extrusion als gering beurteilt werden.

Der Gehalt an Acrylamid reduziert sich unter zunehmender thermomechanischer Belastung. So nimmt der Anteil bei 112,1 °C Materialtemperatur und einem SME von 54,8 Wh/kg von 53 µg/kg TM auf 25 µg/kg TM und somit um mehr als 50 % ab. Bei zunehmender Beanspruchung wird der Gehalt weiter reduziert, sodass dieser bei den weiteren Extrudaten nicht mehr bestimmbar ist.

Hitzeinduzierte Kontaminanten werden somit beim Apfeltrester unter den gewählten Extrusionsbedingungen nicht bzw. nur in geringem Ausmaß gebildet. Die Gehalte werden im Vergleich zum Ausgangsmaterial größtenteils verringert.

#### 4.1.1.6 FERMENTIERBARKEIT

Die Fermentierbarkeit des Apfeltresters wurde durch Anwendung eines vereinfachten *in vitro* Modells eingeschätzt. Hierzu wurde das stärkeverdaute Material für 6 h bzw. 24 h mit Driselase inkubiert und der nichtfermentierte Rückstand gravimetrisch bestimmt sowie die freigesetzten Mono- bzw. Oligosaccharide nach Methanolyse mittels HPAEC-PAD analysiert. Die Fermentierbarkeit berechnet sich über die Differenz zur Einwaage vor Fermentierung und Auswaage des nicht-fermentierten Rückstands. Die Ergebnisse der Fermentierbarkeitsbestimmung sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

**Tabelle 13: Fermentierbarkeit (% ± Range/2, n=2) der Ballaststoffe des Apfeltrester sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

		42	22	22	22
Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		200	200	450	700
Drehzahl n [1/min]		112,1	132,4	154,4	156,3
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]	Rohmaterial	54,8	143,9	221,2	229,1
SME [Wh/kg]					
6 h	73,5 ± 3,0	64,4 ± 1,5	73,4 ± 3,1	60,7 ± 3,8	62,8 ± 0,8
24 h	74,3 ± 1,8	71,4 ± 1,2	75,2 ± 4,3	70,4 ± 1,0	66,5 ± 1,4

Der Einfluss der Extrusion auf die Fermentierbarkeit lässt sich als gering beurteilen. Der Apfeltrester weist nach einer Inkubationszeit von 6 h eine Fermentierbarkeit von 73,5 ± 3,0 % auf. Diese verändert sich abhängig von den jeweiligen Extrusionsbedingungen, reduziert sich aber

maximal auf  $60,7 \pm 3,8$  %. Bei genauer Betrachtung der freigesetzten Mono- bzw. Oligosaccharide (vgl. Abbildung A2, Anhang) nach Methanolyse zeigt sich, dass die Anteile an Galactose abnehmen und die Anteile an freigesetzter Arabinose, Xylose und Galacturonsäure durch die thermomechanische Behandlung zunehmen. Die Polysaccharidstrukturen, welche Galactosebausteine enthalten, haben sich in der Analyse der UBS und LBS als stabil unter dem Einfluss der Extrusion gezeigt, während Arabinose- sowie Galacturonsäureeinheiten labil sind. Eine Erklärung für die Ergebnisse der Fermentierbarkeitsanalyse könnte sein, dass durch Extrusion die Polysaccharidstrukturen bzw. die Matrix, in der diese eingebettet in der Zellwand vorliegen, sich so verändern, dass arabinan- und galacturonsäurehaltige Strukturen besser für Driselase zugänglich und damit besser fermentierbar werden. Andererseits könnten die Strukturen auch so verändert werden, dass weniger galactanhaltige Polysaccharide fermentiert werden können. Ein ähnliches Bild zeigt sich auch bei den Fermentierbarkeitsversuchen nach 24 h.

## 4.1.2 APFELTRESTER ENZYMATISCH BEHANDELT

### 4.1.2.1 GRUNDCHARAKTERISIERUNG

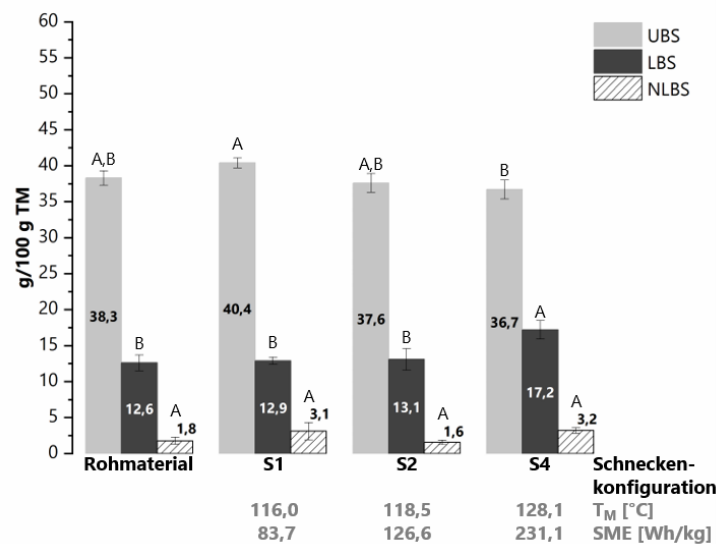
Der enzymatisch behandelte Apfeltrester weist einen Gesamtzuckergehalt von 23,4 g/100 g TM auf. Der Gehalt ist höher als für den nicht enzymierten Apfeltrester, liegt aber dennoch im Bereich (7,6-45,1 g/100 g TM) der Literaturdaten (KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; QUEJI *et al.*, 2010; AGUEDO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2019). Mit 12,7 g/100 g TM ist Fructose anteilig am meisten vertreten, gefolgt von Glucose und Saccharose. Maltose ist in geringen Mengen vorhanden (vgl. Tabelle A7, Anhang).

Die Intensität der thermomechanischen Behandlung wurde bei dem enzymatisch behandelten Apfeltrester durch unterschiedliche Schneckenelemente im Extruder herbeigeführt, welche aber keinen Einfluss auf die quantifizierten Mono- und Disaccharide hatten.

Der Stärkegehalt, welcher nach enzymatischer Spaltung der Moleküle über die Anhydroglucose bestimmt wurde, beträgt 8,3 g/100 g TM und wurde durch Behandlung mittels Extrusion nicht beeinflusst.

#### 4.1.2.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE

Die Ergebnisse der Ballaststoffbestimmung für den enzymatisch behandelten Apfeltrester sind in Abbildung 20 dargestellt. Das Rohmaterial weist einen UBS Gehalt von 38,3 g/100 g TM auf und liegt damit im Bereich der in der Literatur beschriebenen Werte (vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2: 36,5-44,6 g/100 g TM) (HWANG *et al.*, 1998a; SUDHA *et al.*, 2007; KIRBAS *et al.*, 2019). LBS konnten mit einem Anteil von 12,6 g/100 g TM bestimmt werden und reihen sich auch in die Literaturdaten ein (8,2-20,3 g/100 g TM). Im Vergleich zu dem nicht enzymierten Apfeltrester sind im Rohmaterial des enzymatisch behandelten Tresters NLBS mit 1,8 g/100 g TM enthalten. Diese könnten durch den Einsatz verschiedener Enzyme bei der Saffherstellung gebildet werden. Da nicht bekannt ist, welche Enzyme zum Einsatz kamen, kann darüber keine weitere Aussage getroffen werden.



**Abbildung 20: Gehalte der unlöslichen (UBS), löslichen (LBS) sowie niedermolekularlöslichen Ballaststoffe (NLBS; g/100 g TM ± Standardabweichung, n=3) des enzymatisch behandelten Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). Mittelwerte je Ballaststofffraktion (UBS, LBS, NLBS) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha=0,05$ , post-hoc Tukey-Test), TM: Trockenmasse, S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

Aus den Ergebnissen der Ballaststoffbestimmung für die Extrudate (Abbildung 20) wird deutlich, dass sich der Anteil der LBS erst ab einer gewissen thermomechanischen Belastung verändert. Die Anwendung von zusätzlichen Rückwärts- und Knetelementen im Extruder führte zu einem SME von 231,1 Wh/kg und einer Materialtemperatur von 128,1 °C, was in einer Zunahme des Anteils an LBS resultiert. Dies deutet auf den Ablauf der Maillard-Reaktion hin und auf die Bildung von

hochmolekularen Melanoidinen, welche in den LBS miterfasst werden können. Die Erhöhung des Anteils der LBS unter dem Einfluss von Extrusion konnte in der Vergangenheit auch schon beobachtet werden (HWANG *et al.*, 1998a; SCHMID *et al.*, 2021). Die Gehalte der UBS und NLBS bleiben weitgehend unbeeinflusst, was zum einen darauf hindeutet, dass kein direkter Polymerabbau stattfindet und unlösliche Strukturelemente nicht in die lösliche Fraktion übergehen. Zum anderen, können auch unlösliche Melanoidine gebildet werden, die einen Abbau der UBS ausgleichen. Melanoidine sind stickstoffhaltige organische Verbindungen, welche aus der Maillard-Reaktion hervorgehen. Der enthaltene Stickstoff wird vermutlich über die Proteinkorrektur, durch Anwendung des Kjeldahlverfahrens, der UBS bzw. LBS ausgeglichen. Da die Strukturen jedoch weitgehend unbekannt sind, kann nicht abgeschätzt werden, inwieweit Melanoidine als Gesamtes ausgeglichen werden, da lediglich der Stickstoffgehalt miterfasst wird. Anders als bei dem nicht enzymierten Apfeltrester kann daher kein Zusammenhang zwischen der thermomechanischen Behandlung und den Gehalten der NLBS erkannt werden.

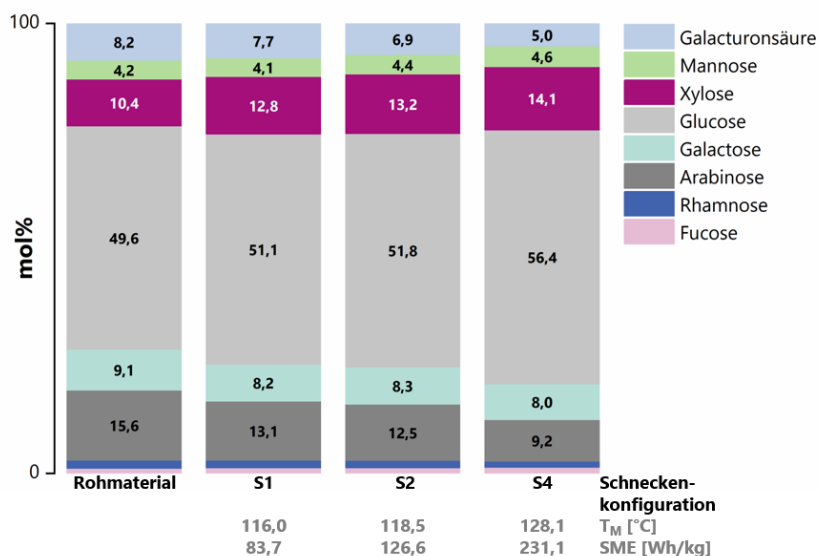
#### 4.1.2.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE

Die Strukturen der Ballaststoffe wurden mit Ausnahme der Cellulosekristallinität getrennt nach UBS, LBS und NLBS analysiert. Zur Bestimmung der Cellulosekristallinität wurde jeweils das Rohmaterial bzw. die Extrudate wie in Abschnitt 3.4.5 bzw. 8.10 beschrieben aufgearbeitet und analysiert.

##### 4.1.2.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Polysaccharidfraktion der UBS des enzymatisch behandelten Apfeltresters enthält analog zu dem nicht behandelten Apfeltrester hauptsächlich Glucose, Arabinose, Xylose, Galacturonsäure und Galactose (vgl. Abbildung 21). Darüber hinaus sind Fucose, Rhamnose und Mannose enthalten. Glucose ist erwartungsgemäß in großen Anteilen (49,6 mol%) als Hauptmonosaccharid, welches nach Schwefelsäurehydrolyse freigesetzt wurde, vertreten. Zusammen mit der Bestimmung des hohen Anteils an 1,4-Glucopyranose (24,9 mol%; vgl. Tabelle 14) in der Methylierungsanalyse lässt dies auf hohe Anteile an Cellulose in den UBS schließen. Neben Cellulose kann Glucose auch aus Xyloglucanen resultieren, was durch das Vorhandensein der 1,4,6-Glucopyranose (4,7 mol%), der endständigen Xylopyranose (9,4 mol%) und der 1,2-Xylopyranose (4,4 mol%) bestätigt werden kann. Als weitere Hemicellulosen können neben Xyloglucanen auch Xylane durch das Vorkommen der 1,4-verknüpften Xylopyranose sowie auch

Mannane über die freigesetzten Anteile an Mannose und dem entsprechenden PMAA (1,4-Mannopyranose) identifiziert werden. Die Identifizierung eines geringen Anteils des PMAA der 1,4,6-verknüpften Mannopyranose deutet auf Galacto(gluco)mannane im vorliegenden Apfeltrester hin. Die übrigen Bausteine können überwiegend Pektinpolysacchariden zugeordnet werden, wobei Arabinose, Galactose und Fucose auch als Nebenkomponenten aus Hemicellulosen dikotyler Pflanzen freigesetzt werden können. Mit 8,2 mol% ist der Anteil an Galacturonsäure in den UBS des enzymatisch behandelten Apfeltresters etwas geringer als der Anteil im nicht enzymatisch behandeltem Apfeltrester. Dies kann auf natürliche Schwankungen zurückzuführen sein oder auf die enzymatische Behandlung während der Safftherstellung. Der Anteil an methylveresterten Gruppen der polymeren Galacturonsäure beträgt 18 % und der Acetylierungsgrad 12 % (Tabelle A8, Anhang). Aus dem Verhältnis von Galacturonsäure zu Rhamnose (3:1) kann geschlossen werden, dass Homogalacturonane und Rhamnogalacturonan Typ I in ähnlichen Anteilen vorkommen.



**Abbildung 21: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der unlöslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

Strukturen des Typ I Rhamnogalacturonans in Äpfeln bzw. Apfeltrester werden als arabinanreich beschrieben (PEÑA & CARPITA, 2004; WEFERS *et al.*, 2018). Aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung und der Methylierungsanalyse kann dies ebenfalls abgeleitet werden, da hohe Anteile der Arabinose (15,6 mol%) und hohe Anteile der entsprechenden PMAA ( $\Sigma$  37,4 mol%) enthalten sind. Die vergleichsweise hohen Anteile (12,3 mol%) an verzweigten

PMAA (1,2,5-, 1,3,5- und 1,2,3,5-Arabinofuranose) im Verhältnis zu den Anteilen der 1,5-verknüpften Arabinofuranose (11,5 mol%) deuten auf ausgeprägte Verzweigungen der Arabinane als neutrale Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans hin. Substitutionen sind bevorzugt in Position *O*-3 vorhanden. Dies kann auch durch das Arabinan-Profilings und somit den nach enzymatischer Behandlung freigesetzten Oligosacchariden bestätigt werden. Hier wurden überwiegend Oligosaccharide mit Verknüpfungen in Position *O*-3 bestimmt (A-4a, A-5b, A-6a, vgl. Tabelle A9). Der hohe Anteil an doppeltsubstituierten Arabinoseeinheiten aus den Daten der Methylierungsanalyse stammt wahrscheinlich überwiegend aus einer Untermethylierung, da die entsprechenden Arabino oligosaccharide (A-5a und A-7a, vgl. Tabelle A9, Anhang) nur qualitativ bzw. nicht identifiziert werden konnten und relativiert somit die Aussage über die starke Verzweigung von Arabinanen. Des Weiteren konnten Oligosaccharide nachgewiesen werden, deren Rückgrat an Position *O*-3 (A-5b) bzw. *O*-2 (A-5c) der mittleren Einheit mit einem  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-verknüpften Dimer, verknüpft ist. Die 1,3-verknüpfte Arabinofuranose konnte mit 1,8 mol% in der Methylierungsanalyse bestätigt werden.

Die Strukturen der Galactane unterscheiden sich vom nicht enzymierten Apfel dahingehend, dass diese mehr Arabinopyranoseeinheiten enthalten. Dies geht aus den Daten des Galactan-Profilings hervor (vgl. Tabelle A9, Anhang). Neben dem Dimer G-2a, welches die  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-verknüpften Galactopyranoseeinheiten repräsentiert, konnten auch die Dimere G-2b und G-2c quantitativ erfasst werden. G-2b trägt als endständige Einheit eine Arabinopyranose und G-2c repräsentiert interne Arabinopyranoseeinheiten. Das entsprechende PMAA der terminalen Arabinopyranose konnten auch in der Methylierungsanalyse identifiziert werden. Aufgrund der strukturell identischen PMAA, welche aus einer 1,5-verknüpften Arabinofuranose und einer 1,4-verknüpften Arabinopyranose resultieren, können hierbei die jeweiligen Anteile nicht unterschieden werden. Da jedoch das Dimer G-2c im Galactan-Profilings identifiziert wurde, können Anteile dieses PMAA auch aus einer 1,4-verknüpften Arabinopyranose und somit aus Galactanen stammen.



**Tabelle 14: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der unlöslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement, Rha: Rhamnose,  $p$ : Pyranose,  $t$ : terminal, Ara: Arabinose,  $f$ : Furanose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, n.d.: nicht detektiert, Xyl: Xylose,  $^a$ : Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentationenpeaks 1,2-Xyl $p$ :  $m/z$  117, 1,4-Xyl $p$ :  $m/z$  118

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
1,2-Rha $p$	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,01	0,9 ± 0,4
1,2,4-Rha $p$	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,9 ± 0,3	0,4 ± 0,1
Σ Rha	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,4	1,8 ± 0,3	1,2 ± 0,5
t-Ara $f$	8,6 ± 0,05	8,5 ± 1,4	7,1 ± 0,2	6,0 ± 0,03
t-Ara $p$	0,6 ± 0,01	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,04	0,6 ± 0,04
1,2-Ara $f$	0,5 ± 0,01	0,3 ± 0,02	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,04
1,3-Ara $f$	1,8 ± 0,05	1,5 ± 0,3	1,2 ± 0,05	1,4 ± 0,3
1,5-Ara $f$ /1,4-Ara $p$	11,5 ± 0,03	8,5 ± 1,2	7,1 ± 0,5	9,4 ± 2,4
1,2,5-Ara $f$	1,7 ± 0,04	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,02
1,3,5-Ara $f$	5,3 ± 0,02	3,0 ± 1,7	3,3 ± 0,4	3,3 ± 0,1
1,2,3,5-Ara $f$	5,3 ± 0,02	2,3 ± 0,3	2,6 ± 0,5	2,3 ± 0,02
Σ Ara	37,4 ± 0,2	25,4 ± 5,2	23,1 ± 1,9	23,9 ± 3,0
t-Gal $p$	3,7 ± 0,01	3,2 ± 0,04	2,5 ± 0,1	3,3 ± 1,0
1,4-Gal $p$	4,0 ± 0,03	3,6 ± 0,2	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,8
1,6-Gal $p$	0,6 ± 0,02	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,04	0,7 ± 0,2
1,4,6-Gal $p$	0,3 ± 0,004	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,02	0,3 ± 0,1
Σ Gal	8,6 ± 0,1	7,5 ± 0,3	6,7 ± 0,3	8,0 ± 2,1
t-Glc $p$	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,01	0,9 ± 0,4
1,4-Glc $p$	24,9 ± 0,2	36,6 ± 4,2	41,3 ± 2,6	32,8 ± 3,1
1,4,6-Glc $p$	4,7 ± 0,04	7,8 ± 0,8	8,1 ± 0,7	7,0 ± 2,2
Σ Glc	30,5 ± 0,3	45,3 ± 5,1	50,1 ± 3,3	40,7 ± 5,7
t-Man $p$	n.d.	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,005	0,2 ± 0,1
1,4-Man $p$	3,8 ± 0,04	3,2 ± 0,2	2,8 ± 0,5	4,2 ± 1,6
1,4,6-Man $p$	0,6 ± 0,02	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,2
Σ Man	4,7 ± 0,1	4,0 ± 0,4	3,4 ± 0,6	5,2 ± 1,9
t-Xyl $p$	9,4 ± 0,05	8,9 ± 0,1	8,1 ± 2,8	10,3 ± 0,9
1,2-Xyl $p^a$	4,4 ± 0,02	3,5 ± 0,2	2,8 ± 0,2	4,6 ± 0,4
1,4-Xyl $p^a$	3,8 ± 0,01	4,0 ± 0,7	3,9 ± 0,3	6,1 ± 0,9
Σ Xyl	17,6 ± 0,1	16,4 ± 1,0	14,8 ± 3,3	20,9 ± 2,2

Die Daten zur Monosaccharidzusammensetzung der UBS aus den Extrudaten zeigen, dass der Gehalt an Arabinose unter steigender thermomechanischer Belastung bis auf 9,2 mol% (vgl. Abbildung 21) abnimmt, was mit den Daten aus der Literatur übereinstimmt (HWANG *et al.*, 1998a; SCHMID *et al.*, 2021). Die Abnahme spiegelt sich auch in den Daten der Methylierungsanalyse wider (vgl. Tabelle 14). Obwohl es keine starken Veränderungen der einzelnen Struktureinheiten gibt, scheinen sich die extrusionsbedingten Veränderungen mehr auf die Verzweigungen auszuwirken. Die Verringerung der 1,3,5- und 1,2,5-Arabinofuranoseeinheiten ist unabhängig von der

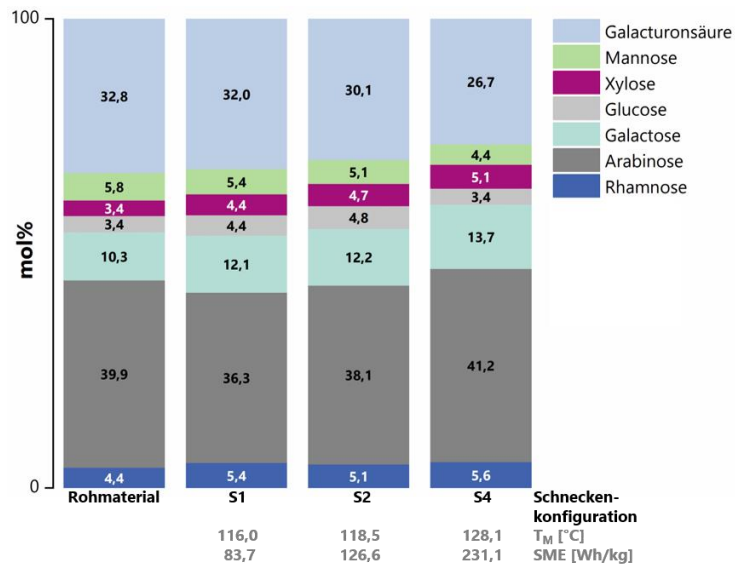
Behandlungsstärke bzw. den Schneckenkonfigurationen. Einzig die Abnahme der terminalen Arabinofuranosen ist bei der Schneckenkonfiguration S4 am ausgeprägtesten. Die Daten des Arabinan-Profilings unterstützen die Daten der Methylierungsanalyse jedoch nicht vollständig. Hier nimmt der Anteil des *O*-3-verknüpften Oligosaccharids (A-4a) nicht ab, wohl aber der Anteil des stärker verzweigten Oligosaccharids A-5b, das auch 1,3,5-substituierte Arabinofuranoseeinheiten enthält. Das Gleiche gilt für Verknüpfungen des linearen Rückgrates in Position *O*-2 (A-4b und A-5c), was darauf hindeutet, dass diese Seitenketten für extrusionsbedingte Abbaureaktionen anfällig sind. Die Extrusion scheint keinen deutlichen Einfluss auf den Veresterungsgrad zu haben (Tabelle A8, Anhang). Der Methylierungsgrad liegt für das Rohmaterial bei 18 % und für das Extrudat unter maximaler Belastung (S4) bei 15 %. Eine leichte Zunahme ist beim Acetylierungsgrad zu beobachten. Dieser nimmt von 12 % auf 20 % für die Probe mit der Schneckenkonfiguration S4 zu, was zusammen mit den Daten der Monosaccharidzusammensetzung auf eine Abnahme an nicht acetylierten Galacturonsäureeinheiten hindeutet.

#### 4.1.2.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die LBS sind mit einem Anteil von 87,4 mol% stark geprägt von charakteristischen Bausteinen von Pektinpolymeren, welche sich u.a. aus Rhamnose, Arabinose, Galactose sowie Galacturonsäure zusammensetzen (Abbildung 22). Die hohen Anteile an Galacturonsäure (32,8 mol%) und Rhamnose (4,4 mol%) sprechen für Homogalacturonan sowie Rhamnogalacturonan Typ I, wobei Homogalacturonan überwiegt. Die polymergebundene Galacturonsäure ist zu 23 % methylverestert und zu 2 % acetyliert (Tabelle A8, Anhang).

Aus der Monosaccharidzusammensetzung (Abbildung 22) und den Daten der Methylierungsanalyse (Tabelle A10, Anhang) lässt sich ableiten, dass die LBS überwiegend aus arabinanreichen Pektinen bestehen. Auch hier dominiert die Verzweigung in Position *O*-3 gegenüber der Verzweigung in Position *O*-2, was auch die Ergebnisse des Arabinan-Profilings zeigen (Tabelle A9, Anhang). Dimere Seitenketten, die an Position *O*-3 des Rückgrats gebunden sind wie das Oligosaccharid A-5b, das beim Arabinan-Profilings freigesetzt wurde, sind ebenfalls in nennenswertem Umfang in den Arabinanen der LBS enthalten. Das Verhältnis von linearen zu verzweigten Abschnitten lässt insgesamt auf stark verzweigte Arabinane schließen. Die Strukturen der Galactane aus den LBS scheinen im Vergleich zum nicht enzymierten Apfeltrester länger zu sein, was aus dem Verhältnis der endständigen Galactopyranose zur 1,4-verknüpften Galactopyranose (1:2,5) hervorgeht. Im Galactan-Profilings wurde zusätzlich das Dimer G-2b in

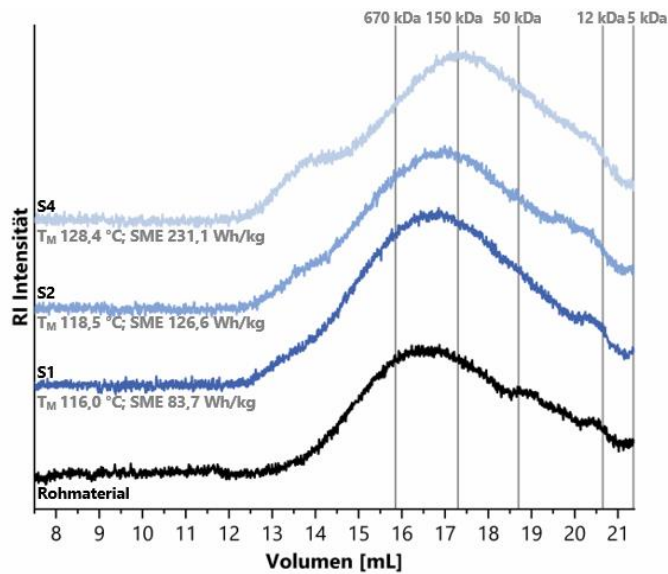
Spuren bestimmt, was über den geringen Anteil an terminaler Arabinopyranose in der Methylierungsanalyse bestätigt werden kann.



**Abbildung 22: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate nach Methanolyse.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

Xyloglucanspezifische PMAA wie die 1,4,6-verknüpfte Glucopyranose in Kombination mit der 1,2-Xylopyranose belegen das Vorkommen von Xyloglucanen in der LBS Fraktion, wenn auch nur in geringen Mengen. Gleiches gilt für Mannane, welche mit 5,8 mol% Mannose nach Methanolyse bestimmt wurden.

Unter dem Einfluss der thermomechanischen Behandlung im Extruder zeigt sich, dass der Anteil an Galacturonsäure in den LBS sowie der Methylierungsgrad abnimmt (vgl. Abbildung 22, Tabelle A8, Anhang). Weitere Veränderungen zeigen sich nur geringfügig. Der Anteil an Arabinose scheint nicht wesentlich beeinflusst zu werden. Auch aus den Daten der Methylierungsanalyse sind keine größeren Veränderungen der Bindungstypen in der Arabinanfraktion ersichtlich (Tabelle A10, Anhang). Der einzige stärker ausgeprägte und konsistente Unterschied ist eine Zunahme der terminalen Arabinofuranoseeinheiten. Die Arabinan- und Galactan-Profilings erbringen keine weiteren Hinweise auf spezifische extrusionsbedingte strukturelle Veränderungen der Polysaccharide in den LBS.



**Abbildung 23: Molekulargewichtsverteilung der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Intensität des Detektorsignals (*Refractive Index* - RI) wurde gegen das Elutionsvolumen aufgetragen. Zur Abschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten als Standardsubstanzen gemessen (graue Linien). Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

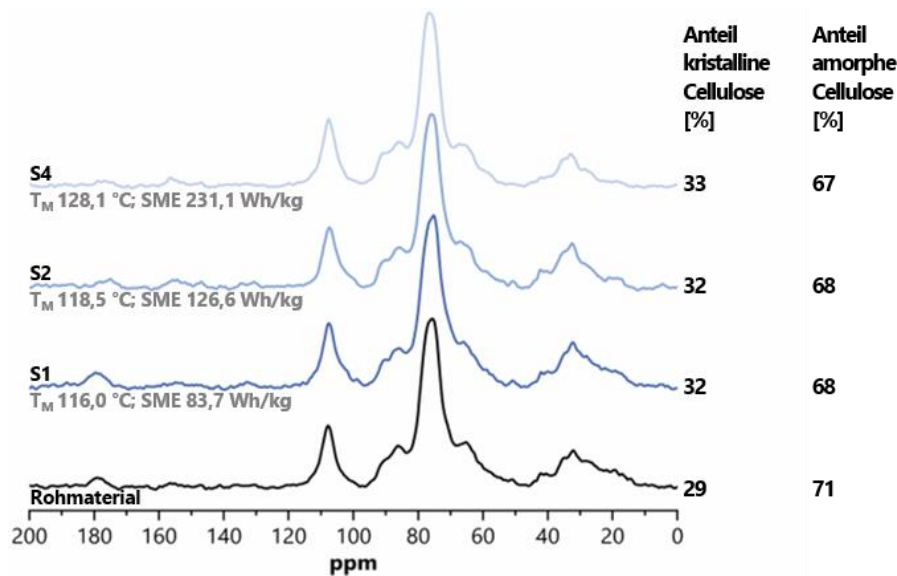
Die insgesamt geringen Veränderungen in den Strukturen der Polysaccharide der LBS werden auch in der Molekulargewichtsverteilung des Rohmaterials sowie der Extrudate deutlich (Abbildung 23). Anhand der Chromatogramme wird ersichtlich, dass die Strukturen bei der Schneckenkonfiguration S4 (höchste thermomechanische Belastung) am stärksten beeinflusst werden, was sich auch in der Zunahme der LBS-Gehalte gezeigt hat (vgl. Abbildung 20). Die Verteilung der Molekulargewichte ist hier im Vergleich zu der Konfiguration S1 und S2 verbreitert. Zudem ist bei einem Volumen von 13,5 mL ( $>670$  kDa) ein zusätzlicher Peak erkennbar. Dies könnte auf die Maillard-Reaktion bedingte Bildung von Melanoidinen hindeuten.

#### 4.1.2.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Monosaccharidzusammensetzung der NLBS nach TFA-Hydrolyse ist in Abbildung A3 (Anhang) veranschaulicht. Die NLBS des Rohmaterials basieren überwiegend auf Oligomeren, welche sich aus Arabinose (56,6 mol%), Glucose (21,9 mol%) sowie Galacturonsäure (13,4 mol%) zusammensetzen. Unter dem Einfluss der Extrusion nehmen die Anteile an Arabinose zu und die Anteile an Glucose ab. Dies deutet darauf hin, dass vor allem Arabinane depolymerisiert werden und u.a. Oligosaccharide gebildet werden.

#### 4.1.2.3.4 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

Der Grad der Kristallinität der Cellulose wurde im enzymatisch behandelten Apfeltrester mit 29 % ermittelt (Abbildung 24) und liegt damit im Bereich des Rohmaterials des nicht enzymierten Apfeltresters. Ein Literaturvergleich der Daten ist schwierig, da der Fokus bei der Kristallinitätsbestimmung oft nicht auf dikotylen Pflanzen liegt, sondern auf cellulosereichen Matrices wie Holz oder der Aufklärung der Feinstruktur von Cellulose. NEWMAN und Kollegen analysierten die Struktur von Cellulose in Pflanzenzellwänden aus Äpfeln unter Verwendung sogenannter *Proton spin relaxation edited* NMR Subspektren. Hierbei wird u.a. ausgenutzt, dass amorphe und kristalline Bereiche der Cellulose unterschiedliche Relaxationszeiten aufweisen. Über die aufgenommenen Subspektren können die nicht Cellulose zugehörigen Bereiche mathematisch von dem Cellulosespektrum abgezogen werden. Über diese Verfahren bestimmten NEWMAN und Kollegen einen Kristallinitätsgrad der Cellulose von 38 % in Äpfeln (NEWMAN *et al.*, 1994). Dieses Vorgehen war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Dennoch stimmen die Werte aus der Literatur gut mit den hier analysierten Daten zum Apfeltrester überein, obwohl andere Methoden verwendet wurden. Jedoch muss davon ausgegangen werden, dass der hier analysierte Kristallinitätsgrad unterbestimmt wurde, da aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung des mit Säure und Lauge behandelten Materials (Tabelle A6, Anhang) hervorgeht, dass noch Xylose mit einem Anteil von 10,3 mol% enthalten ist. Dies deutet auf Xyloglucane hin, welche u.a. in den Mikrofibrillen der Cellulose interkaliert vorliegen können und so für die Vorbehandlung der Materialien mit Schwefelsäure und Natronlauge nicht zugänglich sind, ohne die Struktur der Cellulose zu verändern (CARPITA & GIBEAUT, 1993). Des Weiteren ist Galacturonsäure in geringen Anteilen enthalten, welche dem Signal bei 180 ppm (Abbildung 24) zugeordnet werden kann. Bei diesem isolierten Signal handelt es sich um das C6-Atom der Carboxylgruppe von Galacturonsäure (FENWICK *et al.*, 1996).



**Abbildung 24:** <sup>13</sup>C CP/MAS Festkörper-NMR Spektren des enzymatisch behandelten Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate sowie die Anteile an kristalliner und amorpher Cellulose (%; n=1). Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt (w<sub>H2O</sub> 22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen (T<sub>M</sub>). CP: *Cross Polarisation*, MAS: *Magic Angle Spinning*, NMR: Kernspinresonanz, S1: Vorwärtselemente, S2: zwei Rückwärtselemente, S4: zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

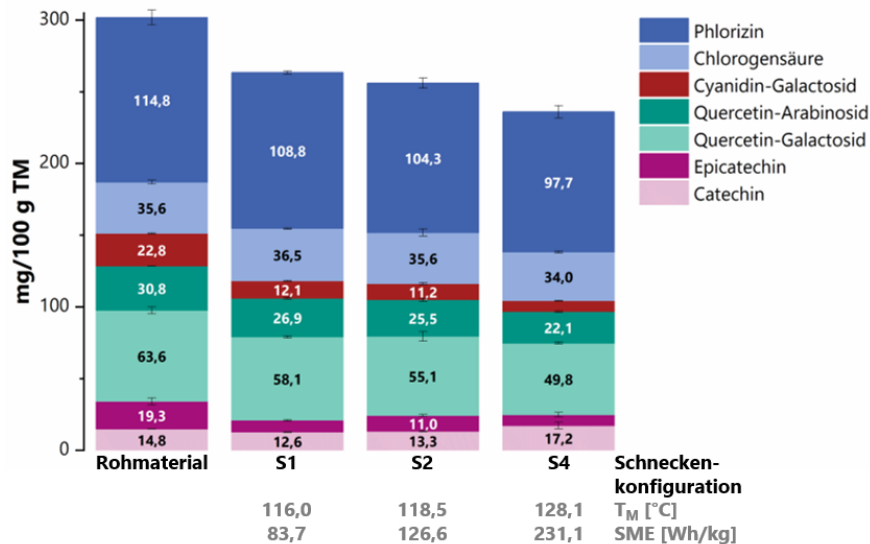
Aus den Daten geht, wie auch schon bei dem nicht enzymierten Apfeltrester, hervor, dass die Extrusion den Grad der Kristallinität der Cellulose und damit die Strukturen der Cellulose nicht bzw. nur minimal beeinflusst. Die qualitative und quantitative Auswertung der Spektren zeigt keine Unterschiede zwischen dem Rohmaterial und den Extrudaten.

#### 4.1.2.4 ANALYSE (POLY)PHENOLISCHER VERBINDUNGEN

##### 4.1.2.4.1 BESTIMMUNG VON NIEDERMOLEKULAREN (POLY)PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN

Der Gesamtgehalt an freien (poly)phenolischen Verbindungen beträgt im enzymatisch behandelten Apfeltrester 301,7 mg/100 g TM (vgl. Abbildung 25) und ist damit vergleichbar mit Literaturdaten (SCHIEBER *et al.*, 2001a; KOŁODZIEJCZYK *et al.*, 2007; QUEJI *et al.*, 2010; AGUEDO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2019; POLLINI *et al.*, 2022). Wie auch schon bei dem nicht enzymatisch behandelten Apfeltrester ist Phlorizin mit 114,8 mg/100 g TM anteilig am meisten vertreten. Die zweitgrößte Fraktion nehmen die Flavonole mit 63,6 mg/100 g TM für das Quercetin-Galactosid und 30,8 mg/100 g TM für das Quercetin-Arabinosid ein. Auffällig ist, dass im enzymatisch behandelten Apfeltrester der Gehalt des Anthocyanins Cyanidin-Galactosid um mehr als die Hälfte geringer ist im Vergleich zu dem unbehandelten Trester. Eine mögliche Erklärung könnte die unterschiedliche Behandlung der Trester bei der Safftherstellung sein und eine damit einhergehende Beeinflussung des Gehalts an Cyanidin-Galactosid. Eine weitere Möglichkeit ist,

dass im enzymatisch behandelten Apfeltrester anteilig weniger Schalenbestandteile enthalten sind, da Anthocyane im Apfel üblicherweise in der Schale lokalisiert sind oder, dass andere Apfelsorten in den Treestern verarbeitet wurden (SADILOVA *et al.*, 2006).



**Abbildung 25: Niedermolekulare (poly)phenolische Verbindungen (mg/100 g TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

Unter den hier angewendeten Extrusionsbedingungen zeigt sich, dass die Chlorogensäure stabil gegenüber thermomechanischer Belastung ist. Dies wurde auch schon bei dem nicht enzymatisch behandelten Trester und in der Literatur von SCHMID und Kollegen (2021) für verschiedene Chlorogensäuren in Aroniatrester gezeigt. Weiter zeigt sich, dass sich auch schon eine vergleichsweise milde Behandlung (Schneckenkonfiguration S1, Materialtemperatur 116,0 °C, SME 83,7 Wh/kg) besonders auf die Gehalte des Cyanidin-Galactosids auswirkt. Der Gehalt nimmt von 22,8 g/100 TM auf 12,1 g/100 g TM für das Extrudat mit der Schneckenkonfiguration S1 ab. Mit steigender Beanspruchungsstärke nimmt der Gehalt nur noch leicht ab. Insgesamt waren sich die Auswirkungen auf die freien (poly)phenolischen Verbindungen vergleichsweise gering, sodass unter maximaler Belastung (Schneckenkonfiguration S4) in Summe 78 % des Gesamtgehaltes an (polyphenolischen) Verbindungen noch vorhanden sind.

#### 4.1.2.4.2 CHARAKTERISIERUNG DER PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN

Die Proanthocyanidine des enzymatisch behandelten Apfeltresters setzen sich aus den Proanthocyanidinklassen Procyanidin und Propelargonidin zusammen. Mittels LC-MS konnte das

Phloroglucinaddukt des (Epi)Afzelechin qualitativ erfasst werden, was auf das Vorhandensein von Propelargonidinen hinweist. Propelargonidine sind Proanthocyanidine, welche mindestens eine (Epi)Afzelecheneinheit in der Kette aufweisen (SCHOFIELD *et al.*, 2001). Über die Identifizierung des (Epi)Catechins als terminale Einheit und als Phloroglucinaddukt kann die Proanthocyanidinklasse Procyanidin bestätigt werden. Mittels UHPLC-DAD unter Verwendung der molaren Responsefaktoren von KENNEDY und Mitarbeitern (2001) wurde die Zusammensetzung bestimmt. Diese erfolgte semiquantitativ, da die angewendeten Bedingungen vergleichsweise mild sind und in den Analyserückständen noch Proanthocyanidine enthalten sein können (HIXSON *et al.*, 2015). Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Aufgrund fehlender molarer Responsefaktoren für (Epi)Afzelechin konnte das Monomer hier nicht quantitativ erfasst werden. Als terminale Einheit ist im enzymatisch behandelten Apfeltrester das Flaven-3-ol Epicatechin enthalten. Auch in den Extensionseinheiten ist Epicatechin mit 89 % dominierend. Damit unterscheiden sich die betrachteten Strukturen nicht von dem unbehandelten Apfeltrester.

**Tabelle 15: Ergebnisse der Phloroglucinolyse des enzymatisch behandelten Apfeltresters sowie des am stärksten thermomechanisch beanspruchten enzymatisch behandelten Apfeltresters mit der Schneckenkonfiguration S4.** Die Bestimmung der Zusammensetzung der terminalen Einheiten, der Extensionseinheiten sowie die Berechnung des mittleren Polymerisationsgrads (mDP) erfolgte unter Verwendung von molaren Responsefaktoren von KENNEDY und Kollegen (2001). SME: spezifisch mechanischer Energieeintrag, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Kneutelement

Schneckenkonfiguration	Rohmaterial	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]		128,1
SME [Wh/kg]		231,1
Terminale Einheit (Flavan-3-ol)	100 % Epicatechin	100 % Epicatechin
Extensionseinheiten (Phloroglucin-Addukt)	89,2 ± 0,9 % Epicatechin	88,6 ± 0,7 % Epicatechin
	10,8 ± 0,6 % Catechin	11,4 ± 0,7 % Catechin
mDP [%]	4,9 ± 0,2 %	4,1 ± 0,2 %

Es zeigt sich auch ein ähnliches Verhalten durch Behandlung im Extruder. Der mittlere Polymerisationsgrad nimmt leicht von 4,9 % auf 4,1 % ab, was auf einen teilweisen Abbau der Strukturen schließen lässt und mit den Beobachtungen aus der Literatur übereinstimmt (KHANAL *et al.*, 2009). In dem vorliegenden Extrudat ist dies wahrscheinlich durch die Abnahme des absoluten Gehaltes an Epicatechin zu erklären.

#### 4.1.2.5 ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN

Ein zunehmender thermomechanischer Energieeintrag, welcher durch Variation der Schneckenkonfigurationen ausgelöst wurde, führt zur Bildung von hitzeinduzierten Kontaminanten wie HMF und Acrylamid (Tabelle 16). HMF ist mit 12,7 mg/100 g im Rohmaterial enthalten und nimmt unter maximaler Belastung (Schneckenkonfiguration S4) auf 62,3 mg/100 g TM zu. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei Acrylamid, dessen Gehalt von 24 µg/kg TM



auf 76 µg/kg TM steigt. Da der nicht enzymierte Apfeltrester einen geringeren Gehalt an freien Mono- und Disacchariden (Apfeltrester: 15,3 g/100 g TM, vgl. Tabelle 9; enzymatisch behandelte Apfeltrester: 23,4 g/100 g TM, vgl. Tabelle A7) aufweist und keine Zunahme der Kontaminanten zu erkennen ist, deutet dies zusammen mit den Daten des enzymatisch behandelten Tresters auf einen plausiblen Zusammenhang zwischen dem Zuckergehalt und der Bildung von hitzeinduzierten Kontaminanten hin, da dieser einen höheren Gehalt an freien Mono- und Disacchariden aufweist. Apfeltrester kann bis zu 254,2 mg HMF/kg enthalten (AGUEDO *et al.*, 2012).

**Tabelle 16: Bestimmung der hitzeinduzierten Kontaminanten Furfural, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF; mg/kg TM ± Standardabweichung, n=3) und Acrylamid (µg/kg TM, n=1) im enzymatisch behandelten Apfeltrester und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement, TM: Trockenmasse, n.d.: nicht detektiert, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), <sup>b</sup>: Analyse in einem akkreditierten Labor in Auftrag gegeben und nach der Methode DIN EN 16618:2015-06 bestimmt

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
Furfural [mg/kg TM]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HMF [mg/kg TM] <sup>a</sup>	12,7 ± 0,5 <sup>D</sup>	41,2 ± 0,2 <sup>C</sup>	46,0 ± 0,7 <sup>B</sup>	62,3 ± 0,4 <sup>A</sup>
Acrylamid [µg/kg TM] <sup>b</sup>	24	58	61	76

Gemäß der Verordnung zur Festlegung von Minimierungsmaßnahmen und Richtwerten für die Senkung des Acrylamidgehalts in Lebensmitteln (VO (EU) 2017/2158) sollen gemäß Artikel 1 Absatz 1 in Verbindung mit Anhang IV der Verordnung (EU) 2017/2158 Frühstückscerealien wie Kleieerzeugnisse oder gepuffte Körner maximal 300 µg/kg Acrylamid enthalten. Da die potentielle Verzehrmenge der Extrudate vermutlich geringer ist als bei Frühstückscerealien, kann das Ausmaß der Bildung als nicht kritisch für den Verzehr eingeschätzt werden.

#### 4.1.2.6 FERMENTIERBARKEIT

Die Fermentierbarkeit der Ballaststoffe des enzymatisch behandelten Apfeltresters ist mit 80,6 % nach 6 h und 79,5 % nach 24 h etwas höher als die des nicht behandelten Apfeltresters (vgl. Tabelle 17).

**Tabelle 17: Fermentierbarkeit (%  $\pm$  Range/2, n=2) der Ballaststoffe des enzymatisch behandelten Apfeltresters sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
6 h	80,6 $\pm$ 0,4	86,0 $\pm$ 0,5	81,3 $\pm$ 0,8	79,8 $\pm$ 0,1
24 h	79,5 $\pm$ 0,4	81,1 $\pm$ 0,1	81,4 $\pm$ 0,5	80,0 $\pm$ 0,9

Insgesamt sind auch hier die Auswirkungen der thermomechanischen Behandlung durch die Extrusion auf die Fermentierbarkeit des Tresters gering. Lediglich nach einer Inkubationsdauer von 6 h scheint sich bei der Schneckenkonfiguration S1 die Fermentierbarkeit auf 86,0 % zu erhöhen. Es ist kein Unterschied in der Zusammensetzung der freigesetzten Mono- und Oligosaccharide nach 6 h bzw. auch nach 24 h zu erkennen (Abbildung A4, Anhang). Nach Inkubation der Proben mit Driselase werden hauptsächlich glucose- und galactosehaltige Mono- bzw. Oligosaccharide freigesetzt. Driselase weist u.a. eine Cellulaseaktivität auf, was sich in dem Anteil der freigesetzten Glucosemonosacchariden bzw. -oligosaccharide widerspiegelt. Eine Aktivität gegenüber galactosehaltigen Polymeren ist nicht bekannt, scheint aber bei den vorliegenden Proben plausibel zu sein, da Galactosemonomere bzw. -oligomere nach enzymatischer Behandlung mit 31,4-43,7 mol% im Fermentationsüberstand nachgewiesen werden konnten.

### 4.1.3 KARTOFFELPÜLPE

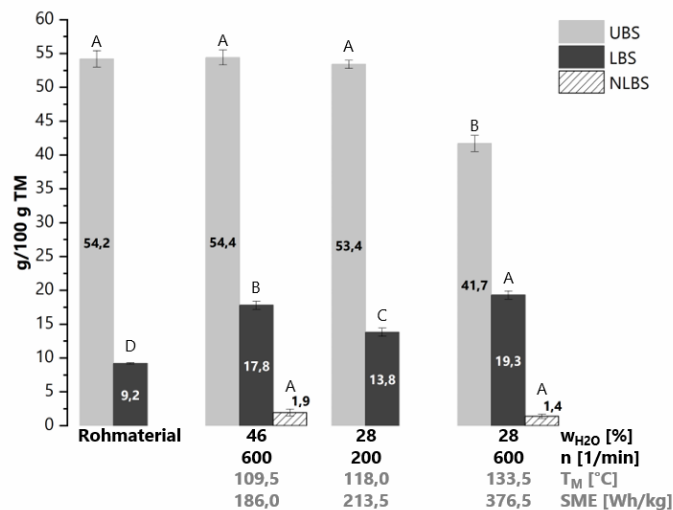
#### 4.1.3.1 GRUNDCHARAKTERISIERUNG

Die Grundcharakterisierung der Kartoffelpülpe umfassten die Quantifizierung der freien Mono- und Disaccharide sowie des Stärkegehalts. Die Ergebnisse sind in Tabelle A11 (Anhang) zusammengefasst. Die Kartoffelpülpe enthält erwartungsgemäß einen sehr geringen Anteil an freien Zuckern. Der Gesamtgehalt beläuft sich auf 0,2 g/100 g TM und ist damit vergleichbar mit in der Literatur vorhandenen Daten (PANASEVICH *et al.*, 2013). Extrusionsbedingte Veränderungen der Gehalte sind nicht zu erkennen (vgl. Tabelle A11, Anhang).

Kartoffelpülpe fällt als Nebenprodukt bei der Stärkegewinnung an, weswegen bedeutende Mengen an Reststärke zu erwarten sind. Dies kann die physikochemischen Eigenschaften des Ausgangsmaterials sowie der Extrudate beeinflussen. In der Literatur werden Gehalte von 28,7-38,9 g/100 g TM für Kartoffelpülpe beschrieben, was mit dem in der vorliegenden Pülpe ermittelten Gehalt von 30,1 g/100 g TM übereinstimmt (MAYER, 1997; SAITO *et al.*, 2006; PANASEVICH *et al.*, 2013). Veränderungen des Gesamtstärkegehalts durch eine thermomechanische Beanspruchung in Folge von Extrusion konnten ebenfalls nicht festgestellt werden. Bekannt ist, dass Extrusion einen Einfluss auf die Struktur der Stärkemoleküle hat. So wird beschrieben, dass unter dem Einfluss der thermomechanischen Behandlung die Wasserlöslichkeit der Stärke zunimmt und diese depolymerisiert (MERCIER, 1977). Anhand der hier durchgeführten Analyse kann dies nicht überprüft werden, da potentiell gebildete Oligosaccharide im Gesamtstärkegehalt miterfasst werden.

#### 4.1.3.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE

Die Ballaststoffbestimmung erfolgte mithilfe von enzymatisch-chemischen Methoden sowie der HPSEC für die Quantifizierung der NLBS. Für die Kartoffelpülpe beträgt der Gesamtballaststoffgehalt 63,4 g/100 g bezogen auf die TM (Abbildung 26). Diese Gehalte sind mit den Literaturdaten vergleichbar (vgl. Tabelle 1, Abschnitt 1.2). Wie in Abbildung 26 zu erkennen ist, dominiert der UBS-Anteil die Ballaststofffraktionen. NLBS konnten im Rohmaterial nicht nachgewiesen werden.



**Abbildung 26: Gehalte der unlöslichen (UBS), löslichen (LBS) sowie niedermolekularlöslichen Ballaststoffe (NLBS; g/100 g TM ± Standardabweichung, n=3) der Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. Mittelwerte je Ballaststofffraktion (UBS, LBS, NLBS) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), TM: Trockenmasse

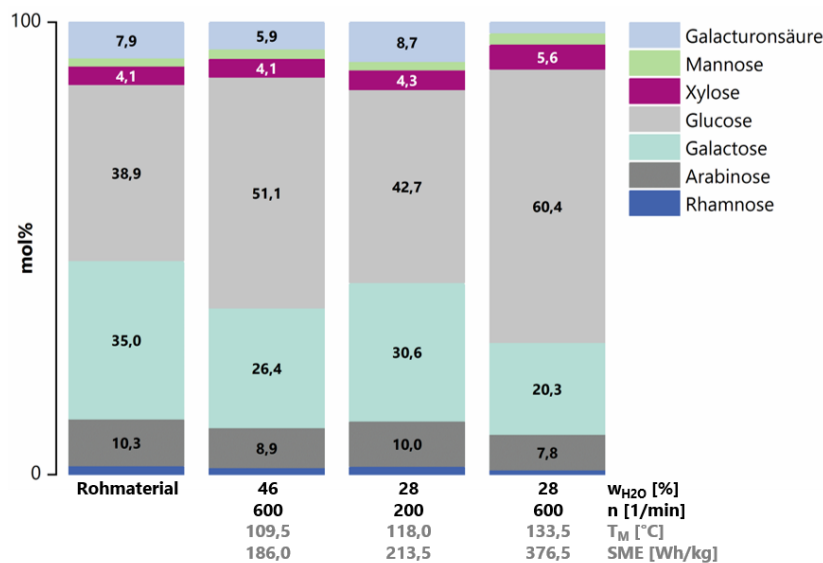
Der UBS-Gehalt verringert sich durch thermomechanische Behandlung erst ab einer gewissen Beanspruchungsstärke (Materialtemperatur 133,5 °C, SME 376,5 Wh/kg). Der Gehalt wird hierbei deutlich von 54,2 g/100 g TM auf 41,7 g/100 g TM reduziert. Ein anderes Verhalten zeigt sich bei den LBS. Hier steigt der Gehalt nicht abhängig von der thermomechanischen Beanspruchung, sondern proportional zur Drehzahl. Die Probe, welche bei einem Gesamtwassergehalt von 28 % und einer Drehzahl von 200 1/min extrudiert wurde, erfuhr eine höhere thermomechanische Belastung als das Extrudat, welches mit einem höheren Gesamtwassergehalt (46 %) und einer höheren Drehzahl (600 1/min) extrudiert wurde. Sie stellt eine Besonderheit bei der Beobachtung der Zunahme des LBS Anteils dar, da der LBS Gehalt bei einer höheren Belastung geringer ist als bei einer niedrigeren Belastung. Ebenso wird der Einfluss der Drehzahl auch bei den Gehalten der NLBS deutlich. Diese sind bei den Proben, welche bei einer Drehzahl von 600 1/min extrudiert wurden, mit Gehalten zwischen 1,4 und 1,9 g/100 g TM unabhängig vom Gesamtwassergehalt vorhanden. Diese Ergebnisse deuten somit auf eine Erhöhung der Löslichkeit der Ballaststoffe unter dem Einfluss der Extrusion hin und auf den Abbau von polymeren Strukturen bei erhöhter Drehzahl (600 1/min). Weiter kann die Zunahme des LBS Anteils auch durch die Maillard-Reaktion und der damit einhergehenden Bildung von löslichen Melanoidinen erklärt werden, welche als LBS bestimmt werden können, was hier aber nicht überprüft wurde.

### 4.1.3.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE

#### & -OLIGOSACCHARIDE

##### 4.1.3.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Den Ergebnissen der Schwefelsäurehydrolyse zufolge enthalten die UBS der Kartoffelpülpe (Abbildung 27) in vergleichbaren Anteilen Glucose (38,9 mol%) und Galactose (35,0 mol%). Weiter sind Arabinose, Galacturonsäure, Xylose, Mannose und Rhamnose wesentliche Bestandteile der Zellwandpolysaccharide.



**Abbildung 27: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der unlöslichen Ballaststoffe aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Die freigesetzte Glucose kann zum einen aus Cellulose oder aus Hemicellulosen wie Xyloglucanen stammen. Da eine thermostabile  $\alpha$ -Amylase zur präparativen Ballaststoffisolierung verwendet wurde, kann das Vorhandensein von resistenter Stärke in den UBS ausgeschlossen werden. Anhand des hohen Anteils (50,2 mol%) des PMAA der 1,4-verknüpften Glucopyranose kann bestätigt werden, dass Glucose überwiegend aus Cellulose freigesetzt wurde (vgl. Tabelle 18). Durch das Vorhandensein der PMAA der 1,4,6-Glucopyranose, der endständigen Xylopyranose und der 1,2-verknüpften Xylopyranose können Xyloglucane als Hemicellulosen bestätigt werden. Als weitere Hemicellulosen können aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung und der Methylierungsanalyse auch Xylane und (Gluco)Mannane in den UBS der Kartoffelpülpe abgeleitet werden. Die verbliebenen Monomere können Pektinpolysacchariden zugeordnet werden. Mit einem Anteil von 55,1 mol% (auf Basis der monomeren Abschätzung) überwiegen unlösliche

Pektine in den UBS. Homogalacturonan und Rhamnogalacturonan Typ I mit Arabinan- und insbesondere (Arabino)Galactanseitenketten stellen die dominierenden Strukturen im Pektin dar. Die  $\alpha$ -1,4-verknüpfte Galacturonsäure des Homogalacturonans kann mitunter an Position C6 methylverestert sowie an Position O-2 oder O-3 acetyliert vorliegen. Acetylierungen treten u.a. auch an Galacturonsäuren in Typ I Rhamnogalacturonan auf. Der Methylierungsgrad beträgt in der Kartoffelpülpe 35 %, während der Acetylierungsgrad bei 38 % liegt (Tabelle A12, Anhang). Aus dem Verhältnis von 1,2-Rhamnopyranose zu 1,2,4-verknüpfter Rhamnopyranose (1:1,5) kann geschlossen werden, dass das Rückgrat des Typ I Rhamnogalacturonans stark substituiert vorliegt.

**Tabelle 18: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der unlöslichen Ballaststoffe aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.**

Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, p: Pyranose, t: terminal, Ara: Arabinose, f: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentationenpeaks 1,2-Xylp:  $m/z$  117, 1,4-Xylp:  $m/z$  118

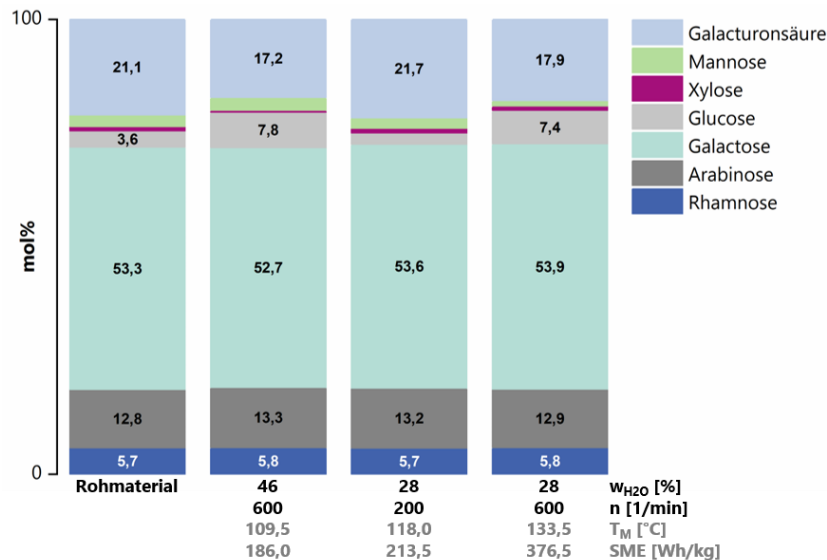
Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		46	28	28
Drehzahl n [1/min]	Rohmaterial	600	200	600
Materialtemperatur $T_M$ [°C]		109,5	118,0	133,5
SME [Wh/kg]		186,0	213,5	376,5
1,2-Rhap	0,6 $\pm$ 0,01	0,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,02	0,7 $\pm$ 0,04
1,2,4-Rhap	1,0 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,02
$\Sigma$ Rha	1,6 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1
t-Araf	3,2 $\pm$ 0,02	3,0 $\pm$ 0,2	3,6 $\pm$ 0,02	3,6 $\pm$ 0,7
t-Arap	0,5 $\pm$ 0,01	0,3 $\pm$ 0,003	0,5 $\pm$ 0,01	0,4 $\pm$ 0,1
1,2-Araf	0,3 $\pm$ 0,04	0,6 $\pm$ 0,1	0,01 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2
1,3-Araf	0,7 $\pm$ 0,04	0,1 $\pm$ 0,01	0,2 $\pm$ 0,01	0,2 $\pm$ 0,01
1,5-Araf/1,4-Arap	10,6 $\pm$ 0,1	9,6 $\pm$ 0,4	12,1 $\pm$ 0,1	9,1 $\pm$ 1,5
1,2,5-Araf	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1,3,5-Araf	2,9 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,9	2,3 $\pm$ 0,01	2,9 $\pm$ 1,2
1,2,3,5-Araf	0,4 $\pm$ 0,03	4,1 $\pm$ 0,9	5,3 $\pm$ 0,04	n.d.
$\Sigma$ Ara	18,6 $\pm$ 0,5	20,4 $\pm$ 2,4	24,1 $\pm$ 0,3	16,6 $\pm$ 3,7
t-Galp	4,3 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 0,04	4,7 $\pm$ 1,0
1,4-Galp	10,6 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,4	15,1 $\pm$ 0,2	6,9 $\pm$ 1,4
$\Sigma$ Gal	14,9 $\pm$ 0,3	13,1 $\pm$ 1,0	19,8 $\pm$ 0,2	11,6 $\pm$ 2,4
t-Glcp	1,7 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,03	1,4 $\pm$ 0,3
1,4-Glcp	50,2 $\pm$ 1,1	50,9 $\pm$ 0,2	40,7 $\pm$ 0,3	52,5 $\pm$ 2,3
1,4,6-Glcp	4,4 $\pm$ 0,003	4,4 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,7
$\Sigma$ Glc	56,3 $\pm$ 1,5	56,8 $\pm$ 0,9	45,9 $\pm$ 0,5	58,4 $\pm$ 3,3
t-Manp	0,4 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,02	0,2 $\pm$ 0,001	0,2 $\pm$ 0,02
1,4-Manp	1,8 $\pm$ 0,04	1,9 $\pm$ 0,4	2,1 $\pm$ 0,03	2,4 $\pm$ 0,2
$\Sigma$ Man	2,2 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 0,03	2,6 $\pm$ 0,2
t-Xylp	2,2 $\pm$ 0,03	1,9 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,03	2,8 $\pm$ 0,5
1,2-Xylp <sup>a</sup>	2,4 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,1	3,2 $\pm$ 1,2
1,4-Xylp <sup>a</sup>	1,8 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,3
$\Sigma$ Xyl	6,4 $\pm$ 0,2	6,7 $\pm$ 0,5	6,3 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 2,0

Als Seitenketten herrschen Galactane vor, was aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung, insbesondere aus dem Verhältnis von Galactose zu Arabinose (3,5:1), hervorgeht. Dies stimmt nicht vollständig mit den Ergebnissen der Methylierungsanalyse überein, jedoch wird wie bereits zuvor beschrieben vermutet, dass Galactane in der Methylierungsanalyse nicht repräsentativ erfasst und somit unterbestimmt werden. Auch werden Kartoffeln bzw. Kartoffelpülpe generell als galactanreich beschrieben (RING & SELVENDRAN, 1978; SERENA & KNUDSEN, 2007). Die Galactane der Kartoffelpülpe sind linear und aus 1,4-Galactopyranosen aufgebaut. Das Galactan-Profilings (Tabelle A13, Anhang) erbrachte als zusätzliche strukturelle Information, dass im Rückgrat intern gebundene 1,4-gebundene Arabinopyranosen (G-2c) enthalten sind. Strukturdaten über die Arabinane, welche aus den Daten der Methylierungsanalyse resultieren, zeigen, dass die Arabinane überwiegend linear aufgebaut sind. Verzweigungen können an Position O-3 auftreten. Der geringe Anteil an doppelsubstituierter Arabinopyranose kann auch aus einer Untermethylierung stammen, da im Arabinan-Profilings (Tabelle A13, Anhang) ausschließlich das Dimer aus 1,5-verknüpften Arabinofuranosen (A-2a) bestimmt wurde. Wie auch schon bei den Daten der Ballaststoffbestimmung zeigt sich für die Strukturen der Ballaststoffpolysaccharide, dass der Einfluss einer hohen Drehzahl auf die Struktur gegenüber einer steigenden thermomechanischen Belastung überwiegt. Der Anteil an Galactose in den UBS reduziert sich durch die Behandlung im Extruder, und unter maximaler Belastung ( $w_{H_2O}$  28 %,  $n$  600 1/min) nimmt auch der Anteil an Galacturonsäure und Rhamnose ab. Ein Vergleich der Galacturonsäure- zu Rhamnoseverhältnisse von Rohmaterial zu Extrudat, welches bei einem Gesamtwassergehalt von 28 % bei einer Drehzahl von 600 1/min extrudiert wurde, zeigt, dass diese von 4:1 auf 2,5:1 abnimmt, was auf einen stärkeren Abbau von Homogalacturonan im Vergleich zu Rhamnogalacturonan Typ I hindeutet. Weiterhin nimmt der Methylierungsgrad von 35 % auf 12 % ab und der Acetylierungsgrad von 38 % auf 12 %.

#### 4.1.3.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Polysaccharide der LBS aus Kartoffelpülpe basieren weitgehend auf Pektinpolymeren (vgl. Abbildung 28). Kleinere Anteile an polymerer Glucose (3,6 mol%), Xylose (0,9 mol%) und Mannose (2,5 mol%) finden sich auch in den LBS wieder. Dies kann auf Hemicellulosen wie Xyloglucane, Xylane oder Mannane hindeuten. Glucose kann mitunter auch aus nicht vollständig hydrolysiertes Stärke stammen. Dies wird auch durch die Ergebnisse der Methylierungsanalyse (Tabelle A14, Anhang) bekräftigt. Hier konnten 25,9 mol% des PMAA der 1,4-verknüpften Glucopyranose

bestimmt werden. Dieser Anteil ist jedoch auffällig hoch und kann bisher nicht erklärt werden, da ein Jod-Stärke-Test der LBS negativ ausfiel. Der Jod-Stärke-Test basiert darauf, dass Stärke mit Jod eine typisch gefärbte Einschlussverbindung bildet. Hierbei wird jeweils ein Jodmolekül in eine helixförmige Konformation der Stärke eingelagert.



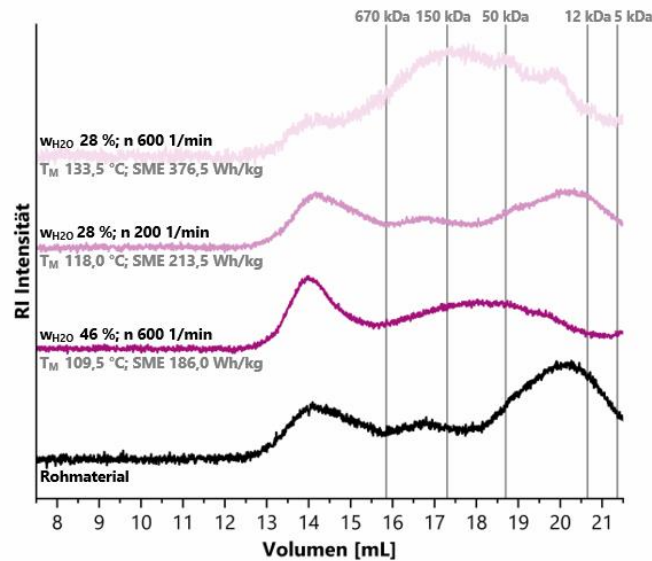
**Abbildung 28: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Aus dem Verhältnis Galacturonsäure zu Rhamnose von 3:1 kann abgeleitet werden, dass Homogalacturonan und Rhamnogalacturonan Typ I zu etwa gleichen Teilen vertreten sind. Die polymergebundene Galacturonsäure ist zu 46 % methylverestert und zu 46 % acetyliert (Tabelle A12, Anhang). Die neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans werden wie auch bei den UBS der Kartoffelpülpe von Galactanen dominiert. Dies geht aus dem deutlich größeren Anteil an Galactose (53,3 mol%) im Vergleich zur Arabinose (12,8 mol%), welche nach Methanolyse freigesetzt wurden, hervor. Die Galactane sind linear, und nach Inkubation mittels *endo*-Galactanase konnten anhand des Galactan-Profilings ebenfalls intern gebundene Arabinopyranoseeinheiten (G-2c; vgl. Tabelle A13, Anhang) identifiziert werden. Ebenso wie die Galactane sind die Arabinane in den LBS ausschließlich linear. Im Zuge der Methylierungsanalyse konnten keine PMAA verzweigter Arabinosen detektiert werden (vgl. Tabelle A14, Anhang), was auch die Daten des Arabinan-Profilings bestätigen.

Mögliche Veränderungen der Strukturen der Pektinpolysaccharide werden bei einer erhöhten Drehzahl ( $n$  600 1/min) durch eine Abnahme des Galacturonsäureanteils sichtbar. Hier reduziert sich der Anteil leicht von 21,1 mol% (Rohmaterial) auf bis zu 17,2 mol% ( $w_{H_2O}$  46 %,  $n$  600 1/min).



Der Einfluss einer hohen Drehzahl zeigt sich tendenziell auch in der Molekulargewichtsverteilung der LBS (Abbildung 29).



**Abbildung 29: Molekulargewichtsverteilung der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.** Die Intensität des Detektorsignals (*Refractive Index* - RI) wurde gegen das Elutionsvolumen aufgetragen. Zur Abschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten als Standardsubstanzen gemessen (graue Linien). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Es scheint, dass die Fraktion des Rohmaterials mit Molekulargewichten zwischen 12 kDa und 50 kDa unter der Beanspruchung bei einer Drehzahl von 600 1/min hin zu Molekulargewichten <5 kDa verschoben wird, was für eine Depolymerisation unter diesen Bedingungen spricht. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen der Ballaststoffbestimmung und der Quantifizierung der NLBS bei diesen Drehzahlen. Weitere Veränderungen in den Strukturdetails sind mit den hier durchgeführten Analysen nicht zu erkennen.

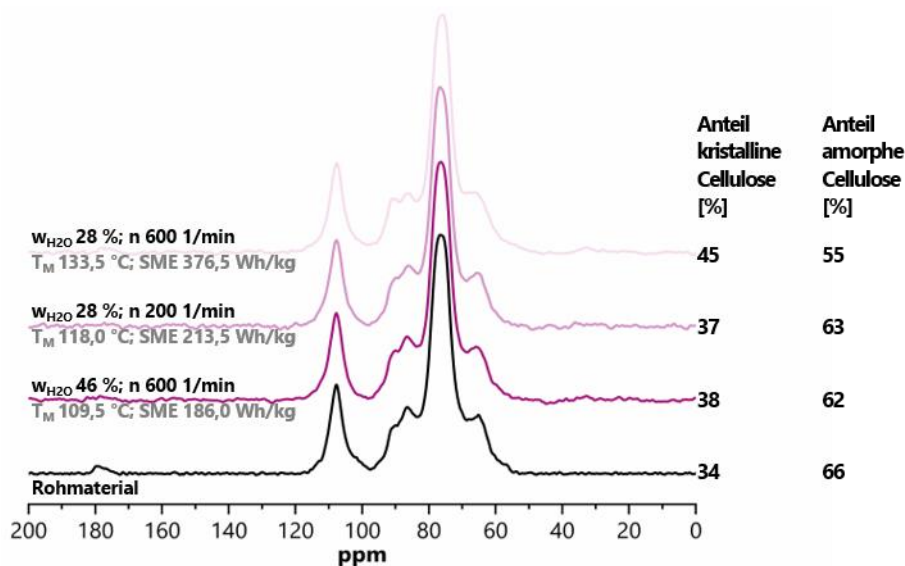
#### 4.1.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Zur Charakterisierung der Zusammensetzung der Strukturen der NLBS wurde für die Proben, welche bei einer Drehzahl von 600 1/min extrudiert wurden, die Monosaccharidzusammensetzung nach einer TFA-Hydrolyse analysiert sowie eine Methylierungsanalyse zur Bestimmung der Bindungstypen durchgeführt (Tabelle A15, Anhang). In beiden Proben dominiert mit über 50 mol% die Arabinose, die hauptsächlich 1,5-verknüpft vorliegt. Bei dem Extrudat, welches mit einem Gesamtwassergehalt von 46 % extrudiert wurde, sind daneben große Anteile 1,4-verknüpfte Glucose enthalten sowie Galactose und Galacturonsäure in gleichen Anteilen.

Glucose kann u.a. aus Stärkeabbauprodukten wie Maltooligosacchariden oder aber auch aus Cellooligosacchariden stammen. Ob Glucose in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Form verknüpft vorliegt, wurde hier nicht überprüft. Galacturonsäure stammt vermutlich aus den Abbauprodukten von Homogalacturonan. Im Vergleich dazu ist in dem Extrudat, welches bei einem Gesamtwassergehalt von 28 % extrudiert wurde, Galacturonsäure nur in Spuren vorhanden, jedoch mehr Galactose, welche 1,4-verknüpft vorliegt.

#### 4.1.3.3.4 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

Bei einer qualitativen Auswertung der  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektren (Abbildung 30) lässt sich erkennen, dass das Signal für das C4-Atom der kristallinen Cellulose (91 ppm) erst ab einer Materialtemperatur von 133,5 °C und einem SME von 376,5 Wh/kg im Vergleich zu dem Rohmaterial und den anderen Extrudaten verändert ist. Dies spiegelt sich auch in dem Anteil der kristallinen Cellulose (Abbildung 30) wider, der bei hoher thermomechanischer Belastung ( $w_{\text{H}_2\text{O}}$  28 %, n 600 1/min) von 34 % für das Rohmaterial auf 45 % zunimmt.



**Abbildung 30:**  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektren der Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate sowie die Anteile an kristalliner und amorpher Cellulose (%). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{\text{H}_2\text{O}}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. CP: *Cross Polarisation*, MAS: *Magic Angle Spinning*, NMR: Kernspinresonanz

Die Veränderungen sind aber dennoch als gering einzuschätzen. Weiter ist zu beachten, dass aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung (Tabelle A6, Anhang) hervorgeht, dass neben Glucose weitere Monosaccharide enthalten sind. So konnte in allen Proben Galactose in Spuren nachgewiesen werden. Galactosehaltige Polymerstrukturen sich in der Kartoffelpülpe zeigten als labil unter dem Einfluss der Extrusion (vgl. Abschnitt 4.1.3.3.1). Da das C4-Signal der amorphen

Cellulose von dem C4-Signal der (polymeren) Galactose überlagert sein kann, sind mögliche Veränderungen der Anteile an kristalliner und amorpher auch durch Veränderungen der Galactose bedingt und die Ergebnisse mit Vorbehalt zu interpretieren.

#### 4.1.3.4 BESTIMMUNG DER CHLOROGENSÄUREGEGHALTE

Die Ergebnisse der Chlorogensäurebestimmung der Kartoffelpülpe sind in Tabelle 19 zusammengefasst. Im Rohmaterial sind 28,7 mg/100 g TM enthalten. Anteilig finden sich in Kartoffeln in der Schale mit 37,1-168,8 mg Chlorogensäure /100 g TM die höchsten Gehalte wieder (WEIDEL *et al.*, 2014). In der geschälten Knolle können Chlorogensäuren im Bereich von 6,8-102,1 mg/100 g TM vorhanden sein (LACHMAN *et al.*, 2013; WEIDEL *et al.*, 2014). WEIDEL und Kollegen (2014) zeigten, dass die Gehalte abhängig von der analysierten Kartoffelsorte stark schwanken können. Ein Literaturvergleich ist daher schwer möglich, zumal in der Literatur keine Pülpe, sondern die gesamte Kartoffel analysiert wurde.

**Tabelle 19: Chlorogensäuregehalte (mg/100 g TM ± Standardabweichung, n=3) in Kartoffelpülpe und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. TM: Trockenmasse, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		46	28	28
Drehzahl n [1/min]	Rohmaterial	600	200	600
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]		109,5	118,0	133,5
SME [Wh/kg]		186,0	213,5	376,5
Chlorogensäure [mg/100 g TM] <sup>a</sup>		28,7 ± 3,2 <sup>A</sup>	23,8 ± 1,0 <sup>B</sup>	21,9 ± 0,6 <sup>B</sup>

Es konnte in der Literatur aber gezeigt werden, dass eine Erhitzung der Knolle in Form von Kochen, Mikrowellenbehandlung oder im Ofen den Gehalt an Chlorogensäuren deutlich reduzieren kann. Dies konnte hier auch unter dem Einfluss der Extrusion gezeigt werden. Die Gehalte sind für sämtliche untersuchte Proben im Vergleich zum Rohmaterial verringert und bei Materialtemperaturen von 133,5 °C um fast 50% reduziert. Diese Instabilität der Chlorogensäure während der Extrusion wurde auch schon für Aroniatrester und Buchweizen gezeigt (BEITANE *et al.*, 2018; SCHMID *et al.*, 2020).

#### 4.1.3.5 BESTIMMUNG DER GLYKOALKALOIDGEGHALTE

Glykoalkaloide kommen natürlicherweise in der Kartoffel vor und können daher auch noch in nennenswertem Umfang in der Kartoffelpülpe enthalten sein. Als Vertreter sind  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin zu nennen, deren Gehalte aber abhängig von der Kartoffelsorte und den Lagerbedingungen variieren können. Des Weiteren ist in der Schale der Kartoffel anteilig mehr

$\alpha$ -Chaconin vorhanden (ABELL & SPORNS, 1996; FRIEDMAN *et al.*, 2003; LACHMAN *et al.*, 2013). Dies zeigt sich auch in der hier analysierten Kartoffelpülpe (Tabelle 20).  $\alpha$ -Chaconin ist in größeren Mengen als  $\alpha$ -Solanin nachweisbar, da Kartoffelpülpe anteilig mehr Schalenbestandteile enthält.

**Tabelle 20: Glykoalkaloidgehalte (mg/100 g TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) in Kartoffelpülpe und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. TM: Trockenmasse, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

		46	28	28
<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>600</b>	<b>200</b>	<b>600</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>109,5</b>	<b>118,0</b>	<b>133,5</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>		<b>186,0</b>	<b>213,5</b>	<b>376,5</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>				
$\alpha$ -Solanin <sup>a</sup>	37,9 $\pm$ 1,2 <sup>C</sup>	44,9 $\pm$ 1,8 <sup>B</sup>	42,8 $\pm$ 0,5 <sup>B</sup>	49,4 $\pm$ 0,6 <sup>A</sup>
$\alpha$ -Chaconin <sup>a</sup>	150,4 $\pm$ 5,4 <sup>D</sup>	167,3 $\pm$ 8,8 <sup>BC</sup>	161,4 $\pm$ 2,6 <sup>CD</sup>	196,4 $\pm$ 2,1 <sup>A</sup>
Gesamtglykoalkaloidgehalt <sup>a</sup>	188,2 $\pm$ 6,6 <sup>D</sup>	212,2 $\pm$ 10,5 <sup>BC</sup>	204,2 $\pm$ 3,1 <sup>CD</sup>	245,9 $\pm$ 2,8 <sup>A</sup>

Wie erwartet wird der Gehalt an Glykoalkaloiden durch Extrusion nicht reduziert, da diese sich als stabil unter dem Einfluss von Hitze zeigen (BUSHWAY & PONNAMPALAM, 1981; LACHMAN *et al.*, 2013).

Weniger erwartet jedoch, erhöht sich der Gehalt an Glykoalkaloiden unter dem Einfluss der Extrusion. Dies ist vermutlich durch eine bessere Extrahierbarkeit der Analyten durch die Behandlung im Extruder bedingt und nicht aufgrund einer Bildung von Glykoalkaloiden.

Das BfR empfiehlt, dass der Gesamtglykoalkaloidgehalt in Kartoffeln 100 mg/kg Frischgewicht nicht überschreiten sollte, damit das *No Observed Adverse Effect Level* von 0,5 mg/kg Körpergewicht pro Tag nicht überschritten wird. Dieser Wert wurde auf Basis eines durchschnittlichen Konsums von 350 g Kartoffeln bzw. Kartoffelprodukten ermittelt (BfR, 2018). Da davon auszugehen ist, dass Extrudate nicht in einem solchem Umfang verzehrt werden ist der maximale Gesamtgehalt von 245,9 mg/100 g TM (Tabelle 20) als nicht auffällig zu beurteilen.

#### 4.1.3.6 ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN

Furfuralderivate sind in der Kartoffelpülpe und in den Extrudaten nicht bzw. nur in Spuren enthalten (Tabelle 21). Da es sich bei Furfuralderivaten um Reaktionsprodukte handelt, welche Monosaccharide als Edukte haben, sind die Ergebnisse insofern plausibel, da in der Kartoffelpülpe und den in jeweiligen Extrudaten freie Monosaccharide nur in geringen Mengen vorhanden sind (vgl. Tabelle A11, Anhang).

**Tabelle 21: Bestimmung der hitzeinduzierten Kontaminanten Furfural, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF; mg/kg TM ± Standardabweichung, n=3) und Acrylamid (µg/kg TM, n=1) in Kartoffelpülpe und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. TM: Trockenmasse, n.d.: nicht detektiert, <sup>a</sup>: Analyse in einem akkreditierten Labor in Auftrag gegeben und nach der Methode DIN EN 16618:2015-06 bestimmt, n.b.: nicht bestimmbar

Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		46	28	28
Drehzahl n [1/min]	Rohmaterial	600	200	600
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]		109,5	118,0	133,5
SME [Wh/kg]		186,0	213,5	376,5
Furfural [mg/kg TM]		n.d.	n.d.	n.d.
HMF [mg/kg TM]	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Acrylamid [µg/kg TM] <sup>a</sup>	41	35	46	71

Acrylamid ist mit 41 µg/kg TM im Rohmaterial enthalten. Der Gehalt wird bei dem Extrudat, welches unter einem erhöhten Gesamtwassergehalt von 46 % extrudiert wurde, leicht auf 35 µg/kg TM reduziert und erhöht sich dann wieder bei Extrusion mit einem Gesamtwassergehalt von 28 % und einer Drehzahl von 600 1/min auf 71 µg/kg TM. Somit scheint die Acrylamidbildung zwar quantifizierbar, jedoch vergleichsweise gering zu sein, was zu Acrylamidgehalten unterhalb der Richtwerte in Lebensmitteln gemäß Artikel 1 in Verbindung mit Anhang IV der Verordnung (EU) Nr. 2017/2158 führt. Weiter ist zu berücksichtigen, dass die Extrudate nicht als eigenständiges Produkt, sondern als Lebensmittelzutat verzehrt werden.

#### 4.1.3.7 FERMENTIERBARKEIT

Der Abbau der Ballaststoffe der Kartoffelpülpe unterscheidet sich nach enzymatischer Behandlung für 6 h bzw. 24 h nur gering (Tabelle 22). Die Analyse der Zusammensetzung der durch Fermentation mittels Driselase freigesetzten Mono- und Oligosaccharide zeigt, dass größtenteils Glucose und Galactose enthalten sind (vgl. Abbildung A5, Anhang). Nach 24 h ist der Anteil an Galactose im Vergleich zu einem Enzymverdau für 6 h höher, was daraus schließen lässt, dass nach 24 h mehr galactosehaltige Polysaccharide fermentiert werden.

**Tabelle 22: Fermentierbarkeit (% ± Range/2, n=2) der Ballaststoffe der Kartoffelpülpe sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		46	28	28
Drehzahl n [1/min]	Rohmaterial	600	200	600
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]		109,5	118,0	133,5
SME [Wh/kg]		186,0	213,5	376,5
6 h		83,4 ± 0,7	84,3 ± 0,5	85,0 ± 0,2
24 h	81,4 ± 0,3	82,8 ± 0,3	83,4 ± 0,2	78,9 ± 0,1

Die thermomechanische Behandlung durch Extrusion hat keine großen Auswirkungen auf die Fermentierbarkeit, sodass auch kaum Unterschiede in der Zusammensetzung der freigesetzten Mono- und Oligosaccharide zwischen dem Rohmaterial und den Extrudaten zu erkennen sind.

#### 4.1.4 KAROTTENTRESTER

##### 4.1.4.1 GRUNDCHARAKTERISIERUNG

Unter den quantifizierten freien Mono- und Disacchariden des Karottentresters ist Saccharose mit 4,4 g/100 g TM der vorherrschende Zucker. Glucose, Fructose und Maltose sind zwischen 0,8-1,8 g/100 g TM enthalten (Tabelle 23). Weiter zeichnet sich der Karottentrester durch einen niedrigen Stärkegehalt aus.

**Tabelle 23: Gehalte der freien Mono- und Disaccharide sowie Stärkegehalte (g/100 g Trockenmasse ± Standardabweichung, n=3) des Karottentresters und der jeweiligen Extrudate.**

Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

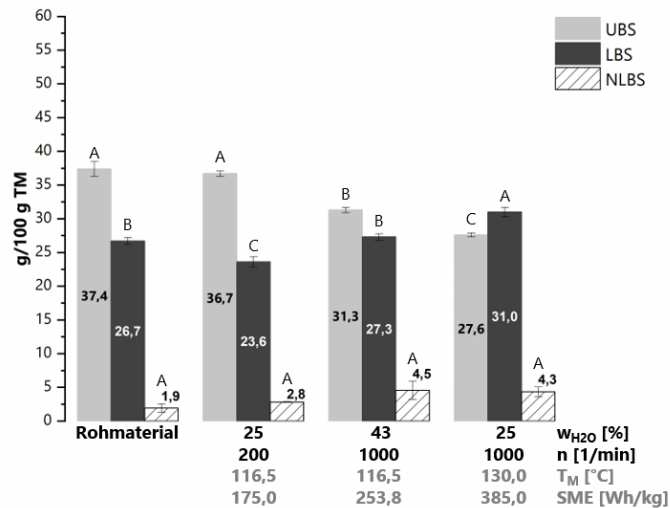
<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>25</b>	<b>43</b>	<b>25</b>
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>		<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
Freie Mono- und Disaccharide				
Glucose <sup>a</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>C</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>C</sup>	2,1 ± 0,4 <sup>BC</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>AB</sup>
Fructose <sup>a</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>C</sup>	1,9 ± 0,3 <sup>C</sup>	2,7 ± 0,6 <sup>BC</sup>	3,5 ± 0,1 <sup>AB</sup>
Saccharose <sup>a</sup>	4,4 ± 0,5 <sup>A</sup>	4,2 ± 0,4 <sup>A</sup>	4,8 ± 0,9 <sup>A</sup>	1,1 ± 1,0 <sup>B</sup>
Maltose <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>B</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>BC</sup>	1,4 ± 0,4 <sup>AC</sup>	1,2 ± 0,2 <sup>BC</sup>
Stärke <sup>a</sup>	1,0 ± 0,03 <sup>B</sup>	1,1 ± 0,02 <sup>B</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>B</sup>	1,5 ± 0,1 <sup>A</sup>

Durch die thermomechanische Behandlung des Tresters im Extruder nimmt der Gehalt an Glucose und Fructose tendenziell zu und der Anteil an Saccharose ab. Da es sich bei Saccharose um ein Disaccharid handelt, was sich aus einer (1→2)-glykosidisch verknüpften  $\alpha$ -D-Glucose und einer  $\beta$ -D-Fructose zusammensetzt, deuten die Daten daraufhin, dass die glykosidische Bindung von Saccharose unter den verwendeten Bedingungen gespalten wird. Dies zeigt sich vor allem bei den Extrudaten, welche bei einer Drehzahl von 1000 1/min extrudiert wurden. Maltose sowie die enthaltenen Stärkepolysaccharide sind weitestgehend stabil unter den Bedingungen.

##### 4.1.4.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE

Der Karottentrester weist einen Gesamtballaststoffgehalt von 66,0 g/100 g TM und ein UBS/LBS-Verhältnis von 1,4:1 auf (vgl. Abbildung 31). Der Anteil der LBS ist im Karottentrester somit vergleichsweise hoch. Ein ähnlich hohes Verhältnis von 2:1 geht auch aus den Daten von BELLUR

NAGARAJIAH und PRAKASH (2015) hervor. Unter Anwendung der AOAC-Methode 985.29 wurden in der Literatur Gesamtballaststoffgehalte von 63,5-73,0 g/100 g TM ermittelt (CHAU *et al.*, 2004; TURKSOY & ÖZKAYA, 2011).



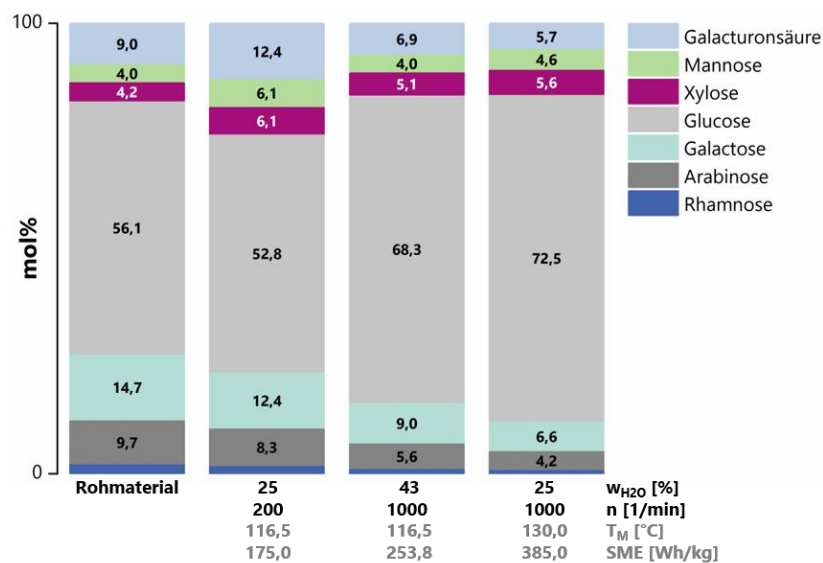
**Abbildung 31: Gehalte der unlöslichen (UBS), löslichen (LBS) sowie niedermolekularlöslichen Ballaststoffe (NLBS; g/100 g TM ± Standardabweichung, n=3) des Karottentresters und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. Mittelwerte je Ballaststofffraktion (UBS, LBS, NLBS) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), TM: Trockenmasse

Veränderungen des UBS-Anteils unter dem Einfluss der Extrusion sind ab einer Drehzahl von 1000 1/min zu erkennen, wobei sich der Anteil reduziert. Unter Bedingungen mit maximalen Energieeintrag ( $w_{H_2O}$  25 %, n 1000 1/min) kehrt sich das Verhältnis von UBS zu LBS sogar um, sodass mehr LBS als UBS in dem Extrudat vorhanden sind. Die Zunahme der LBS bei gleichzeitiger Abnahme der UBS ab einer gewissen thermomechanischen Belastung deckt sich auch mit Beobachtungen aus der Literatur (HWANG *et al.*, 1998b; SCHMID *et al.*, 2021). Die Gehalte der NLBS im Karottentrester bleiben durch die Behandlung im Extruder unbeeinflusst. Insgesamt lassen die Ergebnisse einen Übergang von Strukturelementen der unlöslichen in die lösliche Fraktion vermuten und deuten damit auf eine Verflüssigung der Ballaststoffpolysaccharide hin.

### 4.1.4.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & -OLIGOSACCHARIDE

#### 4.1.4.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Das Hauptmonosaccharid der UBS des Karottentresters nach Schwefelsäurehydrolyse ist Glucose (Abbildung 32). Ebenfalls vertreten sind Bestandteile von Pektinpolysacchariden wie Galactose, Arabinose, Galacturonsäure und Rhamnose. Xylose und Mannose als Einheiten von Hemicellulosen, wie Xyloglucanen, Xylanen sowie Mannanen, sind mit jeweils 4 mol% enthalten.



**Abbildung 32: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der unlöslichen Ballaststoffe aus Karottentrestern und der jeweiligen Extrudate nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Wie zu erwarten, dominiert mit einem hohen Anteil an Glucose auch der Anteil der 1,4-verknüpften Glucopyranose (vgl. Tabelle A16, Anhang), was auf Cellulose als Hauptpolysaccharid in den UBS schließen lässt. Wie schon aus den Daten der Monosaccharidzusammensetzung vermutet, sind Hemicellulosen nur in geringen Anteilen vertreten. Das geht aus den vergleichsweise niedrigen Anteilen der PMAA der 1,4,6-Glucopyranose (3,2 mol%), der terminalen Xylopyranose (1,4 mol%) und der 1,2-Xylopyranose (0,9 mol%) hervor, die in Xyloglucanen vertreten sind. Auch die PMAA der 1,4-verknüpften Xylopyranose (5,5 mol%) und der 1,4-verknüpften Mannopyranose (5,7 mol%), bestätigen, dass Xylane und Mannane nur in geringen Mengen in den UBS des Karottentresters vorkommen.

Anhand der Daten der unlöslichen Pektinpolysaccharide ist zu erkennen, dass Homogalacturonane in höheren Anteilen vertreten sind als Typ I Rhamnogalacturonane. Dies



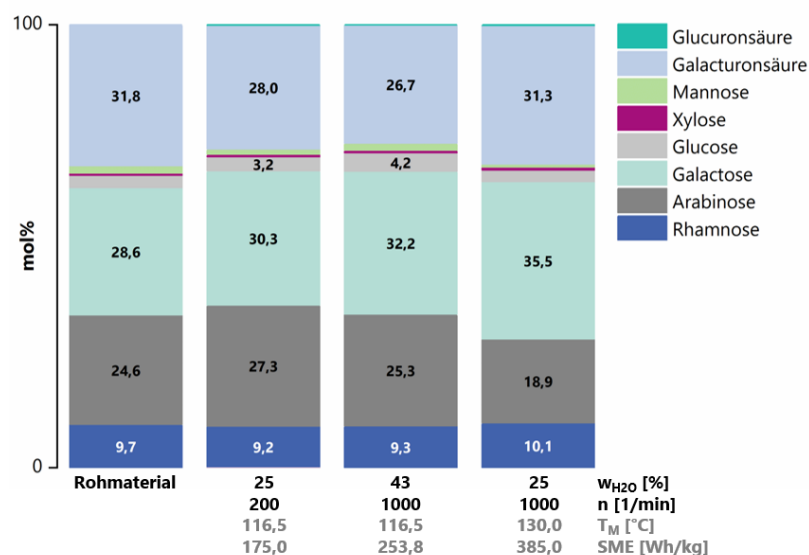
geht aus dem Verhältnis von Rhamnose zu Galacturonsäure von 1:4 aus der Monosaccharidzusammensetzung hervor. Die 1,4-verknüpfte Galactopyranuronsäure kann u.a. methyliert oder acetyliert vorliegen. Für die UBS beträgt der Methylierungsgrad 57 % und der Acetylierungsgrad 78 % (vgl. Tabelle A17, Anhang). Rhamnogalacturonan Typ I setzt sich neben Galacturonsäureeinheiten alternierend aus 1,2-verknüpften Rhamnopyranosen zusammen, welche zusätzlich an Position *O*-4 neutrale Seitenketten wie Arabinane oder Galactane enthalten können. Im Karottentrester sind Arabinane sowie Galactane zu etwa gleichen Anteilen vertreten (HOUBEN *et al.*, 2011). Angesichts der Daten aus der Methylierungsanalyse (vgl. Tabelle A16, Anhang) ist zu erkennen, dass das Rückgrat der Arabinane überwiegend in Position *O*-3 sowie in Position *O*-2 und *O*-3 substituiert, vorliegt. Das PMAA der 1,5- (3,3 mol%) und 1,3,5-verknüpften Arabinofuranose (2,4 mol%) sind zu ähnlichen Anteilen enthalten, was auf höher substituierte Arabinane hindeutet. Verzweigungen nur in Position *O*-2 sind lediglich in geringen Anteilen vorhanden. Dies wird auch anhand der Daten des Arabinan-Profilings bestätigt. Dominierend sind hier Oligosaccharide, welche ausschließlich an Position *O*-3 Verzweigungen aufweisen (A-4a, A-6a, A-7b; vgl. Tabelle A18, Anhang). An Position *O*-2 verzweigte Oligosaccharide (A-4b) sind nur in geringen Mengen bestimmbar. Des Weiteren können für die Arabinane hochverzweigte Einheiten identifiziert werden, was durch das Oligomer A-7a verdeutlicht wird. Das Oligomer A-7a enthält hierbei eine 1,3,5-verzweigte Arabinofuranose und eine direkt benachbarte 1,2,3,5-verknüpfte Arabinofuranoseeinheit. Die Galactane als neutrale Seitenketten sind als kurz einzuordnen, was aus dem Verhältnis der endständigen zur 1,4-verknüpften Galactopyranose von 1:2 hervorgeht. Mithilfe des Galactan-Profilings konnte das Dimer G-2c identifiziert werden, welches intern gebundene Arabinopyranoseeinheit in den Galactanen anzeigt (vgl. Tabelle A18, Anhang).

Mit steigender thermomechanischer Belastung nehmen die Anteile an Arabinose, Galactose, Rhamnose und Galacturonsäure in den UBS ab, was auf Veränderungen in der Zusammensetzung der Pektinpolysaccharide hindeutet (vgl. Abbildung 32). Die Daten aus der Methylierungsanalyse (vgl. Tabelle A16, Anhang) spiegeln dies jedoch nicht exakt wider, da hier keine Veränderungen in den Anteilen der PMMA der Arabinosen zu erkennen sind. Auch in den PMAA der Galactose sind keine Unterschiede zwischen dem Rohmaterial und den Extrudaten zu erkennen. Lediglich der Anteil der 1,2,4-verknüpften Rhamnopyranose nimmt leicht von 0,8 mol% auf 0,5 mol% ab, was auf Veränderungen im Rhamnogalacturonan Typ I hinweist.

Weiter sind Auswirkungen der thermomechanischen Behandlung durch Extrusion im Veresterungsgrad der polymergebundenen Galacturonsäure ersichtlich. Der Acetylierungs- und Methylierungsgrad verringert sich abhängig von den gewählten Bedingungen und ist mit jeweils 18 % (Methylierungsgrad) und 49 % (Acetylierungsgrad) bei den mildesten Bedingungen ( $w_{H_2O}$  22 %,  $n$  200 1/min) am geringsten (vgl. Tabelle A17, Anhang).

#### 4.1.4.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Aus der Monosaccharidzusammensetzung (Abbildung 33) und der Zusammensetzung der PMAA aus der Methylierungsanalyse (Tabelle A19, Anhang) lassen sich für die LBS Pektine als Hauptpolysaccharide ableiten. Arabinose, Galactose und Galacturonsäure sind in den LBS des Karottentresters zu etwa gleichen Anteilen vertreten (24,6-31,8 mol%). Lösliche Hemicellulosen, welche sich aus den Bausteinen Glucose, Xylose und Mannose zusammensetzen, sind nur in geringen Anteilen vorhanden.

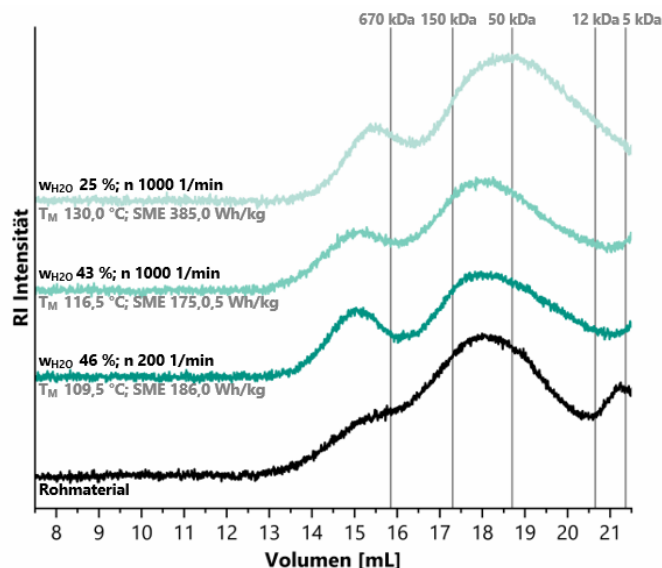


**Abbildung 33: Monosaccharidzusammensetzung (mol%,  $n=2$ ) der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Karottentrester und der jeweiligen Extrudate nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Arabinane als neutrale Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans sind zu erheblichen Anteilen verzweigt. Dies wird anhand des Vergleichs der Anteile des PMAA der unverzweigten 1,5-Arabinofuranose und der Summe der verzweigten Arabinofuranosen (1,2,5-, 1,3,5-, 1,2,3,5-), welche in einem Verhältnis von 1:1 vorliegen, deutlich. Vorherrschend sind hierbei Substitutionen an Position *O*-3 und doppelte Substitutionen an Position *O*-2 und *O*-3. Dies kann auch durch die Oligosaccharide, welche nach Inkubation mittels *endo*-Arabinanase freigesetzt wurden, bestätigt werden (Tabelle A18, Anhang). Oligomere mit Verzweigungen an Position *O*-2 (A-4b) sind nur in

geringen Anteilen (3,0 mol%) enthalten. Insgesamt sind die Arabinane ähnlich aufgebaut wie in den UBS. Ein leichter Unterschied ist für die Galactane zu erkennen, da im Galactan-Profilung der LBS keine arabinopyranosehaltigen Oligomere identifiziert wurden.

Thermomechanische Behandlung beeinflusst nur geringfügig die Monosaccharidzusammensetzung der LBS-Polysaccharide (Abbildung 33). Bei einer maximalen Belastung durch Extrusion bei einem Gesamtwassergehalt von 25 % und einer Drehzahl von 1000 1/min nimmt der Arabinoseanteil von 24,6 mol% (Rohmaterial) auf 18,9 mol% ab. Dies zeigen auch die Daten der Methylierungsanalyse. Die Anteile der endständigen sowie der 1,5-verknüpften Arabinofuranose sind reduziert. Tendenziell ist auch eine Verringerung der Verzweigungen in Position *O*-3 sowie in Position *O*-2 und *O*-3 zu erkennen (Tabelle A19, Anhang). Der Abbau der hochverzweigten Einheiten kann ergänzend durch das Arabinan-Profilung bestätigt werden (Tabelle A18, Anhang).



**Abbildung 34: Molekulargewichtsverteilung der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Karottentrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Intensität des Detektorsignals (*Refractive Index*-RI) wurde gegen das Elutionsvolumen aufgetragen. Zur Abschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten als Standardsubstanzen gemessen (graue Linien). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.

Weitere Veränderungen in den Strukturen der Polysaccharide sind anhand der Molekulargewichtsverteilung der LBS Polymere (Abbildung 34) ersichtlich. Mit einer zunehmenden Beanspruchungsstärke wird die Molekulargewichtsverteilung breiter, was auf einen teilweisen Abbau der polymeren Strukturen hindeutet. In den Chromatogrammen der Extrudate ist bei 15 mL ein zusätzlicher Peak zu erkennen, was u.a. auf die Bildung von Melanoidinen im Rahmen der Maillard-Reaktion unter diesen Bedingungen hindeuten kann.

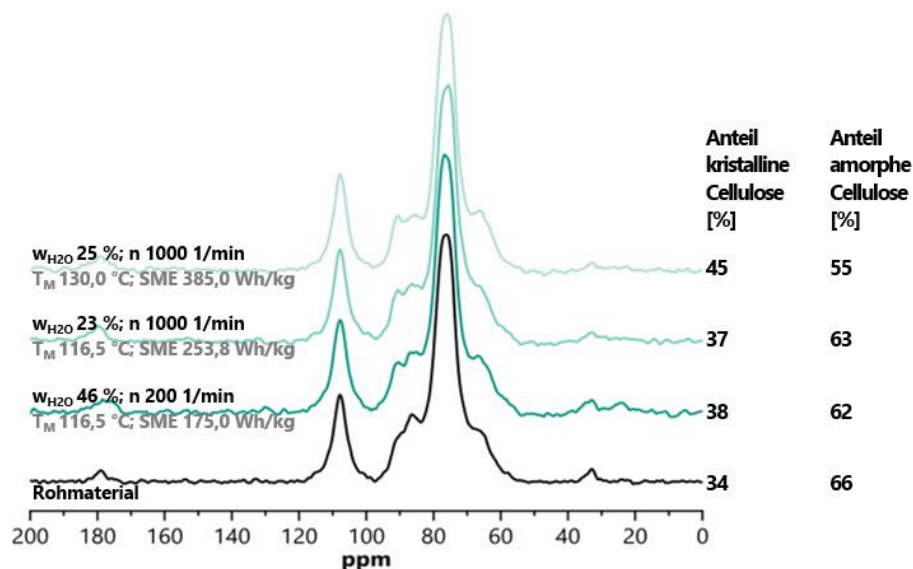
#### 4.1.4.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Oligosaccharide der NLBS des Karottentresters enthalten ausschließlich Neutralzucker (Abbildung A6, Anhang). Mit 54,3 mol% ist Arabinose im Rohmaterial am meisten vertreten. Diese liegt überwiegend 1,5- (14,0 mol%) sowie 1,3,5-verknüpft (3,6 mol%; Tabelle A20, Anhang) vor. Glucose kommt mit 28 mol% vor und ist ausschließlich 1,4-verknüpft. Nach TFA-Hydrolyse wurde 17,8 mol% Mannose freigesetzt. In der Methylierungsanalyse konnten die PMAA der Mannose jedoch nicht bestimmt werden.

Die Zusammensetzung der NLBS variiert leicht, abhängig von den jeweiligen Extrusionsbedingungen. So nimmt der Anteil an Mannose durch Extrusion bei einem erhöhten Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  43 %) von 17,8 mol% (Rohmaterial) auf 13,2 mol% ab. In der am stärksten belasteten Probe (Materialtemperatur 130 °C, SME 385,0 Wh/kg) sind zusätzlich Galactooligosaccharide enthalten.

#### 4.1.4.3.4 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

Das  $^{13}C$ -Festkörper-NMR Spektrum des Karottentresters zeigt neben den für Cellulose typischen Signalen auch noch einen Peak bei 180 ppm (Abbildung 35).



**Abbildung 35:**  $^{13}C$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektren des Karottentresters und der jeweiligen Extrudate sowie die Anteile an kristalliner und amorpher Cellulose (%; n=1). Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. CP: *Cross Polarisation*, MAS: *Magic Angle Spinning*, NMR: Kernspinresonanz

Dieses Signal ist dem C6-Atom polymerer Galacturonsäure zuzuordnen, was anhand der Daten der Monosaccharidzusammensetzung zu erkennen ist (vgl. Tabelle A6, Anhang) (FENWICK *et al.*, 1996). Dies deutet darauf hin, dass noch Pektinpolysaccharide in den Proben enthalten sind, und die Signale der Cellulose damit überlagert sein können.

Durch den Einfluss der thermomechanischen Belastung verändert sich der Anteil kristalliner Cellulose nur leicht. Dieser nimmt mit steigender Beanspruchungsstärke von 36 % (Rohmaterial) auf 41 % ( $w_{H_2O}$  43% bzw.  $w_{H_2O}$  22 %, n 1000 1/min; Abbildung 35) zu. Diese Veränderungen sind auch in den Spektren zu erkennen, da sich das Signal des kristallinen C4-Atoms stärker abzeichnet.

Zur Absicherung der Analysenergebnisse wurden neben den  $^{13}C$  CP/MAS Festkörper-NMR Messungen XRD-Messungen für den Karottentrester durchgeführt. Analysiert wurden das Rohmaterial und die am stärksten thermomechanisch behandelte Probe ( $w_{H_2O}$  25 %, n 1000 1/min). Die Röntgenbeugungsdiffraktogramme sind in Abbildung A7 dargestellt. Die Auswertung erfolgte wie in Abschnitt 3.4.5 beschrieben nach der Methode von SEGAL und Kollegen (1959) durch Bestimmung des Verhältnisses der Peakhöhen bei den Winkeln 18,4° und 22,5°. Für das Rohmaterial beträgt der Kristallinitätsgrad 51 % und für das Extrudat 61 %. Die Ergebnisse der CP/MAS  $^{13}C$ -Festkörper-NMR Messungen werden dahingegen bestätigt, dass eine leichte Zunahme des Kristallinitätsgrads zu verzeichnen ist, aber die Auswirkungen der Extrusion dennoch geringfügig sind.

#### 4.1.4.4 BESTIMMUNG DER CAROTINOIDGEHALTE

Der in Tabelle 24 aufgeführte Gesamtcarotinoidgehalt für den Karottentrester setzt sich aus der Summe der Gehalte von  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin zusammen und beträgt 6,2  $\mu\text{g}/100$  g TM. In der Literatur werden Werte von 5,4-110,9  $\mu\text{g}/100$  g TM und somit eine große Variation beschrieben (HERNÁNDEZ-ORTEGA *et al.*, 2013; BELLUR NAGARAJAIAH & PRAKASH, 2015; ROVAI *et al.*, 2021).

**Tabelle 24: Carotinoidgehalte (mg/100 g TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) in Karottentrester und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. TM: Trockenmasse, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		25	43	25
Drehzahl n [1/min]		200	1000	1000
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,5	116,5	130,0
SME [Wh/kg]		175,0	253,8	385,0
$\alpha$ -Carotin <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	1,9 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup>	1,8 $\pm$ 0,03 <sup>BC</sup>	1,5 $\pm$ 0,1 <sup>C</sup>
$\beta$ -Carotin <sup>a</sup>	3,3 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup>	2,2 $\pm$ 0,02 <sup>B</sup>	1,8 $\pm$ 0,2 <sup>C</sup>
Gesamtcarotinoidgehalt <sup>a</sup>	6,2 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>	4,3 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup>	4,0 $\pm$ 0,1 <sup>B</sup>	3,3 $\pm$ 0,3 <sup>C</sup>

Der Gesamtcarotinoidgehalt kann abhängig von den verwendeten Trocknungsbedingungen des Tresters schwanken (HERNÁNDEZ-ORTEGA *et al.*, 2013). Der Einfluss von Hitze zeigt sich auch bei der Extrusion des Tresters. Die Extrudate, welche eine gleiche Materialtemperatur aufwiesen (116,5 °C;  $w_{H_2O}$  25 %, n 200 1/min;  $w_{H_2O}$  43 %, n 1000 1/min) zeigen vergleichbare Gehalte an  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin. Der Gehalt ist weiter reduziert bei dem Extrudat, bei dem einer Materialtemperatur von 130 °C erreicht wurde. Von den beiden Analyten scheint keine Komponente bevorzugt abgebaut zu werden, da beide Carotinoide gleichermaßen reduziert vorliegen. Insgesamt bleiben unter den gewählten Extrusionsbedingungen bis zu 50 % der Carotinoide erhalten.

#### 4.1.4.5 ANALYSE DER HITZEINDUZIERTEN KONTAMINANTEN

Im Rohmaterial des Karottentresters sind 4,1  $\mu$ g HMF/kg TM enthalten (Tabelle 25). Furfural konnte nicht nachgewiesen werden. Der Gehalt an HMF sinkt durch Behandlung mittels Extrusion bei den Proben, welche eine Materialtemperatur von 116,5 °C aufweisen ( $w_{H_2O}$  25%, n 200 1/min;  $w_{H_2O}$  43%, n 1000 1/min). Bei maximaler Belastungsstärke und Materialtemperaturen von 130 °C ( $w_{H_2O}$  25%, n 1000 1/min) steigt der Gehalt auf 8,1  $\mu$ g/kg TM. Dies ist schlüssig, da HMF unter dem Einfluss von Hitze gebildet wird.

**Tabelle 25: Bestimmung der hitzeinduzierten Kontaminanten Furfural, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF; mg/kg TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) und Acrylamid ( $\mu$ g/kg TM, n=1) in Karottentrester und den jeweiligen Extrudaten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. TM: Trockenmasse, n.d.: nicht detektiert, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha$  =0,05, post-hoc Tukey-Test), <sup>b</sup>: Analyse in einem akkreditierten Labor in Auftrag gegeben und nach der Methode DIN EN 16618:2015-06 bestimmt, n.d.: nicht detektiert, n.b.: nicht bestimmbar

<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>25</b>	<b>43</b>	<b>25</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>		<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
Furfural [mg/kg TM]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HMF [mg/kg TM] <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 0,2 <sup>B</sup>	1,8 $\pm$ 0,1 <sup>C</sup>	n.b.	8,1 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>
Acrylamid [ $\mu$ g/kg TM] <sup>b</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Der Acrylamidgehalt liegt im Rohmaterial unterhalb der Quantifizierungsgrenze und ist somit nur in Spuren enthalten. Die Extrusion hat auf die Bildung keinen Einfluss, da die Gehalte sich nicht veränderten.

#### 4.1.4.6 FERMENTIERBARKEIT

Das Rohmaterial des Karottentresters wird durch Driselase stark abgebaut (83,9 % nach 6 h bzw. 82,7 % nach 24 h; Tabelle 26). Somit ist die Fermentierbarkeit nach 6 h weitgehend abgeschlossen. Die Analyse der freigesetzten Mono- bzw. Oligosaccharide zeigt, dass nach 6 h und 24 h überwiegend galactose- und glucosehaltige Strukturen hydrolysiert wurden (Abbildung A8, Anhang).

**Tabelle 26: Fermentierbarkeit (% ± Range/2, n=2) der Ballaststoffe des Karottentresters sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

		<b>25</b>	<b>43</b>	<b>25</b>
<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>		<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>				
6 h	83,9 ± 0,1	83,8 ± 1,3	84,1 ± 0,5	83,8 ± 3,1
24 h	82,7 ± 0,5	82,9 ± 0,1	80,6 ± 0,2	86,2 ± 2,2

Extrusionsbedingte Auswirkungen auf die Strukturen der Polysaccharide, welche Veränderungen in der Fermentierbarkeit hervorrufen können, konnten anhand der hier durchgeführten Analysen nicht erkannt werden. Der Grad der Fermentierbarkeit ist in den Extrudaten kaum verändert und auch in der Zusammensetzung der freigesetzten Mono- bzw. Oligosaccharide sind keine Unterschiede zwischen dem Rohmaterial und den Extrudaten zu erkennen.

## 4.2 VERÄNDERUNGEN DER ZUSAMMENSETZUNG VON APFELTRESTER UNTER DEFINIERTEN THERMISCHEN UND MECHANISCHEN BEDINGUNGEN

Zur Differenzierung der thermischen und mechanischen Auswirkungen auf die strukturellen Veränderungen wurde der nicht enzymatisch behandelte Apfeltrester unter extrusionsähnlichen Bedingungen in einem CCR unter definierter thermischer und/oder mechanischer Belastung behandelt. Zur Abschätzung des Einflusses der unterschiedlichen Belastungen auf die Zusammensetzung des Apfeltresters wurden der Gehalt an freien Mono- und Disacchariden, der Stärke- und Ballaststoffgehalt sowie die Strukturen der Ballaststoffpoly- bzw. Ballaststoffoligosaccharide analysiert. Zur besseren Einordnung der thermischen und/oder mechanischen Auswirkungen auf bestimmte Parameter sind die in Abschnitt 4.1.1 bereits beschriebenen Daten zum Rohmaterial des Apfeltresters nochmals mit aufgeführt.

## 4.2.1 GRUNDANALYTIK

Die Gehalte an freien Mono- und Disacchariden deuten nach Entkopplung der thermischen und mechanischen Prozesse durch Behandlung des Apfeltresters in einem CCR darauf hin, dass die in Abschnitt 4.1.1.1 beobachteten Veränderungen hauptsächlich auf den thermischen Einfluss ( $T_{CCR}$  160 °C) und einen erhöhten Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  40 %) zurückzuführen sind (Tabelle 27).

Im Gegensatz dazu haben sowohl die Behandlungsdauer als auch die Scherrate bei Temperaturen von 120 °C sowie von 160 °C keinen Einfluss auf den Gehalt an freien Mono- und Disacchariden. Fructose scheint, wie bereits bei der Behandlung des Tresters im Extruder festgestellt, zu Abbaureaktionen zu neigen (vgl. Abschnitt 4.1.1.1), während Glucose stabiler unter den gegebenen Bedingungen ist. Bei erhöhten Temperaturen ( $T_{CCR}$  160 °C) ist eine Abnahme auch für Saccharose zu erkennen.

**Tabelle 27: Gehalte der freien Mono- und Disaccharide sowie Stärkegehalte (g/100 g Trockenmasse ± Standardabweichung, n=3) des Apfeltresters und der im *Closed Cavity Rheometer* (CCR) behandelten Proben.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR, dem Wassergehalt, der Behandlungsdauer und der Scherrate. <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), n.b.: nicht bestimmbar

Temperatur CCR $T_{CCR}$ [°C]		120	120	120	160	160	160
Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		10	10	10	10	10	40
Behandlungsdauer $t_{CCR}$ [min]	Rohmaterial	1	6	1	1	1	1
Scherrate $\dot{\gamma}$ [1/s]		150	150	0,001	0,001	150	0,001
Freie Mono- und Disaccharide							
Glucose <sup>a</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>B</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>B</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>B</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>B</sup>	3,0 ± 0,05 <sup>B</sup>	3,1 ± 0,1 <sup>B</sup>	3,5 ± 0,04 <sup>A</sup>
Fructose <sup>a</sup>	8,8 ± 0,3 <sup>A</sup>	6,9 ± 0,1 <sup>B</sup>	6,6 ± 0,04 <sup>BC</sup>	6,5 ± 0,2 <sup>BC</sup>	6,3 ± 0,1 <sup>C</sup>	6,6 ± 0,2 <sup>BC</sup>	6,6 ± 0,1 <sup>BC</sup>
Saccharose <sup>a</sup>	2,3 ± 0,4 <sup>B</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>A</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>BC</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>AC</sup>	1,6 ± 0,04 <sup>D</sup>	1,5 ± 0,04 <sup>D</sup>	0,9 ± 0,03 <sup>E</sup>
Maltose <sup>a</sup>	1,4 ± 0,3 <sup>A</sup>	n.b.	0,2 ± 0,2 <sup>B</sup>	n.b.	0,2 ± 0,02 <sup>B</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>B</sup>	n.b.
Stärkegehalt <sup>a</sup>	11,6 ± 0,7 <sup>A</sup>	10,8 ± 0,6 <sup>A</sup>	10,5 ± 1,4 <sup>A</sup>	11,0 ± 2,3 <sup>A</sup>	9,5 ± 1,1 <sup>A</sup>	10,8 ± 0,9 <sup>A</sup>	9,9 ± 1,2 <sup>A</sup>

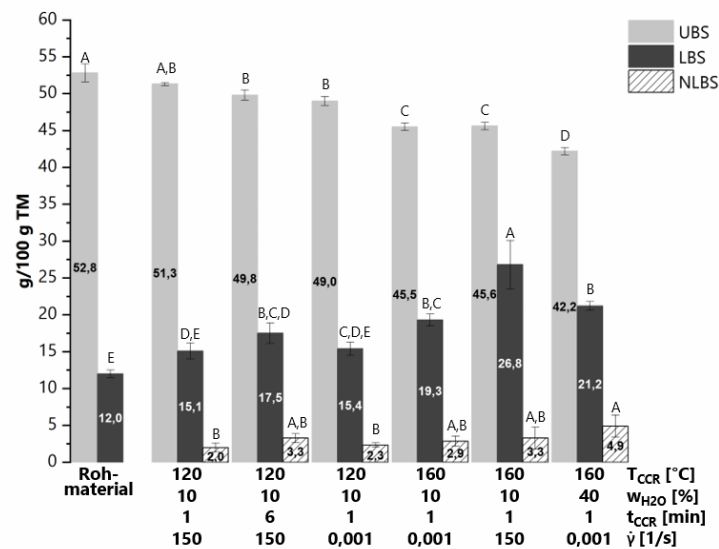
Weder eine thermische noch eine mechanische Behandlung des Apfeltresters im CCR hat einen Einfluss auf den Stärkegehalt.

## 4.2.2 BESTIMMUNG DER BALLASTSTOFFGEHALTE

Die Behandlung des Apfeltresters bei hohen Temperaturen ( $T_{CCR}$  160 °C) resultiert in einer Abnahme des UBS Gehalts (Abbildung 36). Bei Temperaturen von 120 °C ist dieser Effekt auch zu erkennen, jedoch nicht so stark ausgeprägt. Variationen in der Behandlungsdauer oder der Scherrate zeigen bei gleichen Temperaturen keinen Einfluss auf die Gehalte an UBS. Am stärksten ausgeprägt sind die Veränderungen bei einem hohen Wassergehalt (40 %) und hohen



Temperaturen ( $T_{CCR}$  160 °C). Hier reduziert sich der Anteil an UBS von 52,8 g/100 g TM (Rohmaterial) auf 42,2 g/100 g TM, was auf eine hydrolytische Spaltung der glykosidischen Bindungen hindeutet und vermutlich eine Erhöhung der Löslichkeit zur Folge hat. Die Erhöhung der Löslichkeit der Ballaststoffpolysaccharide kann durch die Zunahme des Anteils an LBS unter thermischer und mechanischer Belastung bestätigt werden. Die deutlichsten Auswirkungen zeigen sich bei hohen Temperaturen (160 °C) und zusätzlich bei hohen Temperaturen in Zusammenhang mit einer hohen Scherrate (150 1/s). Der LBS Gehalt nimmt dabei von 12,0 g/100 g TM für das Rohmaterial auf 26,8 g/100 g TM zu.



**Abbildung 36: Gehalte der unlöslichen (UBS), löslichen (LBS) sowie niedermolekularlöslichen Ballaststoffe (NLBS; g/100 g TM  $\pm$  Standardabweichung, n=3) des Apfeltresters und der im *Closed Cavity Rheometer (CCR)* behandelten Proben.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR ( $T_{CCR}$ ), dem Wassergehalt ( $w_{H2O}$ ), der Behandlungsdauer ( $t_{CCR}$ ) und der Scherrate ( $\dot{\gamma}$ ). Mittelwerte je Ballaststofffraktion (UBS, LBS, NLBS) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test), TM: Trockenmasse

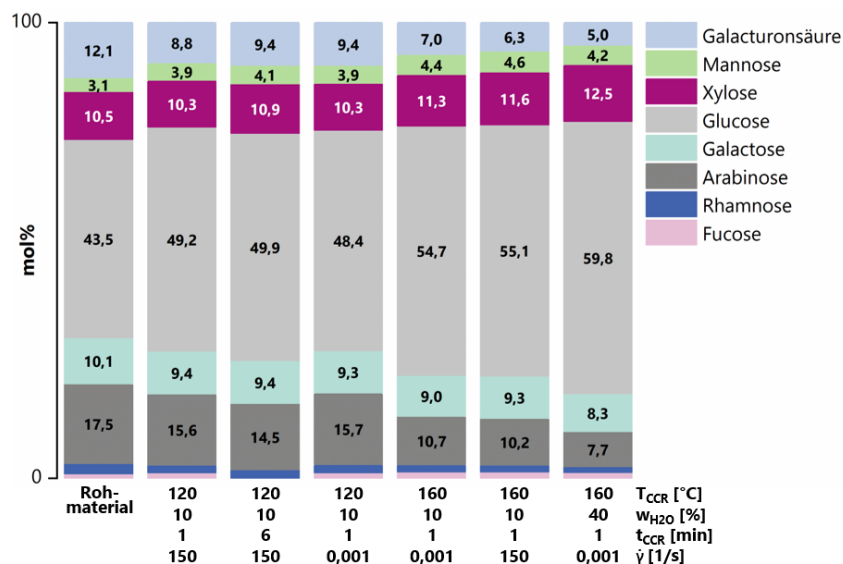
Beim Apfeltrester konnte unter einer hohen thermomechanischen Belastung im Extruder die Bildung von NLBS beobachtet werden (vgl. Abschnitt 4.1.1.2). Bei den im CCR behandelten Proben ist unter allen betrachteten Bedingungen eine Bildung von NLBS zu beobachten, wobei der größte Anteil bei Temperaturen von 160 °C und einem hohen Wassergehalt (40 %) gebildet wird, was wiederum auf eine hydrolytische Spaltung der glykosidischen Bindungen innerhalb der Polysaccharide vermuten lässt.

## 4.2.3 CHARAKTERISIERUNG DER BALLASTSTOFFPOLYSACCHARIDE & - OLIGOSACCHARIDE

### 4.2.3.1 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER UNLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die Ergebnisse der Monosaccharidzusammensetzung nach Schwefelsäurehydrolyse der Polysaccharide (Abbildung 37) zeigen überwiegend thermisch bedingte Veränderungen in den Strukturen der Ballaststoffpolysaccharide der UBS.

Veränderungen sind wie auch schon unter dem Einfluss der Extrusion (vgl. Abschnitt 4.1.1.3.1), durch eine Abnahme des Arabinose- sowie Galacturonsäureanteils gekennzeichnet und bekräftigen damit den vermuteten Abbau von Pektinpolysacchariden. Am stärksten ausgeprägt ist dies bei Temperaturen von 160 °C des CCR. Eine Verlängerung der Behandlungsdauer auf 6 min oder eine Erhöhung der Scherrate auf 150 1/s zeigen unabhängig von der Temperatur keine zusätzlichen Effekte. Jedoch führt ein erhöhter Wassergehalt von 40 % bei hohen Temperaturen zu einem verstärkten Abbau der Pektinstrukturen gegenüber einem geringeren Wassergehalt (10 %). Unter diesen Bedingungen sind neben arabinose- und galacturonsäurehaltigen Polysaccharide auch galactosehaltige Polysaccharide labil. Diese Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen zu Veränderungen von Aroniatrester unter definierten thermischen und mechanischen Bedingungen überein (SCHMID *et al.*, 2020).

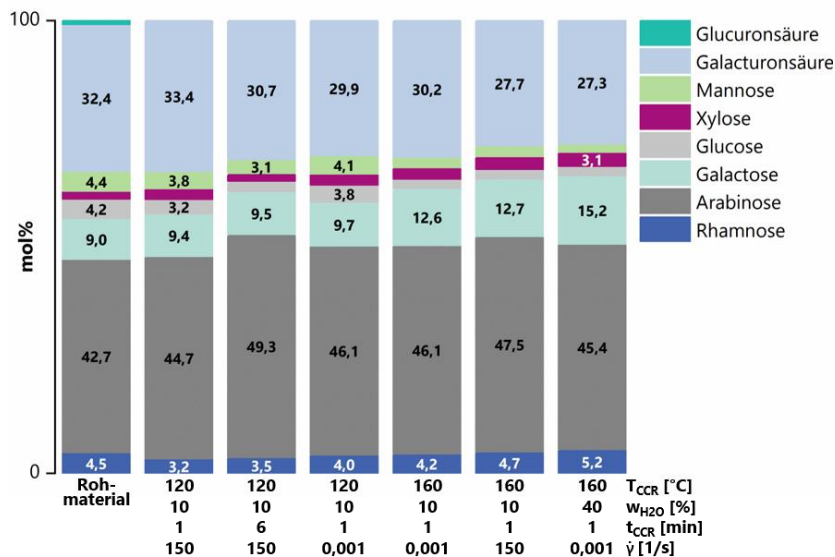


**Abbildung 37: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der unlöslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer* (CCR) behandelten Proben nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR ( $T_{CCR}$ ), dem Wassergehalt ( $w_{H_2O}$ ), der Behandlungsdauer ( $t_{CCR}$ ) und der Scherrate ( $\dot{\gamma}$ ).

Die Anfälligkeit von Arabinanen unter thermischem Einfluss kann mit der  $\alpha$ -furanosidischen Konfiguration der Arabinoseeinheiten begründet werden, in der sie als neutrale Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans vorliegen. Glykosidische Bindungen, welche derart konfigurierte Monomere enthalten, sind im Allgemeinen anfällig für Hydrolysen, was sich u.a. auch in den Daten der Methylierungsanalyse ausgewählter CCR Proben des Apfeltresters zeigt (vgl. Tabelle A21, Anhang). Der Gesamtanteil aller PMMA der Arabinose in den UBS ist bei erhöhten Temperaturen des CCR verringert. Im Detail zeigt sich eine Abnahme der 1,3,5- sowie der 1,2,3,5-verknüpften Arabinofuranoseeinheiten, was sich auch in der Reduktion der endständigen Arabinofuranoseeinheiten widerspiegelt. Das Vorkommen von hochsubstituierten Arabinanen konnte für den Apfeltrester bereits in einem Arabinan-Profilung gezeigt werden (vgl. Abschnitt 4.1.1.3.1 zusammen mit Tabelle A3, Anhang). Der Anteil an 1,5-substituierten Arabinofuranoseeinheiten nimmt ebenfalls ab, jedoch ist die Veränderung weniger stark ausgeprägt als bei den verzweigten Struktureinheiten. Dies deutet auf eine größere Labilität von verzweigten Arabinanen unter erhöhter thermischer Belastung hin. In der Methylierungsanalyse ist im Gegensatz zur Monosaccharidanalyse kein Einfluss auf die PMAA der Galactose bei einer Behandlung im CCR mit einem Wassergehalt von 40 % und bei einer Temperatur von 160 °C zu erkennen. Dies kann u.a. auf die nicht repräsentative Erfassung von galactosehaltigen Polysacchariden in der Methylierungsanalyse zurückgeführt werden.

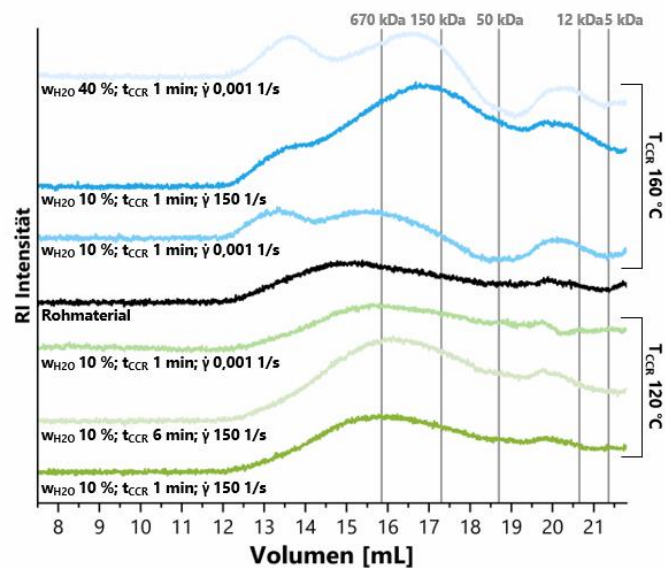
#### 4.2.3.2 POLYSACCHARIDSTRUKTUREN DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Die deutlichsten Veränderungen in den Strukturen der Polysaccharide der LBS nach einer thermischen Behandlung der Proben bei 160 °C und einem Wassergehalt von 40 % bzw. einer Scherrate von 150 1/s festgestellt werden (Abbildung 39). Dies zeigt sich in der Abnahme des Galacturonsäureanteils. Die in den UBS beobachteten Auswirkungen auf arabinanhaltige Strukturen spiegeln sich nicht in den LBS wider. Hier nehmen die Anteile teilweise zu. Dies könnte durch einen Übergang der Arabinane aus den UBS in die Fraktion der LBS bedingt sein. Die Daten der Methylierungsanalyse ausgewählter Proben (Tabelle A22, Anhang) ergeben keine zusätzlichen Informationen über die strukturellen Veränderungen, da auf die Mitbestimmung von Uronsäuren verzichtet wurde.



**Abbildung 38: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer* (CCR) behandelten Proben nach Methanolyse.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR ( $T_{CCR}$ ), dem Wassergehalt ( $w_{H_2O}$ ), der Behandlungsdauer ( $t_{CCR}$ ) und der Scherrate ( $\dot{\gamma}$ ).

Die beschriebenen Veränderungen bei hohen Temperaturen sind auch in der Molekulargewichtsverteilung der LBS zu erkennen (Abbildung 39).



**Abbildung 39: Molekulargewichtsverteilung der Polysaccharide der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer* (CCR) behandelten Proben.** Die Intensität des Detektorsignals (*Refractive Index* - RI) wurde gegen das Elutionsvolumen aufgetragen. Zur Abschätzung der Molekulargewichte wurden Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten als Standardsubstanzen gemessen (graue Linien). Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR ( $T_{CCR}$ ), dem Wassergehalt ( $w_{H_2O}$ ), der Behandlungsdauer ( $t_{CCR}$ ) und der Scherrate ( $\dot{\gamma}$ ).

Bei einer Temperatur des CCR von 120 °C sind die Chromatogramme im Vergleich zum Rohmaterial nur geringfügig verbreitert. Nach einer Behandlung bei 160 °C sind die Unterschiede dagegen ausgeprägter. Die Peaks sind deutlich verbreitert, was auf einen Abbau von Polymeren

in den LBS unter den gewählten Behandlungsbedingungen hindeutet. Weiter sind bei diesen Proben zusätzliche Signale bei einem Elutionsvolumen von 13 mL zu erkennen. Dies liefert Hinweise auf die Bildung von hochmolekularen Melanoidinen als Maillard-Produkte.

#### 4.2.3.3 OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN DER NIEDERMOLEKULARLÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

Anhand der Zusammensetzung der NLBS zeigt sich eine geringere strukturelle Vielfalt bei stärker thermisch belasteten Proben (160 °C; Abbildung A9, Anhang). Während bei den niedriger temperierten Proben (120 °C) auch größere Anteile an Glucose und Xylose enthalten sind, werden die stärker thermisch beanspruchten Proben von Arabinose dominiert. Damit deuten die Daten, wie auch bei den LBS, darauf hin, dass arabinanhaltige Strukturen aus den UBS bei stark hitzebehandelten Proben vermutlich in niedermolekularlösliche Strukturen gespalten werden.

### 4.3 ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION

Die Untersuchung der Ballaststoffpolysaccharide aus Apfeltrester (unbehandelt und enzymatisch behandelt), Kartoffelpülpe und Karottentrester unter dem Einfluss thermomechanischer Behandlung zeigte, dass sich deren Löslichkeit erhöhte und strukturelle Veränderungen überwiegend in den Feinstrukturen der Pektinpolysaccharide stattfinden. Zudem konnten die Auswirkungen der thermomechanischen Behandlung auf charakteristische sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe der Nebenströme analysiert sowie das Ausmaß der Bildung hitzeinduzierter Kontaminanten eingeschätzt werden, wobei sich deren Entstehung erheblich zwischen den Ausgangsstoffen und Extrusionsbedingungen unterschied. Weiter wurde die Fermentierbarkeit in einem vereinfachten *in vitro* Modell durch Simulation der enzymatischen Abbaubarkeit der Ballaststoffpolysaccharide und -oligosaccharide mittels Driselase eingeschätzt. Die Fermentierbarkeit stellt ein wesentliches Beurteilungskriterium der ernährungsphysiologischen Eigenschaften von Ballaststoffen dar und deren mögliche Veränderung durch Extrusion, ist von großem Interesse.

Die Erhöhung der Löslichkeit durch thermomechanische Behandlung ist vermutlich durch den Übergang von Strukturelementen der entsprechenden Polysaccharide der unlöslichen Ballaststofffraktion in die lösliche Fraktion bedingt, was sich in den Gehalten der UBS und LBS widerspiegelt. Dieses Verhalten wurde bei allen betrachteten Nebenströmen beobachtet, jedoch in Abhängigkeit der Behandlung. Der UBS Gehalt nimmt dabei für den Apfeltrester schon unter

vergleichsweise milder thermomechanischer Behandlung und für die Kartoffelpülpe erst unter maximaler Belastung ab. Im Vergleich dazu zeigte die Analyse der LBS Gehalte, dass sich diese abhängig von den jeweiligen Extrusionsbedingungen entsprechend erhöhen. Da die Abnahme der UBS Gehalte und die Zunahme der LBS Gehalte nicht bei allen Materialien parallel zueinander verlaufen, deuten die Daten darauf hin, dass die Zunahme der löslichen Fraktion nicht nur durch den Abbau bzw. die Modifikation von unlöslichen polymeren Strukturen und der daraus resultierenden erhöhten Löslichkeit bedingt ist. Wahrscheinlich ist eine zusätzliche, im Zuge der Maillard-Reaktion ablaufende Bildung hochmolekularer Melanoidine. Die Maillard-Reaktion stellt eine in der Hitze bevorzugt ablaufende Reaktion dar, bei der aus reduzierenden Zuckern und Aminokomponenten u.a. Melanoidine gebildet werden, welche teilweise löslich sind und somit in der Fraktion der LBS miterfasst werden können. Die Ergebnisse zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung unterstützen diese Vermutung. In den Chromatogrammen der Extrudate sind teilweise neu gebildete hochmolekulare Fraktionen enthalten, die auf Melanoidine hinweisen könnten. Weiter bekräftigt die Molekulargewichtsverteilung auch den potentiellen Abbau von polymeren Strukturen der LBS zu NLBS, da die Verteilungen bei allen Nebenströmen mit zunehmender Belastungsstärke breiter werden. Die Bildung von NLBS kann bei dem Apfeltrester und der Kartoffelpülpe beobachtet werden, Rohstoffe, bei denen in den Ausgangsmaterialien noch keine NLBS quantifiziert werden konnten. Im Gegensatz dazu zeigen die NLBS Gehalte der Rohstoffe des enzymatisch behandelten Apfeltresters sowie des Karottentresters und der jeweiligen Extrudate keinen Zusammenhang, der unmittelbar auf die thermomechanische Beanspruchung zurückgeführt werden kann. Daher laufen Depolymerisierungsprozesse sowie die Bildung von Maillardreaktionsprodukten vermutlich parallel ab, und eine exakte Erklärung kann daher nicht gefunden werden. Bei Entkopplung der thermischen und mechanischen Prozesse durch Nutzung eines CCR wurden für den Apfeltrester überwiegend thermisch bedingte Veränderungen der Ballaststoffe beobachtet, wohingegen der Einfluss der rein mechanischen Belastung geringfügig ist. Lediglich bei starker mechanischer Belastung in Kombination mit hohen Temperaturen zeigten sich Einflüsse auf die Ballaststoffgehalte. Daher ist der Einfluss auf die Ballaststoffgehalte und -zusammensetzung der Nebenströme vermutlich überwiegend thermisch bedingt, teilweise unterstützt durch mechanische Faktoren.

Die Extrudate enthalten auch nach thermomechanischer Behandlung noch einen hohen Gesamtballaststoffgehalt und könnten damit durch den Einsatz in Lebensmitteln zu einer

ballaststoffreicheren Ernährung beitragen. An einer Anreicherung von Lebensmitteln mit Ballaststoffen besteht ein gesteigertes Interesse, da ein Großteil der Erwachsenen in Deutschland zu wenig Ballaststoffe aufnimmt, diese jedoch u.a. positive ernährungsphysiologische Eigenschaften aufweisen (SCHWEIZER & WÜRSCH, 1991; Max-Rubner-Institut, 2008).

Die Ballaststofffraktionen der hier untersuchten Nebenströme sind insgesamt reich an Cellulose sowie Pektinen. Unterschiede ergaben sich in den Anteilen und der Zusammensetzung der Hemicellulosen. So sind in den Apfeltrestern Xyloglucane in größeren Anteilen enthalten, während in der Kartoffelpülpe und dem Karottentrester Xyloglucane, Xylane und Mannane als Minorkomponenten vertreten sind. Insbesondere die geringen Anteile an Xylanen deuten auf ein geringes Vorhandensein von Sekundärzellwänden in den Nebenströmen hin. Insgesamt ist die beobachtete Zusammensetzung der Ballaststoffpolysaccharide charakteristisch für dikotyle Pflanzen. Die charakteristischerweise in hohen Gehalten vorkommenden Pektine zeigen strukturelle Unterschiede zwischen den Rohstoffen auf, vor allem in den neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans. So sind die Pektine im Apfeltrester arabinanreich und in der Kartoffelpülpe galactanreich, während im Karottentrester sowohl Arabinane als auch Galactane enthalten sind. Dies deckt sich auch mit den Literaturdaten zu den Nebenströmen bzw. den jeweiligen Ausgangsfrüchten und -gemüsen (RING & SELVENDRAN, 1978; HOUBEN *et al.*, 2011; WEFERS *et al.*, 2018). Unter dem Einfluss der Extrusion veränderten sich vor allem die Polysaccharidprofile der Pektine in den UBS für alle untersuchten Nebenströme. In den LBS sind nur geringfügige Veränderungen zu erkennen, was zum einen damit begründet werden kann, dass unlösliche Pektine teilweise in lösliche überführt werden, und zum anderen, durch den gleichzeitigen Abbau von polymeren Strukturen in den LBS, sodass das Gesamtprofil der LBS weitgehend unverändert vorliegt. Bei den Daten zur Polysaccharidanalytik muss zudem beachtet werden, dass jeweils die relativen Anteile der Monosaccharide in den Polymeren bestimmt wurden. Eine Zunahme von Anteilen ist daher nicht gleichbedeutend mit der Bildung von Polysacchariden, sondern ist durch die Abnahme anderer Monosaccharide sowie die Normierung auf 100 % bedingt.

Die Arabinane im Apfeltrester sind stark verzweigt, wobei bevorzugt Substitutionen in Position O-3 auftreten. Anhand des Arabinan-Profilings konnten auch doppelsubstituierte Einheiten an den Positionen O-2 und O-3 nachgewiesen werden. Unter dem Einfluss der Extrusion und dem daraus resultierenden thermomechanischen Energieeintrag bei Materialtemperaturen von 112,1-156,3 °C und einem SME von 54,8-229,1 Wh/kg nimmt die Komplexität der Arabinanseitenketten ab. Weiter verändert sich auch das Pektinrückgrat durch Abnahme des Anteils an

Galacturonsäureeinheiten. Im Vergleich dazu sind die Arabinanseitenketten im Rohmaterial des enzymatisch behandelten Apfeltresters weniger stark verzweigt, was auf die enzymatische Behandlung bei der Safftherstellung und den wahrscheinlichen Einsatz pektinolytischer Enzyme zurückzuführen ist. Weiter können die Unterschiede auch auf einer unterschiedlichen Zusammensetzung des Tresters in Bezug auf die Sorte oder das Reifestadium der verwendeten Äpfel beruhen (PEÑA & CARPITA, 2004; WEFERS *et al.*, 2018). Dennoch ist ein grundsätzlich ähnliches Verhalten der Arabinane und der polymeren Galacturonsäure unter dem Einfluss der Extrusion zu erkennen. Dies äußert sich bei den Arabinanen des enzymierten Apfeltresters dadurch, dass die Anteile an Verzweigungen und endständigen Einheiten nach Extrusion reduziert sind. Über einen möglichen Verlust der Komplexität der Arabinane aus Karottentrester kann keine Aussage getroffen werden, da die Daten aus der Methylierungsanalyse sowie dem Arabinan-Profilung keine ergänzenden Hinweise brachten. Es ist hier lediglich zu erkennen, dass sich die Anteile an Arabinose in der Monosaccharidzusammensetzung nach Schwefelsäurehydrolyse in Folge der thermomechanischen Behandlung verringern. Diese Labilität von Arabinanen wurde auch schon in der Literatur unter dem Einfluss der Extrusion beobachtet (HWANG *et al.*, 1998a; SCHMID *et al.*, 2021). Der Abbau von Arabinanen ist vor allem auf den thermischen Einfluss im Extruder zurückzuführen, was aus den Daten für den Apfeltrester durch Behandlung im CCR hervorgeht. Die Anfälligkeit der glykosidischen Bindungen kann u.a. auf die Furanosekonfiguration der Arabinoseeinheiten zurückgeführt werden, welche eine erhöhte Säurelabilität aufweisen. Weiter zeigen sich auch die Galactane sowohl im Karottentrester als auch in der Kartoffelpülpe als anfällig gegenüber Abbaureaktionen. Dies war in einer Abnahme des Galactoseanteils in den Ballaststoffpolysacchariden zu erkennen. Strukturelle Veränderungen konnten allerdings nicht nur in den Seitenketten, sondern auch im Rückgrat der Pektine beobachtet werden, was anhand des Verlustes von Galacturonsäureeinheiten und teilweise auch von Rhamnoseeinheiten zu sehen ist. Die extrusionsbedingten Veränderungen sind somit weitgehend unabhängig von der Zusammensetzung der Pektinpolysaccharide, da sich die Anteile der jeweils vorherrschenden neutralen Seitenketten veränderten, wobei bevorzugt komplexe Seitenketten abgebaut wurden. Bei allen Nebenströmen mit Ausnahme der Kartoffelpülpe sind zudem stärker ausgeprägte Veränderungen mit einer steigenden thermomechanischen Belastung im Extruder zu erkennen. Für die Kartoffel sind die Auswirkungen auf die Ballaststoffpolysaccharide bei einer mäßigen Belastung größer als bei einer hohen Drehzahl (600 1/min). Im Gegensatz zu Pektinpolysacchariden erscheinen Hemicellulosen und Cellulose insgesamt stabil gegenüber



einem thermomechanischen Einfluss. Auch ist der Einfluss der Extrusion auf die Kristallinität der Cellulose nur geringfügig. Da der Aufbau der Primärzellwand für Zellwände des Typ I und die Interaktionen zwischen den Polysacchariden nicht vollständig aufgeklärt sind, ist unklar, warum Cellulose und Xyloglucane stabiler gegenüber thermomechanischer Beanspruchung sind. Demnach könnten die Interaktionen in der Zellwandmatrix zwischen Pektinen und anderen Polysacchariden vergleichsweise schwach sein, sodass Abbaureaktionen einfacher möglich sind (TALBOTT & RAY, 1992). Durch Extrusion könnte daher die Zellwandmatrix aufgelockert, kovalente Bindungen, wie sie zwischen Cellulose und Xyloglucanen beschrieben wurden, jedoch nicht aufgebrochen werden (KEEGSTRA *et al.*, 1973). Mit der Erhöhung der Löslichkeit und den strukturellen Veränderungen der Extrudate wäre auch eine erhöhte Fermentierbarkeit der Ballaststoffpolysaccharide zu erwarten, da lösliche Polymere tendenziell besser fermentierbar sind als unlösliche (HOLSCHER, 2017). Die Extrusionsversuche zeigten aber kaum einen Einfluss auf die Fermentierbarkeit der Proben durch Inkubation mittels Driselase. Weder nach 6 h noch nach 24 h Fermentation waren Unterschiede im fermentativen Abbau der Ballaststoffpolysaccharide zu erkennen. Auch waren kaum Unterschiede in den Profilen der im Zuge der Fermentation freigesetzten Mono- und Disaccharide zu erkennen. Ob die Extrusion die Fermentierbarkeit *in vivo* beeinflusst, kann jedoch nur bedingt abgeschätzt werden, da mit Driselase inkubiert wurde, was ein Enzymgemisch aus kohlenhydratabbauenden Enzymen darstellt. Driselase weist eine Aktivität gegenüber Arabinanen, und wie hier festgestellt, gegenüber Galactanen auf, jedoch auch gegenüber Cellulose. Cellulose wird im Dickdarm eher nur geringfügig fermentiert. Anders als bei der Driselasefermentation werden als Endprodukte der *in vivo* Fermentation unter anderem kurzkettige Fettsäuren gebildet. Diese können den pH-Wert senken und damit u.a. das Wachstum von pathogenen Keimen hemmen. Die *in vivo* Fermentation ist stark abhängig von der Zusammensetzung der Ballaststoffpolysaccharide und deren Strukturen. Für die Fermentation von Pektinen wurde berichtet, dass ein höherer Anteil an Neutralzuckern in einer verstärkten Bildung von kurzkettigen Fettsäuren resultiert. Weiter gibt es einen Zusammenhang zwischen einem hohen Neutralzuckeranteil in den Pektinen und dem Wachstum von Bakterien der Gattung *Lactobacillus* (SLAVIN, 2013; FERREIRA-LAZARTE *et al.*, 2018; LARSEN *et al.*, 2019). Alle untersuchten Nebenströme weisen hohe Anteile an Neutralzuckern als Bestandteile von Pektinpolysacchariden auf. Aufgrund der nahezu unveränderten Fermentation der Extrudate nach Inkubation mit Driselase lässt sich vermuten, dass sich auch die *in vivo* Fermentation durch Extrusion nicht

grundlegend verändert und sich die Fermentierbarkeit der in den Nebenströmen enthaltenen Pektine aufgrund der hohen Neutralzuckeranteile positiv auf die Mikrobiota auswirkt.

Als weitere hochmolekulare Komponenten wurden die zellwandassoziierten Proanthocyanidine analysiert. Die Proanthocyanidinanalytik bestätigt das Vorkommen von kurzkettigen Procyanidinen und Propelargonidinen im Apfeltrester. Bedingt durch die Abnahme des Epicatechinanteils nahm der Polymerisationsgrad für beide Trester im Zuge der Extrusion ab. Epicatechin liegt wie das Anthocyan Cyanidin-Galactosid mitunter auch als freie phenolische Komponente vor, welche sich als labil gegenüber einer Behandlung mittels Extrusion zeigten. Ein unterschiedliches Verhalten der niedermolekularen phenolischen Verbindungen war für die Kartoffelpülpe im Vergleich zum Apfeltrester zu erkennen. Der Gehalt an Chlorogensäuren nahm in der Pülpe mit steigender Belastung im Extruder ab, während dieser im Apfeltrester unverändert blieb. Die Stabilität von Chlorogensäuren während der Extrusion wurde ebenfalls für Aroniatrester beobachtet (SCHMID *et al.*, 2021). Die im Verlauf der Extrusion erreichten Materialtemperaturen der Pülpe ( $T_M$  109,5-133,5 °C) liegen im Bereich des Apfeltresters ( $T_M$  121,1-156,3 °C), sodass kein Zusammenhang mit der thermischen Belastung ersichtlich ist. Carotinoide als (sekundäre) Pflanzeninhaltsstoffe des Karottentresters zeigten sich labil gegenüber einer thermomechanischen Belastung, wobei dieser Effekt vermutlich überwiegend thermisch bedingt ist (HERNÁNDEZ-ORTEGA *et al.*, 2013). Insgesamt bleiben mindestens 50 % der untersuchten sekundären Pflanzenmetaboliten in den Extrudaten aller Nebenströme erhalten. Bei den analysierten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen handelt es sich um potentiell ernährungsphysiologisch positive Substanzen. Carotinoide und (Poly)Phenole weisen u.a. eine antioxidative Kapazität auf, die für Carotinoide *in vivo* gezeigt werden konnte (KIOKIAS & GORDON, 2004). Neben der Ernährungsphysiologie kann sich dies aber auch positiv auf einen potentiellen Einsatz von Extrudaten als Lebensmittelzutat auswirken, da eine antioxidative Kapazität für die Lagerstabilität von Lebensmitteln von Bedeutung ist (KIOKIAS & GORDON, 2004; QUIDEAU *et al.*, 2011). Werden die Extrudate beispielsweise in eine fettreiche Matrix eingebracht, könnten sie möglicherweise Radikale, die während der Oxidation von Fettsäuren entstehen, abfangen und die Oxidationsreaktionen so verlangsamen.

Neben den potentiell positiven Inhaltsstoffen können Nebenströme auch natürlich vorkommende Inhaltsstoffe enthalten, welche in erhöhten Konzentrationen negative Effekte auf den Menschen haben können. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit eine UHPLC-MS Methode zur Analyse von Glykoalkaloiden in Kartoffelpülpe etabliert. Mit dieser Methode konnten  $\alpha$ -Solanin und

$\alpha$ -Chaconin in der Pülpe quantifiziert werden. Dabei zeigte sich eine erhöhte Extrahierbarkeit der Glykoalkaloide nach einer hohen thermomechanischen Beanspruchung. Diese bessere Extrahierbarkeit deutet wiederum auf eine extrusionsbedingte Lockerung der Zellwandstrukturen hin. In Anbetracht der Tatsache, dass die Extrudate in Lebensmitteln eingesetzt werden sollen, ist eine potentielle toxikologische Relevanz abzuschätzen. Der Einsatz von Trester oder Pülpe ist mit Konzentrationen von bis 5 % in Lebensmitteln üblich und demnach ist der Gehalt an Glykoalkaloiden (188,2-245,9 mg Gesamtglykoalkaloidgehalt/100 g TM) als unauffällig einzuschätzen (SUDHA *et al.*, 2007; GÓMEZ *et al.*, 2011).

Zusätzlich zu den natürlich vorkommenden Schadstoffen können sich auch unerwünschte Stoffe im Laufe der Extrusion bilden (Prozesskontaminanten); hierzu zählen Furfuralderivate und Acrylamid als hitzeinduzierte Kontaminanten. Diese bildeten sich in den Extrudaten abhängig vom Ausgangsmaterial sowie den angewendeten Bedingungen. Teilweise war jedoch auch eine Reduktion der Gehalte gegenüber dem Rohmaterial zu erkennen, vermutlich aufgrund der Weiterreaktion dieser Verbindungen. So zeigen die Daten des Apfeltresters, dass der HMF Gehalt bei Extrusion mit einem erhöhten Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  42 %) reduziert wurde, während die Gehalte bei Extrusion mit einem geringen Wassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) bei gleicher Drehzahl im Bereich des Rohmaterials lagen. Bei Rohstoffen mit einem vergleichsweise hohen Gehalt an freien Mono- und Disacchariden erhöhte sich der Gehalt an HMF mit steigender thermomechanischer Behandlung. Die Daten deuten daher auf einen Zusammenhang zwischen einem hohen Gehalt an freien Mono- und Disacchariden und der Bildung von HMF hin. Jedoch nimmt der Gehalt an freien Mono- und Disacchariden mit steigender thermomechanischer Belastung nicht durchgängig ab, sodass nicht erkannt werden kann, ob freie Zucker oder ggf. Abbauprodukte von Polysacchariden Ausgangssubstanzen für die Bildung der Kontaminanten darstellen. Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei Acrylamid. Dessen Gehalte sanken beim Apfeltrester und nahmen beim enzymatisch behandelten Trester aufgrund der thermomechanischen Behandlung zu. Es war kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen den angewendeten Bedingungen und der Zu-/Abnahme der Acrylamidgehalte im Extruder zu erkennen. Wie erwartet bildet sich Acrylamid vermehrt in Kartoffelpülpe, da Kartoffeln natürlicherweise hohe Gehalte an Asparagin als Edukt zur Bildung von Acrylamid enthalten. Der maximale Acrylamidgehalt in den Extrudaten der Nebenströme lag bei 76  $\mu\text{g}/\text{kg}$  TM. Dieser stellt bei einer maximalen Einsatzmenge von 5 % der Extrudate in Lebensmitteln keine nennenswerte zusätzliche Quelle für Acrylamid in unserer Ernährung dar, da dieser Gehalt deutlich unter den in Artikel 1 Absatz 1 in Verbindung mit

Anhang IV der Verordnung (EU) 2017/2158 genannten Richtwert für Acrylamid in verschiedenen Lebensmitteln liegt. Die Bildung von hitzeinduzierten Kontaminanten stellt somit keine grundsätzliche Limitierung für den Einsatz von Extrudaten in Lebensmitteln dar.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Verarbeitungsbedingte Nebenströme fallen in großen Mengen als Abfallprodukte der obst- und gemüseverarbeitenden Industrie an. Diese enthalten mitunter ernährungsphysiologisch positiv bewertete Bestandteile der menschlichen Ernährung. Dazu zählen u.a. Ballaststoffe und bestimmte sekundäre Pflanzenmetaboliten. Die pflanzliche Zellwand stellt dabei die Hauptballaststoffquelle dar, und abhängig von der Zusammensetzung der Komponenten weisen diese gesundheitsfördernde Eigenschaften auf. Neben einer möglichen Beeinflussung der ernährungsphysiologischen Eigenschaften kann das Einbringen von Polysacchariden aus Nebenströmen in Lebensmitteln deren technofunktionellen Eigenschaften, z.B. die Wasserbindung, beeinflussen. Niedermolekulare Inhaltsstoffe wie (poly)phenolische Verbindungen oder Carotinoide können als Antioxidantien fungieren und damit u.a. die Lipidoxidation verlangsamen. Extrusion kann die technofunktionellen Eigenschaften von Nebenströmen verändern und ggf. eine zielgerichtete Funktionalisierung ermöglichen. Eine ausführliche Charakterisierung der chemischen Zusammensetzung der Inhaltsstoffe von Nebenströmen vor und nach Extrusion kann dazu beitragen, den Einfluss dieser Prozessierung auf die strukturelle Zusammensetzung zu verstehen. Die wesentlichen Inhaltsstoffe von Nebenströmen wurden teilweise bereits grundlegend charakterisiert, jedoch sind Informationen über ihre Feinstrukturen, insbesondere der Polysaccharide, oft lückenhaft. Weiter fehlen detaillierte Informationen zu den Veränderungen der Strukturen unter dem Einfluss der Extrusion bei unterschiedlichen Extrusionsbedingungen.

In der vorliegenden Arbeit wurden Apfeltrester (unbehandelt und enzymatisch behandelt), Kartoffelpülpel sowie Karottentrester hinsichtlich der Ballaststoffgehalte und der chemischen Zusammensetzung und der Strukturen der Ballaststoffpolysaccharide vor und nach Extrusion charakterisiert. Die Ballaststoffe wurden dafür in unlösliche, lösliche und niedermolekularlösliche Fraktionen unterteilt und hinsichtlich ihrer Monosaccharidzusammensetzung nach verschiedenen Säurehydrolysen analysiert. Zudem wurden die Polysaccharidbindungstypen (Methylierungsanalyse), die detaillierten Arabinan- und Galactanstrukturen nach enzymatischen Teilabbau, der Veresterungsgrad der polymergebundenen Galacturonsäure sowie die Cellulosekristallinität bestimmt. Weiter wurde die Fermentierbarkeit der Ballaststoffpolysaccharide der Nebenströme vor und nach Extrusion in einem vereinfachten *in vitro* Modell simuliert und

abgeschätzt. Neben den Ballaststoffpolysacchariden lag ein weiterer Fokus auf der Analyse der jeweils charakteristischen sekundären Pflanzenmetaboliten.

Da es sich bei Extrusion um einen thermomechanischen Prozess handelt, ist die potentielle Bildung von hitzeinduzierten Kontaminanten ein entscheidender Faktor für den möglichen Einsatz solcher Produkte in Lebensmitteln. Acrylamid und Furfuralderivate wurden dabei exemplarisch analysiert.

Die Charakterisierung der ausgewählten Nebenströme zeigte, dass deren Zellwände in Übereinstimmung mit der Taxonomie der Pflanzen überwiegend aus Cellulose sowie Pektinen und variablen, aber generell geringeren Anteilen verschiedener Hemicellulosen bestehen. Hemicellulosen waren dabei überwiegend in Form von Xyloglucanen in den Apfeltrestern vertreten, während in der Kartoffelpülpe und dem Karottentrester Hemicellulosen eine stark untergeordnete Rolle spielen. Die Pektine der Nebenströme wiesen unterschiedliche Anteile an Homogalacturonan und Rhamnogalacturonan Typ I mit verschiedenen neutralen Seitenketten auf. Die dominierenden Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans waren in den Apfeltrestern Arabinane, im Karottentrester Arabinane und Galactane zu ähnlichen Anteilen sowie Galactane in der Kartoffelpülpe. Als weitere polymere/oligomere Nicht-Polysaccharid-Komponenten konnten in den Apfeltrestern kurzkettenige zellwandassoziierte Proanthocyanidine nachgewiesen werden.

Neben der unterschiedlichen Zellwandzusammensetzung unterschieden sich die Materialien auch in weiteren Inhaltsstoffen. So waren die Gehalte an freien Mono- und Disacchariden in den Apfeltrestern vergleichsweise hoch, während die Kartoffelpülpe einen Reststärkegehalt von ca. 30 g/100 g Trockenmasse enthielt. Charakteristische sekundäre Pflanzenmetabolite wie (poly)phenolische Verbindungen waren in den Apfeltrestern und der Kartoffelpülpe (Chlorogensäure) enthalten, daneben waren Carotinoide im Karottentrester vertreten.

Durch eine thermomechanische Behandlung mittels Extrusion veränderte sich die Zusammensetzung der Ballaststoffpolysaccharide abhängig von den gewählten Bedingungen. Neben einer Zunahme der Löslichkeit der Ballaststoffpolysaccharide zeigten sich die Pektine als labil unter den angewendeten Bedingungen. Insbesondere wurden Strukturmodifikationen in den neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans aller Nebenströme nachgewiesen. Bevorzugt wurden bei den Apfeltrestern hochverzweigte Arabinane abgebaut, während bei der Kartoffelpülpe die Galactane anfällig für Abbaureaktionen waren. Im Karottentrester waren nach Extrusion sowohl unlösliche Arabinane als auch unlösliche Galactane reduziert. Dagegen sind Polysaccharide wie Cellulose und Hemicellulosen weitgehend stabil unter dem Einfluss der

Extrusion. Entkopplung der thermischen von der mechanischen Beanspruchung zeigte, dass die Veränderungen überwiegend thermischen Ursprungs sind, der mechanische Einfluss jedoch auch eine Rolle spielen kann.

Trotz Veränderungen in den Polysaccharidprofilen der Nebenströme und einer Erhöhung der Löslichkeit der Ballaststoffpolysaccharide, sind die Auswirkungen durch Extrusion auf die Fermentierbarkeit dieser *in vitro* gering. Der fermentative Abbau der Ballaststoffpolysaccharide, welche mit Driselase durchgeführt wurde, sowie die im Zuge der Fermentation freigesetzten Mono- und Oligosaccharide wurden durch Extrusion der Nebenströme nicht grundlegend verändert. Extrusionsbedingte Modifikationen zeigten sich bei den Proanthocyanidinen, bei welchen der Polymerisationsgrad tendenziell abnahm. Hitzeinduzierte Kontaminanten wurden durch Extrusion in Abhängigkeit von den Ausgangsmaterialien nur in geringem Ausmaß gebildet. Freie Mono- und Disaccharide sowie Asparagin können dabei Ausgangssubstanzen für die Bildung von Acrylamid sein. Bei Kartoffelpülpe, welche natürlicherweise hohe Gehalte an Asparagin enthält, oder bei dem enzymatisch behandelten Apfeltrester mit hohen Gehalten an freien Mono- und Disacchariden wurde Acrylamid unter maximaler thermischer Belastung von 133,5 °C bzw. 128,1 °C mit 71 µg/kg Trockenmasse bzw. 76 µg/kg Trockenmasse nachgewiesen. Auch für 5-Hydroxymethylfurfural konnte ein Höchstgehalt von 62,3 mg/kg Trockenmasse für den enzymatisch behandelten Apfeltrester ermittelt werden. Weiter können natürlicherweise vorkommende Substanzen wie Glykoalkaloide in Kartoffeln durch eine mögliche Lockerung der Zellstrukturen besser extrahierbar werden, was zu höheren Gehalten durch Extrusion im Vergleich zum Rohmaterial führte (188,2-245,9 mg Gesamtglykoalkaloidgehalt/100 g TM). Des Weiteren wurde der Einfluss der Extrusion auch auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie (Poly)Phenole oder Carotinoide deutlich, da deren Anteile reduziert um bis zu 50 % reduziert wurden.

Die Charakterisierung der Zellwandzusammensetzung sowie der niedermolekularen Inhaltsstoffe vor und nach thermomechanischer Behandlung mittels Extrusion zeigte, dass die Veränderungen vom eingesetzten Nebenstrom und von den gewählten Extrusionsbedingungen abhängig sind. Die zellwandassoziierten Veränderungen beschränken sich zwar größtenteils auf die neutralen Seitenketten des Typ I Rhamnogalacturonans aus Pektinen, sind aber unterschiedlichen Ausmaßes. Unerwünschte Prozesskontaminanten wie Acrylamid werden nur in geringem Ausmaß gebildet und sollten einer extrusionsbasierten Funktionalisierung von Nebenströmen nicht im Weg stehen, da daneben auch potentiell ernährungsphysiologisch positive sekundäre

Pflanzenmetaboliten weitestgehend erhalten bleiben sowie die Fermentierbarkeit der Ballaststoffpolysaccharide bzw. -oligosaccharide *in vitro* kaum verändert wird.



## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- ABBEL, D.C. & SPORNS, P. (1996). Rapid quantitation of potato glycoalkaloids by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2292–2296.
- ABDEL-AAL, E.-S.M., YOUNG, J.C., RABALSKI, I., HUCL, P. & FREGEAU-REID, J. (2007). Identification and quantification of seed carotenoids in selected wheat species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 787–794.
- ADU, J.K., AMENGOR, C.D.K., ORMAN, E., IBRAHIM, N.M., IFUNANYA, M.O. & ARTHUR, D.F. (2019). Development and validation of uv-visible spectrophotometric method for the determination of 5-hydroxymethyl furfural content in canned malt drinks and fruit juices in Ghana. *Journal of Food Quality* 2019: 1-8.
- AGUEDO, M., KOHNEN, S., RABETAFIKA, N., VANDEN BOSSCHE, S., STERCKX, J., BLECKER, C., BEAUVE, C. & PAQUOT, M. (2012). Composition of by-products from cooked fruit processing and potential use in food products. *Journal of Food Composition and Analysis* 27: 61–69.
- AHMAD, M., WANI, T.A., WANI, S.M., MASOODI, F.A. & GANI, A. (2016). Incorporation of carrot pomace powder in wheat flour: Effect on flour, dough and cookie characteristics. *Journal of Food Science and Technology* 53: 3715–3724.
- ALAM, M.S., PATHANIA, S. & SHARMA, A. (2016). Optimization of the extrusion process for development of high fibre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauliflower trimmings. *LWT - Food Science and Technology* 74: 135–144.
- ALBERSHEIM, P., DEVINS, D.J., ENGLISH, P.D. & KARR, A.D. (1967). A method for the analysis of sugar in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydrate Research* 5: 340–345.
- AMICUCCI, M.J., NANDITA, E., GALERMO, A.G., CASTILLO, J.J., CHEN, S., PARK, D., SMILOWITZ, J.T., GERMAN, J.B., MILLS, D.A. & LEBRILLA, C.B. (2020). A nonenzymatic method for cleaving polysaccharides to yield oligosaccharides for structural analysis. *Nature Communications* 11: 1–12.
- AMORIM-CARRILHO, K.T., CEPEDA, A., FENTE, C. & REGAL, P. (2014). Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* 56: 49–73.
- ARORA, B., YOON, A., SRIRAM, M., SINGHA, P. & RIZVI, S.S.H. (2020). Reactive extrusion: A review of the physicochemical changes in food systems. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 64: 1–12.
- ASU 00.00-159 (2016). Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Acrylamid in Lebensmitteln mit Flüssigchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (LC-ESI-MS/MS) (nach DIN EN 16618), zuletzt geändert März 2016.
- ASU 03.00-39 (2010). Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung von Stärke in geriebenem Käse, Enzymatisches Verfahren, zuletzt geändert September 2010.
- ASU 07.00-65 (2021). Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung des Stärkegehaltes in Fleischerzeugnissen, Polarimetrisches Verfahren, zuletzt geändert Juli 2021.
- ASU 08.00-67 (2021). Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung des Stärkegehaltes in Wurstwaren, Polarimetrisches Verfahren, zuletzt geändert Juli 2021.

- ASU 46.00-5 **(2013)**. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, Bestimmung von Acrylamid in Kaffee und Kaffeeerzeugnissen - HPLC-MS/MS, GC-MS nach Derivatisierung (nach DIN EN ISO 18862), zuletzt geändert Februar 2020.
- ATALLA, R.H., GAST, J.H., SINDORF, D.W., BARTUSKA, J.V. & MACIEL, G.E. **(1980)**. <sup>13</sup>C NMR spectra of cellulose polymorphs. *Journal of the American Chemical Society* 102: 3249–3251.
- ATALLA, R.H. & VANDERHART, D.L. **(1984)**. Native cellulose: A composite of two distinct crystalline forms. *Science* 223: 283–285.
- BARROSO, C.G., RODRÍGUEZ, M.C., GUILLÉN, D.A. & PÉREZ-BUSTAMANTE, J.A. **(1996)**. Analysis of low molecular mass phenolic compounds, furfural and 5-hydroxymethylfurfural in Brandy de Jerez by high-performance liquid chromatography-diode array detection with direct injection. *Journal of Chromatography A* 724: 125–129.
- BECKER, A. **(2019)**. Kombinierte Trocknungsverfahren und ihr Einfluss auf ausgewählte Inhaltsstoffe und Zellwandpolysaccharide von Obst und Gemüse. Dissertation: *Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Phytochemie*, M. Bunzel.
- BEITANE, I., KRUMINA-ZEMTURE, G. & SABOVICS, M. **(2018)**. Effect of germination and extrusion on the phenolic content and antioxidant activity of raw buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Agronomy Research* 16: 1331–1340.
- BELLUR NAGARAJIAH, S. & PRAKASH, J. **(2015)**. Nutritional composition, acceptability, and shelf stability of carrot pomace-incorporated cookies with special reference to total and  $\beta$ -carotene retention. *Cogent Food & Agriculture* 1: 1–10.
- BfR **(2011)**. Bundesinstitut für Risikobewertung. 5-HMF-Gehalte in Lebensmitteln sind nach derzeitigem wissenschaftlichen Kenntnisstand gesundheitlich unproblematisch - Stellungnahme Nr. 030/2011 des BfR vom 15. Mai 2011.
- BfR **(2018)**. Bundesinstitut für Risikobewertung. Speisekartoffeln sollten niedrige Gehalte an Glykoalkaloiden (Solanin) enthalten - Stellungnahme Nr. 010/2018 des BfR vom 23. April 2018.
- BLAKENEY, A.B., HARRIS, P.J., HENRY, R.J. & STONE, B.A. **(1983)**. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Research* 113: 291–299.
- BLUMENKRANTZ, N. & ASBOE-HANSEN, G. **(1973)**. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry* 84: 484–489.
- BMEL **(2021a)**. Statistisches Bundesamt - Produktionsmenge von Apfelsaft in Deutschland in den Jahren 2004 bis 2020 (in Millionen Liter; *Zugriff am 22.02.2022*). *Statista*.
- BMEL **(2021b)**. Statistisches Bundesamt - Pro-Kopf-Konsum von Kartoffeln in Deutschland in den Jahren 1950/51 bis 2019/20 (in Kilogramm; *Zugriff am 22.02.2022*). *Statista*.
- BMEL **(2022)**. Statistisches Bundesamt - Anbaufläche von Äpfeln in Deutschland in den Jahren 1977 bis 2021 (in Hektar; *Zugriff am 22.02.2022*). *Statista*.
- BÖHM, F., EDGE, R., LAND, E.J., MCGARVEY, D.J. & TRUSCOTT, T.G. **(1997)**. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *Journal of the American Chemical Society* 119: 621–622.
- BRITTON, G. **(1995)**. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal* 9: 1551–1558.
- BROXTERMAN, S.E., PICOUET, P. & SCHOLS, H.A. **(2017)**. Acetylated pectins in raw and heat processed carrots. *Carbohydrate Polymers* 177: 58–66.
- BROXTERMAN, S.E. & SCHOLS, H.A. **(2018)**. Interactions between pectin and cellulose in primary plant cell walls. *Carbohydrate Polymers* 192: 263–272.

- BUSHWAY, R.J. & PONNAMPALAM, R. (1981).  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29: 814–817.
- CAFFALL, K.H. & MOHNEN, D. (2009). The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research* 344: 1879–1900.
- CARLSSON, N.G., KARLSSON, H. & SANDBERG, A.S. (1992). Determination of oligosaccharides in foods, diets, and intestinal contents by high-temperature gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2404–2412.
- CARPITA, N.C. & GIBEAUT, D.M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal* 3: 1–30.
- CEYMAN, M., ARRIGONI, E., SCHÄRER, H., BAUMGARTNER, D., NISING, A.B. & HURRELL, R.F. (2011). Rapid high performance screening method using UHPLC-MS to quantify 12 polyphenol compounds in fresh apples. *Analytical Methods* 3: 1774–1778.
- CEYMAN, M., ARRIGONI, E., SCHÄRER, H., BOZZI NISING, A. & HURRELL, R.F. (2012). Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. *Journal of Food Composition and Analysis* 26: 128–135.
- CHAU, C.-F., CHEN, C.-H. & LEE, M.-H. (2004). Comparison of the characteristics, functional properties, and *in vitro* hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. *LWT - Food Science and Technology* 37: 155–160.
- CHEN, H., RUBENTHALER, L., LEUNG, H. & BARANOWSKI, J.D. (1988). Chemical, physical, and baking properties of apple fiber compared with wheat and oat bran. *Cereal Chemistry* 65: 244–247.
- CHRISTIAENS, S., VAN BUGGENHOUT, S., HOUBEN, K., JAMSAZZADEH KERMANI, Z., MOELANTS, K.R.N., NGOUÉMAZONG, E.D., VAN LOEY, A. & HENDRICKX, M.E.G. (2016). Process-structure-function relations of pectin in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56: 1021–1042.
- CIUCANU, I. & KEREK, F. (1984). A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. *Carbohydrate Research* 131: 209–217.
- CIUDAD-MULERO, M., VEGA, E.N., GARCÍA-HERRERA, P., PEDROSA, M.M., ARRIBAS, C., BERRIOS, J.D.J., CÁMARA, M., FERNÁNDEZ-RUIZ, V. & MORALES, P. (2022). Extrusion cooking effect on carbohydrate fraction in novel gluten-free flours based on chickpea and rice. *Molecules* 27: 1–13.
- CODEx ALIMENTARIUS (2015). Guidelines on nutrition labelling CAC/GL 2-1985. Joint FAO/WHO Food Standards Program, Secretariat of the Codex Alimentarius Commission, FAO: Rome.
- CORRADINI, C., CAVAZZA, A. & BIGNARDI, C. (2012). High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed electrochemical detection as a powerful tool to evaluate carbohydrates of food interest: Principles and applications. *International Journal of Carbohydrate Chemistry* 2012: 1–13.
- COSGROVE, D.J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 6: 850–861.
- COSGROVE, D.J. & JARVIS, M.C. (2012). Comparative structure and biomechanics of plant primary and secondary cell walls. *Frontiers in Plant Science* 3: 1–6.
- CRAFT, N.E. & SOARES, J.H. (1992). Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and  $\beta$ -carotene in organic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 431–434.
- DE RUITER, G.A. de, SCHOLS, H.A., VORAGEN, A.G. & ROMBOUTS, F.M. (1992). Carbohydrate analysis of water-soluble uronic acid-containing polysaccharides with high-performance anion-

- exchange chromatography using methanolysis combined with TFA hydrolysis is superior to four other methods. *Analytical Biochemistry* 207: 176–185.
- DEVRIES, J.W., CAMIRE, M.E., CHO, S., CRAIG, S., GORDON, D., JONES, J.M., LI, B., LINEBACK, D., PROSKY, L. & TUNGLAND B. (2001). The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World* 46: 112–126.
- DGE, ÖGE, SGE (2021). Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (SGE). D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. *Bonn*.
- DING, S.-Y. & HIMMEL, M.E. (2006). The maize primary cell wall microfibril: A new model derived from direct visualization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 597–606.
- DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. & SMITH, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350–356.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. EFSA panel on dietetic products, nutrition, and allergies. Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal* 8: 1–77.
- EFSA (2015). European Food Safety Authority. Scientific opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal* 13: 1–321.
- ELLEUCH, M., BEDIGIAN, D., ROISEUX, O., BESBES, S., BLECKER, C. & ATTIA, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry* 124: 411–421.
- EMIN, M.A. & SCHUCHMANN, H.P. (2017). A mechanistic approach to analyze extrusion processing of biopolymers by numerical, rheological, and optical methods. *Trends in Food Science & Technology* 60: 88–95.
- ENGLYST, H.N., QUIGLEY, M.E. & HUDSON, G.J. (1994). Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas-liquid chromatographic, high-performance liquid chromatographic or spectrophotometric measurement of constituent sugars. *The Analyst* 119: 1497–1509.
- EVERETTE, J.D., BRYANT, Q.M., GREEN, A.M., ABBEY, Y.A., WANGILA, G.W. & WALKER, R.B. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 8139–8144.
- FENWICK, K.M., JARVIS, M.C., APPERLEY, D.C., SEYMOUR, G.B. & BIRD, C.R. (1996). Polymer mobility in cell walls of transgenic tomatoes with reduced polygalacturonase activity. *Phytochemistry* 42: 301–307.
- FERNANDES, P.A.R., LE BOURVELLEC, C., RENARD, C.M.G.C., WESSEL, D.F., CARDOSO, S.M. & COIMBRA, M.A. (2020). Interactions of arabinan-rich pectic polysaccharides with polyphenols. *Carbohydrate Polymers* 230: 1–10.
- FERREIRA-LAZARTE, A., KACHRIMANIDOU, V., VILLAMIEL, M., RASTALL, R.A. & MORENO, F.J. (2018). *In vitro* fermentation properties of pectins and enzymatic-modified pectins obtained from different renewable bioresources. *Carbohydrate Polymers* 199: 482–491.
- FIEDOR, J. & BURDA, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 6: 466–488.
- FOLIN, O. & CIOALTEU, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 2: 627–650.
- FOOD CHEMICALS CODEX (1972). National Academy of Sciences (2. Auflage). 579–580. *Washington D.C.*
- FRIEDMAN, M., BAUTISTA, F.F., STANKER, L.H. & LARKIN, K.A. (1998). Analysis of potato glycoalkaloids by a new ELISA kit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 5097–5102.

- FRIEDMAN, M. & DAO, F. (1992). Distribution of glycoalkaloids in potato plants and commercial potato products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 419–423.
- FRIEDMAN, M., McDONALD, G. & HADDON, W.F. (1993). Kinetics of acid-catalyzed hydrolysis of carbohydrate groups of potato glycoalkaloids  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1397–1406.
- FRIEDMAN, M., ROITMAN, J.N. & KOZUKUE, N. (2003). Glycoalkaloid and calystegine contents of eight potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2964–2973.
- FRY, S.C. (1986). Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology* 37: 165–186.
- FRY, S.C., YORK, W.S., ALBERSHEIM, P., DARVILL, A., HAYASHI T., JOSELEAU, J.-P., KATO, Y., LORENCES, E.P., MACLACHLAN, G.A., MCNEIL, M., MORT, A.J., REID, J.S.G., SEITZ, H.U., SELVENDRAN, R.R., VORAGEN, A.G.J. & WHITE, A.R. (1993). An unambiguous nomenclature for xyloglucan-derived oligosaccharides. *Physiologia Plantarum* 89: 1–3.
- GARCIA-AMEZQUITA, L.E., TEJADA-ORTIGOZA, V., SERNA-SALDIVAR, S.O. & WELTI-CHANES, J. (2018). Dietary fiber concentrates from fruit and vegetable by-products: Processing, modification, and application as functional ingredients. *Food and Bioprocess Technology* 11: 1439–1463.
- GARNA, H., MABON, N., NOTT, K., WATHELET, B. & PAQUOT, M. (2006). Kinetic of the hydrolysis of pectin galacturonic acid chains and quantification by ionic chromatography. *Food Chemistry* 96: 477–484.
- GARTAULA, G., DHITAL, S., NETZEL, G., FLANAGAN, B.M., YAKUBOV, G.E., BEAHAN, C.T., COLLINS, H.M., BURTON, R.A., BACIC, A. & GIDLEY, M.J. (2018). Quantitative structural organisation model for wheat endosperm cell walls: Cellulose as an important constituent. *Carbohydrate Polymers* 196: 199–208.
- GNIECHWITZ, D., REICHARDT, N., BLAUT, M., STEINHART, H. & BUNZEL, M. (2007). Dietary fiber from coffee beverage: Degradation by human fecal microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6989–6996.
- GÓMEZ, M., JIMÉNEZ, S., RUIZ, E. & OLLETE, B. (2011). Effect of extruded wheat bran on dough rheology and bread quality. *LWT - Food Science and Technology* 44: 2231–2237.
- GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E., JIMÉNEZ-ESCRIG, A. & RUPÉREZ, P. (2012). Molecular weight distribution of polysaccharides from edible seaweeds by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). *Talanta* 93: 153–159.
- GU, L., KELM, M.A., HAMMERSTONE, J.F., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D., GEBHARD, S. & PRIOR, R.L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *Journal of Nutrition* 134: 613–617.
- GU, L., KELM, M.A., HAMMERSTONE, J.F., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D. & PRIOR, R.L. (2003). Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7513–7521.
- GUY, R.C.E. (2001). Extrusion cooking: Technologies and applications. *Woodhead, Cambridge*.
- HA, M.A., APPERLEY, D.C. & JARVIS, M.C. (1997). Molecular rigidity in dry and hydrated onion cell walls. *Plant Physiology* 115: 593–598.
- HARRIS, P.J. & SMITH, B.G. (2006). Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: Structures, properties and uses in food products. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 129–143.
- HAYASHI, T. (1989). Xyloglucans in the primary cell wall. *Annual Review of Plant Physiology* 40: 139–168.

- HE, K., MERGENS, B., YATCILLA, M., ZHENG, Q., BAO, Z., ZHANG, Y., LI, X. & XIE, Z. (2018). Molecular weight determination of aloe polysaccharides using size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering and refractive index detectors. *Journal of AOAC International* 101: 1729–1740.
- HERNÁNDEZ-ORTEGA, M., KISSANGOU, G., NECOECHA-MONDRAGÓN, H., SÁNCHEZ-PARDO, M.E. & ORTIZ-MORENO, A. (2013). Microwave dried carrot pomace as a source of fiber and carotenoids. *Food and Nutrition Sciences* 4: 1037–1046.
- HIXSON, J.L., BINDON, K.A. & SMITH, P.A. (2015). Evaluation of direct phloroglucinolysis and colorimetric depolymerization assays and their applicability for determining condensed tannins in grape marc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 9954–9962.
- HOLSCHER, H.D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes* 8: 172–184.
- HOUBEN, K., JOLIE, R.P., FRAEYE, I., VAN LOEY, A.M. & HENDRICKX, M.E. (2011). Comparative study of the cell wall composition of broccoli, carrot, and tomato: Structural characterization of the extractable pectins and hemicelluloses. *Carbohydrate Research* 346: 1105–1111.
- HUANG, D., OU, B. & PRIOR, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1841–1856.
- HUISMAN, M., OOSTERVELD, A. & SCHOLS, H.A. (2004). Fast determination of the degree of methyl esterification of pectins by head-space GC. *Food Hydrocolloids* 4: 665–668.
- HWANG, J.-K., CHOI, J.-S., KIM, C.-J. & KIM, C.-T. (1998a). Solubilization of apple pomace by extrusion. *Journal of Food Processing Preservation* 22: 477–491.
- HWANG, J.-K., KIM, C.-J. & KIM, C.-T. (1998b). Extrusion of apple pomace facilitates pectin extraction. *Journal of Food Science* 63: 1–4.
- ISHII, T. (1997). *O*-acetylated oligosaccharides from pectins of potato tuber cell walls. *Plant Physiology* 113: 1265–1272.
- JEZUSSEK, M. & SCHIEBERLE, P. (2003). A new LC/MS-method for the quantitation of acrylamide based on a stable isotope dilution assay and derivatization with 2-mercaptobenzoic acid. Comparison with two GC/MS methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7866–7871.
- JONKER, A. & YU, P. (2017). The occurrence, biosynthesis, and molecular structure of proanthocyanidins and their effects on legume forage protein precipitation, digestion and absorption in the ruminant digestive tract. *International Journal of Molecular Sciences* 18: 1–23.
- JUNKER, F.R. (2018). Differenzierung und Charakterisierung von Kondensiertem Tannin in Samen aus Beerenobst. Masterarbeit: *Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Phytochemie*, Steck J. L. & Bunzel, M.
- KAACK, K. & PEDERSEN, L. (2005). Application of by-products from industrial processing of potato flour and yellow peas as ingredients in low-fat high-fibre sausages. *European Food Research and Technology* 221: 313–319.
- KAACK, K., PEDERSEN, L., LAERKE, H.N. & MEYER, A. (2006). New potato fibre for improvement of texture and colour of wheat bread. *European Food Research and Technology* 224: 199–207.
- KEEGSTRA, K., TALMADGE, K.W., BAUER, W.D. & ALBERSHEIM, P. (1973). The structure of plant cell walls. *Plant Physiology* 51: 188–196.
- KENNEDY, J.A. & JONES, G.P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1740–1746.

- KHANAL, R.C., HOWARD, L.R., BROWNMILLER, C.R. & PRIOR, R.L. (2009). Influence of extrusion processing on procyanidin composition and total anthocyanin contents of blueberry pomace. *Journal of Food Science* 74: 52-58.
- KIM, J.B. & CARPITA, N.C. (1992). Changes in esterification of the uronic acid groups of cell wall polysaccharides during elongation of maize coleoptiles. *Plant Physiology* 98: 646-653.
- KIOKIAS, S. & GORDON, M.H. (2004). Antioxidant properties of carotenoids *in vitro* and *in vivo*. *Food Reviews International* 20: 99-121.
- KIOKIAS, S., PROESTOS, C. & VARZAKAS, T. (2016). A review of the structure, biosynthesis, absorption of carotenoids-analysis and properties of their common natural extracts. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal* 4: 25-37.
- KIRBAS, Z., KUMCUOGLU, S. & TAVMAN, S. (2019). Effects of apple, orange and carrot pomace powders on gluten-free batter rheology and cake properties. *Journal of Food Science and Technology* 56: 914-926.
- KNUTHSEN, P., JENSEN, U., SCHMIDT, B. & LARSEN, I.K. (2009). Glycoalkaloids in potatoes: Content of glycoalkaloids in potatoes for consumption. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 577-581.
- KOCH, L., EMIN, M.A. & SCHUCHMANN, H.P. (2017). Influence of processing conditions on the formation of whey protein-citrus pectin conjugates in extrusion. *Journal of Food Engineering* 193: 1-9.
- KOERNER, J.L., HSU, V.L., LEE, J. & KENNEDY, J.A. (2009). Determination of proanthocyanidin A2 content in phenolic polymer isolates by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1216: 1403-1409.
- KOŁODZIEJCZYK, K., MARKOWSKI, J., KOSMALA, M., KRÓL, B. & PLOCHARSKI, W. (2007). Apple pomace as a potential source of nutraceutical products. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 47: 291-295.
- KUNZE, J. & FINK, H.-P. (1999). Charakterisierung von Cellulose und Cellulosederivaten mittels hochauflösender Festkörper-<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie. *Das Papier* 12: 753-764.
- LACHMAN, J. & HAMOUZ, K. (2005). Red and purple coloured potatoes as a significant antioxidant source in human nutrition – A review. *Plant, Soil and Environment* 51: 477-482.
- LACHMAN, J., HAMOUZ, K., MUSILOVÁ, J., HEJTMÁNKOVÁ, K., KOTÍKOVÁ, Z., PAZDERU, K., DOMKÁŘOVÁ, J., PIVEC, V. & CIMR, J. (2013). Effect of peeling and three cooking methods on the content of selected phytochemicals in potato tubers with various colour of flesh. *Food Chemistry* 138: 1189-1197.
- LAI, L.S. & KOKINI, J.L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (a review). *Biotechnology Progress* 7: 251-266.
- LARREA, M.A., CHANG, Y.K. & MARTINEZ-BUSTOS, F. (2005). Some functional properties of extruded orange pulp and its effect on the quality of cookies. *LWT - Food Science and Technology* 38: 213-220.
- LARSEN, N., BUSSOLO DE SOUZA, C., KRYCH, L., BARBOSA CAHÚ, T., WIESE, M., KOT, W., HANSEN, K.M., BLENNOW, A., VENEMA, K. & JESPERSEN, L. (2019). Potential of pectins to beneficially modulate the gut microbiota depends on their structural properties. *Frontiers in Microbiology* 10: 1-13.
- LAUFENBERG, G., KUNZ, B. & NYSTROEM, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technology* 44: 167-198.
- LAURILA, J., LAAKSO, I., VÄÄNÄNEN, T., KURONEN, P., HUOPALAHTI, R. & PEHU, E. (1999). Determination of solanidine- and tomatidine-type glycoalkaloid aglycons by gas

- chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 2738–2742.
- LAWS, D., BITTER, H.-M. & JERSCHOW, A. (2002). Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie in der Chemie. *Angewandte Chemie* 114: 3224–3529.
- LE BOURVELLEC, C., GUYOT, S. & RENARD, C.M.G.C. (2004). Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material: Part I. Effect of some environmental parameters. *Biochimica et Biophysica Acta* 1672: 192–202.
- LEE, H.S., ROUSED, R.L. & NAGY, S. (1986). HPLC determination of furfural and 5-hydroxymethylfurfural in citrus juices. *Journal of Food Science* 51: 1075–1076.
- LEE, Y.C. (1990). High-performance anion-exchange chromatography for carbohydrate analysis. *Analytical Biochemistry* 2: 151–162.
- LEVIGNE, S., THOMAS, M., RALET, M.C., QUEMENER, B. & THIBAUT, J.-F. (2002). Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. *Food Hydrocolloids* 16: 547–550.
- LEVIGNE, S.V., RALET, M.-C.J., QUÉMÉNER, B.C., POLLET, B.N.-L., LAPIERRE, C. & THIBAUT, J.-F.J. (2004). Isolation from sugar beet cell walls of arabinan oligosaccharides esterified by two ferulic acid monomers. *Plant Physiology* 134: 1173–1180.
- LI, H.-J. & DEINZER, M.L. (2007). Tandem mass spectrometry for sequencing proanthocyanidins. *Analytical Chemistry* 79: 1739–1748.
- LIANG, N.-N., HE, F., PAN, Q.-H., WANG, J., REEVES, M.J. & DUAN, C.-Q. (2016). Optimization of sample preparation and phloroglucinol analysis of marselan grape skin proanthocyanidins using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *South African Journal of Enology and Viticulture* 33: 122–131.
- LINEBACK, D.R., COUGHLIN, J.R. & STADLER, R.H. (2012). Acrylamide in foods: A review of the science and future considerations. *Annual Review of Food Science and Technology* 3: 15–35.
- LING, Z., WANG, T., MAKAREM, M., SANTIAGO CINTRÓN, M., CHENG, H.N., KANG, X., BACHER, M., POTTHAST, A., ROSENAU, T., KING, H., DELHOM, C.D., NAM, S., VINCENT EDWARDS, J., KIM, S.H., XU, F. & FRENCH, A.D. (2019). Effects of ball milling on the structure of cotton cellulose. *Cellulose* 26: 305–328.
- MAIANI, G., CASTÓN, M.J.P., CATASTA, G., TOTI, E., CAMBRODÓN, I.G., BYSTED, A., GRANADO-LORENCIO, F., OLMEDILLA-ALONSO, B., KNUTHSEN, P., VALOTI, M., BÖHM, V., MAYER-MIEBACH, E., BEHNSILIAN, D. & SCHLEMMER, U. (2009). Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research* 53: 194–218.
- MARIOT, R.F., OLIVEIRA, L.A. de, VOORHUIZEN, M.M., STAATS, M., HUTTEN, R.C.B., VAN DIJK, J.P., KOK, E.J. & FRAZZON, J. (2016). Characterization and transcriptional profile of genes involved in glycoalkaloid biosynthesis in new varieties of *Solanum tuberosum* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 988–996.
- MARTINS, S., JONGEN, W.M.F. & VAN BOEKEL, M. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology* 11: 364–373.
- MARX, M., STUPARIC, M., SCHIEBER, A. & CARLE, R. (2003). Effects of thermal processing on *trans-cis*-isomerization of  $\beta$ -carotene in carrot juices and carotene-containing preparations. *Food Chemistry* 83: 609–617.
- MASTOVSKA, K. & LEHOTAY, S.J. (2006). Rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7001–7008.



- MATISSEK, R., FISCHER, M. & STEINER G. (2018). *Lebensmittelanalytik* (6. Auflage). *Springer Spektrum, Berlin*.
- MATSUDA, F., MORINO, K., MIYAZAWA, H., MIYASHITA, M. & MIYAGAWA, H. (2004). Determination of potato glycoalkaloids using high-pressure liquid chromatography-electrospray ionisation/mass spectrometry. *Phytochemical Analysis* 15: 121–124.
- MAX-RUBNER-INSTITUT (2008). Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel. Nationale Verzehrs Studie II, Ergebnisbericht.
- MAYER, F. (1997). Potato pulp: Properties, physical modification and application. *Polymer Degradation and Stability* 59: 231–235.
- MCCLEARY, B.V., CHARMIER, L.M.J. & MCKIE, V.A. (2019). Measurement of starch: Critical evaluation of current methodology. *Starch/Stärke* 71: 1–13.
- MCCLEARY, B.V., DEVRIES, J.W., RADER, J.I., COHEN, G., PROSKY, L., MUGFORD, D.C., CHAMP, M. & OKUMA, K. (2010). Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 93: 221–233.
- MCCLEARY, B.V., SLOANE, N. & DRAGA, A. (2015). Determination of total dietary fibre and available carbohydrates: A rapid integrated procedure that simulates *in vivo* digestion. *Starch/Stärke* 67: 860–883.
- MCCLEARY, B.V., SLOANE, N., DRAGA, A. & LAZEWSKA, I. (2013). Measurement of total dietary fiber using AOAC method 2009.01 (AACC International Approved Method 32-45.01): Evaluation and updates. *Cereal Chemistry* 90: 396–414.
- MCDOUGALL, G.J., MORRISON, I.M., STEWART, D. & HILLMAN, J.R. (1996). Plant cell walls as dietary fiber: Range, structure, processing and function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70: 133–150.
- MERCIER, C. (1977). Effect of extrusion-cooking on potato starch using a twin screw french extruder. *Starch - Stärke* 29: 48–52.
- MESTER, Z., STURGEON, R. & PAWLISZYN, J. (2001). Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation. *Spectrochimica Acta Part B* 56: 233–260.
- MOON, R.J., MARTINI, A., NAIRN, J., SIMONSEN, J. & YOUNGBLOOD, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* 40: 3941–3994.
- MOTTRAM, D.S., WEDZICHA, B.L. & DODSON, A.T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature* 419: 448–449.
- MÜLLER-MAATSCH, J., CALIGIANI, A., TEDESCHI, T., ELST, K. & SFORZA, S. (2014). Simple and validated quantitative <sup>1</sup>H NMR method for the determination of methylation, acetylation, and feruloylation degree of pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 9081–9087.
- NEWMAN, R.H., HA, M.-A. & MELTON, L.D. (1994). Solid-state <sup>13</sup>C NMR investigation of molecular ordering in the cellulose of apple cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 1402–1406.
- NIELSEN, S.D., SCHMIDT, J.M., KRISTIANSEN, G.H., DALSGAARD, T.K. & LARSEN, L.B. (2020). Liquid chromatography mass spectrometry quantification of  $\alpha$ -solanine,  $\alpha$ -chaconine, and solanidine in potato protein isolates. *Foods* 9: 1–13.
- O'SHEA, N., ARENDT, E.K. & GALLAGHER, E. (2012). Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 16: 1–10.
- O'SULLIVAN, A.C. (1997). Cellulose: The structure slowly unravels. *Cellulose* 4: 173–207.

- PANASEVICH, M.R., ROSSONI SERAO, M.C., GODOY, M.R.C. de, SWANSON, K.S., GUÉRIN-DEREMAUX, L., LYNCH, G.L., WILS, D., FAHEY, G.C. & DILGER, R.N. (2013). Potato fiber as a dietary fiber source in dog foods. *Journal of Animal Science* 91: 5344–5352.
- PARK, S., BAKER, J.O., HIMMEL, M.E., PARILLA, P.A. & JOHNSON, D.K. (2010). Cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels* 10: 1–10.
- PEÑA, M.J. & CARPITA, N.C. (2004). Loss of highly branched arabinans and debranching of rhamnogalacturonan I accompany loss of firm texture and cell separation during prolonged storage of apple. *Plant Physiology* 135: 1305–1313.
- PÉREZ GARCÍA, M., ZHANG, Y., HAYES, J., SALAZAR, A., ZABOTINA, O.A. & HONG, M. (2011). Structure and interactions of plant cell-wall polysaccharides by two- and three-dimensional magic-angle-spinning solid-state NMR. *Biochemistry* 50: 989–1000.
- PETTOLINO, F.A., WALSH, C., FINCHER, G.B. & BACIC, A. (2012). Determining the polysaccharide composition of plant cell walls. *Nature Protocols* 7: 1590–1607.
- POLLINI, L., BLASI, F., IANNI, F., GRISPOLDI, L., MORETTI, S., DI VEROLI, A., COSSIGNANI, L. & CENCI-GOGA, B.T. (2022). Ultrasound-assisted extraction and characterization of polyphenols from apple pomace, functional ingredients for beef burger fortification. *Molecules* 27: 1–16.
- PRANDI, B., BALDASSARRE, S., BABBAR, N., BANCALARI, E., VANDEZANDE, P., HERMANS, D., BRUGGEMAN, G., GATTI, M., ELST, K. & SFORZA, S. (2018). Pectin oligosaccharides from sugar beet pulp: Molecular characterization and potential prebiotic activity. *Food & Function* 9: 1557–1569.
- PROSKY, L., ASP, N.G., FURDA, I., DEVINS, D.J., SCHWEIZER, T.F. & HARLAND, B.F. (1985). Determination of total dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 68: 677–679.
- QUEJI, M.D., WOSIACKI, G., CORDEIRO, G.A., PERALTA-ZAMORA, P.G. & NAGATA, N. (2010). Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 602–609.
- QUIDEAU, S., DEFFIEUX, D., DOUAT-CASASSUS, C. & POUYSÉGU, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie* 50: 586–621.
- RANVEER, R.C., PATIL, S.N. & SAHOO, A.K. (2013). Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste. *Food and Bioprocess Technology* 91: 370–375.
- RENARD, C.M., WATRELOT, A.A. & LE BOURVELLEC, C. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science & Technology* 60: 43–51.
- REZENDE, C.A., APARECIDA DE LIMA, M., MAZIERO, P., RIBEIRO DE AZEVEDO, E., GARCIA, W. & POLIKARPOV, I. (2011). Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels* 4: 1–18.
- RIBEIRO, D.S., HENRIQUE, S.M.B., OLIVEIRA, L.S., MACEDO, G.A. & FLEURI, L.F. (2010). Enzymes in juice processing: A review. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 635–641.
- RING, S.G. & SELVENDRAN, R.R. (1978). Purification and methylation analysis of cell wall material from *Solanum tuberosum*. *Phytochemistry* 17: 745–752.
- RIVERA, S. & CANELA, R. (2012). Influence of sample processing on the analysis of carotenoids in maize. *Molecules* 17: 11255–11268.
- RODDICK, J.G., RIJNENBERG, A.L. & WEISSENBERG, M. (1990). Membrane-disrupting properties of the steroidal glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry* 25: 1513–1518.

- RONGPIPI, S., YE, D., GOMEZ, E.D. & GOMEZ, E.W. (2019). Progress and opportunities in the characterization of cellulose - An important regulator of cell wall growth and mechanics. *Frontiers in Plant Science* 9: 1–28.
- ROVAI, D., ORTGIES, M., AMIN, S., KUWAHARA, S., SCHWARTZ, G., LESNIAUSKAS, R., GARZA, J. & LAMMERT, A. (2021). Utilization of carrot pomace to grow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Sustainability* 13: 1–15.
- RUIZ-MATUTE, A.I., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O., RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, S., SANZ, M.L. & MARTÍNEZ-CASTRO, I. (2011). Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. *Journal of Chromatography B* 879: 1226–1240.
- RUMPUNEN, K., THOMAS, M., BADILAS, N. & THIBAUT, J.-F. (2002). Validation of a combined enzymatic and HPLC method for screening of pectins in fruits of japanese quince (*Chaenomeles japonica*). *LWT - Food Science and Technology* 35: 490–496.
- SADILOVA, E., STINTZING, F.C. & CARLE R. (2006). Chemical quality parameters and anthocyanin pattern of red-fleshed Weirouge apples. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 1: 82–87.
- SAEMAN, J.F., BUBL, J.L. & HARRIS, E.E. (1945). Quantitative saccharification of wood and cellulose. *Industrial Engineering Chemistry and Analytical Edition* 17: 35–37.
- SAITO, K., NODA, T., TSUDA, S., MORI, M., HASA, Y., KITO, H. & ODA, Y. (2006). Effect of the dates of extraction on the quality of potato pulp. *Bioresource Technology* 97: 2470–2473.
- SAULNIER, L. & THIBAUT, J.-F.J. (1999). Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxylans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 396–402.
- SCHÄFER, D. (2019). Charakterisierung der Sprossachsenzusammensetzung verschiedener Sorghum-Genotypen. Masterarbeit: *Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Phytochemie*, Keller, J. & Bunzel, M.
- SHELLER, H.V. & ULVSKOV, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology* 61: 263–289.
- SCHIEBER, A., KELLER, P. & CARLE, R. (2001a). Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 910: 265–273.
- SCHIEBER, A., STINTZING, F.C. & CARLE, R. (2001b). By-products of plant food processing as a source of functional compounds - Recent developments. *Trends in Food Science & Technology* 12: 401–413.
- SCHMID, V., STECK, J., MAYER-MIEBACH, E., BEHSNILIAN, D., BRIVIBA, K., BUNZEL, M., KARBSTEIN, H.P. & EMIN, M.A. (2020). Impact of defined thermomechanical treatment on the structure and content of dietary fiber and the stability and bioaccessibility of polyphenols of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace. *Food Research International* 134: 1–11.
- SCHMID, V., STECK, J., MAYER-MIEBACH, E., BEHSNILIAN, D., BUNZEL, M., KARBSTEIN, H.P. & EMIN, M.A. (2021). Extrusion processing of pure chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace: Impact on dietary fiber profile and bioactive compounds. *Foods* 10: 1–19.
- SCHMIDT, T.G., SCHNEIDER, F., LEVERENZ, D. & HAFNER, G. (2019). Lebensmittelabfälle in Deutschland - Baseline 2015. *Johann-Heinrich-von-Thünen-Institut, Braunschweig*.
- SCHOFIELD, P., MBUGUA, D.M. & PELL, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: A Review. *Animal Feed Science and Technology* 91: 21–40.
- SCHOLS, H.A., BAKX, E.J., SCHIPPER, D. & VORAGEN, A.G. (1995). A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin. *Carbohydrate Research* 279: 265–279.

- SCHWEIZER, T.F. & WÜRSCH, P. (1991). The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia* 47: 181–186.
- SCOTT, R.W. (1979). Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry* 51: 936–941.
- SEGAL, L., CREELY, J.J., MARTIN JR., A.E. & CONRAD, C.M. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal* 29: 786–794.
- SERENA, A. & KNUDSEN, K.B. (2007). Chemical and physicochemical characterisation of co-products from the vegetable food and agro industries. *Animal Feed Science and Technology* 139: 109–124.
- SLAVIN, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients* 5: 1417–1435.
- SOTELO, A. & SERRANO, B. (2000). High-performance liquid chromatographic determination of the glycoalkaloids  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine in 12 commercial varieties of mexican potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2472–2475.
- STECK, J., KAUFHOLD, L. & BUNZEL, M. (2021). Structural profiling of xyloglucans from food plants by high-performance anion-exchange chromatography with parallel pulsed amperometric and mass spectrometric detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69: 8838–8849.
- STEVENSON, D.E. & HURST, R.D. (2007). Polyphenolic phytochemicals - Just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences* 64: 2900–2916.
- SUDHA, M.L., BASKARAN, V. & LEELAVATHI, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry* 104: 686–692.
- SVANBERG, S.J., GUSTAFSSON, M., KERSTIN B. H., SUORTTI, T. & NYMAN, M.E.G.-L. (1995). Molecular weight distribution, measured by HPSEC, and viscosity of water-soluble dietary fiber in carrots following different types of processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2692–2697.
- SWEET, D.P., SHAPIRO, R.H. & ALBERSHEIM, P. (1975). Quantitative analysis by various G.L.C. response-factor theories for partially methylated and partially ethylated alditol acetates. *Carbohydrate Research* 40: 217–225.
- TAEYMANS, D., WOOD, J., ASHBY, P., BLANK, I., STUDER, A., STADLER, R.H., GONDÉ, P., VAN EIJCK, P., LALLJIE, S., LINGNERT, H., LINDBLOM, M., MATISSEK, R., MÜLLER, D., TALLMADGE, D., O'BRIEN, J., THOMPSON, S., SILVANI, D. & WHITMORE, T. (2004). A review of acrylamide: An industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44: 323–347.
- TALBOTT, L.D. & RAY, P.M. (1992). Molecular size and separability features of pea cell wall polysaccharides. *Plant Physiology* 98: 357–368.
- THEANDER, O., AMAN, P., WESTERLUND, E., ANDERSSON, R. & PETERSSON, D. (1995). Total dietary fiber determined as neutral sugar residues, uronic acid residues, and Klason lignin (the Uppsala method): Collaborative study. *Journal of AOAC International* 78: 1030–1044.
- TUOMIVAARA, S.T., YAOI, K., O'NEILL, M.A. & YORK, W.S. (2015). Generation and structural validation of a library of diverse xyloglucan-derived oligosaccharides, including an update on xyloglucan nomenclature. *Carbohydrate Research* 402: 56–66.
- TURKSOY, S. & ÖZKAYA, B. (2011). Pumpkin and carrot pomace powders as a source of dietary fiber and their effects on the mixing properties of wheat flour dough and cookie quality. *Food Science and Technology Research* 17: 545–533.

- UPDEGRAFF, D.M. (1969). Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry* 32: 420–424.
- URBAT, F., MÜLLER, P., HILDEBRAND, A., WEFERS, D. & BUNZEL, M. (2019). Comparison and optimization of different protein nitrogen quantitation and residual protein characterization methods in dietary fiber preparations. *Frontiers in Nutrition* 6: 1–8.
- VANDER HART, D.L. & ATALLA, R.H. (1984). Studies of microstructure in native celluloses using solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR. *Macromolecules* 17: 1465–1472.
- VERBAND DER DEUTSCHEN FRUCHTSAFTINDUSTRIE (2022). Statistisches Bundesamt - Pro-Kopf-Konsum von Gemüsesaft und -nektar in Deutschland in den Jahren 2002 bis 2020 (in Liter; Zugriff am 22.02.2022). *Statista*.
- VINCKEN, J.P., YORK, W.S., BELDMAN, G. & VORAGEN, A.G. (1997). Two general branching patterns of xyloglucan, XXXG and XXGG. *Plant Physiology* 114: 9–13.
- VO (EG) 1924/2006. Verordnung (EG) Nr. 1924/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel, zuletzt geändert am 13.12.2014 (ABl. Nr. L 404, S. 9).
- VO (EU) 1169/2011. Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Oktober 2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel und zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1924/2006 und (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinie 87/250/EWG der Kommission, der Richtlinie 90/496/EWG des Rates, der Richtlinie 1999/10/EG der Kommission, der Richtlinie 2000/13/EG des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 2002/67/EG und 2008/5/EG der Kommission und der Verordnung (EG) Nr. 608/2004 der Kommission Text von Bedeutung für den EWR, zuletzt geändert am 22.11.2011 (ABl. Nr. L 304, S. 18–63).
- VO (EU) 2017/2158. Verordnung (EU) 2017/2158 der Kommission vom 20. November 2017 zur Festlegung von Minimierungsmaßnahmen und Richtwerten für die Senkung des Acrylamidgehalts in Lebensmitteln, zuletzt geändert am 21.11.2017 (ABl. Nr. L, 304 S. 24–44).
- VO (EU) 432/2012. Verordnung (EU) Nr. 432/2012 der Kommission vom 16. Mai 2012 zur Festlegung einer Liste zulässiger anderer gesundheitsbezogener Angaben über Lebensmittel als Angaben über die Reduzierung eines Krankheitsrisikos sowie die Entwicklung und die Gesundheit von Kindern, zuletzt geändert am 17.05.2021 (ABl. Nr. L, 136 S. 1–40).
- VOELKEL, R. (1988). Hochauflösende Festkörper- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie von Polymeren. *Angewandte Chemie* 100: 1525–1540.
- VORAGEN, A., SCHOLS, H.A. & PILNIK, W. (1986). Determination of the degree of methylation and acetylation of pectins by h.p.l.c. *Food Hydrocolloids* 1: 65–70.
- VORAGEN, A.G.J., COENEN, G.-J., VERHOEF, R.P. & SCHOLS, H.A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry* 20: 263–275.
- WANG, X., KRISTO, E. & LAPOINTE, G. (2019). The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. *Food Hydrocolloids* 91: 83–91.
- WEFERS, D. & BUNZEL, M. (2016a). Arabinan and galactan oligosaccharide profiling by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 4656–4664.
- WEFERS, D. & BUNZEL, M. (2016b). NMR spectroscopic profiling of arabinan and galactan structural elements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 9559–9568.

- WEFERS, D., FLÖRCHINGER, R. & BUNZEL, M. (2018). Detailed structural characterization of arabinans and galactans of 14 apple cultivars before and after cold storage. *Frontiers in Plant Science* 9: 1–12.
- WEFERS, D., GMEINER, B.M., TYL, C.E. & BUNZEL, M. (2015). Characterization of diferuloylated pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). *Phytochemistry* 116: 320–328.
- WEIDEL, E., SCHANTZ, M. & RICHLINGI, E. (2014). A rapid method for quantifying chlorogenic acid levels in potato samples. *Journal of AOAC International* 97: 902–907.
- WHITE, B.L., HOWARD, L.R. & PRIOR, R.L. (2010). Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 4037–4042.
- WIBOWO, S., GRAUWET, T., SANTIAGO, J.S., TOMIC, J., VERVOORT, L., HENDRICKX, M. & VAN LOEY, A. (2015). Quality changes of pasteurised orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. *Food Chemistry* 187: 140–151.
- WICKHOLM, K., LARSSON, P.T. & IVERSEN, T. (1998). Assignment of non-crystalline forms in cellulose I by CP/MAS <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Carbohydrate Research* 312: 123–129.
- WILLFÖR, S., PRANOVICH, A., TAMMINEN, T., PULS, J., LAINE, C., SUURNÄKKI, A., SAAKE, B., UOTILA, K., SIMOLIN, H., HEMMING, J. & HOLMBOM, B. (2009). Carbohydrate analysis of plant materials with uronic acid-containing polysaccharides – A comparison between different hydrolysis and subsequent chromatographic analytical techniques. *Industrial Crops and Products* 29: 571–580.
- WITTEK, P., ZEILER, N., KARBSTEIN, H.P. & EMIN, M.A. (2020). Analysis of the complex rheological properties of highly concentrated proteins with a closed cavity rheometer. *Applied Rheology* 30: 64–76.
- YILMAZ, Y. & TOLEDO, R. (2005). Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chemistry* 93: 273–278.
- ZECHMEISTER, L. & POLGÁR, A. (1943). *Cis-trans* isomerization and spectral characteristics of carotenoids and some related compounds. *Journal of the American Chemical Society* 65: 1522–1528.
- ZHANG, B., GAO, Y., ZHANG, L. & ZHOU, Y. (2021). The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions. *Journal of Integrative Plant Biology* 63: 251–272.
- ZYKWINSKA, A.W., RALET, M.-C.J., GARNIER, C.D. & THIBAUT, J.-F.J. (2005). Evidence for *in vitro* binding of pectin side chains to cellulose. *Plant Physiology* 139: 397–407.

## 7 CHEMIKALIEN UND INSTRUMENTE

## 7.1 CHEMIKALIEN

Chemikalie	Hersteller, Reinheit	GHS- Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
<b>Aceton</b>	VRW, HPLC Grade	02, 07	225, 319, 336	210, 240, 305+338, 403+233
<b>Acetonitril</b>	VWR, MS-Grade	02, 07	225, 302+312+332, 319	210, 240, 302+352, 305+351+338, 403+233
<b>Amberlite FPA53 (OH<sup>-</sup>)</b>	Megazyme	-	-	-
<b>Ambersep 200 (H<sup>+</sup>)</b>	Megazyme	-	-	-
<b>Armeisensäure</b>	Merck	02, 05, 06	226, 302, 331, 314	210, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
<b>Ammoniak</b>	Merck, 25 %	05, 07, 09	290, 314, 335, 410	273, 280,
<b>Ammoniumchlorid</b>	Carl Roth, ≥ 95 %	07	302, 319	305+351+338
<b>Äpfelsäure</b>	Carl Roth	07	319	264, 280, 305+351+338, 337+313
<b>L-Arabinose</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>Ascorbinsäure</b>	Fluka, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>Butylhydroxytoluol</b>	Sigma Aldrich	09	410	273
<b>Calciumchlorid Dihydrat</b>	Carl Roth, ≥ 99 % p.a.	07	319	305+351+338
<b>α-Carotin</b>	Chemos, > 95 %	-	-	-
<b>β-Carotin</b>	Carl Roth, > 97 %	-	-	-
<b>(+)-Catechin</b>	Sigma Aldrich	07	315, 319	264, 280, 302+353, 332, 313, 364, 305, 351+338, 337+313
<b>Celite 545</b>	Carl Roth	-	-	-
<b>Cellulose</b>	Carl Roth	-	-	-
<b>α-Chaconin</b>	Carl Roth	08	361fd,	202, 280, 308+313
<b>Chlorogensäure, 5-O-Caffeoyl- Chinasäure</b>	Phytolab	-	-	-
<b>Citronensäure</b>	Carl Roth	07	319, 335	264, 280, 305+351+338, 337+313
<b>Cyanidin-3-O-β-D- Galactopyranosid</b>	Polyphenols	-	-	-
<b>Deuteriumoxid</b>	Deutero, 99,9 %	-	-	-
<b>Dichlormethan</b>	VWR ≥ 99,5 %	07, 08	315, 319, 336, 351	201, 302+352, 351+338, 308+313
<b>Dimethylsulfoxid, DMSO</b>	Carl Roth, ≥ 99,8 %	-	-	-
<b>Dinatriumhydrogenphosphat</b>	Riedel de-Haën, ≥ 99 %	-	-	-

<b>Dinatriumtetraborat</b>	Carl Roth, ≥ 99 %	08	360FD	201, 308+331
<b>(-)-Epicatechin</b>	abcr, 97 %	07	315, 319, 335	261, 305+351+338
<b>Essigsäure, Eisessig</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99,8 %	02, 05	226, 314	210, 280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338
<b>Essigsäureanhydrid</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99 %	02, 05, 06	226, 302, 331, 314, 335	210, 260, 280, 303+361+353, 305+351+338, 312
<b>Ethanol</b>	VWR, 99,5 %	02, 07	225, 319	210, 240, 305+351+338, 403+233
<b>Ethylacetat</b>	Carl Roth	02, 07	225, 319, 336	210, 233, 240, 305+351+338, 403+235
<b>D-Fructose</b>	Sigma-Aldrich, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>L-Fucose</b>	Alfa Aesar, 99 %	-	-	-
<b>Furfural</b>	Sigma-Aldrich, 99 %	02, 06, 08	226, 301, 312, 330, 315, 319, 351, 335	210, 280, 302+352, 304+340, 305+351+338, 310
<b>D-Galactose</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>D-Galacturonsäure Monohydrat</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>D-Glucose</b>	Sigma-Aldrich, ≥ 99,5 %	-	-	-
<b>D-Glucuronsäure</b>	Sigma Aldrich, ≥ 98 %	-	-	-
<b>Glycerol</b>	Carl Roth, ≥ 99,5 %	-	-	-
<b>n-Hexan</b>	VWR, ≥ 95 %	02, 07, 08, 09	225, 304, 361f, 373, 315, 336, 411	210, 240, 273, 301+310, 331, 302+352, 403+235
<b>5-Hydroxymethylfurfural, HMF</b>	Sigma-Aldrich, 99 %	07	315, 319	302+352, 305+351,338
<b>Kaliumhexacyanoferrat(II)- Trihydrat</b>	Carl Roth, ≥ 99,0 %	-	415	372
<b>Lutein</b>	Applichem	-	-	-
<b>Maleinsäure</b>	Carl Roth, ≥ 99 %	05, 06	302+312, 314, 317, 335	260, 280, 301+312,330, 303+361+352, 305+351+338+310
<b>D-Mannit</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99 %	-	-	-
<b>D-Mannose</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99 %	-	-	-
<b>D-Maltose, Monohydrat</b>	Sigma-Aldrich, ≥ 99,0 %	-	-	-
<b>Maltotriose</b>	Alfa Aesar, 98 %	-	-	-
<b>Methanol</b>	VWR, HPLC Grade	02, 06, 08	225, 301+311+331, 370	210, 233, 280, 301+310, 303+361+353, 304+340+311



<b>Methanolische Salzsäure 1,25 M</b>	Sigma Aldrich	02, 05, 06, 08	225, 290, 331, 311, 301,0370	210, 233, 280, 302+352, 304+340, 308+310, 403+235
<b>5-Methylfurfural</b>	Sigma-Aldrich, 99 %	-	-	-
<b>1-Methylimidazol</b>	VWR ≥ 99 %	05,06	302, 311, 314	280, 301+312+330, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338
<b>Methyliodid</b>	VWR, ≥ 99 %	06, 08, 09	301+331, 312, 315, 319, 335, 351, 410	273, 303+352, 304+340, 305+351+338, 308+310
<b>Methyl-tert-butylether</b>	Sigma Aldrich	02, 07	225, 315	210, 233, 240, 241, 242, 303+361+353
<b>Natriumacetat</b>	Sigma-Aldrich, ≥ 99 %	-	-	-
<b>Natriumbordeuterid</b>	Sigma Aldrich ≥ 98 atom %	02, 05, 06	260, 301+311, 314	231+232, 260, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
<b>Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat</b>	VWR p.a.	-	-	-
<b>Natriumhydroxid</b>	Carl Roth, ≥ 99 %	05	290, 314	280, 301+330+331, 305+351+338, 308,310
<b>Natriumnitrat</b>	Merck, ≥ 99,5 %	03, 07	272, 319	220, 305+351+338
<b>Natriumtetraborat</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99 %	07, 08	319, 360FD	201, 308+313
<b>Natriumthiosulfat</b>	Carl Roth, ≥ 99 %	-	-	-
<b>3-Phenylpheol (<i>m</i>-Hydroxydiphenyl)</b>	Sigma Aldrich, 85 %	07	315, 319, 335	261, 305+351+338
<b>Phloretin</b>	Carl Roth	07	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+353, 304+340, 305+351+338, 312, 321, 362+364, 332+313, 403+233, 405, 501
<b>Phlorizin</b>	VWR	07	315, 319, 335	261, 35+351+338
<b>Phloroglucin</b>	Alfa Aesar, ≥ 98 %	7	315, 319, 335	302+352, 305+351+338
<b>Polygalacturonsäure</b>	Megazyme	-	-	-
<b>Quercetin-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-Arabinofuranosid</b>	Phytolab	-	-	-
<b>Quercetin-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-Galactopyranosid, Hyperosid</b>	Extrasnythese	07	302	264, 270, 301+317, 330, 501
<b>D-Raffinose-Pentahydrat</b>	Alfa Aesar, 99,0 %	-	-	-
<b>Rhamnogalacturonan I (Potato)</b>	Megazyme	-	-	-
<b>L-Rhamnose</b>	Sigma Aldrich, ≥ 99 %	-	-	-
<b>Saccharose</b>	Carl Roth, ≥ 99,5 %	-	-	-
<b>Salzsäure</b>	VWR 37 %	05, 07	290, 314, 335	280, 303+361+353, 305+351+338+310

<b>Schwefelsäure</b>	VWR, 95 %	05	290, 314	280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338+310
<b>Selenreaktionsgemisch</b>	Fluka	09	412	273, 501
<b><math>\alpha</math>-Solaniin</b>	Sigma Aldrich, $\geq 95,0$ %	07	302	-
<b>Trifluoressigsäure, TFA</b>	Sigma Aldrich, $\geq 99$ %	05, 06	290, 331, 314, 312	260, 273, 280, 303+361+353, 305+351+338, 312
<b>3-Trimethyl-silylpropionsäure- 2,2,3,3-<math>d_4</math> Natriumsalz, TSP</b>	Merck, 98 atom%	-	-	-
<b>Xylan from Beechwood</b>	Megazyme	-	-	-
<b>Xyloglucan (Tamarind)</b>	Megazyme $\sim 95$ %	-	-	-
<b>D-Xylose</b>	Sigma Aldrich, $\geq 99,9$ %	-	-	-
<b>Zinksulfat-Heptahydrat</b>	Sigma Aldrich, $\geq 97,0$ %	05, 07, 09	302, 318, 410	273, 280, 305+351+338, 313

GHS02



Entzündlich

GHS03



Brandfördernd

GHS05



Ätzend

GHS06



Giftig

GHS07

Gesundheits-  
schädlich

GHS08

Systemische  
Gesundheits-  
gefährdung

GHS09



Umweltgefährlich

## 7.2 PUFFER & REAGENZIEN

### $\alpha$ -Amylase-/Amyloglucosidase-Lösung

- 400 mg Pankreas  $\alpha$ -Amylase (Sigma Aldrich) und 47,2 mg Amyloglucosidase (Megazyme) in 5 mL Natriummaleatpuffer lösen und 5 min rühren

### Carrez-Lösung I

- 150 g  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  (Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat) in 1 L Wasser lösen

### Carrez-Lösung II

- 300 g  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (Zinksulfat-Heptahydrat) in 1 L Wasser lösen

### Driselase-Suspension (10 mg/mL), Carotinoidbestimmung

- 100 mg Driselase in 10 mL bidest. Wasser lösen

### Driselase-Suspension (3 mg/mL), Fermentierbarkeit

- 150 mg Driselase in 50 mL bidest. Wasser lösen

### Natriumacetatpuffer (200 mM, pH 7,5)

- 1,641 g Natriumacetat in 50 mL bidest. Wasser lösen
- 2 M Essigsäure zugeben bis pH 7,5
- Mit bidest. Wasser auf 100 mL auffüllen

**Natriummaleatpuffer (100 mM, pH 6,0)**

- 11,6 g Maleinsäure in 800 mL bidest. Wasser lösen
- 4 M Natriumhydroxidlösung zugeben bis pH 6,0
- 0,3 g Calciumchloriddihydrat zugeben und auf 1 L auffüllen

**Natriumphosphatpuffer (0,08 M, pH 6,0)**

- 12,4 g Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat in 1 L Wasser lösen
- 13,3 g Dinatriumhydrogenphosphat in 1 L Wasser lösen
- Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat-Lösung vorlegen und Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung zugeben bis pH 6,0

**3-Phenylphenol-Lösung**

- 0,5 % Natriumhydroxid-Lösung: 0,025 g Natriumhydroxid in 5 mL Wasser lösen
- 0,03 g 3-Phenylphenol in 20 mL 0,5 % Natriumhydroxidlösung lösen

**Phloroglucinpuffer**

- 100 mg Ascorbinsäure
- 500 mg Phloroglucin
- in 10 mL methanolischer Salzsäure lösen
- jeweils frisch ansetzen, lichtgeschützt

**7.3 ENZYME**

Enzym	Herkunft	Aktivität	Hersteller
<b><math>\alpha</math>-Amylase</b> , thermostabil (EC 3.2.11)	<i>Bacillus licheniformis</i>	3000 U/mL	Megazyme
<b><math>\alpha</math>-Amylase</b> , Termamyl 120 L thermostabil, (EC 3.2.1.1)	<i>Bacillus licheniformis</i>	$\geq 500$ U/mg Protein (Biuret)	Sigma Aldrich
<b>Amyloglucosidase</b> (EC 3.2.1.3)	<i>Aspergillus niger</i>	36000 U/g	Megazyme
<b>Amyloglucosidase</b> (EC 3.2.1.3)	<i>Aspergillus niger</i>	260 U/mL	Sigma Aldrich
<b>Driselase</b>	<i>Basidiomycetes ssp.</i>	-	Sigma Aldrich
<b>endo-Arabinanase</b> (EC 3.2.1.99)	<i>Aspergillus niger</i>	20 U/mg	Megazyme
<b>endo-Galactanase</b> (EC 3.2.1.89)	<i>Aspergillus niger</i>	180 U/mg	Megazyme
<b>Pankreas <math>\alpha</math>-Amylase</b> (EC 3.2.1.1)	Schweinepankreas	9 U/mg	Sigma Aldrich
<b>Protease</b> (EC 3.4.21.14)	<i>Bacillus licheniformis</i>	9 U/mg	Megazyme
<b>Protease</b> Alcalase 2.4 L (EC 3.4.21.62)	<i>Bacillus licheniformis</i>	2,4 U/g	Sigma Aldrich

## 7.4 INSTRUMENTE & GERÄTE

### **GC-FID**

Hersteller:	Shimadzu
Bezeichnung:	GC-2010 Plus
Autosampler:	AOC-20i Auto Injector
Detektor:	FID-2010 Plus

### **GC-MS**

Hersteller:	Shimadzu
Bezeichnung:	GC-2010 Plus
Autosampler:	AOC-20i Auto Injector
Detektor:	GC-MS QP 2010 SE bzw. Ultra

### **HPAEC-PAD**

Hersteller:	Thermo Scientific
Bezeichnung:	Dionex ICS-5000
Pumpe:	Dionex ICS-5000 DP
Autosampler:	Dionex AS-AP
Detektor:	ICS-5000 DC, 2 x Electrochemical Detector

### **HPAEC-PAD-MS**

Hersteller:	Thermo Scientific
Bezeichnung:	Dionex ICS-6000
Pumpe:	Dionex ICS-6000 SP, Dionex AXP, Dionex AXP-MS
Autosampler:	Dionex AS-AP
Detektor:	ICS-6000 DC, 2 x Electrochemical Detector ISQ EC Mass Spectrometer
Suppressor:	Dionex AERS 500 (4 mm)

### **HPLC-DAD (Carotinoidbestimmung)**

Hersteller:	Beckman
Bezeichnung:	Gold
Pumpe:	Gold 126 Solvent Module
Autosampler:	Gold 508 Autosampler

Detektor: Gold 168 Detector DAD

### **HPLC-DAD (Furfuralderivate)**

Hersteller: Shimadzu  
Bezeichnung: Prominence  
Pumpe: LC-20AT  
Autosampler: SIL-20AC  
Säulenofen: CTO-20AC  
Detektor: SPM20A

### **HPSEC-RI (Molekulargewichtsverteilung)**

Hersteller: Hitachi, Merck  
Bezeichnung: LaChrom  
*Interface:* D-7000  
Pumpe: L-7100  
Autosampler: L-7200  
Detektor: L-7490

### **HPSEC-RI (NLBS)**

Hersteller: Hitachi, Merck  
Bezeichnung: LaChrom  
*Interface:* D-7000  
Pumpe: L-7100  
Autosampler: L-7200  
Detektor: RI-Detektor, 2300, Knauer

### **LC-MS (Proanthocyanidine)**

Hersteller: Thermo Scientific  
Bezeichnung: Finnigan Surveyor  
Pumpe: MS Pump Plus  
Autosampler: MS Autosampler Plus  
Detektor: DAD, MS PDA Plus Detektor  
Massenspektrometer: LXQ Linear Ion Trap MS mit ESI-Ionenquelle

### **NMR-Spektrometer 400 MHz**

Hersteller: Bruker  
Gerätetyp: Avance Neo 400 WB, EBI-WCWT  
Feldstärke: 400 MHz  
Probenkopf: 2,5 mm-CP/MAS-Probenkopf

### **NMR-Spektrometer 500 MHz**

Hersteller: Bruker  
Gerätetyp: Ascend 500  
Feldstärke: 500 MHz  
Probenkopf: *Prodigy*, Kryoprobenkopf

### **Photometer**

Hersteller: Jasco  
Bezeichnung: V-550, UV/Vis-Spektrophotometer

### **UHPLC-MS (Glykoalkaloide)**

Hersteller: Shimadzu  
Bezeichnung: Nexera X2  
Pumpe: Nexera X2 LC-30AD  
Autosampler: Nexera X2 SIL-30AC  
Säulenofen: CTO-20AC  
Detektor: LCMS 2020 mit ESI-Ionenquelle

### **UHPLC-DAD (Polyphenole)**

Hersteller: Knauer  
Bezeichnung: PlatinBlue  
Pumpe 1: PlatinBlue P-1 (mit Mischkammer 350 µL)  
Pumpe 2: PlatinBlue P-1 (mit Degasser)  
Autosampler: PlatinBlue AS-1  
Detektor: PlatinBlue PDA-1

### **UHPLC-DAD (Proanthocyanidine)**

Hersteller: Shimadzu  
Bezeichnung: Nexera X2  
Pumpe: Nexera X2 LC-30AD

Autosampler: Nexera X2 SIL-30AC  
Säulenofen: CTO-20AC  
Detektor: Nexera X2 SPD-M30A

## 8 ARBEITSVORSCHRIFTEN

### 8.1 FREIE MONO- UND DISACCHARIDE

- Einwaage von 200 mg Probe (Mehl) in 15 mL Zentrifugenröhrchen
- Extraktionsschritt 4x durchführen:
  - Zugabe von 10 mL bidest. Wasser, schütteln, vortexen
  - Im Ultraschallbad für 10 min unter Eiskühlung behandeln (Temperatur <30 °C)
  - 30 sec vortexen
  - 5 min bei Raumtemperatur stehen lassen und anschließend mischen
  - Zentrifugieren (10 min, 4500 rpm)
  - Abnehmen des Überstands und in 50 mL Messkolben sammeln
- Vereinigte Extrakte mit bidest. Wasser auf 50 mL auffüllen
- Mischen und pH-Wert mit pH-Papier überprüfen
- 2 mL Extrakt durch PTFE-Spritzenfilter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren
- Aufreinigung durch Ethanol-Fällung:
  - 200 µL Extrakt mit 800 µL Ethanol (99,5 %) mischen und 10 min präzipitieren lassen
  - Zentrifugieren und Überstand in neues Eppi überführen
  - Überstand bis zur Trockenen im Evaporator eindampfen
  - Zugabe von 200 µL bidest. Wasser, anschließend vortexen
- Lösung 1|15 verdünnen
- 180 µL verdünnter Lösung mit 20 µL 200 µM L-Fucose-Lösung im HPAEC-Vial vermischen (Endkonzentration L-Fucose in Vial: 20 µM)
- Analysieren mittels HPAEC-PAD

#### **HPAEC-PAD-Bedingungen**

Säule: CarboPac PA20 (6 µm, 150 mm x 3,0 mm Thermo Scientific)

Fluss: 0,4 mL/min

Injektionsvolumen: 25 µL

Säulentemperatur: 25 °C

Detektion: gepulst amperometrisch (PAD) mittels AgCl-Elektrode



Kalibrierung: Glucose, Fructose, Saccharose, Maltose, 2 Fünf-Punkt-Kalibrierungen (1-25  $\mu\text{M}$  und 25-125  $\mu\text{M}$ ) mit quadratischer Anpassung

Gradientenprogramm: Vgl. Tabelle AV1

**Tabelle AV1:** Gradientenprogramme zur Analyse der freien Mono- und Disaccharide mittels Hochleistungsanionenaustauschchromatographie und gepulst amperometrischer Detektion. Eluent A: bidest. Wasser, Eluent B: 0,1 M Natriumhydroxid, Eluent C: 0,1 M Natriumhydroxid mit 0,2 M Natriumacetat

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]	Eluent C [%]
-20,0	0	100	0
-10,0	0	100	0
9,9	90	10	0
0,0	90	10	0
1,5	97	3	0
22,0	97	3	0
32,0	0	100	0
32,1	0	60	40
42,0	0	0	100

## 8.2 STÄRKEGEHALT

- Einwaage von 1 g Probe (Mehl) und Zugabe von 50 mL Natriumphosphatpuffer (0,08 M, pH 6,0)
- 15 min bei 60 °C im Wasserbad behandeln
- Zugabe von 1 mL thermostabiler  $\alpha$ -Amylase (Megazyme, 3000 U/mL)
- Inkubation für 15 min bei 92 °C im Wasserbad, alle 5 min schwenken
- Abkühlen der Probe auf Raumtemperatur (auf Eis stellen)
- Mit 0,325 M Salzsäure pH-Wert auf 4,5 einstellen
- Zugabe einer Amyloglucosidase-Lösung (10 mg/100  $\mu\text{L}$ ; Megazyme, 36000 U/g)
- Inkubation für 20 min bei 60 °C unter kontinuierlichem Rühren
- Abkühlen der Lösung und auf 100 mL auffüllen
- 4 mL Aliquot entnehmen und nacheinander 1 mL Carrez-Lösung I und 1 mL Carrez-Lösung II dazugeben und schütteln
- Mit einer Natriumhydroxid-Lösung pH-Wert auf 7,5-8,0 einstellen
- Zentrifugieren (5 min)
- Überstand abnehmen, Rückstand mit bidest. Wasser waschen und erneut zentrifugieren
- Überstände vereinigen und auf 10 mL auffüllen
- Lösung ggf. verdünnen

- 180 µL verdünnter Lösung mit 20 µL 200 µM L-Fucose-Lösung im HPAEC-Vial vermischen (Endkonzentration L-Fucose in Vial: 20 µM)
- Analysieren mittels HPAEC-PAD

### HPAEC-PAD-Bedingungen

Säule:	CarboPac PA20 (6 µm, 150 mm x 3,0 mm Thermo Scientific)
Fluss:	0,4 mL/min
Injektionsvolumen:	25 µL
Säulentemperatur:	25 °C
Detektion:	gepulst amperometrisch (PAD) mittels AgCl-Elektrode
Kalibrierung:	Glucose, 2 Fünf-Punkt-Kalibrierungen (1-25 µM und 25-125 µM) mit quadratischer Anpassung
Gradientenprogramm:	Vgl. Tabelle AV1, Abschnitt 8.1

## 8.3 QUANTITATIVE BALLASTSTOFFBESTIMMUNG

- Tiegel mit Celite befüllen (Boden ca. bedeckt)
- Im Muffelofen bei 500 °C ausglühen
- Tiegel konstant wiegen
- Einwaage von 1 g Probe und Zugabe von 50 mL Natriumphosphatpuffer (0,08 M pH 6,0) in 250 mL Schottflasche
- Zugabe von 0,1 mL thermostabiler  $\alpha$ -Amylase (Megazyme, 3000 U/mL)
- Inkubation für 30 min bei 92 °C im Wasserbad, alle 5 min schwenken
- Abkühlen der Probe auf Raumtemperatur (auf Eis stellen)
- Mit 0,171 M Natriumhydroxid-Lösung pH-Wert auf 7,5 einstellen
- Zugabe von 100 µL Protease-Lösung (50 mg/mL; Megazyme, 9 U/mg)
- Inkubation für 30 min bei 60 °C im Wasserbad unter kontinuierlichem Rühren
- Abkühlen der Probe auf Raumtemperatur (auf Eis stellen)
- Mit 0,325 M Salzsäure auf pH 4,5 einstellen
- Zugabe von 5 mL Amyloglucosidase-Lösung (47,2 mg/5 mL; Megazymes, 36000 U/g)
- Inkubation für 30 min bei 60 °C im Wasserbad unter kontinuierlichem Rühren
- 1 mL interne Standardsubstanz (100 mg/mL Glycerin-Lösung) zugeben
- Lösung über zuvor gewogenen Tiegelfilter mit Celite abfiltrieren
- 2x mit je 25 mL, 1x mit 10 mL Wasser (60 °C) waschen die Filtrate vereinigen, aufbewahren
- Rückstand 2x mit je 25 mL Ethanol (99,5 %) und 2x mit je 25 mL Aceton waschen

- Rückstand im Tiegel über Nacht bei 105 °C trocknen und auswiegen, enthält UBS
- Vereinigte wässrige Filtrate mit vierfacher Menge Ethanol (99,5 %) versetzen
- Über Nacht stehen lassen zur Präzipitatbildung
- Lösung über zuvor gewogenen Tiegelfilter mit Celite abfiltrieren
- 2x mit je 25 mL, 1x mit 10 mL Ethanol (78 %) waschen die Filtrate vereinigen, aufbewahren
- Rückstand 2x mit je 25 mL Ethanol (99,5 %) und 2x mit je 25 mL Aceton waschen
- Rückstand im Tiegel über Nacht bei 105 °C trocknen und auswiegen, enthält LBS
- Das erhaltene Filtrat bei 50 °C am Rotationsverdampfer fast bis zur Trockene eindampfen
- Rückstand in etwas Wasser aufnehmen und in 20 mL Messkolben quantitativ überführen
- 4 mL Probe zum Entsalzen auf eine Säule mit Amberlite/Ambersep geben (je 4 g, vor Benutzung mit bidest. Wasser waschen)
- 15 min stehen lassen
- Mit 40 mL Wasser eluieren
- Eluat bei 50 °C am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eindampfen
- Rückstand in 2 mL Wasser aufnehmen
- Lösung (2 mL) durch PTFE-Spritzenfilter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren
- 50 µL in HPSEC-RI injizieren

### HPSEC-RI Bedingungen

Säule:	TSKgel G2500PWxl (7 µm, 300 mm x 7,8 mm, 2 in Serie, Tosoh)
Fluss:	0,4 mL/min
Injektionsvolumen:	50 µL
Säulentemperatur:	80 °C
Detektion:	RI
Kalibrierung:	Glucose, Vier-Punkt-Kalibrierung (1-20 mg/mL) mit linearer Anpassung und Glycerol als interne Standardsubstanz (Endkonzentration 10 mg/mL)
Gradientenprogramm:	Isokratisch
	Eluent: bidest. Wasser

### Restproteinkorrektur

- Getrocknete und gewogene Tiegel mit UBS und LBS leeren und in Kjeldahl-Aufschlusskolben überführen und wenige Glasperlen zugeben
- 500 mg Selenreaktionsgemisch und 5 mL konzentrierte Schwefelsäure zugeben

- Aufschluss der Probe für 1 h auf einem Heizblock, erhitzen bis zur Entfärbung
- Lösung abkühlen lassen
- 10 mL bidest. Wasser zugeben
- Lösung ohne Glasperlen in 50 mL Messkolben quantitativ überführen und auf 50 mL mit bidest. Wasser auffüllen
- 1 mL der Lösung auf 50 mL mit bidest. Wasser auffüllen
- 50 mL Aliquot in Becherglas überführen und 3 mL 2 M Natriumhydroxid-Lösung zugeben
- Schwenken und 2 min warten
- Ammoniak-sensitive Elektrode unter Rühren eintauchen und messen

Kalibrierung: Ammoniumchlorid-Stammlösung (1000 mg N/L), Drei Punkt  
Kalibrierung (0,1-10 mg/L)

#### **Aschekorrektur**

- Getrocknete und gewogene Tiegel mit UBS und LBS für 5 h bei 500 °C veraschen
- Auswiegen der Tiegel

## **8.4 PRÄPARATIVE BALLASTSTOFFISOLIERUNG**

- Einwaage von 15 g Probe (Mehl) und Zugabe von 200 mL Natriumphosphatpuffer (0,08 M, pH 6,0)
- Zugabe von 1,5 mL thermostabiler  $\alpha$ -Amylase (Termamyl 120 L, Sigma Aldrich,  $\geq 500$  U/mg Protein (Biuret))
- Inkubation für 20 min bei 92 °C im Wasserbad, alle 5 min schwenken
- Abkühlen der Probe auf Raumtemperatur (auf Eis stellen)
- Mit 0,275 M Natriumhydroxid-Lösung pH-Wert auf 7,5 einstellen
- Zugabe von 700  $\mu$ L Protease-Lösung (Alcalase 2.4 L, Sigma Aldrich, 2,4 U/g)
- Inkubation für 30 min bei 60 °C im Wasserbad unter kontinuierlichem Rühren
- Abkühlen der Probe auf Raumtemperatur (auf Eis stellen)
- Mit 0,325 M Salzsäure auf pH 4,5 einstellen
- Zugabe von 700  $\mu$ L Amyloglucosidase (Sigma Aldrich,  $\geq 260$  U/mL)
- Inkubation für 30 min bei 60 °C im Wasserbad unter kontinuierlichem Rühren
- Zentrifugieren der warmen Lösung für 15 min bei 5000 rpm, Überstand aufbewahren

- Waschen des Rückstands mit 2x 100 mL und 1x 50 mL 60 °C warmem Wasser, Zentrifugieren nach jedem Waschschrift, Überstände aufbewahren und mit vorherigen vereinigen
- Waschen des Rückstands mit 1x 100 mL und 1x 50 mL Ethanol (99,5 %), Zentrifugation nach jedem Waschschrift, Überstände verwerfen
- Waschen des Rückstands mit 1x 100 mL und 1x 50 mL Aceton, Zentrifugation nach jedem Waschschrift, Überstände verwerfen
- Trocknen des Rückstands bei 60 °C über Nacht, enthält UBS
- Aufbewahrte Überstände durch Zugabe der vierfachen Menge Ethanol (99,5 %) ausfällen, Präzipitatbildung über Nacht
- Überstände abgießen und ggf. zentrifugieren (5000 rpm)
- Waschen des Rückstands mit 1x 100 mL und 1x 50 mL Ethanol (78 %), Zentrifugation nach jedem Waschschrift, Überstände verwerfen
- Waschen des Rückstands mit 1x 100 mL und 1x 50 mL Ethanol (99,5 %), Zentrifugation nach jedem Waschschrift, Überstände verwerfen
- Waschen des Rückstands mit 1x 100 mL und 1x 50 mL Aceton, Zentrifugation nach jedem Waschschrift, Überstände verwerfen
- Trocknen des Rückstands bei 60 °C über Nacht, enthält LBS

NLBS werden präparativ aus der quantitativen Ballaststoffbestimmung gewonnen (siehe Abschnitt 8.3). Hierzu wird das Elutionsfenster der NLBS genutzt und mind. zwei Injektionen pro Probe aufgefangen. Das erhaltene Eluat wird bis zur Trockene eingedampft und in 1 mL bidest. Wasser aufgenommen.

## 8.5 MONOSACCHARIDZUSAMMENSETZUNG

### **Schwefelsäurehydrolyse**

- 10 mg UBS in ein 3,5 mL GC-Vial einwiegen und mit Glasperlen versetzen
- 150 µL 12 M Schwefelsäure zugeben und vortexen
- 30 min im Eisbad stehen lassen, alle 10 min vortexen (Probenmaterial gut benetzen)
- 2 h bei Raumtemperatur stehen lassen, alle 30 min vortexen
- Mit 975 µL Wasser verdünnen
- 3 h bei 100 °C im Trockenschrank hydrolysieren

- Abkühlen, alles mit Spritze abnehmen und durch PTFE Spritzenfilter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren
- 100 µL Filtrat mit 75 µL 4 M Natriumhydroxidlösung und 825 µL Wasser versetzen
- 20 µL mit 20 µL 1 mM D-Mannit Lösung versetzen und 160 µL bidest. Wasser hinzufügen
- Lösung 1:2 verdünnen und mittels HPAEC-PAD analysieren

### **Methanolyse**

- 10 mg LBS in ein 3,5 mL GC Vial einwiegen
- 2 mL 1,25 M methanolische Salzsäure hinzufügen
- Mit geschlossenen Deckeln verschließen und bei 80 °C 16 h im Trockenschrank behandeln
- Abkühlen, grobe Teilchen absetzen lassen und 40 µL in ein kleines GC Vial pipettieren
- Im Evaporator zur Trockene eindampfen
- 500 µL 2 M TFA-Lösung hinzufügen
- Verschließen und bei 121°C 1 h im Trockenschrank behandeln
- Im Evaporator zur Trockene eindampfen
- Zweimal je 200 µL Ethanol hinzufügen und zur Trockene eindampfen
- In 180 µL bidest. Wasser aufnehmen und 20 µL 1 mM D-Mannit hinzufügen
- Lösung 1:5 verdünnen und mittels HPAEC-PAD analysieren

### **TFA-Hydrolyse**

- 20 µL NLBS in ein GC Vial pipettieren und im Evaporator zur Trockene eindampfen
- 500 µL 2 M TFA Lösung hinzufügen
- Verschließen (weißer Lochdeckel + Dichtscheibe) und bei 121 °C 1 h im Trockenschrank behandeln.
- Im Evaporator zur Trockene eindampfen
- Zweimal mit je 200 µL Ethanol hinzufügen und zur Trockene eindampfen
- In 180 µL bidest. Wasser aufnehmen, 20 µL D-Mannit hinzufügen und mittels HPAEC-PAD analysieren

### **HPAEC-PAD-Bedingungen**

Säule:	CarboPac PA20 (6 µm, 150 mm x 3,0 mm Thermo Scientific)
Fluss:	0,4 mL/min
Injektionsvolumen:	25 µL
Säulentemperatur:	25 °C
Detektion:	gepulst amperometrisch (PAD) mittels AgCl-Elektrode

Kalibrierung: Fucose, Rhamnose, Arabinose, Galactose, Glucose, Xylose, Mannose, Glucuronsäure, Galacturonsäure, 2 Fünf-Punkt-Kalibrierungen (1-25  $\mu\text{M}$  und 25-125  $\mu\text{M}$ ) mit quadratischer Anpassung

Gradientenprogramm: Vgl. Tabelle AV1, Abschnitt 8.1

## 8.6 METHYLIERUNGSANALYSE

### Schritt 1 (doppelt durchführen)

- Ca. 5 mg homogenes Probenmaterial in ein Pyrexglas einwiegen und in 2 mL DMSO lösen
- 15 min im Ultraschallbad behandeln, über Nacht quellen lassen und erneut 15 min im Ultraschallbad behandeln
- 100 mg frisch unter Stickstoff gemörsertes Natriumhydroxid zugeben
- 90 min im Ultraschallbad (ggf. Eiswürfel zugeben) und 90 min bei Raumtemperatur reagieren lassen
- 1 mL Methyljodid zugeben und 30 min im Ultraschallbad und 30 min bei Raumtemperatur inkubieren
- 3 mL Dichlormethan zugeben und 5 mL 0,1 M Natriumthiosulfat-Lösung zugeben, gut mischen
- Wässrige Phase (oben) abnehmen und organische Phase zweimal mit bidest Wasser waschen.
- Lösungsmittel (größtenteils) abrotieren, kleinen Rest mittels Stickstoff komplett trocknen
- Über Nacht bei 40 °C im Vakuumtrockenschrank trocknen

### Schritt 2

- 2 mL 2 M TFA zugeben und 90 min bei 121 °C im Trockenschrank hydrolysieren
- Lösungsmittel größtenteils abrotieren, kleinen Rest unter Stickstoff abblasen
- 20 mg Natriumbor-deuterid in 0,3 mL 2 M Ammoniak-Lösung und hinzugeben
- 1 h bei Raumtemperatur stehen lassen
- Zum Abbruch der Reaktion 100  $\mu\text{L}$  Essigsäure zugeben
- Unter Eiskühlung 450  $\mu\text{L}$  1-Methylimidazol und 3 mL Essigsäureanhydrid zugeben und 30 min bei Raumtemperatur stehen lassen
- Unter Eiskühlung 3 mL bidest. Wasser zugeben
- Abkühlen und mit 5 mL Dichlormethan extrahieren, gut mischen

- Organische Phase dreimal mit bidest. Wasser waschen, gut mischen
- Restwasser im Gefrierschrank (-18 °C) über Nacht ausfrieren
- Organische Phase in anderes Gefäß (z.B. 3,5 mL Vial) überführen
- Mittels GC-MS und GC-FID analysieren

### **GC-MS und GC-FID Bedingungen**

Säule:	DB-225MS
Injektionsvolumen:	5 µL
Injektionstemperatur:	220 °C
Injektionsart:	Split 30:1 bzw. 10:1
Trägergas:	Helium
Trägergasgeschwindigkeit:	40 cm/s
Detektion:	MS: Elektronenstoß (EI) mit 70 eV, Transferline-Temperatur 220 °C FID: Temperatur 240 °C
Temperaturprogramm:	140 °C 1 min, 20 °C/min bis 220 °C 4 min, halten für 25 min

## **8.7 ARABINAN- UND GALACTAN-PROFILING**

### **UBS**

- 5 mg UBS in ein Eppendorf Reaktionsgefäß einwiegen
- 500 µL bidest. Wasser hinzufügen, vortexen
- 5 µL einer *endo*-Arabinanase-Lösung (Megazymes, 20 U/mg) bzw. einer 100 U/mL *endo*-Galactanase-Lösung (Megazymes, 180 U/mg) zugeben (getrennte Ansätze für Arabinan bzw. Galactan-Profiling)
- Gut mischen (nicht vortexen)
- Inkubation für 24 h bei 40 °C im Eppischüttler
- Enzyme 5 min bei 95 °C inaktiveren
- Zentrifugieren für 5-10 min bei 20800 g
- Überstand in ein anderes Eppendorf Reaktionsgefäß überführen, Rückstand ggf. verwerfen
- 105 µL bidest. Wasser vorlegen, 30 µL Überstand und 15 µL 100 µM Raffinose Lösung zugeben
- 100 µL mittels HPAEC analysieren



**LBS**

- Lösung der LBS herstellen (1 mg/mL)
- 200 µL der Lösung in ein Eppendorf Reaktionsgefäß pipettieren
- 2 µL einer *endo*-Arabinanase-Lösung (Megazymes, 20 U/mg) bzw. einer 100 U/mL *endo*-Galactanase-Lösung (Megazymes, 180 U/mg) zugeben (getrennte Ansätze für Arabinan bzw. Galatan-Profilings)
- Gut mischen (nicht vortexen)
- Inkubation für 24 h bei 40 °C im Eppischüttler
- Enzyme 5 min bei 95 °C inaktivieren
- 120 µL bidest. Wasser vorlegen, 15 µL Überstand und 15 µL 100 µM Raffinose Lösung zugeben
- 100 µL mittels HPAEC analysieren

**HPAEC-PAD-Bedingungen**

Säule:	CarboPac PA200 (6 µm, 250 mm x 3,0 mm Thermo Scientific)
Fluss:	0,4 mL/min
Injektionsvolumen:	25 µL
Säulentemperatur:	25 °C
Detektion:	gepulst amperometrisch (PAD) mittels AgCl-Elektrode
Gradientenprogramm:	Vgl. Tabelle AV2

**Tabelle AV2:** Gradientenprogramme zur Analyse durch *endo*-Arabinanase und *endo*-Galactanase freigesetzten Arabinan- und Galactanoligosaccharide mittels Hochleistungs-anionenaustauschchromatographie und gepulst amperometrischer Detektion. Eluent A: bidest. Wasser, Eluent B: 0,1 M Natriumhydroxid, Eluent C: 0,1 M Natriumhydroxid mit 0,2 M Natriumacetat

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]	Eluent C [%]	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]	Eluent C [%]
<b>Arabinan-Profilings</b>				<b>Galactan-Profilings</b>			
-30,0	0	0	100	-30,0	0	0	100
-20,0	0	0	100	-20,0	0	0	100
-19,9	90	10	0	-19,9	90	10	0
0,1	90	10	0	0,1	90	10	0
10,0	50	50	0	10,0	90	10	0
60,0	50	30	20	20,0	50	50	0
75,0	0	40	60	60,0	50	40	10
75,1	0	0	100	75,0	0	50	50
90,0	0	0	100	80,0	0	0	100
				90,0	0	0	100

## 8.8 BESTIMMUNG DES VERESTERUNGSGRADS DER POLYMERGEBUNDENEN GALACTURONSÄURE

### Galacturonsäurebestimmung

#### Tag 1: Vorhydrolyse

- 10-15 mg Probe in ein Vial (3,5 mL) einwiegen und mit 4-5 Glasperlen versetzen
- Auf Eis: Zugabe von 400 µL Schwefelsäure (12 M), verschließen (geschlossener Deckel mit Septum)
- Inkubation für 15 min im Eisbad
- Inkubation für 2 h bei Raumtemperatur unter ständigem schütteln (Eppischüttler)
- Zugabe von 2600 µL Wasser, 10 min unter ständigem schütteln (Eppischüttler) behandeln
- Lösung vollständig mit Spritze aufnehmen und durch PTFE-Spritzenfilter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren
- Filtrat verdünnen
- Über Nacht in Kühlschrank lagern

#### Tag 2: Photometrische Bestimmung

Für jede Probe muss ein eigener Blindwert angesetzt werden.

- Je 400 µL der verdünnten Probe in je ein 15 mL Pyrexgläser geben
- Rack in Eisbad stellen, 2 min abkühlen lassen
- Zugabe von 2,4 mL schwefelsaure Natriumtetraboratlösung (12,5 mM; in konz. Schwefelsäure (18 M)) zugeben, umgehend vortexen und direkt zurück ins Eisbad stellen, auf eine einheitliche Kühlung der Proben achten
- Rack aus dem Eisbad herausnehmen, überschüssiges Eis entfernen und 5 min bei Raumtemperatur stehen lassen
- Inkubation für 5 min bei 95 °C im Wasserbad (auf Füllstand im Wasserbad achten, Proben sollten vollständig im Wasser eingetaucht sein), unverzüglich die Proben für 5 min in ein Eisbad stellen
- 5 min bei RT stehen lassen

#### Färbungsreaktion

- Die Proben werden mit 40 µL 3-Phenylphenollösung (0,15 % in 0,5 % Natriumhydroxid) angefärbt, die Blindwerte mit 40 µL 0,5 % Natriumhydroxid versetzt, umgehend vortexen (5 s)

- Extinktion nach 20 min bei 520 nm messen

### Photometrische Bedingungen

Wellenlänge: 520 nm

Kalibrierung: Galacturonsäure-Monohydrat, 6 Punkt Kalibrierung  
(c Galacturonsäure: 10-85 mg/mL), lineare Anpassung

Berechnung:  $c(\text{GalA}) \left[ \frac{\text{g}}{100 \text{ g}} \right] = \frac{c(\text{GalA} \times \text{H}_2\text{O}) \times M(\text{GalA}) \times \text{VF} \times V}{M(\text{GalA} \times \text{H}_2\text{O}) \times \text{EW} \times 10}$

VF: Verdünnungsfaktor, EW: Einwaage in g; V: Volumen der Probelösung, M: Molekulargewicht

### <sup>1</sup>H-NMR – Acetylierungs und Methylierungsgrad

- Einwaage von 15 mg Probenmaterial in ein Eppendorf Reaktionsgefäß
- Zugabe von 1 mL 2 M Natriumhydroxidlösung (in Deuteriumoxid) sowie 0,1 mL einer 0,2 mg/mL TSP-Lösung (in Deuteriumoxid) als interne Standardsubstanz
- Hydrolyse für 2 h im Ultraschallbad, ggf. Eis hinzufügen
- Zentrifugieren (8000 g, 5 min)
- Überstand durch einen PTFE-Spritzenfilter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren und Rückstand verwerfen
- Analyse der Probe mittels <sup>1</sup>H-NMR

### <sup>1</sup>H-NMR-Bedingungen:

Spektrometer: 500 MHz, Bruker

Pulssequenz: zg30 (90° Puls)

Internes Referenzsignal: Natriumsalz der 3-Trimethylsilylpropionsäure-2,2,3,3-*d*<sub>4</sub> (TSP),  
0 ppm

Lösungsmittel: Deuteriumoxid

Datenpunkte: 65536

Spektraler Bereich: 10000 Hz

Scanzahl: 32

Aquisitionzeit: 3,28 s

*Relaxation Delay*: 35,0 s

Prozessierung der Spektren: Basislinien- und Phasenkorrektur, Erhöhung der Datenpunkte um Faktor 2 (*zero filling*), Anwendung einer Lorentz-Funktion (EM, 0,3 Hz, *window function*)

Signale: Essigsäure (1,93 ppm), Methanol (3,33 ppm)

Berechnung: 
$$c(X) \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{mg}} \right] = \frac{A_X \times M_X \times m_{\text{TSP}} \times N_{\text{TSP}}}{A_{\text{TSP}} \times M_{\text{TSP}} \times N_X \times M_X \times \text{EW}}$$

X: Analyt (Essigsäure o. Methanol), N: Anzahl Protonen, A: Integral,  
M: Molekulargewicht, m: Masse, TSP: Natriumsalz der  
3-Trimethylsilylpropionsäure-2,2,3,3-d<sub>4</sub>

## 8.9 MOLEKULARGEWICHTSVERTEILUNG DER LÖSLICHEN BALLASTSTOFFE

- Einwaage von 20 mg Probe (Mehl) und Zugabe von 20 mL Natriumnitrat-Lösung (50 mM)
- 360° drehende Inkubation für 24 h bei 40 °C
- Zentrifugation
- 50 µL in HPSEC-RI injizieren

### HPSEC-RI Bedingungen

Säulen:	TSKgel PWxl (12 µm, 40 mm x 6,0 mm, Vorsäule) + TSKgel G6000PWxl (13 µm, 300 mm x 7,8 mm) und TSKgel G4000PWxl (10 µm, 300 mm x 7,8 mm)
Fluss:	0,5 mL/min
Injektionsvolumen:	50 µL
Säulentemperatur:	50 °C
Detektion:	RI
Molekulargewichtseinschätzung:	Standardsubstanzen Dextrane (5 kDa, 12 kDa, 50 kDa, 150 kDa, 670 kDa)
Gradientenprogramm:	Isokratisch Eluent: Natriumnitrat (50 mM)

## 8.10 BESTIMMUNG DER CELLULOSEKRISTALLINITÄT

### Probenvorbereitung

- Einwaage von 400 mg Probenmaterial in ein großes Pyrexglas
- Zugaben von 2 mL 1 % Schwefelsäure (v/v)
- Behandlung für 1 h bei 120 °C im Trockenschrank
- Abkühlen lassen und anschließend zentrifugieren (5 min)
- Überstand abnehmen und verwerfen

- Zum Rückstand 2 mL 4 % Natriumhydroxid-Lösung (*w/v*) geben
- Behandlung für 1 h bei 120 °C im Trockenschrank
- Abkühlen lassen, Pyrexglas mit Wasser auffüllen und anschließend zentrifugieren
- Überstand verwerfen und Wasserzugabe und Zentrifugation solange wiederholen bis Überstand neutral ist (mit pH-Papier überprüfen)
- Rückstand gefriertrocknen und ggf. im Mörser homogenisieren
- Rückstand mittels  $^{13}\text{C}$  CP/MAS Festkörper-NMR Spektroskopie messen

### $^{13}\text{C}$ CP/MAS Festkörper-NMR Bedingungen

Spektrometer: 400 MHz, Bruker

	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
Pulssequenz:	onpulse	CP
Datenpunkte:	16000	1800
Spektrale Breite:	499,7695 ppm	552,0813 ppm
Scananzahl:	8	512
Akquisitionszeit:	40,96 ms	16,2 ms
<i>Relaxation Delay</i>	5,0 s	10,0 s

Rotorfrequenz: 8 kHz

CP-Parameter:

*Contact time:* 1 ms

*Power level 1:* 80 W

Prozessierung der  $^{13}\text{C}$ -Spektren: Basislinienkorrektur, 2048 Datenpunkte (*zero filling*), Anwendung einer Exponential-Funktion (EM, 100 Hz, *window function*)

Signale: C4-Atom kristallin (91 ppm), C4-Atom amorph (85 ppm)

## 8.11 BESTIMMUNG DER (POLY)PHENOLGEHALTE

- Einwaage von 0,5 g Probe in lichtgeschütztes 15 mL Zentrifugenröhrchen
- Direkt nach der Einwaage: 3,75 mL Methanol + 5 % Ameisensäure zugeben und gut mischen
- 15 min im Ultraschallbad bei 30 °C behandeln
- 30 sec vortexen
- Zentrifugieren (4000 rpm, 10 min)

- Vor der Messung: 750 µL bei 45 °C für max. 4 h eindampfen
- In 100 µL Wasser/Acetonitril (97|3) + 2 % Ameisensäure aufnehmen
- Mittels UHPLC-DAD bestimmen

**UHPLC-DAD Bedingungen**

Säule:	Kinetex C18(2) (2,6 µm, 150 mm x 4,6 mm, 100 Å Phenomenex)
Fluss:	1,0 mL/min
Injektionsvolumen:	10 µL
Säulentemperatur:	40 °C
Detektion:	DAD (UV-vis-Spektrum); 280 nm: (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, Phlorizin, Phloretin, 320 nm: Chlorogensäure, 350 nm: Quercetin-3- <i>O</i> -Galactosid, Quercetin-3- <i>O</i> -Arabinosid, 510 nm: Cyanidin-3- <i>O</i> -Galactosid
Kalibrierung:	<p>Apfelmatrix: D-Glucose (2,02 g), D-Fructose (5,73 g), Saccharose (2,51 g), Xylan (0,70 g), Cellulose, (0,61 g), Polygalacturonsäure (0,81 g), Rhamnogalacturonan (0,11 g), Äpfelsäure (0,44 g), Citronensäure (0,04 g)</p> <p>Stammlösung: Je 5 mg in 5 mL Methanol lösen: (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, Phlorizin, Phloretin, Chlorogensäure, Quercetin-3-<i>O</i>-Galactosid, Quercetin-3-<i>O</i>-Arabinosid, Cyanidin-3-<i>O</i>-Galactosid</p> <p>7 Punkt Kalibrierung (5-90 µg/Ansatz), Entsprechende Menge Stammlösung in 15 mL braunes Zentrifugenröhrchen geben und Lösungsmittel unter Stickstoff abdampfen, ca. 150 mg Apfelmatrix zugeben und wie Probe aufarbeiten,</p> <p>Kalibrierung für Kartoffelproben ohne Matrix aufarbeiten</p> <p>lineare Anpassung</p>
Gradientenprogramm:	Vgl. Tabelle AV3

**Tabelle AV3:** Gradientenprogramm zur Analyse der niedermolekularen (Poly)Phenole aus Apfeltrestern und Kartoffelpülpe mittels Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie und Diodenarraydetektor. Eluent A: bidest. Wasser + 2 % Ameisensäure, Eluent B: Acetonitril + 2 % Ameisensäure

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0	97	3
5	97	3
25	92	8
45	74	26
52	40	60
54	0	100
59	0	100
61	97	3
68	97	3

## 8.12 GLYKOALKALOIDBESTIMMUNG

- Einwaage von 37 mg Probenmaterial und Zugaben von 1 mL 5 % Essigsäure
- Vortexen
- Inkubation für 15 min bei Raumtemperatur im Eppischüttler und anschließend 5 min Zentrifugieren
- Überstand abnehmen, aufbewahren und zum Rückstand 1 mL 5 % Essigsäure zugeben und Extraktionsschritt insgesamt noch drei Mal wiederholen
- Überstände mit 5 % Essigsäure auf 5 mL auffüllen
- 2 mL entnehmen und durch PTFE-Filter (45 µm, Ø 25 mm) filtrieren
- Analyse mittels UHPLC-MS

### UHPLC-MS Bedingungen

Säule: Luna Omega Polar C18 (1,6 µm, 150 mm x 2,1 mm, Phenomenex)

Säulentemperatur: 40 °C

Fluss: 0,5 mL/min

Injektionsvolumen: 5 µL

Detektion: MS, ESI (+)

MS-Bedingungen: SIM-Modus 4,5 kV

Ausgewählte  $m/z$ -Verhältnisse der MS-Detektion  $[M-H]^+$ :

$\alpha$ -Solanin 864,4

$\alpha$ -Chaconin 852,4

*Interface* Temperatur: 350 °C

*Desolvation Line* Temperatur: 300 °C

*Nebulizing Gas Flow.* 1,5 L/min

*Heat Block.* 250 °C

*Drying Gas Flow.* 20 L/min

Gradientenprogramm: Vgl. Tabelle AV4

Kalibrierung:  $\alpha$ -Solanin,  $\alpha$ -Chaconin, 5 Punkt Kalibrierung (250-850 ng/mL),  
lineare Anpassung

**Tabelle AV4:** Gradientenprogramme zur Analyse von Glykoalkaloiden mittels Ultra-hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion. Eluent A: Wasser + 0,1 % Ameisensäure, Eluent B: Acetonitril + 0,1 % Ameisensäure

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0,1	74	26
7,0	74	26
8,0	72	28
9,0	10	90
12,0	10	90
13,0	74	26
15,0	74	26

## 8.13 BESTIMMUNG DER CAROTINOIDGEHALTE

- Einwaage von 200 mg Probe in ein lichtgeschütztes 15 mL Zentrifugenröhrchen
- 1 mL Driselasesuspension (10 mg/mL) und 1 mL bidest. Wasser zugeben
- Kopfraum mit Stickstoff begasen und mit Deckel fest verschließen
- Vorsichtig schwenken und 360° drehende Inkubation über Nacht
- 7 mL Ethylacetat zugeben und 45 s vortexen
- Inkubation für 1 h bei Raumtemperatur im Dunkeln und anschließend 45 s vortexen
- Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln und anschließend zentrifugieren (10 min, 4000 rpm)
- Überstand abnehmen und in einen 10 mL lichtgeschützten Messkolben überführen
- 3 mL Ethylacetat zum Rückstand geben und 30 s vortexen
- Inkubation für 1 h bei Raumtemperatur im Dunkeln und anschließend zentrifugieren (10 min, 4000 rpm)
- Überstand annehmen und mit vorherigem Überstand in 10 mL lichtgeschütztem Messkolben vereinigen
- Mit Ethylacetat auf 10 mL auffüllen
- 2 mL durch PTFE-Filter (45  $\mu$ m,  $\varnothing$  25 mm) filtrieren und in lichtgeschütztem Eppendorf Reaktionsgefäß lagern



- Mittels HPLC-DAD analysieren

### HPLC-DAD Bedingungen

Säule:	Prontosil C30 (5 µm, 250 mm x 4,6 mm, Bischoff Chromatography)
Säulentemperatur:	30 °C
Fluss:	1,2 mL/min
Injektionsvolumen:	20 µL
Detektion:	DAD 450 nm
Gradientenprogramm:	Vgl. Tabelle AV5
Kalibrierung:	α-Carotin, β-Carotin, Lutein, 7 Punkt Kalibrierung, lineare Anpassung, Pipettierschema siehe Tabelle AV6

Die Kalibrierlösungen werden aus entsprechenden Stammlösungen der Analyten hergestellt.

Deren Reinheit wurde vor Verwendung über die relativen Peakflächen des jeweiligen Analytpeaks im Vergleich zur gesamten Peakfläche des Chromatogramms mittels HPLC-DAD bestimmt bzw. berechnet. Hierfür wurde die Stammlösung 1|5 verdünnt und gemessen. Die Gehalte der Stammlösungen wurden vor Verwendung als Kalibrierlösungen spektralphotometrisch bestimmt.

### **Pipettierschema Stammlösung:**

**α-Carotin:** 1 mg Analyt | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol || 1 mL | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol

**β-Carotin:** 2 mg Analyt | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol || 1 mL | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol

**Lutein:** 1 mg Analyt | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol || 1 mL | 5 mL Ethylacetat + 0,1 % Butylhydroxytoluol

Für α-Carotin und β-Carotin zur Analyse jeweils 200 µL Stammlösung für entnehmen und unter Stickstoff eindampfen und in 4 mL Hexan aufnehmen und spektralphotometrisch bei 446 nm (α-Carotin) bzw. 448 nm (β-Carotin) messen.

Für Lutein zur Analyse jeweils 500 µL Stammlösung für entnehmen und unter Stickstoff eindampfen und in 4 mL Ethanol aufnehmen und bei 444 nm messen.

Die Konzentration wird nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Konzentration } [\mu\text{g/mL}] = \frac{M \cdot \Delta E \cdot V_{\text{Hexan/Ethanol}} \cdot 1000 \cdot R}{\epsilon \cdot V \cdot 100 \cdot d}$$

M: Molekulargewicht, ΔE: Extinktion, V<sub>Hexan</sub>: Volumen Hexan (4 mL), V: Volumen entnommener Stammlösung (0,2 bzw. 0,5 mL), R: Reinheit Stammlösungen, ε: Extinktionskoeffizient der

jeweiligen Verbindung ( $\alpha$ -Carotin: 146300 L/mol x cm;  $\beta$ -Carotin: 139200 L/mol x cm; Lutein: 1451000 L/mol x cm) d: Schichtdicke (1 cm)

**Tabelle AV5:** Gradientenprogramme zur Analyse von Carotinoiden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Diodenarraydetektor. Eluent A: Methanol | Methyl-*tert*-butyl Ether | bidest. Wasser + 0,1 % Butylhydroxytoluol (81|15|4), Eluent B: Methanol | Methyl-*tert*-butyl Ether + 0,1 % Butylhydroxytoluol (10|90)

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0	100	0
20	40	60
35	40	60
40	100	0
45	100	0

**Tabelle AV6:** Pipettierschema der Kalibrierlösungen zur Carotinoidbestimmung

Kalibrierpunkt	1	2	3	4	5	6	7
Ethylacetat [ $\mu$ L]	1940	1850	1700	1450	1200	950	700
$\alpha$ -Carotin [ $\mu$ L]	20	50	100	200	300	400	500
$\beta$ -Carotin [ $\mu$ L]	20	50	100	200	300	400	500
Lutein [ $\mu$ L]	20	50	100	150	200	250	300

## 8.14 CHARAKTERISIERUNG VON PROANTHOCYANIDINSTRUKTUREN

- 20 mg Probe in ein lichtgeschütztes 2 mL Eppendorf Reaktionsgefäß einwiegen
- 500  $\mu$ L Phloroglucinpuffer zugeben und 20 min bei 50 °C im Eppischüttler inkubieren
- Reaktion mit 500  $\mu$ L Natriumacetatpuffer (200 mM) stoppen
- **Blindwert:** 10–20 mg Probe in ein lichtgeschütztes 2 mL Eppendorf Reaktionsgefäß einwiegen, Reaktion durch Zugabe von 500  $\mu$ L Natriumacetatpuffer abbrechen, anschließend 500  $\mu$ L Phloroglucinpuffer zugeben, 20 min auf Eis „inkubieren“
- Zentrifugieren aller Proben (10 min, 12000 rpm)
- Überstand durch PTFE-Filter (45  $\mu$ m,  $\varnothing$  25 mm) filtrieren
- Filtrate 1:4 mit bidest. Wasser verdünnen und mittels LC-MS bzw. UHPLC-DAD analysieren

### LS-MS bzw. UHPLC-DAD Bedingungen

Säule: Luna Omega Polar C18 (1,6  $\mu$ m, 150 mm x 2,1 mm, Phenomenex)

Säulentemperatur: 30 °C

	<b>LC-MS</b>	<b>UHPLC-DAD</b>
Fluss:	0,5 mL/min	0,45 mL/min
Injektionsvolumen:	20 $\mu$ L	10 $\mu$ L
Detektion:	DAD	DAD
	280 nm	280 nm

MS: ESI (+)

Kalibrierung (UHPLC-DAD): (-)-Epicatechin, 3 Punkt Kalibrierung (0,01-1,0 mM in Phloroglucin|Natriumacetat-Puffer 50|50), lineare Anpassung

Gradientenprogramm: Vgl. Tabelle AV7

Ausgewählte  $m/z$ -Verhältnisse der MS-Detektion  $[M-H]^+$ :

(Epi)Afzelechin	275
(Epi)Catechin	291
(Epi)Gallocatechin	307
(Epi)Afzelechin-Phloroglucinaddukt	399
(Epi)Catechin-Phloroglucinaddukt	415
(Epi)Gallocatechin-Phloroglucinaddukt	431

**Tabelle AV7:** Gradientenprogramme zur Analyse von Proanthocyanidinen mittels LC-MS und UHPLC-DAD. Eluent A: bidest. Wasser + 1 % Essigsäure, Eluent B: Acetonitril + 1 % Essigsäure; LC: Flüssigkeitschromatographie, MS: Massenspektrometrie, UHPLC: Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie, DAD: Diodenarraydetektor

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]	Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
<b>LC-MS</b>			<b>UHPLC-DAD</b>		
0,0	93	7	0,1	96	4
10,0	93	7	3,5	96	4
10,1	98	2	3,6	94	6
25,0	98	2	5,0	94	6
25,5	88	12	5,1	99	1
40,0	88	12	6,5	99	1
60,0	70	30	8,0	88	12
61,0	10	90	12,0	88	12
71,0	10	90	16,0	70	30
72,0	93	7	16,5	10	90
82,0	93	7	19,5	10	90
			20,0	96	4
			24,0	96	4

## 8.15 BESTIMMUNG VON FURFURAL-DERIVATEN

- 50 mg Probenmaterial in ein Eppendorf Reaktionsgefäß einwiegen und 900 µL bidest. Wasser zugeben
- Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur im Eppischüttler (8000 U/min)
- Je 50 µL Carrez I und Carrez II dazugeben, vortexen und zentrifugieren
- Überstand abnehmen und durch Spritzenfilter (regenerierte Cellulose, 45 µm, Ø 13 mm) filtrieren
- Analyse mittels HPLC-DAD

**HPLC-DAD Bedingungen**

Säule:	Luna C18(2) (5 µm, 250 mm x 4,6 mm, Phenomenex)
Säulentemperatur:	30 °C
Fluss:	1 mL/min
Injektionsvolumen:	20 µL
Detektion:	DAD 284 nm (HMF), 273 nm (Furfural), 290 nm (5-Methylfurfural)
Gradientenprogramm:	Vgl. Tabelle AV8
Kalibrierung:	HMF, Furfural, 5-Methylfurfural 5 Punkt Kalibrierung (5-200 µM), lineare Anpassung (HMF), polynomielle Anpassung (Furfural, 5-Methylfurfural)

**Tabelle AV8:** Gradientenprogramme zur Analyse von Furfuralderivaten mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Diodenarraydetektor. Eluent A: bidest. Wasser, Eluent B: Acetonitril

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0	95	5
35	75	25
40	0	100
45	0	100
46	95	5
50	95	5

## 8.16 FERMENTIERBARKEIT VON BALLASTSTOFFPOLY- & OLIGOSACCHARIDEN

### Proben Vorbehandlung:

- Einwaage von 1 g Probenmaterial und Zugaben von 35 mL Natriummaleatpuffer (100 mM, pH 6,0)
- Ggf. Inkubation für 5 min bei 80 °C bei hohem Stärkegehalt (ca. 30 g/100 g TM)
- Zugabe von 5 mL Pankreas α-Amylase (6 KU/5 mL; Sigma Aldrich, 9 U/mg) / Amyloglucosidase (1,7 KU/5 mL; Megazyme, 36000 U/g)-Lösung (Lösung direkt von Verwendung ansetzen)
- Inkubation für 4 h bei 35 °C unter ständigem Rühren
- Zentrifugation für 10 min bei 5000 rpm
- Überstand in Dialysemembran (MWCO 3,5 kDa) überführen und 4 h gegen Wasser bei Raumtemperatur dialysieren, Wasser stündlich wechseln und verwerfen

- Überstand (Inhalt Dialysemembran, Fraktion >3,5 kDa) und Rückstand vereinigen, gefrieren und anschließenden gefriertrocknen

#### Driselase-Verdau:

- Einwaage von 0,1 g stärkeverdautes, dialysierte Probenmaterial, Zugabe von 2 mL Driselase-Suspension (3 mg/mL) und 9,1 mL Wasser
- 360° drehende Inkubation für 6 h und 24 h bei 37 °C
- Enzyminaktivierung für 5 min bei 95 °C
- Überführung in Dialysemembran (MWCO 3,5 kDa) und 4 h gegen Wasser bei Raumtemperatur dialysieren
  - 2 mL des Dialysewassers (Fraktion <3,5 kDa) aufbewahren und mit einem Aliquot Methanolyse durchführen

#### **Methanolyse:**

- 20 µL des Dialysewasser (Fraktion <3,5 kDa) in ein GC Vial pipettieren und im Evaporator zur Trockene eindampfen
- 500 µL 1,25 M methanolische Salzsäure hinzufügen
- Mit geschlossenen Deckeln verschließen und bei 80 °C 16 h im Trockenschrank behandeln
- Im Evaporator zur Trockene eindampfen
- 500 µL 2 M TFA-Lösung hinzufügen
- Verschließen und bei 121°C 1 h im Trockenschrank behandeln
- Im Evaporator zur Trockene eindampfen
- Zweimal je 200 µL Ethanol hinzufügen und zur Trockene eindampfen
- In 180 µL bidest. Wasser aufnehmen und 20 µL 1 mM D-Mannit hinzufügen und mittels HPAEC-PAD analysieren

#### **HPAEC-PAD Bedingungen** vgl. Abschnitt 8.5

Gradientenprogramm: vgl. Tabelle AV1, Abschnitt 8.1

- Inhalt der Dialysemembran (Fraktion >3,5 kDa) in 15 mL Zentrifugenröhrchen überführen
- Zentrifugation für 10 min bei 5000 rpm
- Überstand verwerfen und Rückstand 3x mit je 10 mL bidest. Wasser, 2x mit Ethanol (99,5 %) und 1x mit Aceton waschen, Überstände jeweils werfen
- Rückstand über Nacht bei 60 °C trocknen und auswiegen

## 9 ANHANG

## 9.1 TABELLEN

**Tabelle A1: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) des unter verschiedenen Bedingungen bei 120 °C mit unterschiedlich konzentrierten Schwefelsäure- (v/v) und Natriumhydroxidlösungen (w/v) behandelten Apfeltresters nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Behandlung der Materialien erfolgte zunächst mit Schwefelsäure (in den angegebenen Konzentrationen) und nach Abtrennen der Lösung mit Natriumhydroxid (in den angegebenen Konzentrationen). Rha: Rhamnose, Ara: Arabinose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Xyl: Xylose, Man: Mannose, GalA: Galacturonsäure, n.d.: nicht detektiert

Schwefelsäure	Natriumhydroxid	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man	GalA
1,0 %   40 min	-	1,6 $\pm$ 0,1	12,9 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,01	57,0 $\pm$ 0,2	8,7 $\pm$ 0,2	3,0 $\pm$ 0,2	11,2 $\pm$ 0,1
-	4,0 %   60 min	n.d.	5,4 $\pm$ 0,4	3,9 $\pm$ 0,2	78,0 $\pm$ 0,01	12,1 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,6	n.d.
1,0 %   40 min	4,0 %   40 min	n.d.	n.d.	n.d.	90,3 $\pm$ 0,3	5,8 $\pm$ 0,4	n.d.	3,9 $\pm$ 0,7
1,0 %   60 min	4,0 %   60 min	n.d.	n.d.	n.d.	95,4 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,2	n.d.	n.d.
1,5 %   90 min	4,0 %   90 min	n.d.	n.d.	n.d.	93,9 $\pm$ 0,04	2,6 $\pm$ 0,3	3,5 $\pm$ 0,3	n.d.
2,0 %   60 min	4,0 %   60 min	n.d.	2,9 $\pm$ 0,7	n.d.	85,7 $\pm$ 0,4	6,2 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,03	n.d.
3,0 %   60 min	4,0 %   60 min	n.d.	4,1 $\pm$ 1,1	n.d.	85,3 $\pm$ 3,2	5,0 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 1,1
1,0 %   60 min	5,0 %   60 min	n.d.	n.d.	n.d.	95,4 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,2	n.d.	n.d.
1,0 %   60 min	6,0 %   60 min	n.d.	n.d.	n.d.	94,9 $\pm$ 1,2	4,4 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,7	n.d.

**Tabelle A2: Methylierungs- und Acetylierungsgrad (% , n=2) der polymergebundenen Galacturonsäure in den unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffen (LBS) aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>42</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>22</b>
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>		<b>200</b>	<b>200</b>	<b>450</b>	<b>700</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>112,1</b>	<b>132,4</b>	<b>154,4</b>	<b>156,3</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>54,8</b>	<b>143,9</b>	<b>221,2</b>	<b>229,1</b>
<b>UBS</b>					
Methylierungsgrad	50	26	25	21	15
Acetylierungsgrad	35	24	21	24	20
<b>LBS</b>					
Methylierungsgrad	66	28	23	34	26
Acetylierungsgrad	5	2	2	4	4

**Tabelle A3: Anteile (mol% ± Range/2, n=2) der freigesetzten Arabino- bzw. Galactooligosaccharide nach Inkubation der unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffe (LBS) aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate mit *endo*-Arabinanase bzw. *endo*-Galactanase.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. n.d.: nicht detektiert, n.b.: nicht bestimmbar

		<b>42</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>22</b>
<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>					
<b>Drehzahl n [1/min]</b>					
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>112,1</b>	<b>132,4</b>	<b>154,4</b>	<b>156,3</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>54,8</b>	<b>143,9</b>	<b>221,2</b>	<b>229,1</b>
<b>UBS</b>					
<b>Arabinoooligosaccharide</b>					
A-2a	84,0 ± 0,4	84,2 ± 0,3	87,7 ± 0,1	83,5 ± 0,8	83,8 ± 0,1
A-4a	7,2 ± 0,4	10,4 ± 0,04	10,2 ± 0,1	11,9 ± 0,8	11,1 ± 0,2
A-4b	n.d.	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,01	2,2 ± 0,1	2,0 ± 0,3
A-5a	4,1 ± 0,02	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,1
A-5b	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,1	n.d.	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,03
A-5c	0,7 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.b.	n.b.
A-7a	1,9 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Galactooligosaccharide</b>					
G-2a	98,3 ± 0,3	100,0	100,0	100,0	100,0
G-2b	n.d.	n.d.	n.b.	n.b.	n.d.
G-2c	1,7 ± 0,3	n.b.	n.b.	n.b.	n.d.
<b>LBS</b>					
<b>Arabinoooligosaccharide</b>					
A-2a	84,7 ± 0,01	79,0 ± 1,4	77,0 ± 2,4	78,1 ± 2,4	78,8 ± 0,2
A-4a	6,9 ± 0,1	13,0 ± 0,01	14,0 ± 2,5	15,2 ± 0,4	14,7 ± 0,2
A-4b	n.d.	3,1 ± 0,003	3,4 ± 0,8	3,6 ± 0,1	3,3 ± 0,04
A-5a	3,4 ± 0,1	4,9 ± 1,4	3,3 ± 1,2	3,1 ± 1,7	2,1 ± 0,1
A-5b	2,6 ± 0,1	n.b.	2,3 ± 0,9	n.b.	1,1 ± 0,1
A-5c	0,7 ± 0,0004	n.b.	n.b.	n.b.	n.d.
A-7a	1,7 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Galactooligosaccharide</b>					
G-2a	100,0	100,0	99,0 ± 0,1	100,0	100,0
G-2b	n.d.	n.b.	n.d.	n.d.	n.d.
G-2c	n.d.	n.d.	1,0 ± 0,1	n.d.	n.d.



**Tabelle A4: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, *t*: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Mittels Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion qualitativ identifiziert, n.d.: nicht detektiert, <sup>b</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentationenpeaks 1,2-Xyl<sup>p</sup>: *m/z* 117, 1,4-Xyl<sup>p</sup>: *m/z* 118

Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		42	22	22	22
Drehzahl <i>n</i> [1/min]		200	200	450	700
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]	Rohmaterial	112,1	132,4	154,4	156,3
SME [Wh/kg]		54,8	143,9	221,2	229,1
1,2-Rha <sup>p</sup>	<sup>a</sup>	1,4 ± 0,03	1,4 ± 0,03	1,2 ± 0,6	1,0 ± 0,5
1,2,4-Rha <sup>p</sup>	0,9 ± 0,02	0,9 ± 0,03	0,9 ± 0,03	0,9 ± 0,4	1,2 ± 0,01
Σ Rha	0,9 ± 0,02	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,1 ± 1,0	2,2 ± 0,5
<i>t</i> -Ara <sup>f</sup>	33,3 ± 1,2	25,7 ± 0,6	25,4 ± 0,6	24,5 ± 1,9	20,8 ± 0,1
<i>t</i> -Ara <sup>p</sup>	<sup>a</sup>	0,8 ± 0,01	0,8 ± 0,01	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,01
1,3-Ara <sup>f</sup>	<sup>a</sup>	3,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	4,3 ± 0,3	2,4 ± 0,9
1,5-Ara <sup>f</sup> /1,4-Ara <sup>p</sup>	21,1 ± 0,4	19,9 ± 0,4	19,7 ± 0,4	21,2 ± 0,8	18,3 ± 0,4
1,2,5-Ara <sup>f</sup>	1,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,5	2,1 ± 0,1
1,3,5-Ara <sup>f</sup>	8,2 ± 0,5	8,2 ± 0,2	8,1 ± 0,2	9,5 ± 0,2	7,9 ± 1,0
1,2,3,5-Ara <sup>f</sup>	9,2 ± 3,0	11,8 ± 0,2	11,6 ± 0,2	12,8 ± 0,9	7,6 ± 1,0
Σ Ara	73,1 ± 5,2	71,9 ± 1,6	71,1 ± 1,6	75,5 ± 4,9	60,0 ± 3,5
<i>t</i> -Gal <sup>p</sup>	1,1 ± 0,1	2,5 ± 0,04	2,5 ± 0,04	2,1 ± 0,3	3,4 ± 0,03
1,4-Gal <sup>p</sup>	2,3 ± 0,3	6,2 ± 1,7	6,1 ± 1,7	5,1 ± 0,8	7,7 ± 1,3
1,6-Gal <sup>p</sup>	n.d.	n.d.	0,3 ± 0,04	n.d.	n.d.
Σ Gal	3,4 ± 0,4	8,7 ± 1,7	8,9 ± 1,7	7,2 ± 1,1	11,1 ± 1,3
<i>t</i> -Glc <sup>p</sup>	2,4 ± 0,2	0,8 ± 0,01	0,8 ± 0,01	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,1
1,4-Glc <sup>p</sup>	12,2 ± 1,9	7,8 ± 0,2	7,7 ± 0,2	5,4 ± 1,2	10,8 ± 1,2
1,4,6-Glc <sup>p</sup>	1,2 ± 0,1	2,7 ± 0,01	2,7 ± 0,01	2,8 ± 0,01	4,8 ± 0,1
Σ Glc	15,8 ± 2,2	11,3 ± 0,2	11,2 ± 0,2	9,0 ± 1,4	16,3 ± 1,4
1,4-Man <sup>p</sup>	1,4 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,6 ± 0,03
Σ Man	1,4 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,6 ± 0,03
<i>t</i> -Xyl <sup>p</sup>	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,1	3,5 ± 0,1	4,1 ± 0,1	5,7 ± 0,4
1,2-Xyl <sup>p</sup>	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,02	1,2 ± 0,02	0,5 ± 0,03	1,4 ± 0,1
1,4-Xyl <sup>p</sup>	1,0 ± 0,1	0,5 ± 0,003	0,7 ± 0,01	0,7 ± 0,003	1,7 ± 0,5
Σ Xyl	5,3 ± 0,5	4,8 ± 0,1	5,4 ± 0,1	5,3 ± 0,1	8,8 ± 1,0

**Tabelle A5: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Standardabweichung, n=3) der Oligosaccharide der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus dem extrudierten Apfeltrester nach Hydrolyse mittels Trifluoressigsäure.** Die Extrusion wurde bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C durchgeführt, woraus der spezifisch mechanische Energieeintrag (SME) und die Materialtemperatur resultiert.

		<b>Arabinose</b>	<b>Galactose</b>	<b>Glucose</b>	<b>Xylose</b>	<b>Mannose</b>
<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>	<b>22</b>					
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>	<b>700</b>					
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>	<b>156,3</b>	36,0 $\pm$ 29,0	18,2 $\pm$ 8,0	41,8 $\pm$ 21,7	0,9 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,4
<b>SME [Wh/kg]</b>	<b>229,1</b>					

**Tabelle A6: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der mit Schwefelsäure und Natronlauge behandelten Rohmaterialien und der jeweiligen Extrudate nach Schwefelsäurehydrolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C und 120 °C für den enzymatisch behandelten Apfeltrester. n.d.: nicht detektiert, n.b.: nicht bestimmbar, S1: Vorwärtselemente, S2: zwei Rückwärtselemente, S4: zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

		Galactose	Glucose	Xylose	Mannose	Galacturonsäure	
Apfeltrester	Rohmaterial	n.d.	94,8 $\pm$ 0,01	5,2 $\pm$ 0,01	n.d.	n.d.	
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>42</b>	n.d.	92,5 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,01	n.d.	n.b.
	n [1/min]	<b>200</b>	n.d.	95,8 $\pm$ 0,3	4,2 $\pm$ 0,3	n.d.	n.d.
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>22</b>	n.d.	95,9 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,1	n.d.	n.d.
	n [1/min]	<b>450</b>	n.d.	94,7 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,1	n.d.	n.d.
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>22</b>	n.d.				
	n [1/min]	<b>700</b>	n.d.				
Apfeltrester enzymatisch behandelt	Rohmaterial	n.b.	89,7 $\pm$ 1,7	10,3 $\pm$ 1,7	n.b.	n.b.	
	Schnecken- konfiguration	<b>S1</b>	n.b.	79,4 $\pm$ 0,3	11,2 $\pm$ 0,5	2,8 $\pm$ 0,3	6,8 $\pm$ 0,1
	Schnecken- konfiguration	<b>S2</b>	n.d.	94,7 $\pm$ 0,01	5,3 $\pm$ 0,1	n.d.	n.d.
	Schnecken- konfiguration	<b>S4</b>	n.d.	94,9 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,1	n.d.	n.d.
Kartoffelpülpe	Rohmaterial	n.b.	100,0	n.b.	n.d.	n.d.	
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>46</b>	n.b.	100,0	n.d.	n.b.	
	n [1/min]	<b>600</b>	n.b.	97,4 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,1	n.b.	n.d.
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>28</b>	n.b.	100,0	n.b.	n.d.	n.b.
	n [1/min]	<b>600</b>	n.b.				
Karottentrester	Rohmaterial	n.b.	93,7 $\pm$ 0,4	n.b.	n.b.	6,3 $\pm$ 0,4	
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>25</b>	n.d.	90,2 $\pm$ 0,2	n.b.	n.b.	9,8 $\pm$ 0,2
	n [1/min]	<b>200</b>	n.d.	100,0	n.b.	n.b.	n.b.
	$w_{H_2O}$ [%]	<b>43</b>	n.d.	96,5 $\pm$ 0,01	n.b.	n.b.	3,5 $\pm$ 0,01
	n [1/min]	<b>1000</b>	n.d.				

**Tabelle A7: Gehalte der freien Mono- und Disaccharide sowie Stärkegehalte (g/100 g Trockenmasse  $\pm$  Standardabweichung, n=3) des enzymatisch behandelten Apfeltresters und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen. S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement, <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha = 0,05$ , post-hoc Tukey-Test)

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
Freie Mono- und Disaccharide				
Glucose <sup>a</sup>	6,2 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	6,2 $\pm$ 1,3 <sup>A</sup>	5,8 $\pm$ 0,2 <sup>A</sup>	7,1 $\pm$ 1,9 <sup>A</sup>
Fructose <sup>a</sup>	12,7 $\pm$ 1,1 <sup>A</sup>	11,7 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	11,8 $\pm$ 0,4 <sup>A</sup>	12,6 $\pm$ 0,7 <sup>A</sup>
Saccharose <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 2,0 <sup>A</sup>	3,4 $\pm$ 1,5 <sup>A</sup>	4,0 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>	3,4 $\pm$ 0,7 <sup>A</sup>
Maltose <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	0,5 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	0,5 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	0,5 $\pm$ 0,4 <sup>A</sup>
Stärke <sup>a</sup>	8,3 $\pm$ 0,4 <sup>A</sup>	7,8 $\pm$ 0,6 <sup>A</sup>	7,7 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>	8,0 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>

**Tabelle A8: Methylierungs- und Acetylierungsgrad (% , n=2) der polymergebundenen Galacturonsäure in den unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffen (LBS) aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen. S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

<b>Schneckenkonfiguration</b>		<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S4</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>116,0</b>	<b>118,5</b>	<b>128,1</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>83,7</b>	<b>126,2</b>	<b>231,1</b>
<b>UBS</b>				
Methylierungsgrad	18	14	18	15
Acetylierungsgrad	12	12	18	20
<b>LBS</b>				
Methylierungsgrad	23	23	21	26
Acetylierungsgrad	2	2	2	3

**Tabelle A9: Anteile (mol% ± Range/2, n=2) der freigesetzten Arabino- bzw. Galactooligosaccharide nach Inkubation der unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffe (LBS) aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate mit *endo*-Arabinanase bzw. *endo*-Galactanase.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen. S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement, n.b.: nicht bestimmbar, n.d.: nicht detektiert

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
<b>UBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	84,1 ± 0,4	86,5 ± 0,7	84,6 ± 0,4	87,1 ± 1,8
A-4a	6,8 ± 0,1	5,8 ± 0,04	7,4 ± 0,1	7,1 ± 1,1
A-4b	1,6 ± 0,03	1,0 ± 0,1	1,7 ± 0,04	1,8 ± 0,3
A-5a	n.b.	0,7 ± 0,04	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,2
A-5b	4,2 ± 0,3	3,4 ± 0,4	2,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2
A-5c	2,3 ± 0,002	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	n.b.
A-6a	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,03	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,3
A-7a	n.d.	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,004	n.d.
A-7b	n.b.	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,001	n.d.
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	95,3 ± 0,7	93,3 ± 0,4	94,3 ± 0,2	93,7 ± 0,7
G-2b	n.b.	4,2 ± 0,4	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,3
G-2c	4,7 ± 0,7	2,4 ± 0,4	1,9 ± 0,2	2,5 ± 0,5
<b>LBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	81,1 ± 2,6	85,0 ± 2,8	82,6 ± 2,4	80,5 ± 0,3
A-4a	10,4 ± 0,3	9,1 ± 0,5	9,7 ± 1,1	10,9 ± 0,1
A-4b	2,4 ± 0,5	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,5	1,8 ± 0,1
A-5a	n.b.	1,1 ± 1,0	1,7 ± 0,8	2,1 ± 0,5
A-5b	4,0 ± 0,4	3,3 ± 0,7	4,5 ± 0,02	4,7 ± 0,2
A-5c	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
A-6a	n.b.	n.b.	n.d.	n.d.
A-7a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
A-7b	2,1 ± 1,3	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	100,0	100,0	100,0	100,0
G-2b	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
G-2c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

**Tabelle A10: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der löslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl (n 600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement, Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, *t*: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, n.d.: nicht detektiert, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentionenpeaks 1,2-Xyl*p*: *m/z* 117, 1,4-Xyl*p*: *m/z* 118

Schneckenkonfiguration		S1	S2	S4
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,0	118,5	128,1
SME [Wh/kg]		83,7	126,2	231,1
1,2-Rha <i>p</i>	1,1 $\pm$ 0,02	1,4 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,04	2,1 $\pm$ 0,2
1,2,4-Rha <i>p</i>	0,5 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,01	1,3 $\pm$ 0,5
$\Sigma$ Rha	1,6 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,7
<i>t</i> -Ara <i>f</i>	17,5 $\pm$ 0,9	24,8 $\pm$ 1,2	23,6 $\pm$ 0,2	22,6 $\pm$ 0,6
<i>t</i> -Ara <i>p</i>	0,9 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,1
1,2-Ara <i>f</i>	0,7 $\pm$ 0,05	0,5 $\pm$ 0,01	0,5 $\pm$ 0,02	0,5 $\pm$ 0,001
1,3-Ara <i>f</i>	3,4 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 0,9	3,0 $\pm$ 0,01	3,4 $\pm$ 0,1
1,5-Ara <i>f</i> /1,4-Ara <i>p</i>	23,0 $\pm$ 0,5	22,3 $\pm$ 0,2	24,5 $\pm$ 0,4	22,6 $\pm$ 0,04
1,2,5-Ara <i>f</i>	2,8 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,7	1,3 $\pm$ 0,8	2,4 $\pm$ 0,04
1,3,5-Ara <i>f</i>	9,9 $\pm$ 0,6	8,1 $\pm$ 0,2	8,7 $\pm$ 0,1	9,0 $\pm$ 0,5
1,2,3,5-Ara <i>f</i>	10,9 $\pm$ 1,9	8,8 $\pm$ 0,7	9,2 $\pm$ 2,1	7,0 $\pm$ 0,03
$\Sigma$ Ara	68,6 $\pm$ 4,6	70,7 $\pm$ 4,1	71,9 $\pm$ 3,8	68,2 $\pm$ 1,4
<i>t</i> -Gal <i>p</i>	2,6 $\pm$ 0,4	3,3 $\pm$ 0,4	2,0 $\pm$ 0,2	3,3 $\pm$ 0,2
1,4-Gal <i>p</i>	6,6 $\pm$ 0,4	3,7 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,1
1,6-Gal <i>p</i>	n.d.	n.d.	0,5 $\pm$ 0,04	n.d.
1,4,6-Gal <i>p</i>	2,0 $\pm$ 0,4	2,3 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Gal	11,2 $\pm$ 1,2	9,3 $\pm$ 0,7	8,2 $\pm$ 0,7	9,8 $\pm$ 0,4
<i>t</i> -Glc <i>p</i>	1,0 $\pm$ 0,01	1,9 $\pm$ 0,8	0,5 $\pm$ 0,003	0,9 $\pm$ 0,1
1,4-Glc <i>p</i>	7,0 $\pm$ 1,7	4,3 $\pm$ 2,3	5,8 $\pm$ 0,7	4,9 $\pm$ 0,3
1,4,6-Glc <i>p</i>	1,4 $\pm$ 0,01	2,4 $\pm$ 1,0	2,6 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,2
$\Sigma$ Glc	9,4 $\pm$ 1,7	8,6 $\pm$ 4,1	8,9 $\pm$ 1,9	8,5 $\pm$ 0,6
<i>t</i> -Man <i>p</i>	1,5 $\pm$ 0,2	n.d.	0,7 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,3
1,4-Man <i>p</i>	1,3 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,1
1,4,6-Man <i>p</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
$\Sigma$ Man	2,8 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,4
<i>t</i> -Xyl <i>p</i>	4,0 $\pm$ 0,5	6,3 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,5
1,2-Xyl <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,05	1,5 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,01
1,4-Xyl <sup>a</sup>	0,5 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,01	0,9 $\pm$ 0,05
$\Sigma$ Xyl	6,4 $\pm$ 1,2	8,8 $\pm$ 0,6	8,0 $\pm$ 0,3	8,2 $\pm$ 0,6

**Tabelle A11: Gehalte der freien Mono- und Disaccharide sowie Stärkegehalte (g/100 g Trockenmasse ± Standardabweichung, n=3) der Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. <sup>a</sup>: Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (einfaktorielle Varianzanalyse, ANOVA  $\alpha=0,05$ , post-hoc Tukey-Test), n.b.: nicht bestimmbar

<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>		<b>46</b>	<b>28</b>	<b>28</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>600</b>	<b>200</b>	<b>600</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>		<b>109,5</b>	<b>118,0</b>	<b>133,5</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>186,0</b>	<b>213,5</b>	<b>376,5</b>
Freie Mono- und Disaccharide				
Glucose <sup>a</sup>	0,02 ± 0,005 <sup>A</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,01 ± 0,002 <sup>A</sup>
Fructose <sup>a</sup>	0,1 ± 0,2 <sup>C</sup>	0,1 ± 0,03 <sup>C</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>BC</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>AB</sup>
Saccharose <sup>a</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Maltose <sup>a</sup>	0,1 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,1 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,1 ± 0,002 <sup>B</sup>	0,2 ± 0,02 <sup>A</sup>
Stärke <sup>a</sup>	30,1 ± 1,2 <sup>A</sup>	30,6 ± 3,4 <sup>A</sup>	29,8 ± 1,3 <sup>A</sup>	29,0 ± 3,6 <sup>A</sup>



**Tabelle A12: Methylierungs- und Acetylierungsgrad (% , n=2) der polymergebundenen Galacturonsäure in den unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffen (LBS) aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

		<b>46</b>	<b>28</b>	<b>28</b>
<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>				
<b>Drehzahl n [1/min]</b>		<b>600</b>	<b>200</b>	<b>600</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>109,5</b>	<b>118,0</b>	<b>133,5</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>186,0</b>	<b>213,5</b>	<b>376,5</b>
<b>UBS</b>				
Methylierungsgrad	35	33	19	12
Acetylierungsgrad	38	19	33	12
<b>LBS</b>				
Methylierungsgrad	46	22	28	61
Acetylierungsgrad	46	28	22	61

**Tabelle A13: Anteile (mol% ± Range/2, n=2) der freigesetzten Arabino- bzw. Galactooligosaccharide nach Inkubation der unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffe (LBS) aus Kartoffelpülphe und der jeweiligen Extrudate mit *endo*-Arabinanase bzw. *endo*-Galactanase.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. n.d.: nicht detektiert

Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		46	28	28
Drehzahl n [1/min]		600	200	600
Materialtemperatur T <sub>M</sub> [°C]	Rohmaterial	109,5	118,0	133,5
SME [Wh/kg]		186,0	213,5	376,5
<b>UBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	100,0	99,7 ± 0,1	100,0	99,5 ± 0,3
A-4b	n.d.	0,3 ± 0,1	n.d.	0,5 ± 0,3
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	97,6 ± 0,1	98,1 ± 0,1	94,0 ± 0,2	98,4 ± 0,3
G-2c	2,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1	6,0 ± 0,2	1,6 ± 0,3
<b>LBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	99,1 ± 0,7	98,3 ± 0,4	96,0 ± 0,3	99,1 ± 0,1
G-2c	0,9 ± 0,4	1,7 ± 0,4	4,0 ± 0,3	0,9 ± 0,1

**Tabelle A14: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der löslichen Ballaststoffe aus Kartoffelpülpe und der jeweiligen Extrudate.**

Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, *t*: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentationenpeaks 1,2-Xyl<sup>a</sup>: *m/z* 117, 1,4-Xyl<sup>a</sup>: *m/z* 118

<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>		<b>46</b>	<b>28</b>	<b>28</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>600</b>	<b>200</b>	<b>600</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>		<b>109,5</b>	<b>118,0</b>	<b>133,5</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>186,0</b>	<b>213,5</b>	<b>376,5</b>
1,2-Rha <sub>p</sub>	1,3 ± 0,02	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,04	0,9 ± 0,2
1,2,4-Rha <sub>p</sub>	6,8 ± 0,5	0,6 ± 0,1	2,4 ± 0,5	0,5 ± 0,02
Σ Rha	8,1 ± 0,5	1,2 ± 0,2	3,1 ± 0,5	1,4 ± 0,2
t-Ara <sub>f</sub>	6,1 ± 0,4	7,3 ± 0,8	7,1 ± 2,2	5,2 ± 0,6
t-Ara <sub>p</sub>	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1	0,8 ± 0,4
1,2-Ara <sub>f</sub>	n.d.	0,7 ± 0,2	0,1 ± 0,001	0,4 ± 0,2
1,3-Ara <sub>f</sub>	n.d.	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
1,5-Ara <sub>f</sub> /1,4-Ara <sub>p</sub>	10,2 ± 0,03	16,2 ± 0,7	29,3 ± 0,1	15,8 ± 3,9
1,3,5-Ara <sub>f</sub>	n.d.	1,4 ± 0,5	n.d.	2,2 ± 0,3
1,2,3,5-Ara <sub>f</sub>	n.d.	2,6 ± 0,4	n.d.	2,3 ± 0,2
Σ Ara	17,4 ± 0,6	29,2 ± 2,9	38,0 ± 2,5	26,9 ± 5,7
t-Gal <sub>p</sub>	6,1 ± 0,1	5,3 ± 0,5	8,8 ± 0,3	5,6 ± 0,6
1,4-Gal <sub>p</sub>	18,2 ± 2,0	20,1 ± 1,3	33,7 ± 2,0	21,3 ± 3,3
Σ Gal	24,3 ± 2,1	25,4 ± 1,8	42,5 ± 2,3	26,9 ± 3,9
t-Glc <sub>p</sub>	6,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2	2,9 ± 0,3
1,4-Glc <sub>p</sub>	25,9 ± 5,7	31,3 ± 1,4	8,8 ± 0,1	28,0 ± 8,6
1,4,6-Glc <sub>p</sub>	n.d.	3,1 ± 0,2	1,5 ± 0,1	3,3 ± 0,1
Σ Glc	32,8 ± 5,8	36,3 ± 1,7	11,5 ± 0,4	34,2 ± 9,0
t-Man <sub>p</sub>	8,6 ± 0,9	1,2 ± 0,004	1,1 ± 0,1	3,3 ± 0,8
1,4-Man <sub>p</sub>	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1	n.d.	1,4 ± 0,3
Σ Man	10,3 ± 1,0	2,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	4,7 ± 1,1
t-Xyl <sub>p</sub>	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,3	1,6 ± 0,1	2,6 ± 0,9
1,2-Xyl <sub>p</sub> <sup>a</sup>	2,3 ± 0,6	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,4
1,4-Xyl <sub>p</sub> <sup>a</sup>	2,4 ± 0,5	2,3 ± 1,2	1,0 ± 0,3	1,9 ± 1,0
Σ Xyl	7,1 ± 1,3	5,5 ± 1,7	3,8 ± 0,5	6,0 ± 2,3

**Tabelle A15: Monosaccharidzusammensetzung (nach Hydrolyse mit TFA; mol% ± Standardabweichung, n=3) und Anteile der partiell methylierten Alditolacetate aus den Daten der Methylierungsanalyse (mol% ± Standardabweichung, n=3) der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus den Extrudaten der Kartoffelpülpe.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte. TFA: Trifluoressigsäure, t: terminal, Ara: Arabinose, f: Furanose, p: Pyranose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, n.b.: nicht bestimmbar

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		46		28			
Drehzahl $n$ [1/min]		600		600			
Materialtemperatur $T_M$ [°C]		109,5		133,5			
SME [Wh/kg]		186,0		376,5			
Monosaccharid	TFA-Hydrolyse	PMAA		Monosaccharid	TFA-Hydrolyse	PMAA	
Arabinose	53,3 ± 1,0	t-Araf	6,3 ± 1,3	Arabinose	61,8 ± 3,3	t-Araf	24,4 ± 9,1
		1,5-Araf	26,9 ± 10,0			1,5-Araf	19,0 ± 6,4
		1,4-Arap				1,4-Arap	4,0 ± 1,3
		$\Sigma$ Ara				33,2 ± 11,3	$\Sigma$ Ara
Galactose	7,1 ± 0,3	1,4-Galp	30,5 ± 6,5	Galactose	19,8 ± 4,3	1,4-Galp	21,6 ± 7,6
Glucose	31,8 ± 2,2	1,4-Glcp	36,4 ± 15,9	Glucose	18,4 ± 4,0	1,4-Glcp	31,0 ± 5,4
Galacturonsäure	7,8 ± 0,9			Galacturonsäure	n.b.		

**Tabelle A16: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der unlöslichen Ballaststoffe aus Karottentrestern und der jeweiligen Extrudate.**

Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, p: Pyranose, t: terminal, Ara: Arabinose, f: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, n.d.: nicht detektiert, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, a: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentionenpeaks 1,2-Xylp: *m/z* 117, 1,4-Xylp: *m/z* 118

<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>		<b>25</b>	<b>43</b>	<b>25</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>		<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
1,2-Rhap	0,3 ± 0,2	0,5 ± 0,03	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,03
1,2,4-Rhap	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,02	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Σ Rha	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,05	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1
t-Araf	6,7 ± 0,7	8,6 ± 0,7	5,4 ± 0,6	5,9 ± 1,3
t-Arap	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,03	0,3 ± 0,02	0,3 ± 0,04
1,2-Araf	0,6 ± 0,4	1,3 ± 0,6	0,8 ± 0,4	0,2 ± 0,03
1,3-Araf	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,001	0,1 ± 0,02
1,5-Araf/1,4-Arap	3,3 ± 0,3	6,5 ± 0,4	3,2 ± 0,3	4,2 ± 1,1
1,2,5-Araf	0,5 ± 0,01	1,9 ± 0,3	1,8 ± 0,6	0,8 ± 0,4
1,3,5-Araf	2,4 ± 0,3	3,2 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,5 ± 0,6
1,2,3,5-Araf	2,1 ± 0,1	6,4 ± 1,1	9,4 ± 2,2	4,1 ± 2,6
Σ Ara	16,1 ± 1,9	28,6 ± 3,3	23,7 ± 4,4	18,1 ± 6,1
t-Galp	2,2 ± 0,3	3,5 ± 0,4	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,3
1,4-Galp	5,0 ± 1,0	6,4 ± 0,2	6,1 ± 1,4	4,7 ± 1,0
1,6-Galp	0,5 ± 0,1	n.d.	n.d.	0,5 ± 0,02
1,4,6-Galp	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Σ Gal	7,7 ± 1,4	9,9 ± 0,6	8,5 ± 1,8	7,6 ± 1,3
t-Glcp	1,8 ± 0,03	4,6 ± 0,4	3,7 ± 0,3	3,1 ± 0,8
1,4-Glcp	56,0 ± 3,5	39,9 ± 3,1	46,6 ± 4,4	52,4 ± 5,9
1,4,6-Glcp	3,2 ± 0,3	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,5	3,3 ± 0,2
Σ Glc	61,0 ± 3,8	47,5 ± 3,7	53,4 ± 5,2	58,8 ± 6,9
t-Manp	0,6 ± 0,04	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,2
1,4-Manp	5,7 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,7 ± 0,3	5,5 ± 1,4
Σ Man	6,3 ± 0,1	4,8 ± 0,2	5,3 ± 0,4	6,2 ± 1,6
t-Xylp	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,02	1,4 ± 0,2	1,8 ± 0,1
1,2-Xylp <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1	1,9 ± 0,9	1,0 ± 0,04	1,0 ± 0,1
1,4-Xylp <sup>a</sup>	5,5 ± 0,3	4,6 ± 1,3	5,7 ± 0,2	5,7 ± 0,5
Σ Xyl	7,8 ± 0,6	8,1 ± 2,2	8,1 ± 0,4	8,5 ± 0,7

**Tabelle A17: Methylierungs- und Acetylierungsgrad (% , n=2) der polymergebundenen Galacturonsäure in den unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffen (LBS) aus Karottentrester und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte.

<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>26</b>	<b>43</b>	<b>26</b>
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>		<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
<b>UBS</b>				
Methylierungsgrad	57	18	28	29
Acetylierungsgrad	78	49	73	84
<b>LBS</b>				
Methylierungsgrad	67	10	49	40
Acetylierungsgrad	16	12	19	17

**Tabelle A18: Anteile (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der freigesetzten Arabino- bzw. Galactooligosaccharide nach Inkubation der unlöslichen (UBS) und löslichen Ballaststoffe (LBS) aus Karottentrester und der jeweiligen Extrudate mit *endo*-Arabinanase bzw. *endo*-Galactanase.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. n.d.: nicht detektiert

Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		26	43	26
Drehzahl $n$ [1/min]		200	1000	1000
Materialtemperatur $T_M$ [°C]	Rohmaterial	116,5	116,5	130,0
SME [Wh/kg]		175,0	253,8	385,0
<b>UBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	65,1 $\pm$ 0,6	78,0 $\pm$ 4,6	72,1 $\pm$ 3,8	66,5 $\pm$ 0,4
A-4a	15,4 $\pm$ 0,1	10,5 $\pm$ 2,5	13,1 $\pm$ 1,7	16,1 $\pm$ 0,2
A-4b	2,7 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,1
A-6a	2,8 $\pm$ 0,6	n.d.	6,4 $\pm$ 1,2	7,8 $\pm$ 0,2
A-7a	8,4 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 1,0	n.d.	n.d.
A-7b	5,6 $\pm$ 0,8	4,5 $\pm$ 0,7	5,8 $\pm$ 0,7	5,9 $\pm$ 0,5
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	97,8 $\pm$ 0,4	95,4 $\pm$ 0,1	96,4 $\pm$ 0,3	96,1 $\pm$ 0,4
G-2c	2,2 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,4
<b>LBS</b>				
<b>Arabinooligosaccharide</b>				
A-2a	61,9 $\pm$ 2,1	61,7 $\pm$ 0,2	62,1 $\pm$ 0,3	69,6 $\pm$ 1,4
A-4a	18,6 $\pm$ 0,04	15,6 $\pm$ 0,1	16,2 $\pm$ 0,5	17,0 $\pm$ 0,04
A-4b	3,0 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,2
A-6a	n.d.	n.d.	9,3 $\pm$ 0,4	5,7 $\pm$ 2,5
A-7a	11,0 $\pm$ 0,1	9,9 $\pm$ 0,6	8,3 $\pm$ 0,004	3,0 $\pm$ 0,9
A-7b	5,5 $\pm$ 1,1	8,8 $\pm$ 0,5	n.d.	n.d.
<b>Galactooligosaccharide</b>				
G-2a	100,0	99,9 $\pm$ 0,01	100,0	99,9 $\pm$ 0,01
G-2b	n.d.	0,1 $\pm$ 0,01	n.d.	0,1 $\pm$ 0,01

**Tabelle A19: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der löslichen Ballaststoffe aus Karottentrester und der jeweiligen Extrudate.**

Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. Rha: Rhamnose, p: Pyranose, t: terminal, Ara: Arabinose, f: Furanose, Gal: Galactose, n.d.: nicht detektiert, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentionenpeaks 1,2-Xylp: m/z 117, 1,4-Xylp: m/z 118

<b>Wassergehalt w<sub>H2O</sub> [%]</b>		<b>26</b>	<b>43</b>	<b>26</b>
<b>Drehzahl n [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur T<sub>M</sub> [°C]</b>		<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
1,2-Rhap	1,7 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,02
1,2,4-Rhap	2,7 ± 0,1	1,2 ± 0,7	1,5 ± 0,6	3,2 ± 0,1
Σ Rha	4,4 ± 0,2	2,2 ± 0,8	2,7 ± 0,8	4,3 ± 0,1
t-Araf	27,4 ± 0,5	26,8 ± 0,4	22,1 ± 1,2	20,8 ± 0,2
t-Arap	1,5 ± 0,04	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,3	1,6 ± 0,02
1,2-Araf	0,3 ± 0,1	0,9 ± 0,5	0,2 ± 0,03	1,2 ± 0,9
1,3-Araf	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,02	0,4 ± 0,03	0,3 ± 0,03
1,5-Araf/ 1,4-Arap	14,5 ± 0,6	16,3 ± 0,1	16,1 ± 1,4	11,9 ± 0,04
1,2,5-Araf	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,03	2,1 ± 0,3	1,3 ± 0,2
1,3,5-Araf	6,6 ± 0,3	7,2 ± 0,04	5,8 ± 0,2	4,2 ± 0,1
1,2,3,5-Araf	5,6 ± 0,1	6,2 ± 0,4	6,3 ± 0,3	3,9 ± 0,2
Σ Ara	58,2 ± 1,8	61,3 ± 1,8	54,7 ± 3,8	45,2 ± 1,7
t-Galp	6,4 ± 0,4	10,8 ± 4,6	6,6 ± 1,5	8,9 ± 0,6
1,4-Galp	14,7 ± 0,1	14,1 ± 3,3	15,9 ± 0,5	21,3 ± 0,1
1,6-Galp	2,3 ± 0,03	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1	2,3 ± 0,02
1,2,4-Galp	0,6 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.
1,4,6-Galp	2,7 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.
Σ Gal	26,7 ± 0,6	26,6 ± 8,0	24,1 ± 2,1	32,5 ± 0,7
t-Glcp	1,2 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1
1,4-Glcp	4,6 ± 0,5	4,5 ± 0,1	11,4 ± 1,6	12,2 ± 0,5
1,4,6-Glcp	0,6 ± 0,1	n.d.	n.d.	0,8 ± 0,1
Σ Glc	6,4 ± 0,8	6,6 ± 0,2	13,2 ± 1,7	14,2 ± 0,7
t-Manp	0,9 ± 0,01	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,2 ± 0,1
1,4-Manp	0,3 ± 0,02	0,6 ± 0,01	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,02
Σ Man	1,2 ± 0,03	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,5	1,2 ± 0,1
t-Xylp	1,6 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,9 ± 0,5	1,4 ± 0,1
1,2-Xylp <sup>a</sup>	0,9 ± 0,8	0,7 ± 0,6	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1
1,4-Xylp <sup>a</sup>	0,5 ± 0,02	0,5 ± 0,04	1,4 ± 0,5	0,8 ± 0,2
Σ Xyl	3,0 ± 1,0	2,0 ± 0,8	3,7 ± 1,3	2,6 ± 0,4



**Tabelle A20: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Standardabweichung, n=3) der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus Karottentrestern und der jeweiligen Extrudate.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt und in der Drehzahl bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen führte. *t*: terminal, *Ara*: Arabinose, *f*: Furanose, n.d.: nicht detektiert, *Glc*: Glucose, *Man*: Mannose

<b>Wassergehalt <math>w_{H_2O}</math> [%]</b>		<b>26</b>	<b>43</b>	<b>26</b>
<b>Drehzahl <math>n</math> [1/min]</b>	<b>Rohmaterial</b>	<b>200</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Materialtemperatur <math>T_M</math> [°C]</b>		<b>116,5</b>	<b>116,5</b>	<b>130,0</b>
<b>SME [Wh/kg]</b>		<b>175,0</b>	<b>253,8</b>	<b>385,0</b>
<i>t-Araf</i>	39,6 ± 3,9	45,5 ± 1,6	21,0 ± 8,4	25,0 ± 5,9
1,5- <i>Araf</i> / 1,4- <i>Arap</i>	14,0 ± 5,8	13,4 ± 15,6	21,4 ± 8,3	26,7 ± 0,3
1,3,5- <i>Araf</i>	3,6 ± 0,9	2,6 ± 2,3	8,0 ± 2,4	8,9 ± 3,7
1,2,3,5- <i>Araf</i>	n.d.	n.d.	n.d.	17,0 ± 4,3
∑ <i>Ara</i>	54,5 ± 10,6	61,5 ± 19,5	50,4 ± 19,1	77,6 ± 14,2
1,4- <i>Glc<math>\rho</math></i>	42,8 ± 3,0	38,6 ± 17,2	47,3 ± 19,6	15,5 ± 4,9
∑ <i>Glc</i>	42,8 ± 3,0	38,6 ± 17,2	47,3 ± 19,6	15,5 ± 4,9
1,4- <i>Man<math>\rho</math></i>	n.d.	n.d.	2,2 ± 1,4	6,9 ± 0,9
∑ <i>Man</i>	-	-	2,2 ± 1,4	6,9 ± 0,9

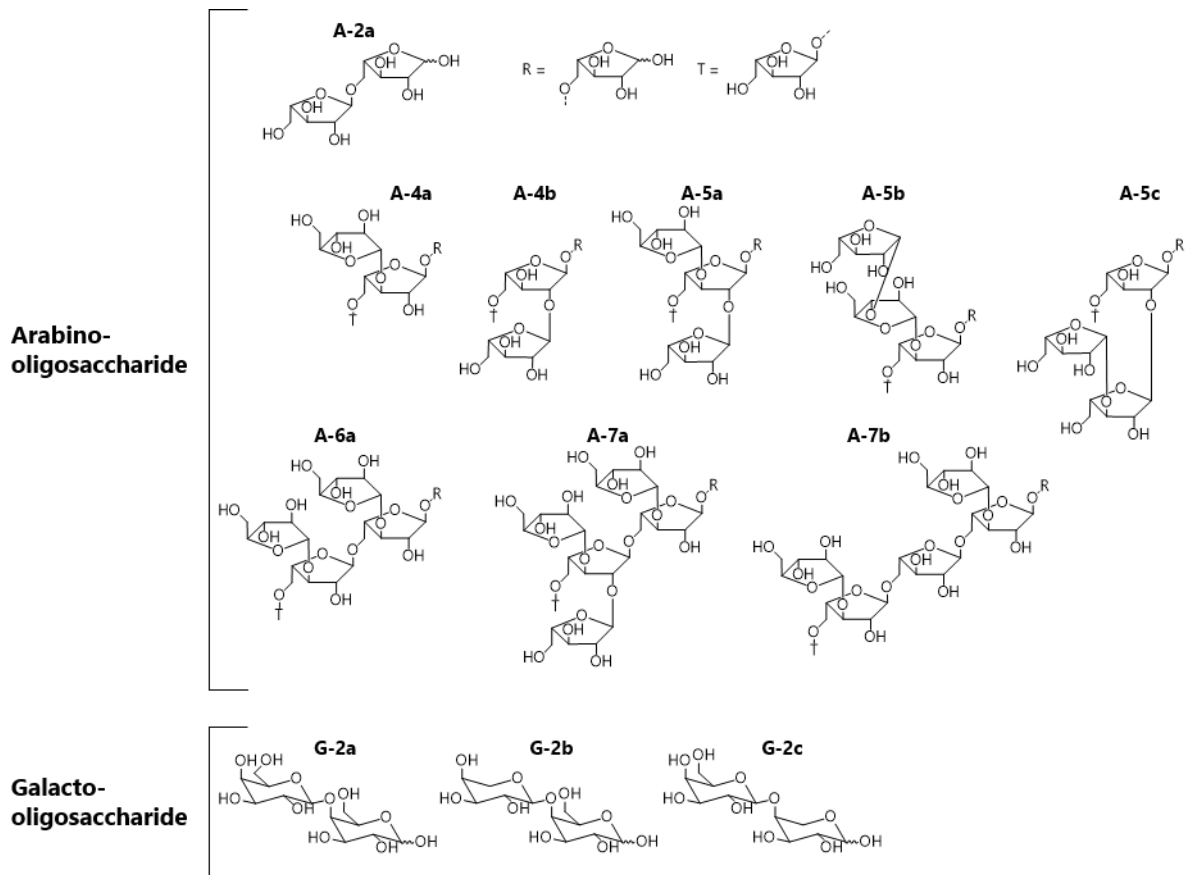
**Tabelle A21: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol% ± Range/2, n=2) der unlöslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer (CCR)* behandelten Proben.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR, dem Wassergehalt, der Behandlungsdauer und der Scherrate. Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, *t*: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, n.d.: nicht detektiert, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, n.d.: nicht detektiert, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentionenpeaks 1,2-Xyl*p*: *m/z* 117, 1,4-Xyl*p*: *m/z* 118

Temperatur CCR T <sub>CCR</sub> [°C]		120	160	160	160
Wassergehalt w <sub>H2O</sub> [%]		10	10	10	40
Behandlungsdauer t <sub>CCR</sub> [min]	Rohmaterial	1	1	1	1
Scherrate $\dot{\gamma}$ [1/s]		0,001	0,001	150	0,001
1,2-Rha <i>p</i>	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,02	0,6 ± 0,01	1,0 ± 0,4	0,7 ± 0,01
1,2,4-Rha <i>p</i>	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,05	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,3	0,5 ± 0,03
Σ Rha	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,8 ± 0,7	1,2 ± 0,04
t-Ara <i>f</i>	13,5 ± 2,7	11,5 ± 0,9	7,2 ± 0,6	7,0 ± 0,2	6,4 ± 1,1
t-Ara <i>p</i>	n.d.	0,5 ± 0,01	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,03	0,4 ± 0,01
1,2-Ara <i>f</i>	n.d.	n.d.	n.d.	0,3 ± 0,03	n.d.
1,3-Ara <i>f</i>	n.d.	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,1 ± 0,05
1,5-Ara <i>f</i> /1,4-Ara <i>p</i>	8,4 ± 0,04	9,5 ± 0,1	6,5 ± 0,4	6,3 ± 0,3	5,7 ± 0,3
1,2,5-Ara <i>f</i>	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,3	0,8 ± 0,01	0,8 ± 0,04
1,3,5-Ara <i>f</i>	4,3 ± 0,3	5,2 ± 0,1	3,4 ± 0,3	2,8 ± 0,1	2,9 ± 0,4
1,2,3,5-Ara <i>f</i>	6,6 ± 0,5	6,9 ± 0,9	3,1 ± 0,6	2,7 ± 0,1	2,3 ± 0,4
Σ Ara	34,0 ± 3,6	37,0 ± 2,1	23,1 ± 2,5	21,9 ± 0,9	19,7 ± 2,3
t-Gal <i>p</i>	2,9 ± 0,3	3,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,8 ± 0,6	3,3 ± 0,1
1,4-Gal <i>p</i>	3,1 ± 0,1	3,5 ± 0,03	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,2	3,3 ± 0,5
1,6-Gal <i>p</i>	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,003	0,5 ± 0,0002	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,01
Σ Gal	6,3 ± 0,5	6,9 ± 0,1	8,2 ± 0,2	8,5 ± 1,0	7,1 ± 0,6
t-Glc <i>p</i>	1,2 ± 0,04	0,7 ± 0,04	1,0 ± 0,02	1,2 ± 0,1	1,0 ± 0,03
1,4-Glc <i>p</i>	35,8 ± 4,2	30,8 ± 0,3	36,9 ± 2,3	38,4 ± 3,1	41,8 ± 1,6
1,4,6-Glc <i>p</i>	5,7 ± 1,4	7,7 ± 0,1	9,4 ± 0,2	8,6 ± 0,4	9,4 ± 0,2
Σ Glc	42,7 ± 5,6	39,2 ± 0,4	47,3 ± 2,5	48,2 ± 3,6	52,2 ± 1,8
t-Man <i>p</i>	n.d.	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,02
1,4-Man <i>p</i>	2,9 ± 0,8	2,8 ± 0,1	3,6 ± 0,2	4,3 ± 1,3	3,6 ± 0,2
1,4,6-Man <i>p</i>	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,01	0,6 ± 0,0002	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,05
Σ Man	3,4 ± 1,0	3,5 ± 0,1	4,4 ± 0,2	5,4 ± 1,7	4,4 ± 0,3
t-Xyl <i>p</i>	7,8 ± 0,6	7,4 ± 0,1	9,5 ± 0,2	8,5 ± 0,6	9,3 ± 0,6
1,2-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	2,7 ± 0,5	2,5 ± 0,1	3,5 ± 0,01	3,2 ± 0,04	3,6 ± 0,03
1,4-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	1,9 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,1
Σ Xyl	12,4 ± 1,3	11,8 ± 0,3	15,7 ± 0,5	14,2 ± 0,9	15,4 ± 0,7

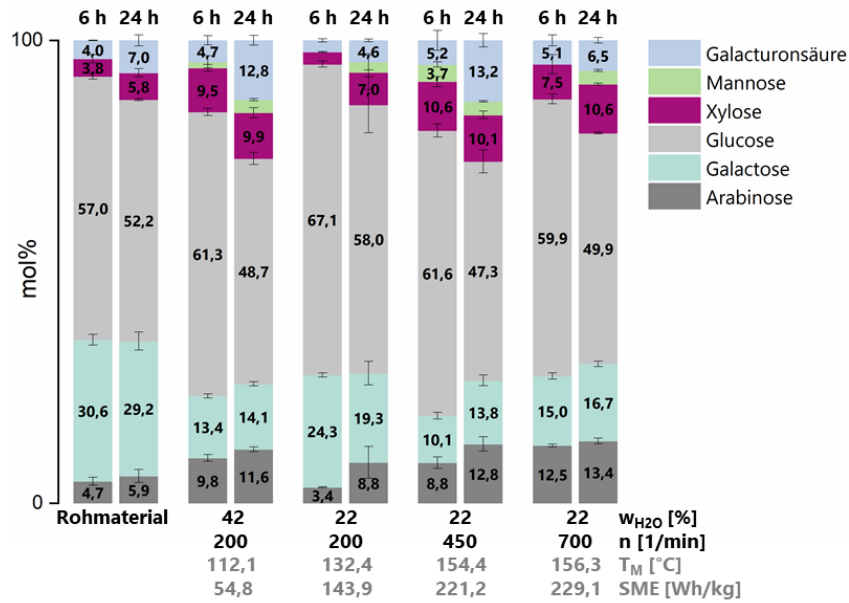
**Tabelle A22: Anteile der partiell methylierten Alditolacetate der Methylierungsanalyse (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der löslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer* (CCR) behandelten Proben.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR, dem Wassergehalt, der Behandlungsdauer und der Scherrate. Rha: Rhamnose, *p*: Pyranose, n.d.: nicht detektiert, t: terminal, Ara: Arabinose, *f*: Furanose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, <sup>a</sup>: Coelution, Anteile bestimmt aus den Flächenverhältnissen der jeweils charakteristischen Fragmentionenpeaks 1,2-Xyl*p*: *m/z* 117, 1,4-Xyl*p*: *m/z* 118

Temperatur CCR $T_{CCR}$ [°C]		120	160	160	160
Wassergehalt $w_{H_2O}$ [%]		10	10	10	40
Behandlungsdauer $t_{CCR}$ [min]	Rohmaterial	1	1	1	1
Scherrate $\dot{\gamma}$ [1/s]		0,001	0,001	150	0,001
1,2-Rha <i>p</i>	n.d.	0,9 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,4	2,1 $\pm$ 0,2
1,2,4-Rha <i>p</i>	0,9 $\pm$ 0,02	1,0 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Rha	0,9 $\pm$ 0,02	1,9 $\pm$ 0,5	2,6 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,8	3,6 $\pm$ 0,3
t-Ara <i>f</i>	33,3 $\pm$ 1,2	28,8 $\pm$ 0,1	25,6 $\pm$ 3,0	26,4 $\pm$ 0,1	28,6 $\pm$ 1,0
t-Ara <i>p</i>	n.d.	0,9 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,03	0,9 $\pm$ 0,1
1,2-Ara <i>f</i>	n.d.	n.d.	n.d.	0,4 $\pm$ 0,002	n.d.
1,3-Ara <i>f</i>	n.d.	3,8 $\pm$ 0,03	3,9 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,005
1,5-Ara <i>f</i> /1,4-Ara <i>p</i>	21,1 $\pm$ 0,4	24,3 $\pm$ 0,4	22,0 $\pm$ 0,3	20,8 $\pm$ 0,5	21,0 $\pm$ 0,7
1,2,5-Ara <i>f</i>	1,3 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,05
1,3,5-Ara <i>f</i>	8,2 $\pm$ 0,5	9,4 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,2	8,7 $\pm$ 0,3	9,1 $\pm$ 0,3
1,2,3,5-Ara <i>f</i>	9,2 $\pm$ 3,0	10,0 $\pm$ 1,0	8,6 $\pm$ 1,1	7,6 $\pm$ 0,06	7,9 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Ara	73,1 $\pm$ 5,2	79,9 $\pm$ 2,1	72,7 $\pm$ 5,1	70,3 $\pm$ 1,2	73,4 $\pm$ 2,3
t-Gal <i>p</i>	1,1 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,6	3,1 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,1
1,4-Gal <i>p</i>	2,3 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 0,6	4,1 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Gal	3,4 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 0,5	7,1 $\pm$ 1,2	7,2 $\pm$ 0,5	8,7 $\pm$ 0,2
t-Glc <i>p</i>	2,4 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,003	0,7 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,01
1,4-Glc <i>p</i>	12,4 $\pm$ 1,9	5,8 $\pm$ 1,5	7,2 $\pm$ 0,8	9,5 $\pm$ 0,3	5,7 $\pm$ 1,1
1,4,6-Glc <i>p</i>	1,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,9	2,3 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 1,1
$\Sigma$ Glc	16,0 $\pm$ 2,2	7,7 $\pm$ 2,4	10,2 $\pm$ 1,2	12,9 $\pm$ 0,6	7,7 $\pm$ 2,2
t-Man <i>p</i>	n.d.	1,0 $\pm$ 0,003	0,5 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,03
1,4-Man <i>p</i>	1,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2
$\Sigma$ Man	1,4 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,2
t-Xyl <i>p</i>	3,5 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,5	4,4 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,3
1,2-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	0,8 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1
1,4-Xyl <i>p</i> <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,004	0,8 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Xyl	5,3 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 0,7	6,2 $\pm$ 0,4	5,7 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 0,5

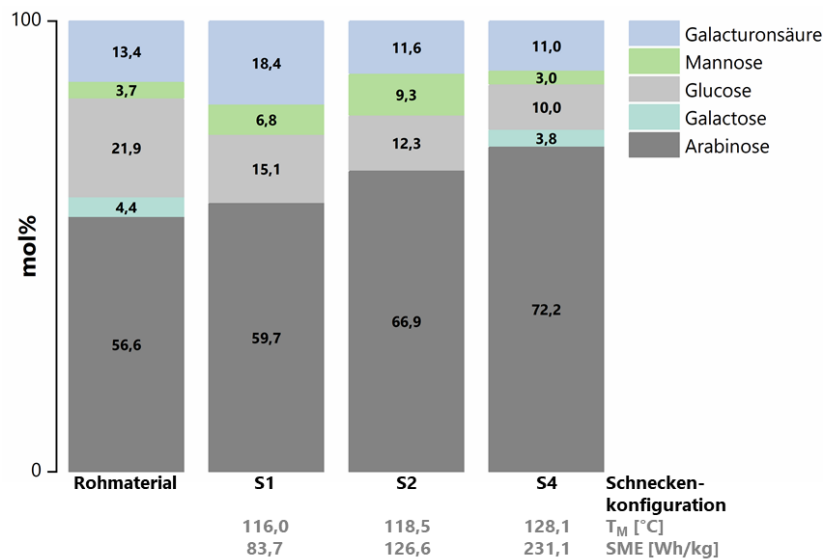
## 9.2 ABBILDUNGEN



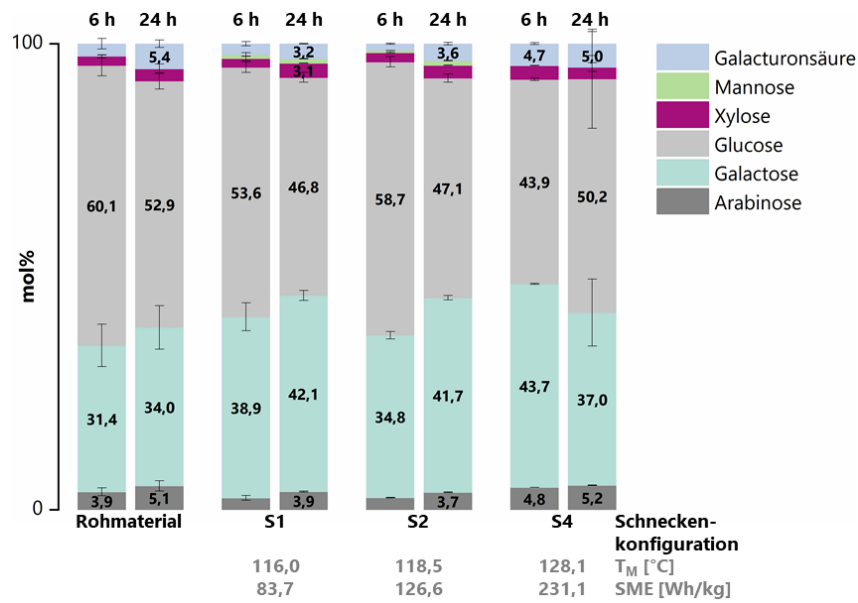
**Abbildung A1: Strukturen und Bezeichnungen der Arabino- und Galactooligosaccharide nach Inkubation mittels *endo*-Arabinanase und *endo*-Galactanase**



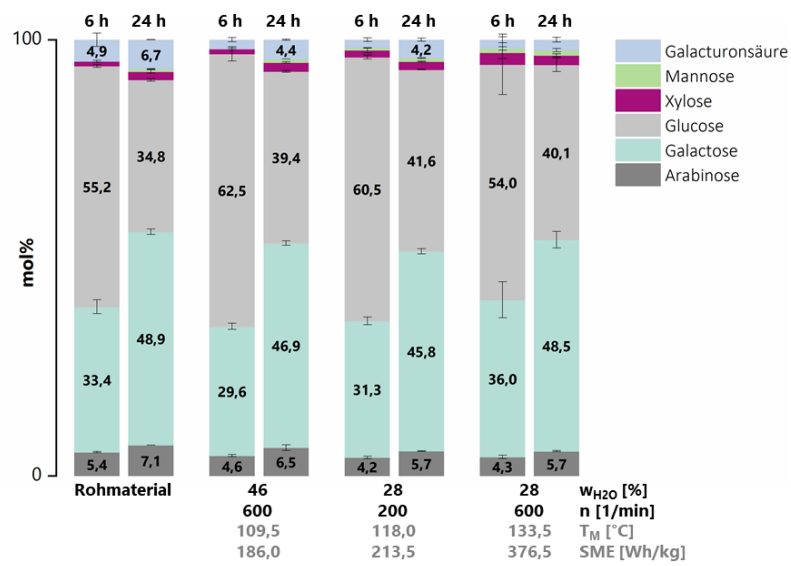
**Abbildung A2: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der nach Fermentation freigesetzten Mono- und Oligosaccharide aus Apfeltrester sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten mit Driselase nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und in der Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.



**Abbildung A3: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=3) der Oligosaccharide der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester und der jeweiligen Extrudate nach Hydrolyse mittels Trifluoressigsäure.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

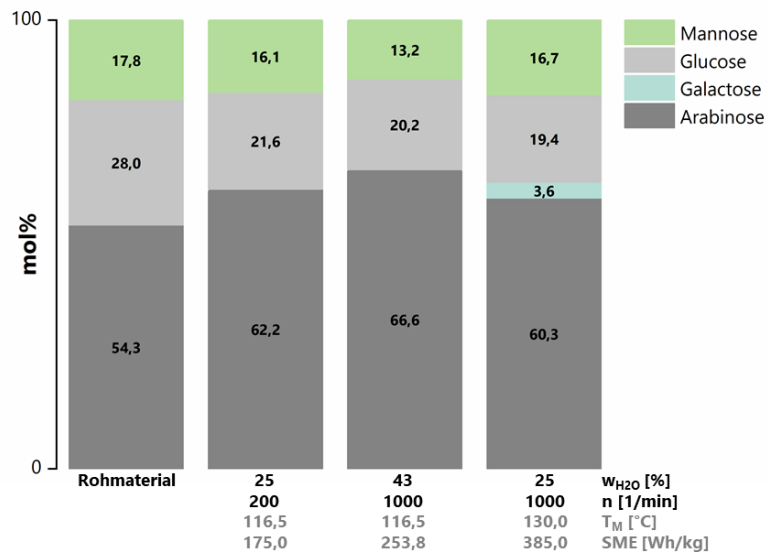


**Abbildung A4: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der nach Fermentation freigesetzten Mono- und Oligosaccharide aus dem enzymatisch behandelten Apfeltrester sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten mit Driselase nach Methanolyse.** Die Extrusionsversuche wurden bei einem konstanten Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$  22 %) und einer konstanten Drehzahl ( $n$  600 1/min) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 120 °C durchgeführt. Die Variation der Schneckenkonfiguration führte zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ). S1: nur Vorwärtselemente, S2: zusätzlich zwei Rückwärtselemente, S4: zusätzlich zwei Rückwärtselemente und ein Knetelement

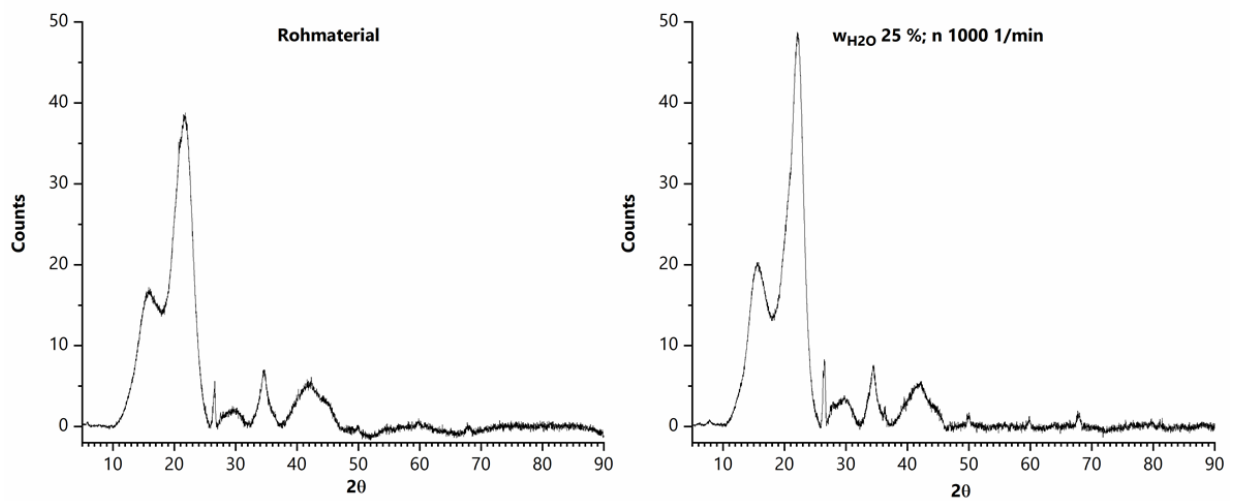


**Abbildung A5: Monosaccharidzusammensetzung (mol% ± Range/2, n=2) der nach Fermentation freigesetzten Mono- und Oligosaccharide aus Kartoffelpülpe sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten mit Driselase nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt (w<sub>H2O</sub>) und der in Drehzahl (n) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen (T<sub>M</sub>) führte.

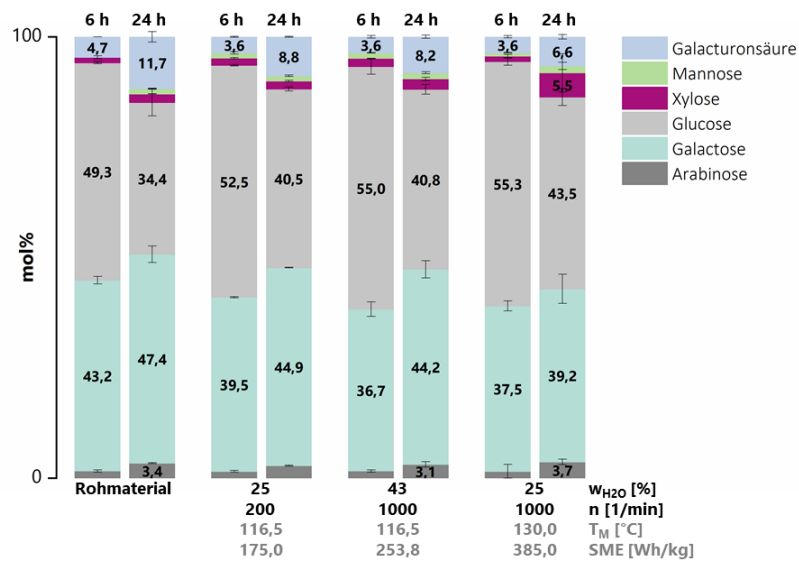




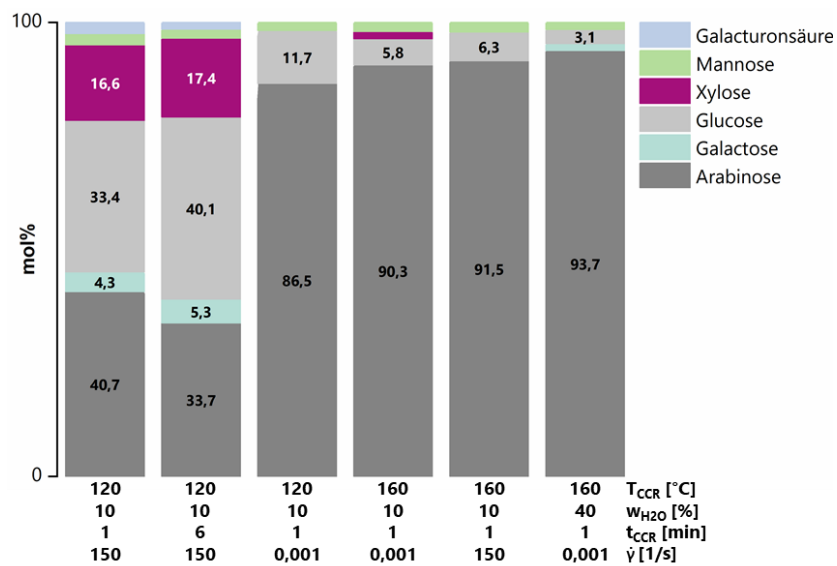
**Abbildung A6: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=3) der Polysaccharide der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus Karottentrestern und der jeweiligen Extrudate nach Hydrolyse mit Trifluoressigsäure.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und der in Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.



**Abbildung A7: Röntgenbeugungsdiffraktogramme des Karottentresters (Rohmaterial, links) sowie eines Extrudats (Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) 25 %; Drehzahl (n) 1000 1/min, rechts) nach Behandlung der Materialien mit Schwefelsäure und Natronlauge**



**Abbildung A8: Monosaccharidzusammensetzung (mol%  $\pm$  Range/2, n=2) der nach Fermentation freigesetzten Mono- und Oligosaccharide aus Karottentrester sowie der jeweiligen Extrudate bei unterschiedlichen Inkubationszeiten mit Driselase nach Methanolyse.** Die Extrusionsbedingungen variierten im Gesamtwassergehalt ( $w_{H_2O}$ ) und der in Drehzahl ( $n$ ) bei einer Gehäusetemperatur der letzten drei Abschnitte von 100 °C, was zu unterschiedlichen spezifischen mechanischen Energieeinträgen (SME) und Materialtemperaturen ( $T_M$ ) führte.



**Abbildung A9: Monosaccharidzusammensetzung (mol%, n=2) der Oligosaccharide der niedermolekularlöslichen Ballaststoffe aus Apfeltrester und der im *Closed Cavity Rheometer (CCR)* behandelten Proben nach Hydrolyse mittels Trifluoressigsäure.** Die Behandlungsbedingungen variierten in der Temperatur des CCR ( $T_{CCR}$ ), dem Wassergehalt ( $w_{H_2O}$ ), der Behandlungsdauer ( $t_{CCR}$ ) und der Scherrate ( $\dot{\gamma}$ ).

## 10 PUBLIKATIONSLISTE

### Publikationen

Schmid, V.; Trabert, A.; Schäfer, J.; Bunzel, M.; Karbstein, H.P.; Emin, M.A. **(2020)**. Modification of apple pomace by extrusion processing: Studies on the composition, polymer structures, and functional properties. *Foods* 9: 1-25.

Schmid, V.; Trabert, A.; Keller, J.; Bunzel, M.; Karbstein, H.P.; Emin, M.A. **(2021)**. Functionalization of enzymatically treated apple pomace from juice production by extrusion processing. *Foods* 10: 1-21.

Schmid, V.; Trabert, A.; Keller, J.; Bunzel, M.; Karbstein, H.P.; Emin, M.A. **(2021)**. Defined shear and heat treatment of apple pomace: Impact on dietary fiber structures and functional properties. *European Food Research and Technology* 247: 2109-2122.

Trabert, A.; Schmid, V.; Keller, J.; Bunzel, M.; Karbstein, H.P.; Emin, M.A. **(2021)**. FEI-Schlussbericht zum Projekt (AiF 20518 N): Modifikation der funktionellen Eigenschaften von obst- und gemüsebasierten Ballaststoffen aus Lebensmittelnebenströmen durch Änderung der Molekülstruktur mittels Extrusion. *FEI Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. Projektdatenbank*

Trabert, A.; Schmid, V.; Keller, J.; Emin, M.A.; Bunzel, M. **(2022)**. Impact of extrusion on polyphenols and dietary fiber-associated proanthocyanidins of apple pomace. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 118: 193-198.

Trabert, A.; Schmid, V.; Keller, J.; Emin, M.A.; Bunzel, M. **(2022)**. Chemical composition and technofunctional properties of carrot (*Daucus carota* L.) pomace and potato (*Solanum tuberosum* L.) pulp as affected by thermomechanical treatment. *European Food Research and Technology* 248: 2451-2470.

### Präsentationsvorträge auf Fachtagungen

Trabert, A.; Schimd, V.; Emin, M.A.; Karbstein, H.P.; Bunzel, M. **(2021)**. Strukturelle Charakterisierung der Ballaststoffpolysaccharide aus Apfeltrester vor und nach thermomechanischer Behandlung mittels Extrusion. *Arbeitstagung des Regionalverbandes Südwest der Lebensmittelchemischen Gesellschaft*, online.

Trabert, A.; Schimd, V.; Keller, J.; Emin, M.A.; Karbstein, H.P. Bunzel, M. **(2022)**. Der Einfluss von Extrusion auf Polyphenole und ballaststoffassoziierte Proanthocyanidine aus Apfeltrestern. *Poster-Flashtalk – Warm-up der Arbeitstagungen der Regionalverbände der Lebensmittelchemischen Gesellschaft*, online.

### Posterbeiträge auf Fachtagungen

Trabert, A.; Schimd, V.; Emin, M.A.; Karbstein, H.P.; Bunzel, M. **(2021)**. Strukturelle Veränderungen von Ballaststoffpolysacchariden aus Apfeltrester unter thermischer und/oder mechanischer Belastung. *49. Deutscher Lebensmittelchemikertag*, online.