Untersuchung von Alterungsvorgängen phenolischer Inhaltsstoffe im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums von roten Traubensäften (*Vitis Vinifera*) sowie Saft und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere (*Ribes nigrum L.*) und der Aroniabeere (*Aronia melanocarpa*)

Dem Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
eingereichte Dissertation

vorgelegt von
Diplom Chemikerin
Kirsten Würth

Betreuer: Prof. Dr. Helmut Dietrich
Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand
Kaiserslautern 2007

Die vorliegende Arbeit entstand zwischen September 2003 und Januar 2006 im Fachgebiet Weinanalytik und Getränkeforschung der Forschungsanstalt Geisenheim als Teilprojekt des AIF-Projektes „Untersuchung von Alterungsvorgängen der Anthocyane im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums bei Buntsäften und Buntsaftkonzentraten“, AIF-FV 13587 N.
Weitere Teile des Projektes wurden von Daniel Bonerz (Forschungsanstalt Geisenheim) sowie von Peter Quast und Dr. Silke Hillebrand (Technische Universität Braunschweig) bearbeitet.

Eröffnung des Promotionsverfahrens: 21.11.2007

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 19.12.2007

Prüfungskommission:

Vorsitzender: **Prof. Dr. Werner Thiel**
1. Berichterstatter: **Prof. Dr. Helmut Dietrich**
2. Berichterstatter: **Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand**

Danke

Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Arbeit/AIF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 13587 N). Danke für die Finanzierung dieses Projektes.

Herrn Prof. Dr. Dietrich für die Überlassung dieses interessanten Themas, seine freundliche Unterstützung, sowie für wertvolle Anregungen während meiner Promotionszeit und das in mich gesetzte Vertrauen.

Herrn Prof. Dr. Eisenbrand für die freundliche Übernahme des Koreferates und das Interesse an meiner Promotion.

Dem projektbegleitenden Ausschuss für die gute Zusammenarbeit, für die regelmäßigen konstruktiven Treffen, für viele Anregungen und hilfreiche Diskussionen, Informationen und Einblicke in die Praxis.

Meinen Projektpartnern Peter Quast, Dr. Silke Hillebrand und Herrn Prof. Dr. Winterhalter des Instituts für Lebensmittelchemie an der TU Braunschweig für die gute Zusammenarbeit und die Betreuung und Einblicke in ihre Arbeit während meiner zweiwöchigen Doktorandenzeit in Braunschweig.

Dem Sachon Verlag für die Ermöglichung der Teilnahme am IFU Kongress in Peking.

Allen Mitarbeitern des Fachgebietes Weinanalytik und Getränkeforschung, den Außenbetrieb-, BULA- und WG-1-Teams und meinen Doktorandenkolleginnen für die schöne Zeit in Geisenheim und die Mitarbeit an vielen Stellen dieses Projektes.

Dr. Frank Will und Dr. Claus-Dieter Patz für kompetente Anregungen und Anmerkungen während meiner Doktorandenzeit.

Petra Kürbel für viele schöne Laborstunden und viele hilfreiche Tipps bei technischen und phenolischen Analysefragen.

Ein großer Dank geht an Dr. Mirjam Hey für ihre stete Diskussionsbereitschaft, für ihr Engagement beim Korrekturlesen und ihre unermüdliche Unterstützung von der ersten bis zur letzten Minute.

Ein ganz besonders großer Dank geht an meinen Doktorandenkollegen Daniel Bonerz für die sehr nette und abwechslungsreiche Zeit im Labor, für viele lustige Momente im Doktorandenalltag, für seine stets gute Laune und für viele konstruktive Diskussionen und gemeinsame Versuche.

Meiner Familie und meinen Freunden, die auch nach längerer Zeit der Frage nicht müde wurden: Was macht deine Doktorarbeit? Danke für Eure Unterstützung und für viele Ratschläge.

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG ..... - 1 -

2 PROBLEMSTELLUNG ..... - 2 -

3 THEORETISCHE GRUNDLAGEN ..... - 3 -

3.1 FRUCHTSÄFTE UND FRUCHTSAFTKONZENTRATE ..... - 3 -
3.2 SEKUNDÄRE PFLANZENINHALTSSTOFFE IN FRÜCHTEN: POLYPHENOLE ..... - 4 -
3.2.1 Klassifizierung der Polyphenole ..... - 4 -
3.2.2 Phenolcarbonsäuren ..... - 5 -
3.2.3 Stilbene ..... - 6 -
3.2.4 Flavonoide ..... - 7 -
3.2.4.1 Flavonole ..... - 7 -
3.2.4.2 Flavan-3-ole ..... - 8 -
3.2.4.3 Anthocyane ..... - 9 -
3.3 EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE STABILITÄT VON POLYPHENOLEN ..... - 10 -
3.3.1 Die Rolle der Polyphenoloxidasen (PPO) ..... - 10 -
3.3.2 Einflussfaktoren auf die Stabilität der Anthocyane ..... - 11 -
3.3.2.1 pH-Wert ..... - 11 -
3.3.2.2 Konzentration ..... - 13 -
3.3.2.3 Licht ..... - 13 -
3.3.2.4 Temperatur ..... - 13 -
3.3.2.5 Wasseraktivität ..... - 13 -
3.3.2.6 Reaktion von Anthocyanen mit anderen Inhaltsstoffen ..... - 14 -
3.3.2.7 Copigmentierungsreaktionen ..... - 15 -
3.3.2.8 Spezielle Reaktionen der Anthocyane ..... - 16 -
3.4 POLYPHENOLE IN BEERENFRÜCHTEN ..... - 25 -
3.4.1 Rote Traube (Vitis vinifera L.) ..... - 27 -
3.4.2 Schwarze Johannisbeere (Ribes nigrum L.) ..... - 28 -
3.4.3 Aroniabeere (Aronia melanocarpa) ..... - 28 -
3.5 AUFNAHME UND BIOVERFÜGBARKEIT VON POLYPHENOLEN ..... - 29 -
3.6 GESUNDHEITLICHE ASPEKTE DER POLYPHENOLE ..... - 30 -
3.7 AROMA ..... - 31 -
3.8 KINETIK ..... - 32 -

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION ..... - 34 -

4.1 ROTE TRAUBENSÄFTE ..... - 34 -
4.1.1 Primäre Saftparameter ..... - 34 -
4.1.2 Farbbetrachtung ..... - 38 -
4.1.3 Monomerindex ..... - 42 -
4.1.4 Gesamtphenolgehalte (Folin) und Antioxidative Kapazität (TEAC) ..... - 45 -
4.1.5 Phenolprofil: farblose Phenole und Anthocyane ..... - 48 -
4.1.6 Kinetik der Anthocyane ..... - 56 -
4.1.7 Sensorik der Lagerproben ..... - 63 -
4.1.8 Aromaanalytik ..... - 68 -
4.2 ARONIASAFT UND ARONIASAFTKONZENTRAT ..... - 70 -
4.2.1 Primäre Saftparameter ..... - 70 -
4.2.2 Gesamtphenole (Folin) und Antioxidative Kapazität (TEAC) ..... - 72 -
4.2.3 Farbe ..... - 74 -
4.2.4 Monomerindex ..... - 77 -

4.2.5 Phenolprofil: Farblose Phenole und Anthocyane ... - 78 -
4.2.6 Kinetik ... - 87 -
4.3 SCHWARZE JOHANNISBEERE: MUTTERSAFT, VORKONZENTRAT UND SAFTKONZENTRAT ... - 89 -
4.3.1 Primäre Saftparameter ... - 89 -
4.3.2 Gesamtphenole (Folin) und Antioxidative Kapazität (TEAC) ... - 92 -
4.3.3 Farbe ... - 93 -
4.3.4 Monomerindex ... - 96 -
4.3.5 Phenolprofil: farblose Phenole und Anthocyane ... - 97 -
4.3.6 Kinetik der Anthocyane ... - 104 -
4.3.7 Sensorik ... - 107 -
4.3.8 Aromaprofil ... - 110 -
4.4 HANDELSPROBEN ... - 112 -
4.4.1 Rote Traubensäfte ... - 112 -
4.4.2 Schwarze Johannisbeernektare ... - 116 -
4.5 VERSUCHE ZUR FARBSTABILISIERUNG IN BUNTSÄFTEN ... - 119 -
4.5.1 Copigmentierung ... - 119 -
4.5.1.1 Modellversuch 1 ... - 119 -
4.5.1.2 Modellversuch 2 ... - 124 -
4.5.1.3 Modellversuch 3 ... - 125 -
4.5.1.4 Copigmentierung in der Praxis ... - 126 -
4.5.2 Farbstabilisierung durch Herabsetzung des pH-Wertes ... - 126 -
4.5.3 Der Einfluss von Ascorbinsäure ... - 128 -
4.5.3.1 Zugabe zu Spätburgunder Traubensaft ... - 130 -
4.5.3.2 Verarbeitung Spätburgunder Traubensaft 2005 mit Ascorbinsäurezusatz ... - 132 -
4.5.3.3 Lagerung Spätburgunder 2005 mit Ascorbinsäurezusatz ... - 137 -
4.6 ABSCHLIEßENDE DISKUSSION DER ERGEBNISSE ... - 142 -

5 ZUSAMMENFASSUNG ... - 153 -

6 ABSTRACT ... - 156 -

7 MATERIAL UND METHODEN ... - 158 -

7.1 HERSTELLUNG UND LAGERUNG DER SÄFTE UND SAFTKONZENTRATE AUS ROTEN BEERENFRÜCHTEN - 158 -
7.1.1 Rote Traubensäfte ... - 158 -
7.1.2 Saft und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere ... - 159 -
7.1.3 Saft und Konzentrat der Aroniabeere ... - 159 -
7.2 FARBBETRACHTUNG MITTELS FARBMETRIK ... - 160 -
7.3 GESAMTPHENOLGEHALT NACH FOLIN-CIOCALTEU ... - 162 -
7.4 BESTIMMUNG DER ANTIOXIDATIVEN KAPAZITÄT ... - 162 -
7.5 BESTIMMUNG DES MONOMERINDEX ... - 164 -
7.6 PRIMÄRE SAFTPARAMETER (RSK-ANALYTIK) ... - 165 -
7.7 BESTIMMUNG DER ANTHOCYANE UND FARBLOSEN PHENOLE MITTELS HPLC ANALYTIK ... - 166 -
7.7.1 Bestimmung mittels Fluofix Säule ... - 166 -
7.7.2 Bestimmung der Anthocyane mittels LiChrospher Säule ... - 168 -
7.8 GRÖßENAUSSCHLUSSCHROMATOGRAPHIE MITTELS TOYOPEARL GELMATERIAL ... - 169 -
7.9 FESTPHASENEXTRAKTION (SOLID PHASE EXTRACTION) ... - 170 -
7.10 HERSTELLUNG VON PHENOLEXTRAKTEN ... - 170 -
7.11 LC-MS-ANALYTIK ... - 171 -
7.11.1 Anthocyananalytik ... - 171 -
7.11.2 Analytik der farblosen Phenole ... - 172 -
7.12 SENSORIK ... - 172 -

7.13 AROMAANALYTIK ..... - 173 -
7.13.1 Qualitative Bestimmung des Aromaprofils mittels Twister GC-MS ..... *- 173 -*
7.13.2 Quantitative Analyse der flüchtigen Verbindungen ..... *- 174 -*
7.14 MODELLVERSUCHE ..... - 176 -
7.14.1 Modellversuche zur Copigmentierung ..... *- 176 -*
7.14.1.1 Modellversuch 1 ..... - 177 -
7.14.1.2 Modellversuch 2 ..... - 178 -
7.14.1.3 Modellversuch 3 ..... - 178 -
7.15 VERSUCHE ZUR FARBSTABILISIERUNG IN FRUCHTSÄFTEN ..... - 179 -
7.15.1 Ascorbinsäurezusatz ..... *- 179 -*
7.15.2 Extraktzusatz ..... *- 179 -*
7.15.3 Zusatz von Zitronensäure ..... *- 180 -*
7.16 STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ANALYSENERGEBNISSE ..... - 180 -

8 LITERATUR ..... - 181 -

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

a*	Rot-Grün-Anteil
Abb.	Abbildung
acetyl	acetyliert
AE	Absorptionseinheiten
ara	Arabinosid
ÄS	Äpfelsäure
Asc	Ascorbinsäure
b*	Blau-Gelb-Anteil
c	Konzentration
c_0	Konzentration zum Zeitpunkt t=0 (Anfangskonzentration)
$c_{1/2}$	Konzentration zum Zeitpunkt $t=\tau_{1/2}$ (Konzentration, die der Hälfte der Anfangskonzentration entspricht)
C*	Chroma (Farbsättigung)
coum	coumaroyliert
CS	Citronensäure
Cya	Cyanidin
Del	Delphinidin
E_A	Aktvierungsenergie [kJ mol^{-1}]
EGC	Epigallocatechin
Fa.	Firma
FI	Farbintensität (entspricht der Summe aus den Absorptionen 420 nm, 520 nm, 620 nm)
gal	Galactosid
glc	Glucosid
h°	Hue Angle° (Farbton)
hL	Hektoliter
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
k	Geschwindigkeitskonstante [$Tage^{-1}$]
kJ	Kilojoule
L	Liter
L*	Helligkeit
M^+	Molekülion
Mal	Malvidin
mg	Milligramm
MHD	Mindesthaltbarkeitsdatum

Min	Minuten
n.b.	nicht bestimmt
n.n.	nicht nachweisbar
Pel	Pelargonidin
Peo	Peonidin
Pet	Petunidin
PPO	Polyphenoloxidase
R	Gaskonstante [J K^{-1} mol^{-1}]
rob	robinobiosid
RT	Retentionszeit
rut	Rutinosid
Sp.	Spuren
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
t	Zeit
t_R	Retentionszeit
$\tau_{1/2}$	Halbwertszeit (Zeitpunkt t, bei dem die Anfangskonzentration auf die Hälfte gesunken ist)
vic	vicianosid
WS	Weinsäure
z.B.	zum Beispiel
$\tau_{1/2}$	Halbwertszeit

1 EINLEITUNG

Slogans wie „Schlauer Essen“, „Länger gesünder leben“, „Hauptsache gesund“ sind in den letzten Jahren immer häufiger auf den Titelseiten von Zeitschriften und Magazine zu finden. Das stetig größer werdende Interesse der Bevölkerung an Gesundheit und Verbesserung der Lebensqualität führt auch zu einem neuen Bewusstsein hinsichtlich der Ernährung. Neben Sport wird eine gesunde ausgewogene Ernährung schon seit langem als gute Möglichkeit angesehen, Volkskrankheiten wie Übergewicht, Herz-Kreislaufkrankheiten oder Krebserkrankungen vorzubeugen [Block et al. 1992]. Insbesondere in Obst und Gemüse sind eine Vielzahl von gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen wie Vitaminen, Mineralstoffen oder sekundären Pflanzeninhaltsstoffen enthalten. Gerade die phenolischen Inhaltsstoffe sind in letzter Zeit immer mehr ins Rampenlicht gerückt, da durch eine Vielzahl epidemiologischer Studien deren positive Wirkungen gezeigt wurden [Block et al. 1992; Hertog et al. 1993; Hertog et al. 1995; Williams und Marmot, 1997; Oliver 1997; Weisel et al. 2006]. Unter anderem sind hierbei antioxidative und antiinflammatorische [Rice-Evans et al. 1997; Satué-Gracia et al. 1997; Kähkönen und Heinonen 2003, Fiore et al. 2005] und antikanzerogene [Barth et al. 2005; Hou 2003] Eigenschaften sowie der Schutz vor koronaren Herzerkrankungen [Hertog et al. 1993; Hertog et al. 1995, Bitsch 1996] zu nennen. Fruchtsäfte und Nektare können einen wichtigen Beitrag zu einer gesunden und abwechslungsreichen Ernährung beisteuern [Bub et al. 2003]. Sie sind einfach zu konsumieren und es gibt eine große Auswahl an qualitativ hochwertigen Produkten, die zu jeder Jahreszeit erhältlich sind. Mit einem Pro-Kopf-Verbrauch von 42 Litern Fruchtsaft im Jahr 2003 und 40,3 Litern 2004 lag Deutschland an der Spitze der Fruchtsaftkonsumenten vor Norwegen (33,3 Liter) und den USA (32,5 Liter) [VdF 2005]. Besonders Buntsäfte aus anthocyanhaltigen Früchten besitzen in der Wertschätzung des Verbrauchers einen hohen Stellenwert [Dietrich et al. 2005]. Für den Kauf eines Produktes sind jedoch neben dem Gehalt an wertvollen Sekundärmetaboliten nach wie vor die sensorischen Eigenschaften sowie die Farbe die wichtigsten Kriterien. Gerade bei Buntsäften ist dies jedoch ein großes Problem, da diese insbesondere während der Lagerung Veränderungen unterliegen, die häufig mit einer Verschlechterung der Qualität einhergehen. Vor allem die farbgebenden Anthocyane unterliegen Abbaureaktionen, die in der Bildung neuer Strukturen resultieren [Schwarz et al. 2004; Hillebrand et al. 2004; Wu et al. 2004; Fossen et al. 2004; Rein et al. 2005]. Als wichtige Einflussfaktoren hinsichtlich der Stabilität werden in der Literatur pH-Wert, Lichteinfluss, Konzentration, Lagertemperatur sowie die Anwesenheit von Enzymen oder farblosen Phenolen genannt [Markakis 1982]. Trotz des Verlustes eines Großteils der Anthocyane während der Lagerung sind oftmals keine oder nur kaum visuell erkennbare Veränderungen der Farbe im Buntsaft feststellbar. Der Verbraucher verlässt sich daher auf das von den Herstellern angegebene Mindesthaltbarkeitsdatum, wobei nicht geklärt ist, inwiefern Veränderungen oder Abnahmen wichtiger Saftinhaltsstoffe sich auf die spezifischen Eigenschaften eines Saftes auswirken [Otto 1984, Rehfeldt et al. 2003]. Bezüglich einer sinnvollen fruchtspezifischen Festlegung eines Mindesthaltbarkeitsdatums ist es nicht nur von Bedeutung, welche Reaktionen im Saft stattfinden, sondern auch, welche Maßnahmen zur Eindämmung von Alterungsphänomenen herangezogen werden könnten.

2 PROBLEMSTELLUNG

Neben der Auswahl der Rohware und der Verarbeitung [Rechner 2000, Mikkelsen und Poll 2002, Dietrich 2003, Dietrich et al. 2005, Dietrich et al. 2005, Thielen 2005] hat die Lagerung einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität eines Buntsaftes. Nach wie vor ist nicht genau bekannt, welche Prozesse während der Alterung eines Buntsaftes oder Buntsaftkonzentrates eine Rolle spielen und welche Stoffe abgebaut werden oder entstehen. Insbesondere die gesundheitlich positiv wirkenden sekundären Pflanzeninhaltsstoffe aus der Gruppe der Polyphenole unterliegen wesentlichen Veränderungen während der Lagerung. Diese Vorgänge sind nicht immer mit visuellen Veränderungen wie der Farbabnahme verbunden, auch auf den Geschmack der Produkte können sie sich auswirken. Für die Fruchtsaftindustrie stellt die schnelle Alterung von Buntsäften oder Buntsaftkonzentraten vor allem ein wirtschaftlich relevantes Problem dar. Der Handel verlangt eine immer längere Haltbarkeit der Produkte, die sich auf Kosten der Qualität auswirkt. Zielgerichtete Maßnahmen zur Eindämmung von Qualitätsverlusten sind jedoch nur möglich, wenn die genauen Alterungsprozesse bekannt sind. Es gibt bisher eine Vielzahl von Studien, die sich mit Alterungsphänomenen in Rotweinen befassen [Sims und Morris 1984, Mateus und De Freitas 2001, Mateus et al. 2003, Wang et al. 2003, Schwarz et al. 2004, Monagas et al. 2005, Monagas et al. 2006, Monagas et al. 2006], nur wenige aber mit der Alterung in Fruchtsäften oder Fruchtsaftkonzentraten [Cemeroglu et al. 1994, Eder 1996, Kirça und Cemeroglu 2003, Rein und Heinonen 2004, Turker et al. 2004, Kirça et al. 2006, Wang und Xu 2007].

Im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojektes sollen Alterungsprozesse in Buntsäften und Buntsaftkonzentraten aufgeklärt werden. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf der Betrachtung der Polyphenole, insbesondere der Anthocyane. Die Entstehung neuer Verbindungen und deren Reaktionsmechanismen sowie der Abbau unter verschiedenen Einflüssen soll näher untersucht werden. Durch die Minimierung sich negativ auswirkender Parameter soll ein Beitrag für die Produktion qualitativ hochwertiger Getränke geschaffen werden. Die Bearbeitung dieser Fragestellung soll wie folgt durchgeführt werden:

Buntsäfte und Buntsaftkonzentrate von roter Traube, schwarzer Johannisbeere, Aronia werden nach entsprechenden Verfahren hergestellt und über einen Zeitraum von zwölf Monaten bei 4 °C, 20 °C und 37 °C unter Lichtausschluss gelagert. Die anschließende Analytik umfasst die primären Saftparameter wie Zucker-, Extrakt-, Säure- und Mineralstoffgehalte, die Gesamtphenolgehalte, die antioxidative Kapazität, den Abbau und die strukturellen Veränderungen der farblosen Phenole und Anthocyane. Weiterhin soll der Einfluss der Lagerung auf die Farbe und die sensorischen Eigenschaften untersucht werden. Für die Diskussion des Mindesthaltbarkeitsdatums sollen kinetische Kenngrößen hinsichtlich des Anthocyanabbaus ermittelt werden. Basierend auf den erhaltenen Daten wäre die Entwicklung eines Prognosemodells für die Vorhersage der Alterung wünschenswert. Eine weitere zentrale Frage dieser Arbeit ist die Stabilisierung der Farbe von Buntsäften sowie die weitgehende Erhaltung wertgebender Sekundärmetabolite durch technologische Maßnahmen. Abschließend soll basierend auf den Ergebnissen eine Empfehlung für die Angabe eines realistischen Mindesthaltbarkeitsdatums gegeben werden.

3 THEORETISCHE GRUNDLAGEN

3.1 FRUCHTSÄFTE UND FRUCHTSAFTKONZENTRATE

Fünf Portionen Obst und Gemüse am Tag empfehlen die Ernährungswissenschaftler im Rahmen der so genannten „five-a-day“-Kampagne. Obst und Gemüse enthalten nur wenige Kalorien und sind gleichzeitig reich an Vitaminen, Mineralstoffen und Ballaststoffen, die der Körper zum Leben braucht [Block et al. 1992, Hertog et al. 1993, Hertog et al. 1995]. Inzwischen ist bekannt, dass auch die so genannten sekundären Pflanzeninhaltsstoffe, die den Früchten ihre charakteristische Farbe und ihr Aroma verleihen, für den Menschen gesundheitlich wertvoll sind [Gao und Mazza 1994, Rice-Evans 1997]. Auch durch den Verzehr von Frucht- oder Gemüsesäften kann der Konsument den modernen Ernährungsempfehlungen folgen. Sie sind einfach zu konsumieren und zu jeder Jahreszeit erhältlich. Im Jahr 2004 wurden in Deutschland pro Kopf 40,3 Liter Fruchtsaft getrunken, wobei der Anteil an Apfelsaft allein 12,78 Liter beträgt [VdF 2005]. Der Anteil an Kernobstsaft einschließlich Birnensaft lag bei 13,08 Litern, der an Zitrussäften/-nektaren bei 16,61 Litern und auf andere Fruchtsäfte oder Fruchtnektare, zu denen auch Multivitaminsäfte oder –nektare sowie Fruchtnektare aus schwarzen Johannisbeeren, Sauerkirschen, Aprikosen, Exoten gehören, entfallen 10,56 Liter [VDF 2005]. Der Verbraucher die Wahl zwischen reinen Fruchtsäften, Fruchtnektaren oder Fruchtsaftgetränken. Die Fruchtsaftverordnung [2004] legt die Deklarationen und Herstellungsanforderungen fest und gibt so die Zusammensetzung der Getränke genau vor. Fruchtsäfte werden zu 100 Prozent aus Früchten hergestellt. Sie enthalten weder Farb- noch Konservierungsstoffe und sind als Direktsäfte oder aus Fruchtsaftkonzentrat erhältlich. Der Direktsaft entspricht dem aus der Frucht direkt gewonnenen Saft, der häufig noch filtriert und anschließend abgefüllt und eingelagert wird. Wird dem frisch gepressten Saft unter Vakuumbedingungen das Wasser zunächst entzogen und dann wieder zurückgeführt, so spricht man von Fruchtsaft aus Fruchtsaftkonzentrat. Auch die während des Konzentrierprozesses verloren gegangenen Aromen sowie gegebenenfalls Fruchtfleisch und Zellen werden wieder zugesetzt. Der Fruchtanteil beträgt auch bei diesen Säften daher 100 Prozent. Die Vorteile des Konzentrierens von Fruchtsäften sind neben kostengünstigeren und einfacheren Transport- sowie Lagermöglichkeiten im Vergleich zum Saft auch die chemische und mikrobielle Stabilisierung durch die Herabsetzung des Wasseranteils.

Einige Fruchtsorten wie z.B. schwarze Johannisbeeren oder Sauerkirschen haben von Natur aus einen sehr hohen Gehalt an Fruchtsäuren und sind daher als Direktsaft nicht zum Verzehr geeignet. Diese Säfte werden durch Zusatz von Zucker oder Honig und Wasser verdünnt und genussfähig gemacht. Je nach Fruchtsorte liegt der Mindestfruchtgehalt dieser Fruchtnektare zwischen 25 und 50 Prozent. Auch bei der Fruchtnektarherstellung ist der Zusatz von Farb- und Konservierungsstoffen nicht erlaubt [Fruchtsaftverordnung 2004]. In Fruchtsaftgetränken, die den Leitsätzen für Erfrischungsgetränke unterliegen, tragen die Früchte lediglich zum Geschmack bei. Der Mindestfruchtgehalt liegt, abhängig von der Fruchtart, bei 6 bis 30 Prozent. Zusätze von Farb-, Konservierungs- oder Aromastoffen sind hierbei erlaubt.

Der Verbraucher hat die Möglichkeit aus einem breiten Angebot an unterschiedlichsten Getränken je nach seinen persönlichen Kriterien auszuwählen. In Deutschland können sich darüber hinaus im Rahmen der DLG-Qualitätsprüfung für Fruchtgetränke Fruchtsafthersteller

ihre Produkte prämieren lassen. Die Beurteilungskriterien spiegeln dabei auch die Entscheidungskriterien des Verbrauchers wider: Farbe, Geruch und Geschmack eines Saftes. Bei der Herstellung und Lagerung von Fruchtsäften erfahren gerade diese Kriterien signifikante Veränderungen [Otto 1984, Rehfeldt et al. 2003]. Im Jahr 1981 wurde daher erstmals im § 7, Abs. 1 der Lebensmittelkennzeichnungs-Verordnung das Mindesthaltbarkeitsdatum für Frucht- und Gemüsesäfte festgelegt. Es ist dasjenige Datum, bis zu dem das Lebensmittel unter angemessenen Aufbewahrungsbedingungen seine spezifischen Eigenschaften behält. Verantwortlich für die Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums sind allein die Hersteller, denn die Haltbarkeit hängt von unterschiedlichen Faktoren wie Rezeptur, Herstellungsverfahren oder Verpackung ab. In der Industrie existieren daher große Unterschiede bei der Deklaration des Mindesthaltbarkeitsdatums [Patz 1998, Rehfeldt et al. 2003]. Insbesondere Buntsäfte sind anfällig für Veränderungen während der Lagerung, da wertvolle Inhaltsstoffe abgebaut werden [Eder 1996, Kirça und Cemeroglu 2003]. Dies geht häufig mit einem Qualitätsverlust einher, der schneller eintritt als das Mindesthaltbarkeitsdatum vermuten lässt [Rehfeldt et al. 2003]. Während anthocyanhaltige Getränke wie Blutorangensaft [Zanoni et al. 2005] mit einem Mindesthaltbarkeitsdatum von 40 bis 60 Tagen deklariert sind, werden für andere Buntsäfte wie roter Traubensaft oder schwarzer Johannisbeersaft Mindesthaltbarkeitsdaten von einem Jahr oder länger angesetzt. Die Aufgabe der Industrie besteht vor allem darin, durch technologische Maßnahmen Alterungsprozesse einzudämmen oder durch eine realistische Einschätzung des Mindesthaltbarkeitsdatums die Qualität von Fruchtsäften möglichst lange zu erhalten.

3.2 SEKUNDÄRE PFLANZENINHALTSSTOFFE IN FRÜCHTEN: POLYPHENOLE

3.2.1 KLASSIFIZIERUNG DER POLYPHENOLE

Im Gegensatz zu den primären Stoffwechselprodukten wie Lipiden, Kohlenhydraten und Proteinen gehören die Polyphenole zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und kommen in den meisten Lebensmitteln nur als Minorkomponenten vor. Ihre Grundstruktur ist auf dem Phenolring (Monohydroxybenzol) aufgebaut. Neben farblosen Polyphenolen werden auch die farbgebenden Anthocyane (griech. Anthos = Blüte, kyanos = blau) synthetisiert, die als Frucht-, Blatt-, Stängel-, Samen- und Blütenfarbstoffe hauptsächlich der Anziehung von Insekten, Vögeln und anderer Tiere dienen, und ebenfalls fast in allen Pflanzenteilen gebildet werden können [Williams und Grayer 2004]. Daneben tragen phenolische Verbindungen neben Zuckern, Säuren etc. auch stark zum Geschmacksbild bei. Je nach Struktur besitzen sie gerbende und adstringierende Eigenschaften, wie z.B. die Tannine, die bei der Weinherstellung und Lagerung von Bedeutung sind. Die aus dem primären Kohlenhydratstoffwechsel stammenden phenolischen Vorstufen werden im sekundären Pflanzenstoffwechsel zu den verschiedenen phenolischen Substanzen synthetisiert. Dieser sekundäre Syntheseweg lässt sich in drei verschiedene Sektoren unterteilen, die bei Macheix et al. [2005] ausführlich beschrieben sind und auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll. Die Bildung der Anthocyane aus Dihydroflavanolen wird bei Cooper-Driver [2001] erläutert.
Die sekundär gebildeten phenolischen Substanzen lassen sich in verschiedene Untergruppen unterteilen (Abb. 1) [Macheix et al. 2005]:

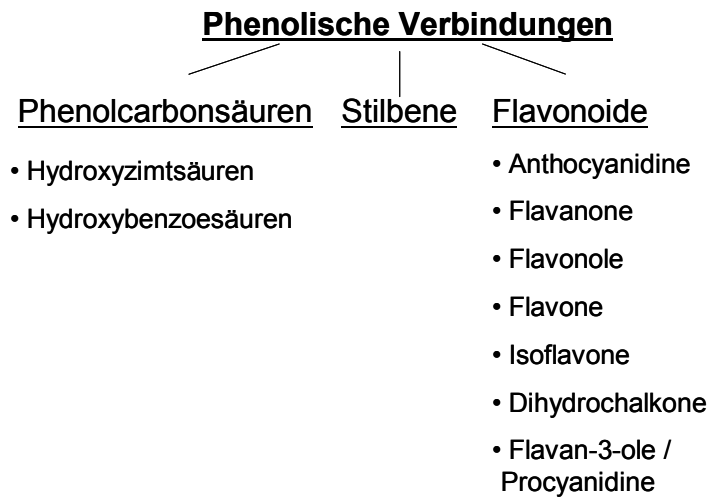
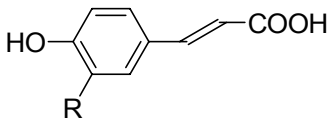


Abb. 1: Überblick über phenolische Verbindungen

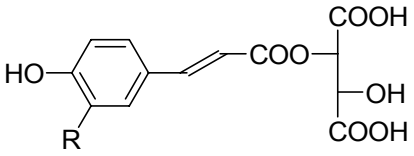
Im Folgenden wird auf einige in der vorliegenden Arbeit relevante Untergruppen näher eingegangen.

3.2.2 PHENOLCARBONSÄUREN

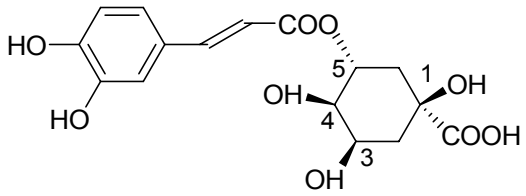
Die Phenolcarbonsäuren lassen sich aufgrund ihrer chemischen Struktur in zwei weitere Untergruppen aufteilen, die Hydroxyzimtsäuren mit einem C_6-C_3-Körper sowie die Hydroxybenzoesäuren, die einen C_6-C_1-Körper aufweisen. Nach den Flavonoiden sind die phenolischen Säuren die zweitgrößte Gruppe an phenolischen Verbindungen in Lebensmitteln.
Hydroxyzimtsäuren besitzen eine Carboxylgruppe, die aufgrund ihrer sauren Eigenschaften in der Pflanze oft mit Alkoholen, Aminen, Kohlenhydraten, aber auch Phenolen umgesetzt wird.
Dadurch erreichen diese Substanzen eine höhere Wasserlöslichkeit und können besser innerhalb der Pflanze transportiert werden. In unlöslicher Form sind sie meist an polymere Zellwandbestandteile (Lignin, Polysaccharide) gebunden. In Buntsäften kommen zahlreiche, teils pflanzenspezifische Hydroxyzimtsäuren vor. Während in der Traube meist Kaffeesäure, *p*-Coumarsäure und Ferulasäure sowie die gleichen Substanzen, verestert mit Weinsäure vorkommen, sind zum Beispiel in der Sauerkirsche vor allem Chlorogensäure, Neochlorogensäure und die Coumaroylchinasäurederivate zu finden. Glucosidische Bindungen zu Hydroxyzimtsäuren kommen eher selten in der Pflanze vor. Abb. 2 zeigt exemplarisch einige in Buntsäften vorkommende wichtige Strukturen auf.



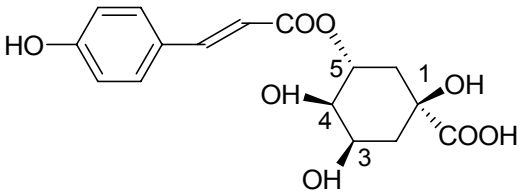
Name	R
p-Coumarsäure	H
Kaffeesäure	OH
Ferulasäure	OCH_3



Name	R
Coutarsäure	H
Caftarsäure	OH
Fertarsäure	OCH_3



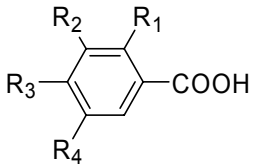
Chlorogensäure (5-Caffeoyl-*L*-(-)-chinasäure)



5-Coumaroyl-chinasäure

Abb. 2: Strukturen wichtiger Hydroxyzimtsäuren in Buntsäften

Die Verknüpfung zwischen Chinasäure und Caffeoyl- bzw. Coumaroylgruppe kann sowohl an Position C3, C4 oder C5 erfolgen. Für die Caffeoylchinasäuren sind folgende Trivialnamen gängig: Neochlorogensäure (3-Caffeoyl-L-(-)-chinasäure), Kryptochlorogensäure (4-Caffeoyl-*L*-(-)-chinasäure) sowie Chlorogensäure (5- Caffeoyl-*L*-(-)-chinasäure).
Hydroxybenzoesäuren dagegen liegen in der Regel als freie, nicht veresterte Säuren vor. Neben den monomeren Säuren (Abb. 3), kommen in der Erdbeere sehr große Mengen an Ellagsäure vor. Es handelt sich dabei um den cyclischen Ester (Di-Lacton) der Gallussäure. [Macheix et al. 2005].

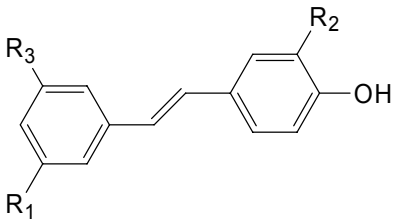


Name	R_1	R_2	R_3	R_4
p -Hydroxybenzoesäure	H	H	OH	H
Protocatechuesäure	H	OH	OH	H
Vanillinsäure	H	OCH_3	OH	H
Gallussäure	H	OH	OH	OH
Syringasäure	H	OCH_3	OH	OCH_3
Salicylsäure	OH	H	H	H

Abb. 3: Strukturen der wichtigsten Hydroxybenzoesäuren in Buntsäften

3.2.3 STILBENE

Die wichtigsten Vertreter der Stilbene stellen Resveratrol und sein Glucosid, das so genannte Piceid dar. Diese Moleküle können sowohl in der *trans*- als auch in der *cis*-Form vorkommen, wobei letztere in der Natur häufiger existiert. In Weinen und in der Familie der *Vitaceae* wurde eine Vielzahl von stilbenischen Resveratrolderivaten isoliert und identifiziert [Pour-Nikfardjam et al. 1998, Dietrich et al. 1999]. Das starke Interesse der Weinforschung an Resveratrol beruht auf seiner Entdeckung in Weinreben. Als Einflussfaktoren für die Bildung von Resveratrol werden Rebsorte, Reifegrad, Pilzinfektion [Langcake und Pryce 1977], UV-Licht [Adrian et al. 2000] und klimatische Bedingungen genannt [Goldberg et al. 1995]. Während der Herstellung von Wein beeinflussen darüber hinaus Maischestandzeit und die Art des Schönungsmittels die Bildung von Resveratrol [Threlfall et al. 1999]. Die Gehalte in Rotweinen liegen zwischen 0,02 mg/L und 46,3 mg/L [Burns et al. 2000]. In Traubensäften wurden im Vergleich zu Weinen um das zehnfache niedrigere Konzentrationen gemessen [Pour-Nikfardjam 2002], was insbesondere auf die kürzere Maischestandzeit und die damit verbundene Maischegärung zurückgeführt wird.



Name	R_1	R_2	R_3
trans -Resveratrol	OH	H	OH
cis -Resveratrol	OH	H	OH
trans -Piceid	Gluc	H	OH
cis -Piceid	Gluc	H	OH

Abb. 4: Strukturformeln der wichtigsten Resveratrolderivate

3.2.4 FLAVONOIDE

Bisher sind mehr als 9000 verschiedene Flavonoidstrukturen bekannt und allein in den Jahren 2001 bis 2003 wurden mehr als 450 neue Flavonoide in der Literatur beschrieben [Williams und Grayer 2004]. Flavonoide befinden sich überwiegend in den äußeren Randschichten der Pflanzen, Blätter und Früchte. Der Flavonoidgehalt einer Pflanze hängt stark von der Sorte, Klima und des Lichteinflusses ab. Die Grundstruktur besteht grundsätzlich aus drei Kohlenstoffringen (C_6-C_3-C_6-Struktur) mit zwei aromatischen (A- und B-Ring) und einem Sauerstoff-heterocyclischen Ring (C) (Abb. 5). Die meisten Flavonoide kommen in der Natur als Flavonoidglykoside vor.

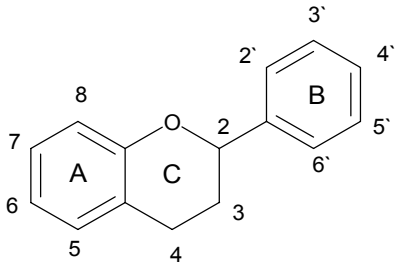
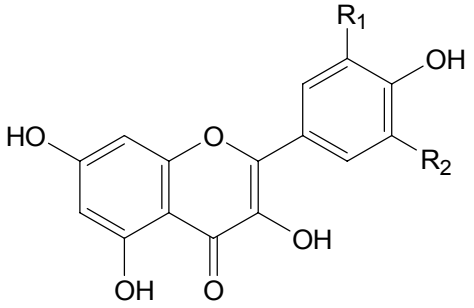


Abb. 5: Struktur des Flavan-Grundkörpers

3.2.4.1 FLAVONOLE

Die Flavonole sind eine wichtige Untergruppe der Flavonoide in Fruchtsäften. Meist kommen Flavonole als Glukoside, verknüpft in der 3-Position des C-Rings, vor. Am häufigsten sind hier Glucose, Galactose, Arabinose, aber auch Dimere wie Rutinose (Rhamnosyl-(*1→6*)-glucosid) zu finden. Neben dem häufigsten Flavonol-Grundkörper, dem Quercetin sind auch Kämpferol und Myricetin in Buntsäften häufig anzutreffen. Abb. 6 zeigt die häufigsten Flavonol-Grundkörper [Macheix et al. 2005].



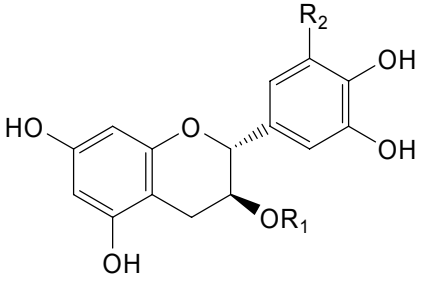
Name	R_1	R_2
Kämpferol	H	H
Quercetin	OH	H
Myricetin	OH	OH
Isorhamnetin	OCH_3	H

Abb. 6: Strukturformeln der wichtigsten Flavonole in Buntsäften

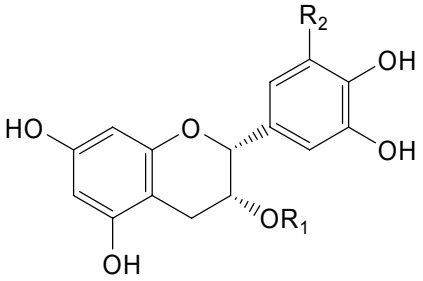
3.2.4.2 FLAVAN-3-OLE

Neben den bereits genannten Flavonolen sind auch Flavan-3-ole sowie ihre Polymerisationsprodukte, die Procyanidine, von großer Bedeutung in Obst und Gemüse. Die wichtigsten monomeren Flavan-3-ole sind die Diastereomere (+)-Catechin und (-)-Epicatechin, sowie die mit Gallussäure veresterten Derivate Gallocatechin bzw. Epigallocatechin (Abb. 7). Flavan-3-ole neigen zur Kondensationsreaktion mit Anthocyanen (4→8 Verknüpfung), wobei das Farbspektrum dieser Verbindungen deutlich bathochrom zu längeren Wellenlängen hin verschoben ist.

Durch chemische und enzymatische Kondensationsreaktionen von Catechin und Epicatechin untereinander entstehen neue polymere Substanzen, die Proanthocyanidine oder Procyanidine (Abb. 8). Ihre Kettenlänge kann von zwei bis etwa 20 Einheiten variieren und besonders in Wein tragen diese polymeren Strukturen deutlich zum Geschmacksbild („Tanninnote“) bei. Während kürzerkettige Procyanidine farblos sind und ein neutrales Geschmacksbild aufweisen, können bei längerkettigen Molekülen gelbe bis gelbbraune Farbe und ein bitterer oder adstringierender Geschmack auftreten. Sie sind beständig gegenüber Hydrolyse, nach Behandlung mit Säure in der Hitze entstehen jedoch rote Pigmente, woraus sich ihr Name „Proanthocyanidine“ erklärt [Macheix et al. 2005]. Fast alle Procyanidine sind entweder 4-β-8 oder 4-β-6 interflavanverknüpft. Im Falle der Polymerisation von Gallocatechin und Epigallocatechin werden die Kondensationsprodukte Prodelphinidine genannt. Grund hierfür ist die Fähigkeit, beim Erhitzen in saurer Lösung nach Spaltung der Interflavanverknüpfung und Oxidation mit Luftsauerstoff in rot gefärbte Anthocyanidine überzugehen. Leukoanthocyanidine werden mittlerweile die biosynthetischen Vorstufen der Anthocyane im Sekundärstoffwechsel der Pflanze genannt, die strukturell Flavan-3,4-diolen entsprechen.

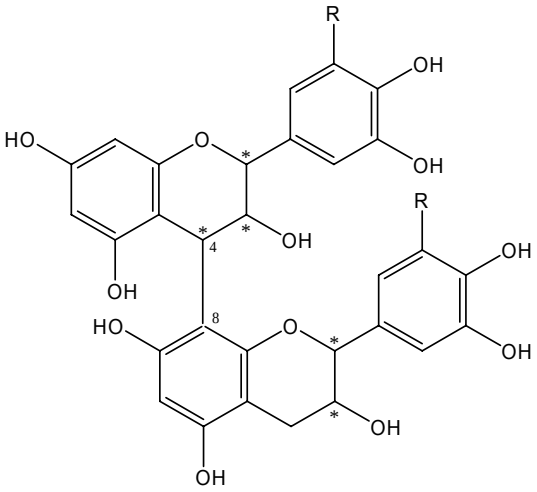


Name	R_1	R_2
(+)-Catechin	H	H
(+)-Gallocatechin	OH	H
(+)-Gallocatechin-3-*O* -gallat	OH	Gallat

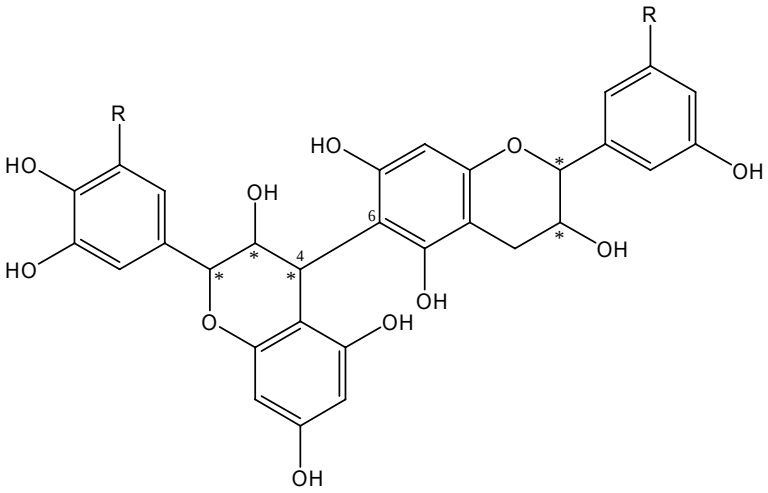


Name	R_1	R_2
(-)-Epicatechin	H	H
(-)-Epigallocatechin	OH	H
(-)-Epigallocatechin-3-*O* -gallat	OH	Gallat

Abb. 7: Strukturen der wichtigsten Flavan-3-ole in Buntsäften



4-β-8-Interflavanverknüpfung



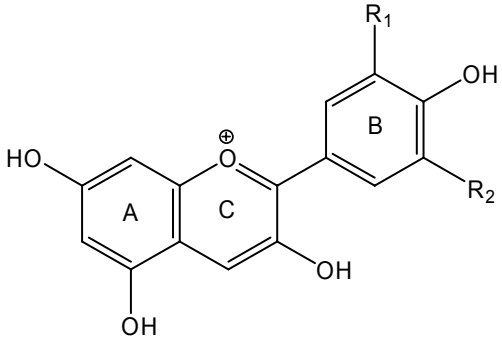
4-β-6-Interflavanverknüpfung

Abb. 8: 4-β-8- und 4-β-6 Interflavanverknüpfung der Flavan-3-ole (R = H: Procyanidine, R = OH: Prodelphinidine; * chirales Zentrum)

3.2.4.3 ANTHOCYANE

Es gibt bereits eine Vielzahl an Reviews über die Chemie der Anthocyane [Francis 1989, Mazza und Miniati 1993, Mazza 1995, von Elbe und Schwartz 1996, Wrolstad 2000, Harborne und Williams 2000, Clifford 2000, Kong et al. 2003, Stintzing und Carle 2004, Macheix et al. 2005].
Neben Chlorophyll und Carotinoiden sind die Anthocyanidine die farbgebenden Pigmente in Pflanzen, Blüten und Früchten. Sie kommen fast ausschließlich glykosidisch gebunden vor und werden so als Anthocyane bezeichnet. Als Zuckerkomponenten sind vor allem Glucose, Galactose, Rhamnose, Xylose und Arabinose zu finden, die über eine Sauerstoffbrücke am C3- oder am C3- und C5-Atom gebunden sind. Häufig werden auch Di- und Trisaccharide, die aus Kombinationen dieser vier Zucker bestehen, gefunden. Mit zunehmender Anzahl der Zuckerreste nimmt auch die Stabilität der Moleküle zu [Wrolstad 2000]. Außer der 3-Position im C-Ring können auch die 5- und 7-Position im A-Ring glykosidiert werden. Neben der Glykosidierung erklärt sich die Vielfalt der Anthocyane auch durch Bindung von phenolischen (z.B. *p*-Coumar-, Kaffee- oder Ferulasäure), oder aliphatischen Säuren (z.B. Essigsäure) am Grundgerüst [Ribéreau-Gayon 1982, Mazza und Miniati 1993]. Anthocyane stellen die größte

Gruppe an wasserlöslichen Farbpigmenten und ihr Farbspektrum reicht, je nach pH-Wert, Hydroxylierung und Methoxylierung des B-Rings oder Zuckerrest von rot über violett bis zu blau. Anthocyane weisen eine positive Ladung am Sauerstoffatom im heterocyclischen C-Ring auf. Die Glykosidierung der 3-, 5- oder 7-Position im C-Ring erhöht die Stabilität sowie die Wasserlöslichkeit der Anthocyanmoleküle [Wrolstad 2000].
In Früchten und Buntsäften vorkommende Anthocyane unterscheiden sich neben der Bindung von Zuckern, Säuren und Phenolen auch durch die unterschiedliche Hydroxylierung und Methoxylierung am B-Ring des 2-Phenylbenzopyrylium (oder Flavylium) Grundgerüstes. Die Hydroxylierung des Aglykons stabilisiert das Anthocyan, die Methoxylierung wirkt sich teilweise destabilisierend aus [Mazza und Brouillard 1987]. Bislang sind 17 natürlich vorkommende Anthocyanidine bekannt [Kong et al. 2003]. Abb. 9 zeigt die Grundstruktur der sechs wichtigsten in Früchten und Buntsäften vorkommenden Anthocyanidine (Aglyka) sowie deren charakteristischen Farbeindruck und Absorptionsmaxima.



Name	R_1	R_2	λ_{max} [nm]	Farbeindruck
Pelargonidin	H	H	520	orange-rot
Cyanidin	OH	H	535	orange-rot
Delphinidin	OH	OH	545	violett
Peonidin	OCH_3	H	515	orange-rot
Petunidin	OCH_3	OH	525	violett
Malvidin	OCH_3	OCH_3	525	violett

Abb. 9: Grundstrukturen der Anthocyanidine [Mazza und Miniati 1993]

3.3 EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE STABILITÄT VON POLYPHENOLEN

3.3.1 DIE ROLLE DER POLYPHENOLOXIDASEN (PPO)

Eine große Rolle hinsichtlich der Stabilität von Polyphenolen spielen die Polyphenoloxidasen (PPO), die phenolische Substanzen teilweise zu *ortho*-Chinonen oxidieren können. Die Reaktionen werden z.B. durch die Zerstörung von Zellverbänden gesetzt. Die gebildeten Chinone können selbst nach Enzymdeaktivierung (z.B. Erhitzung) während der Verarbeitung nicht-enzymatische Folgereaktionen eingehen, die häufig mit einem charakteristischen Geschmack einhergehen. Enzymatische und nicht-enzymatische Bräunungsreaktionen können im Anschluss zu braunen und gelb-braunen Pigmenten führen (Abb. 10) [Kader et al. 2001, Macheix et al. 2005].

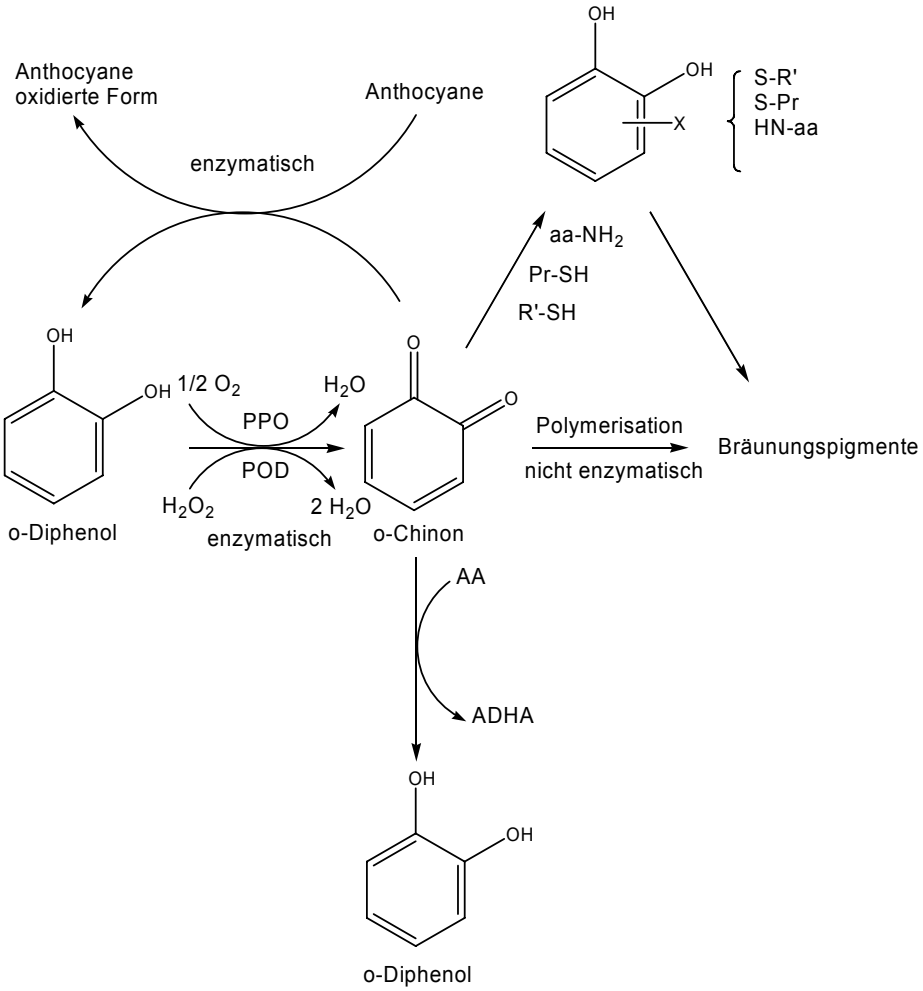


Abb. 10: Mögliche Reaktionen von Polyphenolen nach enzymatischer Oxidation durch Polyphenoloxidasen (PPO). POD: Peroxidase, aa-NH_2: Amine, Pr-SH: Proteine, R'-SH: Thiole, AA: Ascorbinsäure, ADHA: Dehydroascorbinsäure [Macheix et al. 2005].

3.3.2 EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE STABILITÄT DER ANTHOCYANE

Mit einer Veränderung des Anthocyanprofils oder der Anthocyankonzentration geht häufig eine Farbänderung einher. Einige wichtige Einflussfaktoren werden diesbezüglich im Folgenden näher erläutert [Wrolstad 2000].

3.3.2.1 PH-WERT

Der pH-Wert beeinflusst im wässrigen Milieu die Farbe der Anthocyane. Bei sehr niedrigen pH-Werten zwischen 1-3 liegen die rot gefärbten, mesomeriestabilisierten Benzopyrilium- oder Flavyliumkationen vor. Bei pH-Werten zwischen 4 und 5 wird durch Hydroxyd-Anlagerung das farblose Chromenol gebildet. Oberhalb von pH 6 entstehen durch Wasserabspaltung die chinoiden Anhydrobasen, deren Farbspektrum ins purpur-blaue verschoben ist. Steigt der pH-Wert über 7, geht die ionische Anhydrobase durch Ringöffnung in das gelb gefärbte Chalkon über (Abb. 11) [von Elbe und Schwartz 1996].

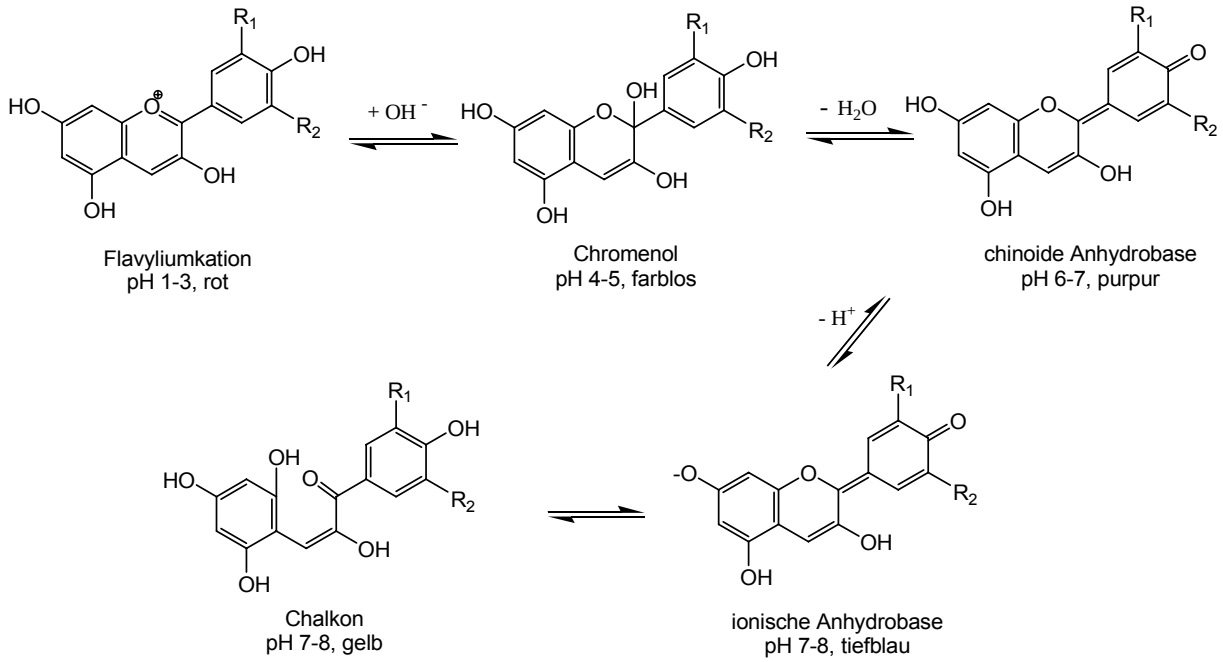


Abb. 11: pH-Wert Abhängigkeit der Anthocyane

Bei höheren pH-Werten entsteht über die Zwischenstufe des α-Diketons nach der Ringöffnung ein Aldehyd sowie eine Hydroxycarbonsäure. Der Aldehyd geht aus dem A-Ring hervor und ist für alle Anthocyanidine gleich. Die Phenolcarbonsäure wird aus dem B-Ring des Anthocyanidins gebildet und ist für jedes Anthocyanidin charakteristisch [Markakis 1974] (Tab. 1). Über diese Abbaumechanismen sowie die dabei entstehenden Produkte wird nach wie vor diskutiert.

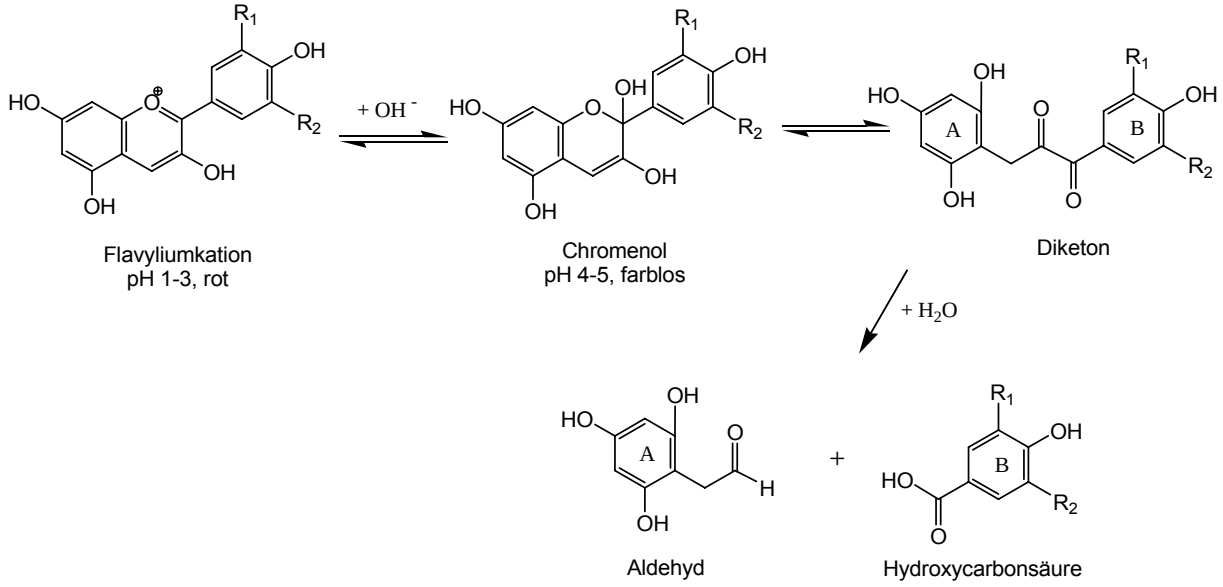


Abb. 12: Zerfall der Anthocyanidine [Markakis 1974, Seeram et al. 2001]

Tab. 1: Abbau der Anthocyanidine zu ihren spezifischen Phenolcarbonsäuren

Anthocyanidin	entstehende Carbonsäure
Pelargonidin	*p*-Hydroxybenzoesäure
Cyanidin	Protocatechuesäure
Peonidin	Vanillinsäure
Malvidin	Syringasäure

3.3.2.2 KONZENTRATION

In höherer Konzentration zeigen Anthocyane eine größere Stabilität. Skrede et al. [1992] untersuchten die Farbstabilität von Erdbeer- und schwarzem Johannisbeersirup durch Zusatz reiner Erdbeeranthocyane auf den Level von schwarzem Johannisbeersirup. Daraufhin konnte eine deutliche Erhöhung der Farbstabilität beobachtet werden. Inwiefern die Selbstassoziation der Anthocyane hier beiträgt, ist nach wie vor ungeklärt, ebenso die Struktur der entstehenden Produkte. Die Ergebnisse verdeutlichten allerdings auch, dass die Konzentration eine vergleichsweise wichtigere Rolle spielt als die Zusammensetzung des Anthocyanprofils.

3.3.2.3 LICHT

Der negative Einfluss von Licht auf Anthocyane ist seit langem bekannt [Markakis 1982]. Carlsen und Stapelfeldt [1997] untersuchten den Lichteinfluss auf die Farbe von Heidelbeerextrakt und zeigten dabei, dass zum einen Licht einen stark destabilisierenden Effekt ausübt und dass der Ausschluss von ultraviolettem Licht wiederum die Farbstabilität erhöht. Giusti und Wrolstad [1996] lagerten Maraschinokirschen über ein Jahr bei 25 °C bei Licht und unter Lichtausschluss und konnten eine höhere Farbstabilität bei der letztgenannten Variante feststellen. Auch Dyrby et al. [2001] beobachteten eine geringere Stabilität von rotem Rettichextrakt bei erhöhter Exposition mit Licht. Resümierend lässt sich festhalten, dass Anthocyankonzentration und Anthocyanprofil abhängig sind von der Intensität und der Wellenlänge der Lichtexposition.

3.3.2.4 TEMPERATUR

Mit steigender Temperatur während Herstellungs- und Lagerungsprozessen nimmt die Verlustrate an Anthocyanen zu [Markakis 1982]. Dabei induziert die Temperaturerhöhung die Hydrolyse der glykosidischen Bindung, das entstehende Aglykon ist weniger stabil als die glykosidische Form. Als erster Schritt wird die Bildung des Chalkons postuliert [Markakis 1974]. Insbesondere in Anwesenheit von Sauerstoff entstehen Bräunungsprodukte. Der thermische Abbau von Anthocyanen folgt häufig einer Kinetik 1. Ordnung [Ahmed et al. 2004] und wurde auch für Fruchtsäfte bereits gezeigt [u.a. Cemeroglu et al. 1994, Eder 1996, Kirça und Cemeroglu 2003, Wang und Xu 2007]. Weiterhin wurden bei gleich bleibender Temperatur unterschiedliche Stabilitäten verschiedener Anthocyane nachgewiesen [Dyrby et al. 2001, Mateus und De Freitas 2001].

3.3.2.5 WASSERAKTIVITÄT

Der Einfluss der Wasseraktivität auf die Stabilität von Anthocyanen wurde durch Exposition von Anthocyanen in unterschiedlichen Feuchtigkeitslevel sowie in Lösungsmittel Wasser und

Glycerin untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine Erhöhung der Anthocyanstabilität bei Erniedrigung der Wasseraktivität [Kearsley und Rodriguez 1981, Garzon et al. 2002]. Dies könnte zum Beispiel beim Vergleich der Anthocyanstabilität in Fruchtsäften und Fruchtsaftkonzentraten eine Rolle spielen.

3.3.2.6 REAKTION VON ANTHOCYANEN MIT ANDEREN INHALTSSTOFFEN

Die Matrix von Fruchtsäften oder andere pflanzlichen Produkten umfasst ein komplexes System verschiedener Inhaltsstoffe, die mit Anthocyanen interagieren können. Garzon und Wrolstad [2002] zeigten, dass die Halbwertszeit von Pelargonidin-3-glucosid in Modelllösungen deutlich höher ist als in Erdbeersaft (8 Tage) und -konzentrat (3,5 Tage bei 25 °C). Viele verschiedene Pflanzeninhaltsstoffe können die Stabilität von Anthocyanen beeinträchtigen. Dazu gehören neben Metallionen auch Ascorbinsäure, Enzyme wie Polyphenoloxidasen oder Peroxidasen, Sauerstoff, Acetaldehyd oder Wasserstoffperoxid (Abb. 13).

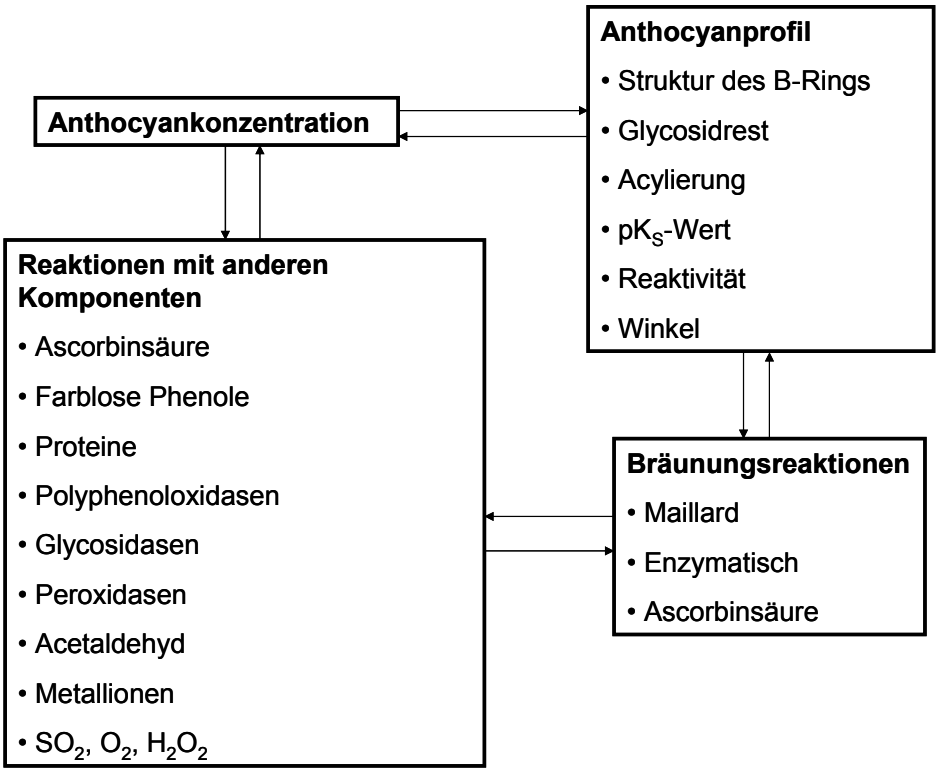


Abb. 13: Darstellung der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Farbstabilität der Anthocyane [Wrolstad 2000]

Anthocyane können auch mit Sauerstoff- oder Peroxidradikalen reagieren, hierbei fungieren sie als Antioxidans, was ihre antioxidative Eigenschaft hervorhebt [Garcia-Alonso et al. 2004]. Özkan et al. [2005] wiesen den temperaturabhängigen Abbau von Anthocyanen durch Wasserstoffperoxid nach. Die Anthocyane der Sauerkirsche waren hierbei stabiler als die von Granatapfel und Erdbeere. Die Inaktivierung von Enzymen erhöht die Stabilität von Anthocyanen. Glykosidasen bewirken die Spaltung der kovalenten Bindung zwischen Glykosylrest und Aglykon, das entstehende Anthocyanidin ist deutlich instabiler. Weiterhin gehören Peroxidasen und Phenoloxidasen zu dieser Substanzklasse. Sie reagieren jedoch meist mit anderen farblosen Phenolen, die im Anschluss das Anthocyan angreifen [Kader et al. 1999, 2001].

Ascorbinsäure wird in der Lebensmittelherstellung häufig als Antioxidans eingesetzt, um der Bräunung entgegen zu wirken. In der oben bereits genannten Studie von Özkan et al. [2005] konnte durch Zusatz von Ascorbinsäure der Abbau von Anthocyanen durch Wasserstoffperoxid reduziert werden. Allgemein wird im Zusammenhang mit Anthocyanen in der Literatur über den gegenteiligen Effekt diskutiert. Möglicherweise wird die Bräunung durch Bildung polymerer Strukturen [Poei-Langston und Wrolstad 1981], direkter Kondensation zwischen Anthocyanen und Ascorbinsäure [Poei-Langston und Wrolstad 1981] oder Bildung von Wasserstoffperoxid [Talcott et al. 2003] begünstigt. Bradshaw et al. [2001, 2003] zeigten, dass die Addition von Ascorbinsäure zu (+)-Catechin in einer Modellweinlösung zu einer deutlichen Farbänderung führt, die in einer Zunahme der Absorption bei 440 nm resultiert. Vermutet wurde hierbei, dass nicht die Ascorbinsäure selbst, sondern ein Abbauprodukt dieser die Bräunung induziert. Nach wie vor ist der Mechanismus noch nicht vollständig geklärt. Auch Brenes et al. [2005] beobachteten den negativen Einfluss von Ascorbinsäure auf die Stabilität von Anthocyanen in Modelllösungen. In einer neueren Arbeit postulierten De Rosso und Mercadante [2007], dass die geringe Stabilität von Anthocyanextrakten aus Acerola auf die hohe Konzentration der Ascorbinsäure zurückzuführen ist.

Anthocyane können aber auch mit Metallionen Komplexverbindungen bilden, die mit einer erhöhten Farbintensität und Farbstabilität einhergehen [Mazza und Miniati 1993]. Eine wichtige Rolle spielt zum Beispiel die Bildung von Komplexen zweier Anthocyanmoleküle mit dreiwertigen Metallionen, wie z.B. Fe^{3+} oder Al^{3+} (Abb. 14). Hierbei entstehen tiefblau gefärbte Chelatkomplexe, die unter anderem bei der Blütenfärbung im Pflanzenbereich beteiligt sind [Mazza und Miniati 1993]. Auch Wrolstad [2000] wiesen einen farbstabilisierenden Effekt bei Erdbeerpürree nach Zugabe von Metallionen nach.

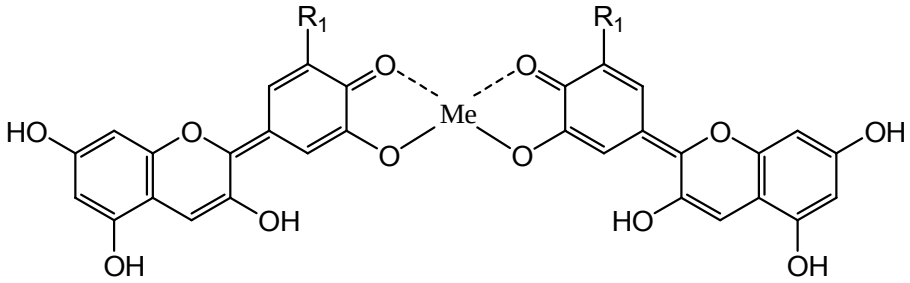


Abb. 14: Chelatkomplex zweier Anthocyane mit dreiwertigen Metallionen (Me)

3.3.2.7 COPIGMENTIERUNGSREAKTIONEN

Anthocyane können mit nichtfarbigen organischen Molekülen wie farblosen Phenolen (insbesondere Flavanoide und Phenolcarbonsäuren) neue Verbindungen bilden, die häufig die Farbstabilität erhöhen. Bereits 1916 wurde das Phänomen der so genannten Copigmentierung von Willstätter und Zollinger erstmals beschrieben, die eine Farbverschiebung von Malvidin-3-glucosid bei Zugabe von Gallussäure und Tanninen zu längeren Wellenlängen beobachteten. Inzwischen sind bereits eine Vielzahl von Publikationen erschienen, die sich mit diesem Thema sowohl in Modelllösungen, im Realmedium Wein oder Fruchtsaft und auf synthetischer Ebene auseinander setzen [Mazza und Brouillard 1990, Wilska-Jeszka und Korzuchowska 1996, Baranac et al. 1996, 1997; Dangles et al. 1997, Malien-Aubert et al. 2001, Boulton 2001, Talcott et al. 2005].

Zwischen Pigment und Copigment können verschiedene Wechselwirkungen stattfinden, wobei zwischen intra- und intermolekularen Reaktionsmechanismen unterschieden wird. Bei intramolekularen Reaktionen entsteht zwischen Anthocyan und Copigment, welches z. B. eine organische Säure oder Flavonoid sein kann, eine neue, kovalente Bindung [Dangles et al. 1993, Mazza und Brouillard 1990], während bei der intermolekularen Variante lediglich π-π-Wechselwirkungen oder schwache hydrophobe Kräfte zwischen farblosen Flavonoiden oder Phenolen und Anthocyanen zu beobachten sind [Mazza und Brouillard 1990]. Es entstehen sowohl kovalente (Kondensations- und Polymerisationsreaktionen) als auch nicht kovalent gebundene Produkte (Assoziate und Komplexe), die häufig stabiler sind im Vergleich zu den ursprünglichen Molekülen. Resultierend sind farbintensivierende (hyperchrome) Effekte sowie Verschiebungen des Absorptionsmaximums (bathochromer oder hypsochromer Effekt) zu beobachten [Mazza und Brouillard 1990]. Copigmentierungsreaktionen sind von vielen Faktoren wie z.B. Art und Konzentration von Copigment und Anthocyan, pH-Wert, Temperatur, Enzyme, Matrix etc. abhängig [Markakis 1982, Mazza und Brouillard 1990, Boulton 2001]. Unter gleich bleibenden Bedingungen nimmt der Copigmentierungseffekt mit dem Grad der Methoxylierung und Glycosylierung des Anthocyans zu [Mazza und Brouillard 1990]. Weiterhin nimmt die Farbintensität mit steigender Konzentration der Anthocyane und der Copigment/Pigment-Rate zu [Mazza und Brouillard 1990]. Studien diesbezüglich wurden bisher hauptsächlich in Modelllösungen und Rotweinen durchgeführt. Die Farbstabilität von Rotweinen wird darüber hinaus insbesondere auf Copigmentierungsreaktionen zurückgeführt [Liao et al. 1992].
Neuere Studien der Arbeitsgruppe Heinonen [Eiro und Heinonen 2002, Rein und Heinonen 2004, Rein 2005] beschäftigen sich intensiv mit dem Einfluss der Copigmentierung auf Stabilität und Verstärkung der Farbe von Buntsäften. Die Addition von Copigmenten zu Anthocyanen in Modelllösungen erhöhte die Farbstabilität während der Lagerung, was auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtet werden konnte [Darias-Martin et al. 2001, Malien-Aubert et al. 2001, Cabrita et al. 2000]. In einer weiteren Studie wurden vier Buntsäfte (Erdbeersaft, Himbeersaft, Cranberrysaft und Preiselbeersaft) mit drei phenolischen Säuren (Ferula-, Sinapin- und Rosmarinsäure) sowie zwei Extrakten (schwarze Karotte und rote Traube) versetzt. Zum Vergleich wurde zusätzlich ein kommerzielles Produkt zur Farbintensivierung verwendet. In dieser Studie zeigten die Copigmente in den jeweiligen Säften ein unterschiedliches Verhalten. Während Sinapinsäure die größte Farbverstärkung in Erdbeersaft aufwies, steigerte Rosmarinsäure die Farbe von Preiselbeer- sowie Cranberrysaft. Die Autoren folgerten aufgrund der vorliegenden Ergebnisse, dass neue intramolekulare Copigmentierungsprodukte durch Sinapin- und Ferulasäure entstanden sein könnten, wohingegen die Stabilisierung durch Rosmarinsäure intermolekular erfolgt. Da das Interesse an Copigmentierungsreaktionen in den letzten Jahren immer mehr zugenommen hat, werden einige spezielle Reaktionen der Anthocyane im folgenden Kapitel etwas ausführlicher betrachtet.

3.3.2.8 SPEZIELLE REAKTIONEN DER ANTHOCYANE

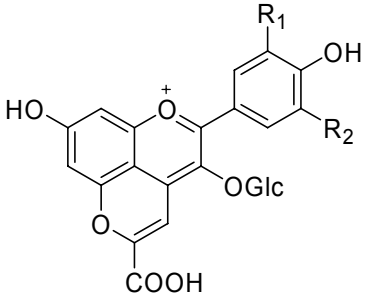
REAKTION MIT PHENOLCARBONSÄUREN, PYRUVAT UND ACETALDEHYD (PYRANOANTHOCYANE)

Die Reaktion zwischen Anthocyanen und Phenolcarbonsäuren resultiert in der Bildung neuer Anthocyanderivate, den so genannten Pyranoanthocyanen (Abb. 15). Auch bei höheren pH-Werten gelten sie als sehr stabil und farbintensiv [Bakker und Timberlake 1997; Bakker et al. 1997; Fulcrand et al. 1998]. Durch SO_2-Zugabe lassen sie sich im Gegensatz zu monomeren

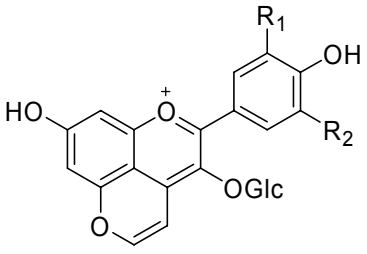
Anthocyanen nicht entfärben [Francia-Aricha et al. 1997]. Die Pigmente wurden insbesondere in authentischen und gealterten Rotweinen identifiziert [Bakker und Timberlake 1997, Mateus und De Freitas 2001; Mateus et al. 2002; Alcalde-Eon et al. 2004]. Ferner wurden in Saft der Schwarzen Karotte [Schwarz et al. 2004] und Blutorangensaft [Hillebrand et al. 2004] in geringen Mengen Pyranoanthocyane nachgewiesen. Bakker und Timberlake [1997] identifizierten Pyranoanthocyane in tiefgefrorenen Trauben nach Lagerung, jedoch nicht in der frischen Traubenschale. Weiterhin wurden in Traubenschalenextrakten, Traubentrester, Erdbeeren, Sauerkirschsaft, roter Zwiebel und schwarzen Johannisbeerkernen Pyranoanthocyane identifiziert [Lu et al. 2000; Fossen und Andersen 2003; Fossen et al. 2004; Hillebrand 2004]. In Erdbeer- und Himbeersäften wurden durch Zusatz von Ferula- und Sinapinsäure die 4-Vinylguaiacol und 4-Vinylsyringoladdukte von Cyanidin- und Pelargonidin gebildet [Rein et al. 2005].

Bei den ersten identifizierten Pyranoverbindungen handelte es sich um Derivate von Malvidin-3-glucosid bzw. Malvidin-3-(6-coumaroyl)glucosid und 4-Vinylphenol [Fulcrand et al. 1996]. Das kleinste Pyranoanthocyan ist Vitisin B [Bakker und Timberlake 1997; Asenstorfer et al. 2003], an dessen Bildung Malvidin-3-glucosid und Acetaldehyd beteiligt sind. Daneben wurden auch komplexere Strukturen gefunden [Francia-Aricha et al. 1997] und Pyranoanthocyane mit anderen Anthocyanaglyka wie Peonidin, Petunidin, Delphinidin oder Cyanidin [Asenstorfer et al. 2003, Lu et al. 2000; Pozo-Bayon et al. 2004, de Villiers et al. 2004]. Die Bildung von Pyranoanthocyanen ist in Modelllösungen nach relativ kurzer Zeit vollzogen [Schwarz und Winterhalter 2003]. Zunächst wurden Kondensationsreaktionen zwischen Anthocyanen und Flavan-3-olen unter Beteiligung von Acetaldehyd als Bildungsmechanismen diskutiert [Francia-Aricha et al. 1997; Bakker und Timberlake 1997; Es-Safi et al. 1999], ebenso der Einfluss der Fermentationsprodukte Pyruvat oder Vinylphenol [Fulcrand et al. 1998].

Das erste gefundene Vitisinderivat (Vitisin A) resultierte aus der Reaktion von Malvidin-3-glucosid mit Pyruvat [Bakker et al. 1997]. Für die Bildung von Pyranoanthocyanen postulierten Fulcrand et al. [1996] zwei Möglichkeiten. Einerseits über eine Cycloaddition und zum anderen als elektrophile Addition der Vinylphenol Doppelbindung an das Anthocyan, gefolgt von einem Oxidationsschritt. Bis heute gilt der zuletzt genannte Mechanismus als begünstigt (Abb. 16), er wird jedoch nach wie vor diskutiert. Der Einfluss von Pyruvat und Acetaldehyd bei der Bildung der Vitisine vom Typ A bzw. B wurde auch in einer neueren Studie von Morata et al. [2007] bestätigt.



A-Typ-Vitisin



B-Typ-Vitisin

Abb. 15: Grundstruktur der A-Typ-Vitisine aus der Reaktion von Anthocyanen mit Pyruvat [Fulcrand et al. 1998] und der B-Typ-Vitisine aus der Reaktion von Anthocyanen mit Acetaldehyd [Bakker and Timberlake 1997].

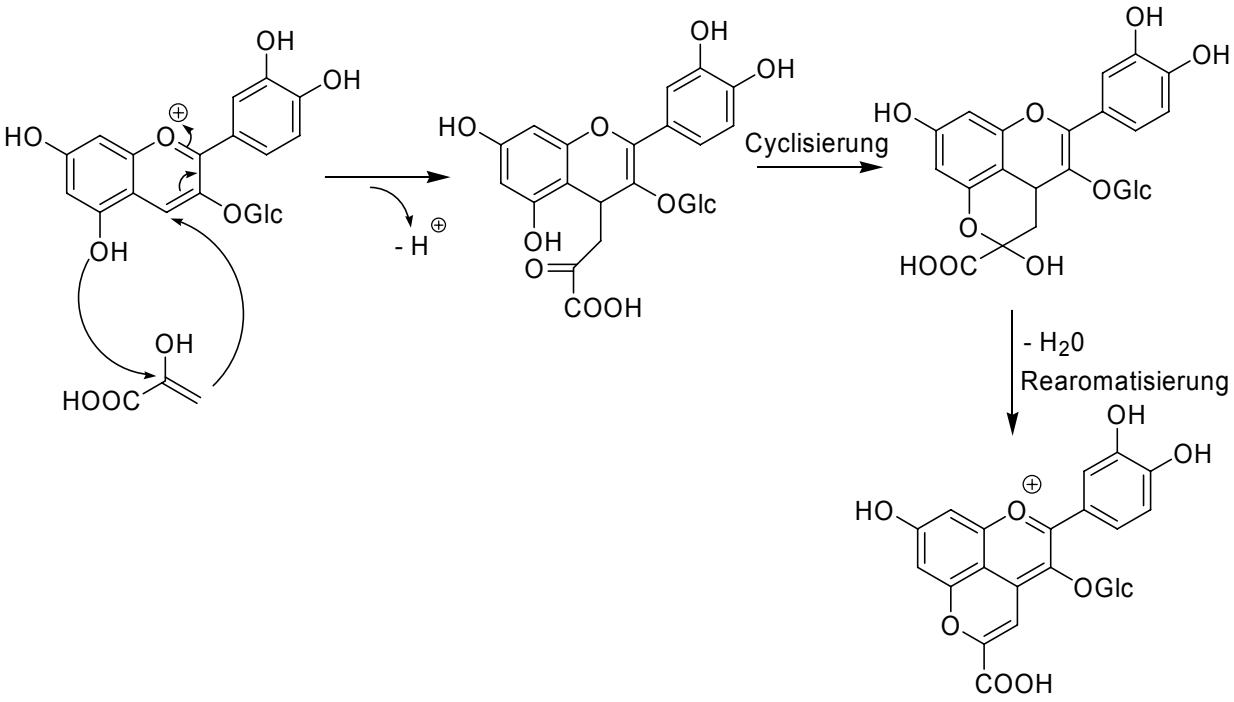


Abb. 16: Bildungsmechanismus des Vitisin A Derivates 5-Carboxypyranocyanidin-3-glucosid nach Fulcrand et al. [1998]

Pyranoanthocyan-4-Vinylphenolderivate (Abb. 17) können sowohl nach einem enzymatischen als auch nach einem nicht-enzymatischen Mechanismus aus Reaktion von Anthocyanen mit Hydroxyzimtsäuren entstehen (Abb. 18, Abb. 19) [Schwarz et al. 2003].

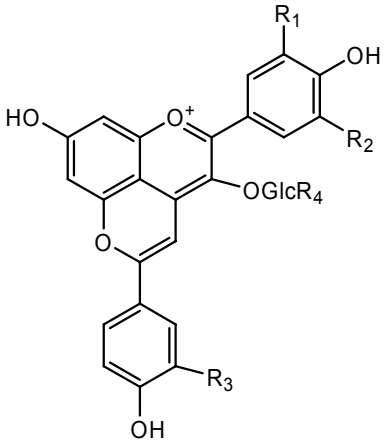


Abb. 17: Grundstruktur der Pyranoanthocyane aus der Reaktion von Anthocyanen mit 4-Vinylphenol, 4-Vinylcatechol oder 4-Vinylguaiacol (enzymatisch) bzw. Hydroxyzimtsäuren (nicht-enzymatisch)

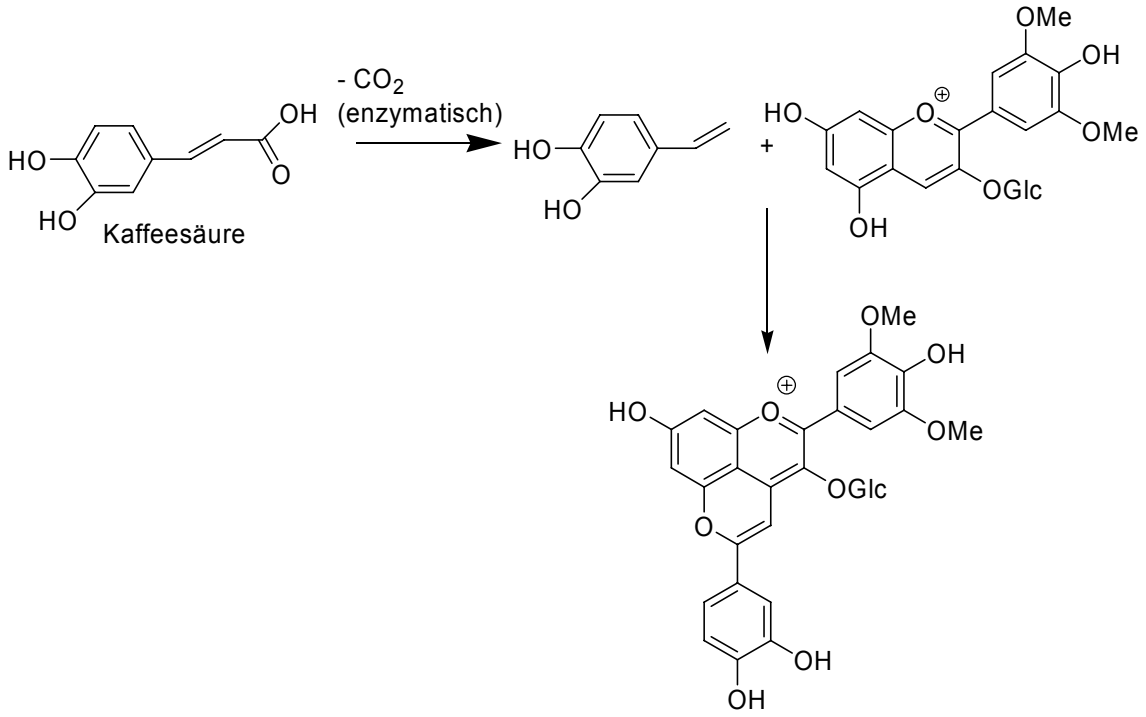


Abb. 18: Bildung von Pyranoanthocyanen aus Hydroxyzimtsäuren (enzymatisch) [Hayasaka und Asenstorfer 2002]

Nach enzymatischer Decarboxylierung reagiert das gebildete Vinylphenol mit Anthocyanen (hier Malvidin-3-glucosid) analog der Reaktion aus Abb. 16 durch elektophile Addition und anschließende Cyclisierung zum Pyranoanthocyan-4-Vinylphenolderivat (Malvidin-3-glucosid-4-vinylcatechol, Abb. 18) [Hayasaka und Asenstorfer 2002].
Nach Schwarz et al. [2003] entsteht durch nukleophilen Angriff der Hydroxyzimtsäure (hier: Kaffeesäure) an die C4-Position des Anthocyans ein Carbeniumion-Intermediat, dessen Elektronenmangel durch die anschließende intermolekulare Cyclisierung unter Protonenabspaltung ausgeglichen wird. Durch darauf folgende Oxidation und Decarboxylierung entsteht das Pyranoanthocyan (hier Pinotin A, Abb. 19).

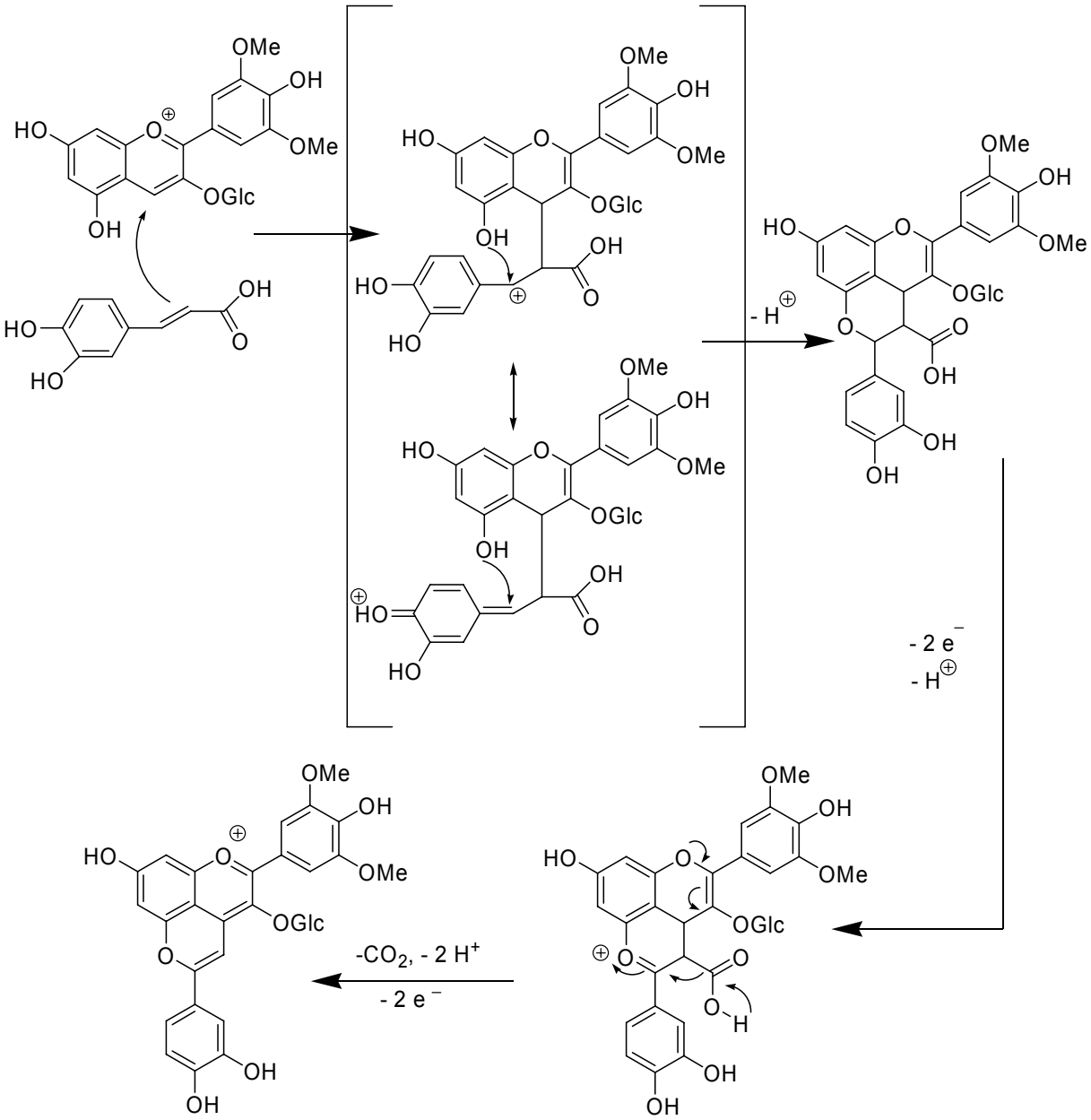


Abb. 19: Nicht-enzymatischer Bildungsmechanismus von Pinotin A aus Kaffeesäure und Malvidin-3-glucosid [Schwarz et al. 2003]

In Modelllösungen aus Malvidin-3-glucosid, Acetaldehyd und Catechin entstehen weitere Pyranoanthocyane, die so genannten Anthocyan-Flavanoladdukte (Abb. 20). Diese Pigmente wurden inzwischen auch in Rot- und Portweinen identifiziert [Mateus et al. 2002, Mateus et al. 2004, Alcalde-Eon et al. 2004]. Das für die Reaktion benötigte Vinyl-Flavanol-Addukt kann zum einen durch Spaltung eines ethylverknüpften Flavanololigomers, aber auch durch Acetaldehyd-induzierte Kondensation von Flavanolen [Es-Safi et al. 1999] entstehen. Dieses C8-Vinylflavanol reagiert analog dem Mechanismus aus Abb. 16 mit Anthocyanflavyliumkationen zum Anthocyan-Flavanoladdukt [Mateus et al. 2002].

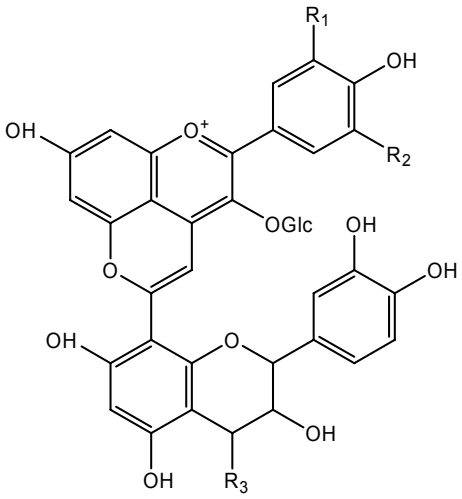


Abb. 20: Pyranoanthocyan aus der Reaktion von Anthocyanen und Vinylflavanolen

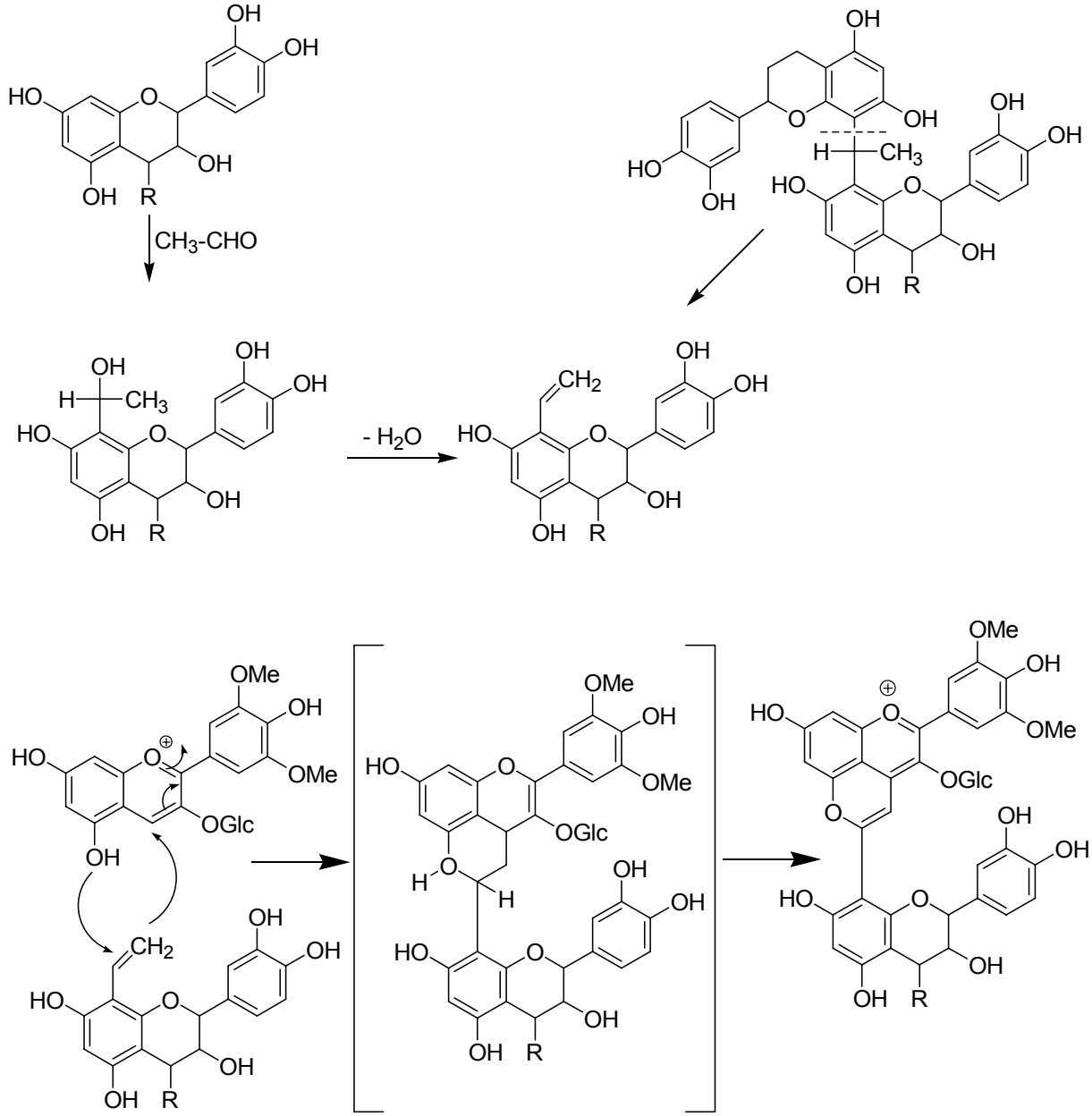


Abb. 21: Bildungsmechanismus von Anthocyan-Flavanol-Addukten [Mateus et al. 2002]

REAKTIONEN DER ANTHOCYANE MIT TANNINEN

Die Kondensation der Anthocyane mit Flavan-3-olen führt zu Pigmenten (Abb. 22), die im Gegensatz zu Pyranoanthocyanen wie monomere Anthocyane mit Disulfid ebenfalls entfärbt werden. Für die Bildung sind mehrere mögliche Reaktionswege bekannt, die direkte Addition von Tanninen an Anthocyane sowie die Kondensation unter Beteiligung von Acetaldehyd [Es-Safi et al. 1999; Pissarra et al. 2004a; Pissarra et al. 2004b]. In Rotweinen spielt vor allem die letztgenannte Möglichkeit eine Rolle, da Acetaldehyd als Nebenprodukt der Gärung hervorgeht. In Modelllösungen sowie in Rotwein wurde dieser Weg anhand der Ethylbrücke der Verknüpfung von Malvidin-3-glucosid und Flavan-3-olen wie Catechin oder Epicatechin nachgewiesen [Dallas et al. 1996, Es-Safi et al. 1999; Francia-Aricha et al. 1997] (Abb. 23).

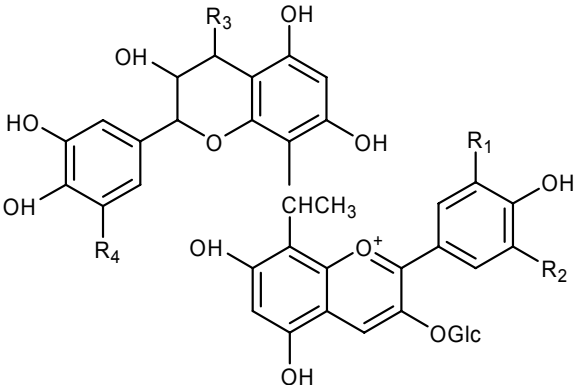


Abb. 22: Dimer aus der Kondensation von Anthocyanen und Flavan-3-olen in Anwesenheit von Acetaldehyd

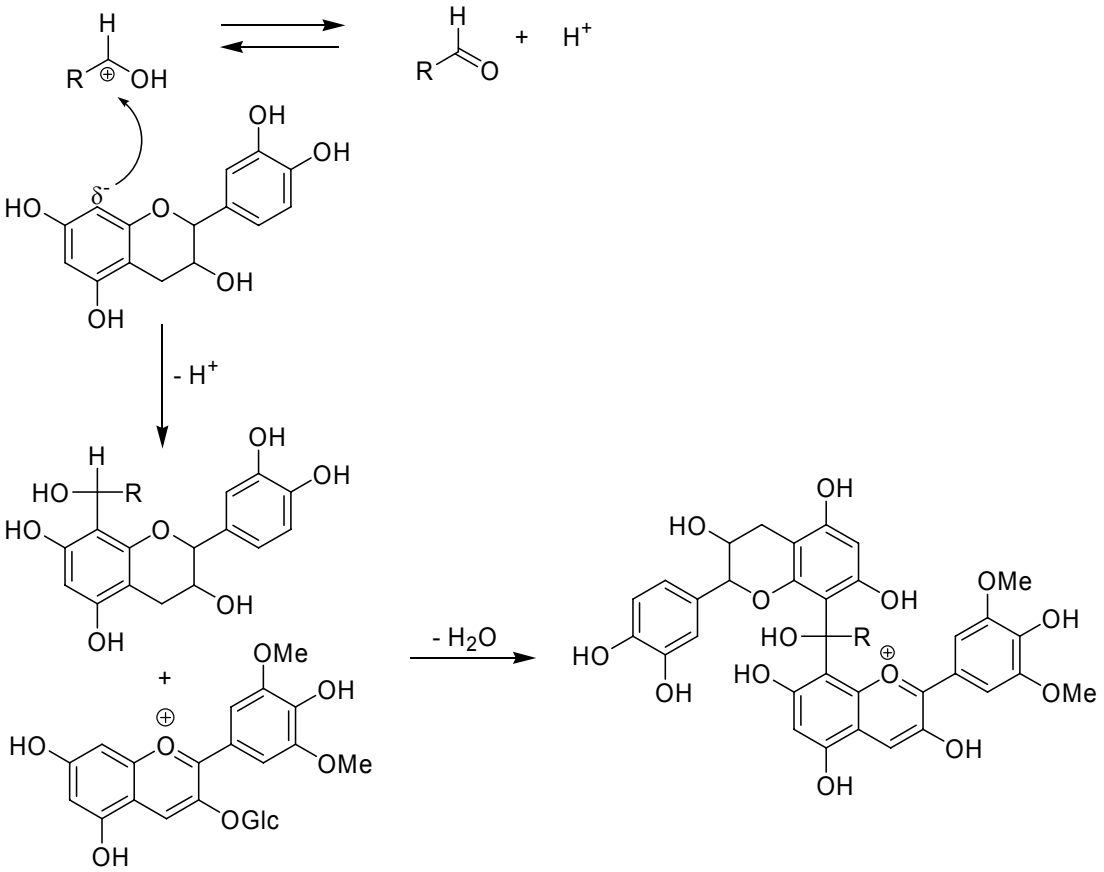


Abb. 23: Ethylverbrückte Tannin-Anthocyan-Addukte aus der Reaktion von Anthocyanen und Flavan-3-olen unter Beteilung von Acetaldehyd [Pissarra et al. 2004a]

Aus der direkten Kondensation von Anthocyanen und Tanninen entstehen Tannin-Anthocyan- (T-A^+) bzw. Anthocyan-Tanninaddukte (A^+-T), die zunächst in Rotwein von Vivar-Quintana et al. [2002] nachgewiesen und später von Salas et al. [2003, 2004] bestätigt wurden. Zwei pH-Wert abhängige Mechanismen wurden für die Reaktion zwischen Anthocyanen und Flavan-3-olen postuliert (Abb. 25). Neuere Arbeiten von McDougall et al. [2005], González-Paramás et al. [2006] und Fossen et al. [2004] zeigen das Auftreten dieser Kondensationsprodukte auch in Konzentrat und Extrakt der Schwarzen Johannisbeere und Extrakten der Erdbeere und Traubenschale.

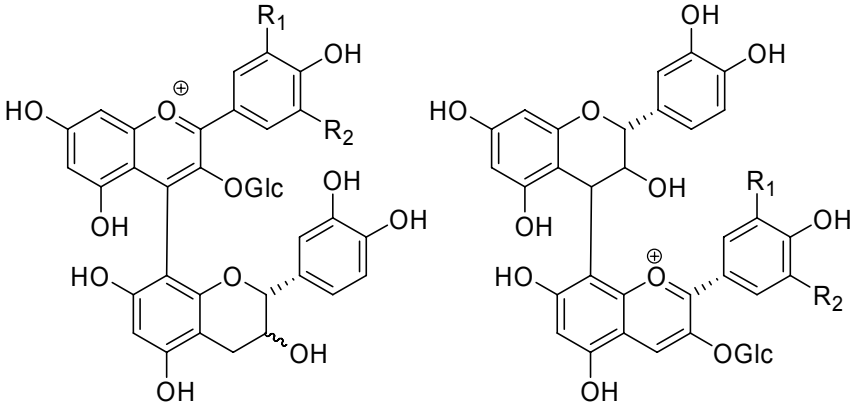


Abb. 24: Grundstrukturen der Anthocyan-Tannin- (A^+-T) bzw. Tannin-Anthocyanaddukte (T-A^+)

Bei der Bildung der A^+-T-Pigmente liegt das Anthocyan in der Flavyliumform vor und reagiert als Elektrophil. Die Hydroxylgruppen an den C5- und C7-Atomen des Flavan-3-ols verstärken dessen nucleophilen Charakter durch mesomere Effekte. Die nucleophile Addition führt zum farblosen Flaven (A-T), welches entweder zum roten Flavyliumion (A^+-T) und anschließend zum gelben Xanthyliumsalz [Liao et al. 1992, Santos-Buelga et al. 2005] reagiert oder zu einem farblosen cyclischen Kondensationsprodukt [Bishop und Nagel 1984]. Von Remy-Tanneau et al. [2003] wurde dieses bereits in Wein und Modelllösungen nachgewiesen (Abb. 25).

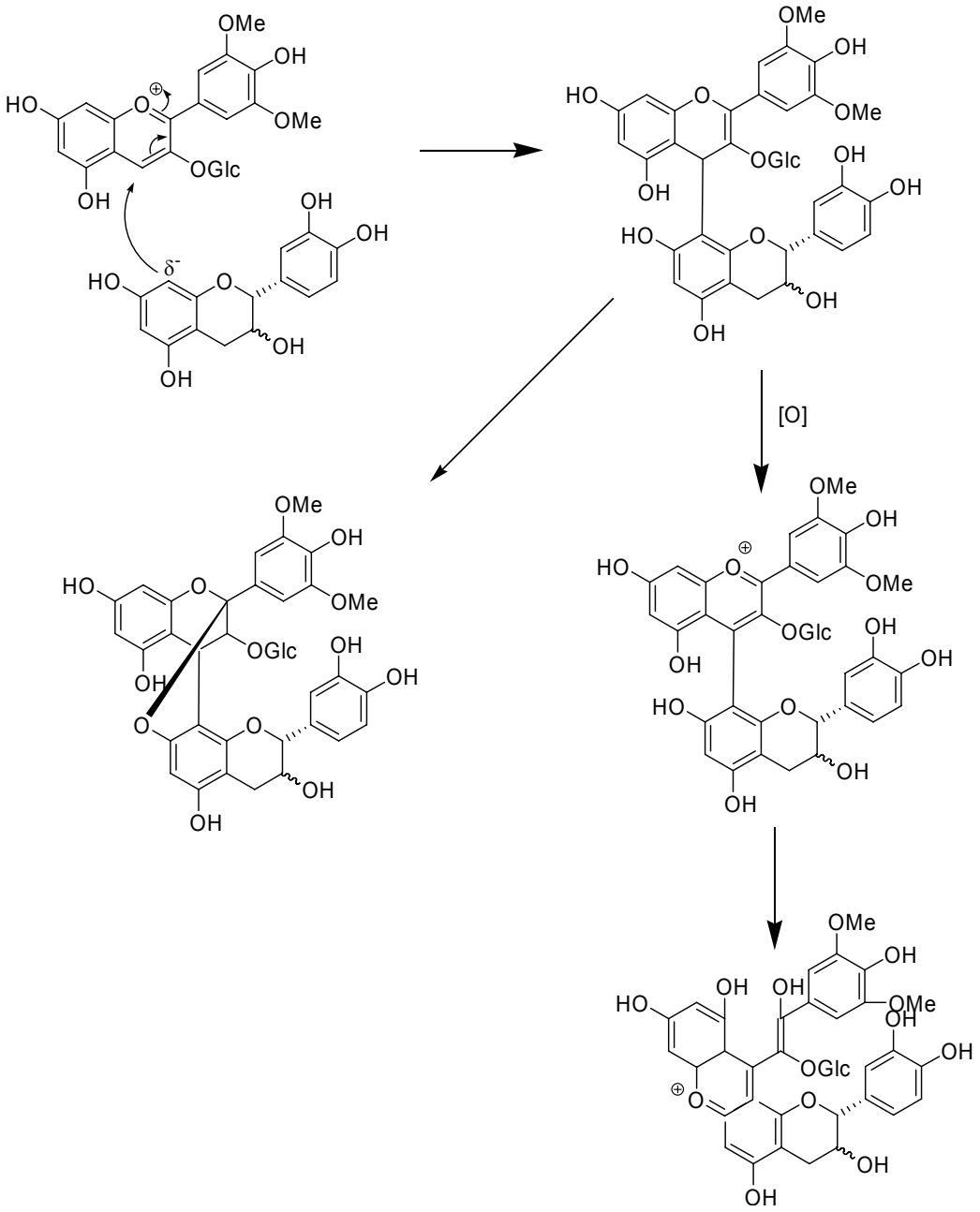


Abb. 25: Mechanismus der Anthocyan-Tannin (A^+-T) Bildung [Salas et al. 2003]

Der erste Schritt der T-A^+-Bildung beginnt mit der säurekatalysierten Spaltung der Interflavanbindung des Proanthocyanidins, die zum Carbocation T^+ führt. Hierbei reagiert dieses Molekül als Elektrophil während das Anthocyan in der hydratisierten Hemiketalform als Nucleophil fungiert. Die Reaktion führt zum farblosen Dimer (T-AOH), das unter Wasserabspaltung zum roten Flavyliumkation (T-A^+) weiterreagiert (Abb. 26).

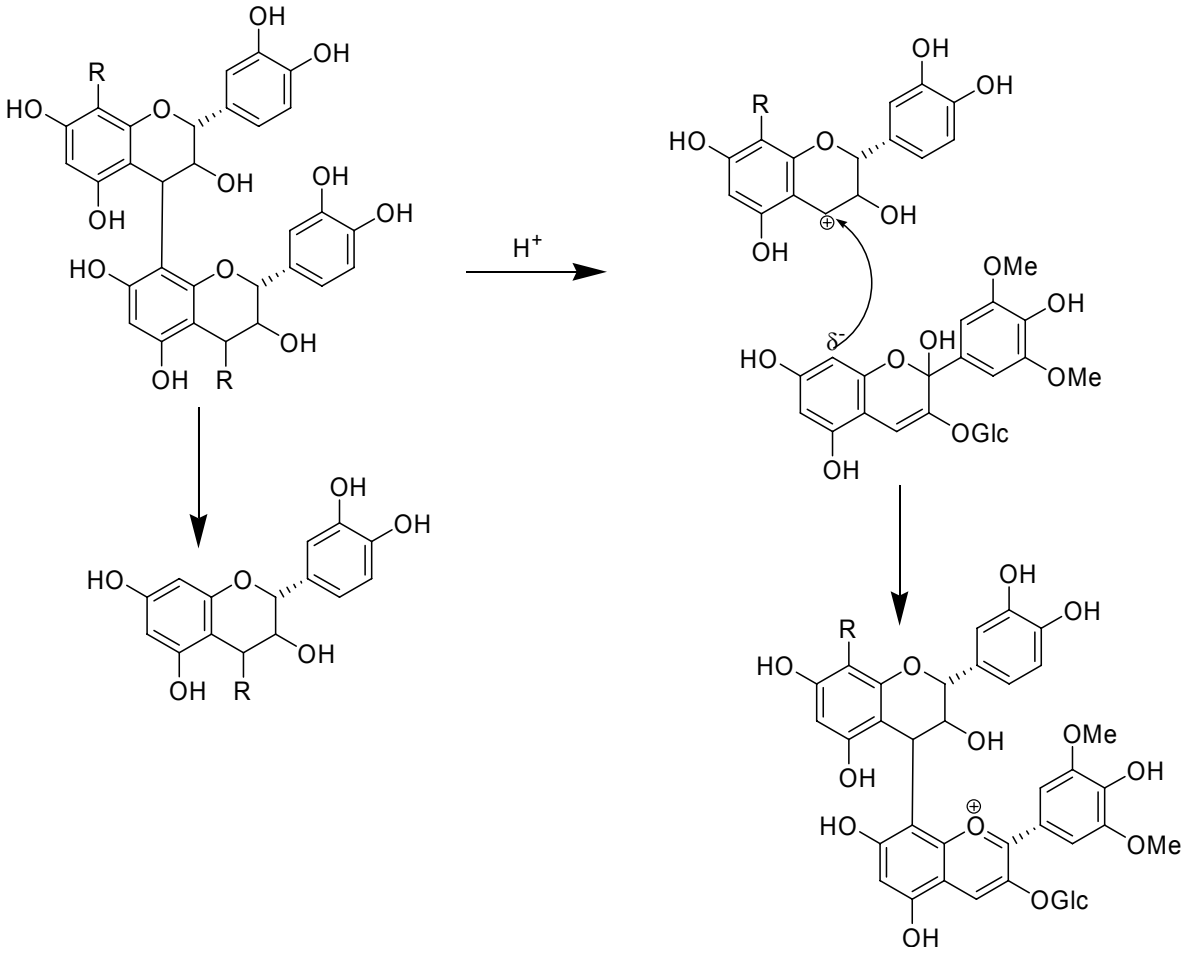


Abb. 26: Mechanismus der Tannin-Anthocyan (T-A$^+$)-Bildung [Salas et al. 2003]

3.4 POLYPHENOLE IN BEERENFRÜCHTEN

Neben Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, Aromastoffen und Kohlenhydraten zählen Polyphenole zu den wichtigsten Inhaltsstoffen von Früchten. Bei Herrmann [1992] sind zu diesem Thema ausführliche Informationen für die verschiedensten Obstsorten zu finden. Der Gehalt und die Zusammensetzung unterscheidet sich von Frucht zu Frucht und kann auch bei gleicher Obstart von Sorte zu Sorte verschieden sein [Herrmann 1992, Thielen 2005]. Bei den phenolischen Inhaltsstoffen in Früchten handelt es sich im Wesentlichen um die in den vorhergehenden Kapiteln bereits vorgestellten Vertreter. Eine umfangreiche Studie über Phenolgehalte in Skandinavischen Beeren (u.a. Heidelbeere, Blaubeere, Preiselbeere, schwarze Johannisbeere) wurde von Määttä-Riihinen [2004] herausgegeben, Zadernowski et al. [2005] erweiterten die Ergebnisse für polnische Beeren. Neben Phenolcarbonsäuren, Flavonolen, Flavan-3-olen, Proanthocyanidinen und Anthocyanen [Kähkönen et al. 2001] sind in Himbeeren und Erdbeeren auch Ellagtannine zu finden [Häkkinen et al. 2001]. Lee et al. [2005] konnten Ellagsäurekonjugate neben anderen Polyphenolen in Muskattrauben identifizieren.
Im Pflanzenreich stellt die *Vitis Vinifera* Familie, zu denen auch die Traube gehört, die wichtigsten Früchte hinsichtlich des Anthocyananteils überhaupt. Nach wie vor gilt die Rote Traube als wichtigste Basis für die Produktion von Rotweinen. Weitere sehr anthocyanreiche Beerenfamilien sind die *Rosaceae*- und *Ericaceaegewächse*. Zum erst genannten zählt die

Erdbeere (*Fragaria*), als wichtiger Vertreter ist beim letztgenannten die Schwarze Johannisbeere zu nennen (*Ribes nigrum*). Darüber hinaus gelten auch Sauerkirsche, Aronia sowie Holunder als sehr anthocyanreiche Früchte. Die Beliebtheit dieser Beeren beim Konsumenten ist unterschiedlich. Die Erdbeere wird vor allem direkt verzehrt, wohingegen Früchte wie Schwarze Johannisbeere, Sauerkirsche oder Holunder aufgrund ihres hohen Säuregehaltes als Nektare konsumiert werden. In Deutschland liegt der Anbau von Erdbeeren nach Äpfeln an zweiter Stelle. Auf einem Anbaugebiet von 14094 ha wurden im Jahr 2006 169700 t Erdbeeren angebaut (2005: 13435 ha, 146500 t) [Statistisches Bundesamt 2007]. Der Anbau von roten Rebsorten stieg in den Jahren 1999-2004 von 25154 ha auf 36852 ha.

Die Farbe der Beeren korreliert in der Regel mit ihrem Anthocyangehalt. Je tiefer rot, violett oder dunkelblau die Beeren sind, desto mehr Anthocyane sind enthalten. Der höchste Anthocyangehalt mit 3000-6000 mg/kg wird Heidelbeeren und Schwarzen Johannisbeeren (800-8100 mg/kg) zugesprochen [Kähkönen et al. 2001, Kähkönen et al. 2003]. Erdbeeren, die bezüglich ihrer Farbe meist nur ein schwaches Hellrot zeigen, weisen Anthocyangehalte zwischen 100-800 mg/kg (Tab. 2) auf. Im Allgemeinen zeigte sich, dass die angegebenen Gehalte häufig stark mit der Wahl der Methode und der jeweiligen Quantifizierung mittels Referenzstandards sowie Sorte und Alter des Produktes variieren [Kähkönen et al. 2003]. Weitere wichtige anthocyanhaltige Früchte sind Himbeere, Cranberry, Preiselbeere und rote Johannisbeere, auf die im Folgenden jedoch nicht weiter eingegangen wird.

Die häufigsten in Beerenfrüchten nachgewiesenen Anthocyane sind nicht-acyliert. In schwarzen Johannisbeeren wurden niedrige Gehalte an coumaroylierten Verbindungen nachgewiesen [Slimestad und Solheim 2002]. Höhere Gehalte weisen rote Trauben auf, deren Anthocyanprofil zum Teil aus über 50 % coumaroylierten oder acetylierten Anthocyanen besteht.

Generell ist der Anthocyangehalt in Säften oder Fruchtprodukten deutlich niedriger als in der originären Frucht, häufig verbunden mit einer Beeinflussung der Farbe. Der Verarbeitungsprozess spielt hierbei eine entscheidende Rolle [Rommel et al. 1992; Iversen 1999, Rechner 2000; Mikkelsen und Poll 2002; Dietrich et al. 2003; Bagger-Jørgensen und Meyer 2004]. Der Verlust von Anthocyanen während der Herstellung von Buntsaft und –konzentraten (z.B. aufgrund von thermischer Belastung, Oxidation) ist hoch. Skrede et al. [2000] wiesen bei der Verarbeitung von Heidelbeeren zu Saft nur noch 50 % der ursprünglich in der Frucht enthaltenen Anthocyane nach, Rommel et al. [1992] einen Verlust von 85-100 % bei der Verarbeitung von Heidelbeersaft zu Wein und anschließender Lagerung. Ein ähnliches Ergebnis fanden Garzón und Wrolstad [2002] für Erdbeere, die Abnahme lag hier ebenfalls bei ca. 50 %, der Verlust von Anthocyanen bei der Verarbeitung von Schwarzen Johannisbeeren zu Saft lag bei 25-30 % [Mikkelsen und Poll 2002]. Auch die Lagerung der Produkte hat einen wesentlichen Einfluss auf Farbe und Anthocyangehalt [Garzón und Wrolstad 2002]. Der Anthocyangehalt von Erdbeersaft liegt bei 110-270 mg/L der von Erdbeersaftkonzentrat bei 130-210 mg/L. Die Halbwertszeit von Erdbeersaft ist allerdings ca. 30 % höher als die des Konzentrates. Darüber hinaus wurde in einigen Studien auch die Haltbarkeit von Marmeladen untersucht. In Erdbeermarmelade nahmen die Gehalte in Abhängigkeit von der Lagertemperatur mit innerhalb von 200 Tagen um bis zu 100 % ab [Garcia-Viguera et al. 1999]. Die Gehalte an Anthocyanen lagen dabei zu Beginn der Lagerung je nach Sorte zwischen 62 mg/kg und 123 mg/kg

Rommel et al. [1990, 1992] zeigten, dass die Behandlung von Saft und Fruchtfleisch mit Enzymen wie Pektinasen zu höheren Anthocyan- bzw. Farbausbeuten führt. Die Addition von

natürlichen Farbstoffen auf Anthocyanbasis wie E163 aus Traubenextrakt, Extrakt der Schwarzen Johannisbeere oder Heidelbeerextrakt findet Anwendung zur Intensivierung der Farbe von Frucht- und Beerenprodukten.

Tab. 2: Vorkommen von Anthocyanen in ausgewählten Beerenfrüchten und Beerenfruchtprodukten

Beeren *(Spezies)*	Anthocyangehalt	Literatur	Hauptanthocyane
Rote Traube *(Vitis Vinifera L.)*	15-170 mg/L (Wein) 1400 mg/kg (Konzentrat)	Sánchez-Moreno et al. 2003 Bermúdez-Soto und Tomás-Barberán 2004	Mal-3-glc, Peo-3-glc
Schwarze Johannisbeere *(Ribes nigrum L.)*	4700 mg/kg (Frucht), 3500 mg/L (Saft) 800-8100 mg/kg (Frucht 1,4-492 mg/L (Saft) 3200-5870 mg/kg 7800 mg/kg (Konzentrat) 1206 mg/kg (Sirup) 870 mg/kg (Nektar)	Mikkelsen und Poll 2002 Kähkönen et al. 2001 Kähkönen et al. 2003 Nielsen et al. 2003 Wu et al. 2004 Bermúdez-Soto und Tomás-Barberán 2004 Skrede et al. 1992 Iversen 1999	Del-3-rut, Cya-3-rut, Del-3-glc, Cya-3-glc
Aroniabeere *(Aronia melanocarpa)*	6500-8700 mg/kg 6610 mg/kg 14800 mg/kg 8000 mg/kg (Konzentrat) 19660 mg/kg (Frucht), 11730 mg/kg (Saft), 18370 mg/kg (Trester)	Strigl et al. 1995 Slimestad et al. 2005 Wu et al. 2004 Bermúdez-Soto und Tomás-Barberán 2004 Oszmianski und Wojdylo 2005	Cya-3-gal, Cya-3-ara, Cya-3-glc, Cya-3-xyl

3.4.1 ROTE TRAUBE (*VITIS VINIFERA L.*)

Die Rote Traube gehört zur Familie der Weinrebengewächse *(Vitaceae)* und ist die auf der ganzen Welt am häufigsten angebaute anthocyanhaltige Frucht [Timberlake und Bridle 1982]. Jedoch nicht nur als Quelle für Rotwein sondern auch als Fruchtsaft oder als Frucht ist sie beim Konsumenten beliebt.

Von der Weißen Traube unterscheidet sich die Rote Traube im Wesentlichen durch die zur roten Farbe beitragenden Anthocyane. Bisher konnten je nach Sorte mehr als 20 verschiedene Anthocyane in Roten Trauben identifiziert werden. Malvidin-3-glucosid spielt dabei die wichtigste Rolle, gefolgt von Cyanidin- und Peonidinderivaten [Ribereau-Gayon 1982]. Zum typischen Anthocyanprofil der Roten Traube gehören weiterhin acylierte Anthocyane, die zum Teil bis zu 20 % des Gesamtgehaltes ausmachen [Santos et al. 1991; Burns et al. 2002]. Es handelt sich dabei meist um coumaroylierte oder acetylierte Verbindungen, die die Stabilität der Farbe begünstigen sollen. Neuere Untersuchungen zeigen die Bildung von Pyranoanthocyanen während der Gärung oder Lagerung [Schwarz et al. 2004]. Der Anthocyangehalt in Rotweinen

ist abhängig von der Rebsorte, der Weinherstellung, insbesondere der Gärungsbedingungen sowie der Lagerung [Perez-Prieto et al. 2003; Sun et al. 2001; Pellegrini et al. 2000]. Spanische Weine enthielten nach der Fermentation 160-550 mg/L Anthocyane, nach der Lagerung 60-260 mg/L. Der Durchschnittswert für den Anthocyangehalt in Rotwein liegt bei ca. 200 mg/L, in jungen Rotweinen mit ca. 500 mg/L allerdings deutlich höher [Liao et al. 1992].

3.4.2 SCHWARZE JOHANNISBEERE *(RIBES NIGRUM L.)*

Die Schwarze Johannisbeere gehört zur Familie der Stachelbeergewächse *(Grossulariaceae)* und zählt zur Gattung *Ribes*. Sie wird in Europa sehr häufig zu Herstellung von Nektaren oder Extrakten verwendet und weist mit durchschnittlich 2500 mg/kg einen sehr hohen Anthocyangehalt auf [Koeppen und Herrmann 1977]. Hauptanthocyankomponenten sind die 3-rutinoside und 3-glucoside von Cyanidin und Delphinidin [Chandler und Harper 1962; Koeppen und Herrmann 1977; Mazza und Miniati 1993; Matsumoto et al. 2001; Slimestad und Solheim 2002; Kähkönen et al. 2003; Nielsen et al. 2003, Froytlog et al. 1998, Wu et al. 2004]. Als Minorkomponenten wurden Pelargonidin-3-rutinosid, Petunidin-3-glucosid, Petunidin-3-rutinosid, sowie die coumaroylierten Derivate von Cyanidin- und Delphinidin-3-glucosid ermittelt [Slimestad und Solheim 2002]. In der Vergangenheit wurde aufgrund des hohen Gehaltes an *L*-Ascorbinsäure die Wechselwirkung dieser mit Anthocyanen untersucht [Iversen 1999]. An farblosen Phenolen wurden verschiedene Hydroxyzimtsäurederivate (vor allem Neochlorogensäure, 3-*p*-Coumaroylchinasäure, Caffeoylglucose, *p*-Coumaroylglucose und Feruloylglucose) und in geringen Mengen Flavan-3-ole bestimmt [Herrmann 1992].

3.4.3 ARONIABEERE (*ARONIA MELANOCARPA*)

Die Apfelbeere (Aronia) gehört zu den Rosengewächsen *(Rosaceae)* und stammt ursprünglich aus Nordamerika [Strigl et al. 1995]. Sie ist erst seit dem späten 18. Jahrhundert in Europa bekannt, wobei sich die Anbaugebiete zunächst ausschließlich in Osteuropa befanden. Die kleinen schwarzvioletten Beeren ähneln in Größe und Farbe denen der Schwarzen Johannisbeere, sie sind reich an Anthocyanen und schmecken süß-säuerlich-herb, heidelbeerähnlich mit einem adstringierenden Beigeschmack. In der traditionellen Medizin der amerikanischen Ureinwohner wurde die Aroniabeere gegen Grippe angewandt [Strigl et al. 1995], zum Rohverzehr ist sie allerdings nicht geeignet. Meist werden sie daher zu Marmeladen, Säften oder Weinen verarbeitet [Mazza und Miniati 1993]. In den letzten Jahren stieg das Interesse an der Aroniabeere insbesondere durch ihr Potential als Farbstoff und als Quelle für Phytonutrients. Für die tiefrote Farbe sind folgende Hauptanthocyane verantwortlich: Cyanidin-3-galactosid und Cyanidin-3-arabinosid, das Spektrum wird ergänzt durch die Minorkomponenten Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-xylosid [Strigl et al. 1995, Wu et al. 2004]. Die Hauptvertreter der Phenolcarbonsäuren sind Chlorogensäure und Neochlorogensäure [Slimestad et al. 2005], an farblosen Phenolen treten darüber hinaus eine Reihe von Quercetinderivaten auf. Diese Gerbstoffe werden auch für den herben adstringierenden Geschmack verantwortlich gemacht [Ara 2002].

3.5 AUFNAHME UND BIOVERFÜGBARKEIT VON POLYPHENOLEN

Damit eine Substanz im menschlichen Körper ihre Wirkung entfalten kann, muss ihre Bioverfügbarkeit gewährleistet sein.

Die Aufnahme von Anthocyanen und anderen phenolischen Substanzen in Deutschland lässt sich nur schwer abschätzen und verallgemeinern, da es große Unterschiede in den Ernährungsgewohnheiten gibt. Sie wird auf durchschnittlich 2,7 mg pro Person geschätzt, wobei die Schwankungsbreite 0-76 mg beträgt [Watzl und Rechkemmer 2001]. Obst, Gemüse, Säfte, Tees, aber auch Bier, Wein, Kaffee und Schokolade stellen wertvolle Quellen für Polyphenole dar. Mit einem Glas Rotwein werden z.B. bereits bis zu 35 mg Anthocyane aufgenommen, wobei durch hohen Konsum an roten Früchten, Säften und Wein die Aufnahme schnell vervielfacht werden kann [Watzl et al. 2002]. Scalbert und Williamson [2000] gehen von einer absoluten Aufnahme von etwa 1 g/Tag aus. Im Trend liegen auch Nahrungsergänzungsmittel auf Anthocyanbasis, mit denen es möglich ist, ein Vielfaches der durchschnittlichen Konzentration zu sich zu nehmen. Nicht zuletzt aufgrund des in den letzten Jahren enorm gestiegenen Interesses an der biologischen Wirkung phenolischer Substanzen gibt es bereits eine Reihe von Tier- und humanen Interventionsstudien [Manach et al. 2005, McGhie und Walton 2007]. Die Bioverfügbarkeit von Phenolen ist im Wesentlichen von ihrer chemischen Struktur abhängig. Für Flavonoide wie Catechin, Quercetin oder Genistein ist inzwischen ein umfangreiches Datenmaterial vorhanden. Die metabolischen Veränderungen finden hauptsächlich im Dickdarm durch Bakterien und nach Absorption in der Leber und Niere statt. Glucuronid-, Sulfat- und Methyletherkonjugate wurden dabei als Abbauprodukte im Urin nachgewiesen [Holder et al. 1999, Williamson et al. 2000, Oliveira et al. 2002]. Kahle et al. [2006] konnten eine Absorption oder Metabolisierung für die meisten oral aufgenommenen Apfelphenole im Dünndarm zeigen, die Widerfindungsrate lag für farblose Phenole zwischen 0-33 %. Für Anthocyane aus Blaubeeren betrug diese in der gleichen Studie bis zu 85 %. Im Allgemeinen ist für Anthocyane bisher nur wenig Literatur erschienen. Lapidot et al. [1998] verabreichten Probanden 300 mL Rotwein (etwa 218 mg Anthocyane bzw. 3,5 mg/kg Körpergewicht). Zwei Anthocyanverbindungen wurden unverändert im Urin identifiziert, nach Ansäuern konnten weitere Peaks mit typischen Anthocyanspektren gefunden werden. Nach 12 Stunden wurden 1,5-5,1 % der verabreichten Anthocyanmenge im Urin gemessen. In vielen Studien wurden die intakten Glycoside nachgewiesen [Kong et al. 2003] während in nur wenigen Arbeiten Glucuronid- oder Sulfidderivate identifiziert werden konnten [Wu et al. 2002, Felgines et al. 2003]. Ein Problem stellt die Messung der Blutplasma-Konzentrationen dar, da sich vermutlich bereits zahlreiche Metabolite gebildet haben, deren Nachweis relativ schwierig ist. In den meisten Bioverfügbarkeitsstudien werden Anthocyanwiderfindungsraten von maximal 10 % angegeben. Nach Aufnahme eines Cyanidin-3-Glucosid reichen Aroniabeerenextraktes identifizierten Kay et al. [2004] im Plasma sowie im Urin der Probanden insgesamt zehn Cyandinmetabolite, darunter Cyanidinglucuronide als auch methylierte Metabolite. Eine Fruchtsaftkonsumstudie bei auf „Polyphenoldiät“ gesetzten gesunden Männern zeigte bei zweiwöchiger Aufnahme von zwei phenolreichen Fruchtsäften mit Cyanidin-3-glucosid bzw. Epigallocatechingallat als Hauptphenole keinen Anstieg der Polyphenolkonzentrationen im Blutplasma [Bub et al. 2003]. Bitsch et al. [2004] führten mit neun Probanden eine Vergleichsstudie durch und verabreichten 400 mL roten Traubensaft oder Rotwein mit einem Anthocyangehalt von ungefähr 280 mg. Weder im Urin noch im Plasma konnten neben den

intakten Glucosiden konjugierte Formen nachgewiesen werden. In einer neueren Arbeit von Fleschhut et al. [2006] konnte hingegen gezeigt werden, dass in Gegenwart intestinaler Bakterien Anthocyane schnell zu phenolischen Säuren abgebaut werden. Als Metabolite der Phenolcarbonsäuren konnten darüber hinaus die beiden Methylierungsprodukte Vanillinsäure und 3-Hydroxy-4-methoxybenzoesäure sowie Glucuronsäure-, Sulfat-, und Glycinkonjugate nachgewiesen werden.
Der Metabolismus des Großteils phenolischer Verbindungen ist aber noch immer ungeklärt. Vor allem bei polymeren Verbindungen (z.B. Anthocyanaddukten) ist nach wie vor unklar, inwieweit sie resorbiert und metabolisiert werden. Nach Gabe eines procyanidinreichen Traubenkernextraktes wurde in Ratten eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität festgestellt [Koga et al. 1999]. Die Absorption von dimeren und trimeren Procyanidinen wurde nachgewiesen in humanen Kolonzellen [Santos-Buelga und Scalbert 2000]. Bisher konnten diese Ergebnisse in *in vivo* Untersuchungen noch nicht bestätigt werden. Ob die Resorption aus Säften, Weinen oder der Frucht selbst die effektivere Alternative zur Aufnahme von Polyphenolen darstellt, steht ebenfalls weiter zur Diskussion [Bitsch et al. 2004].

3.6 GESUNDHEITLICHE ASPEKTE DER POLYPHENOLE

Polyphenole sind in den letzten Jahren nicht nur wegen ihrer wichtigen Eigenschaften in der Pflanze selbst, sondern vor allem aufgrund ihrer für den Menschen gesundheitlich positiver Eigenschaften stärker in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. In einer Vielzahl von *in vitro*- und *in vivo*-Studien wurden vor allem das antioxidative Potential, der Schutz vor koronaren Erkrankungen [Hertog et al. 1993], der Schutz vor Krebserkrankungen [Hertog et al. 1993] sowie antinflammatorische Eigenschaften der Polyphenole diskutiert.
Phenolsäuren sind in der Lage, die Bildung von Kanzerogenen zu hemmen. Die Wirkmechanismen wird durch Hemmung der Phase-I-Enzyme, Wechselwirkungen mit Kanzerogenen, Induktion von Phase-II-Enzymen sowie mit antioxidativen Wirkungen begründet. Außerdem werden ihnen antimikrobielle und antibakterielle Wirkungen zugeschrieben [Watzl und Rechkemmer 2001].
In Analogie zur Pflanzenwelt entstehen auch beim Menschen reaktive Sauerstoff Spezies (ROS) wie Hydroxyl, Peroxyl- oder Superoxidanionradikale sowie reaktive Stickstoff Spezies (RNS) durch metabolische Reaktionen im Körper. Kommt es zu einer exzessiven Radikalproduktion, können Proteine, Lipide oder die DNA durch oxidativen Stress geschädigt werden. Diese Prozesse bilden die Basis für viele Erkrankungen wie Krebs, koronaren Herzerkrankungen oder Arthrosen. Anthocyane und andere Polyphenole sind wie Glutathion, Tocopherol oder Ascorbinsäure in der Lage, solche Radikale abzufangen [Tsuda et al. 1994, Rice-Evans et al. 1996, Wang et al. 1997, Stintzing et al. 2002, Netzel 2002]. Die antioxidative Wirkung erfolgt über den Transfer von Elektronen auf die Radikale. Anthocyane sind darüber hinaus in der Lage, freie Radikale abzufangen und durch das konjugierte Doppelbindungssystem zu stabilisieren. In zahlreichen humanen Interventionsstudien wurde bereits die Rolle von Phenolen als Antioxidantien beschrieben und diskutiert [Böhm et al. 1998, Cao et al. 1998]. Die Interkalation von Anthocyanen mit der DNA wird als eine weitere Möglichkeit betrachtet, diese vor einem Angriff mit Hydroxylradikalen zu schützen [Sarma und Sharma 1999]. Oxidative DNA-Schäden wurden *in vitro* durch Apfelinhaltsstoffe reduziert

[Schäfer et al. 2004], ebenso bei gesunden Probanden durch Konsum anthocyan- und polyphenolreicher Fruchtsäfte [Weisel et al. 2006].
Auf der antioxidativen Kapazität von Polyphenolen basieren weitere gesundheitlich positive Wirkungen. Dazu gehören antikarzinogene, antiinflammatorische sowie antibakterielle und antivirale Effekte und der Schutz vor koronaren Erkrankungen. In einer Kohortenstudie beschrieben Hertog et al. [1993] den Zusammenhang zwischen der täglichen Einnahme von Flavonoiden und der Herabsetzung des Risikos an koronaren Herzerkrankungen zu erkranken.
Die Oxidation von Lipoproteinen spielt eine besondere Rolle bei der Entstehung von koronaren Erkrankungen. Fuhrman et al. [1995] konnten eine Reduzierung der Lipidperoxidation in einer *in vivo* Studie nach Genuss von Rotwein messen und auch Serafini et al. [2000] beobachteten dies nach Konsum phenolreicher Getränke. Auch *In vitro* Studien belegten die Hemmung der Lipidperoxidation. Antiinflammatorische Eigenschaften der Anthocyane werden auf das Abfangpotential reaktiver Stickstoff Spezies zurückgeführt sowie die Hemmung der Cyclooxygenasen 1 und 2 [Seeram et al. 2001]. Weiterhin konnten Yi et al. [2005] in Kolonzelllinien für Polyphenole aus Blaubeeren zum einen die Hemmung der Zellproliferation und zum anderen die Induktion von Apoptose nachweisen. Der Anthocyanfraktion wurde hierbei die größte Wirksamkeit zugeschrieben.
Neueste Tierversuchsstudien untersuchten den Einfluss phenolreicher Apfelsäfte auf induzierten Darmkrebs bei Ratten. Während phenolreicher Apfelklarsaft keine positiven Auswirkungen hatte, wurde durch Gabe von naturtrübem Apfelsaft die Darmkrebsrate deutlich gesenkt. Da die phenolische Zusammensetzung beider Säfte jedoch sehr ähnlich war, sind möglicherweise komplexere Polyphenole (Procyanidine) oder nicht-phenolische Saftkomponenten (Pektin, Trubpartikel) für die präventive Wirkung des naturtrüben Apfelsaftes gegen Colonkrebs verantwortlich [Barth et al. 2005]. Höhere Konzentrationen von Anthocyanidinen von > 50 µM induzierten allerdings signifikant DNA-Schäden. Bei Anthocyanen wird die chemopräventive Wirkung auf drei unterschiedliche Mechanismen zurückgeführt. Sowohl die antioxidative Wirkung, der antikanzerogene Effekt und die Apoptoseinduktion in Tumorzellen scheinen für die chemopräventive Wirkung verantwortlich zu sein [Hou 2003].

3.7 AROMA

Eine gute Saftqualität zeichnet sich nicht nur durch Farbe und sekundäre Inhaltsstoffe aus, die wichtigste Rolle beim Kauf eines Produktes spielen Geruch und Geschmack. Darüber hinaus ist das Aroma eines der wichtigsten Kennzeichen zur Unterscheidung zahlreicher Fruchtsäfte. Zu einem ansprechenden Aroma tragen neben Zucker und Säuren flüchtige Verbindungen bei, die häufig erst während der Reife entstehen. Sie werden primär aus Vorstufen gebildet, z. B. Alkohole und Aldehyde aus Aminosäuren und Fettsäuren, oder aus nichtflüchtigen, glykosidisch gebundenen Vorstufen bzw. entstehen sekundär aus anderen Aromastoffen [Herrmann 1998]. In Früchten liegen die Aromastoffe in äußerst geringen Konzentrationen vor, entscheidend für das Aroma ist daher letztlich die Verbindung von Konzentration und Wahrnehmungsschwellenwerten. Das Aromaprofil einer bestimmten Frucht hängt sehr stark von Sorte, Klima, Lage, Reifegrad und Lagerbedingungen ab [Herrmann 2001; Mikkelsen und Poll 2002]. Wie bei Anthocyanen spielt darüber hinaus auch hier die Verarbeitung eine entscheidende Rolle. Als wichtige Einflussfaktoren gelten die Wirkung von Enzymen, die Pressung, Klärung und Filtration sowie Hitzeeinwirkung. Häufig geht eine Abnahme der Aromakomponenten mit der Behandlung einher [Mikkelsen und Poll 2002]. Insbesondere das

Aromaprofil und der Einfluss verschiedener Faktoren bei Schwarzer Johannisbeere wurden untersucht. Mehr als 120 Aromakomponenten wurden in Schwarzer Johannisbeere identifiziert, der Hauptanteil entfällt auf Terpene, Ester und Alkohole [Iversen et al. 1998, Varming et al. 2004]. Von Sydow und Karlsson [1971] untersuchten den Einfluss auf das Aromaprofil von Saft oder Maische Schwarzer Johannisbeeren und fanden eine Zunahme der Gehalte an Benzolderivaten, Dimethylsulfid und Aldehyden in Abhängigkeit der Temperatur. Generell führte die Erhitzung von Schwarzen Johannisbeeren zu einem Kochton und einem Rückgang des fruchtigen und blumigen Charakters. Während des Konzentriervorgangs wurde ein Verlust an Estern, Alkoholen, Carbonylverbindungen und Terpenen beobachtet.

3.8 KINETIK

Die Stabilität von Produkten wird anhand kinetischer Daten betrachtet. Die Aktivierungsenergie E_A, entspricht der Mindestenergie, die einem Stoff zugeführt werden muss, damit dieser reagiert. Weitere wichtige Größen sind die Halbwertszeit $\tau_{1/2}$, sie entspricht dem Zeitpunkt, bei dem die Anfangskonzentration c_0 eines Stoffes auf die Hälfte gesunken ist, und die Reaktionskonstante k.
Die Kinetik von Anthocyanen wurde bereits von einigen Arbeitsgruppen in Modelllösungen [Dyrby et al. 2001], Säften und Saftextrakten [Choi et al. 2002; Inami et al. 1996; Turker et al. 2004; Kirça und Cemerogluç 2003; Eder 1996; Cemeroglu et al. 1994], Weinen [Monagas et al. 2005] und Marmeladen [Garcia-Viguera et al. 1997] untersucht. Temperatur und Licht sind die einflussreichsten Faktoren für den Verlust an Anthocyanen.
Die Berechnung der Kinetik der Anthocyane erfolgt unter Annahme einer Reaktion 1. Ordnung. Auf der Basis der Arrhenius-Gleichung, die den Zusammenhang zwischen Aktivierungsenergie E_A, Halbwertszeit $\tau_{1/2}$, Temperatur T und Reaktionskonstante k darstellt.

$$\mathbf{k = k_0 \exp (-E_A / RT)}$$

mit: k = Reaktionskonstante [$Tage^{-1}$]
k_0 = präexponentieller Faktor (Frequenzfaktor) [$Tage^{-1}$]
E_A = Aktivierungsenergie [kJ mol^{-1}]
R = Gaskonstante [J K^{-1} mol^{-1}] = 8,314 J K^{-1} mol^{-1}
T = Temperatur [K]
$\tau_{1/2}$ = Halbwertszeit [Tage]

$$\mathbf{C / C_0 = \exp (-kT)}$$

mit: C = Konzentration zum Zeitpunkt t
C_0 = Konzentration zum Zeitpunkt t_0
k = Reaktionskonstante [$Tage^{-1}$]
T = Temperatur [K]

Die Halbwertszeit ($\tau_{1/2}$) wird aus der folgenden Beziehung berechnet:

$$\tau_{1/2} = LN\ 2 / k$$

Für die Überprüfung der Reaktionsordnung wird der Anthocyangehalt [mg/L] als natürlicher Logarithmus (LN) gegen die Lagerdauer aufgetragen. Der lineare Verlauf ist charakteristisch für eine Reaktion 1. Ordnung. Die Auftragung des LN des Anthocyangehaltes für die 37°C Lagerung zeigt allerdings einen Verlauf, der sich in zwei Teile gliedern lässt. Die ersten Punkte weisen eine Linearität auf, danach bricht die Kurve ab. In diesem Fall wird die so genannte Methode der Anfangsgeschwindigkeit angewandt, d.h. für die Berechnung der Kinetik wird nur der erste lineare Teil des Verlaufs herangezogen. Man spricht daher auch von einer Reaktion Pseudo- 1. Ordnung [Wedler 1997].
Aus den Geradengleichungen lässt sich nun die Halbwertszeit $\tau_{1/2}$ berechnen. Diese entspricht der Zeit, bei der die Ausgangskonzentration auf die Hälfte gesunken ist. Im Anschluss wird über die Beziehung $k = LN\ 2 / \tau_{1/2}$ die Geschwindigkeitskonstante k berechnet. Die Geschwindigkeitskonstanten sind temperaturabhängig. Somit ergibt sich für jede Temperatur eine eigene Geschwindigkeitskonstante. Der letzte Schritt ist schließlich die Berechnung der Aktivierungsenergie E_A. Der natürliche Logarithmus von k (LN(k)) wird hierfür gegen 1/T aufgetragen. Die Steigung der Geraden entspricht E_A. Diese Beziehung ergibt sich aus der Arrhenius Formel $k = k_0 * e^{-EA/RT}$ mit der Gaskonstanten R = 8,314 J/K*mol.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Lagerung von Buntsäften erfolgt im Normalfall innerhalb eines Temperaturintervalls von 4 °C (z.B. Kühlschrank) bis 25 °C (z.B. Supermarkt). Bei der folgenden Betrachtung der Ergebnisse wird teilweise auch die 37 °C Lagerung vorgestellt, da gerade diese Lagertemperatur einen gravierenden Einfluss hat, was bei sehr hohen z.B. Transporttemperaturen im Sommer durchaus für kurze Zeiträume auch relevant sein kann. Weiterhin wurde diese Temperatur für die kinetischen Berechnungen benötigt.

4.1 ROTE TRAUBENSÄFTE

Die drei Rebsorten cv. Spätburgunder (im Folgenden abgekürzt **SB**), cv. Rotberger (**RB**) und cv. Dunkelfelder (**DF**) der Jahrgänge 2003 und 2004 wurden sortenrein zu roten Traubensäften verarbeitet, über einen Zeitraum von zwölf bzw. drei (2005) Monaten unter Lichtausschluss bei 4 °C, 20 °C und 37 °C gelagert und anschließend auf die folgenden Saftparameter analysiert. Bei der Betrachtung der Werte sollte berücksichtigt werden, dass die Verarbeitungslinien von cv. Spätburgunder und cv. Rotberger der Jahre 2003 und 2004 nicht übereinstimmten, was Einfluss auf die Saftparameter hat. Hierzu soll an dieser Stelle auf den entsprechenden Abschnitt des Material- und Methodenkapitels verwiesen werden.

4.1.1 PRIMÄRE SAFTPARAMETER

Gemäß der EWG-Verordnung 1493/99 ist Traubensaft das nicht gegorene, aber gärfähige Erzeugnis, das so behandelt wurde, dass es zum Verzehr in unverändertem Zustand geeignet ist, das aus frischen Weintrauben gewonnen worden ist und das einen vorhandenen Alkoholgehalt von höchstens 1 % Vol. aufweist.

In Tab. 3 sind die Analysedaten der Richtlinien- und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen (RSK-Werte) der Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger sowie cv. Dunkelfelder zu Beginn der Lagerung dargestellt. Die Richtwerte sind der RSK-Werte Gesamtdarstellung [RSK 1987] entnommen.

Die roten Traubensäfte unterscheiden sich sowohl hinsichtlich ihrer Rebsorte als auch des Jahrgangs. Die Dichte beträgt für die Nullproben der Säfte zwischen 1,0736 (RB 2004) und 1,0956 (DF 2005). Die vorgegebenen Richtwerte liegen zwischen 1,065 und 1,080, also deutlich darunter. Möglicherweise aufgrund der heißen Trockenperiode des Jahres 2003 liegen die Trockenmassen der Säfte etwas höher (20,64-22,16 °Brix) als im Jahr 2004 (17,37-20,85 °Brix), ebenfalls sehr hoch sind die Werte des Jahrgangs 2005 von 19,88-22,44 °Brix. Auch hier liegen die Richtwerte zwischen 15,88 °Brix und 19,30 °Brix deutlich unterhalb derer für die rebsortenreinen Traubensäfte gemessenen. Gleiches gilt für die Gesamtextrakte (2003: 226,8 g/L (DF) - 245,4 g/L (SB) bzw. 2004: 191, 6 g/L (RB)-234,7 g/L (SB)) bzw. 2005: 215,9 g/L (RB) -249,4 g/L (DF). Generell wurden für die Gesamtsäure des Jahrgangs 2004 (8,9 g/L (DF) - 10,58 g/L (SB)) höhere Werte gemessen als 2003 (6,2 g/L (DF) – 7,5 g/L (SB)) und 2005 (5,4 g/L (DF) – 7,3 g/L (SB)). Weiterhin ist ersichtlich, dass die Rebsorte cv. Spätburgunder, die sehr hohe Zuckergehalte hat, auch jeweils die höchsten Säurewerte aufweist. Die Verderbnisparameter Ethanol und *L*-Milchsäure traten mit Ausnahme von RB und DF 2003 in nur sehr geringen Konzentrationen auf. Der *L*-Milchsäuregehalt von 0,65 g/L im roten Traubensaft der Rebsorte cv. Rotberger (2003) liegt allerdings oberhalb des Grenzwertes von

0,5 g/L, darüber hinaus geht damit ein relativ hoher Ethanolgehalt von 1,5 g/L einher. Nur geringfügig unterhalb des *L*-Milchsäuregrenzwertes liegt die Konzentration von 0,47 g/L in der Rebsorte cv. Dunkelfelder (2003). An Mineralstoffen sind insbesondere Kalium (2003: 1622 mg/L (SB)-2340 mg/L (DF), 2004: 1530 mg/L (RB)-2461 mg/L (DF)), Calcium (2003: 95 mg/L (RB)-155 mg/L (DF), 2004: 117 (RB)-139 (SB)), Magnesium (2003: 64 mg/L (RB)-85 mg/L (SB), 2004: 66 mg/L (RB)-91 mg/L (SB)) und Natrium (2003: 7 mg/L (RB)-21 mg/L (SB), 2004: 4 mg/L (DF)-7 mg/L (SB)) in höheren Konzentrationen enthalten.

Die Lagerung der Traubensäfte des Jahrgangs 2003 (Tab. 4) zeigt für alle Rebsorten einen temperaturabhängigen und eindeutigen Einfluss auf die Parameter Leitfähigkeit, Gesamtsäure und Natrium. Die Leitfähigkeit weist eine leichte Zunahme auf bei einer Lagertemperatur von 37 °C, hingegen nehmen die Werte bei den Lagertemperaturen von 4 °C und 20 °C ab. Auch für die Gesamtsäure wird die Abnahme bei 4 °C und 20 °C beobachtet, die Werte bleiben bei Lagerung bei 37 °C auf demselben Niveau der Nullprobe. Die Konzentration an Natrium nimmt in allen Traubensäften nach einem Jahr Lagerung bei allen Temperaturen auf bis zu 50 % ab. Für Kalium und Calcium lassen sich an dieser Stelle aufgrund der starken Schwankungen der Werte keine eindeutigen Aussagen treffen. Theoretisch wäre eine Korrelation mit den Werten für die Gesamtsäure wegen des nachgewiesenen Auftretens von Kaliumhydrogentartrat zu erwarten gewesen. Alle anderen Parameter ändern sich während der Lagerung kaum.

Tab. 3: Primäre Saftparameter der roten Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder. Dargestellt sind die Werte für die Nullproben der Jahrgänge 2003, 2004 und 2005; n.n: nicht nachweisbar.

Parameter	Einheit	cv. Spätburgunder			cv. Rotberger			cv. Dunkelfelder		
		2003	2004	2005	2003	2004	2005	2003	2004	2005
Leitfähigkeit	**µS/cm**	2870	2960	2920	3290	2970	3070	3240	3550	2710
Dichte	**20/20**	1,0941	1,0900	1,0841	1,0879	1,0736	1,0829	1,0870	1,0826	1,0956
Brix	**°**	22,16	20,85	19,88	20,64	17,37	20,13	20,97	19,80	22,44
Gesamtextrakt	**g/L**	245,4	234,7	219,2	229,1	191,6	215,9	226,8	215,2	249,4
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	20,1	25,7	23,3	27,5	22,0	30,1	39,5	29,2	20,4
Zucker v. Inversion	**g/L**	222,7	200,6	195,9	191,6	167,0	185,8	183,4	185,0	229,0
Zucker n. Inversion	**g/L**	225,4	203,2	195,9	202,1	174,0	185,8	187,5	187,6	229,0
Glucose	**g/L**	113,0	104,2	100,7	102,2	86,0	95,6	93,8	91,6	117,0
Fructose	**g/L**	113,2	104,8	95,2	100,8	83,6	90,2	97,2	94,4	112,0
pH- Wert		3,32	3,12	3,37	3,52	3,55	3,50	3,52	3,08	3,60
Gesamtsäure (pH 7,0 ber. Weinsäure)	**g/L**	7,5	10,6	7,3	6,4	9,1	6,6	6,2	8,9	5,4
flüchtige Säure	**g/L**	0,06	0,07	0,26	0,11	0,10	0,21	0,12	0,10	0,31
Citronensäure	**g/L**	0,40	0,38	5,20	0,31	0,24	4,30	0,24	0,22	3,90
l-Äpfelsäure	**g/L**	3,45	7,48	n.n.	2,81	6,34	0,15	2,32	5,68	n.n.
l-Milchsäure	**g/L**	n.n.	<0,05	0,08	0,65	<0,05	0,21	0,47	0,15	0,13
Ethanol	**g/L**	0,43	n.n.	0,04	1,50	n.n.	0,18	0,78	0,01	0,06
Gluconsäure	**g/L**	0,11	0,02	n.n.	0,11	0,02	n.n.	0,29	0,12	n.n.
Glycerin	**g/L**	0,17	0,18	0,19	0,24	0,27	0,38	0,59	0,27	0,14
Calcium	**mg/L**	137	139	91	95	117	124	155	136	120
Kalium	**mg/L**	1622	1739	1601	2084	1530	1903	2360	2461	1873
Magnesium	**mg/L**	85	91	73	64	66	92	80	82	81
Kupfer	**mg/L**	0,5	0,4	0,3	0,4	0,5	n.n.	0,2	0,7	n.n.
Eisen	**mg/L**	0,5	0,4	0,8	0,8	0,4	1,2	1,2	0,6	0,3
Zink	**mg/L**	0,7	0,3	0,4	0,7	0,1	0,6	0,8	0,4	0,2
Natrium	**mg/L**	21	7	9	7	6	6	10	4	7

Tab. 4: Primäre Saftparameter der roten Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder. Dargestellt sind die Werte für die gelagerten Proben des Jahrgangs 2003; n.n.: nicht nachweisbar.

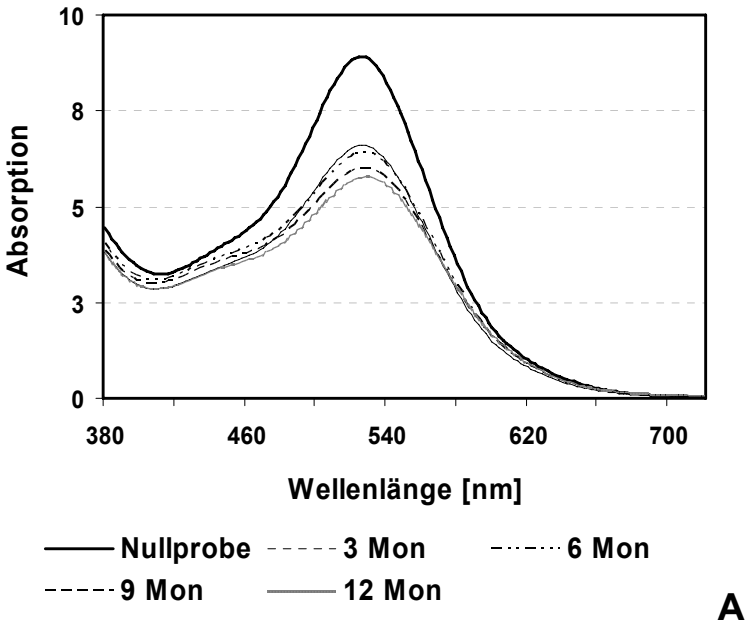
Rebsorte		Spätburgunder 2003						Rotberger 2003						Dunkelfelder 2003					
Lagerdauer		6 Monate			12 Monate			6 Monate			12 Monate			6 Monate			12 Monate		
Lagertemperatur		4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C
Parameter	Einheit																		
Leitfähigkeit	**µS/cm**	2160	2380	3110	2230	2370	3060	2800	3540	3570	2840	2790	3460	2610	3490	3420	2610	3350	3410
Dichte	**20/20**	1,0928	1,0932	1,0951	1,0934	1,0936	1,0956	1,0854	1,0873	1,0871	1,0847	1,0858	1,0857	1,0817	1,0865	1,0864	1,0813	1,0862	1,083
Brix	**°**	22,03	22,09	22,38	22,30	22,06	22,30	20,38	20,73	20,66	20,17	20,32	20,2	19,96	20,80	20,68	19,66	20,47	19,70
Gesamtextrakt	**g/L**	242	243,1	248,1	243,6	244,2	249,4	222,5	228,1	227,1	220,7	223,8	223,3	212,8	225,5	225,2	211,8	224,7	216,3
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	19,4	21,5	24,5	26,2	22,2	27,4	23,1	30,5	26,7	17,3	28,8	24,3	21,8	32,3	31,4	28,4	36,1	35,7
Zucker v. Inversion	**g/L**	222,6	221,6	223,6	210,8	210,8	224,0	199,4	197,6	200,4	206,0	198,8	200,6	191,0	193,2	193,8	195,4	193,0	182,4
Zucker n. Inversion	**g/L**	222,6	221,6	223,6	216,6	215,6	226,6	199,4	197,6	200,4	206,0	198,8	203,2	191,0	193,2	193,8	195,4	195,4	190,2
Glucose	**g/L**	112	111,4	111,2	108,6	110,6	113,8	97,4	97,2	98,4	102,2	98,4	103,0	92,8	92,6	93,6	90,8	92,2	91,4
Fructose	**g/L**	110,6	110,2	112,4	108,8	111,4	108,2	102,0	100,4	102,0	101,2	96,6	96,0	98,2	100,6	100,2	92,6	96,4	89,2
pH- Wert		3,31	3,31	3,31	3,37	3,39	3,29	3,59	3,51	3,51	3,58	3,62	3,42	3,6	3,5	3,5	3,6	3,5	3,4
Gesamtsäure	**g/L**	5,44	5,81	7,22	5,67	5,81	7,44	4,64	5,98	6,09	4,75	4,84	6,51	4,2	6,1	6,0	4,3	6,1	4,3
(pH 7,0 ber. Weinsäure)																			
flüchtige Säure	**g/L**	0,08	0,11	0,12	0,07	0,12	0,12	0,15	0,14	0,15	0,1	0,12	0,15	0,13	0,12	0,12	0,11	0,14	0,16
Citronensäure	**g/L**	0,34	0,34	0,33	0,38	0,38	0,36	0,27	0,27	0,27	0,29	0,3	0,28	0,19	0,19	0,18	0,22	0,23	0,22
***L* -Äpfelsäure**	**g/L**	3,55	3,50	3,47	3,25	3,60	3,74	2,55	2,68	2,57	2,73	2,82	3,38	2,11	2,09	2,03	1,96	2,03	2,13
***L* -Milchsäure**	**g/L**	<0,05	<0,05	<0,05	n.n.	n.n.	<0,05	0,76	0,74	0,75	0,96	0,80	0,84	0,42	0,43	0,40	0,50	0,54	0,38
Ethanol	**g/L**	0,24	0,24	0,23	0,01	0,01	0,01	1,1	1,1	1,1	n.n.	n.n.	n.n.	0,78	0,79	0,75	0,03	0,03	0,03
Gluconsäure	**g/L**	0,06	0,06	0,07	0,05	0,05	0,06	0,11	0,11	0,11	0,10	0,09	0,09	0,28	0,31	0,32	0,27	0,31	0,32
Glycerin	**g/L**	0,13	0,13	0,13	0,18	0,25	0,23	0,25	0,24	0,21	0,30	0,30	0,14	0,56	0,57	0,58	0,61	0,70	0,34
Calcium	**mg/L**	172	181	185	179	173	177	155	115	135	152	126	124	170	165	160	175	164	177
Kalium	**mg/L**	1448	1594	1812	1619	1706	2259	1714	1782	1809	2114	2047	2686	1652	1828	1854	1896	1811	2370
Magnesium	**mg/L**	93	103,5	105	85	84,5	86	118	101	91	68	68	69	91,5	103	95	83	83	85
Kupfer	**mg/L**	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	n.n.	0,3	0,3	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	n.n.
Eisen	**mg/L**	0,7	0,2	0,5	0,3	0,6	0,1	0,9	1,0	0,9	0,6	0,5	n.n.	0,9	1,3	1,3	0,4	0,6	0,4
Zink	**mg/L**	0,7	0,8	0,7	0,3	0,7	0,4	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,3	0,5	0,8	0,9	0,8	1,1	0,6
Natrium	**mg/L**	20,3	25,6	22,7	10,1	10,9	12,4	10,2	10,2	10,2	3,4	3,9	5,4	12,4	10,9	12,5	5,6	5,9	7,0

4.1.2 FARBBETRACHTUNG

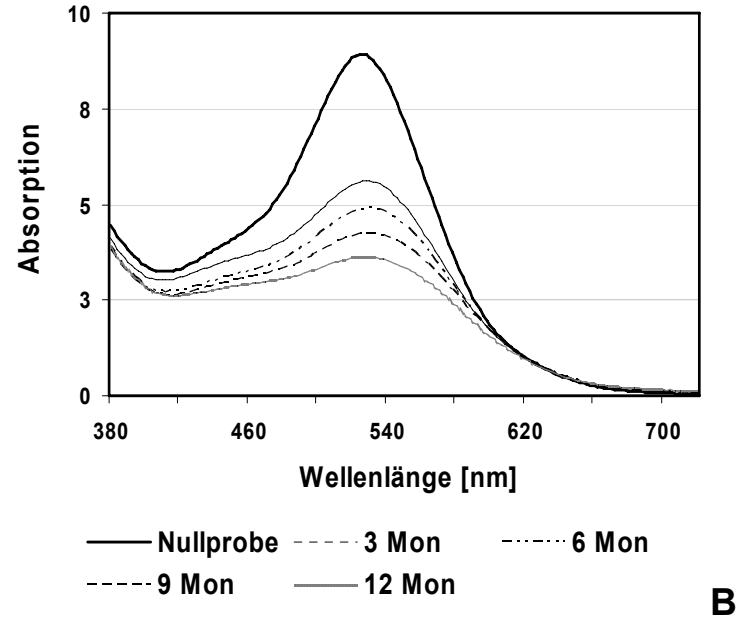
Die Farbe ist als Parameter für die Qualitätsbeurteilung von Buntsäften unerlässlich, da sie ein entscheidendes Kriterium für den Kauf eines Produktes darstellt. Im Lauf der Lagerung verliert die Farbe häufig an Brillanz, der Farbton wird matter und wird oftmals von einer Bräunung begleitet. Die brillante rote Farbe von frischen Traubensäften wird hauptsächlich auf die Flavyliumform der monomeren Anthocyane zurückgeführt.

Zur Farbbeurteilung wurde neben den Spektren (380-720 nm) das CIELAB-System herangezogen. Die Betrachtung erlaubt die Verknüpfung einzelner Farbwerte wie Helligkeit (L*-Wert), Grün-rot-Anteil (a*-Wert) und Blau-Gelb-Anteil (b*-Wert) zu einem Farbgesamteindruck. Eine wichtige Größe bei der Farbanalyse von Buntsäften ist dabei der Hue Angle h°, der das Verhältnis von rot zu gelb wiedergibt und den Farbton beschreibt. Für h° = 0° wird +a* (rot) zugeordnet, h° = 90° (+b*, gelb), h° = 180° (–a*, grün) und h° = 270° (-b*, blau). Chroma C* gibt die Buntheit wieder.

Der Verlauf der Spektren soll anhand des in Abb. 27 dargestellten Beispiels der Rebsorte cv. Spätburgunder diskutiert werden. Der Verlauf der Absorption ist auch charakteristisch für die beiden anderen Rebsorten. Die Nullproben der Traubensäfte der Jahrgänge 2003 und 2005 waren sehr farbintensiv und tiefviolett gefärbt. In allen Jahrgängen war die Rebsorte cv. Dunkelfelder der farbintensivste Traubensaft. Die Absorptionen ergeben sich unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und sind bezogen auf 1 cm Lichtweg.



A



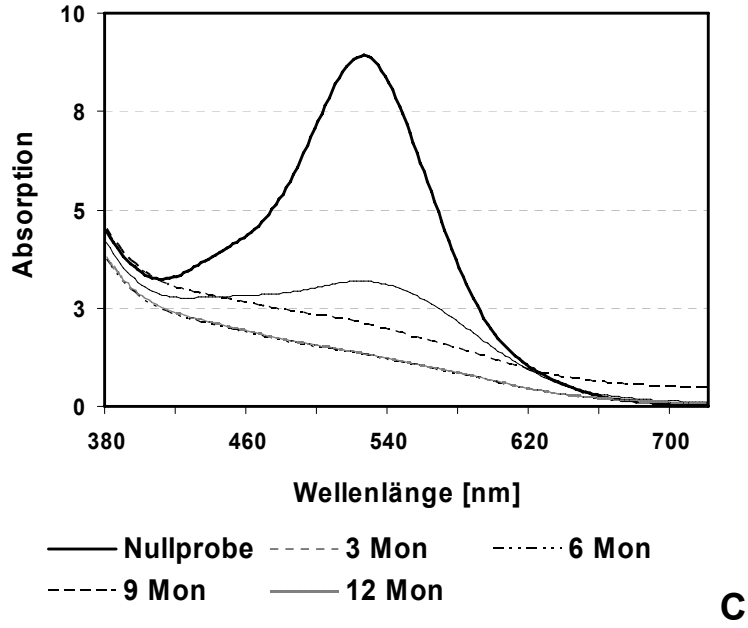


Abb. 27: Spektren des Traubensaftes cv. Spätburgunder über ein Jahr Lagerung bei 4 °C (A), 20 °C (B) und 37 °C (C); berechnet unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und bezogen auf 1 cm Lichtweg.

Bereits anhand der Spektren lässt sich der Temperatureinfluss deutlich erkennen. Bei einer Lagertemperatur von 4 °C ist auch nach einem Jahr noch ein eindeutiges Absorptionsmaximum vorhanden, die größte Abnahme ist bei 37 °C zu verzeichnen. Anhand der CIELAB-Werte kann der optische Farbeindruck näher beschrieben werden und es lassen sich Aussagen bezüglich der Helligkeit (L*), des grün-rot Anteils (a*), des blau-gelb Anteils (b*), dem Farbton (Hue Angle°) und der Farbsättigung (Chroma C*) treffen. In Tab. 5 werden diese Werte ergänzt durch die Farbintensität FI, der Summe aus den Absorptionen bei 420 nm, 520 nm und 620 nm.

Tab. 5: Absorption 520 nm, Farbintensität FI (Σ 420 nm+520 nm+620 nm) und CIELAB-Werte roter Traubensäfte. Die Werte beziehen sich auf 1 cm Lichtweg unter Berücksichtigung des jeweiligen Verdünnungsfaktors.

	Lagerdauer	Temperatur	520 nm	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
Spätburgunder	**0**		8,82	13,14	16,3	48,6	45,4	43,1	66,6
2003	**6 Monate**	**4 °C**	6,31	10,40	18,4	50,8	47,1	42,8	69,3
	6 Monate	**20 °C**	4,81	8,56	16,3	47,7	37,2	37,9	60,5
	6 Monate	**37 °C**	2,17	6,11	21,3	32,3	38,2	49,8	50,1
	12 Monate	**4 °C**	5,65	9,49	18,4	50,8	43,9	40,9	67,1
	12 Monate	**20 °C**	3,58	7,11	17,9	48,1	35,6	36,5	59,8
	12 Monate	**37 °C**	1,38	4,18	41,9	38,6	54,2	54,5	66,5
Spätburgunder	**0**		4,33	6,17	35,9	65,3	42,0	32,7	77,6
2004	**6 Monate**	**4 °C**	2,46	3,84	45,1	67,0	36,8	28,8	76,4
	6 Monate	**20 °C**	1,80	3,32	43,8	59,8	34,5	30,0	69,1
	6 Monate	**37 °C**	0,93	2,60	57,6	34,9	47,9	53,9	59,3
	12 Monate	**4 °C**	1,99	3,47	47,2	63,6	43,5	34,4	77,1
	12 Monate	**20 °C**	1,33	2,82	46,8	49,7	32,2	32,9	59,2
	9 Monate	**37 °C**	0,86	2,60	60,1	31,4	53,6	59,6	62,1
Spätburgunder	**0**		7,57	11,73	16,6	48,5	44,0	42,2	65,5
2005	**3 Monate**	**4 °C**	5,21	8,59	19,3	50,9	38,0	36,7	63,5
	3 Monate	**20 °C**	4,18	7,41	19,7	50,6	33,7	33,7	60,8
	3 Monate	**37 °C**	2,66	5,84	22,9	48,0	34,3	35,6	59,0
Rotberger	**0**		6,90	10,67	18,8	50,3	44,5	41,5	67,2
2003	**6 Monate**	**4 °C**	5,10	8,51	20,6	51,7	43,1	39,9	67,3
	6 Monate	**20 °C**	4,85	8,75	15,5	46,2	37,4	39,0	59,4
	6 Monate	**37 °C**	2,13	5,32	27,7	44,9	41,5	42,8	61,2
	12 Monate	**4 °C**	4,85	8,34	19,1	50,1	40,5	39,0	64,4
	12 Monate	**20 °C**	3,94	7,53	16,4	46,5	33,9	36,1	57,6
	12 Monate	**37 °C**	1,56	4,58	37,2	39,1	50,0	52,0	63,5
Rotberger	**0**		2,28	3,20	53,7	67,8	29,8	23,7	74,1
2004	**6 Monate**	**4 °C**	1,62	2,37	58,9	62,8	22,7	19,9	66,8
	6 Monate	**20 °C**	1,13	1,94	60,1	51,6	18,9	20,1	54,9
	6 Monate	**37 °C**	0,74	1,62	66,8	33,9	26,1	37,6	42,8
	12 Monate	**4 °C**	1,41	2,16	60,0	59,4	21,5	19,9	63,2
	12 Monate	**20 °C**	0,81	1,63	64,4	38,8	20,4	27,7	43,9
	9 Monate	**37 °C**	0,55	1,59	73,2	22,4	40,2	60,9	46,0
Rotberger	**0**		6,50	9,78	25,5	57,0	53,5	43,2	78,2
2005	**3 Monate**	**4 °C**	4,84	7,56	29,4	59,5	51,1	40,7	78,4
	3 Monate	**20 °C**	3,80	6,44	29,4	58,3	46,8	38,7	74,8
	3 Monate	**37 °C**	1,92	4,47	33,1	47,6	38,5	38,9	61,2
Dunkelfelder	**0**		32,76	52,02	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
2003	**6 Monate**	**4 °C**	48,86	80,33	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	6 Monate	**20 °C**	21,96	38,45	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	6 Monate	**37 °C**	8,46	18,51	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12 Monate	**4 °C**	37,06	60,54	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12 Monate	**20 °C**	18,48	34,62	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12 Monate	**37 °C**	3,78	9,27	12,6	42,2	39,9	43,4	58,1
Dunkelfelder	**0**		26,83	40,93	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
2004	**6 Monate**	**4 °C**	25,95	39,73	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	6 Monate	**20 °C**	17,03	28,65	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	6 Monate	**37 °C**	10,38	19,80	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12 Monate	**4 °C**	27,20	41,38	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12 Monate	**20 °C**	12,78	22,85	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	9 Monate	**37 °C**	6,03	13,30	5,8	34,7	34,2	44,6	48,7
Dunkelfelder	**0**		27,73	42,48	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
2005	**3 Monate**	**4 °C**	25,07	38,53	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	3 Monate	**20 °C**	20,81	32,92	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	3 Monate	**37 °C**	6,71	13,03	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

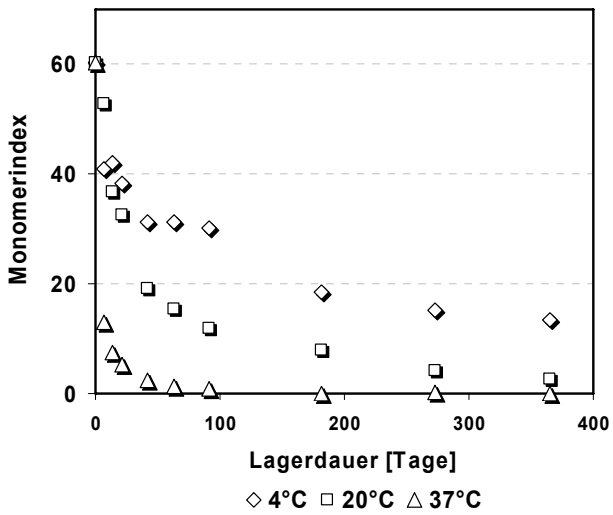
Die Werte für die Farbintensität FI zeigen, dass die Rebsorte cv. Dunkelfelder, die in der Weinherstellung häufig als Färbertraube eingesetzt wird, in allen Jahrgängen den farbintensivsten Traubensaft lieferte (Absorption 520 nm 40,9–106,2). Aufgrund zu hoher Absorptionen konnten für diesen Saft keine CIELAB-Werte berechnet werden.
Bei den Rebsorten cv. Spätburgunder und cv. Rotberger liegen die Absorptionswerte für 520 nm für 2003 und 2005 jeweils im gleichen Bereich (11–13 bzw. 9-10) während im Jahr 2004 deutlich niedrigere Farbintensitäten von 4,3 (cv. Spätburgunder) bzw. 3,2 (cv. Rotberger) im Einklang mit dem optischen Eindruck einhergehen, der sehr viel heller und weniger farbintensiv (blassviolett) war.
Während der Lagerung ist in allen Säften eine temperaturabhängige Abnahme der Farbintensität FI zu beobachten, die für farbschwache Säfte (z.B. cv. Spätburgunder 2004) stärker ist als für farbintensivere Säfte wie cv. Dunkelfelder. Beim Vergleich des roten Traubensaftes cv. Spätburgunder des Jahrgangs 2003 mit 2004, lag die Abnahme der Farbintensität 2003 nach Lagerung über 12 Monate bei 4 °C (von 13,14 auf 9,49) bei 28 %, bei 20 °C (von 13,14 auf 7,11) bei 46 %. Im gleichen Zeitraum und identischen Lagerbedingungen betrug die Abnahme 2004 (von 6,17 auf 3,47) 44 % (4 °C) bzw. 54 % (20 °C). Die farbintensivsten Säfte sind die roten Traubensäfte der Rebsorte cv. Dunkelfelder (Farbintensität FI 40,93 – 52,02).
Der L*-Wert repräsentiert die Helligkeit und konnte für besonders farbintensive Säfte wie cv. Dunkelfelder nicht berechnet werden, da das CIELAB-System aufgrund der sehr hohen gemessenen Absorptionen hier an seine Grenzen stößt. Während im Allgemeinen die L*-Werte bei den Lagertemperaturen 4 °C und 20 °C nur geringfügigen Schwankungen unterliegen, nehmen sie bei 37 °C stark zu, die Probe wird heller. Dies konnte für alle roten Traubensaftproben beobachtet werden. In Abhängigkeit von der Lagertemperatur nimmt der a*-Wert, der den grün-rot-Anteil repräsentiert, während der Lagerung ab. Für 4 °C unterliegt dieser Wert in den meisten Säften nur geringen Schwankungen, eine starke Abnahme ist in allen Proben bei 37 °C zu beobachten. Der optisch ersichtliche Rückgang des Rot-Anteils lässt sich somit sehr gut beschreiben. Während sich der blau-gelb-Anteil (b*-Wert) bei 4 °C Lagerung nur geringfügig ändert, sind bei 20 °C und bei 37 °C größere Verschiebungen in Richtung blau zu erkennen. Der Hue Angle° liegt bei den meisten Säften zu Beginn der Lagerung bei etwa 40°, was auf eine „sehr rote“ Farbe deutet. Größere Abweichungen weisen die Rebsorten cv. Spätburgunder 2004 (32,7°) und cv. Rotberger (23,7°) (mehr rot im Vergleich) auf, die eher einen gelbroten Farbton besitzen. Bei der optischen Betrachtung konnte bei den 37 °C Lagerungen insbesondere für die Traubensäfte cv. Spätburgunder und Rotberger 2004 innerhalb kurzer Zeit eine sehr starke Bräunung beobachtet werden. Diese Braunfärbung wurde bei Säften mit höherer Farbintensität (z.B. Jahrgänge 2003) weniger stark sichtbar.
In der Literatur gibt es nur wenige Arbeiten, die sich mit der Veränderung der Farbe während der Lagerung befassen. Rein und Heinonen [2004] lagerten Erdbeersaft, Himbeersaft, und Cranberrysaft über einen Zeitraum von 103 Tagen bei Raumtemperatur und stellten ebenfalls eine Zunahme des Hue Angle° fest, also eine Verstärkung des Gelb-Anteils. Während der Lagerung von drei rebsortenreinen Rotweinen wurde von Monagas et al. [2006] die Abnahme des a*-Wertes, also die Abnahme des Rot-Anteils, und die Zunahme des b*-Wertes sowie des Hue Angles° postuliert, was mit den vorliegenden Ergebnissen übereinstimmt.

4.1.3 MONOMERINDEX

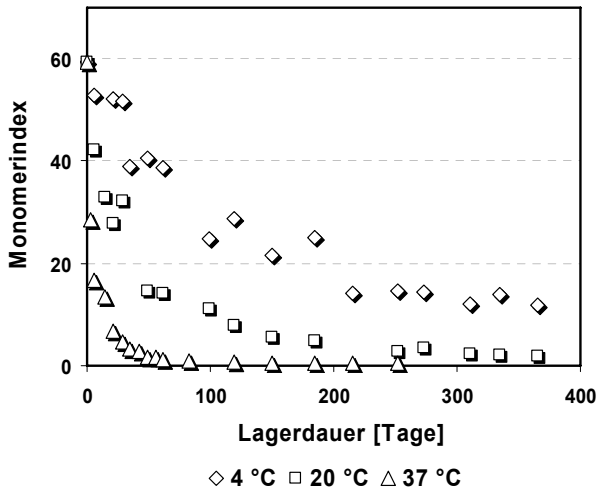
In der Regel ist das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen bzw. Anthocyanaddukten in frischen Säften deutlich höher als in gealterten Säften. Dies zeigt auch der Verlauf der Monomerindices für die rebsortenreinen Traubensäfte cv. Spätburgunder und cv. Dunkelfelder der Jahrgänge 2003 und 2004 in Abb. 28. Der Verlauf für die Rebsorte cv. Rotberger ist nicht dargestellt.

Bereits in den Nullproben lassen sich deutliche Unterschiede in den Säften erkennen. Der Monomerindex von Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder liegt bei 60, der von cv. Rotberger 108 (nicht dargestellt) und das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen in cv. Dunkelfelder ist 36. In Abhängigkeit von der Temperatur sind deutliche Abnahmen während der Lagerung zu verzeichnen. Bereits nach drei Monaten Lagerung bei 37 °C strebt der Monomerindex von cv. Spätburgunder und cv. Rotberger gegen Null, der Anteil monomerer Anthocyane ist inzwischen geringer als der der polymeren Anthocyane. Weiterhin fällt auf, dass der Monomerindex der Rebsorte cv. Dunkelfelder zu Beginn zwar niedriger liegt, die Anthocyane aber stabiler sind. Zum Beispiel liegt der Monomerindex nach Lagerung bei 4 °C auch nach einem Jahr noch bei 50 % des Anfangswertes (18), für cv. Rotberger und cv. Spätburgunder nehmen die Werte sehr viel schneller ab (< 20). Generell zeigt sich, dass die größten Verluste innerhalb der ersten drei Monate zu verzeichnen sind.

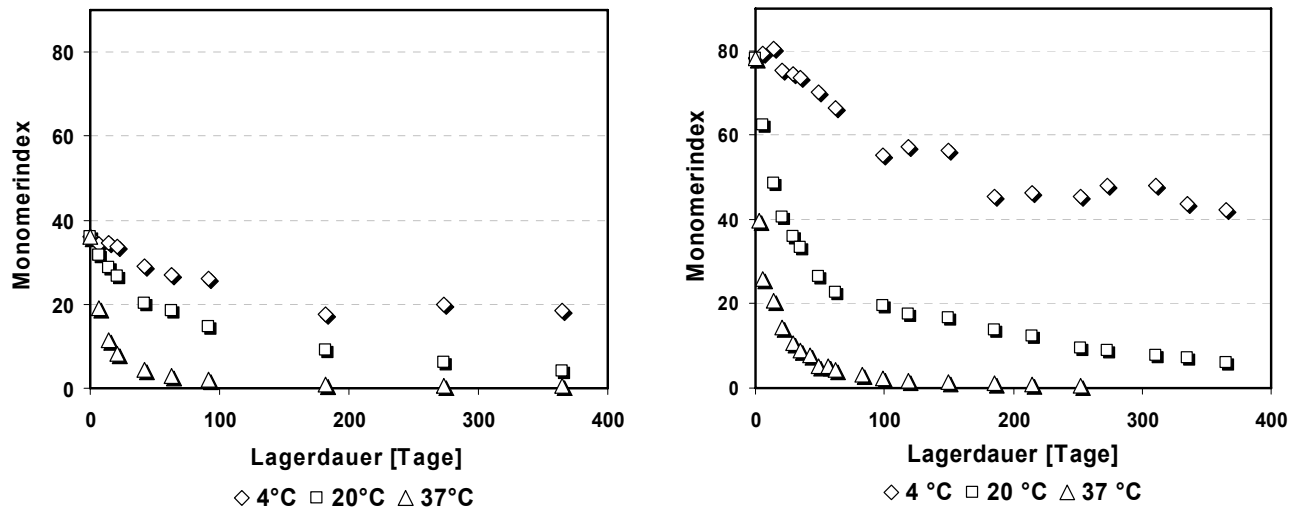
Auch für die Lagerungsstudie des Jahrgangs 2004 wurden die Monomerindices für die rebsortenreinen Traubensäfte berechnet und dargestellt. Für cv. Spätburgunder liegen die Monomerindices zu Beginn der Lagerung in einem ähnlichen Bereich wie 2003, hingegen ist der Monomerindex von cv. Dunkelfelder deutlich höher (78). Es ist anzumerken, dass die gemessenen Extinktionen aufgrund der niedrigen Anthocyangehalte in cv. Spätburgunder und cv. Rotberger sehr niedrig sind. Geringe Schwankungen der Extinktionen insbesondere der polymeren Anthocyane können hier bereits zu großen Unterschieden der Monomerindices führen.



A



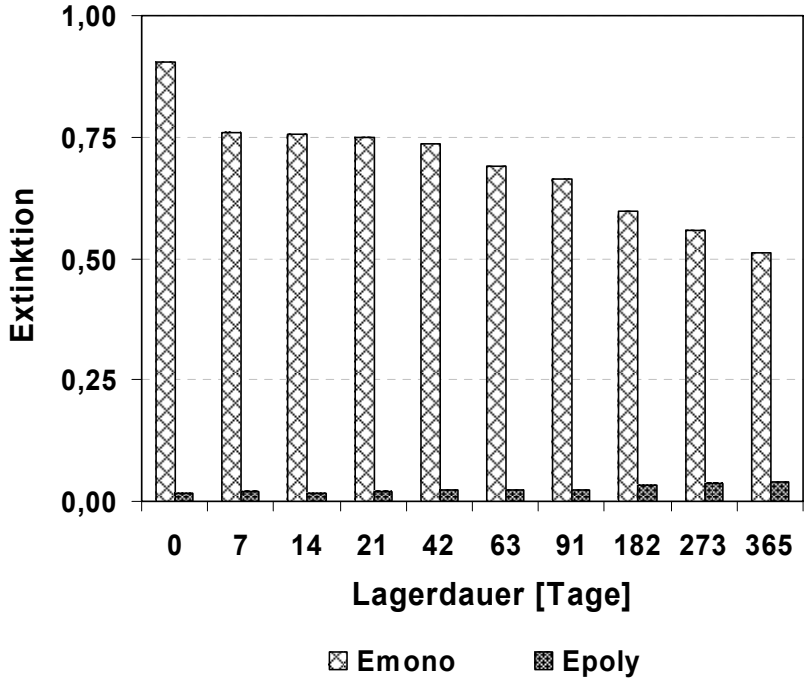
B



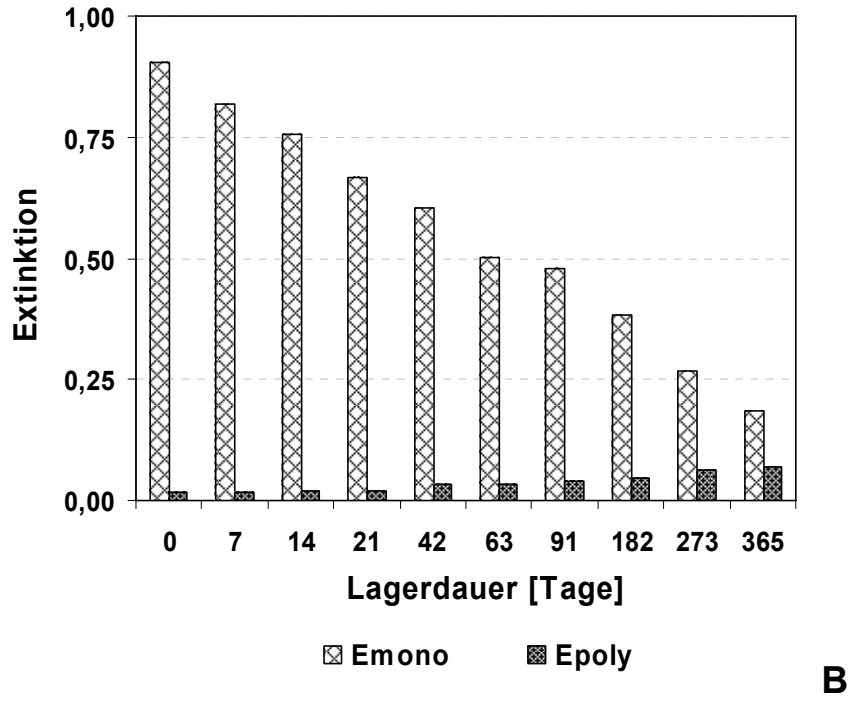
C D

Abb. 28: Monomerindex der Traubensäfte der Jahrgänge 2003 und 2004 cv. Spätburgunder (A, B) und cv. Dunkelfelder (C, D) über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C sowie 37 °C.

Die Monomerindices der Nullproben der Rebsorten des Jahrgangs 2005 lagen bei 64 für cv. Rotberger, 66 für cv. Dunkelfelder und 86 für cv. Spätburgunder, was gleichzeitig zeigt, dass die Startwerte weder rebsortenspezifisch noch jahrgangsabhängig sind.
Der charakteristische Verlauf von monomerem und polymerem Anteil der Anthocyane wird in Abb. 29 am Beispiel der Rebsorte cv. Spätburgunder dargestellt. Es lässt sich sehr gut erkennen, dass sowohl die Abnahme der Extinktion der monomeren Anthocyane als auch die Zunahme der Extinktion der polymeren Anthocyane bei 4 °C (A) am geringsten ist. Die Verschiebung von monomeren zu polymeren Anthocyanen wird hingegen besonders bei Betrachtung der 37 °C Lagerung deutlich (C).



A



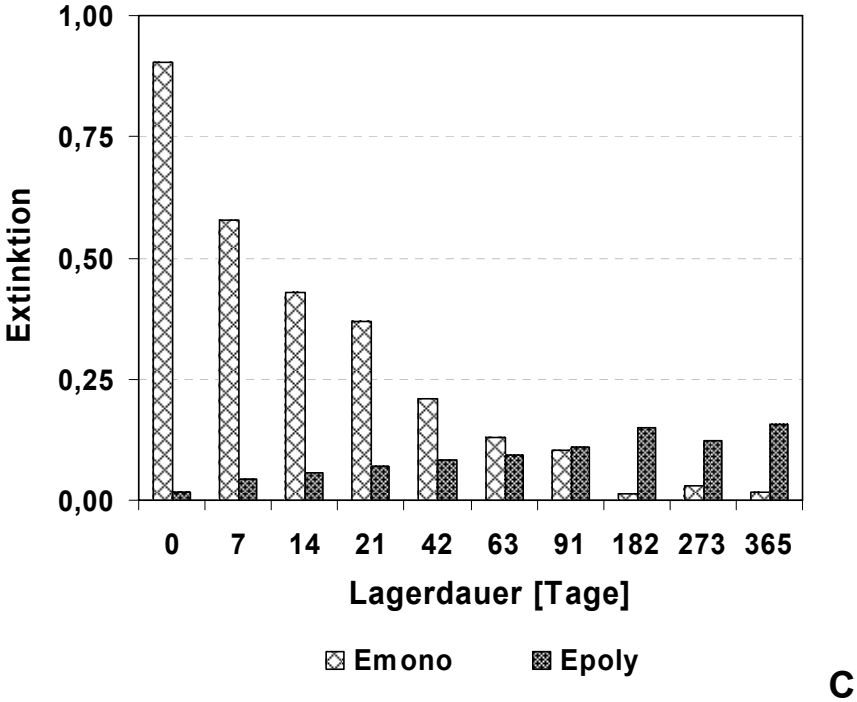
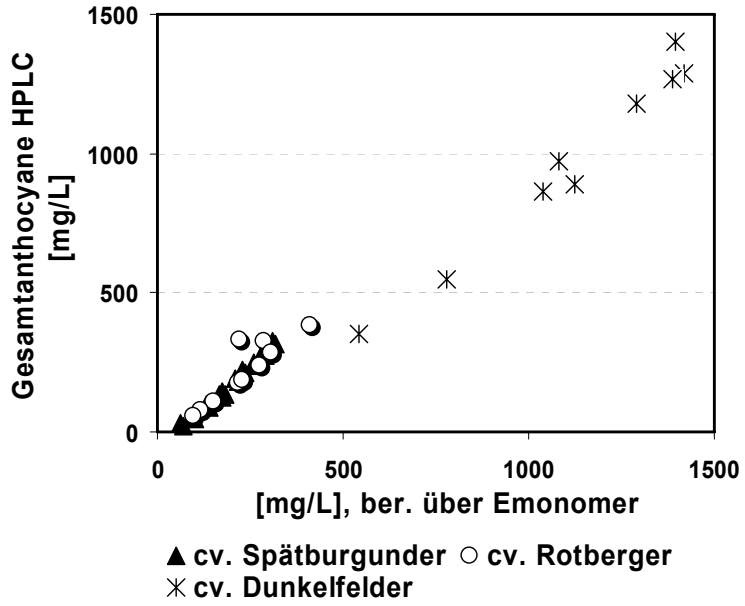


Abb. 29: Extinktion der monomeren und polymeren Anthocyane von Traubensaft cv. Spätburgunder über ein Jahr Lagerung bei 4 °C (A), 20 °C (B) und 37 °C (C).

Bereits Giusti und Wrolstad [2001] beschrieben die Möglichkeit, nach Erstellung einer Kalibriergeraden mit dieser Methode auch den Gesamtanthocyangehalt messen zu können. In einem Ringversuch wurden sieben Fruchtsäfte, Weine und andere anthocyanhaltige Getränke untersucht [Lee et al. 2005]. Dieser Summenparameter ist vergleichbar mit dem Gesamtphenolgehalt nach Folin. Wie Abb. 30 zeigt, korreliert der mittels HPLC gemessene Gesamtanthocyangehalt mit den aus der Berechnung anhand der Extinktion der monomeren Anthocyane (520 nm) erhaltenen Werte sehr gut. Das Bestimmtheitsmaß lag im vorliegenden

Beispiel der roten Traubensäfte 2003 für 20 °C zwischen 0,9950 und 0,9998. Dies zeigt, dass diese Methode sowohl ein Potential als Alterungsparameter aufweist sowie als Screening-Methode für Anthocyangehalte. So könnte sie beispielsweise in der fruchtsaftverarbeitenden Industrie auch für die Beurteilung der Rohwarenqualität eingesetzt werden. Für Fruchtsäfte und Weine wurde dies auch von Lee et al. [2005] bereits gezeigt.



Rebsorte	R^2
Spätburgunder	0,9944
Rotberger	0,8208
Dunkelfelder	0,9744

Abb. 30: Korrelation des Gesamtanthocyangehaltes (HPLC) und des aus der Extinktion der monomeren Anthocyane (Emonomer, Monomerindex) berechneten Anthocyangehaltes am Beispiel der über ein Jahr bei 20 °C gelagerten Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder.

4.1.4 GESAMTPHENOLGEHALTE (FOLIN) UND ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT (TEAC)

Mit Hilfe der Summenparameter des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu und der antioxidativen Kapazität gemessen nach der TEAC-Methode lassen sich bereits grobe Aussagen über den Gehalt an sekundären Saftinhaltsstoffen treffen.

Der Verlauf der Gesamtphenolgehalte (Folin) und der antioxidativen Kapazität (TEAC) der roten Traubensäfte des Jahrgangs 2003 sind repräsentativ am Beispiel cv. Spätburgunder und cv. Rotberger in Abb. 31 dargestellt.

Die Traubensäfte cv. Rotberger, cv. Spätburgunder und cv. Dunkelfelder unterscheiden sich im Gesamtphenolgehalt und der antioxidativen Kapazität deutlich voneinander. In der Nullprobe liegt der Gesamtphenolgehalt von cv. Rotberger bei 970 mg/L, berechnet als wasserfreies Catechin, der von Spätburgunder bei 1660 mg/L. Die antioxidative Kapazität liegt für cv. Spätburgunder mit 17 mmol/L Troloxäquivalenten etwas über der von cv. Rotberger (10 mmol/L). In den Lagerproben des Traubensaftes cv. Rotberger konnten auch nach einem Jahr für alle Lagertemperaturen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Nullprobe festgestellt werden. Dies konnte auch für Traubensaft cv. Spätburgunder für die Lagertemperatur von 4 °C und 20 °C beobachtet werden. Hingegen ist für diese Proben nach einem halben Jahr Lagerung bei 37 °C eine deutliche Abnahme des Gesamtphenolgehaltes um 28 % von 1660 mg/L auf 1200 mg/L sowie der antioxidativen Kapazität von 17 auf 6 mmol/L

(um 65 %) zu erkennen. Ein ähnliches Verhalten konnte auch für cv. Dunkelfelder beobachtet werden. Das Ergebnis deutet darauf hin, dass die Abnahme der Anthocyane scheinbar keinen Einfluss auf den Gesamtgehalt der Phenole sowie auf die antioxidative Kapazität hat. Jedoch könnte die Zusammensetzung der Phenole durchaus eine Rolle spielen, da, wie oben gezeigt, der Traubensaft cv. Rotberger bei allen Temperaturen relativ stabil ist, cv. Spätburgunder weist hingegen eine deutliche Abnahme bei 37 °C auf.

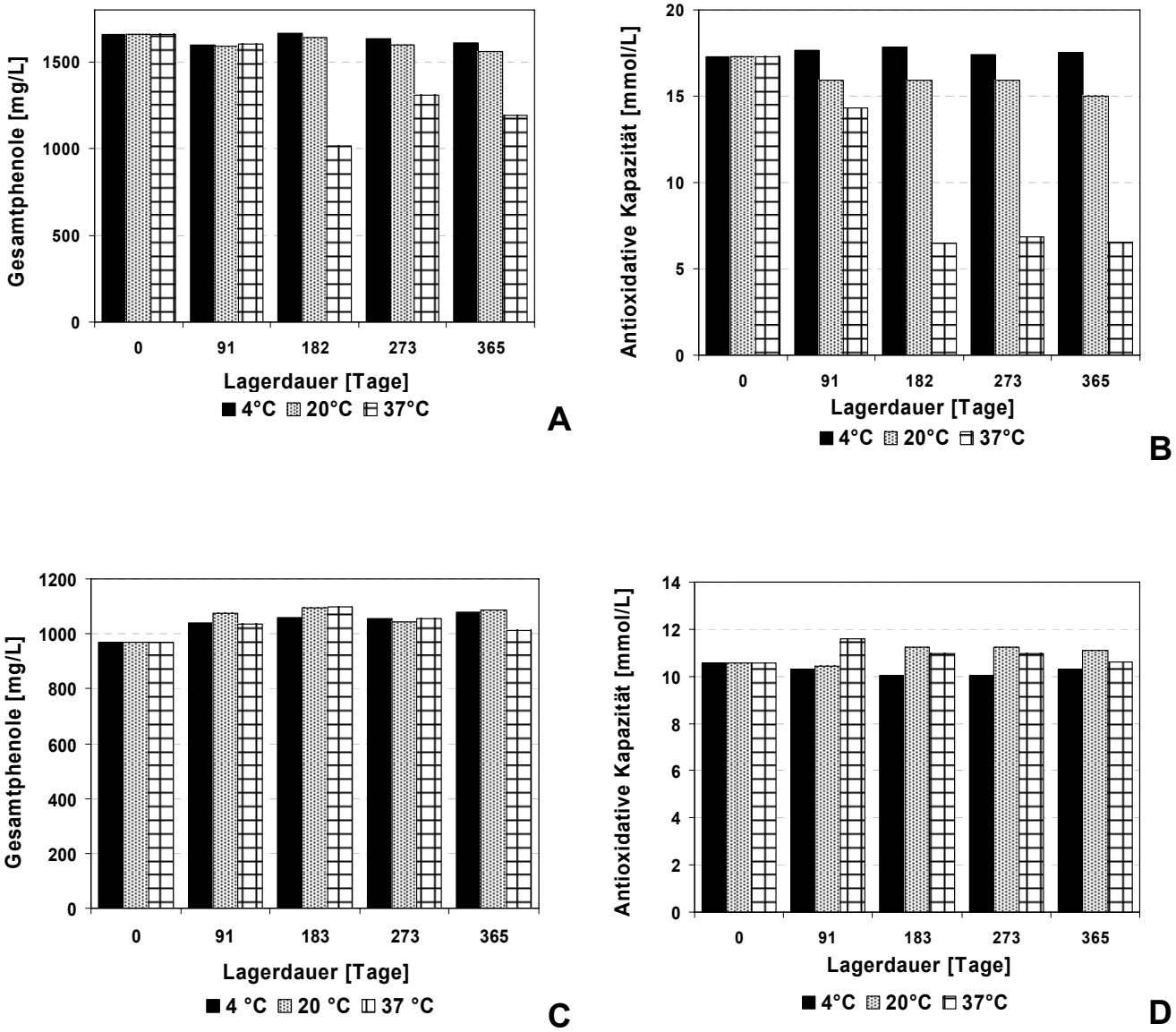


Abb. 31: Gesamtphenole (Folin, ber. als wasserfreies Catechin) und antioxidative Kapazität (TEAC, ber. als Troloxäquivalente) der Traubensäfte cv. Spätburgunder 2003 (A, B) und Rotberger 2003 (C, D) über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

Die Gesamtphenolgehalte und antioxidative Kapazitäten der Traubensäfte des Jahrgangs 2004 nach sechs und zwölf Monaten Lagerung sind in Tab. 6 zusammengefasst, außerdem die Werte für die Rebsorten des Jahrgangs 2005 nach der kurzen dreimonatigen Lagerung. Die Schwankungen der Werte bei den 4 °C und 20 °C-Lagerungen für den Gesamtphenolgehalt und antioxidative Kapazität treten auch hier auf und bestätigen die Ergebnisse von 2003. Die Unterschiede nach einem halben Jahr Lagerung bei 37 °C sind allerdings nicht ganz so deutlich

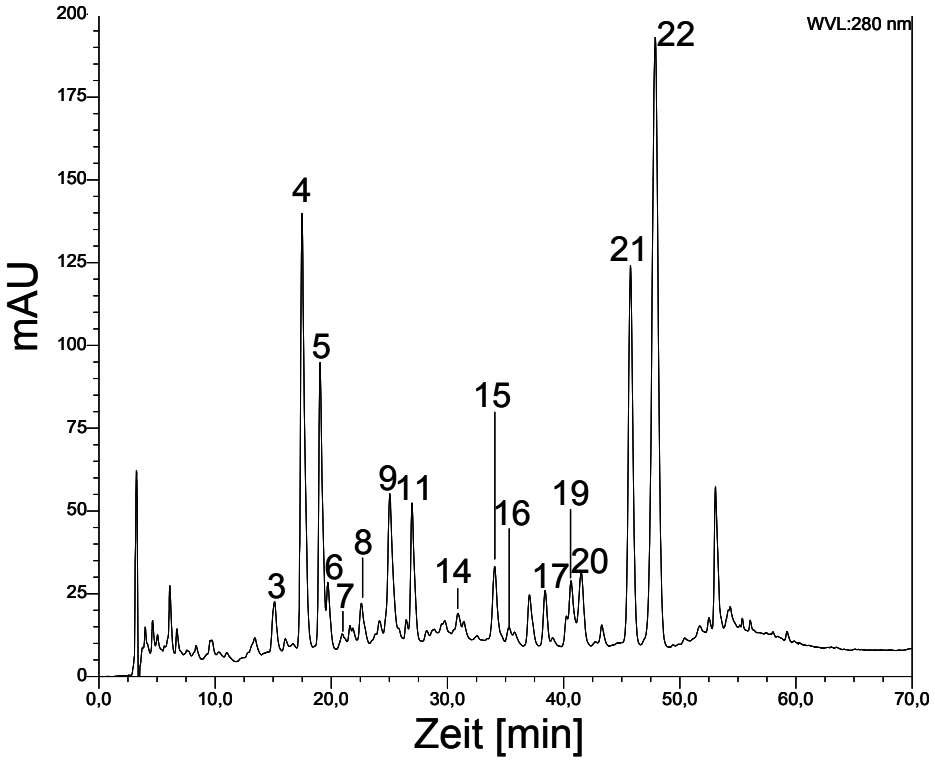
zu sehen wie im Jahr zuvor. Sowohl für die Gesamtphenolgehalte als auch für die antioxidativen Kapazitäten sind deutlich niedrigere Werte zu erkennen, was vermutlich auf die abweichende Verarbeitung der Rebsorten des Jahres 2004 zurückzuführen ist. Hingegen liegen die Werte beispielsweise für Dunkelfelder des Jahrgangs 2005 in einem ähnlichen Bereich wie die des Jahrgangs 2003, was auch hier den Einfluss der Maischestandzeit bestätigt. Für die Gesamtphenolgehalte und die antioxidative Kapazität sind folglich nicht die Lagerung sondern vielmehr Jahrgang, Sorte und Verarbeitung die entscheidenden Einflussfaktoren, was die Ergebnisse anderer Arbeiten von Rechner [2000] und Thielen [2005] bestätigt. Die beiden Methoden sind darüber hinaus als Alterungsparameter nicht geeignet, da sie nicht mit den HPLC-Ergebnissen, die durchaus eine Veränderung des Phenolgehaltes nachweisen, korrelieren.

Tab. 6: Gesamtphenolgehalte (Folin) und antioxidative Kapazität (TEAC) roter Traubensäfte der Jahrgänge 2004 und 2005. n.b.: nicht bestimmt.

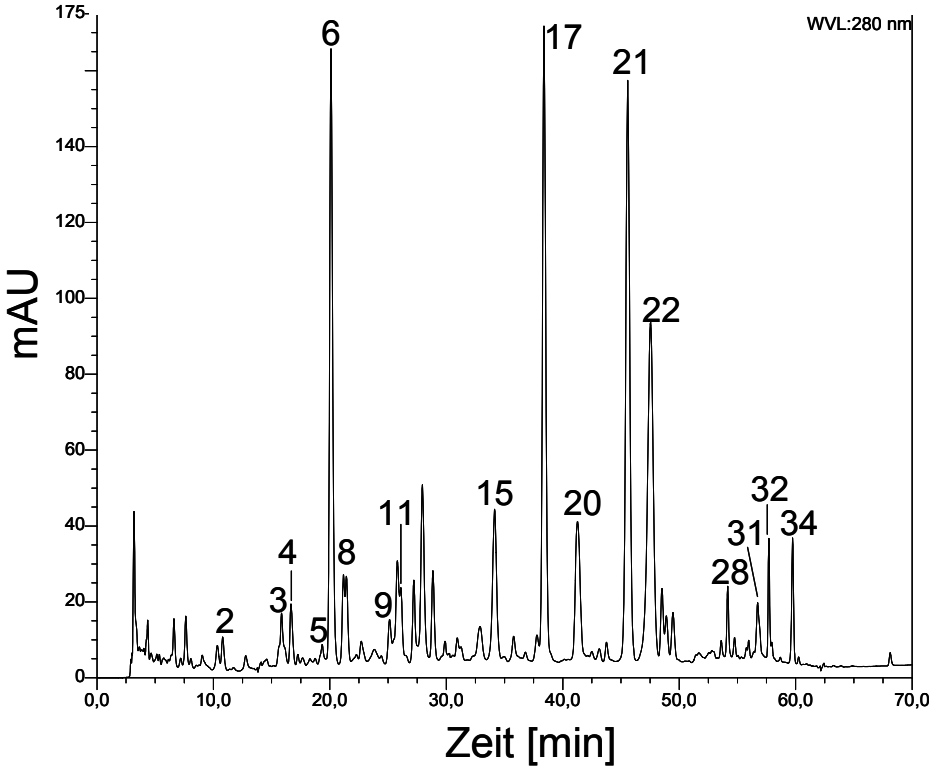
Probe	Lagerdauer [Monate]	Temperatur [°C]	Gesamtphenole [mg/L Catechin]	Antiox. Kapazität [mmol/L Trolox]
Spätburgunder 04	**0**	**Nullprobe**	853	8
	6	**4**	827	7
	12	**4**	813	7
	6	**20**	861	7
	12	**20**	862	7
	6	**37**	895	6
	12	**37**	n.b.	n.b.
Rotberger 04	**0**	**Nullprobe**	403	3
	6	**4**	400	3
	12	**4**	384	3
	6	**20**	388	3
	12	**20**	380	3
	6	**37**	387	2
	12	**37**	n.b.	n.b.
Dunkelfelder 04	**0**	**Nullprobe**	2297	23
	6	**4**	2297	24
	12	**4**	2314	24
	6	**20**	2270	23
	12	**20**	2224	24
	6	**37**	1763	17
	12	**37**	n.b.	n.b.
Spätburgunder 05	**0**	**Nullprobe**	916	10
	3	**4 °C**	875	9
	3	**20 °C**	884	9
	3	**37 °C**	924	9
Rotberger 05	**0**	**Nullprobe**	722	7
	3	**4 °C**	679	7
	3	**20 °C**	918	7
	3	**37 °C**	723	7
Dunkelfelder 05	**0**	**Nullprobe**	4760	34
	3	**4 °C**	4574	31
	3	**20 °C**	4645	32
	3	**37 °C**	3971	27

4.1.5 PHENOLPROFIL: FARBLOSE PHENOLE UND ANTHOCYANE

Analog zu den bereits vorgestellten Ergebnissen der Gesamtphenolgehalte nach Folin-Ciocalteu wurden für die drei rebsortenreinen Traubensäfte unterschiedliche Phenolgehalte auch mittels HPCL gemessen. Eine Übersicht über die in roten Traubensäften anhand von Literaturdaten identifizierten und quantitativ ausgewerteten Peaks geben Abb. 32 und Tab. 7.


WVL:280 nm
mAU
Zeit [min]
3
4
5
6
7
8
9
11
14
15
16
17
19
20
21
22

A


WVL:280 nm
mAU
Zeit [min]
2
3
4
5
6
8
9
11
15
17
20
21
22
28
31
32
34

B

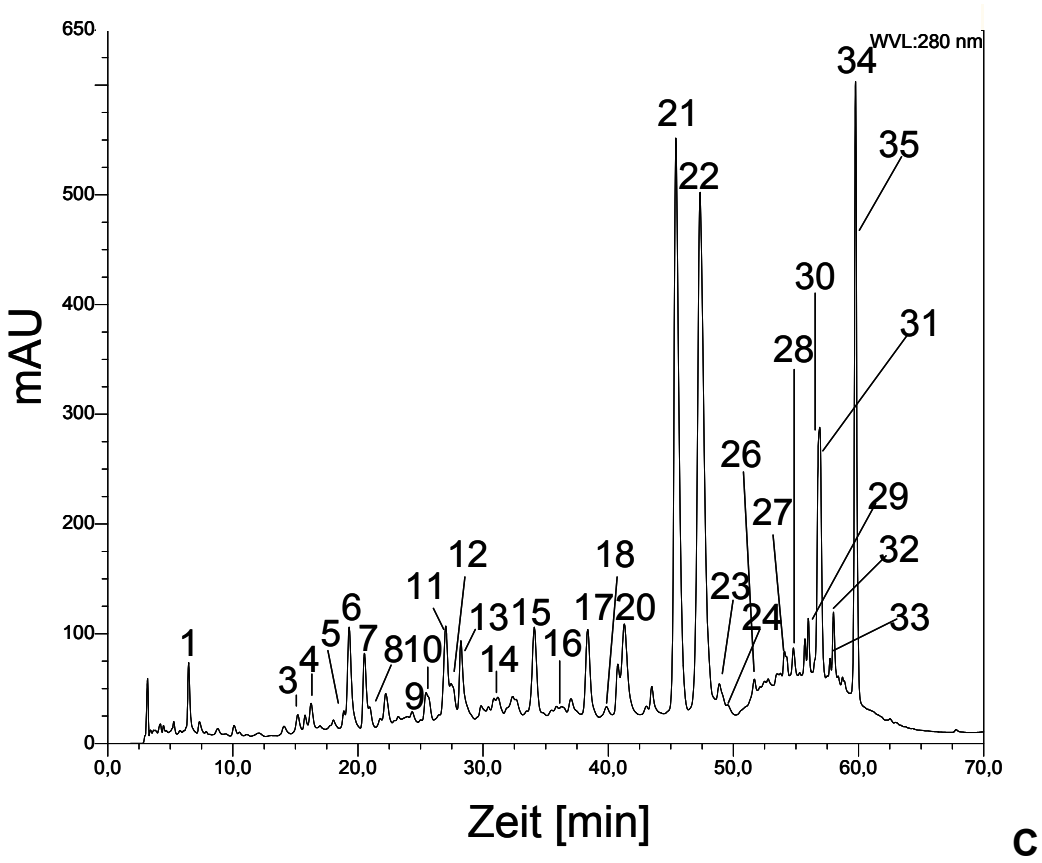


Abb. 32: Chromatogramme der Nullproben der roten Traubensäfte cv. Spätburgunder (A), cv. Rotberger (B) sowie cv. Dunkelfelder (C), gemessen auf einer fluorierten RP-18 Phase. Die Nummerierung der Peaks entspricht der dazugehörigen Tabelle.

Tab. 7: Übersicht über die in roten Traubensäften nachgewiesenen und quantitativ ausgewerteten phenolischen Substanzen. + : nachgewiesen, - : nicht nachgewiesen.

Peak Nr.	RT [min]	Substanz	λ_{max}	cv. Spätburgunder	cv. Rotberger	cv. Dunkelfelder
1	6,18	Gallussäure	270	-	-	+
2	11,27	Protocatechuesäure	258	-	+	-
3	14,12	Procyanidin B1	277	+	+	+
4	17,69	Caftarsäure	323	+	+	+
5	19,19	Catechin	280	+	+	+
6	19,77	GRP	320	+	+	+
7	20,93	Procyanidin B2	280	+	-	+
8	21,85	Coumaroylderivat	276	+	+	+
9	25,25	Coumaroylglucose	276	+	+	+
10	26,27	Coumaroylderivat	276	-	-	+
11	26,99	Epicatechin	280	+	+	+
12	28,05	Peo-3,5-diglc	520	-	-	+
13	29,70	Coutarsäure	270	-	-	+
14	31,21	Syringasäure	274	+	-	+
15	34,09	Del-3-glc	524	+	+	+
16	35,40	Coumarsäure	276	+	-	+
17	38,39	Cya-3-glc	515	+	+	+
18	40,17	Myricetinderivat	371	-	-	+
19	40,51	trans-Piceid	330	+	-	+
20	41,29	Pet-3-glc	526	+	+	+
21	45,40	Peo-3-glc	516	+	+	+
22	47,35	Mal-3-glc	520	+	+	+
23	47,67	Quer-3-gal	356	-	-	+
24	49,33	Quercetinderivat	367	-	-	+
25	49,89	Vitisin	505	+	-	+
26	51,76	Del-3-acetylglc	533	-	-	+
27	53,97	Isorhamnetinderivat	369	-	-	+
28	54,81	Cya-3-acetylglc	516	-	+	+
29	54,97	Pet-3-acetylglc	532	-	-	+
30	56,90	Peo-3-acetylglc	520	-	-	+
31	57,09	Mal-3-acetylglc	530	-	+	+
32	58,01	Cya-3-coumglc	527	-	+	+
33	58,05	Pet-3-coumglc	532	-	-	+
34	59,76	Mal-3-coumglc	534	-	+	+
35	59,77	Peo-3-coumglc	524	-	+	+

Die Gehalte an farblosen Phenolen verteilen sich wie folgt:

In roten Traubensäften wurden als Flavan-3-ole Catechin, Epicatechin und die Dimere Procyanidin B1 und B2 identifiziert. Hohe Anfangsgehalte von 254 mg/L bzw. 324 mg/L wurden für cv. Spätburgunder und cv. Dunkelfelder gemessen. Mit 73 mg/L lag die Rebsorte cv. Rotberger deutlich darunter. Wie aus Tab. 8 ersichtlich ist, nimmt der Gesamtgehalt an Flavan-3-olen, insbesondere jedoch die Gehalte an Catechin und Epicatechin (Abb. 33) in Abhängigkeit von der Temperatur ab. Es ist möglich, dass während der Lagerung neue Alterungspigmente entstehen, bei deren Bildung eine Reaktion von Anthocyanen mit Flavan-3-olen stattfindet. In Rotweinen wurden Anthocyan-Flavanol bzw. Anthocyan-Tannin oder Tannin-Anthocyanaddukte bereits nachgewiesen [Monagas et al. 2003, Salas et al. 2004, Alcalde-Eon et al. 2004]. Das Spektrum an Phenolcarbonsäuren und deren Derivate umfasst in den Traubensäften im Wesentlichen Caftarsäure, das Grape Reaction Product GRP (2-S-Glutathionyl-Caffeoyl-Weinsäure), *p*-Coumarsäure, Coumaroylglucose, Coutarsäure, Gallussäure und Syringasäure.

Die Konzentrationen zu Beginn der Lagerung waren in allen roten Traubensäften vergleichbar (88 mg/L - 98 mg/L) und für 4 °C und 20 °C (Abb. 34) über ein Jahr Lagerung stabil, für 37 °C ist jedoch auch hier eine deutliche Abnahme zu erkennen. Flavonole konnten in der Rebsorte cv. Spätburgunder nicht und in der Rebsorte cv. Rotberger zwei Quercetinderivate nur in Spuren nachgewiesen werden. Hohe Gehalte an Myricetin- und Isorhamnetinderivaten wurden in der Rebsorte cv. Dunkelfelder gemessen, die allerdings bei allen Lagertemperaturen abnahmen. Eine deutliche Zunahme an Syringasäure, die als Abbauprodukt von Malvidin postuliert wird, konnte nicht gemessen werden.

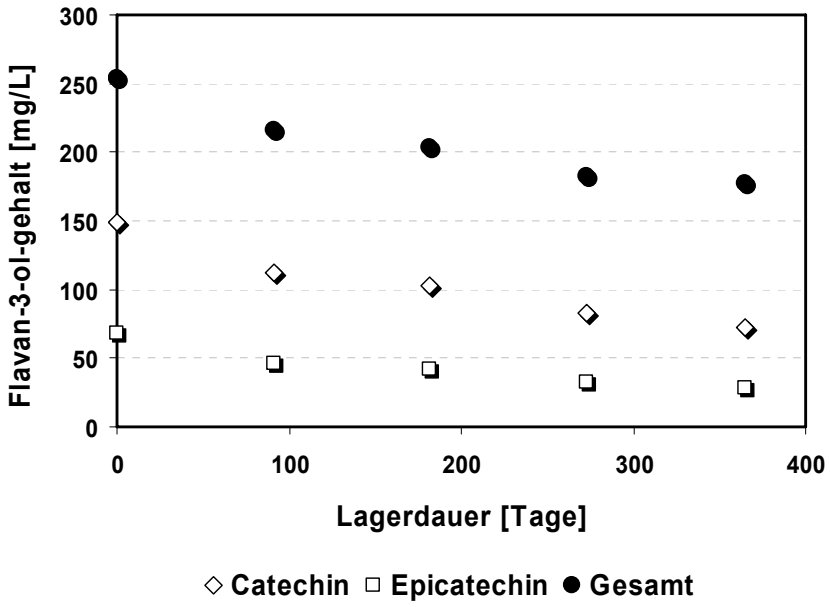


Abb. 33: Abnahme des Gehaltes an Flavan-3-olen in rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder des Jahrgangs 2003 über ein Jahr Lagerung bei 20 °C.

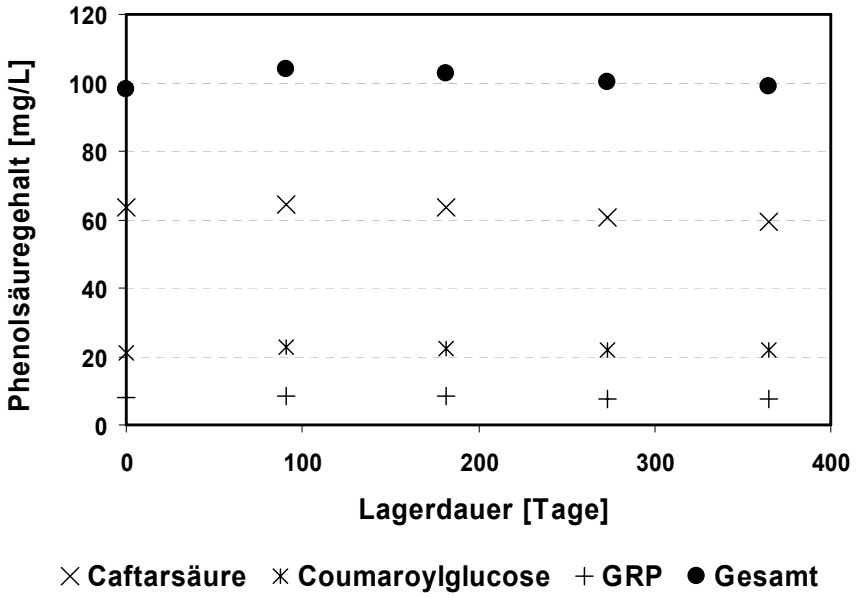


Abb. 34: Phenolsäuregehalt von rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder über ein Jahr Lagerung bei 20 °C.

Tab. 8: Gehalte an Flavan-3-olen, Phenolcarbonsäuren, Flavonolen und Anthocyanen (HPLC) in roten Traubensäften des Jahrgangs 2003, Nullproben und nach einem Jahr Lagerung [mg/L]. Sp.=Spuren

HPLC [mg/L]	Temp.	Σ Flavanole	Σ Phenolcarbon-säuren	Σ Flavonole	Σ farblose Phenole	Σ Anthocyane
Spätburgunder 2003	**0-Probe**	254	98	-	352	325
	4 °C	215	104	-	319	161
	20 °C	177	99	-	276	33
	37 °C	0	72	-	72	0
Rotbergersaft 2003	**0-Probe**	73	88	Sp.	161	385
	4 °C	34	90	Sp.	124	178
	20 °C	26	88	Sp.	114	55
	37 °C	0	65	Sp.	65	0
Dunkelfeldersaft 2003	**0-Probe**	324	96	69	420	1402
	4 °C	253	105	59	358	1011
	20 °C	206	109	43	315	207
	37 °C	5	98	20	103	0

Das Anthocyanprofil und die Konzentration an Anthocyanen spielt für die Farbe von Buntsäften eine entscheidende Rolle. In den vorhergehenden Kapiteln konnte bereits gezeigt werden, dass der Farbeindruck und die Farbintensität der Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder unterschiedlich sind. Dabei zeigt sowohl die Rebsorte als auch die Jahrgangsabhängigkeit einen entscheidenden Einfluss.

Auch das Spektrum an Anthocyanen ist in den einzelnen Rebsorten zu Beginn der Lagerung unterschiedlich. Während in Spätburgunder im Wesentlichen die Monoglucoside von Malvidin, Peonidin, Petunidin, Delphinidin und Cyanidin vorliegen, treten in Rotberger darüber hinaus auch die acetylierten Verbindungen von Malvidin- und Peonidin-3-glucosid auf. Ein sehr breites Spektrum an Anthocyanen ist in der Rebsorte cv. Dunkelfelder vorhanden, hier wurden neben den bereits erwähnten Verbindungen auch coumaroylierte Anthocyane in hohen Konzentrationen nachgewiesen. Während der Gesamtgehalt an Anthocyanen in cv. Spätburgunder (325 mg/L) und cv. Rotberger (385 mg/L) zu Beginn der Lagerung vergleichbar ist, liegt dieser für cv. Dunkelfelder mit 1402 mg/L deutlich höher. Dieser besonders hohe Anthocyangehalt macht sich in der tiefvioletten, sehr intensiven Farbe dieses Saftes bemerkbar (vgl. Kapitel 4.2.1). In Abhängigkeit von der Temperatur zeigten die Anthocyane als Vertreter der Polyphenole die größten Verluste während der Lagerung, wobei die Rebsorte cv. Dunkelfelder die größte Stabilität aufwies. Während hier bei 4 °C Lagerung auch nach einem Jahr noch 72 % der primären Anthocyane vorhanden sind, liegt der Verlust in den beiden anderen Säften bei > 50 %. Bei der Lagertemperatur von 20 °C sind die Unterschiede jedoch deutlich niedriger, es sind in allen Säften nach gleicher Lagerdauer noch lediglich 10-14 % der Anthocyane vorhanden.

Tab. 1: Konzentrationen einzelner Anthocyane [HPLC, ber. mg/L Malvidin-3-glucosid] in Traubensaft cv. Spätburgunder während der Lagerung über ein Jahr bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. n.n.: nicht nachweisbar.

			3 Monate Lagerung			6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
Nr.	**Anthocyan**	**Nullprobe**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
1	**Del-3-glc**	**20**	12	9	< 2	11	7	n.n.	9	3	n.n.
2	**Cya-3-glc**	**12**	9	6	< 2	8	5	n.n.	7	3	n.n.
3	**Pet-3-glc**	**21**	13	8	< 2	11	7	n.n.	10	3	n.n.
4	**Peo-3-glc**	**88**	61	35	4	52	24	< 2	41	8	n.n.
5	**Mal-3-glc**	**176**	114	65	5	94	44	< 2	76	14	n.n.
	Gesamt	**318**	210	123	9	176	87	< 2	143	30	n.n.

Mit dem Ziel der Trennung von niedermolekularen und höhermolekularen Anthocyanen wurde eine Größenausschlusschromatographie mittels Toyopearl HW-40(s) Gel durchgeführt. In den untersuchten Traubensäften sind insbesondere Anthocyanmonoglucoside wie Malvidin-3-glucosid oder Peonidin-3-glucosid in sehr hohen Konzentrationen vorhanden. Peaks von Minorkomponenten werden häufig überlagert oder erscheinen nur unzureichend im HPLC-Chromatogramm. Für die drei rebsortenreinen Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder wurde diese Methode qualitativ angewandt und in allen Fällen ergab sich eine sehr gute Trennung der Anthocyanmonoglucoside von höhermolekularen Substanzen.
In Abhängigkeit vom gewählten Fließmittel eluieren fünf verschiedene Fraktionen. In der ersten tiefviolett gefärbten Fraktion B eluiert mit 20 % Ethanol in Wasser Malvidin-3-glucosid als einzelner Peak. In der darauf folgenden Fraktion C, die rot-violett gefärbt ist, eluieren Peonidin-3-glucosid und Petunidin-3-glucosid mit einem geringen Anteil an Malvidin-3-glucosid. Bei der Rebsorte cv. Dunkelfelder folgen in Fraktion D die übrigen Anthocyanmonoglucoside Delphinidin-3-glucosid, Cyanidin-3-glucosid sowie Malvidin-3-acetylglucosid. Nach dem Wechsel auf Fließmittel B (Ethanol / Wasser / Trifluoressigsäure 60:40:0,05) eluieren bei der Rebsorte cv. Dunkelfelder die übrigen acetylierten Verbindungen und ein Teil der coumaroylierten Verbindungen gemeinsam. Darüber hinaus konnten in dieser tiefviolett gefärbten Fraktion Pigmente gefunden werden, die auch im Traubensaft cv. Spätburgunder auftraten. Es handelt sich dabei um Kondensationsprodukte von Anthocyanen und Flavan-3-olen, deren Spektren eine bathochrome Verschiebung aufweisen. Schließlich eluieren in Fraktion F die übrigen coumaroylierten Verbindungen, die Säule zeigt dann nur noch eine schwache Färbung. Nach Umstellung auf Fließmittel C (96 % vergällter Ethanol) eluiert die schwach orange-braun gefärbte Fraktion G, deren Chromatogramm jedoch keine weiteren identifizierbaren Peaks mehr enthält.
Besonders interessante Ergebnisse wurden für die Rebsorte cv. Spätburgunder erhalten. In einer über ein Jahr bei 20 °C gelagerten Probe wurden sowohl Anthocyan-Flavanol-Kondensationsprodukte als auch Substanzen nachgewiesen, deren Fragmentierungsmuster auf Anthocyan-ethyl-Flavanol-Kondensationsprodukte bzw. Anthocyan-vinyl-Flavanol-Kondensationsprodukte hinweisen (Tab. 9). Die Identifizierung dieser Pigmente erfolgte durch Vergleich der erhaltenen Daten mit Literaturdaten [Monagas et al. 2003, Alcalde-Eon et al. 2004]. Diese Produkte wurden in den übrigen roten Traubensäften nicht gebildet. Insbesondere im Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder sind zu Beginn der Lagerung lediglich

Anthocyanmonoglucoside enthalten und ein hoher Anteil an den Flavan-3-olen Catechin und Epicatechin. Durch direkte Kondensation können die Einheiten miteinander zu Anthocyan-Flavanol-Kondensationsprodukten reagieren, es entstehen dabei die von Salas et al. [2003] beschriebenen Anthocyan-Tannin-Addukte (A^+-T) bzw. Tannin-Anthocyan-Addukte (T-A^+). Diese wurden bisher in Rotweinen, Portweinen aber auch in frischen schwarzen Johannisbeeren nachgewiesen [Salas et al. 2003, Monagas et al. 2005, Mateus et al. 2003]. Für die Bildung von ethyl-verbrückten bzw. vinyl-verbrückten Kondensationsprodukten wurde bisher angenommen, dass Acetaldehyd als Mediator unumgänglich ist. Mittels Twister-GC-MS-Aromaanalytik konnten in der vorliegenden Arbeit geringe Mengen an Acetaldehyd nachgewiesen werden. Ob für die Bildung der Produkte allerdings katalytische Mengen an Acetaldehyd ausreichen, wird nach wie vor diskutiert.

Tab. 9: Nach Größenausschlusschromatographie nachgewiesene Substanzen in einer über zwölf Monate bei 20 °C gelagerten Probe der Rebsorte cv. Spätburgunder. Die Zuordnung der Peaks erfolgte durch Vergleich mit Literaturdaten [Monagas et al. 2005, Alcalde-Eon et al. 2004].

Peak Nr.	RT [min]	λ_{max}	M^+	MS^2	MS^3	Substanz
1	8,66	328, 527	797	635		unbekannt
2	9,98	282, 525	725	435		unbekannt
3	10,72	309, 530	767	605		Petundin-3-glucosid-(epi)catechin
4	12,26	280. 524	751	589		Peonidin-3-glucosid-(epi)catechin
5	12,87	281, 524	781	619		Malvidin-3-glucosid-(epi)catechin
6	14,48	281, 519	449	287		Cyanidin-3-glucosid
7	15,34	276, 524	479	317		Petunidin-3-glucosid
8	17,53	284, 518	463	301		Peonidin-3-glucosid
9	18,40	279, 527	493	331		Malvidin-3-glucosid
10	22,30	286, 531	809	519	357	Malvidin-3-glucosid-8-ethyl-(epi)catechin
11	23,14	281, 526	809	489	327	Peonidin-3-glucosid-8-ethyl-(epi)catechin
12	23,14	267, 536	809	519	357	Malvidin-3-glucosid-8-ethyl-(epi)catechin
13	23,88	279, 530	697	479	391	unbekannt
14	27,34	276, 507	805	643		Malvidin-3-glucosid-4-vinyl-catechin

Die zwei Kondensationsprodukte Peonidin-3-glucosid-(epi)catechin und Malvidin-3-glucosid-(epi)catechin (m/z 751, 589, RT 12,26 min bzw. m/z 781, 619, RT 12,63 min) konnten auch im zwölf Monate gelagerten Traubensaft der Rebsorte cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2003 nach Größenausschlusschromatographie nachgewiesen werden. Bei der Fragmentierung wird zunächst die Glucoseeinheit abgespalten, anschließend erfolgt eine Diels-Alder-Reaktion, bei der der A-Ring der Flavanoleinheit abgespalten wird (Abb. 35).

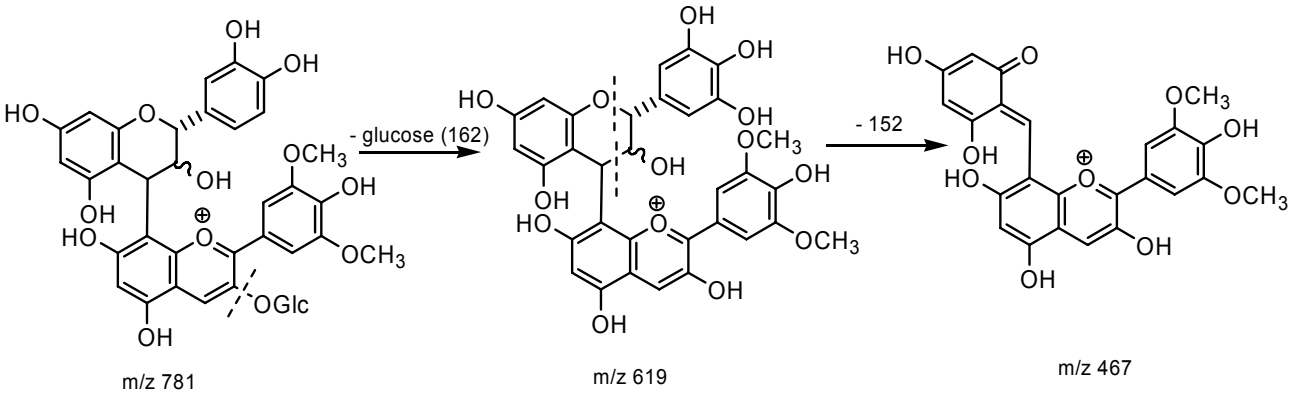


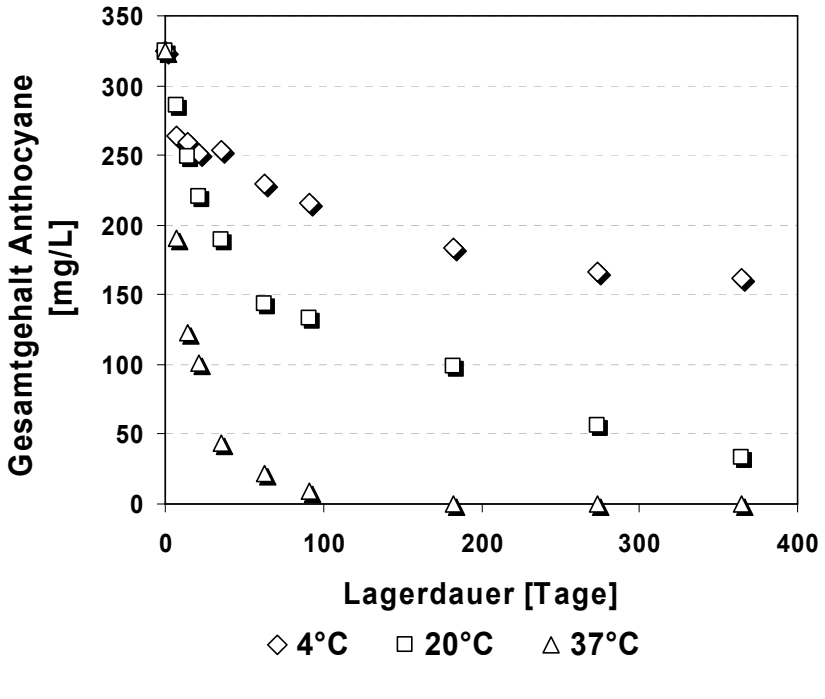
Abb. 35: Fragmentierungsmechanismus des Kondensationsproduktes Malvidin-3-glucosid-(epi)catechins nach Salas et al. [2004].

An Pyranoverbindungen konnte nur in einem zwölf Monate bei 20 °C gelagerten Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder Vitisin A (m/z 561, 399; Struktur siehe Kapitel 3.4.2.8) als eindeutiger Peak nachgewiesen werden. Laut Literatur [Fulcrand et al. 1998] werden bisher lediglich Bildungsmechanismen für dieses Pigment beschrieben, bei denen Pyruvat eine entscheidende Rolle spielt. Pyruvat wird während der Fermentation gebildet, es kommt in Wein, jedoch normalerweise nicht im Saft vor. Spuren konnten in rotem Traubensaft cv. Spätburgunder und auch in Sauerkirschsaft [Bonerz 2007] mittels Gaschromatographie nachgewiesen werden. Ob diese Spuren zur Bildung des Vitisin A ausreichend oder ob es einen weiteren Bildungsmechanismus ohne Pyruvat gibt, konnte in dieser Arbeit nicht vollständig geklärt werden. Da sich dieses Pyranoanthocyan nur bei 20 °C gebildet hat, kann eine solche Substanz nicht als Alterungsparameter herangezogen werden.
Um weitere Reaktionsprodukte aufzuklären, beispielsweise Oligomere mit höherem Molekulargewicht, die schnell und in großen Mengen vor allem bei 37 °C gebildet werden, bedarf es einer weiteren Aufarbeitung, bei der die Moleküle zunächst durch Thiolyse gespalten werden. Dies erbrachte in der vorliegenden Arbeit jedoch kein eindeutiges Ergebnis. Weitere Untersuchungen diesbezüglich sind jedoch nach wie vor von großem Interesse.

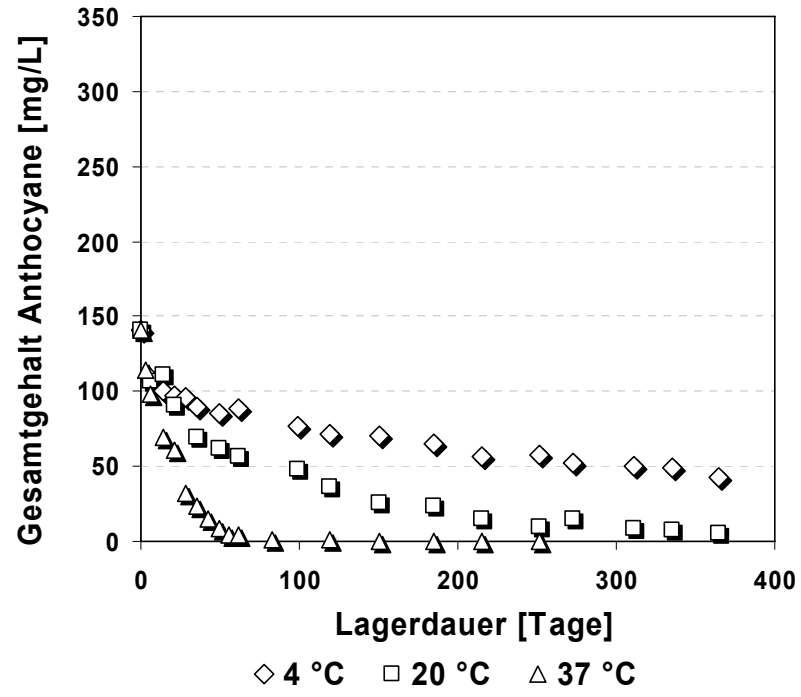
4.1.6 KINETIK DER ANTHOCYANE

In der Literatur gibt es relativ wenige Arbeiten, in denen es um die Untersuchung der Stabilität von Anthocyanen in Fruchtsäften geht. Generell ist die Stabilität der Anthocyane temperaturabhängig und der Verlust umso größer, je höher die Temperatur ist. Als weitere Einflussfaktoren sind pH-Wert, Licht, Enzyme, Konzentration oder die Anwesenheit von farblosen Phenolen zu nennen [Markakis1982]. Kinetische Daten wurden bisher für Sauerkirschsaft und Konzentrat [Cemeroglu et al. 1994], schwarze Johannisbeere [Eder 1996], Erdbeersaft und Konzentrat [Garzón und Wrolstad 2002] sowie Blutorangensaft und Konzentrat [Kirça und Cemeroglu 2003, Zanoni et al. 2005] erhoben. Kinetische Daten hinsichtlich der Farbe gibt es darüber hinaus für die Bräunung von Apfelsaftkonzentrat [Ibarz et al. 1992] und Birnensaftkonzentat [Ibarz et al. 1990], für Brombeersaft und Wein [Rommel et al. 1992], Apfel-, Pfirsisch- und Pflaumenpulpe [Lozano und Ibarz 1997] und Pflaumenpüree [Ahmed et al. 2004].
Grundlage für die Berechnung von Kinetiken ist die Konzentration der Anthocyane, die mittels HPLC Analytik gemessen wird. Ein Maß für die Stabilität ist unter anderem die

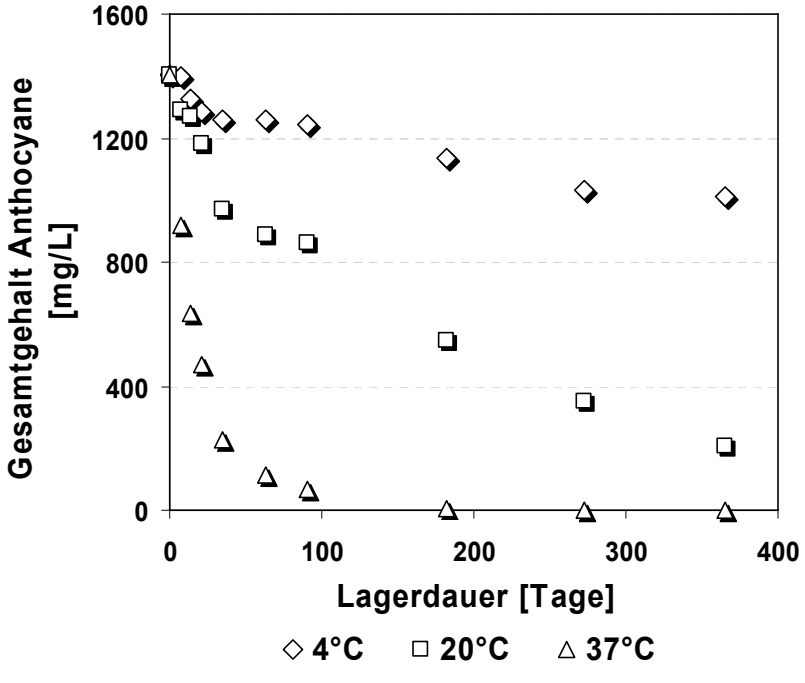
Aktivierungsenergie E_A, die der Mindestenergie entspricht, die einem Stoff zugeführt werden muss, damit dieser überhaupt reagiert. Je höher die Aktivierungsenergie ist, umso stabiler ist eine bestimmte Substanz. Weitere wichtige Parameter für die Beurteilung der Stabilität sind die Halbwertszeit $\tau_{1/2}$, die dem Zeitpunkt entspricht, an dem die Ausgangskonzentration eines Stoffes nur noch die Hälfte beträgt, sowie die Geschwindigkeitskonstante k. Diese ist umso größer, je schneller eine Reaktion stattfindet. Grundlage für die Berechnungen der Aktivierungsenergien sind die Anthocyangehalte von mindestens drei oder mehr Temperaturen einer Lagerstudie. Der natürliche Logarithmus (LN) dieser Daten wird gegen die Zeit aufgetragen. Ist dieser Verlauf linear, lassen sich unter Annahme einer Kinetik erster Ordnung aus der Steigung und der Arrhenius-Beziehung die kinetischen Daten berechnen.
In Abb. 7 ist der charakteristische Verlauf des Gesamtanthocyangehaltes (HPLC) in Abhängigkeit von der Lagertemperatur über eine Zeitraum von zwölf Monaten am Beispiel der Traubensäfte cv. Spätburgunder und cv. Dunkelfelder der Jahrgänge 2003 und 2004 dargestellt.



A


Gesamtgehalt Anthocyane [mg/L]
350
300
250
200
150
100
50
0
0
100
200
300
400
Lagerdauer [Tage]
◇ 4 °C □ 20 °C △ 37 °C

B


Gesamtgehalt Anthocyane [mg/L]
1600
1200
800
400
0
0
100
200
300
400
Lagerdauer [Tage]
◇ 4°C □ 20°C △ 37°C

C

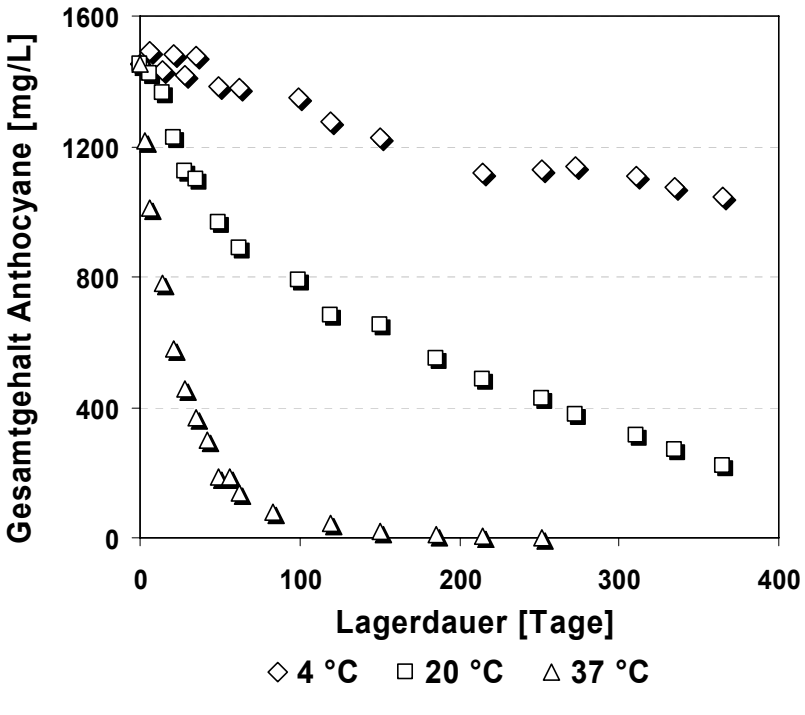


Abb. 36: Abnahme des Gesamtanthocyangehaltes (HPLC, ber. als mg/L Mal-3-glc) in Traubensäften der Jahrgänge 2003 und 2004 der Rebsorten cv. Spätburgunder (A, B) und cv. Dunkelfelder (C, D) während der Lagerung über ein Jahr bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

Die Traubensäfte der Rebsorten cv. Spätburgunder, cv. Rotberger (nicht dargestellt) und cv. Dunkelfelder unterscheiden sich deutlich in ihrem Gesamtgehalt an Anthocyanen sowohl innerhalb der Sorten als auch in Abhängigkeit des Jahrgangs. Während der Anfangsanthocyangehalt in der Rebsorte cv. Spätburgunder im Jahr 2003 (A) generell niedriger liegt als in der Sorte cv. Dunkelfelder (C), wird darüber hinaus auch der Jahrgangseinfluss des Jahres 2004 deutlich (B), in dem der Gehalt deutlich unter dem des Jahres 2003 lag.

Es ist gut zu erkennen, dass die Lagertemperatur einen sehr großen Einfluss auf die Stabilität der Anthocyane hat. Bei einer 37 °C Lagerung sind bereits nach drei Monaten nur noch geringe Mengen an originären Anthocyanen vorhanden. Eine sehr große Stabilität zeigt sich hingegen bei 4 °C, insbesondere bei cv. Dunkelfelder konnten auch nach einem Jahr Lagerung noch etwa 1000 mg/L Anthocyane (70 %) nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu zeigte sich in der Sorte cv. Spätburgunder bei gleicher Lagertemperatur und –dauer eine etwas geringere Stabilität (50 %). Möglicherweise spielt die unterschiedliche Zusammensetzung von farblosen Phenolen und Anthocyanen eine Rolle.

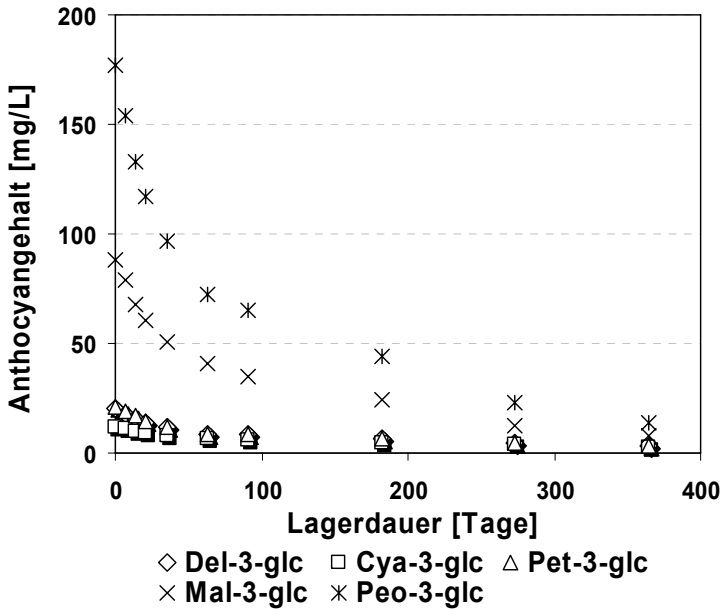


Abb. 37: Verlauf der einzelnen Anthocyane in Traubensaft cv. Spätburgunder des Jahrgangs 2003 bei einer Lagerung über ein Jahr bei 20 °C.

Das Hauptanthocyan in Rotberger (Gesamtgehalt 385 mg/L) ist mit 102 mg/L Peo-3-glc, die Konzentration von Mal-3-glc und Cya-3-glc liegt bei 94 bzw. 91 mg/L, Del-3-glc und Pet-3-glc folgen mit jeweils 28 mg/L. In geringeren Mengen konnten in Rotberger acetylierte und coumaroylierte Verbindungen nachgewiesen werden. Deutlich oberhalb dieses Konzentrationsbereiches mit 1402 mg/L liegt der Anthocyangehalt des Traubensaftes cv. Dunkelfelder. Auch hier entfallen 507 bzw. 384 mg/L auf die beiden Anthocyanmonoglucoside Mal-3-glc und Peo-3-glc. Einen sehr hohen Anteil haben hier auch die acetylierten bzw. coumaroylierten Verbindungen: Mal-3-acetyglc und Peo-3-coumglc liegen mit 145 bzw. 130 mg/L deutlich über den restlichen Anthocyanmonoglucosiden Del-3-glc (60 mg/L), Cya-3-glc (29 mg/L) und Pet-3-glc (70 mg/L). Weitere acetylierte und coumaroylierte Verbindungen sind in vergleichsweise geringeren Mengen vorhanden.
Der Einfluss der Lagertemperatur lässt sich sehr gut anhand der Halbwertszeit beschreiben, diese sind für die roten Traubensäfte in Tab. 10 und Tab. 11 dargestellt.

Tab. 10: Halbwertskonzentration $c_{1/2}$, Halbwertszeit $\tau_{1/2}$, Geschwindigkeitskonstanten k sowie Bestimmtheitsmaß R^2 der Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2003.

		4 °C			20 °C			37 °C		
	$c_{1/2}$ [mg/L]	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2
Spätburgunder 2003										
Del-3-glc	**10**	306	0,0023	0,7832	84	0,0082	0,9433	8	0,0903	0,8177
Cya-3-glc	**6**	475	0,0015	0,9423	134	0,0052	0,9568	20	0,0346	0,9075
Pet-3-glc	**11**	305	0,0023	0,8850	82	0,0085	0,9318	9	0,0736	0,9786
Peo-3-glc	**44**	299	0,0023	0,9114	71	0,0098	0,9778	6	0,1095	0,8951
Mal-3-glc	**89**	298	0,0023	0,9854	61	0,0113	0,9830	6	0,1089	0,8815
Gesamtanthocyane	**163**	307	0,0023	0,9453	76	0,0092	0,9739	7	0,1064	0,9803
Rotberger 2003										
Del-3-glc	**14**	234	0,0030	0,8376	92	0,0075	0,9270	11	0,0604	0,9942
Cya-3-glc	**46**	299	0,0023	0,9225	95	0,0073	0,9796	10	0,0675	0,9870
Pet-3-glc	**14**	278	0,0025	0,8227	75	0,0092	0,9515	11	0,0617	0,9738
Peo-3-glc	**51**	287	0,0024	0,9271	85	0,0082	0,9810	9	0,0780	0,9854
Mal-3-glc	**47**	257	0,0027	0,9163	81	0,0085	0,9673	8	0,0838	0,9784
Gesamtanthocyane	**192**	280	0,0025	0,9083	89	0,0078	0,9641	10	0,0675	0,9955
Dunkelfelder 2003										
Del-3-glc	**30**	1562	0,0004	0,9318	149	0,0046	0,9914	4	0,1584	0,9660
Cya-3-glc	**14**	1140	0,0006	0,9521	163	0,0043	0,9924	6	0,1168	0,9504
Pet-3-glc	**35**	1293	0,0005	0,6127	141	0,0049	0,9700	3	0,2311	0,9460
Peo-3-glc	**192**	718	0,0010	0,8806	119	0,0058	0,9877	1	0,6288	0,9337
Mal-3-glc	**254**	797	0,0009	0,7934	119	0,0058	0,9870	9	0,0797	0,9516
Mal-3-coumglc	**65**	616	0,0011	0,9568	103	0,0067	0,9942	2	0,3232	0,9267
Gesamtanthocyane	**701**	804	0,0009	0,9422	125	0,0056	0,9916	9	0,0754	0,9914

Es zeigen sich große Unterschiede in den Halbwertszeiten in Abhängigkeit von der Temperatur. Für die 4 °C ergeben sich die größten Halbwertszeiten, was auf die erwartete größte Stabilität der Anthocyane bei niedriger Temperatur hinweist. Die Werte für die Traubensäfte des Jahrgangs 2003 liegen zwischen 283 Tagen (Cya-3-glc) und 544 Tagen (Del-3-rut). Bei einer Temperatur von 20 °C ist die Abnahme der Ausgangskonzentration bereits deutlich schneller, die Halbwertszeiten liegen nur noch bei knapp einem Viertel (75-93 Tage) im Vergleich zu 4 °C. Die niedrigsten Halbwertszeiten mit 13-15 Tagen weist die 37 °C Lagerung auf, hier zeigt sich der Einfluss des Temperaturanstiegs am stärksten.

Die Folge unterschiedlicher Halbwertszeiten sind ebenfalls temperaturabhängige Geschwindigkeitskonstanten. Somit ergibt sich für jede Temperatur eine eigene Geschwindigkeitskonstante. Für 37 °C sind diese Konstanten um mehr als eine Zehnerpotenz größer im Vergleich zur 4 °C Lagerung, was die schnellere Reaktion der Substanzen bei dieser Temperatur verdeutlicht.

Tab. 11: Halbwertskonzentration $c_{1/2}$, Halbwertszeit $\tau_{1/2}$ und Geschwindigkeitskonstanten k der Traubensäfte cv. Spätburgunder, cv. Rotberger und cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2004. n.b. nicht berechnet.

		4 °C			20 °C			37 °C		
	$c_{1/2}$ [mg/L]	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tag	k [Tage^{-1}]	R^2
Spätburgunder 2004										
Del-3-glc	**6**	76	0,0091	0,9676	34	0,0204	0,9105	12	0,0599	0,8986
Cya-3-glc	**2**	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Pet-3-glc	**6**	95	0,0073	0,9732	34	0,0205	0,9278	13	0,0554	0,9171
Peo-3-glc	**14**	223	0,0031	0,9793	55	0,0127	0,9883	14	0,0485	0,9851
Mal-3-glc	**43**	155	0,0045	0,9777	44	0,0159	0,9759	14	0,0490	0,9825
Gesamtanthocyane	**70**	156	0,0044	0,9773	40	0,0174	0,9723	14	0,0497	0,9752
Rotberger 2004										
Del-3-glc	**3**	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Cya-3-glc	**13**	401	0,0017	0,9330	68	0,0102	0,9671	6	0,1104	0,9909
Pet-3-glc	**3**	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Peo-3-glc	**10**	445	0,0016	0,9411	76	0,0091	0,9682	7	0,0990	0,9945
Mal-3-glc	**11**	193	0,0036	0,9209	46	0,0149	0,9623	4	0,1561	0,9952
Gesamtanthocyane	**43**	338	0,0021	0,9273	68	0,0103	0,9802	7	0,1023	0,9804
Dunkelfelder 2004										
Del-3-glc	**20**	1833	0,0004	0,7195	162	0,0043	0,9803	18	0,0394	0,9850
Cya-3-glc	**20**	864	0,0008	0,9187	136	0,0051	0,9862	18	0,0391	0,9916
Pet-3-glc	**29**	876	0,0008	0,9048	150	0,0046	0,9871	17	0,0409	0,9860
Peo-3-glc	**277**	554	0,0013	0,9503	127	0,0054	0,9881	16	0,0430	0,9911
Mal-3-glc	**226**	775	0,0009	0,9196	130	0,0053	0,9887	16	0,0442	0,9873
Peo-3-acetylglc	**32**	481	0,0009	0,7642	96	0,0059	0,9893	11	0,0442	0,993
Mal-3-acetylglc	**30**	615	0,0011	0,8242	99	0,8410	0,9856	18	0,0391	0,9889
Peo/Mal-3-coum	**78**	743	0,0009	0,9425	130	0,7354	0,9872	16	0,0639	0,989
Gesamtanthocyane	**733**	682	0,0010	0,9373	125	0,0056	0,9888	15	0,0458	0,9897

Die größten Halbwertszeiten $\tau_{1/2}$ wurden für die Anthocyane des Traubensaftes cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2004 gemessen. Auffällig ist hierbei, dass das Hauptanthocyan Peonidin-3-glucosid bei allen Temperaturen eine im Vergleich relativ niedrige Halbwertszeit (554 Tage) aufweist, Delphinidin-3-glucosid hingegen, welches in einer viel niedrigeren Ausgangskonzentration vorliegt, die größte Halbwertszeit (1833 Tage) besitzt.

Die Aktivierungsenergien geben Auskünfte über die Stabilität der Anthocyane. Aus Tab. 12 ist ersichtlich, dass deutliche Unterschiede zwischen den Rebsorten, den einzelnen Anthocyanen und zwischen den Jahrgängen bestehen. Die höchsten Aktivierungsenergien wurden für die Anthocyane des Traubensaftes cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2003 gemessen.

Tab. 12: Aktivierungsenergien [kJ/mol] der Anthocyane der roten Traubensäfte der Jahrgänge 2003 und 2004.

	Aktivierungsenergie E_A [kJ/mol]					
	Spätburgunder		Rotberger		Dunkelfelder	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Mal-3-glc	83	52	74	82	127	83
Peo-3-glc	83	59	75	90	114	76
Pet-3-glc	75	44	69	n.b.	131	85
Cya-3-glc	69	n.b.	73	90	98	84
Del-3-glc	80	41	65	n.b.	140	101
Gesamtanthocyane	83	52	71	84	97	82

Die Aktivierungsenergie einer Substanz gibt Auskunft über deren Stabilität. Für die Rebsorte cv. Spätburgunder 2003 liegen die E_A der Gesamtanthocyane, Mal-3-glc sowie Peo-3-glc im gleichen Bereich von ca. 80 kJ/mol. Darüber hinaus muss beachtet werden, dass es sich bei den Geradengleichungen, die für die Berechnungen herangezogen werden, immer um Näherungen handelt. Die berechneten Aktivierungsenergien für die Rebsorte cv. Rotberger 2003 liegt etwas niedriger bei ca. 72 kJ/mol. Deutliche Unterschiede sind im Vergleich zur Rebsorte cv. Dunkelfelder 2003 erkennbar. Die Aktivierungsenergien für die Gesamtanthocyane und Mal-3-glc liegen im gleichen Bereich bei 89-98 kJ/mol, jedoch sehr viel höher als bei cv. Spätburgunder und cv. Rotberger. Eine signifikante Abweichung ist für Peo-3-glc zu sehen. Die generell höhere Aktivierungsenergie der Anthocyane in cv. Dunkelfelder spiegelt die größere Stabilität wieder, die sich auch in anderen Messungen gezeigt hat. Der Vergleich der rebsortenreinen Traubensäfte der Jahrgänge 2003 und 2004 verdeutlicht, dass die Stabilität der Anthocyane sowohl rebsorten- als auch jahrgangsabhängig ist. Somit spielt die jeweilige Saftmatrix eine entscheidende Rolle.
Bei der Diskussion der kinetischen Daten sollte außerdem berücksichtigt werden, dass es sich lediglich um Anhaltspunkte handelt, die aus Näherungen hervorgehen. Das Bestimmtheitsmaß zwischen 0,8000 und 0,9999 verdeutlicht zwar die Güte der Regressionsgeraden, jedoch sollte nicht vernachlässigt werden, dass beispielsweise bei der Berechnung eine Kinetik erster Ordnung zu Grunde gelegt bzw. angenommen wird. Bei der Entstehung möglicher Alterungspigmente oder anderen Alterungsvorgänge sowie dem Abbau der Anthocyane können zahlreiche Einflussfaktoren (u.a. Matrix, farblose Phenole, pH-Wert, polymere Strukturen wie z.B. Proteine, Oligo- und Polysaccharide) im Saft eine Rolle spielen. Es wird ersichtlich, dass die Annahme einer Reaktion erster Ordnung daher nur eine Näherung sein kann.

4.1.7 SENSORIK DER LAGERPROBEN

Für den Konsumenten eines Fruchtsaftes spielen Farbe, Aussehen, Geruch und Geschmack die wichtigste Rolle. Auch diesbezüglich trägt die Lagerung zu Veränderungen bei.
Nach Beendigung der Lagerungsversuche der roten Traubensäfte wurde eine Sensorikprüfung nach DLG-5-Punkte-Schema sowie nach einfach beschreibender Prüfung durchgeführt. Die jeweilige Nullprobe wurde als Referenz festgelegt. Alle anderen Proben wurden codiert verkostet. Die Proben nach einem halben Jahr Lagerung wurden bis zur Prüfung bei einer Temperatur von 1 °C gelagert. Die Konsensprüfungen fanden mit jeweils 13-16 Teilnehmern des Fachgebietes Weinanalytik und Getränkeforschung der Forschungsanstalt Geisenheim statt. Vor der eigentlichen Prüfung wurden getränkespezifische Schulungen durchgeführt, um passende Attribute zur Beschreibung der Charakteristika zu finden. Bewertet wurden Farbe, Geruch und Geschmack sowie Harmonie der Produkte. Nach dem DLG-5-Punkte System konnten Punktzahlen von 0 (nicht bewertbar) bis 5 (volle Erfüllung der Qualitätserwartung) vergeben werden. Im Rahmen der deskriptiven Sensorik wurden die Attribute, die Farbe, Geruch und Geschmack näher beschrieben und mit Punktzahlen auf einer Skala von 0 (nicht) bis 10 (sehr stark) bewertet.

Für die Verkostung der sortenreinen Traubensäfte Spätburgunder, Rotberger und Dunkelfelder (2003) wurde mit den Panelteilnehmern vor der eigentlichen Prüfung eine kurze Schulung durchgeführt. Die Säfte wurden direkt verkostet und hatten jeweils eine spezielle Note, die für

den entsprechenden Saft charakteristisch war, für die Panelteilnehmer jedoch relativ ungewohnt, da keiner mit einem handelsüblichen Traubensaft vergleichbar war. Grundlage der Beurteilung war die entsprechende Nullprobe. Alle anderen Proben wurden codiert verkostet. Auf die tabellarische Darstellung der Ergebnisse der 37 °C Lagerung wird an dieser Stelle verzichtet, da diese Temperatur über die Lagerdauer von sechs Monaten nicht realistisch ist.
Im Beispiel cv. Spätburgunder wurde die Nullprobe bezüglich Farbe/Aussehen und Geruch nach dem DLG-5-Punkte-Schema mit der Höchstpunktzahl fünf beurteilt (Volle Erfüllung der Qualitätserwartung). Bei der Beurteilung des Geschmacks wurden aufgrund einer Karamellnote 0,5 Punkte abgezogen, für die Harmonie des Saftes ergeben sich daher auch maximale 4,5 Punkte. Die Nullprobe erreicht somit eine Qualitätszahl von 4,70 (Volle Erfüllung der Qualitätserwartung) und ist somit auch die am besten bewertete Probe. Insgesamt wurden die bei 4 °C gelagerten Proben im Folgenden besser bewertet (Qualitätszahlen 4,58 und 4,38) als die übrigen Lagerungsproben, wobei auch die 20 °C Proben nur geringfügige Abweichungen (Qualitätszahlen 4,15 und 4,00) aufwiesen (Tab. 13). Deutliche bis starke Fehler, verdeutlicht durch die angegebenen Bemerkungen wie angebrannt, deutliche Medizinalnote, bitter oder fremdartig, kennzeichneten die 37 °C Proben (nicht dargestellt).

Tab. 13: Sensorik Spätburgunder Traubensaft nach DLG-5-Punkte-Schema (Konsensprüfung)

	0-Probe	1/2 Jahr 4°C	1 Jahr 4°C	1/2 Jahr 20°C	1 Jahr 20°C
Farbe	5,0	5,0	5,0	5,0	4,5
Geruch	5,0	4,5	4,5	4,0	4,5
Geschmack	4,5	4,5	4,0	4,0	3,5
Harmonie	4,5	4,5	4,5	4,0	4,0
Qualitätszahl	4,70	4,58	4,38	4,15	4,00
Qualitäts-beschreibung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Geringfügige Abweichung	Geringfügige Abweichung	Geringfügige Abweichung
Bemerkungen	Karamellnote	adstringierend	Karamellnote	Kochton	metallisch, belegend, buttrig

Die Nullprobe des Traubensaftes Rotberger wurde in allen Parametern mit der Höchstpunktzahl 5 ausgezeichnet (Tab. 14). Für die beiden 4 °C Proben nach sechs bzw. 12 Monaten wurden jeweils 0,5 Punkte für den Geschmack abgezogen, mit einer Qualitätszahl von 4,70 entsprechen die Säfte trotzdem noch der vollen Erfüllung der Qualitätserwartung. Deutliche Unterschiede wurden hingegen bei den 20 °C Proben festgestellt. Nach einem Jahr erhielt der Saft deutliche Abzüge in Geruch, Geschmack und somit auch Harmonie, die mit fehlender Frische, einer Alterungsnote und Bitterkeit begründet wurden. Die 37 °C Proben wiesen bereits nach einem halben Jahr Lagerung eine Medizinalnote auf, die im Lauf der Lagerung noch verstärkt wurde. Weiterhin wurden diese Proben mit den Attributen fremdartig und angebrannt charakterisiert. Der starke Fehler, der den ursprünglichen typischen Rotbergersaft nicht mehr erkennen lässt, wird durch die Qualitätszahl 1,00 verdeutlicht (nicht dargestellt).

Tab. 14: Sensorik Traubensaft Rotberger nach DLG-5-Punkte-Schema (Konsensprüfung)

	0-Probe	1/2 Jahr 4°C	1 Jahr 4°C	1/2 Jahr 20°C	1 Jahr 20°C
Farbe	5,0	5,0	5,0	5,0	4,0
Geruch	5,0	5,0	5,0	4,5	3,5
Geschmack	5,0	4,5	4,5	4,5	3,5
Harmonie	5,0	4,5	4,5	4,5	3,5
Qualitätszahl	5,00	4,70	4,70	4,58	3,58
Qualitäts-beschreibung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Geringfügige Abweichung
Bemerkungen		adstringierend, metallisch			fehlende Frische, gealtert, sehr bitter

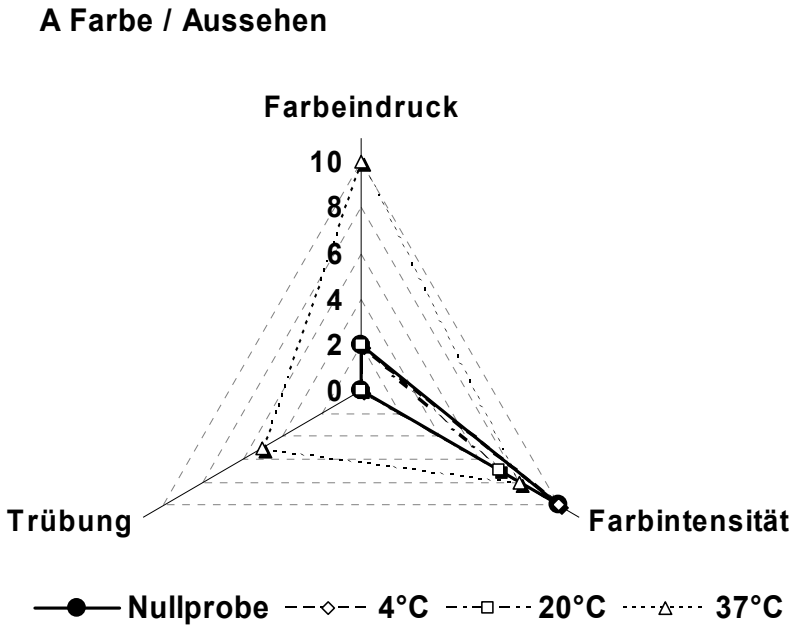
Der Traubensaft Dunkelfelder wurde von allen Traubensäften sensorisch am besten bewertet und war auch während der Lagerung am stabilsten. Größere Punktabzüge in Geruch und Geschmack und daraus resultierend für Harmonie gab es für die bei 37 °C gelagerten Proben nach sechs und zwölf Monaten und für die 20 °C Probe nach zwölf Monaten. Die leichte Braunfärbung wurde erst nach zwölf Monaten Lagerung mit dem Auge erkennbar. Eine Medizinalnote trat auch in diesem Saft auf und nahm mit der Lagerung deutlich zu. Insgesamt entsprachen die Proben der vollen Erfüllung der Qualitätserwartung (4,80-5,00 Punkte) oder wiesen geringfügige Abweichungen auf (3,65-3,83 Punkte) (Tab. 15). Deutliche Fehler (2,23 Punkte) wurden lediglich nach 12 Monaten bei 37 °C Lagerung festgestellt.

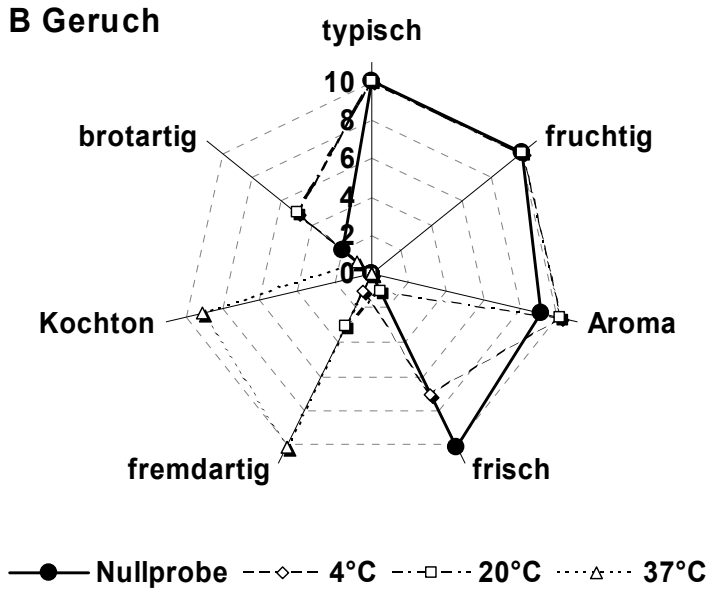
Tab. 15: Sensorik Traubensaft Dunkelfelder nach DLG-5-Punkte-Schema (Konsensprüfung)

	0-Probe	1/2 Jahr 4°C	1 Jahr 4°C	1/2 Jahr 20°C	1 Jahr 20°C
Farbe	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Geruch	5,0	5,0	5,0	5,0	3,5
Geschmack	5,0	4,5	5,0	5,0	3,5
Harmonie	5,0	5,0	5,0	5,0	4,0
Qualitätszahl	5,00	4,80	5,00	5,00	3,83
Qualitäts-beschreibung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Geringfügige Abweichung
Bemerkungen		adstringierend	Karamellnote		fehlende Frische, leicht bitter, leichte Medizinalnote

In der deskriptiven Sensorik wurden die Beurteilungsparameter Farbe/Aussehen, Geruch und Geschmack durch die in Abb. 38 aufgeführten Attribute näher erläutert. Dargestellt sind die Veränderungen am Beispiel des ein Jahr bei 4 °C, 20 °C und 37 °C gelagerten Traubensaftes cv. Spätburgunder. Der Farbeindruck der Nullprobe wurde als tiefviolett mit einer sehr starken Farbintensität beschrieben. Weiterhin wurden Geruch und Geschmack mit einem sehr stark typischen, fruchtigen und frischen Aroma ohne Anwesenheit von Fehltönen charakterisiert. Generell wurde bei allen Traubensäften ein unausgewogenes Zucker-Säure-Verhältnis mit einer dominierenden Süße festgestellt, was sich auf den sehr trockenen und heißen Sommer 2003 zurückführen lässt. Die Proben nach Lagerung von zwölf Monaten bei 4 °C und 20 °C wiesen keine eindeutigen Veränderungen auf und wurden analog zur Nullprobe bewertet. Auch nach einem Jahr Lagerung bei 4 °C wurden Farbe und Geruch hinsichtlich der Attribute typisch,

fruchtig und frisch des Saftes mit 10 Punkten ("sehr stark") ausgezeichnet. Abzüge gab es für die Frische, eine Zunahme einer fremdartigen Note in Geruch und Geschmack wurde beobachtet, ebenso wurde die für diesen Saft typische brotartige Note mit der Lagerung intensiver. Deutlichere Veränderungen wurden im Geschmack beobachtet, für die typische Note, fruchtig und frisch wurden Punkte abgezogen, das Zucker-Säure-Verhältnis verschob sich weiter in Richtung Süße. Eine fremdartige Note wurde erkannt, die in der Nullprobe vorhandene Brotnote hingegen verschwand. Der Saft war nach wie vor jedoch harmonisch.
Die Lagertemperatur von 20 °C führte nach 12 Monaten zu Punktabzügen in Geruch und Farbe. Der Farbeindruck wurde zwar noch mit tiefviolett bezeichnet, die Farbintensität hingegen nahm im Vergleich zur Nullprobe ab. Der Geruch wurde mit Ausnahme der Frische analog zur 4 °C Probe beurteilt, letztere war fast nicht mehr vorhanden, ebenso im Geschmack. Die fremdartige Note nahm auch hier zu und wurde mit metallisch, belegend und buttrig beschrieben.
Eine sehr schlechte Bewertung erhielt der Traubensaft nach Lagerung bei 37°C, nach zwölf Monaten war die Farbe sehr stark braun, darüber hinaus trat eine Trübung auf. Im Geruch und Geschmack wurde die nun sehr starke fremdartige Note mit einer sehr deutlichen Medizinalnote, bitter und angebrannt, umschrieben. Hinzu kam ein sehr starker Kochton. Für die Harmonie wurden daher in der einfachen beschreibenden Sensorik keine Punkte mehr vergeben, der Saft wurde als unharmonisch bewertet.





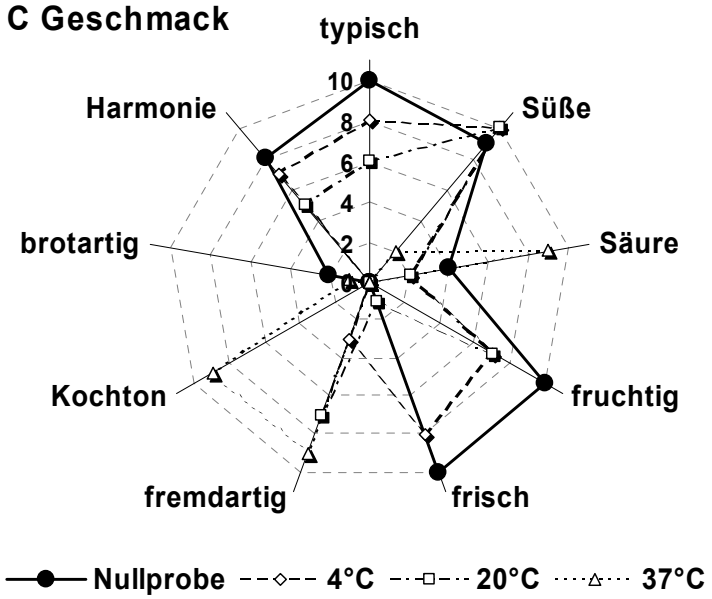


Abb. 38: Deskriptive Sensorik mit den Parametern Farbe/Aussehen (A), Geruch (B) und Geschmack (C) des Traubensaftes cv. Spätburgunder 2003 nach einem Jahr Lagerung. Die Punkteskala reicht von 0 (nicht) bis 10 (sehr stark).

Die Ergebnisse der Sensorikprüfung für die drei rebsortenreinen Traubensäfte zeigen zum einen, dass die Lagertemperatur in Abhängigkeit von der Lagerdauer einen deutlichen Einfluss auf die untersuchten Qualitätsparameter Farbe, Geruch und Geschmack hat. Darüber hinaus lassen sich Unterschiede hinsichtlich der sensorischen Stabilität zwischen den Rebsorten feststellen.

4.1.8 AROMAANALYTIK

Ergänzend zu den Ergebnissen der Sensorik wurden die Veränderungen von Aromen der gelagerten roten Traubensäfte untersucht. In den Aromaprofilen lassen sich vor und nach Lagerung deutliche Unterschiede verzeichnen. In Abb. 39 ist das Chromatogramm des Traubensaftes Rotberger vor Beginn der Lagerung dargestellt.

Die Aromaananlytik wurde als qualitative Twister-GC-MS-Analytik durchgeführt, die Angaben in Tab. 16 beziehen sich auf die Flächenverhältnisse [%]. Hexanol, Linalool, β-Damascenon und Phenylethylalkohol sind in allen Rebsorten vertreten und verleihen den Säften ein frisches, fruchtiges und blumiges Aroma. Limonen, das eine zitrusartige Note bewirkt, wurde in den Sorten cv. Spätburgunder und cv. Rotberger nachgewiesen, jedoch nicht in cv. Dunkelfelder. Neben diesen positiven Aromen wurden auch Substanzen wie Isoamylalkohol, Hexansäure, Octansäure und Decansäure identifiziert. Sie verleihen dem Saft eine eher stechend unangenehme, ranzige Note.

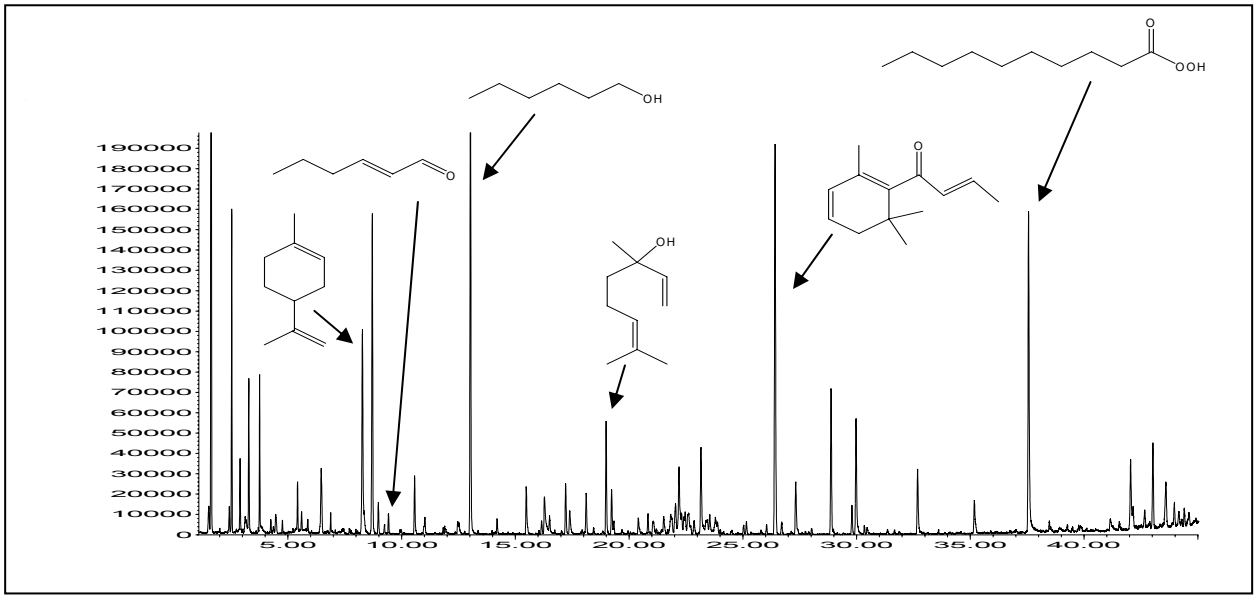


Abb. 39: Aromaprofil der Nullprobe des Traubensaftes cv. Rotberger

Ergänzend zu Abb. 39 beschreibt Tab. 16 sehr gut den Übergang bei 4 °C und 20 °C von fruchtigen Komponenten zu solchen, die einen negativen Einfluss auf das Produkt charakterisieren.

Tab. 16: Ausgewählte Aromakomponenten des Traubensaftes Rotberger nach sechs und zwölf Monaten Lagerung bei 4 °C und 20 °C.

	Geruchsschwelle	Nullprobe [%-Fläche]	1/2 Jahr 4°C [%-Fläche]	1 Jahr 4°C [%-Fläche]	1/2 Jahr 20°C [%-Fläche]	1 Jahr 20°C [%-Fläche]
Limonen	**10-200 ppb**	7,42	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Isoamylalkohol		9,25	6,10	8,74	7,53	6,78
2-Hexenal	**17 ppb**	0,83	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Hexanol	**2,5 ppm**	13,56	7,40	8,24	7,25	7,34
Linalool	**4-6 ppb**	3,14	1,34	1,69	1,58	n.n.
β-Damascenon	**0,009 ppb**	13,31	6,97	8,47	4,49	5,02
Phenylethylalkohol	**0,7-1,1 ppm**	4,28	2,82	3,18	2,83	2,82
Furfural	**3 mg/L**	n.n.	0,35	0,34	0,25	0,35
Octansäure		2,25	4,53	7,85	5,25	6,81
Decansäure		11,56	54,22	33,60	46,97	49,26

Die Hauptkomponenten der Nullprobe wie Limonen (citrusartig), 2-Hexenal (grün-fruchtig, apfelartig), Hexanol (fruchtig), Linalool (blumig) oder β-Damascenon (Frische und Brillanz, rosenartig, blumig) stehen häufig im Zusammenhang mit der Charakterisierung eines Produktes bezüglich der Frische und Fruchtigkeit. In diesem Beispiel steht dies im Einklang mit dem Ergebnis der Sensorik. Diese Aromen nehmen jedoch mit der Lagerung deutlich ab und sind zum Teil bereits nach sechs Monaten Lagerung nicht mehr nachweisbar (Limonen, 2-Hexenal, Linalool). Im Gegenzug dazu werden neue Aromen wie z.B. Decansäure oder Octansäure (ranzig) gebildet, die sich als Fehltöne negativ auswirken. Furfural ist gleichzeitig ein Indikator für die Bildung weiterer Maillardprodukte, die eine brotartige oder Karamellnote hervorrufen. Bei der Betrachtung von Aromaprofilen sollte immer berücksichtigt werden, wie hoch die Geruchsschwellenwerte der Substanzen sind. Aromastoffe, die zwar nur einen geringen Anteil an [%]-Fläche haben, können sich trotzdem sensorisch sehr intensiv auswirken. Der blumige Charakter von Linalool beispielsweise macht sich bereits bei 4-6 ppb bemerkbar.

4.2 ARONIASAFT UND ARONIASAFTKONZENTRAT

Im April 2004 wurde aus tiefgefrorenen Aroniabeeren Aroniasaft sowie Aroniasaftkonzentrat im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim hergestellt und bei 4 °C, 20 °C und 37 °C lichtgeschützt gelagert. Nach sechs und zwölf (Saft) bzw. elf (Konzentrat) Monaten Lagerung wurden die zu bestimmten Zeitpunkten gezogenen Proben auf die folgenden Saftparameter untersucht. Die dargestellten Ergebnisse und Daten für Aroniasaftkonzentrat beziehen sich, soweit nicht anders angegeben, auf die °Brix der Nullprobe des Aroniasaftes (15,77 °Brix).

4.2.1 PRIMÄRE SAFTPARAMETER

Die Aroniabeere gilt im Allgemeinen als sehr saure, bittere Frucht mit einer sehr großen Adstringens, daher sind im Handel keine Muttersäfte zu finden. Häufig ist sie jedoch Bestandteil in Mehrfruchtprodukten. Für Aroniasaft gibt es bisher keinen allgemein gültigen Code of Practise. Die primären Saftparameter (Sorbit wurde nicht untersucht) wurden vor der Lagerung und nach 6 bzw. 12 Monaten untersucht (Tab. 2). Im Vergleich zu den von Ara [2002] veröffentlichten Analysedaten liegen die relative Dichte, °Brix, sowie der Gesamtextrakt der Nullprobe etwas niedriger (1,0605 im Vergleich zu 1,0811 bzw. 15,77 °Brix zu 19,5 °Brix, 157,3 g/L zu 210 g/L). Für alle anderen Parameter wurden ähnliche Werte gemessen.
Nahezu unverändert über die gesamte Lagerung blieben die Werte für die relative Dichte (1,0593-1,0605), Glucose (34,8-35,4 g/L), Fructose (31,5-32,8 g/L), pH-Wert (3,28-3,39), Gesamtsäure (9,62-9,98 g/L), L-Milchsäure (0,08-0,14 g/L), Ethanol (0,12-0,20 g/L), die Alkali- und Erdalkalielemente sowie Kupfer (0,1 mg/L) und Zink (0,9-1,1 mg/L). Eine deutliche Abnahme von 39 mg/L auf bis zu 11 mg/L (12 Monate Lagerung bei 37 °C) ist lediglich für Ascorbinsäure zu sehen, diese ist in Säften generell nicht stabil.

Tab. 2: Primäre Saftparameter von Aroniasaft. Dargestellt sind die Werte für die Nullprobe sowie die Daten für die Lagerung nach 6 und 12 Monaten bei drei Temperaturen 4 °C, 20 °C und 37 °C. WS = Weinsäure, CS = Citronensäure, ÄS = Äpfelsäure.

			6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
Parameter	**Einheit**	**Nullprobe**	**4°C**	**20°C**	**37°C**	**4°C**	**20°C**	**37°C**
Leitfähigkeit	**µS/cm**	3340	3170	3230	3270	3180	3190	3180
Dichte	**20/20**	1,0605	1,0601	1,0604	1,0593	1,0601	1,0602	1,0597
Brix	**° Brix**	15,77	15,62	15,5	15,26	15,83	15,76	15,32
Gesamtextrakt	**g/L**	157,3	156,3	157,0	154,1	156,3	156,5	155,1
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	89,7	89,2	89,7	87,2	89,5	89,7	88,1
Glucose	**g/L**	34,8	34,8	35,0	35,4	34,9	34,9	35,3
Fructose	**g/L**	32,8	32,3	32,3	31,5	31,9	31,9	31,7
Glucose/Fructose		1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
pH- Wert		3,3	3,4	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
Gesamtsäure pH 7,0 ber. WS	**g/L**	9,9	9,7	9,7	9,6	9,7	9,8	9,7
Gesamtsäure pH 8,1 ber. CS	**g/L**	n.b.	9,0	8,9	8,7	8,9	9,0	8,8
Gesamtsäure pH 8,1 ber. ÄS	**g/L**	n.b.	9,4	9,3	9,1	9,4	9,4	9,3
flüchtige Säure (ber. Essigsäure)	**g/L**	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
l-Milchsäure	**g/L**	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Ethanol	**g/L**	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Ascorbinsäure	**mg/L**	39	39	30	25	21	12	11
Calcium	**mg/L**	251	248	250	262	244	264	264
Kalium	**mg/L**	1758	1795	1811	1783	1815	1795	1812
Magnesium	**mg/L**	130	128	128	127	128	127	125
Kupfer	**mg/L**	0,1	0,1	0,1	0,1	n.n.	n.n.	n.n.
Zink	**mg/L**	0,9	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Natrium	**mg/L**	5,7	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0

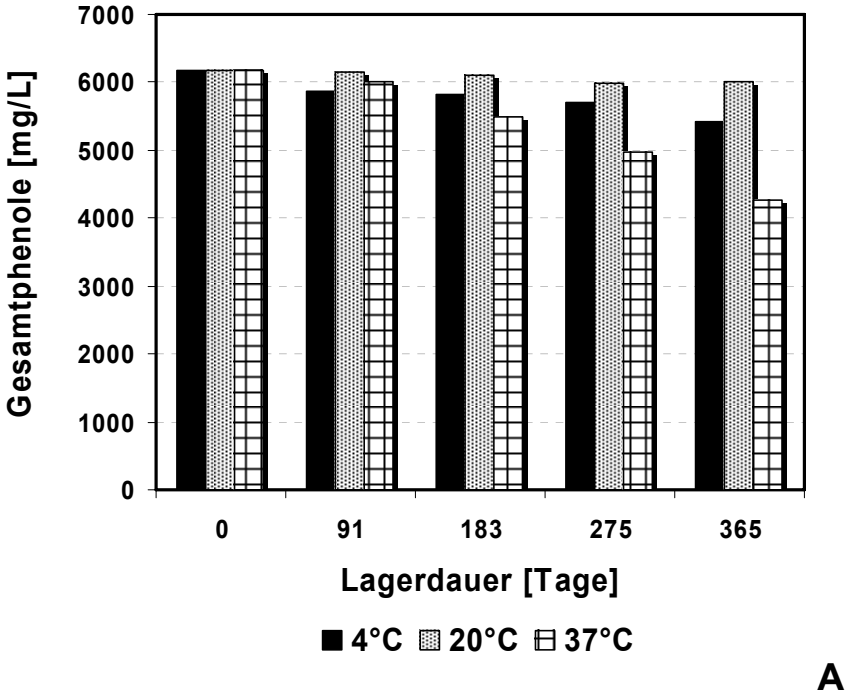
Die primären Saftparameter des Aroniakonzentrates wurden nur für die Nullprobe bestimmt. Diese weisen keine deutlichen Abweichungen von der des Aroniasaftes auf (Tab. 17).

Tab. 17: RSK-Daten der Aroniasaftkonzentrat Nullprobe, ber. auf 15,77 °Brix.

Parameter	Einheit	Nullprobe
Leitfähigkeit	**µS/cm**	3320
Dichte	**20/20**	1,0605
Brix	**° Brix**	15,78
Gesamtextrakt	**g/L**	157,3
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	90,10
Glucose	**g/L**	34,8
Fructose	**g/L**	32,4
Glucose/Fructose		1,07
pH- Wert		3,33
Gesamtsäure pH 7,0 ber. WS	**g/L**	9,6
Gesamtsäure pH 8,1 ber. CS	**g/L**	n.b.
Gesamtsäure pH 8,1 ber. ÄS	**g/L**	n.b.
flüchtige Säure (ber. Essigsäure)	**g/L**	0,11
L-Milchsäure	**g/L**	0,15
Ethanol	**g/L**	n.n.
Ascorbinsäure	**mg/L**	46
Calcium	**mg/L**	1783
Kalium	**mg/L**	134
Magnesium	**mg/L**	0,1
Kupfer	**mg/L**	0,0
Zink	**mg/L**	0,8
Natrium	**mg/L**	7

4.2.2 GESAMTPHENOLE (FOLIN) UND ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT (TEAC)

Der Einfluss der Lagerung auf den Gesamtphenolgehalt (Folin) und die antioxidative Kapazität (TEAC) von Aroniasaft ist in Abb. 40 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass sowohl bei 4 °C als auch bei 20 °C Gesamtphenolgehalte und TEAC-Werte auch nach einem Jahr Lagerung keinen signifikanten Veränderungen unterliegen. Bei 37 °C hingegen ist der deutliche Einfluss der Temperatur ersichtlich. Der Gesamtphenolgehalt nimmt von 6168 mg/L wasserfreies Catechin auf 4266 mg/L ab, was einem Verlust von 31 % entspricht. Die Abnahme des TEAC-Wertes von 66 mmol/L auf 39 mmol/L Troloxäquivalenten liegt bei 41 %.



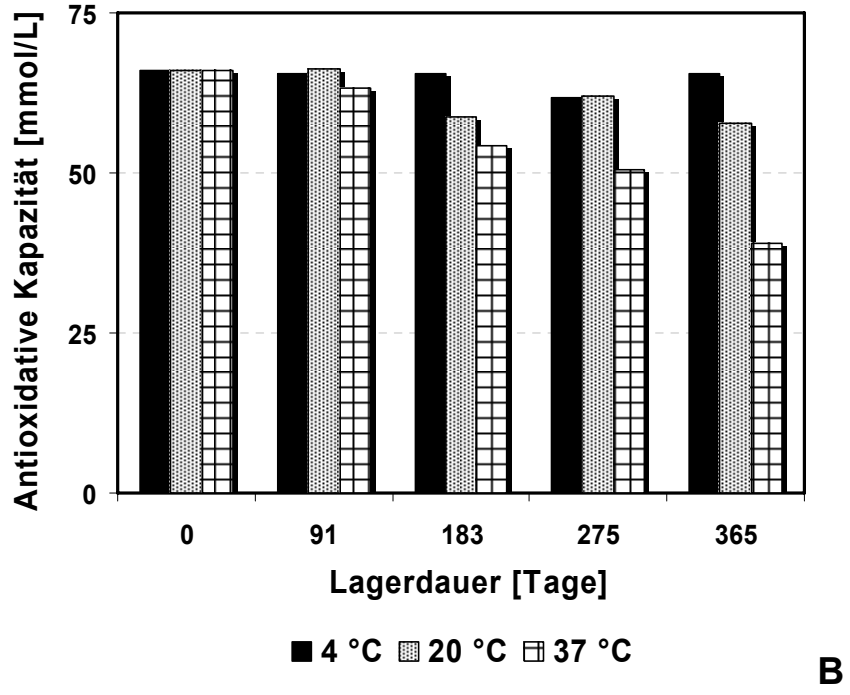


Abb. 40: Gesamtphenole (A, Folin, ber. als wasserfreies Catechin) und antioxidative Kapazität (B, TEAC, ber. als Troloxäquivalente) von Aroniasaft über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

Analog den Ergebnissen von Aroniasaft lassen sich auch für Aroniasaftkonzentrat keine signifikanten Veränderungen bezüglich des Gesamtphenolgehaltes (Folin) und der antioxidativen Kapazität über die Lagerdauer von elf Monaten bei 4 °C und 20 °C feststellen. Bei 37 °C nimmt der Gesamtphenolgehalt (Folin) von 6144 mg/L (Nullprobe) auf 3987 mg/L ab, was einem Verlust von 35 % entspricht. Die prozentuale Abnahme ist in diesem Fall genauso hoch für die antioxidative Kapazität, der TEAC-Wert nimmt von 72 mmol/L (Nullprobe) auf 47

mmol/L ab. Für Aroniasaft und Aroniasaftkonzentrat ergeben sich somit bezüglich dieser untersuchten Parameter keine signifikanten Unterschiede im Verlauf, auf die Darstellung der Werte wurde daher verzichtet.

4.2.3 FARBE

Der optische Farbeindruck von frischem Aroniasaft ist ein kräftiges leuchtendes rot, die Intensität der Farbe sehr dunkel. Dies spiegelt sich sowohl in den Spektren als auch in den CIELAB-Werten wider. Tab. 18 zeigt den Einfluss der Lagerung auf die einzelnen Farbwerte. Diese ergeben sich unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und sind auf den Lichtweg von 1 cm bezogen.

Die Absorption bei 520 nm liegt für die Aroniasaft Nullprobe bei 37,18 und nimmt in allen Proben in Abhängigkeit von der Lagertemperatur während der Lagerung ab. Die größte Stabilität zeigt sich bei 4 °C, hier ist nur eine geringfügige Abnahme (auf 31,50 bzw. 85 %) zu verzeichnen, dies gilt auch für 420 nm und 620 nm. Bei 20 °C ist die Abnahme in den ersten sechs Monaten sehr deutlich, hier nimmt die Absorption nach einem halben auf 54 % des Ausgangswertes (20,20) ab. Den größten Einfluss hat die Temperatur von 37 °C, der Verlust der Farbe ist bei allen Wellenlängen signifikant erkennbar (520 nm: 22 % bzw. 10 % des Ausgangswertes nach 6 bzw. 12 Monaten). Die Summe der Absorptionen bei 420 nm, 520 nm und 620 nm entspricht der Farbintensität FI, die mit einem Wert von 55,93 für die Nullprobe, sehr hoch ist. Entsprechend der einzelnen Absorptionen nimmt auch die Farbintensität während der 37 °C Lagerung von 55,93 auf 17,98 (32 % des Ausgangswertes nach 6 Monaten) bzw. 10,80 (20 % des Ausgangswertes) am deutlichsten ab.

Der L*-Wert der Nullprobe ist 2,5, was eine sehr dunkle Probe repräsentiert. Die Werte für a* (Grün-Rot-Anteil) und b* (Blau-Gelb-Anteil) liegen bei 30,2 und 31,8. Daraus resultieren die Werte für Hue Angle° (Farbton) von 46,5 und Chroma (Farbsättigung) von 43,9.

Während bei der 4 °C und 20 °C Lagerung die CIELAB-Werte relativ konstant bleiben, sind deutliche Farbänderungen vor allem nach der 37 °C Lagerung zu beobachten. Die Probe wird deutlich heller (L* 18,4), der Rot-Anteil nimmt zu (a* 50,5), ebenso der Gelb-Anteil (b* 52,9), was insgesamt zu einer Bräunung führt. Der Farbton (Hue Angle° 46,3) hingegen bleibt gleich, die Farbsättigung (Chroma 56,8 bzw, 73,2) nimmt deutlich zu.

Tab. 18: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität FI sowie CIELAB-Werte von Aroniasaft nach 6 und 12 Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die Werte sind bezogen auf 1 cm Lichtweg.

		6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
	Nullprobe	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
420 nm	**16,08**	14,13	11,40	8,08	13,95	9,65	5,58
520 nm	**37,18**	32,20	20,20	8,25	31,50	14,53	4,35
620 nm	**2,68**	2,53	2,53	1,65	2,53	2,20	0,88
FI $\Sigma_{420\ nm+520\ nm+620\ nm}$	**55,93**	48,85	34,13	17,98	47,98	26,38	10,80
L*	**2,5**	3,2	2,9	8,5	3,1	4,6	18,4
a*	**30,2**	31,3	30,8	38,8	31,2	33,3	50,5
b*	**31,8**	33,1	32,5	41,5	33,0	35,4	52,9
Hue Angle°	**46,5**	46,6	46,6	47,0	46,6	46,8	46,3
Chroma	**43,9**	45,6	44,8	56,8	45,4	48,6	73,2

Ergänzend zu den Absorptionen 420 nm, 520 nm und 620 nm ist der Verlauf der Spektren in Abb. 41 dargestellt. Neben der deutlichen Abnahme der Absorption bei 520 nm ist eine temperaturabhängige bathochrome Verschiebung zu längeren Wellenlängen hin zu beobachten.

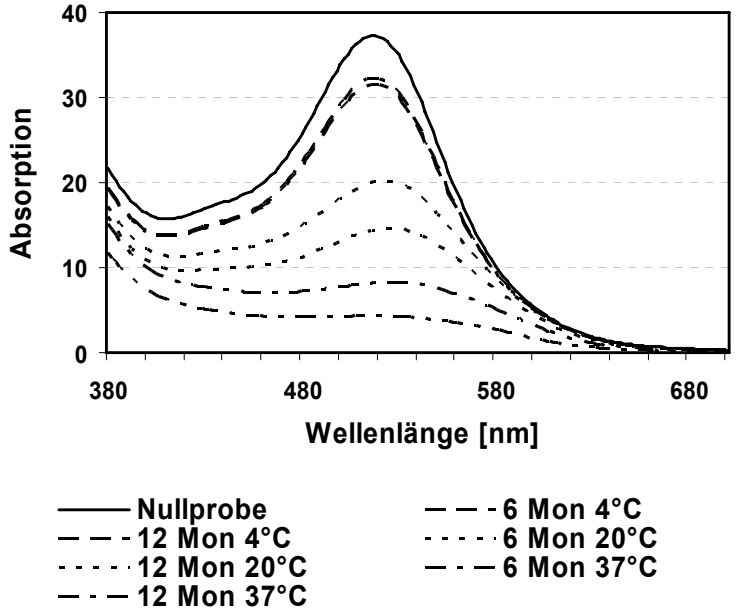


Abb. 41: Spektrenverlauf von Aroniasaft während der Lagerung über ein Jahr.

Beim Vergleich der Nullproben von Aroniasaft und Aroniasaftkonzentrat lassen sich nur geringfügige Unterschiede feststellen (Tab. 19). Die Absorptionen 420 nm (15,79), 520 nm (35,78) und 620 nm (2,71), die Farbintensität FI (54,28) und die CIELAB-Werte liegen im gleichen Bereich wie die des Aroniasaftes. Während die Farbe bei der 4 °C Lagerung relativ stabil ist, sind für die 20 °C und 37 °C gelagerten Proben größere Veränderungen bei Aroniasaftkonzentrat zu erkennen. Die Abnahme der Absorption 520 nm von 35,78 auf 16,33 (45 % des Ausgangswertes) und die der Farbintensität FI von 54,28 auf 29,85 (56 % des Ausgangswertes) innerhalb der ersten sechs Monate zeigt, dass die Farbe etwas instabiler ist als im Saft. Den größten Einfluss hat jedoch die Lagertemperatur von 37 °C. Die Farbintensität geht deutlich verloren, sie nimmt innerhalb der ersten sechs Monate von 54,28 auf 11,49 ab, nach elf Monaten beträgt der Wert nur noch 4,56. Signifikante Veränderungen zeigen sich auch bei der Betrachtung des L*-Wertes, der während der Lagerung von 2,7 auf 13,5 nach sechs bzw. 40,1 nach elf Monaten zunimmt. Die Helligkeit nimmt sehr stark zu und im Vergleich auch stärker als bei Aroniasaft (von 2,5 auf 18,4 nach zwölf Monaten). Der a*-Wert zeigt die Verschiebung des Grün-Rot-Anteils in Richtung rot (von 30,6 auf 42,9 nach sechs bzw. 43,2 nach elf Monaten). Demgegenüber steht die Verschiebung des Blau-Gelb-Anteils in Richtung gelb, die durch die Zunahme des b*-Wertes von 32,2 auf 46,4 bzw. 52,0 repräsentiert wird. Während der Hue Angle nur unwesentlich zunimmt, steigt die Farbsättigung Chroma deutlich von 44,4 auf 63,2 bzw. 67,6 an.

Tab. 19: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität FI sowie CIELAB-Werte von Aroniasaftkonzentrat nach 6 und 12 Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die Werte sind bezogen auf 1 cm Lichtweg und 15,77 °Brix.

		6 Monate Lagerung			11 Monate Lagerung		
	Nullprobe	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
420 nm	**15,79**	15,19	11,12	5,99	14,68	10,38	2,65
520 nm	**35,78**	33,21	16,33	4,39	31,47	12,23	1,48
620 nm	**2,71**	2,68	2,39	1,11	2,59	2,25	0,43
$FI_{\Sigma\ 420\ nm+520\ nm+620\ nm}$	**54,28**	51,08	29,85	11,49	48,75	24,86	4,56
L*	**2,7**	2,5	3,0	13,5	3,0	3,4	40,1
a*	**30,6**	30,3	31,0	42,9	31,0	31,3	43,2
b*	**32,2**	31,9	32,8	46,4	32,8	33,3	52,0
Hue Angle°	**46,5**	46,5	46,7	47,2	46,5	46,8	50,3
Chroma	**44,4**	44,0	45,1	63,2	45,1	45,7	67,6

Anhand der in Abb. 42 dargestellten Spektren lässt sich erkennen, dass auch Aroniakonzentrat in Abhängigkeit von der Lagertemperatur eine bathochrome Verschiebung der Absorption 520 nm zu höheren Wellenlängen aufweist. Diese könnte mit der Bildung neuer Pigmente zusammenhängen, deren Absorptionsmaximum bei höheren Wellenlängen liegt. Bei einer Lagertemperatur von 37 °C ist bereits nach sechs Monaten Lagerung kein eindeutiges Maximum erkennbar.

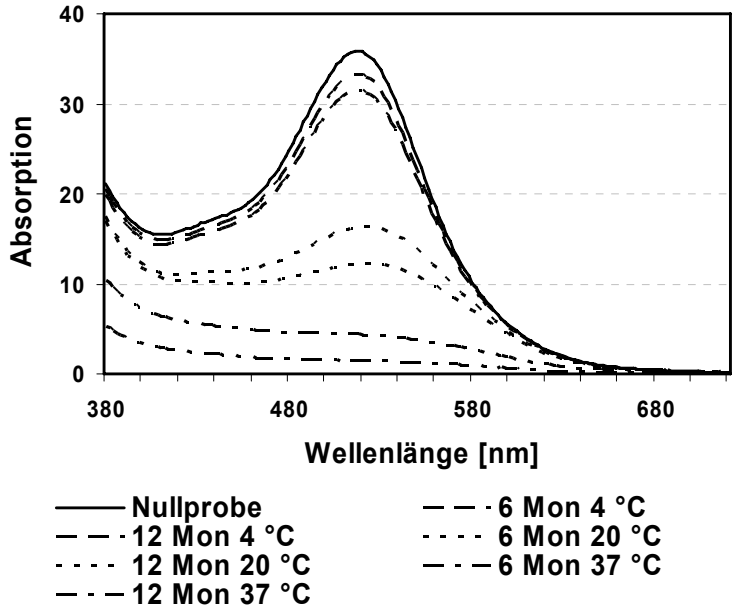


Abb. 42: Spektrenverlauf von Aroniasaftkonzentrat während der Lagerung über ein Jahr.

4.2.4 MONOMERINDEX

Der Verlauf des Monomerindex während der Lagerung ist sehr stark temperaturabhängig. Das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen liegt für die Nullprobe von Aroniasaft bei 32 und nimmt während der Lagerung bei allen Temperaturen ab. Nach einem Jahr liegen die Werte für 4 °C bei knapp 23, für 20 °C bei 9 und für 37 °C bei 1 (Abb. 43). Dies ist weniger auf die Zunahme polymerer Pigmente zurückzuführen als vielmehr auf die Abnahme der monomeren Anthocyane (Abb. 44), was bereits am Beispiel roter Traube gezeigt wurde.

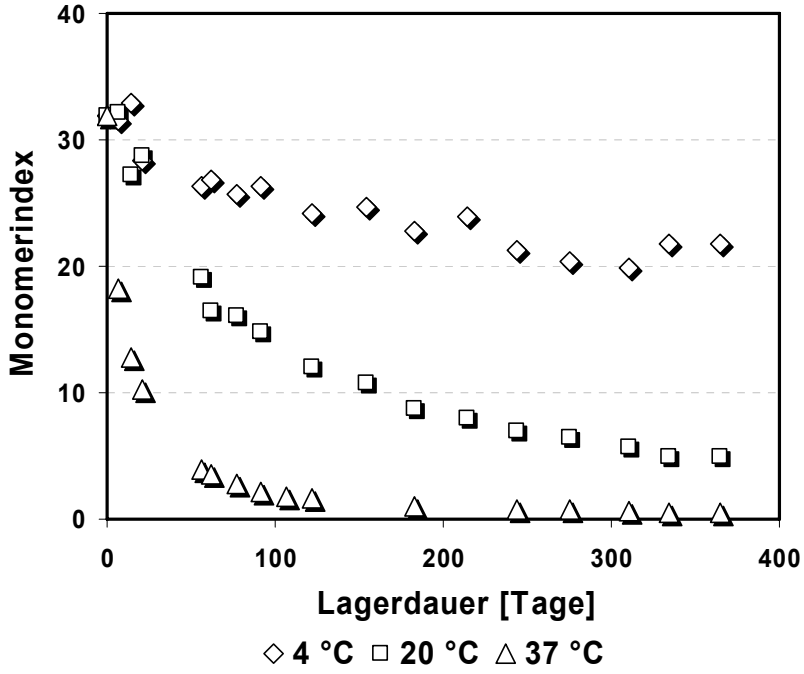


Abb. 43: Monomerindex Aroniasaft über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

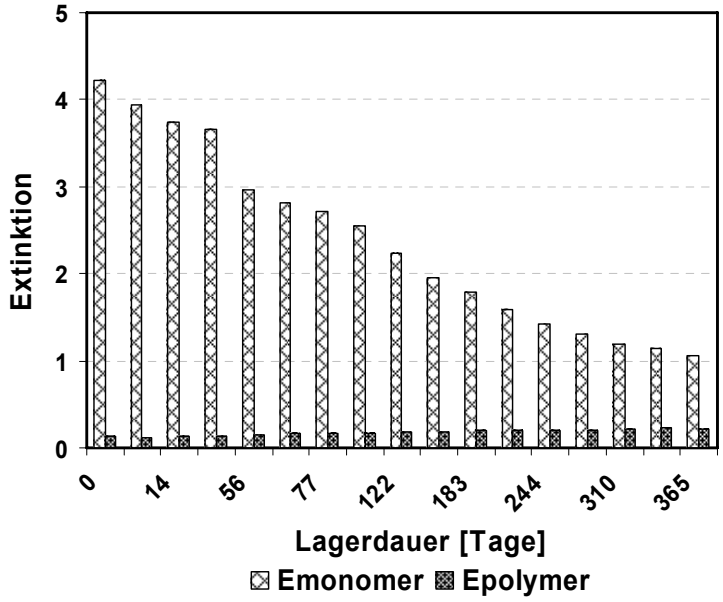


Abb. 44: Monomerer und polymerer Anteil des Monomerindex von Aroniasaft über ein Jahr Lagerung bei 20 °C.

Die Abnahme des Monomerindex ist auch im Konzentrat stark abhängig von der jeweiligen Lagertemperatur. Der Verlauf bei 4 °C ist starken Schwankungen unterlegen, was auch für den mittels HPLC gemessenen Gehalt an Anthocyanen beobachtet wurde. Eine deutliche Abnahme zeigt Abb. 45 für 20 °C und 37 °C.

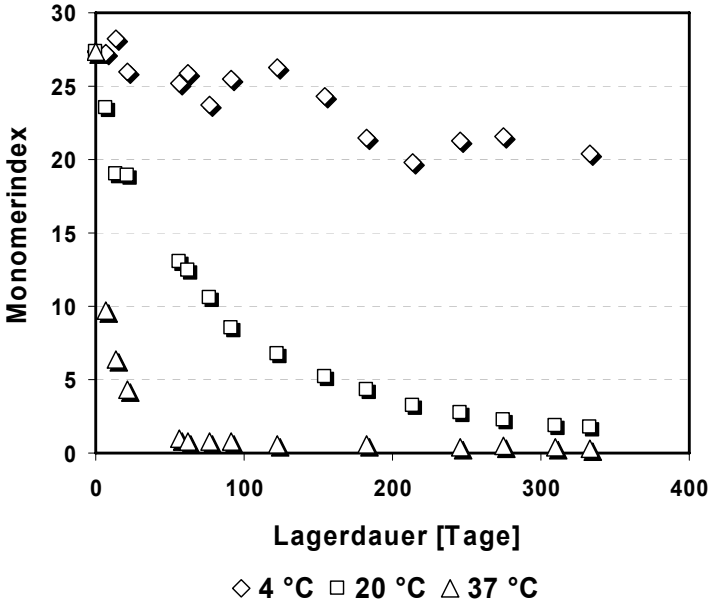


Abb. 45: Abnahme des Monomerindex von Aroniakonzentrat im Verlauf der Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

Der Monomerindex der Nullprobe des Konzentrates liegt mit 27 nur geringfügig niedriger als der des Saftes. Möglicherweise haben bei der 4 °C Lagerung andere Faktoren, wie beispielsweise die Viskosität des Konzentrates, einen vergleichsweise größeren Einfluss als die Temperatur. Die großen Schwankungen zeigen, dass bei dieser Temperatur die Alterung der einzelnen Proben nicht einheitlich zu sein scheint. Wie bei Aroniasaft beträgt der Monomerindex auch im Konzentrat nach elf Monaten Lagerung noch ungefähr 20. Bei 20 °C und 37 °C verläuft die Abnahme des Monomerindex schneller als im Saft. Nach sechs Monaten Lagerung ist das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen 4 (20 °C) bzw. 0,6 (37 °C), nach einem Jahr Lagerung bei 2 (20 °C) bzw. 0,3 (37 °C). Es ist weiterhin zu erkennen, dass die größten Abnahmen bei 37 °C innerhalb der ersten drei Monate zu verzeichnen sind. Das Verhältnis von monomeren zu polymeren ist 1 nach bereits 63 Tagen Lagerung, das bedeutet, dass der Anteil an monomeren und polymeren Strukturen im Saft gleich groß ist. Im Anschluss daran werden die Monomerindices < 1 und somit wird der Anteil polymerer Strukturen größer als der der monomeren.

4.2.5 PHENOLPROFIL: FARBLOSE PHENOLE UND ANTHOCYANE

Mittels UV-Vis und LC-MS-Detektion wurden die in Tab. 20 dargestellten phenolischen Komponenten in Aroniasaft ermittelt. Die Zuordnung der Peaks erfolgte anhand von Literaturdaten [Slimestad et al. 2005]. Ergänzend dazu sind in Abb. 46 die Chromatogramme der Wellenlängen 280 nm und 360 nm dargestellt.

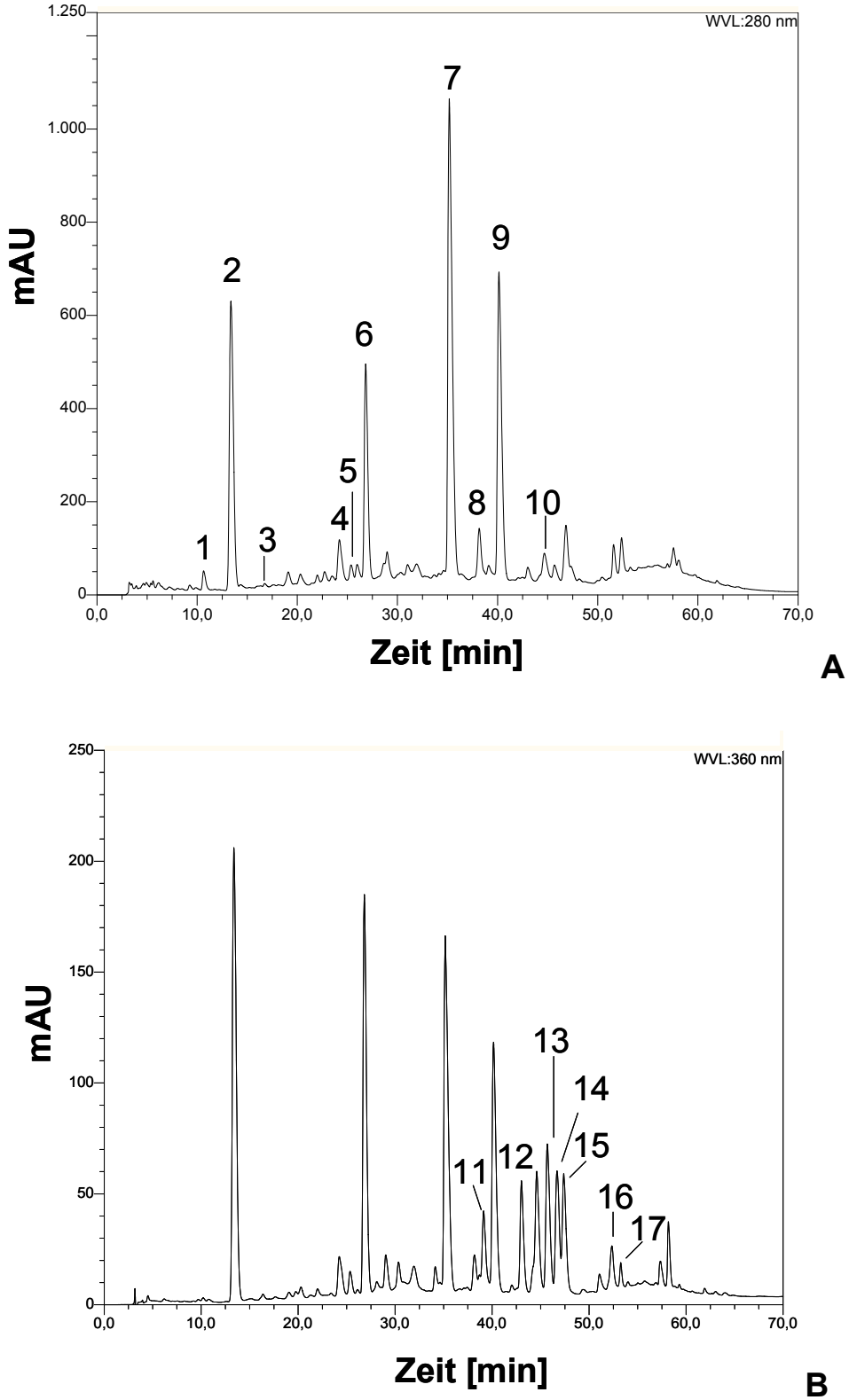
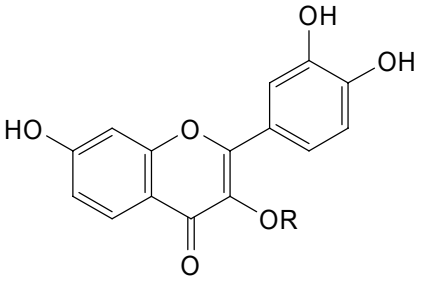


Abb. 46: Chromatogramm der Aroniasaft Nullprobe 280 nm (A) und 360 nm (B), gemessen auf einer fluorierten RP-18 Phase.

Tab. 20: Mittels UV-Vis und LC-MS-Detektion ermittelte Phenole in Aroniasaft (Nullprobe). Die Gehalte der einzelnen Anthocyane wurden als Cya-3-glc [mg/L] berechnet.

Peak Nr.	Retentionszeit [min]	Substanz	λ_{max}	Molekülion *m/z*	Fragment *m/z*	Gehalt [mg/L] (Nullprobe) Saft	Konzentrat
1	10,23	Protocatechuesäure	281			29	29
2	16,55	Protocatechuesäurederivat	281			4	3
3	12,91	Neochlorogensäure	324	355		551	546
4	23,54	Chlorogensäurederivat I	326			58	58
5	24,79	Chlorogensäurederivat II	326			17	19
6	26,31	Chlorogensäure	325	355		371	367
7	34,93	Cya-3-gal	520	449	287	645	575
8	37,62	Cya-3-glc	520	449	287	61	54
9	38,35	Quer-3-vic	356	597	303, 465	22	18
10	39,70	Cya-3-ara	520	419	287	389	347
11	42,18	Quer-3-rob	354	611	303, 466	28	28
12	43,67	Quer-3-gal	354	465	303	33	34
13	44,69	Quer-3-rut	354	611	303, 468	53	51
14	46,09	Cya-3-xyl	520	419	287	65	59
15	46,37	Quer-3-glc	352	465	303	37	37
16	52,70	Myr-3-rut		625	317	3	6
17	57,47	Kämpferolderivat		625	287	7	n.n.

In Aronia kommen als Vertreter der Phenolcarbonsäuren Protocatechuesäure, Neochlorogensäure und Chlorogensäure vor, darüber hinaus wurden zwei Chlorogensäurederivate anhand von Spektren nachgewiesen, jedoch nicht genau identifiziert. Die sehr hohen Gehalte an Phenolcarbonsäuren resultieren insbesondere aus den hohen Konzentrationen an Neochlorogensäure (> 500 mg/L) und Chlorogensäure (> 350 mg/L). Sowohl im Saft als auch im Konzentrat unterliegen die Gehalte bei 4 °C nur geringen Schwankungen, bei 20 °C und 37 °C sind jedoch hohe Abnahmen zu verzeichnen. Ein breites Spektrum an Flavonolen charakterisiert weiterhin das Phenolprofil der Aroniabeere. Neben den Quercetinderivaten Quercetin-3-galactosid, Quercetin-3-rutinosid und Quercetin-3-glucosid wurden auch die von Slimestad et al. [2005] erstmals in Aronia identifizierten Flavonole Quercetin-3-vicianosid und Quercetin-3-robinobiosid nachgewiesen (Abb. 47). In geringen Konzentrationen lagen ein Myricetinderivat sowie ein Kämpferolderivat vor. Die Gehalte waren bei 4 °C relativ stabil und nahmen mit zunehmender Lagertemperatur deutlich ab. Wie in der schwarzen Johannisbeere wurden auch in Aroniasaft und Aroniakonzentrat keine Flavan-3-ole nachgewiesen.



Name	R
Quercetin-3-vicianosid	6´´-*O*-β-arabinosyl-β-glucosid
Quercetin-3-robinobiosid	6´´-α-rhamnosyl-β-galactosid

Abb. 47: Grundstruktur von Quercetin-3-vicianosid und Quercetin-3-robinobiosid [Slimestad et al. 2005]

Tab. 21: Gehalte an Phenolcarbonsäuren, Flavonolen und Anthocyanen in Aroniasaft und Aroniakonzentrat, Nullproben und nach einem Jahr Lagerung. Die Werte beziehen sich auf 15,77 °Brix.

	Temp. / Lagerdauer	Σ Phenolcarbon-säuren	Σ Flavonole	Σ farblose Phenole	Σ Anthocyane
Aroniasaft	**0-Probe**	1029	194	1223	1160
	4 °C / 12 Mon	943	175	1118	873
	20 °C / 12 Mon	886	116	1002	108
	37 °C / 12 Mon	535	77	612	0
Aroniakonzentrat ber. auf 15,77 °Brix	**0-Probe**	1022	174	1196	1035
	4 °C / 11 Mon	1009	170	1179	889
	20 °C / 11 Mon	783	143	926	26
	37 °C / 11 Mon	220	9	229	0

Als Vertreter der Anthocyane wurden die vier Cyanidinderivate Cyanidin-3-galactosid, Cyanidin-3-arabinosid, Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-xylosid quantitativ bestimmt. Weiterhin wurde eine Größenausschlusschromatographie mittels Toyopearl Material durchgeführt, nach der weitere Anthocyanpeaks von den bisher bekannten besser getrennt und nach LC-MS-Analyse identifiziert wurden (Tab. 22). Diese bisher nicht in Aroniasaft identifizierten Peaks wurden nicht quantifiziert (n.q.) (Abb. 48 bis Abb. 52).

Tab. 22: Nach Größenausschlusschromatographie mittels LC-MS-Analyse nachgewiesene Peaks. Die Messung erfolgte auf einer Reprosil Säule.

Fraktion (EtOH : Wasser)	Retentionszeit [min]	λ_{max}	Molekülion m/z	Fragmente m/z	Substanz
A (30:70)	11,35	514	611	449, 287	Cya-3-hexosid + Hexose
	12,34	515	595	449	Cya-3-hexosid + Pentose
	12,85	506	449	287	Cya-3-gal
	13,83	504	449	287	Cya-3-glc
	15,46	515	419	287	Cya-3-ara
	18,20	514	419	287	Cya-3-xyl
B (60:40)	8,95	523	737	575, 557, 423, 329, 287	nicht identifiziert
	10,61	522	707	575, 557, 423, 329, 287	nicht identifiziert
	21,10	519	287	-	Cya-3- Aglykon
C (96:4)	12,98	516	995	863, 707, 575	nicht identifiziert

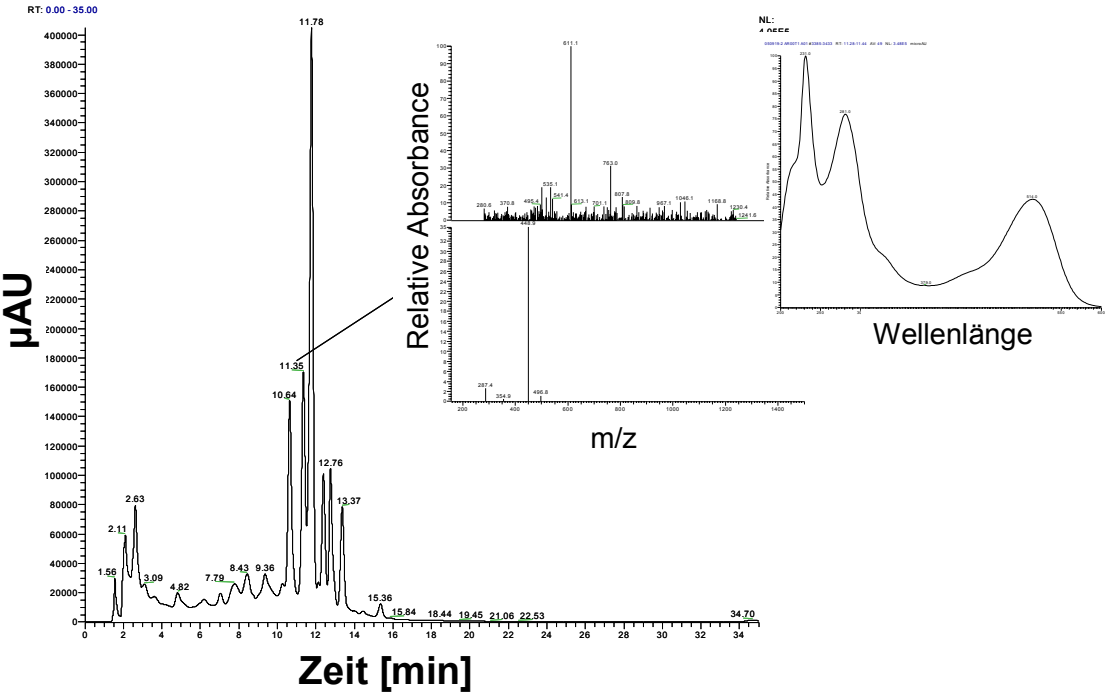


Abb. 48: Toyopearl Fraktion A, Peak 11,35 mit MS-MS²-Spektrum und DAD-Spektrum, vgl. Tab. 22.

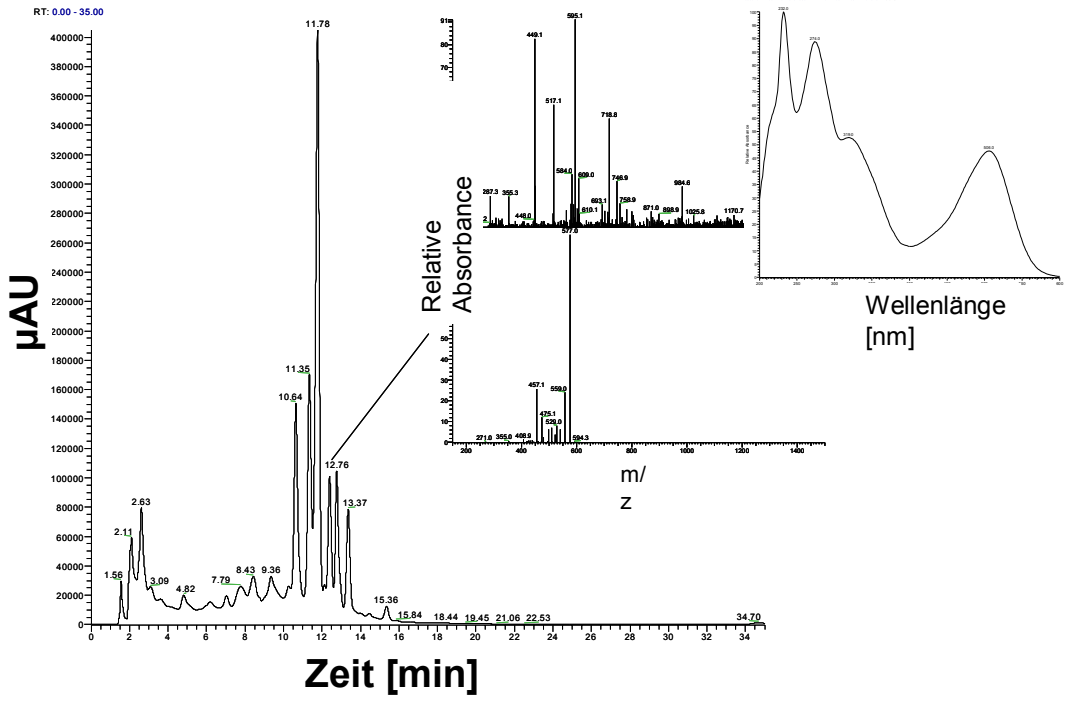


Abb. 49: Toyopearl Fraktion A, Peak 12,76 mit MS-MS²-Spektrum und DAD-Spektrum, vgl. Tab. 22.

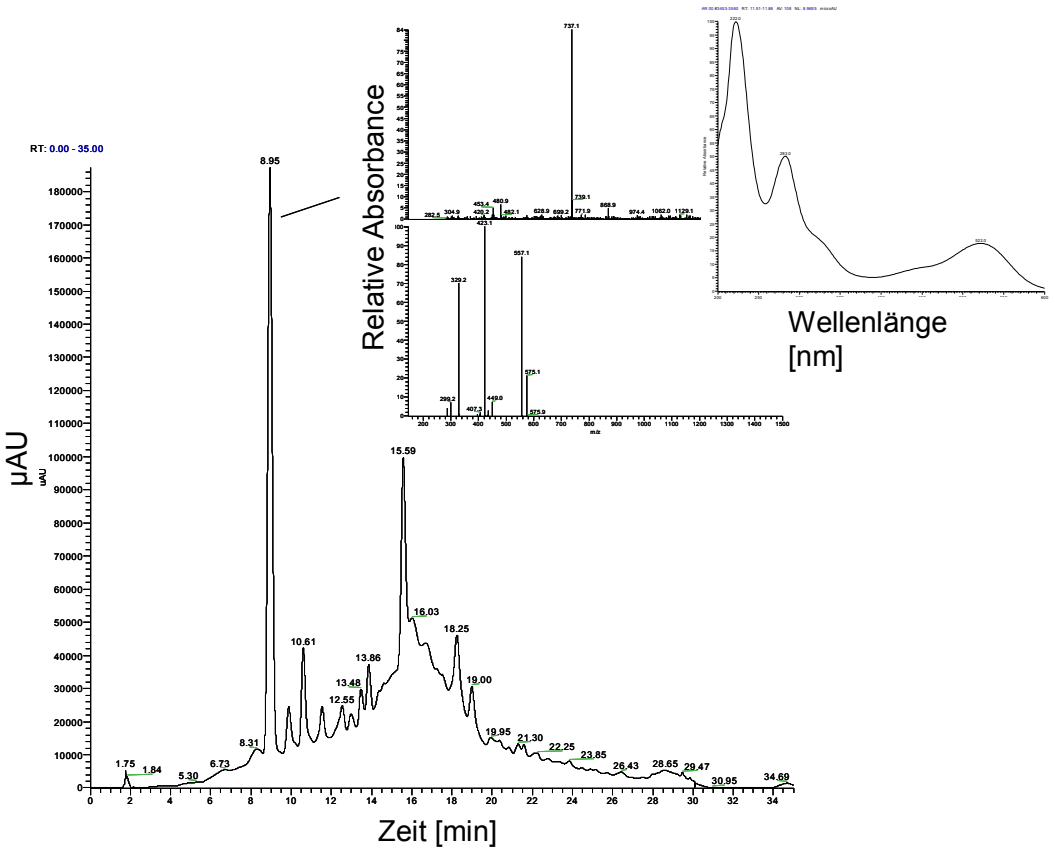


Abb. 50: Toyopearl Fraktion B, Peak 8,95 mit MS-MS²-Spektrum und DAD-Spektrum, vgl. Tab. 22.

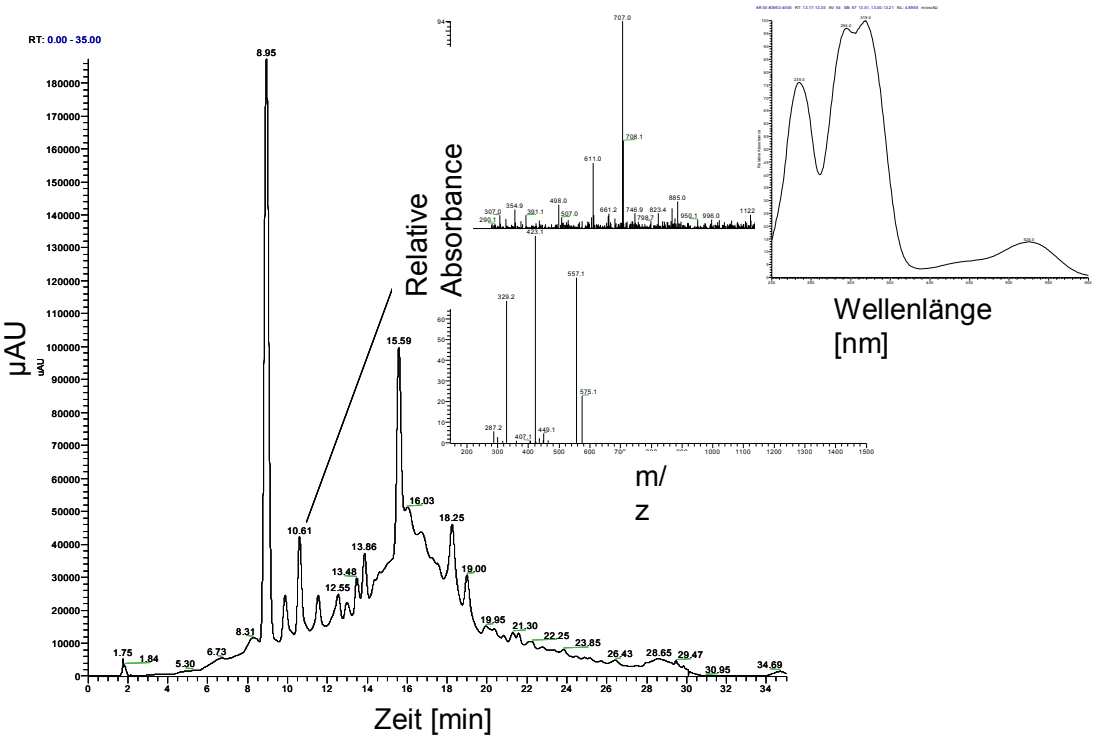


Abb. 51: Toyopearl Fraktion B, Peak 10,65 mit MS-MS²-Spektrum und DAD-Spektrum, vgl. Tab. 22.

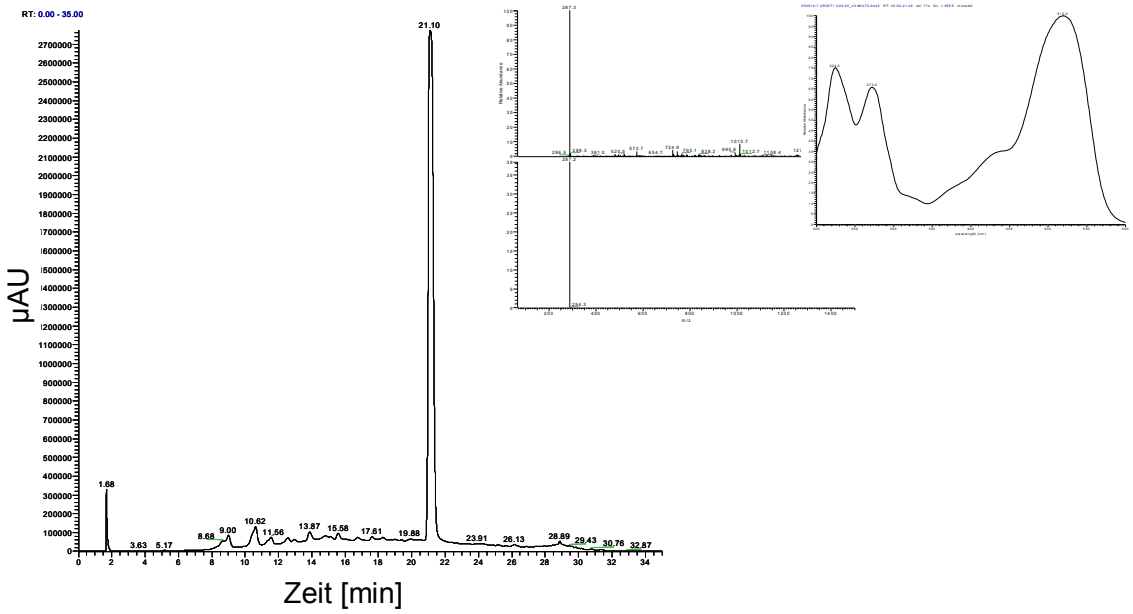


Abb. 52: Toyopearl Fraktion C, Peak 21,10 mit MS-MS²-Spektrum und DAD-Spektrum, vgl. Tab. 22.

Neben den bereits bekannten Cyanidinderivaten konnten fünf weitere Peaks in den Chromatogrammen detektiert werden. Trotz guter Massenspektren ist eine vollständige Identifizierung jedoch nicht möglich. In den ersten beiden Fällen handelt es sich möglicherweise um Cyanidindiglucosid bzw. Cyanidinglucosid, welches mit einer Pentose verknüpft ist. Die beiden Peaks, die in Fraktion B eluieren, weisen die gleichen Fragmente 575, 557, 423, 329 und 287 auf. Das Fragment 287 deutet auf ein Cyanidinderivat hin. Die Differenzen von 162 bzw. 132 zu den Molekülionen 737 und 707 könnten von einer Abspaltung eines Zuckerrestes (Hexose bzw. Pentose) stammen. Das DAD-Spektrum des Peaks 707 deutet darüber hinaus eher auf eine coumaroylierte Verbindung aufgrund des Absorptionsmaximums bei 320 nm. In Fraktion C eluierte eine einzelne Komponente bei einer Retentionszeit von 21,10 Minuten. Das DAD-Spektrum weist eindeutig auf ein Anthocyan, als Massenpeak konnte ausschließlich die Masse von 287 detektiert werden. Eine weitere Fragmentierung war nicht möglich. Ob es sich hier möglicherweise um das Cyanidinaglykon handelt, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht vollständig geklärt werden.

Wie bei den zuvor beschriebenen Früchten nahm auch bei Aroniasaft und Aroniasaftkonzentrat die Konzentration der Anthocyane in Abhängigkeit von der Lagertemperatur ab. Beim Vergleich von Saft und Konzentrat (ber. auf 15,88 °Brix) lässt sich feststellen, dass die Ausgangskonzentrationen der Phenole im gleichen Bereich liegen, der Konzentrierprozess scheint hier keinen signifikanten Einfluss auf den Anthocyangehalt zu haben. Die Abnahme der Anthocyane verläuft im Konzentrat bei 20 °C schneller, bei 4 °C allerdings langsamer. Möglicherweise spielen hier Viskositätseffekte eine Rolle, die sich bei niedriger Temperatur stabilisierend auf die Anthocyane auswirken. Abb. 53 zeigt die Abnahme des Gesamtgehaltes der Anthocyane (HPLC) [mg/L Cya-3-glc] von Aroniasaft in Abhängigkeit von Lagerdauer und Temperatur. Für die Quantifizierung wurden die Hauptanthocyane Cya-3-gal, Cya-3-glc, Cya-3-ara und Cya-3-xyl berücksichtigt.

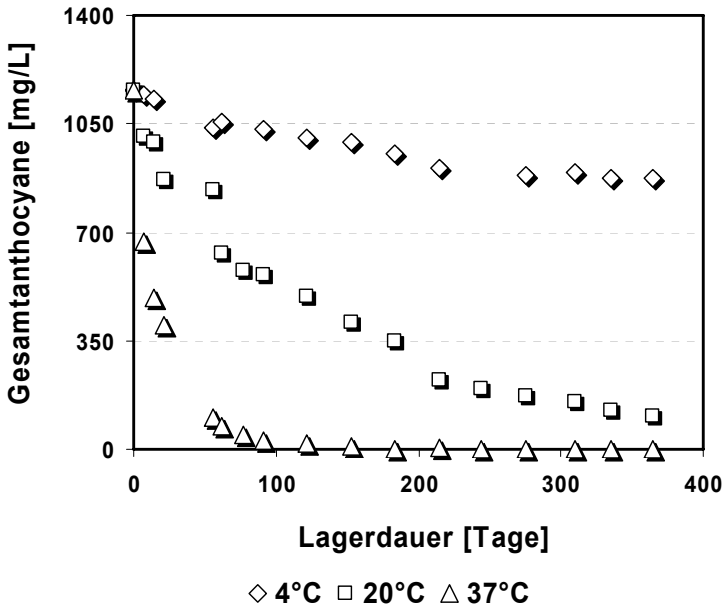


Abb. 53: Gesamtgehalt der Anthocyane (HPLC, ber. als Cya-3-glc) in Aroniasaft über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

In der Nullprobe beträgt der Gesamtanthocyangehalt (HPLC) 1160 mg/L. Mengenmäßig stellen Cyanidin-3-galactosid (645 mg/L) und Cyanidin-3-arabinosid (389 mg/L) die Hauptanthocyane dar, gefolgt von Cyanidin-3-arabinosid (61 mg/L) und Cyanidin-3-xylosid (65 mg/L). Während der Gesamtanthocyangehalt bei 4 °C nach einem Jahr Lagerung noch bei 873 mg/L liegt, sinkt die Konzentration bei 20 °C innerhalb eines Jahres auf 108 mg/L. Dies entspricht einem Verlust von 25 % (4 °C) bzw. 90 % (20 °C). Eine signifikante Abnahme auf 29 mg/L (Verlust von 97 %) innerhalb der ersten drei Monate ist bei 37 °C zu beobachten. Nach sechs Monaten sind Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-xylosid als solche nicht mehr eindeutig nachweisbar. Cyanidin-3-arabinosid liegt unterhalb der Bestimmungsgrenze von < 2 mg/L, das Hauptanthocyan Cyanidin-3-galactosid ist in einer Konzentration von 3 mg/L noch nachweisbar. Nach zwölf Monaten Lagerung bei 37 °C sind keine Anthocyane mehr als solche zu identifizieren. Die relativen Konzentrationen von Cyanidin-3-galactosid : Cyanidin-3-glucosid : Cyanidin-3-arabinosid : Cyanidin-3-xylosid von ca. 55 : 4 : 33 : 5 bleiben während der Lagerung bei 4 °C relativ konstant, gegen Ende der 20 °C Lagerung und vor allem bei 37 °C verschieben sich die Verhältnisse im Laufe der Lagerung zu Gunsten von Cyanidin-3-galactosid. Die Abnahme der einzelnen Anthocyane [mg/L] ist in Tab. 23 dargestellt.

Tab. 23: Konzentrationen einzelner Anthocyane [mg/L, ber. als Cyanidin-3-glucosid] in Aroniasaft während der Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. n.n.: nicht nachweisbar

		Anthocyangehalte [mg/L]								
		3 Monate Lagerung			6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
	Nullprobe	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C
Cya-3-gal	**645**	577	320	19	534	202	3	495	61	n.n.
Cya-3-glc	**61**	55	32	3	51	22	n.n.	42	10	n.n.
Cya-3-ara	**389**	343	177	7	315	104	< 2	290	28	n.n.
Cya-3-xyl	**65**	58	32	< 2	54	21	n.n.	46	9	n.n.
Gesamt	**1160**	1033	561	29	953	348	< 3	873	108	n.n.

In Abb. 54 ist der Verlauf des Gesamtanthocyangehaltes (HPLC) in Aroniasaftkonzentrat über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C zu sehen. Auch hier wurden für die Berechnung Cyanidin-3-galactosid, Cyanidin-3-glucosid, Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-xylosid berücksichtigt. Die Werte beziehen sich auf 15,77 °Brix.

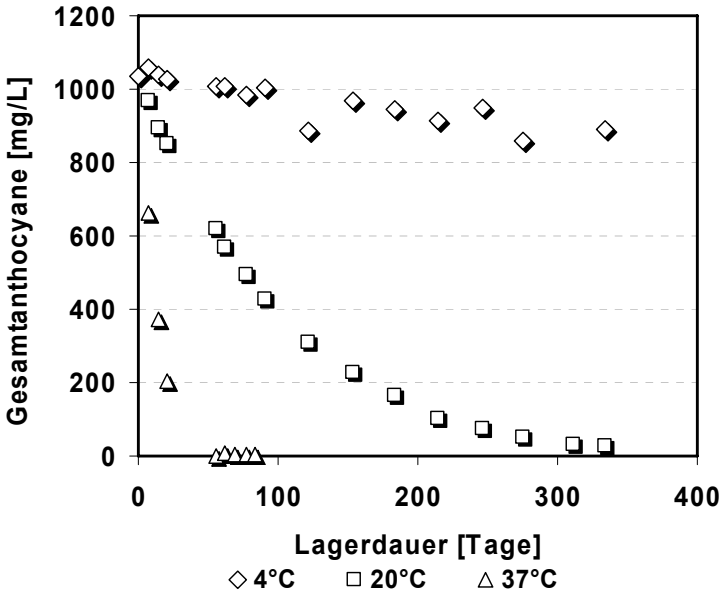


Abb. 54: Gesamtgehalt der Anthocyane (HPLC, ber. als Cya-3-glc) in Aroniasaftkonzentrat über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die Werte beziehen sich auf 15,77 °Brix.

Ergänzend zu Abb. 54 sind in Tab. 24: die Abnahmen der Konzentrationen der einzelnen Anthocyane dargestellt.

Tab. 24: Konzentrationen einzelner Anthocyane [mg/L, ber. als Cyanidin-3-glucosid] in Aroniasaftkonzentrat während der Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die Werte beziehen sich auf 15,77 °Brix. n.n.: nicht nachweisbar.

		Anthocyangehalte [mg/L] ber. auf 15,77 °Brix								
		3 Monate Lagerung			6 Monate Lagerung			11 Monate Lagerung		
	Nullprobe	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C
Cya-3-gal	575	558	244	n.n.	527	94	n.n.	499	16	n.n.
Cya-3-glc	54	53	26	n.n.	50	10	n.n.	48	n.n.	n.n.
Cya-3-ara	347	335	131	n.n.	313	47	n.n.	292	10	n.n.
Cya-3-xyl	59	57	26	n.n.	54	12	n.n.	51	n.n.	n.n.
Gesamt	1035	1003	427	n.n.	944	163	n.n.	889	26	n.n.

Der Gesamtanthocyangehalt (HPLC) der Nullprobe des Aroniasaftkonzentrates beträgt 1035 mg/L. In höheren Konzentrationen sind Cyanidin-3-galactosid (575 mg/L) und Cyanidin-3-arabinosid (347 mg/L) enthalten, gefolgt von Cyanidin-3-glucosid (54 mg/L) und Cyanidin-3-xylosid (59 mg/L). Das Verhältnis der einzelnen Anthocyane zueinander liegt wie in Aroniasaft auch hier bei ca. 55 : 4 : 33 : 5. Auffällig ist die relativ hohe Stabilität der Anthocyane bei 4 °C. Der Verlust nach elf Monaten Lagerung von 1035 mg/L auf 889 mg/L beträgt 14 %. Hingegen ist die Abnahme bei 20 °C im Vergleich zu Aroniasaft deutlich größer. Bereits nach sechs

Monaten lag die Konzentration bei nur 163 mg/L, was einem Verlust von 84 % entspricht. In Aroniasaft betrug der Verlust von 1160 mg/L auf 348 mg/L zu diesem Zeitpunkt 70 %. Weiterhin konnten nach elf Monaten Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-xylosid nicht mehr als solche nachgewiesen werden. Besonders instabil ist das Konzentrat bei 37 °C. Es konnten bereits nach drei Monaten Lagerung keine Anthocyane mehr nachgewiesen werden.
In der Literatur wurde bereits von u.a. Kearsley und Rodriguez [1981] sowie Garzon [1998] der Einfluss der Wasseraktivität auf die Stabilität von Anthocyanen beschrieben. Möglicherweise könnte der niedrigere Wassergehalt bei gleichzeitig geringer Viskosität bei 4 °C von Bedeutung für die größere Stabilität im Vergleich zur 20 °C Lagerung sein.

4.2.6 KINETIK

Die Veränderung der Absolutgehalte der Anthocyane in Abhängigkeit von der Temperatur während der Lagerung deutet bereits auf deren unterschiedliche Stabilität hin. Anhand der kinetischen Daten Halbwertszeit $\tau_{1/2}$, Geschwindigkeitskonstante k und Aktivierungsenergie E_A lassen sich genauere Aussagen treffen. In Tab. 25: sind die Halbwertszeiten und Geschwindigkeitskonstanten für die einzelnen Lagertemperaturen dargestellt sowie die Aktivierungsenergien der Anthocyane. Um die Güte der Daten besser beurteilen zu können, ist darüber hinaus das Bestimmtheitsmaß angegeben. Die Basis für die Berechnung dieser Daten sind die mittels HPLC gemessenen Anthocyangehalte [mg/L ber. als Cyanidin-3-glucosid]. Für alle Temperaturen wurde eine Kinetik 1. Ordnung angenommen.

Tab. 25: Halbwertszeiten $\tau_{1/2}$, Geschwindigkeitskonstanten k und Aktivierungsenergien E_A der einzelnen Anthocyane in Aroniasaft. Weiterhin ist das Bestimmtheitsmaß der Berechnungen angegeben.

	4 °C			20 °C			37 °C			E_A
	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	k [Tage^{-1}]	k [Tage^{-1}]	R^2	[kJ/mol]
Cya-3-gal	919	0,0008	0,8776	96	0,0072	0,9876	13	0,0522	0,9945	92
Cya-3-glc	786	0,0009	0,6650	111	0,0063	0,9544	12	0,0558	0,9822	90
Cya-3-ara	809	0,0009	0,8880	83	0,0083	0,9881	11	0,0640	0,9931	93
Cya-3-xyl	806	0,0009	0,8260	98	0,0071	0,9715	11	0,0628	0,9858	93
Gesamt	920	0,0008	0,8802	94	0,0074	0,9884	13	0,0540	0,9954	92

Für die Halbwertszeiten ergeben sich deutliche Unterschiede in Abhängigkeit von der Temperatur. So sinkt die Anfangskonzentration bei 37 °C bereits nach 11-13 Tagen auf die Hälfte. Bei einer Lagerung bei 20 °C ist die Stabilität von Cyanidin-3-glucosid am größten, die Halbwertszeit liegt hier bei 111 Tagen und damit deutlich über denen der anderen Anthocyane. Die größte Halbwertszeit von 920 Tagen bei 4 °C konnte für die Gesamtanthocyane ermittelt werden. Ein Maß für die Güte der Berechnungen ist das Bestimmtheitsmaß. Wie für rote Traubensäfte bereits beobachtet werden konnte, ist die Näherung einer Reaktion 1. Ordnung für die Lagertemperatur von 4 °C am schlechtesten. Das Bestimmtheitsmaß ist für alle Anthocyane sehr niedrig, insbesondere jedoch für Cyanidin-3-glucosid. Bei dieser Näherung können geringfügige Änderungen der Datenpunkte große Schwankungen der Halbwertszeit verursachen. Diese sollte zumindest für 4 °C daher kritisch beurteilt werden.

Die aus den Halbwertszeiten berechneten Geschwindigkeitskonstanten liegen für 4 °C für alle Anthocyane zwischen 0,0008 $Tage^{-1}$ und 0,0009 $Tage^{-1}$. Mit der Lagertemperatur nimmt das Reaktionsvermögen der Anthocyane zu und somit auch die Geschwindigkeitskonstante. Etwa eine Zehnerpotenz höher als bei 4 °C sind die Geschwindigkeitskonstanten der 20 °C Lagerung (0,0063 bis 0,0083) und eine weitere Zehnerpotenz höher sind die der 37 °C Lagerung (0,0522 $Tage^{-1}$ bis 0,0640 $Tage^{-1}$).
Durch Auftragung der reziproken Temperatur [K^{-1}] gegen den natürlichen Logarithmus der Geschwindigkeitskonstanten lässt sich über die Arrhenius Beziehung die Aktivierungsenergie E_A berechnen. Für alle in Aroniasaft enthaltenen Anthocyane ergeben sich Aktivierungsenergien zwischen 90 kJ/mol und 93 kJ/mol.
Die berechneten Halbwertszeiten, Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsenergien einzelner Anthocyane in Aroniasaftkonzentrat sind in Tab. 26 dargestellt.

Tab. 26: Halbwertszeiten $\tau_{1/2}$, Geschwindigkeitskonstanten k und Aktivierungsenergien E_A der einzelnen Anthocyane in Aroniasaftkonzentrat. Weiterhin ist das Bestimmtheitsmaß der Berechnungen angegeben.

	4 °C			20 °C			37 °C			E_A
	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage-1]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage-1]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage-1]	R^2	[kJ/mol]
Cya-3-gal	1390	0,0005	0,7429	71	0,0098	0,9964	10	0,0709	0,9972	107
Cya-3-glc	1386	0,0005	0,7482	88	0,0079	0,9986	10	0,0695	0,9996	107
Cya-3-ara	1158	0,0006	0,7807	64	0,0108	0,9969	9	0,0779	0,9995	105
Cya-3-xyl	1374	0,0005	0,7617	79	0,0087	0,9932	9	0,0792	0,9992	109
Gesamt	1389	0,0005	0,7583	69	0,0100	0,9972	9	0,0733	0,9993	108

Auffällig sind die sehr hohen Halbwertszeiten zwischen 1158 Tagen (Cyanidin-3-arabinosid) und 1390 Tagen (Cyanidin-3-galactosid) der 4 °C Lagerung für alle Anthocyane. Sie liegen deutlich über denen des Aroniasaftes (726-920 Tage). Obwohl auch das Bestimmtheitsmaß nicht besonders hoch ist, sind die Näherungen einer Reaktion 1. Ordnung im Vergleich zu Aroniasaft besser. Beispielsweise liegt die Halbwertszeit von Cyanidin-3-glucosid im Bereich der anderen Anthocyane, die niedrigste Halbwertszeit (1158 Tage) wurde für Cyanidin-3-arabinosid ermittelt. Deutlich niedrigere Halbwertszeiten (64-88 Tage) sind bei der 20 °C Lagerung zu beobachten, auch im Vergleich zu Aroniasaft. Die Halbwertszeiten von 9-10 Tagen der 37 °C Lagerung sind nur unwesentlich niedriger als die im Saft gemessenen. Das hohe Bestimmtheitsmaß deutet auf die sehr gute Übereinstimmung als Reaktion 1. Ordnung. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass aufgrund der sehr schnellen Abnahme der Anthocyane bei dieser Temperatur nur wenige Punkte bei der Berechnung berücksichtigt werden konnten.
Die Aktivierungsenergien E_A sind für die Anthocyane in Aroniasaftkonzentrat (105-109 kJ/mol) höher als in Aroniasaft (90-93 kJ/mol). Dies ist vermutlich auf die wesentlich höhere Halbwertszeit bei 4 °C zurückzuführen, deren Einfluss in der Berechnung scheinbar höher ist als die niedrigere Halbwertszeit bei 20 °C. Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass bei einer Lagertemperatur von 4 °C das Konzentrat im Vergleich zum Saft stabiler ist, bei höheren Lagertemperaturen hingegen ist es genau umgekehrt.

4.3 SCHWARZE JOHANNISBEERE: MUTTERSAFT, VORKONZENTRAT UND SAFTKONZENTRAT

Im Februar 2004 wurde aus tiefgefrorenen schwarzen Johannisbeeren Muttersaft, Vorkonzentrat sowie Saftkonzentrat im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim hergestellt und bei 4 °C, 20 °C und 37 °C unter Lichtausschluss gelagert. Nach zwölf Monaten Lagerung wurden die zu bestimmten Zeitpunkten gezogenen Proben auf die folgenden Saftparameter untersucht. Die dargestellten Ergebnisse und Daten für Vorkonzentrat und Saftkonzentrat beziehen sich, soweit nicht anders angegeben, auf die °Brix der Nullprobe des Muttersaftes (12,8 °Brix). Das Vorkonzentrat wurde nach Entaromatisierung des Muttersaftes gewonnen und weist 16,72 °Brix auf. Durch Kletterfilmverdampfung wurde im folgenden Konzentrierungsprozess das Saftkonzentrat (63,64 °Brix) hergestellt. Sowohl Muttersaft als auch Vorkonzentrat wurden vor der Lagerung pasteurisiert.
Die Lagerung des Saftkonzentrates bei 37 °C wurde aufgrund der bereits zu diesem Zeitpunkt vorliegenden Ergebnisse der anderen Untersuchungen auf drei Monate beschränkt.

4.3.1 PRIMÄRE SAFTPARAMETER

Die über ein Jahr gelagerten Muttersäfte wurden nach sechs und zwölf Monaten hinsichtlich der primären Saftparameter untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 27 dargestellt.
Die Werte für Dichte (1,0517), °Brix (12,82 °Brix), Gesamtextrakt (133,39 g/L) und Gesamtsäure (29,6 g/L, ber. Citronensäure) liegen innerhalb der vorgegebenen Richtlinien- und Schwankungsbreiten (RSK-Werte). Unterhalb des darin angegebenen Grenzwertes (max. 30 mg/L) wurde ein Natriumgehalt von 12 mg/L gemessen. Aufgrund ihres hohen Gesamtsäuregehaltes werden schwarze Johannisbeersäfte nicht direkt, sondern als Nektar verzehrt.
Nahezu unverändert über die gesamte Lagerung blieben die Werte für Gesamtextrakt (128,8-133,39 g/L), Glucose (30,6-32,2 g/L), Fructose (40,2-45,3 g/L), *L*-Milchsäure (0,08-0,14 g/L), Gesamtsäure (ber. als Citronensäure 28,7-29,6 g/L), Calcium (238-290 mg/L), Kalium (2028-2150 mg/L) und Magnesium (77-90 mg/L). Kupfer (0,1 mg/L) und Zink (1,1-1,5 mg/L) sind nur in sehr geringen Mengen vorhanden. Während der Lagerung ist eine Abnahme der Leitfähigkeit von 4340 auf 4060 µS/cm, der Brix (von 12,82 auf 12,03 °Brix (12 Monate 37 °C)) und des pH-Wertes von 2,73 auf 2,56 (37 °C) zu verzeichnen. Die in Säften stets beobachtete Abnahme der Ascorbinsäure ist auch für Muttersaft der schwarzen Johannisbeere festzustellen. In Abhängigkeit von der Temperatur beträgt innerhalb eines Jahres der Verlust bis zu 80 % (von 595 mg/L auf 116 mg/L bei 37 °C).

Tab. 27: Primäre Saftparameter von schwarzem Johannisbeermuttersaft. Dargestellt sind die Werte für die Nullprobe sowie die Daten für die Lagerung nach 6 und 12 Monaten bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. n.n.: nicht nachweisbar.

			6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
Parameter	**Einheit**	**Nullprobe**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
Leitfähigkeit	**µS/cm**	4340	4450	4410	4390	4060	4070	4070
Dichte	**20/20**	1,0517	1,0496	1,0505	1,0505	1,0506	1,0505	1,0504
Brix	**° Brix**	12,82	12,5	12,35	12,11	12,66	12,46	12,03
Gesamtextrakt	**g/L**	133,39	128,8	131,1	131,11	131,4	131,1	130,8
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	60,5	52,0	56,8	56,7	60,4	60,0	60,0
Glucose	**g/L**	31,0	32,2	31,5	32,0	30,6	30,6	30,6
Fructose	**g/L**	41,9	45,3	44,4	43,3	40,4	40,5	40,2
pH- Wert		2,73	2,67	2,65	2,63	2,60	2,56	2,56
Gesamtsäure pH 7,0 ber. Weinsäure	**g/L**	33,4	32,7	32,6	32,8	31,6	31,9	31,7
Gesamtsäure pH 8,1 ber. Citronensäure	**g/L**	29,6	28,7	28,9	28,7	28,8	28,9	28,8
Gesamtsäure pH 8,1 ber. Äpfelsäure	**g/L**	30,9	30,0	30,2	30,0	30,1	30,2	30,1
flüchtige Säure	**g/L**	0,7	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2
Citronensäure	**g/L**	28,8	29,6	29,5	28,7			
***l*-Äpfelsäure**	**g/L**	2,27	1,80	1,80	1,70	2,11	2,06	2,07
***l*-Milchsäure**	**g/L**	n.n.	0,18	0,13	0,10	0,21	0,12	0,11
Ascorbinsäure	**mg/L**	595	578	536	281	276	215	116
Ethanol	**g/L**	0,21	n.n.	n.n.	n.n.	0,11	0,09	0,07
Calcium	**mg/L**	238	240	250	290	242	242	246
Kalium	**mg/L**	2047	2028	2061	2087	2150	2137	2147
Magnesium	**mg/L**	83	90	77	92	86	84	83
Kupfer	**mg/L**	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Eisen	**mg/L**	5,5	5,1	5,6	6,2	5,4	5,1	5,2
Zink	**mg/L**	1,3	1,1	1,1	1,1	1,3	1,5	1,4
Natrium	**mg/L**	12	6	5	5	12	11	11

Die primären Saftparameter des Johannisbeervorkonzentrates und des Johannisbeerkonzentrates wurden für die Nullproben bestimmt. Sie sind in Tab. 28 ersichtlich.

Tab. 28: Primäre Saftparameter von schwarzem Johannisbeervorkonzentrat und Johannisbeerkonzentrat. Dargestellt sind die Werte für die Nullproben. n.n.: nicht nachweisbar.

Parameter	Einheit	Vorkonzentrat Nullprobe	Konzentrat Nullprobe
Leitfähigkeit	**µS/cm**	5050	1667
Dichte	**20/20**	1,0698	1,3145
Brix	**° Brix**	16,72	63,64
Gesamtextrakt	**g/L**	181,6	661
zuckerfreier Extrakt	**g/L**	80,9	263
Glucose	**g/L**	42,8	150
Fructose	**g/L**	57,9	248
pH- Wert		2,60	2,67
Gesamtsäure pH 7,0 ber. Weinsäure	**g/L**	45,36	162
Gesamtsäure pH 8,1 ber. Citronensäure	**g/L**	39,89	143
Gesamtsäure pH 8,1 ber. Äpfelsäure	**g/L**	41,7	149
flüchtige Säure	**g/L**	0,16	2
Citronensäure	**g/L**	38,3	170
***L* -Äpfelsäure**	**g/L**	2,67	9
***L* -Milchsäure**	**g/L**	0,13	1
Ascorbinsäure	**mg/L**	833	3430
Ethanol	**g/L**	0,15	n.n.
Calcium	**mg/L**	570	1218
Kalium	**mg/L**	2922	13438
Magnesium	**mg/L**	123	461
Kupfer	**mg/L**	n.n.	1
Eisen	**mg/L**	7,6	29
Zink	**mg/L**	1,7	6
Natrium	**mg/L**	26	58

Generell zeichnen sich Saft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere insbesondere durch relativ hohe Gesamtsäure- (32,6 g/L - 34,7 g/L), Ascorbinsäure- (595 mg/L - 690 mg/L) und Mineralstoffgehalte aus. Vor allem Calcium, Kalium, Magnesium und Eisen sind nennenswert.

4.3.2 GESAMTPHENOLE (FOLIN) UND ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT (TEAC)

Für schwarzen Johannisbeermuttersaft, Johannisbeervorkonzentrat und Johannisbeerkonzentrat wurden die Gesamtphenolgehalte (Folin) und antioxidative Kapazität (TEAC) während der Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C gemessen. Der Verlauf innerhalb eines Jahres ist in Abb. 55 am Beispiel des schwarzen Johannisbeermuttersaftes dargestellt, für Vorkonzentrat und Konzentrat sind die Werte in Tab. 29 zusammengefasst.

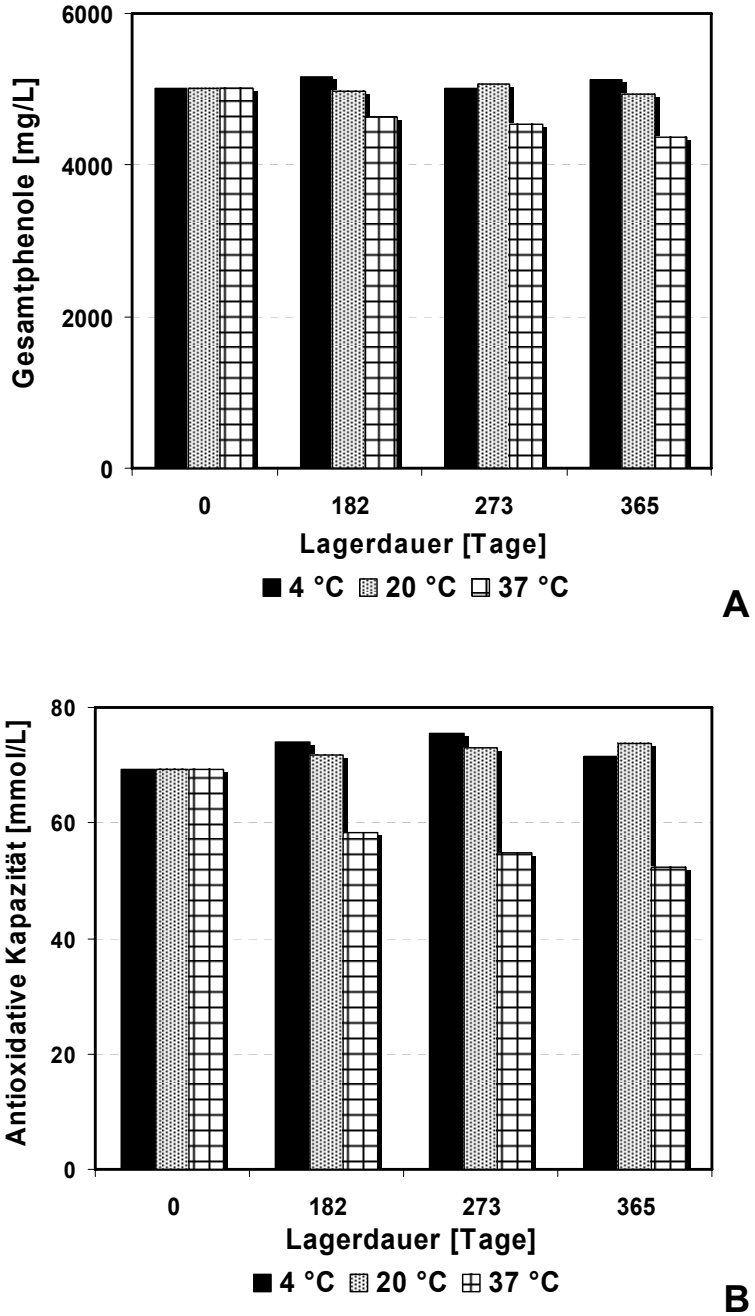


Abb. 55: Gesamtphenole (A, Folin, ber. als wasserfreies Catechin) und antioxidative Kapazität (B, TEAC, ber. als Troloxäquivalente) von schwarzem Johannisbeermuttersaft über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

Tab. 29: Gesamtphenole (A, Folin, ber. als wasserfreies Catechin) und antioxidative Kapazität (B, TEAC, ber. als Troloxäquivalente) von schwarzem Johannisbeermuttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat nach sechs und zwölf Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die angegebenen Werte wurden entsprechend der Saftstärke auf 12,8 °Brix berechnet. Eine abweichende Lagerdauer ist in Klammern angegeben.

Lagerdauer	Temperatur	Gesamtphenole (Folin) [mg/L Catechin]			Antioxidative Kapazität (TEAC) [mmol/L Trolox]		
		Saft	Vorkonzentrat	Konzentrat	Saft	Vorkonzentrat	Konzentrat
0 Monate		5011	6087	5177	69	66	62
6 Monate	**4 °C**	5158	6340	5053	74	62	56
6 Monate	**20 °C**	4972	6082	5146	72	61	52
6 Monate	**37 °C**	4633	5465	4523 (3)	58	50	51 (3)
12 Monate	**4 °C**	5133	6222	4811	72	62	58
12 Monate	**20 °C**	4927	5406	4199	74	57	49
12 Monate	**37 °C**	4374	5119	n.b.	52	41	n.b.

Die Gesamtphenolgehalte (5011-6087 mg/L Catechin) sowie die antioxidative Kapazität (62-69 mmol/L Troloxäquivalente) der Nullproben liegen im Bereich der von Aronia (6168 mg/L (Saft) bzw. 6144 mg/L Catechin (Konzentrat), 66 mmol/L-72 mmol/L Troloxäquivalente). Beide Fruchtarten gelten als sehr phenolreich und vor allem anthocyanhaltig [Kähkönen et al. 2003, Ara 2002], was dieses Ergebnis verdeutlicht. Bei dem Vergleich der Nullproben des schwarzen Johannisbeersaftes, -vorkonzentrats und -konzentrats fällt auf, dass das Vorkonzentrat die höchsten Gesamtphenolgehalte (Folin) hat. Bonerz [2007] konnte dies auch für Erdbeerprodukte nachweisen. Ein Grund hierfür könnte das Herauslösen von an Trubstoffen gebundenen phenolischen Substanzen durch die Vorkonzentrierung sein. Wie bei Aroniasaft und Aroniasaftkonzentrat für die Gesamtphenolgehalte und die antioxidative Kapazität bereits zu erkennen war, unterliegen die Werte auch für die schwarzen Johannisbeerprodukte bei 4 °C und 20 °C nur geringfügigen Schwankungen. Eine deutliche Abnahme ist wiederum für die 37 °C Lagerung zu beobachten.

4.3.3 FARBE

Die Farbe von frisch hergestelltem schwarzem Johannisbeermuttersaft zeichnet sich durch ein brillantes, sehr farbintensives schwarzviolett aus. Wie bei anderen Buntsäften lässt jedoch auch bei dieser Fruchtart die Brillanz nach einigen Monaten Lagerdauer nach und die violette Färbung weicht je nach Lagertemperatur einem Braunton. Der charakteristische Verlauf der Spektren in Abb. 56 zeigt die schnelle Abnahme des Absorptionsmaximums bei 520 nm in Abhängigkeit von der Lagertemperatur. Die hohe Absorption ergibt sich unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und ist bezogen auf 1 cm Lichtweg. Auch hier kann darüber hinaus eine bathochrome Verschiebung zu höheren Wellenlängen beobachtet werden.

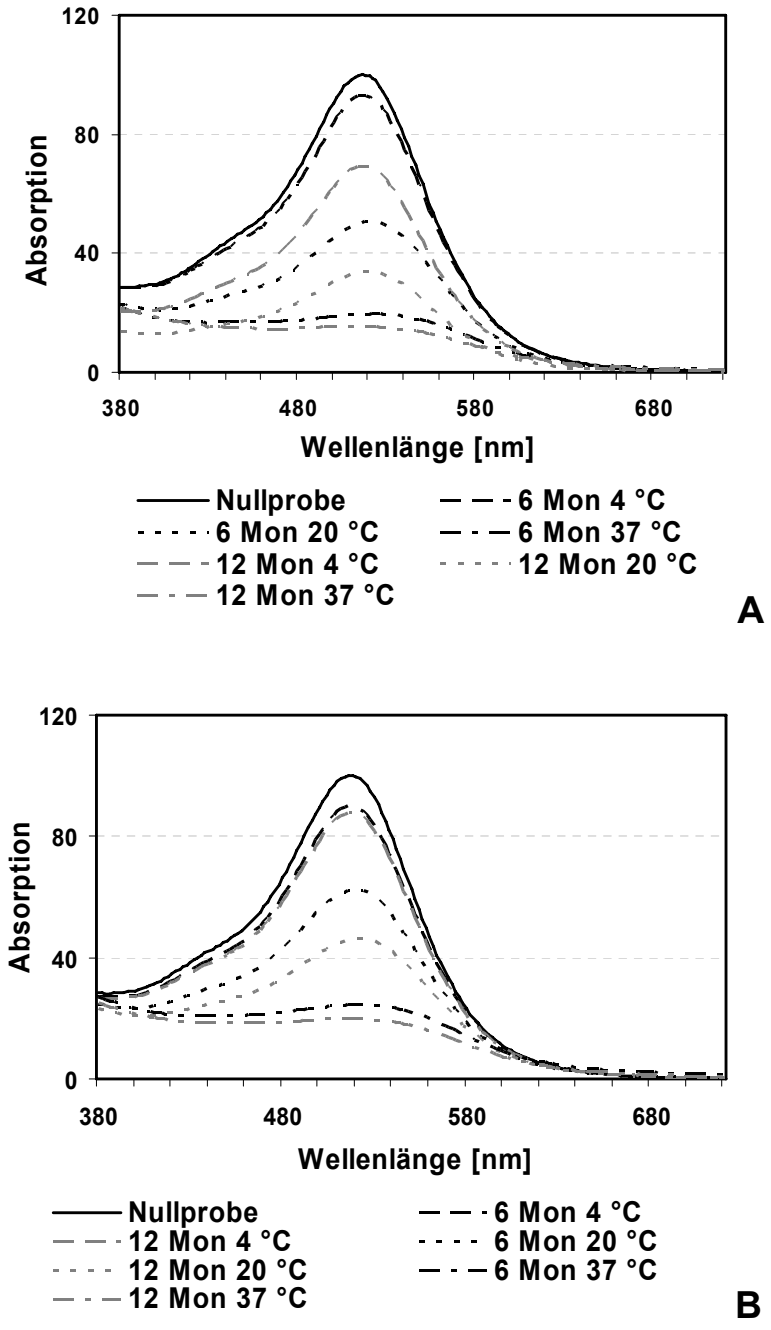


Abb. 56: Spektrenverlauf von schwarzem Johannisbeersaft (A) und schwarzem Johannisbeervorkonzentrat (B) während der Lagerung über ein Jahr.

CIELAB-Werte wurden aufgrund der sehr hohen Absorptionswerte für schwarzen Johannisbeermuttersaft nicht berechnet. Die Darstellung der Farbwerte in Tab. 30 ist daher auf die Absorption 420 nm, 520 nm und 620 nm sowie die Farbintensität FI beschränkt. Bereits anhand der Spektren lassen sich Tendenzen hinsichtlich der Farbstabilität erkennen. Die Abnahme der Absorption bei 520 nm beträgt bei einer Lagertemperatur von 4 °C innerhalb eines Jahres 31 % (von 99,58 auf 69,08). Im Vergleich zu Aroniasaft, wo unter gleichen Bedingungen eine Abnahme der Absorption um 25 % beobachtet wurde, ist die Stabilität etwas niedriger. Für die Farbintensität konnte im gleichen Zeitraum ebenfalls ein Verlust von 31 %

gemessen werden. Bei der 20 °C Lagerung kommt es im gleichen Zeitraum erwartungsgemäß zu einer stärkeren Abnahme der Farbintensität (um 64 % von 140,93 auf 50,70).
Im Vergleich zum Muttersaft der schwarzen Johannisbeere lässt sich für das Vorkonzentrat eine größere Stabilität bei 4 °C beobachten (Abb. 56 und Tab. 30).
Auch nach einer Lagerdauer von zwölf Monaten beträgt die Absorption bei 520 nm noch 88 % des Ausgangswertes (von 99,76 auf 87,52). Bei 20 °C ist die Abnahme erwartungsgemäß höher, die Absorption ist hier nach einem Jahr Lagerung auf 47 % des Ausgangswertes gesunken. Die allgemeine Abnahme der Absorptionen 420 nm, 520 nm und 620 nm während der Lagerung resultiert in der deutlichen Abnahme der Farbintensität. Diese beträgt nach einem Jahr Lagerung für 4 °C 11 % (von 139,53 auf 124,06), für 20 °C 48 % (auf 72,57) und für 37 °C 70 %.
Ähnliche Werte wurden für das Konzentrat der schwarzen Johannisbeere gemessen (Tab. 30). Die Stabilität im Vergleich zum Muttersaft war auch hier bei der 4 °C Lagerung höher (Verlust von 10 % von 97,34 auf 87,14 bzw. von 137,94 auf 125,25), wohingegen die Abnahme von Absorption 520 nm und Farbintensität bei 20 °C größer war (um 70 % bzw. 59 %). Während Aroniasaft im Vergleich zum Konzentrat stabiler ist, nimmt für schwarze Johannisbeere mit zunehmender Konzentrierung die Stabilität zu. Bonerz [2007] konnte dieses Ergebnis auch für Sauerkirsche beobachten.
Die Lagerung von schwarzem Johannisbeerkonzentrat bei 37 °C wurde nach drei Monaten beendet. Es zeigte sich bereits in diesem kurzen Zeitraum eine Abnahme der Farbintensität auf 55,90, was 41 % des Ausgangswertes entspricht. Die Abnahme der Absorption bei 520 nm auf 25,01 hat dabei einen enormen Anteil (Daten nicht dargestellt).

Tab. 30: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm und Farbintensität FI von schwarzem Johannisbeermuttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat nach 6 und 12 Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 °C und 37 °C. Die Werte sind auf 1 cm Lichtweg bezogen.

		6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
	Nullprobe	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
Saft							
420 nm	**35,50**	34,15	22,45	16,83	24,68	14,15	16,20
520 nm	**99,58**	92,58	50,80	19,58	69,08	34,05	15,43
620 nm	**5,85**	5,70	4,43	4,33	3,88	2,50	3,73
FI $\Sigma_{420\ nm+520\ nm+620\ nm}$	**140,93**	132,43	77,68	40,73	97,63	50,70	35,35
Vorkonzentrat							
420 nm	**34,54**	32,23	25,63	21,18	31,62	21,84	19,39
520 nm	**99,76**	89,58	62,47	24,51	87,52	46,40	19,93
620 nm	**5,23**	5,02	4,58	5,70	4,92	4,32	4,47
FI $\Sigma_{420\ nm+520\ nm+620\ nm}$	**139,53**	126,83	92,68	51,39	124,06	72,57	43,79
Konzentrat							
420 nm	**34,88**	33,05	25,28	n.b.	32,63	21,37	n.b.
520 nm	**97,34**	89,66	54,58	n.b.	87,14	30,45	n.b.
620 nm	**5,72**	5,44	4,80	n.b.	5,48	4,88	n.b.
FI $\Sigma_{420\ nm+520\ nm+620\ nm}$	**137,94**	128,15	84,66	n.b.	125,25	56,70	n.b.

4.3.4 MONOMERINDEX

Wie bei roten Traubensäften und Aroniaprodukten bereits beobachtet werden konnte, kommt es auch bei schwarzer Johannisbeere für Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat zu einer temperaturabhängigen Abnahme des Monomerindex. Stellvertretend für die drei Produkte ist der Verlauf in Abb. 57 dargestellt, die Werte der Nullprobe sowie nach sechs und zwölf Monaten Lagerung wurden in Tab. 31 festgehalten.

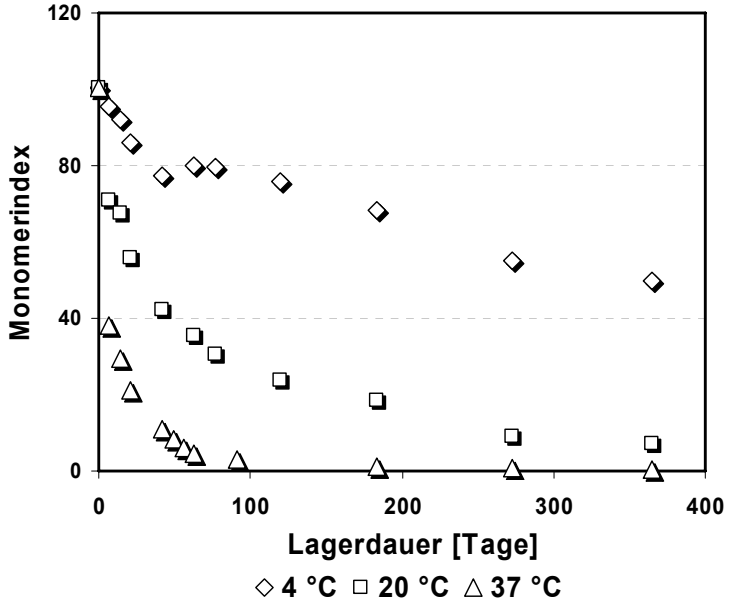


Abb. 57: Monomerindex des schwarzen Johannisbeermuttersaftes über ein Jahr Lagerung bei 4 °C, 20 °C sowie 37 °C.

Tab. 31: Monomerindex des schwarzen Johannisbeermuttersaftes, des Vorkonzentrates und Konzentrates. Nullprobe, nach sechs und zwölf Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 °C sowie 37 °C.

		6 Monate			12 Monate		
	Nullprobe	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**	**4 °C**	**20 °C**	**37 °C**
Saft	100	68	18	1	50	7	1
Vorkonzentrat	84	66	18	4	54	8	1
Konzentrat	114	49	10	1 (3)	42	2	n.b.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden für die Nullproben von Muttersaft (100), Vorkonzentrat (84) und Konzentrat (114) der schwarzen Johannisbeere die höchsten Monomerindices gemessen. Gerade diese Werte sind auffällig, da eigentlich eine Abnahme von Muttersaft zu Konzentrat zu erwarten wäre. Hingegen nimmt zwar der Monomerindex von Vorkonzentrat im Vergleich zum Saft ab, steigt aber dann wieder an. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die Messung von Vorkonzentrat und Konzentrat auf Saftstärke erfolgte. Der durch die Verdünnung entstehende Fehler wird bei der Berechnung somit multipliziert. Eine nicht ganz homogene Verteilung der Probe könnte eine Rolle spielen. Die Alterung hingegen ist im Konzentrat am schnellsten. Das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen nimmt sowohl bei 4 °C als auch bei 20 °C am schnellsten ab. Vergleichbar ist die Abnahme des Monomerindex bei diesen Temperaturen in Muttersaft und im Vorkonzentrat. Von allen

untersuchten Säften und Konzentraten weisen die schwarzen Johannisbeerprodukte nach einem Jahr Lagerung bei 4 °C mit 50, 54 und 42 noch die höchsten Monomerindices auf.

4.3.5 PHENOLPROFIL: FARBLOSE PHENOLE UND ANTHOCYANE

Die Identifizierung der phenolischen Komponenten in Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere erfolgte anhand von Literaturdaten [Froytlog et al. 1998, Slimestad und Solheim 2002, Nielsen et al. 2003, McDougall et al. 2005].

In Muttersaft, Vorkonzentrat (berechnet auf 12,8 °Brix) und Konzentrat (berechnet auf 12,8 °Brix) der schwarzen Johannisbeere konnten keine Flavan-3-ole nachgewiesen werden. Als Hauptvertreter der Phenolcarbonsäurenderivate wurden Caffeoylglucose, Neochlorogensäure, *p*-Coumarsäure und 3-*p*-Coumaroylchinasäure identifiziert. An Flavonolen wurde Quercetin-3-rutinosid, Quercetin-3-glucosid, Quercetin-3-rhamnosid sowie ein Myricetin- und Quercetinderivat nachgewiesen. Abb. 58 zeigt das Spektrum des schwarzen Johannisbeermuttersaftes zu Beginn der Lagerung bei 320 nm. Bei dieser Wellenlänge wurden die Phenolcarbonsäuren ausgewertet, die Anthocyane wurden normalerweise bei 520 nm bestimmt, da deren Absorptionsmaximum auch bei dieser Wellenlänge liegt. Zur besseren Erkennung der Peaks 11 bis 13 wurde ein Ausschnitt des Chromatogramms bei 520 nm eingefügt.

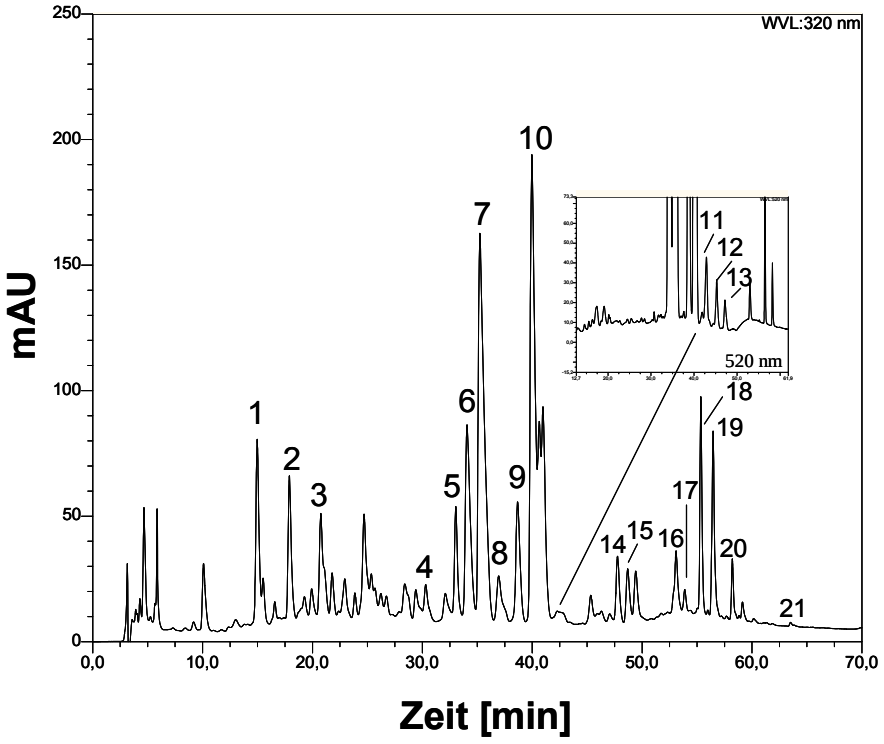


Abb. 58: Phenolprofil des schwarzen Johannisbeermuttersaftes (Nullprobe), gemessen auf einer fluorierten RP-18 Phase. Dargestellt ist das Chromatogramm bei 320 nm.

Tab. 32: Mittels UV-Vis und LC-MS-Detektion ermittelte Phenole in Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere (Nullprobe), Gehalte in mg/L, bezogen auf 12,8 °Brix. Sp.: Spuren.

Peak Nr.	t_R [min]	Substanz	λ_{max}	$[M]^+$ *m/z*	Fragment *m/z*	Gehalt [mg/L] (Nullprobe) Saft	Vorkonzentrat	Konzentrat
1	14,33	Caffeoylglucose	320			14	16	15
2	17,37	Neochlorogensäure	320	355		35	37	35
3	20,09	Coumaroylglucose	324			7	7	8
4	30,55	Anthocyan	520	627	481, 319	n.q.	n.q.	n.q.
5	32,70	3-*p* -Coumaroylchinasäure	326			26	28	27
6	33,76	Del-3-glc	525	465	303	485	438	510
7	35,00	Del-3-rut	525	611	465, 303	1143	1037	1201
8	37,42	Anthocyan	520	449	287	n.q.	n.q.	n.q.
9	38,27	Cya-3-glc	516	449	287	179	161	187
10	39,69	Cya-3-rut	516	595	449, 287	774	704	808
11	42,61	Pet-3-rut	529	625	479, 317	25	22	23
12	44,64	Pel-3-rut	507	579	433, 271	12	12	15
13	46,83	Peo-3-rut	519	609	463, 301	11	10	11
14	44,69	Quer-3-glc	356	465	303	17	19	24
15	46,09	Quer-3-rut	356	611	465, 303	16	19	15
16	56,18	Del-3-(6"-coumaroylglc)	534	611	317	21	19	21
17	57,91	Cya-3-(6"-coumaroylglc)	524	595	287	9	9	10
18	52,25	Myricetinderivat	368	567	319	15	15	15
19	53,41	Quer-3-rha	355	449	303	4	5	5
20	58,51	Quercetinderivat	356	551	303	4	5	4
21	62,90	Kämpferolderivat	358	595	449, 287	**Sp.**	**Sp.**	**Sp.**

Die Gehalte an Phenolcarbonsäuren und Flavan-3-olen vor und nach einem Jahr Lagerung sind in Tab. 33 dargestellt.

Tab. 33: Gehalte an Phenolcarbonsäuren, Flavan-3-olen und Anthocyanen in Saft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere (HPLC). Die Werte beziehen sich auf 12,8 °Brix.

	Temp. / Lagerdauer	Σ Phenolcarbonsäuren	Σ Flavonole	Σ farblose Phenole	Σ Anthocyane
Saft	**0-Probe**	82	56	138	2659
	4 °C / 12 Mon	85	47	132	2492
	20 °C / 12 Mon	62	60	122	563
	37 °C / 12 Mon	4	11	15	< 8
Vorkonzentrat ber. auf 12,8 °Brix	**0-Probe**	89	63	151	2411
	4 °C / 12 Mon	87	64	151	2105
	20 °C / 12 Mon	60	59	119	678
	37 °C / 12 Mon	10	26	36	< 8
Konzentrat ber. 12,8 °Brix	**0-Probe**	85	63	148	2786
	4 °C / 12 Mon	84	63	147	2020
	20 °C / 12 Mon	74	60	134	164
	37 °C (3 Mon)	27	21	49	< 8

Bereits für rote Traubensäfte konnte die gute Stabilität der Phenolcarbonsäurenderivate während der Lagerung bei 4 °C beobachtet werden. Bei der höheren Lagertemperatur von 20 °C lassen sich jedoch deutliche Abnahmen der Caffeoylglucose, Neochlorogensäure,

Coumaroylglucose und *p*-Coumarsäure verzeichnen. Die Gehalte an Flavonolen lagen in allen Proben bei etwa 60 mg/L und waren mit Ausnahme der 37 °C Lagerung stabil (Tab. 33). Mit Anfangskonzentrationen zwischen 2411 mg/L und 2786 mg/L (ber. als Cyanidin-3-glucosid) weist die schwarze Johannisbeere die höchsten Anthocyangehalte, gleichzeitig aber auch niedrigsten Gehalte an farblosen Phenolen (138-151 mg/L) innerhalb der im Rahmen dieses Projektes untersuchten Früchte auf.

Neben der quantitativen Bestimmung der Anthocyane mittels HPLC wurde nach Größenausschlusschromatographie mit Toyopearl Gelmaterial eine qualitative LC-MS Analytik durchgeführt. Weitere Peaks konnten so im Muttersaft der schwarzen Johannisbeere identifiziert werden. Es handelt sich dabei insbesondere um Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukte, die bisher vor allem bereits in Weinen [u.a. Remy et al. 2000, Alcalde-Eon et al. 2004, Monagas et al. 2006] identifiziert wurden. McDougall et al. [2005] wiesen darüber hinaus in frischen schwarzen Johannisbeeren zwei Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukte mit den Molekülionen m/z 899 und m/z 915 nach. Diese beiden Peaks eluieren im Chromatogramm noch vor den Hauptanthocyanen Delphinidin-3-rutinosid und Cyanidin-3-rutinosid und besitzen darüber hinaus ein UV-Vis-Spektrum mit einem bathochromen Shift. Durch Größenausschlusschromatographie ist es gelungen, diese und weitere Kondensationsprodukte in schwarzem Johannisbeermuttersaft anzureichern. Während die vier Hauptanthocyane in Fraktion A eluierten, konnten die Kondensationsprodukte in der unpolareren Fraktion B gemessen werden (Tab. 34). Peak 1 und 2 entsprechen den von McDougall et al. [2005] bereits identifizierten Kondensationsprodukten, bei denen es sich um ein Flavanol-Delphinidin-Kondensationsprodukt bzw. ein Flavanol-Cyanidin-Kondensationsprodukt handelt. Der von der gleichen Arbeitsgruppe vorgeschlagene Fragmentierungsmechanismus zu diesen Substanzen ist in Abb. 59 dargestellt. Aufgrund des im letzten Schritt abgespaltenen Fragmentes von m/z 168 könnte es sich bei dem Flavanolbaustein um eine (-)-Epigallocatechin- oder (+)-Gallocatechineinheit handeln ((E)GC-Delphinidin-3-rutinosid bzw. (E)GC-Cyanidin-3-rutinosid). Bei Peak 3 wird im ersten Fragmentierungsschritt eine Masse von m/z 304 abgespalten. Da anschließend ein Molekül mit der Masse m/z 899 entsteht, könnte es sich ebenfalls um ein Kondensationsprodukt handeln, das im Vergleich zu Peak 2 um eine weitere Flavan-3-oleinheit reicher ist. Das Molekülion M^+ von Peak 5 hat eine Masse von m/z 883, auch diese Substanz könnte ein Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt sein. Das weitere Fragmentierungsmuster mit m/z 575, 423 und 329 entspricht dem obigen. Statt m/z 168 werden allerdings nur m/z 152 abgespalten, für diese Einheit kommt ein (+)-Catechin- oder (-)-Epicatechinbaustein in Frage. Auch bei Peak 6 wird im ersten Fragmentierungsschritt eine Rutinoseeinheit mit der Masse m/z 308 abgespalten, das erhaltene Fragment von m/z 287 deutet auf einen Cyanidinbaustein hin. Freie Flavan-3-ole konnten im Muttersaft der schwarzen Johannisbeere nicht nachgewiesen werden, weder in der Nullprobe noch in den gelagerten Proben. Es ist daher davon auszugehen, dass die vorliegenden Kondensationsprodukte nicht erst im Saft, sondern bereits in der Frucht gebildet werden.

Darüber hinaus wurde in einer zwölf Monate bei 20 °C gelagerten Probe ein Peak mit dem Molekülion M^+ m/z 663 und M^{2+} m/z 355 nachgewiesen. Dabei handelt es sich um das 5-Carboxypyranocyanidin-3-rutinosid. Diese Ergebnisse wurden innerhalb des vorliegenden Projektes von Quast und Hillebrand [2006] bestätigt.

Tab. 34: Nach Größenausschlusschromatographie in schwarzem Johannisbeermuttersaft nachgewiesene Peaks.

Fraktion (EtOH : Wasser)	Peak Nr.	RT [min]	λ_{max}	M^+ m/z	M^2 m/z	Substanz
A (30 : 70)		13,16	280, 525	465	303	Del-3-glc
		13,69	280, 525	611	465, 303	Del-3-rut
		14,80	280, 520	449	287	Cya-3-glc
		15,32	280, 520	595	449, 287	Cya-3-rut
B (60 : 40)	**1**	7,94	280, 530	915	607, 439, 345, 303	Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt
	2	8,85	280, 525	899	592, 423, 329, 287	Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt
	3	9,15	280, 524	1203	899, 629, 519, 391	Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt
	4	9,85	280, 520	629	523	nicht identifiziert
	5	11,73	280, 524	883	575, 557, 423, 329	Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt
	6	13,29	280, 523	867	559, 287	Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukt

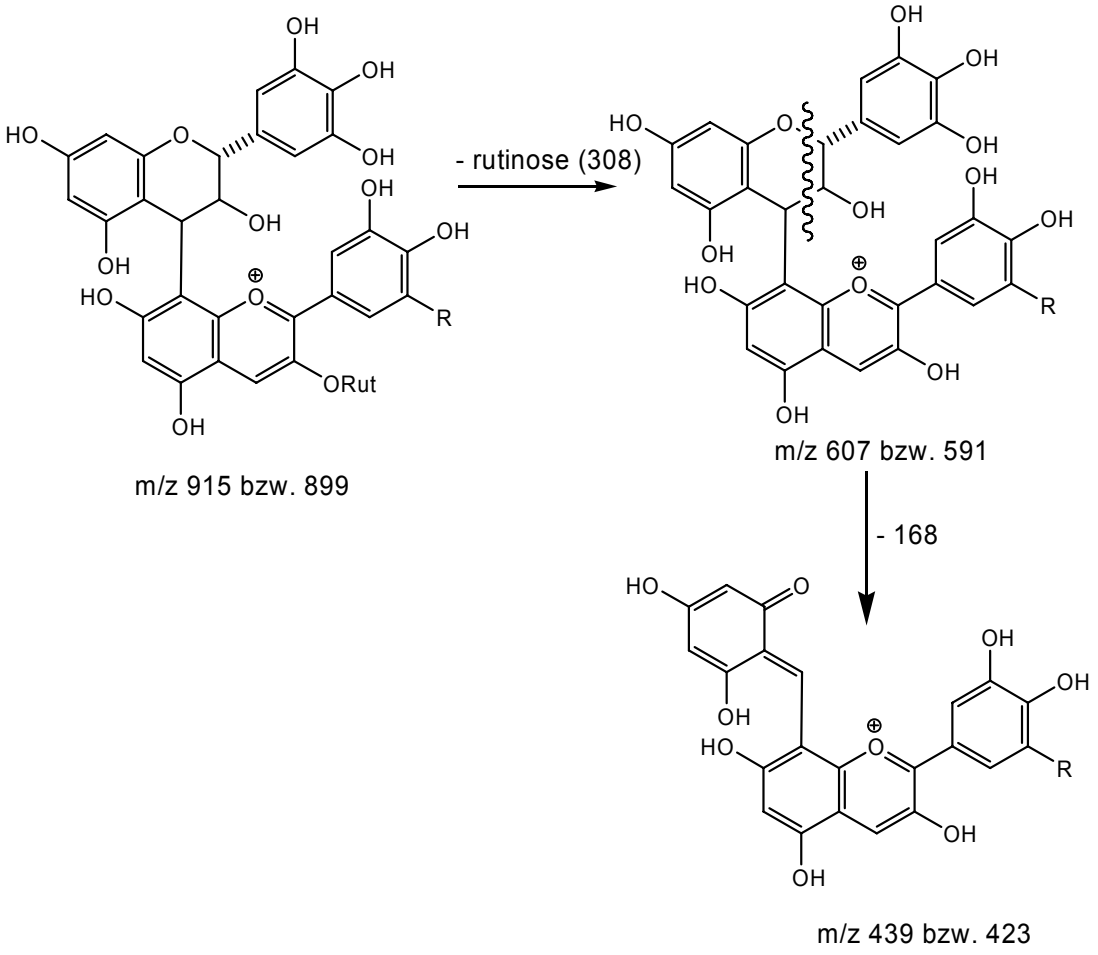
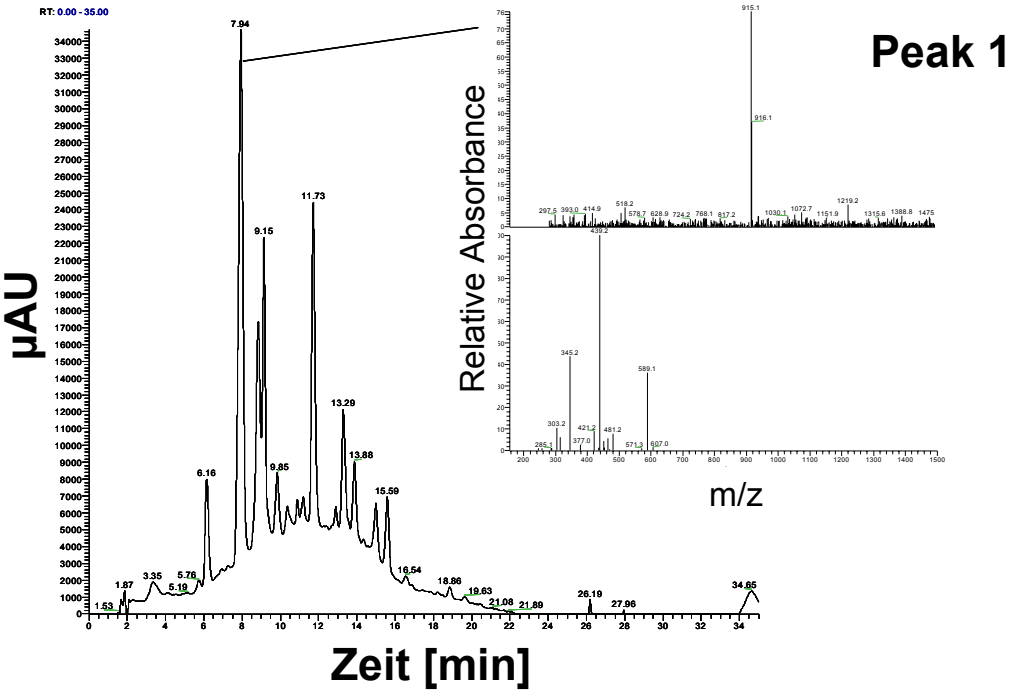
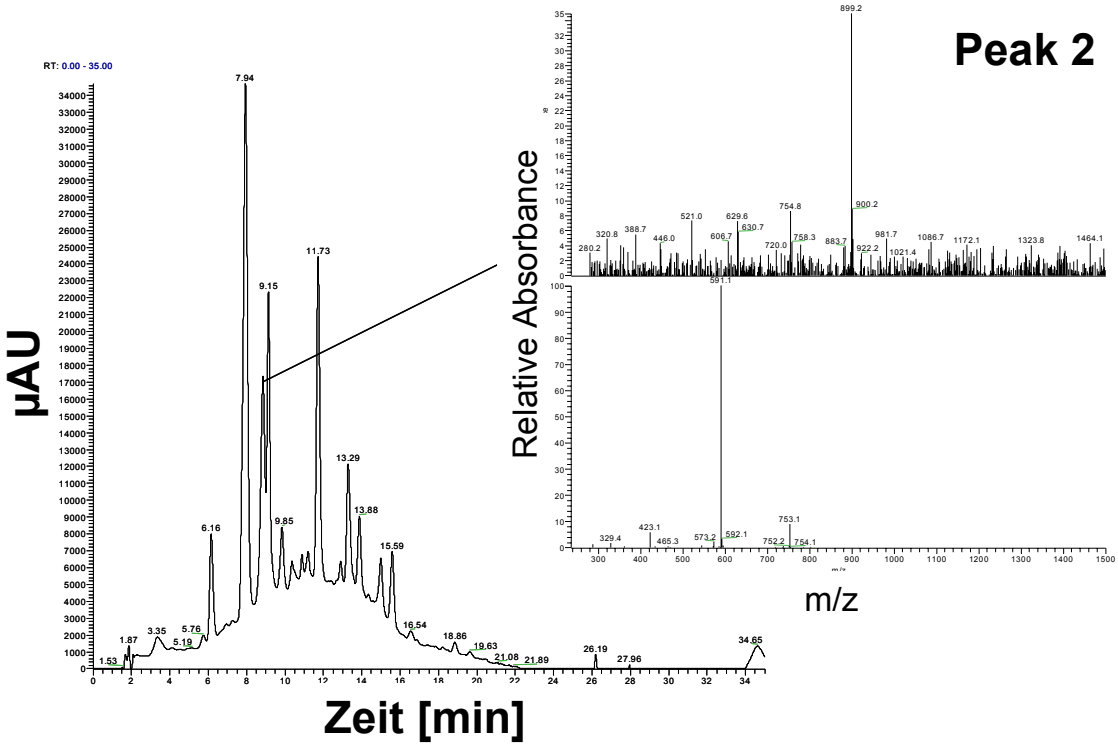
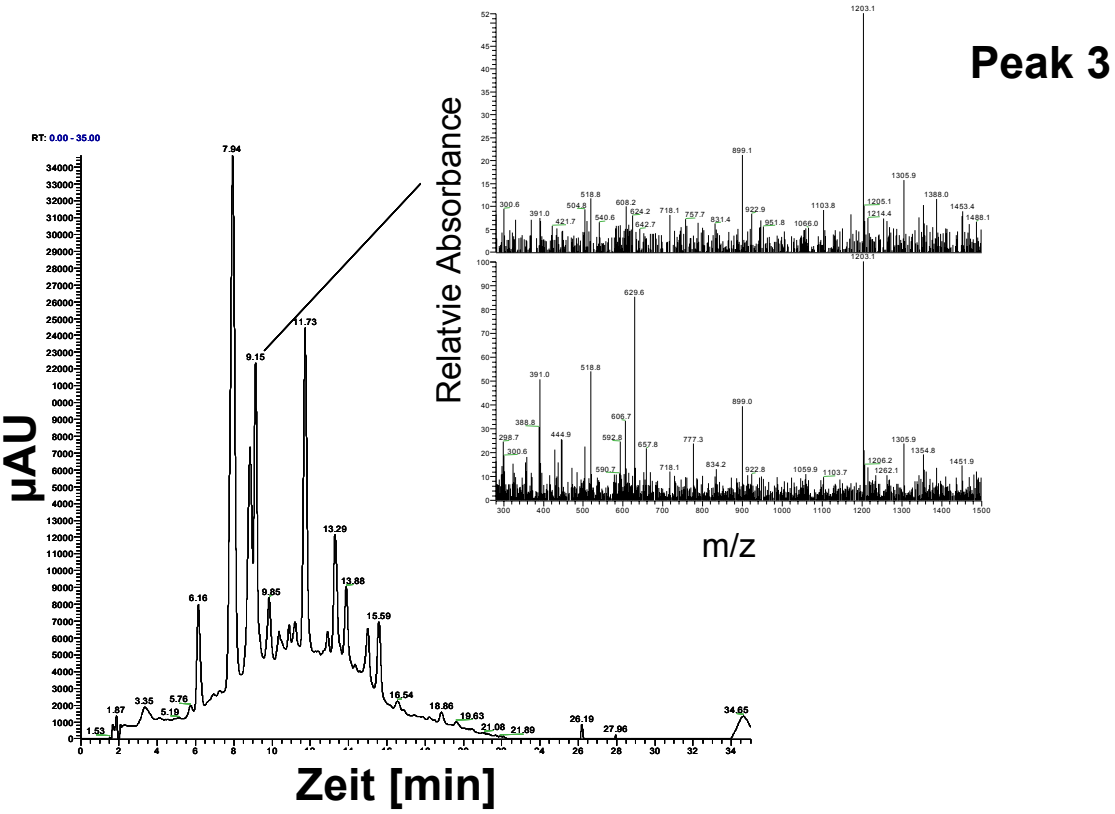
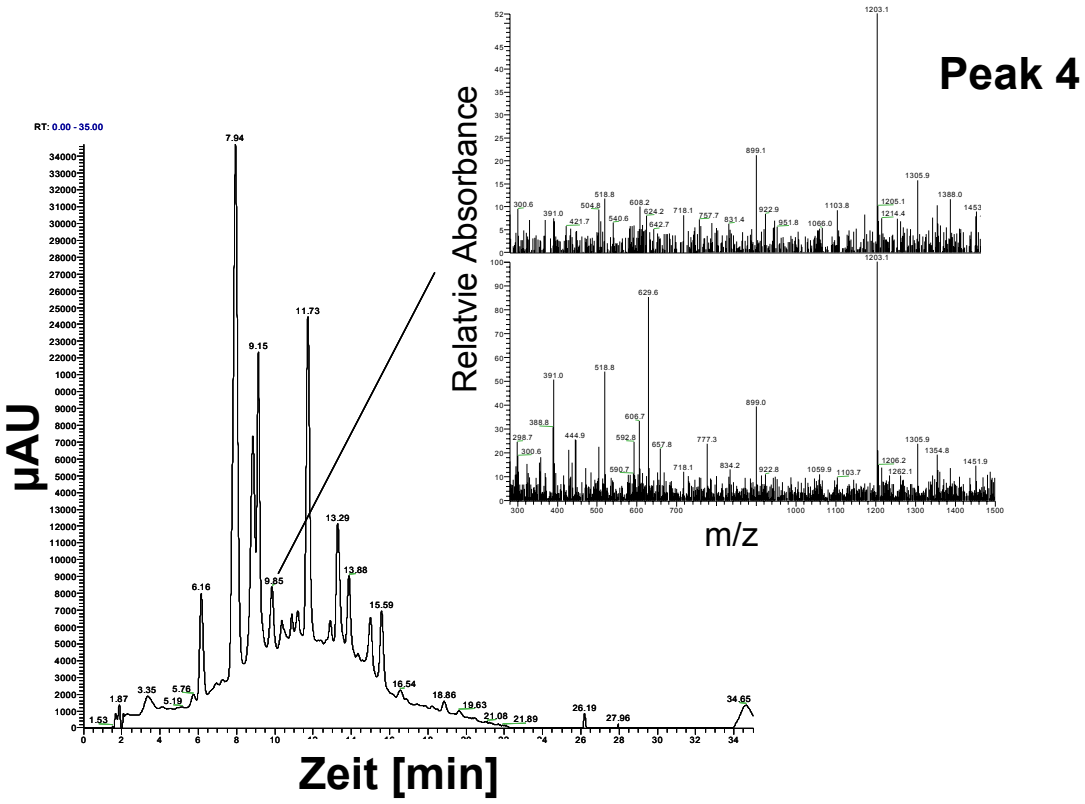


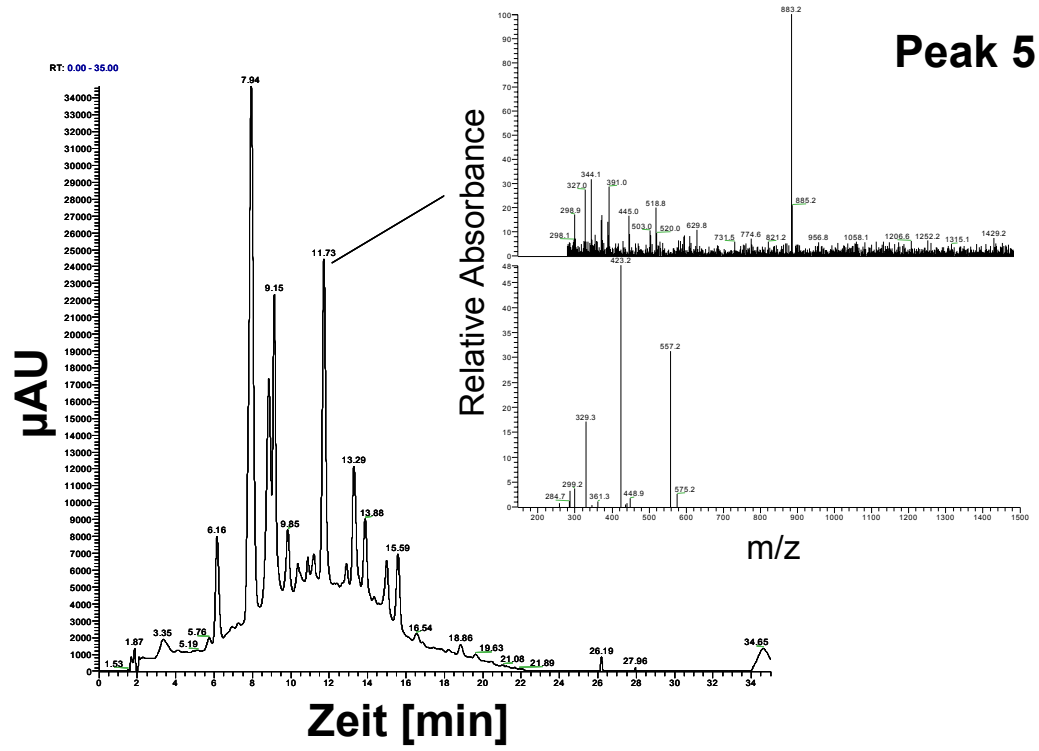
Abb. 59: Nach McDougall et al. [2005] postulierter Fragmentierungsmechanismus der Flavanol-Anthocyan-Kondensationsprodukte. R = H: Cyanidin, R = OH: Delphindin.


Peak 1
RT: 0.00 - 35.00
µAU
Zeit [min]
Relative Absorbance
m/z
7.94
11.73
9.15
13.29
13.88
6.16
9.85
15.59
16.54
18.86
19.63
21.08
21.89
26.19
27.96
34.65
1.87
3.35
5.76
5.19
1.53


Peak 2
RT: 0.00 - 35.00
µAU
Zeit [min]
Relative Absorbance
m/z
7.94
11.73
9.15
13.29
13.88
6.16
9.85
15.59
16.54
18.86
19.63
21.08
21.89
26.19
27.96
34.65
1.87
3.35
5.76
5.19
1.53


Peak 3
RT: 0.00 - 35.00
µAU
Zeit [min]
Relatvie Absorbance
m/z


Peak 4
RT: 0.00 - 35.00
µAU
Zeit [min]
Relatvie Absorbance
m/z



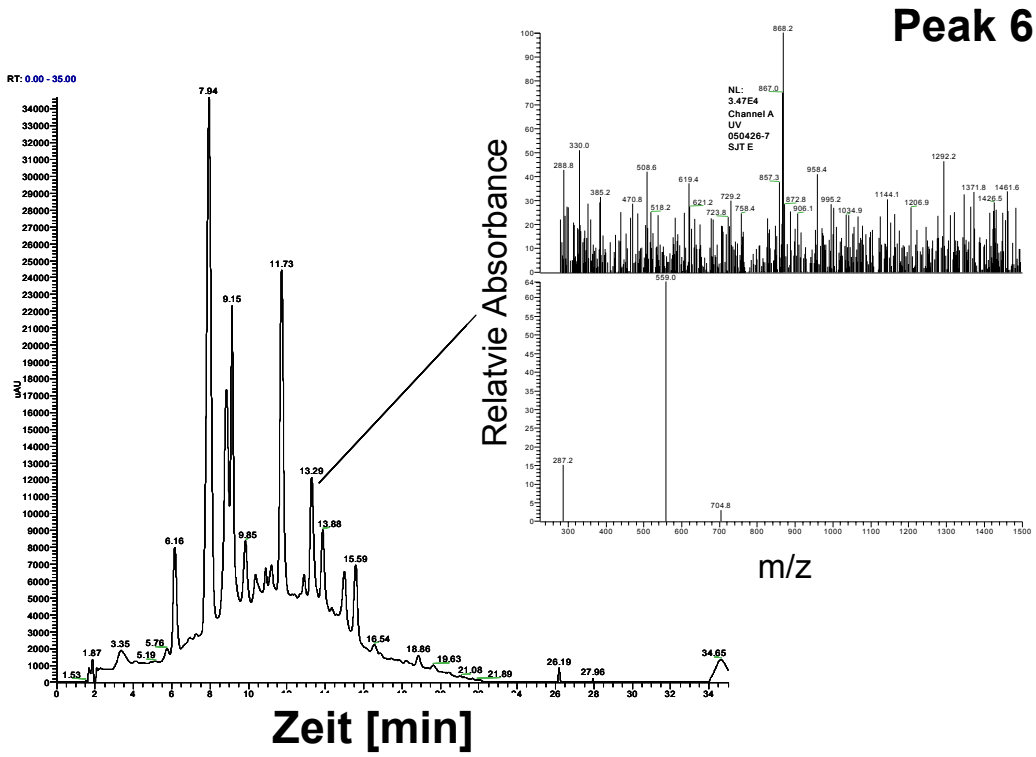


Abb. 60: In Fraktion B nachgewiesene Peaks 1-6 mit Chromatogramm zu Fraktion B und dazugehörige Massenspektren.

Innerhalb des Projektes konnten darüber hinaus von Quast und Hillebrand [2006] auch die Vitisin-Derivate aller vier Hauptanthocyane der schwarzen Johannisbeere im ein Jahr bei 20 °C

gelagerten Muttersaft nach High-Speed-Counter-Current-Chromatographie nachgewiesen werden.

4.3.6 KINETIK DER ANTHOCYANE

Der Verlauf der Abnahme des Anthocyangehaltes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur ist für Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere ähnlich. Stellvertretend für die drei Produkte wird dieser in Abb. 61 für Muttersaft gezeigt. Wie bereits für rote Traube und Aronia beobachtet werden konnte, schwanken die Werte für die 4 °C Lagerung innerhalb der ersten sechs Monate während für 20 °C und 37 °C deutliche Abnahmen erkennbar sind. In Tab. 35 sind die Anthocyangehalte der Nullproben sowie nach sechs und zwölf Monaten Lagerung zusammengefasst.

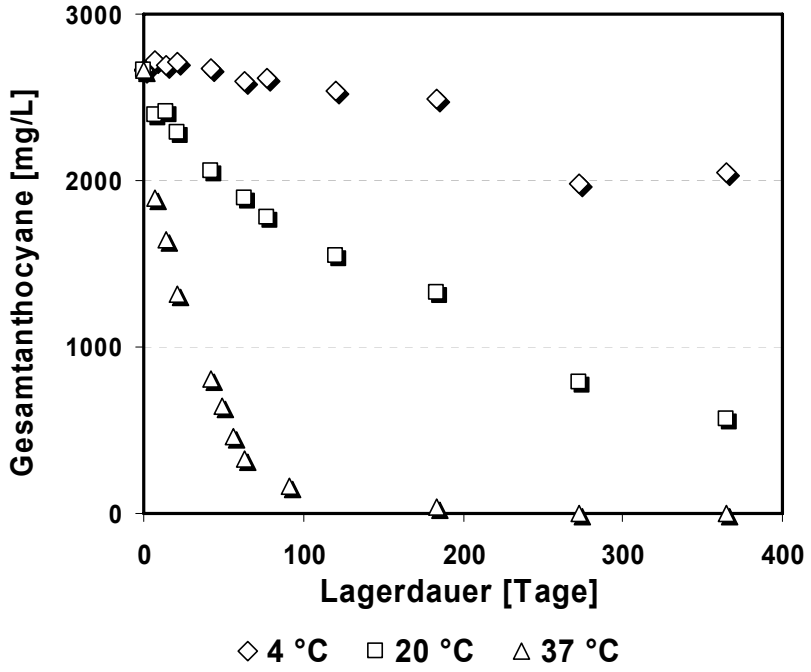


Abb. 61: Abnahme des Gesamtanthocyangehaltes (HPLC, ber. als mg/L Cya-3-glc) von Muttersaft der schwarzen Johannisbeere.

Die Anthocyangehalte der Nullproben von Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat liegen mit 2659 mg/L, 2411 mg/L und 2786 mg/L in einem ähnlichen Bereich (Tab. 35). Die etwas höhere Konzentration an Anthocyanen im Konzentrat könnte möglicherweise durch den hier fehlenden Pasteurisationsschritt resultieren. Wie bei Aroniasaft und –konzentrat konnte allerdings auch für schwarze Johannisbeere keine Abnahme an Anthocyanen durch den Einfluss des Konzentrierprozesses gemessen werden. Es zeigte sich aber eine geringere Stabilität des Konzentrates im Vergleich zu Saft und Vorkonzentrat während der Lagerung, die vor allem bei 20 °C und 37 °C deutlich wird. Bereits nach drei Monaten Lagerdauer bei 37 °C konnten im Konzentrat nur noch Spuren von Anthocyanen nachgewiesen werden, während im Saft und Vorkonzentrat auch nach sechs Monaten bzw. neun Monaten Lagerdauer noch deutliche Mengen an Cyanidin-3-rutinosid (15 mg/L bzw. 44 mg/L) und Delphinidin-3-rutinosid (13 mg/L bzw. 50 mg/L) gemessen wurden. Das Vorkonzentrat weist im Vergleich mit Saft und Konzentrat die größte Stabilität auf. Nach einem Jahr Lagerung bei 4 °C waren noch 87 %

(2047 mg/L) der Anthocyane vorhanden, bei 20 °C noch 28 % (563 mg/L) (Saft: 77 % bzw. 21 %, Konzentrat: 73 % bzw. 6 %).

Tab. 35: Anthocyangehalte [HPLC, mg/L Cya-3-glc]. in Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere nach 0, sechs und 12 Monaten Lagerung bei 4 °C, 20 ° und 37 °C. Eine abweichende Lagerdauer ist in Klammern angegeben. Die Werte beziehen sich auf 12,8 °Brix.

	Anthocyangehalte [mg/L]						
		6 Monate Lagerung			12 Monate Lagerung		
	Nullprobe	4 °C	20 °C	37 °C	4 °C	20 °C	37 °C
Muttersaft							
Del-3-glc	**485**	461	251	4	391	106	Sp.
Del-3-rut	**1143**	1079	579	13	901	249	Sp.
Cya-3-glc	**179**	166	84	3	135	34	Sp.
Cya-3-rut	**774**	713	369	15	577	158	Sp.
Pet-3-rut	**25**	24	14	Sp.	11	5	n.n.
Pel-3-rut	**12**	10	8	Sp.	6	3	n.n.
Peo-3-rut	**11**	10	6	Sp.	6	2	n.n.
Del-3-(6''-coum)glc	**21**	19	10	Sp.	14	4	n.n.
Cya-3-(6''-coum)glc	**9**	9	5	Sp.	6	2	n.n.
Gesamtanthocyane	**2659**	2492	1327	35	2047	563	Sp.
Vorkonzentrat		(9 Monate Lagerung)					
Del-3-glc	**438**	394	179	17	398	130	Sp.
Del-3-rut	**1037**	914	406	50	918	295	Sp.
Cya-3-glc	**161**	138	59	8	137	43	Sp.
Cya-3-rut	**704**	595	252	44	591	183	Sp.
Pet-3-rut	**22**	15	10	2	15	8	n.n.
Pel-3-rut	**12**	9	6	2	9	6	n.n.
Peo-3-rut	**10**	10	6	Sp.	9	5	n.n.
Del-3-(6''-coum)glc	**19**	17	9	Sp.	17	7	n.n.
Cya-3-(6''-coum)glc	**9**	9	n.n.	n.n.	9	n.n.	n.n.
Gesamtanthocyane	**2411**	2101	928	126	2105	678	Sp.
Konzentrat							
Del-3-glc	**510**	400	165	Sp. (3)	382	26	n.n.
Del-3-rut	**1201**	959	427	Sp. (3)	918	81	n.n.
Cya-3-glc	**187**	132	50	Sp. (3)	124	7	n.n.
Cya-3-rut	**808**	598	246	Sp. (3)	561	46	n.n.
Pet-3-rut	**23**	8	7	n.n. (3)	9	2	n.n.
Pel-3-rut	**15**	n.n.	Sp.	n.n. (3)	3	n.n.	n.n.
Peo-3-rut	**11**	n.n.	n.n.	n.n. (3)	4	n.n.	n.n.
Del-3-(6''-coum)glc	**21**	15	6	n.n. (3)	14	2	n.n.
Cya-3-(6''-coum)glc	**10**	5	2	n.n. (3)	5	n.n.	n.n.
Gesamtanthocyane	**2786**	2117	903	Sp. (3)	2020	164	n.n.

Einen besseren Vergleich hinsichtlich der Stabilität lässt Tab. 36 zu, in der die kinetischen Daten zusammengefasst sind.

Tab. 36: Halbwertszeiten $\tau_{1/2}$, Geschwindigkeitskonstanten k, Bestimmtheitsmaß R^2 und Aktivierungsenergien E_A der einzelnen Anthocyane in Muttersaft, Vorkonzentrat und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere.

	4 °C			20 °C			37 °C			E_A [kJ/mol]
	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	$\tau_{1/2}$ [Tage]	k [Tage^{-1}]	R^2	
Muttersaft										
Del-3-glc	909	0,0008	0,8655	162	0,0043	0,9905	20	0,0355	0,9849	83
Del-3-rut	918	0,0008	0,8857	159	0,0044	0,9926	21	0,0330	0,9872	82
Cya-3-glc	738	0,0009	0,8782	140	0,0050	0,9914	20	0,0353	0,9910	78
Cya-3-rut	739	0,0009	0,9122	147	0,0047	0,9932	24	0,0287	0,9883	74
Pet-3-rut	378	0,0018	0,5527	158	0,0044	0,9404	23	0,0301	0,9505	60
Del-3-(6``coum)glc	575	0,0012	0,8672	144	0,0048	0,9798	25	0,0275	0,9978	68
Gesamtanthocyane	816	0,0008	0,8894	154	0,0045	0,9921	21	0,0330	0,9879	79
Vorkonzentrat										
Del-3-glc	3307	0,0002	0,2917	197	0,0035	0,9587	19	0,0361	0,9947	111
Del-3-rut	2192	0,0003	0,4954	190	0,0037	0,9598	21	0,0335	0,9953	101
Cya-3-glc	1616	0,0004	0,5044	177	0,0039	0,9576	19	0,0359	0,9965	96
Cya-3-rut	1647	0,0004	0,7488	173	0,0040	0,9582	21	0,0329	0,9966	94
Pet-3-rut	642	0,0011	0,4823	217	0,0032	0,8731	17	0,0416	0,9194	79
Del-3-(6``coum)glc	2333	0,0003	0,2397	239	0,0029	0,9379	21	0,0325	0,9715	102
Gesamtanthocyane	2180	0,0003	0,4984	188	0,0037	0,9595	21	0,0336	0,9957	101
Konzentrat										
Del-3-glc	768	0,0009	0,9241	103	0,0068	0,9942	15	0,0459	0,9845	85
Del-3-rut	772	0,0009	0,9263	113	0,0061	0,9930	17	0,0407	0,9873	82
Cya-3-glc	565	0,0012	0,9207	85	0,0082	0,9946	13	0,0518	0,9961	81
Cya-3-rut	623	0,0011	0,9290	96	0,0072	0,9915	16	0,0435	0,9916	79
Pet-3-rut	240	0,0029	0,7132	93	0,0075	0,9842	15	0,0457	0,9768	72
Del-3-(6``coum)glc	508	0,0014	0,9099	102	0,0068	0,9979	18	0,0376	0,9859	72
Gesamtanthocyane	690	0,0010	0,9208	103	0,0067	0,9939	17	0,0415	0,9828	80

Die geringere Stabilität des Konzentrates wird in dieser Tabelle insbesondere durch die niedrigeren Halbwertszeiten verdeutlicht, die sich bereits für 4 °C teilweise um mehr als 100 Tage (Delphinidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-rutinosid) von denen des Muttersaftes und Vorkonzentrates unterscheiden. Die größten Halbwertszeiten wurden bei der 4 °C Lagerung für Delphinidin-3-rutinosid und Delphinidin-3-glucosid ermittelt (918 Tage bzw. 909 Tage). Obwohl neben Delphindin-3-rutinosid (1143 mg/L, Nullprobe Muttersaft) Cyanidin-3-rutinosid (774 mg/L, Nullprobe Muttersaft) das zweite Hauptanthocyan der schwarzen Johannisbeere ist, geht die höhere Anfangskonzentration nicht gleichzeitig mit einer langsameren Abbaurate einher. Vielmehr liegen die Halbwertszeiten der Delphinidin-Derivate und die der Cyanidin-Derivate jeweils in einem ähnlichen Bereich, sowohl im Muttersaft als auch Vorkonzentrat und Konzentrat. Die Halbwertszeiten der Delphinidin-Derivate sind auch bei der 20 °C Lagerung generell höher. Gleichzeitig zeigen die Aktivierungsenergien, die für die Anthocyane mit Ausnahme von Petunidin-3-rutinosid (60 kJ/mol, Muttersaft) in Muttersaft und Konzentrat in einem ähnlichen Bereich zwischen 68 kJ/mol (Delphinidin-3-(6``coumaroyl)glucosid und 85 kJ/mol (Delphinidin-3-glucosid) liegen, dass sich anhand dieser Größe keine Aussage über die Stabilität treffen lässt. Die sehr hohen Aktivierungsenergien von etwa 100 kJ/mol im Vorkonzentrat stehen im Zusammenhang mit den hohen Halbwertszeiten der 4 °C Lagerung. Aussagen über die Stabilität lassen sich anhand von Halbwertszeit sowie Geschwindigkeitskonstanten besser treffen. Wie in den zuvor untersuchten Proben für rote Traubensäfte und Aronia ist das Bestimmtheitsmaß für die 4 °C Lagerung am niedrigsten, die 20 °C Lagerung mit einem Bestimmtheitsmaß von annähernd 0,99 (Delphindin-3-glucosid,

Delphinidin-3-rutinosid, Cyanidin-3-glucosid, Cyanidin-3-rutinosid) entspricht am besten der Kinetik erster Ordnung. Die sehr niedrige Korrelation bei der 4 °C Lagerung des Vorkonzentrates resultiert möglicherweise aus einer sehr langsamen Abbaurate zu Beginn der Lagerung. Hier konnte beobachtet werden, dass in den ersten Wochen die Werte stark schwanken, aber nicht abnehmen. Bei der Betrachtung der Halbwertszeiten sollte daher berücksichtigt werden, dass die Näherung an dieser Stelle nur annähernd einer Kinetik erster Ordnung entspricht. Die bessere Stabilität von Vorkonzentrat im Vergleich zu Saft und Konzentrat konnte auch von Bonerz [2007] für Erdbeerprodukte gemessen werden.
In der Literatur sind bisher nur wenige Arbeiten erschienen, die sich mit der vergleichenden Lagerung von Saft und Saftkonzentrat beschäftigen. Für Blutorangensaft und –konzentrat wurden von Kirça und Cemeroglu [2003] für Temperaturen von 5 °C, 20 °C und 37 °C Halbwertszeiten von 56, 10 bzw. 2 Tagen (45 °Brix) bzw. 116, 18, 3 Tagen (69 °Brix) gemessen. Dieses Ergebnis entspricht dem in dieser Arbeit für Aronia erhaltenen, wo das Konzentrat bei 4 °C stabiler war im Vergleich zum Saft. Ein ähnlicher Trend wurde in der gleichen Arbeitsgruppe auch für Sauerkirschsaft und –konzentrat beobachtet [Cemeroglu et al. 1994]. In Johannisbeersirup wurden Halbwertszeiten von 15-24 Monaten bei einer Lagertemperatur von 20 °C gemessen [Skrede 1992], in Johannisbeernektar von 165 Tagen [Iversen 1999]. Diese Zeit entspricht ungefähr der im Muttersaft gemessenen Halbwertszeit für Anthocyane. Auch die in diesen Arbeiten veröffentlichten Aktivierungsenergien von ca. 80 kJ/mol liegen in einem ähnlichen Bereich wie die hier gemessenen.

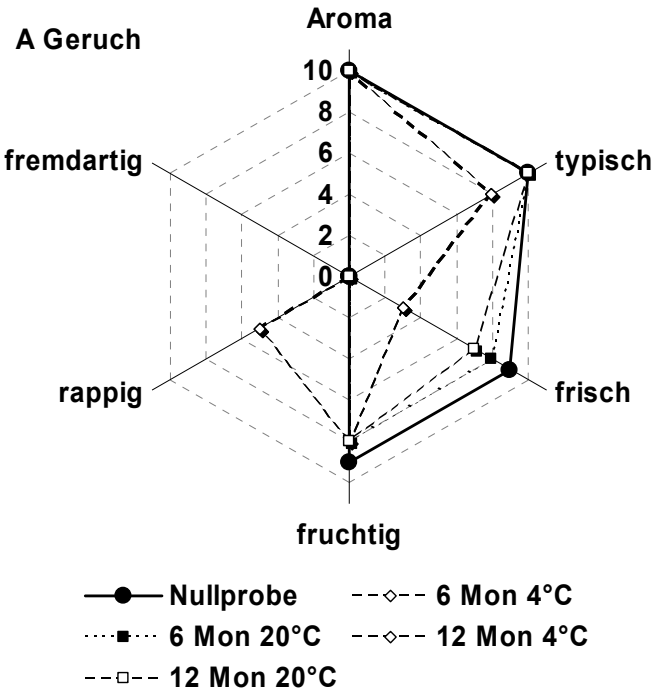
4.3.7 SENSORIK

Die gelagerten Muttersäfte wurden auf Basis der °Brix der Nullprobe durch Verdünnung mit Wasser und Zuckerzusatz auf 9 g/L Säure und 50 °Oechsle als Nektare verkostet. Tab. 37 zeigt, dass im Vergleich zur Nullprobe auch nach sechs und zwölf Monaten Lagerung bei 4 °C und 20 °C keine größeren Abweichungen hinsichtlich Farbe, Geruch, Geschmack und Harmonie festgestellt wurden. Die Proben entsprechen der vollen Erfüllung der Qualitätserwartung (Qualitätszahl 5 bzw. 4,58). Bemerkenswert ist allerdings, dass den bei 4 °C gelagerten Proben bezüglich Geruch und Geschmack jeweils ein halber Punkt abgezogen wurde, da die Frische etwas weniger ausgeprägt war. Merkliche Abweichungen bis zu deutlichen Fehlern hingegen wurden lediglich bei den 37 °C gelagerten Proben festgestellt (Qualitätszahl 3,08 bzw. Qualitätszahl 2,08, nicht dargestellt), nach einem Jahr Lagerung wurde schwarze Johannisbeere als Frucht nicht mehr erkannt.

Tab. 37: Sensorik Schwarze Johannisbeere nach DLG-5-Punkte-Schema

	0-Probe	1/2 Jahr 4°C	1 Jahr 4°C	1/2 Jahr 20°C	1 Jahr 20°C
Farbe	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Geruch	5,0	4,5	4,5	5,0	5,0
Geschmack	5,0	4,5	4,5	5,0	5,0
Harmonie	5,0	4,5	4,5	5,0	5,0
Qualitätszahl	5,00	4,58	4,58	5,00	5,00
Qualitäts-beschreibung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung	Volle Erfüllung der Qualitätserwartung
Bemerkungen		säurebetont			

In der deskriptiven Sensorik wurden die Beurteilungsparameter anhand von Attributen näher charakterisiert und ebenfalls mit Punkten von 0 (nicht) bis 10 (sehr stark) bewertet. Abb. 62 zeigt die Veränderungen von Geruch und Geschmack während der Lagerung bei 4 °C und 20 °C. Die Farbintensität wurde bei allen Proben mit stark bis sehr stark beurteilt. Der Farbeindruck war tiefviolett mit Ausnahme der 37 °C Proben, die eine starke bis sehr starke Bräunung und nach einem Jahr Lagerung eine starke Trübung aufwiesen (Daten nicht dargestellt). Außer der 37 °C Proben wurden alle Proben als sehr harmonisch beurteilt.



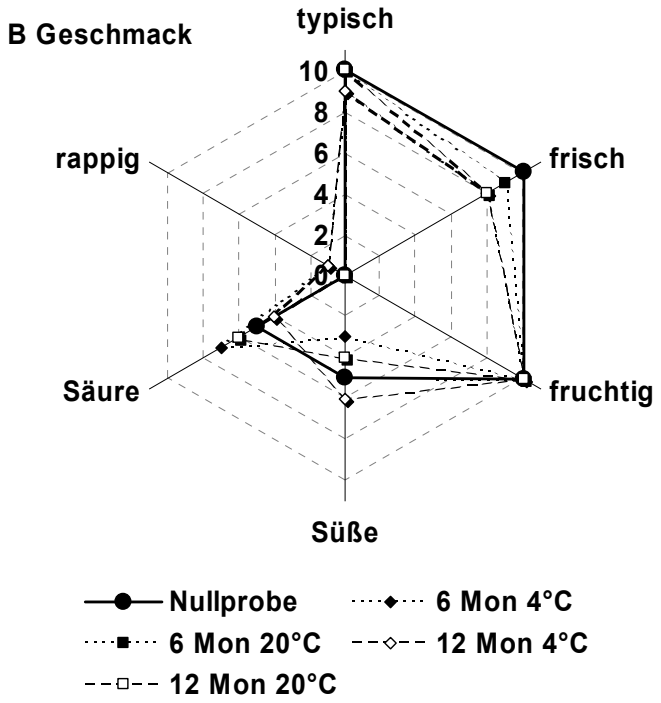


Abb. 62: Deskriptive Sensorik Schwarze Johannisbeere mit Geruch (A) und Geschmack (B), Punkteskala von 0 (nicht) bis 10 (sehr stark).

Die Ergebnisse der deskriptiven Sensorik unterstreichen die des DLG-5-Punkte-Schemas. Nur geringe Unterschiede gibt es in den Attributen Aroma, typisch und fruchtig. Auch nach 12 Monaten Lagerung bei 20 °C wurden die Nektare der schwarzen Johannisbeere noch als stark bis sehr stark fruchtig, typisch, aromatisch und im Geschmack als frisch bezeichnet. Bezüglich der Süße und Säure wurden die Proben als unterschiedlich empfunden, jedoch unabhängig von einer bestimmten Lagerdauer und Lagertemperatur. Die rappige Note kam generell nur bei den über 12 Monaten gelagerten Proben hervor. Bemerkenswert sind auch hier die Punktabzüge für die 4 °C Proben im Geruch für das Attribut Frische im Vergleich zu den bei 20 °C gelagerten Proben, die hier besser bewertet wurden. Allerdings wird dieses Ergebnis gestützt durch die Dreieckstests und Rangordnungsprüfungen, die mit 21 Studenten des Studiengangs Getränketechnologie der Forschungsanstalt Geisenheim durchgeführt wurden. In den Dreieckstests wurden die Lagerproben jeweils gegen die Nullprobe blind und unter Lichtausschluss verkostet. Lediglich die Abweichung der 37 °C Proben von der Nullprobe wurde mit einer Signifikanz von < 0,0001 *** (Friedmantest) erkannt, alle anderen Proben unterschieden sich nicht signifikant. Dies wurde darüber hinaus durch eine Rangordnungsprüfung bestätigt, bei der alle Proben aufsteigend nach ihrem Rang bewertet wurden (1 = beste Bewertung und 4 = schlechteste Bewertung). Die Ränge der Nullprobe, 4 °C- und 20 °C-Proben wurden nicht signifikant auf 1 bis 3 vergeben, die Probe nach Lagerung bei 37 °C hingegen wurde signifikant am schlechtesten mit Platz 4 bewertet.

4.3.8 AROMAPROFIL

Zu den wichtigsten Aromakomponenten der Nullprobe des schwarzen Johannisbeersaftes gehören Linalool, α-Terpineol, 2-Methyl-3-buten-2-ol, Buttersäuremethylester und Thymol. Diese Substanzen sind im Saft vor allem für Fruchtigkeit und Frische verantwortlich (Tab. 38).

Tab. 38: Aromaprofil und Gehalt in der Nullprobe von schwarzem Johannisbeermuttersaft.

	Schwarze Johannisbeere Muttersaft Nullprobe [µg/L]	Geruchsschwelle (in Wasser)	Geruchseindruck
Ester			
Buttersäuremethylester	143		Apfel
Buttersäure-2-hydroxy-methylester	10		
Buttersäure-2-hydroxy-ethylester	10		
Buttersäure-3-hydroxy-methylester	7		
Alkohole			
2-Methyl-3-buten-2-ol	712		
1-Butanol	25	0,11 ppm	Bittermandel
2-Methyl-1-butanol	31		
1-Pentanol	12		
3-Methyl-2-buten-1-ol	75		
1-Hexanol	31	2,5 ppm	fettig-fruchtig
Phenylmethanol	54		
Terpene			
***cis* -Linalooloxid**	14		erdig, blumig, bergamotteartig
Linalool	12	4-6 ppb	blumig, Maiglöckchen
Terpinen-4-ol	23		erdig, nussig, campherartig
Eucarvon	13		
α-Terpineol	126	350	Flieder
***oxo* -2-Hydroxycineol**	79		würzig, campherartig
***p* -2,8-Menthadien-1-ol**	5		
***p* -Cymen-8-ol**	17	150 ppb	zitrusartig
Thymol	137	50	thymianartig
2,3-Pinandiol	124		
Eugenol	2		Nelken, Weihnachtliche Gewürze
Furane			
Furfural	27	3 mg/L	stechend brotartig, karamellartig
Acetylfuran	11		
Furansäuremethylester	8		
Furfurylalkohol	1		
Säuren			
Essigsäure	61		
Buttersäure	653	0,2 mg/L	ranzig
Pentansäure	13		ranzig, unangenehm
Hexansäure	70		Ziege
Octansäure	7		ranzig

Im Verlauf der Lagerung lassen sich deutliche Veränderungen verzeichnen. Generell nehmen Komponenten, die dem Saft ein charakteristisches fruchtiges frisches Aroma geben in Abhängigkeit von der Temperatur ab (z.B. Ester, Terpene), hingegen nehmen andere Substanzen, die Fehltöne verursachen in Abhängigkeit von der Temperatur zu (z.B. Furfural, Acetylfuran). In Abb. 63 sind die Abnahmen einiger wichtiger Aromakomponenten dargestellt, ebenso die Zunahmen der Maillardprodukte Acetylfuran und Furfural. Die Quantifizierung der Substanzen erfolgte anhand externer Standardeichgeraden.

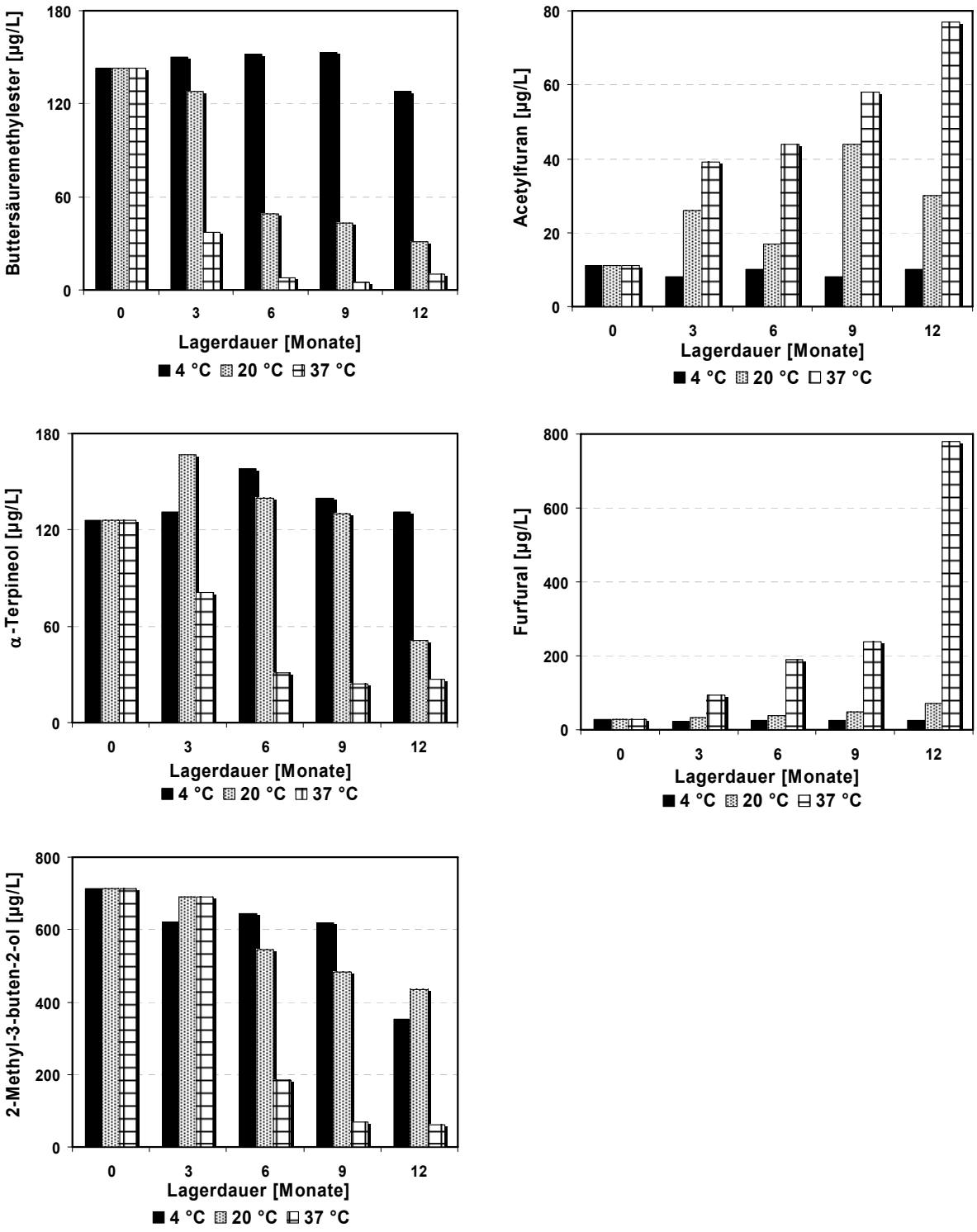


Abb. 63: Aromaveränderungen (GC-Analyse) während der Lagerung von schwarzem Johannisbeermuttersaft, Verluste positiver Aromen (links) und Zunahmen negativer Aromen (rechts).

Die Abbildungen verdeutlichen sehr gut, dass die hinsichtlich einer guten Erhaltung des Aromas beste Lagertemperatur wie bei Anthocyanen auch 4 °C ist. Die positiven Komponenten wie Buttersäuremethylester, α-Terpineol oder 2-Methyl-3-buten-2-ol nehmen erst nach einem Jahr Lagerung leicht ab. Der Einfluss der Lagertemperatur von 20 °C ist für Buttersäuremethylester am größten. Bereits nach sechs Monaten Lagerdauer ist ein Rückgang von mehr als 50 % zu

beobachten. Diese Temperatur hat bereits einen Einfluss auf die Bildung des Maillardproduktes Acetylfuran. Die dafür ursächliche nicht-enzymatische Bräunung ist bei höheren Temperaturen stärker. Die 10 µg/L der Nullprobe resultieren vermutlich aus Erhitzungsprozessen wie der Maischeerhitzung oder der Pasteurisation. Während Furfural erst bei der höheren 37 °C Lagerung gebildet wird, ist für Acetylfuran ein deutlicher Anstieg bereits für 20 °C zu erkennen. Die in der sensorischen Prüfung beobachtete Karamellnote könnte auf die Bildung von Maillardprodukten zurückgeführt werden.

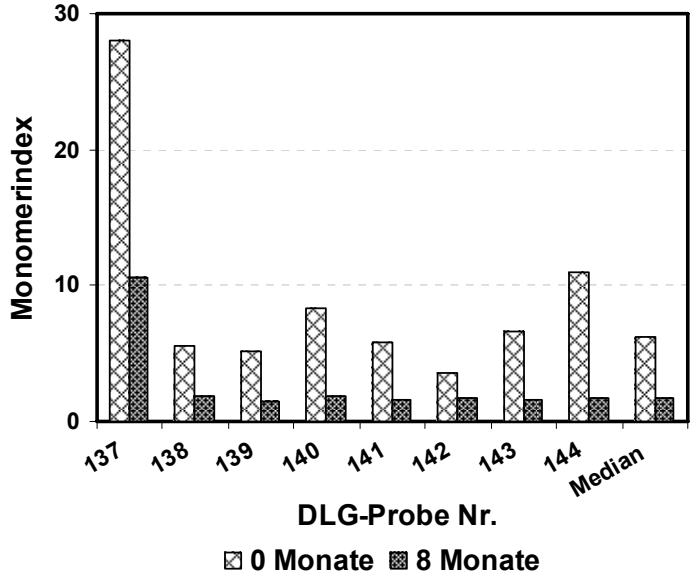
4.4 HANDELSPROBEN

Im Rahmen der DLG-Prüfung 2005 wurden acht rote Traubensäfte sowie neun schwarze Johannisbeernektare hinsichtlich ihres Anthocyangehaltes (HPLC), der Monomerindices sowie der CIELAB-Werte untersucht. Diese Proben wurden anschließend acht Monate unter Lichtausschluss bei ca. 15 °C gelagert und erneut analysiert. Alle Säfte und Nektare wiesen zum Zeitpunkt der Analysen ein noch nicht abgelaufenes Mindesthaltbarkeitsdatum auf und wurden codiert analysiert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen und Tabellen zusammengefasst.

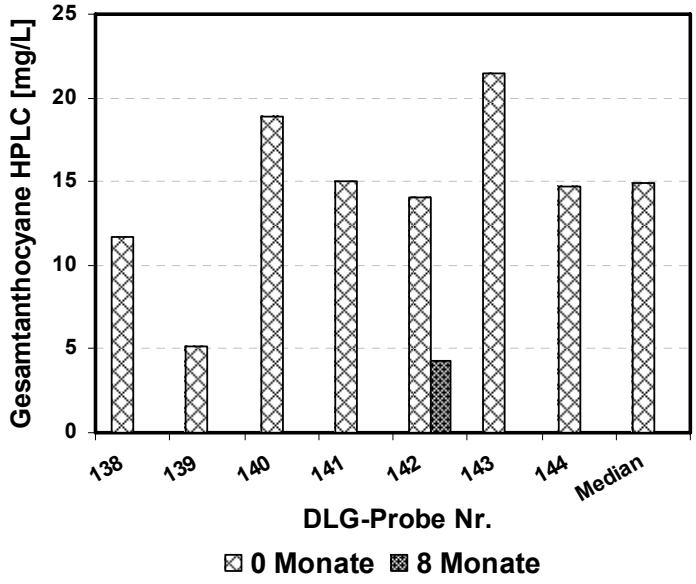
4.4.1 ROTE TRAUBENSÄFTE

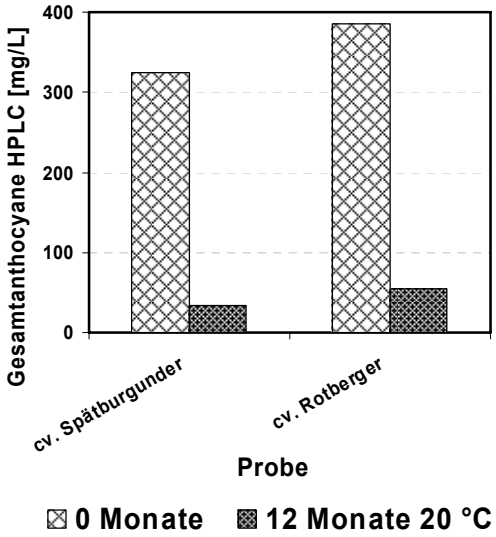
Für frische Traubensäfte wurden in den zuvor bereits vorgestellten Lagerversuchen Monomerindices zwischen 35 (cv. Dunkelfelder 2003) und 115 (cv. Rotberger 2003) gemessen. Sie sind unterschiedlich von Rebsorte zu Rebsorte und nehmen in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerdauer mit der Zeit ab.

Abb. 64 zeigt die Monomerindices und Gesamtanthocyangehalte (HPLC, berechnet als mg/L Malvidin-3-glucosid) roter Traubensäfte, die im Rahmen der DLG-Prüfung 2005 untersucht wurden. Das Herstellungsdatum und somit das Alter der Säfte zu Beginn der Lagerung war nicht bekannt. Zum Zeitpunkt der ersten Analyse (April 2005) lagen die Mindesthaltbarkeitsdaten zwischen zehn Monaten (Probe Nr. 140, 25.02.2006) und 20 Monaten (Probe Nr. 137, 31.12.2007), was daraufhin deutet, dass die Säfte vermutlich aus Trauben des Erntejahres 2004 hergestellt wurden.



A





B

Abb. 64: Monomerindex (A) und Gesamtanthocyangehalt (HPLC, ber. als mg/L Mal-3-glc) (B) roter Traubensäfte, die im Rahmen der DLG-Prüfung untersucht wurden. Dargestellt sind die Messwerte von April 2005 (0 Monate) und Dezember 2005 (8 Monate), zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung der DLG-Probe Nr. 137 aufgrund der großen Abweichung mit 422 mg/L (0 Monate) 189 mg/L (8 Monate) verzichtet. Zum besseren Vergleich sind weiterhin die Anthocyangehalte der Rebsorten cv. Spätburgunder und cv. Rotberger des Jahrgangs 2003 dargestellt.

Bei den nicht-gelagerten roten Traubensäften liegt der Wertebereich für die gemessenen Monomerindices zwischen 4 und 11, der Median beträgt 7. Probe Nr. 137 ist mit einem Wert von 28 deutlich über dem Durchschnitt. Dies gilt auch nach der achtmonatigen Lagerung, wo für diese Probe ein Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen von 11 gemessen wurde und der Median der übrigen Proben mit 2 deutlich darunter liegt. Weiterhin lässt sich

erkennen, dass die Schwankungsbreite der Werte deutlich abnimmt, was gleichzeitig zeigt, dass in Proben, die zu Beginn der Lagerung höhere Monomerindices aufwiesen, größere Abnahmen auftreten.
Zum Vergleich der Absolutwerte sollen die Lagerversuche der roten Traubensäfte 2003 und 2004 herangezogen werden. Hier wurden für die Proben nach einem Jahr Lagerung bei 20 °C ähnliche Werte im Bereich von 1-3 gemessen. In allen Fällen lag der Monomerindex der 4 °C Lagerungen zu diesem Zeitpunkt noch deutlich darüber (10-40). Ein Monomerindex von 2 wurde nach Lagerung bei 37 °C bereits nach ca. 3 Monaten erreicht. Der Traubensaft cv. Spätburgunder repräsentiert eine Rebsorte, deren Anfangsmonomerindex (59) relativ hoch ist, die Anfangskonzentration der Gesamtanthocyane (HPLC) jedoch relativ niedrig (140 mg/L). Die Dunkelfeldertraube wird häufig als Färbertraube verwendet und weist einen hohen Gesamtanthocyangehalt auf (HPLC, 1400 mg/L), der Anfangswert des Monomerindex liegt bei 36. Das Anthocyanspektrum gleicht dem der Probe Nr. 137. Der Einfluss von Lagertemperatur und Lagerdauer lässt sich gut erkennen, ebenso die unterschiedlich schnelle Abnahme der Monomerindices der beiden rebsortenreinen Traubensäfte. Nach drei Monaten Lagerdauer bei 4 °C beträgt der Monomerindex von Spätburgunder 39, was 65 % des Anfangswertes entspricht. Hingegen wird im gleichen Zeitraum eine Abnahme auf 70 % bei Traubensaft der Rebsorte cv. Dunkelfelder beobachtet (27). Auch bei 20 °C ist das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen in Dunkelfelder Traubensaft stabiler. Nach drei Monaten nehmen die Werte um 50 % auf 18 (Dunkelfelder) bzw. um 82 % auf 18 (Spätburgunder) ab. Dies zeigt, dass die Stabilität eines Traubensaftes hinsichtlich des Verhältnisses der monomeren Anthocyane zu polymeren innerhalb der Rebsorten unterschiedlich ist. Weiterhin ist es schwierig, auf der Basis des Monomerindex eine Aussage über die Frische der Proben zu treffen. Die möglichen Ursachen für die relativ niedrigen Anfangswerte der Monomerindices könnten einerseits aus einer vorausgegangenen Lagerung des Saftes bei relativ hohen Temperaturen (z.B. 20 °C) resultieren. Möglicherweise waren die Werte der frisch hergestellten Säfte bereits sehr niedrig (Einfluss der Verarbeitung wie z.B. Maischestandzeiten, Einfluss der Rohware, Temperatureinfluss etc.) und die Säfte aufgrund der verwendeten Rebsorte relativ instabil. Was bisher nicht näher untersucht wurde, ist die Veränderung der Stabilität von Säften, die zu Beginn bei niedrigen Temperaturen (z. B. 4 °C) gelagert werden und anschließend bei höheren (z.B. 20 °C). Es ist möglich, dass die anschließende Lagerung schneller zu einer Alterung der Produkte führen könnte.
Das Ergebnis des Monomerindex der Handelsproben spiegelt sich auch im Gesamtanthocyangehalt (HPLC) wider, der während der Lagerung von durchschnittlich (Median) 15 mg/L auf < 2 mg/L (unterhalb der Bestimmungsgrenze) abnimmt. Das Maximum liegt vor der Lagerung bei 22 mg/L (Probe Nr. 143) und das Minimum bei 5 mg/L. Generell ist dieser Anthocyangehalt als sehr niedrig anzusehen. Die Anfangsgehalte der im Rahmen der Lagerstudien untersuchten Traubensäfte aus eigener Herstellung lagen im Jahr 2003 zwischen 323 mg/L (cv. Spätburgunder) und 1400 mg/L (cv. Dunkelfelder) und im Jahr 2004 zwischen 86 mg/L (cv. Rotberger) und 1465 mg/L (cv. Dunkelfelder). Die niedrige Konzentration des Traubensaftes cv. Rotberger resultierte aus der verkürzten Maischestandzeit und dem Jahrgangseinfluss. Die Gehalte der nicht-gelagerten Handelsproben liegen im Bereich der 20 °C Lagerung nach einer Lagerdauer von sechs Monaten. Entscheidend ist hier vor allem, dass in der Praxis Verschnitte von roten mit weißen Traubensäften vorgenommen werden. Die ursprüngliche Konzentration an Anthocyanen liegt daher auch in der Nullprobe bereits aufgrund

der Verdünnung niedriger im Vergleich zu reinen roten Traubensäften. Unter Berücksichtigung der Deklaration der Handelsproben als rote Traubensäfte sind die gemessenen Anthocyangehalte (HPLC) dennoch als zu niedrig anzusehen. Weiterhin ist bisher ungeklärt, inwiefern auch die Erhöhung des Verhältnisses von farblosen Phenolen zu gefärbten Anthocyanen die Abnahme der Anthocyane verstärkt.

Mit 422 mg/L zu Beginn und 189 mg/L nach der Lagerung liegt der Anthocyangehalt der Probe Nr. 137 deutlich über dem Durchschnitt. Es ist möglich, dass es sich bei dieser Probe um einen „reinen“ roten Traubensaft handelt. Darüber hinaus weist dieser Saft ein sehr komplexes Anthocyanspektrum mit Anthocyanmonoglucosiden auf, die von acetylierten und coumaroylierten Anthocyanen ergänzt werden. Es könnte sich dabei zum Beispiel um einen Saft einer so genannten Färbertraube handeln, zu der auch die Traube der Rebsorte cv. Dunkelfelder zählt. Das Anthocyanspektrum der übrigen Proben umfasst die für rote Traubensäfte charakteristischen Monoglucoside von Delphinidin, Cyanidin, Petunidin, Peonidin und Malvidin.

Die Absorptionen 520 nm der Traubensäfte liegen sowohl vor als auch nach der Lagerung zwischen 1,2 und 2,6 Absorptionseinheiten (Abb. 65). Mit 14,7 und 7,2 Absorptionseinheiten weicht die Probe Nr. 137 deutlich von den übrigen (Median 1,89 vor bzw. 1,44 nach der Lagerung) ab.

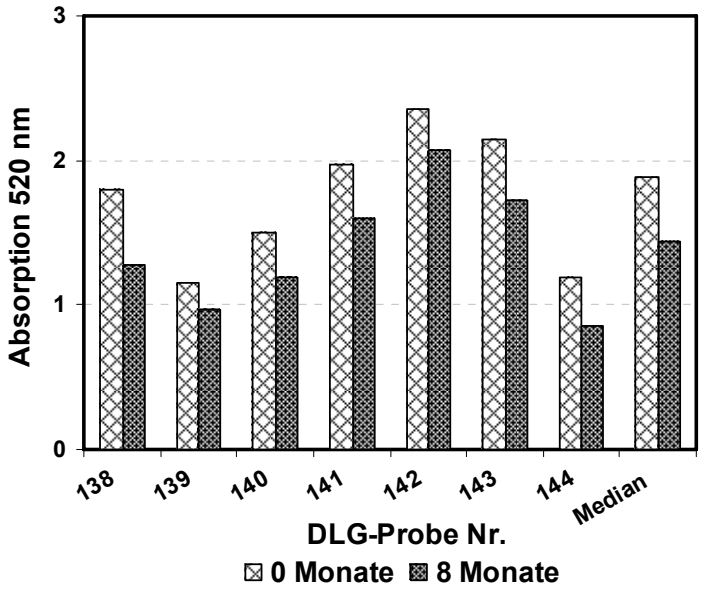


Abb. 65: Veränderung der Absorption 520 nm roter Traubensäfte, vor und nach achtmonatiger Lagerung, bezogen auf 1 cm Lichtweg. Auf die Darstellung der Probe Nr. 137 wurde aufgrund der großen Abweichung verzichtet.

Ergänzend zu den Veränderungen der Absorption bei 520 nm sind in Tab. 39 die Absorptionen bei 420 nm und 620 nm, die Farbintensität FI (Σ 420+520+620 nm), CIELAB-Werte L* (Helligkeit), a* (Grün-Rot-Anteil), b* (Blau-Gelb-Anteil), Hue Angle° und Chroma C* dargestellt. Die Angaben sind dabei beschränkt auf Median, Minimum und Maximum der Proben.

Tab. 39: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität FI und CIELAB-Werte der Traubensaft Handelsproben vor und nach acht Monaten Lagerung. Die Werte sind auf den Lichtweg von 1 cm bezogen.

		420 nm	520 nm	620 nm	FI	L*	a*	b*	° Hue Angle	Chroma
0 Monate Lagerung	**Median**	1,30	1,89	0,35	3,53	39,4	55,7	25,3	24,2	59,6
	Minimum	0,80	1,15	0,18	2,17	1,3	28,4	16,3	17,5	40,3
	Maximum	5,98	14,67	2,64	23,29	54,8	56,8	35,6	45,2	66,2
8 Monate Lagerung	**Median**	1,34	1,44	0,36	3,14	42,2	45,2	28,3	33,1	52,0
	Minimum	0,93	0,86	0,23	2,01	8,6	35,0	21,0	26,9	43,0
	Maximum	4,03	7,20	1,60	12,83	57,7	52,4	35,6	42,7	62,5

Die Werte für 420 nm, 620 nm erfahren nur geringfügige Schwankungen. Die Summe der Absorptionen, die der Farbintensität entspricht, nimmt hingegen deutlich ab (3,53, 0 Monate Lagerung und 3,14, 8 Monate Lagerung), was vor allem durch die Abnahme der Absorption bei 520 nm verursacht wird. Die Zunahme der Helligkeit (L*-Wert) während der Lagerung konnte auch für die roten Traubensäfte der Lagerstudien beobachtet werden. Der a*-Wert nimmt von 55,7 auf 45,2 ab, was einer Verschiebung von grün nach rot entspricht. Die Abnahme des Blau-Anteils wird ersichtlich anhand der Zunahme des b*-Wertes von 25,3 auf 28,3. Die Abnahme der Farbsättigung wird verdeutlicht durch die Werte für Chroma (von 59,6 auf 52,0). Auch bei der Betrachtung der Absorptionen und CIELAB-Werte weicht die DLG Probe Nr. 137 mit deutlichen Unterschieden von den übrigen Handelssäften ab (vgl. Maximum). Insgesamt lässt sich erkennen, dass die Lagerung hier nur einen geringen Einfluss auf die Farbe zeigt. Auch dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Säfte möglicherweise bereits vor der ersten Messung eine Alterung erfahren haben. Wie die bereits dargestellten Ergebnisse der Lagerversuche (vgl. u.a. rote Traubensäfte, Erdbeersaft, schwarze Johannisbeere, Aronia im Jahresbericht 2004) gezeigt haben, ist der Einfluss der Lagerung in Abhängigkeit von der Temperatur innerhalb der ersten drei Monate am größten.

Ergänzend soll an dieser Stelle angemerkt werden, dass auch im Rahmen der DLG-Prüfung 2004 bereits die Anthocyangehalte (HPLC), Monomerindices und Farbwerte gemessen wurden. Generell lagen die Anthocyangehalte etwas höher (HPLC 25-42 mg/L), die Monomerindices mit 5-7 jedoch auch sehr niedrig.

4.4.2 SCHWARZE JOHANNISBEERNEKTARE

Auch die schwarzen Johannisbeernektare wiesen zum Zeitpunkt der ersten Analyse Mindesthaltbarkeitsdaten von zehn Monaten (Probe Nr. 215, 03.02.2006) bis zu 21 Monaten (Probe Nr. 222, 31.01.2007) auf.

Im Vergleich zu den roten Traubensäften ist die Schwankungsbreite der Monomerindices der schwarzen Johannisbeernektare deutlich größer (Abb. 66). Zu Beginn der Lagerung liegt der Median bei 14,2, Minimum und Maximum bei 4 (Probe Nr. 217) bzw. 26 (Probe Nr. 218). Nach der Lagerung ist auch hier sowohl die Schwankungsbreite der Werte deutlich niedriger als auch die Werte an sich. Der Median für die Monomerindices liegt noch bei lediglich 6, Minimum und Maximum bei 2 (Probe Nr. 217) bzw. 11 (Probe Nr. 221). Probe Nr. 221 weicht sowohl vor als

auch nach der Lagerung deutlich von den übrigen Proben ab. Der Gehalt an Anthocyanen, dessen Angaben auf Cyanidin-3-glucosid-Äquivalente bezogen sind, liegt zwischen 19 mg/L (Nr. 217) und 272 mg/L (Nr. 221) vor der Lagerung und nach acht Monaten zwischen 5 mg/L (Nr. 217) und 141 mg/L (Nr. 221). An dieser Stelle ist anzumerken, dass der Gehalt von 19 mg/L für schwarzen Johannisbeernektar mit gültigem Mindesthaltbarkeitsdatum sehr gering ist.

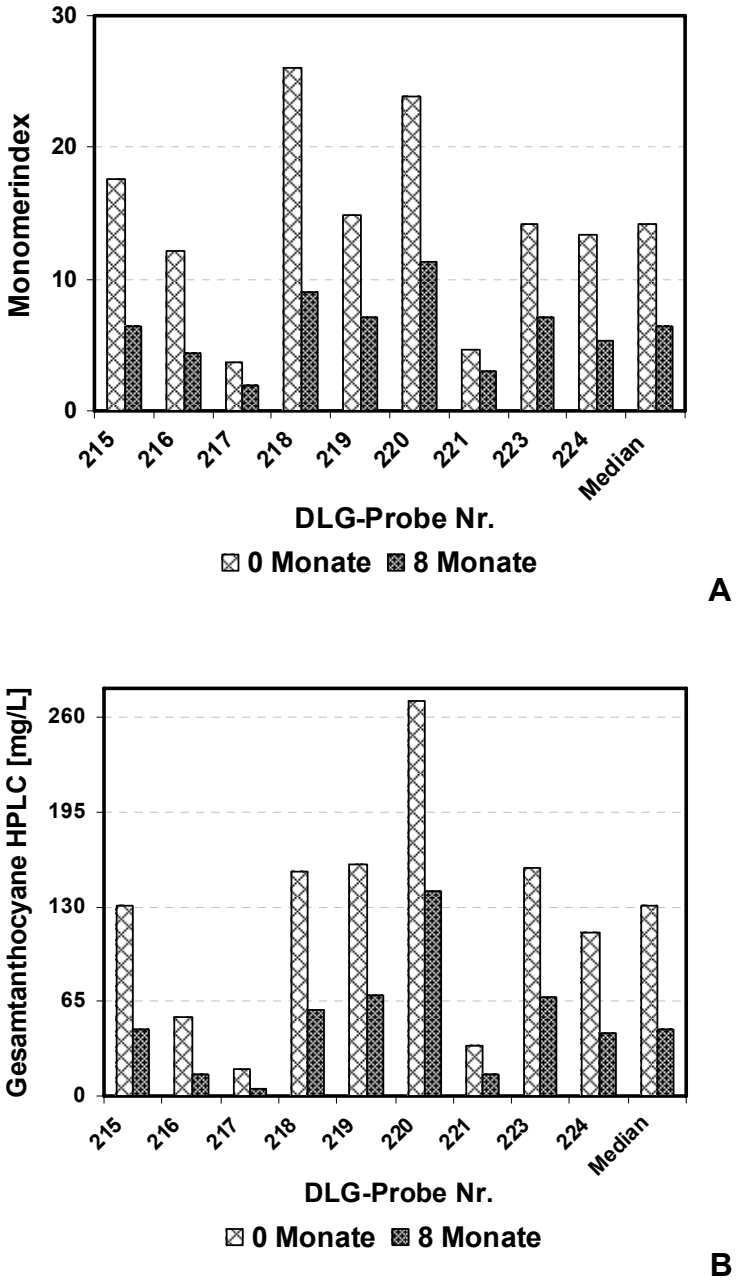


Abb. 66: Monomerindex (A) und Gesamtanthocyangehalt (HPLC, ber. als mg/L Cya-3-glc) (B) schwarzer Johannisbeernektare im Rahmen der DLG-Prüfung 2005, vor und nach achtmonatiger Lagerung.

Sowohl anhand der Darstellung des Monomerindex als auch der Gesamtanthocyane ist sehr gut zu erkennen, dass mit zunehmendem Alter der Säfte die Schwankungsbreiten der Proben und somit die Unterschiede geringer werden.

Die Veränderung der Farbe während der Lagerung ist anhand der Absorption 520 nm und der CIELAB-Werte in Abb. 67 und Tab. 40 dargestellt.

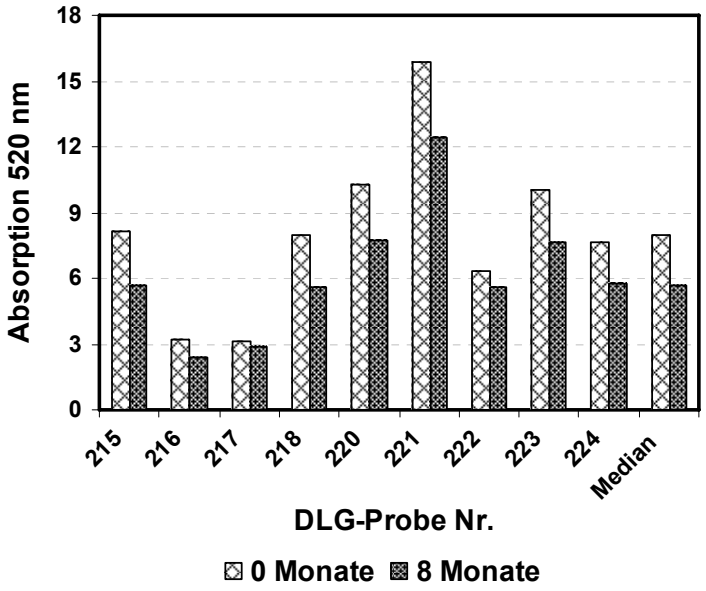


Abb. 67: Veränderung der Absorption bei 520 nm vor und nach achtmonatiger Lagerung von schwarzen Johannisbeernektaren, bezogen auf 1 cm Lichtweg.

Tab. 40: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität (Σ420+520+620 nm) und CIELAB-Werte der Handelsproben schwarzer Johannisbeere vor und nach acht Monaten Lagerung. Die Werte sind auf den Lichtweg von 1 cm bezogen.

		420 nm	520 nm	620 nm	FI	L*	a*	b*	° Hue Angle	Chroma
0 Monate Lagerung	**Median**	3,67	7,97	0,70	12,34	21,8	54,4	56,7	46,8	78,5
	Minimum	1,70	3,15	0,26	5,11	13,7	45,6	48,6	36,8	67,9
	Maximum	6,32	15,83	1,15	23,29	39,3	64,9	64,4	47,8	87,9
8 Monate Lagerung	**Median**	3,32	5,64	0,65	9,60	23,2	55,5	55,7	45,0	78,0
	Minimum	1,66	2,38	0,28	4,31	15,5	47,8	44,8	35,9	71,0
	Maximum	5,50	12,44	1,03	18,97	40,0	62,0	60,3	47,7	85,3

Während der Lagerung nimmt die für Anthocyane typische Absorption bei 520 nm von 7,97 auf 5,64 Absorptionseinheiten ab und auch hinsichtlich der Farbintensität lässt sich ein großer Verlust von 12,34 auf 9,60 verzeichnen. Wie die roten Traubensäfte werden auch die schwarzen Johannisbeernektare nach der achtmonatigen Lagerung heller (Zunahme des L*-Wertes). Während sich der Median der a*-, b*-Werte sowie Hue Angle° und Chroma nicht ändern, fällt bei der Betrachtung von Maximum und Minimum des b*-Wertes auf, dass sich dieser für die einzelnen Proben verringert und sich die Farbe damit in Richtung blau verschiebt. Auch bei der Betrachtung der Farbe wird die geringere Schwankungsbreite der Proben nach der Lagerung ersichtlich.

Die höhere Absorption bei 520 nm von Probe Nr. 221 sowohl vor als auch nach achtmonatiger Lagerung steht im Einklang mit dem höheren Gehalt an Anthocyanen und Monomerindex im Vergleich zu den anderen Proben. Eine Sensorik wurde mit diesen Proben nicht durchgeführt,

allerdings stehen die Ergebnisse der analytischen Farbmessung eng im Zusammenhang mit der optischen Betrachtung der Nektare, deren Farbe ein mattes rot mit einem sehr leichten Braunstich aufwies.
Da es sich bei der Lagerungsstudie der schwarzen Johannisbeere im Rahmen dieser Arbeit um Direktsäfte handelte, können die Daten nicht direkt miteinander verglichen werden. Im Rahmen der DLG-Prüfung des Jahres 2004 wurden die Anthocyangehalte (HPLC 57-230 mg/L) und Monomerindices (4-16) ebenfalls bestimmt, deren Werte liegen in einem ähnlichen Bereich wie die des Jahres 2005. Die Gehalte sind für Nektare der schwarzen Johannisbeere sehr gering, eine vorausgegangene Alterung könnte hierfür als Erklärung in Betracht gezogen werden.
Die Abnahme der Schwankungsbreite während der Lagerung zeigt, dass sich die Säfte bzw. Nektare mit der Lagerdauer immer weniger stark unterscheiden. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der Lagerungsstudien der roten Traubensäfte. Zu Beginn der Lagerung unterschieden sich diese in fast allen untersuchten Parametern (Farbe, Monomerindex, Anthocyangehalt etc.), während –in Abhängigkeit von der Lagertemperatur- die Werte gegen Ende der Lagerung in einem ähnlichen Bereich lagen.

4.5 VERSUCHE ZUR FARBSTABILISIERUNG IN BUNTSÄFTEN

4.5.1 COPIGMENTIERUNG

Sowohl die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse als auch frühere Arbeiten [u.a. Rommel et al. 1992, Cemeroglu et al. 1994, Kirça und Cemeroglu 2003] zeigen das Problem der Farberhaltung in Buntsäften deutlich. Mit der Veränderung der Farbe geht auch die Veränderung der Anthocyane einher. Diese Beeinflussung der Qualität ist für die Fruchtsaftindustrie nach wie vor ein großes Problem. Mit dem Versuch der Farbstabilisierung in Buntsäften oder Rotweinen haben sich bereits verschiedene Arbeitsgruppen auseinander gesetzt [u.a. Rein und Heinonen 2004, Darías-Martin et al. 2001]. Ein wesentlicher Punkt ist dabei der Effekt der Copigmentierung. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss verschiedener farbloser Phenole auf die Farbe von Buntsäften untersucht.

4.5.1.1 MODELLVERSUCH 1

Zunächst wurden die in der Literatur [Darías-Martin et al. 2001, Bloomfeld et al. 2004] bereits favorisierten farblosen Phenole Kaffeesäure, *p*-Coumarsäure und Chlorogensäure sowie Catechin in einem ersten Modellansatz getestet. Die Konzentrationen der getesteten Substanzen waren wie folgt: 50 mg/L Cya-3-glc und 250 mg/L Copigment. Es ergeben sich somit Verhältnisse von Anthocyan : Copigment von 1 : 5 bzw. in Kombinationsproben mit 2 Copigmenten 1 : 10 . Die Proben wurden bei 20 °C unter Lichtausschluss über einen Zeitraum von 185 Tagen gelagert.
Die Ergebnisse dieses ersten Modellansatzes sind für ausgewählte Copigmente in Abb. 68 dargestellt und ausgedrückt als Farberhaltung [%] auf der Basis der Farbintensität FI (Farberhaltung [%] = $Farbintensität_1$*100/$Farbintensität_0$; Farbintensität = Σ 420 nm + 520 nm + 620 nm) (Versuchsansatz siehe Kapitel 7.14.1.1).

Während der Lagerung bei 20 °C nahm in allen Proben die Farbintensität ab. Die verschiedenen Copigmente beeinflussten diese Farbabnahme unterschiedlich. Die Phenolcarbonsäuren Kaffeesäure, Chlorogensäure und *p*-Coumarsäure zeigten einen farbstabilisierenden Effekt. Insbesondere bei Zusatz von *p*-Coumarsäure nahm die Farbintensität FI nur auf bis zu 65 % des Ausgangswertes im Vergleich zum reinen Cyanidin-3-glucosid (36 %) ab. Hingegen destabilisierte der Zusatz von Catechin die Farbe, der Farbverlust betrug hier 72 %. Dieser destabilisierende Effekt überwiegt auch in Gegenwart der farbstabilisierenden Phenolcarbonsäuren Chlorogensäure (68 % Farbverlust) und *p*-Coumarsäure (72 % Farbverlust). Dieses Ergebnis stimmt mit dem von Darias-Martín et al. [2001] überein, die nach Zugabe von Catechin zu Rotwein ebenfalls eine schlechtere Farbstabilität gemessen haben.
Hyperchrome (farbverstärkende) Effekte wurden in keiner der mit Copigmenten angereicherten Proben im Vergleich zu Cyanidin-3-glucosid festgestellt. Allerdings traten für Kaffeesäure und *p*-Coumarsäure Verschiebungen der Absorptionsmaxima zu kürzeren Wellenlängen λ_{max} auf. Möglicherweise werden hier neue Reaktionsprodukte auf der Basis des Anthocyanidins und der Phenolcarbonsäure gebildet.

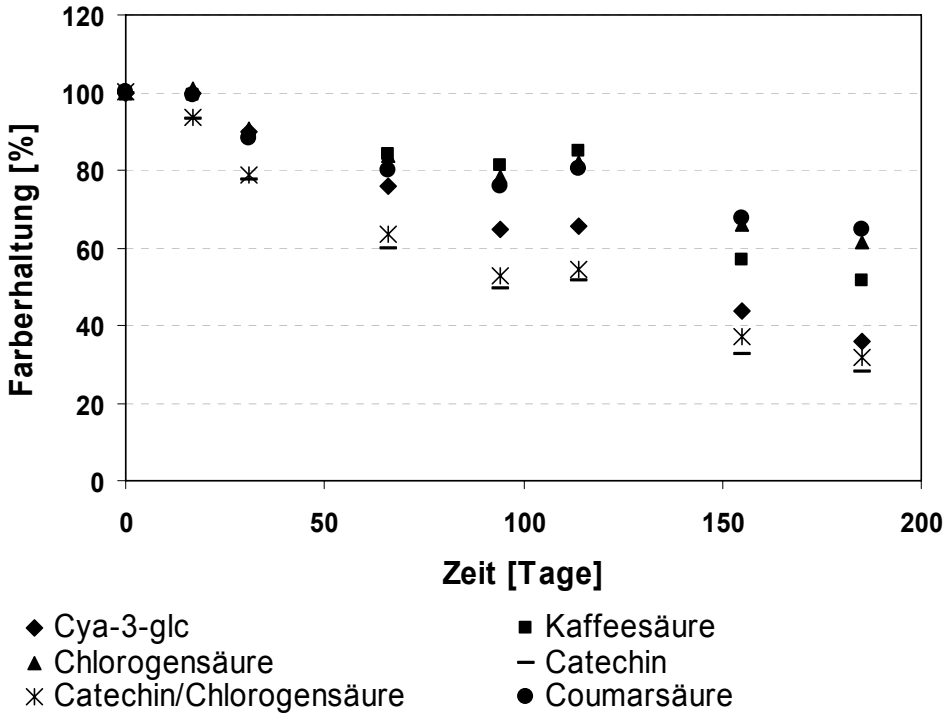


Abb. 68: Die Farbentwicklung von Cya-3-glc ohne und mit Zusatz von Copigmenten über eine Lagerdauer von 185 Tagen. Dargestellt ist die Änderung der Farbintensität FI [%] bei einer Lagertemperatur von 20 °C.

Die Farbintensität FI sowie die CIELAB-Werte zu diesem Versuch sind in Tab. 41 zusammengefasst.

Tab. 41: CIELAB-Werte des Modellansatzes 1 zur Copigmentierung nach 0 und 185 Tagen Lagerung bei 20 °C.

Anthocyan + Copigment	Lagerung [Tage]	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
Cya-3-glc	**0**	2,3	69,4	60,4	37,4	31,7	71,0
Cya-3-glc	**185**	0,8	82,0	35,0	15,1	23,3	38,1
+Kaffeesäure	**0**	2,4	66,7	63,8	34,8	28,7	72,7
+Kaffeesäure	**185**	1,3	76,4	43,9	24,0	28,6	50,0
+Chlorogensäure	**0**	2,4	67,7	62,4	35,9	30,0	72,0
+Chlorogensäure	**185**	1,5	73,3	52,1	20,8	21,7	56,0
+Catechin	**0**	2,4	68,4	62,0	36,3	30,3	71,8
+Catechin	**185**	0,7	86,2	26,0	17,3	33,6	31,2
+Chlorogensäure+Catechin	**0**	2,4	67,0	63,4	34,5	28,5	72,2
+Chlorogensäure+Catechin	**185**	0,8	83,9	31,0	18,1	30,3	35,9
+*p* -Coumarsäure	**0**	2,4	67,5	63,1	34,9	29,0	72,1
+*p* -Coumarsäure	**185**	1,6	74,6	47,1	40,2	40,5	61,9
+Chlorogensäure+*p* -Coumarsäure	**0**	2,4	66,5	64,5	33,3	27,3	72,5
+Chlorogensäure+*p* -Coumarsäure	**185**	1,5	73,6	49,4	32,2	33,1	59,0
+*p* -Coumarsäure+Catechin	**0**	2,4	66,7	64,1	34,1	28,0	72,6
+*p* -Coumarsäure+Catechin	**185**	0,7	85,8	26,4	19,4	36,3	32,8

Neben der Abnahme der Farbintensität FI lässt sich in allen Proben die Abnahme des gerade für anthocyanhaltige Proben wichtigen Rot-Anteils a* beobachten. Diese ist deutlich größer in Proben, die das farbdestabilisierende Copigment Catechin enthalten (z.B. Catechin von 62,0 auf 26,0 im Vergleich zu *p*-Coumarsäure von 63,1 auf 47,1). Hingegen begünstigt die Anwesenheit der Copigmente Kaffeesäure (43,9), Chlorogensäure (52,1) und *p*-Coumarsäure (47,1) wiederum eine Stabilisierung des Rot-Anteils im Vergleich zu Cyanidin-3-glucosid (35,0). Die Helligkeit L* nimmt in allen Proben während der Lagerung zu, bei den bereits genannten Phenolcarbonsäuren aber weniger stark. Eine Verschiebung des Gelb-Anteils lässt sich am Verlauf des b*-Wertes erkennen, der den Blau-Gelb-Anteil repräsentiert. Dieser nimmt in Proben mit dem destabilisierenden Copigment Catechin stark ab. Bemerkenswert ist die Zunahme dieses Wertes von 34,9 auf 40,2 für *p*-Coumarsäure und die Konstanz für *p*-Coumarsäure / Chlorogensäure (33,3 bzw. 32,2).
Wie sich die Änderung von a* und b* zusammen auswirkt, zeigt der Hue Angle h°, der den Gesamtfarbeindruck verdeutlicht. Weitgehend behielten die Proben ihren roten Farbeindruck.
Die Abnahme der zu Beginn der Lagerung frischen und brillanten Farbe spiegelt die Größe Chroma C* wider. Der optische Farbeindruck stimmt gut mit der Abnahme dieses Wertes überein. Die Addition von Kaffeesäure, Chlorogensäure oder *p*-Coumarsäure reduziert diesen Verlust erheblich. Die blass bräunlich gefärbten Catechinproben wiesen wiederum eine deutlich größere Abnahme auf.

Aufgrund der gemessenen Verschiebung des Absorptionsmaximums λ_{max} zu kürzeren Wellenlängen wurde eine HPLC Analyse der Probe mit Kaffeesäure als Copigment durchgeführt.
In der Literatur wird die intra- und intermolekulare Copigmentierung voneinander unterschieden. Bei der intramolekularen Copigmentierung kommt es zu einer Neubildung einer kovalenten Bindung zwischen Anthocyan und Copigment [Dangles et al. 1993, Mazza und Brouillard 1990], während bei der intermolekularen Variante lediglich π-π-Wechselwirkungen oder schwache

hydrophobe Kräfte zwischen farblosen Flavonoiden oder Phenolen und Anthocyanen zu beobachten sind [Mazza und Brouillard 1990]. Es entstehen sowohl kovalente (Kondensations- und Polymerisationsreaktionen) als auch nicht kovalent gebundene Produkte (Assoziate und Komplexe), die häufig stabiler sind im Vergleich zu den ursprünglichen Molekülen.
Wie anhand des HPLC-DAD-Chromatogramms bei 520 nm zu erkennen ist (Abb. 69), entstehen mit Kaffeesäure als Copigment neue Substanzen, die im hinteren Teil der HPLC-DAD-Chromatogramme detektierbar sind. Es könnte sich hierbei um ein Beispiel für eine intermolekulare Copigmentierungreaktion handeln. Das PDA-Spektrum der entstandenen Substanz aus der Addition von Kaffeesäure weist ein anthocyanähnliches Spektrum mit einem Maximum bei 504 nm auf (im Vergleich zu Cyanidin-3-glucosid mit 514 nm). Dieses erklärt auch den in den Farbspektren gemessenen Shift zu kürzeren Wellenlängen. Eine weitere LC-MS-Analyse brachte keine weitere Aufklärung über die Struktur der neu entstandenen Substanz.
Mit Chlorogensäure als Copigment sind keine neue Substanzen (520 nm) erkennbar. Die mittels HPLC gemessene Konzentration von Chlorogensäure war nach Beendigung des Lagerversuches höher als für Kaffeesäure und *p*-Coumarsäure. Das Interessante hierbei ist, dass es zu einer deutlichen Farbstabilisierung in dem Vorversuch kommt, obwohl scheinbar keine kovalenten Bindungen eingegangen werden. Es müssen sich andere, nicht-kovalente Wechselwirkungen stabilisierend auf Cyanidin-3-glucosid auswirken. Dies ist somit ein Beispiel für eine intermolekulare Copigmentierungsreaktion. So ist auch die noch verhältnismäßig hohe Konzentration für den Anthocyanstandard von 22 mg/L (HPLC) sowie die Farbstabilität zu erklären. Vergleicht man die mittels HPLC gemessenen Anthocyankonzentrationen aus Experiment 1 und 3, so bestätigen sich die photometrischen Ergebnisse.

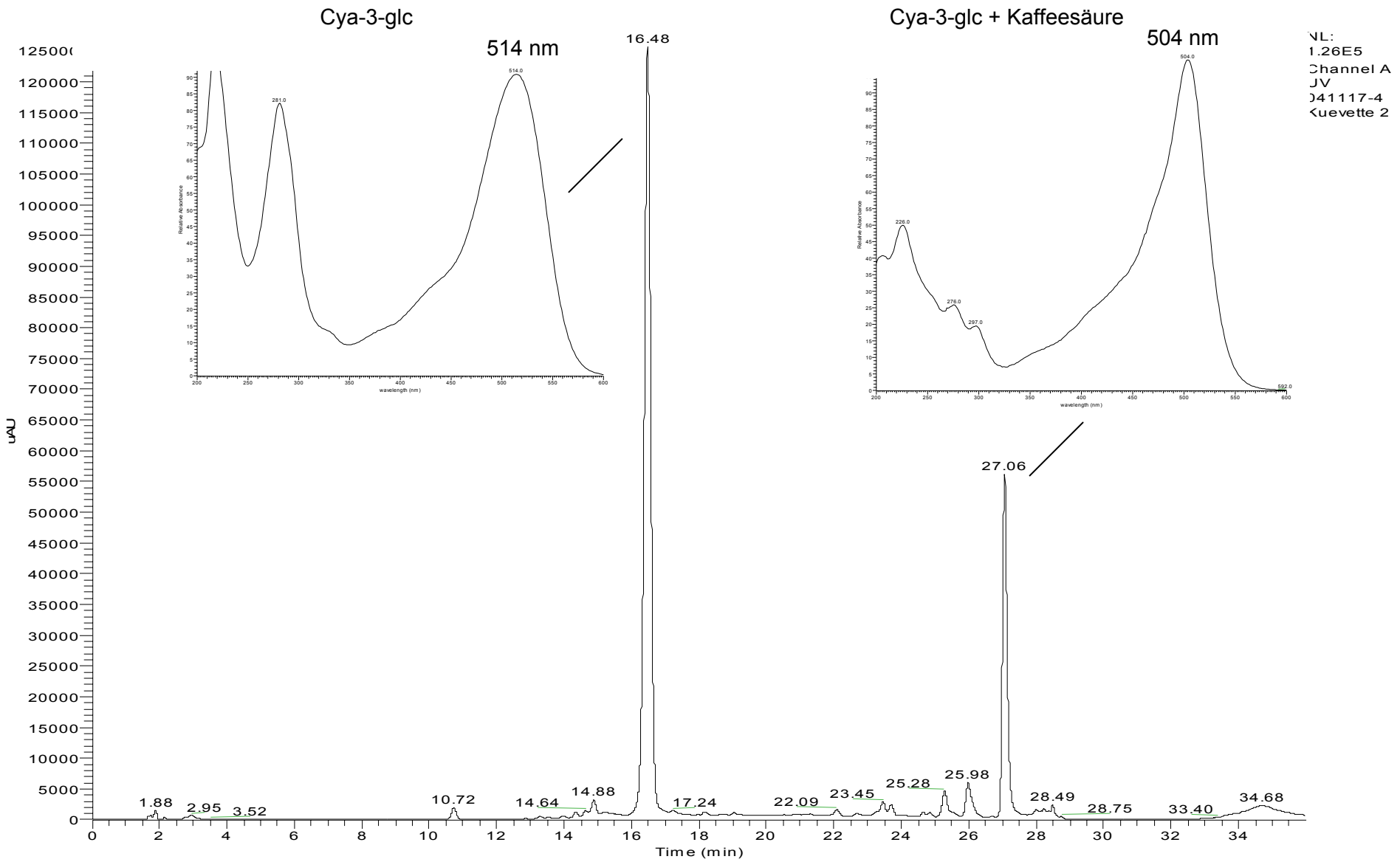


Abb. 69: HPLC-Chromatogramm (520 nm) Cyanidin-3-glucosid + Kaffeesäure + PDA-Spektren der Substanzen

Generell lässt sich festhalten, dass Cyanidin-3-glucosid durch Kaffeesäure, Chlorogensäure und *p*-Coumarsäure stabilisiert werden kann. Insbesondere durch Catechin nimmt hingegen die Farbintensität extrem schnell ab. Der durch Kaffeesäure entstandene Shift zu kürzeren Wellenlängen konnte auch durch HPLC-Analyse erklärt werden, die photometrisch gemessenen Daten stimmen gut mit den HPLC-Ergebnissen überein.

4.5.1.2 MODELLVERSUCH 2

In einem zweiten Versuchsansatz wurden die positiv wirkenden Copigmente Chlorogensäure, Kaffeesäure und *p*-Coumarsäure in verschiedenen Konzentrationen getestet. Das Verhältnis Anthocyan : Copigment betrug 1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 10 bzw. 1 : 20. Die Konzentration von Cyanidin-3-glucosid lag bei 50 mg/L (vgl. Kapitel 7.14.1.2). Die Farbintensität FI zu Beginn der Lagerung und die Farberhaltung [%] nach 134 Tagen Lagerung dieses Ansatzes zeigt Abb. 70.

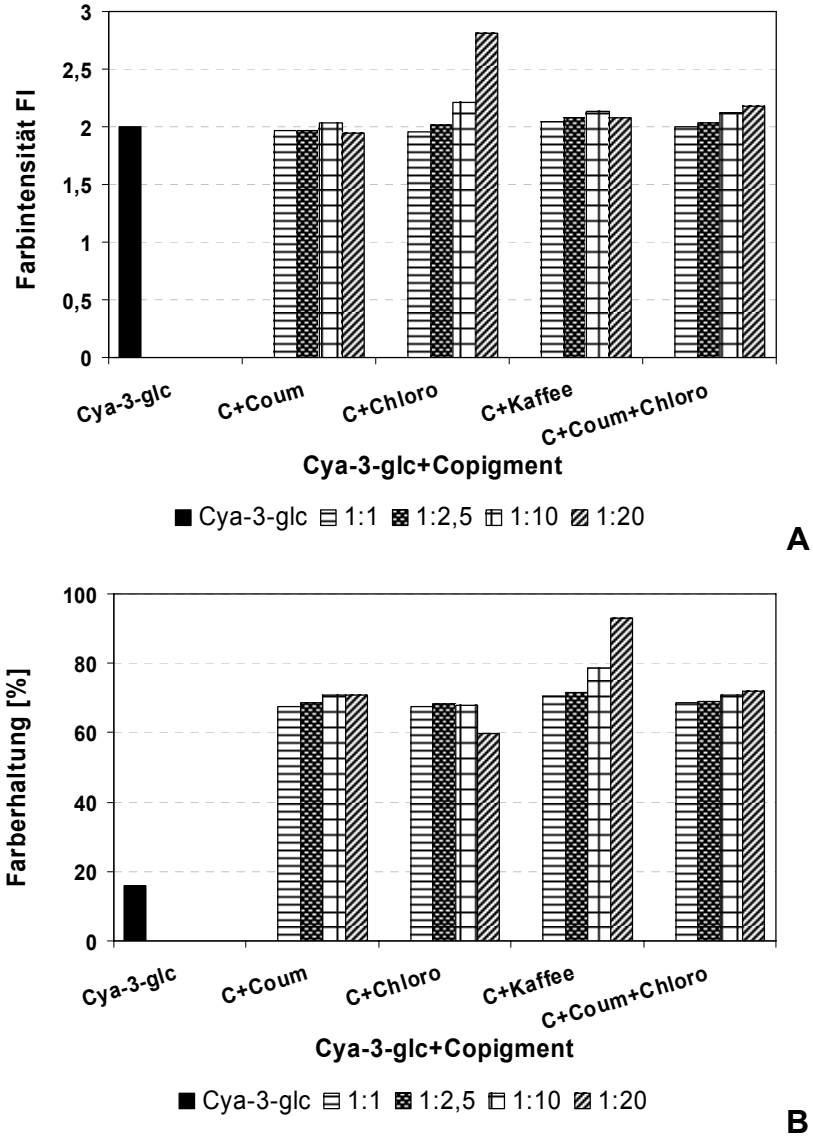


Abb. 70: Farbintensität FI zu Beginn des Copigmentierungsversuches (A) und Farberhaltung [%] nach 134 Tagen (B) bei einer Lagertemperatur von 20 °C. Die Werte sind auf 1 cm Lichtweg bezogen.

Bei der Betrachtung der beiden Grafiken lässt sich erkennen, dass ein im hohen Verhältnis (1:20) eingesetztes zunächst farbintensivierendes Copigment wie Chlorogensäure nicht gleichzeitig mit der größten Farbstabilisierung einhergeht. Diese entfällt mit einer Farberhaltung von 92 % auf Kaffeesäure in der gleichen Konzentration. Wie im ersten Modellversuch bereits beobachtet wurde, zeigen alle Copigmente in allen Konzentrationen einen farbstabilisierenden Effekt im Vergleich zu Cya-3-glc ohne Zusatz. Dieser Effekt ist allerdings unabhängig vom eingesetzten Verhältnis Anthocyan:Copigment mit Ausnahme von Kaffeesäure. Hier nimmt mit steigender Konzentration des Copigmentes auch die farbstabilisierende Wirkung zu. Bei Chlorogensäure ist sogar ein gegenteiliger Effekt zu beobachten, da für die höchste Konzentration die niedrigste Farberhaltung gemessen wurde. Dieses Ergebnis stimmt nicht mit denen von Eiro und Heinonen [2002] überein, die einen Anstieg der Absorption 520 nm mit steigenden Anthocyan:Copigment- Raten (1:10, 1:50, 1:100) mit Malvidin-3-glucosid als Anthocyan messen konnten. Auch Wilska-Jeszka und Korzuchowska [1996] beobachteten die lineare Zunahme der Absorption bei steigender Konzentration von Chlorogensäure in Erdbeersaft und Aroniasaft. Möglicherweise sind die in dieser Arbeit gewählten Verhältnisse für diesen Effekt zu niedrig. Weiterhin konnte auch der von derselben Arbeitsgruppe nachgewiesene Copigmentierungseffekt von Kaffeesäure, d.h. die erneute Zunahme der Absorption nach anfänglicher Abnahme, nicht nachgewiesen werden. Neben Bloomfield et al. [2003] und Darias-Martín et al. [2001, 2002], die für *p*-Coumarsäure und Kaffeesäure eine farbstabilisierende, jedoch keine farbintensivierende Wirkung zeigten, konnten auch Schwarz et al. [2005] nach Zusatz von Kaffeesäure, *p*-Coumarsäure und Rutin lediglich für das letztgenannte Copigment einen farbintensivierenden Effekt nachweisen.

4.5.1.3 MODELLVERSUCH 3

Die Zugabe weiterer farbloser Phenole in einem dritten Modellansatz mit Procyanidin B2, Ellagsäure, Phloretin, Phloridzin und Rutin (Quercetin-3-rutinosid)) zu Cyanidin-3-glucosid (vgl. 7.14.1.3) konnte in keinem der Fälle eine Stabilisierung der Farbe hervorrufen, obwohl einige Studien positive Effekte zahlreicher eingesetzter Copigmente postulieren [Mazza und Brouillard 1987]. Gonnet [1999] und Schwarz et al. [2005] stellten den positiven Effekt von Rutin als Copigment für Cyanidinderivate und Wein dar, die Rutinzugabe erhöhte sogar die Anthocyanextraktion in der Traubenmaische. Die Zugabe von Rutin zu Malvidin-3,5-diglucosid führte bei einem Copigment/Anthocyan Verhältnis von nur 2:1 zu einem zu längeren Wellenlängen hin verschobenen Shift (24 nm), die Absorption am Absorptionsmaximum nahm um bis zu 400 % von etwa 0,3 auf 1,2 Absorptionseinheiten zu [Baranac et al. 1996]. Procyanidinderivate führten in Abhängigkeit ihrer Konzentration in einer Oenin-Modelllösung zu hyperchromen Effekten, analog der hier durchgeführten Studie wurden keine neuen Substanzpeaks identifiziert [Berké und de Freitas 2005]. Nicht-kovalente (intermolekulare) Wechselwirkungen müssen die Farbstabilisierung bewirken. Da in der Studie von Berké und de Freitas Copigment-Anthocyanverhältnisse von 5:1 bis 40:1 untersucht wurden, könnte das hier verwendete 5:1 Verhältnis für die Copigmentierung mit Cyanidin-3-glucosid, aber auch die anderen Copigmente zu gering gewählt sein. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass höhere Copigment/Anthocyan-Verhältnisse im Saft durch Zugabe anderer Säfte oder Copigmente nicht erreicht werden können, zumindest unter Berücksichtigung des finanziellen Aspektes bzw. Phenolprofils der Säfte.

4.5.1.4 COPIGMENTIERUNG IN DER PRAXIS

Das Verschneiden von Buntsäften mit anderen Säften, die reich an farbstabilisierenden Copigmenten sind, hätte basierend auf den Vorversuchen eventuell zu einer Farbstabilisierung führen können. Zahlreiche Säfte wurden im Rahmen dieses Projektes als mögliche Verschnittpartner getestet, wobei lediglich ein Heidelbeersaft auch über längere Zeit farbstabilisierende Eigenschaften besaß [Bonerz 2007]. Alle anderen Säfte konnten neben der zu Beginn teils eingebrachten Eigenfarbe keine Stabilisierung bewirken und auch die Anthocyane wurden schneller abgebaut. Dieser schnelle Abbau der in anderen Säften stabilen Anthocyane unterstützt die These, dass nicht das Anthocyan und seine Struktur, sondern vor allem die Matrix des Saftes selbst die entscheidende Rolle bei dem Abbau spielt. Welche Inhaltsstoffe nun hierfür verantwortlich sind, ist noch ungeklärt. Ascorbinsäure, Proteine, Polysaccharide und auch farblose Phenole (vgl. schneller Farbabbau durch Catechinzugabe) sind als Ursache denkbar.

Ein weiterer Ansatz zum Erzielen einer besseren Stabilität farbinstabiler Säfte war die Zugabe von Polyphenolextrakten zur Erhöhung der Anthocyankonzentrationen. Nach der Zugabe von 2 g/L Sauerkirschextrakt zu Spätburgunder Traubensaft zeigte sich in diesem Vorversuch eine scheinbare Erhöhung der Farbstabilität. Die Farbe ist intensiver nach Zugabe des Extraktes und bleibt während der Lagerung ebenfalls im Vergleich intensiver. Eine deutliche Erhöhung der Farbstabilität selbst konnte nicht gemessen werden. Demzufolge sind eine Rohware mit hohen Anthocyangehalten und eine zügige und schonende Verarbeitung für stabile anthocyanhaltige Produkte unabdingbar, wobei selbst dieser Zusatz nur eine geringfügig bessere Stabilität liefert.

Es bleibt also nur die Zugabe höherer Dosen an farbgebenden Säften oder Farbextrakten aus anthocyanreichen Früchten und Gemüse zur Farbstabilisierung durch das Einbringen von hohen Anthocyankonzentrationen.

4.5.2 FARBSTABILISIERUNG DURCH HERABSETZUNG DES PH-WERTES

Eine weitere Möglichkeit der Farbstabilisierung wird in der Literatur durch Ansäuerung postuliert. Hierbei verschiebt sich das Gleichgewicht der Anthocyane auf die Seite der roten Flavyliumkationen. Damit geht gleichzeitig eine Stabilisierung der roten Farbpigmente einher [Markakis 1982]. Im Modellansatz wurde der pH-Wert Spätburgunder Traubensaft und schwarzem Johannisbeersaft einheitlich durch Zugabe von Zitronensäure auf pH 2 eingestellt.

Die Spektren von Spätburgunder Traubensaft vor und nach 57 Tagen Lagerung bei 25 °C sowie nach Zugabe von Zitronensäure sind in Abb. 71 dargestellt. Die Erhöhung der Absorption bei 520 nm nach Zugabe von Zitronensäure ist deutlich erkennbar. Die Absorption nimmt in beiden Fällen während der Lagerung ab, die Absorption bleibt im Ansatz mit Zitronensäure jedoch höher. Die Zunahme der Absorption bei 420 nm ist jedoch im letztgenannten Fall deutlich größer.

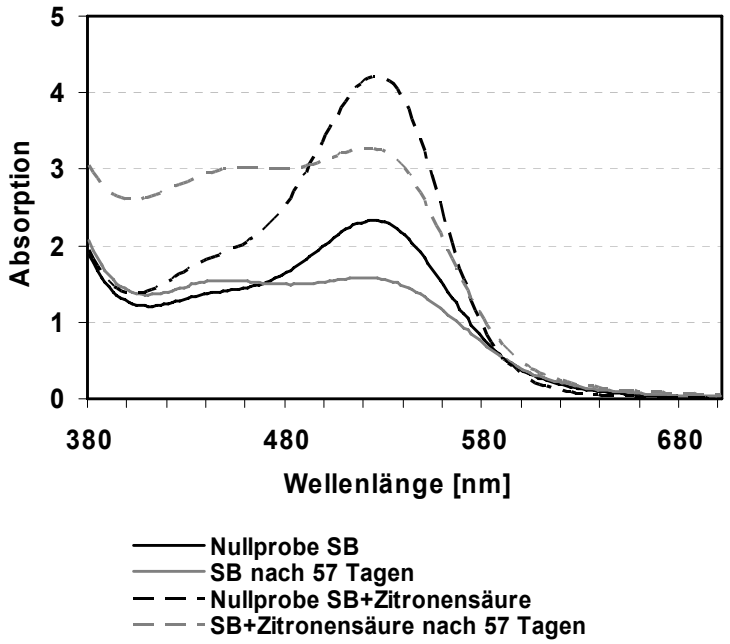


Abb. 71: Spektren von rotem Traubensaft cv. Spätburgunder (SB) nach 0 und 57 Tagen Lagerung bei 25 °C und mit Zusatz von Zitronensäure.

Auch die CIELAB-Werte unterliegen für beide Varianten deutlichen Veränderungen (Tab. 42). Der Rot-Anteil, repräsentiert durch den a*-Wert, nimmt in allen Proben ab, während eine Zunahme des Gelb-Anteils (b*-Wert) zu beobachten ist. Farbintensität FI und Farbsättigung sind in Anwesenheit von Zitronensäure deutlich größer, was im Einklang mit dem höheren Anteil an Flavyliumkationen in der Lösung steht.

Tab. 42: Absorption 520 nm, Farbintensität FI, L*, a*, b*, Hue Angle° und Chroma nach 0 und 57 Tagen Lagerung bei 25 °C von Spätburgunder und Spätburgunder mit Zusatz von Zitronensäure, bezogen auf 1 cm Lichtweg.

Spätburgunder	Zeit [Tagen]	520 nm	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
ohne Zitronensäure	0	2,32	3,75	45,4	65,7	38,9	30,6	76,4
	57	1,58	3,18	47,4	56,9	46,4	39,2	73,4
mit Zitronensäure	0	4,17	5,81	45,5	72,5	59,2	39,3	93,6
	57	3,28	6,24	40,0	65,2	75,6	49,2	99,8

Der Gehalt an Anthocyanen, dargestellt in Abb. 72 verdeutlicht, dass die Zugabe von Zitronensäure bzw. die damit verbundene Erniedrigung des pH-Wertes in rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder zu einer Stabilisierung der Anthocyane führt.
Für die Praxis ist dieser Ansatz jedoch nicht geeignet, da zum einen die pH-Werte des Ausgangsmaterials bereits sehr niedrig zwischen 3,12 und 3,14 lagen und zum anderen eine hohe Zugabe von Zitronensäure notwendig war, um einen pH-Wert von 2 zu erreichen. Darüber hinaus macht sich dies auch geschmacklich sehr stark bemerkbar, was besonders bei ohnehin schon sehr sauren Säften nicht erwünschenswert ist.

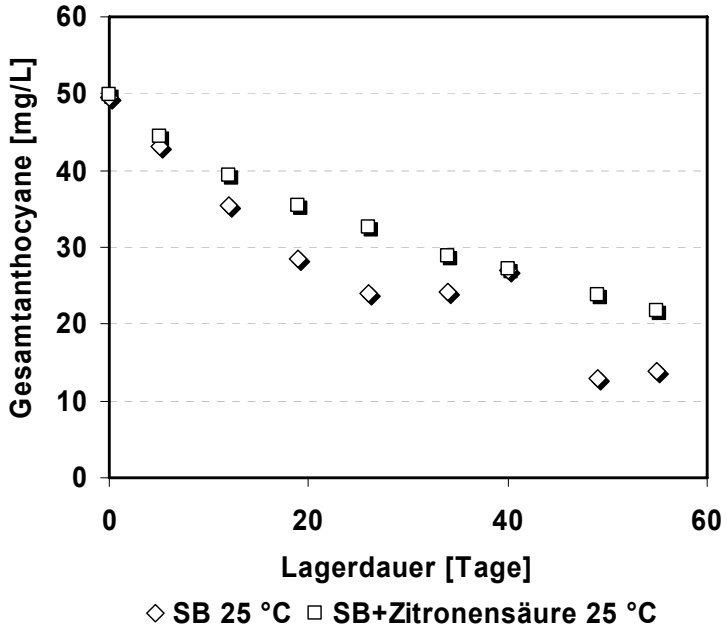


Abb. 72: Abnahme der Summe der Anthocyane in Spätburgunder Traubensaft und Spätburgunder Traubensaft + Zitronensäure innerhalb 57 Tagen Lagerung 25 °C.

Während sich einige farblose Phenole in Modellversuchen farbstabilisierend auf das Anthocyan Cyanidin-3-glucosid auswirkten, haben sich die verhältnismäßig geringen Konzentrationen in rotem Traubensaft nicht positiv bemerkbar gemacht. Die erst durch sehr hohe Dosen an Copigmenten (v.a. Hydroxyzimtsäuren) eintretende Farbstabilisierung ist folglich für die Praxis nicht realistisch und finanziell umsetzbar.

4.5.3 DER EINFLUSS VON ASCORBINSÄURE

Im Rahmen des Modellversuchs 1 (vgl. 4.5.1.1) wurde auch der Einfluss von Ascorbinsäure auf die Farbentwicklung untersucht. Häufig wird Ascorbinsäure als Antioxidans eingesetzt, um der Bräunung entgegen zu wirken.
Die Konzentrationen der getesteten Substanzen waren wie folgt: 50 mg/L Cya-3-glc, 250 mg/L Copigment und 62,5 mg/L Ascorbinsäure. Es ergeben sich somit Verhältnisse von Anthocyan : Copigment : Ascorbinsäure von 1 : 5 : 1,25 bzw. in Kombinationsproben mit 2 Copigmenten 1 : 10 : 1,25. Die Proben wurden bei 20 °C unter Lichtausschluss über einen Zeitraum von 185 Tagen gelagert.

Den im Vergleich zu allen anderen getesteten Substanzen größten farbdestabilisierenden negativen Effekt zeigte Ascorbinsäure (Abb. 73). Bereits nach 31 Tagen hatte in allen Ascorbinsäureproben das Absorptionsmaximum um mehr als die Hälfte abgenommen. Nach 94 Tagen Lagerdauer konnten außer für die Proben mit Phenolcarbonsäurezusatz keine eindeutigen Absorptionsmaxima mehr bestimmt werden. Lediglich für Kaffeesäure und *p*-Coumarsäure konnte zum Ende der Lagerung nach 185 Tagen eine Farberhaltung von 21 % bzw. 13 % gemessen werden. Der farbstabilisierende Effekt von Kaffeesäure *p*-Coumarsäure ist zu erkennen, demgegenüber dominiert jedoch der destabilisierende Effekt der Ascorbinsäure.

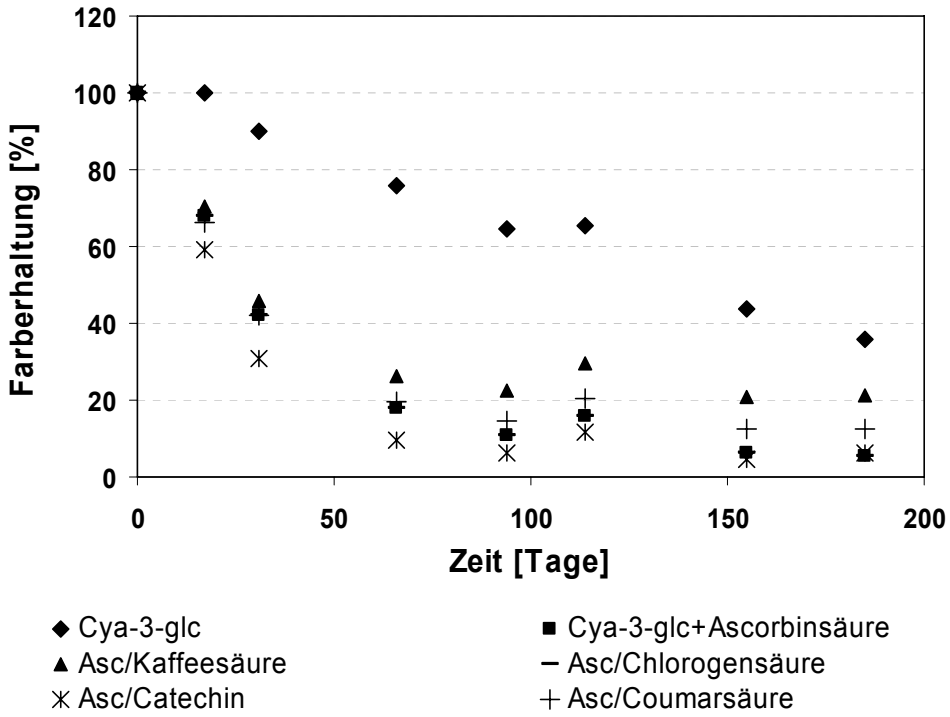


Abb. 73: Die Farbentwicklung von Cya-3-glc ohne und mit Zusatz von Copigmenten und Ascorbinsäure über eine Lagerdauer von 185 Tagen. Dargestellt ist die Änderung der Farbintensität FI [%] bei einer Lagertemperatur von 20 °C.

Der farbdestabilisierende Trend lässt sich auch in den CIELAB-Werten erkennen (Tab. 43)

Tab. 43: CIELAB-Werte des Modellansatzes 1 zur Copigmentierung mit Zusatz von Ascorbinsäure nach 0 und 185 Tagen Lagerung bei 20 °C.

Anthocyan + Copigment	Lagerung [Tage]	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
Cya-3-glc+Ascorbinsäure	**0**	2,28	69,3	60,2	37,1	31,7	70,7
Cya-3-glc+Ascorbinsäure	**185**	0,20	95,6	4,8	7,1	56,0	8,5
+Asc+Kaffeesäure	**0**	2,41	66,9	63,6	34,5	28,5	72,4
+Asc+Kaffeesäure	**185**	0,51	89,5	19,7	14,4	36,1	24,4
+Asc+Chlorogensäure	**0**	1,78	68,0	62,1	35,2	29,6	71,4
+Asc+Chlorogensäure	**185**	0,10	95,4	6,4	7,1	47,7	9,5
+Asc+Catechin	**0**	1,78	68,2	61,7	36,0	30,3	71,5
+Asc+Catechin	**185**	0,11	94,4	4,0	16,2	76,1	16,7
+Asc+Chlorogensäure+Catechin	**0**	1,84	67,1	63,5	34,8	28,7	72,4
+Asc+Chlorogensäure+Catechin	**185**	0,13	93,3	4,7	19,3	76,2	19,8
+Asc+*p*-Coumarsäure	**0**	1,83	67,3	62,7	34,5	28,8	71,6
+Asc+*p*-Coumarsäure	**185**	0,23	90,7	11,9	15,3	52,1	19,4
+Asc+Chlorogensäure+*p*-Coumarsäure	**0**	1,88	66,2	64,2	33,3	27,4	72,3
+Asc+Chlorogensäure+*p*-Coumarsäure	**185**	0,16	93,1	9,3	11,8	51,9	15,0
+Asc+*p*-Coumarsäure+Catechin	**0**	1,90	66,2	63,8	34,3	28,3	72,5
+Asc+*p*-Coumarsäure+Catechin	**185**	0,15	92,9	5,6	20,2	74,5	21,0

Eine deutlich stärkere Zunahme von L* lässt sich auch hierbei wieder in den Ascorbinsäureproben verzeichnen (> 89). Gravierende Abnahmen des Rot-Anteils sind in den Ascorbinsäureproben zu beobachten. Diese betragen bis zu 93 % (z.B. Chlorogensäure und

Catechin von 63,5 auf 4,7). Auch hier zeigt sich ein stabilisierender Effekt der Kaffeesäure, für die die Abnahme deutlich geringer (69 % von 63,6 auf 19,7) ist.
Eine Zunahme dieses Hue angles, zu beobachten für alle Ascorbinsäureproben, reflektiert eine Verschiebung des Gesamtfarbtons in den gelben Bereich. Auch hierbei konnte für die Catechin-Ascorbinsäureproben die stärkste Veränderung um bis zu 47,5° gemessen werden. Dieses Ergebnis stimmt gut mit der Farbintensität FI überein, die insbesondere für letztere starke Verluste verzeichnet. Hingegen bleiben die Proben ohne Ascorbinsäurezusatz weitgehend im „roten" Bereich (20°-40°). Die geringste Veränderung wurde für den Zusatz von Kaffeesäure gemessen (28,7° bzw. 28,6°). Die Größe Chroma C* spiegelt die Farbsättigung wieder: je größer der Wert, umso frischer und lebendiger wirkt eine Farbe. C* nimmt in allen Proben mit der Lagerdauer ab, wobei auch hier der Effekt in den Ascorbinsäureproben deutlich stärker ist. Die Addition von Kaffeesäure reduziert diesen Verlust. Die vorliegenden Ergebnisse korrelieren auch mit dem optischen Eindruck der Proben. Während die Proben, die weder Catechin noch Ascorbinsäure enthielten, auch nach einem halben Jahr Lagerung eine relativ frische rote oder rosa Farbe aufwiesen, waren die Catechin- und Ascorbinsäureproben blass und gelblich-braun gefärbt.

4.5.3.1 ZUGABE ZU SPÄTBURGUNDER TRAUBENSAFT

Aufgrund der Ergebnisse aus den Modellversuchen von Cyanidin-3-glucosid mit Ascorbinsäurezusatz wurde ein weiterer Ansatz mit Realmedien durchgeführt.
Ascorbinsäure ist ein Antioxidans, das in Säften häufig zugesetzt wird, um der Bräunung entgegenzuwirken. Bradshaw et al. [2001, 2003] zeigten, dass in Weinmodelllösungen, die (+)-Catechin enthalten, die Zugabe von Ascorbinsäure zu einer Beschleunigung der Bräunung führen kann. Im Rahmen des Modellversuches der vorliegenden Arbeit hatte bereits nach 31 Tagen in allen Ascorbinsäureproben die Absorption bei 520 nm um mehr als 50 % abgenommen. Dieser destabilisierende Effekt der Ascorbinsäure dominierte auch gegenüber der stabilisierenden Wirkung der Phenolcarbonsäuren. In Abb. 74 ist die Abnahme der Absorption von Cyanidin-3-glucosid (A) sowie in Anwesenheit von 250 mg/L Ascorbinsäure (B) innerhalb von drei Monaten dargestellt.

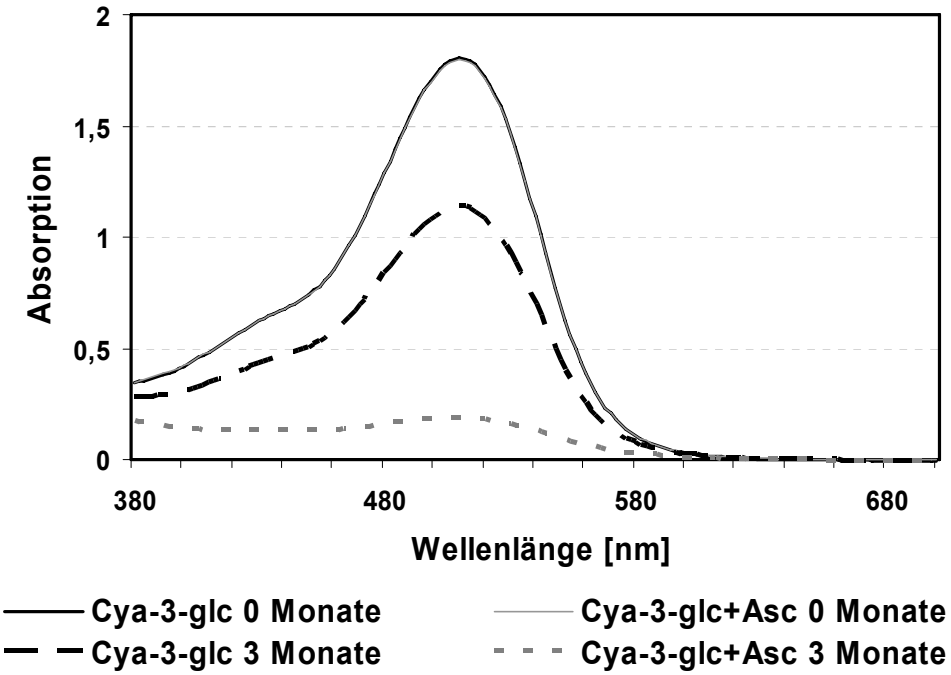


Abb. 74: Abnahme der Absorption der Modelllösungen Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-glucosid in Anwesenheit von Ascorbinsäure über die Lagerdauer von drei Monaten bei 20 °C. Der Verlauf der Nullproben war identisch.

In einem weiteren Modellversuch wurde der Zusatz von 250 mg/L Ascorbinsäure in Spätburgunder Traubensaft und schwarzem Johannisbeermuttersaft überprüft. Auch diese Proben wurden vergleichend ohne und mit Ascorbinsäure (in Schott-Glasröhrchen) unter Lichtausschluss über einen Zeitraum von 63 Tagen gelagert, lediglich die Lagertemperatur war etwas höher und lag bei 25 °C. Bei den verwendeten Säften handelte es sich um Proben, die bereits einmal pasteurisiert waren und für die Lagerung erneut bei 85 °C für vier Minuten pasteurisiert wurden.

In Tab. 44 sind zu diesem Versuch die Ergebnisse der Farbbetrachtung dargestellt. Die Ascorbinsäuregehalte lagen in der Nullprobe bei 160-165 mg/L, nach 63 Tagen Lagerung lag der Gehalt unterhalb der Bestimmungsgrenze (< 10 mg/L). Auf die Analyse der weiteren Parameter wird an dieser Stelle nicht eingegangen.

Es lässt sich erkennen, dass sich in Anwesenheit von Ascorbinsäure die Farbwerte deutlich schneller ändern, was insbesondere durch die Abnahme der Farbintensität (um 27 % im Vergleich zu 4 %) und die Zunahme der Helligkeit (L*-Wert, um 30 % im Vergleich zu 9 %) verdeutlicht wird. Die Veränderungen sind für den Traubensaft Spätburgunder des Jahrgangs 2004 größer (z.B. Abnahme der Farbintensität um 46 %), möglicherweise war dessen Alterung zu diesem Zeitpunkt weniger stark vorangeschritten und der Ascorbinsäureeinfluss daher stärker.

Tab. 44: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität FI (Σ420 nm+520 nm+620 nm) und CIELAB-Werte der Spätburgunder Traubensäfte 2003 und 2004 vor und 63 Tagen Lagerung bei 25 °C. Die Werte sind auf den Lichtweg von 1 cm bezogen.

	Lagerdauer	420 nm	520 nm	620 nm	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
Spätburgunder 2003										
ohne Asc	0 Tage	2,75	4,51	1,00	8,26	16,9	48,8	38,5	38,3	62,1
	63 Tage	3,34	3,66	0,91	7,91	18,5	48,6	47,6	44,4	68,1
mit Asc	0 Tage	2,61	4,40	0,95	7,95	17,9	50,0	37,6	36,9	62,6
	63 Tage	2,63	2,48	0,69	5,79	25,4	49,8	44,0	41,4	66,4
Spätburgunder 2004										
ohne Asc	0 Tage	1,21	2,27	0,18	3,66	46,1	65,8	37,8	29,9	75,8
	63 Tage	1,55	1,31	0,19	3,04	51,5	50,9	58,3	48,9	77,4
mit Asc	0 Tage	1,12	2,09	0,17	3,37	47,5	65,4	34,3	27,7	73,8
	63 Tage	1,06	0,62	0,13	1,81	67,7	27,1	44,1	58,4	51,8

4.5.3.2 VERARBEITUNG SPÄTBURGUNDER TRAUBENSAFT 2005 MIT ASCORBINSÄUREZUSATZ

Um den Einfluss auf die Farbe von Buntsäften zu überprüfen, wurde neben einer dreimonatigen Lagerung des Traubensaftes der Rebsorte Spätburgunder im Jahr 2005 eine Verarbeitungsstudie durchgeführt. Hierzu wurden zwei Traubensaftchargen hergestellt, in einer Charge wurden 200 mg/L Ascorbinsäure zugesetzt. Die Verarbeitungstechnologie war in beiden Fällen analog, gleiches gilt für die anschließende Lagerung der Säfte bei 4 °C, 20 °C und 37 °C unter Lichtausschluss über einen Zeitraum von drei Monaten (Abb. 75).

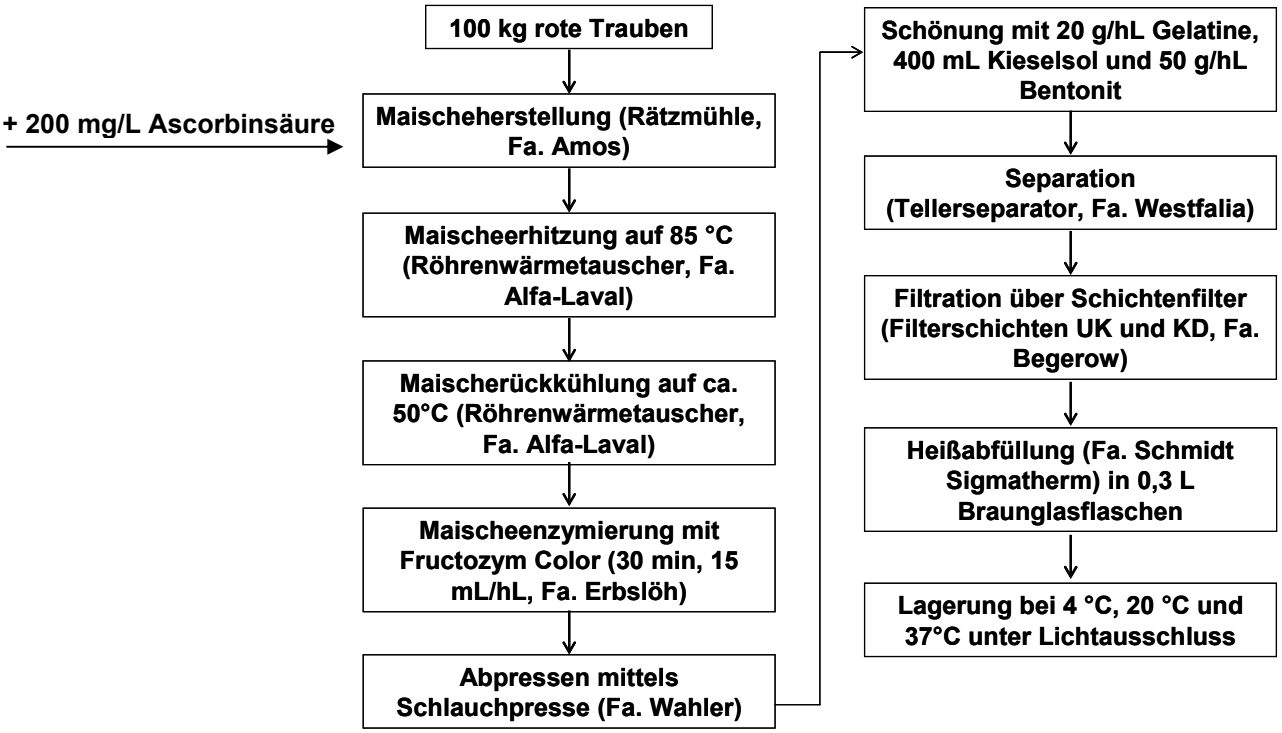
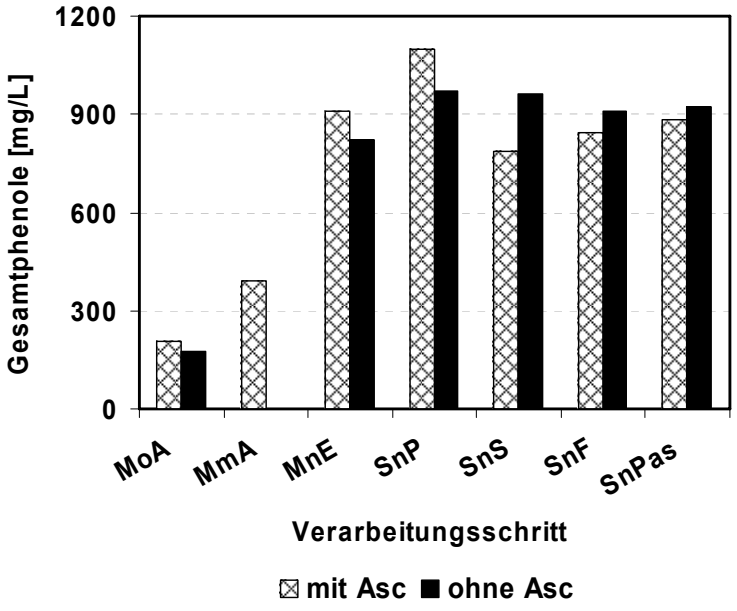


Abb. 75: Verarbeitungsschema Spätburgunder Traubensaft 2005. Die Ascorbinsäure wurde zur Maische zugesetzt.

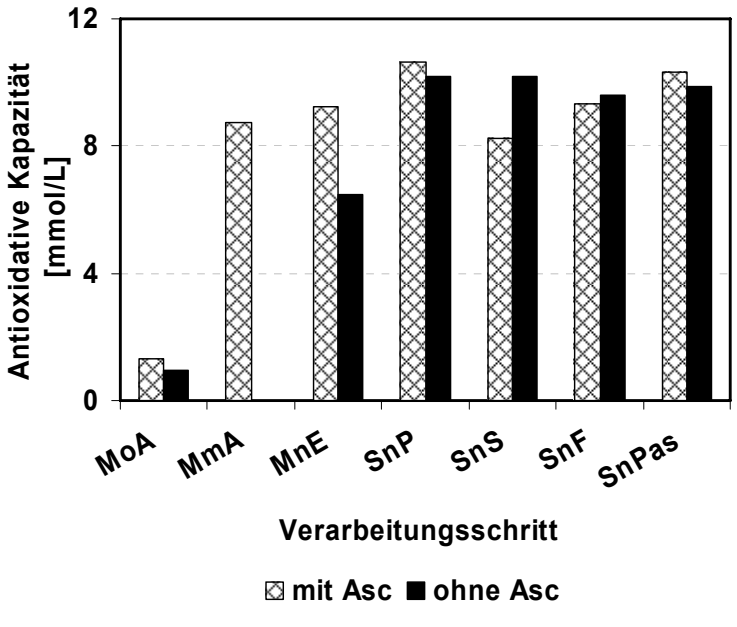
Der Einfluss von Ascorbinsäure auf Gesamtphenole, antioxidative Kapazität, Monomerindex, Anthocyangehalt (HPLC) und Farbe während des Verarbeitungsprozesses und der anschließenden Lagerung wurde untersucht. Zunächst soll auf die Unterschiede während der Herstellung der Säfte näher eingegangen werden. Für die Verarbeitungsschritte werden folgende Abkürzungen verwendet:

MoA - Maische ohne Ascorbinsäure, **MmA** - Maische mit 200 mg/L Ascorbinsäure, **MnE** - Maische nach Enzymierung, **SnP** - Saft nach Presse, **SnS** - Saft nach Schönung, **SnF** - Saft nach Filtration, **SnPas** - Saft nach Pasteurisation. Da die Proben unterschiedliche °Brix aufwiesen, wurden die Daten für eine bessere Vergleichbarkeit einheitlich auf 22,5 °Brix berechnet.

In Abb. 76 sind die Unterschiede des Gesamtphenolgehaltes und der antioxidativen Kapazität während des Verarbeitungsprozesses dargestellt. Die niedrigen Werte für die Maische vor Enzymierung sowohl ohne als auch mit Ascorbinsäure sind auf die Bestimmungsmethode zurückzuführen. Die Gehalte wurden direkt aus der Maische ohne vorhergehende Maischeextraktion gemessen. In der Schale gebundene Phenole werden hier daher nicht erfasst.



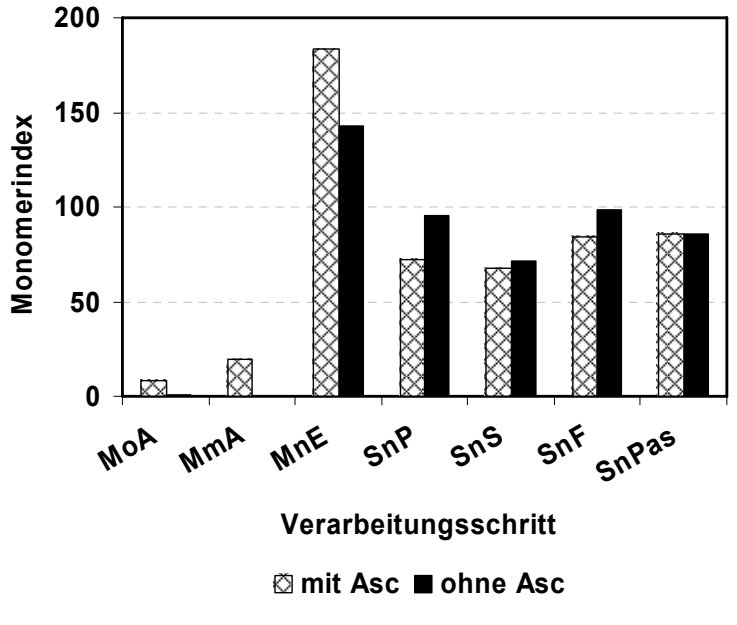
A



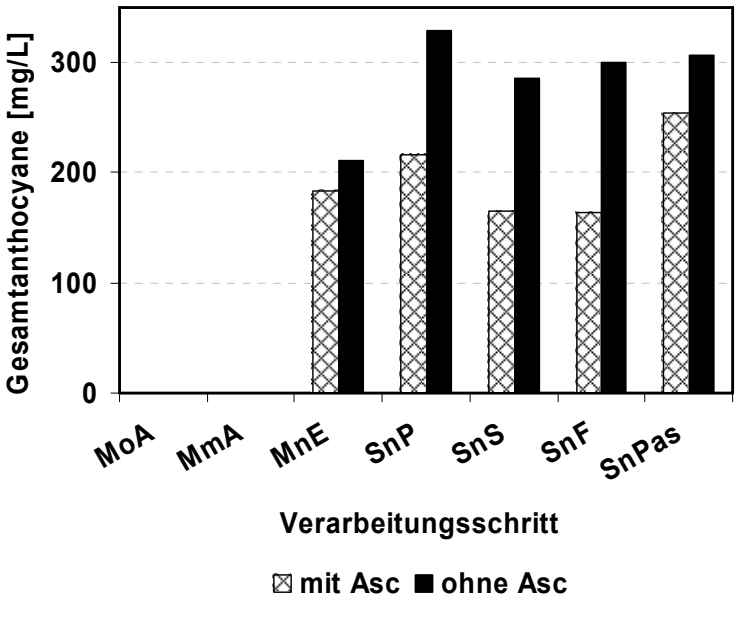
B

Abb. 76: Gesamtphenolgehalt (Folin, ber. als wasserfreies Catechin) (A) und Antioxidative Kapazität (TEAC, ber. als Troloxäquivalente) (B) im Verlauf der Verarbeitung von roten Trauben der Rebsorte Spätburgunder zu Saft, mit und ohne Zusatz von Ascorbinsäure (Asc). Die Werte beziehen sich auf 22,5 °Brix.

Sowohl Gesamtphenolgehalt als auch Antioxidative Kapazität nehmen nach Zugabe von Ascorbinsäure zu. Auch bei der TEAC-Methode wird die Ascorbinsäure als Antioxidans erfasst. Dies jedoch für die vorliegende Betrachtung nicht berücksichtigt. Eine erneute Zunahme ist nach der Maischeenzymierung und im Presssaft zu vergleichen, dies gilt sowohl für die Proben mit zugesetzter Ascorbinsäure als auch ohne. Während nach der Schönung in den Ascorbinsäureproben Gesamtphenolgehalt und Antioxidative Kapazität wieder abnehmen, bleiben die Werte in den Proben ohne Ascorbinsäure relativ konstant. Für die folgenden Verarbeitungsschritte sind wider erwarten nur geringfügige Veränderungen erkennbar.
Auch der Anthocyangehalt der Säfte hängt sehr stark vom jeweiligen Verarbeitungsschritt ab, was Abb. 77 sehr gut zeigt.



A



B

Abb. 77: Monomerindex (A) und Gesamtanthocyangehalt (HPLC, ber. als mg/L Mal-3-glc) (B) im Verlauf der Verarbeitung von roten Trauben der Rebsorte Spätburgunder zu Saft, mit und ohne Zusatz von Ascorbinsäure. Der Gesamtanthocyangehalt (HPLC) ist bezogen auf 22,5 °Brix.

Erst nach dem Verarbeitungsschritt der Maischeenzymierung können mittels HPLC-Analytik unabhängig von der Zugabe an Ascorbinsäure Anthocyane quantitativ nachgewiesen werden (180 mg/L mit bzw. 183 mg/L ohne Ascorbinsäure). Die zuvor noch in den Zellen gebundenen Anthocyane sind nun freigesetzt und im Saft als freie Anthocyane enthalten. Auch der Monomerindex nimmt an dieser Stelle von 18 auf 181 (mit Ascorbinsäure) bzw. 137 (ohne Ascorbinsäure) deutlich zu. Auffällig ist eine weitere Zunahme des Gesamtanthocyangehaltes nach dem Pressen, die in den Proben ohne Ascorbinsäure sehr viel stärker ist. Nach der Schönung reduziert sich der Gehalt an Anthocyanen und bleibt bis zur Pasteurisation auf einem nahezu konstanten Niveau. Schließlich verzeichnet sich eine leichte Zunahme an Anthocyanen durch die Pasteurisation in den Proben mit Ascorbinsäure. Die im Gesamtanthocyangehalt deutlichen Unterschiede zwischen den Säften mit bzw. ohne Ascorbinsäurezusatz werden im Monomerindex nicht ersichtlich, die Betrachtung der Extinktion der monomeren Anthocyane stellt dies besser dar (Abb. 78).

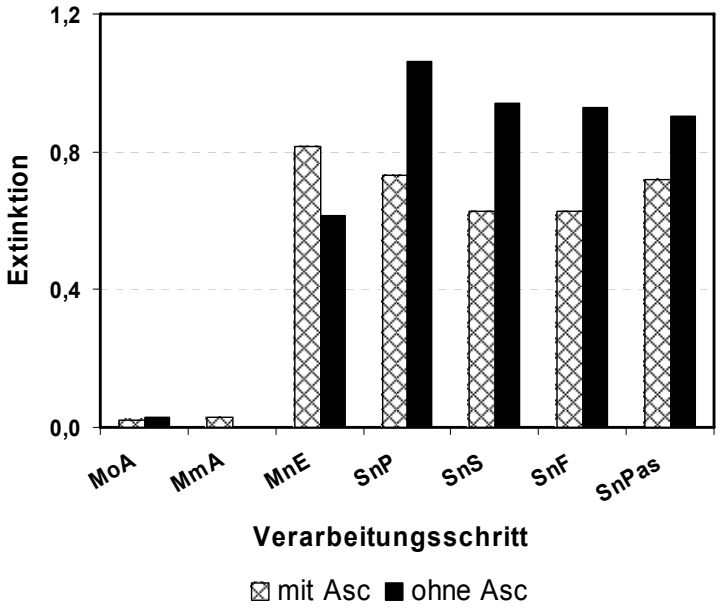


Abb. 78: Extinktion der monomeren Anthocyane

Die Veränderung der Farbe während der Herstellung der roten Traubensäfte lässt sich gut anhand der in Tab. 45 dargestellten Absorptionsmaxima für 420 nm, 520 nm und 620 nm sowie der CIELAB-Werte diskutieren.

Tab. 45: Absorption 420 nm, 520 nm, 620 nm, Farbintensität FI (Σ420 nm+520 nm+620 nm) und CIELAB-Werte der Verarbeitungsproben ohne sowie mit Ascorbinsäurezusatz. Die Werte sind auf den Lichtweg von 1 cm sowie auf 22,5 °Brix bezogen.

	420 nm	520 nm	620 nm	FI	L*	a*	b*	Hue Angle °	Chroma
Spätburgunder ohne Ascorbinsäure									
M	0,34	0,28	0,04	0,66	86,1	15,8	14,5	43,0	21,5
MnE	1,70	4,41	0,44	6,56	33,1	64,2	37,9	31,8	74,6
SnP	3,55	8,83	1,14	13,53	13,8	45,0	42,6	43,1	62,0
SnS	2,97	7,26	0,94	11,16	16,9	48,4	42,7	40,9	64,5
SnF	2,87	6,87	0,90	10,63	18,5	50,6	43,4	40,9	66,6
SnPas	3,15	7,43	0,98	11,56	16,4	48,0	43,1	41,9	64,5
Spätburgunder mit Ascorbinsäure									
MoA	0,42	0,30	0,05	0,77	87,1	14,7	19,6	55,1	24,5
MmA	0,26	0,50	0,03	0,79	84,4	34,2	4,3	7,6	34,5
MnE	2,07	5,73	0,59	8,38	26,3	58,6	41,7	36,0	71,9
SnP	2,46	6,39	0,73	9,58	23,1	56,0	43,8	39,3	71,1
SnS	2,08	5,11	0,59	7,78	26,5	58,4	40,3	35,4	70,9
SnF	2,33	5,17	0,64	8,14	27,5	60,7	45,0	39,2	75,6
SnPas	2,38	5,67	0,68	8,73	25,9	59,7	43,8	38,8	74,0

Der optische sehr helle blassrote Farbeindruck der Maische wird durch die niedrigen Absorptionen sowie die hohen L*-Werte (> 84), niedrigen a*- und b*-Werte (< 20) und die sehr geringe Farbsättigung (Chroma < 25) bestätigt. Die Enzymierung führt zu einer Zunahme der

violetten Farbe, ausgedrückt durch die starke Zunahme der Absorption bei 520 nm. Die Probe ist darüber hinaus dunkler, was die Abnahme des L*-Wertes verdeutlicht. Auffällig ist hierbei, dass die Probe ohne Ascorbinsäure nach der Presse nochmals dunkler wird und die Farbe bzw. Farbintensität weiter zunehmen. Die L*-Werte der Proben ohne Ascorbinsäure liegen zwischen 13,8 und 18,5, die der Proben mit Ascorbinsäure zwischen 23,1 und 27,5, im Vergleich sind sie heller. Auch die übrigen CIELAB-Werte weichen deutlich voneinander ab, der a*-Wert, der den Grün-Rot-Anteil repräsentiert, ist für die Proben mit Ascorbinsäure höher. Die Farbsättigung hingegen ist für Spätburgunder mit Ascorbinsäure höher, jedoch haben die weiteren Verarbeitungsschritte Schönung, Filtration und Pasteurisation im Verhältnis einen geringeren Einfluss auf die Farbe.

4.5.3.3 LAGERUNG SPÄTBURGUNDER 2005 MIT ASCORBINSÄUREZUSATZ

Nach Beendigung der dreimonatigen Lagerung der Spätburgunder Traubensäfte 2005 ohne und mit Zusatz von Ascorbinsäure wurden die Proben auf die Parameter Gesamtphenole (Folin), Antioxidative Kapazität, Monomerindex und Gesamtanthocyangehalt (HPLC) untersucht. Darüber hinaus wurde der Gehalt an Ascorbinsäure enzymatisch bestimmt, dieser lag jedoch bereits in der Nullprobe unterhalb der Bestimmungsgrenze (< 10 mg/L).
Die Veränderungen des Gesamtphenolgehaltes und der antioxidativen Kapazität nach dreimonatiger Lagerung sind in Tab. 46 dargestellt.

Tab. 46: Gesamtphenolgehalte (Folin) und antioxidative Kapazität (TEAC) von Spätburgunder Traubensaft ohne/mit Ascorbinsäurezusatz nach Lagerung über drei Monate bei 4 °C, 20 °C und 37 °C.

	Lagerdauer	Temperatur	Gesamtphenolgehalt [mg/L wasserfr. Catechin]	Antiox. Kapazität [mmol/L Troloxäquiv.]
Spätburgunder ohne Ascorbinsäure	**Nullprobe**		916	10
	3 Monate	**4 °**	875	9
	3 Monate	**20 °C**	884	9
	3 Monate	**37 °C**	924	9
Spätburgunder mit Ascorbinsäure	**Nullprobe**		842	8
	3 Monate	**4 °C**	782	8
	3 Monate	**20 °C**	771	9
	3 Monate	**37 °C**	787	8

Wie anhand der Ergebnisse der Verarbeitungsstudie bereits zu sehen war, unterscheiden sich die Gesamtphenolgehalte der beiden Nullproben nur geringfügig voneinander, dies gilt auch für die antioxidative Kapazität. Über den betrachteten Zeitraum treten weiterhin keine signifikanten Veränderungen bezüglich der beiden untersuchten Parameter auf.
Anders verhält es sich bei der Betrachtung der Anthocyane, wie Abb. 79 zeigt.

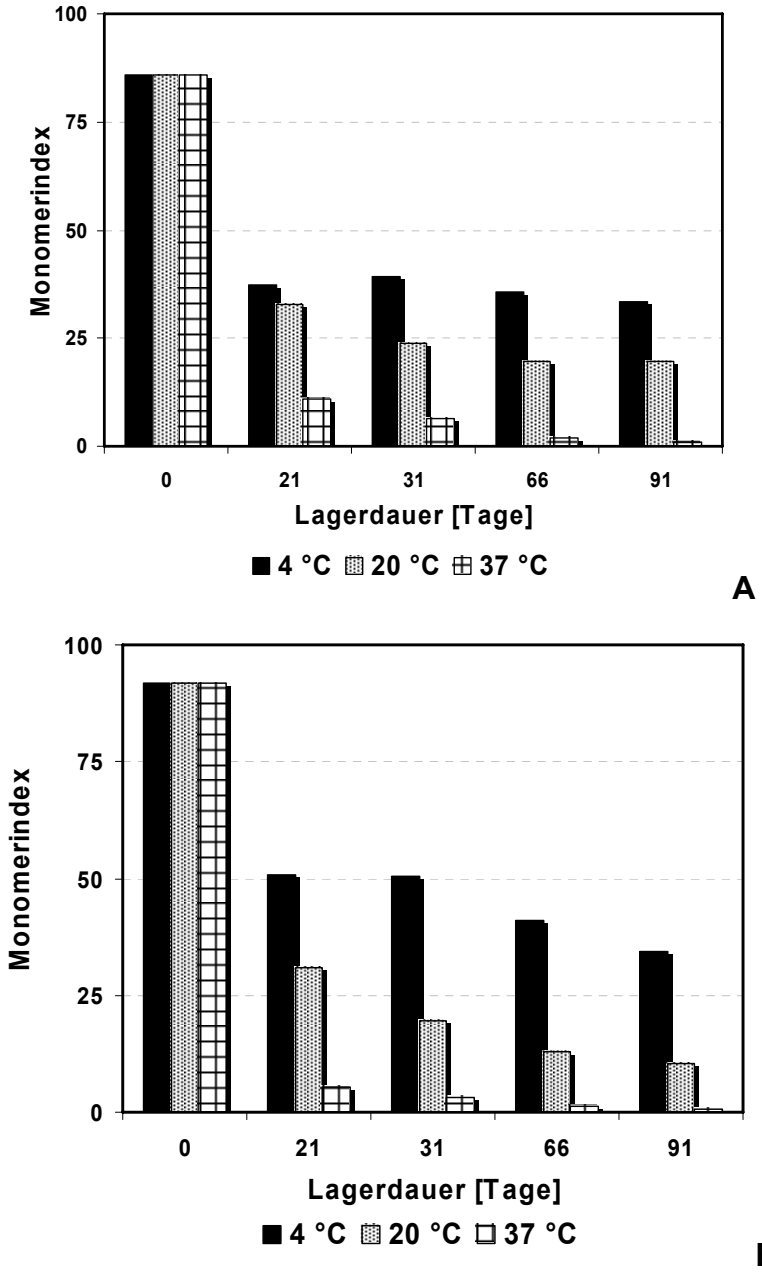


Abb. 79: Monomerindex während der Lagerung von Spätburgunder Traubensaft ohne (A) und mit Zusatz von Ascorbinsäure (B).

Zu Beginn der Lagerung ist der Monomerindex, das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen für Spätburgunder ohne Ascorbinsäure und Spätburgunder mit Ascorbinsäure 86 bzw. 88. Im Vergleich nimmt der Monomerindex bei der 4 °C Lagerung ohne Zusatz etwas schneller ab als mit Ascorbinsäure. Hingegen lassen sich für die 20 °C Lagerung keine großen Unterschiede feststellen. Bemerkenswert ist, dass in den zuvor bereits diskutierten Lagerungsversuchen die Abnahme des Monomerindex vor allem auf die Abnahme der Extinktion der monomeren Anthocyane zurückzuführen ist. In diesem Fall jedoch spielt insbesondere die Extinktion der polymeren Anthocyane eine Rolle, die in Traubensaft ohne Ascorbinsäure höher ist als mit Ascorbinsäure (Abb. 80).

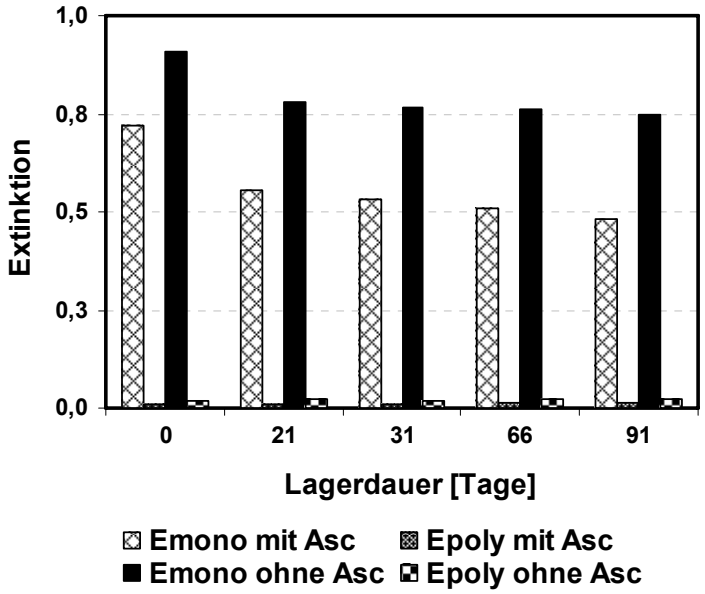
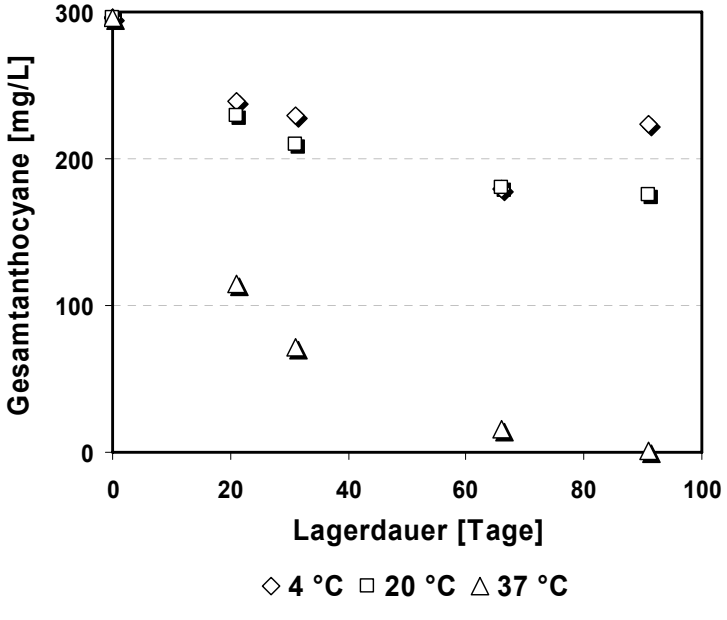


Abb. 80: Extinktion der monomeren (Emono) und polymeren Anthocyane (Epoly) mit und ohne Ascorbinsäurezusatz während der Lagerung bei 4 °C über drei Monate.

Auch wenn die Unterschiede zwischen der Extinktion der polymeren Anthocyane der Proben mit bzw. ohne Ascorbinsäurezusatz sehr gering erscheinen fallen genau diese durch die Bildung des Quotienten bei der Berechnung des Monomerindex stark ins Gewicht.
Indes ist die Extinktion der monomeren Anthocyane in den Proben ohne Ascorbinsäure deutlich höher, was wiederum mit dem in der folgenden Abb. 81 dargestellten Anthocyangehalt in Einklang steht.



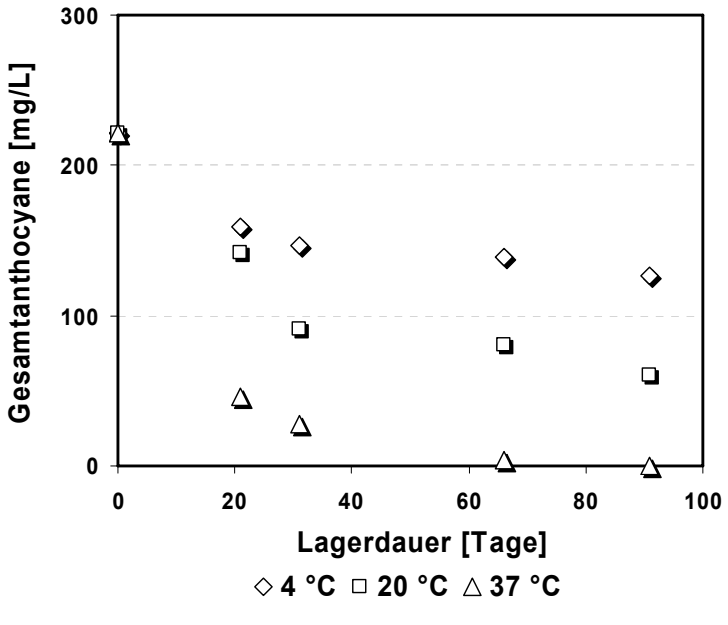


Abb. 81: Gesamtanthocyangehalt (HPLC, ber. als mg/L Mal-3-glc) während der Lagerung von Spätburgunder Traubensaft ohne (A) und mit Zugabe von Ascorbinsäure (B).

Hinsichtlich des Anthocyangehaltes sind bereits in den Nullproben (Spätburgunder Traubensaft ohne und mit Zugabe von Ascorbinsäure zu Beginn der Lagerung) Unterschiede feststellbar. Dieser ist deutlich geringer in Anwesenheit von Ascorbinsäure (297 mg/L oA, bzw. 221 mg/L mA). Nach drei Monaten Lagerung bei 20 °C lässt sich eine Abnahme auf 175 mg/L (oA) bzw. 61 mg/L (mA) feststellen, was einem Verlust von 41 % bzw. 73 % entspricht.
Auch bei der Betrachtung der Farbe werden analog zur Verarbeitung große Unterschiede deutlich. Dies ist aus Tab. 47 ersichtlich.

Tab. 47: Absorptionsmaxima und CIELAB-Werte während der Lagerung von Spätburgunder Traubensaft ohne und mit Zusatz von Ascorbinsäure. Nullproben: Proben mit/ohne Asc zu Beginn der Lagerung.

	Lagerdauer / Temperatur	420 nm	520 nm	620 nm	FI	L*	a*	b*	Hue Angle°	Chroma
Spätburgunder ohne Asc										
	Nullprobe	3,19	7,57	0,98	11,73	16,6	48,5	44,0	42,2	65,5
	21 Tage / 4 °C	2,70	6,14	0,85	9,69	19,3	51,3	42,1	39,4	66,3
	91 Tage / 4 °C	2,53	5,21	0,86	8,59	19,3	50,9	38,0	36,7	63,5
	21 Tage / 20 °C	2,62	5,81	0,83	9,26	19,8	51,6	41,3	38,7	66,1
	91 Tage / 20 °C	2,39	4,18	0,84	7,41	19,7	50,6	33,7	33,7	60,8
	21 Tage / 37 °C	2,70	5,95	0,88	9,53	18,6	50,5	40,4	38,7	64,7
	91 Tage / 37 °C	2,41	2,66	0,77	5,84	22,9	48,0	34,3	35,6	59,0
Spätburgunder mit Asc										
	Nullprobe	2,20	5,24	0,63	8,06	24,8	56,3	41,1	36,1	69,8
	21 Tage / 4 °C	1,80	3,87	0,51	6,18	28,9	59,2	35,1	30,7	68,8
	91 Tage / 4 °C	1,76	3,35	0,49	5,59	29,9	59,1	33,5	29,6	68,0
	21 Tage / 20 °C	1,88	3,38	0,53	5,78	28,5	58,2	34,4	30,6	67,6
	91 Tage / 20 °C	1,88	2,23	0,50	4,60	31,6	54,9	34,8	32,4	65,0
	21 Tage / 37 °C	2,08	2,39	0,61	5,08	27,7	51,4	35,2	34,4	62,3
	91 Tage / 37 °C	2,12	1,81	0,52	4,45	35,1	45,1	44,3	44,5	63,2

Der optische Farbeindruck der Proben unterschied sich nach der Lagerung in Abhängigkeit von der jeweiligen Lagertemperatur deutlich. Generell wiesen die Proben mit Ascorbinsäure eine wesentlich weniger leuchtende Farbintensität auf, die begleitet war von einer schneller einsetzenden Bräunung. Im Vergleich dazu waren die Proben ohne Ascorbinsäurezusatz tiefer violett und dunkler. Dies spiegelt sich beispielsweise im Absorptionsmaximum bei 520 nm, das für die Nullprobe ohne Ascorbinsäure einen Wert von 7,57 annimmt und für die Nullprobe mit Ascorbinsäure 5,24. Für beide Proben wird innerhalb von drei Monaten eine temperaturabhängige Abnahme des Maximums beobachtet. Bei 20 °C liegt diese für die Probe ohne Ascorbinsäure bei 45 % (4,17), für die Probe mit Ascorbinsäure sogar bei 57 % (2,23). Den optischen Eindruck bezüglich der Helligkeit bestätigt der L*-Wert, der für die Nullproben 16,6 (ohne Ascorbinsäure) bzw. 24,8 (mit Ascorbinsäure) beträgt und während der Lagerung in Abhängigkeit von der Temperatur zunimmt. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Proben ist bei der Betrachtung der L*-Werte für die 20 °C Lagerung zu sehen. Während nach 91 Tagen die Probe ohne Ascorbinsäure noch im Bereich der 4 °C Lagerung und der Nullprobe liegt (19,7), ist die Probe mit Ascorbinsäure zu diesem Zeitpunkt bereits deutlich heller (31,6). Der a*-Wert, der in den Proben mit Ascorbinsäure etwas höher ist, unterliegt nur geringen Schwankungen mit Ausnahme der 37 °C Lagerung. Hier ist eine Abnahme von 56,3 auf 45,1 zu erkennen, einer Verschiebung des Grün-Rot-Anteils in Richtung grün. Die Werte für die Farbsättigung Chroma schwanken nur geringfügig für die niedrigen Temperaturen, nehmen aber bei der 37 °C Lagerung in beiden Fällen deutlich ab (von 65,5 auf 59,0 ohne Ascorbinsäure und 69,8 auf 63,2).

Der vorliegende Versuch hat gezeigt, dass sowohl während der Verarbeitung als auch während der Lagerung Einflüsse von Ascorbinsäure auf Farbe und Anthocyangehalt deutlich werden. Der Verlust von Anthocyanen während der Lagerung ist deutlich höher in Anwesenheit von Ascorbinsäure, indes nimmt das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen, ausgedrückt durch den Monomerindex, weniger schnell ab. Die Daten sollten generell kritisch betrachtet werden, da eventuell auftretende Unterschiede, beispielsweise der Gehalt an Anthocyanen der Nullprobe, der ohne Ascorbinsäure deutlich höher war, auch durch die Verarbeitung selbst herbeigeführt werden könnte. Es wurde sehr stark auf gleiche Maischestandzeiten, Temperaturen, Enzymierung etc. geachtet, ganz auszuschließen ist jedoch ein Verarbeitungseinfluss nicht. Aufgrund der guten Übereinstimmung, insbesondere der Lagerdaten, sollte jedoch ein möglicher Einfluss von Ascorbinsäure weiterhin untersucht werden. Obwohl die eingesetzten Konzentrationen in einem niedrigen Bereich lagen, könnten die Ergebnisse auf die prooxidative Wirkung der Ascorbinsäure zurückzuführen sein.

4.6 ABSCHLIEßENDE DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Lagerung der Buntsaftprodukte

Die Lagerung hat in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur einen erheblichen Einfluss auf die Qualität von Buntsaftprodukten. Als Qualitätsparameter wurden in dieser Arbeit die sensorischen Eigenschaften Farbe, Geruch und Geschmack sowie der Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen (farblose Phenole und farbgebende Anthocyane) ausgewählt. Da Verarbeitungsprozesse bereits einen erheblichen Einfluss auf die Konzentration von Phenolen haben [Skrede et al. 2000, Dietrich et al. 2003] wurde bei der Herstellung aller Buntsaftprodukte darauf geachtet, dass diese besonders schonend erfolgt (kurze Erhitzungsprozesse, keine langen Standzeiten bei hohen Temperaturen). Um den Einfluss der Lagertemperatur zu untersuchen, wurden die Buntsaftprodukte bei 4 °C, 20 °C und 37 °C über einen Zeitraum von 12 Monaten gelagert. Weil 4 °C und 20 °C durchschnittliche Lagertemperaturen auch für länger andauernde Lagerprozesse von Buntsaftprodukten sind, liegt im Folgenden der Schwerpunkt in der Betrachtung dieser Temperaturen. Die Lagertemperatur von 37 °C ist in der Praxis zwar nicht üblich, für die Berechnung der kinetischen Daten ist eine weitere Temperatur Voraussetzung.

Die Lagerung hatte bei allen untersuchten Säften und Konzentraten mit Ausnahme der 37 °C Lagerung keinen Einfluss auf den Gesamtgehalt an Phenolen (Folin) und die damit korrelierende Antioxidative Kapazität (TEAC) sowie die RSK-Parameter °Brix, Dichte, Zucker und Gesamtsäure. In schwarzer Johannisbeere wurde während der Lagerung eine Abnahme der Ascorbinsäurekonzentration gemessen. In Abhängigkeit von der Lagertemperatur betrug diese Abnahme bis zu 80 % innerhalb eines Jahres in Muttersaft. Die mittels HPLC bestimmte Summe an Phenolcarbonsäuren bei 4 °C und 20 °C in roten Traubensäften war während der Lagerung stabil, in Buntsaftprodukten der schwarzen Johannisbeere und Aroniabeere waren ab 20 °C deutliche Abnahmen zu verzeichnen (z.B. in schwarzem Johannisbeersaft von 82 mg/L um 25 % auf 62 mg/L). Eine deutliche temperaturabhängige Abnahme wurde in roten Traubensäften für die Flavan-3-ole Catechin und Epicatechin beobachtet. Nach einer Lagerzeit von 12 Monaten bei 4 °C betrug diese zwischen 15 % (cv. Spätburgunder 2003) und 53 % (cv. Rotberger 2003). Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der Bildung von Kondensationsprodukten aus den monomeren Hauptanthocyanen Malvidin-3-glucosid bzw. Peonidin-3-glucosid und Catechin bzw. Epicatechin, die nach Toyopearl Größenausschlusschromatographie und anschließender LC-MS-Analytik z.B. in Traubensaft cv. Spätburgunder identifiziert werden konnten. Diese Pigmente wurden bereits von Vivar-Quintana [2002] und Salas et al. [2003] in Rotwein und von González-Paramás et al. [2006] in Traubenschalen nachgewiesen. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen von Quast und Hillebrand [2006], die Kondensationsprodukte dieser Art isolieren und spalten konnten, geht man allerdings davon aus, dass sich im Verlauf der Lagerung die Oligomereneinheiten immer weiter erhöhen. Im Rahmen dieser Arbeit konnten lediglich die im Verhältnis von 1:1 (Anthocyan : Flavan-3-ol) aufgebauten Pigmente identifiziert werden. Die Bildung dieser Pigmente ist ein möglicher Abbauweg der Anthocyane und Flavan-3-ole während der Lagerung. In Buntsäften ist bei der Bildung dieser Pigmente von dem von Salas et al. [2003]

vorgeschlagenen Mechanismus (vgl. Abb. 25) auszugehen, bei dem eine direkte Kondensation zwischen Anthocyanen und Tanninen postuliert wird.

Das Phenolprofil ist generell frucht- und sortenabhängig, der Phenolgehalt frucht- und sortenabhängig sowie abhängig vom Jahrgang. Diese Unterschiede wirken sich wiederum auf die Stabilität der Buntsäfte aus, was am Beispiel der rebsortenreinen Traubensäfte deutlich wurde.
Beim Vergleich der rebsortenreinen Traubensäfte zeigte sich in allen Jahrgängen die Rebsorte cv. Dunkelfelder hinsichtlich ihres Gehaltes an Anthocyanen während der Lagerung am stabilsten. Diese Rebsorte hatte 2003 und 2004 zu Beginn der Lagerung den höchsten Anthocyangehalt (ca. 1500 mg/l Mal-3-glc, HPLC) und wies im Vergleich zur Rebsorte cv. Spätburgunder ein breites Spektrum an coumaroylierten und acetylierten Anthocyanen neben Anthocyanmonoglucosiden auf. Der Sorteneinfluss wurde in neuester Zeit ausführlich von Monagas et al. [2005] für Rotweine beschrieben und auch Mateus und De Freitas [2001] fanden unterschiedliche Stabilitäten für Portweine. Monagas et al. [2005] lagerten drei rebsortenreine Rotweine bei 13 °C über einen Zeitraum von 26 Monaten. In beiden Fällen wird die chemische Zusammensetzung der Matrix als ein möglicher Erklärungsansatz für die unterschiedliche Stabilität heran gezogen. Skrede et al. [1992] beschreiben als Einflussfaktor die Konzentration der Anthocyane. Die Ergebnisse ihrer Arbeit deuten darauf hin, dass höhere Anfangskonzentrationen zu einer besseren Stabilität führen und dass dies im Vergleich zum Anthocyanprofil der wichtigere Faktor ist. Im Rahmen dieser Arbeit war die Abnahme der Anthocyane im anthocyanreichen Dunkelfeldersaft in beiden Jahrgängen am langsamsten, dies bestätigt die Skrede et al. [1992] und von Monagas et al. [2005]. Die sehr hohe Konzentration kann zur Selbstassoziation der Anthocyane beitragen und so eine Stabilisierung ermöglichen.
Der Einfluss des Anthocyanprofils wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Während Wrolstad [2000] und Turker et al. [2004] eine höhere Stabilität von acylierten Anthocyanen nachwiesen, lagen die Halbwertszeiten in rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Dunkelfelder im Jahrgang 2004 mit 96 und 99 Tagen (Peo-3-acetylglc bzw. Mal-3-acetylglc bei 20 °C) unterhalb der nichtacylierten Verbindungen (z.B. Mal-3-glc 130 Tage). Dieses Ergebnis entspricht denen von Monagas et al. [2005] und Mateus und De Freitas [2001]. Die höhere Hydrolyseanfälligkeit von acylierten Verbindungen wird hier als möglicher Erklärungsansatz heran gezogen.

Vergleich von Konzentrat und Muttersaft

Der Konzentrierprozess hatte weder bei schwarzer Johannisbeere noch bei Aroniabeere einen deutlich negativen Einfluss auf den Gehalt der Anthocyane (HPLC). Die Nullproben der Konzentrate wiesen in beiden Fällen nach Rückverdünnung auf die entsprechende Saftstärke eine Konzentration an Anthocyanen (HPLC) auf, die im Bereich der des Muttersaftes lag (2659 mg/L in Muttersaft bzw. 2786 mg/L in Konzentrat der schwarzen Johannisbeere, 1160 mg/L in Muttersaft bzw. 1035 mg/L in Konzentrat der Aroniabeere). Dies zeigt, dass der Konzentrierprozess mittels Kletterfilmverdampfer sehr schonend erfolgte.
Beim Vergleich der Anthocyanstabilität von Muttersaft und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere und der Aroniabeere während der Lagerung wurden unterschiedliche Ergebnisse gemessen. Das Konzentrat der schwarzen Johannisbeere war bei allen Lagertemperaturen deutlich instabiler als der Muttersaft (z.B. 20 °C: $\tau_{1/2}$=154 Tage in Muttersaft

$\tau_{1/2}$=103 Tage im Konzentrat). Durch den Konzentrierprozess werden die Pigmente und auch die farblosen Phenole angereichert. Die Reaktion von Anthocyanen und anderen Inhaltsstoffen untereinander ist besser möglich, da die Dichte der Teilchen höher ist. Dies führt zu einer schnelleren Abnahme an Anthocyanen [Cemeroglu et al. 1994].
Auch das Konzentrat der Aroniabeere war bei 20 °C und 37 °C deutlich instabiler als der Muttersaft (20 °C: $\tau_{1/2}$=94 Tage für Muttersaft bzw. 69 Tage für Konzentrat), bei 4 °C hingegen zeigte sich eine höhere Stabilität ($\tau_{1/2}$=1389 Tage für Aroniakonzentrat bzw. $\tau_{1/2}$=920 Tage für Aroniasaft). Skrede et al. [1992] beschreiben eine Erhöhung der Stabilität durch Anreicherung von Anthocyanen. Diese Erklärung kommt hier allerdings weniger in Betracht, da dies dann auch für höhere Temperaturen gelten müsste. Gleiches gilt für die Wasseraktivität, die im Konzentrat zwar herabgesetzt ist und mit der eine Erhöhung der Stabilität einhergeht, aber diesen Unterschied nicht erklärt.
Im Vergleich zum Muttersaft weist das Konzentrat generell eine deutlich größere Viskosität auf, die mit Erniedrigung der Temperatur zunimmt. Die für eine Reaktion der Teilchen wichtige Bewegung ist im Konzentrat daher herabgesetzt. Die Teilchen erfahren eine Reibung, die bei niedrigen Temperaturen zunimmt. Bei Aronia könnte diese Reibung möglicherweise höher sein als bei schwarzer Johannisbeere, was zu einer höheren Stabilität bei 4 °C im Vergleich zu den anderen Temperaturen führt.

Alterungspigmente
In roten Traubensäften traten in Abhängigkeit von der Lagertemperatur deutliche Abnahmen an Flavan-3-olen auf, die zum Teil auf Anthocyan-Flavan-3-oladduktbildung zurückgeführt werden kann.
In der Rebsorte cv. Spätburgunder konnten beispielsweise nach zwölfmonatiger Lagerung bei 20 °C u.a. die Kondensationsprodukte aus Anthocyanen und Flavan-3-olen Peonidin-3-glucosid-(epi)-catechin, Malvidin-3-glucosid-(epi)-catechin und Peonidin-3-glucosid-ethyl-(epi)-catechin nachgewiesen werden. Die Bildung dieser Substanzen ist ein möglicher Abbauweg der Anthocyane während der Lagerung, die bereits von Salas et al. [2003] beschrieben wurde. In den Nullproben zu Beginn der Lagerung wurden diese Pigmente nicht identifiziert. Eine deutliche Zunahme an Syringasäure, Protocatechuesäure oder Vanillinsäure als Abbauprodukte von Cyanidin, Malvidin oder Peonidin [Fleschhut 2005], wurde in keinem der untersuchten Säfte nachgewiesen.
Von großem Interesse ist nach wie vor die Entstehung von höhermolekularen Oligomeren, die vor allem bei 20 °C und 37 °C gebildet werden. Die Polymerfraktion wurde im Rahmen dieses Projektes von Quast und Hillebrand [2006] nach High-Speed-Counter-Current-Chromatographie chemisch charakterisiert (u.a. Proteingehalt, Zuckeranteil). Der Polymeranteil in schwarzem Johannisbeermuttersaft, der auch in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, stieg nach zwölf Monaten Lagerung bei 20 °C von 30,9 % auf 57,6 %. Zu einem großen Teil bestanden die Polymeren aus Flavan-3-olen (z.B. Catechin, Gallocatechin), was im Einklang mit den in dieser Arbeit nachgewiesenen Kondensationsprodukten (z.B. Kondensationsprodukt aus Catechin und Delphinidin-3-glucosid in schwarzem Johannisbeermuttersaft) steht. Der von Quast und Hillebrand [2006] gemessene Polymerisationsgrad nach säurekatalysierter Degradation liegt bei durchschnittlich 10 Einheiten, was im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht näher untersucht

werden konnte. In welcher Form diese Polymerstrukturen aufgebaut sind, konnte nicht vollständig aufgeklärt werden.
Generell weisen die analytischen Methoden Veränderungen früher nach als die Sensorik. Farbänderungen in schwarzem Johannisbeernektar und roten Traubensäften wurden beispielsweise bei den 20 °C Lagerungen anhand der Spektren viel früher gemessen, als vom Betrachter optisch wahrgenommen werden konnten. Die Farbe des roten Traubensaftes cv. Spätburgunder wurde beispielsweise nach einem halben Jahr Lagerung bei 20 °C im Rahmen des DLG-5-Punkte-Schemas mit 4,5 von 5,0 Punkten ausgezeichnet, obwohl die Farbintensität FI bereits um 46 % abgenommen hatte.

Maßnahmen zur Eindämmung der Alterung
Die Alterung eines Buntsaftes beginnt nicht erst mit der Lagerung, sondern bereits bei der Auswahl von qualitativ hochwertiger anthocyan- und polyphenolreicher Rohware. Ausgangsprodukte mit einer höheren Anthocyankonzentration gewährleisten eine gute Qualität von Beginn an. Die anschließende Verarbeitung sollte schonend erfolgen, d.h. bei niedrigen Temperaturen und, sofern möglich, unter Sauerstoffausschluss, damit Oxidationen weitgehend vermieden werden. Hohe Temperaturen und lang andauernde Erhitzungsprozesse führen schnell zum Verlust von Anthocyanen, die besonders empfindlich gegenüber Temperatureinflüssen sind. Ebenso wird dabei die Bildung von bräunenden Maillardprodukten gefördert. Lange Maischestandzeiten begünstigen einerseits die Ausbeute an sekundären Inhaltsstoffen andererseits kann es hierbei bereits zu ersten Verlusten an Anthocyanen kommen. Enzyme wie Polyphenoloxidasen oder Peroxidasen sollten möglichst frühzeitig bei der Verarbeitung deaktiviert werden, um die Oxidation von Phenolen zu *ortho*-Chinonen zu verhindern. Die anschließende nicht enzymatische Polymerisation der *ortho*-Chinone kann zu Bräungspigmenten führen [Macheix et al. 2005]. Die Inaktivierung von Enzymen geschieht beispielsweise durch kurzzeitige Erhitzungsprozesse. Weiterhin begünstigt die Anwesenheit von Sauerstoff Oxidationsprozesse, der Ausschluss von Sauerstoff hingegen reduziert diese. Der Einfluss von Licht wurde in dieser Arbeit nicht untersucht, gilt in der Literatur aber als wesentlicher Faktor, der zur Begünstigung von Alterungsprozessen beiträgt [Markakis 1982]. Ebenso hat die Wahl des Verpackungsmaterials einen Einfluss auf die Alterung, da die Sauerstoffdurchlässigkeit von Material, Verschluss und der Beschichtung abhängig ist. Auch dieser Faktor wurde in dieser Arbeit nicht betrachtet.
Die Zugabe von technologisch notwendigen Hilfsmitteln zu Fruchtsäften wird durch die Fruchtsaftverordnung [2004] stark eingeschränkt. Im Rahmen der Möglichkeiten innerhalb dieser Verordnung wurden in dieser Arbeit Versuche zur Eindämmung der Alterung durch Copigmentzusätze durchgeführt. Der Zusatz von farblosen Phenolen als Copigmente erwies sich für Chlorogensäure, Kaffeesäure und *p*-Coumarsäure im Vorversuch in Modelllösungen als farbstabilisierend. Für die Praxis ist diese Variante nicht zu empfehlen, da sie sehr teuer und gleichzeitig wenig effektiv ist. Eine deutliche Farbstabilisierung wurde auch durch die Herabsetzung des pH-Wertes durch den Zusatz von Zitronensäure nicht erreicht. Außerdem wird durch zusätzliche Säuerung der ohnehin meist relativ sauren Buntsäfte der Geschmack der Säfte verfälscht. Die zur Vorbeugung der Bräunung von Apfelsäften bereits etablierte Ascorbinsäure hat sich bei anthocyanhaltigen Fruchtsäften nicht bewährt. Im Einklang mit bereits erschienenen Arbeiten [Bradshaw et al. 2003, Rosso und Mercadante 2007] wurde eine

schnellere Bräunung sowohl in Modelllösungen als auch in rotem Traubensaft gemessen, die auch in Anwesenheit von Copigmenten wie Chlorogensäure oder Kaffeesäure überwiegt. Welche Bräunungsprodukte dabei genau entstehen, ist nach wie vor unklar. Ascorbinsäure wirkt in hohen Konzentrationen als Prooxidans. Möglicherweise wird die Bräunung durch Bildung polymerer Strukturen, direkter Kondensation zwischen Anthocyanen und Ascorbinsäure [Poei-Langston und Wrolstad 1981], oder Bildung von Wasserstoffperoxid [Talcott et al. 2003] begünstigt. Von Bradshaw et al. [2001, 2003] wurde vermutet, dass nicht die Ascorbinsäure selbst, sondern ein Abbauprodukt der Ascorbinsäure die Bräunung induziert. Der Mechanismus ist nach wie vor nicht vollständig geklärt.

Eine weitere Möglichkeit der Farbstabilisierung besteht im Verschnitt mit anderen Fruchtsäften. Die so genannten Mehrfruchtprodukte wurden z.B. von der Firma Eckes bereits erfolgreich in den Markt eingeführt. Der Zusatz von Boysenbeere zum sehr farbinstabilen Blutorangensaft führte dabei zu einer Erhöhung der Farbstabilität. In dieser Arbeit wurden ebenfalls verschiedene Verschnitte von Fruchtsäften getestet. Allerdings führte der Zusatz von schwarzer Johannisbeere oder Aronia eher zu einer Farbzunahme durch Erhöhung der Anthocyankonzentration, eine deutlich bessere Farbstabilität konnte hingegen nicht beobachtet werden. Die aus wissenschaftlicher Perspektive beste Möglichkeit für die Eindämmung von Qualitätsverlusten ist die Lagerung bei etwa 4 °C. Dies gilt sowohl für Säfte als auch für Konzentrate, unabhängig von der Frucht. Innerhalb eines Jahres traten bei allen untersuchten Säften, Vorkonzentraten oder Konzentraten (vergleiche: Bonerz 2007) die wenigsten Veränderungen hinsichtlich Farbe, Geruch und Geschmack sowie sekundären Inhaltsstoffen auf.

Die ständige Kühlung der Produkte könnte allerdings zu einer sehr starken Kostenexplosion führen. Da die größten Veränderungen insbesondere zu Beginn der Lagerung entstehen, ist nicht nur die Lagerung im Supermarkt bei 4 °C zu empfehlen, sondern eine Kühlkette ab dem Zeitpunkt des fertigen Produktes. Dies zieht nicht nur hohe Anschaffungskosten für die Vielzahl an notwendigen Kühlregalen und ein erhöhtes Platzangebot mit sich. Auch der für die Kühlung sehr hohe Energieaufwand ist nicht nur aufgrund der hohen Kosten, sondern auch aus ökologischen Gesichtspunkten, vor allem im Rahmen der aktuellen Klimadiskussion nicht zu vernachlässigen. Darüber hinaus hat der Verbraucher meist für die Lagerung von Getränken nur ein geringes Platzangebot zur Verfügung, die optimale Qualitätserhaltung müsste aber auch die Empfehlung mit einschließen, das Produkt auch zu Hause im Kühlschrank zu lagern. Eine ständige Kühlung kann also nicht gewährleistet werden und ist nicht realistisch. Stattdessen sollte eine Einschränkung der Lagerzeit angestrebt werden um dem Konsumenten ein qualitativ hochwertiges Produkt zu garantieren.

Nach wie vor sind Verbraucher zu wenig informiert über Bedeutung und Unterschiede von Fruchtsaftprodukten und deren Wert im Rahmen einer gesunden und bewussten Ernährung. Zwar ist das Interesse an Herkunft und gesundheitsfördernden Aspekten von Lebensmitteln in den letzten Jahren stetig gestiegen, dennoch sollte insbesondere die Aufklärung über Qualität und Qualitätserhaltung von Naturprodukten weiter verbessert werden.

Die aus wissenschaftlicher Sicht empfohlenen Parameter zur Eindämmung von Alterungsprozessen sind in Tab. 48 zusammengefasst.

Tab. 48: Für die Praxis zu empfehlende Parameter zur Eindämmung von Alterungsprozessen

Zu empfehlende, positive Parameter	Nicht zu empfehlende, negative Parameter
Sehr gute Qualität der Rohware (reich an farblosen Phenolen und Anthocyanen)	Schlechte Qualität der Rohware
Niedrige Verarbeitungstemperaturen	Hohe Verarbeitungstemperaturen
Inaktivierung der Polyphenoloxidasen	Polyphenoloxidasen, die die Oxidation der Polyphenole begünstigen
Kurze Erhitzungsprozesse während der Verabeitung	Lange Erhitzungsprozesse während der Verarbeitung
Ausschluss von Sauerstoff während der Verarbeitung	Zufuhr von Sauerstoff während der Verarbeitung
	Zusatz von Ascorbinsäure
	Zusatz von farblosen Phenolen
Niedrige Lagertemperaturen (ca. 4 °C)	Hohe Lagertemperaturen
Lichtausschluss	Licht
Kurze Lagerdauer (wenige Monate)	Lange Lagerdauer
Lagerung als Direktsaft	

Prognosemodell und Empfehlungen für das Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD)

Vor dem Hintergrund der zu empfehlenden Parameter sollte ein Prognosemodell erstellt werden, mit dem sich Aussagen treffen lassen über die Entwicklung bestimmter Qualitätsmerkmale, nicht zuletzt hinsichtlich der Wahl des Mindesthaltbarkeitsdatums eines Saftes.

Auf der Grundlage der gemessenen Anthocyangehalte (HPLC) als wichtiger Marker für die Qualität eines anthocyanhaltigen Saftes wurde in dieser Arbeit ein Prognosemodell erstellt, mit dessen Hilfe sich Anthocyangehalte vorhersagen lassen. Die Berechnung eines solchen Modells gestaltete sich relativ schwierig. Wie bei den Lagerstudien der roten Traubensäfte gezeigt werden konnte, sind vor allem der Einfluss der Rebsorte und die Verarbeitung für die Stabilität der Anthocyane entscheidend. Die Übertragung solcher Prognosen von Frucht zu Frucht ist grundsätzlich nicht möglich und auch die Lagertemperatur ist bei der Betrachtung festgelegt und wird als konstant über den jeweiligen Zeitraum angenommen. Im Folgenden wird ein Prognosemodell für roten Traubensaft der Rebsorte cv. Dunkelfelder, basierend auf den gemessenen Anthocyangehalten (HPLC) der Lagerstudien von 2003 und 2004, vorgestellt. Für die Berechnung sind folgende Punkte relevant:

- Der Anfangsgehalt an Anthocyanen in dieser Rebsorte war in den Jahren 2003 und 2004 mit etwa 1500 mg/L vergleichbar. Auch die gemessenen Abnahmen an Anthocyanen (HPLC) über eine Lagerdauer von zwölf Monaten folgten einem ähnlichen Verlauf (vgl. Ergebnisteil Rote Traube).
- Die gemessenen Anthocyangehalte des Jahrgangs 2003 wurden logarithmiert und durch eine lineare Kurvenanpassung (SPSS) wurden Vorhersagewerte, Residuen und Konfidenzintervalle berechnet. In die daraus erhaltenen Regressionsgeraden (4 °C: y=-

0,0009x+7,2046; 20 °C: y=-0,005x+7,1773; 37 °C: y=-0,0321x+6,9322) wurden auf Basis des Anfangsanthocyangehaltes 2004 die Zeitpunkte [Tage] eingesetzt, an denen während der Lagerung 2004 Proben gezogen wurden. Die berechneten Werte (Prognosen) und die gemessenen Gesamtgehalte an Anthocyanen des Jahrgangs 2004 sind in Abb. 82 vergleichend dargestellt.

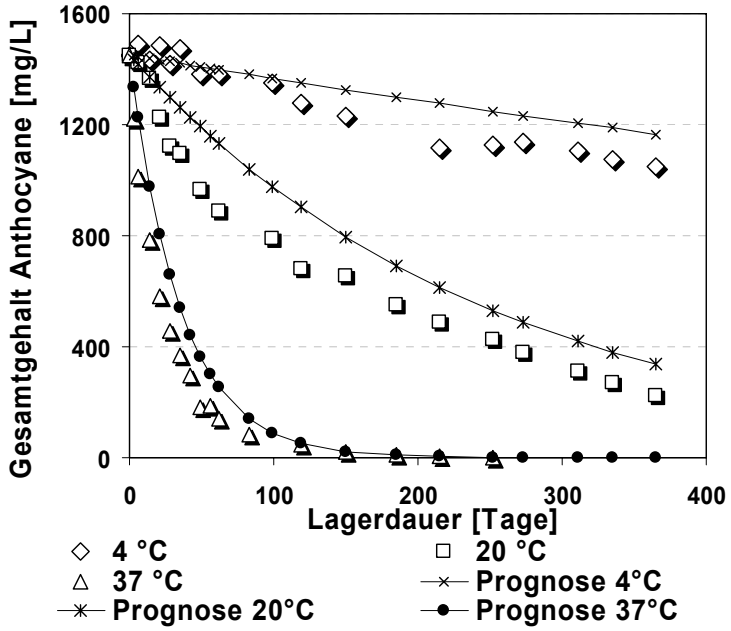


Abb. 82: Gesamtgehalt an Anthocyanen [mg/L Malvidin-3-glucosid, HPLC] von rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2004. Verlauf der gemessenen und anhand des Verlaufs des Jahrgangs 2003 prognostizierten Daten.

Die statistischen Daten geben Auskunft über die Güte und Qualität des Modells. In Abb. 83 sind exemplarisch für die 20 °C Lagerung neben den gemessenen (HPLC) und den berechneten (Prognosemodell) Anthocyangehalten die Konfidenzintervalle (als LN) dargestellt. Die Prognosen sind umso besser, je mehr gemessene und berechnete Daten gleichzeitig innerhalb des Konfidenzintervalls liegen. Im vorliegenden Beispiel liegen alle gemessenen Werte innerhalb des Konfidenzintervalls, während die anhand der linearen Regression des Jahrgangs 2003 berechneten Werte ab 91 Tagen außerhalb des Intervalls zu finden sind. Mit diesem Modell wäre somit für die Lagertemperatur von 20 °C eine Prognose für den Anthocyangehalt innerhalb der ersten drei Monate durchaus denkbar. Im vorliegenden Beispiel beträgt der Anthocyangehalt nach 91 Tagen Lagerung 792 mg/L (gemessen, HPLC) bzw. 976 mg/L (berechnet, Prognosemodell). Um ein Prognosemodell mit hoher Aussagekraft zu erstellen, z.B. um Mindestgehalte an Anthocyanen für Buntsäfte angeben zu können, sind jedoch weitere Messungen unumgänglich. Zum aktuellen Zeitpunkt wird auf der Basis der bisher erhaltenen Daten eine Deklaration des Mindestgehaltes an Anthocyanen eines Buntsaftes nicht empfohlen.

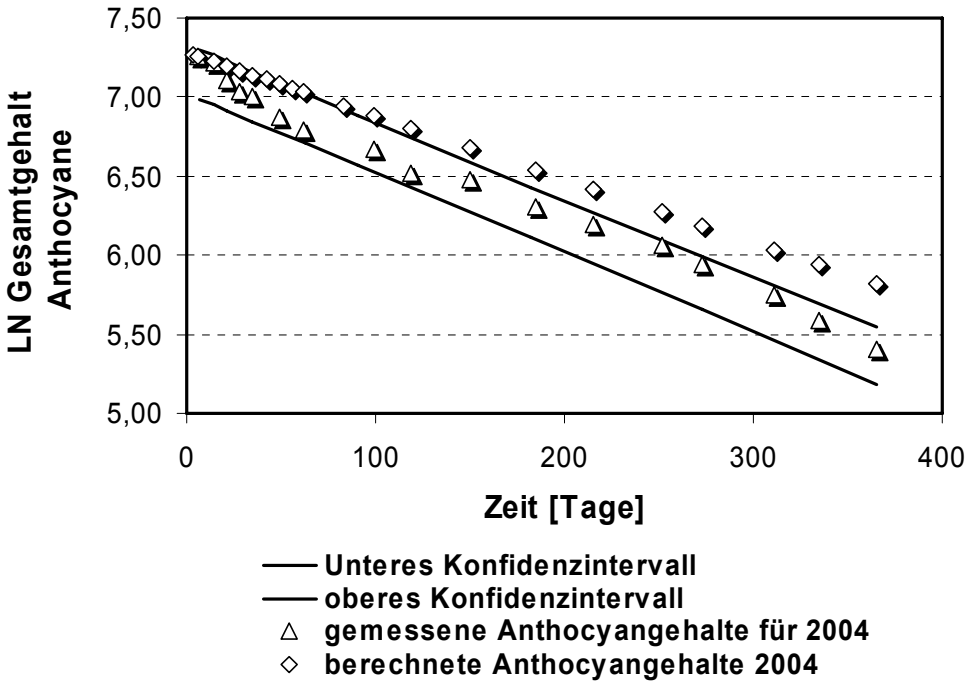


Abb. 83: Gemessene und berechnete Anthocyangehalte (LN) der Rebsorte cv. Dunkelfelder des Jahrgangs 2004 und dazu gehörige Konfidenzintervalle.

Grundsätzlich legen die Betriebe der Fruchtsaftindustrie die Mindesthaltbarkeitsdaten (MHD) für ihre Produkte selbst fest. § 7 Absatz 1 der Lebensmittelkennzeichnungsverordnung (LMKV) definiert das Mindesthaltbarkeitsdatum als dasjenige Datum, bis zu dem das Lebensmittel unter angemessenen Aufbewahrungsbedingungen seine spezifischen Eigenschaften behält. Aus wissenschaftlicher Perspektive sollten aufgrund der in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse die bisher angegebenen MHD´s für kommerzielle Buntsäfte von bis zu zwei Jahren oder länger neu überdacht werden. Es zeigte sich in allen gelagerten Buntsaft- und Buntsaftkonzentratproben eine deutliche Abnahme an sekundären Inhaltsstoffen (insbesondere der Anthocyane) in Abhängigkeit von der Temperatur. Auch die wichtigen sensorischen Qualitätsparameter Farbe, Geruch und Geschmack unterliegen Veränderungen während der Lagerung. Der Farbeindruck von rotem Traubensaft cv. Spätburgunder wurde nach einem Jahr Lagerung bei 20 °C zwar noch mit tiefviolett bezeichnet, die Farbintensität hingegen nahm im Vergleich zur Nullprobe ab. Im Geruch wurde eine Abnahme der Frische bemerkt, letztere war fast nicht mehr vorhanden, ebenso im Geschmack. Die fremdartige Note nahm auch hier zu und wurde mit metallisch, belegend und buttrig beschrieben. Die Untersuchungen der Handelsproben zeigten, dass noch vor Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums zum Teil nur geringe Konzentrationen an Anthocyanen (5-22 mg/L, HPLC) enthalten waren. Die Mindesthaltbarkeitsdaten dieser Proben lagen zum Teil bei mehr als zwei Jahren. Die Alterung der Proben war dabei abhängig von der Temperatur, der Frucht- bzw. Rebsorte, der Anfangskonzentration an Anthocyanen und von der Art (Direktsaft oder Konzentrat) des Produktes. Aufgrund der aus den Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse werden folgende Empfehlungen für das MHD an die Praxis gegeben (Tab. 49), die Vorschläge basieren auf die Entwicklung der Anthocyangehalte (Richtwert: Halbwertszeit $\tau_{1/2}$) während der Lagerung und auf die Veränderung der sensorischen Eigenschaften (rote Traubensäfte, schwarzer Johannisbeerdirektsaft).

Tab. 49: Empfehlungen für das Mindesthaltbarkeitsdatum ausgewählter Buntsaftprodukte.

	4 °C	20 °C
Rote Traube - Spätburgunder	max. 9 Monate	max. 3 Monate
Rote Traube - Rotberger	max. 9 Monate	max. 3 Monate
Rote Traube - Dunkelfelder	max. 12 Monate	max. 6 Monate
Schwarze Johannisbeere – Direktsaft	max. 18 Monate	max. 6 Monate
Schwarze Johannisbeere - Konzentrat	max. 18 Monate	max. 3 Monate
Aronia - Direktsaft	max. 18 Monate	max. 3 Monate
Aronia - Konzentrat	max. 24 Monate	max. 2 Monate

Bei den roten Traubensäften war die Rebsorte cv. Dunkelfelder sowohl hinsichtlich des Anthocyangehaltes als auch in der sensorischen Prüfung am stabilsten. Jedoch sollte auch hier bei einer Lagerung bei 20 °C eine Lagerdauer von sechs Monaten nicht überschritten werden. Etwas stabiler im Vergleich waren Direktsaft und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere, für die eine Lagerdauer von 18 Monaten bei 4 °C empfohlen wird. Große Unterschiede zeigen sich allerdings bei der Zunahme der Lagertemperatur auf 20 °C, wobei der Direktsaft etwas stabiler als das Konzentrat war. Die für schwarze Johannisbeere am besten geeignete Lagerung hinsichtlich der Anthocyanstabilität ist die als Vorkonzentrat, allerdings ist es aufgrund der mikrobiologischen Anfälligkeit als solches in der Praxis nicht lagerfähig. Daher wird diese Form der Lagerung nicht empfohlen. Eine vergleichbar gute Stabilität wie die für das Vorkonzentrat der schwarzen Johannisbeere wurde für Aroniakonzentrat gemessen, das bis zu 24 Monaten bei 4 °C gelagert werden kann. Hier erweist sich die Lagerung als Konzentrat im Vergleich zum Direktsaft von Vorteil. Hingegen wird für beide Produkte, Direktsaft und Konzentrat der Aroniabeere, von einer Lagerung bei 20 °C aufgrund der sehr schnellen Abnahme an Anthocyanen ein Mindesthaltbarkeitsdatum von maximal zwei bzw. drei Monaten empfohlen.
In der Praxis erfolgt die Lagerung von Buntsaftprodukten häufig in Form des Konzentrates. Die Vorteile im Vergleich zur Lagerung als Saft liegen vor allem in der Platzersparnis bei der Lagerung und beim Transport, den geringeren Lager- und Transportkosten und der einfacheren Handhabung. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wird von dieser Form der Lagerung insbesondere bei höheren Temperaturen abgeraten. Darüber hinaus erfahren die Produkte aus Konzentraten nach der Alterung des Konzentrates eine zweite Alterung als rückverdünnten Saft, die in dieser Arbeit allerdings nicht untersucht wurde.
Der Erhaltung und Gewährleistung von Qualität, Frische und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen von Buntsaftprodukten steht der wirtschaftliche Faktor gegenüber. Längere MHD´s werden vom Handel bevorzugt und auch der Verbraucher steht einem kürzeren MHD eher negativ gegenüber. Irrtümlicherweise wird ein kurzes MHD mit einem bereits gealterten Produkt assoziiert. Da die Fruchtsaftbetriebe selbst verantwortlich sind für die Festlegung der MHD´s könnte der Konkurrenzkampf auf diese Weise verschärft werden. Das Risiko, dass Säfte aufgrund eines überschrittenen MHD´s zurückgegeben werden müssen, erhöht sich indes. An dieser Stelle sollte daher zunächst durch eine Verbesserung der Aufklärung zum Thema Frische und Qualitätserhaltung zu einem Umdenken beim Konsumenten führen.

Marker für die Beschreibung der Alterung

Neben den analytischen Messungen der Anthocyane (Anthocyangehalt HPLC) wurden weitere Parameter als Marker für die Alterung von Buntsaftprodukten diskutiert. Die Antioxidative Kapazität (TEAC) sowie die Gesamtphenolgehalte (Folin) kommen hierfür nicht in Betracht, da sie keine signifikanten Veränderungen über einen größeren Zeitraum zeigen. Die während der Lagerung gebildeten Anthocyan-Tannin-Addukte oder Carboxypyranoanthocyane sind stets saftspezifisch und entstehen zum Teil auch bei einer Lagertemperatur von 4 °C (z.B. rote Traubensäfte). Darüber hinaus ist bisher ungeklärt, inwiefern diese Pigmente zum gesundheitlich positiven Nutzen von Buntsäften beitragen. Der Farbbeitrag indes wurde von Hillebrand und Quast [2006] im Rahmen dieses Projektes gemessen (Farbaktivitätskonzept nach Hofmann). Es konnte dabei gezeigt werden, dass in einem gelagerten Kirschsaft 17 % des Farbbeitrages von monomeren Pigmenten stammen und 83 % von polymeren, das darin nachgewiesene Vitisinderivat jedoch kaum zur Farbe beiträgt (0,6 %). Im Vergleich zu den originären Anthocyanen ist die Farbe der neu gebildeten Pigmente zu höheren Wellenlängen verschoben (z.B. Malvidin-3-glucosid-8-ethyl-(epi)catechin λ_{max}=536 nm, Malvidin-3-glucosid λ_{max}=527 nm). Als Marker für die Qualität oder sogar für Qualitätsverluste sind sie aufgrund der geringen Konzentration und des geringen Farbbeitrags nicht geeignet.

Für die Beschreibung der Alterung von Buntsäften und Buntsaftprodukten erwies sich in der Praxis der Monomerindex als der am besten geeignete Parameter. Diese analytische Größe beschreibt das Verhältnis von monomeren zu polymeren bzw. copigmentierten Anthocyanen, das während der Lagerung in Abhängigkeit von der Temperatur abnimmt. Der Verlauf des Monomerindex korreliert mit dem tatsächlichen Anthocyangehalt (HPLC). Die Methode ist kostengünstig, schnell und einfach durchzuführen, was für die Praxis der Fruchtsaftindustrie sehr vorteilhaft ist. Dies bestätigte bereits eine vergleichende Studie im Rahmen dieses Projektes für Buntsäfte, Nektare, Konzentrate und Rotweine [Bonerz et al. 2006]. Darüber hinaus kann mit Hilfe dieser Methode auch eine Überprüfung der Qualität der Rohware hinsichtlich des monomeren Anthocyangehaltes erfolgen. Eine Abschätzung des Alterungsstatus der Rohware und des Konzentrates ist mit Hilfe des Monomerindex möglich und sollte von der Industrie gebraucht werden.

Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde die Problematik der Instabilität von Buntsäften und Buntsaftprodukten von roter Traube, schwarzer Johannisbeere und Aroniabeere gezeigt und auf Basis der vorliegenden Ergebnisse sollten weitere Forschungsprojekte folgen.

Die Entwicklung eines Prognosemodells für die Vorhersage des Mindesthaltbarkeitsdatums wurde gezeigt und ist nach wie vor nicht abgeschlossen. Eine saftspezifische Sammlung von Messdaten ist hierfür unumgänglich, um einen Überblick über Einflüsse auf die Stabilität eines Buntsaftproduktes zu gewinnen. Weiterhin ist die Stabilisierung von Buntsäften im Rahmen der Fruchtsaftverordnung nach wie vor von großem Interesse. Inwiefern der Verschnitt von Fruchtsäften mit anderen Säften wie z.B. Cranberry oder Boysenbeere effektiv ist, sollte Bestandteil weiterer Untersuchungen sein. Die Lagerung als Nektar bzw. als rückverdünntes Konzentrat sollte im Vergleich mit Direktsaft unbedingt untersucht werden, da sie z.B. für schwarze Johannisbeere oder Sauerkirsche in der Praxis als solche erfolgt. Kommerziell erhältliche rote Traubensäfte sind meist ein Verschnitt mit weißen Traubensäften. Inwiefern sich

dies auf die Farbstabilität während der Lagerung auswirkt, wurde bisher nicht untersucht, für die Festlegung eines Mindesthaltbarkeitsdatums spielt dieses Verhalten aber eine entscheidende Rolle.

Welche Alterungsprozesse zur Alterung von Buntsäften beitragen, konnte im Rahmen dieser Arbeit ergänzt, jedoch nicht vollständig geklärt werden. Weiterhin ungeklärt ist z.B. auch die Rolle der Ascorbinsäure, welche einen enormen Einfluss auf die Farbentwicklung zeigt. Dabei entstehende Reaktionsprodukte konnten bisher nicht identifiziert werden. Ob die Ascorbinsäure in Früchten, in denen sie von Beginn an in hoher Konzentration vorliegt, zu einer schnelleren Bräunung beiträgt, konnte in dieser Arbeit am Beispiel der schwarzen Johannisbeere nicht bestätigt werden, wobei die Ergebnisse von Bonerz [2007] auf einen stärkeren Einfluss bei anthocyanärmeren Früchten wie der Erdbeere schließen lassen. Hier scheint die Ascorbinsäure eine erhebliche Rolle als Prooxidans zu spielen. Beim Vergleich der Stabilität der Muttersäfte von schwarzer Johannisbeere (pH 2,7; Ascorbinsäure 595 mg/L; Anthocyangehalt in der Nullprobe 2659 mg/L) und der Aroniabeere (pH 3,3; Ascorbinsäure 39 mg/L; Anthocyangehalt in der Nullprobe 1160 mg/L) können keine Rückschlüsse auf die Stabilitätsunterschiede aufgrund des höheren Ascorbinsäuregehaltes der schwarzen Johannisbeere gezogen werden. Entscheidend ist eher die mehr als doppelt so hohe Ausgangskonzentration der Anthocyane. Die Halbwertszeiten für 4 °C und 20 °C liegen bei τ = 154 bzw. τ = 816 Tagen (schwarze Johannisbeere) und bei τ = 94 bzw. τ = 920 Tagen (Aroniabeere).

Auch die Bindung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen an Polysaccharide, Proteine oder Aminosäuren oder an Trubstoffe ist noch nicht hinreichend untersucht. Gerade die Aufklärung und Analyse komplexer hochmolekularer Anthocyanstrukturen (z.B. Adduktbildung mit Polysacchariden) ist aus wissenschaftlicher Sicht von großem Interesse. Die im Rahmen dieses Projektes von Quast und Hillebrand [2006] erhaltenen Ergebnisse lassen darauf schließen, dass ein Einfluss der Polysaccharide bei der Alterung der Anthocyane nicht auszuschließen ist. In der Literatur [Manach et al. 2005] werden bisher vor allem die Bioverfügbarkeit und die positiven Wirkungen von monomeren Anthocyanen beschrieben, es ist wenig bekannt darüber ob und inwiefern auch höhermolekulare Verbindungen vom Körper aufgenommen und metabolisiert werden können. Um dies zu testen, ist die Isolierung dieser Stoffe notwendig.

Die Aroniabeere gilt als eher unbekannte Frucht, sie ist aber von hohem gesundheitlich positivem Nutzen. Ihre protektiven Wirkungen und die gute Stabilität als Saft und Konzentrat (4°C) bergen ein Potential für weitere Untersuchungen dieser Frucht und machen sie interessant für die Fruchtsaftindustrie. Die Erhaltung von Qualität bezieht sich in dieser Arbeit vor allem auf die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe und die sensorischen Eigenschaften der Säfte. Eine Aromaanalytik während der Lagerung kann darüber hinaus weitere Diskussionspunkte zu diesem Thema liefern. Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern die Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Lagerung hervorgerufene unerwünschte Alterungsphänomene in Fruchtsäften und Konzentraten aus anthocyanhaltigen Früchten aufzuklären und zu minimieren. Ein wesentlicher Schwerpunkt lag dabei in der Betrachtung der sensorischen Eigenschaften und der Veränderung der komplexen Stoffgruppe der Polyphenole, die aufgrund ihrer Vielzahl an gesundheitlich positiven Wirkungen in jüngster Zeit immer mehr in den Focus einer gesunden Ernährung gerückt sind. Weiterhin sollten auf der Basis der Untersuchungsergebnisse Grundlagen für die Produktion und Lagerung qualitativ hochwertiger Getränke in der Praxis geschaffen werden.

Für die Aufklärung von Alterungsprozessen wurden Buntsäfte und Buntsaftkonzentrate aus roter Traube (*Vitis Vinifera*, nur Saft), schwarzer Johannisbeere (*Ribes nigrum L.*), und Aronia (*Aronia melanocarpa*) im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim hergestellt und anschließend über einen Zeitraum von zwölf Monaten bei 4 °C, 20 °C und 37 °C unter Lichtausschluss in Braunglasflaschen gelagert. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden Proben gezogen und diese auf die wichtigen Qualitätsparameter Farbe (CIELAB), primäre Saftparameter (RSK-Werte), Antioxidative Kapazität (TEAC), Gehalte der farblosen Phenole (Folin, HPLC) und der Anthocyane (HPLC) analytisch und sensorisch untersucht. Auf der Basis der erhaltenen Anthocyangehalte (HPLC) wurden Kinetiken für die Abnahme der Konzentrationen berechnet, anhand derer ein guter Vergleich der Stabilität der Proben untereinander möglich war. Diese Daten dienten auch als Basis für die Entwicklung eines Prognosemodells für die Festlegung von Mindesthaltbarkeitsdaten. Verschiedene Handelsproben wurden ebenfalls hinsichtlich der gewählten Analyseparameter untersucht und mit den Daten der gelagerten Proben aus eigener Herstellung verglichen. In ausgewählten Proben wurden darüber hinaus Alterungspigmente der Anthocyane (HPLC, LS-MS, Größenausschlusschromatographie) näher charakterisiert, um Aussagen über mögliche Alterungsprozesse zu erhalten. Weiterhin wurden verschiedene Untersuchungen zur Eindämmung der Alterung durch Zusatz von farblosen Phenolen durchgeführt.

Es konnte deutlich gezeigt werden, dass sich bei allen Buntsäften und Buntsaftkonzentraten die Zunahme von Lagertemperatur und Lagerdauer negativ auswirkt. Die Intensität der Auswirkung differierte jedoch stark zwischen den untersuchten Parametern.

Die Gesamtphenolgehalte (Folin-Ciocalteu) sowie die damit häufig korrelierende antioxidative Kapazität (TEAC) unterlagen in allen Säften und Konzentraten bei 4 °C und 20 °C über einen Zeitraum von 12 Monaten nur geringen Schwankungen, für 37 °C wurden für beide Parameter deutliche Abnahmen gemessen. Möglicherweise entstehen während der Lagerung neue Pigmente wie polymere oder kondensierte Polyphenole, die ebenfalls eine hohe Antioxidative Kapazität besitzen. Die originäre Farbe (CIELAB, Sensorik) blieb bei sehr stark gefärbten Proben länger erhalten als bei nur schwach gefärbten Proben, die zu einer wesentlich schnelleren Bräunung auch bei niedrigeren Lagertemperaturen neigten.

Die Phenolprofile (HPLC) sind frucht- und sortenabhängig, die Phenolgehalte (HPLC) sind frucht-, sorten- und jahrgangsabhängig. Dies wurde insbesondere anhand der Ergebnisse der drei rebsortenreinen Traubensäfte ersichtlich.

Die höchsten Gehalte an farblosen Phenolen wurden im Rahmen dieser Arbeit für Aroniasaft und –konzentrat gemessen. Während der Lagerung blieben die Werte für 4 °C in fast allen Proben relativ stabil, wohingegen für 20 °C bereits deutliche Abnahmen, insbesondere der Phenolcarbonsäuren und Flavan-3-ole, gemessen wurden. Die temperaturabhängige Abnahme von Flavan-3-olen in rotem Traubensaft cv. Spätburgunder steht wahrscheinlich im Zusammenhang mit der Bildung von Anthocyan-Tannin-Addukten, diese konnten als solche nach Größenausschlusschromatographie und anschließender LC-MS-Analytik identifiziert werden. Als ein möglicher Alterungsprozess für Anthocyane kommt diese Reaktion in Frage.
Die Anthocyangehalte der originären Anthocyane (berechnet als Cya-3-glc bzw. Mal-3-glc, HPLC) nahmen in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der Lagerdauer in allen untersuchten Proben deutlich ab.
Der Vergleich der aus den kinetischen Berechnungen hervor gehenden Halbwertszeiten der Anthocyane zeigt die unterschiedlichen Stabilitäten in den Säften. Sehr anthocyanreiche Säfte wie die der schwarzen Johannisbeere oder Aronia weisen relativ hohe Halbwertszeiten auf, während bei rotem Traubensaft der Rebsorte cv. Spätburgunder des Jahrgangs 2004 mit einer sehr niedrigen Ausgangskonzentration auch sehr niedrige Halbwertszeiten verbunden sind. Generell ging eine hohe Ausgangskonzentration an Anthocyanen auch mit einer höheren Stabilität einher.
Anhand der Daten wurde auch ersichtlich, dass geringe Halbwertszeiten der Anthocyane nicht unbedingt mit einer niedrigen Aktivierungsenergie einhergehen müssen, wie das Beispiel des roten Traubensaftes der Rebsorte cv. Rotberger zeigt. Die Aktivierungsenergie der Gesamtanthocyane war mit 71-84 kJ/Mol vergleichbar mit der für schwarze Johannisbeere (79 kJ/Mol), für die aber wesentlich höhere Halbwertszeiten (816 Tage im Vergleich zu 280-338 Tagen bei 4 °C) gemessen wurden. Die Aktivierungsenergie ist folglich als Parameter zum Beschreiben der Stabilität der Farbpigmente nicht geeignet.
Mit dem Gehalt an Anthocyanen (HPLC) korreliert der Monomerindex, der das Verhältnis von monomeren zu polymeren Anthocyanen wiedergibt. Dieser nahm in allen untersuchten Proben während der Lagerung ab. Die Größe eignet sich auch als Marker für die Alterung in der Praxis, da die Methode schnell, kostengünstig und einfach durchzuführen ist.
Ein wesentlicher Schwerpunkt lag bei der Erhaltung der Farbe auf dem Zusatz von farblosen Phenolen, die durch sogenannte Copigmentierungsreaktionen Anthocyane stabilisieren. Während sich einige farblose Phenole in Modellversuchen farbstabilisierend auf das Anthocyan Cyanidin-3-glucosid auswirkten, haben sich die verhältnismäßig geringen Konzentrationen in rotem Traubensaft nicht positiv bemerkbar gemacht. Die erst durch sehr hohe Dosen an Copigmenten (v.a. Hydroxyzimtsäuren) eintretende Farbstabilisierung ist für die Praxis nicht realistisch und finanziell nicht umsetzbar. Für die Praxis ist auch der in dieser Arbeit untersuchte Zusatz von Zitronensäure zur Herabsetzung des pH-Wertes nicht geeignet, da zum einen die pH-Werte der Ausgangssäfte bereits sehr niedrig sind und zum anderen eine hohe Zugabe von Zitronensäure notwendig war, um einen niedrigen pH-Wert von etwa 2 zu erreichen. Darüber hinaus macht sich dies auch geschmacklich sehr stark bemerkbar, was besonders bei ohnehin schon sehr sauren Säften nicht wünschenswert ist. Ein stark farbdestabilisierender Effekt sowie eine deutliche Verstärkung der Bräunung sowohl in den Modelllösungen als auch in Realmedien wurden beim Zusatz von Ascorbinsäure beobachtet.

Basierend auf den Ergebnissen aller Lagerstudien können klare Empfehlungen für die Eindämmung von Alterungsprozessen in Fruchtsäften und Konzentraten aus anthocyanhaltigen Früchten ausgesprochen werden:

1. Sehr gute Qualität der Rohware (reich insbesondere an Anthocyanen)
2. Vermeidung von Prozessschritten und Behandlungsmaßnahmen während der Verarbeitung, die eine starke Abnahme des Anthocyangehaltes verursachen (z.B. durch kurze Erhitzungsprozesse, Ausschluss von Sauerstoff, möglichst niedrige Verarbeitungstemperaturen, Inaktivierung von Polyphenoloxidasen)
3. Dauerhaft niedrige Lagertemperaturen (ca. 4 °C)
4. Lichtausschluss während der Lagerung
5. Möglichst kurze Lagerdauer (wenige Monate)
6. Kein Zusatz von farblosen Phenolen als Copigmente sowie Ascorbinsäure, evtl. Verschnitt mit sehr farbintensiven Buntsäften
7. Lagerung als Direktsaft

Die Ergebnisse der Handelsproben (Anthocyane HPLC, CIELAB) belegen deutlich, dass das für Buntsäfte ausgewiesene Mindesthaltbarkeitsdatum häufig einen zu langen Zeitraum aufweist. Die Erstellung eines Prognosemodells zur Vorhersage von Anthocyangehalten und des Mindesthaltbarkeitsdatums gestaltet sich aber nach wie vor schwierig, da hierfür Daten über mehrere Jahrgänge einer bestimmten Sorte notwendig sind. Am Beispiel der Rebsorte cv. Dunkelfelder der Jahrgänge 2003 und 2004 wurde in dieser Arbeit ein solches Modell vorgestellt und diskutiert.
Auf der Basis aller erhaltenen Ergebnisse der Lagerstudien und unter Berücksichtigung verschiedener Lagertemperaturen während der Lagerung werden folgende Empfehlungen für das Mindesthaltbarkeitsdatum der untersuchten Buntsäfte und Buntsaftkonzentrate ausgesprochen:

	4 °C	**20 °C**
Rote Traube – cv. Spätburgunder	max. 9 Monate	max. 3 Monate
Rote Traube – cv. Rotberger	max. 9 Monate	max. 3 Monate
Rote Traube – cv. Dunkelfelder	max. 12 Monate	max. 6 Monate
Schwarze Johannisbeere – Direktsaft	max. 18 Monate	max. 6 Monate
Schwarze Johannisbeere - Konzentrat	max. 18 Monate	max. 3 Monate
Aronia - Direktsaft	max. 18 Monate	max. 3 Monate
Aronia - Konzentrat	max. 24 Monate	max. 2 Monate

Die aus dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse tragen dazu bei, die bisherige Deklaration des Mindesthaltbarkeitsdatums von Buntsäften zu überdenken. Es wurden verschiedene Möglichkeiten zur Eindämmung der Alterung vorgestellt, mit einem wesentlichen Blick auf die Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen. Für die Praxis können unter Berücksichtigung dieser Aspekten Grundlagen geschaffen werden, die Qualität von Buntsäften zu erhalten und im Hinblick der aktuellen functional food Diskussion einen Beitrag zu einem gesundheitsbewussten Lebenstil mit natürlichen Lebensmitteln zu leisten.

6 ABSTRACT

The color of red berry products is unstable and easily susceptible to degradation which has a great influence of on food quality. Therefore, the purpose of the work was to investigate stability of quality parameters e.g. anthocyanins and other polyphenols in juices and concentrates made of blackcurrant (*ribes nigrum*), aronia (*aronia melanocarpa*) and red grape (*vitis vinifera*) and the investigation of possible countermeasures for preservation of quality.

Juices and concentrates were produced and stored at 4 °C, 20 °C and 37 °C for 12 months under suspension of light. Quality was compared using various analytical methods. Anthocyanin and polyphenolic profile and content were characterized by means of HPLC-LC-MS and HPLC. Monomeric index was determined by pH-differential-method, total phenolics according to the Folin-Ciocalteu method and measurement of antioxidant capacity was performed by the $ABTS^{+}$-radicalcation-assay. For enhancement of color absorption spectra as well as CIELAB parameters were recorded using a UV-visible spectrometer. Moreover, changes in color, odour and flavour were discussed in a sensory evaluation. Several investigations to contain ageing processes completed work.

Storage temperature and period of storage both had negative effects on several quality parameters. Whereas total phenolics (Folin-Ciocalteu) and antioxidant acitivity (TEAC) levels in all fruit juices only deteriorated during storage at 37 °C, the monomeric anthocyanin content as well as monomeric index decreased with increasing time as a function of storage temperature in all samples. Decline of color intensity was observed more in light samples, e.g. grape juice cv. Spätburgunder, than in dark samples, e.g. blackcurrant juice. Browning and decreasing of absorption maxima were detected by analytical methods (CIELAB) earlier than by human sensory evaluation (e.g. blackcurrant). Phenolic profiles (HPLC and LC-MS) differ from fruit to fruit and from variety to variety. The highest content of phenolics in the beginning of storage were discovered in blackcurrant products with a high part of anthocyanins. Besides a high level of anthocyanins (1000 mg/L) chokeberry had a high percentage of colorless phenolics (50 %, 1000 mg/L). Phenolic contents depend on fruit, variety and year, which was shown by comparing three red grape juices cv. Spätburgunder, cv. Rotberger and cv. Dunkelfelder of 2003, 2004 and 2005. Anthocyanin degradation depends on storage temperature and storage period and other parameters, in particular anthocyanin composition and original anthocyanin concentration. In all cases, anthocyanin degradation followed first order kinetics. The order of the anthocyanin disappearance rate by variety was as follows cv. Dunkelfelder < cv. Rotberger < cv. Spätburgunder. Comparing fruit juice and fruit juice concentrate blackcurrant products should be stored as juice whereas a better stability towards content of anthocyanins was investigated in chokeberry concentrate. In addition, sensory evaluation of red grape juice and blackcurrant nectar showed that odour, flavour and colour intensity decreased during storage. Regarding all analysed quality parameters all products showed best stability at a storage temperature of 4 °C.

Through data from three years of storing red grape juices a prognosis model was created to predict contents of anthocyanins during storage under certain storage conditions for red grape juice cv. Dunkelfelder. Nevertheless, more data is needed to claim a prognosis for a certain variety.

Copigmentation reactions are often used to enhance color and to stabilise anthocyanins in fruit products. This was investigated with several phenolic acids. Only chlorogenic acid and coumaric acid stabilized color in model solutions and in red grape juice. But increased color intensity was detected only in high concentrations. For that reason, enrichment with copigments to improve color quality is not be recommended for industrial practice. However, addition of ascorbic acid as well as catechin enhanced color degradation in all cases.

Based on these results clear recommendations for juices made from red colored fruits can be confirmed to reduce ageing effects during storage:

1. best fruit quality, in particular rich in anthocyanins
2. avoiding all processing steps and juice treatments which could be reasonable for degradation of anthocyanin content (e.g. high temperatures, oxidation processes, activated polyphenolic peroxidases, long times of heating steps)
3. low storage temperatures (e.g. 4 °C)
4. exclusion of light during storage
5. short storage times
6. no fortification of juices with colorless phenolic compounds and ascorbic acid, rather addition of other colorintensive juices
7. storage of juice

Both results of manufactured berry products and comparison with analysis of commercial fruit juices showed clearly that shelf life of anthocyanin rich fruit juices are too long, sometimes as long as 12 months. For that reason following shelf lives are recommended:

	Storage at 4 °C	Storage at 20 °C
Red grape cv. Spätburgunder	Max. 9 months	Max. 3 months
Red grape cv. Rotberger	Max. 9 months	Max. 3 months
Red grape cv. Dunkelfelder	Max. 12 months	Max. 9 months
Blackcurrant juice	Max. 18 months	Max. 6 months
Blackcurrant concentrate	Max. 18 months	Max. 3 months
Chokeberry juice	Max. 18 months	Max. 3 months
Chokeberry concentrate	Max. 24 months	Max. 2 months

Results of this work show clearly the influence of storage temperature and storage time on quality parameters of red berry fruit juices and concentrates. Recommendations to keep high fruit juice quality with high concentrations of phenolics, fresh odour and flavour, and shelf life recommendations could help the fruit juice industry to achieve a higher fruit juice quality in red berry products.

7 MATERIAL UND METHODEN

7.1 HERSTELLUNG UND LAGERUNG DER SÄFTE UND SAFTKONZENTRATE AUS ROTEN BEERENFRÜCHTEN

7.1.1 ROTE TRAUBENSÄFTE

Im September 2003, 2004 und 2005 wurden im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim, Institut für Weinanalytik und Getränkeforschung, drei sortenreine Traubensäfte der Rebsorten Spätburgunder, Rotberger und Dunkelfelder hergestellt (Abb. 84). Die Trauben wurden jeweils vom Fachgebiet Rebenzüchtung der Forschungsanstalt Geisenheim bezogen. Im Jahr 2003 standen pro Rebsorte 250 kg Trauben zur Verfügung. Diese wurden mittels Walzenmühle (Fa. Amos) entrappt und zu Maische verarbeitet, anschließend über den Röhrenwärmetauscher (Typ MT 57/1*25, Fa. Alfa-Laval) auf 85 °C erhitzt und nach erneuter Abkühlung auf ca. 50 °C mit Pektinase (Fructozym Color, Fa. Erbslöh) enzymiert. Die Maischestandzeit betrug ca. 30 Min. Im Anschluss wurde die Maische über die Bucher Horizontalpresse (Typ HP 5000, Fa. Bucher) zu Saft abgepresst. Die Schönung erfolgte über Nacht mit 20 g/hL Gelatine, 400 mL Kieselsol und 50 g/hL Bentonit. Nach der Separation (Westfalia Separator SA 1-02-175, Fa. Westfalia) wurde der Saft über Schichtenfilter (Filterschichten UK und KD, Fa. Begerow) filtriert. Der klare Saft wurde in 0,3 L Braunglasflaschen und 0,7 L Klarglasflaschen abgefüllt und im Wasserbad bei einer Temperatur von 85 °C über den Zeitraum von 30 Min pasteurisiert. Anschließend wurden die Flaschen jeweils bei 4 °C, 20 °C und 37 °C lichtgeschützt eingelagert, zu bestimmten Zeitpunkten Proben entnommen und bis zur Analyse bei -20 °C eingefroren.
Wegen der geringeren Traubenmenge von 100 kg weicht das Verarbeitungsschema des Jahres 2004 an einigen Stellen von dem des Jahres 2003 ab. Die Saftherstellung beginnt hier mit der im Vergleich zur Walzenmühle etwas kleineren Rätzmühle (Fa. Amos), die anschließende Maischeerhitzung auf 85 °C erfolgte wie im Vorjahr mittels Röhrenwärmetauscher. Die Maischeenzymierung wurde mit Pektinase (Fructozym Color, Fa. Erbslöh) durchgeführt, die Maischestandzeit war allerdings kürzer. Das Abpressen der Maische erfolgte mittels Schlauchpresse (Fa. Wahler), die Schönung sowie Separation und Filtration sind der des Jahres 2003 analog. Die Pasteurisation wurde mittels Heißabfüllanlage bei 85 °C durchgeführt. Das weitere Vorgehen entspricht dem des Jahres 2003.

Die Traubenverarbeitung im September 2005 wurde analog zu der des Jahres 2004 durchgeführt, die Maischestandzeit wurde allerdings wieder auf 30 Minuten zwecks besserer Farbausbeute erhöht. Weiterhin wurde bereits während der Verarbeitung Proben gezogen und bei -20 °C eingefroren. Darüber hinaus wurde die Herstellungslinie um einen weiteren Verarbeitungsversuch ergänzt. Zur Spätburgundermaische wurden 200 mg/L Ascorbinsäure als Antioxidans zugegeben und erst im Anschluss im Röhrenwärmetauscher auf 85 °C erhitzt. Die weitere Verarbeitung zu Traubensaft und anschließende Lagerung erfolgte analog zu den zuvor beschriebenen Verfahren.

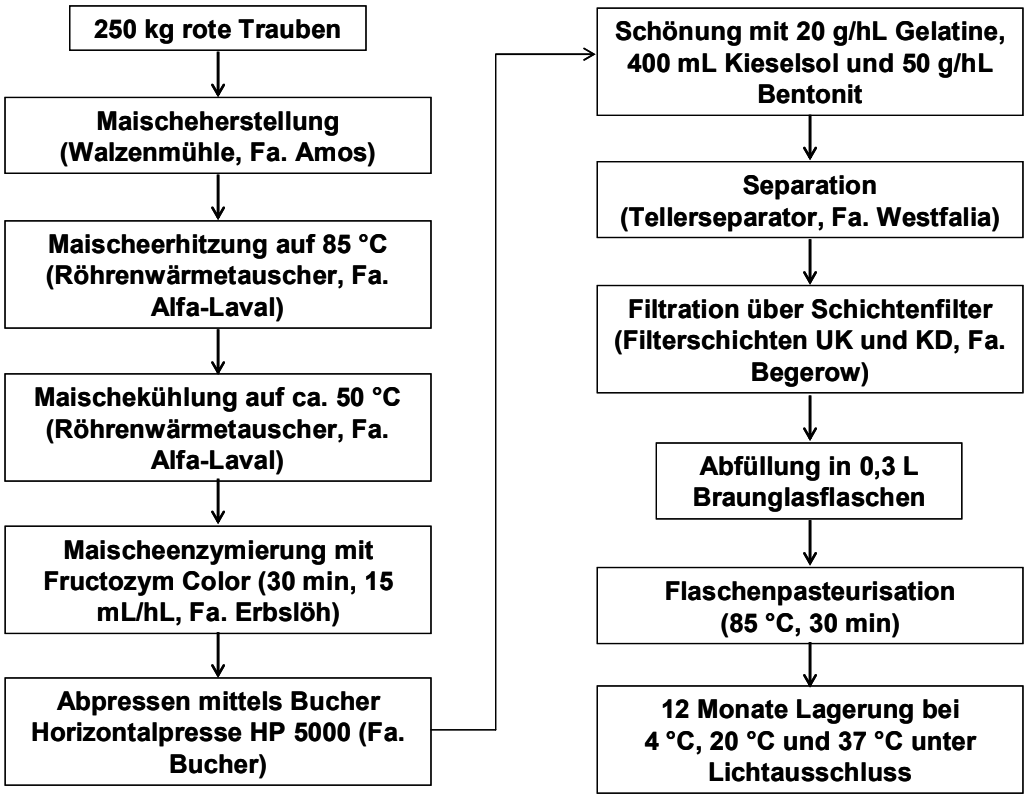


Abb. 84: Verarbeitungsschema rote Traubensäfte 2003

7.1.2 SAFT UND KONZENTRAT DER SCHWARZEN JOHANNISBEERE

Im Februar 2004 wurden Saft und Konzentrat der schwarzen Johannisbeere hergestellt. 600 kg Beeren wurden von der Firma Bayernwald, Hengersberg, als Tiefkühlware bezogen und im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim verarbeitet. Mittels Walzenmühle (Fa. Amos) erfolgte zunächst die Maischeherstellung, anschließend wurde diese im Röhrenwärmetauscher (Typ MT 57/1*25, Fa. Alfa-Laval) auf 50 °C erwärmt. Die Maische wurde mit 500 mL/t mit Pektinase (Fructozym Color, Fa. Erbslöh) bei ca. 50 °C enzymiert und mittels Dekanter (Fa. Flottweg, Z23) zu Saft abgepresst (A-Saft). Der Trester wurde 1:1 mit Wasser nachextrahiert und ebenfalls mittels Dekanter entsaftet (B-Saft). Der vereinigte A- und B-Saft (Muttersaft) wurde separiert (Tellerseparator SAMR3036, Fa. Westfalia) und über Nacht mit 500 mL/t Fructozym P (Fa. Erbslöh) depektinisiert. Am darauf folgenden Tag wurde der Saft mit 14 g/hL Gelatine und 140 mL/hL Kieselsol geschönt, erneut separiert und mittels Schichtenfilter (Filterschichten UK und KD, Fa. Begerow) filtriert. Nach Heißabfüllung in 0,3 L Braunglasflaschen und 0,7 L Klarglasflaschen wurde ein Teil des Saftes über einen Zeitraum von einem Jahr lichtgeschützt eingelagert. Der restliche Muttersaft wurde nach Entaromatisierung im Kletterfilmverdampfer (Fa. Unipektin) auf 65 °Brix konzentriert (Abb. 85).

7.1.3 SAFT UND KONZENTRAT DER ARONIABEERE

Im April 2004 wurden im Fruchtsaftbetrieb der Forschungsanstalt Geisenheim 600 kg tiefgefrorene Aroniabeeren (Fa. Bayernwald, Hengersberg), mittels Walzenmühle (Fa. Amos)

gemahlen, im Röhrenwärmetauscher (Fa. Alfa-Laval) auf 50 °C erwärmt und 3 h mit 500 mL/t Pectinex BE XXL (Fa. Novozymes) enzymiert. Die Entsaftung erfolgte mittels Dekanter (Fa. Flottweg) (A-Saft), der mit Wasser im Verhältnis 1:1 nachextrahierte Trester (B-Saft) wurde ebenfalls mittels Dekanter entsaftet. Die beiden Säfte wurden separiert und zum Muttersaft vereinigt. Dieser wurde mit 125 mL Fructozym P (Fa. Erbslöh) über Nacht depektinisiert und anschließend mit 14 g/hL Gelatine und 140 mL/hL Kieselsol geschönt. Der Schönungstrub wurde mittels Separator entfernt, der Saft wurde mittels Cross-Flow-Filtrationsanlage membranfiltriert (0,2µm Membran, Fa. Seitz-Mikro). Ein Teil des Saftes wurde über den Heißabfüller (85 °C) in 0,3 L und 0,7 L Glasflaschen gefüllt, der andere Teil entaromatisiert und im Kletterfilmverdampfer (Fa. Unipektin) auf 70 °Brix konzentriert (Abb. 85).

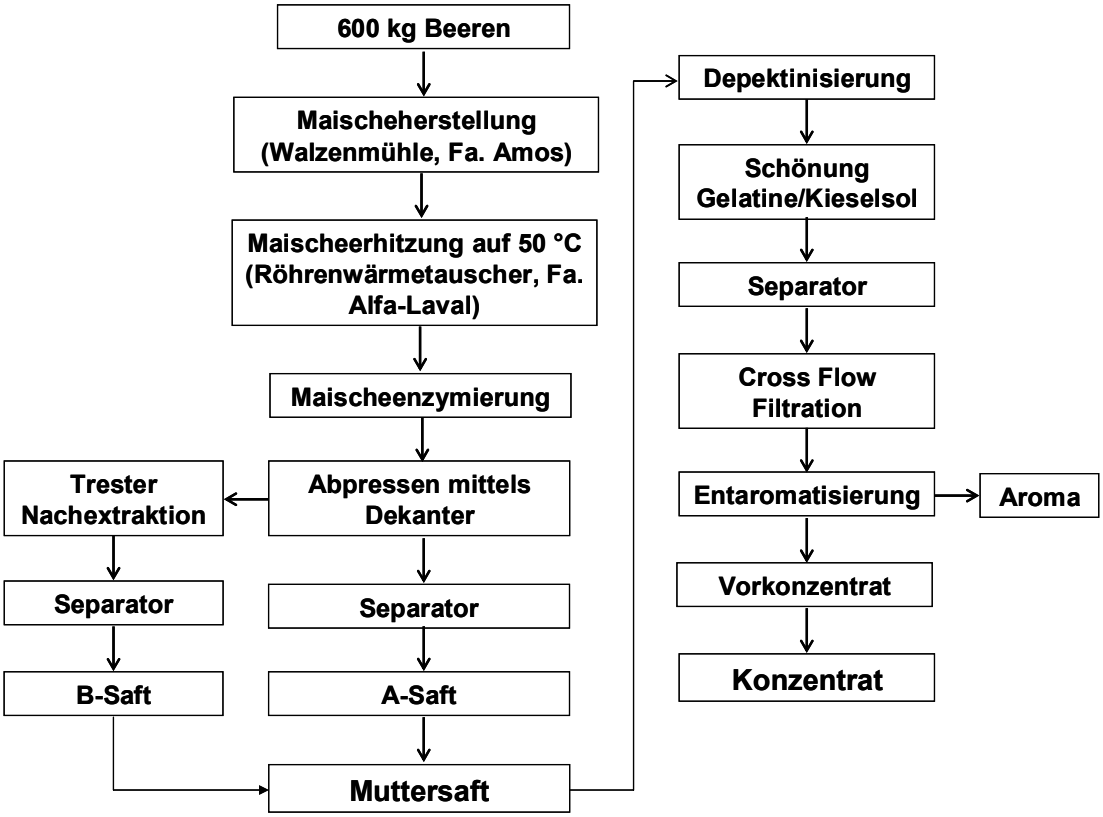


Abb. 85: Verarbeitungsschema Aroniabeere und schwarze Johannisbeere. Details vgl. Text

7.2 FARBBETRACHTUNG MITTELS FARBMETRIK

Zur Farbbeurteilung wurde neben den Spektren (380-780 nm, gemessen mittels UV/VIS-Spektrometer) das CIELAB-System (L*a*b*) herangezogen. In diesem Farbsystem bezeichnet der Wert L* die Helligkeit. Die Werte a* und b* beschreiben Farbton und Sättigung, wobei Farbton und Sättigung eine zweidimensionales Koordinatensystem bilden, auf dem die L*-Achse senkrecht aufgetragen wird. Die a*-Achse reicht von Grün (-a*) bis Rot (+a*) und die b*-Achse von Blau (-b*) bis gelb (+b*). Je größer die Werte für a* und b* werden, desto stärker ist die Sättigung. L* reicht von 0 – 100, a* und b* können zwischen +60 und -60 variieren. Diese Art von Farbmessung wird insbesondere bei Wein und Fruchtsäften eingesetzt [Richter 1981,

Gonnet 1998, Gonnet 1999, Stintzing et al. 2002, Steil et al. 2002, Pérez-Magarino et al. 2003, Wrolstad et al. 2005].
In diesem Farbsystem ebenfalls beschrieben werden die Werte h° für den Farbton (hue angle) und C* für die Buntheit (Chroma). Sie sind wie folgt definiert:

$$h° = \arctan b^*/a^* \qquad \text{Mit: } h° = \text{Hue Angle}$$
$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \qquad C^* = \text{Chroma}$$

Für h = 0° wird +a* (rot), h = 90° wird +b* (gelb), h = 180° wird –a* (grün) und h = 270° -b* (blau) zugeordnet. Die Werte für die Buntheit C* werden umso größer, je weiter entfernt sie sich von dem Koordinatenursprung befinden (Abb. 86). Eine rotgefärbte Probe hat mit abnehmender Verdünnung beispielsweise den gleichen Hue Angle bei steigenden Chromawerten.

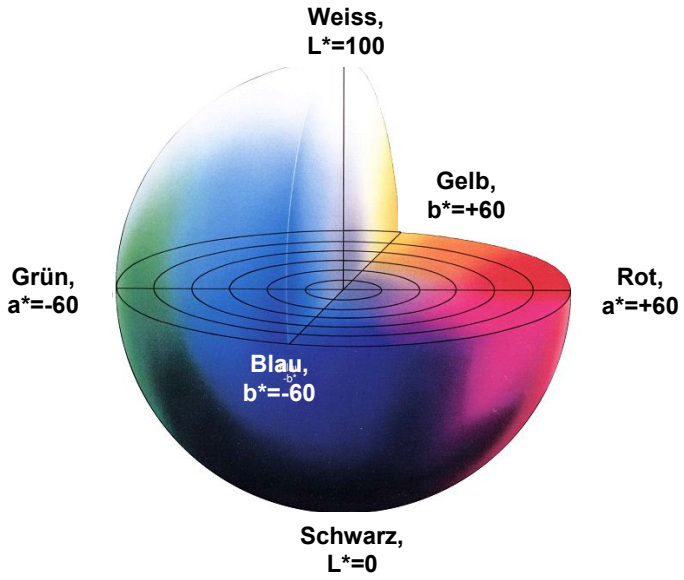


Abb. 86: Farbkugel CIELAB-System [Minolta 1996]

Geräte und Materialien
Photometer Unicam UV 500 mit Wolframlampe und Sipper [Fa. Thermo Spectronic] und Software Vision 32 V1.25
Präzisionsküvetten aus Quarzglas 2 mm und 1 cm [Fa. Hellma]
Membranfilter 0,45 µm [Fa. Sarstedt]

Standardabweichung der Farbwerte
Zur Bestimmung der Varianz wurden Proben der Säfte Rotberger, Sauerkirsche, Erdbeere und Schwarze Johannisbeere jeweils fünfmal gemessen. Die Standardabweichung lag für alle Proben < 1 %.

Durchführung
Die Farbmessung von Spätburgunder und Rotberger Traubensaft erfolgte nach Membranfiltration direkt in der 2 mm Glasküvette. Stark gefärbte Säfte wie Dunkelfelder,

schwarze Johannisbeere sowie Aronia wurden aufgrund der sehr hohen Absorptionen 1:5 mit Wasser verdünnt, filtriert und anschließend in der 2 mm Küvette gemessen. Für diese Säfte lagen die L*a*b*-Werte unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors außerhalb des Grenzbereiches (negative L*-Werte, d.h. nicht mehr berechenbar), das System stößt hier an seine Grenzen. Die mit der Lagerzeit einhergehende Farbveränderung wird daher auf die 1:5 verdünnten Säfte bezogen.

7.3 GESAMTPHENOLGEHALT NACH FOLIN-CIOCALTEU

Die Methode erfasst die in Fruchtsäften vorkommenden phenolischen Verbindungen. Phenolische Substanzen können im alkalischen Milieu ein Oxidationsgemisch aus phosphorsaurem Wolframat und Molybdat (Folin-Ciocalteu-Reagenz) reduzieren und somit eine Blaufärbung hervorrufen. Diese wird bei 720 nm photometrisch gemessen. Als Standard- bzw. Bezugssubstanz wird Catechin verwendet [Brunner und Tanner 1979].

Geräte und Chemikalien
Reagenzgläser
UV/VIS-Spektralphotometer [Fa. Shimadzu]
Vortexer [Fa. Labotec]
Plastikküvetten Plastibrand 2,5 mL makro [Fa. Brand]
Folin-Ciocalteu-Phenolreagenz [Fa. VWR]
gesättigte Natriumcarbonatlösung [Fa. Roth]
(+)-Catechin (wasserfrei) als Standardreagenz [Fa. Roth]

Messung und Berechnung
Proben mit einem hohen Gesamtphenolgehalt (> 1 g/L) werden mit dest. Wasser entsprechend verdünnt. In einem Reagenzglas werden zu 7,5 mL dest. Wasser 1,0 mL Probe und 0,5 mL Folin-Ciocalteu-Reagenz pipettiert, auf dem Vortexer gemischt und 3-6 min stehen gelassen. Für den Reagenzienblindwert werden statt 1,0 mL Probe 1,0 mL dest. Wasser pipettiert. Anschließend werden 1,0 mL gesättigte Natriumcarbonatlösung hinzugefügt und erneut gemischt. Nach 60 Min wird die Extinktion bei 720 nm in Einmalküvetten gegen den Reagenzienblindwert gemessen.
Die Berechnung erfolgt anhand einer Eichgerade mit der Bezugssubstanz (+)-Catechin im linearen Bereich zwischen 40 und 1000 mg/L. Der Gesamtphenolgehalt wird in mg/L Catechin angegeben.

Bestimmung der Standardabweichung
Zur Bestimmung der Varianz der Methode wurden Proben der Säfte Rotberger und schwarzer Johannisbeere je fünfmal aufgearbeitet und gemessen. Die Standardabweichung lag für alle Proben < 2 %.

7.4 BESTIMMUNG DER ANTIOXIDATIVEN KAPAZITÄT

Die Antioxidative Kapazität wird mit der Trolox Equivalent Antioxidative Capacity (TEAC) Methode bestimmt [Re et al. 1999]. Durch Zugabe von Kaliumpersulfat zu einer ABTS-Lösung

wird das blau-grün gefärbte $ABTS^{+*}$-Radikalkation gebildet, dessen Absorptionsmaximum bei 734 nm photometrisch gemessen wird. Die antioxidative Wirkung einer Probe (hier Fruchtsaft oder -konzentrat) ist proportional zur Fähigkeit, die ABTS-Lösung zu entfärben (Abfangen der Radikale). Als Vergleichssubstanz wird Trolox®, ein wasserlösliches Vitamin E-Derivat verwendet.

Geräte und Chemikalien

UV/VIS-Spektralphotometer [Fa. Shimadzu]
Plastikküvetten Plastibrand 2,5 mL makro [Fa. Brand]
Filterpapier [Fa. Schleicher und Schüll]
ABTS (2,2´-Azobinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)) [Fa. VWR]
Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure) [Fa. VWR]
di-Kaliumhydrogenphosphat [Fa. VWR]
Kaliumdihydrogenphosphat [Fa. VWR]

Lösungen

PBS-Puffer: 7,14 g di-Kaliumhydrogenphosphat + 1,23 g Kaliumhydrogenphosphat werden mit dest. Wasser auf 1 L aufgefüllt, der pH-Wert sollte im Bereich 7,2-7,4 liegen.

ABTS-Stammlösung: 77 mg ABTS + 13 mg Kaliumpersulfat werden mit 20 mL PBS-Puffer aufgefüllt.

ABTS-Arbeitslösung: Die ABTS-Stammlösung wird 1:50 mit PBS-Puffer verdünnt, über einen Faltenfilter filtriert und anschließend direkt eingesetzt.

Trolox-Stammlösung: 64 mg Trolox werden in wenigen mL Ethanol angelöst und mit PBS-Puffer auf 100 mL aufgefüllt (2,5 mmol/L).

Probenvorbereitung

Häufig korreliert die Antioxidative Kapazität von Säften mit dem Gesamtphenolgehalt. Proben mit einem sehr hohen Gesamtphenolgehalt bzw. sehr hoher Antioxidativen Kapazität werden mit PBS-Puffer entsprechend verdünnt.

Messung und Berechnung

In einer Küvette werden zu 1,9 mL ABTS-Arbeitslösung 0,1 mL Probe bzw. für den Reagenzienblindwert 0,1 mL PBS-Puffer pipettiert. Nach genau 6 Minuten erfolgt die Messung der Extinktion bei 734 nm.
Die Berechnung erfolgt anhand einer Eichgerade mit der Bezugssubstanz Trolox im linearen Bereich zwischen 40 und 1000 mg/L. Die Antioxidative Kapazität wird als mmol/L Troloxäquivalente angegeben.

Bestimmung der Standardabweichung

Zur Bestimmung der Varianz der Methode wurden Proben der Säfte Rotberger, Sauerkirsche, Erdbeere und Schwarze Johannisbeere je fünfmal aufgearbeitet und gemessen. Die Standardabweichung lag für alle Proben < 5 %.

7.5 BESTIMMUNG DES MONOMERINDEX

Mit dieser Methode können Aussagen über die monomeren, „copigmentierten und polymeren“ Anthocyane getroffen werden. Das Verhältnis der freien monomeren zu den polymeren Anthocyanen, der Monomerindex, verschiebt sich im Laufe der Alterung zu Gunsten der polymeren Anthocyane und kann daher auch zur Beurteilung von Lagerungsversuchen bei Buntsäften heran gezogen werden.

Zunächst wird das Gleichgewicht der Anthocyane durch Ansäuerung mit Salzsäure auf die Seite der roten Flavyliumkationen verschoben (pH 1). Im Anschluss werden die freien monomeren Anthocyane durch Zugabe von schwefliger Säure entfärbt, während die polymeren Verbindungen nicht reagieren und gefärbt bleiben. Aus der Differenz der Färbung vor und nach Zugabe der schwefeligen Säure kann durch photometrische Messung bei 520 nm (Absorptionsmaximum der Anthocyane) der Monomerindex bestimmt werden. Je höher der Index, desto höher ist der Anteil freier monomerer Anthocyane [Somers und Evans 1974, Giusti und Wrolstad 2001].

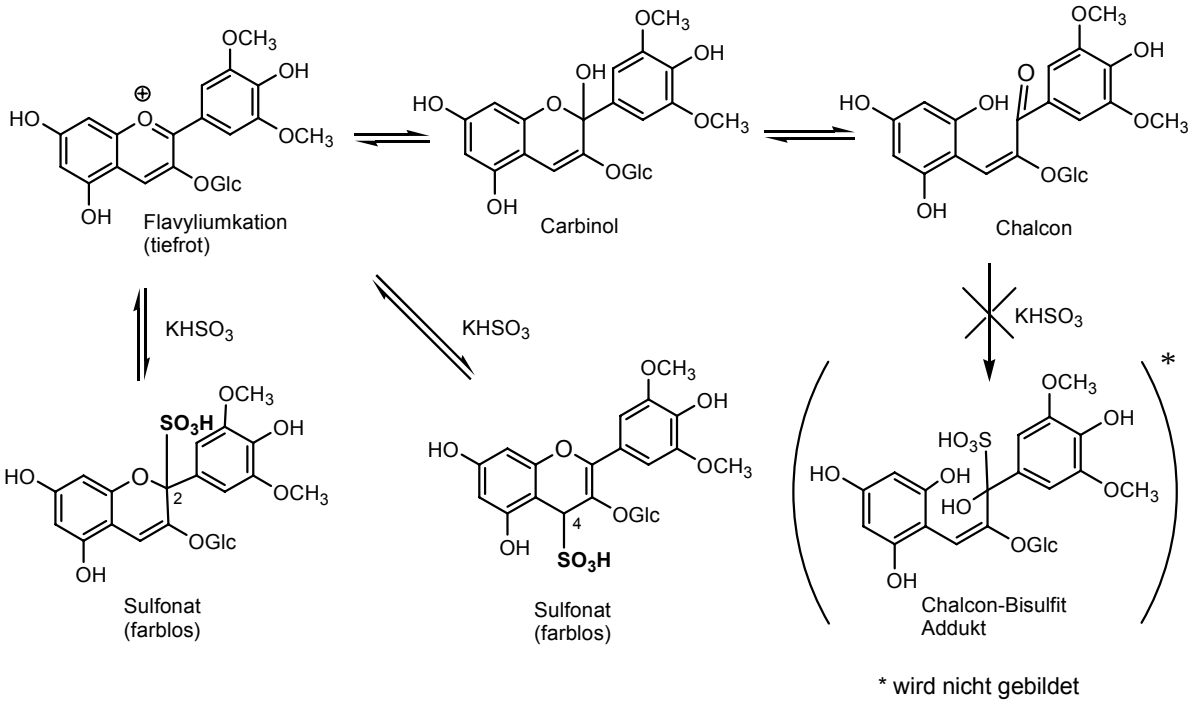


Abb. 87: Reaktionsmechanismus zum Monomerindex [Berke et al. 1998]

Der Angriff der Sulfitgruppe erfolgt an der C2- oder C4-Position des Flavyliumkations, wobei die C4-Position begünstigt ist [Berke et al. 1998]. Bei polymeren Strukturen ist diese Position häufig bereits belegt, so dass keine Reaktion und somit keine Entfärbung mehr stattfindet.

Geräte und Chemikalien

Plastikküvetten Plastibrand 2,5 mL makro [Fa. Brand]
Rührspatel
UV/VIS-Spektralphotometer [Fa. Shimadzu]
Kaliumdisulfit [Fa. VWR]
HCl konz. (37 %) [Fa. VWR]

Lösungen
Kaliumdisulfitlösung: 5,52 g Kaliumdisulfit werden mit dest. Wasser auf 50 mL aufgefüllt.
HCl-Lösung (7 mol/L): 5 mL HCl konz. Werden mit dest. Wasser auf 100 mL aufgefüllt.

Messung und Berechnung
In der Regel können die Proben unverdünnt eingesetzt werden. Säfte der Schwarzen Johannisbeere, Dunkelfelder sowie Aronia wurden 1:5 mit dest. Wasser verdünnt.
Für die Messung der Gesamtanthocyane werden 1700 µL dest. Wasser, 200 µL HCl-Lösung und 100 µL Probe bzw. dest. Wasser für den Reagenzienblindwert in eine Plastikküvette pipettiert und mit einem Rührspatel gemischt. Nach 20 Minuten erfolgt die Messung der Extinktion bei 520 nm. Für die Messung der polymeren Anthocyane werden 900 µL dest. Wasser, 800 µL Kaliumdisulfitlösung, 200 µL HCl-Lösung und 100 µL Probe pipettiert und mit einem Rührspatel gemischt. Analog der Gesamtanthocyane erfolgt die Messung der Extinktion nach 20 Minuten bei 520 nm.
Die Blindwerte werden von den jeweiligen Messwerten subtrahiert. Die Extinktion der monomeren Anthocyane ergibt sich aus der Differenz der Extinktionen der Gesamtanthocyane und polymeren Anthocyane. Der Monomerindex entspricht dem Verhältnis der monomeren Anthocyane zu den polymeren:

$$\mathbf{E_{mono} = E_{gesamt} - E_{poly}}$$
$$\mathbf{Monomerindex = E_{mono} / E_{poly}}$$

Mit:
E_{mono} = Extinktion der monomeren Anthocyane
E_{gesamt} = Extinktion der gesamten Anthocyane
E_{poly} = Extinktion der polymeren Anthocyane

Bestimmung der Standardabweichung
Die Standardabweichungen wurden anhand einer Eichgerade mit Cyanidin-3-glucosid bestimmt: Hierzu wurden für jede Konzentration 12 Messungen durchgeführt. Für Absorptionseinheiten < 0,1 betrug der Variationskoeffizient etwa 5 %, ab einer Absorption >0,1 war dieser < 2 %.

7.6 PRIMÄRE SAFTPARAMETER (RSK-ANALYTIK)

Die Analyseparameter der Richtlinien- und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen (RSK-Werte) wurden in Anlehnung an die EWG-Verordnung Nr. 2676/90, Auflage 2004, untersucht.

Alkohol:	Enzymatisch; IFU-Methode Nr. 2
Relative Dichte:	Biegeschwinger (DMA 48, Fa. Paar), IFU-Methode Nr. 1
Zuckerfreier Extrakt:	berechnet in g/L, = Extrakt – reduzierende Zucker nach Inversion, IFU-Methode Nr. 8
Refraktion:	Refraktometrisch bei 20 °C
°Brix:	Refraktometrisch bei 20 °C
Leitfähigkeit:	Konduktometrisch bei 20 °C (WTW LF-530)
Glycerin:	Enzymatisch, IFU-Methode Nr. 77

Zucker:	Enzymatisch; IFU-Methode Nr. 55
Gesamtsäure:	Potentiometrische Titration [Titrator, Fa. Schott], IFU-Methode Nr. 3 (bis pH 7,0 ber. als Weinsäure; bis pH 8,1 ber. als Zitronensäure)
pH-Wert:	Potentiometrisch bei 20 °C (Glas-Kalomel-Elektrode), IFU-Methode Nr. 11
Flüchtige Säure:	alkalimetrisch nach Wasserdampfdestillation [Vapodest, Fa. Gerhardt], IFU-Methode Nr. 5; ber. als Essigsäure
Essigsäure	Enzymatisch, IFU-Methode Nr. 66
Weinsäure (HPLC):	HPLC (UV-Detektion bei 230 nm) , IFU-Methode Nr. 65 Säule Kombination von RP-18 (Luna, 5 µm, C18, 250 x 4,6 mm) und Anionenaustauscher (Rezex Fast Fruit, 8 % H, 100 x 7,8 mm) Fließmittel 2 %ige Lösung aus 85 %iger Phosphorsäure in bidest. Wasser, Säulentemperatur 20 °C, isokratischer Gradient [Grosheny et al. 1995].
L-Äpfelsäure:	Enzymatisch, IFU-Methode Nr. 64
Citronensäure:	Enzymatisch, IFU-Methode Nr. 54
D-/L-Milchsäure:	Enzymatisch, IFU-Methode Nr. 53
Ascorbinsäure:	Potentiometrisch, IFU-Methode Nr. 17
Mineralstoffe	
Ca, K, Mg, Fe, Zn:	Atomabsorptionsspektrometrisch

Die enzymatischen Bestimmungen erfolgten mit Hilfe der Analysenautomaten Konelab 20XTi [Fa. Thermo Spectronic] sowie Vitalab Selectra E [Fa. Vital].

7.7 BESTIMMUNG DER ANTHOCYANE UND FARBLOSEN PHENOLE MITTELS HPLC ANALYTIK

7.7.1 BESTIMMUNG MITTELS FLUOFIX SÄULE

Die qualitative und quantitative Bestimmung der in den Proben enthaltenen Polyphenole kann wichtige Ergebnisse über die Veränderungen während der Lagerung und den Einfluss der Lagertemperatur liefern. Rechner et al. [1998] entwickelten eine Analysenmethode, die es erlaubt, sowohl Anthocyane als auch farblose Phenole gleichzeitig zu analysieren. Zur Identifizierung und Quantifizierung wurden Standardsubstanzen verwendet. Durch Vergleich der Retentionszeit, Addieren von Standardsubstanzen zur Probe und den UV/VIS-Spektren wurde die Identifikation eines Chromatogrammpeaks verifiziert. Diese Methode wurde für alle Säfte und Konzentrate angewandt, für die Kinetiken der Anthocyane berechnet wurden, und in denen die Einzelgehalte von farblosen Phenolen interessant waren.

Geräte
Membranfilter (0,45 µm) [Fa. Schleicher und Schüll]
Vials (2 mL) mit Deckel und Septen

HPLC-System:

HPLC Anlage	Fa. DIONEX
Detektor	PDA-100 Detektor Fa. DIONEX

Säulenofen	STH 585 Fa. DIONEX
Säule	Fluofix 120E, 4, 6 x 250 mm, 5 µm [Fa. NEOS Company Ltd., Kobe, Japan] mit einer Vorsäule Fluofix 120A, 10 x 4 mm, 5 µm
Autosampler	ASI 100 Fa. DIONEX
Wellenlängen	280, 320, 360 und 520 nm

Chemikalien

Acetonitril gradient grade, *o*-Phosphorsäure 85 % [Fa. VWR]
bidest. Wasser
Anthocyanstandards: Cya-3-glc, Pel-3-glc, Mal-3-glc [Fa. Extrasynthèse]
Phenolstandards: (+)-Catechin, Chlorogensäure, Kaffeesäure, Quer-3-rha, Quer-3-glc, Quer-3-ara [Fa. Roth] ; p-Cumarsäure, (-)-Epicatechin, Gallussäure, 4-Hydroxybenzoesäure [Fa. VWR] ; Quer-3-rut [Fa. Serva Feinbiochemica] ; Procyanidin B1, Procyanidin B2 [Fa. Extrasynthèse]

Fließmittelsystem und Chromatographiebedingungen

Fließmittel A: bidest. Wasser / o-Phosphorsäure (85 %) (99,5 / 0,5; v/v)
Fließmittel B: bidest. Wasser / Acetonitril / o-Phosphorsäure (85 %) (49,5 / 50 / 0,5; v/v/v)
Flussrate: 1 mL min^{-1}
Säulentemperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 20 µL
Gradientenprogramm:

T [min]	*FM A [%]*	*FM B [%]*
0	***100***	***0***
5	***100***	***0***
45	***75***	***25***
65	***25***	***75***
70	***0***	***100***
70,1	***100***	***0***
89,9	***100***	***0***

Probenvorbereitung

Die Proben werden unverdünnt (Traubensäfte) bzw. nach einer 1:5 Verdünnung mit dest. Wasser membranfiltriert und anschließend direkt injiziert. Die Fruchtsaftkonzentrate werden auf Saftstärke zurückverdünnt und gegebenenfalls zusätzlich 1:5 verdünnt.

Die Auswertung erfolgte mittels Chromeleon Software.

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen
Flavanole 1,0/2,0 mg/L, Chlorogen-, Kaffee-, Coumaroylchinasäuren 0,5/1,0 mg/L, Coumarsäure 0,2/1,0 mg/L, Neochlorogensäure 0,1/0,2 mg/L, Kämpferol 0,2/2,0 mg/L, Myricetin 0,2/1,0 mg/L, Anthocyane 0,5/3 mg/L.

7.7.2 BESTIMMUNG DER ANTHOCYANE MITTELS LICHROSPHER SÄULE

Für die Bestimmung der Anthocyane in einigen Modelllösungen wurde die RP-18 LiChrospher Säule verwendet. Auf dieser ist die Trennung der Anthocyane ebenfalls sehr gut möglich, allerdings werden hier die farblosen Phenole nicht ausreichend voneinander getrennt. Da diese Methode zum einen bezüglich des Fließmittelverbrauch (geringere Flussraten) wesentlich sparsamer ist (vgl. 1.8.1) und zum anderen eine deutlich geringere Elutionszeit aufweist, ist diese Methode zur reinen Bestimmung der Anthocyane besser geeignet. Die Geräte und Chemikalien entsprechen den unter 7.7.1 genannten mit Ausnahme der Säule, diese ist hier eine LiChrospher® 100 RP 18, 5 µm, mit integrierter Vorsäule.

Fließmittelsystem und Chromatographiebedingungen
Fließmittel A: bidest. Wasser / Acetonitril / o-Phosphorsäure (85 %) (94 / 4 / 2; v/v)
Fließmittel B: bidest. Wasser / Acetonitril / o-Phosphorsäure (85 %) (48 / 50 / 2; v/v/v)
Flussrate: 0,5 mL min^{-1}
Säulentemperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 20 µL
Gradientenprogramm:

T [min]	*FM A [%]*	*FM B [%]*
0	***100***	***0***
5	***100***	***0***
45	***75***	***25***
65	***25***	***75***
70	***0***	***100***
70,1	***100***	***0***
89,9	***100***	***0***

Probenvorbereitung
Die Proben werden unverdünnt (Traubensäfte) bzw. nach einer 1:5 Verdünnung mit dest. Wasser membranfiltriert und anschließend direkt injiziert. Die Fruchtsaftkonzentrate werden auf Saftstärke zurückverdünnt und gegebenenfalls zusätzlich 1:5 verdünnt.

Die Auswertung erfolgte mittels Chromeleon Software, Version 6.40.

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen
Anthocyane 0,5/2,5 mg/L.

7.8 GRÖßENAUSSCHLUSSCHROMATOGRAPHIE MITTELS TOYOPEARL GELMATERIAL

Zur Aufarbeitung der Saftproben wurde eine chromatographische Methode entwickelt, die es erlaubt, höhermolekulare Anthocyane von niedermolekularen zu trennen. Diese Vortrennung hat insbesondere im Hinblick auf die massenspektrometrische Analyse große Vorteile, da Minorkomponenten, die häufig im Saftspektrum nicht sichtbar sind, so angereichert werden und deren Peaks nun detektiert und identifiziert werden können. Die vorgestellte Gelchromatographie basiert auf einer für Rotweine entwickelten Methode von Alscalde-Eon et al. [2004].

Geräte und Chemikalien
400 mm x 25 mm Glassäule, lösungsmittelbeständig [Fa. Pharmacia]
Toyopearl Gelmaterial HW-40(s) [Fa. Tosoh, Japan]
Membranfilter (0,45 µm) [Fa. Schleicher und Schüll]
Einwegspritzen
Peristaltic Pumpe, Schreiber, Fraktionssammler [Fa. Pharmacia]
UV-VIS-Detektor ERC 7217 (λ = 520 nm) [Fa. ERC inc.]
Reagenzgläser (20 mL)
Ethanol vergällt 96 %, Trifluoressigsäure [Fa. VWR]
Dest. Wasser
Rotationsverdampfer [Rotavapor R-134, Fa. Büchi]
Vakuumpumpe [DIVAC 2,4 L, Fa. Labotec Wiesbaden]

Probenvorbereitung
Die Säfte werden nach Membranfiltration direkt auf die Säule aufgegeben. Das Volumen liegt zwischen 12-18 mL.

Fließmittelsystem und Chromatographiebedingungen
Fließmittel A: Ethanol / bidest. Wasser / Trifluoressigsäure (20 / 80 / 0,05; v/v/v)
Fließmittel B: Ethanol / bidest. Wasser / Trifluoressigsäure (60 / 40 / 0,05; v/v/v)
Fließmittel C: Ethanol vergällt 96 %
Fließmittel D: Aceton / bidest. Wasser (70 / 30; v/v)

Alle Fließmittel werden vor der Verwendung im Ultraschallbad für ca. 15 min entgast.
Das Gelmaterial wird zunächst in Fließmittel A gequollen, in die Glassäule gefüllt und mit ca. 400 mL Fließmittel A konditioniert. Anschließend wird 12-20 mL Saft auf die Säule aufgegeben. Die Flussrate beträgt 1 mL min^{-1}. In der Regel eluieren mit Fließmittel A zunächst die Anthocyanmonoglucoside und können so zu einem Großteil abgetrennt werden. Nachdem der Eluent nahezu farblos ist, wird das Fließmittel gewechselt. In allen Fällen eluiert eine weitere tiefviolett gefärbte Bande mit Fließmittel B. Anschließend wird das System auf Fließmittel C umgestellt, um die eventuell restlichen Anthocyane von der Säule zu spülen. Diese Fraktion ist farblos. Bräunlich gefärbt ist die Fraktion, die mit Fließmittel D eluiert, es handelt sich dabei um die Procyanidinfraktion.

Die Einzelfraktionen mit einem Volumen von 15 mL werden mittels Fraktionssammler in Reagenzgläsern gesammelt, anschließend nach Messung am UV-Vis Photometer bei 520 nm je nach Absorption vereinigt und das Fließmittel am Rotationsverdampfer unter Vakuum abrotiert. Nach Membranfiltration (0,45 µm) erfolgte die Analyse mittels LC-MS.

7.9 FESTPHASENEXTRAKTION (SOLID PHASE EXTRACTION)

Neben dem unter 1.8 beschriebenen Verfahren zur Anreicherung von Anthocyanen wurde die Festphasenextraktion mittels C18-Kartuschen angewandt. Hierbei werden, im Gegensatz zu 1.8, alle Anthocyane angereichert, jedoch nicht voneinander getrennt. Die Vorteile dieser Methode liegen darüber hinaus in der schnellen und einfachen Handhabung sowie im geringen Lösungsmittelverbrauch und Zeitaufwand.

Geräte und Chemikalien
C18-endcapped Kartusche Strata X [Fa. Phenomenex]
Methanol (HPLC gradient) [Fa. VWR]
Festphasenextraktionssystem [Fa. Supleco]
Bechergläser
Vials (2 mL)

Durchführung
Die klaren Säfte werden nach Membranfiltration direkt aufgegeben, trübe Säfte werden zentrifugiert. Mit 2 mL Methanol und anschließenden 2 mL H_2O wird die Kartusche konditioniert, es ist darauf zu achten, dass diese nicht trocken läuft. Dann wird die Kartusche mit 5 x 1 mL Probe bestückt und langsam durchgezogen. Zucker, Pektin etc. werden mit 2,5 mL H_2O eluiert, die Kartusche wird anschließend im Vakuum trocken gezogen. Schließlich werden die Anthocyane mit 1 mL Methanol eluiert und nach Membranfiltration direkt in die LC-MS (1.11) injiziert.

7.10 HERSTELLUNG VON PHENOLEXTRAKTEN

Das Ziel der Herstellung von Polyphenolextrakten ist die effektive, präparative Gewinnung von Polyphenolen aus Säften bei gleichzeitiger Ausblendung von wasserlöslichen Begleitstoffen wie Zuckern, Mineralstoffen oder organischen Säuren.

Geräte und Chemikalien
Adsorberharz XAD 16HP [Rohm & Haas]
Ethanol vergällt [VWR]
Bidest. Wasser
NaOH 1 % (w/v) [VWR]
Phosphorsäure 1 % [VWR]
Glassäule XK 26/40 mit Stempel und Dichtungen [Pharmacia]
Peristaltic Pumpe [Pharmacia]
Rotationsverdampfer (Rotavapor R-134, Fa. Büchi)

Vakuumpumpe (DIVAC 2,4 L, Fa. Labotec Wiesbaden)
Gefriertrocknung (P20-B, Fa. Piatkowski Forschungsgeräte-Vertrieb)

Durchführung
Die Glassäule wird 10-11 cm hoch mit frischem oder regeneriertem in Wasser gequollenem Adsorberharz gefüllt. Bis zur Harzoberfläche wird die Säule trocken laufen gelassen und mit 2 Bettvolumen (BV) Wasser bei einer Flussrate von ca. 300 mL/h konditioniert. Klare Säfte werden direkt auf die Säule aufgegeben, trübe Proben sollten zuvor zentrifugiert werden. 2 BV Saft werden mit einer Geschwindigkeit von 200 mL/h aufgegeben. Mit weiteren 2 BV Wasser werden wasserlösliche Stoffe wie z.B. Zucker entfernt. Anschließend wird mit vergälltem Ethanol eluiert, wobei das erste ½ BV verworfen wird. Am Rotationsverdampfer wird der Extrakt bis zur Trockene einrotiert und der Rückstand bei -40 °C gefriergetrocknet.

7.11 LC-MS-ANALYTIK

7.11.1 ANTHOCYANANALYTIK

Die LC-MS Analytik der Proben erfolgt im Anschluss an die Gelchromatographie, die Säfte können aber auch direkt injiziert werden. Die Peaks werden durch Vergleich der Massen und UV/VIS-Spektren qualitativ ausgewertet.

Geräte und Chemikalien

HPLC-Anlage	Modell Surveyor mit Autosampler und PDA Detektor [Fa. Thermo Finnigan]
Säule	Reprosil Pur ODS-3 125 mm x 2 mm, 5 µm [Fa. Dr. Maisch]

Probenvorbereitung
Die aus der Gelchromatographie erhaltenen Fraktionen oder Säfte werden über Membranfilter (0,45 µm) filtriert und nach Direktinjektion auf einer Reprosil Pur ODS-3 (5 µm, 125 x 2 mm) Säule (Dr. Maisch) analysiert.

Fließmittelsystem und Chromatographiebedingungen
Fließmittel A: Bidest. Wasser / Trifluoressigsäure (99,9 / 0,1; v/v)
Fließmittel B: Acetonitril / Bidest. Wasser / Trifluoressigsäure (50 / 50 / 0,1; v/v/v)

Flussrate:	200 µL min^{-1}
Säulentemperatur:	40 °C
Autosamplertemperatur:	20 °C
Injektionsvolumen:	3-5 µL, je nach Probe

Gradientenprogramm:

T [min]	*FM A [%]*	*FM B [%]*
0	***90***	***10***
1	***90***	***10***
25	***50***	***50***
27	***0***	***100***
33,5	***0***	***100***
34	***90***	***10***
38	***90***	***10***

Die Auswertung erfolgt anhand der Software Xcalibur.

Die LC-MS Analyse wurde mittels Finnigan^{TM} LCQ MS Detektor (Fa. Thermoquest, San Jose, CA), ausgestattet mit einer API Quelle und Ionenfalle (Elektronenspray Ionisation (ESI)), durchgeführt. Als Trägergas wurde Stickstoff verwendet, der Sheathgasfluss betrug 40 arb (arbitrary units), der Auxiliarygasfluss 10 arb. Die Kapillarspannung lag bei 35 kV, die Kapillartemperatur bei 270 °C. Die Source Spray Spannung betrug 4,5 kV. Die Spektren wurden im positiven Modus zwischen *m/z* 250-1500 in drei Events gemessen: Ein Full Scan, ein MS^2 des Mutterions aus dem Full Scan und ein MS^3 des Mutterions aus MS^2. Die Kollisionsenergie betrug 30 %.

7.11.2 ANALYTIK DER FARBLOSEN PHENOLE

Um Peaks der farblosen Phenole zu identifizieren, wurden auch hier LC-MS-Messungen durchgeführt. Die Analytik erfolgte bis auf die folgenden Ausnahmen unter den gleichen Bedingungen wie die der unter 1.11.1 beschriebenen für Anthocyane. Der Massenbereich lag hier bei m/z 200-1200.

Fließmittelsystem und Chromatographiebedingungen
Fließmittel A: Bidest. Wasser / Ameisensäure (98 / 2; v/v)
Fließmittel B: Acetonitril / Ameisensäure (98 / 2; v/v)
Gradientenprogramm:

T [min]	*FM A [%]*	*FM B [%]*
0	***93***	***7***
5	***93***	***7***
31	***80***	***20***
37	***0***	***100***
42	***0***	***100***
43	***93***	***7***
48	***93***	***7***

7.12 SENSORIK

Die Sensorik der Säfte wurde jeweils als Konsensprüfung mit 13-16 geschulten Prüfern im Fachgebiet Weinanalytik und Getränkeforschung der Forschungsanstalt Geisenheim

durchgeführt. In einer ersten Verkostung wurden zunächst Begriffe gesucht, die Farbe, Geruch sowie Geschmack der Proben charakterisieren. Die Konsensprüfung wurde auf der Basis dieser Attribute als quantitative deskriptive Sensorik und anhand des DLG-5-Punkte-Schemas durchgeführt. Ziel ist eine sensorisch ausreichende Beurteilung möglicher Veränderungen während der Lagerung. Die Skala reicht innerhalb des DLG-5-Punkte-Schemas von 0 (nicht bewertbar) bis 5 Punkten (Volle Erfüllung der Qualitätserwartung), die quantitative deskriptive Sensorik wurde auf einer Bewertungsskala von 0-10 mit den Beschreibungen nicht (0) über deutlich (5) bis sehr stark (10) durchgeführt. Die detaillierte Darstellung der für die jeweiligen Säfte festgelegten Attribute erfolgt im Ergebnisteil.
Die drei rebsortenreinen Traubensäfte Spätburgunder, Rotberger und Dunkelfelder wurden direkt verkostet. Die Säfte der schwarzen Johannisbeere wurden aufgrund des hohen Säuregehaltes als Nektare verkostet. Die Muttersäfte wurden mit Wasser auf die °Brix der Nullprobe verdünnt und durch Zuckerzugabe wieder auf 50 °Oechsle eingestellt.
Darüber hinaus wurde im Rahmen der Sensorikvorlesung der Fachhochschule Wiesbaden mit Studenten des Fachs Getränketechnologie eine Rangordnungsprüfung sowie Dreieckstests mit Nektaren der Schwarzen Johannisbeere durchgeführt. Innerhalb der Dreieckstests wurden jeweils die nach einem Jahr gelagerten 4 °C, 20 °C sowie 37 °C- Proben, verschlüsselt mit einer dreistelligen Zufallszahl, unter Lichtausschluss gegen die Nullprobe verkostet. Für die Rangordnung sollten die Studenten die gleichen Proben nach ihrem persönlichen Urteil in der Reihenfolge der Beliebtheit einordnen. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Excel, Fizz Acquisition for Windows Version 2.10 C und Fizz Calculation for Windows Version 2.10 H.

7.13 AROMAANALYTIK

Zur Bestimmung der Aromaprofile in Roten Traubensäften und Schwarzen Johannisbeersäften wurde die Gaschromatographie/Massenspektrometrie eingesetzt (SOP 9, 15; WG2).

7.13.1 QUALITATIVE BESTIMMUNG DES AROMAPROFILS MITTELS TWISTER GC-MS

Geräte und Chemikalien
10 mL Glasvial
Magnetrührer für Twister [Fa. Gerstel]
10 mL Pipette
100 mL Messkolben
2 mL GC-Glasvial mit magnetischem Verschluss
Twister Länge 1 cm, Schichtdicke 0,5 µm (55 µL Phasenvolumen), Phasenmaterial Polydimethylsiloxan [Fa. Gerstel]
TDU (Thermo- Desorptions-Unit) mit Glaslinern für TDU und Gummikappe
KAS4 (Kaltaufgabesystem mit Stickstoffkühlung)
GC-MS (6890 N Network GC Systems Fa. Agilent Technologies, Mass Selective Detektor, 5973 N) Fa. [Agilent Technologies]
Säule [Fa. Phenomenex ZB-WAX (30,0 m x 250 µm x 0,25 µm)
Autosampler MPS 2 Multi Purpose Sampler [Fa. Gerstel]
Pneumatik GC 6890N und Pneumatik TDU/CIS4
Magnetische Pinzette
EtOH, p.A. [Fa. Roth]

Trägergas Helium, analysenrein
Druckluft oder Stickstoff zum Verschließen des TDU
Flüssiger Stickstoff
dest. Wasser

Vorgehensweise
10 mL Saft werden in ein 10 mL Glasvial pipettiert, anschließend wird vorsichtig mit Hilfe einer magnetischen Pinzette ein regenerierter Twister zugefügt. Das Vial wird mit einer Bördelkappe verschlossen und bei Raumtemperatur und 1600 rpm 60 min gerührt. Eine Gleichgewichtseinstellung ist abhängig von Temperatur, Rührgeschwindigkeit, Rührzeit, Volumen und Matrix der Probe.
Nach 60 min werden die Bördelkappen geöffnet und die Twister mit einer magnetischen Pinzette aus dem Gals-Vial entfernt. Anschließend müssen Matrixbestandteile durch spülen mit H_2O vom Twister entfernt werden. Die vorbereiteten Twister werden mit Hilfe einer magnetischen Pinzette in die Glas-Liner des Autosamplers eingeführt.
Die Desorption der Aromastoffe erfolgt in einem Thermo-Desorptionssystem (TDU, Fa. Gerstel) mit anschließender Kryofokussierung an einem Kaltaufgabesystem (CAS, Fa. Gerstel) bei -150 °C und gaschromatographischer Trennung (GC 6890 N, Fa. Agilent) mit massenselektiver Detektion (MSD 5973 N, Fa. Agilent) unter folgenden Bedingungen:

Chromatographiebedingungen mit Twister:
Programmbezeichnung: Mode3_2
Mode: Const. Flow; 1,3 mL/min
Split: Vent Flow: 50 mL/min
Purge Flow: 20 mL/min
Trägergas: Helium
Inlet: Front
Temperaturprogramm: 40 °C / 1 min // 4 °C/ min / 240 °C// 5 min

Detektor:
MS Source: 230 °C
MS Quad: 150 °C

Kaltaufgabesystem:
Equib. Time: 0,2 min
Initial Time: 0,01 min
Temperaturprogramm: -150 °C / 12,0 °C / s // 250 °C / 3 min

Thermodesorptionssystem:
Transferline: 250 °C
Temperaturprogramm: 30 °C / 720 °C // 250 °C/ 4 min

7.13.2 QUANTITATIVE ANALYSE DER FLÜCHTIGEN VERBINDUNGEN

Geräte und Chemikalien

20 mL Reagenzglas mit Drehverschluss
50 mL Pipette
100 mL Messkolben
2 mL GC-Glasvial mit magnetischem Verschluss
μL Glasinlett für GC-Glasvial
GC-MS (Fa. Agilent Technologies; 6890 N Network GC Systems mit Mass Selective Detektor, 5973 N)
Säule (Fa. Phenomen ZB-WAX (30,0 m x 250 μm x 0,25 μm))
Autosampler (Fa. Gerstel, MPS 2 Multi Purpose Sampler)
Pneumatik GC 6890N und Pneumatik TDU/CIS4
Wasserdampfdestillation Vapodest 30 [Fa. Gerhardt]
Glasaufschlusskolben für Vapodest
Vortexer [Fa. Labotec]
Pentan, p.A. [Fa. Roth]
Diethylether. p.A. [Fa. Roth]
Trägergas Helium, analysenrein
NaCl, analysenrein [Fa. VWR]
dest. H_2O
Aromastandards

Für die quantitative Analyse werden 50 mL Probe mit 100 µL internem Standard (γ-Undecalacton) in ein Aufschlussgefäß pipettiert. Die Wasserdampfdestillation erfolgt 200 s bei 100 % in 100 mL Messkolben. Nach Ende der Destillation wird die Probe mit bidest. Wasser auf 100 mL aufgefüllt und bei 20 °C temperiert. 15 mL des Destillats werden in ein verschließbares Reagenzglas pipettiert, anschließend wird bis zur Sättigung NaCl sowie 1 mL Diethylether/Pentan (1:1) zugegeben. Das Reagenzglas wird verschlossen und die Lösung extrahiert. Nach der Phasentrennung wird ein Teil der organischen Phase in ein 2 mL GC-Gläschen mit 200 μL-Glasinlett überführt und mit einer magnetischen Bördelkappe verschlossen. Die Probe kann nun gaschromatographisch analysiert werden.
Die Quantifizierung der Aromakomponenten erfolgt anhand externer Standardeichgeraden.

Chromatographiebedingungen Schwarze Johannisbeere Quantifizierung:

Programmbezeichnung:	SDE01
Mode: Const. Pressure;	0.698 bar
Total Flow:	30,2 mL/min
Split/Splitlos-Injektion	
Split Ratio:	1:20
Trägergas:	Helium, analysenrein
Temperaturprogramm:	40 °C / 1 min // 4 °C/ min / 240 °C// 5 min
Runtime:	50 min
Inlet:	230 °C
Säule:	Phenomenex ZB-WAX (30,0 m x 250 μm x 0,25 μm)
Injektionsvolumen:	1μl
Solvent Delay:	2 min

Spülflüssigkeit: n-Pentan oder TBME

Detektor:
MS Source: 230 °C
MS Quad: 150 °C
Full Scan: 30 – 300 m/z

Transfer Line: 280 °C

7.14 MODELLVERSUCHE

7.14.1 MODELLVERSUCHE ZUR COPIGMENTIERUNG

Bezüglich der Farberhaltung von Buntsäften wurden verschiedene Modellversuche mit so genannten Copigmenten (farblose Phenole) durchgeführt.
Im Hinblick auf die Farberhaltung der Buntsäfte können sich farblose Polyphenole farbstabilisierend bzw. farbintensivierend auswirken, die als Copigmente Reaktionen mit den farbgebenden Anthocyanen eingehen können. Zur Untersuchung dieser Effekte wurden Vorversuche mit reinen Anthocyanstandards (Cyanidin-3-glucosid) und verschiedenen farblosen Phenolen (s. Modellversuche 1-3) durchgeführt und die Farbentwicklung photometrisch (380-770 nm) beurteilt. Abschließend wurden die Proben mittels HPLC und LC-MS analysiert. Weiterhin wurde der Einfluss von Ascorbinsäure auf die Farbentwicklung untersucht.

Geräte und Chemikalien
5 mL Einmalplastikküvetten mit Verschluss [Fa. Sarstedt]
UV/VIS Photometer [Fa. UNICAM]
HPLC, LC-MS [Fa. Thermo Finnigan]
Membranfilter (0,45 µm) [Fa. Schleicher und Schüll]
Einwegspritzen
Cyanidin-3-glucosid [Fa. Extrasynthése]
Cyanidin-3-glucosid [isoliert aus Sauerkirsche]
Kaffeesäure, Chlorogensäure, p-Coumarsäure [Fa. Roth]
Catechin [Fa. VWR]
Erdbeersaft (Fa. Bayernwald)
Spätburgundersaft (Forschungsanstalt Geisenheim)
Pelargonidin-3-glucosid, Procyanidin B2 [Fa. Extrasynthése]
Phloretin, Phloridzin, Rutin, Ascorbinsäure, Citronensäure [Fa. Roth]
Ellagsäure [Fa. Fluka]
NaCl [Fa. VWR]
NaOH (1M) [Fa. VWR]
Ameisensäure, p.a., Acetonitril p.a., Methanol p.a. [Fa. VWR]
Dimethylsulfoxid (DMSO) [Fa. VWR]
HCl (37 %) [Fa. VWR]
Methanol [Fa. Roth]

Lösungen
Citratpuffer: 8,47 g Citronensäure, 3,49 g NaCl, 20,6 mL NaOH (1 M) (pH-Wert: 3,0)

7.14.1.1 MODELLVERSUCH 1

Vorversuch 1 zeigt den Einfluss verschiedener farbloser Phenole sowie Ascorbinsäure auf die Anthocyanstandards, Vorversuch 2 die Konzentrationsabhängigkeit der Farbstabilisierung (basierend auf den Ergebnissen aus Vorversuch 1).

Stammlösungen:
5 mg Cyanidin-3-glucosid wurden in 5 mL Methanol gelöst und auf 25 mL mit Citratpuffer aufgefüllt (entspricht 200 mg/L). Je 25 mg p-Coumarsäure, Catechin, Chlorogensäure und Kaffeesäure wurden in 1 mL Methanol angelöst und analog auf 25 mL mit Citratpuffer aufgefüllt (1000 mg/L). 12,5 mg Ascorbinsäure wurden in 50 mL Citratpuffer gelöst.
Aus den angesetzten Stammlösungen wurden entsprechend der angegebenen Konzentrationen aus Tab. 50 je 1 mL in eine verschließbare 5 mL Plastikküvette pipettiert und anschließend auf ein Gesamtvolumen von 4 mL mit Citratpuffer aufgefüllt. Das Verhältnis der jeweiligen Copigmente zu den Anthocyanen beträgt 5:1.

Tab. 50: Zusammensetzung der Konzentrationen aus Cyanidin-3-glucosid und den jeweiligen farblosen Phenolen pro Küvette [mg/L].

Experiment	Cya-3-glc [mg/L]	Ascorbinsäure [mg/L]	Coumarsäure [mg/L]	Catechin [mg/L]	Chlorogensäure [mg/L]	Kaffeesäure [mg/L]
1	50	0	0	0	0	0
2	50	0	0	0	0	250
3	50	0	0	0	250	0
4	50	0	0	250	0	0
5	50	0	0	250	250	0
6	50	0	250	0	0	0
7	50	0	250	0	250	0
8	50	0	250	250	0	0
9	50	62,5	0	0	0	0
10	50	62,5	0	0	0	250
11	50	62,5	0	0	250	0
12	50	62,5	0	250	0	0
13	50	62,5	0	250	250	0
14	50	62,5	250	0	0	0
15	50	62,5	250	0	250	0
16	50	62,5	250	250	0	0

Die Proben wurden lichtgeschützt bei 20 °C über einen Zeitraum von neun Monaten gelagert. In regelmäßigen Abständen wurden mittels UV/VIS-Spektroskopie Spektren gemessen sowie die daraus resultierenden L*a*b*-Werte berechnet, um Auskünfte über die Farbveränderungen zu erhalten.

7.14.1.2 MODELLVERSUCH 2

Ein weiterer Vorversuch wurde durchgeführt, um die Abhängigkeit der Farbstabilisierung von den eingesetzten Konzentrationen an Copigmenten bzw. deren relatives Verhältnis zur Anthocyankonzentration zu untersuchen. Hierzu wurde analog des ersten Versuches verfahren, jedoch lediglich p-Coumarsäure, Chlorogensäure und Kaffeesäure als farblose Phenole eingesetzt, da nur diese sich in Vorversuch 1 farbstabilisierend zeigten. Die Verhältnisse in den Experimenten variierten von 1:1 bis 20:1 (Copigment / Anthocyan). Als Anthocyanstandard diente erneut Cyanidin-3-glucosid (Tab. 51). Die Proben wurden lichtgeschützt bei 20 °C über einen Zeitraum von neun Monaten gelagert. In regelmäßigen Abständen wurden mittels UV/VIS-Spektroskopie Spektren gemessen sowie die daraus resultierenden L*a*b*-Werte berechnet, um Auskünfte über die Farbveränderungen zu erhalten.

Tab. 51: Zusammensetzung der Konzentrationen aus Cyanidin-3-glucosid und den jeweiligen farblosen Phenolen pro Küvette [mg/L]

Experiment	Cya-3-glc [mg/L]	Coumarsäure [mg/L]	Chlorogensäure [mg/L]	Kaffeesäure [mg/L]	Verhältnis Copig/Antho
17	50	0	0	0	--
18	50	50	0	0	1
19	50	125	0	0	2,5
20	50	500	0	0	10
21	50	1000	0	0	20
22	50	0	50	0	1
23	50	0	125	0	2,5
24	50	0	500	0	10
25	50	0	1000	0	20
26	50	0	0	50	1
27	50	0	0	125	2,5
28	50	0	0	500	10
29	50	0	0	1000	20
30	50	25	25	0	1
31	50	62,5	62,5	0	2,5
32	50	250	250	0	10
33	50	500	500	0	20

7.14.1.3 MODELLVERSUCH 3

Analog Modellversuch 1 wurden zu Spätburgundersaft und Cyanidin-3-glucosid Procyanidin B2, Catechin, Ellagsäure, Rutin, Phloretin und Phloridzin zugesetzt. Anschließend wurden die Proben über einen Zeitraum von zwei Monaten bei 25 °C lichtgeschützt gelagert und regelmäßig bezüglich der Farbe/L*a*b* photometrisch analysiert. Zu Beginn und nach Beendigung der Lagerung wurden die entsprechenden Proben mittels HPLC analysiert. Die verwendeten Ausgangskonzentrationen dieses Versuches sind in Tab. 52 dargestellt.

Lösungen

McIllvaine Puffer:

80,3 mL Citronensäure (0,1 mol/L) + 19,7 mL di-Natriumhydrogenphosphat (0,2 mol/L) (pH-Wert: 3,0)

Stammlösungen:
15 mg Cyanidin-3-glucosid bzw. 5 mg Pelargonidin-3-glucosid wurden in 5 mL Methanol gelöst und auf 25 mL mit Puffer aufgefüllt. Je 25 mg Procyanidin B2, Catechin, Phloretin, Phloridzin und Rutin wurden in 1 mL Methanol angelöst und analog auf 25 mL mit Puffer aufgefüllt (1000 mg/L). 25 mg Ellagsäure wurden in DMSO gelöst und mit Puffer auf 25 mL aufgefüllt.
Aus den angesetzten Stammlösungen wurden entsprechend der angegebenen Konzentrationen in Tab. 52 je 1 mL in eine verschließbare 5 mL Plastikküvette pipettiert und anschließend auf ein Gesamtvolumen von 4 mL mit Puffer aufgefüllt. Das Verhältnis der jeweiligen Copigmente zu den Anthocyanen beträgt 5:1.

Tab. 52: Zusammensetzung der Konzentrationen aus Cyanidin-3-glucosid und den jeweiligen farblosen Phenolen pro Küvette [mg/L]

	Procyanidin B2 [mg/L]	Catechin [mg/L]	Ellagsäure [mg/L]	Phloretin [mg/L]	Phloridzin [mg/L]	Rutin [mg/L]
Spätburgunder	0	0	0	0	0	0
Spätburgunder	250	0	0	0	0	0
Spätburgunder	0	250	0	0	0	0
Spätburgunder	125	125	0	0	0	0
Spätburgunder	0	0	250	0	0	0
Spätburgunder	0	0	0	250	0	0
Spätburgunder	0	0	0	0	250	0
Spätburgunder	0	0	0	0	0	250
Cya-3-glc	0	0	0	0	0	0
Cya-3-glc	250	0	0	0	0	0
Cya-3-glc	0	250	0	0	0	0
Cya-3-glc	125	125	0	0	0	0
Cya-3-glc	0	0	250	0	0	0
Cya-3-glc	0	0	0	250	0	0
Cya-3-glc	0	0	0	0	250	0
Cya-3-glc	0	0	0	0	0	250

7.15 VERSUCHE ZUR FARBSTABILISIERUNG IN FRUCHTSÄFTEN

Durch verschiedene Zusätze in Fruchtsäften wurde versucht, deren Farbe zu stabilisieren. Die Säfte wurden jeweils vergleichend mit und ohne Zusätze gelagert und anschließend hinsichtlich der Parameter Farbe, Anthocyangehalt und Monomerindex analysiert.

7.15.1 ASCORBINSÄUREZUSATZ

Zu zwei Spätburgunder Traubensäften sowie zwei Muttersäften der schwarzen Johannisbeere mit jeweils unterschiedlichen Anthocyangehalten wurden 250 mg/L Ascorbinsäure hinzugefügt. Die Proben wurden in 12 mL Schott-Glasröhrchen gefüllt, 5 Min bei 85 °C pasteurisiert und bei 25 °C unter Lichtausschluss über drei Monate gelagert.

7.15.2 EXTRAKTZUSATZ

Zu Spätburgunder Traubensaft wurden folgende Extrakte nach XAD-16 Herstellung aus den entsprechenden Säften hinzugefügt: Erdbeerextrakt 2 g/L, Sauerkirschextrakt 1 g/L,

Spätburgunderextrakt 1 g/L und Dunkelfelderextrakt 1 g/L. Hierfür wurden 200 mL Saft mit 200 mg bzw. 400 mg (Erdbeere) im Erlenmeyerkolben gerührt, in 12 mL Schott-Glasröhrchen gefüllt, 5 min bei 85 °C pasteurisiert und drei Monate bei 25 °C unter Lichtausschluss gelagert.

7.15.3 ZUSATZ VON ZITRONENSÄURE

Dieser Versuch wurde mit Säften der Rebsorte Spätburgunder und schwarzer Johannisbeere durchgeführt. Die pH-Werte wurden durch Einrühren von Zitronensäure einheitlich auf einen pH-Wert von 2 eingestellt. Für Schwarze Johannisbeere (pH=3,0) betrug der Zusatz 29,7 g/100 mL, bei Spätburgunder (pH=3,2) 25,9 g/100 mL Zitronensäure. Die Proben wurden in 12 mL Schott-Glasröhrchen gefüllt, 5 Min bei 85 °C pasteurisiert und bei 25 °C unter Lichtausschluss über einen Zeitraum von drei Monaten gelagert.

7.16 STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ANALYSENERGEBNISSE

Die Ergebnisberechnung, Mittelwert- und Medianberechnung sowie die Erstellung der Grafiken und Tabellen erfolgte mit Microsoft Excel 2002. Die Berechnung der Korrelationen und die multivariante Datenanalyse (ANOVA) wurden mit SPSS 12.0G für Windows durchgeführt.

8 LITERATUR

Adrian M., Jeandet P., Douillet-Breuil A.C., Tesson L. und Bessis R. **(2000)**: Stilbene Content of Mature Vitis Vinifera Berries in Response to UV-C Elicitation. *J. Agric. Food Chem. 48*, 6103-6105.

Ahmed J., Shivhare U.S. und Raghavan G.S.V. **(2004)**: Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. *Eur Food Res. Technol. 218,* 525-528.

Alcalde-Eon C., Escribano-Bailón M.T., Santos-Buelga C. und Rivas-Gonzalo J.C. **(2004)**: Separation of pyranoanthocyanins from red wine by column chromatography. *Anal. Chim. Acta 513*, 305-318.

Alcalde-Eon C., Saavedra G., de Pascual-Teresa S. und Rivas-Gonzalo J.C. **(2004)**: Identification of anthocyanins of pinta boca (*Solanum stenotomum*) tubers. *Food Chem. 86, 441-448.*

Ara V. **(2002)**: Schwarzfruchtige Aronia: Gesund – und bald in aller Munde? *Flüssiges Obst 10*, 653-658.

Asenstorfer R.E., Markides A.J., Iland P.G. und Jones G.P. **(2003)**: Formation of vitisin A during red wine fermentation and maturation. *Austr. J. Grape Wine. Res. 9*, 40-46.

Bagger-Jørgensen R. und Meyer A.S. **(2004)**: Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on the release of phenols into blackcurrant juice. *Eur. Food Res. Technol 219*, 620-629.

Bakker J. und Timberlake C.F. **(1997)**: Isolation, Identification and Characterization of New Color-Stable Anthocyanins Occuring in Some Red Wines. *J. Agric. Food Chem. 45*, 35-43.

Bakker J., Bridle P. Honda T., Kuwano H., Saito N., Terhara N. und Timberlake C. **(1997)**: Identification of an anthocyanin occuring in some red wines. *Phytochem. 44*, 1375-1382.

Baranac J.M., Petranovic N.A. und Dimitric-Markovic J.M. **(1996)**: Spectrophotometric Study of Anthocyan Copigmentation Reactions. *J. Agric. Food Chem. 44*, *1333-1336*.

Baranac J.M., Petranovic N.A. und Dimitric-Markovic J.M. **(1997)**: Spectrophotometric study of anthocyanin copigmentation reactions. 2. Malvin and the nonglycosidized flavone quercetin. *J. Agric. Food Chem. 45*, 1694-1697.

Barth S.W., Fähndrich C., Bub A., Dietrich H., Watzl B., Will F., Briviba K. und Rechkemmer G. **(2005)**: Cloudy apple juice decreases DNA damage, hyperproliferation and aberrant crypt foci development in the distal colon of DMH-initiated rats. *Carcinogensis 26, 8, 1414-1421.*

Berké B. und de Freitas V.A.P. **(2005)**: Influence of procyanidin structures on their ability to complex with oenin. *Food Chem. 90, 453-460.*

Berké B., Chèze C., Vercauteren J. und Deffieux G. **(1998)**: Bisulfite addition to anthocyanins: recisted structures and colourless adducts. *Tetrahedron Letters 39, 5771-5774.*

Bermúdez-Soto M.J. und Tomás-Barberan F.A. **(2004)**: Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *Eur. Food Res. Technol. 219*, 133-141.

Bitsch R. **(1996)**: Pflanzenphenole und ihre gesundheitliche Wirkung. *Naturw. Rdsch. 49, 47-51.*

Bitsch R., Netzel M., Frank T., Strass G. und Bitsch I. **(2004)**: Bioavailability and Biokinetics of Anthocyanins from red grape Juice and red wine. *J. Biomed. Biotechnol. 5*, 293-298.

Block G., Patterson B. und Subar A. **(1992)**: Fruit, vegetables and cancer Prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer 18, 1-29*

Bloomfield D.G., Heatherbell D.A. und Pour Nikfardjam M.S. **(2003)**: Effect of *p*-Coumaric Acid on the Color in Red Wine. *Mitt. Klosterneuburg 53*, 195-198.

Bonerz D. **(2007)**: Untersuchung von Alterungsvorgängen der Anthocyane im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums bei Buntsäften und Buntsaftkonzentraten. *Dissertation*. Forschungsanstalt Geisenheim, Universität Frankfurt.

Bonerz D., Würth K., Patz C.-D. und Dietrich H. **(2006)**: Der Monomerindex. Eine schnelle und kostengünstige Methode zur Bestimmung von Anthocyanen und Anthocyanaddukten in Buntsäften, Nektaren, Konzentraten und Rotweinen. *Deutsch. Lebensm. Rundschau 102*, 195-201.

Boulton R. **(2001)**: The Copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am. J. Enol. Vit. 52, 2*, 67-87.

Bradshaw M.P., Cheynier V., Scollary G.R. und Prenzler P.D. **(2003)**: Defining the ascorbic acid crossover from anti-oxidant to pro-oxidant in a model wine matrix containing (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem. 51, 4126-4132.*

Bradshaw, M.P., Prenzler, P.D., Scollary,G. **(2001):** Ascorbic acid-induced browning of (+)-catechin in a model wine system. *J. Agric. Food Chem. 49, 2, 934-939.*

Brenes C.H., Del Pozo-Insfran D., Talcott S.T. **(2005)**: Stability of Copigmented Anthocyanins and Ascorbic Acid in a Grape Juice Model System. *J. Agric. Food Chem. 53*, 49-56.

Bub A., Watzl B., Blockhaus M., Briviba K., Liegibel U., Müller H., Pool-Zobel B. und Rechkemmer G. **(2003)**: Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J. Nutr. Biochem. 14*, 90-98.

Burns J., Gardner P.T. O´Neil J., Crawford S., Morecroft I., MacPhail D.B., Lister C., Matthews D., MacLean M.R., Lean M.E.J., Duthie G.G. und Crozier A. **(2000)**: Relationship among Antioxidant Activity, Casodilation Capacity and Phenolic Content of Red Wines. *J. Agric. Food Chem. 48*, 220-230.

Cabrita L., Fossen T. und Andersen O.M. **(2000)**: Colour and stability of the six common anthocyanidin-3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem. 68*, 101-107.

Cao G., Muccitelli H.U., Sánchez-Moreno C. und Prior R.L. **(2001)**: Anthocyanins are absorbed in glycated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. *Am. J. Clinic. Nutr. 73*, 920-926.

Carlsen C. und Stapelfeldt H. **(1997)**: Light sensitivity of elderberry extract. Quantum yields for photodegradation in aqueous solution. *Food Chem. 60*, 383-387.

Cemeroglu B., Velioglu S. und Isik S. **(1994)**: Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *J. Food Sci. 59, 6, 1216-1218.*

Clifford M.N. **(2000)**: Anthocyanins-nature, occurence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric. 80*, 1063-1072.

Cooper-Driver G.A. **(2001)**: Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. *Phytochem. 56*, 229-236.

Czyzowska A. und Pogorzelski E. **(2004)**: Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II. Anthocyanins and Flavanols. *Eur. Food Res. Technol. 218*, 355-359.

Dallas C., Ricardo-da-Silva J.M. und Laureano **(1996)**: Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B_2 and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem. 44*, 2402-2407.

Dangles O., Saito N. und Brouillard R. **(1993)**: Anthocyanin intramolecular copigment effect. *Phytochem. 34*, 119-124.

Darias-Martín J., Carrillo M., Diaz E. und Boulton R.B. **(2001)**: Enhancement of red wine color by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry 73*, 217-220.

Darias-Martín J., Martín-Luis B., Carrillo-López M., Lamuela-Raventós R., Díaz-Romero C. und Boulton R. **(2002)**: Effect of caffeic acid on the color of red wine. *J. Agric. Food Chem. 50*, 2062-2067.

De Rosso V.V. und Mercadante A.Z. **(2007)**: The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. *Food Chem. 103*, 935-943.

De Villiers A., Vanhoenacker G., Majek P. und Sandra P. **(2004)**: Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *J. Chromat. A 1054*, 195-204.

Dietrich H., Pour Nikfardjam M.S. und Patz C.-D. **(1999)**: Bedeutung und Vorkommen von Resveratrol in Rot- und Weißweinen. *Deutsches Weinbau-Jahrbuch 50*, 221-230.

Dietrich H., Rechner A., Patz C.-D., Bitsch R., Böhm V., Bitsch I. und Netzel M. **(2003)**: Einfluss der Verarbeitungstechnik auf die phenolischen Antioxidantien von Fruchtsäften (Holunder, Brombeere, Sauerkirsche, Stachelbeere). *Flüss. Obst 70*, 714-721.

Dietrich H., Thielen C., Würth K. und Bonerz D. **(2005)**: Neue Erkenntnisse über bioaktive Stoffe in Fruchtsäften. *Flüss. Obst 72*, 472-478.

Dyrby M., Westergaard N. und Stapelfeldt H. **(2001)**: Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chem. 72*, 4, 431-437.

Eder R. **(1996)**: Degradation kinetics of anthocyanins in concentrated juice of black currants (Ribes nigrum L.). *Polyphenols Communications 96. XVIII. International Conference on Polyphenols, Bordeaux, France, July 15-18, Vol. 2, 277-278.*

Eiro M.J. und Heinonen M. **(2002)**: Anthocyanin Color Behaviour and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation. *J. Agric. Food Chem. 50*, 7461-7466.

Es-Safi N., Fulcrand H., Cheynier V. und Moutounet M. **(1999)**: Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin-3-O-glucoside in a model solution system. *J. Agric. Food Chem. 47*, 2096-2102.

Felgines C., Talavera S., Gonthier M.P., Texier O., Scalbert A., Lamaison J.L. und Remesy C. **(2003)**: Strawberry anthocyanins are recovered in urine as glucuro- and sulfoconjugates in humans. *J. Nutr. 133*, 1296-1301.

Fiore A., La Fauci L, Cervellati R., Guerra M.C., Speroni E., Costa S., Galvano G., De Lorenzo A., Bacchelli V., Fogliano V. und Galvano F. **(2005)**: Antioxidant activity of pasteurized and sterilized commercial red orange juices. *Mol. Nutr. Food Res. 49*, 1129-1135.

Fleschhut J. **(2004)**: Untersuchungen zum Metabolismus, zur Bioverfügbarkeit und zur antioxidativen Wirkung von Anthocyanen. *Dissertation, Technische Universität Karlsruhe*.

Fleschhut J., Kratzer F., Rechkemmer G. und Kulling S.E. **(2006)**: Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *Eur. J. Nutr. 45*, 7-18.

Fossen T. und Andersen O.M. **(2003)**: Anthocyanins from red onion, Allium cepa, with novel aglycone. *Phytochem. 62*, 1217-1220.

Fossen T., Rayyan S. und Andersen O.M. **(2004)**: Dimeric anthocyanins from strawberry (*Fragaria ananassa*) consisting of pelargonidin-3-glucoside covalently linked to four flavan-3-ols. *Phytochem. 65, 1421-1428.*

Francia-Aricha E., Guerra M.T., Rivas-Gonzalo J.C. und Santos-Buelga C. **(1997)**: New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem. 45*, 2262-2266.

Francis F.J. **(1989)**: Food colorants: anthocyanins. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 28*, 273-314.

Froytlog C., Slimestad R. Und Andersen O.M. **(1998)**: Combination of chromatographic techniques for the preparative isolation of anthocyanins – applied on blackcurrant (*Ribes nigrum*) fruits. *J. Chrom. A 825*, 89-95.

Fuhrmann B., Lavy A. und Aviram M. **(1995)**: Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr. 61,* 549.

Fulcrand H., Benabdeljalil C., Rigaud J., Cheynier V. und Moutounet M. **(1998)**: A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochem. 47*, 1401-1407.

Fulcrand H., Cameira dos Santos P.J., Sarni-Manchado P., Cheynier V. und Favre-Bonvin J. **(1996)**: Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 735-739.

Gao L. und Mazza G. **(1994)**: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci 59*, 1057-1059.

Garcia-Viguera C., Zafrilla P. und Tomas-Barberan F.A. **(1997)**: Determination of Authenticity of Fruit Jams by HPLC Analysis of Anthocyanins. *J. Sci. Food Agric 73*, 207-213.

Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellán P., Artés und Tomás-Barberán F.A. **(1999)**: Color Stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *J. Food Sci. 64, 2,* 243-247.

Garzón G.A. und Wrolstad R.E. **(2002)**: Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *J. Food Sci. 67, 4, 1288-1299.*

Gimenez J., Kajda P., Margomenou L., Piggott J.R. und Zabetakis I. **(2001)**: A study on the colour and sensory attributes of high-hydrostatic-pressure jams as compared with traditional jams. *J. Sci, Food Agric. 81*, 1228-1234.

Giusti M.M. und Wrolstad R.E. **(1996)**: Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for maraschino cherries. *J. Food Sci. 61*, 688-694.

Giusti M.M. und Wrolstad R.E. **(2001)**: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc, New York. Edts.: Wrolstad,R.E.; Acree,T.E.; An,H.; Decker,E.A.; Penner,M.H.; Reid,D.S.; Schwartz,S.J.; Shoemaker,C.F.; Sporns,P.

Goiffon J.-P., Mouly P.P. und Gaydou E.M. **(1999)**: Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta 382*, 39-50.

Gonnet J.-F. **(1999)**: Colour Effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited – 2. A colorimetric look at the solutions of cyanin co-pigmented by rutin using the CIELAB scale. *Food Chem. 66,* 387-394.

González-Paramás A.M., Lopes da Silva F., Martín-López P., Macz-Pop G., González-Manzano S., Alcalde-Eon C., Pérez-Alonso J.J., Escribano-Bailón M.T., Rivas-Gonzalo J.C. und Santos-Buelga **(2006)**: Flavonol-anthocyanin condensed pigments in plant extracts. *Food Chem. 94,* 428-436.

Grosheny B., Isengard H.-D. und Philipp O. **(1995):** Bestimmung von zwölf organischen Säuren und 5-Hydroxymethylfurfural in Fruchtsäften mit HPLC. *Dtsch. Lebensm. Rdsch. 9160, 5, 137-140.*

Habermeyer M. **(2005)**: Wirkmechanistische Untersuchungen zur Beeinflussung humaner Topoisomerasen durch Anthocyanidine, sowie Einfluss der Tyrosol-DANN-Phosphodiesterase 1 (TDP1) auf die Wirkung von Topoisomerasegiften. *Dissertation, Technische Universität Kaiserslautern.*

Harborne J.B. und Grayer R.J. **(1988)**: The Anthocyanins. In: *The flavonoids Advances in Research since 1980*, Harborne J.B., eds, Chapman and Hall, London.

Harborne J.B. und Williams C.A. (2000): Advances in flavonoid research since 1992. Phytochem. 55, 481-504.

Hayasaka Y. und Asenstorfer R.E. **(2002)**: Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. *J. Agric Food Chem. 50*, 756-761.

Hermann K. **(1992)**: Über die Gehalte der hauptsächlichen Pflanzenphenole im Obst. *Flüssiges Obst 59*, 66-70.

Hertog M.G.L., Feskens E.MJ.M., Hollman P.C.H., Katan M.B. und Kromhout D. **(1993)**: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *The Lancet 342, 1007-1011.*

Hertog M.G.L., Kromhout D., Aravanis H., Blackburn H., Buzina R., Fidanza S., Giampaoli A., Jansen A., Menotti A., Nedeljkovic S., Pekkarinen M., Simic B.S., Toshima H., Feskens E.MJ.M., Hollman P.C.H. und Katan M.B. **(1995)**: Flavonoid intake and longterm risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med. 155, 27, 381-386.*

Hillebrand S. **(2004)**: Analytik von Polyphenolen in Buntsäften im Hinblick auf Saftqualität, Farbe und antioxidative Kapazität. *Dissertation Technische Universität Braunschweig, Cuvillier Verlag Göttingen.*

Hillebrand S., Schwarz M. und Winterhalter P. **(2004)**: Characterization of anthocyanins and pyranoanthocyanins from blood orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] Juice. *J. Agric. Food Chem. 52,* 7331-7338*.*

Hou D.X. **(2003)**: Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. *Curr. Mol. Med. 3, 149-159.*

Ibarz A., Bellmunt S. und Bota E. **(1992)**: Unterschiedliche nichtenzymatische Bräunungsprozesse während der Lagerung von Apfelsaftkonzentrat. *Flüssiges Obst 59, 1,* 9-11.

Ibarz A., Casero T., Miguelsanz R. und Pagan J. **(1990)**: Kinetik der nichtenzymatischen Bräunung von bei verschiedenen Temperaturen gelagertem Birnensaftkonzentrat. *Confructa,* 148-152.

Iversen C.K. **(1999)**: Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *J. Food Sci. 64*, 37-41.

Kader F., Nicolas J.-P. und Metche M. **(1999)**: Degradation of pelargonidin-3-glucoside in the presence of chlorogenic acid and blueberry polyphenol oxidase. *J. Sci. Food Agric. 79*, 517-522.

Kader F., Irmouli M., Nicolas J.P. und Metche M. **(2001)**: Proposed mechanism for the degradation of pelargonidin-3-glucoside by caffeic acid *o*-quinone. *Food Chem. 75*, 139-144.

Kähkönen M.P. und Heinonen M. **(2003)**: Antioxidant Activity of anthocyanins and their aglycons. *J. Agric. Food Chem. 51,* 628-633.

Kähkönen M.P., Hopia A.I. und Heinonen M. **(2001)**: Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem. 49*, 4079-4082.

Kahle K., Kraus M., Scheppach, W., Ackermann M., Ridder F. und Richling E. **(2006)**: Studies on apple and blueberry fruit constituents: Do the polyphenols reach the colon after ingestion?. *Mol. Nutr. Food Res. 50*, 418-423.

Kay C.D., Mazza G., Holub B.J. und Wang J. **(2004)**: Anthocyanin metabolites in human urine and serum. *Brit. J. Nutr. 91*, 933-942.

Kearsley M.W. und Rodriguez N. **(1981)**: The stability and use of natural colours in foods: Anthocyanin, b-carotene and riboflavin. *J. Food Technol. 16*, 421-431.

Kirça A. und Cemeroğlu B. **(2003)**: Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem. 81, 583-587.*

Kirça A., Özkan M. und Cemeroğlu B. **(2006)**: Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chem. 97*, 598-605.

Kong J.-M., Chia L.-S., Goh N.-K., Chia T.-F. und Brouillard R. **(2003)**: Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochem. 64*, 923-933.

Langcake P. und Pryce R.J. **(1977)**: The production of resveratrol and the viniferins by grapevine in response to ultraviolet irradiation. *Phytochemistry 16*, 1193-1196.

Lapidot T., Harel S., Granit R. und Kanner J. **(1998)**: Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine. *J. Agric. Food Chem. 46*, 4297-4302.

Lee J., Durst R.W. und Wrolstad R.E. **(2005)**: Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study.

Lee J.-H., Johnson J.V. und Talcott S.T. **(2005)**: Identification of ellagic acid conjugates and other polyphenolics in muscadine grapes by HPLC-ESI-MS. *J. Agric. Food Chem. 53*, 6003-6010.

Liao H., Cai Y. und Haslam E. **(1992):** Polyphenol Interactions. Anthocyanins: Copigmentation and Colour Changes in Red Wines. J. Sci. Food Agric. 59, 299-305.

Lozano L.E. und Ibarz A. **(1997)**: Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperatures. *J. Food Engineering 31, 365-373.*

Lu Y., Sun Y. und Foo L.Y. **(2000)**: Novel pyranoanthocyanins from black currant seed. *Tetra. Lett. 41*, 5975-5978.

Määttä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Mattila P.H., González-Paramás A.M. und Törrönen A.R. **(2004)**: Distribution and Contents of Phenolic Compounds in Eighteen Scandinavian Berry Species. *J. Agric. Food Chem. 52*, 4477-4486.

Macheix J.-J., Fleuriet A. und Jay-Allemand C. **(2005)**: Les Composés Phénoliques Des Végétaux. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne*.

Malien-Aubert C., Dangles O. und Amiot M.J. **(2001)**: Color stability of commercial anthocyanin based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem. 49*, 170-176.

Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A. und Rémésy C. **(2005)**: Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr. 81*, 230-242.

Markakis P. **(1974)**: Anthocyanins and their stability in food. *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, 437-456.

Markakis P. **(1982):** Stability of anthocyanins in food. In P. Markakis (Ed.), Anthocyanins as food colour, 163-180. New York, Academic Press.

Mateus N. und De Freitas V. **(2001)**: *J. Agric. Food Chem. 49*, 5217-5222.

Mateus N., de Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C. und de Freitas V. **(2002)**: Structural diversity of anthocyanin-derived pigments in port wines. *Food Chem. 76*, 335-342.

Mateus N., Carvalho E., Carvalho A.R.F., Melo A., González-Paramás A.M., Santos-Buelga C., Silva A.M.S. und De Freitas V. **(2003)**: Isolation and structural characterization of new acylated anthocyanin-vinyl-flavanol pigments occuring in aging red wines. *J. Agric. Food Chem. 51*, 277-282.

Mateus N., Oliveira J., Santos-Buelga C., Silva A.M.S. und De Freitas V. **(2004)**: NMR structure characterization of a new vinylpyranoanthocyanin-catechin pigment (a portisin). *Tetrahedr. Lett. 45*, 3455-3457.

Matsumoto M., Hara H., Chiji H. und Kasai T. **(2004)**: Gastroprotective Effect of Red Pigments in Black Chokeberry Fruit (Aronia melanocarpa Elliot) on Acute Gastric Hemorrhagic Lesions in rats. *J. Agric. Food Chem. 52*, 2226-2229.

Mazza G. **(1995)**: Anthocyanins in Grapes and Grape Products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35, 4,* 341-371.

Mazza G. und Miniati E. **(1993):** Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. CRC Press.

Mazza G. und Brouillard R. **(1987)**: Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chem. 25,* 207-225.

Mazza G. und Brouillard R. **(1990)**: The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochem. 29, 4,* 1097-1102.

McDougall G.J., Gordon S., Brennan R. und Stewart D. **(2005)**: Anthocyanin-Flavanol Condensation Products from Black Currant (*Ribes nigrum* L.). *J. Agric. Food Chem. 53,* 7878-7885.

Mikkelsen R.B. und Poll L. **(2002)**: Decomposition and Transformation of Aroma Compounds and Anthocyanins during Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice Processing. *J. Food Sci. 67, 9*, 3447-3455.

Monagas M., Bartolomé B. und Gómez-Cordovés C. **(2005)**: Evolution of polyphenols in red wines from Vitis vinifera L. During aging in the bottle II. Non-anthocyanin phenolic compounds. *Eur. Food Res. Technol. 220*, 331-340.

Monagas M., Gómez-Cordovés C. Und Bartolomé B. **(2005)**: Evolution of polyphenols in red wines from Vitis vinifera L. During aging in the bottle I. Anthocyanins and pyranoanthocyanins. *Eur. Food Res. Technol. 220*, 607-614.

Monagas M., Gómez-Cordovés C. und Bartolomé B. **(2006)**: Evolution of the phenolic content of red wines from Vitis vinifera L. During aging in bottle. *Food Chem. 95*, 405-412.

Monagas M., Martin-Alvarez P., Bartolomé B. und Gomez-Cordoves C. **(2006):** Statistical interpretation of the color parameters of red wines in function of their phenolic composition during aging in bottle. *Eur. Food Res. Technol. 222,* 702-709.

Monagas M., Nunez V. Bartolomé B. und Gomez-Cordoves C. **(2003):** Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in spain. *Am. J. Enol. Vitic. 54,* 163-169.

Morata A., Calderón F., González M.C., Gómez-Cordovés M.C., Suárez M.A. **(2007)**: Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (vitisin A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chem. 100, 3*, 1144-1152.

McGhie T.K. und Walton M.C. **(2007)**: The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding. *Mol. Nutr. Food Res. 51*, 702-713.

Netzel M. **(2002)**: Bioaktive Fruchtsäfte – in vivo Untersuchungen mit schwarzem Johannisbeersaft, naturtrübem Apfelsaft und Mehrfruchtsaft. *Flüssiges Obst 2*, 113-116.

Nielsen S.S., Marcy J.E. und Sadler G.D. **(1993)**: Chemistry of aseptically processed foods. In J.V. Chambers & P.E. Nelson (Eds.) *Principles of aseptic processing and packaging, Washington,* 87-111.

Nielsen I.L.F., Haren G.R., Magnussen E.L., Dragsted L.O. und Rasmussen S.E. **(2003)**: Quantification of Anthocyanins in Commercial Black Currant Juices by Simple High-Performance Liquid Chromatography. Investigation of their pH stability and antioxidative potency. *J. Agric. Food Chem. 51*, 5861-5866.

Oszmianski J. und Wojdylo A. **(2005)**: Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res. Technol. 221*, 809-813.

Otto K. **(1984)**: Lagerverhalten zur Mindesthaltbarkeit von Fruchtsäften. *Flüssiges Obst 11,* 570-580.

Özkan M., Yemenicioglu A. und Cemeroglu B. **(2005)**: Degradation of various fruit juices anthocyanins by hydrogen peroxide. *Food Res. Int. 38*, 1015-1021.

Pastrana-Bonilla E., Akoh C.C., Sellappan S. und Krewer G. **(2003)**: Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Muscadine Grapes. *J. Agric. Food Chem. 51*, 5497-5503.

Patz C.-D. **(1998)**: DLG-Qualitätsprüfung für Fruchtgetränke 1998. *Flüss. Obst 65*, 619-625.

Pérez-Magarino S. und González-Sanjosé M.L. **(2003)**: Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chem. 81*, 301-306.

Pissarra J., Lourenço S., González-Paramás A.M., Mateus N., Santos-Buelga C., Silva A.M.S. und De Freitas V. **(2004a)**: Structural Characterization of New Malvidin-3-glucoside-Catechin Aryl/Alkyl-Linked Pigments. *J. Agric. Food Chem. 52*, 5519-5526.

Pissarra J., Lourenço S., González-Paramas A.M., Mateus N., Santos-Buelga C. und De Freitas V. **(2004b)**: Formation of new anthocyanin-alkyl/aryl-flavanol pigments in model solutions. *Anal. Chim. Acta 513*, 215-221.

Poei-Langston M.S. und Wrolstad R.E. **(1981)**: Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flavanol model system. *J. Food Sci. 46*, 1218-1222, 1236.

Pour Nikfardjam M., Patz C.-D. und Dietrich H. **(1998)**: Resveratrol und Polyphenole im Wein. *Der Deutsche Weinbau 9*, 114-116.

Pour Nikfardjam, M.S. **(2002)**: Polyphenole in Weißweinen und Traubensäften und ihre Veränderung im Verlauf der Herstellung. *Dissertation. Tectum Verlag, Marburg*.

Pozo-Bayón M.A., Monagas M., Polo M.C. und Gómez-Cordovés C. **(2004)**: Occurence of pyranoanthocyanins in sparkling wines manufactured with red grape varieties. *J. Agric. Food Chem. 52*, 1300-1306.

Quast, P. und Hillebrand S. **(2006)**: Untersuchung von Alterungsvorgängen der Anthocyane im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums bei Buntsäften und Buntsaftkonzentraten. *Abschlussbericht AIF-FV 13587 N, Technische Universität Braunschweig.*

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. und Rice-Evans C. **(1999)**: Antioxidant Activity Applying an improved ABTS Radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine 26, 9/10,* 1231-1237.

Rechner A., Patz C.-D. und Dietrich H. **(1998)**: Polyphenolanalytik von Fruchtsäften und Weinen mittels HPLC/UV/EC an einer fluorierten RP-Phase. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau 11,* 363-365.

Rechner A. **(2000)**: Einfluss der Verarbeitungstechnik auf die Polyphenole und antioxidative Kapazität von Apfel- und Beerenobstsäften. *Dissertation*, Gießen.

Rehfeldt B., Patz C.D., Rheinberger A. und Dietrich H. **(2003)**: Große Unterschiede bei der Deklaration des MHD´s. *Getränkeindustrie 7,* 18-21.

Rein M. **(2005)**: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. *Academic Dissertation, University of Helsinki.*

Rein M. und Heinonen M. **(2004)**: Stability and Enhancement of Berry Juice Color. *J. Agric. Food Chem. 52,* 3106-3114.

Rein M., Ollilainen V., Vahermo M., Yli-Kauhaluoma J. und Heinonen M. **(2005)**: Identification of novel pyranoanthocyanins in berry juices. *Eur. Food Res. Technol. 220,* 239-244.

Remy S., Fulcrand H., Labarbe B. und Cheynier V. **(2000)**: First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin-tannin reactions. *J. Sci. Food Agric. 80*, 745-751.

Remy-Tanneau S., Guernevé C., Meudec E. und Cheynier V. **(2003)**: Characterization of a colourless anthocyanin-flavanol-3-ol dimer containing both carbon-carbon and ether interflavanoid linkages by NMR and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem. 51*, 3592-3597.

Ribéreau-Gayon P. **(1982)**: Anthocyanins of grapes and wines. In: *Anthocyanins as Food Colors.* Academic Press Inc., New York.

Rice-Evans C. und Rechner A. **(2000)**: Absorption and metabolism of dietary flavonoids and simple phenolics. In: *Polyphenols 2000*. Freising-Weihenstephan, September 10-15 2000. Edts. S. Martens, D. Treutter und Forkmann G..

Rice-Evans C.A., Miller N.J. und Paganga P. **(1997)**: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci. 2,* 152-159.

Richter M. **(1981)**: Einführung in die Farbmetrik. Wilhelm de Gruyter Verlag, Berlin.

Rommel A., Wrolstad R.E. und Heatherbell D.A. **(1992)**: Blackberry Juice and Wine: Processing and Storage Effects on Anthocyanin Composition, Color and Appearance. *Journal of Food Science 57, 2,* 385-410.

RSK-Werte Gesamtdarstellung: Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen mit überarbeiteten Analysemethoden **(1987)**. *Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie, 1. Auflage, Flüssiges Obst GmbH, Schönborn.*

Salas E., Anastasova V., Poncet-Legrand C., Meudec E., Mazauric J.P. und Cheynier V. **(2004)**: Demonstration of the occurence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Anal. Chim. Acta 513*, 325-332.

Salas E., Fulcrand H., Meudec M. und Cheynier V. **(2003)**: Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions. *J. Agric. Food Chem. 51,* 7951-7961.

Santos-Buelga C. und Scalbert A. **(2000)**: Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric. 2000*, *80*, 1094.

Santos-Buelga C., Bravo-Haro S. und Rivas-Gonzalo J.C. **(2005)**: Interactions between catechin and malvidin-3-monoglucoside in model solutions. *Eur. Food Res. Technol. 201, 3*, 269-274.

Sarma A.D. und Sharma R. **(1999)**: Anthocyanin-DNA copigmentation complex: mutual protection against oxidative damage. *Phytochemistry 52, 7*, 1313-1318.

Satué-Garcia M.T., Heinonen M. und Frankel E.N. **(1997)**: Anthocyanins as Antioxidants on Human Low-Density Lipoprotein and Lecithin-Liposome Systems. *J. Agric. Food Chem. 45,* 3362-3367.

Scalbert A. und Williamson G. **(2000)**: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr. 2000 130*, 2073-2085.

Schäfer S., Baum M., Eisenbrand G. und Janzowski C. **(2004)**: Das antioxidative Potential von Apfelsaftinhaltsstoffen und Apfelsaftextrakt in der humanen Kolonzelllinie Caco-2. *Lebensmittelchemie 58*, 26.

Schwarz M., Hofmann G. und Winterhalter P. **(2004)**: Investigations on Anthocyanins in Wines from Vitis Vinifera cv. Pinotage: Factors influencing the Formation of Pinotin A and its Correlation with Wine Age. *J. Agric. Food Chem. 52*, 498-504.

Schwarz M., Picao-Bacete J.J., Winterhalter P. und Hermosín-Gutíerrez I. **(2005)**: Effect of copigments and grape cultivar on the colour of red wines fermented after the addition of copigments. *J. Agric. Food Chem. 53,* 8372-8381.

Schwarz M., Quast P., Von Baer D. und Winterhalter P. **(2003)**: Vitisin A content in chilean wines form Vitis Vinifera cv. Cabernet Sauvignon and contribution to the color of aged red wines. *J. Agric. Food Chem. 51*, 6261-6267.

Schwarz M. und Winterhalter P. **(2003)**: A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique colour properties. *Tetrahedron Lett. 44*, 7583-7587.

Schwarz M., Wray V. und Winterhalter P. **(2004)**: Isolation and identification of novel pyranoanthocyanins from black carrot (*Daucus Carota L.*) Juice. *J. Agric. Food Chem. 52,* 5095-5101.

Seeram N.P., Bourquin L.D. und Nair M.G. **(2001)**: Degradation products of cyanidin glycosides form tart cherries and their bioactivities. *J. Agric. Food Chem. 49*, 4924-4929.

Serafini M., Maiani G. und Ferro-Luzzi A. **(1998)**: Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr. 128*, 1003.

Shrikhande A.J. und Francis F.J. **(1974)**: Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model solutions. *J. Food Sci. 39*, 904-906.

Sims C.A. und Morris J.R. (1984): Effects of pH, sulfur dioxide, storage time and temperature on the color and stability of red muscadine grape wine. Am. J. Enol. Vitic. 35, 35-39.

Singleton V.L. und Rossi J.A **(1965):** Colorimetry of total phenolics with Phoshotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic., 144-158.*

Skrede G., Wrolstad R.E., Lea P. und Enersen G. **(1992)**: Color stability of strawberry and blackcurrant syrups. *J. Food Sci. 57*, 172-177.

Skrede G., Wrolstad R.E. und Durst R.W. **(2000)**: Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Food Sci. 65*, 357-364.

Slimestad R. und Solheim H. **(2002)**: Anthocyanins from Black Currants (Ribes nigrum L.). J. Agric. Food Chem. 50, 3228-3231.

Slimestad R., Torskangerpoll K., Nateland H.S., Johannessen T. und Giske N.H**. (2005):** Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *Journal of Food Com. Anal. 18,* 61-68.

Somers T.C. und Evans M.E. **(1974)**: Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *J. Sci. Food Agric. 25*, 1369-1379.

Statistisches Bundesamt **(2007)**: Landwirtschaft in Deutschland und der Europäischen Union 2006. Flächen, Bäume und Erntemengen im Marktobstanbau. www.destatis.de, Statistisches Bundesamt, Wiesbaden.

Steil A., Patz C.-D., Will F. und Dietrich H. **(2002)**: Die Bewertung der Farbe naturtrüber Fruchtsäfte. *Flüssiges Obst 10*, 648-652.

Steinmetz K.A. und Potter J.D. **(1996)**: Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. *J. Am. Diet. Assoc. 96*, 1027-1039.

Stintzing F.C. und Carle R. **(2004)**: Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition. *Food Sci. Technol. 15*, 19-38.

Stintzing F.C., Stintzing A.S., Carle R., Frei B. und Wrolstad R.E. **(2002)**: Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *J. Agric. Food Chem. 50*, 6172-6181.

Strigl W., Leitner E. und Pfannhauser W. **(1995)**: Qualitative und quantitative Analyse der Anthocyane von schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx. Ell.) mittels TLC, HPLC und UV/VIS-Spektrometrie. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. 201*, 266-268.

Talcott S.T., Brenes C.H., Pires D.M. und Del Pozo-Insfran D. **(2003)**: Phytochemical Stability and Color Retention of Copigmented and Processed Muscadine Grape Juice. *J. Agric. Food Chem. 51*, 957-963.

Talcott S.T., Peele J.E. und Brenes C.H. **(2005)**: Red clover isoflavanoids as anthocyanin color enhancing agents in muscadine wine and juice. *Food Res. Int. 38*, 1205-1212.

Tanner H. und Brunner H.R. **(1987):** Getränke Analytik. 2., neubearbeitete und erweiterte Auflage, Verlag Heller Chemie- und verwaltungsgesellschaft mbH.

Thielen C. **(2005)**: Auswahl und Verarbeitung von Früchten zur Steigerung der Gehalte an phenolischen Antioxidantien in Fruchtsäften. *Dissertation, Forschungsanstalt Geisenheim.*

Threlfall R.T., Morris J.R. und Mauromoustakos A. **(1999)**: Effect of Variety, Ultraviolet Light Exposure and Enological Methods on the trans-Resveratrol Level of Wine. *Am. J. Enol. Vitic 50, 1*, 57-60.

Tomás-Barberan F.A. und Espín J.C. **(2001)**: Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric. 81*, 853-876.

Tsuda T., Watanabe M., Ohshima K., Norinobu S., Choi S.-W., Kawakishi S. und Osawa T. **(1994)**: Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin-3-O-b-D-glucoside and Cyanidin. *J. Agric. Food Chem. 42*, 2407-2410.

Turker N., Aksay S. und Ekiz H.I. **(2004)**: Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucua carota var.* L.) beverage: Shalgam. *J. Agric. Food Chem. 52,* 3807-3813.

Varming C., Andersen M.L. und Poll L. **(2004)**: Influence of Thermal Treatment on Black Currant (Ribes nigrum L.) Juice Aroma. *J. Agric. Food Chem. 52*, 7628-7636.

VdF Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. **(2005):** Geschäftsbericht des Verbandes der deutschen Fruchtsaftindustrie für das Geschäftsjahr 2004.

Vivar-Quintana A.M., Santos-Buelga C. und Rivas-Gonzalo J.C. **(2002)**: anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta 458*, 147-155.

Von Elbe J.H. und Schwartz S.J. **(1996)**: Colorants. In: *Food Chemistry*, 3rd ed., O.W. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, New York.

Wang W.-D. und Xu S.-Y. **(2007)**: Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J. Food Eng. 82*, 271-275.

Wang H., Race E.J. und Shrikhande A.J. **(2003)**: Anthocyanin transformation in cabernet sauvignon wine during aging. *J. Agric. Food Chem. 51*, 7989-7994.

Wang H., Race E.J. und Shrikhande A.J. **(2003)**: Characterization of Anthocyanins in Grape Juices by Ion Trap Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem. 51*, 1839-1844.

Watzl B. und Rechkemmer G. **(2001)**: Flavonoide. *Ernährungs-Umschau 48*, 12, 499-503.

Wedler G. **(1997)**: Lehrbuch der Physikalischen Chemie. 4. völlig überarbeitete und erweiterte Auflage. *WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim.*

Weisel T., Baum M., Eisenbrand G., Dietrich H., Will F., Stockis J.-P., Kulling S., Rüfer C., Johannes C. und Janzowski C. **(2006)**: An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathion level in healthy probands. *Biotechnol. J. 1*, 388-397.

Williams C.A. und Grayer R.J. **(2004)**: Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep. 21*, 539-573.

Wilska-Jeszka J. und Korzuchowska A. **(1996)**: Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation – influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. 203*, 38-42.

Wrolstad R.E. **(2000)**: Anthocyanins. In: F.J. Francis & G.J. Lauro (Eds.), *Natural Food Colorants*. New York.

Wrolstad R.E. **(2000)**: Colorants. In Food Chemistry: Principles and Applications. G.L. Christen und J.S. Smith (Eds.). Science and Technology System, West Sacramento, CA.

Wrolstad R.E., Durst R.W. und Lee J. **(2005)**: Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci. Technol. 16*, 423-428.

Wu X. und Prior R.L. **(2005)**: Systematic Identification and Characterization of Anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in Common Foods in the United States: Fruits and Berries. *J. Agric. Food Chem. 53*, 2589-2599.

Wu X., Gu L., Prior R.L. und McKay S. **(2004)**: Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia* and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem. 52,* 7846-7856.

Yi W., Fischer J., Krewer G. und Akoh C.C. **(2005)**: Phenolic Compounds from blueberries can inhibit colon cancer cell proliferation and induce apoptosis. *J. Agric. Food Chem. 53*, 7320-7329.

Zadernowski R., Naczk M. und Nesterowicz J. **(2005)**: Phenolic acid profiles in some small berries. *J. Agric. Food Chem. 53*, 2118-2124.

Zanoni B., Pagliarini E., Galli A. und Laureati M. **(2005)**: Shelf-life prediction of fresh blood orange juice. *J. Food Eng. 70*, 512-517.

Zwischenbericht 2005 **(2006)**: Untersuchung von Alterungsvorgängen der Anthocyane im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums bei Buntsäften und Buntsaftkonzentraten, Zwischenbericht des AIF-Projektes Nr. AIF-FV 13587 N.

LEBENSLAUF

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name	KIRSTEN WÜRTH
Geburtsdatum:	23. Januar 1978
Geburtsort:	Kaiserslautern
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	Deutsch

SCHULBILDUNG

1984 – 1988	Grundschule, Wolfstein
1988 – 1997	St.-Franziskus-Gymnasium, Kaiserslautern
24. Juni 1997	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

STUDIUM

10/1997 - 03/2003	Chemiestudium an der Universität Kaiserslautern
19. Oktober 1999	Diplom-Vorprüfung
03/2001 - 08/2001	Auslandssemester an der Universidad de Oviedo, Spanien
05/2002 - 03/2003	Diplomarbeit im Fach Lebensmittelchemie und Umwelttoxikologie. Thema: „Untersuchungen zur Wirkung von Ochratoxin A auf Zellzyklus, Apoptoseinduktion und Glutathionspiegel von Nierenzelllinien“.
10. März 2003	Diplom

PROMOTION

09/2003 – 02/2006	Institut für Weinanalytik und Getränkeforschung, Forschungsanstalt Geisenheim. Thema: „Untersuchung von Alterungsvorgängen der Anthocyane im Hinblick auf die Saftqualität und Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums bei Buntsäften und Buntsaftkonzentraten“. (AiF-FV Projekt Nr. 13587 N).

BERUFLICHER WERDEGANG

04/2006	Praktikum Albert Schweizer Schule, Winnweiler
05/2006-07/2006	Vertetungsstelle am Gymnasium an der Stadtmauer, Bad Kreuznach
seit 08/2006	Lehrkraft für Mathematik und Chemie am St.-Franziskus-Gymnasium und –Realschule, Kaiserslautern

Kaiserslautern, den 19.11.2007