

## 6. Diskussion

### 6.1. Antioxidative Kapazität

#### Die ABTS<sup>+</sup>-Methode (TEAC-Methode)

Der ABTS<sup>+</sup>-Radikalfänger-Test in der hier verwendeten Variante stellt ein geeignetes Mittel zur Erfassung der antioxidativen Kapazität von Getränken dar. Das angewendete Messprinzip besitzt im Vergleich zu anderen Methoden (z.B. MARCO 1968, WHITEHEAD et al. 1992, FRANKEL 1993, CAO et al. 1993, GHISELLI et al. 1994, FOGLIANO et al. 1999, MASUDA et al. 1999, NATELLA et al. 1999) zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität einen geringeren Zeit- und Materialaufwand und erlaubt daher einen höheren Probendurchsatz. Diese Vorteile kommen bei Stufenkontrollen während der Fruchtsaftherstellung zum Tragen, so dass sich die Methode zur Kontrolle des neuen Qualitätsfaktors antioxidative Kapazität in der Routine der Fruchtsaftherstellung gut eignen könnte. Die antioxidative Kapazität nach der angewendeten Methode korreliert mit dem Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu der Proben ( $r^2 = 0,936$ ). Diese gute Korrelation sollte aber nicht darüber hinwegtäuschen, dass die beiden Methoden oft unterschiedliche Ergebnisse liefern. Zum einen sind nicht alle mit der Folin-Ciocalteu-Methode erfassten Substanzen antioxidativ wirksam, und zum anderen werden nicht alle antioxidativ wirksamen Substanzen von der Folin-Ciocalteu-Methode erfasst.

Bei vergleichenden Untersuchungen im Rahmen des AIF-Projektes wurden für Apfel- und schwarzen Johannisbeersaft ebenfalls gute Korrelationen zum LDL-Oxidationstest (siehe 2.1.8.), des einzigen sogenannten *ex vivo* Testes, gefunden. Probleme macht die Bestimmung von Proben mit einem höheren Anteil an organischen Lösungsmitteln, da diese das Metmyoglobin denaturieren und dadurch die Bildung des Ferrylmyoglobinradikals durch Wasserstoffperoxid verhindern. Eine Modifikation des Tests durch Verwendung eines anderen Oxidationsmittels zur direkten Bildung des ABTS<sup>+</sup>-Radikalkations könnte diese Einschränkung beheben. Mögliche Oxidationsmittel wären Kaliumpersulfat oder Mangandioxid (MILLER et al. 1996). Kaliumpersulfat wird in einer neuen Version des Testes als Oxidationsmittel zur Darstellung einer stabilen ABTS<sup>+</sup>-Radikalkation-Lösung verwendet, deren durch Antioxidation verursachte Farbabnahme dann bestimmt wird (RE et al. 1999). Allerdings bleibt zu beachten, dass mit dem Test nur eine bestimmte Facette der antioxidativen Kapazität (Radikalfängereigenschaften) erfasst wird (siehe 2.1.8.) und dass nur hydrophile Antioxidantien im Test eine Aktivität zeigen.

#### Apfelsaft

Apfelsaft gilt als vergleichsweise schlechte Quelle für antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe (MILLER und RICE-EVANS 1997, RECHNER et al. 1997, HENN und STEHLE 1998). Die ermittelten Werte für Apfelsaft mit 2,9 mmol/L Trolox für naturtrübe Handelsproben, 2,1 mmol/L Trolox für klare Handelsproben und 2,9 (0,5 – 7) mmol/L für aus verschiedenen Sorten hergestellte Apfelsäfte bestätigen diese Wertung. Berücksichtigt man den Anteil der zugesetzten L-Ascorbinsäure, sind die Werte sogar noch niedriger. Allerdings konnten durch Auswahl polyphenolreicher Mostäpfel und schonende Verarbeitung Apfelsäfte mit bisher nie erreichten antioxidativen Kapazitäten hergestellt werden (7,0 mmol/L Trolox gegenüber dem Durchschnittswert von naturtrübem Apfelsaft von 2,9 mmol/L Trolox). Dies wird als eine deutliche Qualitätsverbesserung angesehen, da zudem aus solchen Apfelsäften erstmals die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen aus Apfelsaft und eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität des Serums beim Menschen durch den Konsum von Apfelsaft festgestellt werden konnte (NETZEL et al. 1999b). Die Herkunft von über der Hälfte der antioxidativen Kapazität in einem frischen Apfelpresssaft kann nicht geklärt werden. In anderen Untersuchungen zu antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen von Apfelsaft konnten sogar nur 20% der antioxidativen Kapazität auf analytisch erfassbare Komponenten des Saftes zurückgeführt werden (DEKKER et al. 1999). Vermutlich kommen die Trubpartikel und in ihnen enthaltenen oder an ihnen anhaftende antioxidativ wirksame Substanzen sowie höher polymere Polyphenole und andere antioxidativ wirksame Substanzen in der wässrigen Phase des Saftes dafür in Frage,

da der nicht erklärbare Anteil im Saft nach Separation und Schöpfung mit Gelatine/Kieselöl, also Behandlungsmaßnahmen, die genau diese beiden mutmaßlichen Quellen reduzieren, auf 32% absinkt. Dies zeigt zudem, dass die Bestimmung der antioxidativen Kapazität mit der TEAC-Methode auch Veränderungen in diesen Bereichen zu erfassen vermag, während die Polyphenolanalytik mittels HPLC dies nicht kann. Als wichtigstes Polyphenol für die antioxidative Kapazität im Saft erweist sich die Chlorogensäure mit einem Anteil von 15%.

Diese Ergebnisse widersprechen allerdings den Ergebnissen von MILLER und RICE-EVANS 1997, die nur 13% der antioxidativen Kapazität, die mit dem gleichen Testsystem bestimmt wurde, nicht zuordnen konnten. Auch die Anteile der einzelnen Polyphenole sind unterschiedlich. Der Grund dafür ist vermutlich die unterschiedliche Zusammensetzung der untersuchten Apfelsäfte bedingt durch Einflüsse des Herstellungsprozesses. MILLER und RICE-EVANS 1997 untersuchten einen klaren „long life apple juice“, der diverse nicht näher spezifizierte Verarbeitungsschritte hinter sich hatte, während in der vorliegenden Arbeit der frische Presssaft einer polyphenolreichen Apfelsorte untersucht wurde.

In einem anderen Test zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität besitzt Apfelsaft eine deutliche höhere antioxidative Kapazität von 7,89 mmol/L Trolox (WHITEHEAD et al. 1995), wobei allerdings nur eine Probe untersucht wurde. Grund hierfür sind die unterschiedlichen Messprinzipien der beiden Tests.

### **Schwarzer Johannisbeersaft**

Schwarzer Johannisbeersaft besitzt mit 32,4 (25 – 40) mmol/L Trolox einen deutlich höheren Gehalt an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen als Apfelsaft. Der aus ihm hergestellte Nektar besitzt mit durchschnittlich 9,3 mmol/L für Handelsproben immer noch einen vergleichsweise hohen Gehalt an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen, was sich mit den Angaben anderer Autoren deckt (MILLER und RICE-EVANS 1997, HENN und STEHLE 1998). Der schwarze Johannisbeernektar liegt damit im Bereich von Rotwein (11,1 mmol/L Trolox im Durchschnitt). Werden Säfte aus Sorten mit einem hohen Gehalt an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen und einem moderaten Gesamtsäuregehalt zur Nektarherstellung verwendet, sind schwarze Johannisbeernektare mit antioxidativen Kapazitäten bis zu 15 mmol/L möglich. Hierbei stellt besonders der Gesamtsäuregehalt ein Problem dar, da hohen Gesamtsäuregehalten zahnschädigende Eigenschaften durch Angriff des Zahnschmelzes zugesprochen werden (HUGHES et al. 1998) und daher schwarze Johannisbeergetränke mit sehr niedrigem, „zahnschonenden“ Gesamtsäuregehalt angestrebt werden (WEST et al. 1999). Ein Verfahren zur schonenden Entsäuerung des schwarzen Johannisbeersaftes könnte hier beide Aspekte miteinander in Einklang bringen. Die Herkunft von ca. 23% der antioxidativen Kapazität in einem frischen schwarzen Johannisbeerpresssaft konnte nicht geklärt werden. Ähnlich wie beim Apfelsaft dürften höher polymere Polyphenole und andere antioxidativ wirksame Substanzen für diesen nicht zuzuordnenden Anteil in Frage kommen. Die monomeren Anthocyane des schwarzen Johannisbeersaftes stellen etwa die Hälfte der antioxidativen Kapazität. Der Anteil der L-Ascorbinsäure betrug im untersuchten Saft ca. 22% und lag im Mittel bei ca. 16% (n = 10). Im Vergleich zu Orangensaft, der einen vergleichbaren L-Ascorbinsäuregehalt mit dem Endprodukt schwarzer Johannisbeernektar hat, aber nur relativ geringe Gehalte an Polyphenolen aufweist, liefert ein schwarzer Johannisbeernektar zusätzlich zur L-Ascorbinsäure noch eine beträchtliche Menge an antioxidativ wirksamen Polyphenolen.

Auch diese Ergebnisse liegen im Widerspruch zu MILLER und RICE-EVANS 1997, die zwar einem schwarzen Johannisbeertrunk (RIBENA, <sup>TM</sup> Smith Kline Beecham) einen ähnlich großen Anteil der antioxidativen Kapazität nicht zuordnen konnten, aber den monomeren Anthocyanen nur einen Anteil von rund 5% und der L-Ascorbinsäure einen Anteil von 74% zusprachen. Grund hierfür ist ebenfalls die unterschiedliche Zusammensetzung der untersuchten Proben bedingt durch Einflüsse des Herstellungsprozesses. Die von MILLER und RICE-EVANS 1997 untersuchte Probe war ein auf einen Fruchtgehalt von 16,7% rückverdünntes Konzentrat, hinter dem diverse nicht spezifizierte Verarbeitungsschritte lagen, während in der vorliegenden Arbeit ein frischer Presssaft untersucht wurde.

### Andere Beeren- und Steinobstsäfte

Die meisten Beerensäfte bzw. -nektare wie auch Steinobstsäfte und –nektare weisen eine hohe antioxidative Kapazität (TEAC-Wert > 5) auf. Eine Ausnahme bilden Beeren- und Steinobstsäfte, die nur wenig oder gar nicht rot gefärbt sind, wie beispielsweise Stachelbeersaft oder roter Johannisbeersaft. Eine kräftige rote Farbe und damit ein hoher Gehalt an Anthocyanen bedingt eine hohe antioxidative Kapazität, was sich am Spitzenreiter der untersuchten Beerensäfte, dem Holundersaft, und dem schon besprochenen schwarzen Johannisbeersaft deutlich zeigt. Beim Holundersaft liegt der Anteil der monomeren Anthocyane an der antioxidativen Kapazität, wie beim schwarzen Johannisbeersaft, bei etwa 50%, wobei der Anteil des nicht zuzuordnenden Anteils mit ca. 41% etwas höher ist. Mit diesen Werten für die antioxidative Kapazität liegen die stark rot gefärbten Beeren- und Steinobstsäfte im allgemeinen deutlich höher als die in Deutschland 1998 meist konsumierten Säfte Apfelsaft und Orangensaft (Quelle: VdF).

Die hohe antioxidative Kapazität von stark rot gefärbten Beerenfrüchten wurde auch mit einem anderen Testsystem (LDL-Oxidation) bestätigt (HEINONEN et al. 1998b).

Diese Beeren- und Steinobstsäfte stellen daher eine exzellente Quelle für antioxidativ wirksame Fruchthaltstoffe in der täglichen Ernährung des Menschen dar und sind die Alternative zum viel diskutierten Rotwein. Außerdem enthalten sie einerseits im Vergleich zum Rotwein keinen Alkohol und sind deshalb für Bevölkerungsgruppen, die keinen Alkohol zu sich nehmen wollen, dürfen oder können, konsumierbar, und enthalten andererseits zusätzlich noch teilweise beträchtliche Mengen an anderen ernährungsphysiologisch wichtigen Inhaltsstoffen wie Vitamine, Mineralstoffe, Spurenelemente. Sie stellen die ideale Basis zur Herstellung von Getränken dar, die als „funktionelle“ Lebensmittel bezeichnet werden können, ohne Zusatzstoffen zugeben zu müssen.

## 6.2. Polyphenole in Apfel- und Beerensäften

Die entwickelte Methode zur Analytik der Polyphenole an einer fluorierten RP-Phase und einer Detektion mittels DAD und ECD ist für die Analytik wässriger Proben gut geeignet. Die Methode weist eine gute Reproduzierbarkeit und eine gute Trennung der Polyphenole auf, ermöglicht die gleichzeitige Analyse von Anthocyanen und anderen Polyphenolen und ist durch die Verwendung der beiden Detektionssysteme empfindlich und aussagekräftig.

Die Polyphenolanalytik mittels HPLC der Apfelsäfte ergab vergleichbare Gehalte und Verhältnisse für die wichtigsten Polyphenole gegenüber bisherigen Veröffentlichungen (RITTER et al. 1996, PICINELLI et al. 1997). Säfte aus Mostapfelsorten wiesen hohe Gehalte an monomeren Polyphenolen auf und unterschieden sich von Säften aus Tafeläpfeln außerdem noch in den Verhältnissen einzelner Polyphenole. Säfte aus Mostäpfeln enthielten mehr Phloretin-2'-xyloglucosid als Phloridzin, während Säfte aus Tafeläpfeln weniger oder etwa gleich viel Phloretin-2'-xyloglucosid als Phloridzin enthielten. Allerdings konnten viele der auftretenden kleineren Peaks in den Chromatogrammen der Apfelsäfte nicht identifiziert werden. Ebenso bleibt der Gehalte an Procyanidinen in den Säften unklar, da diese Oligo- und Polymere der Flavan-3-ole mit der benutzten Methode und anderen Methoden zur Polyphenolanalytik mittels HPLC an einer RP-Phase nicht erfasst werden können. Ihre Analytik ist aufgrund ihrer Struktur und Molekülgröße schwierig, was sich auch in aktuelleren Veröffentlichungen zu diesem Thema zeigt (GUYOT et al. 1998, HAMMERSTONE et al. 1999, ADAMSON et al. 1999, SANTOS-BUELGA und SCALBERT 2000).

Der Vergleich der festgestellten Gesamtgehalte an monomeren Anthocyanen mit den Angaben in der Literatur ergibt bei schwarzem Johannisbeersaft einen mehr als doppelt so hohen Wert von 3058 mg/L gegenüber 1450 mg/L (MORTON 1968), wobei der festgestellte Anthocyanengehalt der Säfte etwa in dem Bereich liegt, der für den Gesamtanthocyanengehalt der Beeren (1300 – 4000 mg/kg) angegeben wird (EDER 1996b, IVERSEN 1999, CLIFFORD 2000). Beim Holundersaft wird eine Übereinstimmung mit den Angaben von EDER 1996c und beim Erdbeersaft eine Übereinstimmung mit den Angaben von BAKKER et al. 1994 gefunden.

Die monomeren Hauptpolyphenole von schwarzem Johannisbeer-, Holunder-, Sauerkirsch- und Brombeersaft konnten teilweise durch Literaturvergleich identifiziert oder hypothetisch zugeordnet werden.

Bei Erdbeeren bestätigte sich die Möglichkeit der Sortendifferenzierung mittels des Anthocyanmusters (BAKKER et al. 1994). Zudem konnte gezeigt werden, dass das Anthocyanmuster während der Reifung stabil ist. Das Ansteigen des Anthocyangehalt mit zunehmender Reife deckt sich mit den Angaben zum zeitlichen Verlauf der Biosynthese der Anthocyane (CHENG und BREEN 1991).

Als größte Schwierigkeit bei der Analytik der Polyphenole mittels HPLC zeigte sich das Fehlen von Reinsubstanzstandards vieler Polyphenole, was teilweise eine detailliertere Betrachtung der Veränderung einzelner Polyphenole während Prozessstudien beeinträchtigte. Viele in Früchten beschriebene Polyphenole (siehe 2.1.4. – 2.1.6.) sind kommerziell nicht erhältlich, so dass die Identifizierung und vor allem die exakte Quantifizierung vieler Polyphenole bzw. Peaks in den Chromatogrammen von untersuchten Proben nicht möglich war. So stehen bis auf wenige Ausnahmen die beschriebenen Polyphenole in schwarzer Johannisbeere, Holunder, Brombeere, Sauerkirsche, Stachelbeere nicht zur Verfügung.

Mit den entwickelten Methoden zur Isolierung einiger Hauptpolyphenole aus Apfelsaft (4-p-Coumaroylchinasäure, Phloretin-2'-xyloglucosid) und aus schwarzem Johannisbeersaft (Delphinidin-3-glucosid, Delphinidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-rutinosid) konnten einige dieser Substanzen gewonnen werden. Die Abtrennung der Polyphenole durch Adsorption an Adsorberharzen und anschließender Elution mit Ethanol ist zudem ein interessantes Verfahren zur Herstellung konzentrierter Polyphenolextrakte aus Fruchtsäften (z.B. minderer Qualität). Die Vorbehandlung des Apfelsaftes mit Laccase/O<sub>2</sub> erwies sich für die Isolation der Zielsubstanzen als äußerst günstig. Zur Isolierung der einzelnen Polyphenole aus den gewonnenen Extrakten eignete sich die präparative HPLC gut, wobei allerdings die geringere Probenaufgabemenge ein Manko darstellte. Die Gelchromatographie, die wesentlich höhere Probenaufgabemenge erlaubt und früher schon zur präparativen Isolierung von Polyphenolen verwendet wurde (LEA und TIMBERLAKE 1974), könnte eine interessante Alternative zur Isolierung der einzelnen Polyphenole sein.

### 6.3. Einfluss der Verarbeitungstechnik auf die antioxidative Kapazität und den Polyphenolgehalt

Die Polyphenole werden als Saftinhaltsstoff neu beurteilt. Sie werden nicht mehr als störender, zu entfernender Inhaltsstoff, sondern als wertgebender, zu erhaltender Inhaltsstoff betrachtet. Der Widerspruch zwischen der klassischen Lehrbuchmeinung, die die Saftstabilität und die Verminderung der Polyphenole als eine Qualitätsverbesserung in den Vordergrund gestellt hat und den neuesten Erkenntnissen zur gesundheitlichen Bewertung der Polyphenole, macht es notwendig, die Polyphenole in Getränken neu zu bewerten. Eine Folge dieser neuen Bewertung ist, den Erhalt der Polyphenole in den Getränken zu propagieren (DIETRICH 1995). Noch in der jüngeren Vergangenheit war man bei der Fruchtsaftherstellung durch Entwicklung neuer Technologien bemüht, den Gehalt an Polyphenolen wegen ihrer für die Saftqualität negativen Eigenschaften möglichst gering zu halten (LEA 1992, BINNIG 1992, MAIER 1994, RITTER 1994). Die Ergebnisse der Arbeit bieten Auswege aus diesem Dilemma. Sie liefern neue Erkenntnisse, die zur Optimierung des Polyphenolgehalt in Fruchtsäften bei der Fruchtsaftherstellung verwendet werden können. Basierend auf den Ergebnissen aus den Stufenkontrollen während der Fruchtsaftherstellung werden Empfehlungen für die Herstellung eines hochwertigen Fruchtsaftes mit guter Saftqualität und –stabilität und hoher antioxidativer Kapazität ausgesprochen.

**Aus den Ergebnissen lässt sich klar schließen, dass jede Maßnahme während der Verarbeitung einer Frucht zu Fruchtsaft die antioxidative Kapazität absenkt.**

Allerdings ist das Ausmaß der Absenkung durch die unterschiedlichen Verarbeitungsmaßnahmen bei der Herstellung eines Fruchtsaftes sehr verschieden.

### 6.3.1. Apfel

#### Apfelsorten

Die Untersuchungen von Apfelsäften aus verschiedenen Apfelsorten zeigen deutlich, dass die Wahl der richtigen Sorte bei dem Vorhaben ein Saft herzustellen, der einen hohen Gehalt an antioxidativ wirksamen Fruchtinhaltsstoffen besitzt, die wichtigste Rolle spielt. Bei Säften aus verschiedenen Apfelsorten wurden Differenzen von bis zu 500% für die antioxidative Kapazität und den Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu (1,0 mmol/L Trolox und 5,0 mmol/L Trolox bzw. 312 mg/L Catechin und 1623 mg/L Catechin) gefunden. Wie stark der Polyphenolgehalt von Apfelsäften von der Sorte abhängig sein kann, zeigen auch die Ergebnisse von PICINELLI et al 1997, die den Polyphenolgehalt von kommerziellen Säften und im Labormaßstab aus spanischen Mostapfelsorten hergestellten Säften untersuchten. In den Untersuchungen von SPANOS et al. 1990 zeigten sich bei gleicher Herstellung ebenfalls deutlich Unterschiede in den Polyphenolgehalten mittels HPLC sowie nach Folin-Ciocalteu von Apfelsäften (frischer Presssaft) aus den Sorten Red Delicious, Granny Smith, McIntosh and Spartan. Die großen Unterschiede in den Polyphenolgehalten von verschiedenen Sorten eines Obstes, die sich in den Ergebnissen widerspiegeln, zeigte HERRMANN 1992 für Beeren-, Kern- und Steinobst. Um das Ziel eines hohen Gehaltes an antioxidativ wirksamen Fruchtinhaltsstoffen im Saft zu erreichen, der deutlich über den Durchschnittswerten für trüben (2,9 mmol/L Trolox) und klaren Apfelsaft (2,1 mmol/L Trolox) aus dem Handel liegt, müssen bei der Wahl der Apfelsorte möglichst hohe Gehalte an Polyphenolen angestrebt werden. So konnte beispielsweise aus der polyphenolreichen Mostapfelsorte „Bohnapfel“ ein naturtrüber Apfelsaft hergestellt werden, der eine antioxidative Kapazität inklusive der zugesetzten L-Ascorbinsäure von 7 mmol/L Trolox aufwies. Für den Einkauf zur Apfelsaftherstellung und in Konsequenz für den Anbau von Apfelsorten bedeutet dies, eine Bevorzugung der polyphenolreichen Mostapfelsorten gegenüber den in Mode gekommenen Tafelapfelsorten, wie in einigen Publikationen unter anderen Gesichtspunkten bereits gefordert (KOLB 1989, Anonymus 1997). Trotz der deutlich höheren antioxidativen Kapazität von trübem Apfelsaft gegenüber dem klaren Saft aus dem selben Obst (Trubentfernung), kann durch die Verwendung polyphenolreicher Mostapfelsorten bei der Herstellung von klarem Apfelsaft eine höhere antioxidative Kapazität erreicht werden, als bei trüben Apfelsäften aus Tafelapfelsorten. Zwar sind auch bei Verwendung von polyphenolreichen Mostapfelsorten die antioxidativen Kapazitäten von Beerensäften und –nektaren für Apfelsaft nicht erreichbar, aber der Saft wird durch die höheren Gehalte an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen wirtschaftlich aufgewertet und das Produktimage wird verbessert.

#### Entsaftung und Maischebehandlung

Die größten Verluste an antioxidativer Kapazität und Polyphenolen, die potentiell in der Apfelfrucht enthalten sind, treten bei der Entsaftung der Apfelmaische auf. Ein frischer Presssaft, mit einem Dekanter entsaftet, weist nur 43% der möglichen Polyphenol- und 32% der möglichen Ausbeute an antioxidativ wirksamen Substanzen auf. Zum einen verbleibt ein Teil der Polyphenole in der wässrigen Phase des Tresters und ist adsorbtiv an die Feststoffteilchen des Tresters gebunden, und zum anderen sind einige Polyphenole (z.B. Phloridzin, Quercetinderivate) und höher polymere Polyphenole, vor allem die Procyanidine, schlecht wasserlöslich und gehen nicht in den Saft über. Die Apfelfrucht weist sehr hohe Gehalte an oligo- und polymeren Procyanidinen auf (LEA 1979, MAYR et al. 1996, WILSKAJESZKA und PODSÊDEK 1996, GUYOT et al. 1998, LAZARUS et al. 1999). Der Einfluss der Wasserlöslichkeit der Polyphenole auf den Übergang in den Saft zeigt sich auch beim Vergleich des Polyphenolmusters, wobei die beiden Phloretin-2'-glykoside, Phloridzin (Phloretin-2'-glucosid) und Phloretin-2'-xyloglucosid, exemplarisch betrachtet werden sollen. Der Anteil des Phloridzins, das mit einem Monosaccharid glykosidisch verbunden ist, am Polyphenolmuster ist im ethanolischen Maischeextrakt doppelt so hoch wie im Saft, während der Anteil des besser wasserlöslichen Phloretin-2'-xyloglucosids, das mit ein Disaccharid glykosidisch verbunden ist, etwa gleich bleibt. Wird die Maische erwärmt, erhöht sich die Löslichkeit der schlecht wasserlöslichen Polyphenole und führt damit zu einem Anstieg des Gehaltes an Polyphenolen, wie von LEA und TIMBERLAKE 1978, SPANOS et al. 1990 und

SCHOLS et al. 1991 beschrieben. Mit dem Polyphenolgehalt steigt dann ebenfalls die antioxidative Kapazität des Saftes. Allerdings nimmt auch die Bitterkeit und Adstringenz des Saftes zu (LEA und TIMBERLAKE 1978). Generell wird Apfelsaft, der aus einer erwärmten Maische hergestellt wurde, sensorisch als fehlerhaft und untypisch beschrieben (ZIMMER 1996).

Ein weiterer Einflussfaktor für den Übergang der Polyphenole aus der Apfelfrucht in den Saft ist die Maischevorbehandlung und das verwendete Entsaftungssystem. Bei einer Standzeit wie auch einer Maischeerwärmung ist Apfelmaische vielfältigen enzymatischen Umsetzungen und physikalischen Veränderungen ausgesetzt (NAGEL 1992, ZIMMER 1996). Daher ist man bei der Fruchtsaftherstellung bestrebt, eine möglichst kurze Standzeit der Maische zu erreichen (BINNIG 1992, NAGEL 1992). Es zeigt sich jedoch, dass die positiven Effekte der Zellauflösung durch den Abbau fruchteigener Pektinasen während einer Maischestandzeit und die dadurch bedingte bessere Extrahierbarkeit der Polyphenole aus der Maische, die negativen Effekte der enzymatischen und nicht-enzymatischen Oxidation während der Standzeit und die dadurch bedingten Verluste an Polyphenolen, mehr als aufwiegen. Trotz des Verlustes an antioxidativer Kapazität durch die Oxidation von etwa 30% (siehe 5.2.1.6.) ist die Steigerung der Extraktion der Polyphenole (Gesamtphenolgehalt) bei einer Maischestandzeit von etwa 100% so groß, dass insgesamt eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität des Presssaftes um etwa 50% herauskommt. Hier zeigt sich auch der methodische Unterschied zwischen einer Extraktion der Maische mit Ethanol, die in ihrer Effektivität durch die enzymatischen Veränderungen in der Maische nicht beeinflusst wird, und einem Entsaftungsverfahren, das durchaus von den Prozessen in der Maische beeinflusst wird. Eine Maischestandzeit von max. 1 Stunde bei der Apfelsaftherstellung aus frischen Äpfeln erbringt eine höhere antioxidative Kapazität des Presssaftes und beeinflusst die Saftqualität nicht negativ, da sich die mit Maischestandzeit hergestellten Säfte trubstabil und sensorisch fehlerlos zeigten. Eine Erhitzung der Apfelmaische auf 60°C für dreißig Minuten verhindert die enzymatische Oxidation, da bei dieser Temperatur die fruchteigenen Polyphenoloxidasen inaktiviert werden (WALKER 1964). Außerdem kommt es in der Maische zu einer Thermoplasmodese, zu einem thermisch bedingten Aufplatzen der Zellen, wodurch die Polyphenole freigesetzt und bei der Entsaftung besser extrahiert werden. Dadurch und durch die erhöhte Löslichkeit schlecht wasserlöslicher Polyphenole bei höheren Temperaturen wird ein höherer Polyphenolgehalt im Saft erreicht, was sich mit den Untersuchungen von SPANOS et al. 1990 deckt. Zudem besitzt der Saft bei einer Maischeerhitzung ein komplexeres Polyphenolmuster. Höhere Temperaturen bedingen eine Inaktivierung aller in der Maische enthaltenen Enzyme (SPANOS et al. 1990) und führen ebenfalls zu dem Effekt der Zellauflösung durch Thermoplasmodese, verursachen aber einen starken thermisch induzierten Abbau von Polyphenolen. Die Erhitzung der Maische auf 60°C für 30 min scheint aufgrund der erhöhten Polyphenolabgabe und der Inaktivierung der Polyphenoloxidasen günstig zu sein, führt aber zu sensorisch inakzeptablen Säften (ZIMMER 1996). Durch eine Erhitzung des frischen Presssaftes auf 55°C konnte ebenfalls eine Inaktivierung der Polyphenoloxidasen erreicht und der Abbau von Polyphenolen im Verlauf des weiteren Herstellungsprozesses bis zur KZE verhindert werden.

Bei der Herstellung eines trüben Apfelsaftes sollte der Presssaft aber auf 80 - 90°C erhitzt werden, um alle fruchteigenen Enzyme (inkl. Pektinasen) zu inaktivieren, und anschließend sofort wieder stark heruntergekühlt werden (KZE des Presssaftes), um weitere thermische Schädigungen des Saftes zu unterbinden. Bei der Herstellung von klarem Apfelsaft kann die Temperatur des Presssaftes (50 - 60°C durch die Inaktivierung) für die nötige Enzymierung des Saftes zum Pektinabbau genutzt werden, der bei den zu erwartenden Temperaturen von ca. 40 - 50°C erheblich schneller stattfindet als bei einem nicht erhitzten Saft (10 - 20°C). Die Maische- oder Presssafterhitzung ist eine alte Technik zur Verhinderung der Oxidation von Apfelsaft und wurde schon unter verschiedenen Zielsetzungen, z.B. Trubstabilisierung, Bräunungsvermeidung, Verhindern von Nachtrübungen, empfohlen (WUCHERPFENNIG et al. 1990, NAGEL 1992, BINNIG 1992, GENOVESE et al. 1997).

Die industriellen Entsaftungssysteme, Horizontal Bucherpresse und Dekanter, ergeben bei Verwendung der gleichen, nicht enzymierten Maische, trotz der wesentlich schnelleren Entsaftung durch den Dekanter, ähnliche Ergebnisse bezüglich antioxidativer Kapazität und

Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu. HAMATSCHEK und NAGEL 1993 finden bezüglich des Gesamtphenolgehaltes vergleichbare Ergebnisse. Bei dem Versuch wurde der Dekanter nicht mit Schutzgas belegt oder ummantelt, wie dies zur Vermeidung von Oxidation vorgeschlagen wird (NAGEL 1992), und die Maische wurde nur einmal entsaftet (einstufiges Verfahren). Der Lufteintrag beim Mahlen, dem Transport der Maische und der Entsaftung selbst scheinen im Versuch für den Dekanter und die Horizontal Bucherpresse trotz der erheblich schneller Entsaftung durch den Dekanter vergleichbar zu sein. Die unterschiedlich hohen Gehalte an monomeren Polyphenolen bei den beiden Entsaftungssystemen sprechen bei keiner oder einer kurzen Standzeit der Maische für den Dekanter und bei einer längeren Standzeit für die Horizontalpresse. Warum sich die unterschiedlich hohen Gehalte an monomeren Polyphenolen in den Säften der beiden Entsaftungssysteme im Gesamtphenolgehalt und der antioxidativen Kapazität nicht widerspiegeln, kann nur spekuliert werden, hängt aber vermutlich mit den verschiedenen Entsaftungsprinzipien zusammen.

### **Standzeiten des Saftes während der Herstellung**

Apfelsaft verliert bei Standzeiten im Herstellungsprozess durch die Aktivität der fruchteigenen Polyphenoloxidasen deutlich an antioxidativer Kapazität. Diese Abnahme zeigt sich vor allem bei den monomeren Polyphenolen, da beispielsweise die Chlorogensäure durch im Saft vorhandene Polyphenoloxidasen oxidiert wird, und das entstandene Chlorogensäurechinon durch die nicht enzymatische, gekoppelte Oxidation andere Polyphenole zu oxidieren vermag (siehe auch 2.1.3.). Alle Versuche, diese Aktivität durch Erhitzung der Maische oder des Saftes zu unterbinden, waren erfolgreich. Als günstigstes Verfahren stellte sich die oben beschriebene Maischeerhitzung auf ca. 60°C für etwa 30 min und die Erhitzung des frischen Presssaftes auf ca. 55°C dar. Wegen der zu erwartenden sensorischen Mängel des Saftes bei der Maischeerhitzung kommt allerdings nur die Erhitzung des frischen Presssaftes in Frage. Durch die Behandlungen wurden die Polyphenoloxidasen inaktiviert und die antioxidative Kapazität wie auch der Gehalt an Polyphenolen blieben nach einer längeren Standzeit konstant. Aufgrund der hohen Aktivität von Polyphenoloxidasen in den meisten Apfelsorten (NICOLAS et al. 1994, WILSKAJESZKA und PODSÉDEK 1996) ist eine Inaktivierung durch Erwärmung des frischen Presssaftes während der Herstellung von Apfelsaft zum Erhalt der antioxidativen Kapazität notwendig.

### **Zugabe von L-Ascorbinsäure als Antioxidationsmittel**

Die Zugabe von L-Ascorbinsäure zum frischen Presssaft erhöht die antioxidative Kapazität, allerdings nicht in dem Maße, wie es die zugegebene Menge erwarten lässt. Ein großer Teil der L-Ascorbinsäure wird verbraucht, was bedeutet, dass sie im Saft vorliegende, eventuell bei der Herstellung entstandene Substanzen reduziert und dabei selbst oxidiert wird. Dies zeigt sich optisch in der deutlichen Aufhellung des Saftes nach der Zugabe der L-Ascorbinsäure. So steigen die Gehalte an monomeren Polyphenolen nach der Zugabe an. Das Phänomen der Rückbildung von einzelnen Polyphenolen beruht auf der Reduktion von im Saft vorliegenden Chinonen der Polyphenole durch die L-Ascorbinsäure, die dadurch verbraucht wird.

Der Anteil der L-Ascorbinsäure an der antioxidativen Kapazität von Apfelsaft kann je nach Zugabemenge beträchtlich sein. Bei Handelsproben lag dieser Anteil bei trüben Apfelsäften zwischen 17 und 55 % mit ein Mittel von immerhin 42%. Aus naturtrüben Apfelsäften mit einem L-Ascorbinsäuregehalt von 14 bzw. 38 mg/L, die im Rahmen des AIF-Projektes hergestellt wurden, konnte die Aufnahme von über 90% der gegebenen Dosis L-Ascorbinsäure beim Menschen nachgewiesen werden.

Die Zugabe der L-Ascorbinsäure kann nicht nur unter dem Aspekt der Produktqualität und –stabilität, sondern auch zum Erreichen einer höheren antioxidativen Kapazität befürwortet werden, zumal eine hohe Aufnahme von L-Ascorbinsäure positive Effekte auf die menschliche Gesundheit und im speziellen auf Risikofaktoren für Herz- und Kreislauferkrankungen hat (HEMILÄ 1992, RATH 1992).

### **Apfelsafttrub**

Über die Zusammensetzung von Apfelsafttrub sind in den letzten Jahren neue Erkenntnisse gewonnen worden (ZIMMER 1996). Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass der Apfelsafttrub eine verhältnismässig hohe antioxidative Kapazität besitzt. Bei einem Gewichtsanteil von 3 – 5%Gew (Schleudertrub) hat er einen Anteil von 30% an der antioxidativen Kapazität des trüben Saftes. Die antioxidative Wirksamkeit des Trubes beruht vermutlich zum großen Teil auf in Wasser schlecht lösliche, höher molekulare Polyphenole mit hoher antioxidativer Kapazität, z.B. oligomere oder polymere Procyanidine, die an die Trubteilchen adsorptiv oder chemisch gebunden sind. Schon die bei der Apfelsaftherstellung notwendige Entfernung des Grobtrubes durch den Separator führt mit etwa 15 – 20% zu einer deutlichen Abnahme der antioxidativen Kapazität, verringert aber auch deutlich die Geschwindigkeit der Bräunung des Saftes, die als ein Indikator für oxidative Prozesse im Saft angesehen werden kann. Diese Abnahme entspricht etwa 50 – 70% der oben beschriebenen Abnahme bei Entfernung des gesamten Trubes. Der mittlere Polyphenolgehalt von Apfelsafttrub wurde mit 18,5% bestimmt, wobei der Anteil höher molekularer Procyanidine etwa 20 – 60% betrug (ZIMMER 1996). Auch andere in den Trubteilchen enthaltenen Stoffe, wie Peptide, Fette, Fettbegleitstoffe, Carotinoide, Polysaccharide etc. (ZIMMER 1996), könnten eine antioxidative Kapazität besitzen. Seine Entfernung bedingt daher eine deutliche Abnahme der antioxidativen Kapazität des Saftes. Unter dem Gesichtspunkt einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität ist dies ein klares Argument für den trüben Apfelsaft.

Das bestätigt der Produktvergleich klarer Apfelsaft gegen trüben Apfelsaft, bei dem der trübe Saft klar im Vorteil ist, da er nicht nur wegen des Trubanteils, sondern auch wegen dem höheren Polyphenolgehalt, der schnelleren und schonenderen Herstellung und dem zulässigen und notwendigen Zusatz von L-Ascorbinsäure als Antioxidationsmittel, eine deutlich höhere antioxidative Kapazität besitzt.

### **Saftklärung**

Zur Herstellung von klarem Apfelsaft, der immer noch den Hauptteil des in Deutschland konsumierten Apfelsaftes stellt, müssen neben dem Trub auch noch gelöste höher polymere Polyphenole entfernt werden, die zu Nachtrübungen führen können (NAGEL 1985, SIEBERT 1999). Das beste Verfahren zur schonenden Klärung eines Fruchtsaftes ist die klassische Schönung mit Gelatine. Alle anderen Verfahren, wie Ultrafiltration mit anschliessender Stabilisierung mit PVPP (45 – 55%) oder Adsorberharz (55 – 65%) und die Behandlung des trüben Saftes mit Laccase/O<sub>2</sub> mit anschliessender Ultrafiltration (60 – 70%), verringern die antioxidative Kapazität und den Polyphenolgehalt erheblich stärker als die Gelatineschönung (25 – 35%). RITTER 1996 findet ähnliche Ergebnisse für die Abnahme an Polyphenolen durch die vier Behandlungsmittel zur Herstellung von klarem Apfelsaft. Vor allem die Ultrafiltration an verschiedenen Membranmaterialien mit oder ohne Verbindung von Behandlungsmaßnahmen des filtrierten Saftes wird als ein alternatives Verfahren zur Herstellung angesehen (CONSTENLA und LOZANO 1995, MANGAS et al. 1997, GOKMEN et al. 1998, ALVAREZ et al. 1998, GIRARD und FUKUMOTO 1999, ZARATE-RODRIGUEZ et al. 2000). Die möglichst effiziente Entfernung der Polyphenole wird dabei als positiv angesehen (MANGAS et al. 1997, GOKMEN et al. 1998, GIRARD und FUKUMOTO 1999). Ein weiterer Vorteil der Gelatine-Schönung ist die gezielte Entfernung der höher polymeren Polyphenole, während die monomeren Polyphenole, die keine Trübungen verursachen (LEA und TIMBERLAKE 1978, HEATHERBELL 1984, SIEBERT 1999), mit der Gelatine nicht reagieren und im Saft verbleiben. Zudem besitzt ein mit Gelatine geschönter Apfelsaft eine ausreichende Nachtrübungsstabilität auch im Vergleich mit ultrafiltriertem Säften (CONSTENLA und LOZANO 1995, RITTER 1996). Wenn also ein klarer Apfelsaft hergestellt werden soll, ist unter dem Aspekt des bestmöglichen Erhaltes der antioxidativen Kapazität des Presssaftes die klassische Schönung mit Gelatine die Methode der Wahl.

### **Pasteurisation und Wärmeeinwirkung**

Die notwendige Pasteurisation des Saftes mittels KZE zeigte keinen messbaren Effekt in den Parametern antioxidative Kapazität und Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu. Die



beiden festgestellten Phänomene der deutlichen Erhöhung der einzelnen Polyphenole, wie auch der Erhöhung des reduktometrischen L-Ascorbinsäuregehaltes und die damit verbundene Aufhellung des Saftes nach der Pasteurisation mittels KZE, wurde auch von SPANOS et al. 1990 bei frischem Presssaft festgestellt. Die Ergebnisse widersprechen allerdings den von HERNANDEZ et al. 1997 beschriebenen Abnahmen der Gehalte einzelner Polyphenole nach Wärmebehandlung (120°C, 20 min und 105°C, 45s). Die Autoren finden eine deutliche Reduktion nach beiden Behandlungen, wobei speziell die Flavan-3-ole nach einer Wärmebehandlung nicht mehr nachweisbar sind. Erstaunlicherweise ist die Reduktion nach der kurzen Wärmebehandlung bei 105°C wesentlich geringer als bei der längeren Behandlung von 20 min bei der höheren Temperatur von 120°C. Die Autoren führen dies auf eine „Aktivierung“ von Enzymen durch die kurze Wärmebehandlung zurück. Grund für diese erheblichen Unterschiede in den Ergebnissen könnten in der Herstellung des untersuchten Saftes liegen. Die Autoren benutzten einen Haushaltsensaft, keine Separation und keine L-Ascorbinsäure als Antioxidationsmittel. Daher könnte der beschriebene Effekt durch die Reaktion der monomeren Polyphenole mit den Trubpartikeln (Oxidation durch Enzyme, Adsorption etc.) gefolgt von einem Ausfallen der in der Wärme präzipitierenden Partikel liegen, zudem der Saft in einem nicht geschlossenen System (keine Limitierung des Sauerstoffs) erhitzt wurde. Dies ist aber bei der KZE sowie der Flaschenpasteurisation weitgehend der Fall. Aufgrund der Herstellungsweise des Saftes, die äußerst praxisfern ist, werden die Ergebnisse als unrealistisch angesehen.

Der in der vorliegenden Arbeit gefundene Effekt beruht vermutlich auf in der Wärme entstehende Reduktone, die sowohl die im Saft vorhandene L-Dehydroascorbinsäure als auch, ähnlich wie die L-Ascorbinsäure selbst, die durch oxidative Prozesse entstandenen Chinone der Polyphenole wieder zu reduzieren vermögen. Weiterhin werden wahrscheinlich durch die Wärmeeinwirkung zuvor gebundene Polyphenole oder reduktiv wirksame Substanzen freigesetzt. Eine längere Wärmeeinwirkung auf Apfelsaft stützt die Annahme über die Rolle von durch Wärmeeinwirkung entstehenden Produkten, da hier die antioxidative Kapazität des Saftes ansteigt, aber der Gesamtphenolgehalt sinkt. Die Verringerung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu könnte ihre Ursache in der thermisch bedingten Kondensation und Polymerisation von Polyphenolen und anderen Saftinhaltsstoffen haben. Diese sind zwar antioxidativ wirksam, werden aber von der Methode nicht erfasst, so dass sich auch der Anstieg der monomeren Polyphenole nicht in der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu niederschlägt. Allerdings ist bei längerer Wärmeeinwirkung in einem offenen System, wie etwa bei einem Konzentrationsprozess, eine Umkehrung des Effektes zu erwarten. Diese Vermutung bestätigt sich bei der Untersuchung von aus Konzentrat hergestellten Säften, in denen keine Flavan-3-ole mehr nachweisbar waren, wie von HERNANDEZ et al. 1997 in ihren Experimenten beschrieben. Die bei längerer Wärmeeinwirkung im Saft entstehenden Produkte aus Zuckern, Eiweißen und eventuell auch Polyphenolen, wie Maillard-Produkte oder Reduktone, scheinen antioxidativ wirksam zu sein (ANESE et al. 1996, PISCHETSRIEDER et al. 1998, MONTI et al. 1999), und zwar in stärkerem Maße als die monomeren Polyphenole allein, was das leichte Ansteigen der antioxidativen Kapazität erklären könnte. Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität eines im Handel erhältlichen Zuckerkulörs, dessen tiefschwarze Farbe auf Maillard-Produkte von Zucker zurückzuführen ist, war ein weiterer Beleg für diese Vermutung. Im Gegensatz zu einer Zuckerlösung, die keine antioxidative Kapazität besitzt, hatte der Zuckerkulör eine antioxidative Kapazität von extrem hohen 273 mmol/L Trolox. Ähnliche Mechanismen könnten für die scheinbare Erhöhung des L-Ascorbinsäuregehaltes bei einer reduktometrischen Bestimmung (Erfassung entstandener Reduktone) nach einer Pasteurisation verantwortlich sein. Ob diese bei Wärmeeinwirkung entstehenden und im verwendeten Testsystem antioxidativ wirksamen Substanzen auch eine antioxidative Wirkung im biologischen System besitzen, ist bisher nicht geklärt.

Längere Hitzeeinwirkung führte zwar zu einer leichten Erhöhung der antioxidativen Kapazität, verschlechterte aber die Produktqualität durch Bräunung (LOZANO und IBARZ 1997) und Trubdestabilisierung erheblich. Die KZE ist die schonendste und geeignetste Methode.

### Lagerung

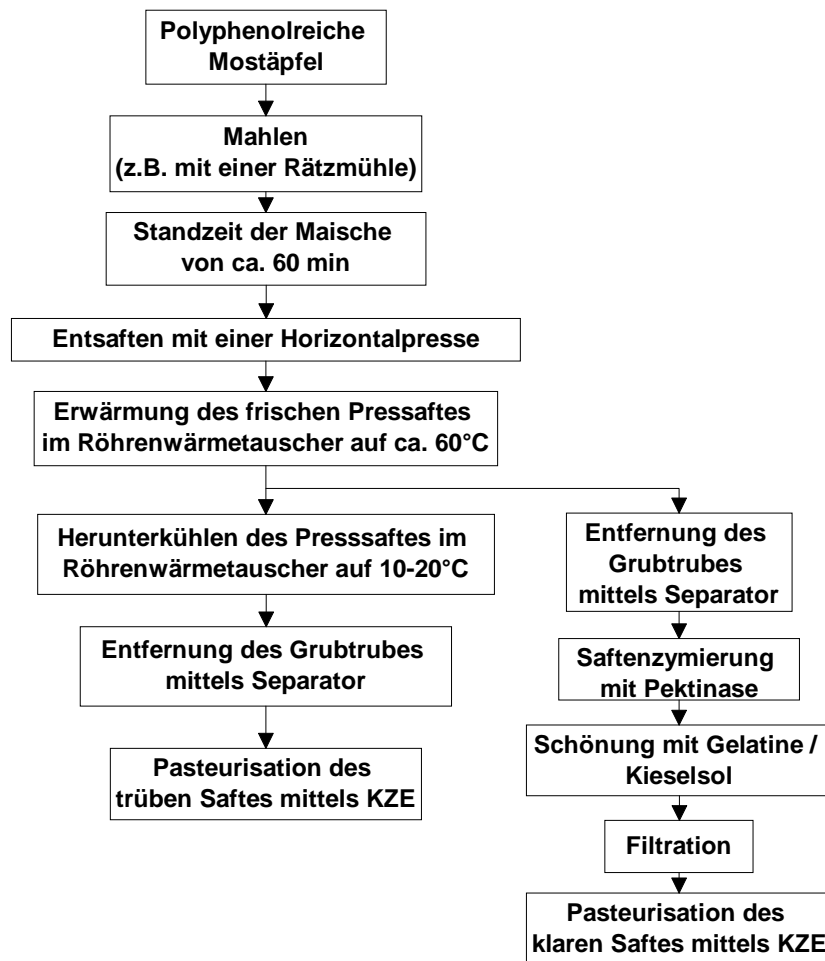
Während der Lagerung kommt es zu weitreichenden Veränderungen im Saft, was sich an einer zunehmenden Bräunung und bei trübem Apfelsaft zusätzlich in einer steigenden Instabilität des Trubes zeigt. Die meisten Untersuchungen zur Lagerung von Apfelsaft fokussieren auf den Anstieg der Bräunung und die Stabilität des Trubes bzw. das Auftreten von Trübungen nach einer bestimmten Behandlung des Saftes (CONSTENLA und LOZANO 1995, ALVAREZ et al. 1996, GAO et al. 1997, BEVERIDGE 1997, GOKMEN et al. 1998). Diese Bräunung während der Lagerung folgt nach IBARZ et al. 1992, bestimmt durch die Messung der Extinktion bei 440 nm, einer Kinetik 0. Ordnung (linearer Anstieg der Bräunung mit der Zeit), während die Bildung des Bräunungsindikator HMF (5-Hydroxymethylfurfural) einer Kinetik 1. Ordnung (exponentieller Anstieg mit der Zeit) folgt. Bei klarem Apfelsaft verändert sich die antioxidative Kapazität auch bei einer Lagerung unter extremen Bedingungen nicht signifikant, obwohl der Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu wie auch die Gehalte der monomeren Polyphenole deutlich abnehmen. Beim trüben Saft ist zwar eine deutliche Abnahme festzustellen, die aber vermutlich nur auf das Ausfallen des ebenfalls antioxidativ wirksamen Trubes zurückzuführen ist. Die Ergebnisse in Bezug auf die antioxidative Kapazität entsprechen den Lagerungsversuchen von MILLER et al. 1995, die bei der Lagerung von Apfelsaft ohne L-Ascorbinsäure ebenfalls einen konstanten Wert für die antioxidative Kapazität fanden und bei Apfelsaft mit L-Ascorbinsäurezusatz eine Abnahme der antioxidativen Kapazität, die mit der Abnahme der L-Ascorbinsäure im Saft korrelierte. Die deutliche Reduktion der Polyphenole im Verlauf der Lagerung bestätigt die Ergebnisse von SPANOS et al. 1990, die nach einer neunmonatigen Lagerung von Apfelsaft bei 25°C eine Abnahme der Hydroxycimtsäuren um 36%, der Phloretinderivate um 60% und einen völlig Verlust der Procyanidine feststellten. Um so mehr erstaunt trotz der extremen Lagerbedingungen und die darausfolgende deutliche Abnahme der Polyphenole im Saft die Konstanz der antioxidativen Kapazität beim klaren Apfelsaft. Dies ist vermutlich auf ähnliche Phänomene zurückzuführen, wie die Erhöhung der antioxidativen Kapazität beim längeren Erhitzen des Apfelsaftes (Kondensation und Polymerisation der Polyphenole etc.). Die während der Lagerung unter anderem entstehenden Maillard- und Bräunungsprodukte weisen wahrscheinlich eine antioxidative Kapazität auf (ANESE et al. 1996), die die Verluste an einzelnen Polyphenolen und deren antioxidativer Kapazität zu kompensieren vermögen. Des Weiteren kommt es während der Lagerung durch eine langsame Oxidation zu Kondensations- und Polymerisationsreaktionen der Polyphenole untereinander. Diese Polymere besitzen eventuell eine höhere antioxidative Kapazität als die Summe ihrer einzelnen Bausteine, was ebenfalls ein Grund für die Konstanz der antioxidativen Kapazität sein könnte.

Ob derartige durch Erhitzung oder längere Lagerung im Apfelsaft entstehenden antioxidativ wirksamen Substanzen, z. B. Maillardprodukte, höher polymere oder kondensierte Polyphenole, auch im biologischen System antioxidativ wirksam sind, ob sie überhaupt bioverfügbar und wenn ja, auch im Organismus eine antioxidative Wirkung entfalten, bleibt noch zu klären.

### Schlußfolgerungen

Zur Herstellung eines Apfelsaftes mit einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität bei guter Saftqualität und –stabilität kommt als Endprodukt nur trüber Apfelsaft in Frage. Basierend auf den Untersuchungsergebnissen wird folgendes Herstellungsschema für trüben und klaren Apfelsaft vorgeschlagen (Diagramm 4):

Der naturtrüber Apfelsaft ist zudem in Hinblick auf Geschmack (BINNIG 1992, NAGEL 1992) und Verträglichkeit (HOEKSTRA et al. 1995) dem klaren Apfelsaft vorzuziehen.



**Diagramm 4:** Herstellungsschema für trüben und klaren Apfelsaft unter dem Aspekt der Erhaltung einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität

### 6.3.2. Schwarze Johannisbeere

Generell ist anzumerken, dass sich der schwarze Johannisbeersaft während der Herstellung als stabiler und weniger anfällig für Veränderungen erweist als Apfelsaft. Grund hierfür könnte einerseits die Schutzfunktion der L-Ascorbinsäure sein, und andererseits die Inaktivierung fruchteigener Polyphenoloxidasen durch die Maischeerhitzung im Zuge der Maischeenzymierung. Zudem ist der Saft wegen seines hohen Polyphenol- und L-Ascorbinsäuregehaltes, auch nach der nötigen Verdünnung zum Nektar, eine deutlich bessere Quelle für antioxidativ wirksame Substanzen als der Apfelsaft. Bei den Bioverfügbarkeitsstudien im Rahmen des AIF-Projektes konnte sowohl der Aufnahme der Anthocyanglykoside wie auch der L-Ascorbinsäure aus einem schwarzem Johannisbeersaft, der hohe Gehalten an diesen antioxidativ wirksamen Substanzen besaß, in den menschlichen Organismus nachgewiesen werden.

#### Schwarze Johannisbeersorten

Die Säfte aus verschiedenen Johannisbeersorten unterscheiden sich bei gleicher Herstellung teilweise recht deutlich. Die antioxidative Kapazität variiert zwischen 25 und 40 mmol/L (Mittelwert 32,4 mmol/L Trolox). Der zweite wichtige Faktor zur Nektarherstellung der Gesamtsäuregehalt schwankt zwischen 34 g/L und 41 g/L berechnet als Citronensäure. Zur Herstellung eines genießbaren Nektars mit einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität sind ein möglichst hoher Fruchtgehalt und ein möglichst hoher Gehalt an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen, Polyphenole und L-Ascorbinsäure, notwendig. Für den

Johannisbeermuttersaft bedeutet dies, einen niedrigen Gesamtsäuregehalt und hohe Gehalte an Polyphenolen und L-Ascorbinsäure. Für zwei Nektare, die auf einen Gesamtsäuregehalt von 10 g/L eingestellt werden, hat derjenige Nektar aus einer Sorte die diese Vorgaben gut erfüllt, wie etwa Ben Lomond, eine 50% höher antioxidative Kapazität als derjenige Nektar aus einer Sorte, etwa Titania, die diese Vorgaben weniger gut erfüllt. Ein zu hoher Gesamtsäuregehalt muss dabei allerdings unter zahnmedizinischen Gesichtspunkten als kritisch angesehen werden (HUGHES et al. 1998, WEST et al. 1999). Die Wahl der richtigen Sorte ist auch beim schwarzen Johannisbeersaft bzw. dem genießbaren Produkt schwarzer Johannisbeernektar am wichtigsten für das Ziel einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität.

### Herstellungsprozess

In einem Herstellungsprozess von Entsaftung (Horizontalpresse) der enzymierten Maische über Separation zur Pasteurisation mittels KZE betragen die Verluste von antioxidativer Kapazität, Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu und L-Ascorbinsäuregehalt nur zwischen 2 und 10%, während der Farbwert bei 520 nm/cm um 24% erheblich stärker abnimmt. Die Verluste werden hauptsächlich durch die Separation des Saftes verursacht. Der Farbverlust spiegelt sich allerdings nicht in den Gehalten der monomeren Anthocyane wider, die wiederum bei der KZE eine erheblich stärkere Abnahme zeigen als die anderen Parameter, was auf deren starke Wärmeempfindlichkeit zurückgeführt wird (EDER 1996a, CLIFFORD 2000). Wie beim Apfelsaft wird die antioxidative Kapazität durch eine Pasteurisation mittels KZE nicht signifikant verändert.

Dass der Gehalt der monomeren Anthocyane bis zur KZE relativ konstant ist und sogar ansteigt, kann einerseits auf den Oxidationsschutz durch die L-Ascorbinsäure und andere Polyphenole und andererseits auf die kontinuierliche Freisetzung von monomeren Anthocyanen aus Zellfragmenten durch im Saft weiterhin tätige Pektinasen zurückgeführt werden. Der Grund für den Farbverlust kann daher nicht bei den monomeren Anthocyanen liegen, sondern bei polymerisierten und kondensierten Anthocyanen und Anthocyanderivaten. Über die Wechselwirkungen von Anthocyanen und L-Ascorbinsäure in schwarzen Johannisbeerprodukten, die bei diesem Phänomen sicherlich eine Rolle spielen, ist bereits mehrfach berichtet worden (MORTON 1968, SKREDE et al. 1992, EDER 1996a, IVERSEN 1999).

Bei der Bewertung der prozentual geringeren Verluste an antioxidativer Kapazität und Polyphenolen beim schwarzen Johannisbeersaft und auch den nachfolgenden stark rotgefärbten Fruchtsäften im Vergleich zum Apfelsaft ist zu beachten, dass diese Säfte erheblich höhere Gehalte an antioxidativ wirksamen Substanzen haben, so dass gleiche oder höhere Verluste als absoluter Wert (z.B.  $-1$  mmol/L Trolox) einen wesentlich geringeren prozentual Verlust ergeben als beim Apfelsaft.

### Entsaftung und Nachextraktion

Die Ausbeute an antioxidativer Kapazität und Polyphenolen ist bei der Entsaftung von Johannisbeermaische deutlich höher als beim Apfelsaft. Bei der antioxidativen Kapazität ist die Ausbeute fast doppelt so hoch. Dies liegt zum einen an der Erwärmung der Maische und der Zugabe von pektinabbauenden Enzymen, was zu einer verbesserten Extraktion der Polyphenole durch die enzymbedingte Zellauflösung (DONGOWSKI und BOCK 1987) führt. Zum anderen sind die antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffe der schwarzen Johannisbeere, die Polyphenole, speziell die Anthocyane, und die L-Ascorbinsäure, besser wasserlöslich als die antioxidativ wirksamen Substanzen des Apfels, was außerdem durch die Entsaftung bei höherer Temperatur noch begünstigt wird. Beispielsweise liegen Anthocyane bei dem im Saft herrschenden pH-Wert (pH  $\sim$ 3) zum Teil kationisch (Flavyliumkation siehe 2.1.1.) vor und sind daher sehr gut wasserlöslich. Die Maischeerwärmung und -enzymierung ist daher auch unter dem Aspekt der Saftausbeute und der Extraktion antioxidativ wirksamer Polyphenole empfehlenswert. Zudem werden wahrscheinlich durch die Temperatur von 55°C über 60 min auch fruchteigene Polyphenoloxidasen inaktiviert.

Bei der Herstellung von schwarzem Johannisbeersaft ist die Extraktion des Tresters üblich. Es konnte gezeigt werden, dass beträchtliche Menge Polyphenole im Nachextrakt enthalten sind, allerdings in einer anderen Zusammensetzung als im Presssaft.

Durch die Zuführung der relativ gesehen höheren Menge farbloser Polyphenole zu einem schwarzen Johannisbeersaft bei der Vereinigung mit dem Nachextrakt zu schwarzem Johannisbeer-Muttersaft nimmt der Anteil der farblosen Polyphenole gegenüber den Anthocyanen zu. Aufgrund der Stabilisierung der Anthocyane und Erhöhung der Farbintensität durch die farblosen Polyphenole mittels Copigmentierung (MAZZA und BROUILLARD 1987, MACCARONE und PASSERINI 1990, LIAO et al. 1992, WILSKAJESZKA und KROZUCHOWSKA 1996a, CLIFFORD 2000) wird die Praxis der Nachextraktion im Hinblick auf die Produktqualität befürwortet, obwohl die antioxidative Kapazität des Muttersaftes (Presssaft + Nachextrakt) gegenüber dem Presssaft abfällt.

### **Trubentfernung (Separation und Schönung)**

Die Separation verursacht beim schwarzen Johannisbeersaft eine geringere Abnahme der antioxidativen Kapazität als beim Apfelsaft. Dies beruht auf der im Verhältnis zum Trub höheren Konzentration der in der wässrigen Phase gelösten antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffe im schwarzen Johannisbeersaft. Der Anteil des Trubes an der antioxidativen Kapazität von Beerensäften ist geringer als beim Apfelsaft. Unterschiede in der Zusammensetzung des Trubes könnten ebenfalls eine Rolle spielen.

Auch die Schönung mit Gelatine zeigt einen geringeren Effekt (-5%) als beim Apfelsaft, was auf dieselben Gründe zurückzuführen ist. Ein weiterer Vorteil der Gelatine-Schönung ist die Erhaltung der Farbe der Beerensäfte, was sich unter anderem daran zeigt, dass die Gehalte an monomeren Anthocyanen durch die Gelatine nicht verändert werden, was sich mit anderen Untersuchungen deckt (HEATHERBELL 1984). Andere mögliche Behandlungsmittel, wie PVPP und Bentonit, haben diesen Vorteil nicht und führen zudem zu einer stärkeren Abnahme der antioxidativen Kapazität. Sie finden allerdings auch in der Praxis der schwarzen Johannisbeersaftherstellung keine Verwendung. Bei anderen in der Literatur vorgenommenen Schönungen von farbigen Beerensäften mit Gelatine (ROMMEL et al. 1992, EDER 1996c) wurde zusätzlich noch Bentonit eingesetzt, was die dort beschriebene Abnahme von Farbe und Anthocyanengehalt verursacht.

Die Gelatine-Schönung ist zur Herstellung eines klaren schwarzen Johannisbeersaftes eine geeignete und schonende Methode.

### **Konzentratherstellung**

Die Herstellung von Konzentrat verursacht, wenn der Ausgangssaft und der aus dem Konzentrat hergestellte Saft bei gleicher Dichte verglichen werden, keine Veränderung der antioxidativen Kapazität. Allerdings hat der Saft aus Konzentrat eine deutlich geringere Farbintensität und weist eine erhebliche Abnahme in den Gehalten an monomeren Polyphenolen, insbesondere Anthocyanen, auf. Die Anthocyane gehen besonders stark wärmeinduzierte Polymerisations- und Kondensationsreaktion ein, was zu dem Farbverlust im Saft aus Konzentrat führt. Der gebundene Zucker scheint eine wichtige Rolle für die Stabilität des Anthocyanglykosids zu spielen. Die Anthocyanrutoside sind stabiler als die Anthocyanoglucoside. Als Vergleichsdaten zur Stabilität der Anthocyane im schwarzen Johannisbeersaft soll die Abnahme der einzelnen Anthocyane bei Lagerungsversuchen dienen. Bei Lagerversuchen von schwarzen Johannisbeersäften fand TAYLOR 1989 ähnliche Ergebnisse, während in neueren Untersuchungen zur Stabilität von Anthocyanen bei der Lagerung nur geringfügige (EDER 1996a) oder gar keine (IVERSEN 1999) Unterschiede in der Stabilität der einzelnen Anthocyane des schwarzen Johannisbeersaftes gefunden wurden, wobei EDER 1996a eine unterschiedlich starke Abhängigkeit der Stabilität der einzelnen Anthocyane von der Temperatur fand. Die Abnahme der Anthocyane folgte dabei einer Kinetik 1. Ordnung.

Die Abnahme durch den Konzentrierungsprozess ist ähnlich hoch wie bei einer sechsmonatigen Lagerung von schwarzem Johannisbeernektar bei 20°C (IVERSEN 1999). Die Konstanz der antioxidativen Kapazität zeigt allerdings, dass bei den durch Hitze- und Sauerstoffeinwirkung bedingten Reaktionen der Anthocyane mit anderen Substanzen zwar

die Farbe verloren geht, aber ihre antioxidative Kapazität nicht. Allerdings bleibt zu bedenken, dass über die Bioverfügbarkeit wie auch die antioxidative Wirkung im biologischen System höher polymerer Polyphenole nichts bekannt ist. Daher wird die starke Reduktion der monomeren Anthocyane durch den Konzentrationsprozess als negativ angesehen und nicht für die Produktion von schwarzem Johannisbeernektar empfohlen. Hierfür ist der Direktsaft die deutlich bessere Basis. Es ist sehr wahrscheinlich, dass höhermolekulare Polyphenole schlechter bioverfügbar sind als niedermolekulare Polyphenole. Allerdings ist über die Rolle des gastro-intestinal Traktes, in dem eine Spaltung der höherpolymeren Polyphenole möglich wäre, kaum etwas bekannt. Der saure Magensaft könnte ein möglicher Ort für eine Spaltung solcher polymerer Substanzen sein, wie es für Procyanidine bereits nachgewiesen wurde (SPENCER et al. 2000).

### 6.3.3. Holunder

Holundersaft ist eine ausgezeichnete Quelle für antioxidativ wirksame Substanzen. Sein Vorteil im Vergleich zu allen anderen stark rot gefärbten Fruchtsäften liegt zudem in seinem geringen Gesamtsäuregehalt, der es erlaubt, den Saft unverdünnt zu sich zu nehmen, wobei das eigenwillige Aroma des Holunders Geschmackssache ist. So werden mit einem Glas frisch hergestelltem Holundersaft (0,2 L) etwa 1,5 g Polyphenole aufgenommen. Das die Anthocyane des Holundersaftes bioverfügbar sind, ist bereits berichtet worden (MIYAZAWA et al. 1999a, NETZEL 1999a). In einigen neueren Untersuchungen über die Bioaktivität und den Metabolismus von Anthocyanen wurden Extrakte des Holunders wegen des hohen Gehaltes an Anthocyanen verwendet (MIYAZAWA et al. 1999a, YODIM et al. 2000)

#### Herstellungsprozess

Holundersaft zeigt sich während des Herstellungsprozesses ähnlich stabil wie schwarzer Johannisbeersaft. Von Entsaftung (Horizontalpresse) über Separation bis zur Pasteurisation mittels KZE liegen die Verluste an antioxidativer Kapazität, Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu und Farbwert E 520 nm/cm zwischen 8 und 12%. Die Gehalte der monomeren Anthocyane nehmen während des Herstellungsprozesses stark ab (-28%), was sich aber nicht in ähnlichem Maß im Farbwert E 520 nm/cm (-8%) widerspiegelt. Grund hierfür könnte die im Vergleich zum schwarzen Johannisbeersaft fehlende Wechselwirkung mit der L-Ascorbinsäure sein. Die monomeren Anthocyane reagieren im Holundersaft zu höher molekularen Derivaten, die scheinbar eine stärkere Farbtintensität als die Monomere besitzen.

Ein Vergleich der Ergebnisse mit den Ergebnissen der Untersuchung über die Anthocyanverluste bei Herstellung von Holundernektar EDER 1996c ist wegen des unterschiedlichen Prozessschema, der anderen Bezugsgröße (die frischen Holunderbeeren) und der ausschließlichen Betrachtung der Anthocyane schwierig, stimmen aber in der Tendenz etwa überein, wenn der hohe Anteil der Anthocyane am Gesamtphenolgehalt und der antioxidativen Kapazität (ca. 50%) berücksichtigt wird.

Der außerordentlich hohe Polyphenol- und Anthocyanengehalt des Holundersaftes macht ihn zu einer ausgezeichneten Quelle ebendieser Substanzen in der menschlichen Ernährung.

#### Lagerung

Nach einer längeren Lagerung im Stahltank nehmen die antioxidative Kapazität, der Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu wie auch die Gehalt der einzelnen Polyphenole ab. Die Abnahme von antioxidativer Kapazität wie auch Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu beruht zum Teil, ähnlich wie beim trüben Apfelsaft, auf einem Ausfallen von Trub aus dem Saft, der nur separiert und nicht geschönt war.

Besonders stark bei den monomeren Polyphenolen ist die Abnahme der Chlorogensäure, während sich die Gehalte der Quercetin-3-glykoside kaum verändern. Diese starke Abnahme der Chlorogensäure könnte durch eine Reaktion mit den Anthocyanen bedingt sein, was aber nur eine vage Hypothese ist. Es ist bekannt, dass die Chlorogensäure mit Anthocyanen Copigmentierungsreaktionen eingeht (WILSKA-JESZKA und KROZUCHOWSKA 1996), also

den im Holundersaft in großer Menge vorhandenen Anthocyanen durch die molekulare Nähe durchaus auch für andere Reaktionen zur Verfügung stehen könnte. Die Gehalte der beiden monomeren Hauptanthocyane nehmen unterschiedlich stark ab, wobei der Verlust des Cyanidin-3-glucosid im Verhältnis deutlich höher ist als der Verlust an Cyanidin-3-sambubiosid. Diese Unterschiede in der Stabilität der beiden Anthocyane decken sich mit Untersuchungsergebnissen anderer Autoren (EDER 1996c, YOAV et al. 1996). Auch der bestimmte Verlust der Summe aller monomeren Anthocyane (-17%) stimmen ungefähr mit den Daten von EDER 1996c überein, wobei dort die prozentuale Abnahme nicht auf den Gehalt an monomeren Anthocyanen im eingelagert Saft, sondern auf den Gehalt an monomeren Anthocyanen in den Beeren berechnet wurde.

#### 5.3.4. Brombeere

Die antioxidative Kapazität und der Polyphenolgehalt von Brombeersaft sind erheblich niedriger als die der bereits diskutierten Beerensäfte, aber immer noch deutlich höher, auch als Endprodukt Brombeernektar, als die entsprechenden Werte von Apfelsaft.

##### Herstellungsprozess

Brombeersaft ist während des Herstellungsprozesses von Entsaftung (Horizontalpresse) über Separation zur Pasteurisation mittels KZE weniger stabiler als die beiden zuvor diskutierten Beerensäfte. Die Verluste an antioxidativer Kapazität, Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu, Farbwert E 520 nm/cm und der Gehalt an monomeren Polyphenolen, der im Falle des Brombeersaftes mit dem Gehalt an monomeren Anthocyanen identisch ist, liegen um die 20%. Die Abnahme der Anthocyane, die auch die Hauptursache für die Abnahme der anderen Parameter zu sein scheint, begründet sich wie beim Holundersaft eventuell auf das weitgehende Fehlen des Oxidationsschutzes durch L-Ascorbinsäure und das Fehlen von anderen monomeren farblosen Polyphenolen, die die Anthocyane im Brombeersaft durch Copigmentierung zu stabilisieren vermögen. Auf die geringe Stabilität der Anthocyane im Brombeersaft weisen auch die Ergebnisse bei der Herstellung und Lagerung von Brombeersaft und –wein von ROMMEL et al. 1992 hin.

##### Schönung

Die Schönung mit Gelatine beeinflusst die antioxidative Kapazität und den Polyphenolgehalt nur geringfügig (-5%). Vor allem der Farbwert E 520 nm/cm und die Gehalte an monomeren Polyphenolen (Anthocyanen) werden durch die Schönung nur sehr geringfügig bzw. gar nicht verändert. Wie beim schwarzen Johannisbeersaft ist die Gelatine-Schönung zur Herstellung eines klaren Brombeersaftes eine geeignete und schonende Methode.

#### 6.3.5. Sauerkirsche

Die antioxidative Kapazität und der Polyphenolgehalt von Sauerkirschsft liegen etwa im Bereich des Brombeersaftes. Wie die Untersuchung von Sauerkirschnektaren aus dem Handel zeigt, ist die antioxidative Kapazität im Endprodukt Sauerkirschnektar durch den im Durchschnitt höheren Fruchtgehalt (bis 60%) etwa mit der von schwarzem Johannisbeernektar vergleichbar.

##### Herstellungsprozess

Während eines Herstellungsprozesses von Entsaften der gequetschten Kirschen (Horizontalpresse) über Separation und Pasteurisation mittels KZE betragen die Verluste von antioxidativer Kapazität, Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu und dem Farbwert E 520 nm/cm um die 15%. Damit ist der Sauerkirschsft während des Herstellungsprozesses etwas stabiler als Brombeersaft, aber weniger stabil als schwarzer Johannisbeersaft und Holundersaft. Eine Pasteurisation des frischen Presssaftes wäre eventuell zur Reduktion der Verluste während der Herstellung zu empfehlen, da bei der Herstellung des

Sauerkirschsaftes keine Erwärmung der Maische und damit teilweise Inaktivierung fruchteigener Polyphenoloxidasen vorgenommen wird. Der Sauerkirschsaft oder -nektar stellt wie die meisten stark farbigen Säfte eine gute Quelle für Polyphenole in der menschlichen Ernährung dar.

### 6.3.6. Stachelbeere

Die antioxidative Kapazität und der Polyphenolgehalt von Stachelbeersaft, ein nicht stark rotgefärbter Beerensaft, sind deutlich niedriger als bei den untersuchten stark rotgefärbten Beerensäften Holunder, schwarze Johannisbeere und Brombeere. Die Werte liegen etwa im Bereich von Apfelsaft.

#### Herstellungsprozess

Über den gesamten Herstellungsprozess zum pasteurisierten Stachelbeernektar in der Flasche beträgt der Verlust an antioxidativer Kapazität über 70%. Der Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu nimmt weniger stark um etwa 40% ab. Grund hierfür könnte die bereits beschriebene Diskrepanz zwischen der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu und der Bestimmung der antioxidativen Kapazität sein. Die größten Verluste verursachen die Schönung mit Gelatine inklusive der Standzeit über Nacht und die beiden Filtrationen. Die Verluste bei der Schönung werden nur zum Teil auf die Gelatine selbst jedoch hauptsächlich auf die Oxidation im Verlauf der Standzeit über Nacht zurückgeführt. Die hohen Verluste während der Prozessführung zeigen wie wichtig eine zügige Herstellung und die Beachtung bzw. Verhinderung von Oxidationsvorgängen zur Produktion eines unter den hier angewendeten Gesichtspunkten qualitativ hochwertigen Getränkes ist.

### 6.3.7. Fruchtweine

Nimmt man die antioxidative Kapazität der verbrauchsfertigen Fruchtweine, ergibt sich folgende Reihenfolge mit absteigender antioxidativer Kapazität: Holunderwein aus Konzentrat (40,1 mmol/L Trolox) > Heidelbeerwein aus Konzentrat (23,4 mmol/L Trolox) > Brombeerwein aus Konzentrat (12,1 mmol/L) > schwarzer Johannisbeerwein aus Konzentrat (9,7 mmol/L Trolox) > Sauerkirschwein (9,2 mmol/L Trolox) > schwarzer Johannisbeerwein (7,0 mmol/L Trolox) > Brombeerwein (6,1 mmol/L Trolox) > Apfelwein aus Mostobst (5,4 mmol/L Trolox) > roter Johannisbeerwein aus Konzentrat (3,9 mmol/L Trolox) > Apfelwein aus Konzentrat (1,4 mmol/L Trolox) > roter Johannisbeerwein (1,2 mmol/L Trolox).

Die Ergebnisse stimmen teilweise und in der Tendenz mit den Ergebnissen von HEINONEN et al. 1998a überein, wobei die Autoren ein anderes Testsystem zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität verwendeten.

Bis auf den Holunder- und den Heidelbeerwein liegt die antioxidative Kapazität aller Fruchtweine unter der von Rotwein, aber über der von Weißwein, wobei der Holunderwein eine mehr als doppelt so hohe antioxidative Kapazität als die Spitzenreiter unter den Rotweinen (18 mmol/L Trolox) besitzt.

Die Unterschiede zwischen Fruchtweinen aus Konzentrat und aus frischem Presssaft bei der gleichen Frucht liegen an den geringeren Gesamtsäuregehalte der rückverdünnten Konzentratsäfte bzw. Weine bei vergleichbarem Gesamtphenolgehalt, so dass die verbrauchsfertigen Fruchtweine einen höheren Fruchtgehalt aufwiesen und damit eine höhere antioxidative Kapazität.

Unter dem Aspekt der antioxidativen Kapazität stellen nur der Holunder- und der Heidelbeerwein eine Alternative zum Rotwein dar.

#### Vergärung

Während der alkoholischen Gärung verändert sich die antioxidative Kapazität und der Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu kaum. Im Polyphenolmuster zeigen sich allerdings deutlich Veränderungen. Die Gehalte aller monomeren Polyphenole nehmen stark (30 –



50%) ab, wobei die Abnahme der Anthocyane besonders stark ist (> 40%). Die Veränderung der Gehalte an monomeren Polyphenolen während der alkoholischen Gärung wurden bisher hauptsächlich für Rotwein untersucht (NAGEL und WULF 1979, GAO et al. 1997), wobei beachtet werden muss, dass Rotwein üblicherweise mittels einer längeren Maischegärung hergestellt wird. ROMMEL et al. 1992 geben die Verluste an Anthocyanen bei Brombeerwein im Vergleich zum Brombeersaft mit 79% - 100% an, was sich mit den festgestellten Ergebnissen bei Brombeerwein (80 – 85%) deckt, wobei die Abnahme beim maischevergorenen Brombeerwein noch etwas höher ausfällt (85%) als beim saftvergorenen Brombeerwein. Der Unterschied in der Abnahme der monomeren Anthocyane bei der Vergärung von Sauerkirschein (40 - 45%) und Brombeerwein (80 – 85%) hat vermutlich zwei Hauptgründe. Zum einen der im Vergleich zu Brombeersaft und –wein hohe Gehalt des Sauerkirschsafte und –weines an farblosen monomeren Polyphenolen. Die farblosen monomeren Polyphenole, wie z.B. Chlorogensäure, vermögen die Anthocyane durch Copigmentierung zu stabilisieren (WILSKA-JESZKA und KROZUCHOWSKA 1996), so dass ihre Abbaurate bei der Vergärung im Vergleich zu den „schutzloseren“ Anthocyanen im Brombeersaft verringert wird. Zum anderen ist die Art und Position des gebundenen Zucker bzw. der gebundenen Zucker wichtig für die Stabilität von Anthocyanglykosiden während der Vergärung von Fruchtweinen (TSUKUI et al. 1996). Die Verluste der monomeren Polyphenole sind auf Kondensations- und Polymerisationsreaktionen während der alkoholischen Gärungen zurückzuführen (BAKKER et al. 1986, FRANCIARICHA et al. 1997, GAO et al. 1997).

Dass sich die deutlichen Verluste an monomeren Polyphenolen kaum in der antioxidativen Kapazität und dem Gesamtphenolgehalt nach Folin-Ciocalteu widerspiegeln, lässt den Schluss zu, dass die bei der Gärung gebildeten Polymerisations- und Kondensationsprodukte ebenfalls antioxidativ wirksam sind. Aber auch hier kann der sehr hohe Verlust an monomeren Polyphenolen, speziell Anthocyanen, im Hinblick auf Bioverfügbarkeit und mögliche *in vivo* Effekte als negativ angesehen werden. Daher ist der Saft dem entsprechenden Wein vorzuziehen, auch wenn im Falle von kommerziell Apfelwein und Apfelsaft, der Wein eine im Durchschnitt deutlich höhere antioxidative Kapazität aufweist.

### 6.3.8. Bedeutung der Ergebnisse für die Herstellung von Fruchtsaft

Aus den Ergebnissen der Veränderung der antioxidativen Kapazität und des Polyphenolgehaltes bei den verschiedenen untersuchten Herstellungsprozessen für Fruchtsäfte lassen sich fünf grundlegende Thesen für die Herstellung eines Fruchtsaftes mit einer möglichst hohen antioxidativen Kapazität ableiten:

1. Die Wahl der richtigen, polyphenolreichen Rohware, da diese die Grundlage für eine hohe antioxidative Kapazität im späteren Produkt darstellt.
2. Eine Erhitzung des frischen Presssaftes zur Inaktivierung fruchteigener Polyphenoloxidasen.
3. Möglichst wenig Prozessschritte für die Herstellung eines Fruchtsaftes oder –nektars, da jeder Prozessschritt die antioxidative Kapazität des Fruchtsaft verringert.
4. Ein zügiger und logistisch gut durchdachter Herstellungsprozess, um unnötige Standzeit des Fruchtsaftes, die eine Verringerung der antioxidativen Kapazität durch Oxidation verursachen, möglichst zu vermeiden.
5. Vermeidung von Prozessschritten und Behandlungsmaßnahmen, die eine starke Abnahme der antioxidativen Kapazität verursachen.

Bei Berücksichtigung dieser Thesen kann die antioxidative Kapazität bei der Herstellung von Fruchtsäften erhöht und das in der Frucht enthaltene Potential an antioxidativer Kapazität besser in den Fruchtsaft transferiert und erhalten werden. Dies bedeutet eine deutliche Aufwertung von Fruchtsaft als gesundes Lebensmittel.

Die Entwicklung eines Antioxidansgetränkes auf der Basis polyphenolreicher Beerensäfte zeigt, dass mit Fruchtsäften Produkte mit einer höher antioxidative Kapazitäten als beim Vergleichsmaßstab Rotwein erreicht werden können. Solche Säfte sind sozusagen natürliche „funktionelle“ Lebensmittel ohne Zusatzstoffe.

#### **6.4. Wirtschaftliche Bedeutung der Ergebnisse**

Die Fruchtsaftindustrie erhält durch die Ergebnisse die Möglichkeit, die aktuellen Erkenntnisse über die antioxidativen und gesundheitspräventiven Wirkungen von Polyphenolen in der Praxis der Getränkeherstellung umzusetzen. Die Bedeutung der Polyphenole als Fruchtinhaltsstoffe sollte in der Fruchtsaftindustrie zukünftig mehr unter dem Aspekt ihrer positiven Eigenschaften, ihren positiven Wirkungen auf die menschliche Gesundheit, betrachtet werden. Das Image der Polyphenole muss sich weg vom geduldeten Problemstoff hin zum wertgebenden Inhaltsstoff entwickeln.

Es konnten für den in Deutschland meistgetrunkenen Apfelsaft, der eine vergleichsweise niedrige antioxidative Kapazität besitzt, Wege und Möglichkeiten zu Erhöhung und Erhaltung der antioxidativen Kapazität erarbeitet werden. Aber besonders Beerensäfte erhalten unter dem Aspekt des antioxidativen Potentials durch die Ergebnisse eine neue positive Bedeutung und sollten in der Zukunft als hochwertiges Naturprodukt betrachtet werden und mehr Verwendung finden. Beerensäfte sind die geeignete Basis zur Entwicklung neuartiger Getränke mit besonderer Berücksichtigung der antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffe. Derartige Getränke könnten zudem interessante sensorische und optische Eigenschaften aufweisen. Hiervon können gerade kleine und mittelständische Herstellerbetriebe profitieren, die wegen ihrer Größe flexibler auf neue Entwicklungen reagieren und wegen kleiner Verarbeitungsmengen leichter durch Auswahl der Rohware Einfluss auf die Zusammensetzungen des Endproduktes nehmen können. Die Verbesserung des gesundheitlichen Nutzen von Fruchtsäften führt, wenn der Verbraucher richtig informiert wird (Werbung), sicherlich zu einem Umsatzzuwachs, da weite Bevölkerungskreise schon aus Bekömmlichkeitsgründen daran interessiert sind, dass gesundheitsprophylaktisch wichtige Fruchtinhaltsstoffe bei der Saftverarbeitung erhalten werden. Das große Marktpotential von Produkten mit einem gesundheitlichem Zusatznutzen, den sogenannten „Wellness-Produkte“ oder von „Functional Food“, wird in vielen Marktanalysen hervorgehoben (Quellen: Informationsschriften der Firmen Wild AG, Haarmann und Reimer AG, H.K.K.W. Trendbüro Hamburg, Anonymus 1998). Ein Getränk, das reich ist an antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen, kann mit Sicherheit als „Wellness-Produkt“ oder „Functional Food“ bezeichnet werden.

Der Ansatz des Forschungsprojektes bietet die Möglichkeit, andere Früchte und vor allem Gemüse als Quelle für bioaktive Wirkstoffe, nicht nur Polyphenole, zu entdecken und zu untersuchen. Gerade Gemüse mit seinen vielfältigen bioaktiven Wirkstoffen ist eine interessante Herausforderung. Um Gemüse und seine bioaktiven Wirkstoffe trinkbar und für einen breiteren Konsumentenkreis attraktiv zu machen, bedarf es wegen mangelnder Erfahrung mit der Verarbeitung der meisten Gemüse noch intensiver Versuchsarbeiten zu den Möglichkeiten der Verfahrenstechnologie. Aus einem Gemüseprodukt mit neuen interessanten Eigenschaften könnten z. B. in Verbindung mit Fruchtsaft oder anderen Getränken völlig neuartige Getränke entwickelt werden.