

2. Grundlagen

2.1. Polyphenole

2.1.1. Allgemeine Klassifizierung der Polyphenole

Phenolische Verbindungen sind im Pflanzenreich weit verbreitete Inhaltsstoffe. Ihnen werden alle Verbindungen zugeordnet, die sich in ihrer chemischen Struktur auf das Phenol zurückführen lassen. Die phenolischen Verbindungen zählen zu den sekundären Pflanzenstoffen, da sie nicht im Primärstoffwechsel der Pflanze gebildet und verbraucht werden. Ihre genauen Funktionen in der Pflanze sind noch Gegenstand der Forschung, wobei Schutz gegen Pilz- und Bakterieninfektionen, Regelung des pflanzlichen Hormonhaushaltes und die Verwendung als Signalsubstanz bewiesen sind (MATERN und GRIMMIG 1993, RHODES 1998). In vielen Obstarten tragen sie zu Geschmack und Aussehen bei und prägen daher auch wesentlich den Charakter von Fruchtsäften und -weinen. Sie bestimmen maßgeblich deren Farbe, Geschmack und Stabilität und damit auch letztendlich ihre Qualität. Heute werden für die phenolischen Verbindungen der Pflanzen in Wissenschaftskreisen die verwandten Bezeichnungen „Pflanzenphenole“, „Polyphenole“ oder kurz „Phenole“ verwendet.

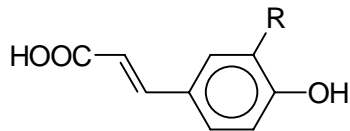
Die wichtigsten Polyphenole in Früchten kann man in drei Gruppen einteilen:

- **Phenolcarbonsäuren und ihre Derivate („Nichtflavonoide“)**
- **Flavonoide**
- **Niedermolekulare Phenole**

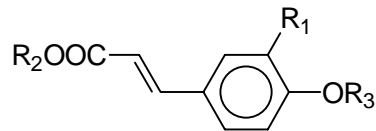
Auf die niedermolekularen, meist flüchtigen Phenole, die zum Teil wichtige Aromastoffe sind, wird in dieser Arbeit nicht näher eingegangen.

Die Polyphenole lassen sich anhand ihres molekularen Aufbaus einteilen. Hydroxybenzoesäure-Verbindungen haben einen C_1-C_6 -Grundkörper, die Hydroxyzimtsäure-Verbindungen einen C_3-C_6 -Grundkörper und die Flavonoide einen $C_6-C_3-C_6$ -Grundkörper. Daher lassen sich die Phenolcarbonsäuren weiter in die Hydroxyzimtsäure- und Hydroxybenzoesäure-Verbindungen unterteilen.

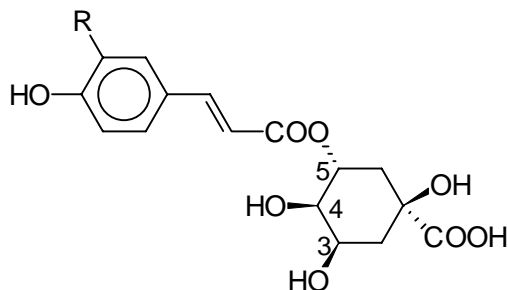
In Abbildung 1 sind die Strukturen der wichtigsten **Hydroxyzimtsäure-Verbindungen** in Früchten dargestellt. Als Hydroxyzimtsäure-Verbindungen kommen hauptsächlich die p-Coumarsäure, die Kaffeesäure und Ferulasäure vor, die in Pflanzen üblicherweise in gebundener Form vorliegen. Bei der Biosynthese wird die Carboxylgruppe der Hydroxyzimtsäuren mit Alkoholen, Kohlenhydraten, Hydroxycarbonsäuren und anderen Phenolen verestert oder mit Aminen zu Amiden umgesetzt. Die freien Säuren entstehen erst während der Verarbeitung der Frucht 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 monomere Polyphenol dar. Zudem kommen Ester der Hydroxyzimtsäuren mit Äpfelsäure (Birnen), Weinsäure (Trauben), Shikimisäure (Palmen) und Zuckersäuren (Citrusfrüchte) vor. Seltener sind Glykoside der Hydroxyzimtsäuren, bei denen eine glykosidische Bindung zwischen einem Zucker, meist D-Glucose, und einer der phenolischen Hydroxylgruppen vorliegt (SCHUSTER und HERRMANN 1985).



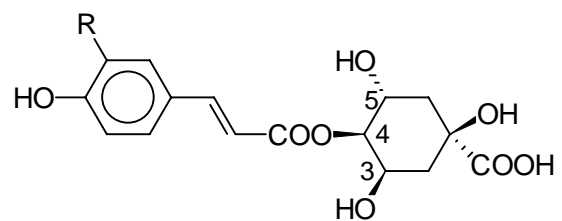
p-Coumarsäure (R = H)
 Kaffeesäure (R = OH)
 Ferulasäure (R = OCH₃)



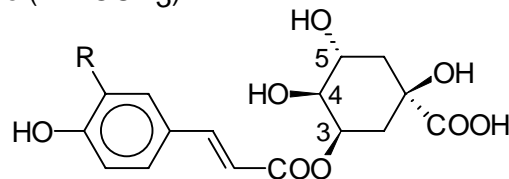
p-Coumaroylglucose (R₁ = H ; R₂ = D-Glucose ; R₃ = H)
 Caffeoylglucose (R₁ = OH ; R₂ = D-Glucose ; R₃ = H)
 Feruloylglucose (R₁ = OCH₃ ; R₂ = D-Glucose ; R₃ = H)
 p-Coumarsäureglucosid (R₁ = H ; R₂ = H ; R₃ = D-Glucose)
 Kaffeesäure-4-glucosid (R₁ = OH ; R₂ = H ; R₃ = D-Glucose)
 Ferulasäureglucosid (R₁ = OCH₃ ; R₂ = H ; R₃ = D-Glucose)



5-p-Coumaroyl-L(-)-chinasäure (R = H)
 5-p-Caffeoyl-L(-)-chinasäure (R = OH)
 "Chlorogensäure"
 5-Feruloyl-L(-)-chinasäure (R = OCH₃)



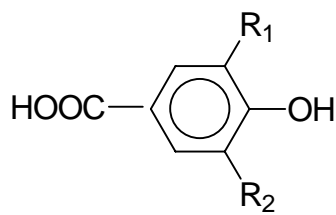
4-p-Coumaroyl-L(-)-chinasäure (R = H)
 4-Caffeoyl-L(-)-chinasäure (R = OH)
 "Kryptochlorogensäure"
 4-Feruloyl-L(-)-chinasäure (R = OCH₃)



3-p-Coumaroyl-L(-)-chinasäure (R = H)
 3-p-Caffeoyl-L(-)-chinasäure (R = OH)
 "Neochlorogensäure"
 3-Feruloyl-L(-)-chinasäure (R = OCH₃)

Abbildung 1: Struktur der wichtigsten Hydroxycimtsäuren und –derivate in Früchten

Hydroxybenzoesäure-Verbindungen kommen in Früchten im Gegensatz zu den Hydroxycimtsäure-Verbindungen, wenn überhaupt, nur in geringen Konzentrationen vor (meist < 1 mg/kg), z. B. in Beerenfrüchten, und liegen meist als freie Säuren vor. Die Ellagsäure, das Dilacton der Hexahydroxydiphensäure, das sich im Prinzip aus zwei Molekülen Gallussäure zusammensetzt, hat in einigen Beerenfrüchten, vor allem der Familie der Rosaceae, einen großen Anteil am Polyphenolgehalt (HÄKKINEN et al. 1997). In Abbildung 2 sind die Strukturen der wichtigsten Hydroxybenzoesäure-Verbindungen in Früchten dargestellt.

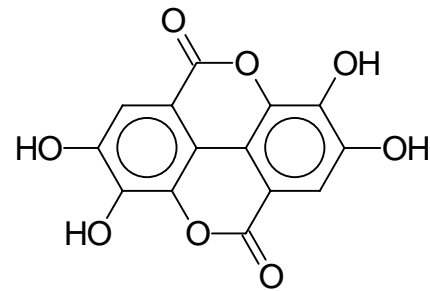


p-Hydroxybenzoesäure ($R_1 = H$; $R_2 = H$)

Protocatechusäure ($R_1 = OH$; $R_2 = H$)

Vanillinsäure ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$)

Gallussäure ($R_1 = OH$; $R_2 = OH$)



Ellagsäure

Abbildung 2: Die Strukturen der wichtigsten Hydroxybenzoesäure-Verbindungen in Früchten

Die **Flavonoide** haben die größte Bedeutung unter den Polyphenolen in Pflanzen. Sie leiten sich strukturell vom Flavan (2-Phenyl-benzo-dihydropyran) ab. Bisher wurden über 4000 Verbindungen von Flavonoiden aus Pflanzen isoliert und identifiziert. Aufgrund unterschiedlicher Grundstrukturen ist es sinnvoll und notwendig, eine weitere Unterteilung dieser Gruppe vorzunehmen. Die wichtigsten Untergruppen und ihre Vertreter in Früchten sind (HERRMANN 1992, BELITZ und GROSCH 1992):

Anthocyanidine

Pelargonidin, Delphinidin, Cyanidin, Päonidin, Petunidin, Malvidin

Flavone

Apigenin, Luteolin, Chrysoeriol, Tricin

Flavonole

Kaempferol, Quercetin, Myricetin, Isorhamnetin

Flavanone

Naringin, Hesperitin

Dihydrochalkone

Phloretin

Flavan-3-ole (Catechine)

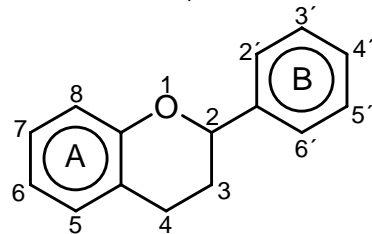
(+)-Catechin, (-)-Epicatechin, (+)-Gallocatechin, (-)-Epigallocatechin, (-)-Epigallocatechin-3-O-gallat

Proanthocyanidine

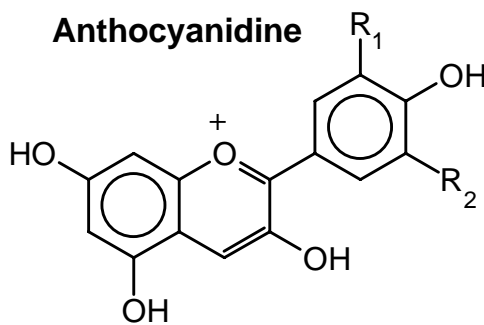
Procyanidine ($B_1 - B_4$)

In Abbildung 3 und 4 sind die Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten dargestellt. Auf die Gruppe der **Flavone** und **Flavanone** soll hier nicht näher eingegangen werden, da sie in Kern-, Beeren- und Steinobst nicht vorkommen (HERRMANN 1992). Die **Anthocyanidine** kommen in Pflanzen nur glykosidisch an verschiedenen Zuckern gebunden vor. Die Glykoside der Anthocyanidine, die **Anthocyane**, liegen bei pH-Werten < 4 teilweise und bei einem pH-Wert < 1 vollständig als Benzopyrylium- oder Flavylumkationen vor, die eine rote, blaue oder violette Farbe aufweisen. Sie kommen in vielen heimischen Obstarten, speziell in einigen Beerenfrüchten und auch Südfrüchten, teils in beträchtlichen Mengen vor und sind für die Farbe dieser Früchte verantwortlich. Die häufigsten Zuckerreste, bevorzugt am C3-Atom über eine Sauerstoffbrücke gebunden, sind die Glucose, die Galaktose, die Rhamnose und die Arabinose, wobei Di- und Trisaccharide, die aus Kombinationen dieser vier Zucker bestehen, ebenfalls oft gefunden werden. In Abhängigkeit vom pH-Wert treten bei den Anthocyanen starke Farbveränderungen auf. Das

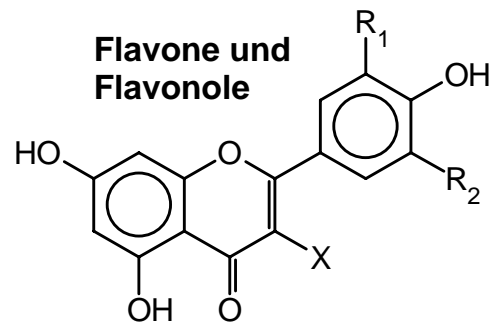
Flavyliumkation ist nur bei sehr niedrigen pH-Werten stabil. Mit steigendem pH-Wert geht es zunehmend durch Anlagerung eines Hydroxid-Anions an das C2-Atom (siehe Abbildung 3) in die farblose Carbinolbase über. Bei den physiologischen pH-Werten der Früchte besteht ein Gleichgewicht der Anthocyane zwischen farbigem Flavyliumkation und farbloser Carbinolbase. Je tiefer der pH-Wert ist, um so mehr liegt das Gleichgewicht auf Seite des Flavyliumkations. Bei höheren pH-Werten > 6 kommt es zur Bildung der chinoiden Form bzw. ionischen Anhydrobase durch Abspaltung von Wasser wieder zu einer Farbvertiefung. Bei pH-Werten > 7 kann die ionische Anhydrobase durch Ringöffnung in das gelbe Chalkon übergehen (MAZZA und MINIATI 1993).



Flavan-Grundkörper



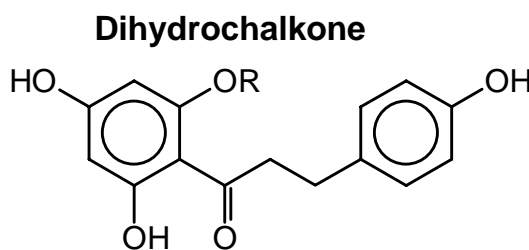
- Pelargonidin ($R_1 = H$; $R_2 = H$)
- Cyanidin ($R_1 = OH$; $R_2 = H$)
- Delphinidin ($R_1 = OH$; $R_2 = OH$)
- Päonidin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$)
- Petunidin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OH$)
- Malvidin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OCH_3$)



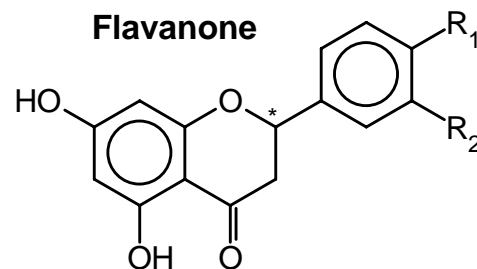
X = H: Flavon X = OH: Flavonol

- Flavone:
- Apigenin ($R_1 = H$; $R_2 = H$)
 - Luteolin ($R_1 = OH$; $R_2 = H$)
 - Chrysoeriol ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$)
 - Tricin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OCH_3$)

- Flavonole:
- Kaempferol ($R_1 = H$; $R_2 = H$)
 - Quercetin ($R_1 = OH$; $R_2 = H$)
 - Myricetin ($R_1 = OH$; $R_2 = OH$)
 - Isorhamnetin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$)



- Phloretin ($R = H$)
- Phloridzin ($R = \beta$ -D-Glucopyranosid)
- Phloretin-2'-xyloglucosid
($R = \beta$ -D-Glucopyranosyl- β -D-Xylopyranosid)



- Naringenin ($R_1 = OH$; $R_2 = H$)
- Hesperetin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OH$)

Abbildung 3: Teil 1: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten

Flavonole kommen in vielen heimischen Obstarten meist als Glykoside vor. Wie bei den Anthocyanen ist das C3-Atom der bevorzugte Bindungsort für die Sauerstoffbrücke. Die häufigsten Zuckerreste sind die Glucose und die Galaktose sowie das Disaccharid Rutinose (Rhamnosyl-(1-6)-glucosid), während Rhamnose, Arabinose, Xylose und die Zuckersäure Glucuronsäure weniger häufiger sind. Die Bildung der hellgelben Flavonolglykoside ist von der Lichtzufuhr abhängig (HERRMANN 1976), so dass es nicht erstaunt, dass diese Substanzgruppe hauptsächlich in der Schale von Früchten vorgefunden wird. Das wichtigste Aglykon der Flavonole in Früchten ist das Quercetin.

Seltener in Früchten zu finden sind die schwach gelben **Dihydrochalkone**. Eine Ausnahme ist der Apfel, für den die Phloretin-glykoside Phloridzin (Phloretin-2'- β -glucosid) und Phloretin-2'-xyloglucosid charakteristisch sind und zum Nachweis von Apfelprodukten verwendet werden (WALD und GALENSA 1989). Die **Flavan-3-ole** kommen in allen heimischen Früchten vor. Das Diastereomerenpaar (+)-Catechin (2R, 3S) und (-)-Epicatechin (2R, 3R) sind die wichtigsten monomeren Flavan-3-ole, während (+)-Gallocatechin, (-)-Epigallocatechin und deren O-3-Gallate weniger häufig sind (chemische Strukturen in Abbildung 4).

Die **Proanthocyanidine** sind Dimere, Oligomere und Polymere der Flavan-3-ole, die durch enzymatische oder chemische Kondensation der Flavan-3-ol-Grundeinheiten entstehen. Die chemischen Strukturen sind in Abbildung 4 dargestellt. Als „kondensierte Gerbstoffe“ tragen sie zum adstringierenden Geschmack von Früchten bei. Bei geringem Polymerisationsgrad sind sie farblos und haben einen bitteren Geschmack, erst bei höherem Polymerisationsgrad entsteht eine gelbliche bis braune Farbe und der adstringierende Geschmack tritt auf (LEA und ARNOLD 1978). Reine Catechin-/Epicatechin-Kondensate werden als **Procyanidine** bezeichnet und sind die verbreitetste Gruppe der Proanthocyanidine, aber auch Prodelphinidine (Gallocatechin-/Epigallocatechin-Kondensate) kommen vor. Bis zu einem Molekulargewicht von etwa 7000 Dalton, entsprechend ca. 20 Flavan-3-ol-Einheiten, sind die Proanthocyanidine im wässrigen Medium löslich. Pflanzengewebe enthalten auch unlösliche, höher polymere Formen, die vielfach sogar den überwiegenden Teil der pflanzlichen Proanthocyanidine darstellen und kovalent an die Polysaccharidmatrix der Zelle gebunden sein können. Die Proanthocyanidinmoleküle sind meist über eine 4- β -8- oder 4- β -6-Interflavanverknüpfung gekoppelt. Obwohl das 4-verknüpfte Proanthocyanidinmolekül drei chirale Zentren im heterocyclischen Ring besitzt, ist die Position 2 ausschließlich R-konfiguriert und die Position 4 scheint immer trans-ständig zur Hydroxylgruppe am C3-Atom zu sein (HEMINGWAY 1989). Die beiden Verknüpfungsmöglichkeiten der Proanthocyanidine sind in Abbildung 4 dargestellt. Der Name Proanthocyanidine, früher auch Leucoanthocyanidine, besagt, dass es sich um farblose Vorstufen der Anthocyanidine handelt, da aus den Proanthocyanidinen beim Erhitzen in saurer Lösung unter Spaltung der Interflavan-Verknüpfung und Freisetzung der Flavaneinheiten als Carbokation und dessen anschließende Oxidation durch Luftsauerstoff farbige Anthocyanidine entstehen. Als Leucoanthocyanidine werden heute die biosynthetischen Vorstufen der Anthocyane, die Flavan-3,4-diole, bezeichnet (LEA 1979).

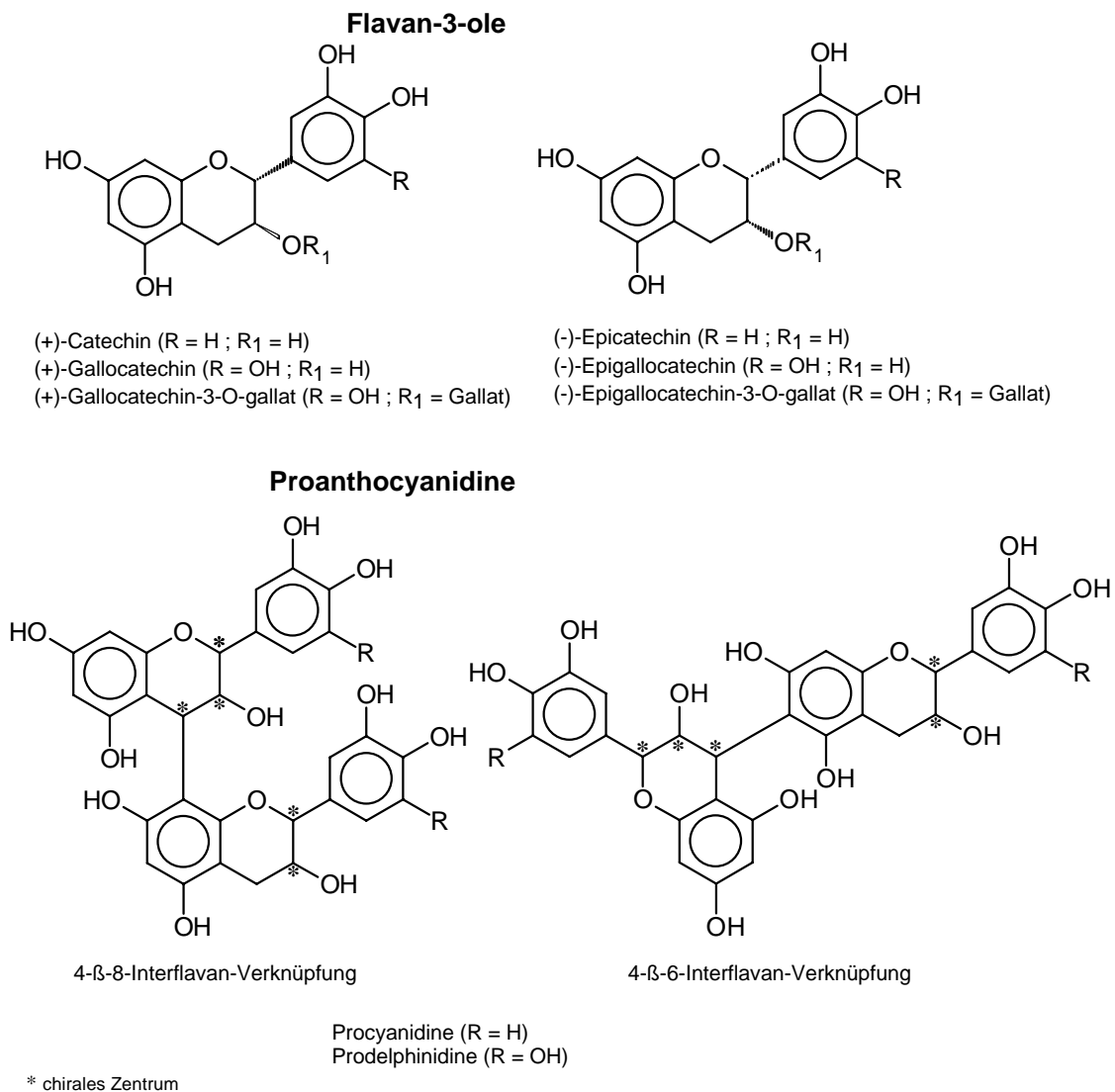


Abbildung 4: Teil 2: Strukturen der wichtigsten Flavonoide in Früchten

2.1.2. Biosynthese der Polyphenole

Alle Precursoren der Biosynthese der Polyphenole entstammen dem Kohlenhydrat-Stoffwechsel. Die Biosynthese der aromatischen Verbindungen in der Pflanze setzt sich aus drei aufeinanderfolgenden Segmenten zusammen: Das Shikimisäure-Segment, das die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan produziert, das Phenylpropanoid-Segment, das die Hydroxycimtsäurederivate produziert, die Precursoren für die Flavonoide und die Strukturkomponente Lignin, sowie das Flavonoid-Segment, das diverse Flavonoide produziert.

Die Biosynthese der Polyphenole ist in Abbildung 5 schematisch dargestellt. Die Shikimisäure entsteht durch enzymatische Synthese aus den vom Kohlenhydrat-Stoffwechsel stammenden Vorstufen Phosphoenolpyruvat und Erythrose-4-Phosphat über die Zwischenstufen 3-Desoxyarabinoheptulosonat-Phosphat, Dehydrochinasäure und Dehydroshikimisäure. Im Shikimisäure-Segment führt der Syntheseweg über Shikimisäure-Phosphat, Enolpyruvylshikimat-Phosphat zu Chorismat, aus dem auch die Aminosäure Tryptophan gebildet wird, weiter über Prephenat zu Arogenat, aus dem die beiden Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin entstehen. Durch Katalyse der Phenylalanin-Amino-Lyase entsteht aus dem Phenylalanin die Zimtsäure, aus der nach enzymatischer Hydroxylierung die p-Coumarsäure gebildet wird. Die p-Coumarsäure kann durch

fortschreitende Hydroxylierung und Methylierung in Kaffeesäure, aus der weiter Lignin, ein wichtiger Bestandteil von Holz, synthetisiert werden kann, und Ferulasäure umgewandelt werden.

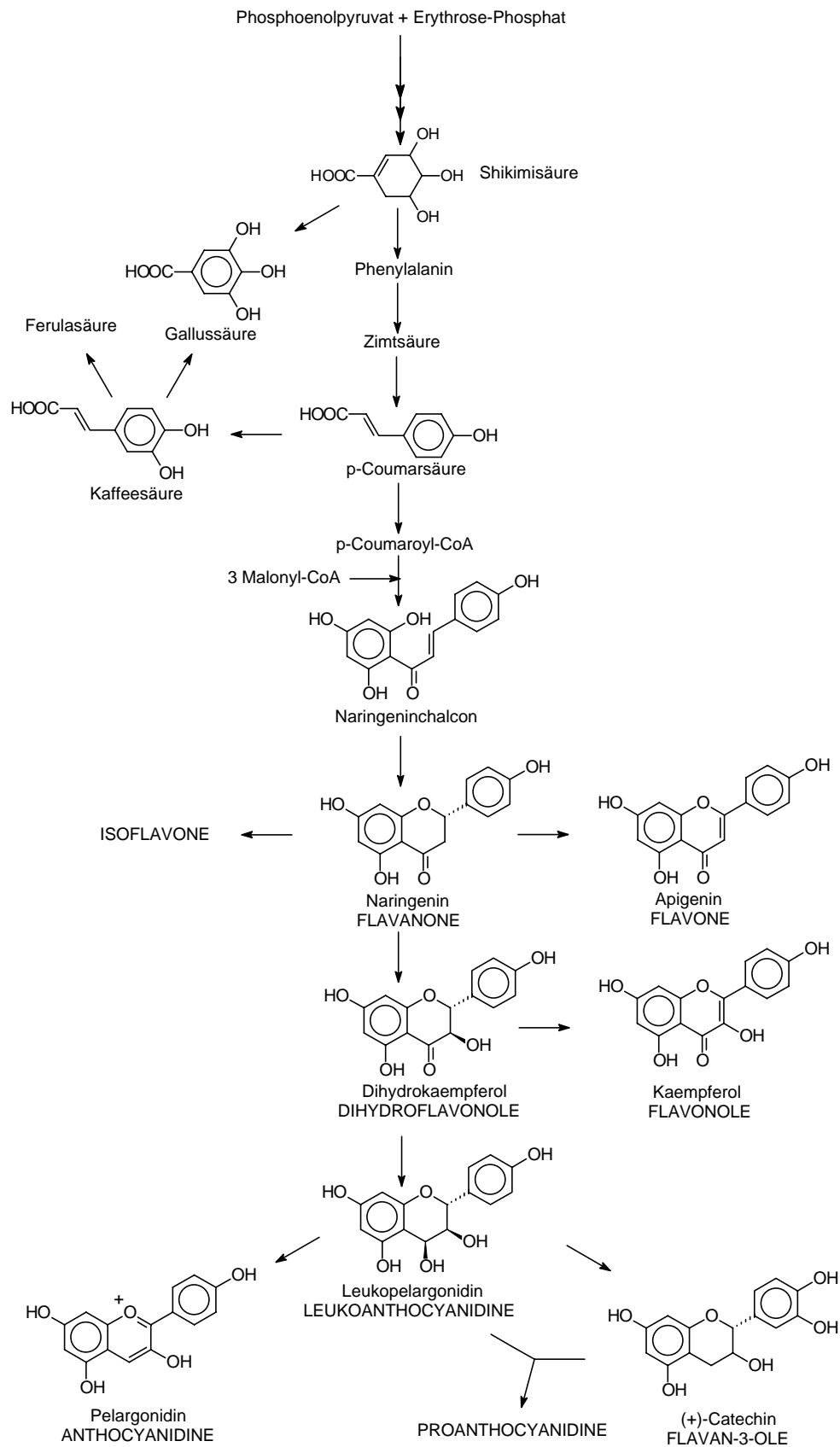


Abbildung 5: Biosynthesewege der Polyphenole in Pflanzen

Die an Coenzym A gebundene p-Coumarsäure (p-Coumarsäure-CoA) kann durch eine von der Chalcon-Synthase katalysierten Reaktion mit Malonyl-CoA zum Naringenin-chalcon, dem 4,2',4',6'-Tetrahydrochalcon, weiterreagieren. Dies stellt nun das C₆-C₃-C₆-Grundgerüst dar, von dem sich alle Flavanoide ableiten. Nach Ringschluss durch die Chalcon-Isomerase entsteht das Naringenin, von dem sich die Flavone, Isoflavone und das Dihydrokaempferol ableiten. Das Dihydrokaempferol kann durch Katalyse der Flavonol-Synthase, die eine Doppelbindung zwischen C2-Atom und C3-Atom ausbildet, in ein Flavonol, in diesem Fall das Kaempferol, umgewandelt werden oder durch katalytische Reduktion der Dihydroflavonol-Reduktase zu einem Flavan-3,4-diol (Leucoanthocyanidin) umgewandelt werden. Die Flavan-3,4-diole werden als kurzlebige Vorstufen der Anthocyane und Flavan-3-ole sowie deren Kondensationsprodukten, den Proanthocyanidinen, angesehen. Die Synthese der Anthocyane, der Flavan-3-ole und der Proanthocyanidine ist bisher im Detail noch nicht geklärt. Ein Zusammenspiel verschiedener Enzyme ist wahrscheinlich (FORKMANN 1993). Bei den Flavan-3-olen wird die Bildung eines Carbokations durch Entfernung der Hydroxylgruppe am C4-Atom als Hydroxid-Anion angenommen, das dann zum Flavan-3-ol reduziert wird. Wenn das Reduktans, z.B. NADPH, limitiert ist, kann das Kation mit Flavan-3-olen zu Dimeren und höheren Oligo- und Polymeren, den Proanthocyanidinen, reagieren (BELITZ und GROSCH 1992). Die Einführung der Hydroxylgruppen am B-Ring der Flavonoide wird von Hydroxylasen katalysiert, wobei der Zeitpunkt noch nicht genau geklärt ist. Die Bildung von Glykosiden erfolgt in der Pflanze meist erst sekundär (HARBORNE 1988). Die Hydroxybenzoesäuren werden in Pflanzen aus den entsprechenden Hydroxyzimtsäuren gebildet, in dem ein Acetatrest nach Oxidation der Seitenkette der Hydroxyzimtsäuren entfernt wird. Über den genauen Mechanismus wird noch diskutiert (GROSS 1992).

2.1.3. Reaktionen der Polyphenole

Die Polyphenole und vor allem ihre Oxidationsprodukte, die Chinone, gehören zu den reaktivsten Inhaltsstoffen in Früchten und deren Produkten. Sie vermögen mit anderen Stoffgruppen, wie Proteinen und Kohlenhydraten, und innerhalb der eigenen Stoffgruppe mannigfaltige Reaktionen einzugehen. Während der gesamten Dauer der Getränkeherstellung, wie auch später während der Lagerung, unterliegen die Polyphenole durch enzymatische und nicht enzymatische Reaktionen ständigen Veränderungen (MACHEIX et al. 1990, SPANOS und WROLSTAD 1990a, SPANOS et al. 1990). Von der Zerstörung der Zellen durch Mahlen und Entsaften an und der damit verbundenen Freisetzung der Polyphenole stellen sie potentielle Reaktionspartner für andere Saftinhaltsstoffe dar, was die Qualität des Produktes beeinflussen kann. Daher unterscheidet sich die Zusammensetzung der Polyphenole von Fruchtsäften immer von der Zusammensetzung in den Früchten, aus denen sie hergestellt wurden. Diese Veränderungen der Polyphenole in Fruchtsäften beeinflussen nicht nur die Qualität des Produktes, sondern sicherlich auch ihre biologischen Eigenschaften, wie die Bioverfügbarkeit und die antioxidative Kapazität. Die ortho-Chinone sind die wichtigsten Reaktionszwischenstufen der Polyphenole und vermögen sowohl mit Polyphenolen als auch mit anderen organischen Saftinhaltsstoffen zu reagieren, wie in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt.

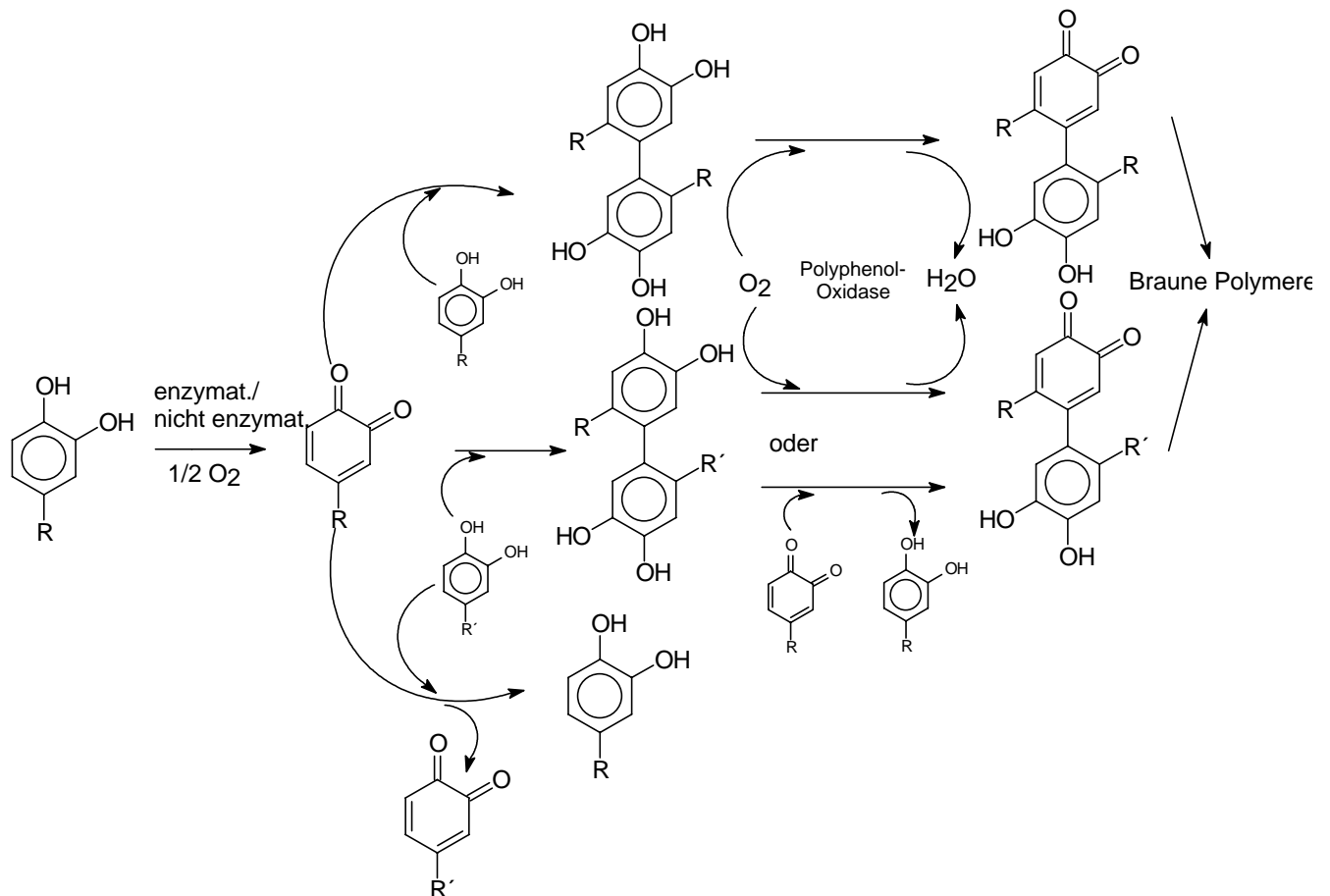


Abbildung 6: Reaktionen von o-Chinonen mit Polyphenolen

Die enzymatische oder nicht enzymatische Bildung des o-Chinons ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt aller nachfolgenden Reaktionen. Enzyme, die Polyphenole zu oxidieren vermögen, werden als Polyphenoloxidasen (PPO) bezeichnet. Die Reaktionen der dargestellten primären Reaktionsprodukte sind aufgrund der Vielfalt sehr komplex, führen aber häufig zu höheren Polymeren mit brauner Farbe. Die wichtigsten Reaktionen der Polyphenole können daher wie folgt eingeteilt werden.

- **Enzymatische Oxidation** (Mostoxidation)
- **Nichtenzymatische Reaktionen** (Kondensation, Polymerisation)
- **Polyphenol-Protein Bindung**
- **Polyphenol-Polysaccharid Bindung**

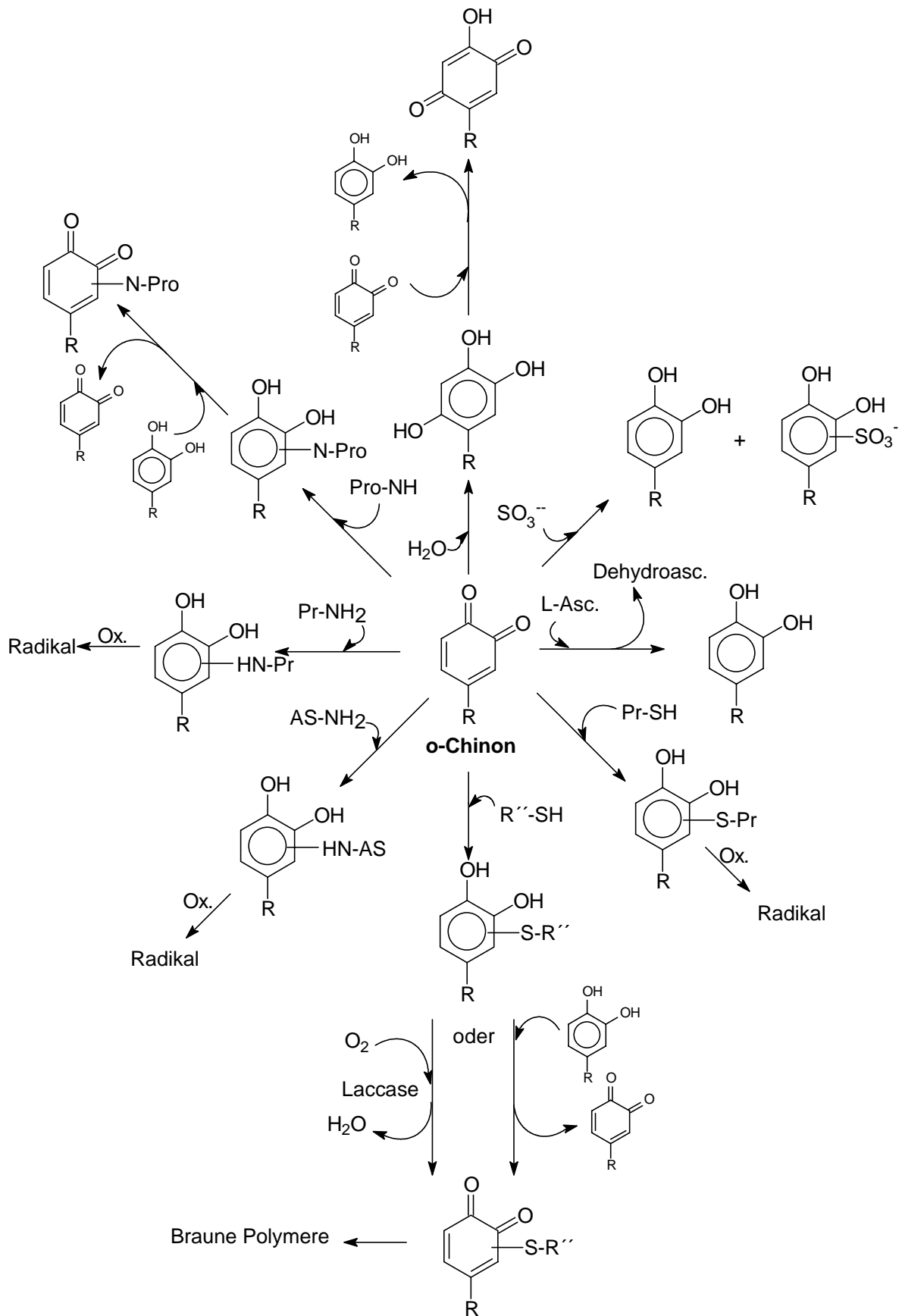


Abbildung 7: Reaktionen von o-Chinonen mit verschiedenen Substanzen (L-Asc. = L-Ascorbinsäure, Dehydroasc. = Dehydroascorbinsäure, AS-NH₂ = Aminosäure, Pr-NH₂ und Pr-SH = Protein, Pro-NH = Prolin, R''-SH = z.B. Cystein, Glutathion, Ox. = weitere Oxidation)

Enzymatische Oxidation

Die Mostoxidation umfasst sowohl enzymatische (katalysiert durch PPO's wie Laccase oder Tyrosinase) als auch nicht enzymatische Redoxreaktionen (Abbildung 6). Die Startreaktion ist immer die durch Enzyme katalysierte Oxidation zum o-Chinon, während die Reaktionen, die schließlich zur Bildung von braunen Pigmenten führen, hauptsächlich nichtenzymatischer Natur sind. Die Mostoxidation ist die Hauptursache der Abnahme des Gehaltes an Polyphenolen während der Herstellung eines Fruchtsaftes. Die tätigen Enzyme weisen dabei eine besonders hohe Affinität zu Hydroxymizsäureverbindungen, vor allem Kaffeesäure-Verbindungen, auf, während die Flavonoide weniger schneller umgesetzt werden (CHEYNIER et al. 1988, 1991). Procyanidine sind schlechte Substrate für Polyphenoloxidasen. Neben der Oxidation von o-Diphenolen zu o-Chinonen können Polyphenoloxidasen auch die Hydroxylierung eines Monophenols, wie Coumarsäurederivate, Phloretinderivate, Pelargonidinderivate usw., zu einem o-Diphenol katalysieren. Durch diese Reaktionen entsteht beispielsweise im Apfelsaft 3-Hydroxyphloridzin, das in der Apfelfrucht nicht vorkommt und durch die Hydroxylierung von Phloridzin im Saft gebildet wird, wie in Abbildung 8 gezeigt (GOODENOUGH et al. 1983).

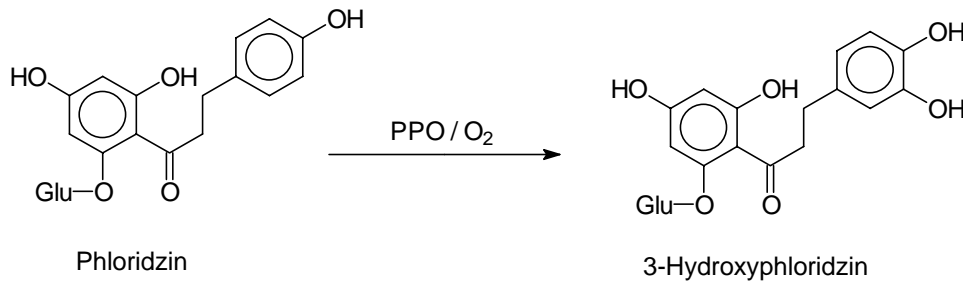


Abbildung 8: Entstehung von 3-Hydroxyphloridzin in Apfelsaft durch Katalyse einer Tyrosinase

Polyphenoloxidasen aus verschiedenen Früchten weisen meist auch verschieden ausgeprägte Aktivitäten (Oxidation, Hydroxylierung) und Substratspezifitäten auf. Zudem unterscheiden sich verschiedene Früchte, wie auch verschiedene Sorten einer Frucht, in ihrer relativen Polyphenoloxidase-Aktivität, was sich beim Fruchtsaftherstellungsprozess in der Geschwindigkeit der Bräunung des Saftes und des Abbaus von Polyphenolen im Saft widerspiegelt.

Der limitierende Faktor einer enzymatischen Oxidation unter praktischen Bedingungen ist bei ausreichender Enzymaktivität und Polyphenolgehalt die Sauerstoffkonzentration und die Diffusionsgeschwindigkeit des Sauerstoffs in der Lösung.

Gekoppelte Oxidation

Das Chinon ist ein starkes Oxidans und kann durch in Säften vorkommende Reduktionsmittel, wie L-Ascorbinsäure oder andere Reduktone, wieder reduziert werden. Sind diese allerdings verbraucht oder nur in geringer Konzentration vorhanden, besteht die Möglichkeit, mit einem anderen o- oder p-Diphenol („Gekoppelte Oxidation“) zu reagieren (Abbildung 6). Durch diese Reaktion können auch Polyphenole, die keine oder schlechte Substrate für Polyphenoloxidasen sind, wie beispielsweise Procyanidine, oxidiert werden. Die gekoppelte Oxidation zwischen Chinonen und Phenolen läuft ohne die Katalyse von Enzymen und ohne Sauerstoff ab. Daher unterliegen beim Herstellungsprozess von Fruchtsaft alle Polyphenole enzymatischen und nicht enzymatischen Oxidationsprozessen, die ihren Gehalt im Saft entsprechend der Ausprägung der Oxidationsprozesse, insbesondere der enzymatischen Oxidation, verändern.

Kondensationsreaktionen

Des Weiteren kann ein Chinon mit anderen Polyphenolen, mit Proteinen, einzelnen Aminosäuren, mit Glutathion oder mit Polysacchariden reagieren und Kondensationsprodukte bilden (Abbildung 7). Dabei kommt es zur Ausbildung einer irreversiblen, kovalenten Bindung, so dass ein neues Molekül entsteht. Durch die Fortsetzung von Oxidation und Kondensation können so größere Moleküle entstehen, deren Löslichkeit mit höherem Kondensationsgrad sinkt und die eine braune Farbe aufweisen. Bei hinreichend großen Kondensationsprodukten führt dies im Fruchtsaft zur Ausscheidung als Pigmente (MOUTOUNET et al. 1990).

Copigmentierung von Anthocyanen

Intermolekulare Copigmentierung von Anthocyanen mit anderen Polyphenolen verursacht einen Anstieg der Farbintensität (hyperchromer Effekt) und eine Verschiebung des Absorptionsmaximum zu höheren Wellenlängen (bathochromer Effekt), was zu violetter bis blauer Farbe führt. Viele Moleküle, wie Polyphenole, Alkaloide, Aminosäuren, organische Säuren etc. und die Anthocyane selbst, besitzen die Fähigkeit, als Copigment mit Anthocyanen zu interagieren, wobei bisher nur wenige Substanzen detaillierter untersucht wurden (MAZZA und BROUILLARD 1990). Das Copigment verschiebt durch die intermolekulare Interaktion mit der farbigen Form des Anthocyan, dem Flavyliumkation, das Gleichgewicht zwischen diesem und der durch Wassereinlagerung entstehenden farblosen Carbinolbase mehr auf die Seite des Flavyliumkations. Die Stärke des Copigmentierungseffektes hängt von der Art und Konzentration des Anthocyan, Art und Konzentration des Copigments sowie dem pH-Wert und der Temperatur des Lösungsmittels ab. So führt beispielsweise eine Erhöhung der Konzentration des Copigments in einem roten Fruchtsaft zu einer Farbintensivierung (WILSKA-JESZKA und KORZUCHOWSKA 1996). Der Copigmentierungseffekt findet nicht nur in den Pflanzenzellen selbst statt, sondern auch in Produkten wie Säften und Weinen, wo sie zur Stabilisierung der Anthocyane beitragen (MAZZA und BROUILLARD 1987).

Alterung von Polyphenolen bei der Lagerung von Fruchtsaft

Die Veränderungen der Polyphenole während der Lagerung von Fruchtsaft sind von Interesse, da die empfohlene Mindesthaltbarkeit bei Fruchtsäften üblicherweise 12 – 24 Monate von der Abfüllung an beträgt. Bei der Lagerung von Fruchtsäften kommt es zu einem Abbau der monomeren Polyphenole durch Oxidations-, Polymerisations- und Kondensationsreaktionen, die stark von der Lagertemperatur abhängig sind

Reaktionskinetik von Anthocyanabbau und nichtenzymatischer Bräunung

Für den Anthocyanabbau in rotfarbigen Säften oder den Bräunungsanstieg in nicht rotfarbigen Säften ergibt sich eine Reaktionskinetik erste Ordnung der Formel:

$$C/C_0 = e^{-kt}$$

wobei C die Anthocyankonzentration zur Zeit t, C_0 die Anthocyankonzentration zu Beginn, t = Zeit in h und $k = K_0 e^{-E_a/RT}$ (K_0 = Frequenzfaktor in h^{-1} , E_a = Aktivierungsenergie in $Jmol^{-1}$, R = Gaskonstante $8,31441 JK^{-1}mol^{-1}$, T = Temperatur in K) die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante ist (CEMEROGLU et al. 1994, EDER 1996a+c, IBARZ et al. 1992). Zur Berechnung der wichtigen kinetische Größe Aktivierungsenergie (J/mol), die die Menge an Energie in J beschreibt, die zur Aktivierung einer bestimmten Reaktion eines Moles eines bestimmten Stoffes benötigt wird, bildet man den Logarithmus von k. Man erhält so die Gleichung $\ln k = \ln K_0 - E_a/RT$. k selbst lässt sich aus der oben beschriebenen Gleichung berechnen. Ermittelt man k bei verschiedenen Temperaturen und trägt $\ln k$ gegen

$1/T$ auf, ergibt sich eine Gerade, deren Steigung E_a/R ist, woraus die Aktivierungsenergie berechnet werden kann. Der Schnittpunkt der Geraden mit der Y-Achse bei $1/T = 0$ ergibt $\ln K_0$. Diese Darstellung wird als Arrhenius-Diagramm bezeichnet und dient vor allem bei Lagerungsstudien der Beurteilung des Einflusses der Temperatur. Die Ermittlung der Konstanten im Arrhenius-Diagramm erfolgt durch Lagerung von Säften oder Konzentraten bei definierten Temperaturen über längere Zeiträume und regelmäßiger Bestimmung der Konzentrationsveränderung der Substanz oder des Parameters, deren Abbaukinetik bestimmt werden soll, in möglichst kurzen Zeiträumen, um durch viele Messpunkte die Genauigkeit zu erhöhen. Es zeigte sich bei Lagerungsstudien, dass die Lagertemperatur den größten Einfluss auf die Veränderungen während der Lagerung hat. Beim Anthocyanabbau spielt auch die Ausgangskonzentration der Anthocyane und anderer Saftinhaltsstoffe eine Rolle, da sich die Aktivierungsenergie des Farbabbaus mit dem Extraktgehalt bei Sauerkirschsaft (15, 45, 71°Brix) verändert (CEMEROGLU et al. 1994). Mit Erhöhung des Extraktgehaltes steigt auch die Aktivierungsenergie. Da die Aktivierungsenergie die Steigung der Geraden darstellt (siehe Abbildung 9 Seite 24), bedeutet dies für die Reaktion, dass eine Erhöhung um eine bestimmte Temperatur (z.B. 10 K) bei hohen Aktivierungsenergien eine stärkere Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit verursacht als bei niedrigeren Aktivierungsenergien (EDER 1996a).

Auf die bisher bekannten Veränderungen in den Gehalten an Polyphenolen in Fruchtsäften und genaue kinetische Daten wird nachfolgend bei den einzelnen Obstarten näher eingegangen.

2.1.4 Polyphenole im Apfel und im Apfelsaft

Apfel

Die phenolischen Inhaltsstoffe des Apfels (*Malus Domestica L.*) und seiner Produkte sind in der Vergangenheit oft untersucht worden. In der frischen Frucht machen die phenolischen Inhaltsstoffe etwa 0,01 – 1% des Frischgewichtes aus, wobei Mostäpfel einen bis zu zehnfach höheren Gesamtphenolgehalt aufweisen als Tafeläpfel (HERRMANN 1973, LEA 1984). Von den verschiedenen Klassen an pflanzlichen Polyphenolen finden sich im Apfel sechs: Hydroxyzimtsäurederivate, Flavonole, Dihydrochalkone, monomere Flavan-3-ole, Procyanidine und Anthocyane. In Tabelle 1 sind die bisher für die Apfelfrucht beschriebenen Polyphenole und ihre bisher beschriebenen Gehalte in der frischen reifen Frucht aufgeführt.

Die wichtigsten Hydroxyzimtsäurederivate im Apfel sind die Chinasäureester der Kaffeesäure und der p-Coumarinsäure, wobei die Chlorogensäure (5-Caffeoylchinasäure) und die 4-p-Coumaroylchinasäure klar dominieren (WHITING und COGGINS 1975, RISCH UND HERRMANN 1988, PÉREZ-ILZARBE et al. 1991, AMIOT et al. 1992). Die anderen beschriebenen Hydroxyzimtsäurederivate gehören im Polyphenolmuster des Apfels zu den Minoranteilen. Ein Chinasäureester der Ferulasäure konnte bisher im Apfel nicht nachgewiesen werden, wurde aber bei Biosynthesestudien in Zellsuspensionenkultur aus Apfelfrüchten nachgewiesen (KOU MBA-KOU MBA und MACHEIX 1982). Ebenso finden sich keine glykosidisch gebundenen Glucoside der Hydroxyzimtsäuren, dafür aber Ester mit Glucose, im Apfel.

Die wichtigsten Flavonole im Apfel sind die Glykoside des Quercetins (OLESZEK et al. 1988). Die Gehalte der einzelnen Glykoside und ihr Verhältnis zueinander schwanken stark in Abhängigkeit der Sorte (WALD und GALENSA 1989, BURDA et al. 1990, PÉREZ-ILZARBE et al. 1991).

Ähnliches gilt auch für die Gehalte und die Verhältnisse der Anthocyane im Apfel, die z. B. bei Sorten mit grüner Schale völlig fehlen und bei rotschaligen Sorten oder seltenen Sorten mit rotem Fruchtfleisch in durchaus größeren Mengen enthalten sein können. Als wichtigstes Anthocyan in der Schale wird das Cyanidin-3-galaktosid genannt, gefolgt von erheblich geringeren Mengen Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-glucosid (MAZZA und MINIATI 1993). Sorten mit rotem Fruchtfleisch haben einen Anthocyangehalt von 95 – 100 mg/kg, wobei ein Anthocyanmuster von Cyanidin-3-galaktosid (39,1%), Cyanidin-3-glucosid

(27,0%), Cyanidin-3-arabinosid (23,3%), Cyanidin-3-xylosid (10,5%) bestimmt wurde (MAZZA und VEGLIOGLU 1992).

Die wichtigsten monomeren Flavan-3-ole sind das (-)-Epicatechin und das (+)-Catechin, wobei die Gehalte an (-)-Epicatechin deutlich höher sind (RISCH und HERRMANN 1988). Die Polymere der Catechine, die Procyanidine, sind im Apfel in beträchtlichen Mengen enthalten. Sie machen nach neueren Erkenntnissen 40 – 60% des Gesamtphenolgehaltes des Apfels aus (MAYR et al. 1996, GUYOT et al. 1998). Als wichtigstes Procyanidin wird das dimere Procyanidin B2, das aus zwei 4 – 8 verknüpften (-)-Epicatechineinheiten besteht, genannt.

Tabelle 1: Bisher identifizierte Polyphenole in der frischen Apfelfrucht sowie die Gehalte als Durchschnitt und Schwankungsbreite (RISCH und HERRMANN 1988¹ (n = 16), WALD und GALENSA 1989² (n = 16), ³LEA und TIMBERLAKE 1974, ⁴MAYR et al. 1996, ⁵LAZARUS et al. 1999, ⁶WILSKA-JESZKA und PODSÉDEK 1996 (n = 8), ⁷GUYOT et al. 1998 (n = 1), ⁸LANCASTER 1992, ⁹LISTER et al. 1993 (n = 1), ¹⁰MAYR und TREUTTER 1996 (n = 9))

Nachgewiesene Polyphenole	Gehalte in mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate	
Chlorogensäure (5-Caffeoyl-L-(-)-chinasäure)	62 – 385 (Mittelwert 139) ¹
Kryptochlorogensäure (4-Caffeoyl-L-(-)-chinasäure)	0 – 12 (Mittelwert 2) ¹
4-Coumaroyl-L-(-)-chinasäure)	Spuren – 32 (Mittelwert 14) ¹
5-Coumaroyl-L-(-)-chinasäure	Spuren – 9 (Mittelwert 2) ¹
Caffeoylglucose	0 – 6 (Mittelwert 1) ¹
Coumaroylglucose	1 – 19 (Mittelwert 4) ¹
Feruloylglucose	0 – 9 (Mittelwert 3) ¹
Flavonole	
Quercetin-3-galaktosid (Hyperosid)	5 – 39 ²
Quercetin-3-glucosid (Isoquercitrin)	3 – 16 ²
Quercetin-3-rutinosid (Rutin)	1 – 10 ²
Quercetin-3-arabinosid (Avicularin)	8 – 25 ²
Quercetin-3-rhamnosid (Quercitrin)	3 – 19 ²
Quercetin-3-xylosid	4 – 10 ²
Dihydrochalkone	
Phloridzin (Phloretin-2'-glucosid)	10 – 158 ²
Phloretin-2'-xylosylglucosid	11 – 230 ²
Flavan-3-ole	
(+)-Catechine	Spuren – 27 (Mittelwert 9) ¹
(-)-Epicatechin	2 – 129 (Mittelwert 46) ¹
Procyanidine	
B1	0,07 – 0,42 mg/Apfel ¹⁰
B2	0,67 – 2,50 mg/Apfel ¹⁰
B5	0,06 – 0,22 mg/Apfel ¹⁰
C1	0,33 – 1,29 mg/Apfel ¹⁰
diverse Polymere ^{3,4,5}	n.b.
Σ Procyanidine^{6,7}	1420 - 3240
Anthocyane⁸	
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-glykoside⁹	1 mg/g Apfelschale

n.b. = nicht bestimmt

Über die Gehalte einzelner Substanzen ist aufgrund der schwierigen Analytik dieser Gruppe der Polyphenole wenig bekannt. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die oben

genannten und quantifizierten Procyanidine B1, B2, B3, B5, C1 längst nicht alle im Apfel vorkommenden Procyanidine sind (LEA 1984, PÉREZ-ILZARBE et al. 1992, GUYOT et al. 1998, LAZARUS et al. 1999). Die wichtigsten Dihydrochalkone, die für den Genus *Malus* charakteristisch sind, stellen das Phloridzin (Phloretin-2'-glucosid) und das Phloretin-2'-xyloglucosid dar (OLESZEK et al. 1998). Die Verteilung der einzelnen Klassen an Polyphenolen in der Frucht ist sehr inhomogen und verändert sich während der Reifung (RISCH UND HERRMANN 1988, BURDA et al. 1990, PÉREZ-ILZARBE et al. 1991, MAYR et al. 1996, GUYOT et al. 1998). So finden sich die Hydroxyzimtsäurederivate hauptsächlich im Fruchtfleisch, die Flavonole und Anthocyane in der Schale, die Dihydrochalkone in den Kernen und die monomeren Flavan-3-ole und die Procyanidine in Fruchtfleisch und Schale. Dabei sind die Konzentrationen an Polyphenolen in Schale und Kernen erheblich höher als im Fruchtfleisch.

Eine Kaltlagerung der Äpfel über 6 Monate verändert den Polyphenolgehalt der Äpfel nicht (BURDA et al. 1990).

Apfelsaft

Das Polyphenolmuster und die Polyphenolgehalte von Apfelsaft unterscheiden sich von denen des Apfels. Schlecht wasserlösliche Polyphenole, wie Quercetin-3-glykoside, Phloridzin und höher polymere Procyanidine gehen unvollständig in den Saft über und verbleiben im Trester, was Muster und Gehalt der Polyphenole im Saft gegenüber der Frucht verändert. In Tabelle 2 sind die Schwankungsbreiten der Gehalte der wichtigsten Polyphenole mittels HPLC im Apfelsaft aus einigen Veröffentlichungen der letzten Jahre aufgeführt.

Durch eine Extraktion mit warmem Wasser kann der Gehalt dieser schlecht wasserlöslichen Polyphenole erhöht werden (SPANOS et al. 1990). Zudem entstehen durch enzymatische Aktivitäten im Saft die unveresterten Hydroxyzimtsäuren Kaffeesäure, p-Coumarsäure und Ferulasäure (Esterase-Aktivität fruchteigener oder zugesetzter Enzyme) und das 3-Hydroxyphloridzin (Polyphenoloxidase-Aktivität fruchteigener Enzyme) und lassen sich im Saft nachweisen (SPANOS et al. 1990, BURDA et al. 1990, RITTER 1994). In Abhängigkeit von Rohware und Herstellungsverfahren kann Apfelsaft verschieden große Mengen an Polyphenolen enthalten (LEA und TIMBERLAKE 1978, LEE und WROLSTAD 1988, SPANOS et al. 1990, SCHOLS et al. 1991, RITTER 1994, PICINELLI et al. 1997). Die starke Abhängigkeit der Gehalte der einzelnen Polyphenole von Rohware und Herstellungsprozess zeigt sich deutlich anhand der in Tabelle 2 aufgeführten großen Schwankungsbreiten. Der Vergleich der Schwankungsbreiten für die Gehalte einzelner Polyphenole der verschiedenen Autoren miteinander zeigt teilweise erhebliche Unterschiede. Vermutlich spielen Unterschiede in den verwendeten HPLC-Methoden zur Polyphenolanalytik neben Rohware und Herstellungsprozess eine nicht unbedeutende Rolle bei diesen Differenzen. Dazu muss angemerkt werden, dass 8 der in Tabelle 2 aufgeführten 20 Polyphenole kommerziell als Standardsubstanzen nicht erhältlich sind. Die Unterschiede in Polyphenolmuster und -gehalten von Apfelsäften haben ihre Ursache auch in der inhomogenen Verteilung der einzelnen Polyphenole im Apfel. Die Art des Mahlens und das Entsaftungsverfahren begünstigen den Eintrag der einzelnen Polyphenole in den Presssaft auf verschiedene Weise. SCHOLS et al. 1991 fanden bei der Entsaftung von unbehandelter Maische, kalt enzymierter Maische (20°C, 1 Stunde) und warm enzymierter, verflüssigter Maische (45°C, 4 Stunden) erhebliche Unterschiede in der Ausbeute an Polyphenolen im Saft. Die höchste Ausbeute wies der Saft der warm enzymierten Maische auf, die geringste Ausbeute der kalt enzymierte Saft, während der Saft der unbehandelten Maische etwa in der Mitte lag. Im Polyphenolmuster zeigten sich Unterschiede beim Saft aus warm enzymierter Maische, wobei insbesondere die Gehalte an Phloridzin, Epicatechin und Catechin, das in den beiden anderen Säften nicht nachweisbar war, stark erhöht waren. Ähnliche Ergebnisse fanden mit älteren Analysetechniken LEA und TIMBERLAKE 1978 für den Gehalt und das Muster der Polyphenole von Saft aus kalt und warm enzymierter Maische. Allerdings stellten

die Autoren auch einen Anstieg der Bitterkeit und Adstringenz in der Sensorik des Saftes aus der warm enzymierten Maische fest.

Tabelle 2: Schwankungsbreite der Gehalte der wichtigsten Polyphenole mittels HPLC in Apfelsaft verschiedener Sorten und Herstellungsverfahren

Substanz	SPANOS et al. 1990 (n = 30)	SUÁREZ-VALLÉS et al. 1994 (n = 3)	RITTER et al. 1996 (n = 38)	PICINELLI et al. 1997 (n = 9)
Chorogensäure	2,3 – 113,7	n.b.	11,2 – 177,6	10,8 – 557,4
Neochlorogensäure	n.b.	n.b.	Spuren – 1,3	n.b.
Kryptochlorogensäure	n.n. – 14,5	n.b.	2,3 – 12,9	n.b.
4-Coumaroylchinasäure	n.n – 34,0	n.b.	3,3 – 49,1	1,1 – 76,1
Kaffeesäure	0,7 – 9,6	n.b.	Spuren – 13,9	n.b.
p-Coumarsäure	0,3 – 6,2	n.b.	Spuren – 2,1	n.b.
Ferulasäure	n.b.	n.b.	Spuren – 1,6	n.b.
Σ Hydroxyzimtsäureder.	6,9 – 191,8	n.b.	26,9 – 224,1	n.b.
(+)-Catechin	n.n. – 16,9	36,0 – 69,5	1,1 – 11	n.n. – 17,0
(-)-Epicatechin	n.n. – 34,0	159,7 – 225,6	2,9 – 30,3	n.n. – 171,5
Procyanidin B2	n.n. – 3,1	90,0 – 138,7	3,4 – 58,5	n.n. – 147,5
Procyanidin B1	n.n – 12,7	10,8 – 27,5	n.b.	n.n. – 39,6
Procyanidin B5	n.b.	n.b.	n.b.	n.n. – 27,8
Procyanidin C1	n.b.	66,5 – 119,8	n.b.	n.n. – 124,9
Σ Flavan-3-ole	n.n. – 114,6	n.b.	n.b.	n.n. – 556,5
Phloridzin	1,3 – 56,0	82,8 – 196,1	2,0 – 45,1	3,4 – 31,7
Phloretin-2'-xyloglucosid	n.n. – 18,6	14,2 – 38,0	0,3 – 8,6	n.n. – 95,3
Σ Dihydrochalkone	1,3 – 74,6	n.b.	n.b.	n.b.
Quercetin-3-galaktosid	1,0 – 14,4	n.b.	n.b.	n.b.
Quercetin-3-rutinosid	n.b.	7,0, - 12,5	n.b.	n.b.
Quercetin-3-glucosid	n.n. – 9,1		0,3 – 8,6	n.b.
Quercetin-3-arabinosid	n.n. – 16,0	Spuren	n.b.	n.b.
Quercetin-3-rhamnosid	n.n. – 13,8	5,8 – 33,6	n.b.	n.n. – 1,8
Σ Flavonole	3,6 - -51,8	n.b.	n.b.	n.b.
Σ Polyphenole HPLC	12,5 – 332,8	n.b.	48,4 – 318,0	n.b.

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

Eine Diffusionsextraktion von Apfelsaft unter Zusatz von warmem Wasser erhöht ebenfalls deutlich den Polyphenolgehalt und verändert das Polyphenolmuster, wobei insbesondere die Gehalte der in kaltem Wasser schlecht löslichen Quercetin-3-glykoside und des Phloridzins ansteigen (SPANOS et al. 1990). Eine Enzymierung der Maische führt allerdings auch zu einer deutlichen Erhöhung der Saftausbeute (LEA und TIMBERLAKE 1978, SCHOLS et al. 1991). Eine direkte Pasteurisation des frischen Presssaftes unterbindet eine weitere enzymatische Oxidation der Polyphenole im Saft durch Inaktivierung fruchteigener Enzyme, da diese Oxidation bei langen Zeiträumen zwischen Entsaftung und Pasteurisation des Saftes im Verlauf des Herstellungsprozesses zu deutlichen Verlusten an Polyphenolen führen kann (SPANOS et al. 1990). Diese Behandlung führte auch zu einer deutlichen Zunahme des Gesamtphenolgehaltes und des Gehaltes an monomeren Polyphenolen gegenüber dem frischen Presssaft, was die Autoren allerdings hauptsächlich auf die fortschreitende Oxidation des Presssaftes nach der Probennahme zurückführen.

Zur Klärung von trübem Apfelsaft und Herstellung eines stabilen klaren Apfelsaftes existieren klassische und neue Verfahren. Die Saftenzymierung mit pektolytischen Enzymen gefolgt von einer Filtration zur Klärung des Saftes, d.h. Entfernung des Trubes aus dem Saft, führt zu einer Abnahme von Gesamtphenolgehalt und den Gehalten an monomeren Polyphenolen im Apfelsaft (SPANOS et al. 1990). Einige dieser Verfahren entfernen relativ selektiv bestimmte Polyphenole oder eine bestimmte Klasse an Polyphenolen aus dem Saft. Die

Schönung mit Gelatine/Kieselöl entfernt beispielsweise hauptsächlich die polymeren Polyphenole, wie die Procyanidine (LEA und TIMBERLAKE 1978, HEATHERBELL 1984), während die Gehalte an monomeren Polyphenolen kaum verändert werden, was erst bei der zusätzlichen Verwendung von Bentonit (Gelatine/Kieselöl/Bentonit-Schönung) in geringem Maß der Fall ist (SPANOS et al. 1990, RITTER 1994). RITTER 1994 beziffert die Reduktion des Gesamtphenolgehaltes von Apfelsaft durch eine Gelatine/Kieselöl/Bentonit-Schönung mit 17%, wobei die Gehalte der Hauptpolyphenole des Apfelsaftes außer Procyanidin B2 ähnlich stark bzw. geringer abnehmen. Andere Behandlungsmaßnahmen von Apfelsaft führen sowohl im Gesamtphenolgehalt wie auch im Gehalt an monomeren Polyphenolen zu deutlich höheren Verlusten. Die Behandlung mit PVPP reduziert den Gesamtphenolgehalt von Apfelsaft um 50% und die Gehalte an monomeren Polyphenolen mit 15 – 57% unterschiedlich stark (RITTER 1994). Die Behandlung von trübem Apfelsaft mit Laccase/O₂ und folgender Ultrafiltration entfernt einen großen Teil der Polyphenole mit o- und p-Diphenolstruktur, was zu einer Reduktion des Gesamtphenolgehaltes von 80% führt (RITTER 1994). Einen ähnlich hohen Verlust an Polyphenolen verursacht die Behandlung von klarem Apfelsaft mit Adsorberharz (RITTER 1994).

Die Lagerung des Saftes hat ebenso einen Einfluss auf Polyphenolmuster und -gehalte. Eine neunmonatige Lagerung von Apfelsaftkonzentrat bei 25°C vermindert die Hydroxymethylsäurederivate um ca. 36%, die Flavonole und Dihydrochalkone um ca. 60% und führte bei den Procyanidinen zu einem vollständigen Verlust (SPANOS et al. 1990). Im Hinblick auf das übliche Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) von Fruchtsaft von 12 – 24 Monaten kann geschlossen werden, dass der Saft von der Herstellung bis zum Ende des MHD deutlichen Veränderungen im Bereich der Polyphenole unterliegt.

Bei der Untersuchung der Bräunung von Apfelsaftkonzentrat während der Lagerung ergab sich bei Konzentraten aus drei verschiedenen Apfelsorten eine Kinetik 1. Ordnung mit Aktivierungsenergien zwischen 100,3 und 105,0 kJmol⁻¹ für die Entstehung von HMF als Indikatorsubstanz für die nichtenzymatische Bräunung. K₀ lag zwischen 2,81x10¹⁵ und 2,95 10¹⁶ Tage⁻¹. Die Bräunung selbst, bestimmt durch die Extinktion bei 440 nm, passt eher zu einer Kinetik 0. Ordnung der Formel C = kt, was bedeutet, dass der Anstieg der Bräunung mit der Zeit linear verläuft. Die Kinetik-Konstante k in Tage⁻¹ stieg für die Konzentrate aus den drei Sorten mit steigender Temperatur von 1,66x10⁴, 1,90x10⁴ und 3,94x10⁴ bei 4°C über 18,41x10⁴, 26,87x10⁴ und 31,97x10⁴ bei 20°C und 55,46x10⁴, 92,95x10⁴ und 135,42x10⁴ bei 37°C. Praktisch bedeutet dies, dass im Falle der ersten aufgeführten Konstante bei einer Lagertemperatur von 4°C an einem Tage die Extinktion bei 440nm um 1,66x10⁻⁴ Extinktionseinheiten zunimmt.

2.1.5. Polyphenole in schwarzen Johannisbeeren und im schwarzen Johannisbeersaft

Schwarze Johannisbeeren

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der schwarzen Johannisbeere (*Ribes nigrum* L.) und deren Gehalte in der frischen Frucht ist im Vergleich zum Apfel relativ wenig bekannt. Sie wird vor allem wegen ihres hohen Gehaltes an L-Ascorbinsäure geschätzt und zeichnet sich durch vergleichsweise hohe Gehalte an Polyphenolen und Anthocyanen aus. Genaue Angaben zum Gesamtphenolgehalt von frischen schwarzen Johannisbeeren wurden nicht gefunden. Sechs Klassen an pflanzlichen Phenolen wurden bisher in schwarzen Johannisbeeren identifiziert (HERRMANN 1997a): Anthocyane, Hydroxymethylsäurederivate, Hydroxybenzoesäurederivate, monomere Flavan-3-ole, Procyanidine, Flavonolderivate. Die meisten Daten sind über die Anthocyane der schwarzen Johannisbeere verfügbar. Reife Beeren enthalten etwa 2500 mg/kg Anthocyane und die Beerenhaut besteht zu mind. 2,5% des Frischgewichtes aus diesen Farbstoffen (KOEPPEN und HERRMANN 1977). IVERSEN 1999 gibt für schwarze Johannisbeeren der Sorte „Ben Lomond“ einen durchschnittlichen Gesamtanthocyanengehalt von 4100 mg/kg an, EDER 1996b nennt Gehalte zwischen 1,5 – 3,9 g/kg Frischgewicht und CLIFFORD 2000 gibt eine Spannweite von 1300 – 4000 mg/kg an. In

Tabelle 3 sind die bisher identifizierten Anthocyane und ihre prozentualen Anteile am Gesamtanthocyangehalt der frischen schwarzen Johannisbeere aufgeführt. Die in geringeren Mengen vorkommenden Anthocyane Pelargonidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-sophorosid und Delphinidin-3-sophorosid wurden bisher nur von LE LOUS et al. 1975 beschrieben.

Tabelle 3: Anthocyane der schwarzen Johannisbeere und ihr prozentualer Anteil am Gesamtanthocyangehalt (LE LOUS et al. 1975)

Anthocyan	Prozentualer Anteil am Gesamtanthocyangehalt
Delphinidin-3-glucosid	13
Delphinidin-3-rutinosid	30
Cyanidin-3-glucosid	17
Cyanidin-3-rutinosid	35
Pelargonidin-3-rutinosid	3
Delphinidin-3-sophorosid	1
Cyanidin-3-sophorosid	1

Die bisher identifizierten farblosen Polyphenole und ihre Gehalte in der frischen Frucht sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Farblose Polyphenole und ihre Gehalte in frischen schwarzen Johannisbeeren fünf verschiedener Sorten (¹SCHUSTER und HERRMANN 1985, ²STÖHR und HERRMANN 1975a (n = 5), ³KOEPPEN und HERRMANN 1977)

Nachgewiesene Polyphenole	mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate¹	
Neochlorogensäure	38 – 48
Kryptochlorogensäure	3 – 5
Chlorogensäure	1 – 2
3-p-Coumaroylchinasäure	13 – 21
4-Feruloylchinasäure	2 – 3
5-Feruloylchinasäure	1 – 2
Caffeoylglucose	19 – 30
p-Coumaroylglucose	10 – 14
Feruloylglucose	11 – 15
Kaffeesäure-4-glucosid	2
p-Coumarsäureglucosid	4 – 10
Ferulasäureglucosid	2 – 4
Hydroxybenzoessäurederivate¹	
4-Hydroxybenzoessäureglucosid	4 – 13
Galloylglucose	4 – 7
Flavan-3-ole²	
(+)-Catechin	~5
(-)-Epicatechin	~5
(+)-Gallocatechin	~5
(-)-Epigallocatechin	~5
Flavonole³	
Myrecetin-3-glucosid	n.b.
Myrecetin-3-rutinosid	n.b.
Quercetin-3-glucosid	n.b.
Quercetin-3-rutinosid	n.b.
Kaempferol-3-glucosid	n.b.
Kaempferol-3-rutinosid	n.b.

n.b. = nicht bestimmt

Bei den farblosen Polyphenolen weisen die Hydroxyzimtsäurederivate, Ester mit Chinasäure und Glucose sowie Glucoside, die höchsten Gehalte auf. Die Gehalte an Hydroxybenzoesäurederivaten und Flavan-3-olen sind vergleichsweise gering. Über die Gehalte an Flavonolderivaten, Glykoside des Myricetins, Quercetins und Kaempferols, werden keine detaillierten Angaben gemacht, allerdings ein Gesamtflavonolgehalt von 9 mg/kg angegeben (WILDANGER und HERRMANN 1973). Über die Gehalte an Procyanidinen ist bisher kaum etwas bekannt. WILSKA-JESZKA und PODSÉDEK 1996 geben für fünf untersuchte Sorten Gesamtgehalte an Procyanidinen von 372 – 619 mg/kg Frischgewicht an.

Schwarzer Johannisbeersaft

Über die Gehalte der aufgeführten Polyphenole im schwarzen Johannisbeersaft gibt es ebenfalls wenig Informationen. Eine ältere Arbeit von MORTON 1968 nennt einen Gesamtanthocyangehalt von 1450 mg/L Saft. DIETRICH et al. 1994 untersuchten in einem seit 1990 laufenden Sortenscreening die Eignung von mehr als 25 schwarze Johannisbeersorten zur Saft- bzw. Nektarherstellung. Hierbei wurden signifikante Unterschiede u. a. in der Sensorik, der Farbintensität, in den Gehalten an Säure, L-Ascorbinsäure und Polyphenolen festgestellt. Der mittels HPLC ermittelte Anthocyangehalt der Säfte (ohne Nachextraktion) lag im Bereich von 333 – 1952 mg/L (Mittel 842 mg/L) und schwankte somit um mehr als den Faktor 5. In Übereinstimmung mit der Literatur wurden in allen Sorten im wesentlichen nur 4 Anthocyane gefunden: Delphinidin-3-rutinosid (43 - 53%), Cyanidin-3-rutinosid (30 - 40%), Delphinidin-3-glucosid (10 - 15%) und Cyanidin-3-glucosid (3 - 6%). Die Enzymierung von schwarzer Johannisbeermasse mit pektolytischen Enzymen führt neben der Erhöhung der Saftausbeute auch zu einer Erhöhung der Farbe im Saft (DONGOWSKI und BOCK 1987), woraus eine höhere Ausbeute an Anthocyanen und anderen Polyphenolen geschlossen werden kann. IVERSEN 1999 untersuchte die Veränderung des Anthocyangehaltes bei der Herstellung eines schwarzen Johannisbeernektars von den Beeren über Maische und Rohsaft zum Nektar. Eine Maischestandzeit von 2 Stunden bei 50°C mit pektolytischen Enzymen führte zu einem Verlust an Anthocyanen von 3%. Nach dem Entsaftungsvorgang verblieben 21% der Anthocyane im Trester. Eine Standzeit des Presssaftes von einer Stunde bei ca. 35°C verursachte erheblich höhere Verluste an Anthocyanen als die Maischestandzeit. Nach Nektarabmischung und Pasteurisation betrug der Verlust gegenüber dem frischen Rohsaft 9%.

Die Stabilität der Anthocyane im schwarzen Johannisbeersaft, –nektar, -konzentrat oder –sirup, besonders in Wechselwirkung mit der L-Ascorbinsäure, wurde mehrfach untersucht (MORTON 1968, SKREDE et al. 1992, EDER 1996a, IVERSEN 1999). Danach stabilisieren die Anthocyane der schwarzen Johannisbeere die L-Ascorbinsäure im Produkt, was aber andererseits zu einem stärkeren Verlust des Gehaltes an monomeren Anthocyanen führt. Nach einer Lagerzeit eines schwarzen Johannisbeernektars von 6 Monaten bei 20°C im Dunkeln betrug der Verlust an monomeren Anthocyanen mehr als 50%, wobei in der Abnahme der einzelnen Anthocyane keine signifikanten Unterschiede auftraten (IVERSEN 1999). Bei einem üblichen Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) für Fruchtsäfte und –nektare von 12 – 24 Monaten bedeutet dies eine erhebliche Abnahme an monomeren Anthocyanen im Zeitraum von Herstellung über die Standzeiten vor und nach dem Verkauf bis zum Konsum bzw. Ablauf des MHD. Die Reaktionskinetik der Abnahme der Anthocyane wurde annähernd mit einer Reaktion 1. Ordnung beschrieben (EDER 1996a). Das Arrhenius-Diagramm des Abbaus der einzelnen Anthocyane ist in Abbildung 9 dargestellt.

Die Aktivierungsenergien betragen für Delphinidin-3-rutinosid 53,97 kJmol⁻¹, für Delphinidin-3-glucosid 52,54 kJmol⁻¹, für Cyanidin-3-rutinosid 55,40 kJmol⁻¹, für Cyanidin-3-glucosid 53,58 kJmol⁻¹ und für Pelargonidin-3-rutinosid von 91,07 kJmol⁻¹. Aufgrund der hohen Aktivierungsenergie ist das Pelargonidin-3-rutinosid bei niedrigen Temperaturen deutlich stabiler als die anderen Anthocyane des schwarzen Johannisbeersaftes, was sich allerdings mit steigender Temperatur zunehmend ändert, so dass die Stabilität der Anthocyane bei

30°C etwa gleich ist. Nach EDER 1996a bestehen demnach kaum Unterschiede in der Stabilität der vier Hauptanthocyane des schwarzen Johannisbeersaftes.

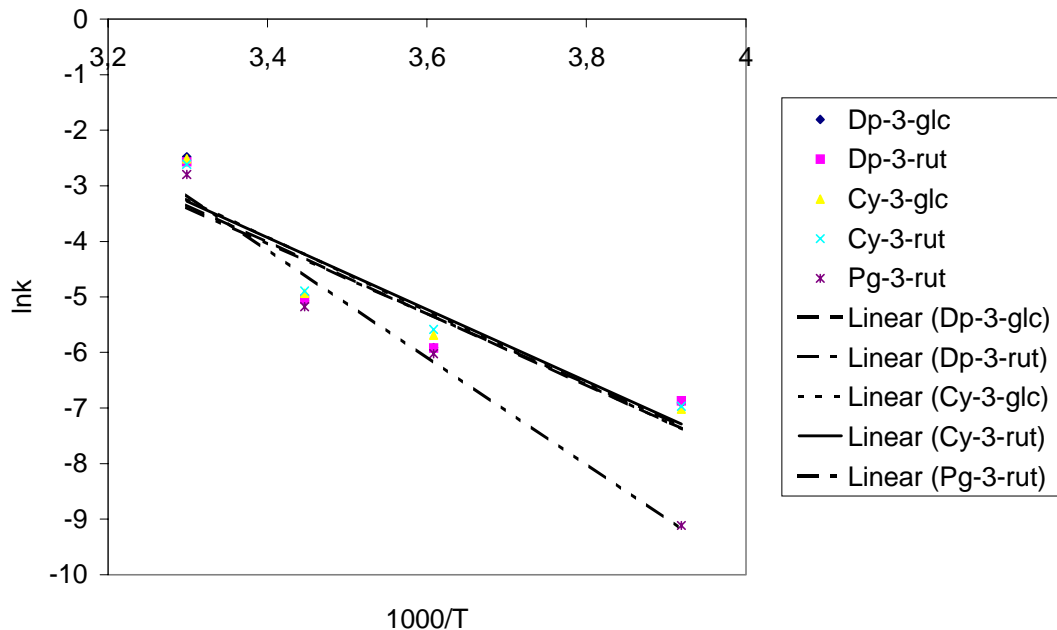


Abbildung 9: Arrhenius-Diagramm der Anthocyane in schwarzem Johannisbeersaft (EDER 1996a)

TAYLOR 1989 hingegen fand bei der Lagerung vakuumverpackter, pasteurisierter Säfte bei 20°C Unterschiede in der Stabilität der einzelnen Anthocyane. Delphinidin-3-rutinosid und Cyanidin-3-rutinosid waren danach erheblich stabiler als die entsprechenden Glucoside, wobei Delphinidin-3-rutinosid das stabilste Anthocyan darstellte. IVERSEN 1999 konnte zudem zeigen, dass Licht ebenfalls einen Einfluss auf die Kinetik-Konstante beim Abbau der Anthocyane in schwarzem Johannisbeernektar hat. Für eine Lagertemperatur von 20°C ergab sich bei Lagerung im Dunkeln eine Kinetik-Konstante von $k = 3,2 \times 10^3 \text{ Tage}^{-1}$ und bei Lagerung im Licht von $k = 4,2 \times 10^3 \text{ Tage}^{-1}$, was bedeutet, dass Licht den Abbau der Anthocyane beschleunigt. Die Kinetik-Konstanten des L-Ascorbinsäureabbaus unter den selben Lagerungsbedingungen betragen $1,0 \times 10^3$ (Licht) bzw. $1,1 \times 10^3$ (Dunkel), also nur etwa ein Viertel der Werte für die Anthocyane, und zeigten keine signifikante Veränderung durch den Lichteinfluss.

2.1.6. Polyphenole in Brombeeren, Holunderbeeren, Erdbeeren, Stachelbeeren, Moosbeeren und Sauerkirschen

Brombeere

Frucht

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Brombeere (*Rubus spp.*) und deren Gehalte in der frischen Frucht gibt es wenig Informationen. Es gibt weltweit viele verschiedene Brombeersorten, die sich in ihren Gehalten an phenolischen Inhaltsstoffen teilweise erheblich unterscheiden können. Sechs Klassen an pflanzlichen Polyphenolen wurden bisher in Brombeeren identifiziert (HERRMANN 1996a): Anthocyane, Hydroxyzimtsäurederivate, Hydroxybenzoesäurederivate, monomere Flavan-3-ole, Procyanidine, Flavonolderivate. In Tabelle 5 sind die bisher identifizierten Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in frischen Brombeeren aufgeführt. Über das Vorkommen und die Identität der Anthocyane herrscht keine völlige Klarheit. Sicher identifiziert sind bisher Cyanidin-3-

glucosid als Hauptanthocyan sowie Cyanidin-3-rutinosid in kleineren Mengen. Es wurden zwar in verschiedenen Sorten noch andere Anthocyane nachgewiesen, konnten aber nicht eindeutig charakterisiert werden (TORRE und BARRIT 1977, SAPERS et al. 1986). Sicher ist bisher nur, dass es sich um Cyanidinderivate handelt. Es werden auch acylierte Cyanidinglykoside vermutet (SAPERS et al. 1986).

Tabelle 5: Bisher identifizierte Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in frischen Brombeeren (¹SCHUSTER und HERRMANN 1985 (n = 3), MOSEL und HERRMANN 1974 (n = 6), ³THOMPSON et al. 1972, ⁴HENNING 1981 (n = 5), ⁵TORRE und BARRIT 1977 (n = 19), ⁶SAPERS et al. 1986, ⁷WILSKA-JESZKA und PODSÉDEK 1996 (n = 1))

Nachgewiesene Polyphenole	mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate¹	
Neochlorogensäure	41 – 52
Chlorogensäure	Spuren – 3
3-p-Coumaroylchinasäure	2 – 5
3-Feruloylchinasäure	2 – 4
Caffeoylglucose	3 – 6
p-Coumaroylglucose	4 – 11
Feruloylglucose	2 – 6
p-Coumarsäureglucosid	2 – 5
Hydroxybenzoesäurederivate¹	
p-Hydroxybenzoesäureglucosid	4 – 21
Protocatechusäureglucosid	2 – 6
Gallussäureglucosid	0 – 2
Galloylglucose	2 – 3
Flavan-3-ole²	
(+)-Catechin	65 – 150 (Mittelwert 111)
(-)-Epicatechin	8 – 38 (Mittelwert 19)
Procyanidine³	
B4, B5, B8	n.b.
Σ Procyanidine⁷	527
Flavonole⁴	
Quercetin-3-glucuronid	22 – 96 (Mittelwert 62)
Quercetin-3-glucosid	36 – 55 (Mittelwert 47)
Quercetin-3-galaktosid	22 – 80 (Mittelwert 42)
Quercetin-3-xyloglucuronid	18 – 30 (Mittelwert 23)
Quercetin-3-rutinosid	12 – 25 (Mittelwert 21)
Kaempferol-3-glucuronid	6 – 19 (Mittelwert 12)
Kaempferol-3-galaktosid	12 – 40 (Mittelwert 22)
Kaempferol-3-xyloglucuronid	14 – 90 (Mittelwert 41)
Anthocyane^{5,6}	
Cyanidin-3-glucosid ^{5,6}	756 – 2216 (Hauptsächlich 1300 – 1700) ⁵
Cyanidin-3-rutinosid ^{5,6}	n.b.
acylierte Cyanidin-3-glykoside ⁶	n.b.

n.b. = nicht bestimmt

Saft

Über die Gehalte an phenolischen Inhaltsstoffen in Brombeersaft existieren nur wenige Informationen. ROMMEL et al. 1992 nennt für einen Saft aus der Sorte „Evergreen“ eine prozentuale Verteilung der Anthocyane von 67% Cyanidin-3-glucosid, 7,7% Cyanidin-3-rutinosid, 7,9% Cyanidinderivat, 7,8% eines acylierten Cyanidinderivates, 6,7% eines weiteren acylierten Cyanidinderivates, 1% eines polymeren Anthocyan, 1% Cyanidin. Zu farblosen Polyphenolen werden keine Angaben gemacht. Untersuchungen zur Stabilität und

Veränderungen der Anthocyane in Saft und Wein während der Herstellung und Lagerung zeigten, dass vor allem das Cyanidin-3-glucosid sehr instabil ist (ROMMEL et al. 1992). Die Presssäfte nach einer Maischeenzymierung mit pektolytischen Enzymen bei ca. 50°C einerseits und nach einer KZE der Maische mit anschließender Maischeenzymierung mit pektolytischen Enzymen bei ca. 50°C andererseits wurden auf ihren Gesamtanthocyangehalt mittels HPLC untersucht. Es zeigte sich, dass der Presssaft aus der zuvor pasteurisierten Maische einen deutlich höheren Gesamtanthocyangehalt aufwies (638 mg/L gegenüber 396 mg/L). Die Ursache dafür liegt einerseits an der Enzyminaktivierung beispielsweise der Polyphenol-Oxidasen in der Maische und andererseits an der Thermoplasmolyse der Zellen (Aufplatzen) und der durch diesen Zellaufschluss verbesserten Extraktion der Polyphenole aus der Maische. Eine Schönung mit Gelatine / Bentonit verringerte den Gesamtanthocyangehalt der beiden Varianten um 14 bzw. 18%. Die anschließende Gärung reduzierte den Anthocyangehalt um über 80% und eine weitere Lagerung bei 20°C führte schließlich zu einem völligen Verlust an monomeren Anthocyanen. Der Wein der Prozesslinie Maische-KZE, Maischeenzymierung, Vergärung des ungeschönten Saftes besaß nach der Abfüllung den höchsten Gesamtanthocyangehalt. Der Wein aus der Prozesslinie Maischeenzymierung, Vergärung des geschönten Saftes hatte den niedrigsten Gesamtanthocyangehalt, während der Gesamtanthocyangehalt des Weines aus einer Maischegärung mit oder ohne Schönung etwas höher war. Der Anteil von Polymeren an der Farbe nimmt während der Vergärung mit 38 – 48% deutlich zu und steigt im Verlauf der Lagerung weiter an. Eine höhere Lagertemperatur (20°C gegenüber 2°C) führt zu stärkeren Verlusten an Anthocyanen und einem höheren Anteil von Polymeren an der Farbe der Weine.

Holunderbeere

Frucht

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der schwarzen Holunderbeere (*Sambucus nigra L.*) und deren Gehalte in der frischen Frucht gibt es wie bei den meisten Beerenfrüchten wenig Informationen. Bisher wurden vier Klassen an Polyphenolen beschrieben (HERRMANN 1996b, WILSKA-JESZKA und PODSÉDEK 1996): Hydroxyzimtsäurederivate, Flavonolderivate, Anthocyane und Procyanidine. Zu Flavan-3-olen oder anderen Polyphenolen in Holunderbeeren wurden keine Informationen gefunden. Die Anthocyane der schwarzen Holunderbeere sind am besten untersucht. EDER 1996c nennt für sieben Holunderbeerensorten bei zehn Proben Anthocyangehalte von 5707 – 10046 mg/kg Frischgewicht und CLIFFORD 2000 gibt eine Spannweite von 2000 – 10000 mg/kg an. Aufgrund dieser hohen Anthocyangehalte werden schwarze Holunderbeeren als Quelle für Farbstoffkonzentrate in der Lebensmittelindustrie verwendet (DRDAK und DAUCIK 1990, PHILIPP et al. 1996). Tabelle 6 zeigt die bisher identifizierten Anthocyane und ihre prozentuale Verteilung.

Tabelle 6: Anthocyanmuster von frischen Holunderbeeren und einem Farbstoffkonzentrat.

Anthocyan	FrISCHE Beeren nach BRONNUM- HANSEN und HANSEN 1983	FrISCHE Beeren nach DRDAK und DAUCIK 1990	Farbstoffkonzentrat nach DRDAK und DAUCIK 1990
Cyanidin-3-glucosid	65,7%	32,6%	19,1%
Cyanidin-3-sambubiosid	32,4%	55,2%	68,8%
Cyanidin-3-sambubiosyl- 5-glucosid	1,1%	10,2%	10,8%
Cyanidin-3,5-diglucosid	0,8%	2,0%	1,3%

Als farblose Polyphenole werden von HERRMANN 1996b Chlorogensäure und andere nicht genau beschriebene Hydroxyzimtsäurederivate sowie Quercetin-3-rutinosid und Quercetin-3-glucosid aufgeführt. Gehalte oder genauere Angaben wurden nicht gefunden. Der Gehalt an Procyanidinen wird von WILSKA-JESZKA und PODSÉDEK 1996 für eine untersuchte Sorte mit 1350 mg/kg Frischgewicht angegeben, kann aber wegen der geringen Probenzahl nur als Richtwert angesehen werden.

Saft

Über die Gehalte an phenolischen Inhaltsstoffen im Saft sind nur Daten zu den Anthocyanen vorhanden (EDER 1996c). Die Gesamtanthocyangehalte von zehn Säften betragen zwischen 1941 und 6576 mg/L. Es zeigten sich auch große Unterschiede in den sieben untersuchten Sorten. In Tabelle 7 sind die Schwankungsbreiten der prozentualen Anteile am Gesamtanthocyangehalt dargestellt.

Tabelle 7: Prozentuale Anteile der einzelnen Anthocyane in zehn Holundersäften (EDER 1996c)

Anthocyane	Anteil am Gesamtanthocyangehalt (n = 10)
Cyanidin-3-glucosid	26,1 – 54,2%
Cyanidin-3-sambubiosid	40,7 – 66,7%
Cyanidin-3-sambubiosyl-5-glucosid	3,2 – 7,7%
Cyanidin-3,5-diglucosid	0,5 – 1,3%

Bei Produktions- und Lagerungsstudien konnte gezeigt werden, dass die Cyanidinsambubioside stabiler sind als die Cyanidinglucoside (DRDAK und DAUCIK 1990, EDER 1996c). Zudem kommt es zu erheblichen Verlusten an Anthocyanen bei der Produktion und Lagerung eines Holundernektars (EDER 1996c). Der Anthocyanabbau während der Lagerung folgte, wie beim schwarzen Johannisbeersaft, einer Kinetik 1. Ordnung (EDER 1996c). Die Aktivierungsenergien der einzelnen Anthocyane lagen zwischen 50,84 kJmol⁻¹ und 55,14 kJmol⁻¹. Bezogen auf 100% Anthocyangehalt in den frischen Beeren ergaben sich bei den einzelnen Verarbeitungsschritten folgende Verluste:

- Abbeeren : - 4,7%
- Maischeerhitzung : - 8,9%
- Entsaftung (Hydropresse) : - 43,9%
- Schönung und Filtration (Gelatine / Kieselsol / Bentonit) : - 3,4%
- Konzentrierung (3 Varianten) : - 4,0%
- Lagerung der Halbkonzentrate (90 Tage bei 4°C) : - 10,8%
- Rückverdünnung und Pasteurisation : - 3,6%
- Lagerung des Nektars (55 Tage bei 4°C) : - 16,6%

Besonders hohe Verluste werden bei der Entsaftung verzeichnet, wobei fast die Hälfte der Anthocyane im Trester verbleiben. Mahlen, Maischeerhitzung und –enzymierung verursachen ebenfalls mit insgesamt ca. 14% erhebliche Verluste. Der Einfluss der Schönung ist mit einem Verlust von 3,4% gering. Die Lagerung hat den größten Einfluss auf die Anthocyane im Halbkonzentrat beziehungsweise im Nektar. Eine Lagerung bei 30°C hatte einen völligen Verlust der monomeren Anthocyane zur Folge. Zudem zeigte sich, dass es im Verlauf des Herstellungsprozesses zu Veränderung des Anthocyanmusters kommt. Die Anteile von Cyanidin-3-sambubiosid und den beiden Cyanidin-3,5-diglykoside nehmen zu und der Anteil an Cyanidin-3-glucosid dementsprechend ab.

Der Holundernektar wies am Ende der Prozesslinie (Lagerung des Nektars) nur noch 4,0% des in den frischen Beeren vorhandenen Gesamtanthocyangehaltes auf.

Erdbeeren

Frucht

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Erdbeere (*Fragaria x ananassa Duch.*) und ihre Gehalte in den frischen Beeren gibt es einige Informationen. Bisher wurden sechs Klassen an Polyphenolen nachgewiesen (HERRMANN 1996c): Hydroxyzimtsäurederivate, Hydroxybenzoesäurederivate, monomere Flavan-3-ole, Procyanidine, Flavonole, Anthocyane. In Tabelle 8 sind die bisher identifizierten Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in frischen Erdbeeren aufgeführt. Die Identität einiger nachgewiesener Anthocyane ist noch nicht eindeutig geklärt (MAZZA und MINIATI 1993).

Tabelle 8: Bisher identifizierte Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in frischen Erdbeeren (¹SCHUSTER und HERRMANN 1985 (n = 5), ²STÖHR und HERRMANN 1975b (n = 16), ³THOMPSON et al. 1972, ⁴HENNING 1981 (n = 20), ⁵FULEKI 1969, ⁶BAKKER et al. 1994 (nachgewiesen im Saft), ⁷MAAS et al. 1991 (n = 50), ⁸WILSKAJESZKA und PODSĚDEK 1996 (n = 1), ⁹WROLSTAD et al. 1990 (n = 1))

Nachgewiesene Polyphenole	mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate¹ p-Coumaroylglucose Caffeoylglucose Feruloylglucose p-Coumarsäureglucosid	14 – 27 Spuren – 2 Spuren – 2 Spuren
Hydroxybenzoesäurederivate¹ p-Hydroxybenzoesäureglucosid Galloylchinasäure Ellagsäure ⁷	6 1 43 – 464
Flavan-3-ole² (+)-Catechin (-)-Epicatechin (+)- Gallocatechin	30 –40 (in 16 von 16 untersuchten Sorten) Spuren – 12 (in 9 von 16 untersuchten Sorten) Spuren – 8 (in 4 von 16 untersuchten Sorten)
Proanthocyanidine³ B3 Σ Procyanidine⁸	n.b. 304
Flavonole⁴ Quercetin-3-galaktosid Quercetin-3-glucosid Quercetin-3-glucuronid Quercetin-3-xyloglucuronid Kaempferol-3-galaktosid Kaempferol-3-glucosid Kaempferol-3-glucuronid Kaempferol-3-xyloglucosid Kaempferol-3-xyloglucuronid	n.n. – 15 2 – 15 - 1 – 16 Spuren – 16 - 8 – 42 n.n. – 5 2 – 10
Anthocyane^{5,6} Pelargonidin-3-glucosid ^{5,6} Pelargonidin-3-rutinosid ⁶ Pelargonidin-3-glucosid-succinat ⁶ Cyanidin-3-glucosid ^{5,6} Cyanidin-3-glucosid-succinat ⁶ diverse Pelargonidinglykoside ^{5,7} Σ Anthocyane⁹	n.b. n.b. n.b. n.b. n.b. n.b. 300

n.b. = nicht bestimmt, n.n. = nicht nachweisbar

Die Gehalte an Anthocyanen in den frischen Früchten werden von CLIFFORD 2000 mit einer Spannweite von 150 – 350 mg/kg Frischgewicht angegeben, während HERRMANN 1996c mit einen Wert von um die 300 mg/kg Frischgewicht für eine Sorte nennt.

Saft

In Erdbeersäften aus 39 verschiedenen Sorten finden BAKKER et al. 1994 mittels einfacher photometrischer Bestimmung Gesamtphenolgehalte von 28,8 – 728 mg/L und Gesamtanthocyanengehalte von 20,7 – 333,0 mg/L, wobei das Anthocyanmuster der untersuchten Erdbeersäfte im Bereich der Anthocyane mit geringeren Gehalten stark variierte. Der Anteil des Pelargonidin-3-glucosids am Gesamtanthocyanengehalt schwankte zwischen 82,0 und 100%. Es wurden dreizehn verschiedene Anthocyane nachgewiesen, von denen allerdings nur fünf eindeutig identifiziert werden konnten (siehe auch Tabelle 8).

Stachelbeeren

Frucht

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Stachelbeere (*Ribes uva-crispa* L.) und ihrer Gehalte in den frischen Beeren gibt es sehr wenig Informationen. Die Stachelbeere wird nach ihrem Aussehen in grüne, gelbe und rote Sorten eingeteilt. Aufgrund ihrer nahen Verwandtschaft zu den Johannisbeeren ähneln die phenolischen Inhaltsstoffe denen der Johannisbeeren. Bisher wurden fünf Klassen an Polyphenolen in Stachelbeeren beschrieben (HERRMANN 1997b): Hydroxyzimtsäurederivate, Hydroxybenzoesäurederivate, monomere Flavan-3-ole, Flavonole und Anthocyane (nur in roten Sorten). In Tabelle 9 sind die bisher identifizierten Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte aufgeführt.

Tabelle 9: Bisher identifizierte Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in Stachelbeeren (¹SCHUSTER und HERRMANN 1985 (n = 2), ²STÖHR und HERRMANN 1975a (n = 6), ³WILDANGER und HERRMANN 1973, ⁴MAZZA und MINIATI 1993)

Nachgewiesene Polyphenole	mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate¹	
Neochlorogensäure	3 – 4
3-p-Coumaroylchinasäure	Spuren – 1
3-Feruloylchinasäure	1
Caffeoylglucose	5 – 13
p-Coumaroylglucose	7
Feruloylglucose	Spuren – 6
Kaffeesäure-4-glucosid	2
p-Coumaroylglucosid	4 – 6
Ferulasäureglucosid	2 – 4
Hydroxybenzoesäurederivate¹	
4-Hydroxybenzoesäureglucosid	9 – 14
Protocatechusäure-4-glucosid	2 – 7
Gallussäure-4-glucosid	2
Flavan-3-ole²	
(+)-Catechin	150 – 280
(-)-Epicatechin	30 – 80
Flavonole³	
Quercetin- und Kaempferolderivate	n.b.
Anthocyane⁴	
Cyanidin-3-glucosid	n.b.
Cyanidin-3-rutinosid	n.b.
Delphinidin-3-glucosid	n.b.

n.b. = nicht bestimmt

Die Gegenwart von Procyanidinen wird angenommen, ist allerdings nicht bewiesen. Daten über die Polyphenole und deren Gehalte in Stachelbeersaft oder –nektar konnten nicht gefunden werden.

Sauerkirschen

Frucht

Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Sauerkirsche (*Prunus cerasus L.*), einer Steinfrucht, und ihrer Gehalte in den frischen Kirschen gibt es ebenfalls wenig und teils verwirrende Informationen. Bisher wurden fünf Klassen an Polyphenolen nachgewiesen (HERRMANN 1996e): Hydroxyzimtsäurederivate, monomere Flavan-3-ole, Procyanidine, Flavonole, Anthocyane. In Tabelle 10 sind die bisher identifizierten Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in frischen Sauerkirschen aufgeführt.

Tabelle 10: Bisher identifizierte Polyphenole und die Schwankungsbreiten ihrer Gehalte in Sauerkirschen (¹RISCH UND HERRMANN 1988 (n = 6), ²THOMPSON et al. 1972, ³HENNIG 1980 (n = 3), ⁴HONG und WROLSTAD 1990 (n = 3))

Nachgewiesene Polyphenole	mg/kg Frischgewicht
Hydroxyzimtsäurederivate¹	
Chlorogensäure	5,0 – 14,0
Neochlorogensäure	8,6 – 53,6
3-p-Coumaroylchinasäure	4,0 – 22,6
Flavan-3-ole¹	
(+)-Catechin	0,8 – 1,5
(-)-Epicatechin	0,4 – 15,2
Proanthocyanidine²	
B1	n.b.
B2	n.b.
B5	n.b.
C1	n.b.
E	n.b.
Flavonole³	
Quercetin-3-rutinosid	0,9 – 1,8
Quercetin-3-glucosid	0,2 – 0,3
Quercetin-3-rutinosyl-4'-diglucosid	n.n. – 0,5
Kaempferol-3-rutinosid	1,2 – 1,9
Kaempferol-3-glucosid	0,1
Kaempferol-3- rutinosyl-4'-diglucosid	0,1 – 0,3
Anthocyane⁴	
Cyanidin-3-glucosid	n.b. (3 – 15%)
Cyanidin-3-glucosylrutinosid	n.b. (69 – 77%)
Cyanidin-3-sophorosid	n.b. (1 – 3%)
Cyanidin-3-rutinosid	n.b. (11 – 16%)

n.b. = nicht bestimmt

n.n. = nicht nachweisbar

Der Gesamtanthocyanengehalt von Süß- und Sauerkirschen wird von CLIFFORD 2000 mit einer Spannweite von 50 – 4500 mg/kg Frischgewicht angegeben.

Saft

CEMEROGLU et al. 1994 untersuchten die Abnahme der Anthocyane in Sauerkirschsaft und -konzentrat während der Lagerung bei verschiedenen Temperaturen und verschiedenen langen Lagerzeiten. Die Abnahme der Anthocyane zeigte sich als eine Reaktion annähernd 1. Ordnung, wie es auch für die Anthocyane in schwarzem Johannisbeerkonzentrat nachgewiesen wurde (siehe 2.1.5.). Unterschiede zwischen dem Saft (15°Brix) und den Konzentraten (45 und 71°Brix) bei gleichen Lagerbedingungen wurden festgestellt. Den größten Einfluss hatte allerdings die Temperatur. Die kinetischen Daten sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Kinetische Daten des Anthocyanabbaus bei der Lagerung von Sauerkirschsaft, -halbkonzentrat und -konzentrat

Extrakt in °Brix	Temperatur in °C	k (Kinetik-Konstante)	E _a (Aktivierungsenergie)	K ₀ (Frequenzfaktor)
15	50	3,99x10 ³ h ⁻¹	68,49 kJmol ⁻¹	3,37x10 ¹² h ⁻¹
	60	5,25x10 ³ h ⁻¹		
	70	12,29x10 ³ h ⁻¹		
	80	33,97x10 ³ h ⁻¹		
45	5	1,0x10 ³ d ⁻¹	65,17 kJmol ⁻¹	3,31x10 ¹³ d ⁻¹
	20	5,29x10 ³ d ⁻¹		
	37	18,44x10 ³ d ⁻¹		
	50	5,15x10 ³ h ⁻¹		
	60	10,99x10 ³ h ⁻¹	75,86 kJmol ⁻¹	2,88x10 ¹³ h ⁻¹
	70	24,31x10 ³ h ⁻¹		
	80	57,19x10 ³ h ⁻¹		
	71	0,82x10 ³ d ⁻¹		
20	6,55x10 ³ d ⁻¹			
37	23,89x10 ³ d ⁻¹			
50	7,50x10 ³ h ⁻¹	80,08 kJmol ⁻¹	8,29x10 ¹³ h ⁻¹	
60	18,75x10 ³ h ⁻¹			
70	40,47x10 ³ h ⁻¹			
80	97,14x10 ³ h ⁻¹			

Bei einer Temperatur von 80°C waren nach 8,1 Stunden die Hälfte der Anthocyane im Sauerkirschsaft, bestimmt mit einer photometrischen pH-shift-Methode, verschwunden, während dies bei einer Temperatur 50°C erst nach 70,54 Stunden der Fall war. Für die beiden Konzentrate war diese Halbwertszeit der Anthocyane mit steigendem Brixgrad bei den Temperaturen 80 und 50°C noch geringer (45°Brix: 4,4 bzw. 52,0 Stunden und 71°Brix: 2,8 bzw. 35,4 Stunden). Bei einer Lagerung des 71°Brix-Konzentrates bei 5°C war die Halbwertszeit der Anthocyane fast ein Jahr, was den starken Temperatureinfluss auf die Stabilität der Anthocyanen widerspiegelt.

Moosbeeren

Frucht

Die Moosbeere ist eine in nördlichen Breiten wildwachsende Beere, die zur botanischen Gattung *Vaccinium* (*V. oxycoccus* L.) gehört, zu der auch die Cranberry (*V. macrocarpon* Ait.), Hochbusch-Kulturheidelbeere (*V. corymbosum* L.), Waldheidelbeere (*V. myrtillus* L.), Preiselbeere (*V. vitis idaea* L.) und Moorbeere (*V. uliginosum* L.) gehören. Sie wird von manchen Autoren auch als wilde Cranberry angesehen (HÄKKINEN et al. 1999). Über die phenolischen Inhaltsstoffe der Moosbeere ist kaum etwas bekannt. Da sich die Polyphenolmuster der oben genannten anderen *Vaccinium*-Arten stark unterscheiden

(HERRMANN 1996d), besonders bei den Anthocyanen, können wenig Rückschlüsse auf die phenolischen Inhaltsstoffe gezogen werden.

HÄKKINEN et al. 1999 geben für *V. oxycoccus* L. (dort als Cranberry bezeichnet) einen Gehalt an Quercetin von 83 – 121 mg/kg und Myricetin von 74 – 142 mg/kg Beeren nach Hydrolyse (n = 2) an. Im Gegensatz zur Cranberry wurden zur Moosbeere ansonsten keine verlässlichen Angaben in der Literatur gefunden.

2.1.7. Polyphenole und Gesundheit

Aufnahme der Polyphenole mit der Nahrung

Einer Reihe von Polyphenolen werden physiologische und pharmakologische Auswirkungen auf den menschlichen und tierischen Organismus zugeschrieben. Bisher sind über 4000 Polyphenole bekannt. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme an Flavonoiden, hauptsächlich durch Obst- und Gemüseprodukte sowie Tee, wird in einer älteren Arbeit mit insgesamt 1 g/Tag als Glykoside bzw. 650 mg/Tag als Aglykone angegeben (KÜHNAU 1976). Neuere Studien hingegen beziffern die tägliche Aufnahme von Flavonoiden für die Niederlande mit durchschnittlich 23 mg/Tag Flavonole und Flavone als Aglykone (HERTOG et al. 1993) und für Dänemark mit 75 – 150 mg/Tag Flavonoide als Glykoside (DRAGSTED et al. 1996) an. Relativ wenig ist über die Veränderungen der Polyphenole im menschlichen Körper nach der oralen Aufnahme bekannt. Oral aufgenommene Polyphenole unterliegen katabolischen Veränderungen, die in den unteren Regionen des gastro-intestinal Traktes stattfinden.

Epidemiologische Studien

In diversen epidemiologischen Studien wurden negative Korrelationen zwischen dem Polyphenolkonsum und verschiedenen chronischen Krankheiten, wie Herz- und Kreislauferkrankungen und Krebs, festgestellt (NEGRI et al. 1991, BLOCK et al. 1992, HERTOG et al. 1993, GOLDBERG et al. 1995). Diese Studien waren der Auslöser für die anhaltende Diskussion über die gesundheitlichen Wirkungen von Polyphenolen.

Bisherige epidemiologische Studien konnten keinen sicheren Nachweis für die positiven Effekte der Polyphenole auf die menschliche Gesundheit liefern. Sie sind sehr wahrscheinlich, werden aber auch kontrovers diskutiert (MULDOON und KRITCHEVSKI 1996).

Gesundheitliche Wirkung der Polyphenole

In der wissenschaftlichen Literatur finden sich sehr widersprüchliche Aussagen zur gesundheitlichen Wirkung von Polyphenolen. Quercetin beispielsweise wird einerseits als Anticancerogen und Antioxidans in Säften und Weinen beschrieben (HERTOG 1998) und andererseits wird auf seine mutagenen (BJEDANES und CHANG 1977, MAC GREGOR 1984) und cancerogenen Eigenschaften (DUNNICK und HAILEY 1992) hingewiesen. Diese unterschiedlichen Bewertungen lassen sich auf die verschiedenen Testsysteme zurückführen, mit denen die Wirkungen der Polyphenole untersucht werden.

Viele der Effekte, die den Polyphenolen nachgesagt werden, sind als spekulativ anzusehen, da sie von *in vitro* Tests oder Modellversuchen hergeleitet werden. Für viele der beschriebenen Wirkungen fehlen Nachweise für die Wirkung *in vivo*.

Negative Effekte der Polyphenole

Aus einer Vielzahl von Untersuchungen lassen sich diverse Wirkungen von Polyphenolen ableiten, die in negative und positive Effekte eingeteilt werden können. In Tabelle 12 sind die negativen Effekte von Polyphenolen aufgezählt.

Der Einfluss von Polyphenolen auf die Absorption anderer Nahrungsmittelinhaltsstoffe kann je nach Sichtweise positiv oder negativ angesehen werden. Beispielsweise reagieren die Polyphenole mit Proteinen, so dass diese nicht umgesetzt und resorbiert werden können oder, im Fall von Enzymen, ihre Funktion nicht mehr ausüben können und so die Verdauung anderer Nahrungsmittelinhaltsstoffe, wie Polysaccharide, verringern (BUTLER und ROGLER 1992). So führt die Fütterung von grünen und schwarzen Teeblättern über einen Zeitraum von 75 Tagen bei Ratten zu einer Abnahme des Glucose- und Triglyceridgehaltes im Blut und zu einer Verringerung des Gewichtes im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (ZEYUAN et al. 1998).

Tabelle 12: Negative Wirkungen von Polyphenolen

Verringerung der Eisenverfügbarkeit	in Korrelation zum Polyphenolgehalt (DISLER et al. 1975, HALLBERG und ROSSANDER 1982, HURRELL 1990, HURRELL et al. 1997)
Mutagenität von Flavonolen: Quercetin	Quercetin ist mutagen (BJELDANES und CHANG 1977, MACGREGOR 1984), Quercetinglykoside sind nicht mutagen (GASPAR et al. 1993)
Hemmung von Verdauungsenzymen	(BUTLER und ROGLER 1992)
Deutliches Allergiepotential Kontaktdermatitis	Haptenwirkung (BENEZRA 1990)

Positive Effekte der Polyphenole

Die positiven Effekte einzelner Polyphenole auf die menschliche Gesundheit gründen sich zum Großteil auf die Wirkung der Polyphenole als Antioxidantien. Es existieren zahlreiche Veröffentlichungen und Monographien (HO et al. 1992, KUMPULAINEN und SALONEN 1995, RICE-EVANS und PACKER 1998) zu den positiven Wirkungen von Polyphenolen. Einige der teils angenommenen und teils bewiesenen positiven Wirkungen von Polyphenolen sind nachfolgend aufgeführt.

- **Antioxidative Wirkung**
- **Fänger von freien Radikalen und aggressiven Sauerstoffformen**
- **Schutz der Blutgefäße**
- **Hemmung der LDL-Oxidation**
- **Anticancerogene und antimutagene Wirkung**
- **Anti-entzündliche Eigenschaften**
- **Schutz vor UV- und ionisierender Strahlung**
- **Anti-bakterielle Eigenschaften**
- **Anti-virale Eigenschaften**
- **Anti-cariogene Eigenschaften**
- **Anti-Histamin-Wirkung**
- **antiallergene Wirkung**

- **Unterstützung der Vitamin C Wirkung**

Einige der aufgeführten Wirkungen sollen kurz näher beschrieben werden.

Antioxidative Wirkungen

Schutz vor oxidativem Stress

Bei sehr vielen biochemischen Prozessen in der Zelle und damit auch im menschlichen Organismus entstehen aus dem lebensnotwendigen Sauerstoff aggressive Formen, Radikale, die den Organismus schädigen können und daher rasch beseitigt werden müssen. Die Zelle hat effiziente Mechanismen zur Zerstörung und Beseitigung der aggressiven Sauerstoffspezies entwickelt. Diese antioxidativen Schutzmechanismen zur Beseitigung der schädlichen Sauerstoffspezies lassen sich in enzymatische und nicht enzymatische Entgiftungssysteme einteilen (Tabelle 13).

Tabelle 13: Antioxidative Schutzmechanismen zur Beseitigung aggressiver Sauerstoffspezies

Antioxidativ wirksame Enzyme	Antioxidativ wirksame Substanzen
Superoxiddismutase	β-Carotin (Provitamin A), Carotinoide
Katalase	Vitamin C (L-Ascorbinsäure)
Peroxidasen	Vitamin E (Tocopherole)
Glutathionperoxidase	Glutathion
Enzymatische Reparaturmechanismen	Harnsäure
	Flavonoide
	Phenolcarbonsäuren
	andere Phenole
	Chlorophyllderivate

Die zur Eliminierung der aggressiven Sauerstoffspezies eingesetzten Enzyme kooperieren miteinander und werden von antioxidativ wirksamen Substanzen unterstützt.

Kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen der Bildung von aggressiven Sauerstoffspezies und den körpereigenen Abwehrmechanismen während der Stoffwechselfvorgänge im Körper, kann sogenannter „oxidativer Stress“ entstehen (SIES 1986, 1991). Dieser kann vor allem bei einem Mangel an antioxidativen Substanzen, wie in Tabelle 13 aufgezählt, entstehen. Die aggressiven Sauerstoffspezies, hauptsächlich verschiedene Sauerstoffradikale, sind durch die Oxidation und Schädigung von Lipoproteinen (Transportform von Lipiden im Blutkreislauf), Deoxyribonukleinsäuren (Träger der Erbinformation), Proteine (Enzyme, Strukturprotein), Kohlenhydrate (Zucker) und Lipiden (Fette) die Ursache für viele Krankheiten. Beispielsweise gilt die Oxidation von Low-Density Lipoprotein (LDL) durch aggressive Sauerstoffspezies als erste Stufe zur Entstehung der Arteriosklerose (STEINBERG et al. 1989). Andere Erkrankungen wie unterschiedliche entzündliche Prozesse, Gelenkerkrankungen wie Arthritis und Arthrosen, die Hyperlipoproteinämie bei chronischen Nierenerkrankungen, chronisches Leberversagen im Kindesalter, Pankreatitis und Morbus Crohn, Lungenerkrankungen und Krebserkrankungen etc. werden ebenfalls auf solche Schädigungen zurückgeführt (BÖHLES 1991).

Rolle und Wirkung der Polyphenole

Die positiven Effekte der Polyphenole auf die menschliche Gesundheit werden hauptsächlich auf ihre antioxidativen Eigenschaften zurückgeführt. Durch diese vermögen sie, auf zellulärer Ebene im menschlichen Körper schädliche Radikale abzufangen und so Radikal-Ketten-Reaktionen zu unterbrechen.

Damit schützen sie vermutlich Lipoproteine (RANKIN et al. 1988, LEAKE 1998), Lipide (HUANG und FRANKEL 1997, TERAO und PISKULA 1998), die DNA (ARIMOTO-KOBAYASHI et al. 1999, SAINT-CRICQ DE GAULEJAC et al. 1999), Proteine, wie das Strukturprotein Kollagen (KATO et al. 1997) und Kohlenhydrate vor Oxidation und Schädigung. Einige synergistische Effekte der Polyphenole mit den antioxidativen Vitaminen C (L-Ascorbinsäure) und E (α -Tocopherol) sowie Provitamin A (β -Carotin) werden ebenfalls angenommen (MUKAI et al. 1996, TERAO et al. 1994, UNTEN et al. 1997)

Die Polyphenole unterstützen also vermutlich aktiv (z.B. als Radikalfänger) und als Reaktionspartner (z.B. als Redukton) auf vielfältige Art die antioxidativen Schutzmechanismen des menschlichen Organismus und können so dem Auftreten von oxidativem Stress und seinen vielfältigen Folgen entgegenwirken.

In Fütterungsversuchen von Ratten mit Blättern des grünen Tee konnte diese unterstützende Wirkung bereits für einige Enzymsysteme (Superoxiddismutase, Katalase) nachgewiesen werden (LIN et al. 1998, ZEYUAN et al. 1998).

Antibakterielle und antivirale Wirkung

Die antibakterielle und antivirale Wirkung der Polyphenole hängt mit einer ihrer Hauptaufgaben in der Physiologie der Pflanzen, dem Schutz vor Infektionen durch Bakterien, Pilze und Viren (RHODES 1998), zusammen. Diese Wirkung beruht auf der Änderung der Permeabilität der Zellmembran und auf der Bindung und Denaturierung von lebenswichtigen Enzymen in den Bakterien, Pilzen oder Viren (SCALBERT 1991).

Die antimikrobielle Wirkung der Polyphenole ist vermutlich auch der Grund für die Wirkung gegen Zahnkaries (HATTORI et al. 1990).

Antiallergene und anti-Histamin Wirkung

Polyphenole wird zwar einerseits ein allergenes Potential zugeschrieben (BENEZRA 1990) andererseits werden aber auch antiallergene Wirkungen beschrieben (WAGNER 1989, OHMORI et al. 1995). Beispielsweise hemmen Polyphenole das Entstehen von Histamin, das eine wichtige Rolle beim Auftreten von Allergien besitzt (MATSUO et al. 1997).

Anticancerogene und antimutagene Wirkung

Umstrittener ist die Wirkung der Polyphenole als Anticancerogene und Antimutagene. Bisher ist die chemopräventive Wirkung verschiedener Polyphenole nachgewiesen, die sich auf der Hemmung der Aktivierung von präcancerogenen Vorstufen zu aktiven Cancerogenen durch Radikale zurückführen lassen. Die meisten anticancerogenen und -mutagenen Eigenschaften wurden für einzelne Polyphenole, Säfte oder Extrakte in verschiedenen *in vitro* Tests für bestimmte Krebsarten oder Krebsauslöser (Carcinogene) nachgewiesen (PERCHELLET et al. 1992, KANSANEN et al. 1995, SO et al. 1996, SIESS et al. 1997, SUSCHETET et al. 1998, CAROLL et al. 1998, SAMEJIMA et al. 1998, MIYAZAWA et al. 1999, IKKEN et al. 1999, ARIMOTO-KOBAYASHI et al. 1999)

Aufgrund der komplexen Vorgänge bei der Entstehung von Krebs und dem Krebsgeschehen, die bis heute nicht vollständig bekannt sind, sind die beschriebenen Effekte der Polyphenole schwer zu beurteilen. Daher werden ihre anticancerogenen und antimutagenen

Eigenschaften, die in einzelnen Bereichen der Cancerogenese festgestellt wurden, kontrovers diskutiert.

Absorption, Metabolismus und Bioverfügbarkeit von Polyphenolen

Über die Absorption, den Metabolismus und die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen im Menschen weiß man trotz zahlreicher Veröffentlichungen noch relativ wenig, obwohl diese Parameter entscheidend für die Entfaltung einer Wirkung von Polyphenolen im menschlichen Körper sind. Jede beschriebene Wirkung von bestimmten Polyphenolen bei *in vitro* Tests ist hinfällig, wenn diese Polyphenole vom menschlichen Organismus nicht oder nur in geringer Menge resorbiert werden oder nach oder während ihrer Aufnahme im Organismus metabolisch verändert werden. Sie würden dann nicht, in zu geringerer Konzentration oder in veränderter Form an ihren theoretischen Wirkungsort gelangen können. Die hohe Reaktivität der Polyphenole macht es zudem schwierig, die Übertragung von Erkenntnissen *in vitro* auf die Wirkung *in vivo* zu beurteilen, da die wichtigen Parameter Absorptionsrate, Bioverfügbarkeit, Eliminierungsgeschwindigkeit, Konjugatbildung etc. berücksichtigt und beurteilt werden müssen. Die Ergebnisse von *in vivo* Studien zur antioxidativen Kapazität des Serums und der Verringerung der LDL-Oxidation von Menschen nach der Gabe von Tee oder Rotwein sind widersprüchlich. SERAFINI et al. 1996 fanden nach einer Aufnahme von 300 mL schwarzem oder grünem Tee eine Zunahme der antioxidativen Kapazität des Serums, während MAXWELL und THORPE 1996 keine Erhöhung der antioxidativen Kapazität des Serums nachweisen konnten. Die Aufnahme von Rotwein konnte ebenfalls die antioxidative Kapazität des Serums erhöhen (MAXWELL et al. 1994, WHITEHEAD et al. 1995) und die Anfälligkeit des LDL für Oxidation verringern (FUHRMAN et al. 1995), was allerdings wiederum von DE RIJKE et al. 1996 in einer ähnlichen Studie nicht bestätigt werden konnte.

Im Rahmen des der Arbeit zu Grunde liegenden AIF-Projektes konnte ein Anstieg der antioxidativen Kapazität im Serum von Menschen nach der Applikation von 200 mL polyphenolreichem schwarzem Johannisbeersaft und 700 mL polyphenolreichem naturtrübem Apfelsaft nachgewiesen werden (NETZEL et al. 1999b). Dieses Ergebnis widerspricht allerdings den Ergebnissen von YOUNG et al. 1999, die in einer größeren Studie nach Gabe eines 1:1 Gemisches von Apfel- und schwarzem Johannisbeersaft keinen Anstieg der antioxidativen Kapazität im Serum fanden.

Dass auch oligo- und polymere Polyphenole wahrscheinlich für den Organismus verwertbar sind und zur Erhöhung der antioxidativen Kapazität des Serums beitragen, konnte im Tierversuch an Ratten nach Gabe eines proanthocyanidinreichen Traubenkernextraktes bereits nachgewiesen werden (KOGA et al. 1999). Untersuchungen mit menschlichen Zelllinien von Darmwandzellen (CaCo-2) zur Bioverfügbarkeit von Procyanidinen zeigten eine Absorption von dimeren und trimeren Procyanidinen, was allerdings in *in vivo* Untersuchungen noch bestätigt werden muss (SANTOS-BUELGA und SCALBERT 2000).

In Studien, in denen hohe Dosen eines Flavonoids als Aglykon (Quercetin, Epicatechin, Catechin) oral verabreicht und anschließend die mit dem Urin ausgeschiedene Menge bestimmt wurden, ergaben sich je nach Flavonoid Absorptionsraten zwischen 4 und 58%. Nach der oralen Gabe von Kaffeesäure konnten im Urin Kaffeesäure, Ferulasäure, Isoferulasäure, p-Coumarsäure und Vanillinsäure nachgewiesen werden (JACOBSON et al. 1983). Die unphysiologisch hohen Dosen und die Verabreichung von Quercetin, das in der Nahrung nicht als Aglykon vorkommt, wie auch der Kaffeesäure lassen allerdings Zweifel an der Relevanz der Daten aufkommen. Über die Absorption von Polyphenolen aus der normalen Ernährung gibt es nahezu keine Informationen. In der Nahrung liegen bis auf die Flavan-3-ole alle Flavonoide glykosidisch gebunden vor. Lange Zeit wurde angenommen, dass nur Aglykone aufgenommen werden können und Flavonoidglykoside erst durch die intestinale Darmflora mikrobiell in Aglykon und Glykosid gespalten werden müssten, um für den Organismus verfügbar zu sein. Neuere Studien scheinen aber zu belegen, dass beispielsweise Quercetinglykoside ebenso und sogar besser als das entsprechenden Aglykon Quercetin aufgenommen werden (HOLLMAN et al. 1995). Dies wurde am Beispiel

von Zwiebeln nachgewiesen. Die unveränderte Aufnahme von Anthocyanglykosiden aus polyphenolreichem schwarzen Johannisbeersaft und Holunderbeersaft, die im Rahmen des AIF-Projektes für diese Studien hergestellt wurden (siehe 1.2.), konnte erstmals nachgewiesen werden (NETZEL et al. 1999, 1999a). Für die Anthocyanglykoside aus Rotwein (LAPIDOT et al. 1998) sowie Cyanidinglykoside (MIYAZAWA et al. 1999a) wurde dies kürzlich ebenfalls nachgewiesen. Ebenfalls im Rahmen des AIF-Projektes wurde die Aufnahme von Kaffeesäure, dem Spaltprodukt der Chlorogensäure, aus polyphenolreichen Apfelsäften nachgewiesen. Diese Ergebnisse belegen, dass Polyphenole mit der Nahrung und speziell aus Fruchtsaft vom Menschen aufgenommen werden, was die Grundvoraussetzung für die Entfaltung einer Wirkung im Organismus ist. Des Weiteren konnte die Bioverfügbarkeit von Gallussäure (BITSCH et al. 1997), den Flavan-3-olen, Catechin, Epicatechin, Epigallocatechin, Epigallocatechin-3-O-gallat Epicatechin-3-O-gallat (LEE et al. 1995, UNNO et al. 1996) und Phloridzin (PAGANGA und RICE-EVANS 1997) nachgewiesen werden.

Eine Beeinflussung der Flavonoidabsorption durch Bindung an Proteine in der Nahrung wird angenommen (HASLAM 1989) und konnte für Flavan-3-ole aus Tee, der mit und ohne Milch getrunken wurde, nachgewiesen werden (SERAFINI et al. 1996).

Der Metabolismus der Polyphenole findet hauptsächlich im Dickdarm durch Bakterien und nach der Absorption in der Leber statt (HOLLMAN und KATAN 1998). Dabei werden die Polyphenole von der Dickdarmmikroflora in einfachere Substanzen umgewandelt, wie etwa Benzoessäure, Hydroxybenzoessäure und Hydroxyphenylelessigsäuren, die dann absorbiert, metabolisiert und ausgeschieden werden (BOOTH et al. 1957, SCHELINE 1991, GRAEFE und VEIT 1999, CLIFFORD 2000a). Ob und welche Rolle andere Organe, wie Niere oder Darmwand, eine Rolle spielen, wurde bisher nicht untersucht. In der Leber werden aufgenommene Polyphenole oder ihre Metabolite aus der Dickdarmflora glucuronisiert und sulfatiert. Auch eine Methoxylierung von phenolischen Hydroxylgruppen wurde nachgewiesen. Nur geringe Mengen werden unverändert mit dem Urin ausgeschieden, was sich bei den oben erwähnten Studien im Rahmen des AIF-Projektes ebenfalls zeigte, da nur maximal 0,06% der Anthocyanglykoside aus schwarzem Johannisbeersaft unverändert ausgeschieden wurden. Nicht aufgenommene Polyphenole werden im Dickdarm von Bakterien abgebaut und die Abbauprodukte ausgeschieden. Die wichtigsten Reaktionen der Bakterien sind die Hydrolyse von Konjugaten und Glykosiden sowie die Ringspaltung der Aglykone bei Flavonoiden. Zum Teil werden im Dickdarm entstandene Metabolite der Polyphenole absorbiert und ausgeschieden. Auch werden bisher die Aspekte der Stabilität und chemischen Veränderungen der Polyphenole bei physiologischen pH-Werten (> 7) im Intestinaltrakt und Serum des Menschen (ZHU et al. 1997) kaum betrachtet. So ändert sich beispielsweise bei Catechinen aus Tee (NANJO et al. 1996) und Anthocyanen aus Rotwein (LAPIDOT et al. 1999) die antioxidative Kapazität mit steigenden pH-Wert signifikant.

Um den Einfluss der Polyphenole auf die menschliche Gesundheit besser und genauer beurteilen zu können, werden mehr Informationen über die Absorption, die Bioverfügbarkeit, den Metabolismus einzelner Polyphenole sowie die Einflüsse der Matrix in der Nahrung auf einzelne Polyphenole benötigt. Dies ist aufgrund des Fehlens genügend genauer und selektiver analytischer Methoden zum Nachweis von Polyphenolen und ihren Metaboliten in Blutplasma, Gewebe und Urin schwierig und eine Aufgabe für die Zukunft.

2.2. Bestimmung der antioxidative Kapazität

Die antioxidative Wirkung der Polyphenole nimmt eine zentrale Stellung in deren gesundheitlich positiven Wirkungen auf den Menschen ein. Zur Bewertung der antioxidativen Wirkung von Polyphenolen oder anderen Antioxidantien existieren in der Praxis diverse Methoden zur Bestimmung der **antioxidativen Kapazität** einer Probe, als ein **Maß für den Gehalt an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen**. Zur Beurteilung einer Veränderung des Gehaltes an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen bei den Stufenkontrollen während der Herstellung von Fruchtsaftproben wird eine schnelle Bestimmungsmethode für die

antioxidative Kapazität der Proben vor Ort benötigt, um die Veränderungen in den Proben durch längere Lagerung zu vermeiden.

Es existieren allerdings diverse Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität, die sich in Messprinzip, der chemischen Zusammensetzung und Funktionsweise des Testsystems und dem Reaktionsmechanismus, der zur Erfassung der antioxidativen Kapazität benutzt wird, unterscheiden. Die Methoden dienen im Prinzip der Beschreibung des Einflusses der Probe auf den „Redoxstatus“ eines Systems. Nachfolgend sind die wichtigsten Methoden und die Literatur zu den wichtigsten Varianten der Tests aufgeführt.

- **LDL-Oxidations-Test** (FRANKEL et al. 1993, KANNER et al. 1994, LARANJINHA et al. 1995, NATELLA et al. 1999)
- **Liposom-Oxidations-Test** (HUANG et al. 1997, MIYAKE et al. 1997)
- **ABTS⁺-Radikalfänger-Test** (Trolox-Äquivalent-Antioxidative-Capacity TEAC-Methode) (MILLER et al. 1993, MILLER et al. 1996, MILLER und RICE-EVANS 1997a)
- **DMPD-Test** (N,N-Dimethyl-p-phenyldiamin dihydrochlorid) (FOGLIANO et al. 1999)
- **DPPH-Test** (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) (BLOIS 1958, MASUDA et al. 1999)
- **Chemilumineszenz-Test** (WHITEHEAD et al. 1992, KONDO et al. 1999)
- **Hypoxanthin/Xanthinoxidase Test** (SAINT-CRICQ DE GAULEJAC et al. 1999)
- **ORAC_{ROO}-Test** (Oxygen-Radical-Absorbance-Capacity) (CAO et al. 1993) bzw. **TRAP-Test** (Total-Radical-Trapping-Antioxidant-Parameter) (GHISELLI et al. 1994)
- **Kinetischer Crocin-Bleichungs-Test** (TUBARO et al. 1996, NATELLA et al. 1999)
- **Tests zur Hemmung der Linolsäureoxidation auch β -Carotin-Bleichungs-Test** (MARCO 1968, MIYAKE et al. 1997, HEINONEN et al. 1998a, KUO et al. 1999, LAPIDOT et al. 1999)
- **Eisen reduzierender/antioxidativ Test** (Ferric Reducing/Antioxidant Power FRAP-Test) (BENZIE und STRAIN 1996)

Bei den meisten Tests wird eine Bezugssubstanz für die antioxidative Kapazität verwendet, wobei das wasserlösliche Tocopherol Trolox, ein Vitamin E-Analogon, am weitesten verbreitet ist. Eine andere Möglichkeit zur Beschreibung der antioxidativen Kapazität ist die Bestimmung des IC₅₀-Wertes, d.h. die Konzentration Antioxidans oder Probe, bei der die Hemmung der Oxidation 50% beträgt. Je kleiner der IC₅₀ in einem gegebenen Testsystem ist, desto besser ist die antioxidative Wirkung der Probe. Der LDL-Oxidations-Test, der wegen seiner Nähe zum Geschehen bei der Entstehung der Arteriosklerose im menschlichen Organismus auch als ein *ex vivo* Test bezeichnet wird, und der ABTS⁺-Radikalfänger-Test sind, in ihren verschiedenen Varianten, die in der Literatur am häufigsten verwendeten Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität. Allerdings ist der LDL-Oxidations-Test erheblich material- und zeitaufwendiger als der ABTS⁺-Radikalfänger-Test, der sich deswegen besser für die in der Arbeit vorliegende Problemstellung der Verarbeitungsstudien eignet. Für schwarzen Johannisbeersaft wurde im Rahmen des AIF-Projektes zudem eine gute Korrelation zwischen LDL-Oxidations-Test und ABTS⁺-Radikalfänger-Test gefunden.

Aufgrund der Unterschiede zwischen den verschiedenen Methoden können die Ergebnisse der Methoden für dieselbe Probe häufig sehr unterschiedlich sein. So ergab ein Vergleich der antioxidativen Kapazität von sieben Substanzen, die bestimmte Gruppen von Antioxidantien repräsentieren sollen (L-Ascorbinsäure (Vitamin C), α -Tocopherol (Vitamin E), Trolox, Kaftarsäure, Catechin, Quercetin, Rutin), bestimmt mit vier verschiedenen *in vitro* Methoden, deutliche Unterschiede von Methode zu Methode (BADERSCHNEIDER et al. 1999). Die Gründe für diese Unterschiede liegen einerseits in der Art der zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität verwendeten Reaktion, die meist nur eine bestimmte antioxidative Eigenschaft erfasst, und andererseits im Medium (wässrig oder organisch), in dem die Methode durchgeführt wird. Dabei spielen lipo- bzw. hydrophile Eigenschaften der untersuchten Antioxidantien eine wichtige Rolle. Wenn eine andere Methode andere antioxidative Eigenschaften erfasst, sind die Ergebnisse daher meist unterschiedlich und nicht miteinander vergleichbar. Selbst bei einer Methode kann sich die antioxidative Kapazität eines Polyphenols durch Variation einiger Parameter im Testsystem stark verändern und zwar sogar so stark, dass eine Probe plötzlich prooxidative Eigenschaften aufweist (SATUÉ-GRACIA et al. 1997). Deshalb sollte die Aussagekraft der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität nicht überbewertet werden, zumal grundlegende Informationen über Bioverfügbarkeit, Metabolismus und Wirkung im Organismus der Polyphenole kaum vorhanden sind (siehe 2.1.7.).

2.2.1. Die antioxidative Kapazität von Polyphenolen, Fruchtsäften, -extrakten und –wein

Einzelne Polyphenole

Die antioxidative Kapazität einzelner Polyphenole ist stark vom verwendeten Testsystem und vor allem von der molekularen Struktur abhängig. In Tabelle 14 sind die antioxidativen Kapazitäten einiger Polyphenole und antioxidativer Vitamine mit zwei verschiedenen Testsystemen aufgeführt. Die Unterschiede der antioxidativen Kapazität eines Polyphenols in den drei Testsystemen zeigt deutlich die Schwierigkeit und Problematik bei der Beurteilung der antioxidativen Kapazität. Zudem lässt die Betrachtung von Einzelsubstanzen Wechselwirkungen und Synergismen der Polyphenole untereinander oder mit anderen Inhaltsstoffen eines Lebensmittels außer acht.

Einige Untersuchungen versuchen Beziehungen zwischen der Struktur und der antioxidativen Kapazität von Polyphenolen in einem Test herzuleiten. So konnten beispielsweise für den ABTS⁺-Test klare Beziehungen zwischen bestimmten Strukturelementen von Flavonoiden und Phenolcarbonsäuren, wie Hydroxylgruppen, Methoxygruppen an den aromatischen Ringen, Ketogruppen, Hydroxylgruppen, Doppelbindungen am Pyranring, und der antioxidativen Kapazität der einzelnen Polyphenole gefunden werden (RICE-EVANS et al. 1996, RICE-EVANS und MILLER 1998a).

Über die antioxidative Kapazität von polymeren Polyphenolen, Tanninen und Proanthocyanidinen, die analytisch schwer zu erfassen sind, aber in vielen Früchten vermutlich in größeren Mengen enthalten sind (siehe 2.1.4. – 2.1.6.), ist bisher wenig bekannt. Neuere Untersuchungen über die antioxidative Kapazität einiger dimerer Procyanidine zeigen, dass ihre antioxidative Kapazität im Hypoxanthin/Xanthinoxidase-Test teilweise niedriger und teilweise höher als die ihrer monomeren Bausteine Catechin und Epicatechin ist (SAINT-CRICQ DE GAULEJAC et al. 1999). Die teils recht großen Unterschiede werden von den Autoren auf die verschiedenen Interflavanverknüpfungen (4- β -8- oder 4- β -6-) und die stereochemischen Unterschiede zurückgeführt.

Tabelle 14: Antioxidative Kapazität einiger Polyphenole mit zwei verschiedenen Testsystemen

Nachgewiesene Polyphenole	TEAC in mmol/L Trolox (RICE-EVANS et al. 1996, RICE-EVANS und MILLER 1998a, MILLER und RICE-EVANS 1997)	ORAC _{ROO} in mmol/L Trolox (GUO et al. 1997)
Flavanol		
Catechin	2,40 ± 0,05	2,49 ± 0,07
Epicatechin	2,50 ± 0,02	2,36 ± 0,13
Epigallocatechin	3,80 ± 0,06	n.b.
Epicatechingallat	4,90 ± 0,02	n.b.
Epigallocatechingallat	4,80 ± 0,06	n.b.
Flavonol		
Quercetin	4,70 ± 0,1	3,29 ± 0,12
Quercetin-3-rutinosid	2,40 ± 0,06	0,56 ± 0,07
Myricetin	3,10 ± 0,3	n.b.
Kaempferol	1,34 ± 0,08	2,67 ± 0,13
Anthocyanidine		
Delphinidin	4,44 ± 0,11	n.b.
Cyanidin	4,40 ± 0,12	n.b.
Cyanidin-3-rutinosid	3,25 ± 0,1	n.b.
Cyanidin-3-galaktosid	2,90 ± 0,03	n.b.
Päonidin	2,22 ± 0,2	n.b.
Malvidin	2,06 ± 0,1	n.b.
Pelargonidin	1,30 ± 0,1	0,96 ± 0,02
Hydroxyzimtsäuren		
Kaffeesäure	1,26 ± 0,01	2,23 ± 0,25
Chlorogensäure	1,24 ± 0,02	n.b.
p-Coumarsäure	2,22 ± 0,06	1,09 ± 0,06
Ferulasäure	1,90 ± 0,02	1,33 ± 0,06
Hydroxybenzoesäuren		
Gallussäure	3,01 ± 0,05	1,74 ± 0,08
Protocatechusäure	1,19 ± 0,04	2,06 ± 0,21
p-Hydroxybenzoesäure	0,08 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Vitamine		
L-Ascorbinsäure (Vit. C)	1,00 ± 0,04	n.b.
α-Tocopherol (Vit. E)	n.b.	n.b.
β-Carotin (Provitamin A)	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmt

Fruchtextakte und Einfluss des Polyphenolmusters

Die antioxidative Kapazität der Extrakte diverser Früchte, Gemüse und Pflanzen wurde mit verschiedenen Methoden untersucht (GUO et al. 1997, MEYER et al. 1997, HEINONEN et al. 1998b, BENZIE und SZETO 1999, MASUDA et al. 1999), um die Einflüsse des Polyphenolmusters, also eventuelle synergistische und antagonistische Effekte, auf die antioxidative Kapazität zu klären. Ein Teil der Ergebnisse ist in Tabelle 15 dargestellt.

Die Extrakte der Beerenfrüchte wurden mit Aceton/Wasser (70/30 v/v) und die Extrakte der Traubensorten mit Methanol/Wasser (60/40 v/v) hergestellt.

Tabelle 15: Inhibition der LDL-Oxidation durch Extrakte von verschiedenen Beerenfrüchten und verschiedenen Traubensorten

Beerenfrüchte (HEINONEN et al. 1998b)	Inhibition der LDL-Oxidation in % bei 10 µM GAE	Gesamtphenolgehalt der Extrakte in mg/L GAE
Brombeere	83,9 ± 0,2	4350
Heidelbeere	64,8 ± 1,0	3480
Himbeere	78,8 ± 0,2	3030
Erdbeere	53,9 ± 4,1	2940
Süßkirsche	72,7 ± 2,8	839
Rebsorte (MEYER et al. 1997)		
Petit Sirah	39,0 ± 2,5	963
Cabernet Sauvignon	44,3 ± 3,4	575
Cabernet Franc	47,2 ± 6,3	529
Merlot	47,0 ± 1,2	497
Sauvignon Blanc	44,2 ± 3,2	272
Chardonnay	46,0 ± 0,9	218
Thompson seedless	30,2 ± 2,6	242

GAE = Gallussäure-Equivalente

Nach Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu wurden die Extrakte für die Untersuchungen der Inhibition der LDL-Oxidation so verdünnt, dass im Testsystem eine einheitliche Konzentration 10 µM GAE vorhanden war. Weder HEINONEN et al. 1998b noch MEYER et al. 1997 konnten eine ausreichende Korrelation zwischen den mittels HPLC ermittelten Anteilen der einzelnen Polyphenolgruppen, Anthocyanen, Hydroxymitsäurederivaten, Flavan-3-olen, Flavonolen, und der relativen antioxidativen Kapazität feststellen. Bei den Traubensorten zeigte sich nur, dass Tafeltraubensorten (z.B. Thompson seedless) im Vergleich eine geringere antioxidative Kapazität aufwiesen als die klassischen Traubensorten zur Weinbereitung (z.B. Chardonnay) und dass die Anthocyane, die nur bei den roten Traubensorten vorhanden sind, keinen signifikanten Einfluss zu haben scheinen. Bei den Beerenfrüchten waren die Unterschiede in der relativen antioxidativen Kapazität größer, da auch die Unterschiede in den Polyphenolmustern größer sind.

Fruchtsäfte

Um die antioxidativen Kapazitäten der Getränke miteinander vergleichen zu können, muss zur Angabe ihrer antioxidativen Kapazität eine Bezugssubstanz verwendet werden. Das wasserlösliche Tocopherol und Vitamin E-Analogon Trolox hat sich als Bezugssubstanz in den meisten Testsystemen durchgesetzt, so dass die Angabe der antioxidativen Kapazität unabhängig vom verwendeten Testsystem als TEAC-Wert erfolgt. In Tabelle 16 sind die antioxidativen Kapazitäten einiger Weine, Fruchtsäfte und -nektare, mit verschiedenen Testsystemen ermittelt, aufgeführt.

In zwei der Untersuchungen wurde eine deutliche Korrelation der antioxidativen Kapazität mit dem Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu nachgewiesen (RECHNER et al. 1997, HENN und STEHLE 1998).

MILLER und RICE-EVANS 1997 versuchten die Anteile der einzelnen Polyphenole sowie der L-Ascorbinsäure an der antioxidativen Kapazität eines Orangensaftes, eines Apfelsaftes und eines schwarzen Johannisbeer-Getränk (Ribena) zu bestimmen. Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität erfolgte mit dem ABTS⁺-Radikalfänger-Test. Der Anteil der L-Ascorbinsäure betrug beim Apfelsaft 6%, beim Orangensaft 87% und beim schwarze Johannisbeer-Getränk 74%. Beim Apfelsaft hatte die Chlorogensäure mit 41% den größten Anteil an der antioxidativen Kapazität, gefolgt von p-Coumaroylchinasäure (20%), Phloretin-2'-xyloglucosid (10%), Phloridzin (7%) und Epicatechin (4%). Die übrigen 13% der antioxidativen Kapazität konnten keiner Substanz zugeordnet werden. Beim Orangensaft

stellten die Hauptpolyphenole Hesperidin 6% und Narirutin 2% der antioxidativen Kapazität, während 5% nicht zugeordnet werden konnten. Beim schwarzen Johannisbeer-Getränk stellten die vier Hauptanthocyane zusammen genommen 5,1% der antioxidativen Kapazität, während 21% nicht zugeordnet werden konnten.

Tabelle 16: Antioxidative Kapazität von Weinen, einigen Fruchtsäften und -nektaren

Getränk	TEAC in mmol/L Trolox (RECHNER et al. 1997)	TEAC in mmol/L Trolox und (HENN STEHLE 1998)	Chemoluminiszenz-Test in mmol/L Trolox (WHITEHEAD et al. 1995)
Apfelsaft	1,4 – 2,1 (n = 2)	1,3 – 2,0 (n = 4)	7,89 (n = 1)
Orangensaft	3,0 (n = 1)	2,1 – 4,0 (n = 4)	2,00 (n = 1)
Weißer Traubensaft	0,2 – 0,6 (n = 2)	n.b.	0,68 (n = 1)
Roter Traubensaft	2,2 – 14,1 (n = 6)	3,5 – 5,9 (n = 4)	n.b.
Weißwein	n.b.	0,4 – 2,4 (n = 9)	0,87 – 1,28 (n = 4)
Rotwein	11,1 – 14,7 (n = 4)	6,8 – 21,4 (n = 41)	10,00 – 20,73 (n = 9)
Schwarzer Johannisbeernektar	6,8 – 12,0 (n = 7)	6,2 – 11,2 (n = 3)	n.b.
Schwarzer Johannisbeersaft	24,6 – 39,1 (n = 10)	n.b.	n.b.
Grapefruitsaft	2,2 (n = 1)	3,0 – 3,7 (n = 2)	n.b.
Sauerkirschnektar	4,1 – 12,7 (n = 5)	n.b.	n.b.
Brombeernektar	5,8 (n = 1)	n.b.	n.b.
Heidelbeernektar	11,9 (n = 1)	n.b.	n.b.
Speierlingsaft	146,0 (n = 1)	n.b.	n.b.

n = Probenzahl, n.b. = nicht bestimmt

Neben der Betrachtung der antioxidativen Kapazität eines Getränkes als absoluten Wert, bezogen auf eine Bezugssubstanz (quantitativ), ist eine Beurteilung des Einflusses der Polyphenolzusammensetzung des Saftes (qualitativ) ebenfalls interessant. VINSON et al. 1999 untersuchten diesen Einfluss bei einigen Getränken mittels der Hemmung der LDL-Oxidation (Tabelle 17).

Daraus ergibt sich für die „antioxidative Qualität“ der Getränke: Schwarzer Tee > Kaffee > Pflaumensaft = Bier > Grüner Tee > Orangensaft > Rotwein > Mandarinsaft > Roter Traubensaft > Weißer Traubensaft > Grapefruitsaft. Die L-Ascorbinsäure hat in diesem Testsystem einen wesentlich geringeren Einfluss als beim ABTS⁺-Test (siehe Tabelle 14).

Tabelle 17: Hemmkonstante IC₅₀ der LDL-Oxidation der Polyphenole einiger Getränke (VINSON et al. 1999)

Getränk	Hemmkonstante IC ₅₀ der LDL-Oxidation in µM
Orangensaft	0,42
Mandarinensaft	0,50
Grapefruitsaft	0,95
Pflaumensaft	0,30
Kaffee	0,26
Schwarzer Tee	0,23
Grüner Tee	0,38
Weißer Traubensaft	0,70
Roter Traubensaft	0,65
Rotwein	0,45
Lagerbier	0,30

Fruchtweine

Die antioxidative Kapazität von einigen Fruchtweinen aus verschiedenen Beerenfrüchten wurden von HEINONEN et al. 1998a untersucht. Als Testsystem wurde die Hemmung der Oxidation von Methyllinolat in der Wärme (40°C im Dunkeln) verwendet, die durch Messung der Extinktion bei 234 nm (Hydroperoxide) bestimmt wurde. Die Hemmung durch 50 bzw. 200 µL aufgearbeiteten Fruchtwein wurde in Prozent bezogen auf die Kontrolle nach Erreichen eines Hydroperoxidgehalt von 400 bzw. 800 mmol/kg angegeben (Tabelle 18).

Tabelle 18: Hemmung der Peroxidbildung von Methyllinolat durch aufgearbeitete Fruchtweine bei zwei verschiedenen Probenmengen sowie Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu der Fruchtweine und der Polyphenolgehalt in 50 µL Probe berechnet als Gallussäure-Equivalente (GAE)

Fruchtwein	Gesamtphenolgehalt der Weine in mg/L GAE	µM GAE in 50 µL	Hemmung in % von 50 µL (800 mmol/kg)	Hemmung in % von 200 µL (800 mmol/kg)
Schw. Johannisbeer-Heidelbeerwein (2/1)	1060	275	91	97
Schw. Johannisbeerwein (n = 5)	520 – 1820	120 – 880	5 – 65	13 – 98
Schw. Johannisbeer-Erdbeerwein (4/1)	950	225	8	97
Roter Johannisbeerwein (n = 2)	440 – 470	100 – 110	39 – 41	44 – 96
Roter u. schw. Johannisbeerwein (3/4)	515	205	48	85
Cranberrywein	680	160	92	52
Apfelwein (n = 4)	240 – 470	38 – 110	22 – 84	42 – 90

GAE = Gallussäure-Equivalente

Zur Untersuchung war eine Festphasenextraktion der Polyphenole aus den Fruchtweinen nötig, um die den Test störenden Zucker zu entfernen. Es konnte von den Autoren keine Korrelation mit dem Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu und der Hemmung der Oxidation des Methyllinolat festgestellt werden.