Peter Quast (Autor)

Beitrag zur Charakterisierung anthocyanhaltiger Alterungsprodukte in Buntsäften

https://cuvillier.de/de/shop/publications/1446

Copyright:
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: https://cuvillier.de

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Einleitung

Fruchtsäfte haben in der heutigen Gesellschaft als Lebensmittel und Konsumgut eine große Bedeutung. Besonders Apfelsaft und Orangensaft erfreuen sich bei den Verbrauchern größter Beliebtheit, gefolgt von Traubensaft und Multivitaminsaft. Allein der Pro-Kopf-Verbrauch an Apfelsaft in Deutschland betrug 2005 durchschnittlich 12,4 Liter; der jährliche Pro-Kopf-Gesamtkonsum an Säften liegt seit den 1990er Jahren konstant bei ca. 40 Liter [Sonthauß und Sennewald, 2006]. In den letzten Jahren konnten auch die Produkte aus anthocyan- und phenolreichen Früchten, so genannte „Buntsäfte“, ihren Marktanteil vergrößern. Insbesondere sind hier Produkte aus Schwarzen Johannisbeeren, roten Trauben, Erdbeeren und Sauerkirschen zu nennen. Diese Produkte werden nicht nur als Fruchtsaft, sondern auch als Nektare und Mehrfruchtprodukte in den Verkehr gebracht. In Mehrfruchtprodukten werden zur Farb- und Geschmacksgebung auch Früchte verwendet, die aufgrund ihrer fehlenden Zucker-Säure-Harmonie als 100%-Saft vom Verbraucher nicht akzeptiert werden (z.B. Aronia, Holunder, Cranberry).

Einer der Hauptgründe für die Zunahme des Verbrauchs an Buntsäften liegt in der Tatsache, dass Fruchtsäfte nicht mehr allein wegen ihres Genusswertes, sondern auch oder gerade wegen ihrer gesundheitsfördernden Wirkungen konsumiert werden. Etliche epidemiologische Studien haben den positiven Einfluss sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe auf die Gesundheit gezeigt. Bei dieser Stoffklasse handelt es sich um Stoffe, die im Gegensatz zu den primären Pflanzenstoffen (Fett, Eiweiß, Kohlenhydrate) nicht am primären Energiestoffwechsel beteiligt sind, sondern zahlreiche andere Funktionen in der Pflanze wahrnehmen. Unter anderem handelt es sich um Farb-, Duft- und weitere Stoffe, die neben vielen anderen Funktionen entweder als Lockstoffe oder auch als Schutz vor Schädlingen und UV-Strahlen fungieren. So dienen die Anthocyane und die Carotinoide als Schutz der Pflanze vor UV-Strahlung, aber auch zum Anlocken von Samenverbreitern. Zum Schutz vor Herbivoren sind unter anderem die Gruppe der Alkaloide, aber auch die Tannine geeignet. Letztere besitzen zusammen mit den Phenolsäuren und den weiteren Vertretern der Polyphenole auch eine antimikrobielle Wirkung. Monoterpene hingegen dienen aufgrund ihres oft intensiven Geruchs zum Anlocken von Bestäubern [Naumann, 1997]. Über 30000 dieser Verbindungen sind bisher bekannt, mehr als 10000 finden ihren Weg in die menschliche Nahrung. Die chemische Struktur der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe ist sehr vielseitig, zu ihnen gehören zum Beispiel Carotinoide, Glucosinolate, Phenolsäuren und die

Tabelle 1.1: Postulierte Gesundheitswirkungen der Sekundären Pflanzeninhaltsstoffe

Sekundäre Pflanzenstoffe	Gesundheitliche Wirkungen									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Carotinoide	+		+		+			+		
Phytosterine	+							+		
Saponine	+	+			+			+		
Glucosinolate	+	+						+		
Polyphenole	+	+	+	+	+	+	+		+	
Protease-Inhibitoren	+		+							
Monoterpene	+	+								
Phytoöstrogene	+		+							
Sulfide	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Phytinsäure	+		+		+				+	

A: Krebspräventiv; **B**: antimikrobiell; **C**: antioxidativ; **D**: Beeinflussung der Blutgerinnung; **E**: immunmodulierend; **F**: entzündungshemmend; **G**: Beeinflussung des Blutdrucks; **H**: cholesterinsenkend; **I**: Beeinflussung des Blutzuckerspiegels; **J**: verdauungsfördernd

Flavonoide, die im Fokus dieser Arbeit stehen. Insbesondere den letztgenannten phenolischen Verbindungen (z.B. Anthocyane, phenolische Säuren und Procyanidine) wird eine besondere Bedeutung in Bezug auf die Gesundheit zugesprochen [Watzl und Leitzmann, 1999; Shrikhande, 2000]. Eine in der Öffentlichkeit viel beachtete epidemiologische Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen Fettkonsum und der Häufigkeit koronarer Herzerkrankungen. Hier zeigte sich, dass in der französischen Bevölkerung trotz relativ fettreicher Ernährung eine statistisch niedrige Zahl an koronaren Herzkreislauferkrankungen auftritt. Dieses als *„French Paradoxon“* bekannt gewordene Phänomen ist vermutlich zum Teil auf die phenolischen Verbindungen im Rotwein zurückzuführen [Leger et al., 1979; Renaud und De Lorgeril, 1992]. Die Bioverfügbarkeit dieser Verbindungen in Früchten, Saft und Wein konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden [Block et al., 1992; Hertog et al., 1992, 1993]. Eine positive Eigenschaft der Polyphenole ist insbesondere deren antioxidative Aktivität [Rice-Evans et al., 1997; Kähkönen und Heinonen, 2003]. Durch eine verminderte Oxidation der LDL-Partikel wird einer Entstehung aterieller Plaques vorgebeugt, was in der Folge vor koronaren Herzkrankheiten schützten soll [Hertog et al., 1993, 1995; Bitsch, 1996]. Des Weiteren werden für die Polyphenole anticancerogene, antiendzündliche und immunmodulierende Eigenschaften postuliert [Barth et al., 2005; Hou, 2003]. So konnten aktuelle Studien (z.B. Cooke et al. [2006]) im Tierversuch an APC^{Min}-Mäusen belegen, dass eine hohe Aufnahme von Anthocyanen zu einer Reduzierung von Darmkrebsvorstufen führt. Eine Übersicht über die postulierten Gesundheitswirkungen der Sekundärmetaboliten zeigt Tabelle 1.1.

Erkenntnisse zur positiven gesundheitlichen Wirkung von Obst und Gemüse, die reich an sekundären Pflanzenstoffen sind, bewogen bereits Anfang der 1990er Jahre das National Cancer Institut der USA zur Kampagne „*Five-a-day*“. Mit Hilfe dieser Kampagne sollte die Bevölkerung zum ver-

stärkten Verzehr von Obst und Gemüse angeregt werden [Stiftung Warentest, 2001]. 1998 griffen die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) und die Deutsche Krebsgesellschaft diese Idee auf. Seitdem wird auch in Deutschland der Konsum von mindestens fünf Portionen Obst und Gemüse pro Tag (ca. 600 g) zur gezielten positiven Beeinflussung der menschlichen Gesundheit propagiert. Ein Teil dieser täglichen Verzehrsempfehlung kann auch durch Fruchtsäfte und andere Verarbeitungserzeugnisse gedeckt werden [DGE, 2000; Bitsch et al., 2000].

Aufgrund der gesundheitsbezogenen Aussagen zu Fruchtsäften aus Wissenschaft und Industrie sehen Verbraucher im Fruchtsaftkonsum eine Möglichkeit, einen Teil ihres Tagesbedarfs an Obst und Gemüse zu decken. Aus ernährungsphysiologischer Sicht sollte daher ein Saft die „Ausgangsfrucht“ in flüssiger Form darstellen. Diese Utopie entspricht in weiten Teilen den Ansprüchen, die Verbraucher an Fruchtsäfte stellen. Ein Fruchtsaftprodukt sollte ein möglichst originäres Spektrum an wertgebenden Inhaltsstoffen aufweisen. Die Inhaltsstoffe sollten darüber hinaus bioverfügbar und ernährungsphysiologisch wirksam sein. Eine wichtige Eigenschaft eines Saftes, die dem Verbraucher bei der Kaufentscheidung zur Beurteilung der Saftqualität zur Verfügung steht, ist die Farbe. Die Farbe von Buntsäften sollte weitestgehend dem Farbton der ausgehenden Frucht entsprechen, sichtbare Braunverfärbungen oder sonstige artfremde Farbtöne können sich negativ auf die Kaufentscheidung auswirken. Somit ist das Anthocyanprofil, durch den ein Buntsaft seine charakteristische rote Farbe erhält, von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Allerdings kommt es während der Herstellung und Lagerung von Buntsäften zu deutlichen Veränderungen im Anthocyanprofil. Die monomeren Anthocyane werden zum Teil abgebaut, es entstehen aber auch Addukte mit anderen phenolischen Substanzen, organischen Säuren, Proteinen und Polysacchariden [Hillebrand et al., 2004; Schwarz et al., 2004; Fossen et al., 2004; Wu et al., 2004; Rein et al., 2005]. Auffällig ist, dass trotz des signifikanten Abbaus von Anthocyanen oftmals keine sichtbaren Veränderungen in der Farbe des Buntsaftes festgestellt werden können. Die Farbe kann also über den tatsächlichen Zustand des Saftes hinwegtäuschen. Dies gilt insbesondere für stark gefärbte Produkte aus Früchten wie z.B. Schwarze Johannisbeere oder Sauerkirsche. Bei Erdbeersaft ist die Situation jedoch deutlich verschieden. Hier kann es bereits kurze Zeit nach der Herstellung zu deutlich sichtbaren Braunfärbungen kommen. Der Anthocyanabbau in Buntsäften gehorcht häufig einer Reaktionskinetik erster Ordnung. So wurde in mehreren Studien die Stabilität von Anthocyanen in Produkten aus Schwarzen Johannisbeeren untersucht [Morton, 1968; Skrede et al., 1992; Eder, 1996; Iversen, 1999].

Iversen [1999] stellte fest, dass bei einer Lagertemperatur von 20 °C und Lichtausschluss der Verlust an Anthocyanen nach sechs Monaten bereits 50 % beträgt. Bei höheren Temperaturen werden die Anthocyane wesentlich schneller abgebaut. Bei einer Lagertemperatur von 30 °C beträgt die Halbwertszeit nur noch 9 - 11 Tage [Eder, 1996]. Einen negativen Einfluss auf das Anthocyanprofil hat auch die Lichtzufuhr. Krämer-Schafhalter et al. [1996] zeigten anhand einer Studie an Aroniasaft, dass der Abbau der Pigmente in Weißglasflaschen 6 mal schneller abläuft als in Braunglas und

in Braunglas immer noch doppelt so schnell wie unter Lichtausschluss. Viele Buntsäfte werden in Weißglasflaschen vertrieben und mit einem Mindeshaltbarkeitsdatum (MHD) von 12 - 24 Monaten versehen. Mikrobiell sind diese Produkte über den Zeitraum auch stabil, allerdings wird das MHD gemäß § 7 Lebensmittelkennzeichnungsverordung als das Datum definiert, bis zudem das betreffende Lebensmittel unter angemessenen Aufbewahrungsbedingungen seine charakteristischen Eigenschaften behält. Somit legen die bisher vorliegenden Studien nahe, dass das MHD in der Regel zu lang gewählt ist, da der Verbraucher nicht mehr nur den Geschmack und die mikrobiologische Unbedenklichkeit, sondern auch einen ernährungsphysiologischen Nutzen von den Produkten erwartet.
Während sich die oben genannten Studien mit der Kinetik des Abbaus von monomeren Anthocyanen bei verschiedenen Bedingungen befassen, ist bisher weitgehend ungeklärt, wie die Anthocyane sich chemisch während der Lagerung verändern. Es ist zwar bekannt, dass es zu Polymerisierungen kommt, die Zusammensetzung dieser Polymere ist bislang aber noch nicht geklärt. Auch fehlen Daten über die farbmetrischen Eigenschaften und zur antioxidativen Kapazität dieser Verbindungen. Im Falle von Rotwein gibt es zahlreiche Studien, die auch die strukturellen Veränderungen im Polyphenolprofil während der Lagerung beschreiben, z.B. Bakker und Timberlake [1997]; Romero und Bakker [2000]; Mateus et al. [2002, 2003a]; Salas et al. [2003, 2004b]. Hier gibt es auch wegweisende analytische Ansätze zur Bestimmung des Polymerisationsgrads [Kennedy und Jones, 2001; Matthews et al., 1997].
Neben den polymeren Verbindungen entstehen während der Herstellung und Lagerung sowohl im Rotwein als auch in Fruchtsäften monomere bzw. oligomere Anthocyanderivate, die nicht originär in den Früchten vorkommen. So entstehen bei der Weinbereitung Reaktionsprodukte aus Anthocyanen und Brenztraubensäure bzw. Acetaldehyd (Pyranoanthocyane) [Bakker et al., 1997; Bakker und Timberlake, 1997; Schwarz et al., 2003b]. Die Addukte aus Brenztraubensäure (Carboxypyranoanthocyane) sind auch in roten Zwiebeln [Fossen und Andersen, 2003], in Erdbeeren [Fossen et al., 2004], in Sauerkirschsäften, Blutorangensaft und in Saft der Schwarzen Karotte nachgewiesen worden [Hillebrand et al., 2004; Hillebrand, 2004; Schwarz et al., 2004]. Des Weiteren kommt es zu Kondensationsprodukten aus Anthocyanen und Flavan-3-olen. Diese wurden bereits im Wein und in Modellsystemen [Salas et al., 2003, 2004a] nachgewiesen.

1.2 Zielsetzung

Für die Analytik der gealterten Fruchtsäfte müssen zunächst Standardsubstanzen als analytische Referenz isoliert werden. Diese werden für quantitative Bestimmungen und Semisynthesen von Alterungspigmenten benötigt. Hier gilt es, die bestehenden Methoden [Schwarz et al., 2003a; Degenhardt et al., 2000a,b] gegebenenfalls zu optimieren. So sollen sowohl die Ausbeuten als auch die Reinheit der Standards nach der HSCCC erhöht werden, um effizienter und mit weniger Aufwand

analysenreine Standards zu erhalten.
Weiterhin fehlen bisher Studien über den Gehalt an polymeren Pigmenten in Fruchtsäften. Es ist zwar bekannt, dass Anthocyane in polymeren Strukturen integriert werden, der Gehalt an diesen Polymeren und deren Eigenschaften sind jedoch bisher unbekannt. Im Rahmen dieser Arbeit soll der Gehalt an polymeren Pigmenten in Fruchtsäften bestimmt werden. Ein Ziel ist, eine reproduzierbare und zuverlässige Methode zur Bestimmung des Gehalts an polymeren anthocyanhaltigen Verbindungen zu entwickeln. Insbesondere soll die Veränderung des Polymergehaltes im Verlauf der Herstellung und der Lagerung dokumentiert werden. Des Weiteren sollen diese Verbindungen isoliert und charakterisiert werden. Da eine vollständige Strukturaufklärung nach heutigem Stand der Wissenschaft nahezu unmöglich ist, sollen zumindest die wichtigsten Bestandteile der polymeren Pigmente analysiert werden. Dazu gehört die Bestimmung und Charakterisierung des Gehalts an phenolischen Verbindungen sowie an Proteinen und Zellwandbestandteilen. Gerade letztere sind von Interesse, da hier ein erheblicher technologischer Einfluss zu erwarten ist. Durch den Einsatz verschiedener Enzyme zum Abbau von Zellwandbestandteilen und durch unterschiedliche Verfahren zum Entfernen dieser Bestandteile aus dem Saft kann es zu unterschiedlichen Mengen an kolloidal gelösten Polysacchariden und Proteinen kommen. Darüber hinaus sollen Erkenntnisse über den Polymerisationsgrad und die Molekülgröße gewonnen werden. Der Polymerisationsgrad der Flavonoide soll mit Hilfe der säurekatalysierten Degradation nach Kennedy und Jones [2001] und nach Matthews et al. [1997] ermittelt werden.
Neben den polymeren Pigmenten entstehen neue monomere Anthocyanderivate. Wie bereits für Rotwein und einige Fruchtsäfte in mehreren Studien geschehen, soll hier untersucht werden, in wieweit Pyranoanthocyane in den untersuchten Fruchtsäften vorkommen und welchen Beitrag sie zur Farbe bzw. zur Beurteilung der Saftqualität liefern können.
Der Einfluss von Polymeren auf die Gesamtfarbe eines Erzeugnisses wurde bereits mit dem Farbaktivitätskonzept nach Hofmann [Hofmann, 1998a,b] von Hillebrand [2004] ermittelt, allerdings fehlen noch weitergehende Untersuchungen zur Farbintensität und Farbmetrik dieser Verbindungen. Hier soll das Farbaktivitätskonzept zusammen mit dem CIELab-System [CIE, 1986] zur Farbmetrik zur Charakterisierung der polymeren anthocyanhaltigen Verbindungen und der monomeren Alterungsindikatoren herangezogen werden.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Fruchtsäfte

2.1.1 Allgemeines

Das Herstellen von Saft aus Obst hat bereits seit der menschlichen Frühzeit Tradition. Über die Jahrhunderte wurden sowohl die Obstzüchtungen als auch die Herstellungsmethoden verbessert. Somit konnte die Qualität und die Ausbeute allmählich gesteigert werden. Die Haltbarkeit war allerdings immer das größte Problem der Säfte. Es war nicht möglich, einen Saft längere Zeit ohne die Gefahr des Verderbs aufzubewahren. Somit wurden Früchte in erster Linie zu alkoholischen Getränken wie Wein, Met und Spirituosen verarbeitet. Erst durch Louis Pasteur (1822 - 1895) und das nach ihm benannte *Pasteurisationsverfahren* wurde es im späten 19. Jahrhundert möglich, Säfte länger haltbar zu machen. Somit wurde die Fruchtsaftherstellung im industriellen Maßstab möglich. Durch die Entwicklung von technologischen Verfahren wie die Schönung und Filtration im großen Maßstab und die Konzentratherstellung konnte sich die Fruchtsaftindustrie als eigener Industriezweig etablieren. Besonders durch die Konzentratherstellung ist es möglich, große Mengen Saft kostengünstig und qualitativ stabil zu verschiffen. Ohne dieses Verfahren wäre der Konsum an Orangensaft in den westlichen Industrieländern undenkbar. Bis in die 1930er Jahre waren Fruchtsafthersteller meist kleine oder mittelständische Betriebe. Nach dem 2. Weltkrieg entwickelte sich Fruchtsaft zu einem wichtigen Handelsgut auf dem Weltmarkt [Schobinger, 2001].
Tabelle 2.1 zeigt den Pro-Kopf-Verbrauch verschiedener Saftsorten in Deutschland im Verlauf der letzten 20 Jahre. Wie bereits eingangs erwähnt, sind Apfel- und Orangensaft die populärsten Safte in Deutschland. Auch zeigt sich, dass der Konsum insgesamt über die Jahre stetig zugenommen hat, inzwischen aber relativ konstant bei ca. 40 Litern liegt. Bemerkenswert ist jedoch der deutliche Anstieg der „anderen Säfte und Fruchtnektare“ pro Jahr seit 1985, die die Buntsäfte beinhalten. Hier wird das gestiegene Interesse an Buntsäften deutlich.

2.1.2 Fruchtsaftherstellung

Ziel der industriellen Fruchtsaftherstellung ist das Erzeugen von hochwertigen Produkten für den Verbraucher, da dieser neben einem guten Geschmack und einer ansprechenden Farbe alle ernährungsphysiologisch positiven Eigenschaften der Ausgangsfrucht im fertigen Produkt erwartet. Somit

Tabelle 2.1: Pro-Kopf-Verbrauch in Litern an Säften/Nektaren nach Fruchtarten 1985 - 2006; bis 1990 BR Deutschland, ab 1991 Deutschland gesamt, nach Sonthauß und Sennewald [2006]

	1985	**1990**	**1995**	**2000**	**2004**	**2005**	**2006**
Apfelsaft	5,21	8,4	11,79	12,20	12,88	12,42	12,02
Orangensaft	3,60	8,57	9,83	9,53	9,24	8,93	8,92
Traubensaft	1,08	1,57	1,19	1,32	1,31	1,29	1,28
Grapefruitsaft	0,20	0,32	0,33	0,39	0,32	0,36	0,36
Birnensaft	0,01	0,05	0,13	0,18	0,30	0,25	0,25
Gemüsesaft/-nektar	0,82	0,90	0,86	0,96	0,99	1,35	1,36
Zitrusnektar	10,81	11,85	8,57	7,75	7,35	7,26	7,30
andere Säfte und Fruchtnektare	3,46	7,95	8,02	8,31	8,26	8,18	8,34
Summe	**25,19**	**39,61**	**40,72**	**40,64**	**40,65**	**40,04**	**39,83**

ist bereits die Qualität der Ausgangserzeugnisse von größter Bedeutung. Durch die Wahl der Sorte und/oder des Reifegrads einer Frucht wird das Aroma und die Farbe entscheidend beeinflusst. Auch die verwendeten Verarbeitungstechnologien haben einen erheblichen Einfluss auf die sensorischen Eigenschaften eines Saftes. So kann z.B. ein Saft entsäuert werden, um mildere Geschmacksnuancen zu erreichen. Auch verschiedene Filtrationstechniken oder das Entfernen von Gerbstoffen könnem einem Saft zu einem ausgewogeneren Aroma/Geschmack verhelfen. Auch wenn es theoretisch möglich ist, aus fast allen genussfähigen Früchten und Beeren Säfte herzustellen, sind die Säfte einiger Früchte (z.B. Holunder, Aronia, Schw. Johannisbeere) für die Mehrheit der Verbraucher aufgrund des unausgewogenen Zucker/Säure - Verhältnisses direkt nur bedingt genießbar. Dies kann durch Mischen mit anderen Säften oder durch das Herstellen eines Nektars (Zucker- und Wasserzusatz) behoben werden [Schobinger, 2001].

Abbildung 2.1 zeigt am Beispiel der Sauerkirsche und der Schwarzen Johannisbeere die Herstellung von Fruchtsäften und Konzentraten. Einige der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Säfte und Konzentrate wurden auf diese Art im Pilotmaßstab produziert [Bonerz, 2007].