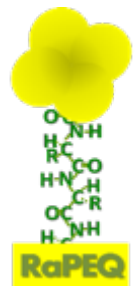


NPZ Innovation GmbH

Forschung in der Pflanzenzüchtung



Rapsprotein für die Lebensmittelherstellung: Erfahrungen und Ausblick aus dem RaPEQ-Projekt



2. NOVEMBER 2021 UFOP Online-Fachtagung

INHALTSSTOFFE VON RAPS UND KÖRNERLEGUMINOSEN FÜR
EINE GESUNDE UND VIELSEITIGE ERNÄHRUNG

Dr. Frank P. Wolter, NPZ Innovation GmbH

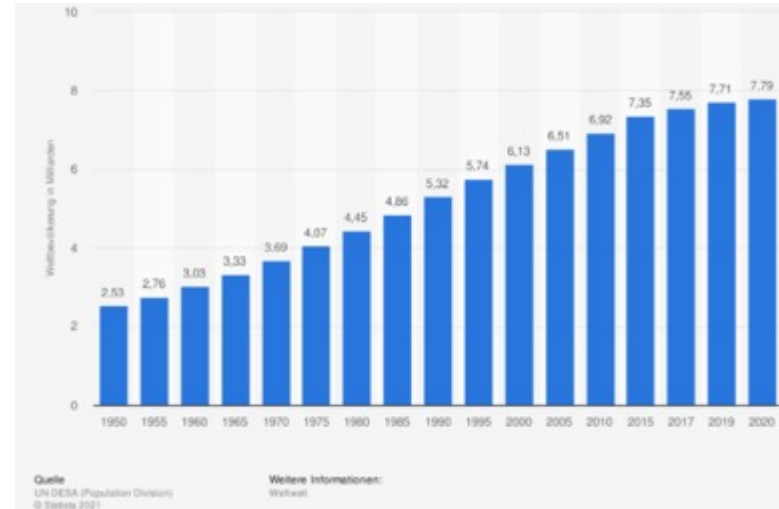


Globale Probleme

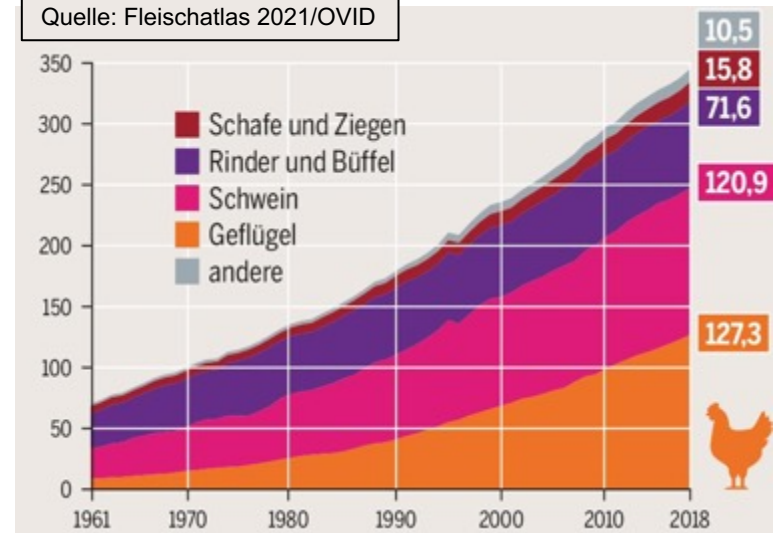
Problem 1: Sicherung der Welternährung bei wachsender Weltbevölkerung.

2005 – 2021: mehr als 1 Mrd. !

Auch der Proteinbedarf wächst und ist mit tierischer Produktion (allein & auf Dauer) nicht zu decken.



Quelle: Fleischatlas 2021/OVID



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität.

Globale Probleme

Problem: Klimawandel / Ressourcenschonung

CO₂-Fußabdruck in der Ernährung bzgl. tier. Eiweiß

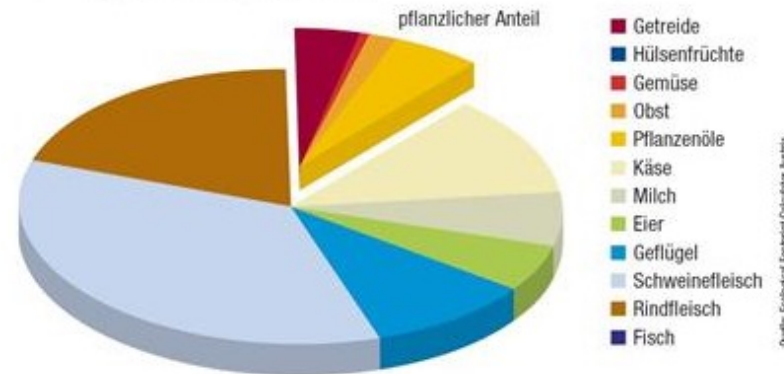
„Rund ein Viertel entfällt beim Ökologischen Fußabdruck auf den Bereich Ernährung.“

Davon wieder 80 Prozent auf den Konsum von tierischen Produkten (Fleisch, Milchprodukte und Eier).“

<https://www.salzburg.gv.at/themen/umwelt/nachhaltigkeit/nachhaltigkeit-fussabdruck/tipps-fuer-den-alltag/ernaehrung>

Anteil der Lebensmittel am Footprint der Ernährung

Ernährung gesamt ca. 1,3 gha (Österreich)



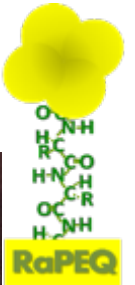
© Quelle: Ecological Footprint Calculator Austria

Problem: „Tierwohl“

Reduktion oder Verzicht auf tierisches Eiweiß



Eine Mehrheit der deutschen Verbraucher beabsichtigt, auf Fleisch zu verzichten, zumindest teilweise



53 % of German consumers deliberately avoid meat products at least sometimes*

* Foris 2021 (Green Legend Veggie-Studie)

Flexitarian motivators are:



Pflanzliche Proteine

=> weniger Fleisch, aber dennoch Protein-reich

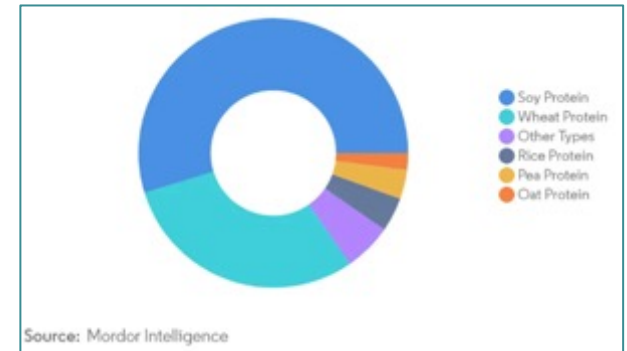
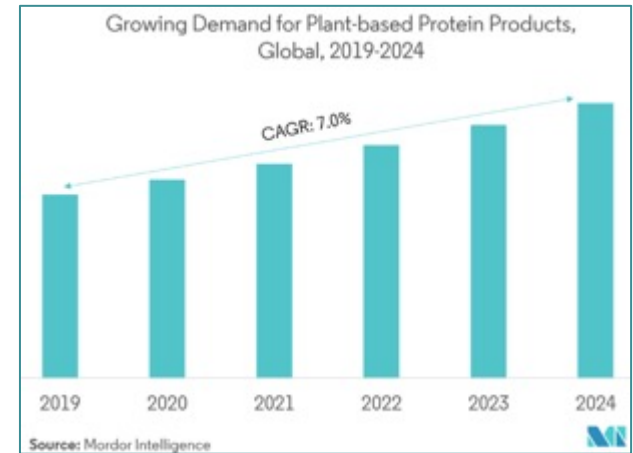
Beitrag zur Lösung: **pflanzliche Proteine**

Marktführer Sojaprotein

aber vor allem importiert: lange Transportwege

Anbau zum Teil ökologisch bedenklich

für Europa: GVO-Freiheit erforderlich



Alternative Lösungsbeiträge

Heimischer Soja-Anbau: In DE vorrangig im Süden

Alternative Quellen: Leguminosen (zB Erbse, Ackerbohne): noch begrenzte Verfügbarkeit



Kann Raps zur Lösung beitragen?



01.11.21

© NPZ

www.npz-innovation.de

Raps

Winterraps: Aussaat im Herbst , schnelle Entwicklung im Frühjahr,
daher höhere und stabilere Ernte

Anbau als Ölpflanze

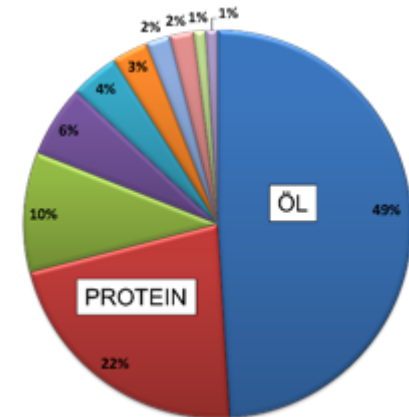
zur Erzeugung von hochwertigem Speiseöl und Biodiesel



Rapskorn enthält erhebliche Mengen an hochwertigem Eiweiß;

Nutzung des Rückstands der Ölgewinnung:

Rapsextraktionsschrot bislang als eiweißhaltiges Futtermittel



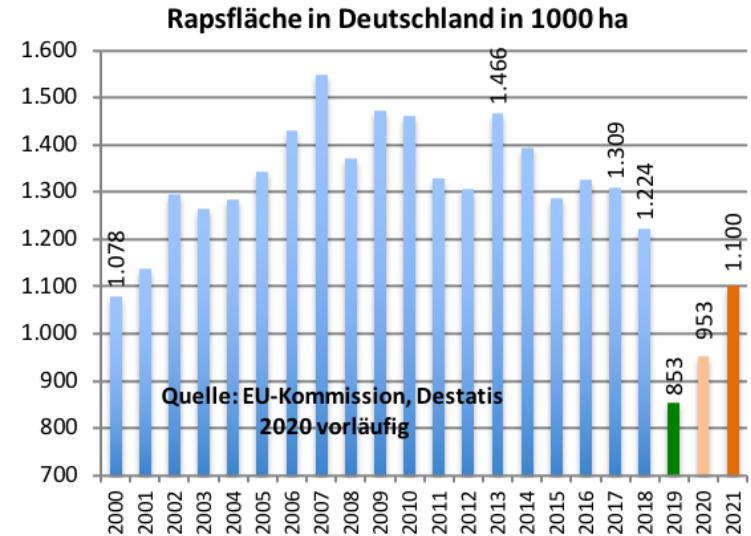
NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Raps

Hauptanbauländer in der EU: DE, FR, PL

In DE: ca. 1 Mio ha Anbaufläche

Erträge von 3 t/ha bis über 4 t/ha



Rapssaaten in Deutschland Ölgehalte und Hektarerträge



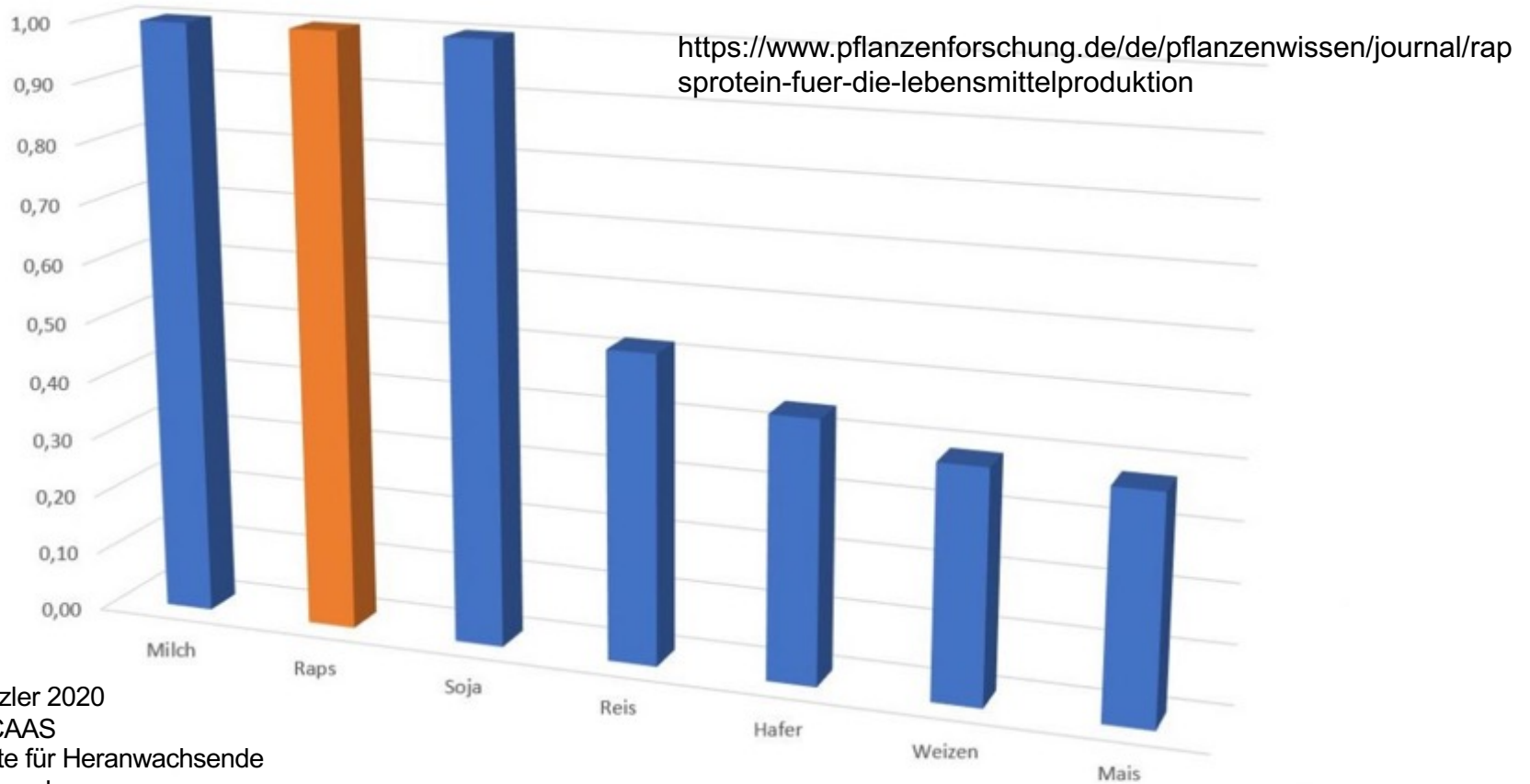
© OVID 2017
Quellen: BMEL, az

ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität

PDCAAS – Aminosäureindex, beschreibt die Proteinqualität



Hertzler 2020
PDCAAS
Werte für Heranwachsende
& Erwachsene
FAO FN Paper 92 2011

ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Rechtliche Einordnung von Rapsprotein:



Rapsprotein ist in den USA zugelassen (FDA Approved)

Zulassung als Novel Food in Europa am 01.07.2014:

3.7.2014

DE

Amtsblatt der Europäischen Union

L 196/27

DURCHFÜHRUNGSBESCHLUSS DER KOMMISSION

vom 1. Juli 2014

zur Genehmigung des Inverkehrbringens von Rapssamenprotein als neuartige Lebensmittelzutat gemäß der Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates

(Bekanntgegeben unter Aktenzeichen C(2014) 4256)

(Nur der deutsche Text ist verbindlich)

(2014/424/EU)

Artikel 1

Rapssamenprotein gemäß der Spezifikation im Anhang darf in der Europäischen Union als neuartige Lebensmittelzutat in Verkehr gebracht werden.



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

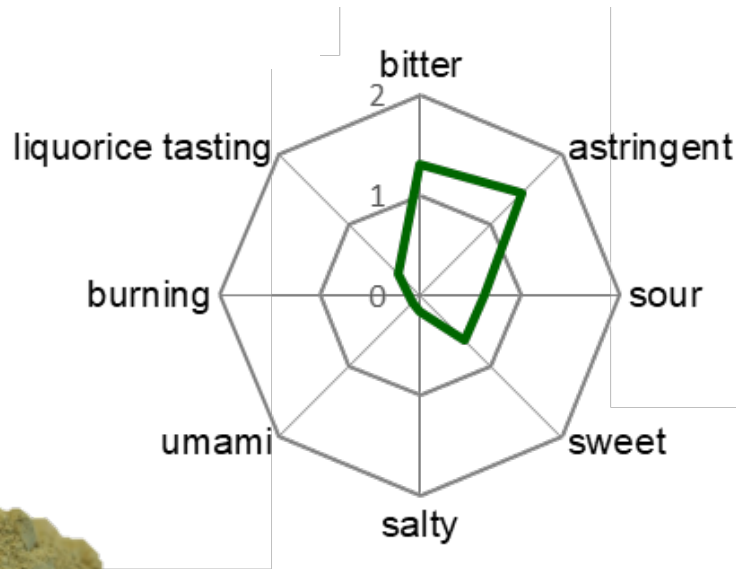
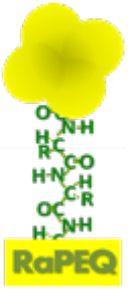
ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Zulassung: ✓

Rapsprotein/ Geschmack



ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Zulassung: ✓

Geschmack: VERBESSERN!



Interessante technofunktionelle Eigenschaften

Wasserbindung
Emulgierverhalten
Schaumbildung



Cruciferin (Globulin)
12-S (ca. 300.000 g/mol)



Napin (Albumin)
2-S (ca. 13.000 g/mol)

Substitut
für Fleisch-,
Erbsen- und
Sojaprotein

Aminosäurespektrum biologisch hochwertig

Human-Ernährung
(PDCAAS 0,93 bis1,0)

ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Zulassung: ✓

Geschmack: VERBESSERN!

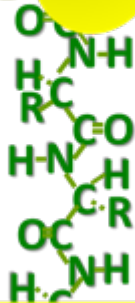
Technofunktionalität: ANPASSEN!

RaPEQ: Rapeseed as a Domestic Protein Source of Excellent Quality for Human Consumption



F. Wolter, B. Weisshaar, B. Wittkop, C. Möllers, C. Dawid,
S. Hadjiali, M.C. Baune, C. Schein, S. Rossmann, J. Ley

- NPZ Innovation GmbH
- Bielefeld University
- Justus Liebig University, Giessen
- Georg-August-Universität Göttingen
- Technische Universität München
- Pilot Pflanzenöltechnologie Magdeburg e.V.
- Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.
- VT Engineering (associated)
- Rügenwalder Mühle
- Symrise AG



RaPEQ



ZIELE

Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Zulassung: ✓

Geschmack: VERBESSERN!

Technofunktionalität: ANPASSEN!

ZIELE: RaPEQ

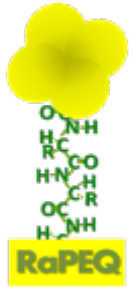
Proteingehalt : ERHÖHEN!

Proteinqualität: ERHALTEN!

Zulassung: ✓

Geschmack: VERBESSERN!

Technofunktionalität: ANPASSEN!



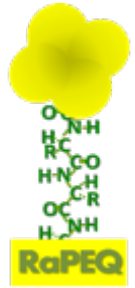
RaPEQ / Laufzeit Etat

Förderprogramm:

- „[Pflanzenzüchtungsforschung für die Bioökonomie](#)“, BMBF

Laufzeit:

- Phase 1: [2016 - 2019](#);
- Phase 2: [2020 - 2023](#)



PLANT BREEDING RESEARCH

RaPEQ

Projektlaufzeit

01.11.2016 – 31.10.2019

Förderkennzeichen

031B0198 (A-G)

Fördersumme

Öffentlich: 2.388.399,00 €

Privat: 129.872,00 €

Gesamt: 2.518.271,00 €

PLANT BREEDING RESEARCH II

RaPEQ 2

Projektlaufzeit

01.02.2020 – 31.01.2023

Förderkennzeichen

031B0888 (A-J)

Fördersumme

Öffentlich: 2.092.743,00 €

Privat: 433.664,00 €

Gesamt: 2.526.407,00 €

RaPEQ Partner

UBI - Bielefeld University, Bernd Weisshaar

JLU - Justus Liebig University Gießen, Benjamin Wittkop

GAU - Georg-August-Universität Göttingen, Christian Möllers

TUM - Technische Universität München, Corinna Dawid

PPM - Pilot Pflanzenöltechnologie Magdeburg, Sara Hadjali

DIL - Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik, Marie Christin Baune

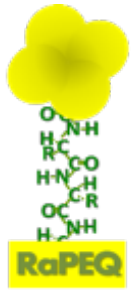
VTE - VT-Engineering, Christian Schein

RÜM - Rügenwalder Mühle, Sören Rossmann

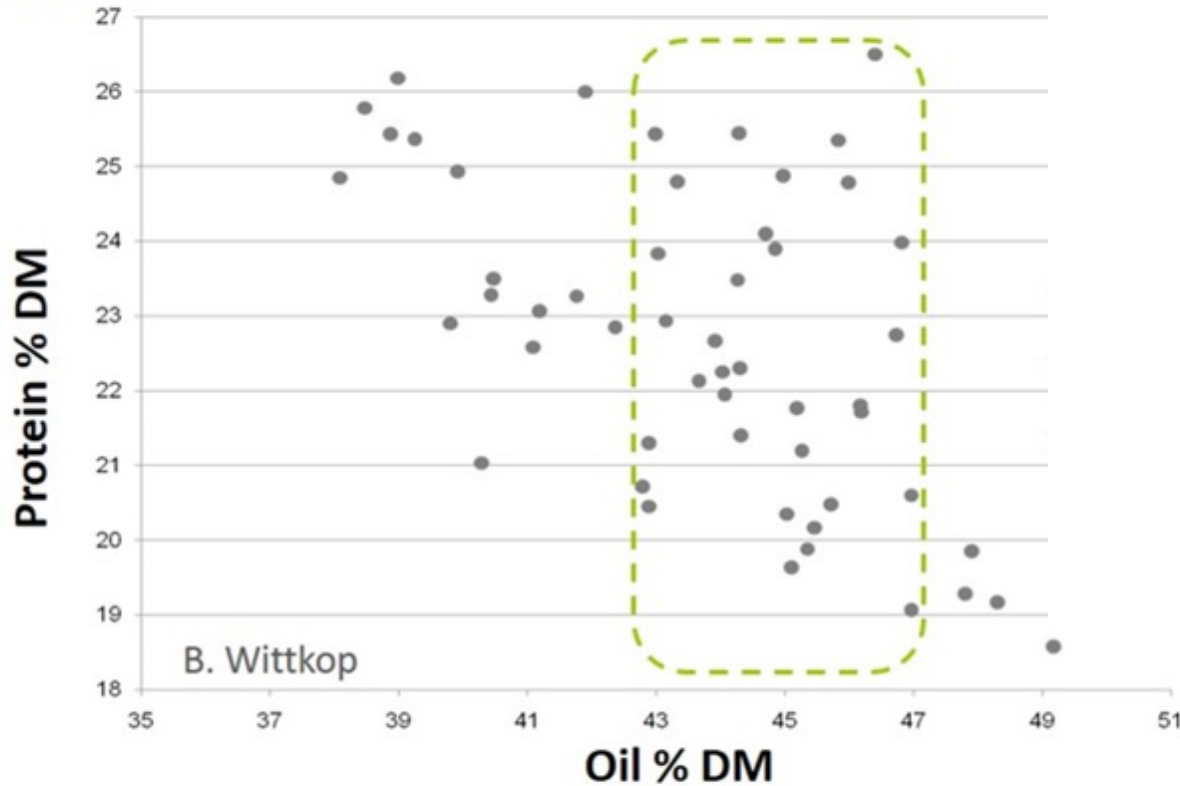
SYM - Symrise AG Holzminden, Jakob Ley

NPZ - NPZ Innovation, Frank Wolter (Koordination)





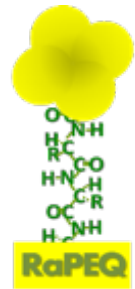
Variation of oil and protein content



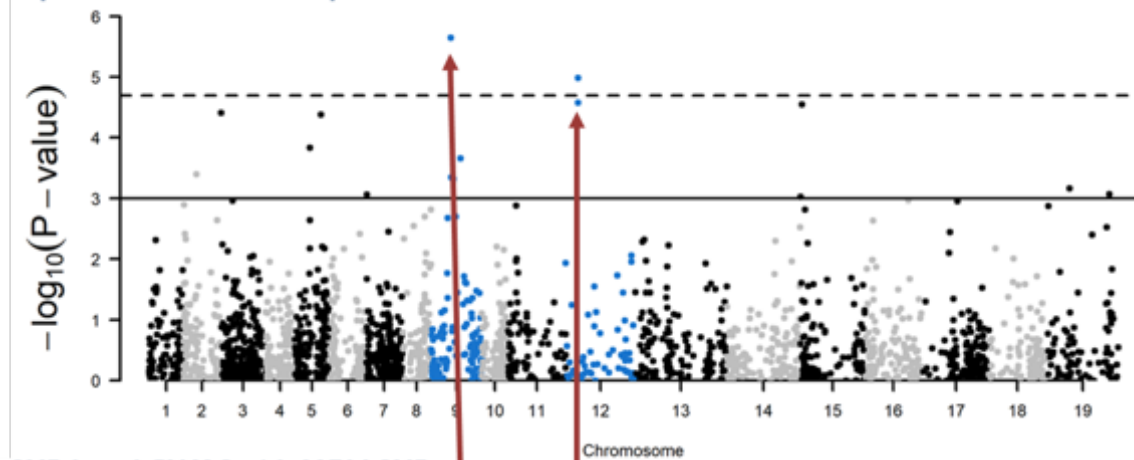
FRIEDT 2014

Broad variation of oil and protein content in rapeseed genotypes!

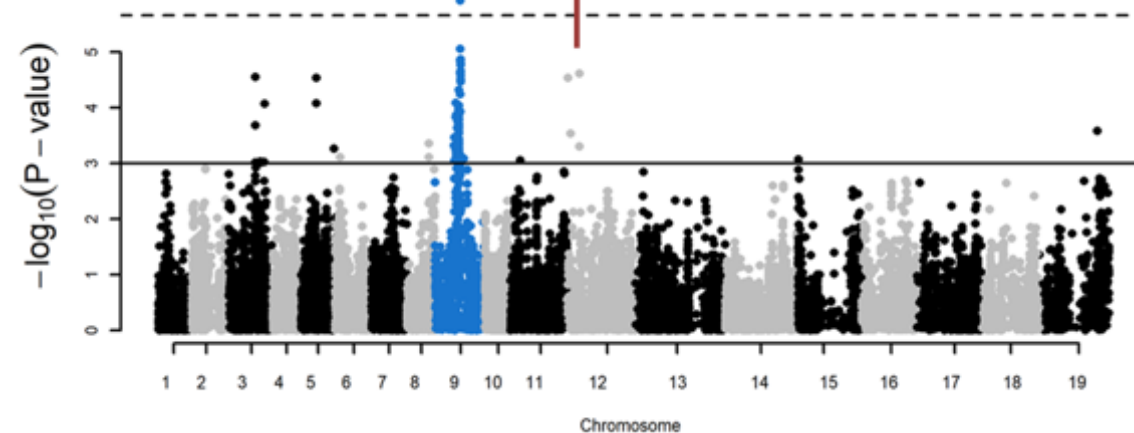
Protein-Gehalt / Haplo GWAS /JLU Gießen



Haplo-GWAS with 2457 haploblocks



SNP-based GWAS with 22716 SNPs

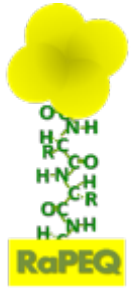


- Combination of single SNPs to one haploblock on chromosome A9

- Additional haploblock appeared on C2, which was not significant using normal GWAS approach.

B. napus nested association mapping population (BNAM, n=320, PreBreedYield)

Protein-Qualität / Cru:Nap Verhältnis



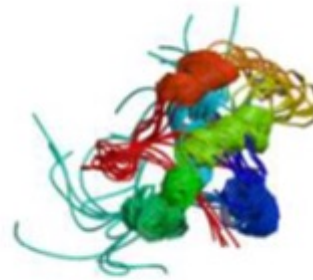
CRU: Globulin 12S

Interessante techno-funktionale Eigenschaften



Cruciferin

**Extrusion
Fleisch-ähnliche Produkte**



Napin

**Molkerei-ähnliche
Produkte**

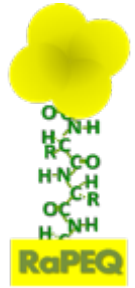
NAP: Albumin, 2S

wasserlöslich, exzellenter Ernährungswert

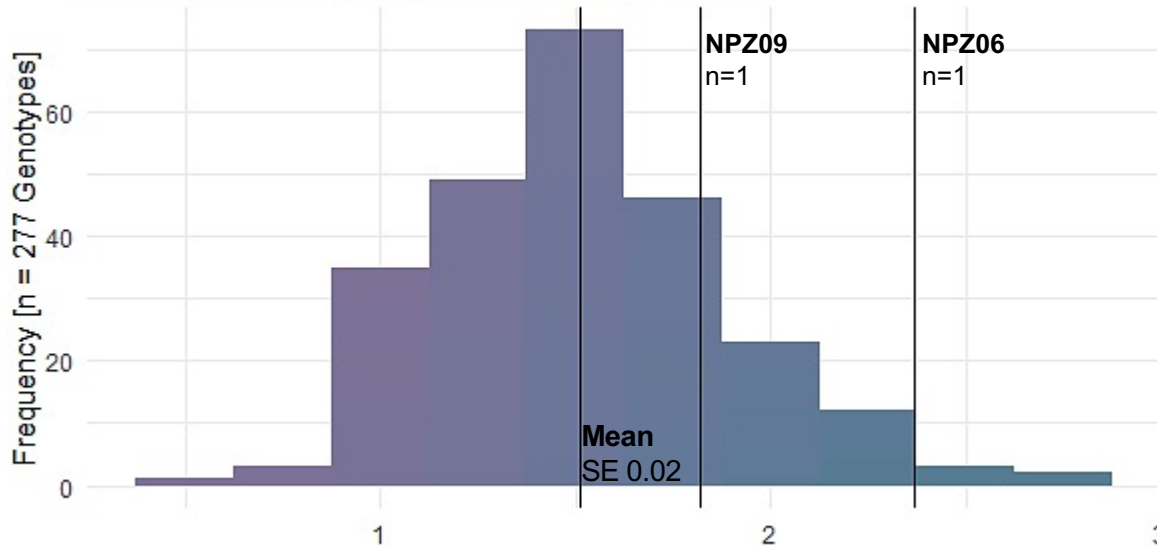


NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Protein Qualität / Cru:Nap Verhältnis / GAU Göttingen



Genetic variation in cruciferin/napin ratio



Preliminary results

Greenhouse 2019 / 2020
 DH population: NPZ06 x NPZ09
 Near-infrared spectroscopy
 (NIRS)

NPZ06
 Hoch Cruciferin

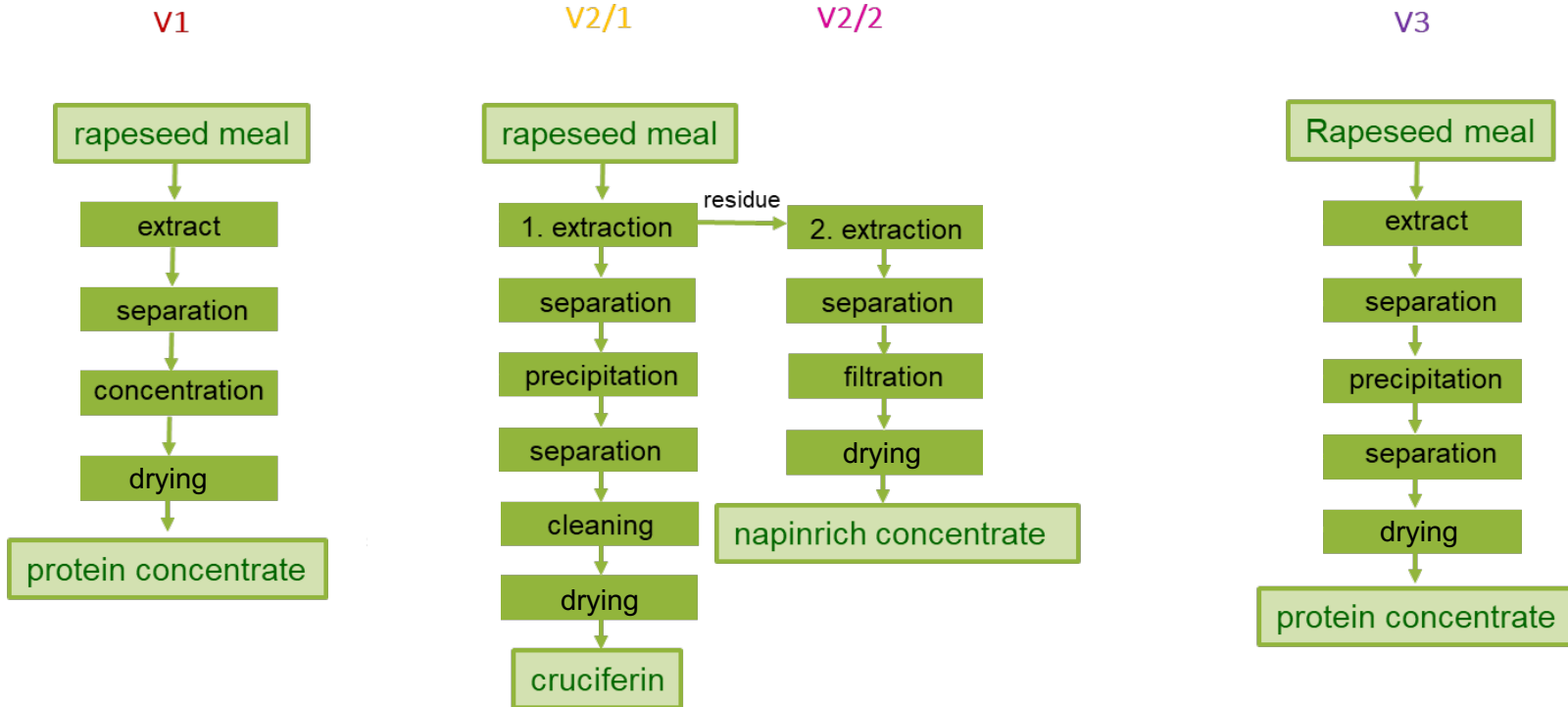
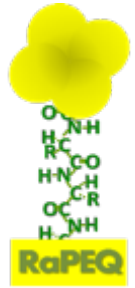
NPZ09
 Hoch Protein
 Niedrig Zellulose
 Niedrig Lignin

Population (n = 258) tested
 in three field environments

Trait	Range	Mean ± SD
Cruciferin (µg NIRS)	10.88 - 51.68	34.37 ± 6.76
Napin (µg NIRS)	1.74 - 36.16	23.62 ± 5.05
Cruciferin/Napin (ratio)	0.62 - 2.74	1.51 ± 0.37

01.11.21

Protein-Qualität/ Cruciferin – Napin Anreicherung / PPM



Pat. WO 2015/154884



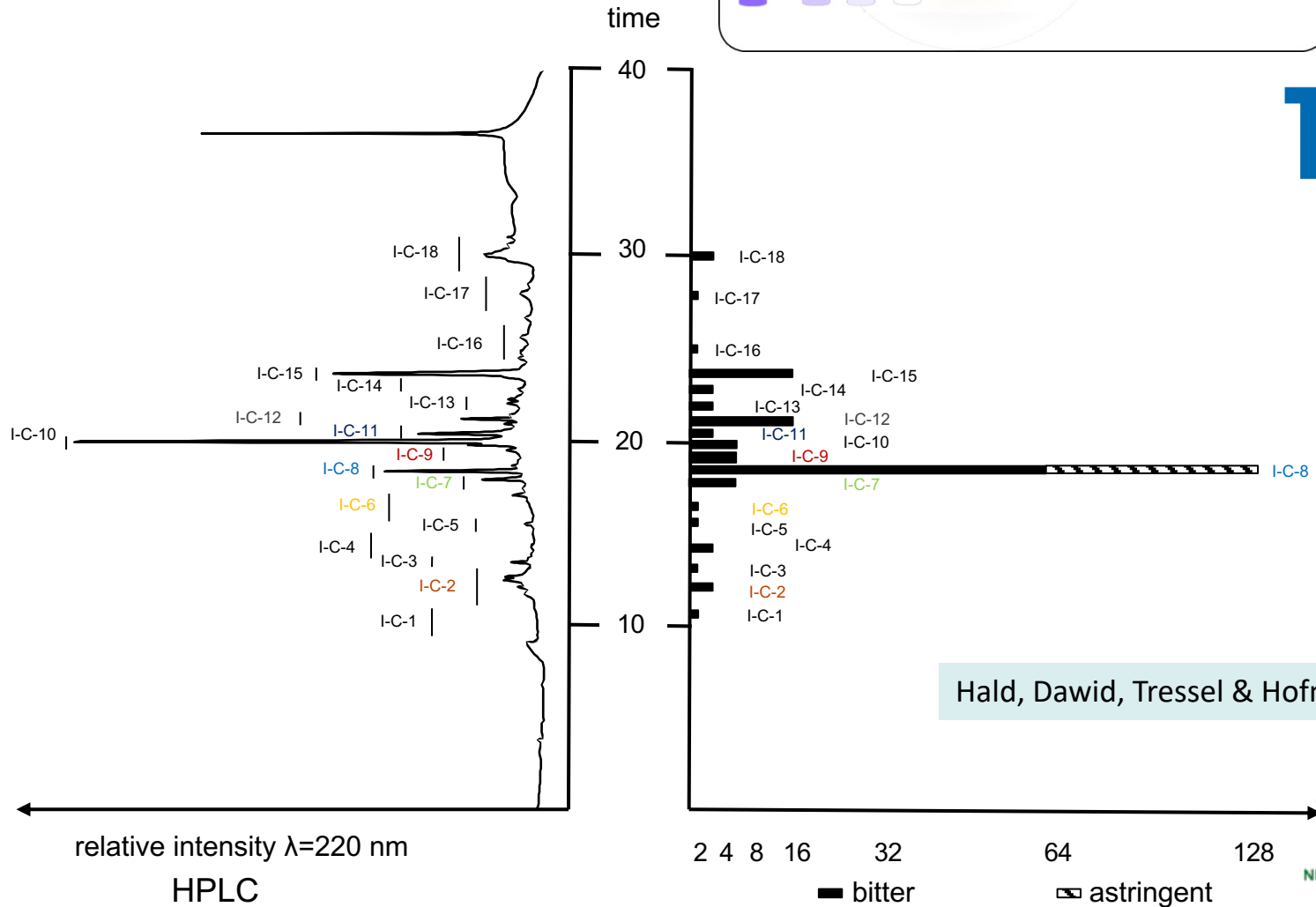
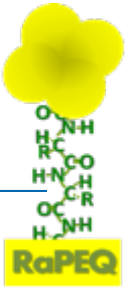
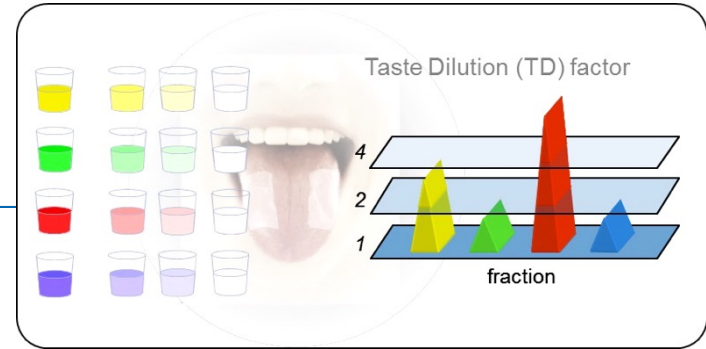
©PPM e. V



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität.

Geschmack/Mol. Sensomik /TUM

Taste dilution analysis (TDA)

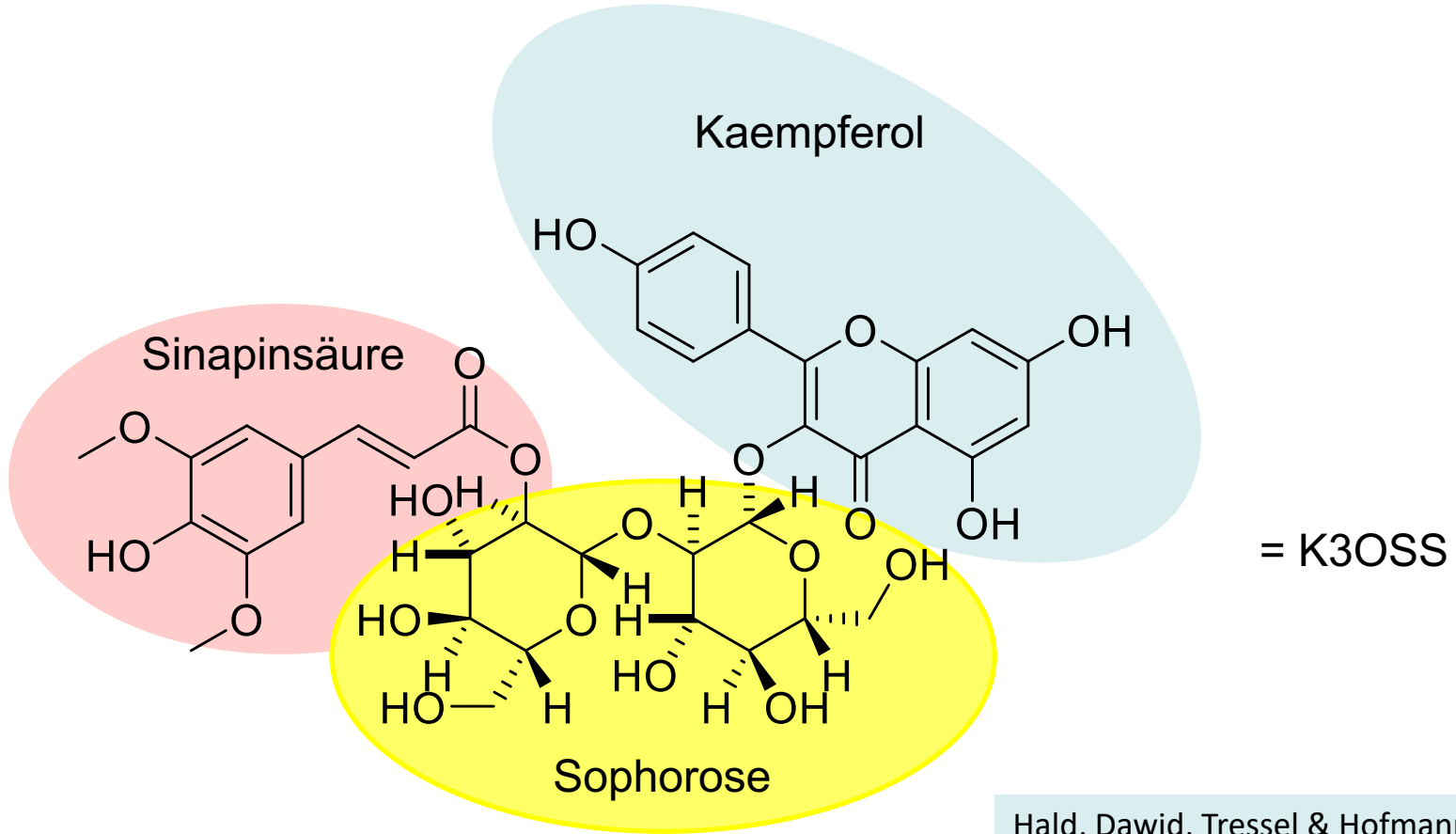
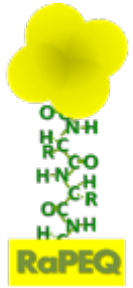


Hald, Dawid, Tressel & Hofmann 2019



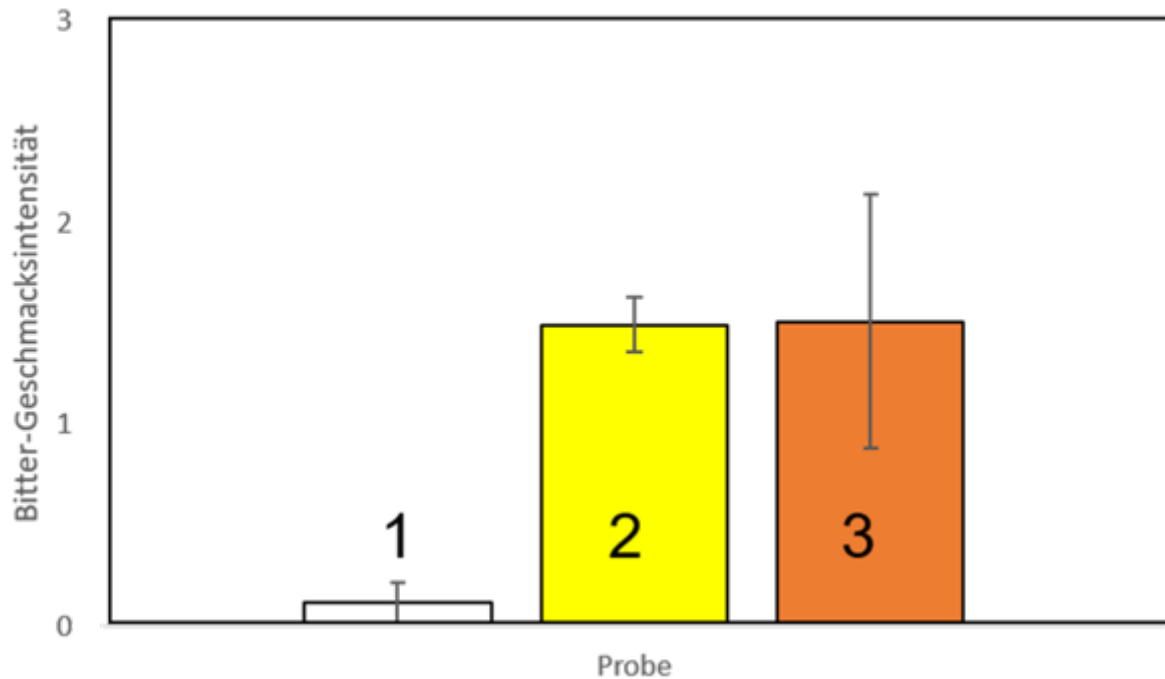
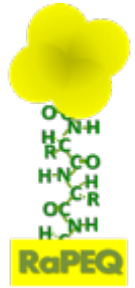
NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Kaempferol 3-O-(2'''-O-sinapoyl)- β -sophorose



Humane Geschmacksschwelle (2.7 mg/Kg)

Geschmack / K3OSS / TU München

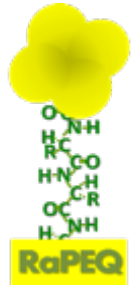


- 1 Casein
- 2 Casein + K3OSS
- 3 Raps-Protein

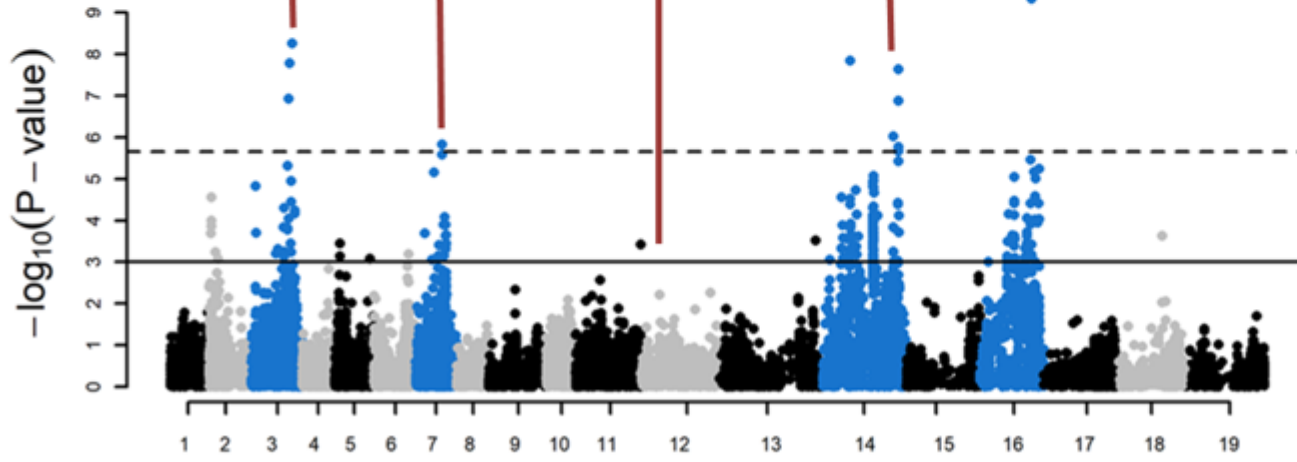
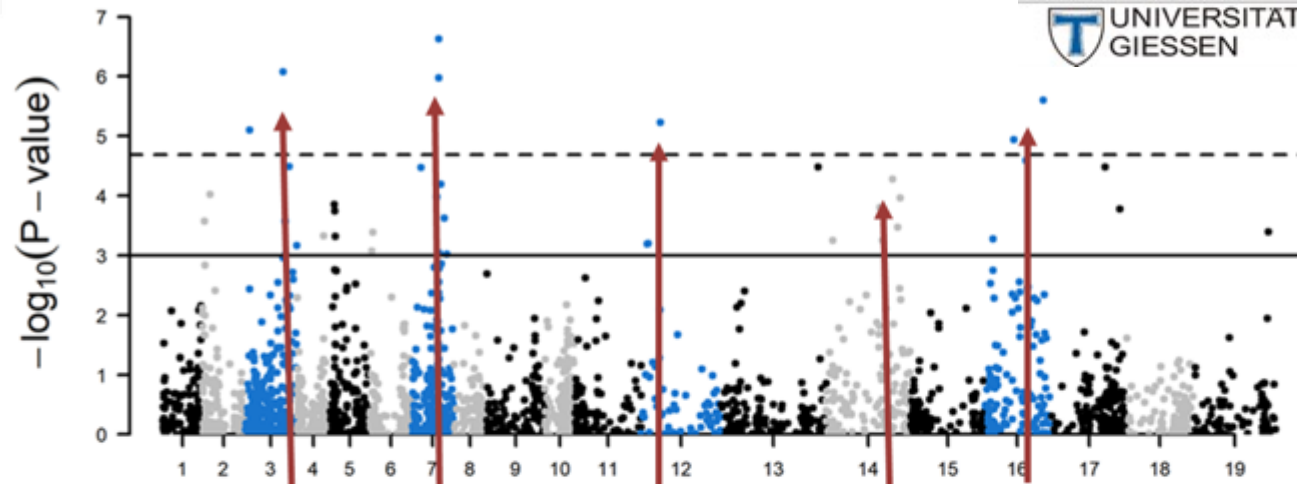


Hald, Dawid & Hofmann 2019

Geschmack / K3OSS Reduction / Haplo GWAS / JLU Giessen



Haplo-GWAS with 2457 haploblocks



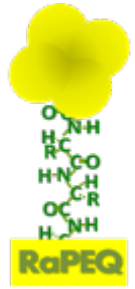
SNP-based GWAS with 22716 SNPs

- Reduction of noise, leading to more clearly visible marker/haploblock-trait associations
- Additional haploblock appeared on C2, which was not significant using normal GWAS approach

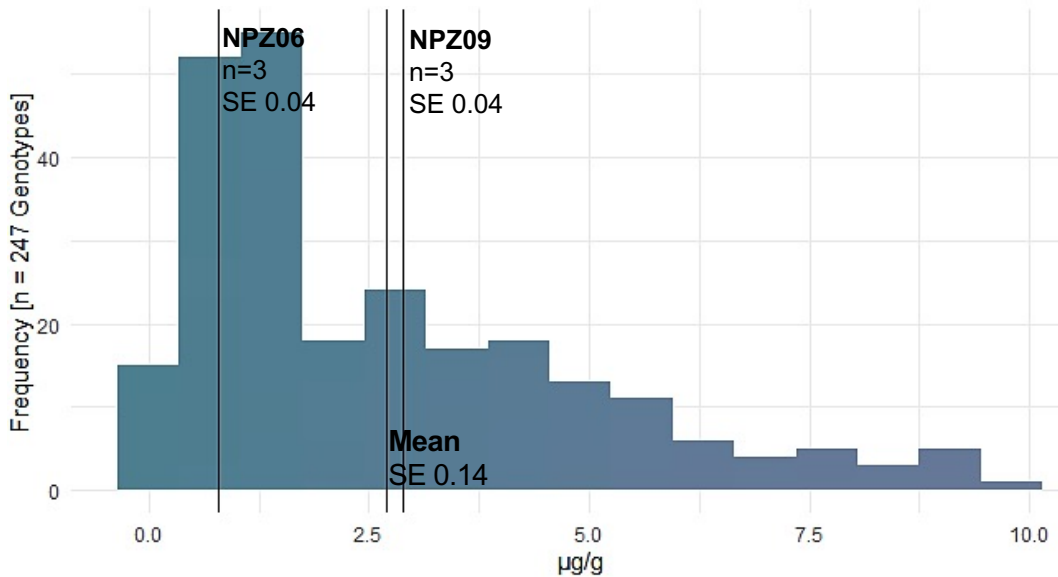
B. napus nested association mapping population (BNAM, n=320, PreBreedYield)



Geschmack / K3OSS Reduction / GAU Göttingen



Genetic variation in K3OSS levels



NPZ06
Hoch Cruciferin
Niedrig K3OSS

NPZ09
Hoch Protein
Niedrig Zellulose
Niedrig Lignin

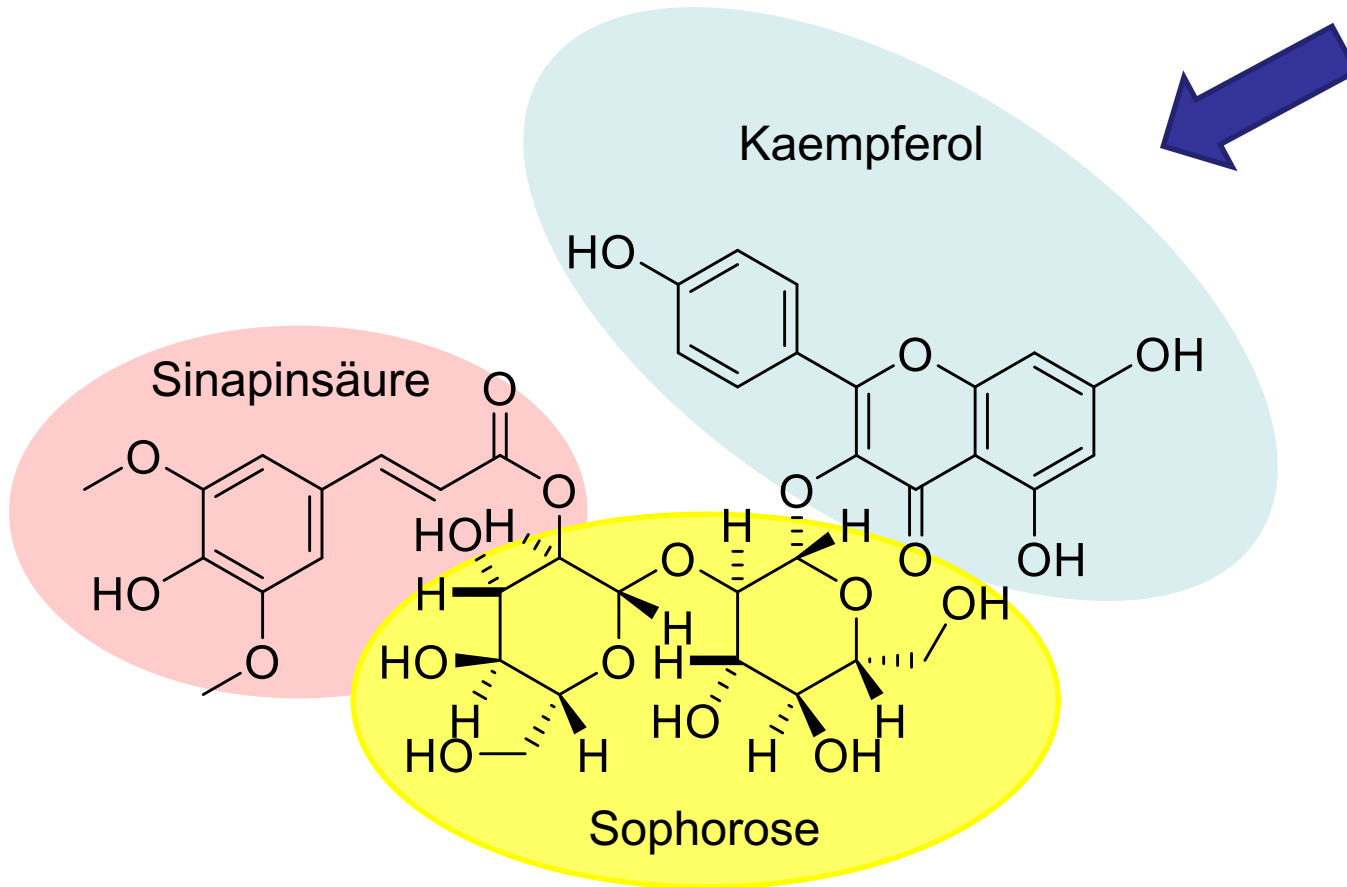
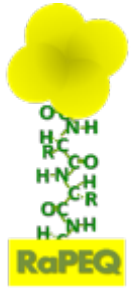
Trait	Range	Mean ± SD
K3OSS (µg/g)	0.03 - 9.68	2.68 ± 2.21
Sum of kaempferol glycosides (µg/g)	207.92 - 1954.63	996.83 ± 360.08

Preliminary results
Greenhouse 2019 / 2020
DH population: NPZ06 x NPZ09
UHPLC-MS/MS

The population (n = 258) is currently tested in field trials in the three environments

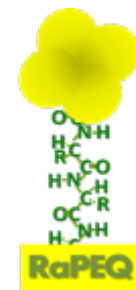


Geschmack / K3OSS Reduktion / Kaempferol



= K3OSS

Geschmack / Kaempferol Reduktion /UBI Bielefeld



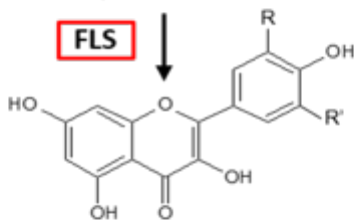
3 x malonyl CoA + 4-coumaroyl CoA

CHS
↓
naringenin chalcone

CHI
↓
naringenin

F3H
↓
dihydroflavonols

FLS

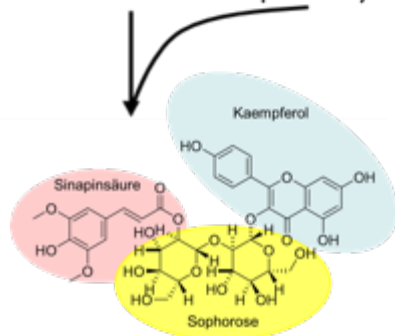


flavonols

R=H, R'=H: kaempferol; R=H, R'=OH: quercetin; R=OH, R'=OH: myricetin

UGTs
↓
glycosylated flavonols

sinapate pathway



K3OSS

= K3OSS

01.11.21

Five flavonol synthase genes are expressed



Gene	leaves (35DAF)	seeds (23DAF)	seeds (35DAF)
BnFLS1_1	22	27	156
BnFLS1_2	14	7	79
BnFLS2_1	2	6	3
BnFLS2_2	0	0	0
BnFLS3_1	0	0	0
BnFLS3_2	0	0	0
BnFLS3_3	44	77	29
BnFLS3_4	2	114	65
BnFLS3_5	0	0	0
BnFLS4_1	0	0	0
BnFLS4_2	1	0	0
BnFLS4_3	0	0	0
BnFLS4_4	0	1	0

The BnFLS gene family consists of 13 members

- 2x FLS1 homeologs
- 2x FLS2 homologs
- 5x FLS3 homologs
- 4x FLS4 homologs

Five BnFLS genes are expressed in *B. napus* Express 617 leaves and seeds (TPMs; DAF = days after flowering)

Functional characterisation *in vivo* & *in planta*

- BnFLS1s are bifunctional → FLS & F3H activity
- BnFLS3s exhibit only F3H activity
- BnFLS2_1 is non-functional

	FLS activity	F3H activity
BnFLS1_1	✓ validated	✓ validated
BnFLS1_2	✓ validated	✓ validated
BnFLS2_1	x	x
BnFLS3_3	x	✓ validated
BnFLS3_4	x	✓ validated

Identify disruptive mutations in *B. napus*

Schilbert, H. et al. 2021



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Geschmack / Maskierung von K3OSS/ SYM

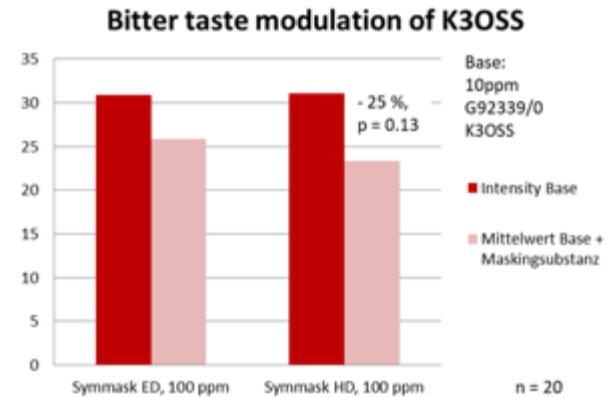
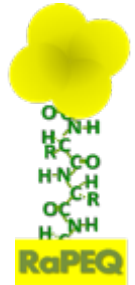
Sensory Results

Status

- First sensory evaluation with standard masker performed

Next Steps

- Isolation of K3OSS fractions for sensory screening
- Setup masking trials
- Select potential masking compounds based on cellular test system



Cellular Screening

Status

- Potential as cellular screening system shown

Next Steps

- Testing of K3OSS
- Combine with known antagonists
- Select potential masking compounds



Leibniz-Institut
für Lebensmittel-Systembiologie
an der Technischen Universität München



universität
wien
Fakultät für Chemie



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Technologie / Prozess-Optimierung / PPM DIL

Modifications on established protein extraction procedures

V2-1, cruciferin-rich V2-2, napin-rich

- pH Conditions (Opt.1)
- pH Conditions + additional de-oiling Step (Opt.2)

Effects on:

- Protein Recovery & Purity
- Foam Volume & Stability
- Emulsification Capacity
- Composition
- ...

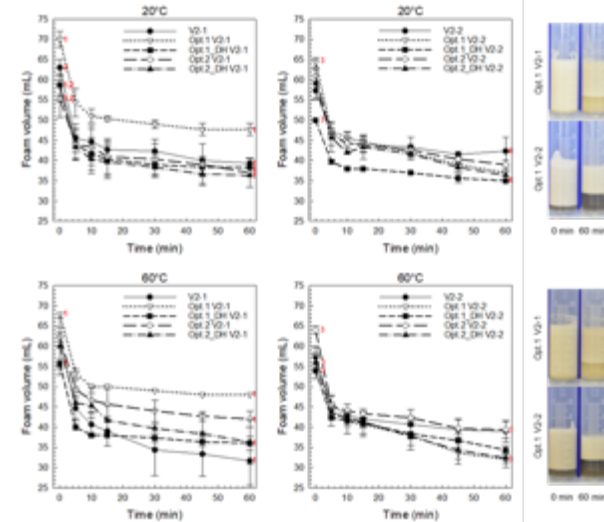
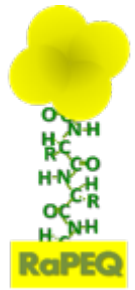


Figure 3, Foaming behaviour of rapeseed protein

Ergebnis:

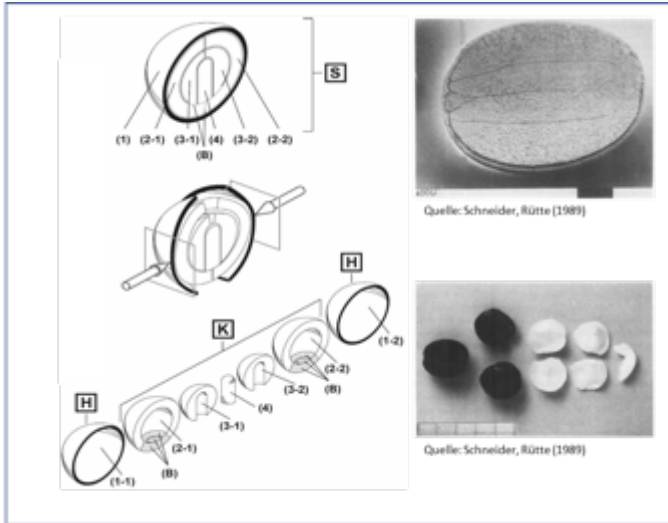
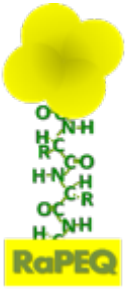
- Optimierte pH Bedingungen => Erhöhung der Cuciferin-Funktionalität



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Technologie / Schälung / VTE & DIL

Schälung der Rapssaat



Schälung:
=> heller & reiner

Mehl von geschälter Rapssaat



Proteinisolat von geschälter Rapssaat



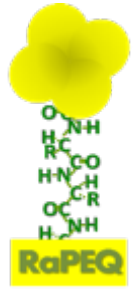
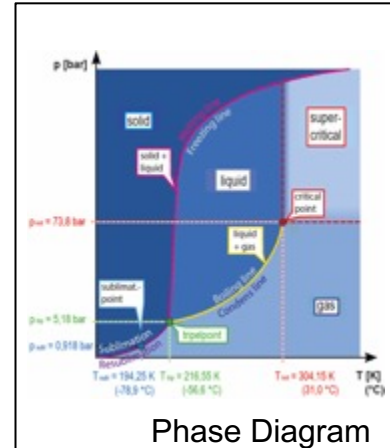
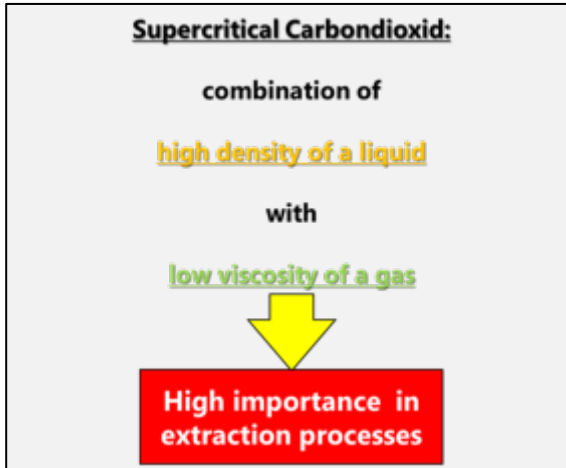
Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Technologie / Superkritisches CO₂ / DIL VTE PPM

Supercritical Carbondioxid (scCO₂)



Deutsches Institut für
Lebensmitteltechnik e.V.

Nachbehandlung mit scCO₂:
Fettgehalt => reduziert
Nicht-Protein Komp. => entfernt
Proteingehalt => erhöht



pressing plant with CO₂ feed



CO₂ injection into strainer



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

Technologie / Direktnutzung Presskuchen /DIL VTE PPM

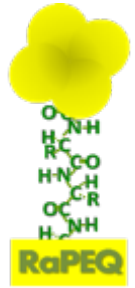
Direktnutzung von Presskuchen zur Extrusion



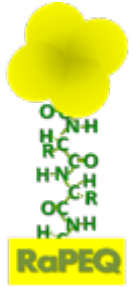
Texturized rapeseed press-cake:
First results

Erforderliche Optimierung:

- Proteingehalt erhöhen
- Fettgehalt reduzieren
- Geschmack verbessern



Fazit



Rapsprotein hat das Potential als wichtige Quelle für

- nachhaltig produziertes,
- gesundes,
- schmackhaftes,
- technofunktional vielseitiges

pflanzliches Protein

für die menschliche Ernährung
aus heimischer Produktion

RaPEQ ist auf gutem Wege, um hierzu wichtige Beiträge zu leisten.



Quelle: NPZ / Hald, Dawid & Hofmann 2019

Vielen Dank!

01.11.21



NPZ INNOVATION
Wir forschen für Qualität

www.npz-innovation.de