1 Einleitung

Eines der ältesten Konservierungsverfahren ist die Trocknung von Lebensmitteln [2, 5, 6, 7, 16, 33]. Neben weiteren Produkten wurden und werden überwiegend Obst, Gemüse, Fleisch und Fisch auf diese Art haltbar gemacht [2, 4, 16]. Primäres Ziel ist dabei mikrobielles Wachstum durch das Einstellen eines vorgegebenen Wassergehaltes zu hemmen. Zudem werden durch die Trocknung unerwünschte enzymatische und chemische Reaktionen reduziert [7, 16, 97]. Den Vorteilen der Haltbarkeitsverlängerung steht unter anderem die negative Beeinflussung der sensorischen Qualität der Produkte gegenüber, welche vor allem die optischen Merkmale und die Textur betrifft [16]. Während der Konsument in der Vergangenheit derartige organoleptische Veränderungen akzeptierte, entsprechen diese heute nicht mehr den Anforderungen an ein modernes Lebensmittel [120, 193].

Das Auftreten von Qualitätsverlusten kann insbesondere während der Trocknung von Obst beobachtet werden. Dabei stellt die durch die enzymatische Bräunung hervorgerufene dunkle Verfärbung der Erzeugnisse das bedeutendste Problem dar [117, 156]. Diese Reaktion ist bei Rosinen, Datteln, Feigen und Trockenpflaumen erwünscht [197, 215]. Hellen Obstsorten, darunter Äpfel, Aprikosen, Birnen oder Pfirsiche, müssen dagegen während des Verarbeitungsprozesses bräunungsinhibierende Zusatzstoffe zugesetzt werden [6].

Eine verbreitete Methode zur Stabilisierung von Trockenfrüchten ist die Schwefelung [7, 133, 197]. Schwefelverbindungen zeichnen sich sowohl durch antioxidative, bräunungsinhibierende als auch antimikrobielle Eigenschaften aus [181, 201]. Darüber hinaus werden sie hauptsächlich aufgrund ihrer einfachen Handhabung sowie der geringen Beschaffungskosten unter anderem bei der Herstellung von Trockenfrüchten, Trockengemüse, Kartoffelfertigprodukten und Wein eingesetzt [7, 133, 162, 201]. Neben den technologischen und ökonomischen Vorteilen von Schwefeldioxid und Sulfiten wurden jedoch gesundheitliche Risiken durch den Verzehr geschwefelter Lebensmittel nachgewiesen. Bereits in geringen Konzentrationen kann resorbiertes Sulfit wesentliche Körperfunktionen beeinflussen. Einerseits werden lebensnotwendige Enzyme gehemmt, andererseits sind Reaktionen mit Proteinen, NAD (Nikotinamidadenindinukleotid), Vitaminen und weiteren Zellbestandteilen möglich [10, 97, 119, 197]. Einige Personen reagieren zudem besonders empfindlich auf den Verzehr geschwefelter Produkte. Zu den Betroffenen zählen überwiegend Individuen mit einem angeborenen Enzymdefekt und 3 % bis 10 % aller Asthmatiker [4, 10, 201]. Bei diesen Personengruppen kann oftmals schon die Aufnahme von Schwefeldioxid im mg-Bereich zu akuten Intoxikationserscheinungen wie Übelkeit, Kopfschmerzen und Durchfall führen [162, 181]. Daneben werden insbesondere Intoleranzreaktionen, welche die Haut und den Respirationstrakt betreffen, beobachtet [119, 201]. Wachsende Kenntnisse über negative gesundheitliche Effekte durch den Konsum geschwefelter Nahrungsmittel,

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

haben bereits zu rechtlichen Restriktionen hinsichtlich des Einsatzes von Schwefeldioxid und Sulfiten geführt [117, 133, 173, 202].

Aufgrund dieser Problematik wurden in den letzten Jahren zahlreiche Alternativen zur Lebensmittelschwefelung untersucht [76, 117, 123, 133, 173, 183]. Bislang konnte jedoch kein Ersatzstoff oder Verfahren ermittelt werden, welches sowohl die technologischen als auch die ökonomischen Anforderungen erfüllt und gleichzeitig als unbedenklich gilt [117, 196]. Basierend auf ihren technofunktionellen Eigenschaften stellen polyphenolhaltige Pflanzenextrakte eine Möglichkeit zur Substitution von Schwefelverbindungen dar [125, 137]. Gleichzeitig entsprechen sie den aktuellen Wünschen der Verbraucher und somit der Forderung nach natürlichen Lebensmittelzusatzstoffen [23, 137, 158]. Eine Einschränkung im Hinblick auf den Einsatz polyphenolhaltiger Pflanzenextrakte ergibt sich jedoch möglicherweise aus dem Vorhandensein von Substanzen mit färbenden, gustatorischen und olfaktorischen Eigenschaften [113, 178].

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Trockenfrüchte

Frisches Obst ist eine wichtige Quelle für Vitamine, Mineralstoffe, Ballaststoffe und weitere bioaktive Substanzen [6, 81]. Zahlreiche Obstarten sind jedoch saisonale Produkte und unverarbeitet nur begrenzt haltbar [6, 180]. Um eine erntezeitbedingte Überproduktion zu kompensieren und eine kontinuierliche Versorgung während des ganzen Jahres sicherstellen zu können, stehen verschiedene Methoden zur Verfügung [7, 180]. Eines der ältesten Verfahren zur Haltbarkeitsverlängerung ist die Trocknung [2, 5, 6, 7, 16, 33].

2.1.1 Wirtschaftliche und ernährungsphysiologische Bedeutung

In den letzten Jahren hat der Konsum von getrockneten Früchten wieder an Bedeutung gewonnen [38]. Dies wird insbesondere auf das gestiegene Gesundheitsbewusstsein der Verbraucher in den Industrieländern, die Zunahme des Verzehrs von *Convenience*-Produkten sowie den Zugang zu anderen Esskulturen zurückgeführt [21]. Als Intermediärprodukte für die Weiterverarbeitung durch die Lebensmittelindustrie finden Trockenfrüchte überwiegend im Rahmen der Herstellung von Müsli, Fruchtschnitten, Müsli- und Schokoriegeln, Backwaren, Milchprodukten, Desserts, Saucen, Reis- und Instantgerichten sowie Babynahrung und Früchtetees Verwendung. Zudem werden sie vermehrt als Snacks verzehrt [5, 21, 95].

Das Marktvolumen von getrockneten Früchten in der Europäischen Union (EU) betrug im Jahr 2006 2,3 Mrd. € bzw. 871.000 t mit einer jährlichen Wachstumsrate von 2002 bis 2006 von 6,9 %. Importwaren kamen insbesondere aus Entwicklungs- und Schwellenländern. Vor allem die Einfuhr von Trockenfrüchten aus der Türkei hat in diesem Zeitraum signifikant zugenommen. Zu den wichtigsten Importprodukten zählten getrocknete Trauben mit einem Anteil von 34 % am Gesamtimport in 2006 [21]. Auch in den Jahren 2006 bis 2009 konnte die Einfuhr von Trockenfrüchten in die EU weiter gesteigert werden. Wichtigstes Importland war die Türkei. Das bedeutendste Importprodukt blieben getrocknete Trauben mit einem Anteil von 17 % am Gesamtimport in 2009. Die stärkste Marktentwicklung wird in den kommenden Jahren für Westeuropa, darunter vor allem Deutschland, prognostiziert [22].

Heutzutage ist die Herstellung von Trockenfrüchten unter anderem in den Mittelmeerländern, an der Westküste der USA [55], in den Ländern des Nahen und Mittleren Ostens [161] sowie zahlreichen tropischen Ländern, vor allem Thailand, Malaysia, Indien, den

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Philippinen, Südafrika und Ecuador [95] verbreitet. Den mengenmäßig größten Anteil machen Datteln, Rosinen bzw. Sultaninen oder Korinthen (getrocknete Weintrauben), Pflaumen, Feigen, Aprikosen, Pfirsiche, Äpfel sowie Birnen [1, 5, 55] und unter den Südfrüchten Bananen, Ananas, Papayas und Mangos aus [95].

Primäres Ziel der Trocknung von Lebensmitteln ist die Hemmung mikrobiellen Wachstums durch die Einstellung eines vorgegebenen Wassergehaltes. Des Weiteren werden die Aktivität von Enzymen und unerwünschte chemische Reaktionen reduziert [7, 16, 97]. Je nach Sorte haben Trockenfrüchte einen Wassergehalt (Alarmwassergehalt) von 10 % bis 25 %, entsprechend einer Wasseraktivität (a_w-Wert) $\leq 0{,}70$, und gelten somit als mikrobiologisch stabile Lebensmittel [6, 97]. Die Haltbarkeit beträgt mindestens ein Jahr [214]. Eine Ausnahme stellen die sogenannten *ready-to-eat*-Produkte (Pflaumen, Rosinen, Feigen, u. a.) dar, bei denen der Alarmwassergehalt mit 30 % bis 40 % Feuchtigkeit überschritten wird, sodass es im Rahmen der Herstellung zusätzlicher konservierender Maßnahmen bedarf. Zu den Kontaminanten getrockneter Früchte gehören aufgrund des geringen Anteils an verfügbarem Wasser, des erhöhten Zuckergehaltes und des sauren pH-Wertes der Obstmatrix hauptsächlich osmophile Schimmelpilze und Hefen [6, 214]. Im Allgemeinen kommt ein mikrobieller Verderb dieser Produktgruppe jedoch selten vor [6].

Neben den konservierenden Effekten führt der Wasserentzug zu einem Gewichts- und Volumenverlust der Produkte, einhergehend mit einer Erhöhung der Nährstoffdichte [1, 77, 207]. Zur Gewährleistung der Erhaltung der wertgebenden Inhaltsstoffe ist eine schonende Trocknung bei Temperaturen zwischen 30 °C und 50 °C erforderlich [6]. Durchschnittlich enthält getrocknetes Obst einen Kohlenhydratanteil von 65 % bis ≥ 75 % [4], darunter bis zu 18 % Ballaststoffe, und nennenswerte Mengen an Mineralstoffen [1, 7]. Unter den Vitaminen bleiben β-Carotin und zum Großteil die B-Vitamine während des Trocknungsprozesses erhalten. Hitze- und oxidationsempfindliches Vitamin C und Vitamin B_1 werden abgebaut [7, 35, 54]. Für sekundäre Pflanzenstoffe konnte gezeigt werden, dass beispielsweise der Polyphenolgehalt, vor allem bedingt durch oxidative Vorgänge, signifikant reduziert wird [207].

Nach dem heutigen Kenntnisstand wird insbesondere die regelmäßige Aufnahme von Mikronährstoffen und bioaktiven Substanzen wie sekundäre Pflanzenstoffe und Nahrungsfasern und damit der Verzehr von Obst und Gemüse mit einem verminderten Risiko für verschiedene degenerative chronische Erkrankungen in Verbindung gebracht [35]. Dazu zählen vor allem unterschiedliche Arten von Krebs sowie koronare Herzkrankheiten. Auch die Prävention anderer Erkrankungen wie Adipositas und Diabetes wird diskutiert [35, 78]. Bisher konnten die Wirkungen jedoch nicht eindeutig auf einzelne Inhaltsstoffe zurückgeführt werden [35, 220]. Aufgrund der Vielzahl an sekundären Pflanzenstoffen und somit potenziell unterschiedlichen Wirkmechanismen, sollte die gesamte Auswahl an Obst und

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Gemüse als Nahrungsquelle genutzt werden. Im Hinblick auf die diskutierten präventiven Effekte empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) – mit dem Ziel zum Erhalt und zur Förderung der Gesundheit – eine Aufnahme von mindestens 250 g Obst (2 Portionen) und 400 g Gemüse (3 Portionen) pro Tag, ähnlich den Empfehlungen vergleichbarer wissenschaftlicher Gremien in anderen Ländern [35]. Kampagnen wie „5 am Tag“ [70, 110], Schulobstprojekte [204] und die Förderung des Angebots von Obst und Gemüse in öffentlichen Einrichtungen [153] haben in den letzten Jahren zu einem Anstieg des Konsums unter anderem in Deutschland geführt. Die Erhebung des Ernährungsverhaltens im Rahmen der Nationalen Verzehrsstudie II aus dem Jahr 2008 ergab, dass trotzdem mehr als 50 % der deutschen Bevölkerung unter der Empfehlung liegt [110]. Auch in den USA [12], den Niederlanden [98], in Großbritannien [217] und weiteren Ländern [64] konnten entsprechende Defizite nachgewiesen werden. Eine der größten Barrieren im Hinblick auf eine Steigerung des Konsums von Obst und Gemüse stellt die Zubereitungszeit dar [78]. Aufgrund der Veränderung des Lebensstils durch flexible Arbeitszeiten, die Ausübung verschiedener Freizeitaktivitäten und die Zunahme von Single-Haushalten hat sich in den letzten Jahren der Wunsch nach verzehrfertigen Lebensmitteln, Snacks und *Convenience*-Produkten verstärkt. Der Verbraucher nimmt sich immer weniger Zeit für seine Mahlzeiten, möchte sich aber gleichzeitig gesund und möglichst natürlich ernähren [21]. Getrocknete Früchte bzw. daraus hergestellte Fruchtschnitten oder Müsliriegel, die als natürliche Quelle für Vitamine, Mineralstoffe, Ballaststoffe und bioaktive Substanzen angesehen werden können, stellen als Snacks oder Zwischenmahlzeiten eine Alternative zu den frischen Erzeugnissen dar [1].

2.1.2 Herstellung

Die Verfahren zur Herstellung von Trockenfrüchten wurden in den letzten Jahren weiterentwickelt und reichen von einfachen Methoden wie der Sonnentrocknung oder der Trocknung mit Hilfe von künstlicher Wärme bis hin zu komplexen, technisch hochentwickelten Methoden wie der Gefriertrocknung [16]. Im Vergleich mit anderen Konservierungstechniken ist insbesondere die industrielle Trocknung ein kostenintensives Verfahren [16, 159, 169]. Die Sonnentrocknung wird heute noch in einigen Ländern, vor allem in Entwicklungsländern mit geeigneten klimatischen Bedingungen, durchgeführt [138]. Dazu werden die Früchte in dünner Schicht, zum Beispiel auf Holzhorden, ausgebreitet und die Sonnenenergie zum Wasserentzug genutzt. Nachteile dieser Methode, vor allem bedingt durch die Dauer des Prozesses, sind die Möglichkeit einer erhöhten mikrobiellen Kontamination der Endprodukte sowie eine starke Degradation der wertgebenden Inhaltsstoffe. Auch die Gefahr der Kontamination mit Insekten und anderen Fremdkörpern ist gegeben [16, 138,

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

154]. Da der Export in Industrieländer an Anforderungen der Produkte an Qualitätsstandards geknüpft ist, wurde die traditionelle Methode der Trocknung diesbezüglich optimiert [16, 29, 138, 154]. Im Gegensatz zur direkten Sonnenexposition der Güter werden heute vermehrt geschlossene Systeme mit Glas oder transparenter Plastikabdeckung eingesetzt, die eine kontinuierliche Luftzufuhr erlauben bzw. in denen eine kontinuierliche Luftzirkulation mittels Ventilatoren erzeugt wird. Der erzielte Treibhauseffekt und die natürliche bzw. künstlich hervorgerufene thermische Konvektion führen zu einer Verkürzung der Trocknungszeit, einhergehend mit einer Steigerung der Qualität der Produkte [16, 138]. Weiterentwickelte Konzepte bedienen sich der zusätzlichen Verwendung von Solar-Kollektoren, Heizeinheiten und Vorrichtungen zur Speicherung der Sonnenenergie [16, 29, 138]. Die Vorteile sind, je nach Anlage, eine sonnenlichtunabhängige, zeitsparende und ebenfalls kostengünstige Erzeugung markt- und konkurrenzfähiger Produkte [29, 138, 161].

Industriell findet vor allem die Warmluft- und Kontakttrocknung unter Verwendung künstlicher Wärme [7, 180] Anwendung. Das Verfahren der Gefriertrocknung, durch welches Farbe, Aroma und Inhaltsstoffe fast vollständig erhalten bleiben, hat sich bisher aus wirtschaftlichen Gründen kaum durchgesetzt [6, 16, 97].

Die Warmlufttrocknung in Horden-, Band- oder Kanaltrocknern ist die bevorzugte Methode zur Trocknung von Obst [16, 97]. Durch Konduktion gelangt die enthaltene Feuchtigkeit an die Oberfläche des Produktes, wo eine kontinuierliche Verdunstung über thermische Konvektion erreicht wird. Das Trockengut wird dazu auf Horden/ Gitter oder perforierte Transportbänder ausgelegt und in bzw. durch eine beheizte Anlage befördert [16]. Die Temperaturführung liegt je nach Obstsorte in einem Bereich zwischen 50 °C und 75 °C [7, 16]. Während des gesamten Prozesses sollte die Maximaltemperatur nicht überschritten werden, um Farbveränderungen, verursacht durch das Einsetzten der Zuckerkaramelisation, zu verhindern [6].

Die wesentlichen Prozessschritte der Sonnen-, Solar- und der Warmlufttrocknung variieren in Abhängigkeit der Obstsorte. Das Rohmaterial wird zunächst gewaschen und sortiert. Kernobst, darunter Äpfel, wird anschließend geschält, andere Früchte müssen zur Entfernung der Haut (Pfirsiche, Aprikosen) oder der Wachsschicht (Pflaumen, Trauben) abwechselnd mit heißem und kaltem Wasser bzw. mit Dampf oder Natronlauge behandelt werden. Danach werden die Früchte entkernt bzw. entsteint und gegebenenfalls in die gewünschte Form geschnitten. Zur Inhibierung der enzymatischen Bräunung werden helle Obstsorten in der Regel vor dem Trocknen, teilweise erneut nach dem Trocknen, geschwefelt. Dies kann mittels sulfithaltiger Tauchlösung oder durch Begasung des Trockengutes mit Schwefeldioxid erfolgen. Nach Beendigung der Trocknung werden die Produkte verpackt und gelagert [6, 7, 15, 33].

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

2.1.3 Farbe als Qualitätsparameter

Neben den nutritiven Anforderungen an Nahrungsmittel und dem *Convenience*-Grad wird die Kaufentscheidung der Verbraucher maßgeblich durch eine gleichbleibende Qualität der Produkte [120] und diese vor allem durch die sensorischen Eigenschaften eines Lebensmittels bestimmt. Ein entscheidender sensorischer Parameter, der zur Produktauswahl beiträgt, ist die Farbe [69, 73, 117, 150].

Die Farbe eines Lebensmittels, aber auch Merkmale wie die Größe, Form und die Oberflächenbeschaffenheit, generieren positive sowie negative Erwartungen des Verbrauchers und beeinflussen somit die Präferenz für ein Produkt. Des Weiteren trägt die Farbe sowohl zur Bewertung des Reifezustands, des Gargrades als auch zur Frischebeurteilung bei und wirkt sich auf das Aromaempfinden aus [53, 73, 150].

Die wichtigsten natürlich vorkommenden farbgebenden Substanzklassen in pflanzlichen Lebensmitteln sind Chlorophylle, Carotinoide, Betalaine und Polyphenole, darunter insbesondere Verbindungen aus der Gruppe der Anthocyane, der Flavonole und der Flavone [28, 150]. Neben den natürlichen Pigmenten sowie deren Metaboliten bestimmen Reaktionsprodukte, die auf chemischem oder enzymatischem Wege aus farblosen Vorläufern oder miteinander reagierenden Verbindungen entstehen, die Farbe von Nahrungsmitteln [53].

Bei der Verarbeitung, Lagerung und Zubereitung von Obst können sich Farbveränderungen ergeben. Viele der natürlichen Farbstoffe sind beispielsweise hitzelabil oder anfällig gegenüber oxidativen Reaktionen [53]. Ungewollte Ver- und Entfärbungen beeinflussen die Attraktivität der Produkte und somit die Kaufentscheidung der Konsumenten [73]. Im Hinblick auf Obsterzeugnisse führen insbesondere dunkle Verfärbungen zu einer verminderten Qualität [150]. Diese können einerseits durch nicht-enzymatische Vorgänge wie die Maillard-Reaktion [133, 142], den Abbau von Aminosäuren, Autoxidations-Reaktionen und die Bildung von Metallkomplexen mit mehrwertigen Phenolen hervorgerufen werden [53, 123, 166]. Überwiegend sind sie jedoch auf die Aktivität des Enzyms Polyphenoloxidase (PPO) zurückzuführen [156]. Während der Trocknung von zu enzymatischer Bräunung neigenden Früchten werden daher farbstabilisierende Zusatzstoffe, insbesondere Schwefelverbindungen, eingesetzt [6]. Denn gewünscht sind kräftige Farben, da sie mit positiven sensorischen Eigenschaften der Produkte in Verbindung gebracht werden [53].

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

2.2 Enzymatische Bräunung

Das bedeutendste Problem im Rahmen der Verarbeitung, Lagerung und Zubereitung von Obst sind Verluste aufgrund enzymatischer Vorgänge. Die durch das Enzym Polyphenoloxidase eingeleiteten Reaktionen führen zu einer Braunfärbung der Produkte und somit zur Veränderung der optischen Qualität [123, 133, 156]. In einigen Fällen wie zum Beispiel bei der Herstellung von Rosinen, Datteln, Feigen oder Trockenpflaumen ist die enzymatische Bräunung erwünscht und trägt zur typischen Farb- und Aromagebung bei [123, 174, 197, 215]. In der Regel wird sie jedoch als qualitätsminderndes Merkmal betrachtet. Neben den Veränderungen der äußeren Erscheinung kann es ebenfalls zu einer Verschlechterung der gustatorischen, olfaktorischen und haptischen Eigenschaften sowie einer Minderung des Nährwertes und damit zu einer verkürzten Haltbarkeit der Produkte kommen [76, 123, 197].

Bei der enzymatischen Bräunung handelt es sich um eine mehrstufige Reaktion. Dabei entstehen aus phenolischen Verbindungen unter Sauerstoffverbrauch braune Pigmente [123, 142, 197]. Der Vorgang lässt sich unterteilen in enzymkatalysierte Reaktionsschritte und nicht-enzymatische Folgereaktionen [123]. Initialisiert wird der Bräunungsprozess durch die Polyphenoloxidase, eine Oxidoreduktase, die in der Natur weit verbreitet ist [166, 215]. Eine besonders hohe Aktivität dieses Enzyms wird für Äpfel, Aprikosen, Bananen, Birnen, Pfirsiche, Trauben, Erdbeeren und einige tropische Früchte beschrieben [174, 215, 216]. Es wird vermutet, dass die Peroxidase, eine weitere Oxidoreduktase, ebenfalls am Bräunungsprozess beteiligt ist, die genauen Mechanismen sind jedoch nicht eindeutig geklärt [142, 166, 200, 203].

2.2.1 Polyphenoloxidase-katalysierte Reaktionen

Die Bezeichnung Polyphenoloxidase ist der Überbegriff für eine Gruppe von Enzymen, welche die Oxidation phenolischer Substanzen katalysieren [156, 216]. Sie kommen in den meisten Pflanzen, in einigen Pilzen und Bakterien, in höheren Tieren, einschließlich Insekten, sowie dem Menschen vor [123, 215]. Enzym und Substrat (Phenole) sind in unterschiedlichen Kompartimenten in der Zelle lokalisiert. Der Prozess der enzymatischen Bräunung wird erst durch Beschädigung der Zellwände und der Membranen und damit einer Aufhebung der Kompartimentierung hervorgerufen [200]. Polyphenoloxidasen befinden sich in höheren Pflanzen vermutlich hauptsächlich in Plastiden und sind dort an die Membran gebunden oder liegen in Vesikeln vor. Zudem wurden sie in Mitochondrien und in freier, nicht-membranassozierter Form im Cytoplasma nachgewiesen. Der Großteil der

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Phenole ist in Vakuolen zu finden und geringe Mengen ebenfalls im Apoplast/ Zellwandkompartiment [142, 200].

Polyphenoloxidasen können anhand ihrer Substratspezifität differenziert werden [203]. Als Catecholoxidasen (EC 1.10.3.1) werden diejenigen Enzyme bezeichnet, die durch eine Hydroxylierung und anschließende Oxidation Phenole in *ortho*-Chinone (*o*-Chinone) umwandeln. Der erste Schritt, die Hydroxylierung von Monophenolen in *ortho*-Diphenole (*o*-Diphenole), beruht auf der Monophenolase- bzw. Cresolase-Aktivität des Enzyms. Die anschließende Oxidation der entstandenen *o*-Diphenole in ihre entsprechenden *o*-Chinone ist auf die *ortho*-Diphenolase- (*o*-Diphenolase-) bzw. Catecholase-Aktivität zurückzuführen. Beide Reaktionen finden unter Sauerstoffverbrauch statt. Nicht immer ist jedoch die Cresolase-Aktivität der Catecholoxidasen vorhanden [142]. Das bedeutet, nicht jedes Enzym ist in der Lage, Monophenole zu hydroxylieren [123]. In Bild 2.1 sind sowohl der Hydroxylierungs- als auch der Oxidationsschritt dargestellt.

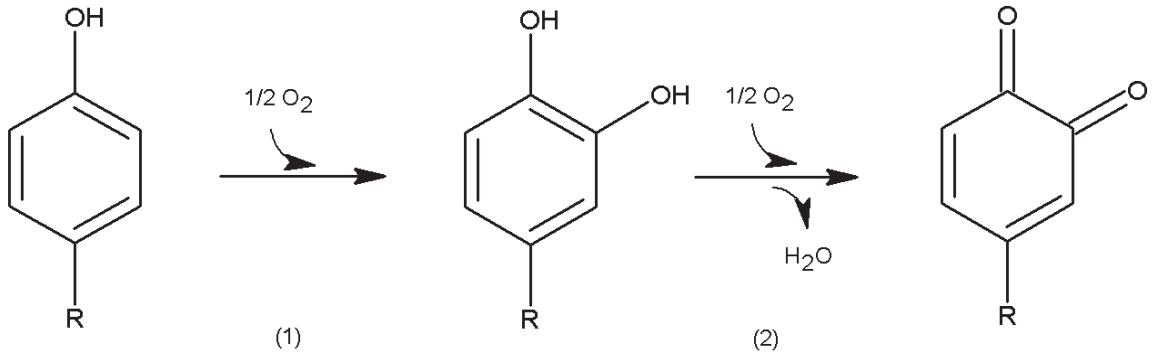

Bild 2.1: Polyphenoloxidase-katalysierte (1) Hydroxylierung eines Monophenols zum *o*-Diphenol, (2) Oxidation des *o*-Diphenols in das entsprechende *o*-Chinon (modifiziert nach [142])

Die Monophenol-Monooxygenase bzw. Tyrosinase (EC 1.14.18.1), die den Catecholoxidasen zugeordnet werden kann, katalysiert immer die Hydroxylierung von Monophenolen [142]. Zu den wenigen, hinsichtlich biochemischer, kinetischer und struktureller Merkmale gut charakterisierten Polyphenoloxidasen gehört die Tyrosinase aus Pilzen (*Agaricus bisporus* L.) [24, 93, 117, 182]. Sie ist kommerziell erhältlich sowie kostengünstig und wird daher meist zu Forschungszwecken verwendet [24, 117, 183].

Die zweite Gruppe von Polyphenoloxidasen, die sogenannten Laccasen (EC 1.10.3.2), können sowohl *o*-Diphenole als auch *para*-Diphenole in ihre entsprechenden Chinone oxidieren. Sie sind in Obst im Normalfall nur in Spuren und vor allem in Pilzen und anderen höheren Pflanzen zu finden [142], weshalb im Folgenden nicht weiter auf sie eingegangen wird.

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Für die katalytische Aktivität von Enzymen ist der Cofaktor unentbehrlich [7]. Die Polyphenoloxidase zählt zu den Metalloenzymen [155] und besitzt somit Metallionen, die für ihre Funktion bedeutend sind. Im aktiven Zentrum (Enzymtasche) befinden sich zwei Kupfer(II)-Ionen, die jeweils mit drei Histidinresten verbunden sind. In Abhängigkeit der Anordnung der binuklearen Kupferstruktur liegt die Polyphenoloxidase in drei verschiedenen Zustandsformen, der *oxy*-, *met*- oder *deoxy*-Form vor. Diese können anhand der Verknüpfung mit unterschiedlichen Liganden und der Ladung der Kupferatome differenziert werden [24, 172]. Die *oxy*-PPO (E_{oxy}) ist durch die tetragonale Anordnung der beiden Kupfer(II)-Atome gekennzeichnet. An jedes Kupferatom bindet axial ein Histidin-Ligand (schwache Bindung) und zwei Histidin-Reste binden äquatorial (starke Bindung). Zwischen den beiden Kupfer(II)-Atomen ist Sauerstoff als Peroxid gebunden. Die *met*-PPO (E_{met}) besitzt eine ähnliche Struktur wie die *oxy*-Form. Die tetragonal angeordneten Kupfer(II)-Ionen sind jedoch antiferromagnetisch miteinander verbunden und anstelle des Peroxids bindet ein anderes Hydroxid. Die *met*-Form kann durch die Anlagerung eines Peroxids in die *oxy*-Form konvertiert werden. Diese Reaktion ist reversibel, sodass durch Abspaltung des Peroxids wieder die *met*-Form entsteht. An die beiden einwertigen Kupferionen der *deoxy*-Form (E_{deoxy}) ist kein Hydroxid gebunden. Durch die reversible Anlagerung von molekularem Sauerstoff kann die *deoxy*-Form in die *oxy*-Form überführt werden [24, 93, 172].

Die Hydroxylierung und anschließende Oxidation von Monophenolen in ihre entsprechenden *o*-Chinone wird durch die drei Zustandsformen der Polyphenoloxidase bedingt. Unterschieden werden der Monophenolase-Zyklus und der *o*-Diphenolase-Zyklus [24, 93, 172], dargestellt in Bild 2.2.

Monophenole können ausschließlich von der *oxy*-Form des Enzyms als Substrate umgesetzt werden [24, 93]. Sie binden axial an eines der Kupferatome, wodurch sich die Geometrie der *oxy*-PPO verändert ($E_{oxy}M$). Im Anschluss kommt es zur Hydroxylierung durch das in der *oxy*-Form gebundene Peroxid. Als Produkt ergibt sich eine Einheit aus dem Enzym in der *met*-Form und dem entstandenen *o*-Diphenol, gleichzeitig wird Wasser abgespalten. Da es sich um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, kann entweder das *o*-Diphenol freigesetzt werden und steht somit für den *o*-Diphenolase-Zyklus zur Verfügung oder der Enzym-Substrat-Komplex bleibt bestehen. Es folgt die Oxidation des gebundenen *o*-Diphenols in das korrespondierende *o*-Chinon. Die Polyphenoloxidase liegt danach in der *deoxy*-Form vor. Durch das Binden von molekularem Sauerstoff an die *deoxy*-Form wird die *oxy*-Form regeneriert [24, 172]. Einige Monophenole reagieren ebenfalls mit der *met*-Form des Enzyms. In dieser Zustandsform werden jedoch ausschließlich *o*-Diphenole als Substrate umgesetzt. Das gebundene Monophenol ist somit nicht metabolisierbar, der entstehende Komplex ($E_{met}M$) inaktiv. Die entsprechende Reaktion wird als sogenannter *dead-*

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.