
Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 3 TaReCa - Kaskadennutzung gartenbaulicher Biomasse für eine ressourceneffiziente Produktion von wertvollen bioaktiven Substanzen



TaReCa – Cascade utilization of horticultural biomass for a resource efficient production of valuable bioactive substances

Alexandra Wormit¹, Stefanie Bröring², Laura Carraresi², Laura Junker⁵, Andreas Jupke³, Manuel Lück³, Georg Noga⁴, Julia Jessica Reimer¹, Simone Schmittgen⁴, Björn Thiele⁵, Joana Wensing², Björn Usadel^{1,5}, Anika Wiese-Klinkenberg⁵

¹ RWTH Aachen, Institut für Biologie 1, Lehrstuhl für Botanik und Molekulargenetik, Worringerweg 3, 52074 Aachen, awormit@bio1.rwth-aachen.de

² Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Lebensmittel- und Ressourcenökonomik, Nussallee 21, 53115 Bonn

³ RWTH Aachen, Aachener Verfahrenstechnik, Lehrstuhl für Fluidverfahrenstechnik, Forckenbeckstrasse 51, 52074 Aachen

⁴ Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Auf dem Hügel 6, 53121 Bonn

⁵ Forschungszentrum Jülich, Institut für Bio- und Geowissenschaften: Pflanzenwissenschaften (IBG-2), Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich

DOI 10.5073/jka.2018.460.003

Zusammenfassung

Viele pflanzliche Sekundärmetabolite haben antioxidative oder andere bioaktive Eigenschaften, weshalb sie einerseits wichtige Bestandteile der menschlichen Ernährung sind, andererseits aber auch als pharmazeutische Verbindungen oder als Substrat für die chemische Synthese von bioaktiven Substanzen verwendet werden. Pflanzen induzieren die Produktion solcher nutzbaren Sekundärmetabolite wie z.B. Flavonoiden als Reaktion auf abiotischen Stress.

Die Produktion von Gemüse und Früchten in Gewächshäusern hinterlässt große Mengen an ungenutzter pflanzlicher Biomasse, welche eine potentielle Ressource für die Gewinnung wertvoller Metabolite darstellt. Durch eine kaskadenartige Verwendung von Gartenbaukulturen zur Produktion von Früchten und Gemüse mit einer anschließenden Gewinnung hochwertiger Substanzen aus der verbleibenden Restbiomasse würde ein erheblicher Mehrwert generiert.

Das Projekt TaReCa bearbeitet die Entwicklung einer maßgeschneiderten Kaskadenverwertung von Paprikapflanzen-Restbiomasse aus dem Gartenbau. Dabei soll der pflanzliche Sekundärmetabolismus durch spezifische abiotische Stressbedingungen nach der Fruchternte gezielt induziert werden, um die Konzentrationen der Zielmetaboliten zu steigern. Durch umweltfreundliche und wirtschaftliche Extraktionsprozesse und eine anschließende Verwertung des verbleibenden Pflanzenmaterials in einer Bioraffinerie wird die Wertschöpfungskette erweitert. Eine Analyse der Anwendungsgebiete sowie Untersuchungen zur Akzeptanz der induzierten Inhaltsstoffe, Prozesse und Technologien werden helfen, das Marktpotenzial der Restbiomasse für die Nutzung in Kaskaden zu evaluieren. Die maßgeschneiderte Nutzung von Gartenbaubiomasse durch Lebensmittelproduktion, Extraktion bioaktiver Sekundärmetabolite und Bioraffinerien kann wirtschaftlich relevante, biobasierte Produkte für industrielle Anwendungen erzeugen und somit zur Entwicklung einer nachhaltigen, effizienten und integrierten Bioökonomie beitragen, ohne mit der Lebensmittelproduktion zu konkurrieren.

Stichwörter: Kaskadennutzung, Restbiomasse, Paprika, Sekundärmetabolite, abiotischer Stress

Abstract

Many plant secondary metabolites have antioxidant or pharmaceutically relevant properties, which makes them important components of the human diet, but also as pharmaceutical compounds or for the chemical

synthesis of bioactive substances. Plants induce the production of secondary metabolites, e.g. flavonoids in response to environmental stress stimuli.

The production of vegetables and fruits in greenhouses leaves huge amounts of so far under-utilized biomass after fruit harvest, which is a potential source for production of valuable metabolites. A cascade utilization of horticultural crops to produce fruits and vegetables with subsequent extraction of high quality compounds would generate significant added value.

The project TaReCa is working on the development of a tailored cascade utilization of bell pepper plant residues from horticulture. The secondary metabolism will be induced by specific abiotic stress treatments after the last fruit harvest, in order to increase the concentrations of the target metabolites. Eco-friendly and economical extraction processes and subsequent utilization of the remaining plant material in a biorefinery will expand the value chain. An analysis of the application areas as well as studies on the acceptance of the induced ingredients, processes and technologies will help to evaluate the market potential of the residual biomass for the proposed cascaded use. The tailored utilization of horticultural biomass in food production, extraction of bioactive secondary metabolites and biorefineries can produce economically relevant bio-based products for industrial applications and thus contribute to the development of a sustainable, efficient and integrated bioeconomy without competing with food production.

Keywords: cascade utilization, residual biomass, bell pepper, secondary metabolites, abiotic stress

Einleitung

Pflanzen produzieren eine große Vielfalt an niedermolekularen, bioaktiven Verbindungen, sogenannte Sekundärmetabolite (SM), die für Anpassungen an die Umwelt und Verteidigung gegen Krankheitserreger eine wichtige Rolle spielen. Die Menschheit verwendet seit Jahrhunderten eine Vielzahl von Arzneipflanzen wegen der antioxidativen, antimikrobiellen und/oder entzündungshemmenden Eigenschaften dieser Sekundärmetabolite (SM). Da SM wichtige Bestandteile der menschlichen Ernährung sind und eine wichtige Quelle für pharmazeutische Verbindungen (EXPÓSITO et al. 2009, KRISHNA et al 2008) darstellen oder als Substrate für die chemische Synthese von bioaktiven Substanzen (ROHLOFF et al. 1998, LIPSHUTZ et al. 2002) genutzt werden können, werden die Klassen der SM auch kontinuierlich nach Substanzen mit neuartigen oder bioaktiven Eigenschaften durchsucht. Die Gruppe der Flavonoide ist besonders interessant, da sie antioxidative Aktivität besitzen und in Extrakten zum Beispiel in der Nahrungs- und Kosmetikbranche als natürliche Antioxidantien eingesetzt werden (PESCHEL et al 2006, MASSINI et al. 2016).

SM weisen eine enorme chemische Diversität und Komplexität auf, wodurch oftmals die reine chemische Synthese wirtschaftlich nicht praktikabel ist. Die langen, oft noch unbekannteren Biosynthesewege von SM (SONG et al 2014) erschweren den biotechnologischen Einsatz von Mikroorganismen für die Biosynthese (Ro et al. 2006). Die Extraktion aus Wildpflanzen, Gewebekulturen oder Pflanzen, die im Ackerbau oder in vitro speziell für die Extraktion von SM angebaut werden, bleibt in vielen Fällen trotz eventuell niedriger Erträge die beste Versorgungsquelle.

Abgesehen von Arzneipflanzen produzieren auch angebaute Kulturpflanzen relevante SM (TAYLOR und FRASER 2011; MUKHERJEE et al. 2013; TANG et al.2010; FRIEDMAN, et al. 2009; FRIEDMAN 2013) und Pflanzenextrakte oder –Metaboliten mit antioxidierender Wirkung aus landwirtschaftlichen Nebenprodukten werden als wichtige Alternative zu synthetischen Antioxidantien für eine sichere Lebensmittel- und Kosmetikkonservierung anerkannt (BALASUNDRAM et al. 2006). Paprika (*Capsicum annuum*) ist das am fünft häufigsten konsumierte Gemüse in Deutschland (Das STATISTIK-PORTAL, 2010). Seit einigen Jahren steigt der Anteil von Gewächshausfläche für Paprika in Deutschland (93 ha im Jahr 2017, Das STATISTIK-PORTAL, 2015), wodurch zunehmend auch größere Mengen an Biomasseresten nach der Ernte entstehen.

Paprika gehört zur Solanaceae-Familie, die dafür bekannt ist, in ihren Früchten eine Vielzahl von SM zu produzieren, z.B. Flavonoide, Zimtsäuren, Capsaicinoide, Capsionoide, und andere

Phenylpropanoide, (WAHYUNI et al.2013). Auch die grünen Paprikastängel enthalten hohe Mengen dieser Verbindungen, und weisen antioxidative Aktivität und einen hohen Gehalt an Gesamtphenolen, Gesamtflavonoiden und Capsaicin auf (CHEN und KANG, 2013). Die Zusammensetzung von SM in Blättern und Stängeln von Paprika ist jedoch noch sehr wenig erforscht.

Die Produktion von pflanzlichen SM kann in Reaktion auf biotische oder abiotische Stressbedingungen signifikant erhöht werden (LØVDAL et al. 2010; DOMÍNGUEZ-PERLES et al. 2010; SELMAR und KLEINWÄCHTER, 2013; RAMAKRISHNA und RAVISHANKAR, 2011). Eine Steigerung der Menge an Polyphenolen und des antioxidativen Potenzials unter Stressbedingungen wurde mehrfach beobachtet(LØVDAL et al. 2010; LARBAT et al. 2014; BÉNARD et al. 2011; BÉNARD et al. 2009), auch eine Anreicherung spezifischer Inhaltsstoffe von besonderem Interesse kann durch Stressapplikation erreicht werden (CAMPBELL et al.2016). Zum Beispiel wurde in verschiedenen Pflanzenarten gezeigt, dass die Flavonoid-Biosynthese durch Nährstoffmangel, starke Lichtintensität und Kälte stimuliert wird (LILLO et al.2008; LØVDAL et al. 2010), während Trockenstress die Bildung von phenolischen Verbindungen, Di- und Triterpenoide, Alkaloide und andere SM bis zu 10-fach induziert (SELMAR und KLEINWÄCHTER, 2013). Die Möglichkeit den Sekundärmetabolismus von Gemüse und in Früchten gezielt zur Produktion von SM zu beeinflussen, wurde bereits evaluiert, um SM in Brokkoli und in Karotten nach Ernte (JACOBO-VELÁZQUEZ und CISNEROS-ZEVALLOS, 2012; VILLARREAL-GARCÍA et al. 2016) oder in Früchten (z.B. Tomate und Erdbeere) durch Stresse während der Anzucht (DE PASCALE et al. 2001; KEUTGEN und PAWELZIK, 2007a; KEUTGEN und PAWELZIK, 2007b) anzureichern, was aber eine Veränderung der Lebensmittelqualität bedeutet.

Das Flavonoid Cynarosid wurde in Paprikablättern nachgewiesen und weist antioxidative, antimikrobielle und Krebs-hemmende Eigenschaften auf (ŽEMLIČKA et al. 2014; PHUONG THUY et al. 2016; SA et al. 2015). In einer gemeinsamen Literatur- und Patentrecherche der beteiligten Projektpartner wurde Cynarosid als bioaktive Verbindung mit vielversprechenden Marktpotenzialen in der Kosmetik und pharmazeutischen Zubereitungen identifiziert. Cynarosid ist ein wichtiges Flavon in kommerziellen Extrakten (GEBHARDT, 1998), welches aus medizinischer Artischocke gewonnen wird, die in Deutschland nur für die Blatternte angebaut wird (ALI, 2011), oder auch aus japanischem Geißblatt (*Lonicera japonica*; Hu et al. 2015). Cynarosid verursacht eine Apoptose in verschiedenen Krebszelllinien (BASKAR et al. 2010, PHUONG THUY et al. 2016) und hat darüber hinaus antimikrobielle Eigenschaften vor allem gegen gramnegative Bakterien (SCHINOR et al. 2007; ŽEMLIČKA et al. 2014) sowie antioxidative Aktivität (ŽEMLIČKA et al. 2014; ODONTUYA et al. 2005; KUETE und EFFERTH, 2014). Es könnte aufgereinigt werden oder in angereicherten Extrakten Anwendung finden (aktueller Preis: ca. 160€ / 10 mg bei >98% Reinheit). Eine leichte, aber signifikante Zunahme von Patentanmeldungen zu Cynarosid impliziert, dass die Anzahl der unterschiedlichen Anwendungsmöglichkeiten voraussichtlich weiter wachsen wird (Abb. 1).

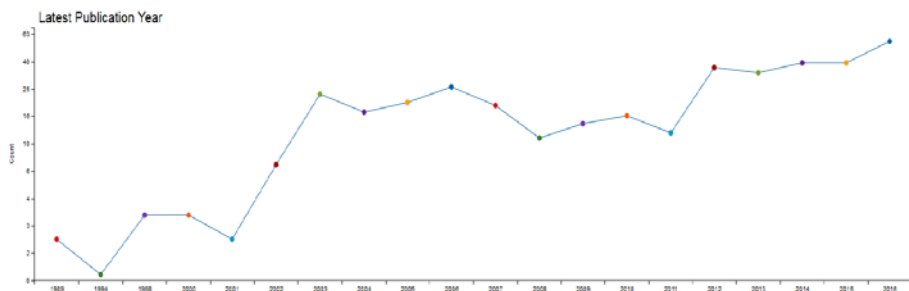


Abbildung 1: Patent Publikationen von 1989 bis 2016 (Suchbegriffe = Cynaroside oder Luteoloside oder C21H20O11 oder 5280637 oder Luteolin ADJ 7-glucoside oder Cinaroside oder luteolin-7-o-glucoside).

Für das Flavonoid Graveobiosid A, das in Paprikablättern mit einer Konzentration von >1% im Frischgewicht vorkommt, wurde eine reduzierende Wirkung auf die Eiablage der Floridaminierfliege (*Liriomyza trifolii*) nachgewiesen (KASHIWAGI, et al. 2005). Minierfliegen befallen Nutz- und Zierpflanzen und verursachen Ertragsminderungen (PARRELA, 1987), daher könnte reines Graveobiosid A oder Extrakte mit angereichertem Gehalt als natürliches Biozid eingesetzt werden. Graveobiosid A wurde außerdem in einem Patentantrag als Substanz mit Wirkung gegen Gicht beschrieben (CN105560262A, 2016) und wird derzeit aus Selleriesamen und Petersilie gewonnen.

Mit der Anreicherung und Extraktion solcher wirksamen SM aus gartenbaulicher Restbiomasse könnte ein Mehrwert für die Gartenbauproduktion geschaffen werden und den Anbau von Heilpflanzen (z. B. Artischocken), die im Wettbewerb mit Nahrungsmittelpflanzen angebaut werden, teilweise ersetzen. Allerdings ist über Gehalt und Induzierbarkeit der genannten SM in Blatt- und Stängelmateriale von Paprika wenig bekannt.

Um von pflanzlichen SM zu profitieren, muss ein wirtschaftlich tragfähiger und industriell relevanter Extraktionsprozess entwickelt werden (BART und PILZ, 2011). Dabei ist ein methodischer Ansatz zur Optimierung etablierter industrieller Prozesse und zur Verringerung der Zeit bis zur Marktreife für neue Produkte, insbesondere für hochwertige Chemikalien, zielführend (BART, et al. 2012). Es wurden einige Ansätze entwickelt, um die Methodik des konzeptionellen Prozessdesigns zu optimieren und die notwendige Dauer und die experimentellen Anstrengungen zur Entwicklung eines Prozesses zu reduzieren (BOTH et al. 2014). Jedoch wurde bisher ein konzeptionelles Design für einen ganzen Prozess, unter Berücksichtigung von landwirtschaftlichen Aspekten, Zersetzungsstrategien, nachgelagerten Verarbeitungs- und Aufreinigungsmethoden, nicht im Detail untersucht. Darüber hinaus war die Nutzung von Biomasse bislang meist auf eine Hauptkomponente oder Fraktion wie zum Beispiel Zellulose aus der Biomasse fokussiert. Eine kaskadierte Mehrfachnutzung hingegen, wie zum Beispiel Extraktion von wertvollen SM gefolgt von einer Verwertung in einer Bioraffinerie, könnte durch synergetische Effekte zusätzlichen Mehrwert generieren.

Aus Gemüsepflanzen gewonnenen SM können aufgrund ihrer bioaktiven Eigenschaften (z.B. antioxidativ, entzündungshemmend, etc.) als wertvolle Inhaltsstoffe in anderen Industriezweigen genutzt werden (MIRABELLA et al. 2014), z.B. in funktionellen Lebensmitteln, als Lebensmittelzutaten oder als Zusatzstoffe (GALANAKIS, 2012; MCCHESENEY et al. 2007). Jedoch werden neue Wertschöpfungskonzepte, wie Innovationen in Bezug auf die Wiederverwendung von Agrarabfällen, häufig als ein hohes Risiko anstatt eines möglichen Vorteils wahrgenommen (EKMAN et al. 2013; VERBEKE, 2007). In der Tat haben die notwendigen Akteure von innovativen, biobasierten Wertschöpfungsketten aufgrund fehlender Informationen und Marktbarrieren (wie hohe Kosten, fehlende Kompetenzen, fehlenden Industriestandards oder regulatorischen Fragen; MIRABELLA et al. 2014), oft Schwierigkeiten Neuheiten aufzugreifen und zu implementieren. Zu diesem Zweck muss die Akzeptanz neuer Prozesse, Technologien und Produkte entlang der Wertschöpfungskette evaluiert werden (PAULA und BIRRER, 2006), um einen bestmöglichen Einstieg in die Umsetzung der SM-Anreicherung in der Restbiomasse in Produktionsgewächshäusern und ihre Gewinnung zu ermöglichen.

Ziele und Struktur des Projekts

Projektziele:

Das Projekt TaReCa zielt auf die Entwicklung einer maßgeschneiderten Kaskadennutzung von Paprika aus der Gewächshausproduktion ab, bei der die Pflanzen einerseits zur Lebensmittelproduktion und andererseits zur Herstellung von wertvollen SM verwendet werden. Der Fokus liegt dabei auf den in Paprikablättern enthaltenen Flavonoiden Cynarosid (Luteolin-7-glucosid) und Graveobiosid A (Luteolin-7-apiosylglucosid), welche durch gezielte

Stressbehandlungen in Blättern und eventuell auch in Stängeln angereichert werden sollen. Weiterhin wird die nach der Extraktion der SM verbleibende Restbiomasse auf eine mögliche Verwertung in einer Bioraffinerie untersucht. Hierzu müssen einerseits geeignete abiotische Stressbehandlungen zur maximalen Induktion der Zielmetabolite in kommerziell genutzten Paprikaliniien identifiziert werden. Dazu werden nicht-invasive Phänotypisierungstechnologien zur Überwachung der Stressbehandlung und zur Abschätzung der SM-Gehalte entwickelt, welche auch in kommerziellen Gewächshäusern angewendet werden können. Wirksame Stressbehandlungen müssen weiterhin für kommerzielle Gewächshäuser etabliert werden. Die Phänotypisierung der Pflanzenreaktion sowie die Überwachung des Frucht- und Biomasse-Ertrags wird eine Abschätzung der Endproduktmenge erlauben. Außerdem muss ein effizientes und umweltfreundliches Extraktions- und Aufreinigungsverfahren für Cynarosid und Graveobiosid A aus Paprikablättern und evtl. -stängeln entwickelt werden. Die Nutzung der verbleibenden Biomasse (nach Extraktion) als Rohstoff für Bioraffinerieprozesse wird in einer Bioraffinerie-Forschungsanlage evaluiert, gefolgt von einer ökonomischen Analyse des Mehrwerts des Kaskadenprozesses von der Fruchtproduktion bis hin zu Metaboliten und verbleibender Biomasse. Um ein Konzept für die Umsetzung der Kaskadennutzung von Gartenbaurestbiomasse mit einem nachhaltigen Wertschöpfungskettenmanagement zu entwickeln, wird die Bereitschaft von Akteuren der gesamten Wertschöpfungskette neue Prozesse und Technologien zu implementieren untersucht, um mögliche Hindernisse zur Implementierung zu identifizieren.

Projektstruktur:

Im Folgenden wird die Struktur des Projekts dargestellt (Abb. 1):

- Um in der Paprika-Restbiomasse die Biosynthese der bioaktiven Flavonoide Cynarosid und Graveobiosid A zu steigern, werden im Arbeitspaket 1 (AP1) verschiedene abiotische Stressbehandlungen an zwei kultivierten Paprikasorten (Stayer und Mazurka) und einer Wildsorte (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) getestet. Dazu werden zuerst abiotischen Stressbedingungen, wie Stickstoffmangel, Salinität, niedrige/hohe Temperaturen, hohe Lichtintensität und Trockenheit, an jungen Pflanzen (2 Monate alt) in Pflanzenkammern etabliert und die Phenol- und Flavonoidgehalte, sowie die Gehalte der Zielmetabolite Cynarosid und Graveobiosid A in Paprikablättern und Stängeln quantifiziert. Die kommerzielle Linie mit den höchsten Gehalten und der höchsten Induktion der Zielmetabolite wird für ein detaillierteres Stress-Screening in einer zweiten Versuchsphase verwendet, in der die Induktionsbedingungen weiter optimiert (Dauer, Intensität) und Stresskombinationen auf ihr Induktionspotenzial der Zielmetabolite getestet werden. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Entwicklung von Phänotypisierungstechnologien zur nicht-invasiven Quantifizierung der Stressreaktion, die es Gartenbauern ermöglichen, das Erreichen der erforderlichen Stressbehandlung zu ermitteln und ideale Erntezeitpunkte zu identifizieren. Hierzu werden bildbasierte Techniken zur Bestimmung von Farbveränderungen der Blätter sowie ein hyperspektraler Sensor (VIS) eingesetzt und erlangte Werte hinsichtlich einer Korrelation mit SM-Gehalten untersucht. Durch die Kombination mit einem GPS-Gerät kann die Stressantwort der Pflanzen auch in großen Produktionsgewächshäusern analysiert und semiautomatisch ausgewertet werden.
- Die Flavonoide in Paprika-Restbiomasse sind bisher kaum untersucht, sodass das Potenzial von Paprika als Lieferant von pflanzlichen SM noch nicht ausgeschöpft ist. Durch Stressbehandlungen können auch weitere Flavonoide oder andere SM-Klassen induziert werden. Daher werden im Arbeitspaket 2 (AP2) Flavonoidprofile für alle drei Paprikaliniien mittels LC-MS/MS erstellt, um die Identifikation weiterer interessanter Inhaltsstoffe zu ermöglichen. Die Wildsorte wird in die Analysen einbezogen, um das genetische Potenzial von Paprika für zukünftige züchterische Ansätze zu evaluieren. In der zweiten Versuchsphase wird ein detailliertes, ungerichtetes Metabolit-Profilung durchgeführt, um weitere

Stoffwechselprodukte zu identifizieren, deren Gehalt als Folge der optimierten Induktionsbedingungen deutlich ansteigt. Parallele Transkriptomanalysen des behandelten Pflanzenmaterials werden mit den Metabolitgehalten korreliert, um i) die regulatorischen Schritte der Biosynthese der Zielmetabolite zu analysieren, sowie ii) Biosynthesenetze von zusätzlich induzierten SM zu identifizieren. Kenntnis über die SM-Biosynthesenetze und deren Regulation in kultivierten und wilden Paprikasorten liefert die Grundlage für die zukünftige Implementierung der Kaskade z.B. für Untersuchungen von weiteren kultivierten Paprikasorten oder zur Entwicklung von gezielten Züchtungsansätzen zur Kaskadenoptimierung unter Verwendung von Wildsorten. Mit diesem Ansatz werden wertvolle Informationen über SM-Gehalt, Regulation und Stress-Induzierbarkeit in einem bisher wenig untersuchten und ungenutzten Rohstoff generiert. Für die identifizierten SM wird gemeinsam mit einem Industriebeirat eine ökonomische Bewertung von Marktpotenzialen durchgeführt, um wertvolle bioaktive Verbindungen für zukünftige industrielle Anwendungen zu identifizieren.

- In Arbeitspaket 3 wird im Gewächshaus unter Produktionsbedingungen die Realisierbarkeit der als effektiv erfassten Stressbehandlungen (aus AP 1) untersucht und gegebenenfalls angepasst. Kombiniert mit Phänotypisierungsmethoden aus AP1, werden spektrale und multi-fluoreszenz basierte Messmethoden für den Einsatz in der Kultivierung von Paprika angepasst und mit SM-Gehalten korreliert. Auf Basis dieser Versuche wird ein Protokoll entwickelt, das eine schnelle und einfache Erkennung von Stressparametern in Produktionsgewächshäusern ermöglicht. Außerdem werden mittels hyperspektraler Detektion Gehalte an Lignin, Zellulose und Wasser in der Biomasse ausgewählter Paprikaliniestämme bestimmt, um eine Abschätzung der Qualität der Biomassereste (Blätter und Stängel) für die nachgelagerte SM-Extraktion und Bioraffinerie vornehmen zu können. Die Quantifizierung des Fruchtertrags und des Ertrags an grüner Restbiomasse unter Produktionsbedingungen dienen der späteren ökonomischen Analyse des Mehrwerts. Außerdem wird die im Laufe der Paprikakulturführung gewonnene Biomasse für das Up-scaling des Extraktionsprozesses in Arbeitspaket 4 (AP4) bereitgestellt.
- Für die Gewinnung von Cynarosid und Graveobiosid A wird in AP4 ein effizientes und umweltfreundliches Extraktions- und Aufreinigungsverfahren entwickelt. Dabei werden auch vorhandene Randbedingungen wie landwirtschaftliche oder logistische Aspekte, Biomasse-Verfügbarkeit und Stabilität der Zielmetabolite in der Biomasse in Betracht gezogen. Für die Pflanzenbiomasse werden geeignete Vorbehandlungsmaßnahmen (Trocknung, Zellaufschluß) untersucht, um eine ausreichende Zugänglichkeit mit hoher Extraktionsausbeute zu gewährleisten. Im Folgenden wird eine systematische Prozessentwicklung durchgeführt, beginnend mit einem *in silico* Lösungsmittel-Screening, experimenteller Bestimmung von Prozessparametern wie Partikelgröße, Trocknungsgrad und Extraktionsdauer. Abhängig von den Zielmarktanforderungen werden geeignete Aufreinigungsprozesse für Cynarosid- und Graveobiosid A untersucht und hinsichtlich Gesamtausbeute, Reinheit der Metabolite und Kosten verglichen. Der Gesamtprozess kann anschließend durch ein Scale-up Verfahren im größeren Maßstab durchgeführt werden, um eine Empfehlung für den industriell relevanten Maßstab abgeben zu können. Das konzeptionelle Prozessdesign wird einen modularen Charakter haben, um es für zukünftige Anwendungen schneller anpassen zu können. Im Sinne der kaskadierten Biomassenutzung soll nach Abtrennung der hochwertigen Zielmetabolite eine weitere Verwertung der Biomasse in einem Bioraffinerieprozess stattfinden. Dabei spielt die Biomassezusammensetzung (Anteile von jeweils Lignin, Zellulose und Hemizellulose), die von abiotischen Stressen beeinflusst werden kann (MOURA et al. 2010; WANG et al. 2016), eine wesentliche Rolle. Durch die Vorbehandlung der Biomasseströme (durch die vorgeschaltete Zerkleinerung und Abtrennung der hochwertigen SM) können sich synergetische Effekte zeigen, da ein Biomasseaufschluss innerhalb der Prozessierung der Bioraffinerie ebenfalls

notwendig ist. Die ökonomischen Einflussfaktoren werden fortlaufend bei der Prozessentwicklung berücksichtigt und dienen als wichtige Entscheidungskriterien. Prozessströme, Einsatzstoffe und Kosten werden erfasst und ausgewertet, um abschließend ein Gesamtkonzept zu entwickeln, das beim Paprikaanbau beginnt und die Prozessschritte Biomassetransport, Lagerung, Extraktion, Aufreinigung und Bioraffinerie-Verwertung beinhaltet.

- In Arbeitspaket 5 (AP5) wird auf die sozio-ökonomische Aspekte der Kaskadennutzung eingegangen. Zunächst werden anhand wissenschaftlicher Publikationen und, Patentdokumentationen potentielle Anwendungsgebiete der Zielmetabolite, sowie weiterer, induzierter SM (aus AP2) identifiziert und in Zusammenarbeit mit Mitgliedern des Industriebeirats bewertet. Weiterhin werden regulatorische Aspekte untersucht, die einen Einfluss auf die Verwendung der SM in den Zielmärkten darstellen. Zum Beispiel kann für bestimmte Märkte eine Aufreinigung der SM notwendig sein, während in anderen Fällen angereicherte Extrakte verwendet werden dürfen. Durch eine detaillierte Analyse der Wertschöpfungskette wird die Realisierbarkeit des Kaskadenprozesses vom Anbau der Paprikapflanze bis zum Endprodukt überprüft. Mittels Experteninterviews werden notwendige Ressourcen und Kompetenzen, sowie Veränderungen in der Logistik, dem Management und den Beziehungen innerhalb der Wertschöpfungskette identifiziert und die Akzeptanz der unterschiedlichen Akteure in Bezug auf die neuartigen Prozesse (z.B. abiotische Stressbehandlungen), Technologien (z.B. Phänotypisierungs-technologien, Extraktionsverfahren) und resultierenden Inhaltsstoffe (SM) bewertet.

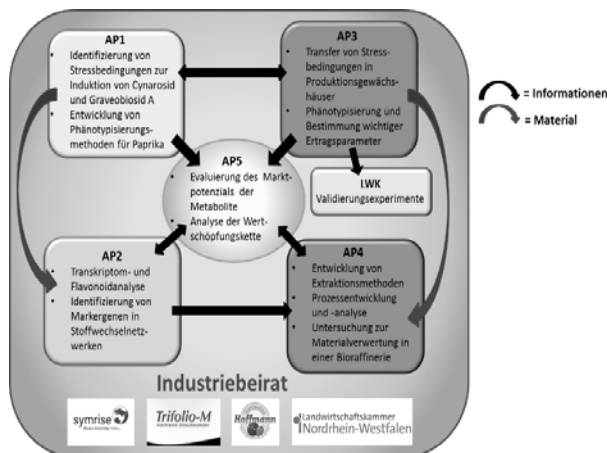


Abbildung2: Struktur des Projekts TaReCa. Das Projekt ist in 5 Arbeitspakete der 5 Partner aufgegliedert. Die Ergebnisse und Untersuchungsproben der einzelnen Pakete werden untereinander ausgetauscht und dienen zum Teil als Grundlage für weitergehende Arbeiten. Durch den interdisziplinären Aufbau wird die Kaskadennutzung aus möglichst vielen Blickwinkeln betrachtet und untersucht. Abgerundet werden die Arbeiten durch die beratenden Tätigkeiten eines industriellen Beirats.

Zusammenfassung

Das TaReCa-Projekt untersucht einen neuartigen, innovativen Ansatz der nachhaltigen Nutzung von pflanzlichen Rohstoffen aus dem Gartenbau, um in einer Kaskade nicht nur die Produktion von Gemüse, sondern auch von bio-basierten, bioaktiven Zwischenprodukten und chemischen Verbindungen zu ermöglichen. Hierzu werden die Kompetenzen von Pflanzenbiologen, Gartenbauwissenschaftlern, Prozessingenieuren und Ökonomen gebündelt und mit einem Industriebeirat an industrielle Bedürfnisse geknüpft. Das Einbeziehen von Vertretern aus der

Lebensmittelzusatz- und Aromachemie (Symrise AG) und der Produktion von bioziden Extrakten (Trifolio-M GmbH) wird eine marktorientierte Erforschung und Entwicklung der Kaskadennutzung ermöglichen. Vertreter aus der Gewächshausproduktion (Landwirtschaftskammer NRW, Gartenbaubetrieb Hoffmann) beraten hinsichtlich der Umsetzung von Induktionsbehandlungen in Produktionsgewächshäusern, was eine Grundlage für die Umsetzung der vorgeschlagenen Kaskade im technischen Maßstab bilden wird. Auf der Tagung werden die ersten Ergebnisse des Projekts vorgestellt.

Literatur

- ALI S., 2011 Leaf Yield and Polyphenols of Artichoke (*Cynara cardunculus* L.) Influenced by Harvest Frequency and Herbicide Stress, Dissertation der Justus Liebig University Giessen.
- BALASUNDRAM N., SUNDARAM K., SAMMAN S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chem.* 99, 191–203. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042.
- BASKAR A.A., IGNACIMUTHU S., MICHAEL G.P., AL NUMAIR K.S., 2010, Cancer Chemopreventive Potential of Luteolin-7-O-Glucoside Isolated From *Ophiorrhiza mungos* Linn, *Nutr. Cancer*, 63(1):130-8.
- BART H.-J., PILZ S., 2011, Industrial Scale Natural Products Extraction, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. doi:10.1002/9783527635122.
- BART H.-J., HÄGELS H., KASSING M., JENELTEN U., JOHANNISBAUER W., JORDAN V., PFEIFFER D., PFENNIG A., TEGTMEIER M., SCHÄFFLER M., STRUBE J., 2012, Positionspapier der ProcessNet Fachgruppe; Phytoextrakte – Produkte und Prozesse " Vorschlag für einen neuen, fachübergreifenden Forschungsschwerpunkt.
- BÉNARD C., BOURGAUD F., GAUTIER H., 2011, Impact of temporary nitrogen deprivation on tomato leaf phenolics, *Int. J. Mol. Sci.* 12, 7971–7981. doi:10.3390/ijms12117971.
- BÉNARD C., GAUTIER H., BOURGAUD F., GRASSELY D., NAVEZ B., CARIS-VEYRAT C., WEISS M., GÉNARD M., 2009, Effects of Low Nitrogen Supply on Tomato (*Solanum lycopersicum*) Fruit Yield and Quality with Special Emphasis on Sugars, Acids, Ascorbate, Carotenoids, and Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 57, 4112–4123. doi:10.1021/jf8036374.
- BOTH S., KOUDOUS I., JENELTEN U., STRUBE J., 2014, Model-based equipment-design for plant-based extraction processes – considering botanic and thermodynamic aspects, *Comptes Rendus Chim.* 17, 187–196. doi:10.1016/j.crci.2013.11.004.
- CAMPBELL R., FREITAG S., BRYAN G.J., STEWART D., TAYLOR M.A., 2016, Environmental and Genetic Factors Associated with Solanescol Accumulation in Potato Leaves, *Front. Plant Sci.* 7, 1263. doi:10.3389/fpls.2016.01263.
- CHEN L., KANG Y.-H., 2013, Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts, *J. Funct. Foods.* 5, 1724–1731. doi:10.1016/j.jff.2013.07.018.
- CN105560262A, 2016, Application of Graveobioside A in preparation of drugs or healthcare food for preventing hyperuricemia and gout, <https://www.google.com/patents/CN105560262A?cl=en>.
- DAS STATISTIK-PORTAL, 2010, Meistgekaufte Gemüsesorten in Deutschland 2010. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/206329/umfrage/meistgekaufte-gemuesesorten-in-deutschland/>.
- DAS STATISTIK-PORTAL, 2016, Anbaufläche von Gemüse unter Glas in Deutschland bis 2015. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/169193/umfrage/anbauflaechen-von-gemuese-unter-glas/>.
- DE PASCALE S., MAGGIO A., FOGLIANO V., AMBROSINO P., RITIENI A., 2001, Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato, *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 76, 447–453. doi:10.1080/14620316.2001.11511392.
- DOMÍNGUEZ-PERLES R., MARTÍNEZ-BALLESTA M.C., CARVAJAL M., GARCÍA-VIGUERA C., MORENO D.A., 2010, Broccoli-derived by-products - a promising source of bioactive ingredients, *J. Food Sci.* 75, 383–393. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01606.x.
- JACOBO-VELÁZQUEZ D.A., CISNEROS-ZEVALLOS L., 2012, An Alternative Use of Horticultural Crops: Stressed Plants as Biofactories of Bioactive Phenolic Compounds, *Agriculture*. 2, 259–271. doi:10.3390/agriculture2030259.
- EKMAN A., CAMPOS M., LINDAHL S., CO M., BÖRJESSON P., KARLSSON E.N., TURNER C., 2013, Bioresource utilisation by sustainable technologies in new value-added biorefinery concepts – two case studies from food and forest industry, *J. Clean. Prod.* 57, 46–58. doi:10.1016/j.jclepro.2013.06.003.
- EXPOSITO O., BONFILL M., MOYANO E., ONRUBIA M., MIRJALILI M.H., CUSIDÓ R.M., PALAZÓN J., 2009, Biotechnological production of taxol and related taxoids: current state and prospects., *Anticancer. Agents Med. Chem.* 9, 109–21.
- FRIEDMAN M., LEVIN C.E., LEE S.U., KIM H.J., LEE I.S., BYUN J.O., KOZUKUE N., 2009, Tomatine-containing green tomato extracts inhibit growth of human breast, colon, liver, and stomach cancer cells, *J. Agric. Food Chem.* 57, 5727–5733. doi:10.1021/jf900364j.
- FRIEDMAN M., 2013, Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene, α -tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes, *J. Agric. Food Chem.* 61, 9534–9550. doi:10.1021/jf402654e.
- GEBHARDT R., 1998, Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 1122–8.
- GALANAKIS C.M., 2012, Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications, *Trends Food Sci. Technol.* 26, 68–87. doi:10.1016/j.tifs.2012.03.003.

- HU W., GUO T., JIANG W.-J., DONG G.-L., CHEN D.-W., YANG S.-L., LI H.-R., 2015, Effects of ultrahigh pressure extraction on yield and antioxidant activity of chlorogenic acid and cynaroside extracted from flower buds of *Lonicera japonica*, *Chin. J. Nat. Med.* 13, 445–453. doi:10.1016/S1875-5364(15)30038-8.
- KASHIWAGI T., HORIBATA Y., MEKURIA D.B., TEBAYASHI S., KIM C.-S., 2005, Ovipositional Deterrent in the Sweet Pepper, *Capsicum annuum*, at the Mature Stage against *Liriomyza trifolii* (Burgess), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69, 1831–1835. doi:10.1271/bbb.69.1831.
- KEUTGEN A.J., PAWELZIK E., 2007a, Modifications of strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress, *J. Agric. Food Chem.* 55, 4066–4072. doi:10.1021/jf070010k.
- KEUTGEN A., PAWELZIK E., 2007b, Modifications of taste-relevant compounds in strawberry fruit under NaCl salinity, *Food Chem.* 105, 1487–1494. doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.033.
- KRISHNA S., BUSTAMANTE L., HAYNES R.K., STAINES H.M., 2008, Artemisinins: their growing importance in medicine., *Trends Pharmacol. Sci.* 29, 520–7. doi:10.1016/j.tips.2008.07.004.
- KUETE V., EFFERTH T., 2014, Biodiversity, natural Products and cancer treatment, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- LARBAT R., PARIS C., LE BOT J., ADAMOWICZ S., 2014, Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of Micro-Tom and patio tomatoes, in response to nitrogen limitation, *Plant Sci.* 22, 62–73. doi:10.1016/j.plantsci.2014.04.010.
- LILLO C., LEA U.S., RUOFF P., 2008, Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway, *Plant. Cell Environ.* 31, 587–601. doi:10.1111/j.1365-3040.2007.01748.x.
- LIPSHUTZ B.H., MOLLARD P., PEIFFER S.S., CHRISMAN W., 2002, A Short, Highly Efficient Synthesis of Coenzyme Q 10, *J. Am. Chem. Soc.* 124, 14282–14283. doi:10.1021/ja021015v.
- LØVDAL T., OLSEN K.M., SLIMESTAD R., VERHEUL, LILLO C., 2010, Synergetic effects of nitrogen depletion, temperature, and light on the content of phenolic compounds and gene expression in leaves of tomato, *Phytochemistry.* 71, 605–613. doi:10.1016/j.phytochem.2009.12.014.
- MASSINI L., RICO D., MARTIN-DIANA A.B., BARRY-RYAN C., 2016, Apple peel flavonoids as natural antioxidants for vegetable juice applications, *Eur. Food Res. Technol.* 242, 1459–1469. doi:10.1007/s00217-016-2646-8.
- MCCHESENEY J.D., VENKATARAMAN S.K., HENRI J.T., 2007, Plant natural products: Back to the future or into extinction?, *Phytochemistry.* 68, 2015–2022. doi:10.1016/j.phytochem.2007.04.032.
- MIRABELLA N., CASTELLANI V., SALA S., 2014, Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review, *J. Clean. Prod.* 65, 28–41. doi:10.1016/j.jclepro.2013.10.051.
- MOURA J.C.M.S., BONINE C.A.V., DE OLIVEIRA FERNANDES VIANA J., DORNELAS M.C., MAZZAFERA P., 2010, Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants., *J. Integr. Plant Biol.* 52, 360–76. doi:10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x.
- MUKHERJEE P.K., NEMA N.K., MAITY N., SARKAR B.K., 2013, Phytochemical and therapeutic potential of cucumber, *Fitoterapia.* 84, 227–236. doi:10.1016/j.fitote.2012.10.003.
- ODONTUYA G., HOULT J.R.S., HOUGHTON P.J., 2005, Structure-activity relationship for antiinflammatory effect of luteolin and its derived glycosides, *Phyther. Res.* 19, 782–786. doi:10.1002/ptr.1723.
- PARRELA M.P., 1987, Biology of *Liriomyza*. Annual Review of Entomology, 32, 201-224.
- PAULA L., BIRNER F., 2006, Including public perspectives in industrial biotechnology and the biobased economy, *J Agric Environ Ethics*, 19(3):253-67.
- PESCHEL W., SANCHEZ-RABANEDA F., DIEKMANN W., PLESCHER A., GARTZIA I., JIMÉNEZ D., LAMUELA-RAVENTÓS R., BUXADERAS S., CODINA C., 2006, An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes, *Food Chem.* 97, 137–150. doi:10.1016/j.foodchem.2005.03.033.
- PHUONG THUY B.T., AI NHUNG N.T., DUONG T., VAN TRUNG P., QUANG N.M., KIM DUNG H.T., VAN TAT P., ANEHEIME., 2016, Prediction of anticancer activities of cynaroside and quercetin in leaf of plants *Cynara scolymus* L and *Artocarpus incisa* L using structure–activity relationship, *Cogent Chem.* 2, 1212452. doi:10.1080/23312009.2016.1212452.
- RAMAKRISHNA A., RAVISHANKAR G.A., 2011, Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, *Plant Signal. Behav.* 6, 1720–1731. doi:10.4161/psb.6.11.17613.
- RO D.-K., PARADISE E.M., OUELLET M., FISHER K.J., NEWMAN K.L., NDUNGU J.M., HO K.A., EACHUS R.A., HAM T.S., KIRBY J., CHANG M.C.Y., WITHERS S.T., SHIBA Y., SARPONG R., KEASLING J.D., 2006, Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast., *Nature.* 440, 940–943. doi:10.1038/nature04640.
- ROHLOFF J.C., KENT K.M., POSTICH M.J., BECKER M.W., CHAPMAN H.H., KELLY D.E., LEW W., LOUIE M.S., MCGEE L.R., PRISBE E.J., SCHULTZE L.M., YU R.H., ZHANG L., 1998, Practical Total Synthesis of the Anti-Influenza Drug GS-4104, *J. Org. Chem.* 63, 4545–4550. doi:10.1021/jo980330q.
- SA C., OLIVEIRA A.R., MACHADO C., AZEVEDO M., PEREIRA-WILSON C., 2015, Effects on Liver Lipid Metabolism of the Naturally Occurring Dietary Flavone Luteolin-7-glucoside., *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.*, 2015, Artikel ID 647832. doi:10.1155/2015/647832.
- SCHINOR E.C., SALVADOR M.J., ITO I.Y., DIAS D.A., 2007, Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*, *Brazilian J. Microbiol.* 38, 145–149. doi:10.1590/S1517-83822007000100030.
- SELMAR D., KLEINWÄCHTER M., 2013, Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products., *Plant Cell Physiol.* 54, 817–26. doi:10.1093/pcp/pt054.
- SONG M.C., KIM E.J., KIM E., RATHWELL K., NAM S., YOON Y.J., 2014, Microbial biosynthesis of medicinally important plant secondary metabolites, *Nat. Prod. Rep.* 31 (11), 1497-1509. doi:10.1039/C4NP00057A.

- TANG J., MENG X., LIU H., ZHAO J., ZHOU L., QIU M., ZHANG X., YU Z., YANG F., 2010, Antimicrobial activity of sphingolipids isolated from the stems of cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Molecules*. 15, 9288–97. doi:10.3390/molecules15129288.
- TAYLOR M.A., FRASER P.D., 2011, Solanesol: added value from Solanaceous waste, *Phytochemistry*. 72, 1323–7. doi:10.1016/j.phytochem.2011.03.015.
- VERBEKE W., 2007, Consumer attitudes toward genetic modification and sustainability: implications for the future of biorenewables, *Biofuels, Bioprod. Biorefining*. 1, 215–225. doi:10.1002/bbb.27.
- VILLARREAL-GARCÍA D., NAIR V., CISNEROS-ZEVALLOS L., JACOBO-VELÁZQUEZ D.A., 2016, Plants as Biofactories: Postharvest Stress-Induced Accumulation of Phenolic Compounds and Glucosinolates in Broccoli Subjected to Wounding Stress and Exogenous Phytohormones., *Front. Plant Sci.* 7, 45. doi:10.3389/fpls.2016.00045.
- WAHYUNI Y., BALLESTER A.-R., SUDARMONOWATI E., BINO R.J., BOVY A.G., 2013, Secondary Metabolites of Capsicum Species and Their Importance in the Human Diet, *J. Nat. Prod.* 76, 783–793. doi:10.1021/np300898z.
- WANG T., MCFARLANE H.E., PERSSON S., 2016, The impact of abiotic factors on cellulose synthesis, *J. Exp. Bot.* 67, 543–552. doi:10.1093/jxb/erv488.M.
- ŽEMLIČKA L., FODRAN P., LUKES V., VAGÁNEK A., SLOVÁKOVÁ M., STÁSKO A., DUBAJ T., LIPTAJ T., KARABIN M., BIROŠOVÁ L., RAPTA P., 2014, Physicochemical and biological properties of luteolin-7-O- β -d-glucoside (cynaroside) isolated from *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., *Monatshefte Für Chemie - Chem. Mon.* 145, 1307–1318. doi:10.1007/s00706-014-1228-3.