

Manuela Schratzer, B.Sc.

Charakterisierung von Bräunungsreaktionen in pflanzlichen Geweben nach mechanischer Behandlung

MASTERARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades

Diplom-Ingenieurin

Masterstudium Biotechnologie

eingereicht an der

Technischen Universität Graz

Betreuer

Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Michael Murkovic

Institut für Biochemie, Technische Universität Graz

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Das in TUGRAZonline hochgeladene Textdokument ist mit der vorliegenden Masterarbeit identisch.

Graz, am

.....

(Unterschrift)

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich mich bei meinem Betreuer, ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Michael Murkovic, bedanken, der mich während meiner Masterarbeit betreut und unterstützt hat. Auch möchte ich mich für die freundliche Aufnahme im Team bedanken.

Weiteres bedanke ich mich bei der Arbeitsgruppe von Prof. Murkovic für das angenehme Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit.

Auch bei meiner Familie und Freunden möchte ich mich für die seelische Unterstützung während meiner Studienzeit bedanken.

Weiteres möchte ich mich bei der Firma Obst Gössl Obstgroßhandel für die Bereitstellung der Äpfel bedanken.

KURZFASSUNG

Charakterisierung von Bräunungsreaktionen in pflanzlichen Geweben nach mechanischer Behandlung

Ziel dieses Projektes war die Entwicklung einer Methode um Äpfel länger haltbar zu machen.

Es wurde versucht, durch unterschiedliche chemische Behandlungen den Bräunungsprozess der Äpfel zu verhindern. Zunächst wurden vier verschiedene Apfelsorten mit unterschiedlichen Chemikalien behandelt, wobei der Bräunungsprozess in Sauerstoff- und Stickstoff-Umfeld beobachtet wurde. Der Bräunungsprozess der chemisch behandelten Äpfel konnte hauptsächlich durch ein Stickstoff-Umfeld vermieden werden. Der Grund dafür, warum manche Äpfel schneller und manche langsamer braun werden, liegt an den Polyphenolen. Jeder Apfel hat einen unterschiedlichen Gehalt an Polyphenolen. Sobald die Polyphenole der Äpfel durch z. B. anschneiden mit Sauerstoff in Kontakt treten, werden die Äpfel braun. Nicht jeder Apfel enthält gleich viele Polyphenole, somit dauert der Prozess des Verfärbens bei einigen Äpfeln länger als bei anderen.

Polyphenole spielen eine wesentliche Rolle in dieser Arbeit. Um Polyphenole im Apfel nachzuweisen, wurden fünf Polyphenole (Kaffeensäure, Chlorogensäure, Epicatechin, Epicatechingallat, Rutin) und drei Standards vorbereitet. Um zu überprüfen, ob alle Polyphenole im Apfel vorhanden sind, wurde noch ein Apfelextrakt hergestellt. In den Abbildungen 27 - 29 ist deutlich zu erkennen, dass mittels HPLC (High-Performance-Liquid-Chromatography) alle fünf Polyphenole in den Äpfeln nachzuweisen waren.

Weiteres wurden die Polyphenole der behandelten Äpfel mittels HPLC analysiert und mit den unbehandelten Äpfeln verglichen. Dabei zeigte sich, dass der Polyphenol-Gehalt in behandelten höher war als bei unbehandelten Äpfeln.

Die Ergebnisse dieser Arbeit beweisen, dass die Haltbarmachung von Äpfeln möglich ist, und dass sich der Polyphenolgehalt der chemisch behandelten Äpfel erhöht.

ABSTRACT

Characterization of the tanning process in plant tissues after mechanical injury

The aim of the project was to develop a new conservation method which improves flavour, colour, and pulp of the apples.

To prevent the browning process, the apples were treated with different chemical methods. First of all the four different kinds of apples were monitored under oxygen and nitrogen conditions while the apples were treated with different chemicals. Especially by using the nitrogen environment, the results of preventing the tanning process were better than the treatment under oxygen conditions. Probably, the reason for the rate of tanning could be that different types of apples have a different content of polyphenols.

Furthermore the contents of polyphenols in treated and untreated apples were analysed by HPLC (High-Performance-Liquid-Chromatography). As it is shown in figures 27, 28 and 29, different percentages of polyphenols were detected in apples.

The results of this master thesis show that the conservation of apples is possible by using chemicals. Due to the fact of chemical treatment apples showed a higher content of polyphenols than untreated apples.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	9
2. Apfel	10
2.1. Einteilung von Obst	10
2.2. Ursprung des Apfels	10
2.3. Klassifizierung des Apfels	11
2.4. Herstellung von Apfelsaft.....	13
2.5. Lagerung der Äpfel	14
2.6. Statistische Auswertungen.....	16
3. Haltbarmachung.....	19
3.1. Kältebehandlung.....	20
3.2. Hitzebehandlung.....	20
3.3. Wasseraktivitätsverlust	21
3.4. Behandlung durch Strahlung	21
3.5. Behandlung durch Konservierungsstoffe	21
3.6. Behandlung durch veränderte Gasatmosphäre	22
4. Vitamin C	23
4.1. Die Geschichte von Vitamin C	23
4.2. Was ist Vitamin C	24
Einige physikalische Eigenschaften der L-Ascorbinsäure sind in Tabelle 7 zusammengestellt.....	25
4.3. Welche Funktionen hat Vitamin C?	26
5. Polyphenole.....	28
5.1. Chemische Eigenschaften der Polyphenole	29
5.2. Reaktion der Polyphenole.....	30
6. Phenoloxidasen	31
6.1. Klassifizierung der Polyphenole.....	32
6.1.1. Phenolcarbonsäuren	32

6.1.2.	Flavonoide	33
6.2.	Polyphenole im Apfel und im Apfelsaft.....	35
6.2.1.	Polyphenolgehalt im Apfel	35
6.2.2.	Polyphenolgehalt im Apfelsaft	36
7.	Verwendete Äpfel für die Experimente.....	38
7.1.	Gala.....	38
7.2.	Fuji	38
7.3.	Elstar.....	39
7.4.	Jonagold	39
8.	Experimente	40
8.1.	Behandlung der Äpfel mit unterschiedlichen Lösungsmitteln	40
8.1.1.	Methode.....	40
8.1.2.	Material	40
8.1.3.	Durchführung	40
8.1.4.	Ergebnisse.....	40
8.2.	Behandlung der Äpfel mit unterschiedlichen Lösungsmitteln inklusive O ₂ - und N ₂ Behandlung	43
8.2.1.	Methode.....	43
8.2.2.	Material	43
8.2.3.	Durchführung	43
8.2.4.	Ergebnisse.....	44
8.3.	Bestimmung der Polyphenole.....	50
8.3.1.	Methode.....	50
8.3.2.	Material	50
8.3.3.	Durchführung	51
8.3.4.	Ergebnisse.....	51
8.4.	Bestimmung des Vitamin-C-Gehalts.....	54
8.4.1.	Methode.....	54

8.4.2.	Material	54
8.4.3.	Durchführung	54
8.4.4.	Ergebnisse.....	55
8.5.	Apfelextrakt zu unterschiedlichen Zeiten.....	58
8.5.1.	Methode.....	58
8.5.2.	Material	58
8.5.3.	Durchführung	58
8.5.4.	Ergebnisse.....	60
8.6.	Apfelextrakte mit unterschiedlichen chemischen Behandlungen	63
8.6.1.	Methode.....	63
8.6.2.	Material	63
8.6.3.	Durchführung	63
8.6.4.	Ergebnisse.....	64
	Literaturverzeichnis	69
	Internetverzeichnis.....	72
	Tabellenverzeichnis	74
	Abbildungsverzeichnis.....	75
	Abkürzungsverzeichnis	79

1. Einleitung

Äpfel gehören zu den europaweit am häufigsten konsumierten Früchten. Im Jahr 2014 betrug der Pro-Kopf-Verbrauch von Äpfeln in Österreich 19,3 kg und ist somit die Lieblingsobstsorte der Österreicher, gefolgt von Bananen und Orangen.

Äpfel schmecken saftig und frisch und sind reich an wertvollen Inhaltsstoffen. Der Vitamin-C-Bedarf eines Erwachsenen liegt bei 100 mg/d. Weitere wichtige Stoffe sind Vitamin B₁, B₂, B₆, E, Kalzium, Eisen und Magnesium.

2013 wurden in Österreich rund 429.401 Tonnen Äpfel geerntet. Dieses Produkt wird zur Herstellung von Apfelsaft und Trockenobst herangezogen. Die getrockneten Apfelspalten enthalten die Inhaltsstoffe in konzentrierter Form [Weber, 2002].¹

¹ <http://de.statista.com>; <http://www.bmlfuw.gv.at/land/lebensmittel>

2. Apfel

2.1. Einteilung von Obst

Obst wird als essbare rohe Frucht bezeichnet und spielt eine wichtige Rolle in der Ernährung des Menschen, da Obst einen hohen Gehalt an Vitaminen, Mineralstoffen und Ballaststoffen hat. Die zahlreichen Obstsorten werden in fünf Gruppen unterteilt. In Beeren-, Kern-, Schalen-, Steinobst und Südfrüchten [Georg Schwedt, 1999].

Beerenobst: Brombeeren und Himbeeren

Kernobst: Äpfel, Birnen usw.

Schalenobst: Mandeln, Erdnüsse usw.

Steinobst: Kirschen, Pflaumen usw.

Südfrüchte: Zitronen, Orangen usw.

2.2. Ursprung des Apfels

Der Apfel kommt ursprünglich aus Zentral- und Westasien und wurde bereits rund 10.000 vor Christus in der Region Kasachstan angebaut (Abb. 1). Die Hauptstadt des Landes heißt Almaty, was übersetzt so viel wie „Stadt des Apfels“ heißt. Die Frucht kam über die alten Handelsstraßen (Seidenstraße) nach Süd- und Osteuropa, wo sie von den Römern und Griechen kultiviert wurde. Aus Südeuropa gelangte der Apfel mit den römischen Feldzügen um rund 100 vor Christus nach Mittel- und Nordeuropa.



Abbildung 1: Der Ursprung des Apfels. Handelsstraße von Zentral- und Westasien bis Mittel- und Nordeuropa.²

² <http://www.suedtirolerapfel.com/>

Im Mittelalter beschäftigten sich die Klöster mit dem Apfelanbau und bewahrten das Wissen rund um den Obstanbau. In den Klöstern wurden Gärten angelegt, wobei viele Sorten gezüchtet und verbreitet wurden. Bis ins 17. Jahrhundert wurden Äpfel vor allem in höfischen Gartenanlagen, rund um Dörfer und Städte sowie Klöster angepflanzt. Erst im 18. und 19. Jahrhundert entstanden in der freien Landschaft zunehmend Obstwiesen [Lieberei und Reisdorff, 2007].³

In der christlichen Religion wurde der Apfel als mystische oder verbotene Frucht bezeichnet. In der christlichen Mythologie galt er als "Sinnbild der Sünde und Verführung" (Adam und Eva), wobei der Apfel in der keltischen Religion als Symbol der Weisheit und des Wissens an Bedeutung gewann. Lange Zeit bedeutete der Apfel für Kaiser und Könige ein Symbol der Macht und Symbol für die Weltkugel.⁴

2.3. Klassifizierung des Apfels

Der Apfel (*Malus*) bildet eine eigenständige Gattung in der Unterfamilie der Kernobstgewächse (*Maloidea*) und gehört zu den Rosengewächsen (*Rosaceae*). Tabelle 1 zeigt die taxonomische Einordnung des Apfels. Die Gattung *Malus* umfasst etwa 40 bis 55 laubwerfende Bäume der nördlichen gemäßigten Zone in Europa, Asien und Nordamerika [Lieberei und Reisdorff, 2007].

Tabelle 1: Taxonomie des Apfels [Lieberei und Reisdorff, 2007].

Klasse	Dreifurchenpollen-Zweikeimblättrige (<i>Rosopsida</i>)
Unterklasse	Rosenähnliche (<i>Rosidae</i>)
Ordnung	Rosenartige (<i>Rosales</i>)
Familie	Rosengewächse (<i>Rosaceae</i>)
Unterfamilie	Kernobstgewächse (<i>Maloidea</i>)
Gattung	Äpfel (<i>Malus</i>)

³ <http://www.suedtirolerapfel.com/>

⁴ <http://www.bmlfuw.gv.at/land/lebensmittel>

Heute existieren ca. 30.000 Apfelsorten, wobei teilweise hohe Merkmalsähnlichkeiten zwischen den Sorten auftreten können. Dadurch entstand die Klassifizierung der zehn Unterarten nach LICHONOS (1972), die sowohl Fruchtcharakteristika als auch die geographischen Schwerpunkte berücksichtigt.

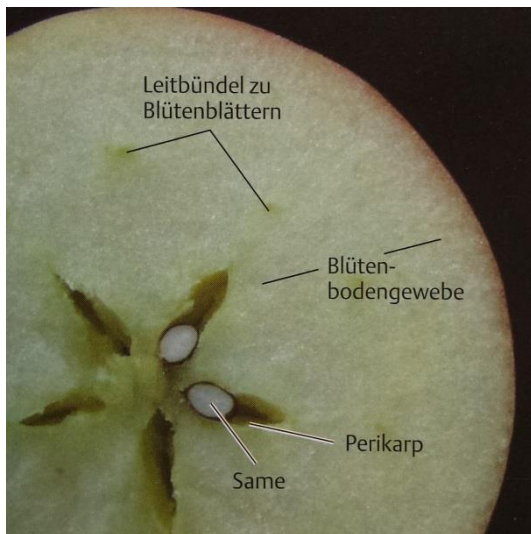


Abbildung 2: Apfel (*Malus domestica*) Querschnitt durch die Frucht [Lieberei und Reisdorff, 2007].

Jedes Fruchtblatt besteht aus zwei Samenanlagen, von denen sich meistens nur eine entwickelt. Nach der Bestäubung wächst die Blüte zu einer fleischigen Frucht heran (Abb. 2), die reichlich Inhaltsstoffe besitzt (Tabelle 2). Der Stiel und der Kelch kommen beim Wachstum in trichterförmige Gruben zu liegen. Die äußerste Hautschicht, die Epidermis, ist häufig von Wachs bedeckt [Lieberei und Reisdorff, 2007].

Tabelle 2: Inhaltsstoffe von Kernobst in 100 g essbarem Anteil (Mittelwerte) [Souci et al, 1994].⁵

Apfel Inhaltsstoffe	in 100 g essbarem Anteil	Apfel Inhaltsstoffe	in 100 g essbarem Anteil
Energie (kcal)	54	Vitamin E (mg)	0,5
Fett (g)	0,6	Vitamin B ₁ (mg)	0,04
Protein (g)	0,3	Vitamin B ₂ (mg)	0,03
Kohlenhydrate (g)	11,4	Niacin (mg)	0,3
Ballaststoffe (g)	2	Vitamin B ₆ (mg)	0,1
Kalium (mg)	122	Folsäure (µg)	7,5
Kalzium (mg)	7	Vitamin C (mg)	12
Magnesium (mg)	6		
Eisen (mg)	0,5		

⁵ <https://www.gesundheit.gv.at>

Die Äpfel enthalten Folsäure und Vitamin C, wobei der Gehalt von der Sorte des Apfels abhängt. Äpfel enthalten viele Mineralstoffe wie Kalium, Eisen, Magnesium oder Kalzium sowie auch sekundäre Pflanzenstoffe. Auch ein hoher Anteil an Ballaststoffen in Form von Pektin und Cellulose sind im Apfel zu finden.⁶

2.4. Herstellung von Apfelsaft

Apfelsäfte sind Säfte, die aus frischen Kernfrüchten hergestellt werden. Durch ihren hohen Anteil an Fruchtsäure, Fruchtzucker und Vitamingehalt sind sie sehr gesund.

Zuerst werden die Äpfel gewaschen, um den Schmutz zu entfernen (Abb. 3). Beim Waschvorgang werden Bürsten verwendet, um die Pflanzenschutzmittelrückstände zu beseitigen. Der Effekt der Reinigung ist abhängig von der Dauer des Waschvorganges, der Temperatur und der Einwirkung mechanischer Kräfte. Schließlich folgt die Sortierung. Für die Qualität des fertigen Saftes ist von Bedeutung, dass gefaulte, zerschlagene und unreife Früchte entfernt werden.

Die Zerkleinerung der Früchte kann mittels mechanischer (Obstmühlen), thermischer (Thermobreak), enzymatischer (Maischefermentierung) oder mittels unkonventioneller Verfahren (Ultraschall, Elektropasmolyse) erfolgen. Ziel der Zerkleinerung ist es, Maische mit einer Korngröße von 5 bis 8 mm Durchmesser zu erhalten. Um eine höhere Saftausbeute sowie eine Reduktion der Viskosität zu erreichen, erfolgt vor dem Pressen meist ein enzymatischer Pektinabbau der Maische. Mittels Wärmeaustauschern erfolgt dieser Schritt bei erhöhten Temperaturen, um Zeit einzusparen. Üblicherweise wird die Maische auf 45 bis 50° C erhitzt. Nach der Zugabe des Enzympräparates folgt eine ein- bis zweistündige Reaktionszeit. Bei der Entsaftung werden hauptsächlich Bandpressen und Horizontalkorbpressen verwendet. Dadurch erhält man 65 bis 80 l Saft aus 100 kg Obst. Anschließend erfolgt die Entfernung unerwünschter Stoffe (Trübstoffe) mittels Separation und Zentrifugation. Das klassische Haltbarmachungsverfahren von Apfelsaft ist die Pasteurisation (<100 °C). Der Saft wird auf 70 °C erhitzt und dann abgekühlt. Sie besteht in der Abtötung der für den Verderb verantwortlichen vegetativen Mikroorganismen sowie der Inaktivierung von Enzymen. Bei der Herstellung eines naturtrüben Saftes werden die groben Trübstoffe mittels eines Separators (Zentrifuge) mechanisch weitgehend abgetrennt. Zum Schluss erfolgt noch einmal ein Pasteurisationsschritt, und der naturtrübe Saft ist für den Verkauf fertig. Um einen klaren Saft zu erhalten, werden die gleichen Schritte wie beim naturtrüben Saft durchgeführt. Der einzige Unterschied ist, dass vor der Zentrifugation der Apfelsaft noch einmal mit Pektinasen und Amylasen enzymatisch behandelt wird.

⁶ www.gesundheit.gv.at

Das Abfüllen der Säfte geschieht vollautomatisch entweder in Flaschen, Dosen oder Tetrapacks, wobei die Abfüllmengen von 0,125 l bis 2 l angeboten werden [Siegel, Lenger, Roman, Radl, 1993].⁷⁸

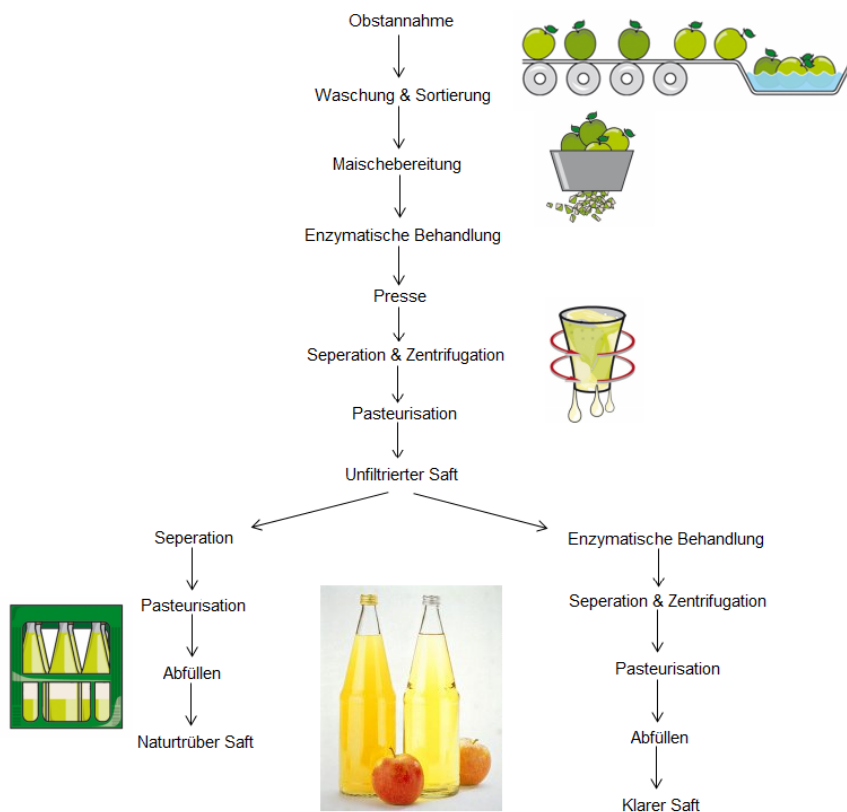


Abbildung 3: Herstellung des Apfelsaftes.⁹

2.5. Lagerung der Äpfel

Nach der Ernte reifen und altern die Äpfel. Durch die Nachreife werden Stärkereste zu Zucker abgebaut und Glucose in Fructose umgewandelt, dadurch bekommen die Äpfel ein besseres Aroma und schmecken süßer. Durch zunehmende Lagerdauer verringert sich der Vitamingehalt. Der Apfel verliert an Feuchtigkeit und wird dadurch runzelig und mehlig. Das Fruchtfleisch wird braun und der Apfel verdirbt. Dieser Prozess lässt sich mittels niedriger Lagertemperatur, hoher Luftfeuchtigkeit, gezielter Belüftung und ohne Berührung der Äpfel verlangsamen. Obstkisten aus Wellpappe eignen sich am besten, um Druckstellen an Äpfeln zu verhindern. Apfelsorten wie Boskoop, Elstar, Gala,

⁷ <http://www.fruchtsaft.de>

⁸ <https://www.ugb.de/>

⁹ <http://www.fruchtsaft.de>

Jonagold und Topaz lassen sich gut in luftigen Gewölbekellern mit Lehm Boden oder eingelegten Ziegelsteinen lagern. Hier herrschen hohe Luftfeuchtigkeit und eine geeignete Temperatur.¹⁰

Die zurzeit beliebteste Aufbewahrung der Äpfel ist das CA-Lager. CA steht für Controlled Atmosphere. Bei dieser Atmosphäre herrscht eine Temperatur von 4 °C, die Luftfeuchtigkeit beträgt 98 % und durch Zugabe von Stickstoff liegt der Sauerstoffanteil bei nur 0,8 %. Das sind die Bedingungen, die es schaffen den Reifeprozess zu verlangsamen.

Seit 2004 wird in Österreich das SmartFresh-Verfahren angewendet. Dabei werden die Äpfel mit dem Gas Methylcyclopropen (MCP) behandelt. Methylcyclopropen wird zur Verzögerung der natürlichen Alterung des geernteten Obstes eingesetzt. Dieses Gas blockiert das Reifehormon Ethylen, indem es bestimmte Poren der Schale besetzt. Ethylen fördert den Reifevorgang der Äpfel, und wenn dieses fehlt, dann verzögert sich der natürliche Alterungsprozess. Der Nachteil dieser Methode ist, dass wenn sie falsch angewendet wird es zur Verfärbung des Fruchtfleisches kommen kann und weniger Aromastoffe werden gebildet, weshalb diese Methode nicht gerne eingesetzt wird.^{11 12 13}

¹⁰ http://www.kleingarten-bund.de/garten/umwelttipp/aepfel_richtig_lagern

¹¹ <https://de.wikipedia.org/wiki/1-Methylcyclopropen>

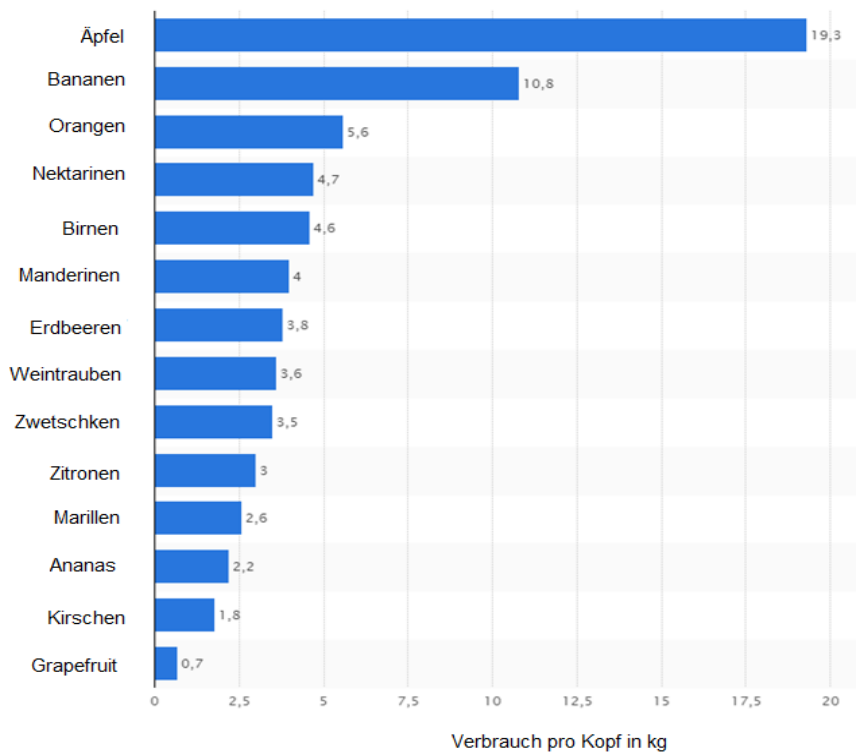
¹² <http://www.daserste.de/information/wissen-kultur/w-wie-wissen/sendung/aepfel-110.html>

¹³ <http://www.obstwein-technik.eu>

2.6. Statistische Auswertungen

Äpfel gehören zu den europaweit am häufigsten konsumierten Früchten. Im Jahr 2014 betrug der Pro-Kopf-Verbrauch von Äpfeln in Österreich 19,3 kg. Aus der Tabelle 3 ist ersichtlich, dass der Apfel im Jahr 2014 die Lieblingsobstsorte der Österreicher war, gefolgt von Bananen und Orangen.

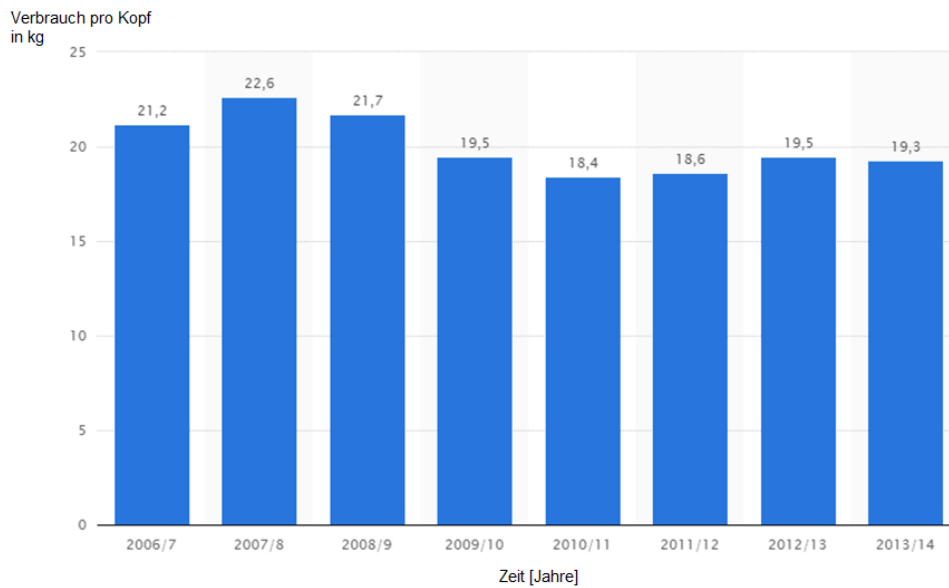
Tabelle 3: Verbrauch von verschiedenen Obstsorten pro Kopf in kg in Österreich im Jahr 2014.¹⁴



Die Entwicklung des Pro-Kopf-Verbrauchs von Äpfeln ist in den letzten 15 Jahren trotz Schwankungen langsam angestiegen und hat 2007/08 den bisherigen Höchstwert von 22,6 kg pro Jahr und Kopf erreicht (Tabelle 4). Der letzte Stand von 2013/14 hatte einen Pro-Kopf-Verbrauch von 19,3 kg, um 0,2 kg weniger als im Vorjahr.

¹⁴ <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/287657/umfrage/pro-kopf-konsum-von-obst-in-oesterreich-nach-fruchtsorten/>

Tabelle 4: Entwicklung des Pro-Kopf-Verbrauches von Äpfeln von 2006/07 bis 2013/14.¹⁵



Laut der Internetseite statista.com wurden letztes Jahr 330.295 hl Apfelsaft konsumiert (Tabelle 5). Dieser Statistik zufolge war der Orangensaft das beliebteste Fruchtgetränk, wobei dicht gefolgt der Apfelsaft liegt. Der Verbrauch der Fruchtsäfte von 2013 auf 2014 verringerte sich, nur der Ananassaft stieg an.

Tabelle 5: Verbrauch von Fruchtsäften in 2013 und 2014.¹⁶

Säfte	2014 (hl)	2013 (hl)
Apfel	330.295	368.837
Orange	477.362	499.199
Birne	14.659	15.513
Ananas	28.337	19.000
Total	1.113.202	1.193.896

Die Zahlen der Versorgungsbilanz in Österreich haben sich in den letzten fünf Jahren verändert (Tabelle 6). In dieser Tabelle ist zu erkennen, dass die Erzeugungsbilanz in den letzten Jahren gefallen ist und die Einfuhrbilanz anstieg. Auch die Bilanz des Nahrungsverbrauches wuchs in den letzten Jahren.

¹⁵ <http://de.statista.com>

¹⁶ <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/456937/umfrage/umfrage-zum-genuss-von-fruchtsaft-in-oesterreich/>

Tabelle 6: Versorgungsbilanz für Obst in Österreich.¹⁷

Bilanz	2009	2010	2011	2012	2013
Erzeugung (t)	504.971	429.657	528.644	449.873	429.401
Einfuhr (t)	607.857	631.096	648.299	672.362	698.149
Ausfuhr (t)	224.225	239.497	239.025	211.201	208.595
Inlandsverwendung (t)	888.603	821.256	937.918	911.034	918.955
Verarbeitung (t)	163.500	129.700	207.000	203.500	183.500
Verluste (t)	78.990	63.261	84.900	69.551	71.814
Nahrungsverbrauch (t)	646.113	628.295	646.018	637.983	663.641
Nahrungsverbrauch pro Kopf (kg)	77,1	74,8	76,5	75,5	78,0

¹⁷ file:///C:/Users/Manu/Downloads/versorgungsbilanz_fuer_obst_200809_bis_201314%20(2).pdf,

http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/preise_bilanzen/versorgungsbilanzen/index.html

3. Haltbarmachung

Die Reife bei den Äpfeln ist dann erreicht, wenn Farbe, Saftigkeit und der Zucker-Säure-Gehalt einen fruchttypischen Eindruck erreicht haben. Bei der Reifung nehmen der Säuregehalt ab und der Zuckergehalt zu. Beim Zerkleinern eines Apfels bricht die Aromastoffbiosynthese ab [Schwedt, 1999].

Die Haltbarmachung von Äpfeln darf durch physikalische, chemische und biologische Verfahren geschehen z. B. durch Wärme- und Kältebehandlung, Konzentrierung, Entkeimungsfiltration oder durch Einlagerung unter Kohlendioxid [Siegel et al., 1993].

Zu den physikalischen Verfahren zählen Wärmezufuhr bzw. Wärmeabfuhr, Einwirkung von Strahlen, Schutzgase und Wasserentzug (Abb. 4). Bei den chemischen Verfahren werden die Mikroorganismen durch Konservierungsstoffe gehemmt oder abgetötet. Die biologischen Verfahren beinhalten die Konservierung durch Alkohol oder Milchsäure.¹⁸

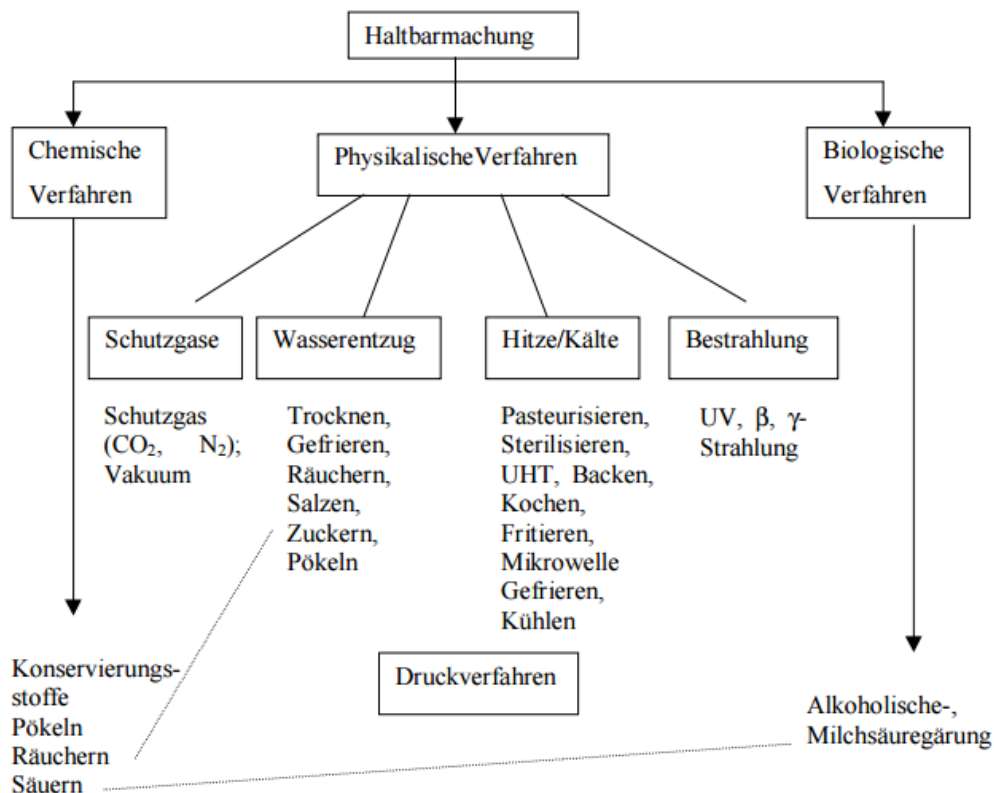


Abbildung 4: Überblick über die Haltbarmachung von Lebensmitteln. Einteilung in chemische, physikalische und biologische Verfahren.¹⁹

¹⁸ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

¹⁹ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

3.1. Kältebehandlung

In Haushaltskühlschränken sind Lebensmittel nur wenige Tage lagerfähig. Laut der Internetseite www.gesundheit.gv.at sollte die Lagerungstemperatur zwischen 0 und 12 °C liegen, wobei im oberen Hauptfach die Temperatur zwischen 5° und 8° C liegt, im mittleren Fach bei 4° C, im unteren 0° und 2° C, in der Obst- und Gemüselade zwischen 8° und 10° C sowie in der Türe zwischen 10° und 12° C liegen sollte. Im oberen Fach sollten Käse, Kuchen, Eier und im mittleren eher Milch, Joghurt, Topfen sowie im unteren eher Fleisch, Wurst und Fisch aufbewahrt werden. In der Gemüselade können Salate, Erbsen, Knoblauch usw. und in der Obstlade Äpfel, Trauben und Kiwis verstaut werden. Die Fächer in der Türe sind hauptsächlich für Butter, Ketchup, Senf und Getränke geeignet.

Manche Obst- und Gemüsesorten sind empfindlich und sollten nicht im Kühlschrank aufbewahrt werden, da zu kalte Temperaturen zu Geschmacksveränderungen, Texturveränderungen (Weichwerden) oder zur Veränderung der Oberfläche (Braunwerden) führen können.²⁰

Tiefgefrorene Lebensmittel müssen bei einer Temperatur von unter -18° C gelagert werden, außer beim Be- und Entladen und beim Verkauf darf die Temperatur kurz bei -15 °C liegen. Die meisten Lebensmittel sind dadurch bis zu 8 Monate haltbar. Länger als 12 Monate halten Obstsorten wie Äpfel, Birnen und Pfirsiche.

3.2. Hitzebehandlung

Zu den Verfahren der Hitzebehandlungen zählen z. B. Garen, Pasteurisieren und das Sterilisieren.

Beim Pasteurisierungsprozess werden Temperaturen unter 100° C eingesetzt. Durch diese hohe Temperatur werden die meisten Bakterien, Hefen und Pilze abgetötet. Die Pasteurisierung wird bei Milch, Obst, Gemüse und Flüssigkeiten eingesetzt. Um die Qualität zu erhalten, werden die Produkte schonend erhitzt. Der Vorteil der Pasteurisierung ist die schnelle Abtötung der Mikroorganismen.

Sterilisation bezeichnet man ein Verfahren bei dem Materialien und Gegenstände von lebenden Mikroorganismen befreit werden. Bei der Sterilisation wird mit einer Temperatur von 115 bis 135° C gearbeitet, um die bakteriellen Endosporen abzutöten. Die Sterilisation findet unter Gegendruck im Autoklaven statt.²¹

²⁰ <https://www.gesundheit.gv.at/Portal.Node/ghp/public/content/ernaehrung-mehr-zum-thema-lagerung-kuehlschrank-LM.html>

²¹ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

3.3. Wasseraktivitätsverlust

Bei der Trocknung wird dem Produkt durch Luft, Sonne oder unter Vakuum Wasser entzogen und dadurch wird der a_w -Wert gesenkt.

Die Behandlung der Lebensmittel mit Salzen hat einen konservierenden Effekt; auch dadurch wird der a_w -Wert gesenkt. Bei dieser Behandlung wird Kochsalz verwendet, z. B. bei der Herstellung von Käse, Butter und Fischprodukten.

Beim Zuckern wird das Wachstum der Mikroorganismen gehemmt und dadurch wird auch der a_w -Wert niedriger. Bei diesem Prozess kann der Zucker als Kristallzucker oder auch als Flüssigzucker eingesetzt werden.²²

3.4. Behandlung durch Strahlung

Das Wachstum von Mikroorganismen kann durch Strahlung behindert werden. Hohe Strahlungsdosen töten die Mikroorganismen ab.

Die UV-Strahlen, die speziell durch Quecksilberdampflampen, aber auch durch die Sonne entstehen, wirken auf das Erbmateriale der Mikroorganismen, die durch die Strahlen geschädigt werden. Eine besondere Wirksamkeit haben Strahlen der Wellenlänge 240 bis 280 nm. Mittels der UV-Strahlen können die Lebensmittelinhaltsstoffe (z. B. Vitamine und Farbstoffe) beschädigt werden.

Ionisierende Strahlen haben eine hohe Eindringtiefe und können dadurch die Zellenzyme schädigen.²³

3.5. Behandlung durch Konservierungsstoffe

Es gibt nur wenige Substanzen, die toxikologisch so unbedenklich sind, dass sie zur Konservierung eingesetzt werden können. Dazu zählen organische Säuren wie die Milchsäure, Essigsäure und Zitronensäure, Sorbinsäure, Benzoesäure, Ameisensäure und Propionsäure. Schwefeldioxid bzw. schweflige Säuren werden nicht nur als Konservierungsmittel verwendet, sondern auch als Antioxidationsmittel und als Farbstabilisator. Nitrit darf Lebensmitteln allein nicht zugesetzt werden. Nur direkt in Mischung mit Natriumchlorid oder indirekt als Nitrat zugesetzt.²⁴

²² <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

²³ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

²⁴ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

3.6. Behandlung durch veränderte Gasatmosphäre

Durch den Ausschluss von Sauerstoff, durch Vakuumverpackung oder durch Verpackung in einem inerten Gas wie Stickstoff können aerobe Mikroorganismen zurückgedrängt werden. Ein weiterer Schutzeffekt ist ein erhöhter Kohlendioxidgehalt in der Lageratmosphäre. Dadurch wird das Wachstum von Hefen, Pilzen und Bakterien gehemmt. Die Wachstumshemmung von Mikroorganismen wird bei der CA-Lagerung (Controlled Atmosphere) von Obst ausgenutzt. In einem CA-Lager wird der Alterungsprozess von Obst, z. B. Äpfel, verlangsamt. CA bedeutet, dass die Atmosphäre kontrolliert gesteuert wird und dadurch kann die Reifung der Früchte verzögert werden, das heißt, dass kein Abbau von Inhaltsstoffen stattfindet. In diesen Lagern werden Temperatur, Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidgehalt sowie Luftfeuchtigkeit mittels Mess- und Regelungstechnik überwacht. In einem CA-Lager gibt es mehrere Bedingungen, die eingehalten werden müssen. Im Lager herrscht niedrige Temperatur (-1° bis 6° C), hohe Luftfeuchtigkeit (92 %), niedriger Sauerstoffgehalt (2 bis 3 %) und erhöhter Kohlenstoffdioxidgehalt (2 bis 5 %). Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass die Sauerstoffkonzentration nie auf 0 % sinken darf, da sonst unter anaeroben Bedingungen Ethanol gebildet werden kann. Des Weiteren sollte das entstehende Kohlenstoffdioxid durch Scrubber absorbiert werden, da es sonst Stoffwechselschäden verursachen kann. Auch eine konstante hohe Luftfeuchtigkeit ist wichtig, damit das Obst nicht vertrocknet. Die Äpfel bleiben bis zu einem Jahr knackig frisch, wenn mit diesen Bedingungen gearbeitet wird.^{25 26 27}

²⁵ <https://de.wikipedia.org/wiki/CA-Lager>

²⁶ <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf>

²⁷ https://www.was-wir-essen.de/abisz/aepfel_verarbeitung_lagerung_verpackung.php

4. Vitamin C

4.1. Die Geschichte von Vitamin C

Die Krankheit Skorbut ist wahrscheinlich so alt wie die Menschheit. Bei Ausgrabungen von Skeletten wurde Skorbut schon beim prähistorischen Menschen festgestellt [Isler et al., 1988].

Zu den Vitaminmangelkrankheiten zählen Skorbut, Beriberi, Pellagra, perniziöse Anämie und Rachitis. Skorbut war die klassische Seefahrerkrankheit, da auf den Seereisen keine frischen Nahrungsmittel wie Obst verfügbar waren. Auf der Entdeckungsreise des Seefahrers Vasco da Gama 1497 starben 100 von seinen 160 Mann Besatzung an Skorbut [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].

Die ersten Symptome sind Verlust von Körperkraft, Ruhelosigkeit, Depressionen und Erschöpfung. Die Haut wird fahl und dunkelgrau und der Patient klagt über Muskelschmerzen, unter anderem entstehen Mundgeschwüre, die Zähne fallen aus und der Atem riecht faul. Die letzten Stadien der Krankheit sind purpurfarbene subkutane Flecken, Durchfall, Erschöpfung und Schädigungen von Lungen, Nieren und Herz mit Todesfolge. Beim Kind führt Ascorbinsäure-Mangel zum Wachstumsstillstand, zu Anschwellungen des Knochen- und Knorpelgewebes und zu Störungen der Zahnentwicklung [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].

Durch die zahllosen Symptome kam man zur Schlussfolgerung, dass die Krankheit mit der Ernährung zu tun hatte. Im Jahre 1747 führte der Arzt James Lind ein Experiment durch, indem er 12 Skorbut-Patienten die gleiche Nahrung gab, jedoch zwei Teilnehmer erhielten zusätzlich jeden Tag zwei Orangen und eine Zitrone. Nach etwa 6 Tagen waren die beiden mit Obst ernährten Patienten wieder gesund, während sich der Zustand der Übrigen nicht gebessert hatte [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].

1772 bis 1775 hielt der Entdecker James Cook auf einer Weltreise die Schiffsmannschaft mit eingedicktem Saft der Bierwürze, Sauerkraut, Zitronen und Orangensaft Skorbut frei [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].²⁸

Der deutsche Arzt August Hirsch veröffentlichte im Jahr 1860 das Buch „Historisch-geographische Pathologie“, in dem er Skorbut als Mangelkrankheit beschreibt. Seine Nahrungsempfehlung für den Menschen war frisches Gemüse, Kartoffeln, Sauerkraut und Zitrusfrüchte.

²⁸ <http://www.vitalstoff-journal.de>

Casimir Funk entdeckte 1912, dass mehrere bekannte Krankheiten durch den Mangel eines lebenswichtigen Wirkstoffes bedingt sind, er unterschied den Antiskorbut-Faktor C vom fettlöslichen Faktor A und dem wasserlöslichen Faktor B. Aus diesen Faktoren A, B und C wurden bald die Vitamine A, B und C. Nach erfolgter Strukturaufklärung des Vitamin C einigte man sich auf den Trivialnamen Ascorbinsäure, der auf den Säurecharakter des Antiskorbut-Faktors hinweist.

Der Chemiker Sylvester Salomon Zilva isolierte im Jahr 1920 Vitamin C aus einer Zitrone. 1927 isolierte der Biochemiker Albert Szent-Györgyi Vitamin C aus Paprika und Kohl und gab ihm den Namen A-Scorbin-Säure (Säure gegen Skorbut). Zwischen 1928 und 1932 bemerkte er die Zusammenhänge zwischen der Oxidation von Nährstoffen und Energiegewinnung. 1933 gelang es den Chemikern Tadeusz Reichstein und Anton Grüssner das Vitamin C künstlich herzustellen. Sie produzierten aus zwei bis vier Kilo Glucose durch mikrobielle, biotechnologische Oxidationsreaktion ein Kilo Vitamin C. 1933 meldete die Firma Hoffmann-La-Roche das Patent an.

Die jährliche Produktion an Vitamin C beträgt etwa 110000 t.

Heute gibt es Skorbut noch bei unterernährten Menschen in armen Ländern [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].²⁹

4.2. Was ist Vitamin C

Vitamin C ist ein farb- und geruchloses, weißes kristallines Pulver mit saurem Geschmack und lässt sich leicht in Wasser auflösen. Es ist eine organische Säure (Carbonsäure) und ihre Salze heißen Ascorbate. Das Vitamin C, auch Ascorbinsäure genannt, gibt es in vier unterschiedlichen Formen, wobei nur die L-(+)-Ascorbinsäure eine biologische Aktivität aufweist. Vitamin C ist ein Kohlenhydrat mit der Formel $C_6H_8O_6$, das als Reduktionsmittel funktioniert und Oxidation verhindern kann. Alle Pflanzen und fast alle Tiere können es aus Blutzucker durch Enzymabbau herstellen, Menschen, Affen und Meerschweinchen haben diese Begabung verloren. Es wird vermutet, dass vor 60 Millionen Jahren ein „Vorgänger“ die Begabung durch Genmutation verlor. Dem Menschen fehlt das Enzym *Gulonolacton-Oxidase*, welches die Leber zur Produktion von Vitamin C braucht. Dadurch wurde es für uns zum wichtigsten Vitamin gegen Krankheiten und vorzeitiges Altern. Unsere Vorfahren, die in wärmeren Gegenden lebten und sich überwiegend von Früchten und grünen Blättern ernährten, erhielten reichlich Vitamin C. In der heutigen Gesellschaft sieht es mit dem Vitamin-C-Nachschub eher schlecht aus, da durch unreife Ernten, lange Transportwege und Lagerung

²⁹ <http://www.zeit.de/2009/21/A-Vitamin-C>

bis zu 90 Prozent verloren gehen. Darüber hinaus sind heutige Obstsorten vitaminärmer als Wildsorten [Isler, Brubacher, Ghisla und Kräutler, 1988; Oster, Fechtel, 2011].³⁰

Es gibt zwei Formen von Vitamin C, die reine Ascorbinsäure und die Dehydroascorbinsäure (Abb. 5). Dehydroascorbinsäure fehlen zwei Wasserstoffatome, welche als Antioxidans an andere Moleküle abgegeben wurden [Regina Garloff, 2015].

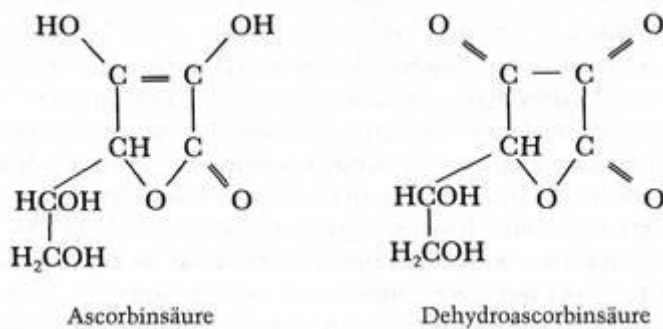


Abbildung 5: Chemische Struktur der Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure [Oster, Fechtel, 2011].³¹

Einige physikalische Eigenschaften der L-Ascorbinsäure sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7: Eigenschaften der L-Ascorbinsäure [Oster, Fechtel, 2011].³²

Summenformel	$C_6H_8O_6$
Molekülmasse	176,1
Beschreibung	Weißes Kristallpulver mit angenehmem, saurem Geschmack
Schmelzpunkt	190 bis 192° C
Absorptionsspektrum	λ_{max} bei pH = 2 (saure Lösung), 245 nm pH = 6,4 (neutrale Lösung), 265 nm pH = 14 (alkalische Lösung), 300 nm
pH	3 (5 mg/ml); 2 (50 mg/ml)
Löslichkeit	1 g löst sich in 3 ml Wasser, 50 ml Ethanol und 100 ml Glycerin; unlöslich in Ether, Chloroform, Benzol, Ölen und Fetten

³⁰ <http://www.vitalstoff-journal.de>

³¹ <http://www.vitalstoff-journal.de>

³² <http://www.vitalstoff-journal.de>

4.3. Welche Funktionen hat Vitamin C?

Vitamin C hat viele Funktionen im Körper, da es auf beiden Seiten der Redox-Reaktion beteiligt ist.

- **Antioxidans:** Antioxidans ist eine chemische Verbindung und verhindert die unerwünschte Oxidation von Substanzen. Für den Menschen ist die Ascorbinsäure ein essentiell notwendiger und antioxidativer Stoff. Vitamin C ist somit das wichtigste wasserlösliche Antioxidans. In der Zelle wird es selbst oxidiert, um es vor der Oxidation mit freien Radikalen zu schützen. Außerdem schützt es die Vitamine E, A, B1, B2 sowie die Folsäure und die Pantothensäure.
- **Kollagenaufbau:** Das Kollagen ist ein wichtiger Bestandteil des Bindegewebes. Vitamin C wirkt als Coenzym und ist für die Produktion von Kollagen zuständig. Unter anderem ist es auch verantwortlich für das Bereitstellen der Aminosäuren Lysin und Prolin für die Einlagerung in die kollagenen Fasern und für die Bindung einzelner Fasern zu Bindegewebe. Bei Vitamin-C-Mangel kann schwaches Bindegewebe in Haut, Gelenken, Muskeln, Knochen und Blutgefäßen entstehen.
- **Fettstoffwechsel:** Vitamin C ist für den Abbau von Cholesterin zu Gallensäuren zuständig. Wenn der Vitamin-C-Spiegel im Körper sinkt, wächst der Cholesterinspiegel in der Leber und im Blut. Vitamin C erhöht das HDL-Cholesterin, jedoch senkt es den Triglyceridspiegel und das Lipoprotein.
- **Entgiftungsfunktionen:** Ascorbinsäure animiert das Enzymsystem der Leber an, welches das Blut entgiftet und Medikamente sowie toxische Produkte abstoßen. Weiteres kann sie schädliche Wirkungen von Metallen wie Quecksilber, Blei und Cadmium reduzieren, indem sie deren Aufnahme ins Blut verringert. Vitamin C vermindert den Schaden von Rauchen und den Genuss von Alkohol. Außerdem fördert es den Abbau von Alkohol im Blut.
- **Carnitinsynthese:** Niacin und Vitamin B₆ sind von Vitamin C abhängig, um aus L-Lysin und L-Methionin die Aminosäure Carnitin aufzubauen. Um eine optimale Muskelfunktion zu erreichen, benötigen Mitochondrien, Carnitin, welches für die Fettverbrennung wesentlich ist.
- **Histamin:** Der Histaminspiegel im Blut wird von der Menge an Vitamin C kontrolliert. Je tiefer der Vitamin C-Spiegel fällt, desto höher wird der Histaminspiegel.
- **Nervenbotenstoffe:** Vitamin C, Vitamin B₆ und die Aminosäure sind an der Biosynthese des Neurotransmitters Serotonin beteiligt. Serotonin regelt die Drüsentätigkeit und ist für das Zentralnervensystem wichtig. Ein zu niedriger Serotoninspiegel kann zu Aggression oder Depression und Esssucht führen.

- **Glutathionstoffwechsel:** Die schwefelhaltigen Enzyme in den roten Blutkörperchen werden von Glutathion vor der Oxidation geschützt. Nur wenn Vitamin C, Selen, Vitamin B₂, E, Niacin und Beta-Carotin ausreichend im Körper vorhanden sind, können diese Reaktionen funktionieren. Ein Mangel an diesen Stoffen führt zu Fettoxidationen und damit Membranzerstörung der Zellen.
- **Immunabwehr:** Vitamin C stärkt das Immunsystem und dadurch steigert es die Antikörperproduktion und regt die Bildung weißer Blutkörperchen an. Durch einen hohen Vitamin-C-Spiegel können die dadurch entstandenen Oxidationsprodukte schadlos gemacht werden [Weber 2002].³³

³³ <https://www.naturepower.de/vitalstoff-journal/aus-der-forschung/vitamine/vitamin-c-die-wahrheit-ueber-das-wichtigste-aller-vitamine/>

5. Polyphenole

Polyphenole gehören zu den sekundären Pflanzenstoffen. Sie zählen mengenmäßig zu den wichtigsten Verbindungsklassen in der Natur und sind dadurch die zweithäufigste Gruppe aller organischen Verbindungen auf der Erde.

Phenol ist ein aromatischer Alkohol, d. h., eine Verbindung mit einem aromatischen Benzolring und einer alkoholischen Gruppe (siehe Abbildung 6). Polyphenole sind aromatische Verbindungen, die mehrere an einen aromatischen Ring gebundene Hydroxygruppen enthalten.

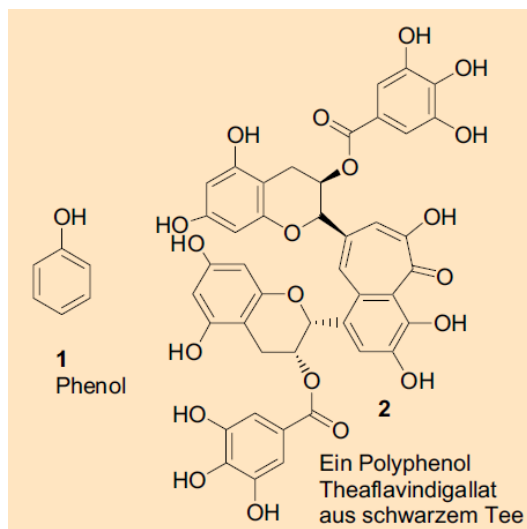


Abbildung 6: Strukturen von Phenol (1) und Polyphenol (2) [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegou 2011; Anderson, Markham 2006].

Pflanzen stellen viele Verbindungen her, diese können bis zu 30 solcher aromatischen Phenolgruppen enthalten.

Alle Pflanzen stellen Polyphenole in allen Pflanzenteilen her, befindet sich jedoch der höchste Anteil in den Blättern und Früchten. Der primäre Nutzen der Polyphenole für die Pflanzen ist, dass Polyphenole die Pflanzen vor schädlichem UV-Licht schützen. Sie kommen auch als Blütenfarbstoff und Farbpigment in allen Pflanzenteilen zum Einsatz [Kuhnert, 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegou 2011; Anderson, Markham 2006].

5.1. Chemische Eigenschaften der Polyphenole

Polyphenole sind Verbindungen mit vielen aromatischen Ringen mit OH-Gruppen.

Eine OH-Gruppe macht mit ihren freien Elektronenpaaren einen aromatischen Ring elektronenreich, dadurch sind Polyphenole, Nucleophile und lassen sich leicht oxidieren. Sie geben Elektronen ab und dadurch wirken sie reduktiv bzw. als Antioxidantien [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegu 2011; Anderson, Markham 2006].

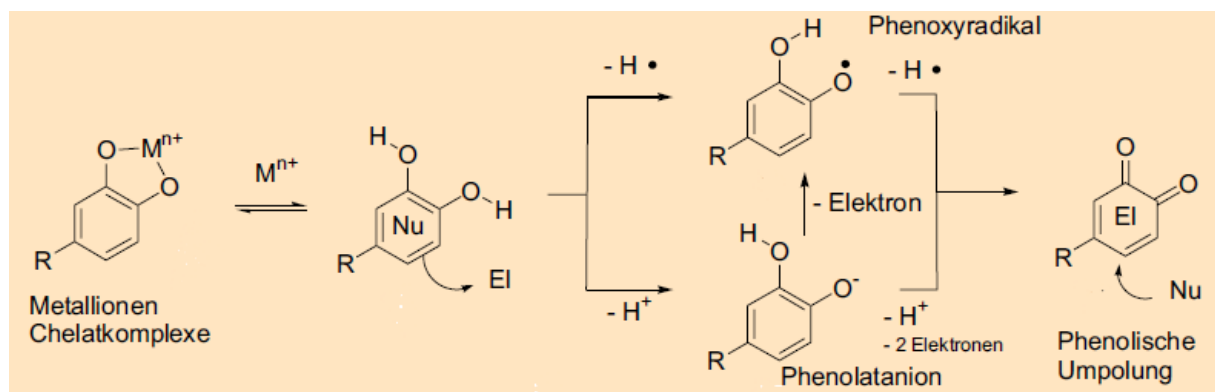


Abbildung 7: Chemische Reaktivitäten von Phenolen [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegu 2011; Anderson, Markham 2006].

Polyphenole sind in der Lage mit Metallionen einen Chelatkomplex zu bilden (siehe Abbildung 7). Der Wasserstoff an der phenolischen OH-Gruppe lässt sich chemisch leicht entfernen. Entweder im Rahmen einer Säure-Base-Reaktion oder radikalisch. Bei dem Phenolatanion wird der Wasserstoff radikalisch abgespalten und es bleibt am Phenolsauerstoff ein freies, ungepaartes Elektron zurück. Durch bedingte Stabilität des Radikals wird ein Phenol zu einem guten Reaktionspartner für andere Radikale. Je mehr OH-Gruppen sich am aromatischen Ring befinden, desto ausgeprägter ist diese Eigenschaft. Das Phenoxyradikal und das Phenolatanion können in einem Oxidationsschritt zu einem *ortho*-Chinon oxidiert werden. Dieses ist ein reaktives Elektrophil, welches mit nucleophilen Komponenten reagieren kann. Diese Reaktion ist verantwortlich dafür, dass Phenole miteinander reagieren und unter Ausbildung neuer C-C-Bindungen polymerisieren. Alle Phenole mit OH-Gruppen können mit anderen Molekülen Wasserstoffbrückenbindungen eingehen. Ihr elektronenreicher Ring erlaubt Wechselwirkungen mit Kationen und anderen Ringen [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegu 2011; Anderson, Markham 2006].

5.2. Reaktion der Polyphenole

Polyphenole und ihre Oxidationsprodukte, die Chinone, zählen zu den reaktivsten Inhaltsstoffen in Früchten und deren Produkten. Während der Getränkeherstellung (Apfelsaft) wie auch später während der Lagerung, unterliegen die Polyphenole durch enzymatische und nicht enzymatische Reaktionen ständigen Veränderungen [Macheix et al. 1990; Spanos und Wrolstad 1990; Spanos 1990]. Durch die Zerstörung der Zellen durch Mahlen, Entsaften oder Anschneiden eines Apfels und der damit verbundenen Freisetzung der Polyphenole stellen sie Reaktionspartner für andere Inhaltsstoffe dar.

Deswegen unterscheidet sich die Zusammensetzung der Polyphenole von Fruchtsäften von der in den Früchten. Die ortho-Chinone sind die wichtigsten Reaktionszwischenstufen der Polyphenole (siehe Abbildung 8) und können mit Polyphenolen als auch mit organischen Inhaltsstoffen reagieren.

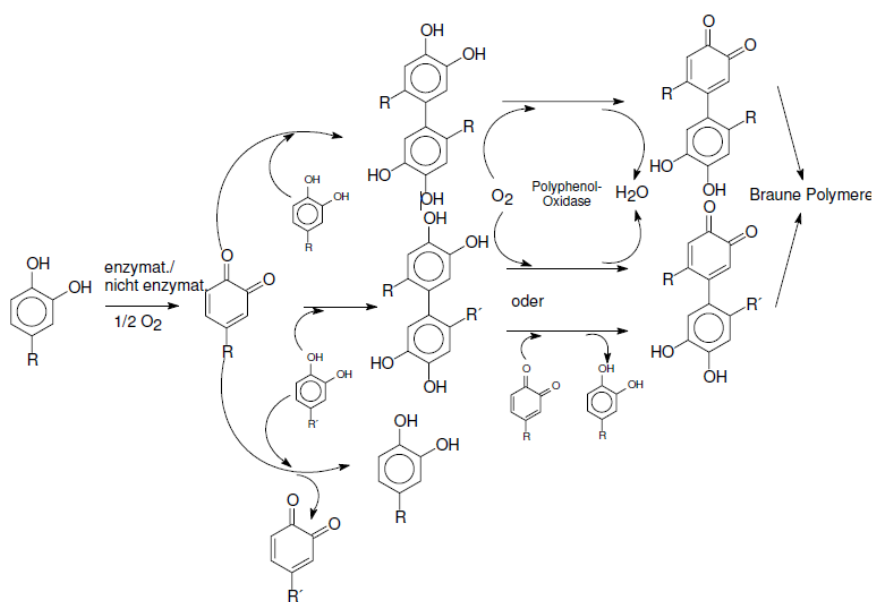


Abbildung 8: Reaktionen von o-Chinonen mit Polyphenolen [Macheix et al. 1990; Spanos und Wrolstad 1990; Spanos 1990].

Die enzymatische oder nicht enzymatische Bildung des o-Chinons ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt aller nachfolgenden Reaktionen. Enzyme, die Polyphenole oxidieren, werden als Polyphenoloxidasen (PPO) bezeichnet.

Die Reaktionen der primären Reaktionsprodukte führen häufig zu höheren Polymeren mit brauner Farbe [Macheix et al. 1990; Spanos und Wrolstad 1990; Spanos 1990].

6. Phenoloxidasen

Polyphenoloxidasen (PPO) katalysieren Bräunungsreaktionen und haben dadurch eine erhebliche Bedeutung in der Obst- und Gemüsebranche. Diese Reaktion ist in vielen pflanzlichen Lebensmitteln Ursache für die Verschlechterung und den Verlust von Lebensmittelqualität. Eine bessere Kenntnis über die Wirkung der PPO ist dadurch notwendig, um die schädlichen Aktivitäten in pflanzlichen Produkten zu kontrollieren und zu manipulieren [Yoruk und Marshall, 2003].

PPO ist in den meisten Pflanzengeweben vorhanden. Wegen ihrer Beteiligung an der unerwünschten Bräunung von pflanzlichen Produkten erhielt es hohe Aufmerksamkeit von Forschern auf dem Gebiet der Pflanzenphysiologie und Ernährungswissenschaft [Ruhiye Yoruk, Maurice Marshall, 2003].

Eine Farbveränderung durch eine geschädigte Oberfläche von Obst und Gemüse ist auf enzymatische Aktivität von Phenolasen und Tyrosinasen zurückzuführen. Es entstehen aus Monophenolen durch Hydroxylierung o-Diphenole. Bei Abwesenheit von Sauerstoff werden aus o-Diphenole, o-Chinone gebildet. Anschließend kann diese weitere Reaktionen eingehen. Das Endprodukt der Oxidation sind Melanine [Schwedt, 1999].

Um die Bräunung zu verhindern gibt es mehrere Maßnahmen, dazu zählt der Zusatz von Reduktionsmitteln wie Ascorbinsäure oder Sulfit. Durch das Sulfit kann auch das Enzym Ascorbat-Oxidase inaktiviert werden, sodass die natürliche Ascorbinsäure-Konzentration erhalten bleibt. Eine weitere Methode wäre der Zusatz von Komplexbildnern wie Zitronensäure oder Phosphat. Diese vermindern die Bräunung durch Komplexbildung des Kupfers, das als Zentralatom im Enzym Tyrosinase enthalten ist [Georg Schwedt 1999].

6.1. Klassifizierung der Polyphenole

Polyphenole sind die wichtigsten Inhaltsstoffe und tragen zum Aussehen und Geschmack des Obstes bei. Die Polyphenole lassen sich einteilen in [Herrmann, 1992]:

- Phenolcarbonsäure und ihre Derivate; Nichtflavonoide
- Flavonoide
- Niedermolekulare Phenole (Aromastoffe)

Es kann eine weitere Einteilung bezüglich ihrer Grundkörper gemacht werden:

- C₆-C₁-Grundkörper (Hydroxybenzoesäure-Verbindungen)
- C₆-C₃-Grundkörper (Hydroxyzimtsäure-Verbindungen)
- C₆-C₃-C₆-Grundkörper (Flavonoide)

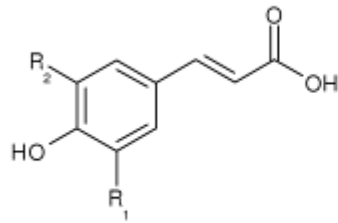
6.1.1. Phenolcarbonsäuren

Die Phenolcarbonsäuren lassen sich in Hydroxyzimtsäure und Hydroxybenzoesäure-Verbindungen unterteilen. Sie kommen in den Randschichten der Pflanzen vor und stabilisieren die Zellwände der Schalen [Schuster, Herrmann, 1985].

6.1.1.1. Hydroxyzimtsäure

Sie besitzen einen C₆-C₃-Grundkörper und die wichtigsten Vertreter leiten sich von der Kaffeesäure, der p-Cumarsäure und der Ferulasäure ab (Abbildung 9). Bei der Biosynthese wird die Carboxylgruppe der Hydroxyzimtsäuren mit Alkohol, Kohlenhydraten, Hydroxycarbonsäuren und anderen Phenolen verestert oder mit Aminen zu Amiden umgesetzt. Die freien Säuren entstehen während der Verarbeitung durch enzymatische oder nicht enzymatische Hydrolyse der Esterbindung.

Die Chlorogensäure, ein Ester aus Kaffeesäure und L-Chinasäure, und ihre beiden Stellungsisomere, die Neochlorogensäure und die Kryptochlorogensäure, sind die am weitesten verbreiteten Hydroxyzimtsäure-Verbindungen in Früchten. Im Apfelsaft beispielsweise stellt die Chlorogensäure das wichtigste Polyphenol. Seltener sind Glykoside der Hydroxyzimtsäuren, bei denen eine glykosidische Bindung zwischen einem Zucker, meist D-Glucose, und einer der phenolischen Hydroxylgruppen vorliegt [Schuster, Herrmann, 1985].

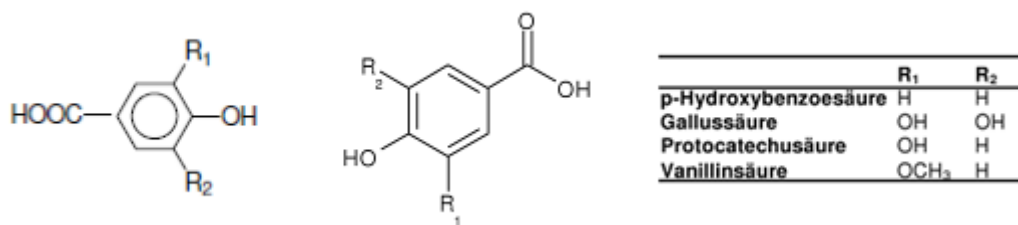


	R ₁	R ₂
p-Cumarsäure	H	H
Ferulasäure	H	OCH ₃
Sinapinsäure	OCH ₃	OCH ₃
Kaffeesäure	H	OH

Abbildung 9: Strukturen der wichtigsten Hydroxyzimtsäuren in Früchten [Schuster, Herrmann, 1985].

6.1.1.2. Hydroxybenzoesäuren

Hydroxybenzoesäuren besitzen einen C₆-C₁-Grundkörper und kommen nur in geringen Konzentrationen vor. Am häufigsten findet man p-Hydroxybenzoesäure, Gallussäure, Protocatechusäure und Vanillinsäure (siehe Abbildung 10) [Herrmann 1992; Häkkinen 1997].



	R ₁	R ₂
p-Hydroxybenzoesäure	H	H
Gallussäure	OH	OH
Protocatechusäure	OH	H
Vanillinsäure	OCH ₃	H

Abbildung 10: Die häufigsten vorkommenden Hydroxybenzoesäuren in Früchten [Franzke 1996; Häkkinen 1997].

6.1.2. Flavonoide

Flavonoide haben eine große Bedeutung unter den Polyphenolen in Pflanzen. Sie besitzen einen C₆-C₃-C₆-Grundkörper. Die wichtigsten Untergruppen und ihre Vertreter sind [Herrmann 1993, Belitz und Grosch 1992]:

- Anthocyanidine: Pelargonidin, Delphinidin, Cyanidin, Peonidin, Petunidin, Malvidin
- Flavone und Flavonole: Apigenin, Luteolin, Chrysoeriol, Tricin
- Flavonole: Kaempferol, Quercetin, Myricetin, Isorhamnetin
- Flavanone: Naringin, Hesperitin
- Dihydrochalkone: Phloretin
- Flavan-3-ole (Catechine): (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, (+)-Gallocatechin, (-)-Epigallocatechin, (-)-Epigallocatechin-3-O-gallat
- Proanthocyanidine: Procyanidine (B₁-B₄)
- Isoflavone und Isoflavane

In den Abbildungen 11 und 12 sind die Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten dargestellt. Auf die Gruppe der Flavone und Flavanone wird nicht näher eingegangen, da sie in Kern-, Beeren- und Steinobst nicht vorkommen [Herrmann 1992].

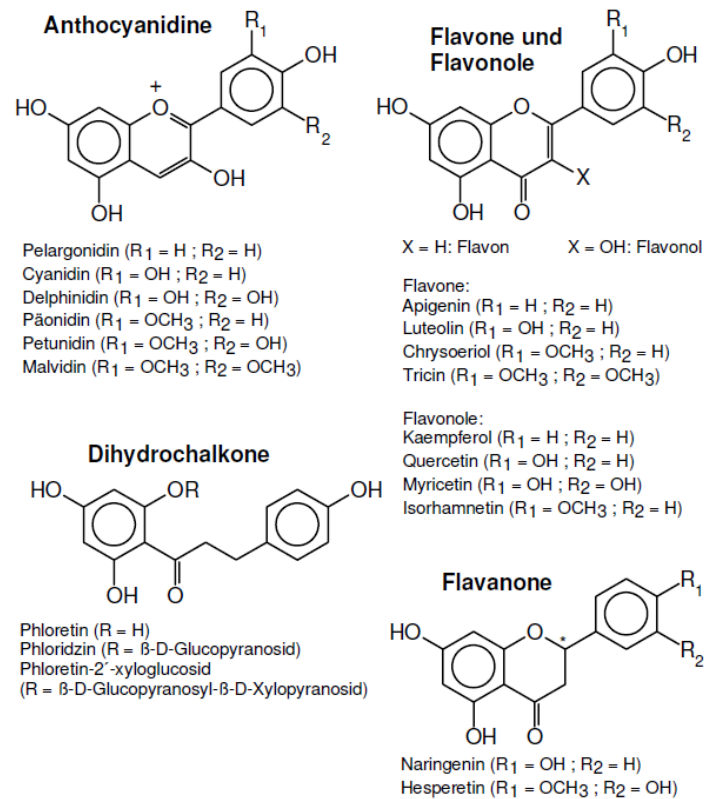


Abbildung 11: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten [Mazza, Miniati 1993].

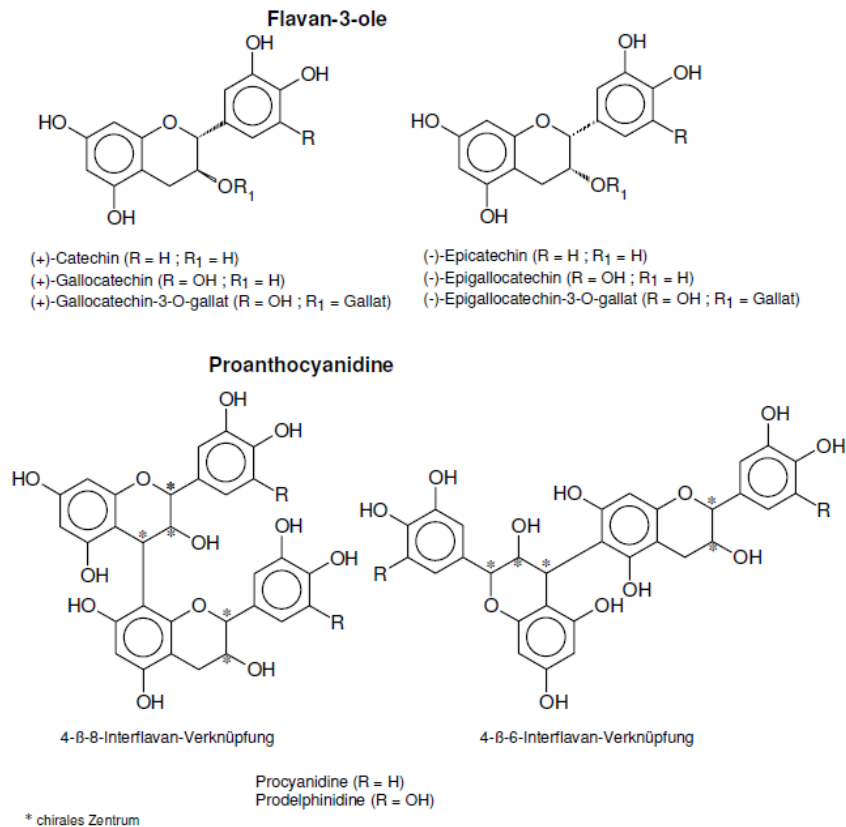


Abbildung 12: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten [Mazza, Miniati 1993].

6.2. Polyphenole im Apfel und im Apfelsaft

6.2.1. Polyphenolgehalt im Apfel

Der Polyphenolgehalt hängt stark von Sorte, Reifung und Anbauklima der Äpfel ab. Die Polyphenolkonzentration ist hauptsächlich in der Schale und in den Kernen. In dem frischen Apfel machen die phenolischen Inhaltsstoffe etwa 0,01 bis 1 % des Frischgewichts aus. Mostäpfel haben einen bis zu zehnmal höheren Phenolgehalt als Tafeläpfel [Herrmann 1973; Lea 1984]. Im Apfel sind sechs verschiedene Klassen an Polyphenolen zu finden: Hydroxyzimtsäurederivate, Flavonole, Dihydrochalkone, Flavan-3-ole, Procyanidine und Anthocyane (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Identifizierte Polyphenole in der frischen Apfelfrucht [Risch und Herrmann 1988; Wald und Galensa 1989; Lea und Timberlake 1974; Mayr et al. 1996; Lazarus et al. 1999; Wilska-Jeszka und Podsedek 1996; Guyot et al. 1998; Lancaster 1992; Lister et al. 1993; Mayer und Treutter 1996].

Nachgewiesene Polyphenole	Gehalte in mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate	
Chlorogensäure (5-Caffeoyl-L-(-)-chinasäure)	62 – 385 (Mittelwert 139)
Kryptochlorogensäure (4-Caffeoyl-L-(-)-chinasäure)	0 – 12 (Mittelwert 2)
4-Coumaroyl-L-(-)-chinasäure)	Spuren – 32 (Mittelwert 14)
5-Coumaroyl-L-(-)-chinasäure	Spuren – 9 (Mittelwert 2)
Caffeoylglucose	0 – 6 (Mittelwert 1)
Coumaroylglucose	1 – 19 (Mittelwert 4)
Feruloylglucose	0 – 9 (Mittelwert 3)
Flavonole	
Quercetin-3-galaktosid (Hyperosid)	5 – 39
Quercetin-3-glucosid (Isoquercitrin)	3 – 16
Quercetin-3-rutinosid (Rutin)	1 – 10
Quercetin-3-arabinosid (Avicularin)	8 – 25
Quercetin-3-rhamnosid (Quercitrin)	3 – 19
Quercetin-3-xylosid	4 – 10
Dihydrochalkone	
Phloridzin (Phloretin-2'-glucosid)	10 – 158
Phloretin-2'-xylosylglucosid	11 – 230
Flavan-3-ole	
(+)-Catechine	Spuren – 27 (Mittelwert 9)
(-)-Epicatechin	2 – 129 (Mittelwert 46)
Procyanidine	
B1	0,07 – 0,42 mg/Apfel
B2	0,67 – 2,50 mg/Apfel
B5	0,06 – 0,22 mg/Apfel
C1	0,33 – 1,29 mg/Apfel
diverse Polymere	n.b.
Σ Procyanidine	1420 - 3240
Anthocyane	
Cyanidin-3-galaktosid	0,1 – 8 mg/g Apfelschale
Cyanidin-3-xylosid	n.b.
Cyanidin-3-arabinosid	n.b.
Cyanidin-3-glucosid	n.b.
Acylierte Cyanidin-3-glykoside	n.b.
Σ Cyanidin-3-glykoside	1 mg/g Apfelschale

n.b. = nicht bestimmt

In Tabelle 8 sind die bisher beschriebenen Polyphenole und ihre Gehalte aufgelistet. Die dominierenden Hydroxyzimtsäurederivate im Apfel sind Chlorogensäure und 4-p-Coumaroylchinasäure [Risch und Herrmann 1988]. Das wichtigste Flavonol im Apfel ist das Quercetin. Die Gehalte der einzelnen und ihr Verhältnis zueinander schwanken stark in Abhängigkeit der Sorte. Anthocyane sind nur in Apfelsorten enthalten, die eine rote Schale oder ein rotes Fruchtfleisch besitzen. Äpfel mit grüner Schale enthalten keine Anthocyane [Wald und Galensa 1989; MAZZA und MINIATI 1993].

6.2.2. Polyphenolgehalt im Apfelsaft

Die Polyphenolgehalte von Apfel und Apfelsaft unterscheiden sich voneinander.

In Tabelle 9 sind die Gehalte der wichtigsten Polyphenole mittels HPLC im Apfelsaft aus einigen Veröffentlichungen aufgeführt.

Tabelle 9: Identifizierte Polyphenole im frischen Apfelsaft mittels HPLC [Spanos et al. 1990; Ritter 1996; Picinelli et al. 1997].

Nachgewiesene Polyphenole	SPANOS et al. 1990	RITTER et al. 1996	PICINELLI et al. 1997
Chorogensäure	2,3 – 113,7	11,2 – 177,6	10,8 – 557,4
Neochlorogensäure	n.b.	Spuren – 1,3	n.b.
Kryptochlorogensäure	n.n. – 14,5	2,3 – 12,9	n.b.
4-Coumaroylchinasäure	n.n. – 34,0	3,3 – 49,1	1,1 – 76,1
Kaffeesäure	0,7 – 9,6	Spuren – 13,9	n.b.
p-Coumarsäure	0,3 – 6,2	Spuren – 2,1	n.b.
Ferulasäure	n.b.	Spuren – 1,6	n.b.
Σ Hydroxyzimtsäureder.	6,9 – 191,8	26,9 – 224,1	n.b.
(+)-Catechin	n.n. – 16,9	1,1 – 11	n.n. – 17,0
(-)-Epicatechin	n.n. – 34,0	2,9 – 30,3	n.n. – 171,5
Procyanidin B2	n.n. – 3,1	3,4 – 58,5	n.n. – 147,5
Procyanidin B1	n.n. – 12,7	n.b.	n.n. – 39,6
Procyanidin B5	n.b.	n.b.	n.n. – 27,8
Procyanidin C1	n.b.	n.b.	n.n. – 124,9
Σ Flavan-3-ole	n.n. – 114,6	n.b.	n.n. – 556,5
Phloridzin	1,3 – 56,0	2,0 – 45,1	3,4 – 31,7
Phloretin-2'-xyloglucosid	n.n. – 18,6	0,3 – 8,6	n.n. – 95,3
Σ Dihydrochalkone	1,3 – 74,6	n.b.	n.b.
Quercetin-3-galaktosid	1,0 – 14,4	n.b.	n.b.
Quercetin-3-rutinosid	n.b.	n.b.	n.b.
Quercetin-3-glucosid	n.n. – 9,1	0,3 – 8,6	n.b.
Quercetin-3-arabinosid	n.n. – 16,0	n.b.	n.b.
Quercetin-3-rhamnosid	n.n. – 13,8	n.b.	n.n. – 1,8
Σ Flavonole	3,6 – 51,8	n.b.	n.b.
Σ Polyphenole HPLC	12,5 – 332,8	48,4 – 318,0	n.b.

n: Probenzahl, n.b.: nicht bestimmt, n.n.: nicht nachweisbar

Im Apfelsaft kann der Gehalt schlechtlöslicher Polyphenole durch die Extraktion mit warmem Wasser erhöht werden. Außerdem entstehen durch enzymatische Aktivitäten die Hydroxyzimtsäuren, Kaffeesäure, p-Coumarsäure, Ferulasäure und das 3-Hydroxyphloridzin, die sich nachweisen lassen. Der Apfelsaft hat verschieden große Mengen an Polyphenolen, diese sind in Tabelle 9 deutlich aufgeführt. Die unterschiedlichen Gehalte sind von der Rohware und dem Herstellungsprozess abhängig. Diese Schwankungen können auch durch die Unterschiede in den verwendeten HPLC-Methoden hervorgerufen werden. Ein weiteres Problem ist, dass nicht alle Standardsubstanzen erhältlich sind. Eine weitere Ursache ist die inhomogene Verteilung der einzelnen Polyphenole im Apfel bzw. Apfelsaft. Auch die Art des Mahlens und das Entsaftungsverfahren spielen eine wichtige Rolle, da das Entsaften von unbehandelter Maische, kalt enzymierter Maische und warm enzymierter, verflüssigter Maische erhebliche Unterschiede in der Ausbeute an Polyphenolen im Saft mit sich bringt. Die höchste Ausbeute erlangte der Saft mit der warm enzymierten Maische [Spanos et al. 1990; Burda et al. 1990; Ritter 1994; Lea und Timberlake 1978; Lee und Wrolstad 1988; Schols et al. 1991; Picinelli et al. 1997].

7. Verwendete Äpfel für die Experimente

Pflückreif ist ein Apfel, wenn sich der Stiel einer entwickelten Frucht gut von seiner Ansatzstelle löst. Genussreif sind Äpfel erst Tage oder Wochen nach dem Pflücken, da sie nach der Ernte eine Nachreife benötigen.³⁴

7.1. Gala



Abbildung 13: Gala-Apfel³⁵

Ursprung: 1934 Neuseeland

Geschmack: Süß - fruchtig; knackiges und festfleischiges, saftiges Fruchtfleisch

Pflückreife: Mitte September

Genussreife: Ende September bis Anfang November

7.2. Fuji



Abbildung 14: Fuji-Apfel³⁶

Ursprung: 1939 Japan

Geschmack: Süß – wenig sauer; knackiges und saftiges Fruchtfleisch

³⁴ <http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg>

³⁵ <http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg>

³⁶ <http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg>

Pflückreife: Mitte bis Ende Oktober

Genussreife: ab Ende Oktober bis Ende November

7.3. Elstar



Abbildung 15: Elstar-Apfel ³⁷

Ursprung: 1955 Niederlande

Geschmack: fein-säuerlich; saftiges, knackiges und weiß-gelbliches Fruchtfleisch

Pflückreife: Ende September bis Anfang Oktober

Genussreife: Ende September bis April

7.4. Jonagold



Abbildung 16: Jonagold-Apfel ³⁸

Ursprung: 1943 USA

Geschmack: süßlich und fein-säuerlich; saftiges und gelbes Fruchtfleisch

Pflückreife: Ende September bis Mitte Oktober

Genussreife: Oktober bis Juli

³⁷ <http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg>

³⁸ <http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg>

8. Experimente

8.1. Behandlung der Äpfel mit unterschiedlichen Lösungsmitteln

8.1.1. Methode

Beobachtung des Bräunungsprozesses eines Gala-Apfels, der mit unterschiedlichen Substanzen behandelt wurde.

8.1.2. Material

- Rohstoff: Äpfel der Sorte Gala
- Substanzen: 1 % und 0,1 % Ascorbinsäure
Zitronensäure Phosphat Puffer
0,1 M Phosphorsäure
0,1 M Salzsäure (Chlorwasserstoffsäure oder HCL)
entionisiertes Wasser
- Geräte: Analysewaage
Magnetrührer
- Utensilien: Rührfisch
Becherglas
Pipette
Apfelschneider
Schneidbrett

8.1.3. Durchführung

Die Äpfel wurden mittels eines Apfelschneiders in 1 cm große Stücke geschnitten und in unterschiedliche Lösungen (1 % und 0,1 % Ascorbinsäure; 100 % Zitronensäure Phosphat Puffer; 1 % Ascorbinsäure mit Zitronensäure Phosphat Puffer; 1 % Ascorbinsäure mit ionisiertem Wasser; 0,1 M Phosphorsäure; 0,1 M HCl) hineingelegt. Nach 10 min wurden die Äpfel aus der Lösung herausgeholt und auf einen Teller geschichtet. Die nächsten 5 Stunden wurde der Bräunungsprozess beobachtet.

8.1.4. Ergebnisse

Die behandelten Äpfel veränderten sich im Laufe der Zeit. In den Abb. 17 bis 19 sind signifikante Unterschiede zu erkennen. Wie in Abb. 17 ersichtlich, bekamen alle vorbehandelten Äpfel mit 1 % und 0,1 % Ascorbinsäure ein braunes Fruchtfleisch. Die behandelten Proben sahen dem unbehandelten Apfel (Kontrolle) sehr ähnlich.

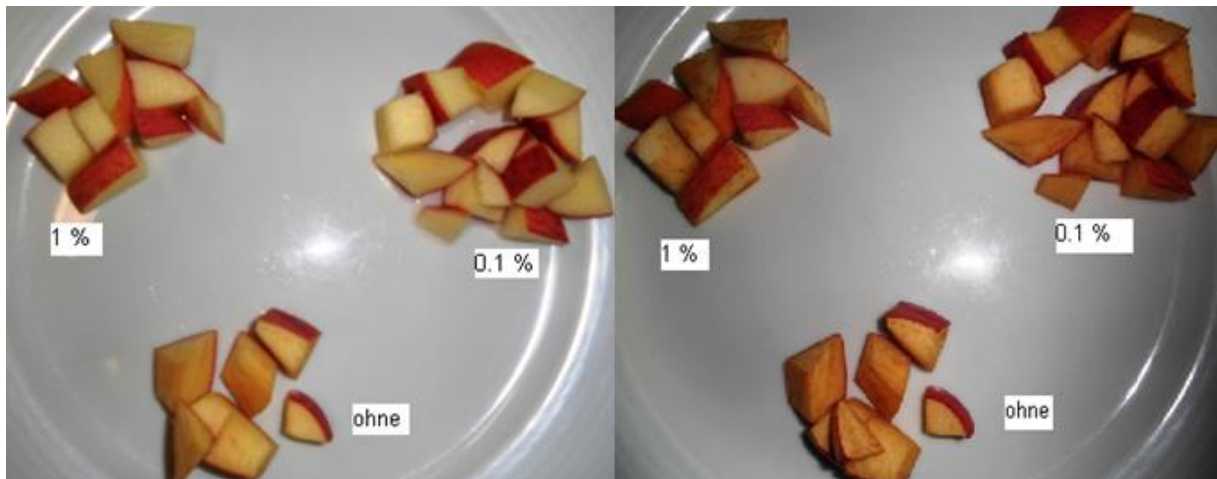


Abbildung 17: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: 1 % Ascorbinsäure; rechts oben: 0,1 % Ascorbinsäure und in der Mitte unten: Kontrolle ohne Substanz. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: 1 % Ascorbinsäure; rechts oben: 0,1 % Ascorbinsäure und in der Mitte unten: Kontrolle ohne Substanz.

In Abb. 18 veränderte sich nach 5 Stunden nicht nur die Farbe der Äpfel, sondern auch die Oberfläche der Äpfel wurde runzelig.



Abbildung 18: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: 100 % Zitronensäure Phosphat Puffer; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure mit Zitronensäure Phosphat Puffer; links unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel und rechts unten: 1 % Ascorbinsäure mit Wasser. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: 100 % Zitronensäure Phosphat Puffer; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure mit Zitronensäure Phosphat Puffer; links unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel und rechts unten: 1 % Ascorbinsäure mit Wasser.

In Abb. 19 ist ersichtlich, dass nach 5 Stunden der unbehandelte Apfel (Kontrolle) und der behandelte Apfel mit 1 % Ascorbinsäure braun sind. Jedoch die Äpfel, die mit HCl und Phosphorsäure behandelt wurden, zeigen keine Braunfärbung. Unter anderem ist auch zu erkennen, dass die rote Farbe der Schale dieser beiden behandelten Äpfel in das Fruchtfleisch eindiffundiert.



Abbildung 19: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: Kontrolle ohne Lösungsmittel; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure; links unten: 0,1 M Phosphorsäure und rechts unten: 0,1 M HCl. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: Kontrolle ohne Lösungsmittel; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure; links unten: 0,1 M Phosphorsäure und rechts unten: 0,1 M HCl.

Da mit diesen Substanzen der Bräunungsprozess nicht verhindert werden konnte, wurde im nächsten Experiment mit einer sauerstoffarmen Atmosphäre gearbeitet. Die behandelten Äpfel wurden im Exsikkator in einer stickstoffreichen oder sauerstoffarmen Atmosphäre gelagert.

8.2. Behandlung der Äpfel mit unterschiedlichen Lösungsmitteln inklusive O₂- und N₂ Behandlung

8.2.1. Methode

Beobachtung des Bräunungsprozesses eines Gala-Apfels mit unterschiedlichen Substanzen in stickstoffreichen oder sauerstoffarmen Atmosphäre.

8.2.2. Material

- Rohstoff: Äpfel von der Sorte Gala
- Substanzen: 1 M NaCl, 1 M NaCl + Vit C, 1 % KCl, 1% KCl + Vit C
0,75 : 1 / MgCl₂ : Vit C; 1,5 : 1/MgCl₂ : Vit C
1 % MgCl₂, Control
1 % EDTA, 1 % EDTA + Vit C, 1 % Titriplex (1, 2-Cyclohexylendinitrilotetraessigsäure, 1 % Titriplex + Vit C
3 % Phosphorsäure, 3 % Phosphorsäure + Vit C, Kontrolle
3 % Metaphosphorsäure + Vit C, 1 % Zitronensäure, 1 % Zitronensäure + Vit C
1 % Zitronensäure, 1 % Zitronensäure + Vit C, 1 % Apfelsäure, 1 % Apfelsäure + Vit C
entionisiertes Wasser
- Geräte: Analysenwaage
Magnetrührer
- Utensilien: Rührfisch
Becherglas
Pipette
Apfelschneider
Schneidbrett
Exsikkator

8.2.3. Durchführung

Die Gala-Äpfel wurden in Spalten geschnitten und in unterschiedliche Lösungen (siehe Substanzen) hineingelegt. Nach 10 min wurden die Äpfel aus der Lösung herausgeholt und in zwei unterschiedliche Exsikkatoren geschichtet. Der erste wurde mit Stickstoff und der zweite mit Sauerstoff (Luft) befüllt. Diese Äpfel wurden 5 Tage lang in einer stickstoffreichen oder sauerstoffarmen Atmosphäre gelagert, wobei der Bräunungsprozess beobachtet wurde.

8.2.4. Ergebnisse

In den Abb. 20 bis 27 sind die behandelten Äpfel mit unterschiedlichen Substanzen in sauerstoff- oder stickstoffreicher Atmosphäre zu sehen. Wobei in Tabelle 10 alle Ergebnisse von den Abb. 20 bis 27 zusammengefasst sind. Mit diesen Ergebnissen kann genau nachvollzogen werden, welche Methoden am sinnvollsten sind.

In Abb. 20 haben alle Apfelspalten eine glatte, fruchtige Schale und am Fruchtfleisch ist kein Bräunungsprozess zu erkennen. Durch diese Ergebnisse ist zu erkennen, dass die Behandlung der Äpfel mit NaCl + Vit C, NaCl, KCl + Vit C und KCl inkl. Sauerstoff oder Stickstoffbehandlung erfolgreiche Methoden sind.

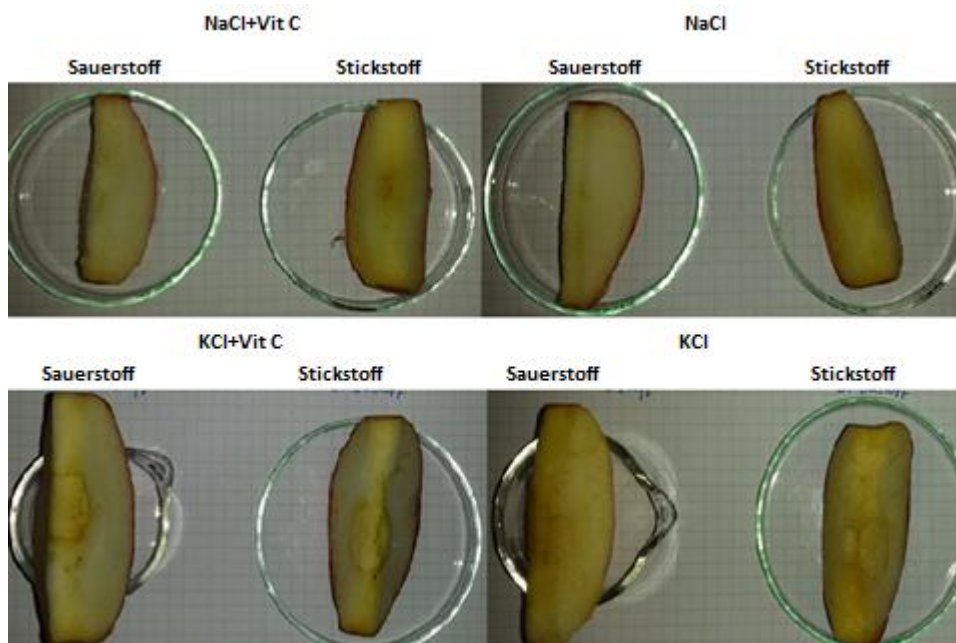


Abbildung 20: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit NaCl + Vit C und NaCl-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit KCl + Vit C und KCl-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.

In Abb. 21 haben alle Apfelspalten eine glatte, fruchtige Schale. Jedoch ist an den meisten Apfelspalten der Bräunungsprozess leicht zu erkennen. Apfelspalten, welche mit 1,5:1/MgCl:Vit C-Lösung inkl. Sauerstoff und Stickstoff behandelt wurden, zeigen ein saftiges, gelbes Fruchtfleisch.

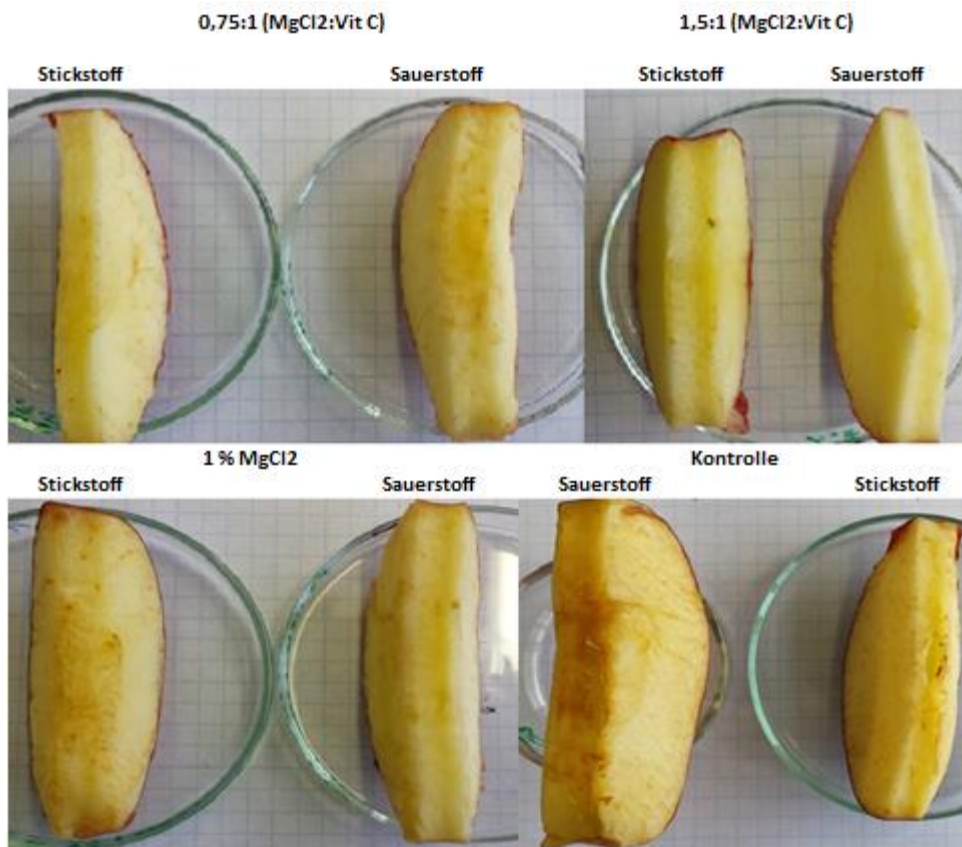


Abbildung 21: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit 0,75 : 1 / MgCl₂ : Vit C und 1,5 : 1 / MgCl₂ : Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit 1 % MgCl₂-Behandlung und Apfelspalten ohne Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.

In Abb. 22 haben alle Äpfel (außer die Kontrolle) eine weiche Schale und ein weiches Fruchtfleisch. Die Äpfel sind mit den Substanzen vollgesaugt und dadurch auch schwerer als die Kontrolle. Bei allen Apfelspalten ist der Bräunungsprozess eindeutig zu erkennen.

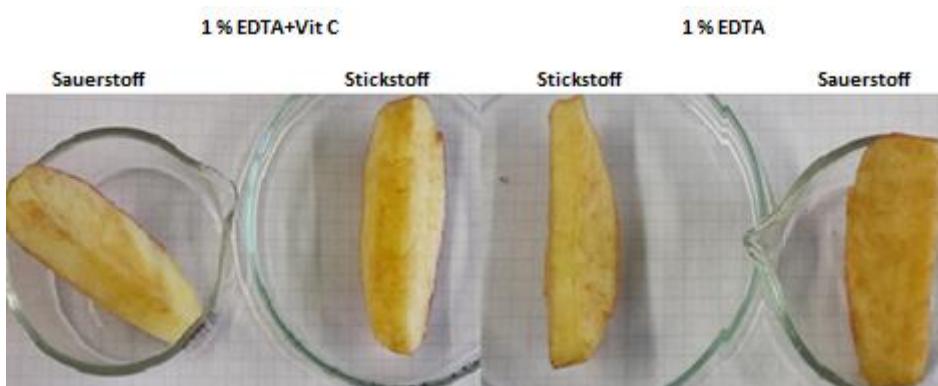


Abbildung 22: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Linkes Bild: Apfelspalten mit 1 % EDTA + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechtes Bild: Apfelspalten mit 1 % EDTA-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.

In Abb. 23 haben alle Apfelspalten, die mit 1 % Titriplex IV und Sauerstoff oder Stickstoff behandelt wurden, eine braune Oberfläche. Diese Apfelspalten sehen der Kontrolle sehr ähnlich.

Die Apfelspalten, die mit 1 % Titriplex IV + Vit C und Sauerstoff oder Stickstoff behandelt wurden, haben eine fruchtige und gelbe Oberfläche.

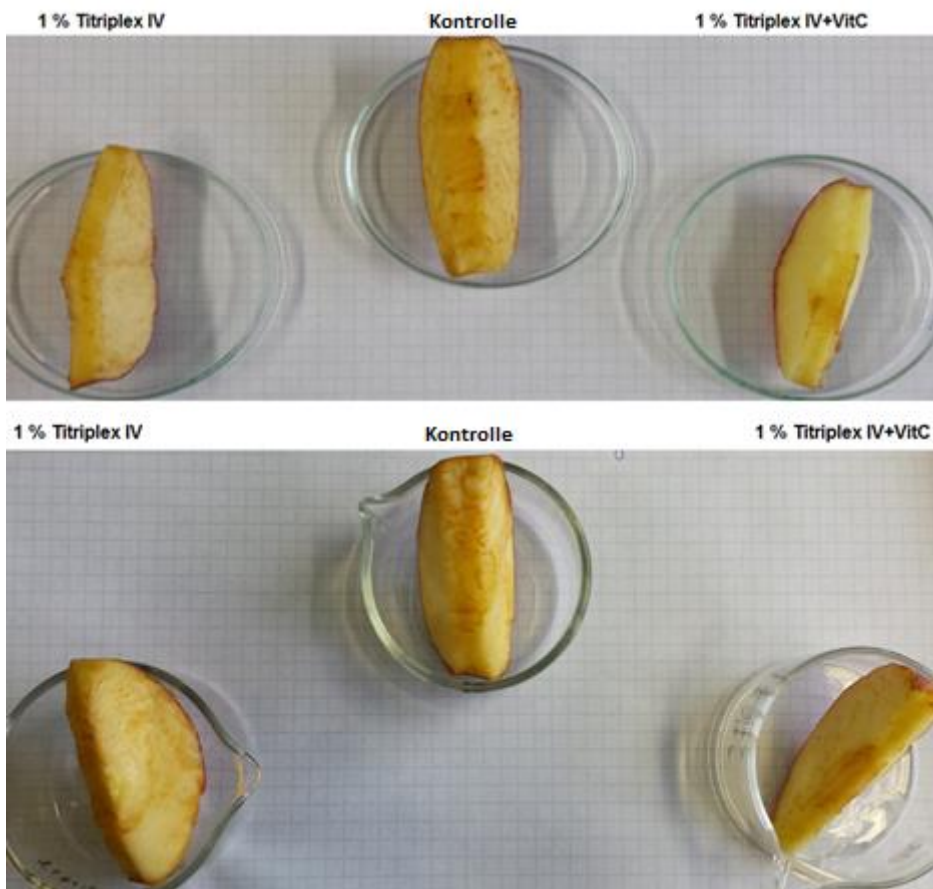


Abbildung 23: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit 1 % Titriplex IV und 1 % Titriplex IV + Vit C-Behandlung inkl. Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit 1 % Titriplex IV und 1 % Titriplex IV + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoffbehandlung.

In Abb. 24 hat das Fruchtfleisch des Apfels eine fruchtige, gelbe Oberfläche. Jedoch ist zu erkennen, dass der Farbstoff der Schale in das Fruchtfleisch übergeht und somit kann dieser Versuch nicht positiv beurteilt werden.

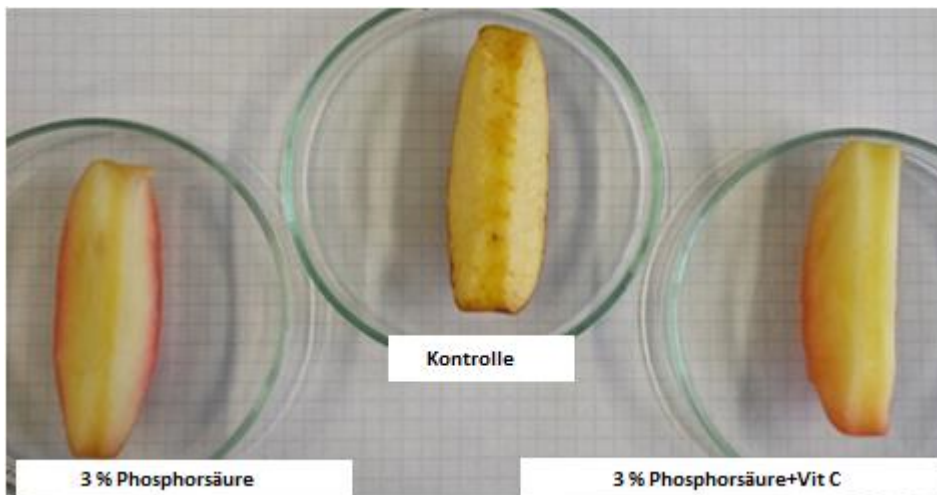


Abbildung 24: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Links: Apfelspalte mit 3 % Phosphorsäure-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechts: Apfelspalte mit 3 % Phosphorsäure + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.

In Abb. 25 haben die Apfelspalten, die mit 1 % Zitronensäure und 1 % Zitronensäure + Vit C inkl. Sauerstoff- oder Stickstoffbehandlung eine weiche Oberfläche und der Bräunungsprozess ist deutlich zu sehen. Die Äpfel sind mit den Substanzen vollgesaugt und dadurch auch schwerer als die Kontrolle.

Die Apfelspalte, die mit 3 % m-Phosphorsäure inkl. Sauerstoff und Stickstoff behandelt wurde, hat eine fruchtige, gelbe Oberfläche. Jedoch ist zu erkennen, dass der Farbstoff (Anthocyane) der Schale in das Fruchtfleisch übergeht und somit kann dieser Versuch nicht positiv beurteilt werden.

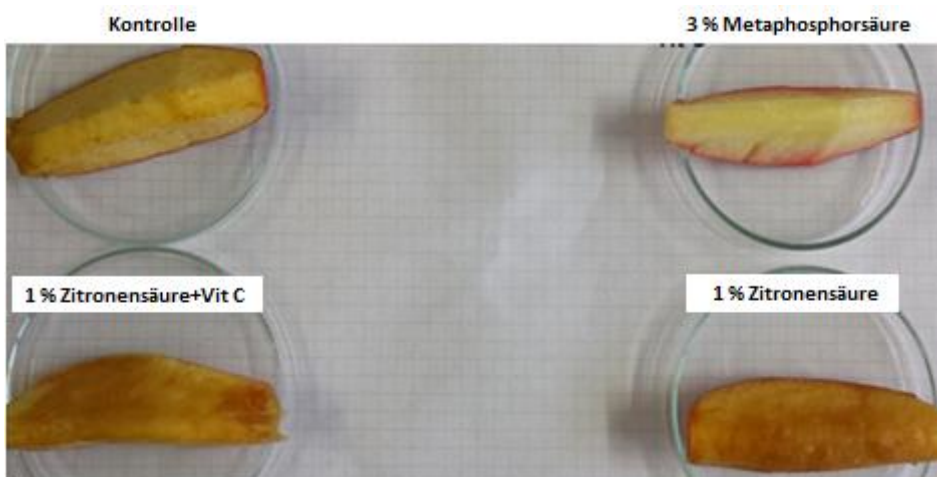


Abbildung 25: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Linkes oben: Apfelspalte ohne Lösungsmittelbehandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 3 % Meta-Phosphorsäure Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.

In Abb. 26 haben die Apfelspalten, die mit 1 % Zitronensäure und 1 % Apfelsäure inkl. Sauerstoff oder Stickstoff behandelt wurden eine weiche Oberfläche und der Bräunungsprozess ist deutlich zu erkennen. Die Äpfel sind mit den Substanzen vollgesaugt und dadurch auch schwerer als die Kontrolle und dadurch kann dieser Versuch als nicht positiv beurteilt werden.

Die Apfelspalten, die mit 1 % Zitronensäure + Vit und 1 % Apfelsäure + Vit C inkl. Sauerstoff und Stickstoff behandelt wurden, haben eine fruchtige gelbe Oberfläche und somit kann dieser Versuch positiv beurteilt werden.

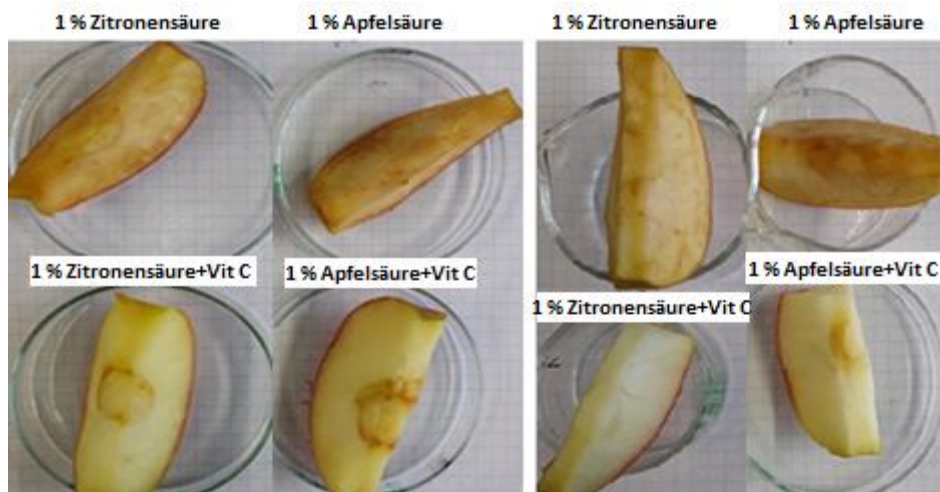


Abbildung 26: Apfel (Elstar) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Erstes Bild links oben: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure inkl. Stickstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure inkl. Stickstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C inkl. Stickstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure + Vit C inkl. Stickstoffbehandlung. Zweites Bild links oben: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure inkl. Sauerstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure inkl. Sauerstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C inkl. Sauerstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure + Vit C inkl. Sauerstoffbehandlung.

In Tabelle 10 sind alle verwendeten Chemikalien aufgelistet, die für die Behandlung von Äpfeln benötigt wurden. Unter anderem wird mittels der Zeichen „✓“ (funktioniert) und „✗“ (funktioniert nicht) zusammengefasst, welche von diesen Methoden geeigneter waren.

Tabelle 10: Zusammenfassung der verwendeten Chemikalien, die für die Behandlung von Äpfeln verwendet wurden. Die Zeichen ✓ (funktioniert) und ✗ (funktioniert nicht) bestimmen, welche Methode am erfolgreichsten war.

Chemikalien	Sauerstoff	Stickstoff
1M NaCl	✓	✓
1 M NaCl + Vit C	✓	✓
1 % KCl	✓	✓
1 % KCl + Vit C	✓	✓
MgCl ₂ : Vit C (0,75 : 1)	✗	✗
MgCl ₂ : Vit C (1,5 : 1)	✓	✓
1 % MgCl ₂	✗	✗
1 % EDTA	✗	✗
1 % EDTA + Vit C	✗	✗
1 % Titriplex	✗	✗
1 % Titriplex + Vit C	✗	✓
3 % Phosphorsäure	✓	✓
3 % Phosphorsäure + Vit C	✓	✓
3 % m-Phosphorsäure + Vit C	✓	✓
1 % Zitronensäure	✗	✗
1 % Zitronensäure + Vit C	✗	✗
1 % Apfelsäure	✗	✗
1 % Apfelsäure + Vit C	✓	✓
Kontrolle (ohne Behandlung)	✗	✗

Diese Experimente wurden auch mit Fuji-, Elstar- und Jonagold-Äpfeln ausprobiert. Die Ergebnisse waren fast die gleichen. Bei der Behandlung der Fuji-, Elstar- und Jonagold-Äpfel mit 1 % Zitronensäure + Vit C wurde kein Bräunungsprozess festgestellt. Anhand der Abbildung 25 und 26 kann man den Unterschied optisch gut erkennen. Bei den Gala-Äpfeln sind das Fruchtfleisch und die Schale braun und weich. Bei den Elstar-Äpfeln sind deren Fruchtfleisch und Schale optisch frisch und saftig.

Der Grund dafür, warum manche Äpfel schneller und manche langsamer braun werden, liegt an den Polyphenolen. Jeder Apfel hat einen unterschiedlichen Gehalt an Polyphenolen. Sobald die Zellstruktur der Äpfel zerstört wird, werden Phenoloxidasen freigesetzt und dadurch werden die Äpfel braun. Nicht jeder Apfel enthält gleich viele Polyphenole, somit dauert der Prozess des Verfärbens bei einigen Äpfeln länger als bei anderen. Die Sorten Jonagold, Elstar, Gala und Fuji brauchen etwas länger bis der Bräunungsprozess beginnt, im Gegensatz zum Boskoop, der rasch braun wird.

8.3. Bestimmung der Polyphenole

8.3.1. Methode

Bestimmung der Polyphenole erfolgte mittels HPLC. HPLC, auch high pressure liquid chromatography genannt, ist eine analytische Trennmethode. Die HPLC ist ein Verfahren, mit dem man Substanzen trennen und über Standards identifizieren und quantifizieren kann.

8.3.2. Material

- Rohstoff: Gala-Äpfel
- Substanzen: Kaffeesäure
Chlorogensäure
Epicatechin
Epicatechingallate
Rutin
2 % Essigsäure mit Wasser
100 % Azetonitril
entionisiertes Wasser
Methanol
- Geräte: Analysenwaage
Magnetrührer
HPLC mit einer LiChroCart RP-18 Säule (5 µm, 250 x 3mm)
Vibromixer
Zentrifuge
Ultraschalbad
Gefriertrocknen
Gefriertruhe
- Utensilien: Rührmagnet
Becherglas
Exsikkator
Vials für HPLC
Pipette

8.3.3. Durchführung

Um Polyphenole im Apfel nachzuweisen, wurden 5 Inhaltsstoffe bzw. Polyphenole (Kaffeensäure, Chlorogensäure, Epicatechin, Epicatechingallat, Rutin) und 3 Standards vorbereitet. Alle 5 Inhaltsstoffe wurden einzeln für die HPLC mit jeweils 1 mg/ml und 3 Standards mit jeweils 200 µl von jedem Inhaltsstoff zusammen pipettiert.

Um zu überprüfen, ob alle Polyphenole im Apfel vorhanden sind, wurde noch ein Apfelextrakt hergestellt. 100 mg gefriergetrockneter und homogener Apfel wurden mit 8 ml einer Methanol-Wasser-Mischung (80:20) bei Raumtemperatur zusammen pipettiert. Danach kam das Apfelextrakt für 10 Minuten in ein Wasserbad. Anschließend 5 Minuten in den Vibromixer und zum Schluss wurde es 5 Minuten bei 3400 UpM zentrifugiert. In das HPLC Fläschchen wurde 1 ml umpipettiert und die HPLC konnte gestartet werden.

Bedingungen HPLC (siehe Tabelle 11):

Hewlett Packard Serie 1100, bestehend aus einer G1311A Pumpe, VW Detektor Modell G1314A und einen G1329A thermostatisierten Autosampler; LiChroCart RP-18 Säule (5 µm, 250 × 3 mm); Gradientenelution 0.6 ml/min mit einem Gradientenprogramm von 0 - 20 min 2 - 20 % B, 20 - 23 min 20 % B, 23 - 25 min 20 - 80 % B, 25 -26 min 80 % B mit 2 % Essigsäure als Laufmittel A und Acetonitril als Laufmittel B; UV-Detektion mit einer Wellenlänge von 280 nm.

Tabelle 11: Parameter für die Bestimmung der Polyphenole.

Parameter	Einstellungen
Injektionsvolumen	1 µl
Fluss	0,6 ml/min
Max. Druck	350 bar
Temperatur	30° C
Säule	LiChroCart RP-18 Säule (5 µm, 250 x 3mm)
Mobile Phase	2 % Essigsäure 100 % Acetonitril
Wellenlänge	280 nm

8.3.4. Ergebnisse

Es wurden zuerst alle Polyphenole einzeln gemessen und in einem Chromatogramm zusammengestellt (Abb. 27). Jedes Polyphenol hat seine eigene Retentionszeit, die wichtig ist um die Polyphenole aus dem Apfelextrakt zu charakterisieren.

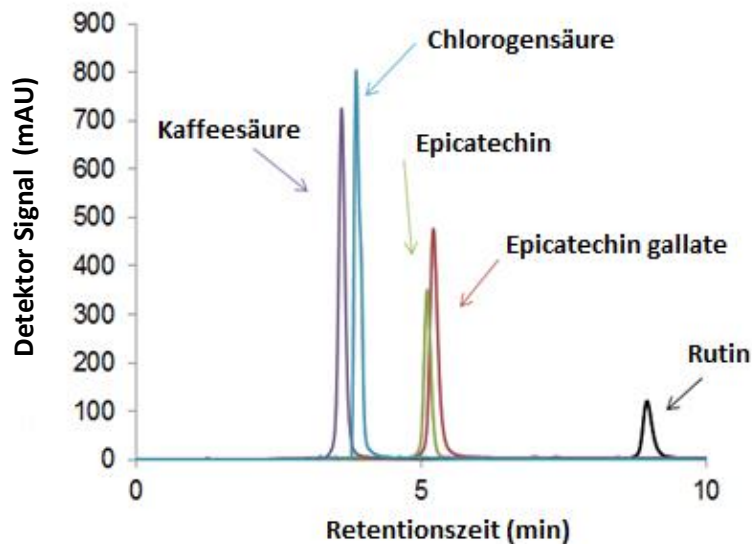


Abbildung 27: HPLC-Ergebnisse von den einzelnen Inhaltsstoffen zusammengefasst. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Jeder Inhaltsstoff hat seine eigene Farbe. Lila-Kurve: Kaffeesäure mit einer Retentionszeit von 3,61 und einer Fläche von 6071,9. Blaue-Kurve: Chlorogensäure mit einer Retentionszeit von 3,86 und einer Fläche von 6181,4. Grüne-Kurve: Epicatechin mit einer Retentionszeit von 5,11 und einer Fläche von 3011,6. Rote-Kurve: Epicatechingallat mit einer Retentionszeit von 5,22 und einer Fläche von 4956,6. Schwarze-Kurve: Rutin mit einer Retentionszeit von 8,96 und einer Fläche von 1449,1.

Anschließend wurden alle Polyphenole zusammengemischt (Standard) und vermessen (Abb. 28).

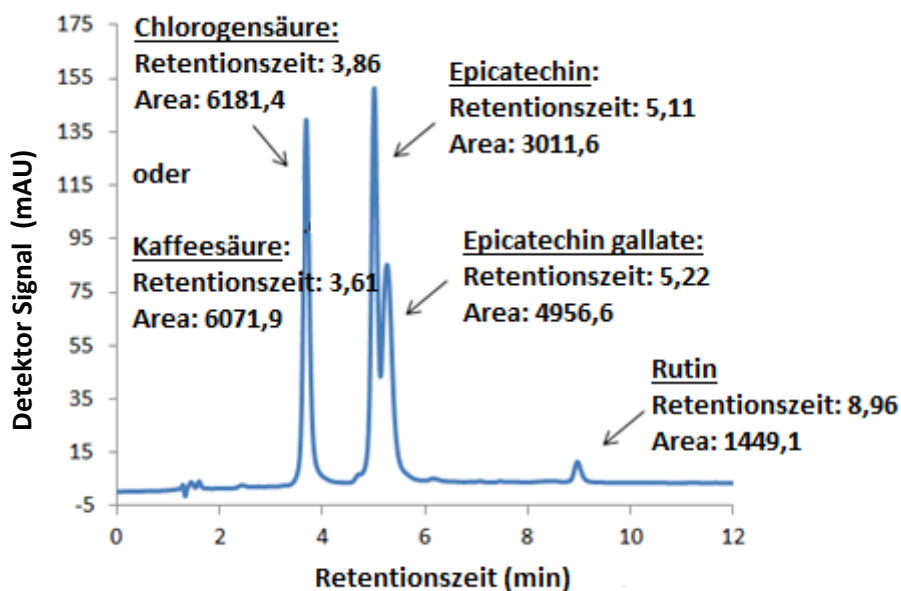


Abbildung 28: Standardchromatogramm: Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal.

In Abb. 29 ist klar zu erkennen, dass die gewählten Polyphenole in unterschiedlichen Konzentrationen in dem Apfelextrakt enthalten sind.

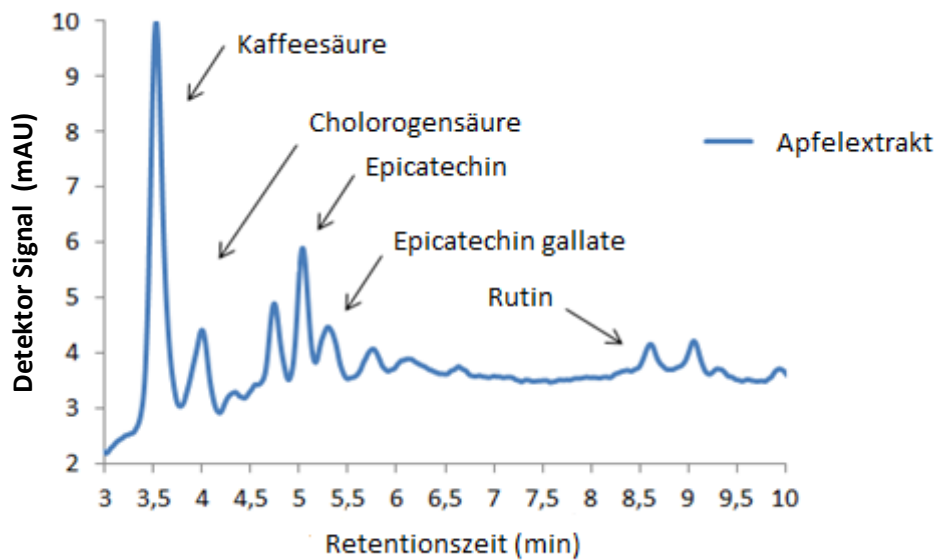


Abbildung 29: HPLC-Ergebnis von dem Apfelextrakt. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Peak 1: Kaffeesäure; Peak 2: Chlorogensäure; Peak 4: Epicatechin; Peak 5: Epicatechin gallate und der letzte Peak ist Rutin.

Wichtig bei diesem Experiment ist die Stabilisierung der Polyphenole mittels Methanol. Bei der Verletzung des Apfels, z. B. gefriergetrocknet und homogenisiert, können einige Polyphenole verloren gehen (siehe Kapitel 6.2.1 und 6.2.2). Weiters ist wichtig, den frischen Apfelextrakt gleich mittels HPLC zu vermessen, da sich der Polyphenole-Gehalt im Laufe der Zeit verringert, sodass nach einer Woche keine Polyphenole mehr zu finden sind.

8.4. Bestimmung des Vitamin-C-Gehalts

8.4.1. Methode

Bestimmung der Ascorbinsäure in Äpfeln erfolgt mittels HPLC.

8.4.2. Material

- Rohstoff: verschiedene Apfelsorten
- Substanz: 65 % Methanol
35 % Hexadecyltrimethylammoniumbromid
& 0,1 mM Kaliumdihydrogenphosphat
Vitamin C (Ascorbinsäure)
entionisiertes Wasser
3 % m-Phosphorsäure
- Geräte: Analysenwaage
Magnetrührer
HPLC (3,9 × 150 mm Column AccQ-Tag™ Hydrolysate Amino Acid analyse)
- Utensilien: Rührfisch
Becherglas
Vials für HPLC
Pipette

8.4.3. Durchführung

Zu Beginn wurde das Laufmittel hergestellt. Dieses bestand zu 35 % aus einer 0,1 mM Kaliumdihydrogenphosphat, 5 mM Hexadecyltrimethylammoniumbromid-Lösung und 65 % Methanol. Für die 5 mM Hexadecyltrimethylammoniumbromid-Lösung wurden 1822,2 mg/1000 ml eingewogen sowie für die 0,1 mM Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung 13,609 mg/1000 ml. Die beiden Chemikalien wurden in 350 ml H₂O gelöst und anschließend mit 650 ml Methanol zusammengemischt. Zum Schluss wurde das Laufmittel noch 3 min ins Ultraschalbad gestellt. Für eine Vitamin C-Gehalts-Bestimmung musste eine Kalibrationsgerade mittels HPLC aufgestellt werden. Die verwendeten Parameter für die HPLC-Messungen sind in Tabelle 12 aufgeführt. Für die HPLC-Messung wurden verschieden konzentrierte Standardlösungen der Ascorbinsäure mit 3 % Metaphosphorsäure hergestellt und mittels HPLC chromatographiert. Mit Hilfe der Kalibrationsgeraden konnte die Ascorbinsäure-Konzentration der untersuchten Probe bestimmt werden. Für die Probe wurde ein selbsthergestellter Apfelsaft hergenommen. Dieser wurde mit Galaäpfeln hergestellt und mittels 3 % Metaphosphorsäure 1:1 verdünnt. Zum Schluss kann mittels der Chromatographie-Ergebnisse der Vitamin C-Gehalt des Apfelsaftes berechnet werden.

Tabelle 12: Parameter für die Vitamin-C-Analyse.

Parameter	Einstellungen
Injektionsvolumen	1 µl
Fluss	1 ml/min
Temperatur	30° C
Säule	3,9 x 150 mm Column AccQ-Tag™ Hydrolysate Amino Acid analyse
Mobile Phase	65 % Methanol 35 % von 5 mM Hexadecyltrimethylammoniumbromid + 0,1 mM Kaliumdihydrogenphosphat
Wellenlänge	245 nm

8.4.4. Ergebnisse

Als Ausgangskonzentration für die Erstellung einer Regressionsgerade (1 mg/ml bis 0,0625 mg/ml) wurde eine Stammlösung vorbereitet, welche die Ausgangskonzentration 1 mg/ml hatte (Abb. 30).

In Abb. 30 wurde mittels der HPLC Ergebnisse eine Standardgerade errichtet. Die regressionsgerade ist an $R^2 = 0,9999$ zu erkennen. Die Gleichung $y = 3977,8x - 24,183$ ist wichtig, um die Konzentration von Vitamin C im Apfelsaft zu berechnen.

Regressionsgerade für Vitamin C: $y = 3977,8x - 24,183$

Das Bestimmtheitsmaß der Geraden war $R^2 = 0,9999$

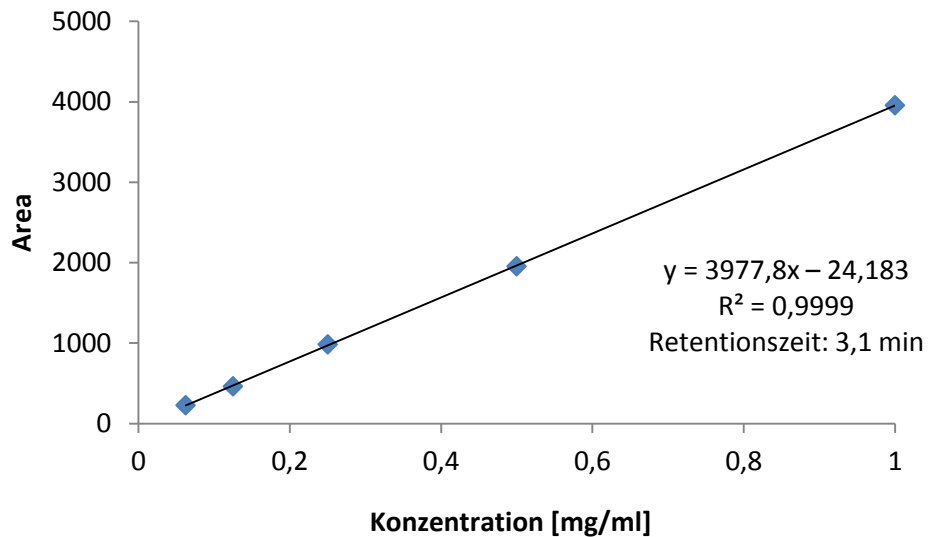


Abbildung 30: Regressionsgeraden für die Berechnung der Vitamin-C-Konzentration. Standardkonzentration: 1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,125 mg/ml und 0,0625 mg/ml. Plot: Konzentration gegen Area.

Anhand der Regressionsgerade konnte man die Vitamin C-Konzentration errechnen (Abb. 30 und 31).

Die Retentionszeit für Ascorbinsäure betrug 3,1 min. Die gesamte Laufzeit betrug 7 min. Anhand des Chromatogramms konnte man zwei Peaks unterscheiden (Abb. 31). Der erste war m- Phosphorsäure und der darauf folgende Ascorbinsäure mit den Standardkonzentrationen 1 mg/ml bis 0,0625 mg/ml.

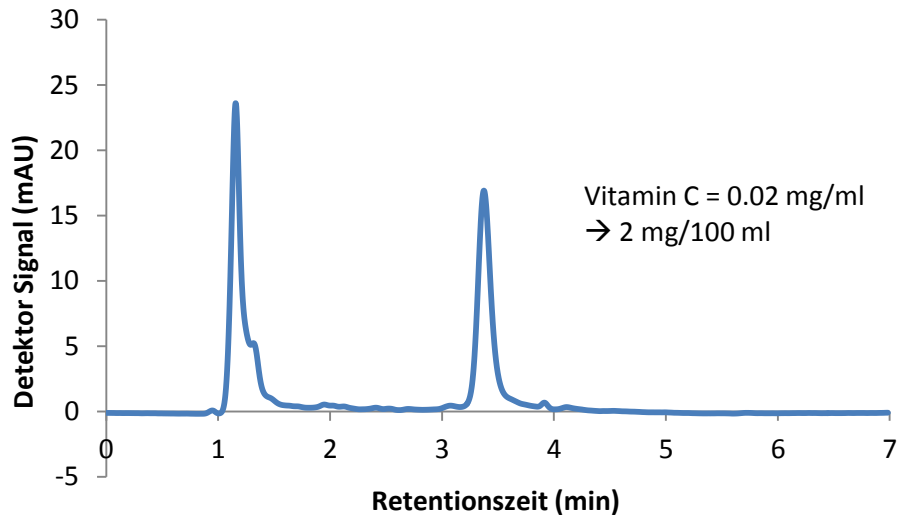


Abbildung 31: Chromatogramm. HPLC Ergebnis von 1 ml Apfelsaft mit 3 % Metaphosphorsäure. Plot: Konzentration gegen Detektor Signal.

Laut der Internetseite <http://www.landwirtschaft-mv.de/> ist der Vitamin-C-Gehalt bei jedem Apfel unterschiedlich. Boskoop 16,0 mg/100 g, Elstar 8,0 mg/100 g, Fuji 22,6 mg/100 g, Jonagold 14,0 mg/100 g und Gala 7 mg/100 g.

Wichtig bei diesem Experiment ist die Stabilisierung der Ascorbinsäure mittels meta-Phosphorsäure, um eine Oxidation zu vermeiden. Die meta-Phosphorsäure wird nicht nur für die Verdünnung eingesetzt, sondern auch für die Extraktion von verschiedenen Apfelsorten. Ascorbinsäure spielt als Enzym-Cofaktor von Hydroxylierungs- und Oxygenasereaktionen eine wichtige Rolle. Bei der Verletzung des Apfels, z. B. durch das Entsaften oder Zerkleinern mittels Messer wird das Enzym Pektinlyase freigesetzt. Vitamin C beeinflusst die enzymatische Aktivität, indem es zu einem Anstieg der hydrolytischen Aktivität kommt.

Weiteres ist es wichtig, den frischen Apfelsaft gleich mittels HPLC zu vermessen, da sich der Vitamin-C-Gehalt im Laufe der Zeit verringert, sodass nach einer Woche kein Vitamin C mehr zu finden ist.

8.5. Apfelextrakt zu unterschiedlichen Zeiten

8.5.1. Methode

Bei diesem Experiment wurde mittels HPLC analysiert, ob sich die Inhaltsstoffe der Apfelextrakte bei unterschiedlichen Zeiten ändern.

8.5.2. Material

- Rohstoff: verschiedene Apfelsorten
- Lösungsmittel: 2 % Essigsäure
100 % Acetonitril
entionisiertes Wasser
3 % Metaphosphorsäure
Methanol
- Geräte: Analysewaage
Magnetrührer
HPLC (3,9 x 150 mm Column AccQ-Tag™ Hydrolysate-Amino-Acid-Analyse)
Vibromixer
Zentrifuge
Ultraschalbad
Gefriertrocknen
Gefriertruhe
- Utensilien: Rührfisch
Becherglas
Vials für HPLC
Pipette

8.5.3. Durchführung

Um zu überprüfen, ob die Inhaltsstoffe im Apfel vorhanden sind bzw. gleich bleiben, wurde aus einem Apfel ein Extrakt hergestellt. Die Äpfel wurden in kleine Stücke geschnitten und mittels Gefriertrockner vorbereitet. 100 mg von dem gefriergetrockneten und homogenisierten Apfel wurden zu unterschiedlichen Zeiten (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 24 Stunden) mit 8 ml einer Methanol-Wasser-Mixtur (80:20) bei Raumtemperatur zusammen pipettiert. Danach kam das Apfelextrakt für 10 Minuten in ein Wasserbad. Anschließend 5 Minuten in den Vibromixer und zum Schluss wurde es 5 Minuten bei 3400 rpm zentrifugiert. In das HPLC tube wurde 1 ml umpipettiert und die HPLC konnte gestartet werden. Anschließend wurden 14 Peaks aus dem Chromatogramm gewählt, integriert und gegen die Retentionszeit geplottet.

Online-HPLC-Analyse (Tabelle 13):

Hewlett Packard Serie 1100, bestehend aus einer G1311A Pumpe, VW Detektor Modell G1314A und einen G1329A thermostatisierten Autosampler; LiChroCart RP-18 Säule (5 µm, 250 × 3 mm); Gradientenelution 0.6 ml/min mit einem Gradientenprogramm von 0 - 20 min 2 - 20 % B, 20 - 23 min 20 % B, 23 - 25 min 20 - 80 % B, 25 -26 min 80 % B mit 2 % Essigsäure als Laufmittel A und Acetonitril als Laufmittel B; UV-Detektion mit einer Wellenlänge von 280 nm.

Tabelle 13: Parameter für die Apfelextrakt-Analyse.

Parameter	Einstellungen
Injektionsvolumen	1 µl
Fluss	0,6 ml/min
Druck	350 bar
Temperatur	30° C
Säule	LiChroCart RP-18 column (5 µm, 250 x 3mm)
Mobile Phase	2 % Essigsäure 100 % Acetonitril
Wellenlänge	280 nm

8.5.4. Ergebnisse

Zur Wiederholung aus dem Kapitel 8.3. aus der Abbildung 27: hatte Kaffeesäure eine Retentionszeit von 3,61 und eine Fläche von 6071,9. Chlorogensäure hatte eine Retentionszeit von 3,86 und eine Fläche von 6181,4. Epicatechin hatte eine Retentionszeit von 5,11 und eine Fläche von 3011,6. Epicatechin gallate hatte eine Retentionszeit von 5,22 und eine Fläche von 4956,6. Rutin hatte eine Retentionszeit von 8,96 und eine Fläche von 1449,1.

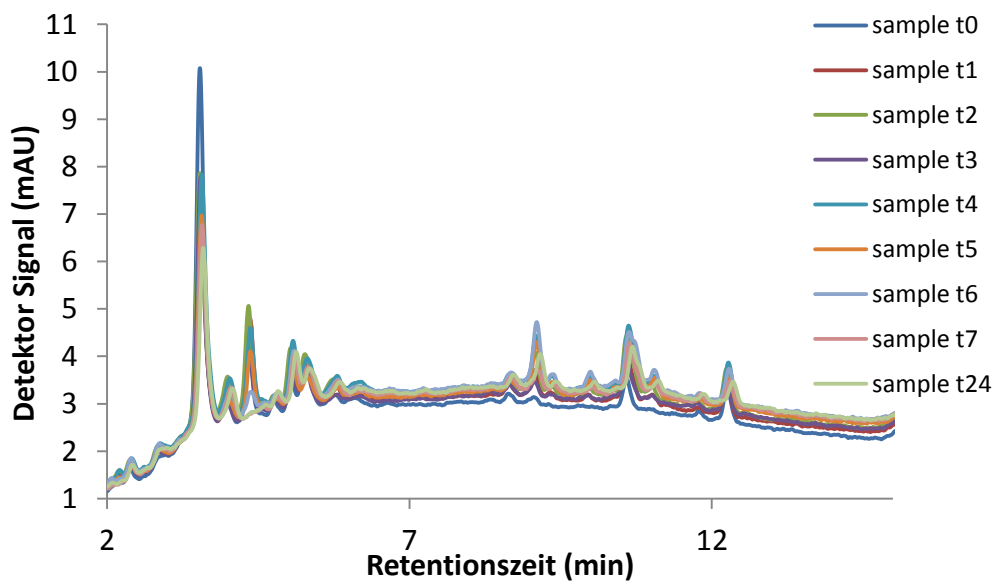


Abbildung 32: Chromatogramm. HPLC-Ergebnis des Apfelextraktes. Plot: Konzentration gegen Detektor Signal. Apfelstücke (sample) nach 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 24 Stunden. Jedes Apfelstück hat seine eigene Farbe in diesem Chromatogramm.

Aus den Ergebnissen von Abb. 32 und Abb. 27 kann man erkennen, dass der erste Peak Kaffeesäure oder Chlorogensäure, der fünfte Peak Epicatechin, der sechste Epicatechin gallate und der achte Rutin sind. Die restlichen Peaks sind Verschmutzungen.

Aus der Abbildung 32 wurden 14 Peaks gewählt, integriert und gegen die Retentionszeit geplottet (siehe Abbildungen 33 bis 36). In den Abbildungen ist zu sehen, dass sich die Area mit der Zeit verändert und sich kein konstantes Muster entwickelte. Zum Beispiel bei Peak 1, bei einer Zeit von 0, ist die Area sehr niedrig und nach drei Stunden sehr hoch, anschließend nach fünf Stunden wieder niedrig. Das Gleiche kann man auch bei den anderen Peaks erkennen.

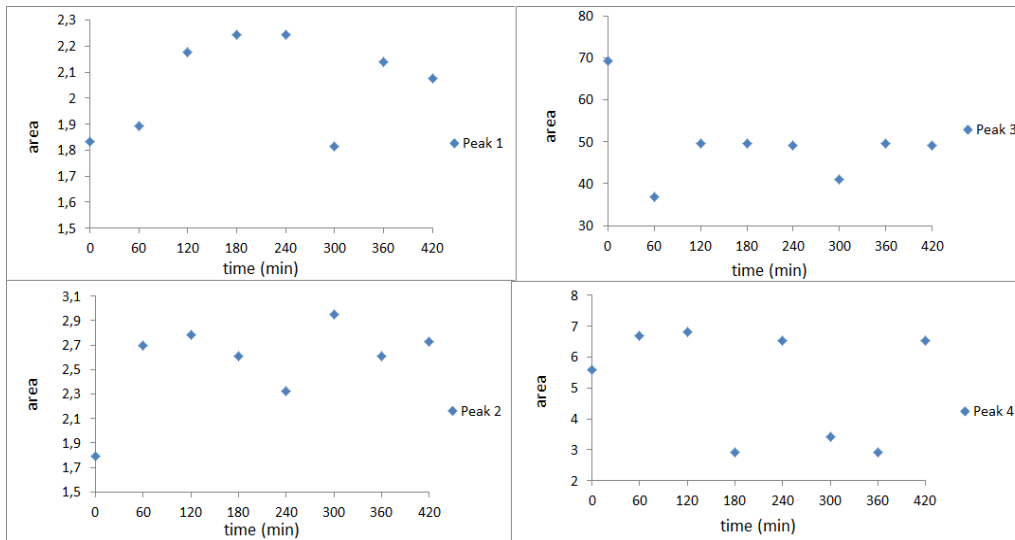


Abbildung 33: Peak-Ergebnisse. Peak 1, 2, 3 und 4 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.

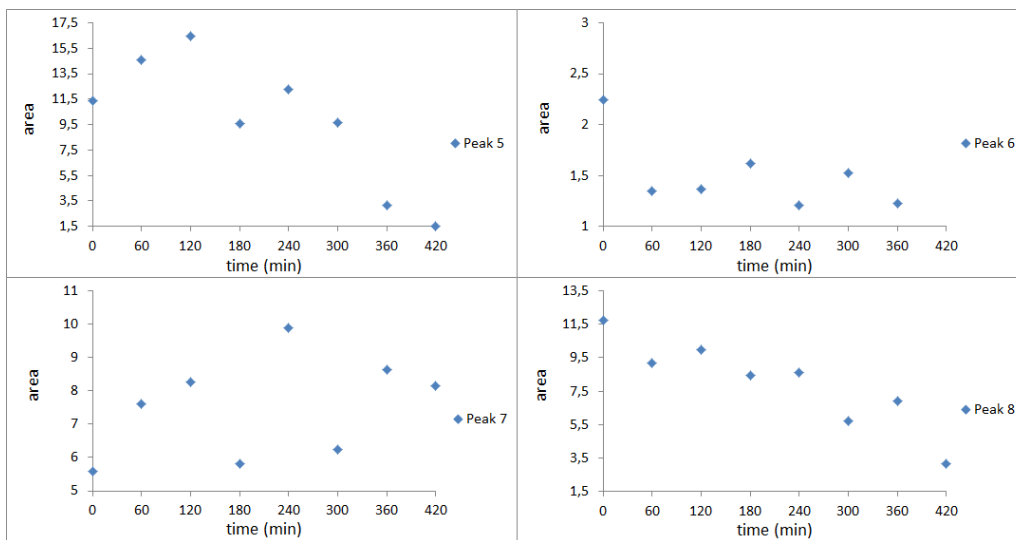


Abbildung 34: Peak-Ergebnisse. Peak 5, 6, 7 und 8 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.

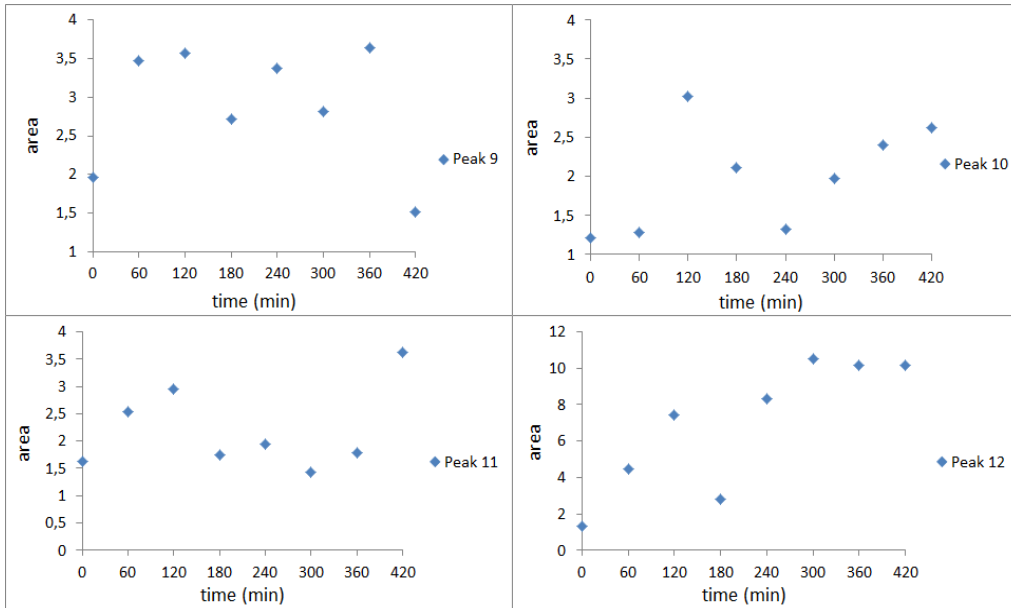


Abbildung 35: Peak-Ergebnisse. Peak 9, 10, 11 und 12 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.

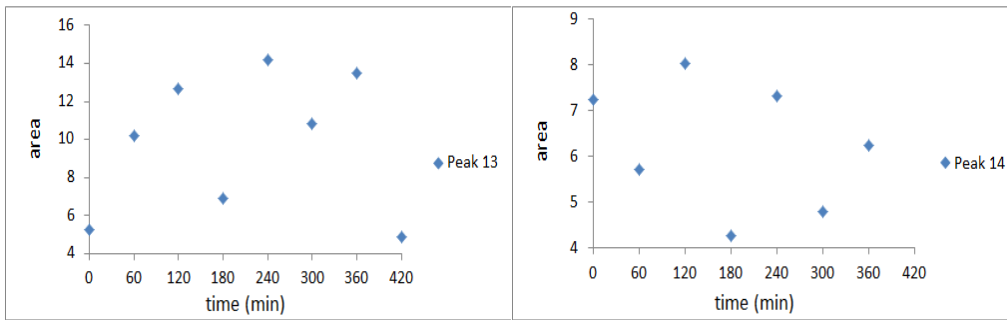


Abbildung 36: Peak-Ergebnisse. Peak 13 und 14 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.

8.6. Apfelextrakte mit unterschiedlichen chemischen Behandlungen

8.6.1. Methode

Bei diesem Experiment wurde mittels HPLC analysiert, ob sich die Polyphenole der Apfelextrakte bei unterschiedlichen Zeiten und unterschiedlichen Chemikalien ändern.

8.6.2. Material

- Rohstoff: verschiedene Apfelsorten
- Substanzen: 2 % Essigsäure
100 % Acetonitril
entionisiertes Wasser
100 % Methanol
0,1 M Phosphorsäure
0,1 M Salzsäure (HCl)
1 % Ascorbinsäure
- Geräte: Analysewaage
Magnetrührer
HPLC - LiChroCart RP-18 column (5 µm, 250 x 3mm)
Vibromixer
Zentrifuge
Ultraschalbad
Gefriertrocknen
Gefriertruhe
- Utensilien: Rührfisch
Becherglas
Vials für HPLC
Pipette

8.6.3. Durchführung

Um zu überprüfen, ob die Inhaltsstoffe im Apfel vorhanden sind bzw. gleich bleiben bei der Anwendung von unterschiedlichen Chemikalien, wurde aus den Gala-Äpfeln ein Extrakt hergestellt. Die Äpfel wurden in kleine Stücke geschnitten und für 10 min in unterschiedliche Lösungen (0,1 M Phosphorsäure; 0,1 M Salzsäure; 1 % Ascorbinsäure) gelegt. Anschließend wurden die Äpfel mit den unterschiedlichen Lösungen nach 0, 3, 6 und 8 Stunden (t_0 , t_3 , t_6 und t_8) eingefroren und alle zusammen gefriergetrocknet. Nach zwei Tagen wurden die Äpfel extrahiert.

100 mg vom gefriergetrockneten und homogenisierten Apfel wurden mit 8 ml einer Methanol-Wasser-Mixtur (80:20) bei Raumtemperatur gemischt. Danach kam das Apfelextrakt für 10 Minuten in ein Wasserbad. Anschließend für 5 Minuten in den Vibromixer und zum Schluss wurde 5 Minuten bei 3400 rpm zentrifugiert. In das HPLC tube wurde 1 ml um pipettiert und die HPLC konnte gestartet werden.

Online-HPLC-Analyse (siehe Tabelle 14):

Hewlett Packard Serie 1100, bestehend aus einer G1311A Pumpe, VW Detektor Modell G1314A und einen G1329A thermostatisierten Autosampler; LiChroCart RP-18 Säule (5 µm, 250 × 3 mm); Gradientenelution 0.6 ml/min mit einem Gradientenprogramm von 0 - 20 min 2 - 20 % B, 20 - 23 min 20 % B, 23 - 25 min 20 - 80 % B, 25 -26 min 80 % B mit 2 % Essigsäure als Laufmittel A und Acetonitril als Laufmittel B; UV-Detektion mit einer Wellenlänge von 280 nm.

Tabelle 14: Parameter für die Apfelextrakt-Analyse.

Parameter	Einstellungen
Injektionsvolumen	1 µl
Fluss	0,6 ml/min
Druck	350 bar
Temperatur	30° C
Säule	LiChroCart RP-18 column (5 µm, 250 x 3mm)
Mobile Phase	2 % Essigsäure 100 % Acetonitril
Wellenlänge	280 nm

8.6.4. Ergebnisse

Zur Wiederholung aus dem Kapitel 8.3. aus der Abbildung 27: hatte Kaffeesäure eine Retentionszeit von 3,61 und eine Fläche von 6071,9. Chlorogensäure hatte eine Retentionszeit von 3,86 und eine Fläche von 6181,4. Epicatechin hatte eine Retentionszeit von 5,11 und eine Fläche von 3011,6. Epicatechin gallate hatte eine Retentionszeit von 5,22 und eine Fläche von 4956,6. Rutin hatte einer Retentionszeit von 8,96 und eine Fläche von 1449,1.

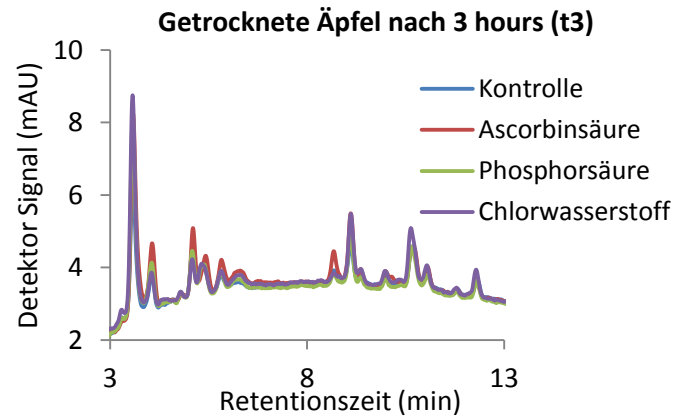
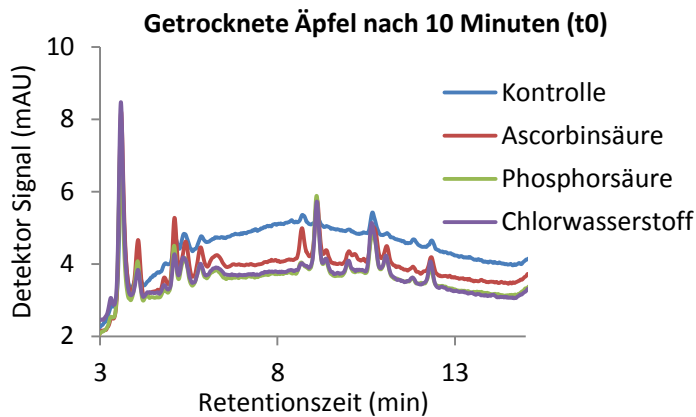


Abbildung 37: Chromatogramm. HPLC-Ergebnisse mit unterschiedlichen Lösungen nach 0 und 3 Stunden. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Linke Chromatogramm: Äpfel nach 10 Minuten. Rechte Chromatogramm: Äpfel nach 3 Stunden. Blaue-Linie: Kontrolle; rote-Linie: Ascorbinsäure; grüne-Linie: Phosphorsäure; lila-Linie: HCl.

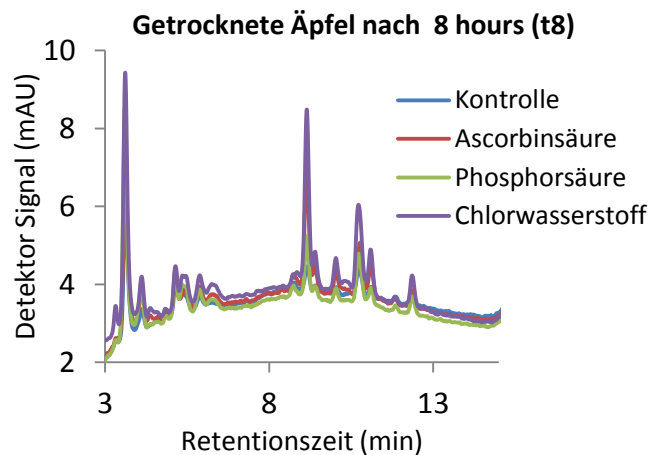
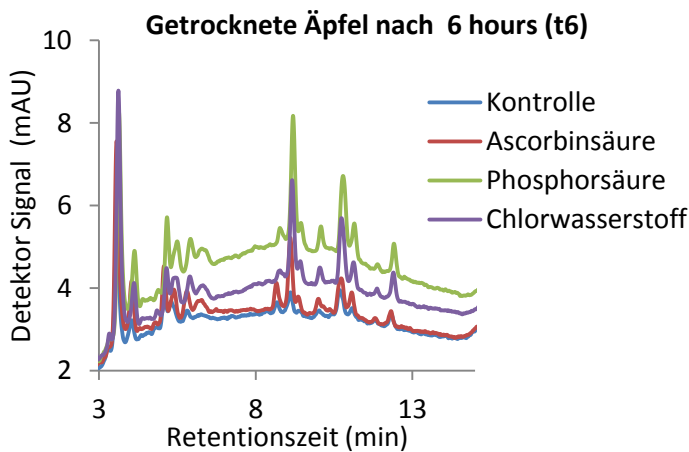


Abbildung 38: Chromatogramm. HPLC-Ergebnisse von Äpfeln mit unterschiedlichen Lösungen nach 6 und 8 Stunden. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Linkes Chromatogramm: Äpfel nach 6 Stunden. Rechtes Chromatogramm: Äpfel nach 8 Stunden. Blaue Linie: Kontrolle; rote Kurve: Ascorbinsäure; grüne Kurve: Phosphorsäure; lila Kurve: HCl.

Aus den Ergebnissen von Abbildung 37, 38 und Abbildung 27 kann man erkennen, dass der erste Peak Kaffeesäure oder Chlorogensäure, der fünfte Peak Epicatechin, der sechste Epicatechin gallate und der achte Rutin sind, da der Peak die gleiche Retentionszeit hat. Die restlichen Peaks sind Verschmutzungen.

Anschließend wurden 15 Peaks ausgewählt, integriert und gegen die Retentionszeit geplottet (siehe Abbildung 39 bis 42). Das Ziel war, herauszufinden, ob sich die unterschiedlich Peaks von 0 – 8 h, verändern.

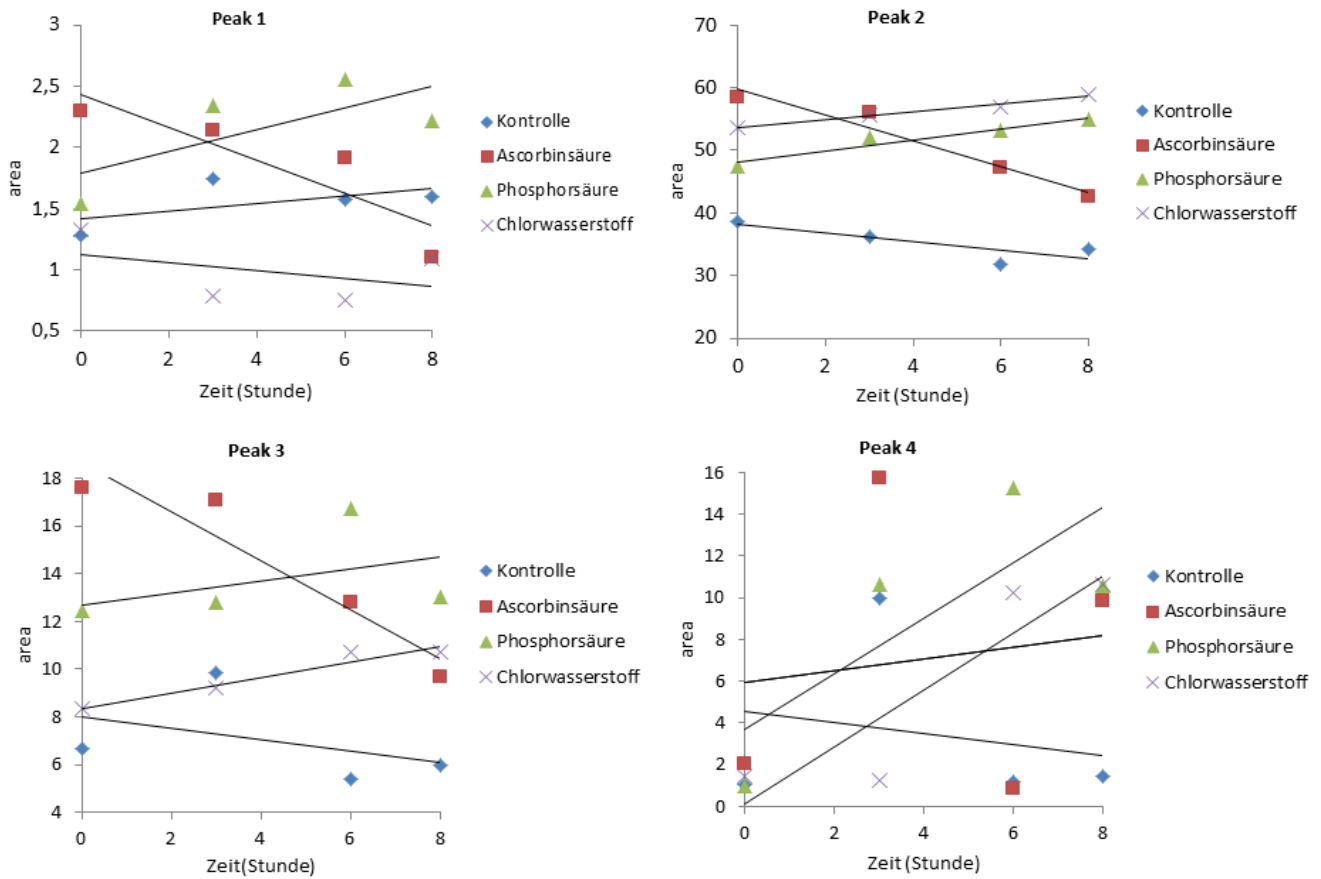


Abbildung 39: Peak 1 - 4 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot: Retentionszeit gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila: HCl.

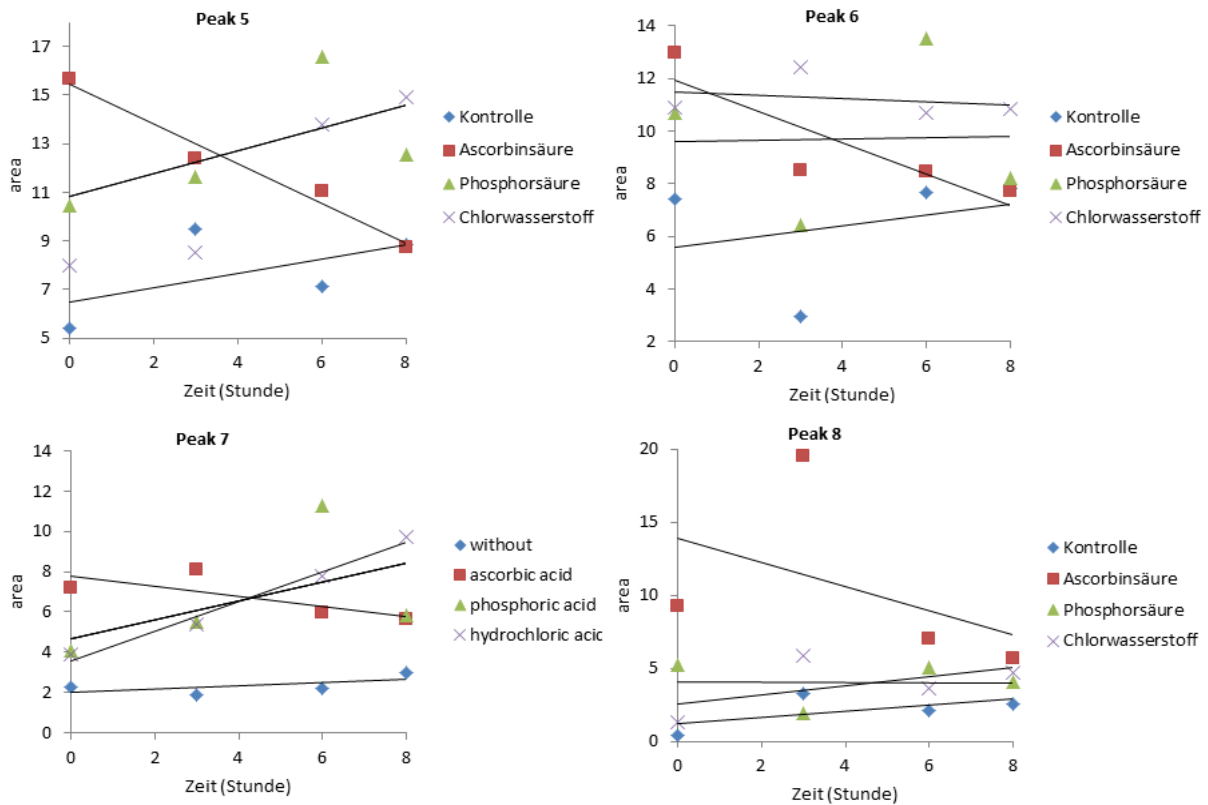


Abbildung 40: Peak 5 - 8 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot: Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila: HCl.

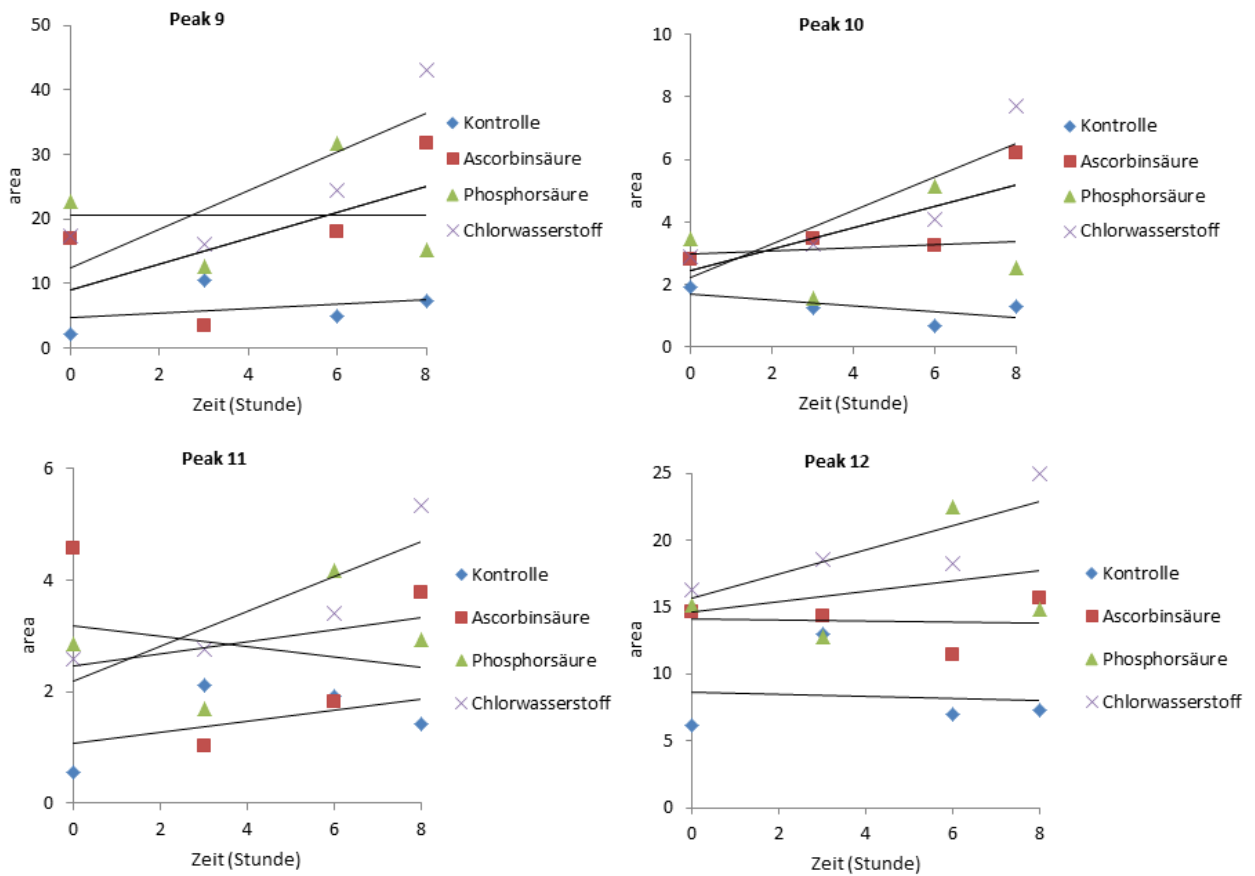


Abbildung 41: Peak 9 - 12 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot: Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila: HCl.

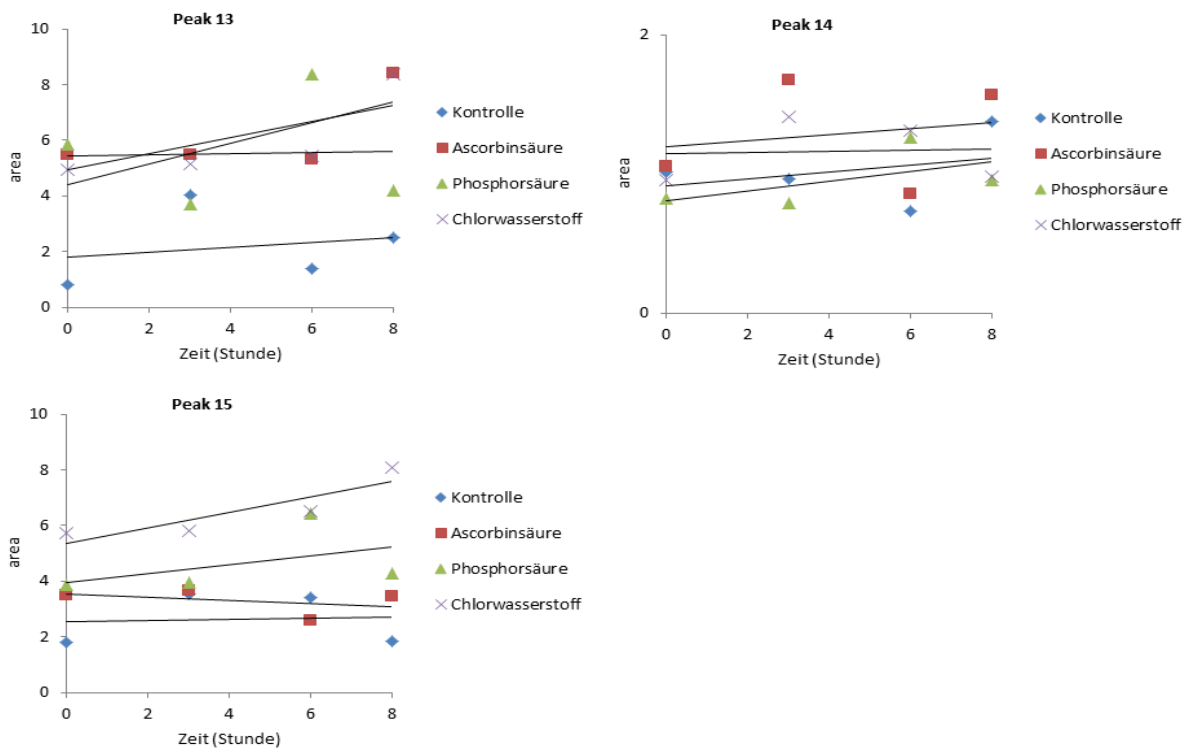


Abbildung 42: Peak 13 - 15 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot: Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila: HCl.

In den Abbildungen 39 bis 42 ist zu erkennen, dass z. B. bei dem behandelten Peak 1 aus Abbildung 36 keine konstante Fläche zu sehen ist. Die Probe ohne Behandlung hat eine Area von 1,50 und hat daher keinen konstanten Polyphenol-Gehalt. Die Probe mit Phosphorsäure-Behandlung von 0 – 8 h hat eine Area zwischen 1,50 und 2,50. Die Probe mit Ascorbinsäure-Behandlung von 0 – 8 h hat eine Area zwischen 2,25 und 1,25. Die Probe mit HCl-Behandlung von 0 – 8 h hat eine Area zwischen 1,25 und 0,25. Aus diesen Ergebnissen ist nachzuvollziehen, dass sich der Polyphenol-Gehalt in den behandelten Äpfeln im Laufe der Zeit ändert.

Bei den mit Phosphorsäure und Salzsäure behandelten Äpfeln steigt die Area ab t3 an. Währenddessen die Area bei den Ascorbinsäure behandelten Äpfeln stark sinkt. Die unbehandelten Äpfel haben eine konstante Area.

Literaturverzeichnis

- Berger, Langthaler, Payer, Zankl, Höbaus, Maierhofer, Pöchtrager, Meixner, Rützler, (2010) *Lebensmittelbericht Österreich*, Bundesministerium für Land- & Forstwirtschaft, Umwelt- & Wasserwirtschaft, Seite 23 – 25
- Belitz HD, Grosch W. (1992), *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 4. Auflage, Springer Verlag Berlin, 756 – 762
- Bernd Oster, Ulrich Fechtel, (2011) *Vitamins, 7. Vitamin C (L-Ascorbic Acid)*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Seite 283 – 288
- Burda S, Oleszek W, Lee CY (1990) *Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage*. J. Agric. Food Chem., **38**, 945 – 948
- Franzke C., (1996) *Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Behr's Verlag
- Georg Schwedt, (1999) *Taschenatlas der Lebensmittelchemie*, Georg Thieme Verlag, Seite 28, 202
- Guyot S, Marnet N, Laraba D, Sanoner P, Drilleau J-F (1998) *Reversed-Phase HPLC following Thiolysis for Quantitative Estimation and Characterisation of the four main Classes of Phenolic Compounds in different Tissue Zones of a French Cider Apple Variety (Malus domestica var. Kemerrien)*. J. Agric. Food Chem., 46, 1698 – 1705
- Herrmann K., (1992) *Über die Gehalte der hauptsächlichen Pflanzenphenole im Obst*. Obst, 59, 66 – 70
- Hermann K. (1993) *Zur quantitativen Veränderung phenolischer Inhaltsstoffe bei der Gewinnung von Apfel- und Birnensäften*. Obst, 60, 7 – 10
- Häkkinen S., Mykkänen H., Kärenlampi S., Törrönen R. (1997) *Phenolic profiles in finnish berries*. Scotland, 59 – 60
- Isler O., Brubacher G., Ghisla S. und Kräutler B., (1988) *Vitamine II*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, pp 390 – 433
- Kuhnert N. (2013) *Polyphenole: Vielseitige Pflanzeninhaltsstoffe*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA, Weinheim, Deutschland, pp 80 – 91
- Lancaster JE (1992) *Regulation of skin color in apples*. Critical Reviews in Plant Science, **10**, 487 – 502
- Lazarus SA, Adamson GE, Hammerstone JF, Schmitz HH (1999) *High-performance liquid chromatography/mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in foods and beverages*. J. Agric. Food Chem., **47**, 3693 – 3701
- Lea AGH, Timberlake CF (1974) *The phenolics of cider: 1. Procyanidins*. J. Sci. Food Agric., 25, 1537 – 1545

- Lea AGH, Timberlake CF (1978) *The phenolics of cider: Effect of processing conditions*. J. Sci. Food Agric., 29, 484 – 492
- Lee HS, Wrolstad RE (1988) *Apple Juice Composition: Sugar, Nonvolatile Acids and Phenolic Profiles*. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71, 789 – 794
- Lieberei, Reisdorff, (2007) *Nutzpflanzenkunde*, Thieme: Stuttgart 7 th ed.
- Lister CE, Lancaster JE, Sutton KH (1994) *Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar*. J. Sci. Food Agric., 64.
- Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J (1990) *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, FL
- Mayr U, Treutter D, Feucht W (1996) *Phenolische Inhaltsstoffe des Apfels*. Erwerbsobstbau, 38, 8 – 12
- Mayr U, Treutter D (1996) *Vorkommen und Gehalte von Flavanolen in Apfelfrüchten und Säften*. Deutsche Gesellschaft für Qualitätssicherung (pflanzliche Ernährung) XXXI. Vortragstagung: Die Qualität pflanzlicher Nahrungsmittel als Grundlage richtiger Ernährung, Kiel 1996, 113 – 119
- Mazza G., Miniati E. (1993) *Anthocyanins in fruit, vegetables, and grains*. CRC Press, Boca Raton
- Anderson O. M., Markham K. R. (2006) *Flavanoids – Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor and Francis, Boca Raton, London, New York.
- Picinelli A, Suárez B, Mangas JJ (1997) *Analysis of polyphenols in apple products*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A, 204, 48 – 51
- R. Garloff, (2015) *Vitamin C- Die Wahrheit über das wichtigste aller Vitamin*, Vitalstoff Journal
- Risch B., Herrmann K. (1988) *Die Gehalte an Hydroxyzimtsäure-Verbindungen und Catechinen in Kern- und Steinobst*. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 186, 225 – 230
- Ritter G (1994) *Die Bedeutung der phenolischen Saft- und Weinhaltstoffe während der Verarbeitung von Äpfeln, Speierling und weißen Trauben . Der Einfluss moderner Verfahrenstechnologie auf die Qualität des Endproduktes*. Dissertation Universität Giessen
- Ritter G, Dietrich H (1996) *Der Einfluss moderner Verfahrenstechniken auf den Gehalt wichtiger Pflanzenphenole im Apfelsaft*. Flüss. Obst, 63, 256 – 263
- Ruhiye Yoruk, Maurice Marshall, (2003) *Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A Review*, Institute of Food and Agricultural Sciences Food Science and Human Nutrition Department University of Florida
- Schols HA, in't Veld PH, van Deelen W, Voragen AGJ (1991) *The effect of the manufacturing method on the characteristics of apple juice*. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 192, 142 – 148
- Schuster B., Herrmann K., (1985) *Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivates in soft fruits*. Phytochemistry, 24, 2761 – 2764
- Siegel, Lenger, Roman, Radl, (1993) *Handlexikon der Getränke Band 2*, Rudolf Trauner Verlag, Seite 210 – 213

S. Quideau, D. Deffieux, C. Douat-Casassus, L. Pouysegu (2011) „*Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities and Synthesis*“, *Angew. Chem.*, 50, 586 – 621.

Spanos GA, Wrolstad RE (1990) *Influence of Processing and Storage on the Phenolic Composition of Thompson Seedless Grape Juice*. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1565 – 1571

Spanos GA, Wrolstad RE, Heatherbell DA (1990) *Influence of Processing and Storage on the Phenolic Composition of Apple Juice*. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1572 – 1579

Wald B., Galensa R. (1989) *Nachweis von Fruchtsaftmanipulationen bei Apfel- und Birnensaft*. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 188, 107 – 114

WEBER, P. (2002) *Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe*. Hrsg.: H. K. BIESALSKI, Thieme Verlag, Stuttgart (2002) 57 – 66.

Wilska-Jeszka J, Podsêdek A (1996) *Proanthocyanidins properties and occurrence in fruits*. In: *Proceeding of the Symposium on Polyphenols and Anthocyanins as Food colourants and Antioxidants*, Vienna, 15 Nov. 1996, 87 – 91

Internetverzeichnis

<http://www.suedtirolerapfel.com/de/infothek/magazin/76-wo-liegt-der-ursprung-des-suedtiroler-apfels.html> (abgerufen am 25.8.2015)

<http://www.vitalstoff-journal.de> (abgerufen am 24.8.2015)

<http://www.bmlfuw.gv.at/land/lebensmittel> (abgerufen am 27.11.2015)

http://www.kleingarten-bund.de/garten/umwelttipp/aepfel_richtig_lagern (abgerufen am 27.11.2015)

<https://de.wikipedia.org/wiki/1-Methylcyclopropen> (abgerufen am 27.11.2015)

<http://www.daserste.de/information/wissen-kultur/w-wie-wissen/sendung/aepfel-110.html> (abgerufen am 27.11.2015)

http://www.wacker.com/cms/de/www_archive/www_2009/www_19/19_innovations/19_smartfresh/19_smartfresh.jsp (abgerufen am 27.11.2015)

http://www.obstwein-technik.eu/App_Upload/CMS/Tiny/Dateien/Lafer-Erfahrungen_mit_neuen_Lagerungstechnologien.pdf (abgerufen am 27.11.2015)

http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc_detail1.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc/prinzip/prinzhplcm63ht0400.vscml.html (abgerufen am 27.11.2015)

<http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg> (abgerufen am 32.12.2015)

http://www.landwirtschaft-mv.de/cms2/LFA_prod/LFA/content/de/Fachinformationen/Obstbau/Kern-_und_Steinobst/Berichte/Inhaltsstoffe_des_Apfels_-_Teil_1/2012_05_Inhaltsstoffe_des_Apfels_-_Teil_1_211212.pdf (abgerufen am 07.01.2015)

<http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf> (abgerufen am 07.09.2015)

<https://www.gesundheit.gv.at/Portal.Node/ghp/public/content/ernaehrung-mehr-zum-thema-lagerung-kuehlschrank-LM.html> (abgerufen am 07.09.2015)

<https://de.wikipedia.org/wiki/CA-Lager> (abgerufen am 09.09.2015)

https://www.was-wir-essen.de/abisz/aepfel_verarbeitung_lagerung_verpackung.php (abgerufen am 09.09.2015)

[file:///C:/Users/Manu/Downloads/versorgungsbilanz_fuer_obst_200809_bis_201314%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Manu/Downloads/versorgungsbilanz_fuer_obst_200809_bis_201314%20(2).pdf) (abgerufen am 15.09.2015)

http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/preise_bilanzen/versorgungsbilanzen/index.html (abgerufen am 15.09.2015)

<http://www.fruchtsaft.de/saftwissen/herstellung/> (abgerufen am 28.08.2015)

<https://www.ugb.de/exklusiv/fragen-service/wie-wird-apfelsaft-hergestellt/?apfelsaft-fruchtsaeft>
(abgerufen am 26.11.2015)

<http://de.statista.com/statistik/daten/studie/456937/umfrage/umfrage-zum-genuss-von-fruchtsaft-in-oesterreich/> (abgerufen am 01.09.2015)

<http://de.statista.com/statistik/daten/studie/287657/umfrage/pro-kopf-konsum-von-obst-in-oesterreich-nach-fruchtsorten/> (abgerufen am 01.09.2015)

<http://de.statista.com> (abgerufen am 01.09.2015)

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Taxonomie des Apfels [Lieberei und Reisdorff, 2007].....	11
Tabelle 2: Inhaltsstoffe von Kernobst in 100 g essbarem Anteil (Mittelwerte) [Souci et al, 1994; https://www.gesundheit.gv.at].....	12
Tabelle 3: Verbrauch von verschiedenen Obstsorten pro Kopf in kg in Österreich im Jahr 2014 [http://de.statista.com/statistik/daten/studie/287657/umfrage/pro-kopf-konsum-von-obst-in-oesterreich-nach-fruchtsorten/].....	16
Tabelle 4: Entwicklung des Pro-Kopf-Verbrauches von Äpfeln von 2006/07 bis 2013/14 [http://de.statista.com].....	17
Tabelle 5: Verbrauch von Fruchtsäften in 2013 und 2014 [http://de.statista.com/statistik/daten/studie/456937/umfrage/umfrage-zum-genuss-von-fruchtsaft-in-oesterreich/].....	17
Tabelle 6: Versorgungsbilanz für Obst (in Tonnen) in Österreich [file:///C:/Users/Manu/Downloads/versorgungsbilanz_fuer_obst_200809_bis_201314%20(2).pdf , http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/preise_bilanzen/versorgungsbilanzen/index.html].....	18
Tabelle 7: Eigenschaften der L-Ascorbinsäure [http://www.vitalstoff-journal.de].....	25
Tabelle 8: Identifizierte Polyphenole in der frischen Apfelfrucht [Risch und Herrmann 1988; Wald und Galensa 1989; Lea und Timberlake 1974; Mayr et al. 1996; Lazarus et al. 1999; Wilska-Jeszka und Podsedek 1996; Guyot et al. 1998; Lancaster 1992; Lister et al. 1993; Mayer und Treutter 1996].	36
Tabelle 9: Identifizierte Polyphenole im frischen Apfelsaft mittels HPLC [Spanos et al. 1990; Ritter 1996; Picinelli et al. 1997].....	37
Tabelle 10: Zusammenfassung der verwendeten Chemikalien, die für die Behandlung von Äpfeln verwendet wurden. Die Zeichen ✓ (funktioniert) und ✖ (funktioniert nicht) bestimmen.....	49
Tabelle 11: Parameter für die Bestimmung der Polyphenole.....	51
Tabelle 12: Parameter für die Vitamin-C-Analyse.....	55
Tabelle 13: Parameter für die Apfelextrakt-Analyse.....	59
Tabelle 14: Parameter für die Apfelextrakt-Analyse.....	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Der Ursprung des Apfels. Handelsstraße von Zentral- und Westasien bis Mittel- und Nordeuropa [http://www.suedtirolerapfel.com/].....	10
Abbildung 2: Apfel (<i>Malus domestica</i>) Querschnitt durch die Frucht [Lieberei und Reisdorff, 2007]..	12
Abbildung 3: Herstellung des Apfelsaftes [http://www.fruchtsaft.de].....	14
Abbildung 4: Überblick über die Haltbarmachung von Lebensmitteln. Einteilung in chemische, physikalische und biologische Verfahren [http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/04fh.pdf].	19
Abbildung 5: Chemische Struktur der Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure [http://www.vitalstoff-journal.de].....	25
Abbildung 6: Strukturen von Phenol (1) und Polyphenol (2) [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegu 2011; Anderson, Markham 2006].....	28
Abbildung 7: Chemische Reaktivitäten von Phenolen [Kuhnert 2013; Quideau, Deffieux, Douat-Casassus, Pouysegu 2011; Anderson, Markham 2006].....	29
Abbildung 8: Reaktionen von o-Chinonen mit Polyphenolen [Macheix et al. 1990; Spanos und Wrolstad 1990; Spanos 1990].	30
Abbildung 9: Strukturen der wichtigsten Hydroxyzimtsäuren in Früchten [Schuster, Herrmann, 1985].	33
Abbildung 10: Die häufigsten vorkommenden Hydroxybenzoesäuren in Früchten [Franzke 1996; Häkkinen 1997].....	33
Abbildung 11: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten [Mazza, Miniati 1993].	34
Abbildung 12: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten [Mazza, Miniati 1993].	35
Abbildung 13: Gala-Apfel [http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg]	38
Abbildung 14: Fuji-Apfel [http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg].....	38
Abbildung 15: Elstar-Apfel [http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg]	39
Abbildung 16: Jonagold-Apfel [http://www.obsthof-hentschel.de/bilder/apfelsorten.jpg]	39
Abbildung 17: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: 1 % Ascorbinsäure; rechts oben: 0,1 % Ascorbinsäure und in der Mitte unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: 1 % Ascorbinsäure; rechts oben: 0,1 % Ascorbinsäure und in der Mitte unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel.	41
Abbildung 18: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: 100 % Zitronensäure Phosphat Puffer; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure mit Zitronensäure Phosphat Puffer; links unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel und rechts unten: 1 % Ascorbinsäure mit Wasser. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: 100 % Zitronensäure Phosphat Puffer; rechts oben: 1	

% Ascorbinsäure mit Zitronensäure Phosphat Puffer; links unten: Kontrolle ohne Lösungsmittel und rechts unten: 1 % Ascorbinsäure mit Wasser.	41
Abbildung 19: Linkes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 10 Minuten. Links oben: Kontrolle ohne Lösungsmittel; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure; links unten: 0,1 M Phosphorsäure und rechts unten: 0,1 M HCl. Rechtes Bild: Apfelstücke (Gala) nach 5 Stunden. Links oben: Kontrolle ohne Lösungsmittel; rechts oben: 1 % Ascorbinsäure; links unten: 0,1 M Phosphorsäure und rechts unten: 0,1 M HCl.	42
Abbildung 20: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit NaCl + Vit C und NaCl-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit KCl + Vit C und KCl- Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.....	44
Abbildung 21: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit 0,75 : 1 / MgCl ₂ : Vit C und 1,5 : 1 / MgCl ₂ : Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit 1 % MgCl ₂ -Behandlung und Apfelspalten ohne Lösungsmittelbehandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.	45
Abbildung 22: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Linkes Bild: Apfelspalten mit 1 % EDTA + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechtes Bild: Apfelspalten mit 1 % EDTA-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.....	45
Abbildung 23: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Oberes Bild: Apfelspalten mit 1 % Titriplex IV und 1 % Titriplex IV + Vit C-Behandlung inkl. Stickstoffbehandlung. Unteres Bild: Apfelspalten mit 1 % Titriplex IV und 1 % Titriplex IV + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoffbehandlung.	46
Abbildung 24: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Links: Apfelspalte mit 3 % Phosphorsäure-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechts: Apfelspalte mit 3 % Phosphorsäure + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.	47
Abbildung 25: Apfel (Gala) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Linkes oben: Apfelspalte ohne Lösungsmittelbehandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 3 % Meta-Phosphorsäure Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure-Behandlung inkl. Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung.	47
Abbildung 26: Apfel (Elstar) nach 5 Tagen mit Sauerstoff- und Stickstoffbehandlung. Erstes Bild links oben: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure inkl. Stickstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure inkl. Stickstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C inkl. Stickstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure + VitC inkl. Stickstoffbehandlung.	

Zweites Bild links oben: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure inkl. Sauerstoffbehandlung. Rechtes oben: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure inkl. Sauerstoffbehandlung. Links unten: Apfelspalte mit 1 % Zitronensäure + Vit C inkl. Sauerstoffbehandlung. Rechts unten: Apfelspalte mit 1 % Apfelsäure + Vit C inkl. Sauerstoffbehandlung.	48
Abbildung 27: HPLC-Ergebnisse von den einzelnen Inhaltsstoffen zusammengefasst. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Jeder Inhaltsstoff hat seine eigene Farbe. Lila-Kurve: Kaffeesäure mit einer Retentionszeit von 3,61 und einer Fläche von 6071,9. Blaue-Kurve: Chlorogensäure mit einer Retentionszeit von 3,86 und einer Fläche von 6181,4. Grüne-Kurve: Epicatechin mit einer Retentionszeit von 5,11 und einer Fläche von 3011,6. Rote-Kurve: Epicatechin gallate mit einer Retentionszeit von 5,22 und einer Fläche von 4956,6. Schwarze-Kurve: Rutin mit einer Retentionszeit von 8,96 und einer Fläche von 1449,1.....	52
Abbildung 28: HPLC-Ergebnisse von den Standards. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Peak 1: Kaffeesäure oder Chlorogensäure; Peak 2: Epicatechin; Peak 3: Epicatechin gallate und Peak 4 ist Rutin.	52
Abbildung 29: HPLC-Ergebnis von dem Apfelextrakt. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Peak 1: Kaffeesäure; Peak 2: Chlorogensäure; Peak 4: Epicatechin; Peak 5: Epicatechin gallate und der letzte Peak ist Rutin.	53
Abbildung 30: Regressionsgeraden für die Berechnung der Vitamin-C-Konzentration. Standardkonzentration: 1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,125 mg/ml und 0,0625 mg/ml. Plot: Konzentration gegen Area.....	56
Abbildung 31: Chromatogramm. HPLC Ergebnis von 1 ml Apfelsaft mit 3 % Metaphosphorsäure. Plot: Konzentration gegen Detektor Signal.	57
Abbildung 32: Chromatogramm. HPLC-Ergebnis des Apfelextraktes. Plot: Konzentration gegen Detektor Signal. Apfelstücke (sample) nach 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 24 Stunden. Jedes Apfelstück hat seine eigene Farbe in diesem Chromatogramm.	60
Abbildung 33: Peak-Ergebnisse. Peak 1, 2, 3 und 4 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.....	61
Abbildung 34: Peak-Ergebnisse. Peak 5, 6, 7 und 8 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.....	61
Abbildung 35: Peak-Ergebnisse. Peak 9, 10, 11 und 12 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt...	62
Abbildung 36: Peak-Ergebnisse. Peak 13 und 14 wurden mittels Zeit gegen Area dargestellt.	62
Abbildung 37: Chromatogramm. HPLC-Ergebnisse von getrockneten Äpfeln mit unterschiedlichen Lösungen nach 0 und 3 Stunden. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Linke Chromatogramm: getrocknete Äpfel nach 10 Minuten. Rechte Chromatogramm: getrocknete Äpfel nach 3 Stunden. Blaue-Linie: Kontrolle; rote-Linie: Ascorbinsäure; grüne-Linie: Phosphorsäure; lila-Linie: HCl.	65
Abbildung 38: Chromatogramm. HPLC-Ergebnisse von getrockneten Äpfeln mit unterschiedlichen Lösungen nach 6 und 8 Stunden. Plot: Retentionszeit gegen Detektor Signal. Linke Chromatogramm:	

getrocknete Äpfel nach 6 Stunden. Rechte Chromatogramm: getrocknete Äpfel nach 8 Stunden.

Blaue Linie: Kontrolle; rote Kurve: Ascorbinsäure; grüne Kurve: Phosphorsäure; lila Kurve: HCl. 65

Abbildung 39: Peak 1 - 4 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot:

Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila:

HCl. 66

Abbildung 40: Peak 5 - 8 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot:

Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila:

HCl. 66

Abbildung 41: Peak 9 - 12 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot:

Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila:

HCl. 67

Abbildung 42: Peak 13 - 15 Ergebnisse von den Chromatogrammen t0, t3, t6 und t8. Plot:

Retentionszeit(Stunden) gegen Area. Blau: Kontrolle; grün: Phosphorsäure; rot: Ascorbinsäure; lila:

HCl. 67

.....

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACN	Acetonitril
CA	controlled atmosphere
°C	Grad Celsius
g	Gramm
HCl	Salzsäure
HPLC	high performance liquid chromatography/ Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
hl	Hektoliter
inkl	inklusive
kcal	Kilokalorie
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
mAu	milli-absorbance-units
MCP	Methylcyclopropen
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol
µg	Mikrogramm

N ₂	Stickstoff
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff
OH ⁻	Hydroxidion
PPO	Polyphenoloxidase
rpm	revolutions per minute/ Umdrehung pro Minute
t	Tonnen
Tab.	Tabelle
Vit.	Vitamin
w – z. B.	wie zum Beispiel
z. B.	zum Beispiel